(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 116761635 A
(43)申请公布日 2023.09.15

(21)申请号 202180091693.8
(22)申请日 2021.11.23
(30)优先权数据
63/117,763 2020.11.24 US
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2023.07.21
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2021/060620 2021.11.23
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2022/115477 EN 2022.06.02
(71)申请人 诺华股份有限公司
地址 瑞士巴塞尔
申请人 法国施维雅药厂
(72)发明人 M·T·伯格 陈卓亮
J·A·达莱西奥 E·麦克内尔
中嶋胜正 R·V·纽科姆
M·G·巴勒莫 余冰 张强
F·科朗德 J·E·P·戴维德森
L·德拉库尔 P·德索斯
O·热内斯特 V·科斯托瓦
A·科兹奇 A·L·马拉诺
J·B·默里 T·诺瓦克
J·斯塔克
(74)专利代理机构 北京市金杜律师事务所 11256
专利代理师 郜红 王北南
(51)Int.Cl.
A61K 47/68(2006.01)

权利要求书86页 说明书729页
序列表278页 附图29页

(54)发明名称

BCL-XL抑制剂抗体药物缀合物及其使用方法

(57)摘要

公开了与人肿瘤学靶标结合的抗体-药物缀合物。所述抗体-药物缀合物包含Bcl-xL抑制剂药物部分。本公开进一步涉及通过施用本文提供的抗体-药物缀合物用于治疗癌症的方法和组合物。还公开了包含Bcl-xL抑制剂药物部分的接头-药物缀合物及其制备方法。

CN 116761635 A

1.一种式(1)的抗体-药物缀合物：

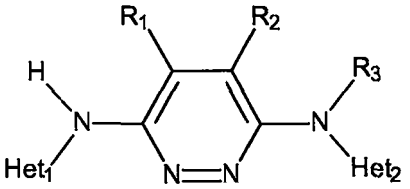
$Ab-(L-D)_p$　(1)

其中Ab是抗体或其抗原结合片段；

L是将Ab共价连接至D的接头；

p是1至16的整数；以及

D是共价连接至接头L的式(I)或式(II)的Bcl-xL抑制剂化合物：



(I)

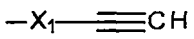
，

或前述任一项的对映异构体、非对映异构体和/或药学上可接受的盐，其中：

◆R_1和R_2彼此独立地表示选自以下的基团：氢；直链或支链C_1-C_6烷基，其任选被羟基或C_1-C_6烷氧基取代；C_3-C_6环烷基；三氟甲基；直链或支链C_1-C_6亚烷基-杂环烷基，其中所述杂环烷基任选地被直链或支链C_1-C_6烷基取代；

或R_1和R_2与带有它们的碳原子形成C_3-C_6环亚烷基，

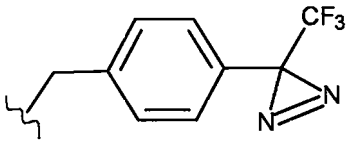
◆R_3表示选自以下的基团：氢；C_3-C_6环烷基；直链或支链C_1-C_6烷基；$-X_1-NR_aR_b$；$-X_1-N^+R_aR_bR_c$；$-X_1-O-R_c$；$-X_1-COOR_c$；$-X_1-PO(OH)_2$；$-X_1-SO_2(OH)$；$-X_1-N_3$和：



，

◆R_a和R_b彼此独立地表示选自以下的基团：氢；杂环烷基；$-SO_2-$苯基，其中所述苯基可以被直链或支链C_1-C_6烷基取代；任选被一个或两个羟基取代的直链或支链C_1-C_6烷基；C_1-C_6亚烷基-SO_2OH；C_1-C_6亚烷基-SO_2O^-；C_1-C_6亚烷基-COOH；C_1-C_6亚烷基-$PO(OH)_2$；C_1-C_6亚烷基-NR_dR_e；C_1-C_6亚烷基-$N^+R_dR_eR_f$；C_1-C_6亚烷基-苯基，其中所述苯基可以被C_1-C_6烷氧基取代；

基团：



或R_a和R_b与带有它们的氮原子形成环B_1；

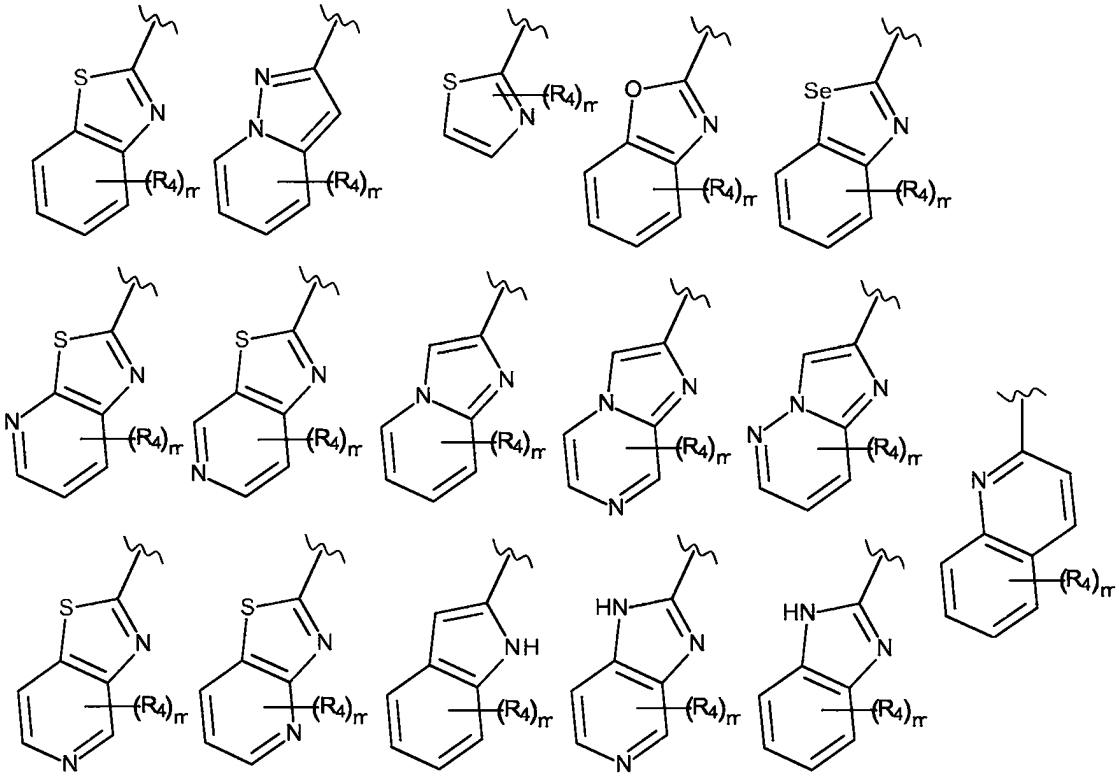
或R_a、R_b和R_c与带有它们的氮原子形成桥连的C_3-C_8杂环烷基，

◆R_c、R_d、R_e、R_f彼此独立地表示氢或直链或支链C_1-C_6烷基，

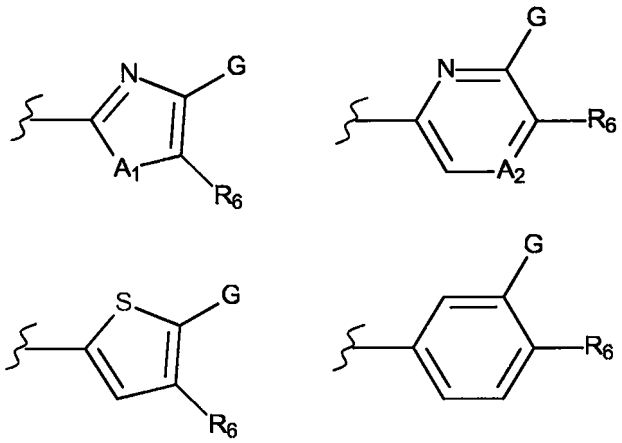
或R_d和R_e与带有它们的氮原子形成环B_2，

或R_d、R_e和R_f与带有它们的氮原子形成桥连的C_3-C_8杂环烷基，

◆Het_1表示选自以下的基团：



◆Het_2表示选自以下的基团：



◆A_1是-NH-、-N(C_1-C_3烷基)、O、S或Se，

◆A_2是N、CH或C(R_5)，

◆G选自由以下组成的组：

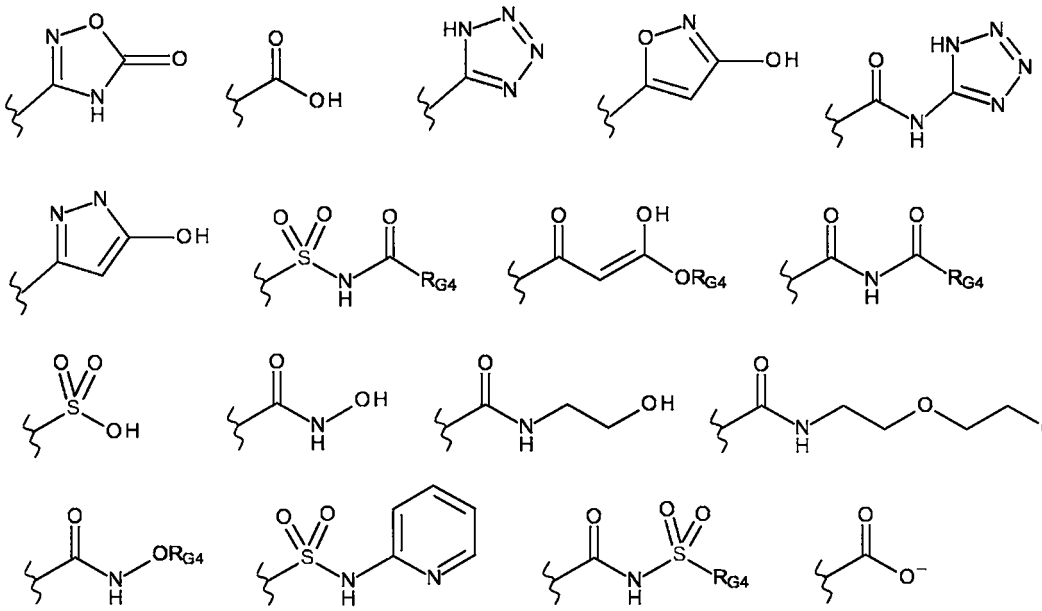
-C(O)OR_{G3}、-C(O)$NR_{G1}R_{G2}$、-C(O)R_{G2}、-NR_{G1}C(O)R_{G2}、-NR_{G1}C(O)$NR_{G1}R_{G2}$、-OC(O)$NR_{G1}R_{G2}$、-NR_{G1}C(O)OR_{G3}、-C(=NOR_{G1})$NR_{G1}R_{G2}$、-NR_{G1}C(=NCN)$NR_{G1}R_{G2}$、-NR_{G1}S(O)$_2NR_{G1}R_{G2}$、-S(O)$_2R_{G3}$、-S(O)$_2NR_{G1}R_{G2}$、-NR_{G1}S(O)$_2R_{G2}$、-NR_{G1}C(=NR_{G2})$NR_{G1}R_{G2}$、-C(=S)$NR_{G1}R_{G2}$、-C(=NR_{G1})$NR_{G1}R_{G2}$、任选被羟基取代的C_1-C_6烷基、卤素、-NO_2和-CN，其中：

-R_{G1}和R_{G2}在每次出现时各自独立地选自由以下组成的组：氢、任选被1至3个卤素原子取代的C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_3-C_6环烷基、苯基和-$(CH_2)_{1-4}$-苯基；

-R_{G3}选自由以下组成的组：任选被1至3个卤素原子取代的C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_3-C_6环烷基、苯基和-$(CH_2)_{1-4}$-苯基；或者

R_{G1}和R_{G2}与各自所连接的原子一起组合形成C_3-C_8杂环烷基；或者在替代方案中，G选自

由以下组成的组：



其中R_{G4}选自氢、任选被1至3个卤素原子取代的C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基和C_3-C_6环烷基，

◆R_4表示氢、氟、氯或溴原子、甲基、羟基或甲氧基，

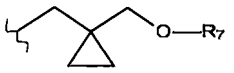
◆R_5表示选自以下的基团：任选被1至3个卤素原子取代的C_1-C_6烷基；C_2-C_6烯基；C_2-C_6炔基；卤素或-CN，

◆R_6表示选自以下的基团：

氢；

-C_2-C_6烯基；

-X_2-O-R_7；


；

-X_2-NSO_2-R_7；

-C＝C(R_9)-Y_1-O-R_7；

C_3-C_6环烷基；

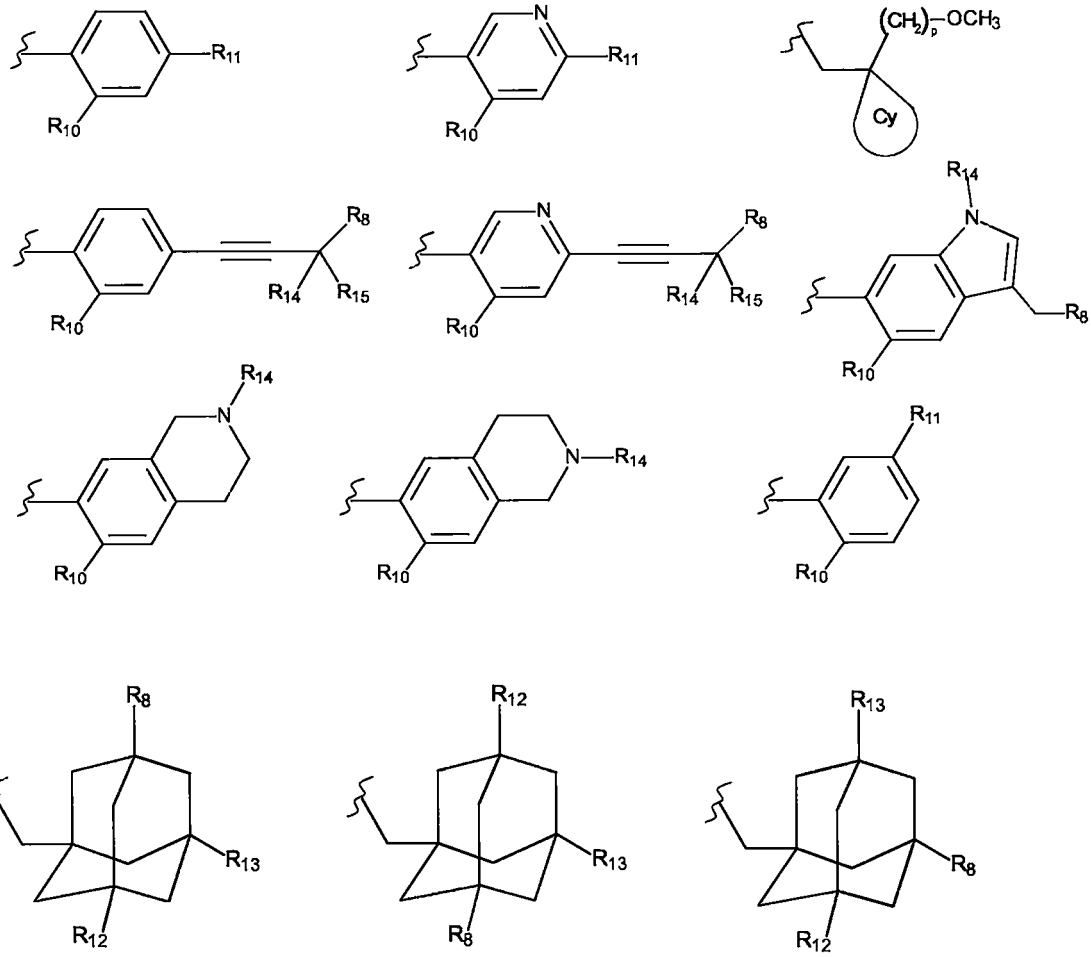
任选被羟基取代的C_3-C_6杂环烷基；

C_3-C_6环亚烷基-Y_2-R_7；

C_3-C_6杂亚环烷基-Y_2-R_7基团，

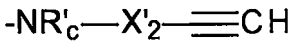
任选被直链或支链C_1-C_6烷基取代的杂亚芳基-R_7基团，

◆R_7表示选自以下的基团：直链或支链C_1-C_6烷基；(C_3-C_6)环亚烷基-R_8；或者：



其中Cy表示C_3-C_8环烷基，

◆R_8表示选自以下的基团：氢；直链或支链C_1-C_6烷基，-NR'$_a$R'$_b$；-NR'$_a$-CO-OR'$_c$；-NR'$_a$-CO-R'$_c$；-N^+R'$_a$R'$_b$R'$_c$；-O-R'$_c$；-NH-X'$_2$-N^+R'$_a$R'$_b$R'$_c$；-O-X'$_2$-NR'$_a$R'$_b$、-X'$_2$-NR'$_a$R'$_b$、-NR'$_c$-X'$_2$-N_3和：



，

◆R_9表示选自直链或支链C_1-C_6烷基、三氟甲基、羟基、卤素、C_1-C_6烷氧基的基团，

◆R_{10}表示选自氢、氟、氯、溴、-CF_3和甲基的基团，

◆R_{11}表示选自氢、C_1-C_3亚烷基-R_8、-O-C_1-C_3亚烷基-R_8、-CO-NR_hR_i和-CH=CH-C_1-C_4亚烷基-NR_hR_i、-CH=CH-CHO、C_3-C_8环亚烷基-CH_2-R_8、C_3-C_8杂环亚烷基-CH_2-R_8的基团，

◆R_{12}和R_{13}彼此独立地表示氢原子或甲基，

◆R_{14}和R_{15}彼此独立地表示氢或甲基，或者R_{14}和R_{15}与带有它们的碳原子形成环己基，

◆R_h和R_i彼此独立地表示氢或直链或支链C_1-C_6烷基，

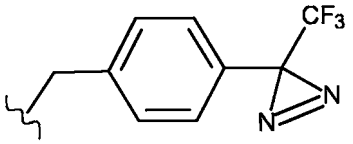
◆X_1和X_2彼此独立地表示直链或支链C_1-C_6亚烷基，其任选被一个或两个选自三氟甲基、羟基、卤素、C_1-C_6烷氧基的基团取代，

◆X'$_2$表示直链或支链的C_1-C_6亚烷基，

◆R'$_a$和R'$_b$彼此独立地表示选自以下的基团：氢；杂环烷基；-SO_2-苯基，其中所述苯基可以被直链或支链C_1-C_6烷基取代；任选被一个或两个羟基或C_1-C_6烷氧基取代的直链或支链C_1-C_6烷基；C_1-C_6亚烷基-SO_2OH；C_1-C_6亚烷基-SO_2O^-；C_1-C_6亚烷基-COOH；C_1-C_6亚烷基-PO

$(OH)_2$;C_1-C_6亚烷基-$NR'_dR'_e$;C_1-C_6亚烷基-$N^+R'_dR'_eR'_f$;C_1-C_6亚烷基-O-C_1-C_6亚烷基-OH;C_1-C_6亚烷基-苯基,其中所述苯基可以被羟基或C_1-C_6烷氧基取代;

基团:



或R'_a和R'_b与带有它们的氮原子形成环B_3,

或R'_a、R'_b和R'_c与带有它们的氮原子形成桥连的C_3-C_8杂环烷基,

◆R'_c、R'_d、R'_e、R'_f彼此独立地表示氢或直链或支链C_1-C_6烷基,

或R'_d和R'_e与带有它们的氮原子形成环B_4,

或R'_d、R'_e和R'_f与带有它们的氮原子形成桥连的C_3-C_8杂环烷基,

◆Y_1表示直链或支链C_1-C_4亚烷基,

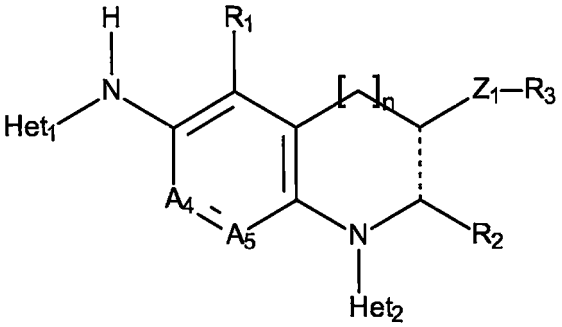
◆Y_2表示键、-O-、-O-CH_2-、-O-CO-、-O-SO_2-、-CH_2-、-CH_2-O、-CH_2-CO-、-CH_2-SO_2-、-C_2H_5-、-CO-、-CO-O-、-CO-CH_2-、-CO-NH-CH_2-、-SO_2-、-SO_2-CH_2-、-NH-CO-、-NH-SO_2-、

◆m=0、1或2,

◆p=1、2、3或4,

◆B_1、B_2、B_3和B_4彼此独立地表示C_3-C_8杂环烷基,所述基团可以:(i)是单环或双环基团,其中双环基团包括稠合、桥连或螺环系统,(ii)除氮原子外,还可以含有一个或两个独立地选自氧、硫和氮的杂原子,(iii)被一个或两个选自以下的基团取代:氟、溴、氯、直链或支链C_1-C_6烷基、羟基、-NH_2、氧代或哌啶基,

其中如果存在,R_3和R_8基团之一共价附接至接头,并且其中原子不会由于一个或多个与其键合的取代基而超出化合价;或者



(II),

或前述任一项的对映异构体、非对映异构体和/或药学上可接受的盐,其中:

◆n=0、1或2,

◆------表示单键或双键,

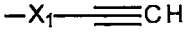
◆A_4和A_5彼此独立地表示碳或氮原子,

◆Z_1表示键、-N(R)-或-O-,其中R表示氢或直链或支链C_1-C_6烷基,

◆R_1表示选自以下的基团:氢;直链或支链C_1-C_6烷基,其任选被羟基或C_1-C_6烷氧基取代;C_3-C_6环烷基;三氟甲基;直链或支链C_1-C_6亚烷基-杂环烷基,其中所述杂环烷基任选地被直链或支链C_1-C_6烷基取代;

◆R_2表示氢或甲基;

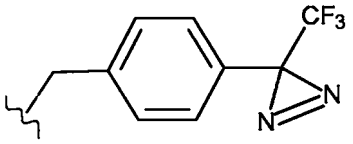
◆R_3表示选自以下的基团：氢；直链或支链C_1-C_4烷基；-X_1-NR_aR_b；-X_1-$N^+R_aR_bR_c$；-X_1-O-R_c；-X_1-$COOR_c$；-X_1-$PO(OH)_2$；-X_1-$SO_2(OH)$；-X_1-N_3和：



，

◆R_a和R_b彼此独立地表示选自以下的基团：氢；杂环烷基；-SO_2-苯基，其中所述苯基可以被直链或支链C_1-C_6烷基取代；任选被一个或两个羟基取代的直链或支链C_1-C_6烷基；C_1-C_6亚烷基-SO_2OH；C_1-C_6亚烷基-SO_2O^-；C_1-C_6亚烷基-COOH；C_1-C_6亚烷基-$PO(OH)_2$；C_1-C_6亚烷基-NR_dR_e；C_1-C_6亚烷基-$N^+R_dR_eR_f$；C_1-C_6亚烷基-苯基，其中所述苯基可以被C_1-C_6烷氧基取代；

基团：



或R_a和R_b与带有它们的氮原子形成环B_1；

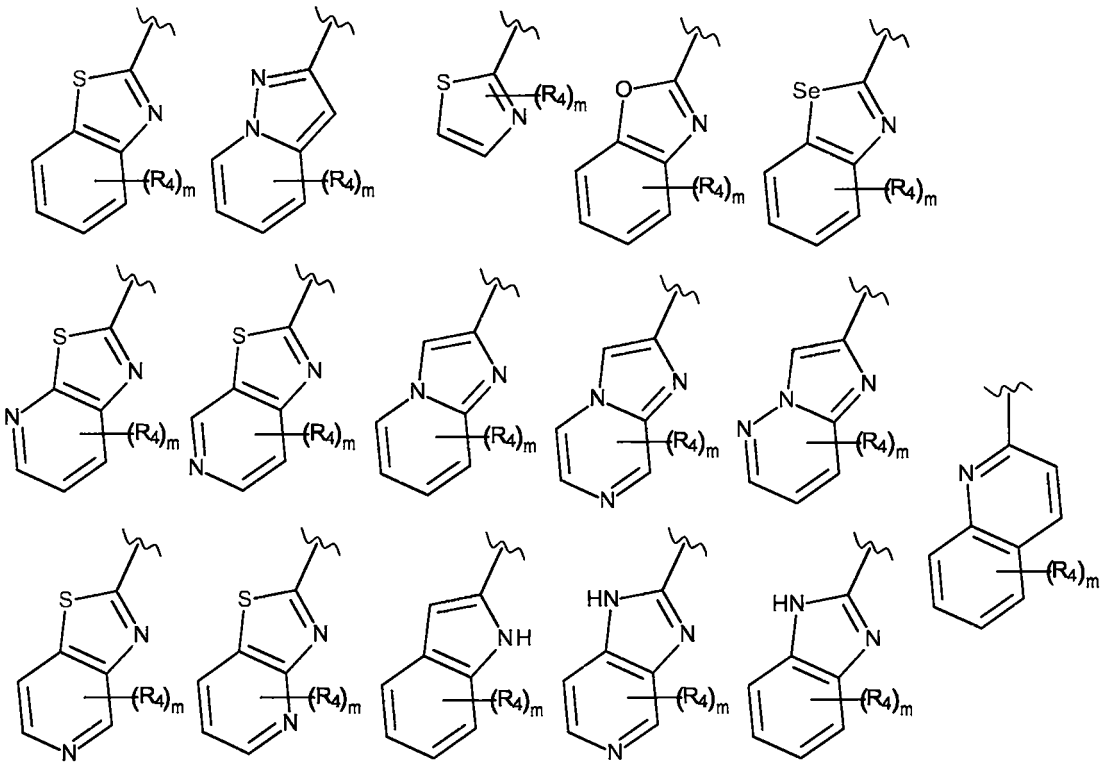
或R_a、R_b和R_c与带有它们的氮原子形成桥连的C_3-C_8杂环烷基，

◆R_c、R_d、R_e、R_f彼此独立地表示氢或直链或支链C_1-C_6烷基，

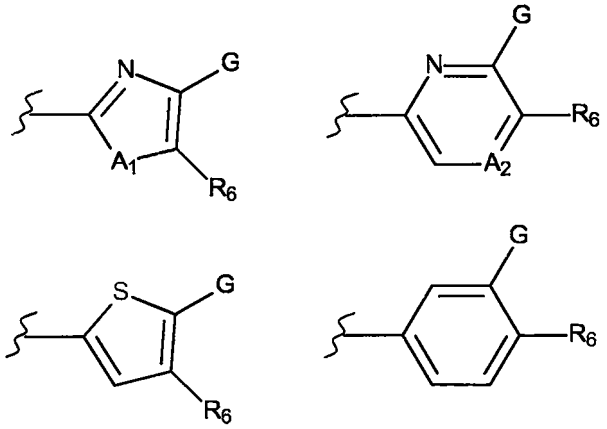
或R_d和R_e与带有它们的氮原子形成环B_2，

或R_d、R_e和R_f与带有它们的氮原子形成桥连的C_3-C_8杂环烷基，

◆Het_1表示选自以下的基团：



◆Het_2表示选自以下的基团：



◆A_1是-NH-、-N(C_1-C_3烷基)、O、S或Se，

◆A_2是N、CH或C(R_5)，

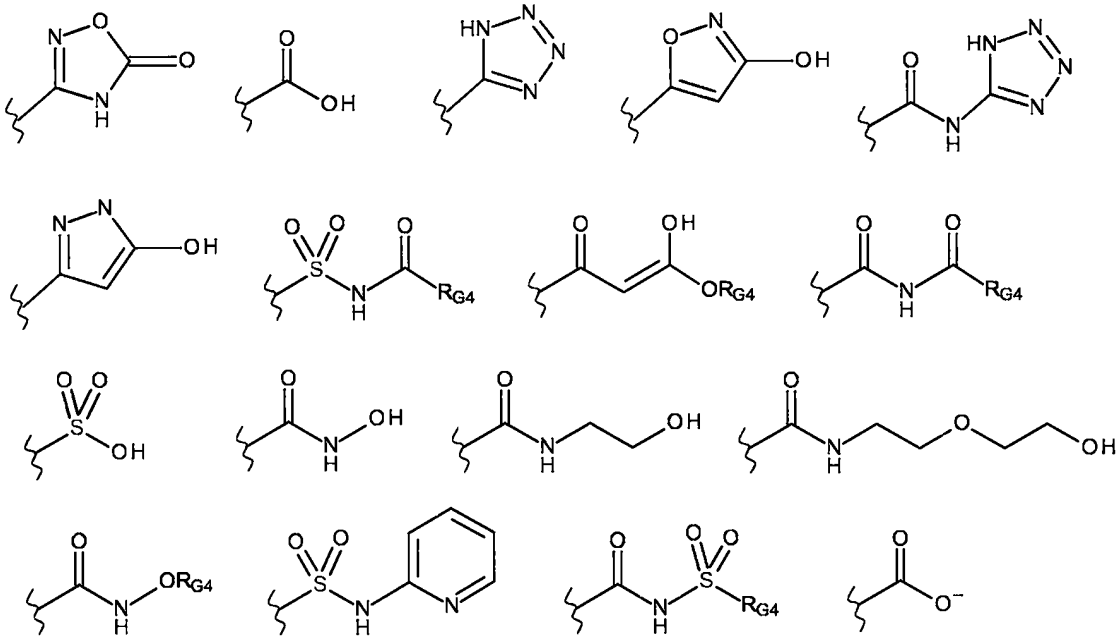
◆G选自由以下组成的组：

-C(O)OR_{G3}、-C(O)$NR_{G1}R_{G2}$、-C(O)R_{G2}、-NR_{G1}C(O)R_{G2}、-NR_{G1}C(O)$NR_{G1}R_{G2}$、-OC(O)$NR_{G1}R_{G2}$、-NR_{G1}C(O)OR_{G3}、-C(=NOR_{G1})$NR_{G1}R_{G2}$、-NR_{G1}C(=NCN)$NR_{G1}R_{G2}$、-NR_{G1}S(O)$_2NR_{G1}R_{G2}$、-S(O)$_2R_{G3}$、-S(O)$_2NR_{G1}R_{G2}$、-NR_{G1}S(O)$_2R_{G2}$、-NR_{G1}C(=NR_{G2})$NR_{G1}R_{G2}$、-C(=S)$NR_{G1}R_{G2}$、-C(=NR_{G1})$NR_{G1}R_{G2}$、任选被羟基取代的C_1-C_6烷基、卤素、-NO_2和-CN，其中：

-R_{G1}和R_{G2}在每次出现时各自独立地选自由以下组成的组：氢、任选被1至3个卤素原子取代的C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_3-C_6环烷基、苯基和-$(CH_2)_{1-4}$-苯基；

-R_{G3}选自由以下组成的组：任选被1至3个卤素原子取代的C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_3-C_6环烷基、苯基和-$(CH_2)_{1-4}$-苯基；或者

R_{G1}和R_{G2}与各自所连接的原子一起组合形成C_3-C_8杂环烷基；或者在替代方案中，G选自由以下组成的组：



其中R_{G4}选自氢、任选被1至3个卤素原子取代的C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基和C_3-C_6环烷基，

◆R_4表示氢、氟、氯或溴原子、甲基、羟基或甲氧基，

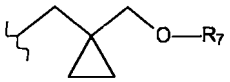
◆R_5表示选自以下的基团:任选被1至3个卤素原子取代的C_1-C_6烷基;C_2-C_6烯基;C_2-C_6炔基;卤素或-CN,

◆R_6表示选自以下的基团:

氢;

-C_2-C_6烯基;

-X_2-O-R_7;



;

-X_2-NSO_2-R_7;

-C=C(R_9)-Y_1-O-R_7;

C_3-C_6环烷基;

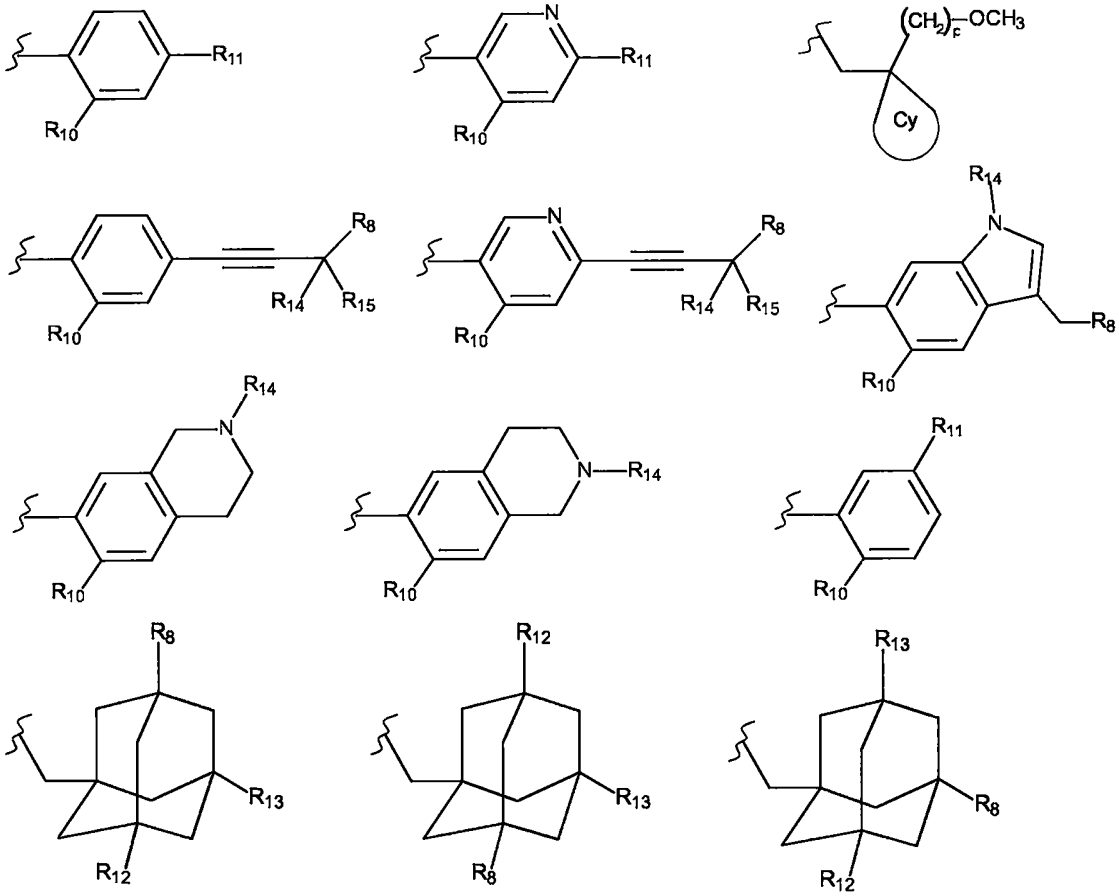
任选被羟基取代的C_3-C_6杂环烷基;

C_3-C_6环亚烷基-Y_2-R_7;

C_3-C_6杂亚环烷基-Y_2-R_7基团,

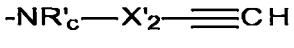
任选被直链或支链C_1-C_6烷基取代的杂亚芳基-R_7基团,

◆R_7表示选自以下的基团:直链或支链C_1-C_6烷基;(C_3-C_6)环亚烷基-R_8;或者:



其中Cy表示C_3-C_8环烷基,

◆R_8表示选自以下的基团:氢;直链或支链C_1-C_6烷基,-NR'$_a$R'$_b$;-NR'$_a$-CO-OR'$_c$;-NR'$_a$-CO-R'$_c$;-N^+R'$_a$R'$_b$R'$_c$;-O-R′c;-NH-X'$_2$-N^+R'$_a$R'$_b$R'$_c$;-O-X'$_2$-NR'$_a$R'$_b$、-X'$_2$-NR'$_a$R'$_b$、-NR'$_c$-X'$_2$-N_3和:



◆R_9表示选自直链或支链C_1-C_6烷基、三氟甲基、羟基、卤素、C_1-C_6烷氧基的基团，

◆R_{10}表示选自氢、氟、氯、溴、-CF_3和甲基的基团，

◆R_{11}表示选自氢、卤素、C_1-C_3亚烷基-R_8、-O-C_1-C_3亚烷基-R_8、-CO-NR_hR_i和-CH＝CH-C_1-C_4亚烷基-NR_hR_i、-CH＝CH-CHO、C_3-C_8亚环烷基-CH_2-R_8、C_3-C_8杂环亚烷基-CH_2-R_8的基团，

◆R_{12}和R_{13}彼此独立地表示氢原子或甲基，

◆R_{14}和R_{15}彼此独立地表示氢或甲基，或者R_{14}和R_{15}与带有它们的碳原子形成环己基，

◆R_h和R_i彼此独立地表示氢或直链或支链C_1-C_6烷基，

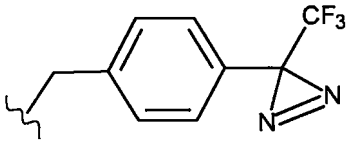
◆X_1表示直链或支链C_1-C_4亚烷基，其任选被一个或两个选自三氟甲基、羟基、卤素、C_1-C_6烷氧基的基团取代，

◆X_2表示直链或支链C_1-C_6亚烷基，其任选被一个或两个选自三氟甲基、羟基、卤素、C_1-C_6烷氧基的基团取代，

◆X'_2表示直链或支链的C_1-C_6亚烷基，

◆R'_a和R'_b彼此独立地表示选自以下的基团：氢；杂环烷基；-SO_2-苯基，其中所述苯基可以被直链或支链C_1-C_6烷基取代；任选被一个或两个羟基或C_1-C_6烷氧基取代的直链或支链C_1-C_6烷基；C_1-C_6亚烷基-SO_2OH；C_1-C_6亚烷基-SO_2O^-；C_1-C_6亚烷基-COOH；C_1-C_6亚烷基-$PO(OH)_2$；C_1-C_6亚烷基-$NR'_dR'_e$；C_1-C_6亚烷基-$N^+R'_dR'_eR'_f$；C_1-C_6亚烷基-O-C_1-C_6亚烷基-OH；C_1-C_6亚烷基-苯基，其中所述苯基可以被羟基或C_1-C_6烷氧基取代；

基团：



或R'_a和R'_b与带有它们的氮原子形成环B_3，

或R'_a、R'_b和R'_c与带有它们的氮原子形成桥连的C_3-C_8杂环烷基，

◆R'_c、R'_d、R'_e、R'_f彼此独立地表示氢或直链或支链C_1-C_6烷基，

或R'_d和R'_e与带有它们的氮原子形成环B_4，

或R'_d、R'_e和R'_f与带有它们的氮原子形成桥连的C_3-C_8杂环烷基，

◆Y_1表示直链或支链的C_1-C_4亚烷基，

◆Y_2表示键、-O-、-O-CH_2-、-O-CO-、-O-SO_2-、-CH_2-、-CH_2-O、-CH_2-CO-、-CH_2-SO_2-、-C_2H_5-、-CO-、-CO-O-、-CO-CH_2-、-CO-NH-CH_2-、-SO_2-、-SO_2-CH_2-、-NH-CO-、-NH-SO_2-、

◆m＝0、1或2，

◆p＝1、2、3或4，

◆B_1、B_2、B_3和B_4彼此独立地表示C_3-C_8杂环烷基，所述基团可以：(i)是单环或双环基团，其中双环基团包括稠合、桥连或螺环系统，(ii)除氮原子外，还可以含有一个或两个独立地选自氧、硫和氮的杂原子，(iii)被一个或两个选自以下的基团取代：氟、溴、氯、直链或支链C_1-C_6烷基、羟基、-NH_2、氧代或哌啶基，

其中如果存在，R_3和R_8基团之一共价附接至接头，并且其中原子不会由于一个或多个与其键合的取代基而超出化合价。

2.如权利要求1所述的抗体-药物缀合物,其中p是1至6或2至4的整数,或者p是2或4;或p通过液相色谱-质谱法(LC-MS)测定。

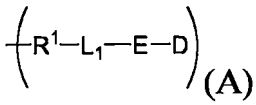
3.如权利要求1或2所述的抗体-药物缀合物,其中L包括:

附接基团;

至少一个桥连间隔基基团;以及

至少一个可切割基团,任选地至少一个包含焦磷酸基团和/或自分解基团的可切割基团。

4.如权利要求3所述的抗体-药物缀合物,其中-(L-D)具有式(A):

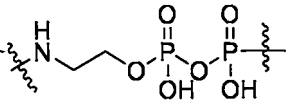


其中:

R^1是附接基团;

L_1是桥连间隔基基团;

E是可切割基团。

5.如权利要求3或4所述的抗体-药物缀合物,其中所述可切割基团包含焦磷酸基团或所述可切割基团包含。

6.如权利要求3或4所述的抗体-药物缀合物,其中所述桥连间隔基基团包含:

(i)聚氧乙烯(PEG)基团;

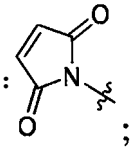
(ii)PEG基团,其选自PEG1、PEG2、PEG3、PEG4、PEG5、PEG6、PEG7、PEG8、PEG9、PEG10、PEG11、PEG12、PEG13、PEG14和PEG15;

(iii)-CO-CH_2-CH_2-PEG12-基团;

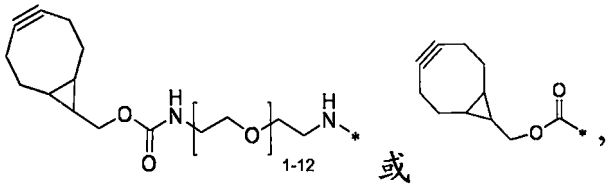
(iv)丁酰基、戊酰基、己酰基、庚酰基或辛酰基;或者

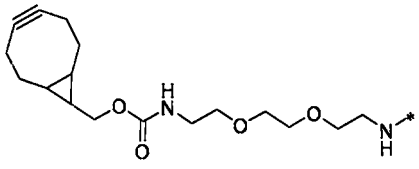
(v)己酰基。

7.如权利要求6所述的抗体-药物缀合物,其中(i)所述附接基团由至少一个选自马来酰亚胺基团、硫醇基团、环辛炔基团和叠氮基基团的反应性基团形成;任选地,其中:

a)所述马来酰亚胺基团具有以下结构:;

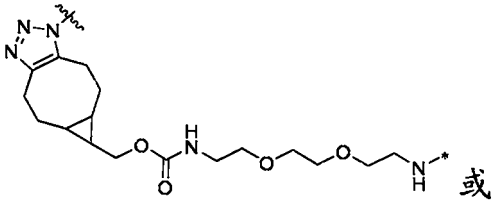
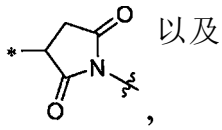
b)所述叠氮基基团具有以下结构:-N=N^+=N^-;

c)所述环辛炔基团具有以下结构:,并且其中-*是至抗体的键;或者

d)所述环辛炔基团具有以下结构：以及

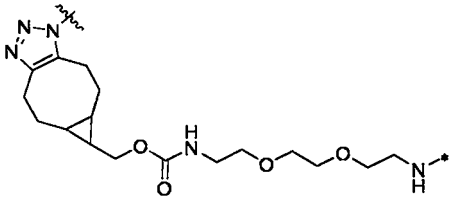
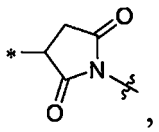
其中-*是至抗体的键;或者

(ii)所述附接基团具有包含以下的式：

或以及

其中-*是至抗体的键。

8.如权利要求7所述的抗体-药物缀合物,其中所述抗体通过选自以下的附接基团与所述接头(L)连接：

和

其中-*是至抗体的键,并且其中是至所述桥连间隔基基团的键。

9.如权利要求8所述的抗体-药物缀合物,其中所述桥连间隔基基团是-CO-CH_2-CH_2-PEG12-。

10.如权利要求8或9所述的抗体-药物缀合物,其中所述桥连间隔基基团与可切割基团接合;任选地,所述可切割基团是-焦磷酸-CH_2-CH_2-NH_2-。

11.如权利要求8至10中任一项所述的抗体-药物缀合物,其中所述可切割基团与Bcl-xL抑制剂(D)接合。

12.如权利要求1至3中任一项所述的抗体-药物缀合物,其中所述接头包括：

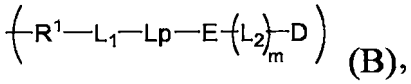
附接基团,

至少一个桥连间隔基基团,

肽基团,和

至少一个可切割基团。

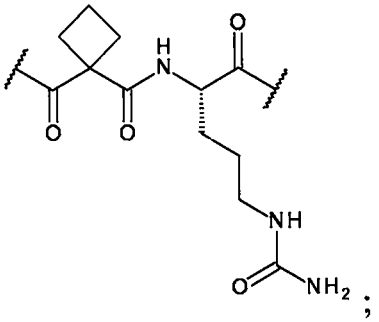
13.如权利要求12所述的抗体-药物缀合物,其中-(L-D)具有式(B)：

(B),

其中：

R^1是附接基团;

L_1是桥连间隔基;

Lp是包含1至6个氨基酸残基的肽基团，或者Lp包含基团 ；

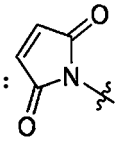
E是可切割基团

L_2是桥连间隔基；

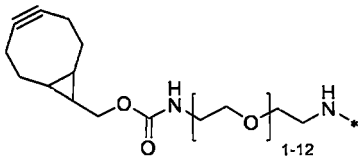
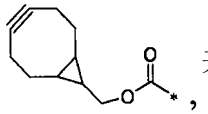
m是0或1；以及

D是Bcl-xL抑制剂。

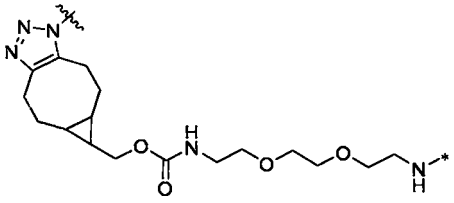
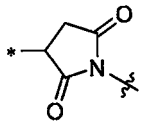
14.如权利要求12或13所述的抗体-药物缀合物，其中(i)所述附接基团由包括马来酰亚胺基团、硫醇基团、环辛炔基团和/或叠氮基基团的至少一个反应性基团形成，任选地其中：

a)所述马来酰亚胺基团具有以下结构：；

b)所述叠氮基基团具有以下结构：$-N=N^+=N^-$；

c)所述环辛炔基团具有以下结构：或，并且其中-*是至抗体的键；或者

(ii)所述附接基团具有包含以下的式：

或以及

其中-*是至抗体的键。

15.如权利要求12至14中任一项所述的抗体-药物缀合物，其中：

(i)至少一个桥接间隔基包含PEG基团，任选地，所述PEG基团选自PEG1、PEG2、PEG3、PEG4、PEG5、PEG6、PEG7、PEG8、PEG9、PEG10、PEG11、PEG12、PEG13、PEG14，和PEG15；或者

(ii)至少一个桥连间隔基选自*-C(O)-CH_2-CH_2-PEG1-**、*-C(O)-CH_2-PEG3-**、*-C(O)-CH_2-CH_2-PEG12**、*-NH-CH_2-CH_2-PEG1-**、多羟基烷基、*-C(O)-N(CH_3)-CH_2-CH_2-N(CH_3)-C(O)-**、和*-C(O)-CH_2-CH_2-PEG12-NH-C(O)CH_2-CH_2-**，其中**表示所述至少一个桥连间隔基直接或间接附接至所述附接基团的点，并且*表示所述至少一个桥连间隔基直接或间接附接至所述肽基团的点。

16.如权利要求12至15中任一项所述的抗体-药物缀合物，其中L_1选自*-C(O)-CH_2-CH_2-

PEG1-**、*-C(O)-CH_2-PEG3-**、*-C(O)-CH_2-CH_2-PEG12**、*-NH-CH_2-CH_2-PEG1-**，和多羟基烷基，其中**表示L_1直接或间接附接至R^1的点，*表示L_1直接或间接附接至Lp的点。

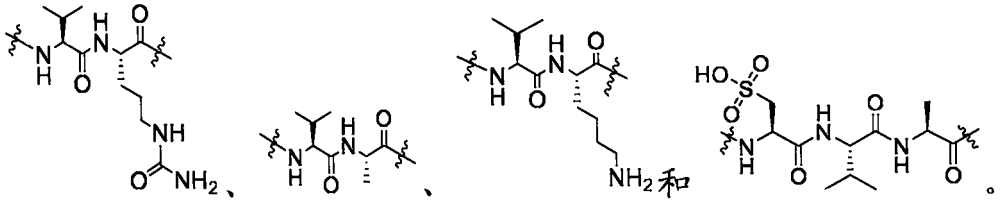
17.如权利要求12至16中任一项所述的抗体-药物缀合物，其中m是1且L_2是-C(O)-N(CH_3)-CH_2-CH_2-N(CH_3)-C(O)-。

18.如权利要求12至17中任一项所述的抗体-药物缀合物，其中

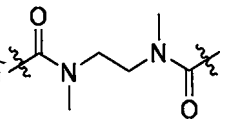
(i)所述肽基团包含1至6、1至4、1至3或1至2个氨基酸残基，任选地，所述氨基酸残基选自L-甘氨酸(Gly)、L-缬氨酸(Val)、L-瓜氨酸(Cit)、L-磺基丙氨酸(磺基-Ala)、L-赖氨酸(Lys)、L-异亮氨酸(Ile)、L-苯丙氨酸(Phe)、L-蛋氨酸(Met)、L-天冬酰胺(Asn)、L-脯氨酸(Pro)、L-丙氨酸(Ala)、L-亮氨酸(Leu)、L-色氨酸(Trp)和L-酪氨酸(Tyr)；

(ii)所述肽基团包含Val-Cit、Val-Ala、Val-Lys和/或磺基-Ala-Val-Ala；

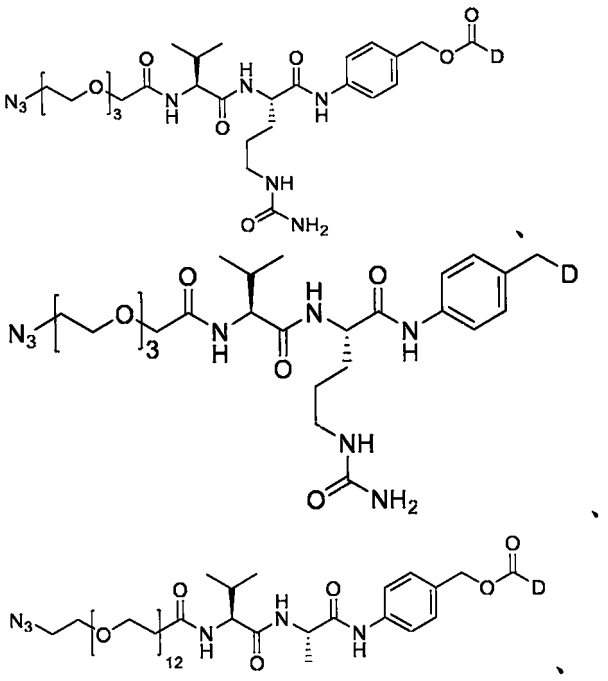
(iii)所述肽基团选自：

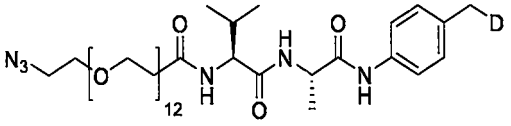


19.如权利要求12至18中任一项所述的抗体-药物缀合物，其中(i)所述可切割基团包括焦磷酸基团和/或自分解基团；(ii)所述可切割基团包括自分解基团；或(iii)所述可切割基团包含自分解基团，所述自分解基团包含对氨基苄基-氨基甲酸酯、对氨基苄基-铵、对氨基-(磺基)苄基-铵、对氨基-(磺基)苄基-氨基甲酸酯、对氨基-(烷氧基-PEG-烷基)苄基-氨基甲酸酯、对氨基-(多羟基羧基四氢吡喃基)烷基-苄基-氨基甲酸酯或对氨基-(多羟基羧基四氢吡喃基)烷基-苄基-铵。

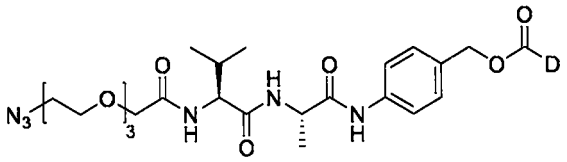
20.如权利要求13至19中任一项所述的抗体-药物缀合物，其中m是0或1或者m是1并且所述桥接间隔基包含。

21.如权利要求13-20中任一项所述的抗体-药物缀合物，其中-(L-D)由选自以下的化合物形成：

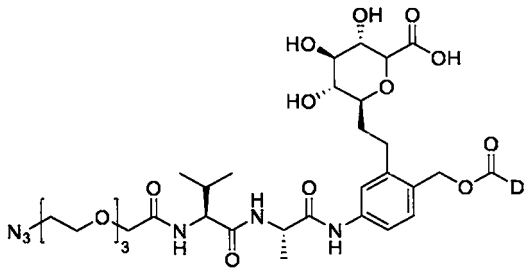




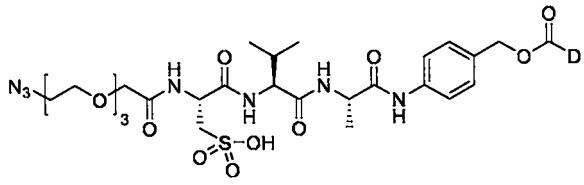
、



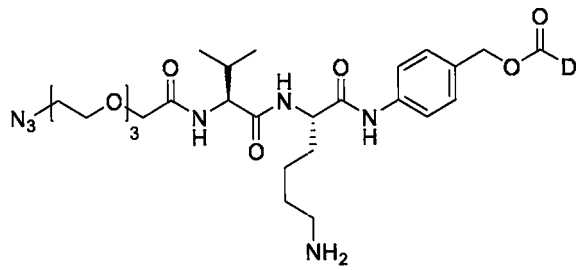
、



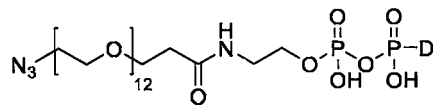
、



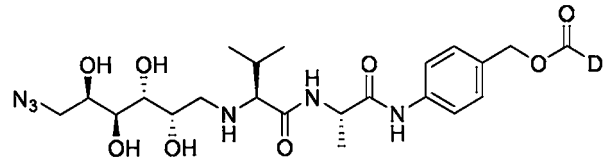
、



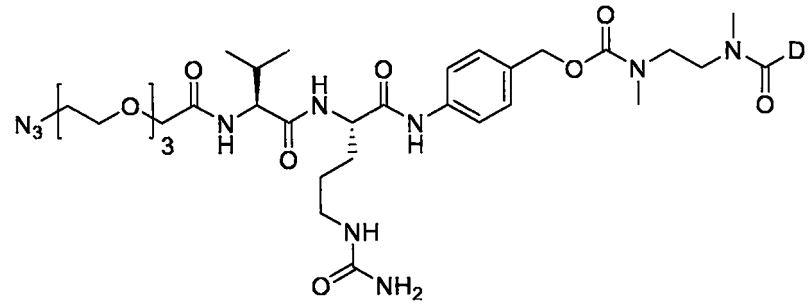
、



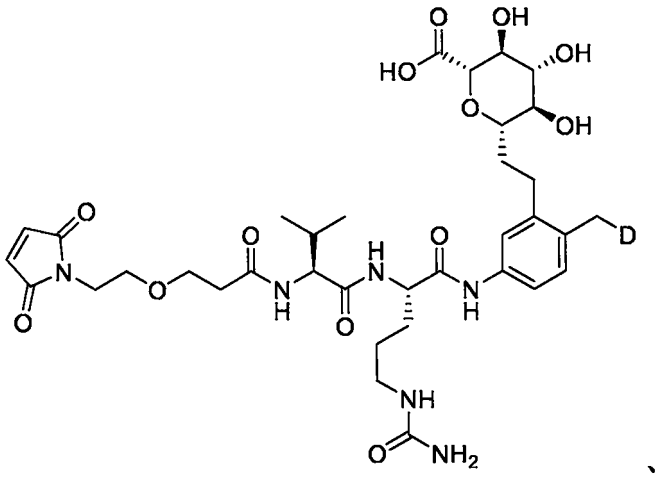
、



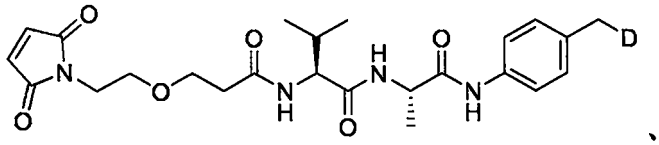
、



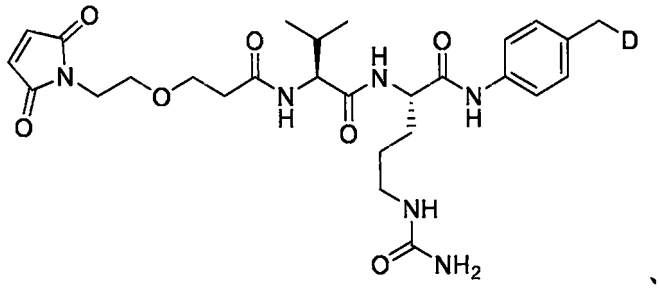
、



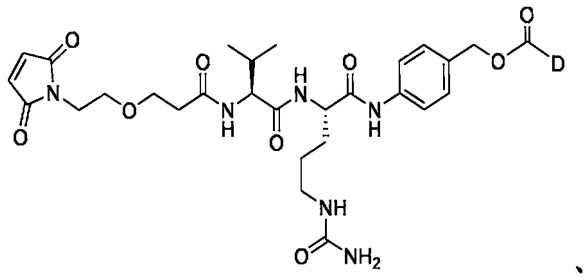
、



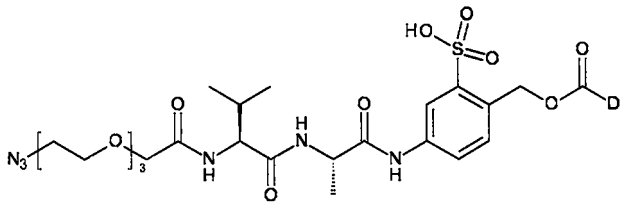
、



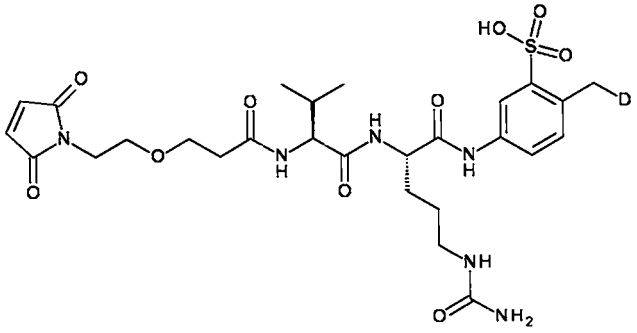
、



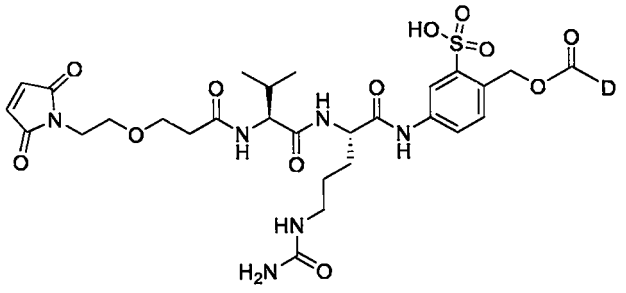
、



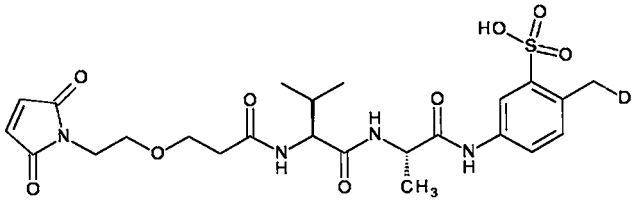
、



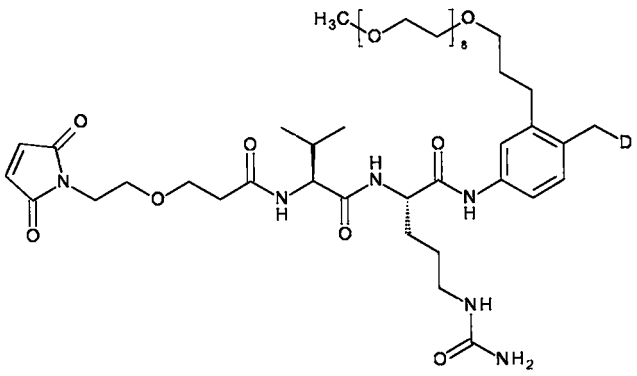
、



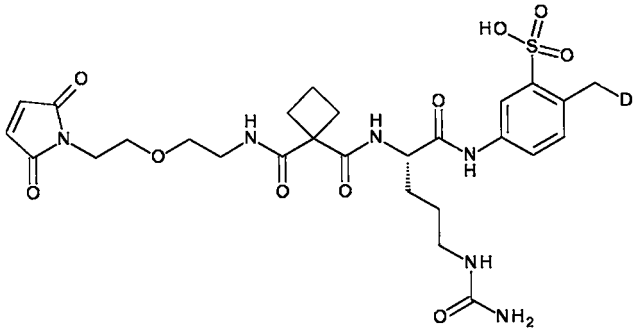
、



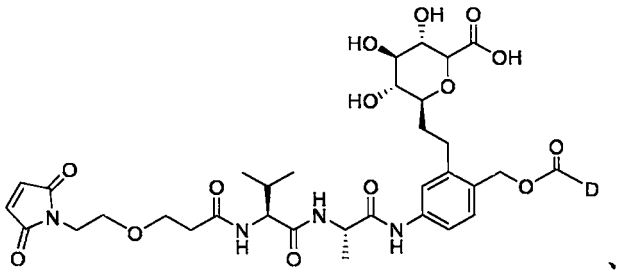
、

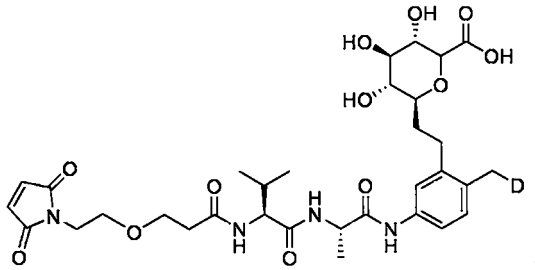


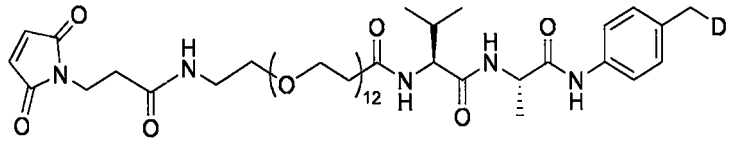
、

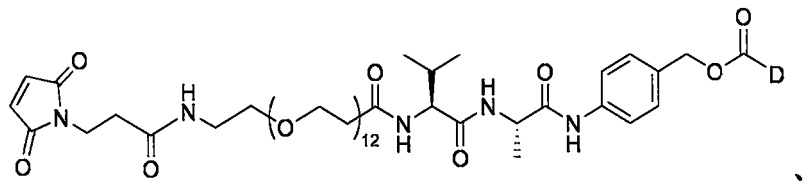


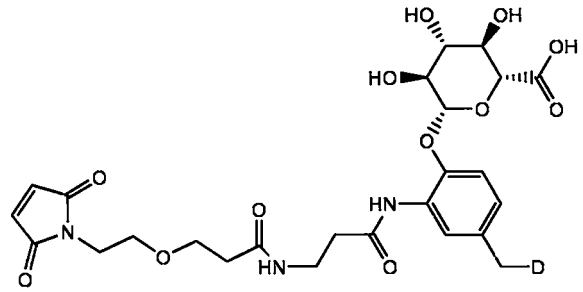
、

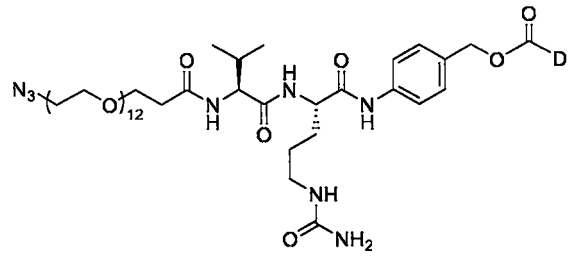

、


、

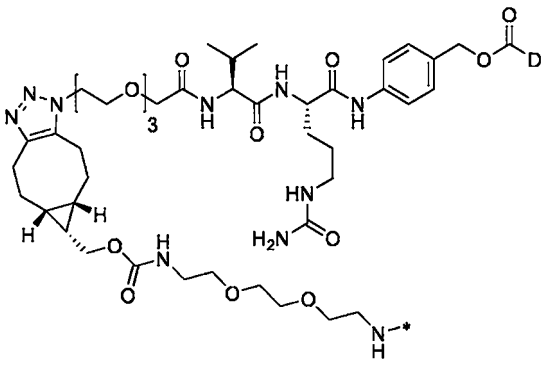

、


、

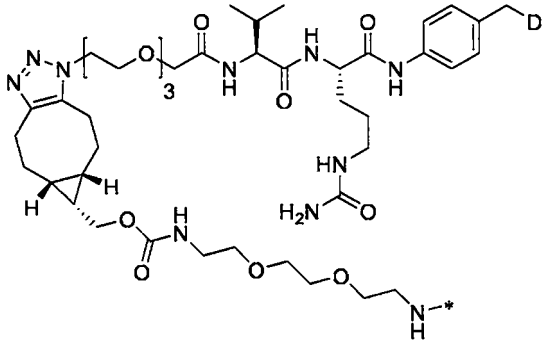

、以及


。

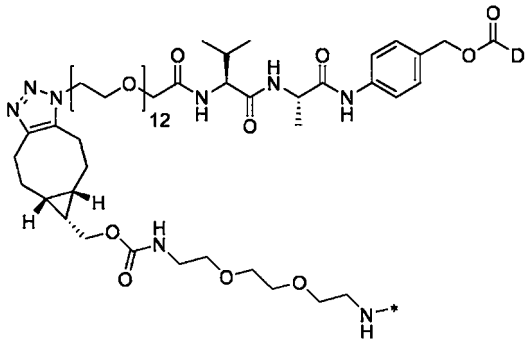
22.如权利要求13-21中任一项所述的抗体-药物缀合物，其中-(L-D)包含选自以下的式：



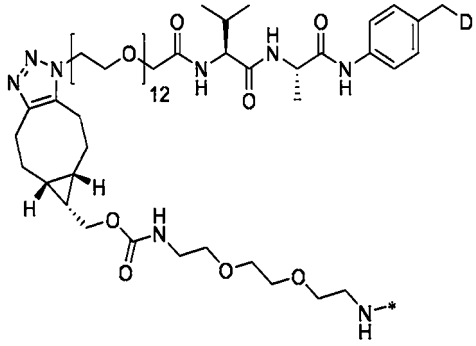
、



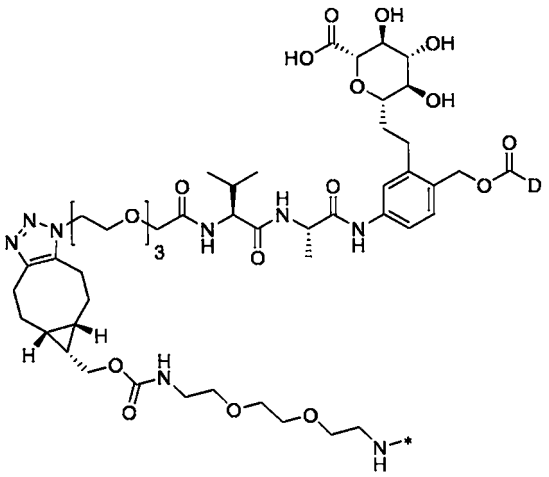
、

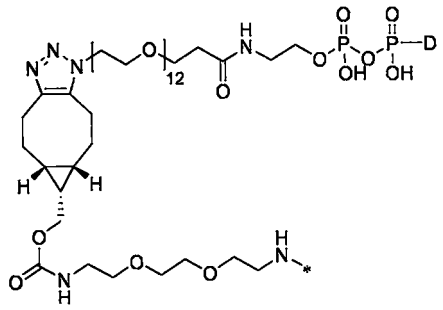


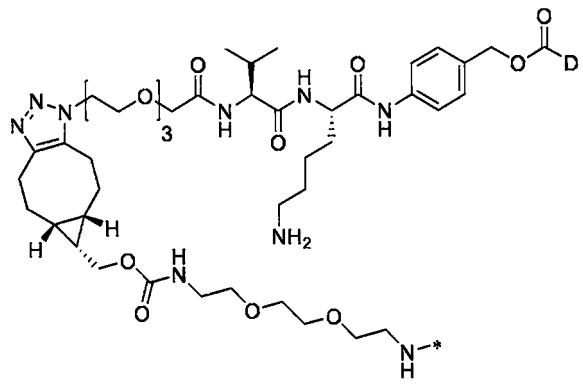
、

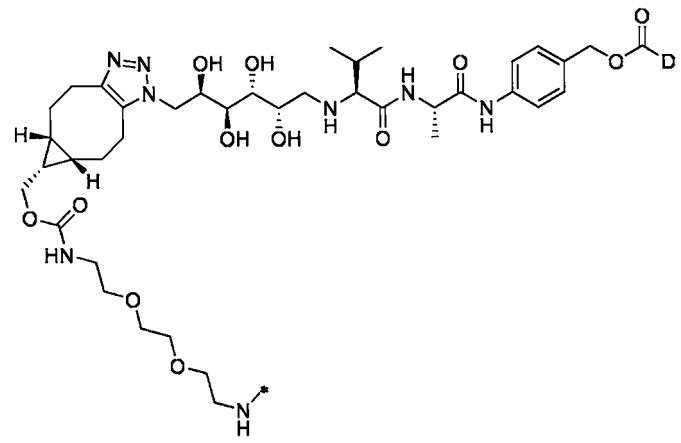


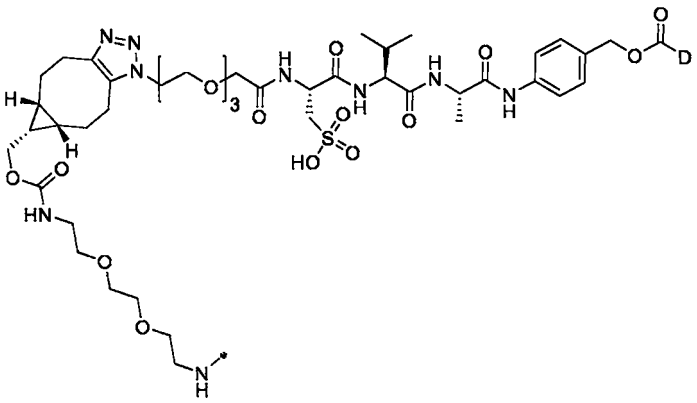
、



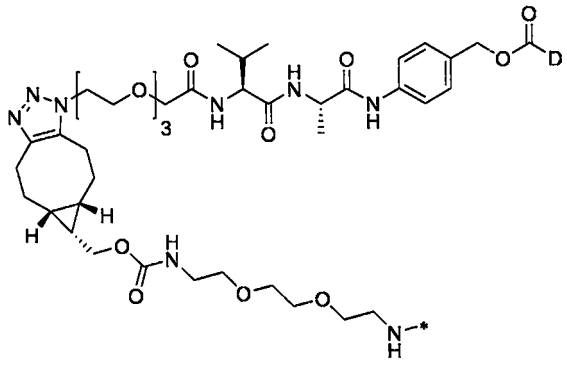




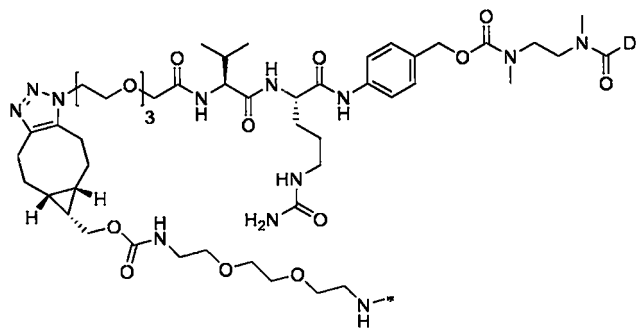




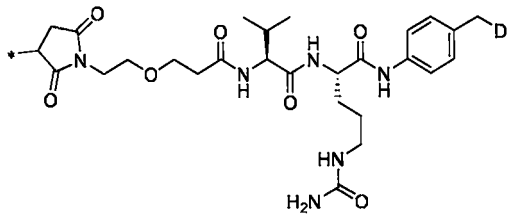
、



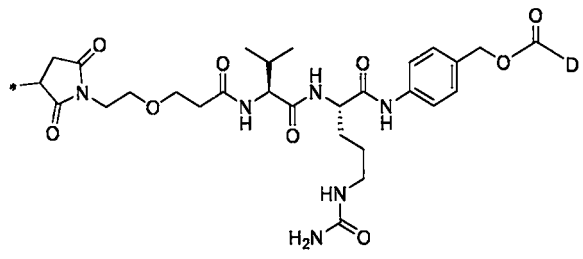
、



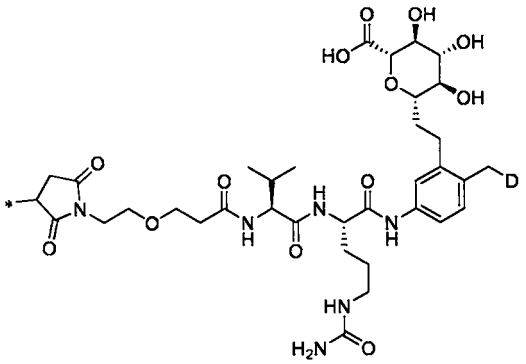
、



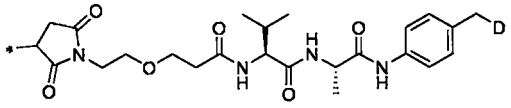
、



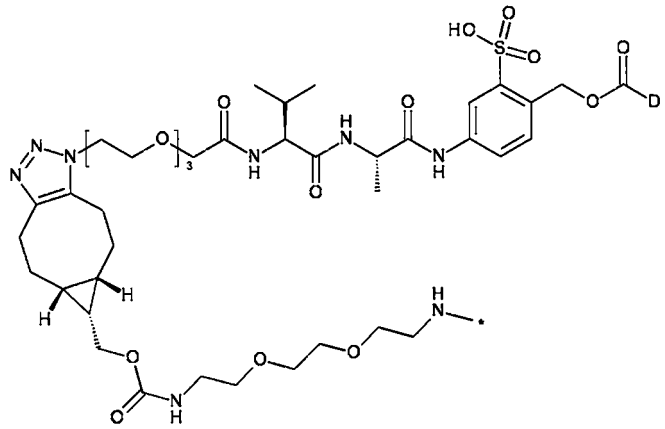
、



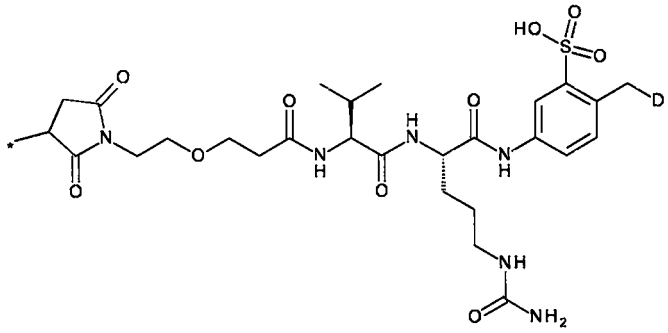
、



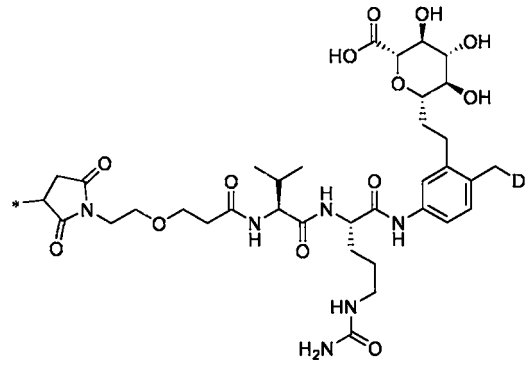
、



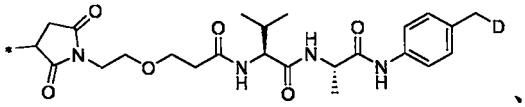
、



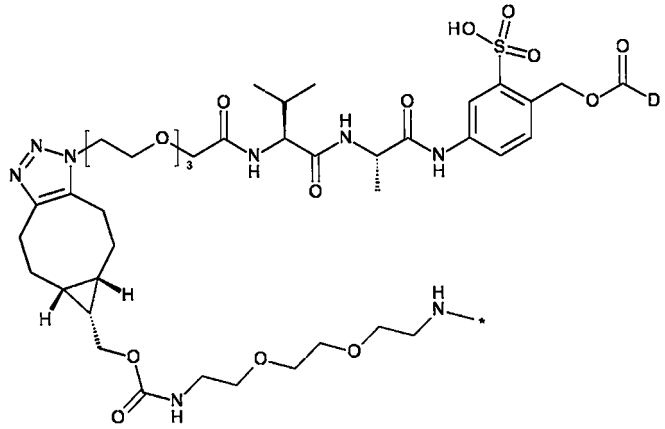
、



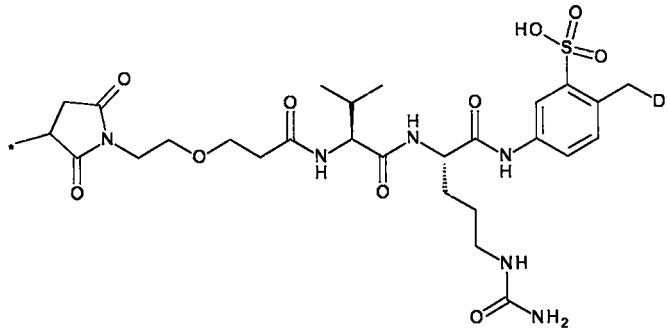
、



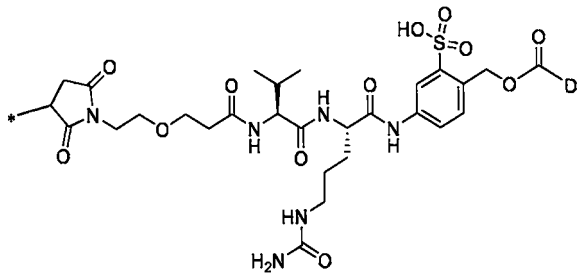
、



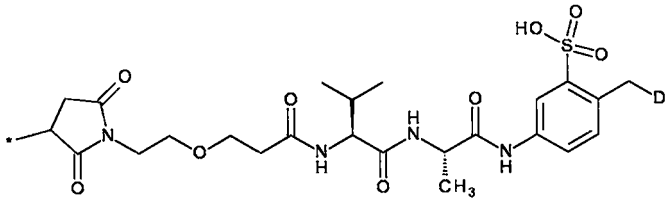
、



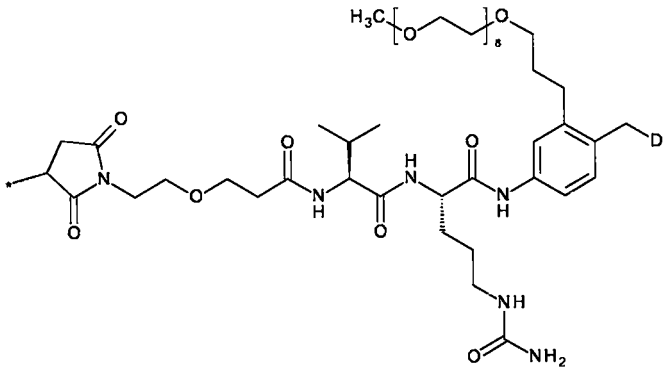
、



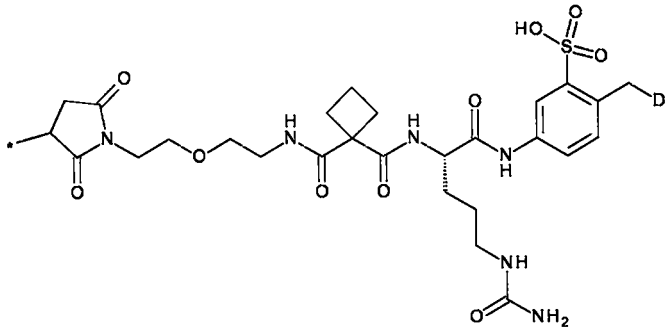
、



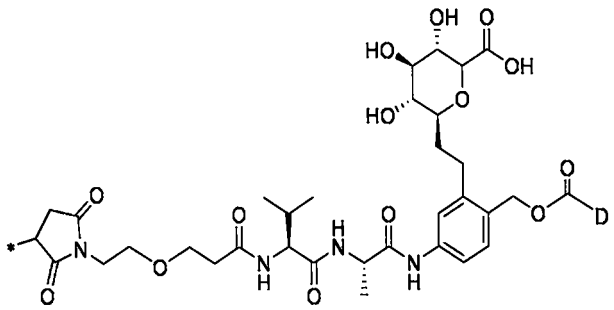
、



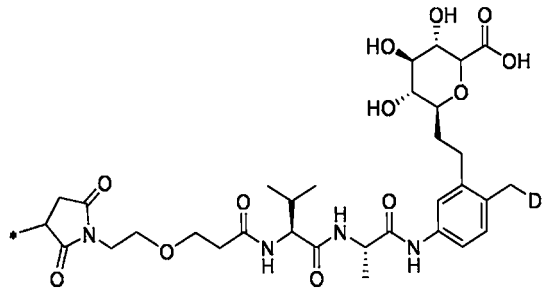
、



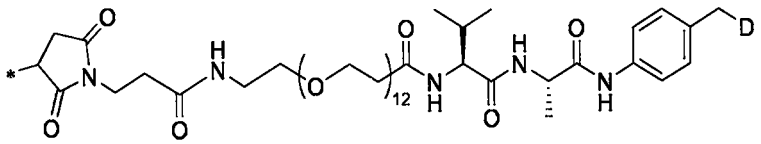
、



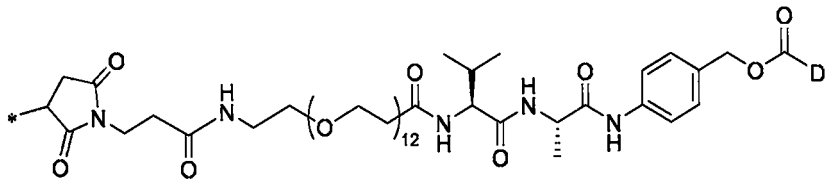
、



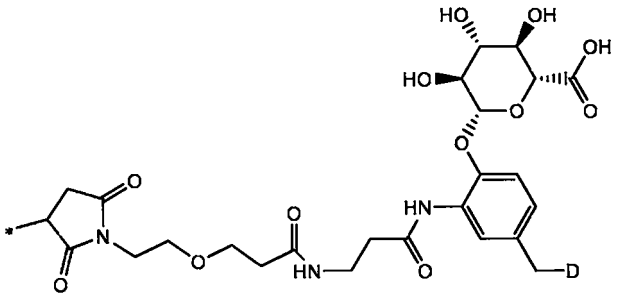
、

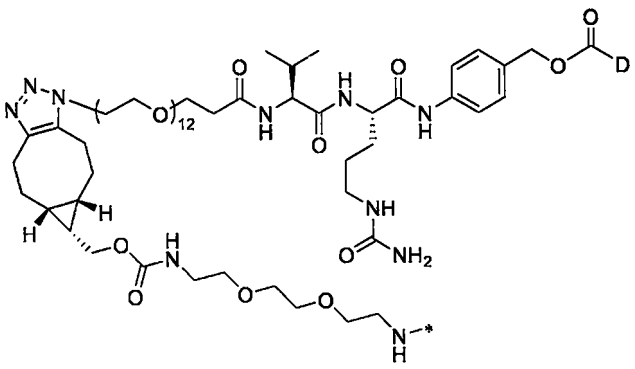


、



、

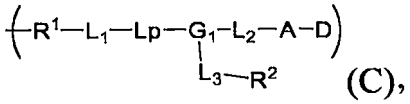

以及


、

以及

其中-*是至抗体的键。

23.如权利要求1或2所述的抗体-药物缀合物,其中-(L-D)具有式(C):


(C),

其中:

R^1是附接基团;

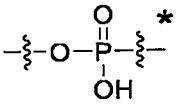
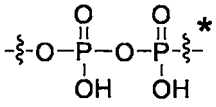
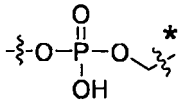
L_1是桥连间隔基;

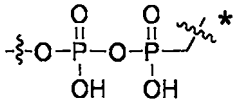
L_p是包含1至6个氨基酸的肽基团;

D是Bcl-xL抑制剂;

G_1-L_2-A是自分解间隔基;

L_2为键、亚甲基、新亚戊基或C_2-C_3亚烯基;

A是键、-OC(=O)-*、、、、

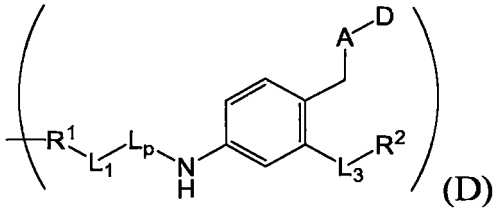

-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-*或-OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-*,

其中每个R^a独立地选自H、C_1-C_6烷基和C_3-C_8环烷基,A的*表示与D的附接点;

L_3是间隔基部分;以及

R^2是亲水部分。

24.如权利要求23所述的抗体-药物缀合物或其药学上可接受的盐,其中-(L-D)由式(D)表示:



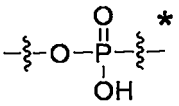
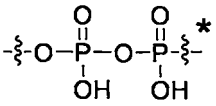
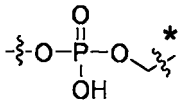
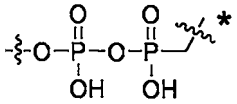
(D)

其中：

R^1是附接基团；

L_1是桥连间隔基；

Lp是包含1至6个氨基酸的肽基团；

A是键、-OC(=O)-*、、、、、-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-*或-OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-*，

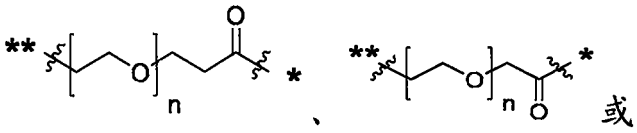
其中每个R^a独立地选自H、C_1-C_6烷基和C_3-C_8环烷基，A的*表示与D的附接点；

L_3是间隔基部分；以及

R^2是亲水部分。

25.如权利要求23或24所述的抗体-药物缀合物，其中：

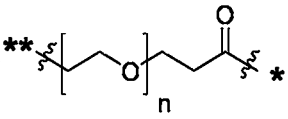
(1)L_1包含：

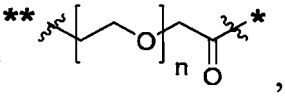


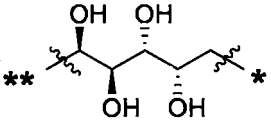
或

*-CH(OH)CH(OH)CH(OH)CH(OH)-**，

其中每个n为1至12的整数，其中L_1的*表示与Lp直接或间接附接的点，L_1的**表示与R^1直接或间接附接的点；

(2)L_1为，n为1至12的整数或n为1或n为12，其中L_1的*表示与Lp直接或间接附接的点，L_1的**表示与R^1直接或间接附接的点；

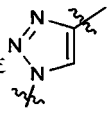
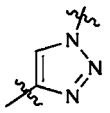
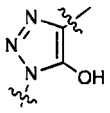
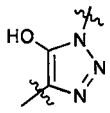
(3)L_1是，并且n是1至12的整数，其中L_1的*表示与Lp直接或间接附接的点，L_1的**表示与R^1直接或间接附接的点；

(4)L_1包含，其中L_1的*表示与Lp直接或间接附接的点，L_1的**表示与R^1直接或间接附接的点；

(5)L_1是桥接间隔基，其包含：

*-C(=O)$(CH_2)_m$O$(CH_2)_m$-**;*-C(=O)$((CH_2)_m O)_t(CH_2)_n$-**;*-C(=O)$(CH_2)_m$-**;*-C(=

0)NH((CH$_2$)$_m$O)$_t$(CH$_2$)$_n$-**;*-C(=O)O(CH$_2$)$_m$SSC(R^3)$_2$(CH$_2$)$_m$C(=O)NR^3(CH$_2$)$_m$NR^{3}C(=O)(CH$_2$)$_m$-**;*-C(=O)O(CH$_2$)$_m$C(=O)NH(CH$_2$)$_m$-**;*-C(=O)(CH$_2$)$_m$NH(CH$_2$)$_m$-**;*-C(=O)(CH$_2$)$_m$NH(CH$_2$)$_n$C(=O)-**;*-C(=O)(CH$_2$)$_m$X$_1$(CH$_2$)$_m$-**;*-C(=O)((CH$_2$)$_m$O)$_t$(CH$_2$)$_n$X$_1$(CH$_2$)$_n$-**;*-C(=O)(CH$_2$)$_m$NHC(=O)(CH$_2$)$_n$-**;*-C(=O)((CH$_2$)$_m$O)$_t$(CH$_2$)$_n$NHC(=O)(CH$_2$)$_n$-**;*-C(=O)(CH$_2$)$_m$NHC(=O)(CH$_2$)$_n$X$_1$(CH$_2$)$_n$-**;*-C(=O)((CH$_2$)$_m$O)$_t$(CH$_2$)$_n$NHC(=O)(CH$_2$)$_n$X$_1$(CH$_2$)$_n$-**;*-C(=O)((CH$_2$)$_m$O)$_t$(CH$_2$)$_n$C(=O)NH(CH$_2$)$_m$-**;*-C(=O)(CH$_2$)$_m$C(R^3)$_2$-**或*-C(=O)(CH$_2$)$_m$C(=O)NH(CH$_2$)$_m$-**，其中L$_1$的*表示直接或间接附接至Lp的点，并且L$_1$的**表示直接或间接附接至R^{1}的点；

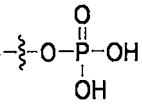
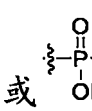
X$_1$是、、或；以及

每个m独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10；

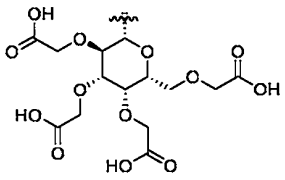
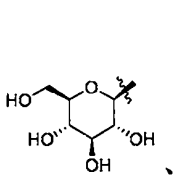
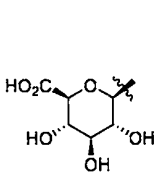
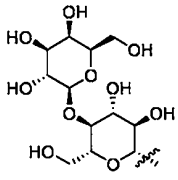
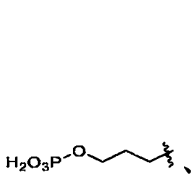
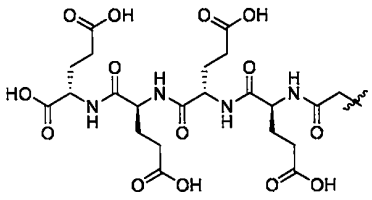
每个n独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10；以及

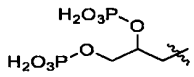
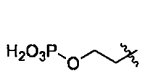
每个t独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29和30；

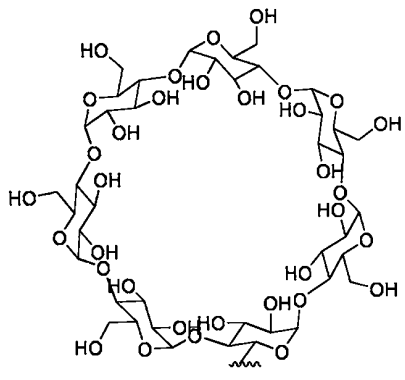
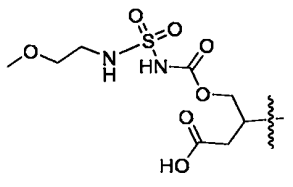
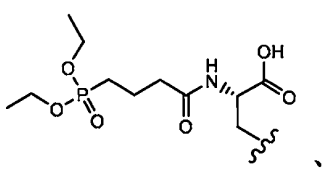
并且每个R^{3}独立地选自H和C$_1$-C$_6$烷基。

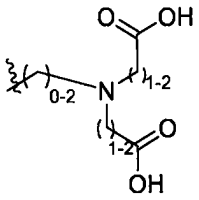
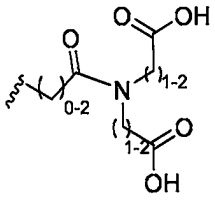
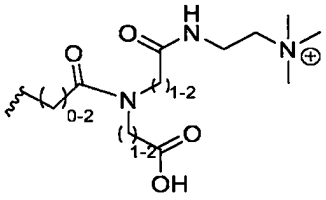
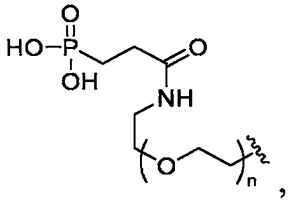
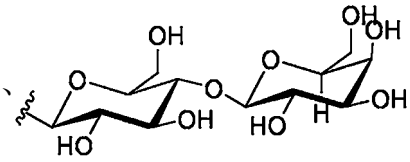
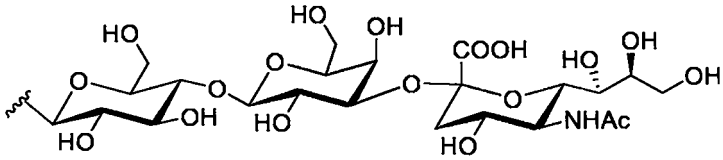
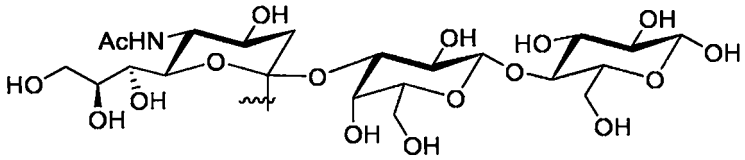
26.如权利要求23至25中任一项所述的抗体-药物缀合物，其中R^{2}是亲水部分，其包含聚乙二醇、聚亚烷基二醇、多元醇、聚肌氨酸、糖、寡糖、多肽、被1至3个或取代的C$_2$-C$_6$烷基、或被1至2个独立选自-OC(=O)NHS(O)$_2$NHCH$_2$CH$_2$OCH$_3$、-NHC(=O)C$_{1-4}$亚烷基-P(O)(OCH$_2$CH$_3$)$_2$和-COOH基团的取代基取代的C$_2$-C$_6$烷基。

27.如权利要求23至26中任一项所述的抗体-药物缀合物，其中R^{2}是

、、、、、

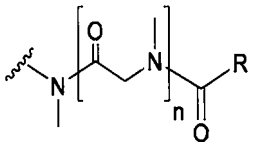
、、

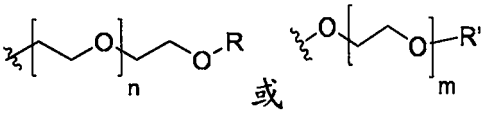
、、、


、
、
、
，其中n是1到6之间的整数、
、
或
。

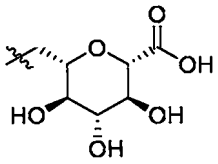
28.如权利要求23或24所述的抗体-药物缀合物，其中所述亲水部分包含：

(i)具有以下部分的聚肌氨酸：


其中n是3至25之间的整数；并且R是H、$-CH_3$或$-CH_2CH_2C(=O)OH$；或者，

(ii)下式的聚乙二醇：
其中R为H、$-CH_3$、$CH_2CH_2NHC(=O)OR_a$、$-CH_2CH_2NHC(=O)R_a$、或$-CH_2CH_2C(=O)OR_a$、R'为OH、$-OCH_3$、$CH_2CH_2NHC(=O)OR_a$、$-CH_2CH_2NHC(=O)R_a$或$-OCH_2CH_2C(=O)OR_a$，其中R_a是H或任选被OH或C_{1-4}烷氧基取代的C_{1-4}烷基，m和n各自独立地是2至25之间的整数。

29.如权利要求23至27中任一项所述的抗体-药物缀合物，其中所述亲水部分包含


。

30.如权利要求23至29中任一项所述的抗体-药物缀合物，其中：

(i)L_3是具有结构-W-X-的间隔基部分，

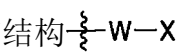
其中：

W为$-CH_2-$、$-CH_2O^-$、$-CH_2N(R^b)C(=O)O-$、$-NHC(=O)C(R^b)_2NHC(=O)O-$、$-NHC(=O)C(R^b)_2NH-$、$-NHC(=O)C(R^b)_2NHC(=O)-$、$-CH_2N(X-R^2)C(=O)O-$、$-C(=O)N(X-R^2)-$、$-CH_2N(X-R^2)C(=O)-$、$-C(=O)NR^b-$、$-C(=O)NH-$、$-CH_2NR^bC(=O)-$、$-CH_2NR^bC(=O)NH-$、$-CH_2NR^bC(=O)NR^b-$、$-NHC(=O)-$、$-NHC(=O)O-$、$-NHC(=O)NH-$、$-OC(=O)NH-$、$-S(O)_2NH-$、$-NHS(O)_2-$、$-C(=$

O)-、-C(=O)O-或-NH-,其中每个R^b独立地选自H、C_1-C_6烷基和C_3-C_8环烷基;以及

X是键、三唑基或-CH_2-三唑基-,

其中X连接至R^2;或者

(ii)L_3是具有结构的间隔基部分,

其中:

W为-CH_2-、-CH_2O-、-$CH_2N(R^b)C(=O)O$-、-NHC(=O)$C(R^b)_2$NHC(=O)O-、-NHC(=O)$C(R^b)_2$NH-、-NHC(=O)$C(R^b)_2$NHC(=O)-、-$CH_2N(X-R^2)C(=O)$-、-C(=O)$N(X-R^2)$-、-$CH_2N(X-R^2)C(=O)$-、-C(=O)NR^b-、-C(=O)NH-、-$CH_2NR^bC(=O)$-、-$CH_2NR^bC(=O)NH$-、-$CH_2NR^bC(=O)NR^b$-、-NHC(=O)-、-NHC(=O)O-、-NHC(=O)NH-、-OC(=O)NH-、-$S(O)_2$NH-、-$NHS(O)_2$-、-C(=O)-、-C(=O)O-或-NH-,其中每个R^b独立地选自H、C_1-C_6烷基和C_3-C_8环烷基;以及

X是-CH_2-三唑基-C_{1-4}亚烷基-OC(O)$NHS(O)_2$NH-、-C_{4-6}环亚烷基-OC(O)$NHS(O)_2$NH-、-$(CH_2CH_2O)_n$-C(O)$NHS(O)_2$NH-、-$(CH_2CH_2O)_n$-C(O)$NHS(O)_2$NH-$(CH_2CH_2O)_n$-、-CH_2-三唑基-C_{1-4}亚烷基-OC(O)$NHS(O)_2$NH-$(CH_2CH_2O)_n$-、-C_{4-6}环亚烷基-OC(O)$NHS(O)_2$NH-$(CH_2CH_2O)_n$-,其中每个n独立地是1、2或3,

其中X连接至R^2。

31.如权利要求3至30中任一项所述的抗体-药物缀合物,其中所述附接基团通过包含至少一个反应性基团的反应形成。

32.如权利要求3至31中任一项所述的抗体-药物缀合物,其中所述附接基团通过使以下反应形成:

附接至所述接头的第一反应性基团,和

附接至所述抗体或者是所述抗体的氨基酸残基的第二反应性基团,其中任选地,

(i)至少一个所述反应性基团包括:

硫醇、

马来酰亚胺、

卤代乙酰胺、

叠氮化物、

炔烃、

环辛烯、

三芳基膦、

氧杂降冰片二烯、

环辛炔、

二芳基四嗪、

单芳基四嗪、

降冰片烯、

醛、

羟胺、

肼、

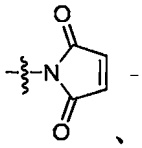
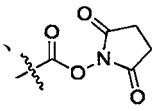
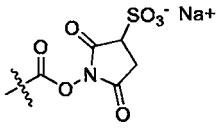
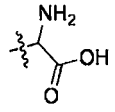
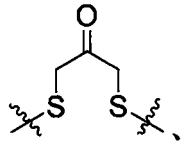
NH_2-NH-C(=O)-、

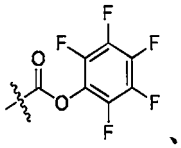
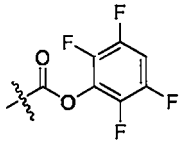
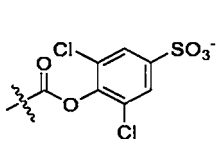
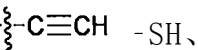
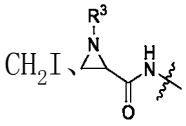
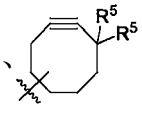
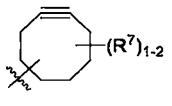
酮、

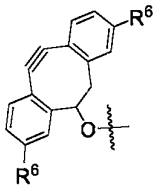
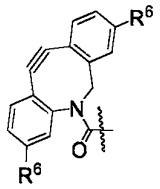
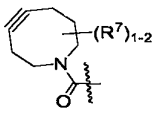
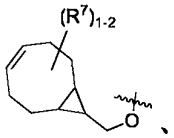
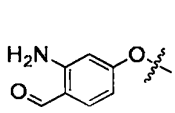
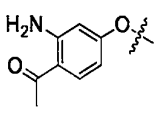
乙烯基砜、

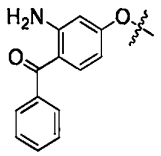
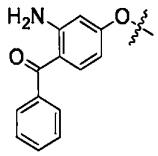
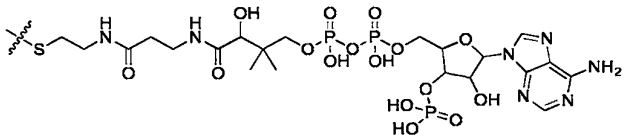
氮杂环丙烷、

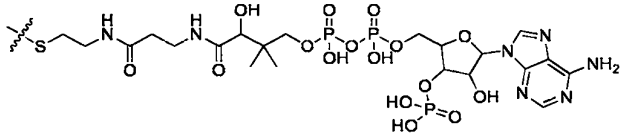
氨基酸残基、

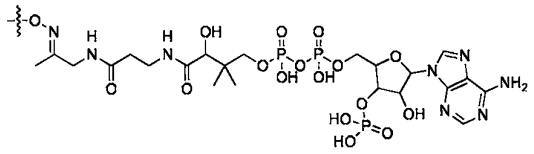
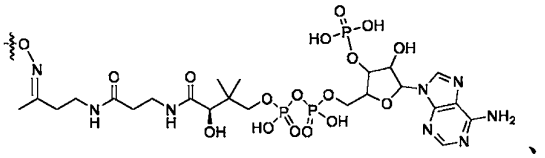
、-ONH$_2$、-NH$_2$、、、、、

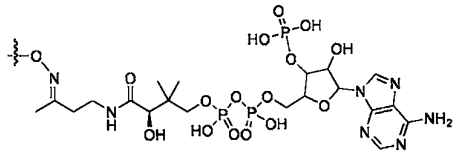
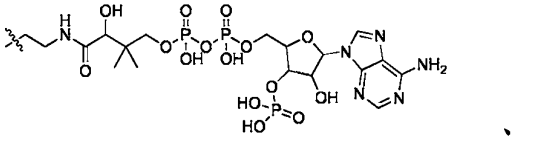
、、、-N$_3$、、-SH、-SR^3、-SSR^4、-S(=O)$_2$(CH=CH$_2$)、-(CH$_2$)$_2$S(=O)$_2$(CH=CH$_2$)、-NHS(=O)$_2$(CH=CH$_2$)、-NHC(=O)CH$_2$Br、-NHC(=O)CH$_2$I、、-C(O)NHNH$_2$、、、

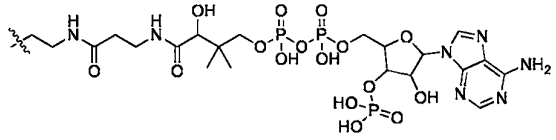
、、、、、、

、、、

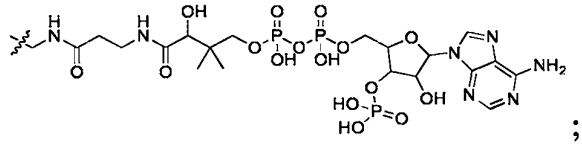
、

、、

、、



或

；

其中：

每个R^{3}独立地选自H和C$_1$-C$_6$烷基；

每个R^4是2-吡啶基或4-吡啶基；

每个R^5独立地选自H、C_1-C_6烷基、F、Cl和-OH；

每个R^6独立地选自H、C_1-C_6烷基、F、Cl、-NH_2、-OCH_3、-OCH_2CH_3、-$N(CH_3)_2$、-CN、-NO_2和-OH；

每个R^7独立地选自H、C_{1-6}烷基、氟、被-C(=O)OH取代的苄氧基、被-C(=O)OH取代的苄基，被-C(=O)OH取代的C_{1-4}烷氧基和被-C(=O)OH取代的C_{1-4}烷基；和/或

(ii)所述第一反应性基团和所述第二反应性基团包括：

硫醇和马来酰亚胺、

硫醇和卤代乙酰胺、

硫醇和乙烯基砜、

硫醇和氮杂环丙烷、

叠氮化物和炔烃、

叠氮化物和环辛炔、

叠氮化物和环辛烯、

叠氮化物和三芳基膦、

叠氮化物和氧代降冰片二烯、

二芳基四嗪和环辛烯、

单芳基四嗪和降冰片烯、

醛和羟胺、

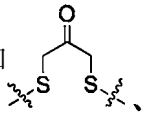
醛和肼、

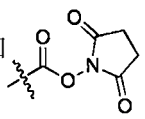
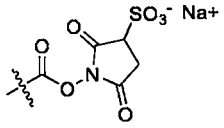
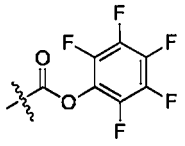
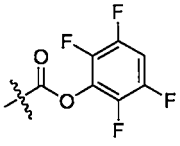
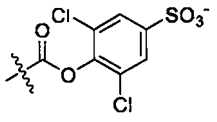
醛和NH_2-NH-C(=O)-、

酮和羟胺、

酮和肼、

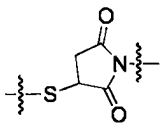
酮和NH_2-NH-C(=O)-，

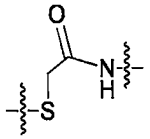
羟胺和 、

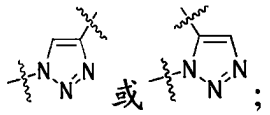
胺和 、、、或或，

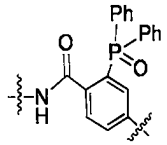
CoA或CoA类似物和丝氨酸残基。

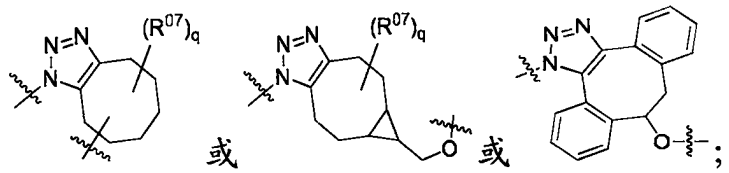
33.如权利要求3至32中任一项所述的抗体-药物缀合物，其中所述附接基团包括选自以下的基团：

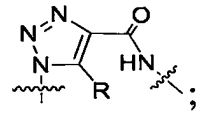

;

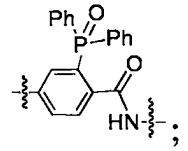

;

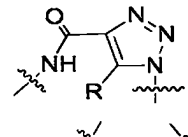

或 ;

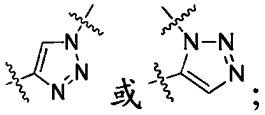

;

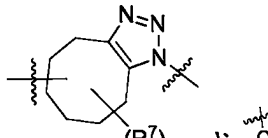

或 或 ;

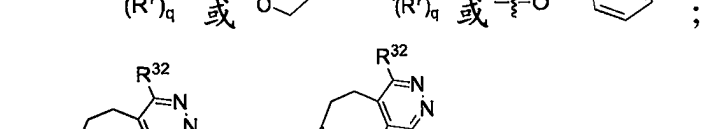

;

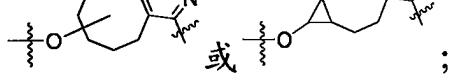

;

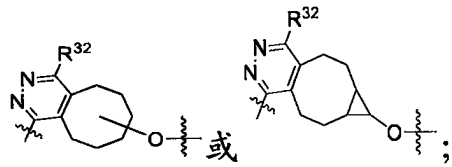

;

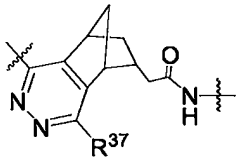

;

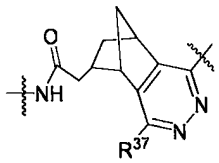

或 ;

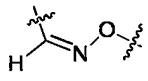

或 或 ;

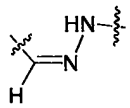

或 ;

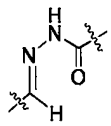

或 ;

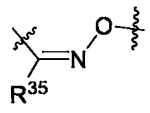

;

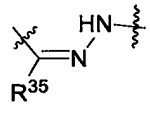

;

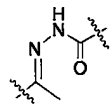

;

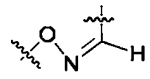

;

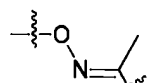

;

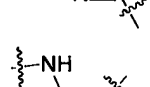

;

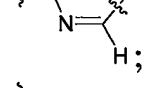

;

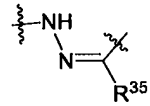

;

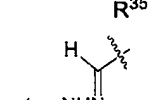

;

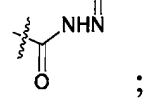

;

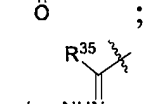

;

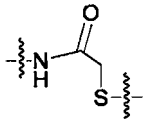

;

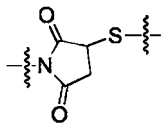

;

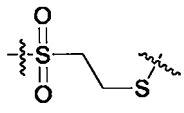

;

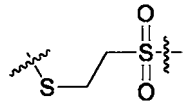

;

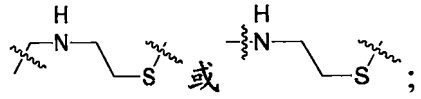

;

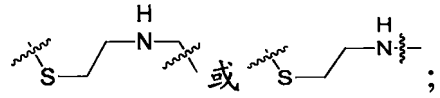

;

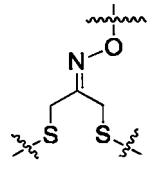

;


;

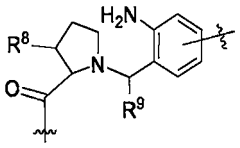

;

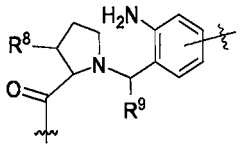

;

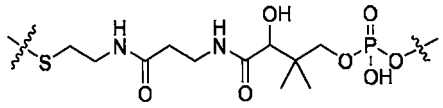

;

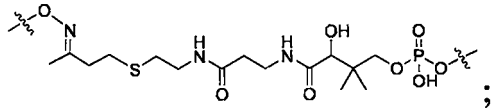

;

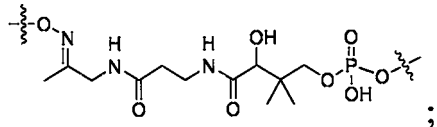
酰胺;

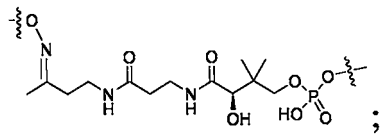

;

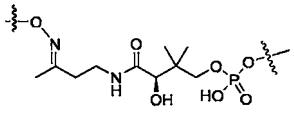

;

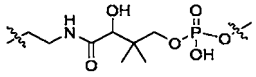

;

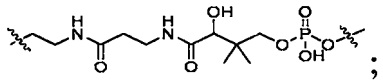

;

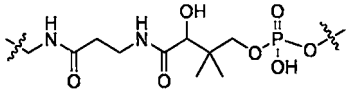

;


;

;

;

;

;以及

二硫化物，

其中：

R^{32}为H、C_{1-4}烷基、苯基、嘧啶或吡啶；

R^{35}为H、C_{1-6}烷基、苯基或被1至3个-OH基团取代的C_{1-4}烷基；

每个R^{7}独立地选自H、C_{1-6}烷基、氟、被-C(=O)OH取代的苄氧基、被-C(=O)OH取代的苄基，被-C(=O)OH取代的C_{1-4}烷氧基和被-C(=O)OH取代的C_{1-4}烷基；

R^{37}独立地选自H、苯基和吡啶；

q为0、1、2或3；

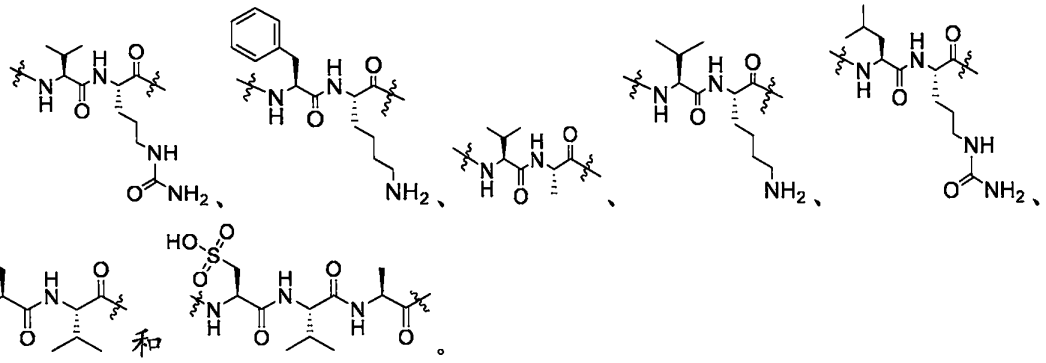
R^{8}为H或甲基；以及

R^{9}为H、$-CH_3$或苯基。

34.如权利要求23至33中任一项所述的抗体-药物缀合物，其中所述肽基团包含1至4或1至3或1或2个氨基酸残基，任选地，所述氨基酸残基选自L-甘氨酸(Gly)、L-缬氨酸(Val)、L-瓜氨酸(Cit)、L-磺基丙氨酸(磺基-Ala)、L-赖氨酸(Lys)、L-异亮氨酸(Ile)、L-苯丙氨酸(Phe)、L-蛋氨酸(Met)、L-天冬酰胺(Asn)、L-脯氨酸(Pro)、L-丙氨酸(Ala)、L-亮氨酸(Leu)、L-色氨酸(Trp)和L-酪氨酸(Tyr)。

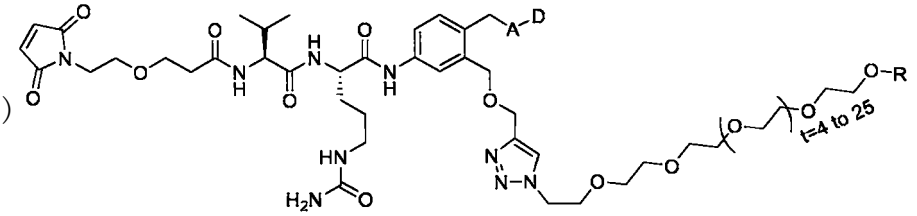
35.如权利要求23至33中任一项所述的抗体-药物缀合物，其中所述肽基团包含Val-Cit、Phe-Lys、Val-Ala、Val-Lys、Leu-Cit、磺基-Ala-Val和/或磺基-Ala-Val-Ala。

36.如权利要求23至35中任一项所述的抗体-药物缀合物，其中Lp选自：

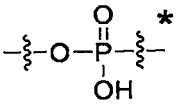
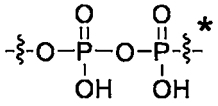
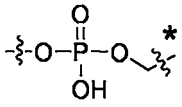


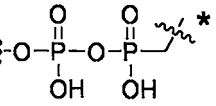
37.如权利要求23至36中任一项所述的抗体-药物缀合物，其中：

-(L-D)包含下式的化合物或由下式的化合物形成：

(1)  其中：

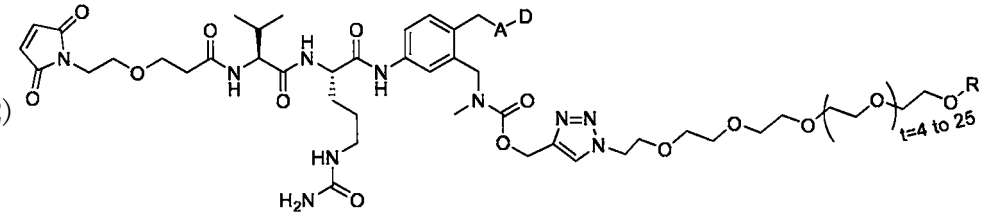
R是H、-CH_3或-$CH_2CH_2C(=O)OH$；

A是键、-OC(=O)-*、、、、

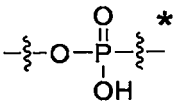
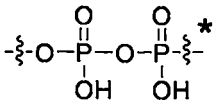
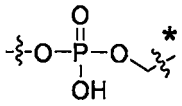
、-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-*或-OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-*，

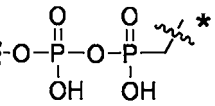
其中每个R^a独立地选自H、C_1-C_6烷基和C_3-C_8环烷基，A的*表示与D的附接点；以及

D是Bcl-xL抑制剂；

(2)  其中：

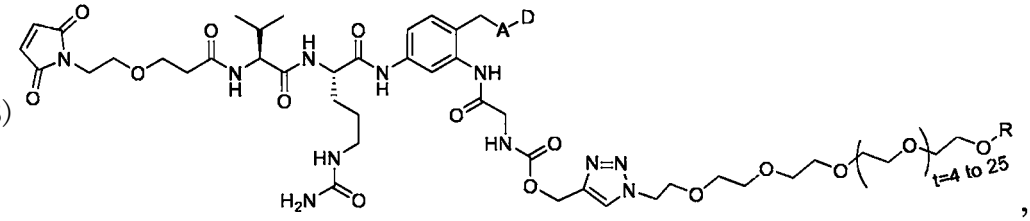
R是H、-CH_3或-$CH_2CH_2C(=O)OH$；

A是键、-OC(=O)-*、、、、

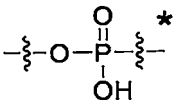
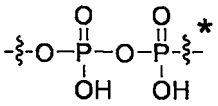
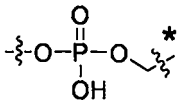
、-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-*或-OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-*，

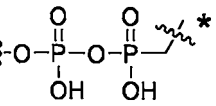
其中每个R^a独立地选自H、C_1-C_6烷基和C_3-C_8环烷基，A的*表示与D的附接点；以及

D是Bcl-xL抑制剂；

(3)  其中：

R是H、-CH_3或-$CH_2CH_2C(=O)OH$；

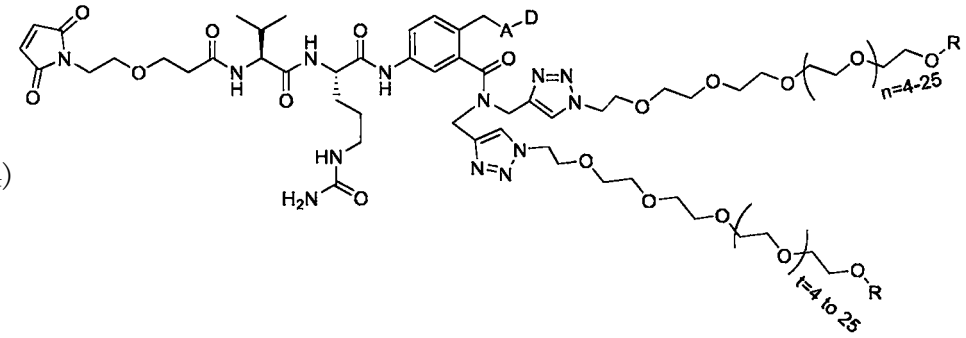
A是键、-OC(=O)-*、、、、

、-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-*或-OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C

$(R^a)_2N(CH_3)C(=O)-*$，

其中每个R^a独立地选自H、C_1-C_6烷基和C_3-C_8环烷基，A的*表示与D的附接点；以及

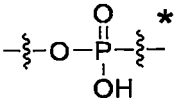
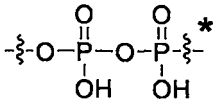
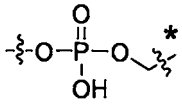
D是Bcl-xL抑制剂；

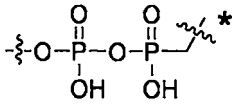
(4) 

其中：

，

每个R独立地选自H、$-CH_3$和$-CH_2CH_2C(=O)OH$；

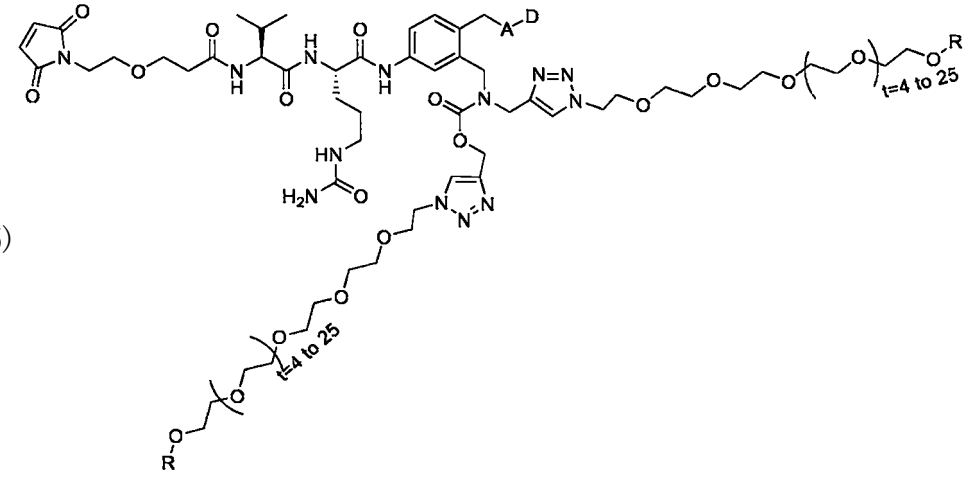
A是键、$-OC(=O)-*$、、、、

、$-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-*$或$-OC(=O)N(CH_3)C(R^a)_2C$

$(R^a)_2N(CH_3)C(=O)-*$，

其中每个R^a独立地选自H、C_1-C_6烷基和C_3-C_8环烷基，A的*表示与D的附接点；以及

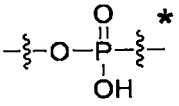
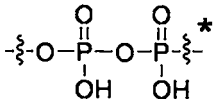
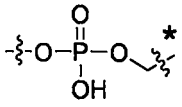
D是Bcl-xL抑制剂；

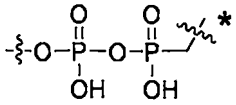
(5) 

其中：

，

每个R独立地选自H、$-CH_3$和$-CH_2CH_2C(=O)OH$；

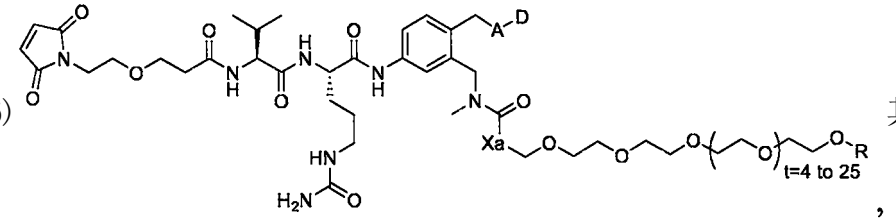
A是键、$-OC(=O)-*$、、、、

、$-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-*$或$-OC(=O)N(CH_3)C(R^a)_2C$

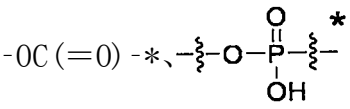
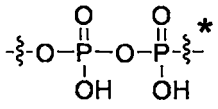
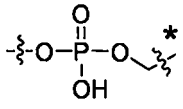
$(R^a)_2N(CH_3)C(=O)-*$，

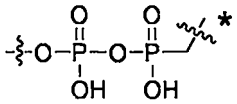
其中每个R^a独立地选自H、C_1-C_6烷基和C_3-C_8环烷基，A的*表示与D的附接点；以及

D是Bcl-xL抑制剂；

(6)  其中：

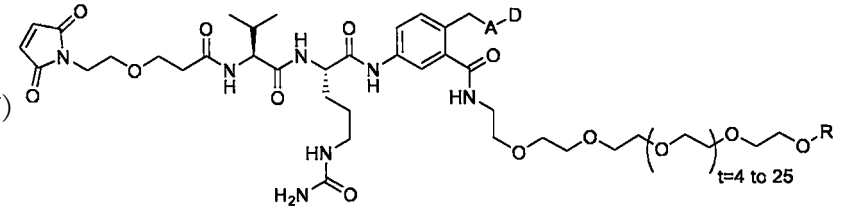
Xa是-CH_2-、-OCH_2-、-$NHCH_2$-或-$NRCH_2$-并且每个R独立地是H、-CH_3或-$CH_2CH_2C(=O)OH$；

A是键、-OC(=O)-*、、、、

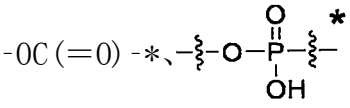
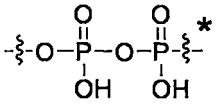
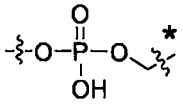
-OC(=O)$N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)$-*或-OC(=O)$N(CH_3)C(R^a)_2C(R^a)_2N(CH_3)C(=O)$-*，

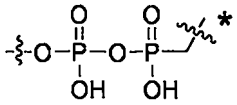
其中每个R^a独立地选自H、C_1-C_6烷基和C_3-C_8环烷基，A的*表示与D的附接点；以及

D是Bcl-xL抑制剂；

(7)  其中：

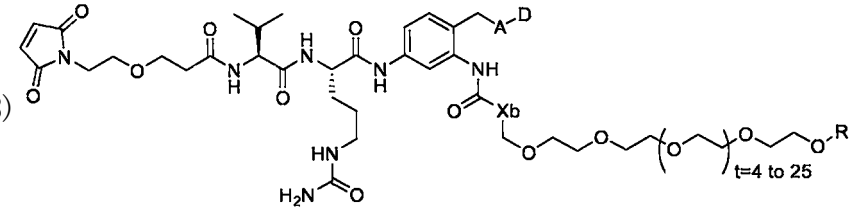
R是H、-CH_3或-$CH_2CH_2C(=O)OH$；

A是键、-OC(=O)-*、、、、

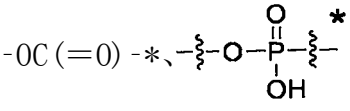
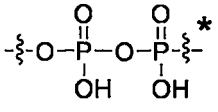
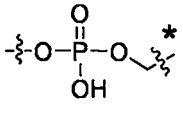
-OC(=O)$N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)$-*或-OC(=O)$N(CH_3)C(R^a)_2C(R^a)_2N(CH_3)C(=O)$-*，

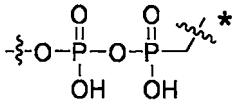
其中每个R^a独立地选自H、C_1-C_6烷基和C_3-C_8环烷基，A的*表示与D的附接点；以及

D是Bcl-xL抑制剂；

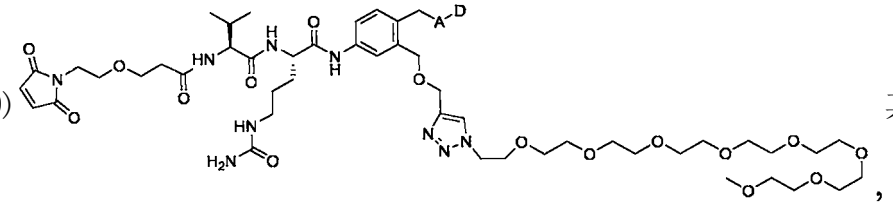
(8)  其中：

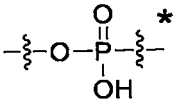
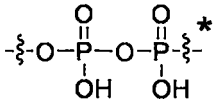
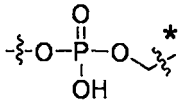
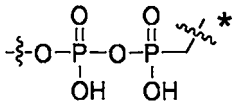
Xb是-CH_2-、-OCH_2-、-$NHCH_2$-或-$NRCH_2$-并且每个R独立地是H、-CH_3或-$CH_2CH_2C(=O)OH$；

A是键、-OC(=O)-*、、、、

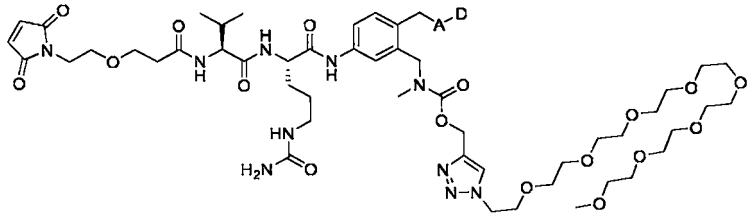
-OC(=O)$N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)$-*或-OC(=O)$N(CH_3)C(R^a)_2C(R^a)_2N(CH_3)C(=O)$-*，

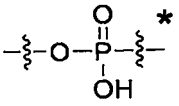
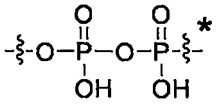
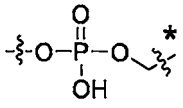
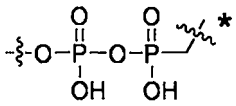
其中每个R^a独立地选自H、C_1-C_6烷基和C_3-C_8环烷基，A的*表示与D的附接点；以及D是Bcl-xL抑制剂；

(9)  其中：

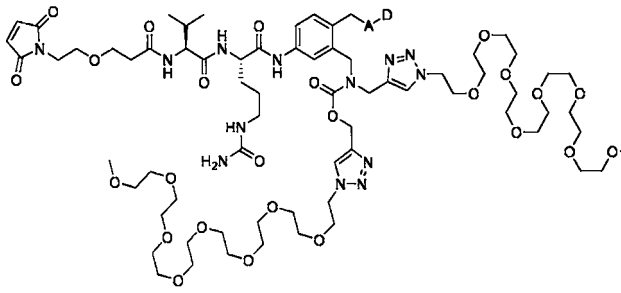
A是键、-OC(=O)-*、、、、、-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-*或-OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-*，

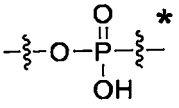
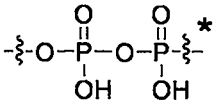
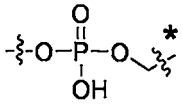
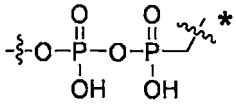
其中每个R^a独立地选自H、C_1-C_6烷基和C_3-C_8环烷基，A的*表示与D的附接点；以及D是Bcl-xL抑制剂；

(10)  其中：

A是键、-OC(=O)-*、、、、、-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-*或-OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-*，

其中每个R^a独立地选自H、C_1-C_6烷基和C_3-C_8环烷基，A的*表示与D的附接点；以及D是Bcl-xL抑制剂；

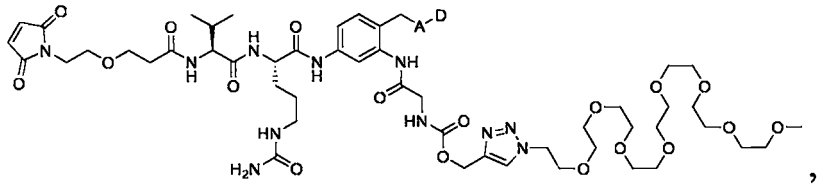
(11)  其中：

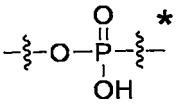
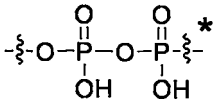
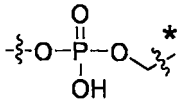
A是键、-OC(=O)-*、、、、、-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-*或-OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-*，

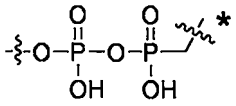
$(R^a)_2N(CH_3)C(=O)-*$，

其中每个R^a独立地选自H、C_1-C_6烷基和C_3-C_8环烷基，A的*表示与D的附接点；以及

D是Bcl-xL抑制剂；

(12)  其中：

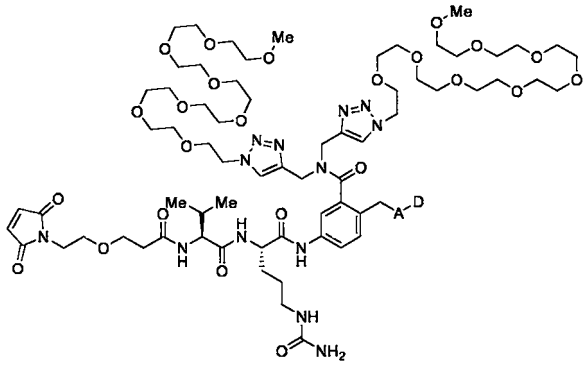
A是键、-OC(=O)-*、、、、

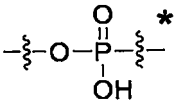
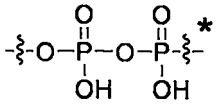
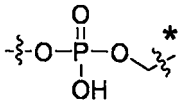
、-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-*或-OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C

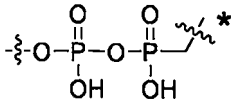
$(R^a)_2N(CH_3)C(=O)-*$，

其中每个R^a独立地选自H、C_1-C_6烷基和C_3-C_8环烷基，A的*表示与D的附接点；以及

D是Bcl-xL抑制剂；

(13)  其中：

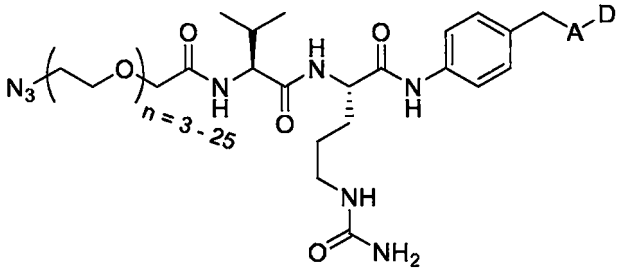
A是键、-OC(=O)-*、、、、

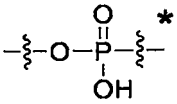
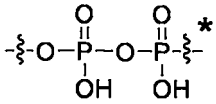
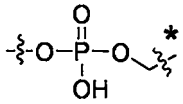
、-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-*或-OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C

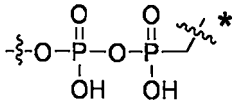
$(R^a)_2N(CH_3)C(=O)-*$，

其中每个R^a独立地选自H、C_1-C_6烷基和C_3-C_8环烷基，A的*表示与D的附接点；以及

D是Bcl-xL抑制剂；

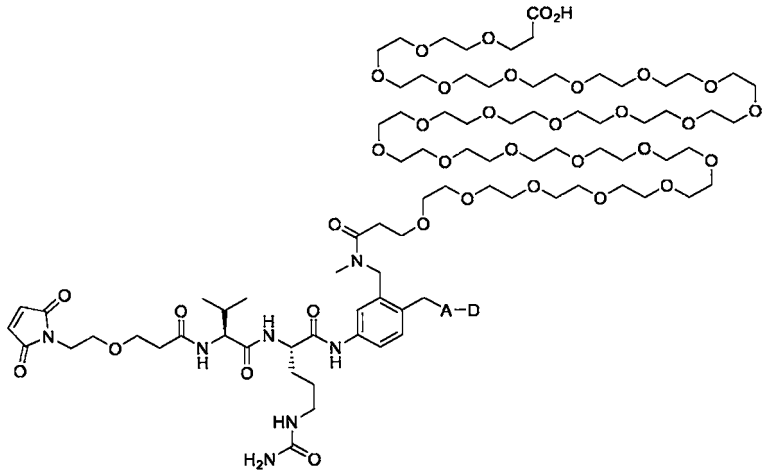
(14)  其中：

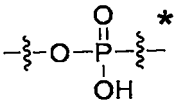
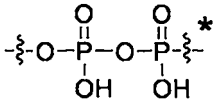
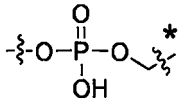
A是键、-OC(=O)-*、、、、

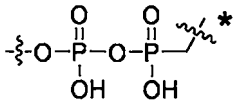
、-OC(=O)N(CH$_3$)CH$_2$CH$_2$N(CH$_3$)C(=O)-*或-OC(=O)N(CH$_3$)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH$_3$)C(=O)-*，

其中每个R^{a}独立地选自H、C$_1$-C$_6$烷基和C$_3$-C$_8$环烷基，A的*表示与D的附接点；以及

D是Bcl-xL抑制剂；

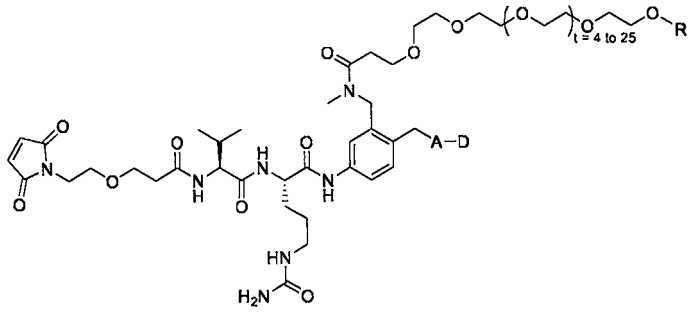
(15) 其中：

A是键、-OC(=O)-*、、、、

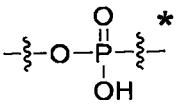
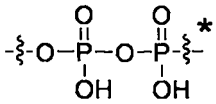
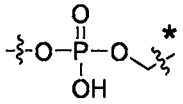
、-OC(=O)N(CH$_3$)CH$_2$CH$_2$N(CH$_3$)C(=O)-*或-OC(=O)N(CH$_3$)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH$_3$)C(=O)-*，

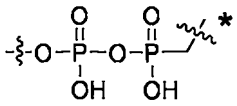
其中每个R^{a}独立地选自H、C$_1$-C$_6$烷基和C$_3$-C$_8$环烷基，A的*表示与D的附接点；以及

D是Bcl-xL抑制剂；或者

(16) 其中：

每个R独立地是H、-CH$_3$或-CH$_2$CH$_2$C(=O)OH；

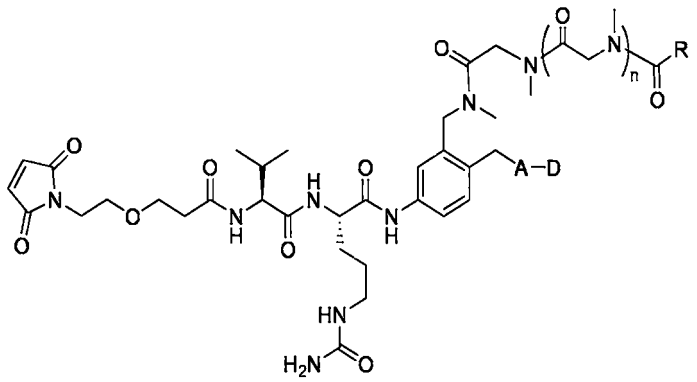
A是键、-OC(=O)-*、、、、

、-OC(=O)N(CH$_3$)CH$_2$CH$_2$N(CH$_3$)C(=O)-*或-OC(=O)N(CH$_3$)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH$_3$)C(=O)-*、

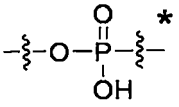
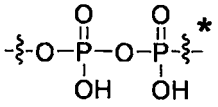
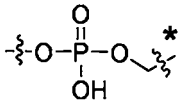
$(R^a)_2N(CH_3)C(=O)-*$，

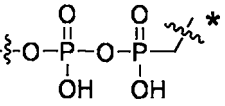
其中每个R^a独立地选自H、C_1-C_6烷基和C_3-C_8环烷基，A的*表示与D的附接点；以及

D是Bcl-xL抑制剂，或

(17)  其中：

每个R独立地是H、$-CH_3$或$-CH_2CH_2C(=O)OH$；

A是键、$-OC(=O)-*$、、、、

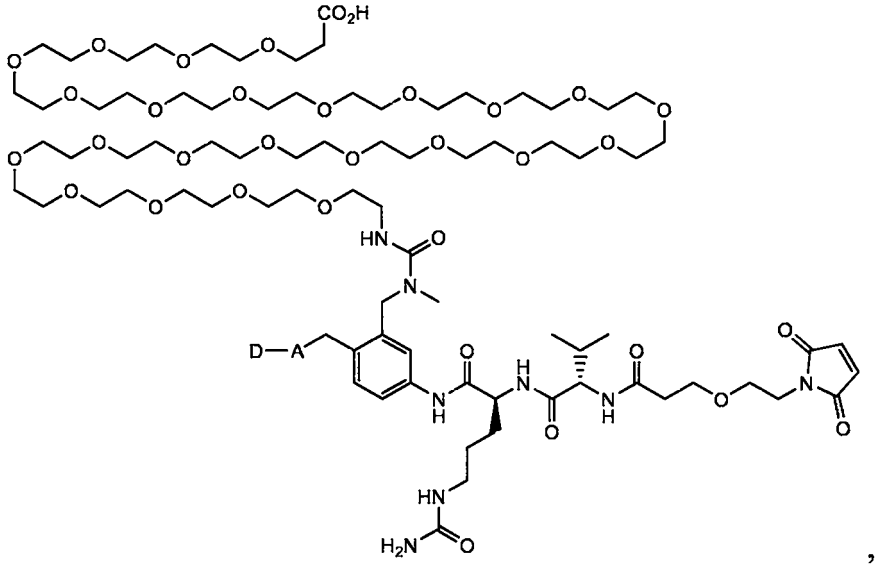
、$-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-*$或$-OC(=O)N(CH_3)C(R^a)_2C$

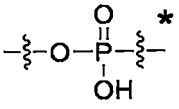
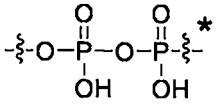
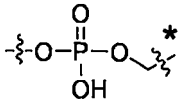
$(R^a)_2N(CH_3)C(=O)-*$，

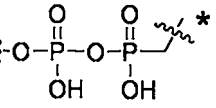
其中每个R^a独立地选自H、C_1-C_6烷基和C_3-C_8环烷基，A的*表示与D的附接点；

n是2至24之间的整数；以及

D是Bcl-xL抑制剂，或

(18)  其中：

A是键、$-OC(=O)-*$、、、、

、$-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-*$或$-OC(=O)N(CH_3)C(R^a)_2C$

$(R^a)_2N(CH_3)C(=O)-*$，

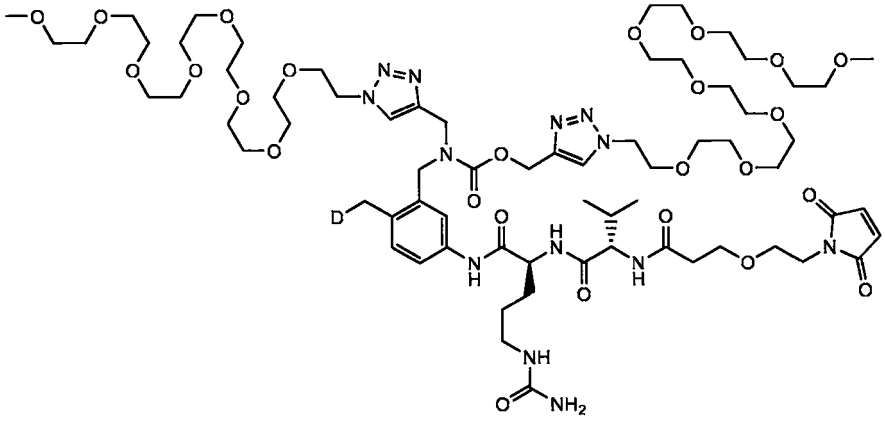
其中每个R^a独立地选自H、C_1-C_6烷基和C_3-C_8环烷基，A的*表示与D的附接点；以及

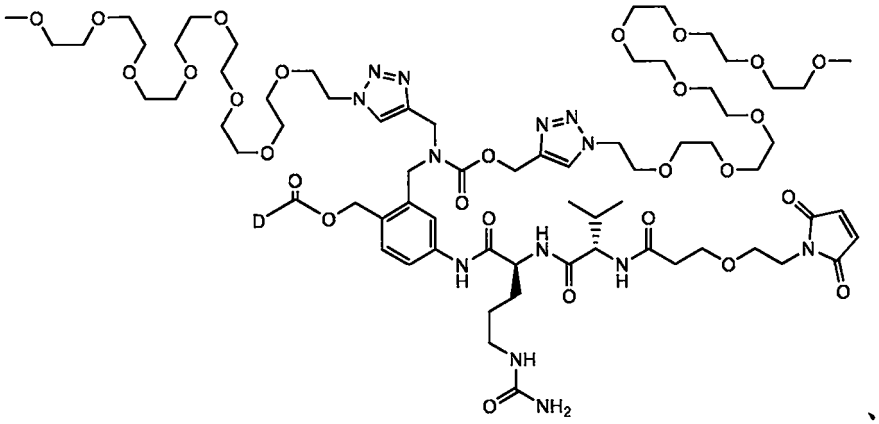
D是Bcl-xL抑制剂。

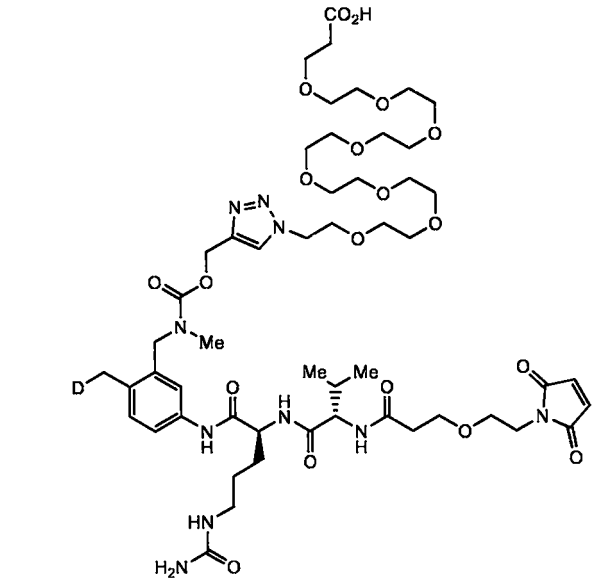
38.如权利要求23至37中任一项所述的抗体-药物缀合物，其中A是键和/或R是-CH_3或-CH_2CH_2COOH。

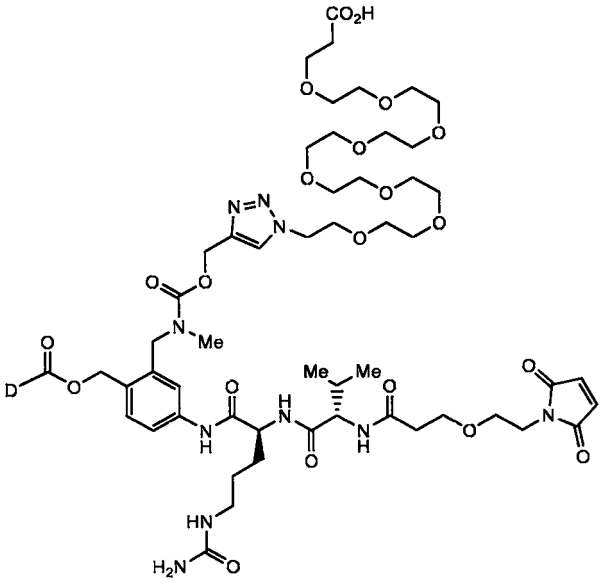
39.如权利要求23至37中任一项所述的抗体-药物缀合物，其中A是-$OC(=O)-*$和/或R是-CH_3或-CH_2CH_2COOH。

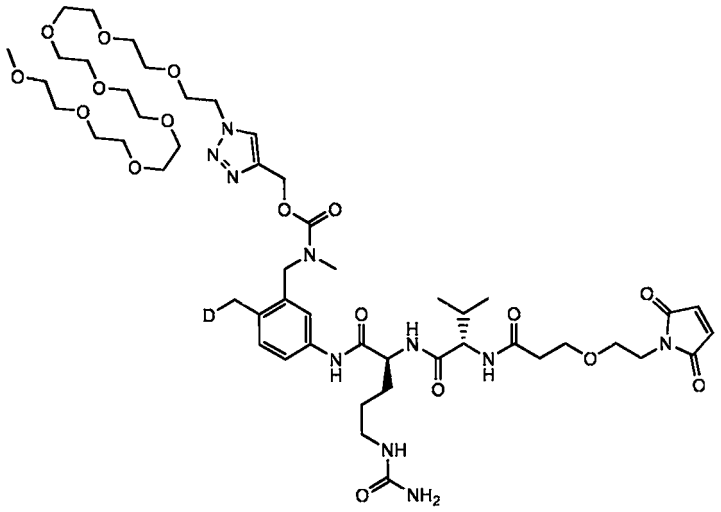
40.如权利要求23-39中任一项所述的抗体-药物缀合物，其中-(L-D)由选自以下的化合物形成：

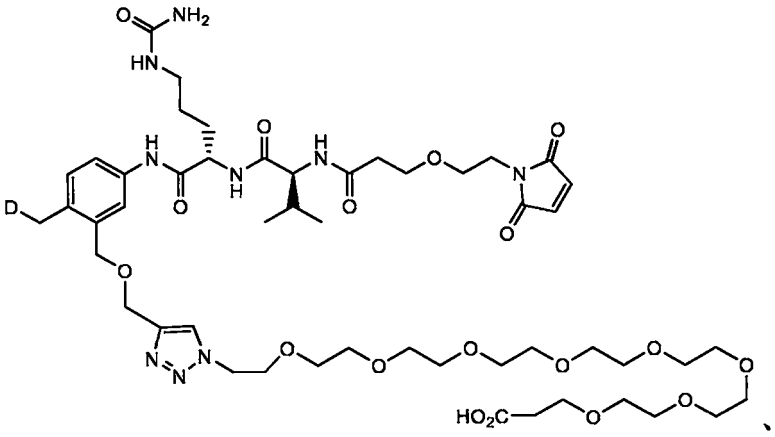


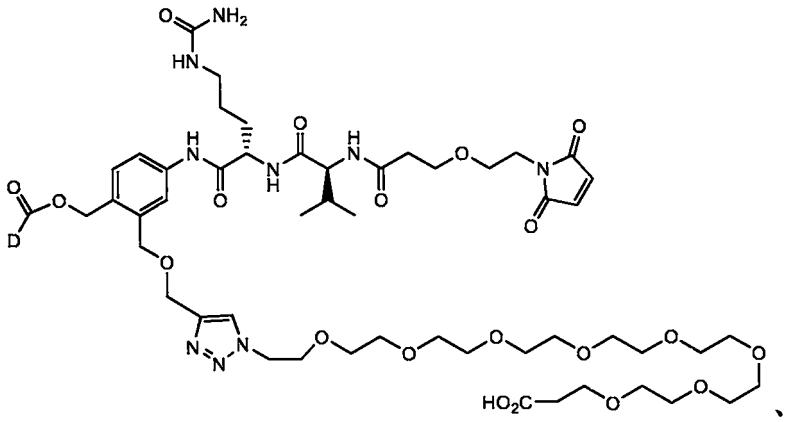


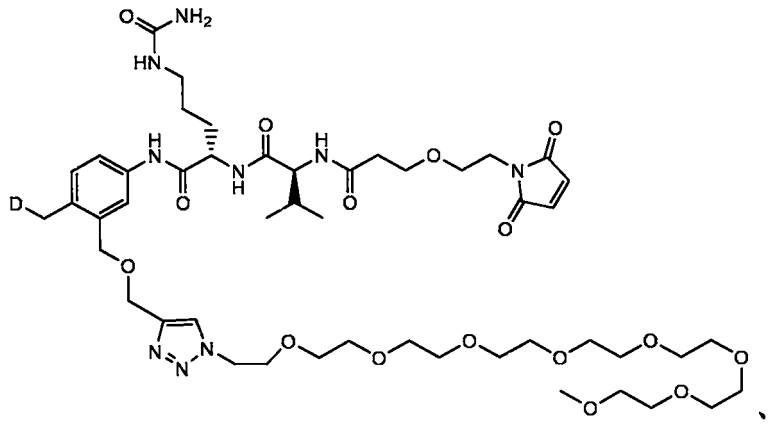


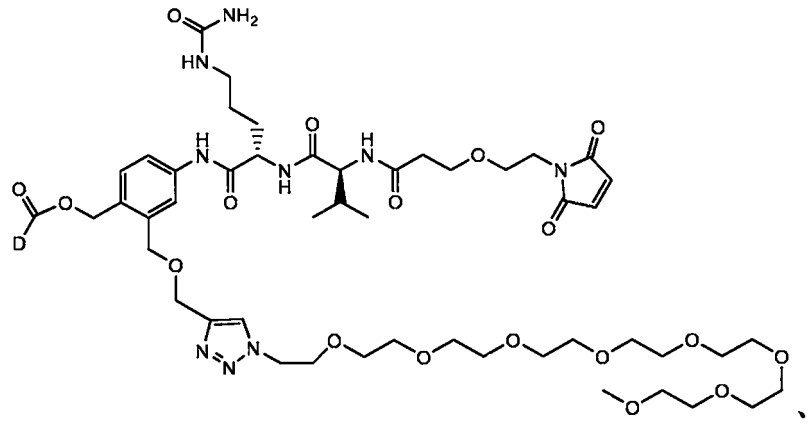


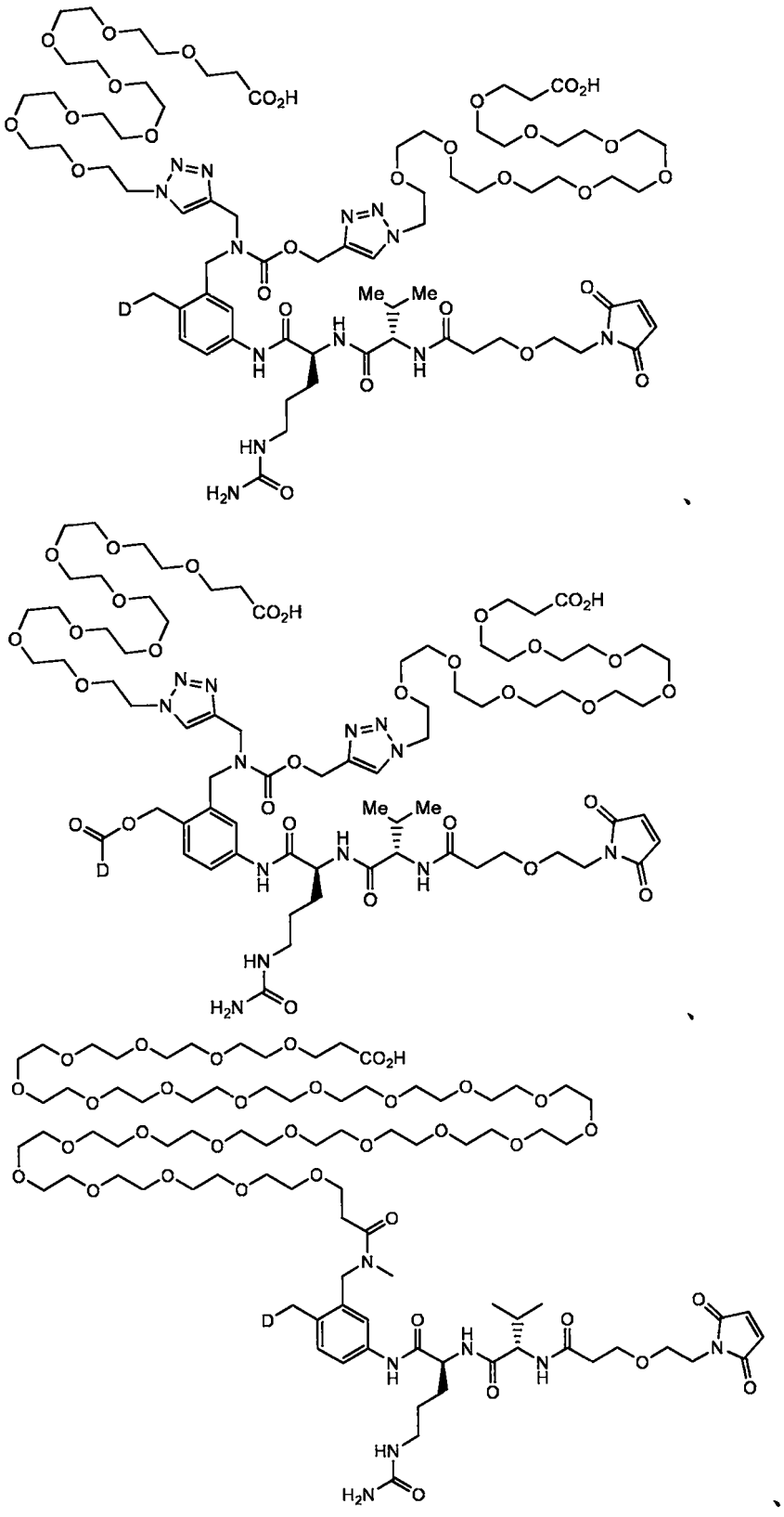


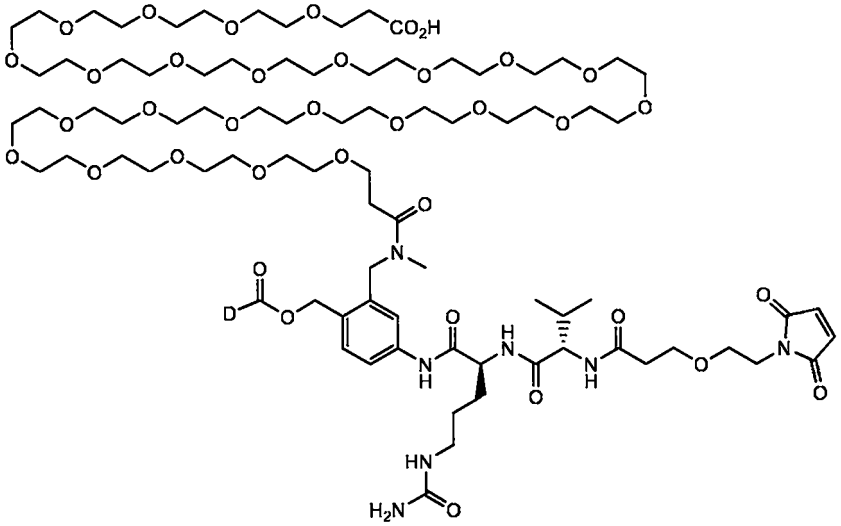


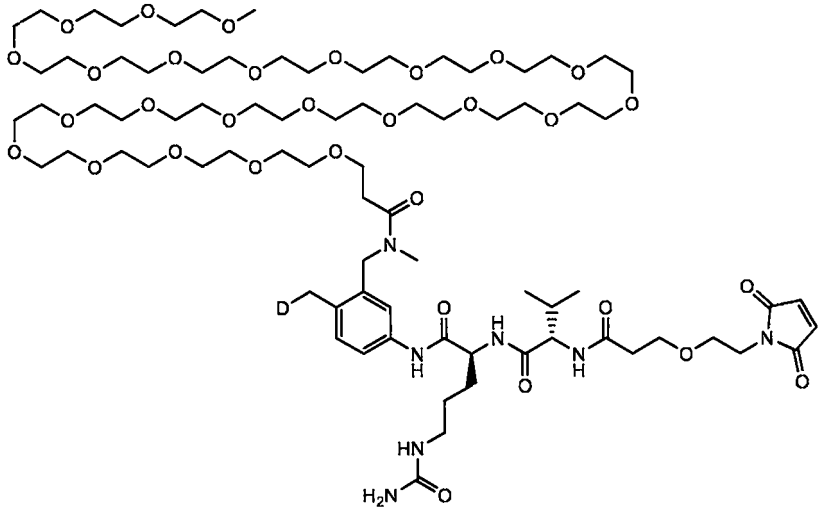


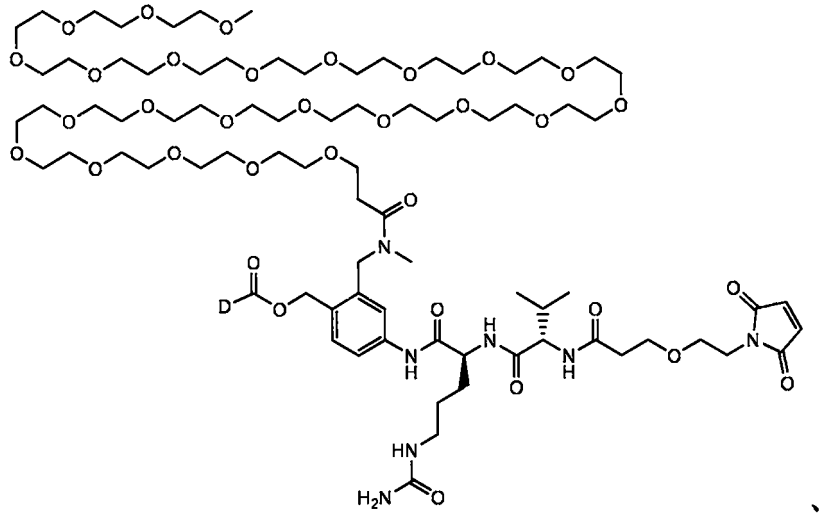


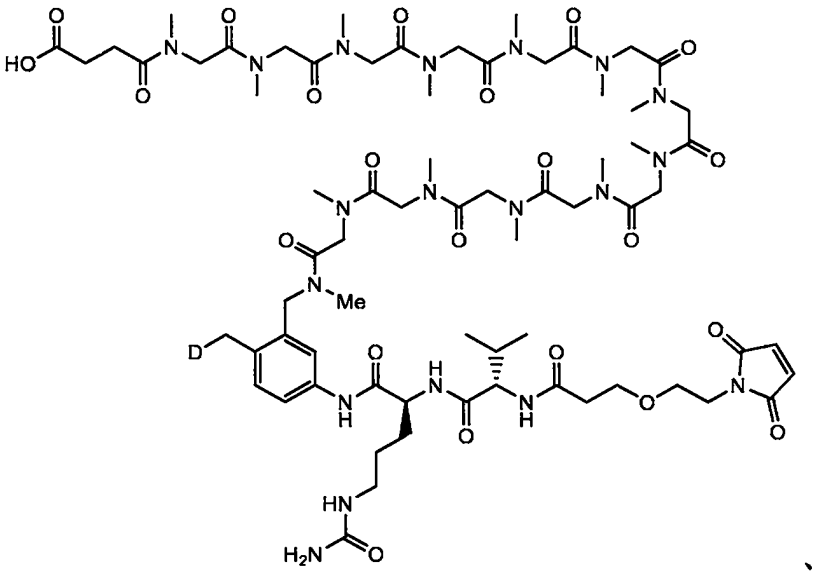


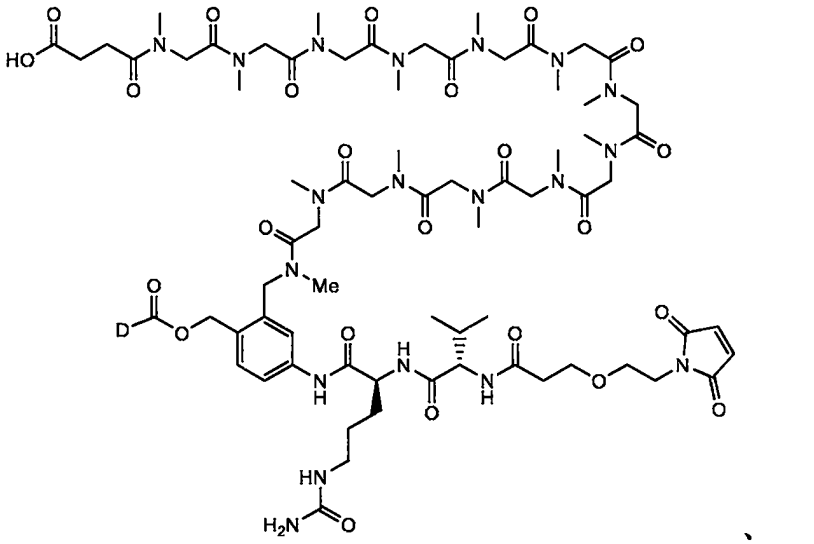


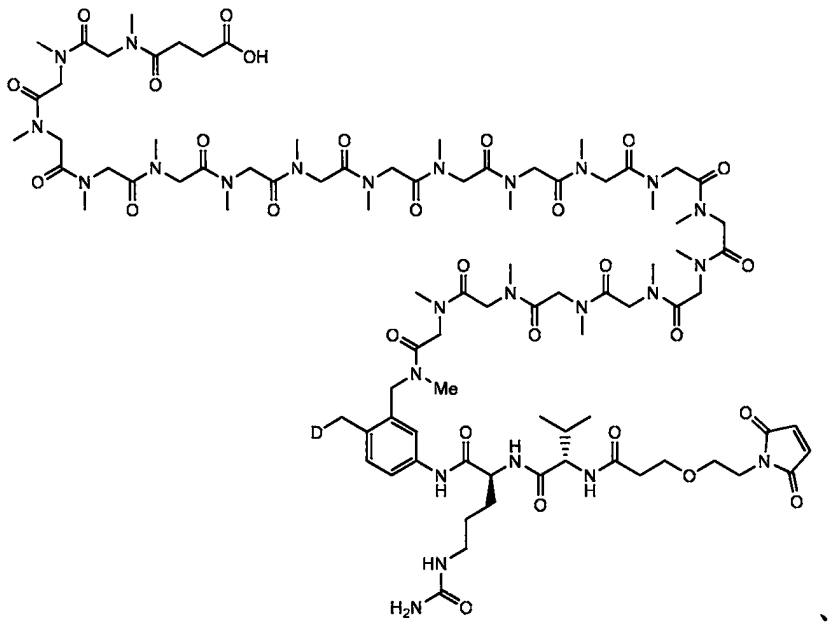


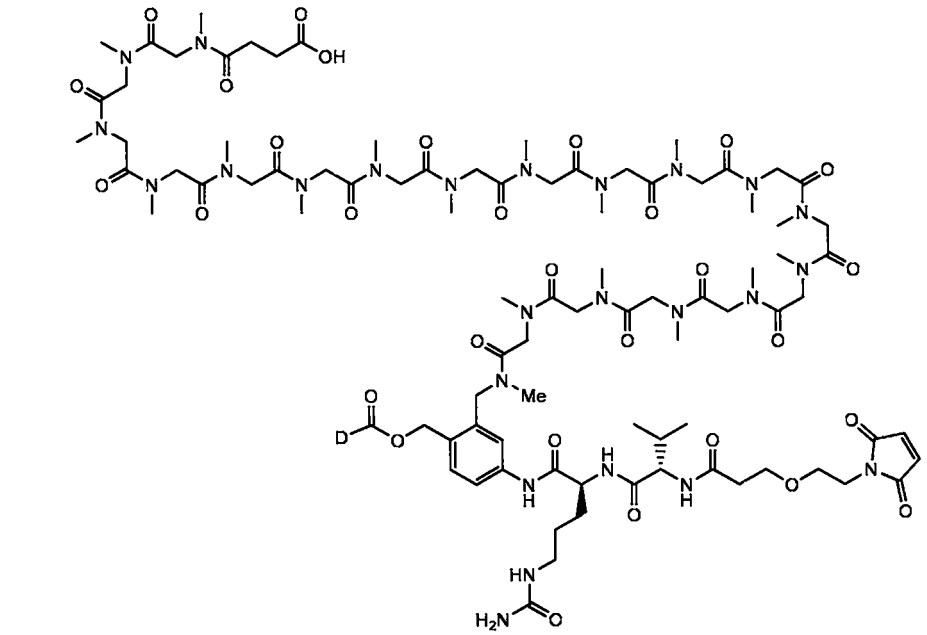


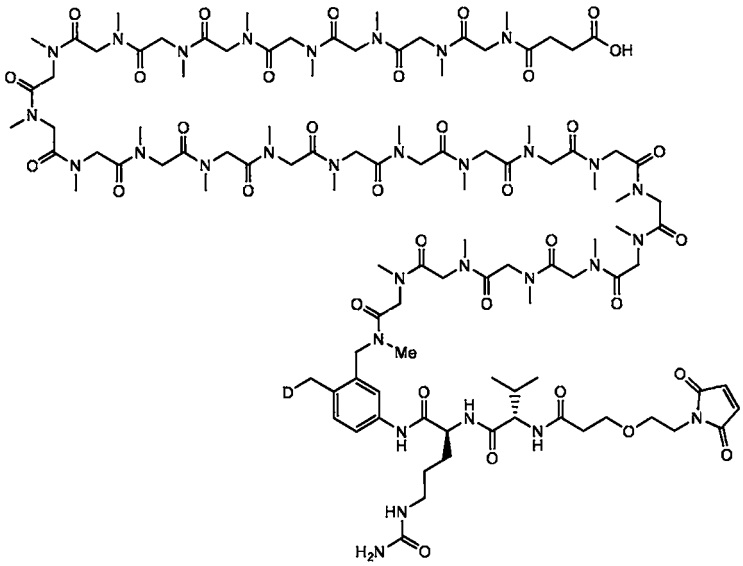


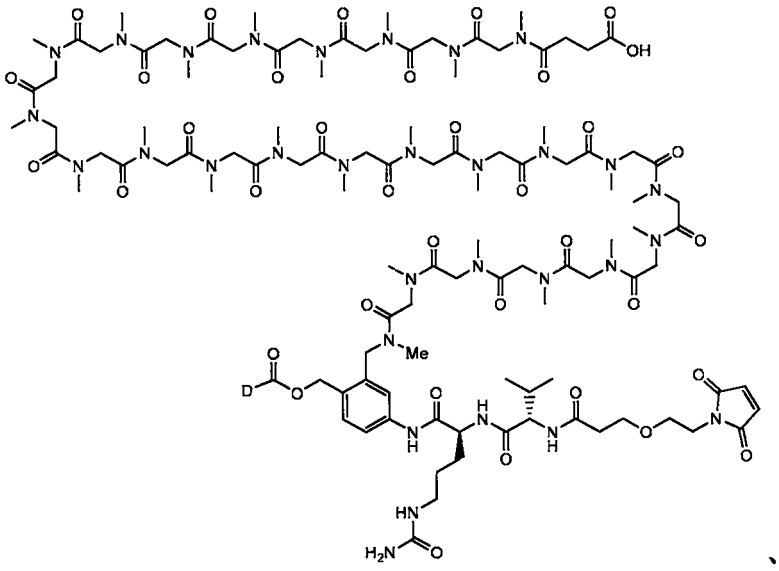


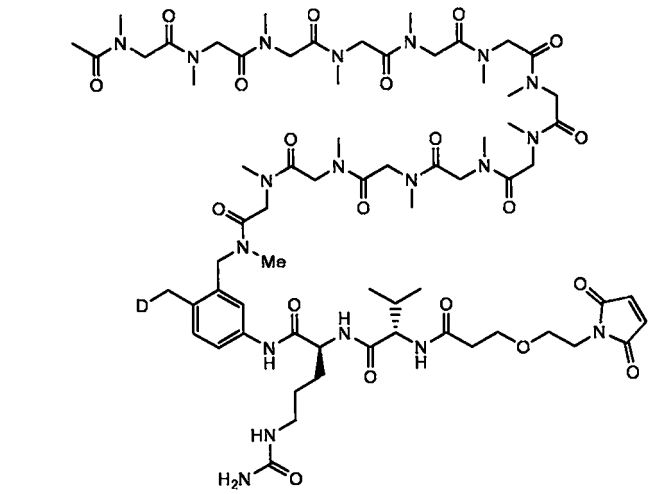




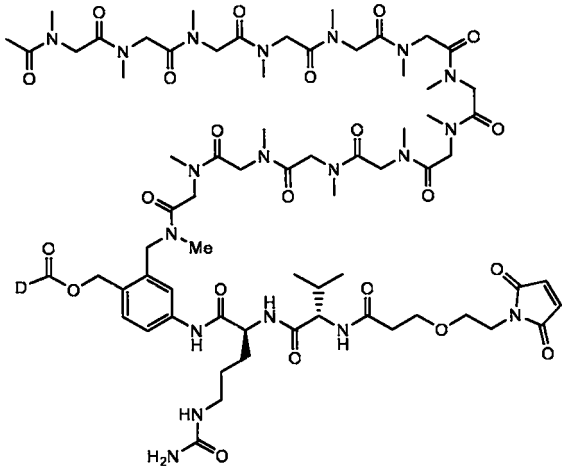




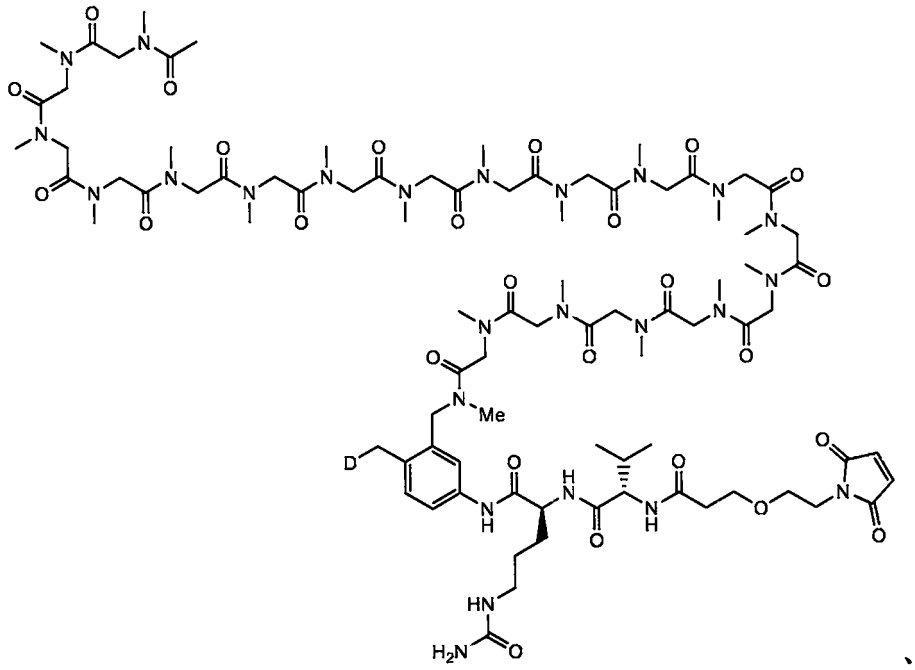




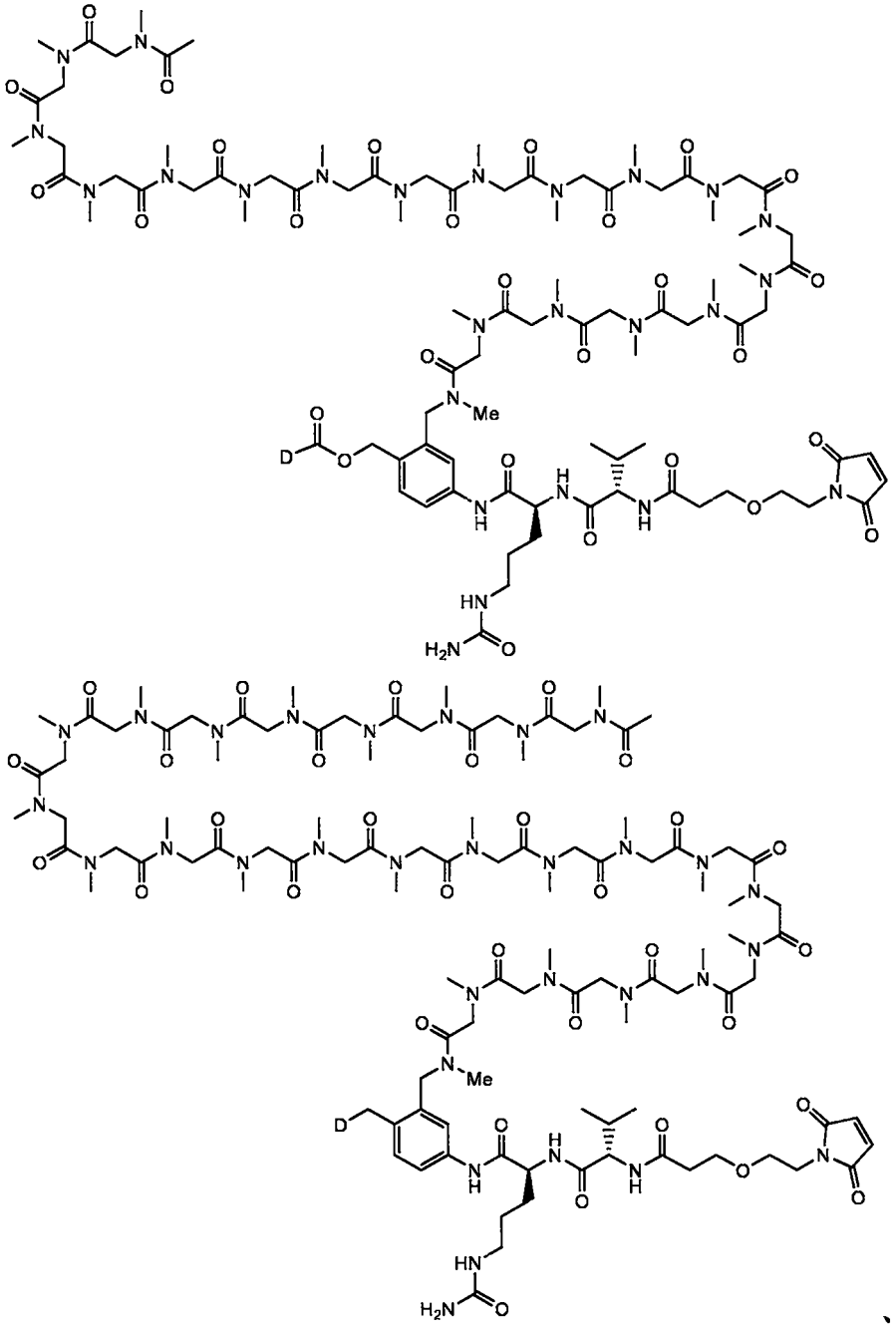
、

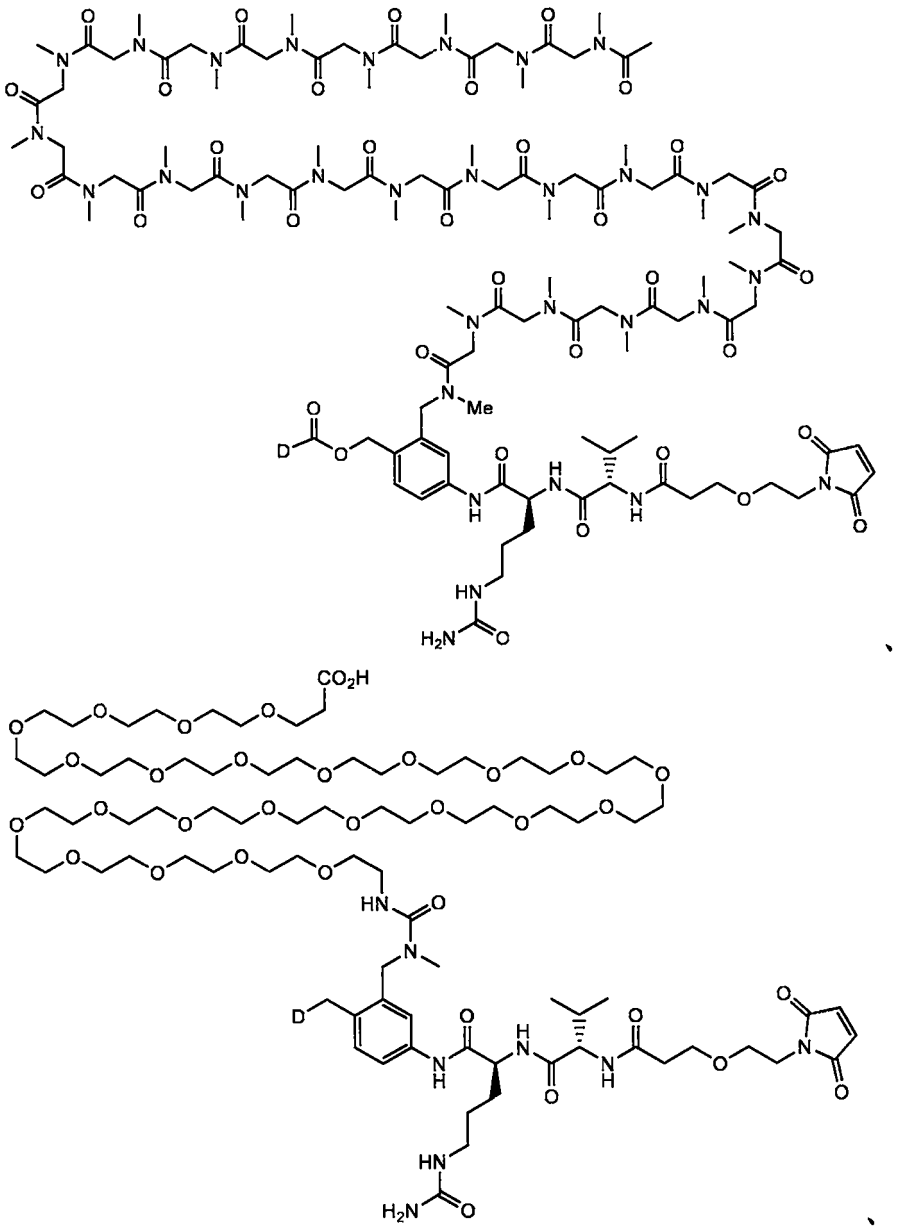


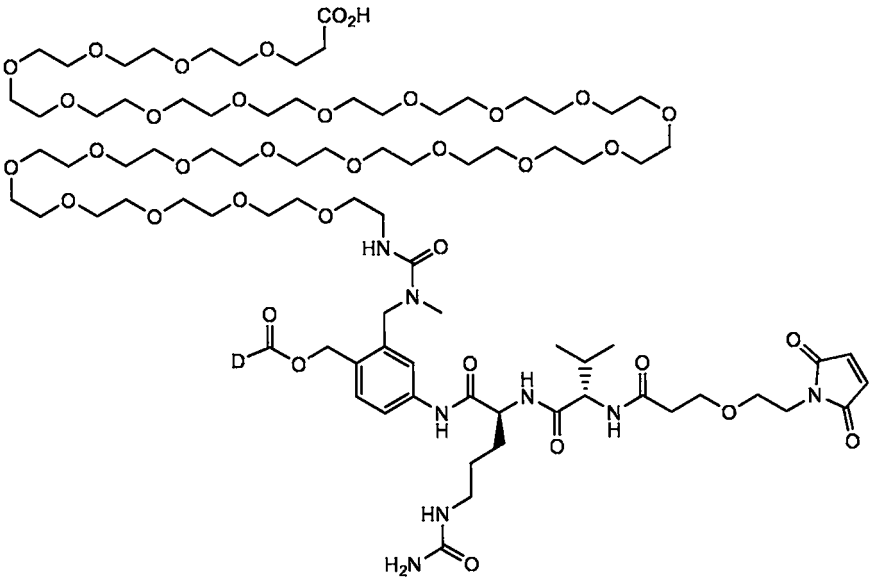
、



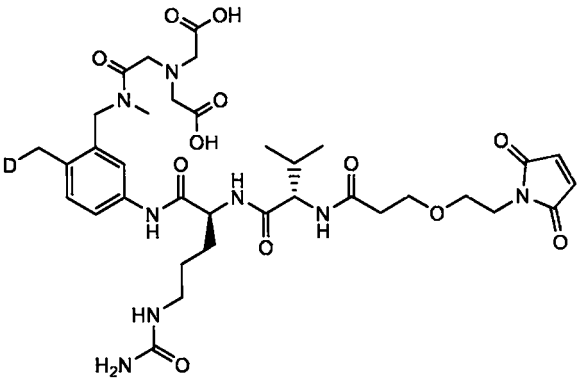
、



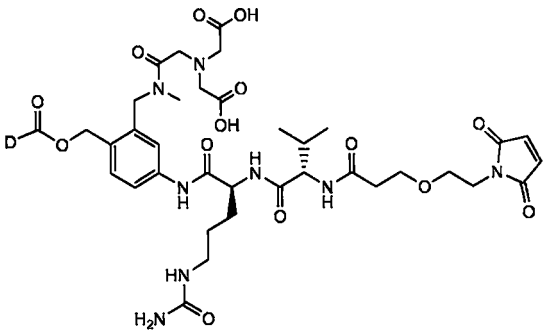




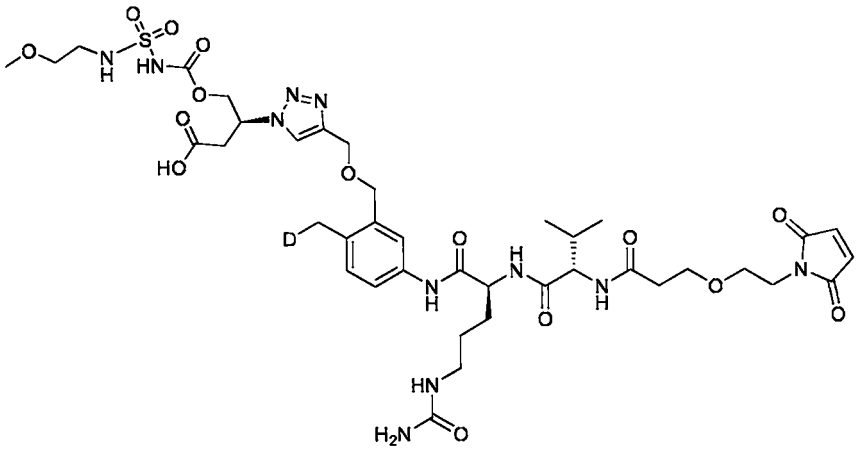
、



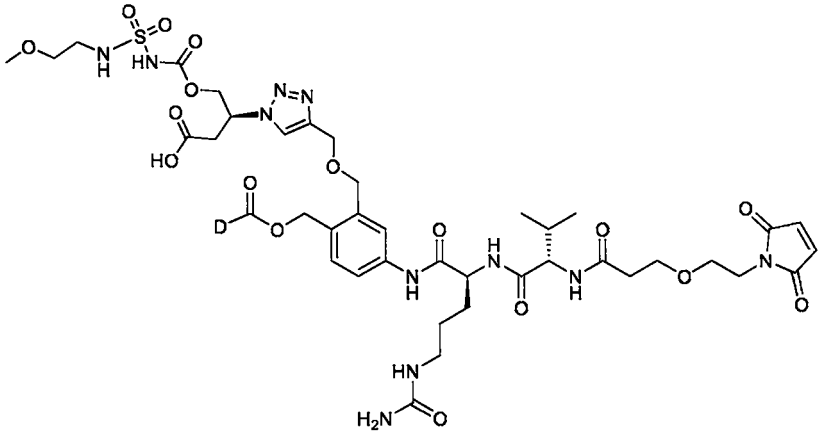
、

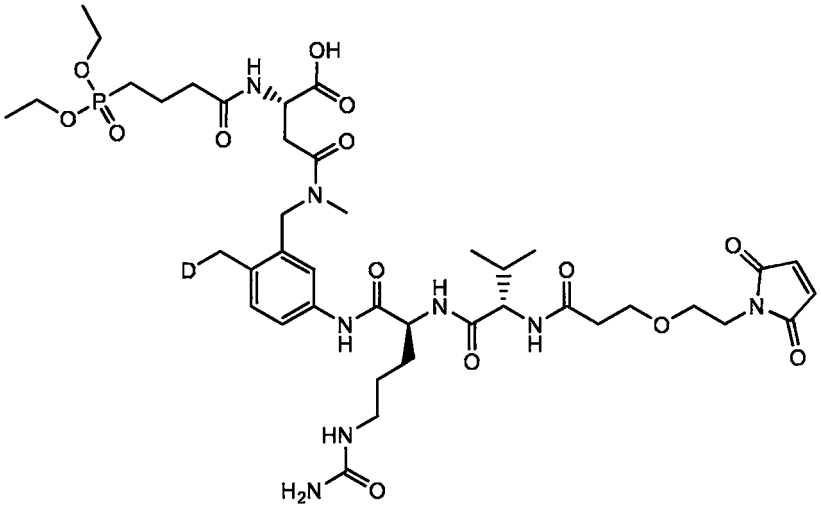


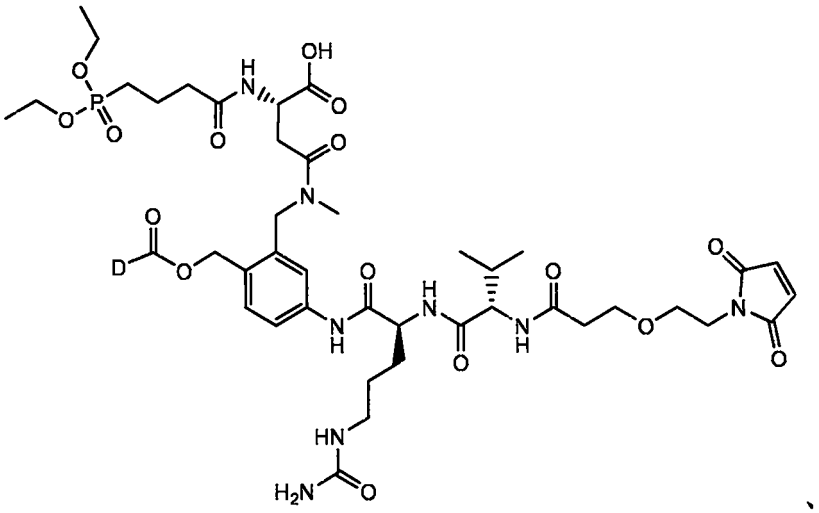
、

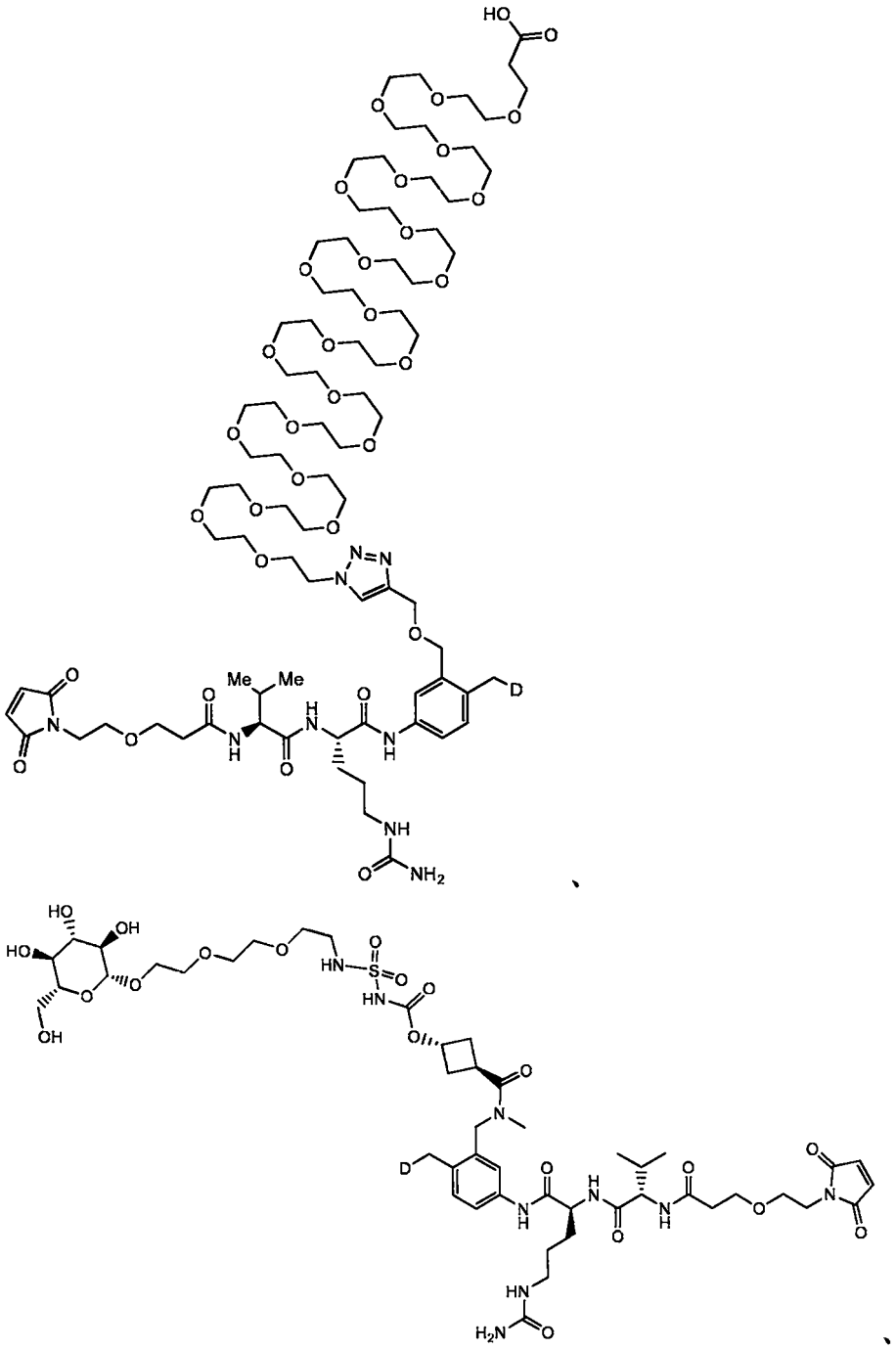


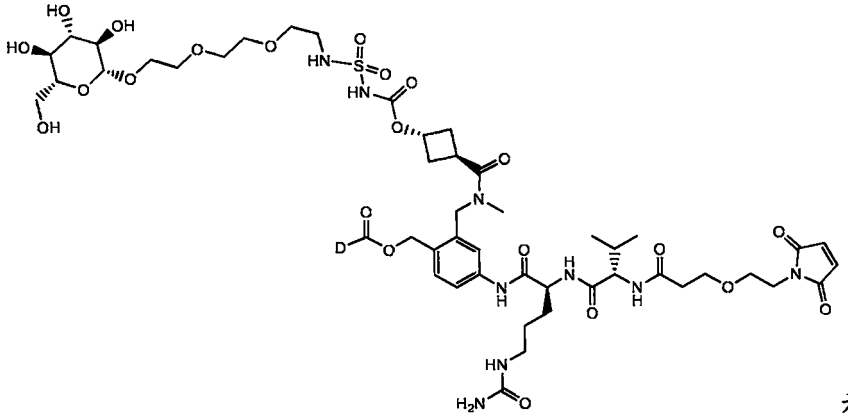
、



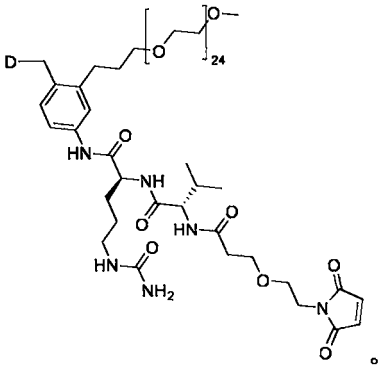






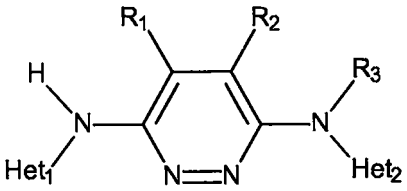


和



。

41.如权利要求1至40中任一项所述的抗体-药物缀合物，其中D包含式(I)的化合物：



(I)

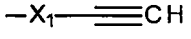
或

或前述任一项的对映异构体、非对映异构体和/或药学上可接受的盐，其中：

◆R_1和R_2彼此独立地表示选自以下的基团：氢；直链或支链C_1-C_6烷基，其任选被羟基或C_1-C_6烷氧基取代；C_3-C_6环烷基；三氟甲基；直链或支链C_1-C_6亚烷基-杂环烷基，其中所述杂环烷基任选地被直链或支链C_1-C_6烷基取代；

或R_1和R_2与带有它们的碳原子形成C_3-C_6环亚烷基，

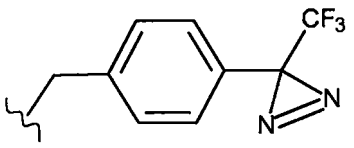
◆R_3表示选自以下的基团：氢；C_3-C_6环烷基；直链或支链C_1-C_6烷基；-X_1-NR_aR_b；-X_1-$N^+R_aR_bR_c$；-X_1-O-R_c；-X_1-$COOR_c$；-X_1-$PO(OH)_2$；-X_1-$SO_2(OH)$；-X_1-N_3和：



、

◆R_a和R_b彼此独立地表示选自以下的基团：氢；杂环烷基；-SO_2-苯基，其中所述苯基可以被直链或支链C_1-C_6烷基取代；任选被一个或两个羟基取代的直链或支链C_1-C_6烷基；C_1-C_6亚烷基-SO_2OH；C_1-C_6亚烷基-SO_2O^-；C_1-C_6亚烷基-COOH；C_1-C_6亚烷基-$PO(OH)_2$；C_1-C_6亚烷基-NR_dR_e；C_1-C_6亚烷基-$N^+R_dR_eR_f$；C_1-C_6亚烷基-苯基，其中所述苯基可以被C_1-C_6烷氧基取代；

基团：



或R_a和R_b与带有它们的氮原子形成环B_1；

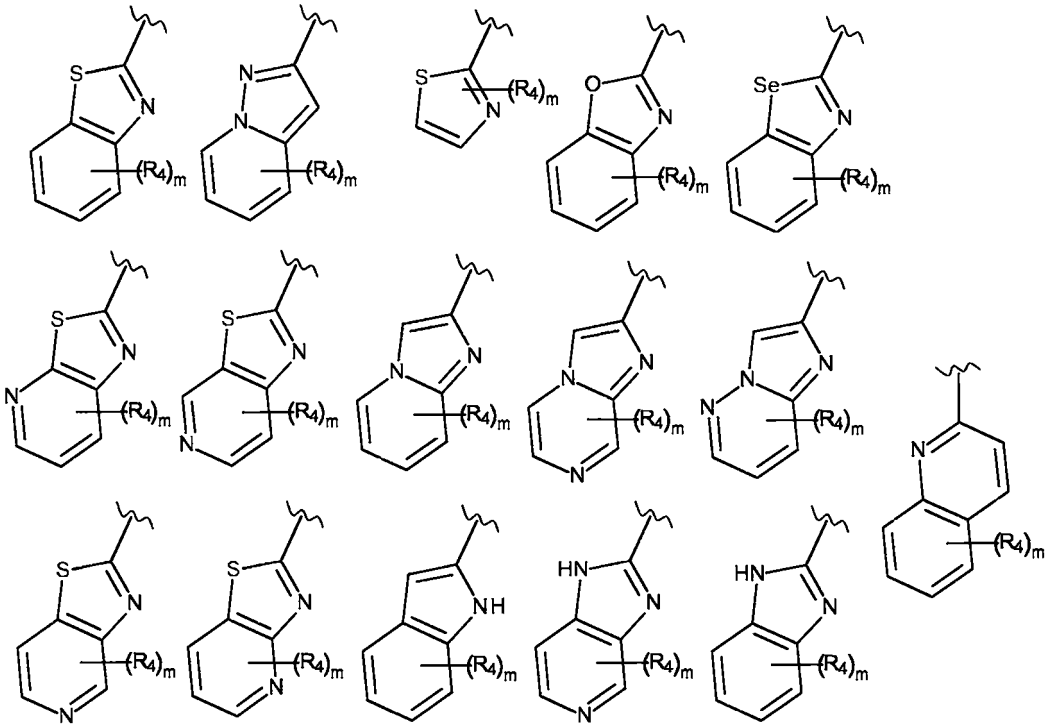
或R_a、R_b和R_c与带有它们的氮原子形成桥连的C_3-C_8杂环烷基，

◆R_c、R_d、R_e、R_f彼此独立地表示氢或直链或支链C_1-C_6烷基，

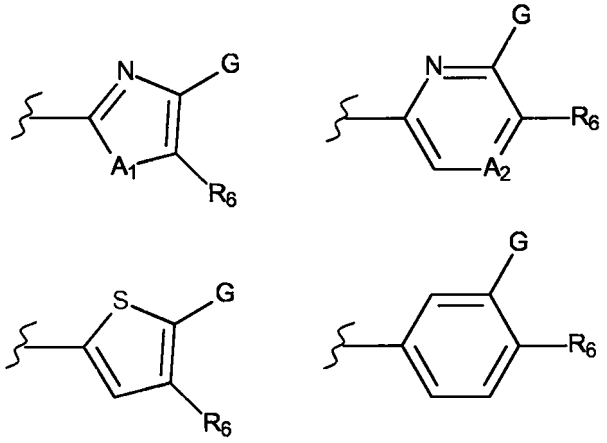
或R_d和R_e与带有它们的氮原子形成环B_2，

或R_d、R_e和R_f与带有它们的氮原子形成桥连的C_3-C_8杂环烷基，

◆Het_1表示选自以下的基团：



◆Het_2表示选自以下的基团：



◆A_1是-NH-、-N(C_1-C_3烷基)、O、S或Se，

◆A_2是N、CH或C(R_5)，

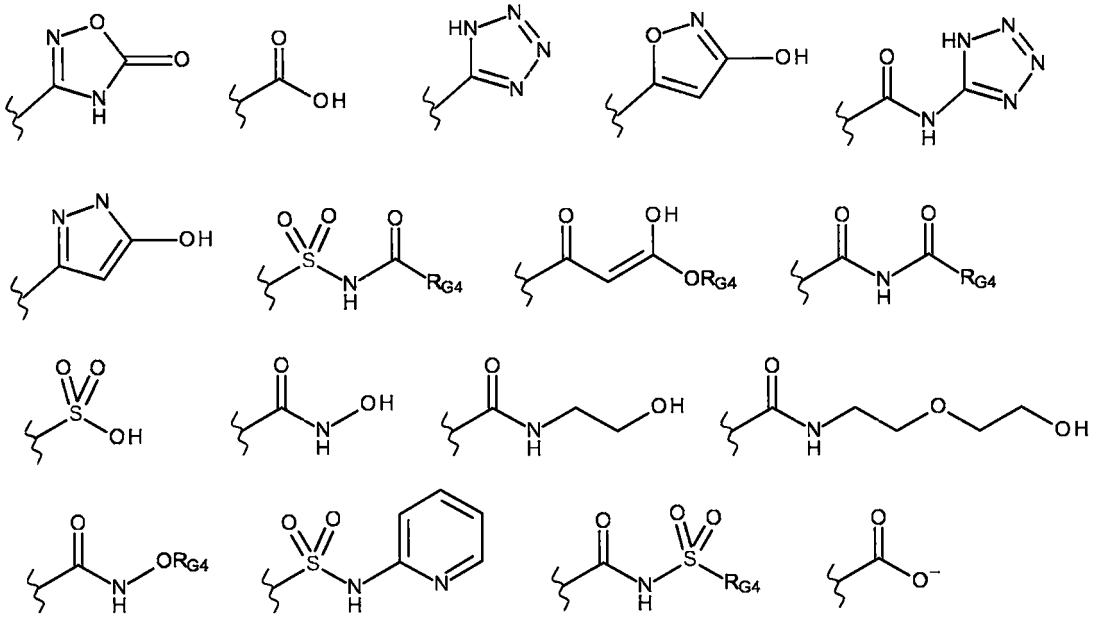
◆G选自由以下组成的组：

-C(O)OR_{G3}、-C(O)$NR_{G1}R_{G2}$、-C(O)R_{G2}、-NR_{G1}C(O)R_{G2}、-NR_{G1}C(O)$NR_{G1}R_{G2}$、-OC(O)$NR_{G1}R_{G2}$、-NR_{G1}C(O)OR_{G3}、-C(=NOR_{G1})$NR_{G1}R_{G2}$、-NR_{G1}C(=NCN)$NR_{G1}R_{G2}$、-NR_{G1}S(O)$_2NR_{G1}R_{G2}$、-S(O)$_2R_{G3}$、-S(O)$_2NR_{G1}R_{G2}$、-NR_{G1}S(O)$_2R_{G2}$、-NR_{G1}C(=NR_{G2})$NR_{G1}R_{G2}$、-C(=S)$NR_{G1}R_{G2}$、-C(=NR_{G1})$NR_{G1}R_{G2}$、任选被羟基取代的C_1-C_6烷基、卤素、-NO_2和-CN，其中：

-R_{G1}和R_{G2}在每次出现时各自独立地选自由以下组成的组:氢、任选被1至3个卤素原子取代的C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_3-C_6环烷基、苯基和-$(CH_2)_{1-4}$-苯基;

-R_{G3}选自由以下组成的组:任选被1至3个卤素原子取代的C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_3-C_6环烷基、苯基和-$(CH_2)_{1-4}$-苯基;或者

R_{G1}和R_{G2}与各自所连接的原子一起组合形成C_3-C_8杂环烷基;或者在替代方案中,G选自由以下组成的组:



其中R_{G4}选自氢、任选被1至3个卤素原子取代的C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基和C_3-C_6环烷基,

◆R_4表示氢、氟、氯或溴原子、甲基、羟基或甲氧基,

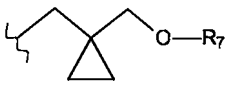
◆R_5表示选自以下的基团:任选被1至3个卤素原子取代的C_1-C_6烷基;C_2-C_6烯基;C_2-C_6炔基;卤素或-CN,

◆R_6表示选自以下的基团:

氢;

-C_2-C_6烯基;

-X_2-O-R_7;



;

-X_2-NSO_2-R_7;

-C=C(R_9)-Y_1-O-R_7;

C_3-C_6环烷基;

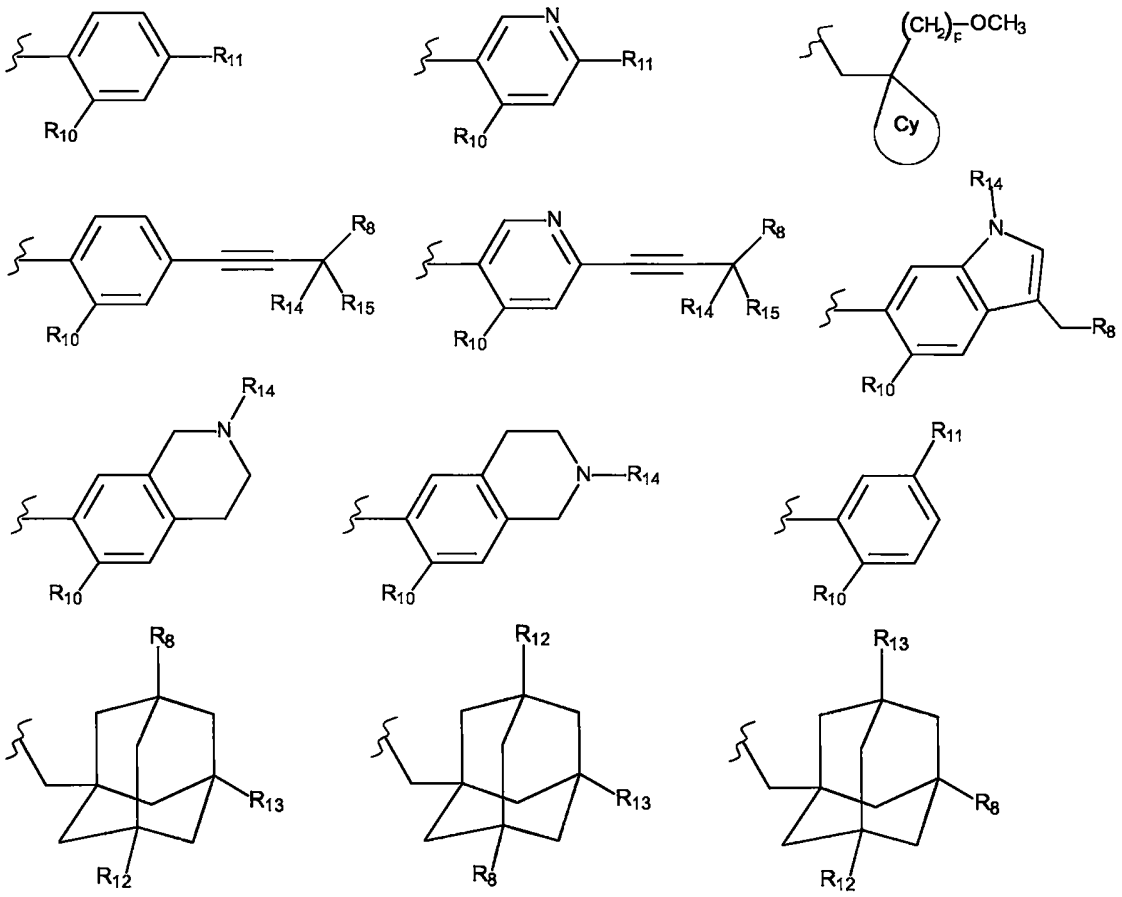
任选被羟基取代的C_3-C_6杂环烷基;

C_3-C_6环亚烷基-Y_2-R_7;

C_3-C_6杂亚环烷基-Y_2-R_7基团,

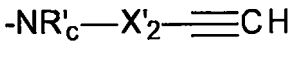
任选被直链或支链C_1-C_6烷基取代的杂亚芳基-R_7基团,

◆R_7表示选自以下的基团:直链或支链C_1-C_6烷基;(C_3-C_6)环亚烷基-R_8;或者:



其中Cy表示C_3-C_8环烷基，

◆R_8表示选自以下的基团：氢；直链或支链C_1-C_6烷基，-NR'$_a$R'$_b$；-NR'$_a$-CO-OR'$_c$；-NR'$_a$-CO-R'$_c$；-N^+R'$_a$R'$_b$R'$_c$；-O-R'$_c$；-NH-X'$_2$-N^+R'$_a$R'$_b$R'$_c$；-O-X'$_2$-NR'$_a$R'$_b$、-X'$_2$-NR'$_a$R'$_b$、-NR'$_c$-X'$_2$-N_3和：



◆R_9表示选自直链或支链C_1-C_6烷基、三氟甲基、羟基、卤素、C_1-C_6烷氧基的基团，

◆R_{10}表示选自氢、氟、氯、溴、-CF_3和甲基的基团，

◆R_{11}表示选自氢、C_1-C_3亚烷基-R_8、-O-C_1-C_3亚烷基-R_8、-CO-NR_hR_i和-CH=CH-C_1-C_4亚烷基-NR_hR_i、-CH=CH-CHO、C_3-C_8环亚烷基-CH_2-R_8、C_3-C_8杂环亚烷基-CH_2-R_8的基团，

◆R_{12}和R_{13}彼此独立地表示氢原子或甲基，

◆R_{14}和R_{15}彼此独立地表示氢或甲基，或者R_{14}和R_{15}与带有它们的碳原子形成环己基，

◆R_h和R_i彼此独立地表示氢或直链或支链C_1-C_6烷基，

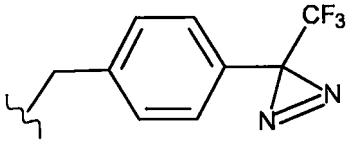
◆X_1和X_2彼此独立地表示直链或支链C_1-C_6亚烷基，其任选被一个或两个选自三氟甲基、羟基、卤素、C_1-C_6烷氧基的基团取代，

◆X'$_2$表示直链或支链C_1-C_6亚烷基，

◆R'$_a$和R'$_b$彼此独立地表示选自以下的基团：氢；杂环烷基；-SO_2-苯基，其中所述苯基可以被直链或支链C_1-C_6烷基取代；任选被一个或两个羟基或C_1-C_6烷氧基取代的直链或支链C_1-C_6烷基；C_1-C_6亚烷基-SO_2OH；C_1-C_6亚烷基-SO_2O^-；C_1-C_6亚烷基-COOH；C_1-C_6亚烷基-PO(OH)$_2$；C_1-C_6亚烷基-NR'$_d$R'$_e$；C_1-C_6亚烷基-N^+R′$_d$R′$_e$R′$_f$；C_1-C_6亚烷基-O-C_1-C_6亚烷基-OH；C_1-

C_6亚烷基-苯基，其中所述苯基可以被羟基或C_1-C_6烷氧基取代；

基团：



或R'_a和R'_b与带有它们的氮原子形成环B_3，

或R'_a、R'_b和R'_c与带有它们的氮原子形成桥连的C_3-C_8杂环烷基，

◆R'_c、R'_d、R'_e、R'_f彼此独立地表示氢或直链或支链C_1-C_6烷基，

或R'_d和R'_e与带有它们的氮原子形成环B_4，

或R'_d、R'_e和R'_f与带有它们的氮原子形成桥连的C_3-C_8杂环烷基，

◆Y_1表示直链或支链C_1-C_4亚烷基，

◆Y_2表示键、-O-、-O-CH_2-、-O-CO-、-O-SO_2-、-CH_2-、-CH_2-O、-CH_2-CO-、-CH_2-SO_2-、-C_2H_5-、-CO-、-CO-O-、-CO-CH_2-、-CO-NH-CH_2-、-SO_2-、-SO_2-CH_2-、-NH-CO-、-NH-SO_2-、

◆m＝0、1或2，

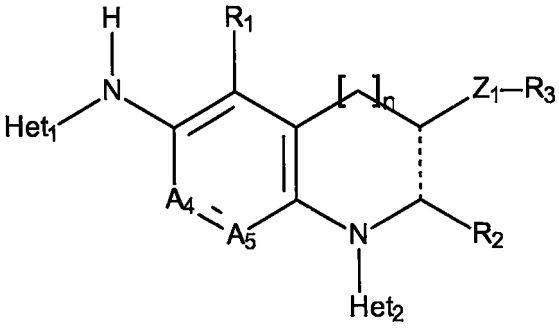
◆p＝1、2、3或4，

◆B_1、B_2、B_3和B_4彼此独立地表示C_3-C_8杂环烷基，所述基团可以：(i)是单环或双环基团，其中双环基团包括稠合、桥连或螺环系统，(ii)除氮原子外，还可以含有一个或两个独立地选自氧、硫和氮的杂原子，(iii)被一个或两个选自以下的基团取代：氟、溴、氯、直链或支链C_1-C_6烷基、羟基、-NH_2、氧代或哌啶基，

其中如果存在，R_3和R_8基团之一共价连接至接头，并且其中原子不会由于一个或多个与其键合的取代基而超出化合价。

42.如权利要求41所述的抗体-药物缀合物，其中R_1是直链或支链C_{1-6}烷基且R_2是H。

43.如权利要求1至40中任一项所述的抗体-药物缀合物，其中D包含式(II)的化合物：



(II)，

或前述任一项的对映异构体、非对映异构体和/或药学上可接受的盐，其中：

◆n＝0、1或2，

◆------表示单键或双键，

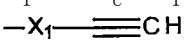
◆A_4和A_5彼此独立地表示碳或氮原子，

◆Z_1表示键、-N(R)-或-O-，其中R表示氢或直链或支链C_1-C_6烷基，

◆R_1表示选自以下的基团：氢；直链或支链C_1-C_6烷基，其任选被羟基或C_1-C_6烷氧基取代；C_3-C_6环烷基；三氟甲基；直链或支链C_1-C_6亚烷基-杂环烷基，其中该杂环烷基任选地被直链或支链C_1-C_6烷基取代；

◆R_2表示氢或甲基；

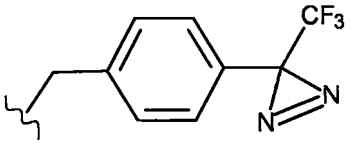
◆R_3表示选自以下的基团：氢；直链或支链C_1-C_4烷基；-X_1-NR_aR_b；-X_1-$N^+R_aR_bR_c$；-X_1-O-R_c；-X_1-$COOR_c$；-X_1-$PO(OH)_2$；-X_1-$SO_2(OH)$；-X_1-N_3和：



，

◆R_a和R_b彼此独立地表示选自以下的基团：氢；杂环烷基；-SO_2-苯基，其中所述苯基可以被直链或支链C_1-C_6烷基取代；任选被一个或两个羟基取代的直链或支链C_1-C_6烷基；C_1-C_6亚烷基-SO_2OH；C_1-C_6亚烷基-SO_2O^-；C_1-C_6亚烷基-COOH；C_1-C_6亚烷基-$PO(OH)_2$；C_1-C_6亚烷基-NR_dR_e；C_1-C_6亚烷基-$N^+R_dR_eR_f$；C_1-C_6亚烷基-苯基，其中所述苯基可以被C_1-C_6烷氧基取代；

基团：



或R_a和R_b与带有它们的氮原子形成环B_1；

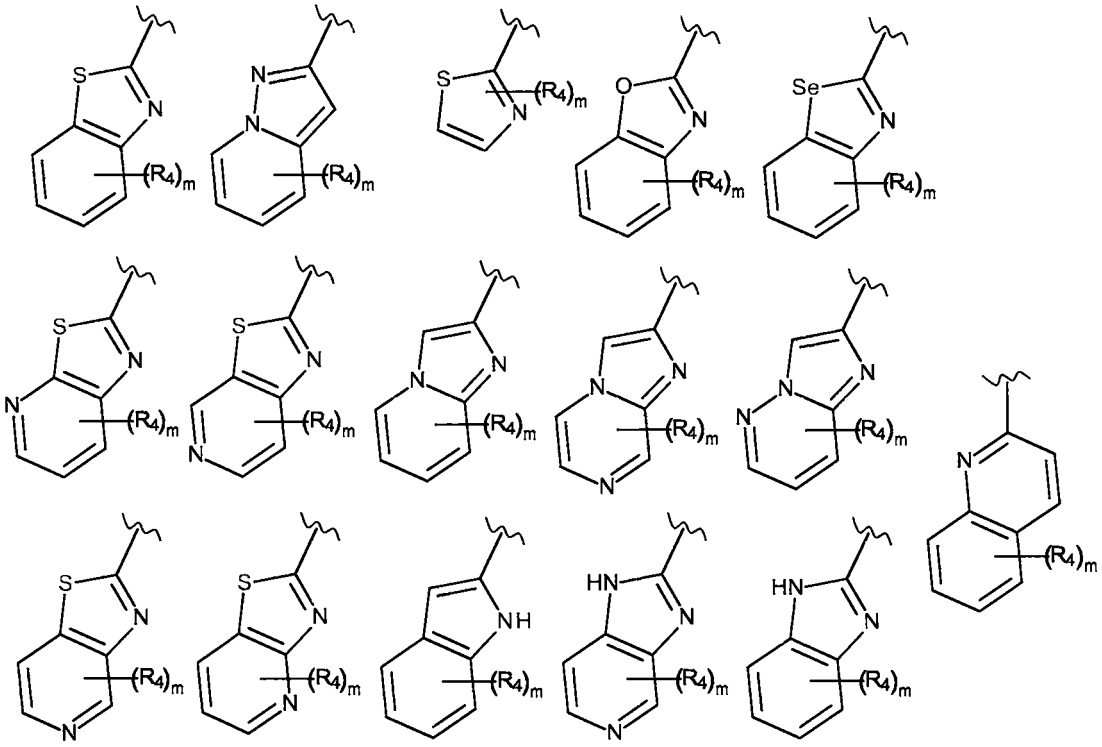
或R_a、R_b和R_c与带有它们的氮原子形成桥连的C_3-C_8杂环烷基，

◆R_c、R_d、R_e、R_f彼此独立地表示氢或直链或支链C_1-C_6烷基，

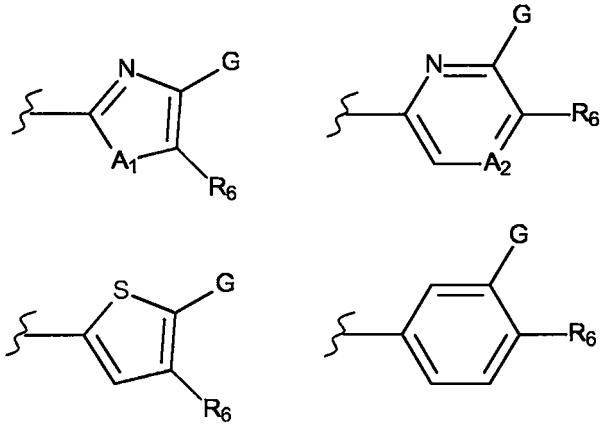
或R_d和R_e与带有它们的氮原子形成环B_2，

或R_d、R_e和R_f与带有它们的氮原子形成桥连的C_3-C_8杂环烷基，

◆Het_1表示选自以下的基团：



◆Het_2表示选自以下的基团：



◆A_1是-NH-、-N(C_1-C_3烷基)、O、S或Se，

◆A_2是N、CH或C(R_5)，

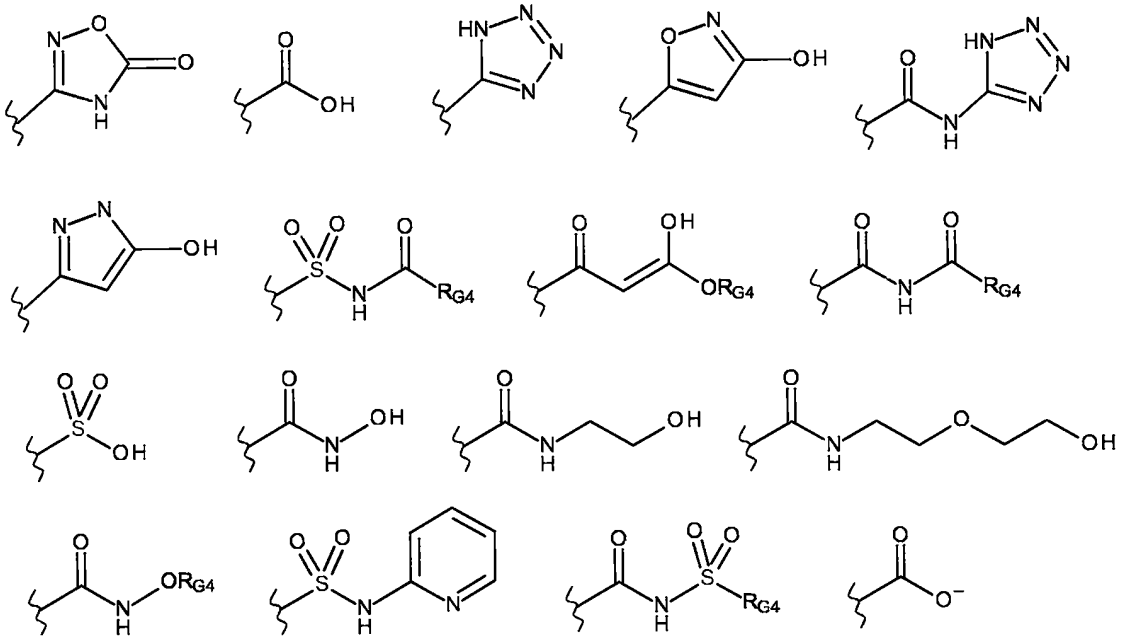
◆G选自由以下组成的组：

-C(O)OR_{G3}、-C(O)$NR_{G1}R_{G2}$、-C(O)R_{G2}、-NR_{G1}C(O)R_{G2}、-NR_{G1}C(O)$NR_{G1}R_{G2}$、-OC(O)$NR_{G1}R_{G2}$、-NR_{G1}C(O)OR_{G3}、-C(=NOR_{G1})$NR_{G1}R_{G2}$、-NR_{G1}C(=NCN)$NR_{G1}R_{G2}$、-NR_{G1}S(O)$_2NR_{G1}R_{G2}$、-S(O)$_2R_{G3}$、-S(O)$_2NR_{G1}R_{G2}$、-NR_{G1}S(O)$_2R_{G2}$、-NR_{G1}C(=NR_{G2})$NR_{G1}R_{G2}$、-C(=S)$NR_{G1}R_{G2}$、-C(=NR_{G1})$NR_{G1}R_{G2}$、任选被羟基取代的C_1-C_6烷基、卤素、-NO_2和-CN，其中：

-R_{G1}和R_{G2}在每次出现时各自独立地选自由以下组成的组：氢、任选被1至3个卤素原子取代的C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_3-C_6环烷基、苯基和-$(CH_2)_{1-4}$-苯基；

-R_{G3}选自由以下组成的组：任选被1至3个卤素原子取代的C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_3-C_6环烷基、苯基和-$(CH_2)_{1-4}$-苯基；或者

R_{G1}和R_{G2}与各自所连接的原子一起组合形成C_3-C_8杂环烷基；或者在替代方案中，G选自由以下组成的组：



其中R_{G4}选自氢、任选被1至3个卤素原子取代的C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基和C_3-C_6环烷基，

◆R_4表示氢、氟、氯或溴原子、甲基、羟基或甲氧基，

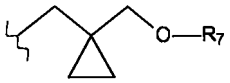
◆R_5表示选自以下的基团:任选被1至3个卤素原子取代的C_1-C_6烷基;C_2-C_6烯基;C_2-C_6炔基;卤素或-CN,

◆R_6表示选自以下的基团:

氢;

-C_2-C_6烯基;

-X_2-O-R_7;



;

-X_2-NSO_2-R_7;

-C=C(R_9)-Y_1-O-R_7;

C_3-C_6环烷基;

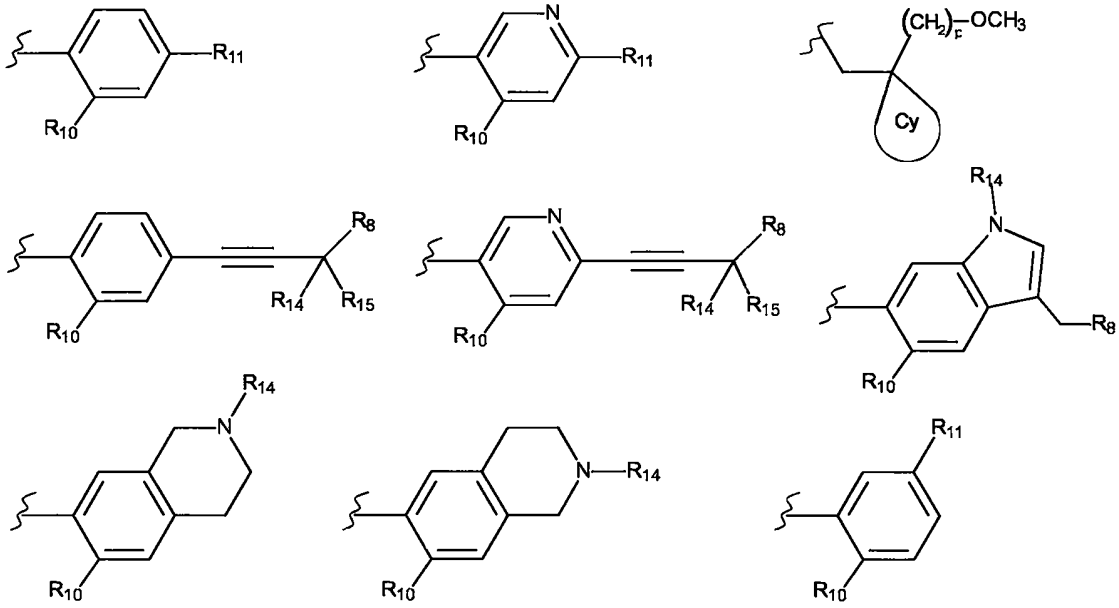
任选被羟基取代的C_3-C_6杂环烷基;

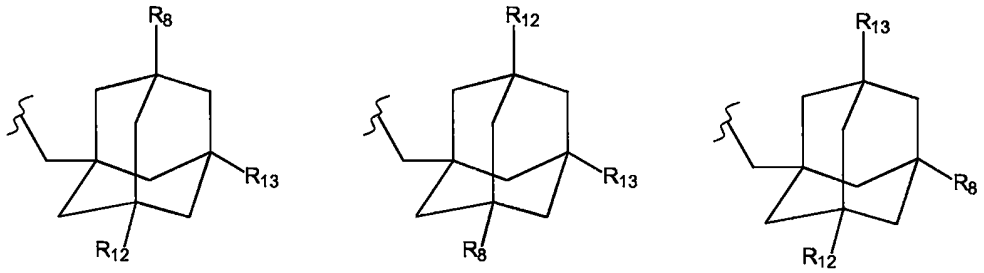
C_3-C_6环亚烷基-Y_2-R_7;

C_3-C_6杂亚环烷基-Y_2-R_7基团,

任选被直链或支链C_1-C_6烷基取代的杂亚芳基-R_7基团,

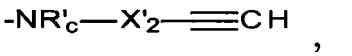
◆R_7表示选自以下的基团:直链或支链C_1-C_6烷基;(C_3-C_6)环亚烷基-R_8;或者:





其中Cy表示C_3-C_8环烷基,

◆R_8表示选自以下的基团：氢；直链或支链C_1-C_6烷基，-NR'$_a$R'$_b$；-NR'$_a$-CO-OR'$_c$；-NR'$_a$-CO-R'$_c$；-N^+R'$_a$R'$_b$R'$_c$；-O-R′c；-NH-X'$_2$-N^+R'$_a$R'$_b$R'$_c$；-O-X'$_2$-NR'$_a$R'$_b$、-X'$_2$-NR'$_a$R'$_b$、-NR'$_c$-X'$_2$-N_3和：



，

◆R_9表示选自直链或支链C_1-C_6烷基、三氟甲基、羟基、卤素、C_1-C_6烷氧基的基团，

◆R_{10}表示选自氢、氟、氯、溴、-CF_3和甲基的基团，

◆R_{11}表示选自氢、卤素、C_1-C_3亚烷基-R_8、-O-C_1-C_3亚烷基-R_8、-CO-NR_hR_i和-CH＝CH-C_1-C_4亚烷基-NR_hR_i、-CH＝CH-CHO、C_3-C_8亚环烷基-CH_2-R_8、C_3-C_8杂环亚烷基-CH_2-R_8的基团，

◆R_{12}和R_{13}彼此独立地表示氢原子或甲基，

◆R_{14}和R_{15}彼此独立地表示氢或甲基，或者R_{14}和R_{15}与带有它们的碳原子形成环己基，

◆R_h和R_i彼此独立地表示氢或直链或支链C_1-C_6烷基，

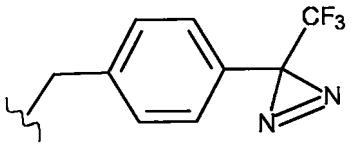
◆X_1表示直链或支链C_1-C_4亚烷基，其任选被一个或两个选自三氟甲基、羟基、卤素、C_1-C_6烷氧基的基团取代，

◆X_2表示直链或支链C_1-C_6亚烷基，其任选被一个或两个选自三氟甲基、羟基、卤素、C_1-C_6烷氧基的基团取代，

◆X'$_2$表示直链或支链的C_1-C_6亚烷基，

◆R'$_a$和R'$_b$彼此独立地表示选自以下的基团：氢；杂环烷基；-SO_2-苯基，其中所述苯基可以被直链或支链C_1-C_6烷基取代；任选被一个或两个羟基或C_1-C_6烷氧基取代的直链或支链C_1-C_6烷基；C_1-C_6亚烷基-SO_2OH；C_1-C_6亚烷基-SO_2O^-；C_1-C_6亚烷基-COOH；C_1-C_6亚烷基-PO(OH)$_2$；C_1-C_6亚烷基-NR'$_d$R'$_e$；C_1-C_6亚烷基-N^+R′$_d$R′$_e$R′$_f$；C_1-C_6亚烷基-O-C_1-C_6亚烷基-OH；C_1-C_6亚烷基-苯基，其中所述苯基可以被羟基或C_1-C_6烷氧基取代；

基团：



或R'$_a$和R'$_b$与带有它们的氮原子形成环B_3，

或R'$_a$、R'$_b$和R'$_c$与带有它们的氮原子形成桥连的C_3-C_8杂环烷基，

◆R'$_c$、R'$_d$、R'$_e$、R'$_f$彼此独立地表示氢或直链或支链C_1-C_6烷基，

或R'$_d$和R'$_e$与带有它们的氮原子形成环B_4，

或R'$_d$、R'$_e$和R'$_f$与带有它们的氮原子形成桥连的C_3-C_8杂环烷基，

◆Y_1表示直链或支链C_1-C_4亚烷基，

◆Y_2表示键、-O-、-O-CH_2-、-O-CO-、-O-SO_2-、-CH_2-、-CH_2-O、-CH_2-CO-、-CH_2-SO_2-、-C_2H_5-、-CO-、-CO-O-、-CO-CH_2-、-CO-NH-CH_2-、-SO_2-、-SO_2-CH_2-、-NH-CO-、-NH-SO_2-，

◆m＝0、1或2，

◆p＝1、2、3或4，

◆B_1、B_2、B_3和B_4彼此独立地表示C_3-C_8杂环烷基，所述基团可以：(i)是单环或双环基团，其中双环基团包括稠合、桥连或螺环系统，(ii)除氮原子外，还可以含有一个或两个独立地选自氧、硫和氮的杂原子，(iii)被一个或两个选自以下的基团取代：氟、溴、氯、直链或支链

C_1-C_6烷基、羟基、-NH_2、氧代或哌啶基，

其中如果存在，R_3和R_8基团之一共价连接至接头，并且其中原子不会由于一个或多个与其键合的取代基而超出化合价。

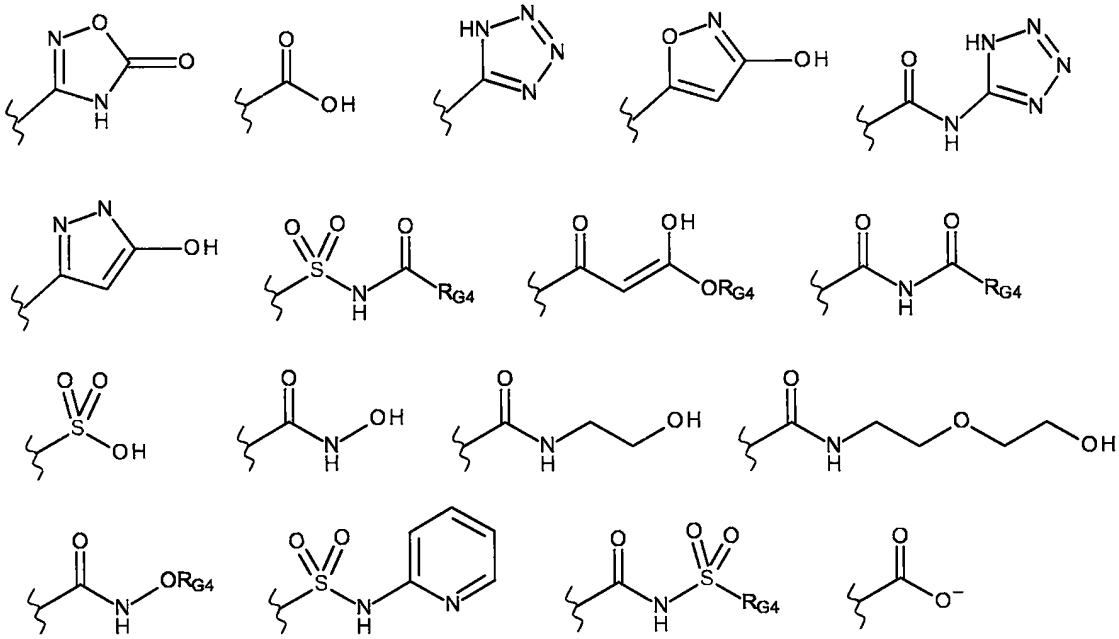
44.如权利要求43所述的抗体-药物缀合物，其中A_1和A_5均表示氮原子，R_1是直链或支链C_{1-6}烷基；R_2是H；n是1；并且------代表单键。

45.如权利要求1-44中任一项所述的抗体-药物缀合物，其中如权利要求1所述的抗体-药物缀合物，其中G选自由以下组成的组：-C(O)OR_{G3}、-C(O)$NR_{G1}R_{G2}$、-C(O)R_{G2}、-NR_{G1}C(O)R_{G2}、-NR_{G1}C(O)$NR_{G1}R_{G2}$、-OC(O)$NR_{G1}R_{G2}$、-NR_{G1}C(O)OR_{G3}、-C(=NOR_{G1})$NR_{G1}R_{G2}$、-NR_{G1}C(=NCN)$NR_{G1}R_{G2}$、-NR_{G1}S(O)$_2NR_{G1}R_{G2}$、-S(O)$_2R_{G3}$、-S(O)$_2NR_{G1}R_{G2}$、-NR_{G1}S(O)$_2R_{G2}$、-NR_{G1}C(=NR_{G2})$NR_{G1}R_{G2}$、-C(=S)$NR_{G1}R_{G2}$、-C(=NR_{G1})$NR_{G1}R_{G2}$、卤素、-NO_2和-CN，其中：

-R_{G1}和R_{G2}在每次出现时各自独立地选自由以下组成的组：氢、任选被1至3个卤素原子取代的C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_3-C_6环烷基、苯基和-$(CH_2)_{1-4}$-苯基；

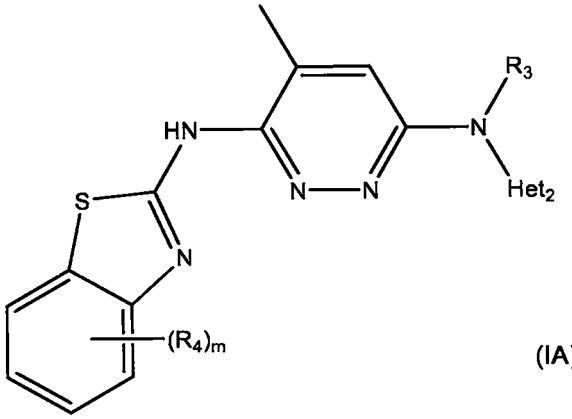
-R_{G3}选自由以下组成的组：任选被1至3个卤素原子取代的C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_3-C_6环烷基、苯基和-$(CH_2)_{1-4}$-苯基；或者

R_{G1}和R_{G2}与各自所连接的原子一起组合形成C_3-C_8杂环烷基；或者在替代方案中，G选自由以下组成的组：



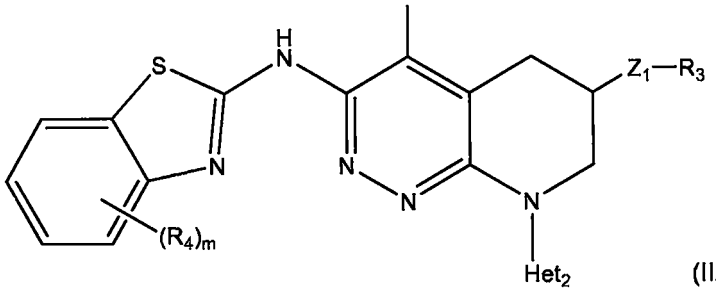
其中R_{G4}选自任选被1至3个卤素原子取代的C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基和C_3-C_6环烷基。

46.如权利要求1-40中任一项所述的抗体-药物缀合物，其中D包含式(IA)或(IIA)化合物：



(IA)

、或



(IIA)

或前述任一项的对映异构体、非对映异构体和/或药学上可接受的盐，其中：

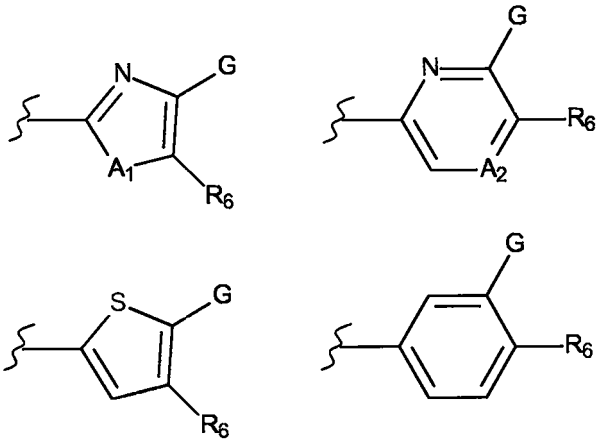
◆Z_1表示键或-O-，

◆R_3表示选自以下的基团：氢；C_3-C_6环烷基；直链或支链C_1-C_6烷基；-X_1-NR_aR_b；-X_1-$N^+R_aR_bR_c$；和-X_1-O-R_c，

◆R_a和R_b彼此独立地表示选自以下的基团：氢；任选被一个或两个羟基取代的直链或支链C_1-C_6烷基；和C_1-C_6亚烷基-SO_2O^-，

◆R_c表示氢或直链或支链C_1-C_6烷基，

◆Het_2表示选自以下的基团：



◆A_1是-NH-、-N(C_1-C_3烷基)、O、S或Se，

◆A_2是N、CH或C(R_5)，

◆G选自由以下组成的组：

-C(O)OH、-C(O)OR_{G3}、-C(O)$NR_{G1}R_{G2}$、-C(O)R_{G2}、-NR_{G1}C(O)R_{G2}、-NR_{G1}C(O)$NR_{G1}R_{G2}$、-OC(O)$NR_{G1}R_{G2}$、-NR_{G1}C(O)OR_{G3}、-C(=NOR_{G1})$NR_{G1}R_{G2}$、-NR_{G1}C(=NCN)$NR_{G1}R_{G2}$、-NR_{G1}S(O)$_2NR_{G1}R_{G2}$、-S(O)$_2R_{G3}$、-S(O)$_2NR_{G1}R_{G2}$、-NR_{G1}S(O)$_2R_{G2}$、-NR_{G1}C(=NR_{G2})$NR_{G1}R_{G2}$、-C(=S)$NR_{G1}R_{G2}$、-C(=NR_{G1})

$NR_{G1}R_{G2}$、任选被羟基取代的C_1-C_6烷基、卤素、-NO_2和-CN，其中：

-R_{G1}和R_{G2}在每次出现时各自独立地选自由以下组成的组：氢、和任选被1至3个卤素原子取代的C_1-C_6烷基；

-R_{G3}是任选被1至3个卤素原子取代的C_1-C_6烷基；或者

R_{G1}和R_{G2}与各自所连接的原子一起组合形成C_3-C_8杂环烷基；

◆R_4表示氢、氟、氯或溴原子、甲基、羟基或甲氧基，

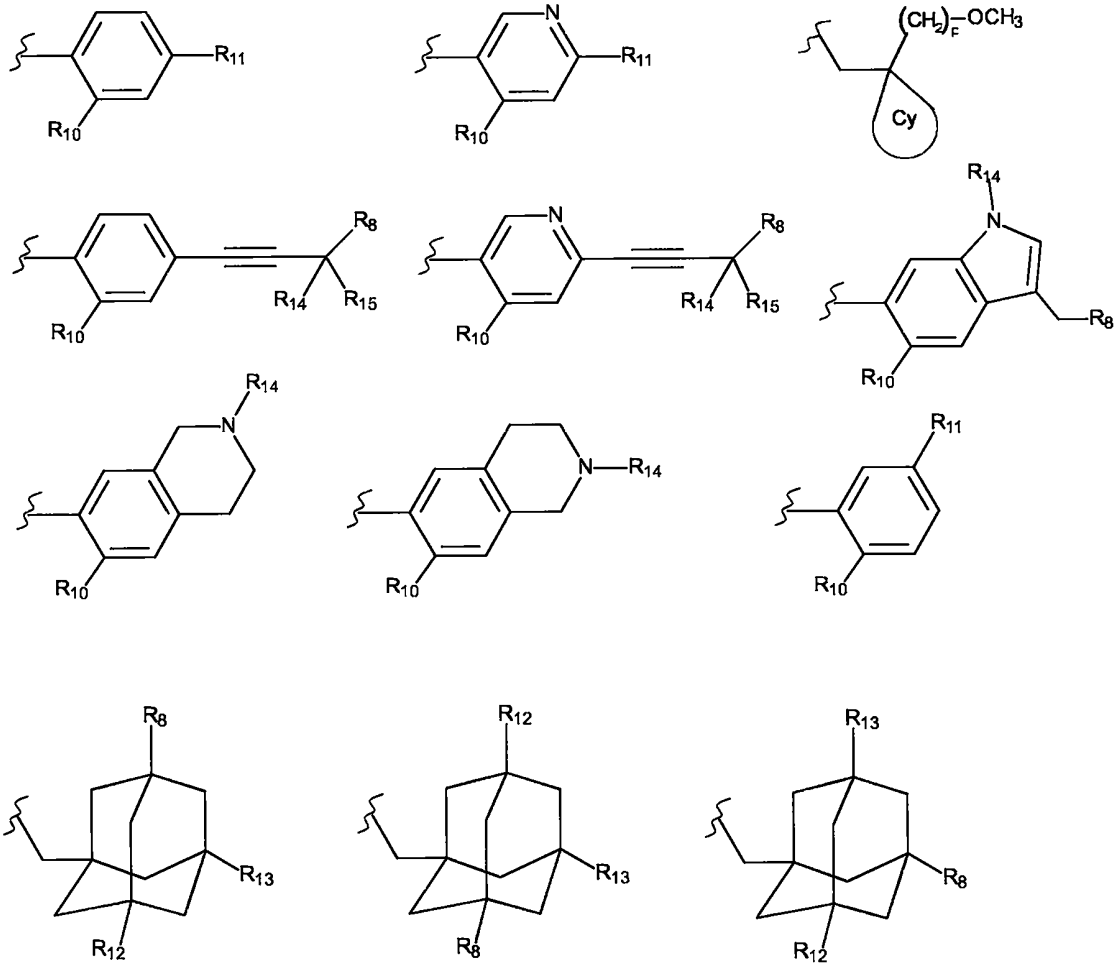
◆R_5表示选自以下的基团：任选被1至3个卤素原子取代的C_1-C_6烷基；卤素或-CN，

◆R_6表示选自以下的基团：

-X_2-O-R_7；以及

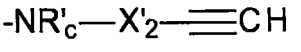
任选被直链或支链C_1-C_6烷基取代的杂亚芳基-R_7基团，

◆R_7表示选自以下的基团：直链或支链C_1-C_6烷基；(C_3-C_6)环亚烷基-R_8；或者：



其中Cy表示C_3-C_8环烷基，

◆R_8表示选自以下的基团：氢；直链或支链C_1-C_6烷基，-$NR'_aR'_b$；-NR'_a-CO-OR'_c；-NR'_a-CO-R'_c；-$N^+R'_aR'_bR'_c$；-O-R'_c；-NH-X'_2-$N^+R'_aR'_bR'_c$；-O-X'_2-$NR'_aR'_b$；-X'_2-$NR'_aR'_b$；-NR'_c-X'_2-N_3和：



，

◆R_{10}表示选自氢、氟、氯、溴、-CF_3和甲基的基团，

◆R_{11}表示选自氢、C_1-C_3亚烷基-R_8、-O-C_1-C_3亚烷基-R_8、-CO-NR_hR_i和-CH＝CH-C_1-C_4亚烷

基-NR_hR_i、-CH=CH-CHO、C_3-C_8环亚烷基-CH_2-R_8、C_3-C_8杂环亚烷基-CH_2-R_8的基团，

◆R_{12}和R_{13}彼此独立地表示氢原子或甲基，

◆R_{14}和R_{15}彼此独立地表示氢或甲基，或者R_{14}和R_{15}与带有它们的碳原子形成环己基，

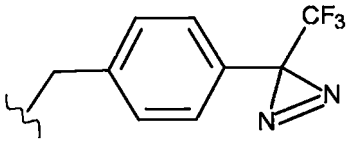
◆R_h和R_i彼此独立地表示氢或直链或支链C_1-C_6烷基，

◆X_1和X_2彼此独立地表示直链或支链C_1-C_6亚烷基，其任选被一个或两个选自三氟甲基、羟基、卤素、C_1-C_6烷氧基的基团取代，

◆X'_2表示直链或支链的C_1-C_6亚烷基，

◆R'_a和R'_b彼此独立地表示选自以下的基团：氢；杂环烷基；-SO_2-苯基，其中所述苯基可以被直链或支链C_1-C_6烷基取代；任选被一个或两个羟基或C_1-C_6烷氧基取代的直链或支链C_1-C_6烷基；C_1-C_6亚烷基-SO_2OH；C_1-C_6亚烷基-SO_2O^-；C_1-C_6亚烷基-COOH；C_1-C_6亚烷基-$PO(OH)_2$；C_1-C_6亚烷基-$NR'_dR'_e$；C_1-C_6亚烷基-$N^+R'_dR'_eR'_f$；C_1-C_6亚烷基-O-C_1-C_6亚烷基-OH；C_1-C_6亚烷基-苯基，其中所述苯基可以被羟基或C_1-C_6烷氧基取代；

基团：



或R'_a和R'_b与带有它们的氮原子形成环B_3，

或R'_a、R'_b和R'_c与带有它们的氮原子形成桥连的C_3-C_8杂环烷基，

◆R'_c、R'_d、R'_e、R'_f彼此独立地表示氢或直链或支链C_1-C_6烷基，

或R'_d和R'_e与带有它们的氮原子形成环B_4，

或R'_d、R'_e和R'_f与带有它们的氮原子形成桥连的C_3-C_8杂环烷基，

◆m=0、1或2，

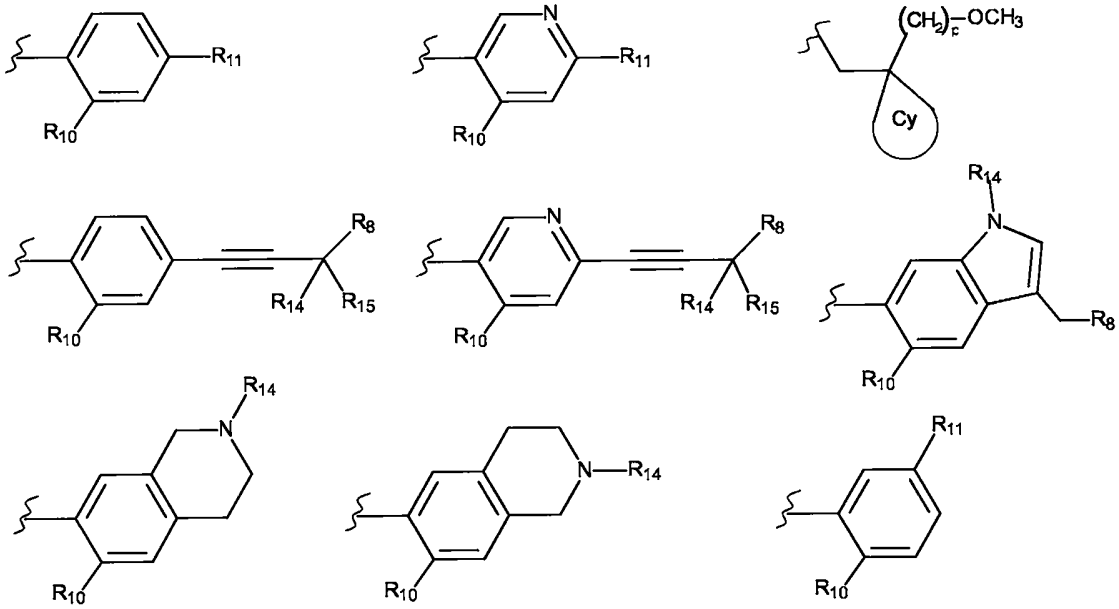
◆p=1、2、3或4，

◆B_3和B_4彼此独立地表示C_3-C_8杂环烷基基团，该基团可以：(i)是单环或双环基团，其中双环基团包括稠合、桥连或螺环系统，(ii)除氮原子外，还可以含有一个或两个独立地选自氧、硫和氮的杂原子，(iii)被一个或两个选自以下的基团取代：氟、溴、氯、直链或支链C_1-C_6烷基、羟基、-NH_2、氧代或哌啶基。

47.如权利要求46所述的抗体-药物缀合物，其中G选自由以下组成的组：-C(O)OH、-C(O)OR_{G3}、-C(O)$NR_{G1}R_{G2}$、-C(O)R_{G2}、-NR_{G1}C(O)R_{G2}、-NR_{G1}C(O)$NR_{G1}R_{G2}$、-OC(O)$NR_{G1}R_{G2}$、-NR_{G1}C(O)OR_{G3}、-C(=NOR_{G1})$NR_{G1}R_{G2}$、-NR_{G1}C(=NCN)$NR_{G1}R_{G2}$、-$NR_{G1}S(O)_2NR_{G1}R_{G2}$、-$S(O)_2R_{G3}$、-$S(O)_2NR_{G1}R_{G2}$、-$NR_{G1}S(O)_2R_{G2}$、-$NR_{G1}$C(=$NR_{G2}$)$NR_{G1}R_{G2}$、-C(=S)$NR_{G1}R_{G2}$、-C(=$NR_{G1}$)$NR_{G1}R_{G2}$、卤素、-$NO_2$、和-CN。

48.如权利要求1-47中任一项所述的抗体-药物缀合物，其中

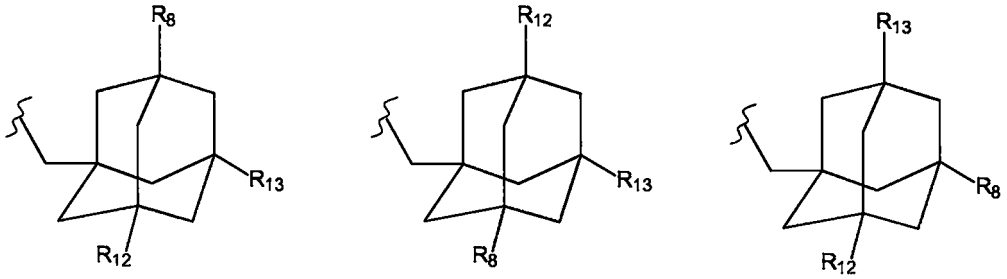
R_7表示选自以下的基团：直链或支链C_1-C_6烷基；(C_3-C_6)环亚烷基-R_8；或者：



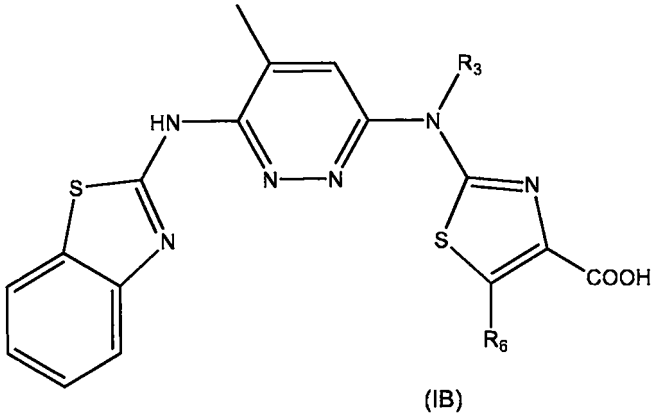
其中Cy表示C_3-C_8环烷基。

49.如权利要求1-47中任一项所述的抗体-药物缀合物,其中

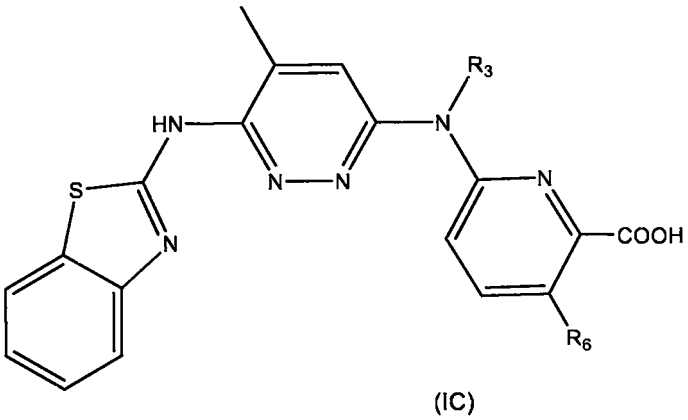
R_7表示选自以下的基团:



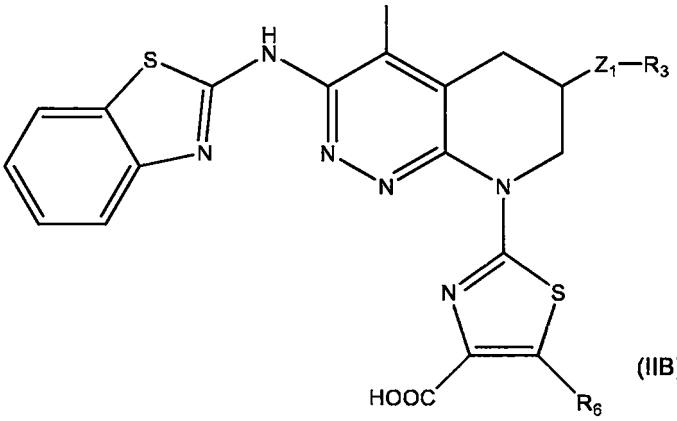
50.如权利要求1-40中任一项所述的抗体-药物缀合物,其中D包含式(IB)、(IC)、(IIB)或(IIC)的化合物:



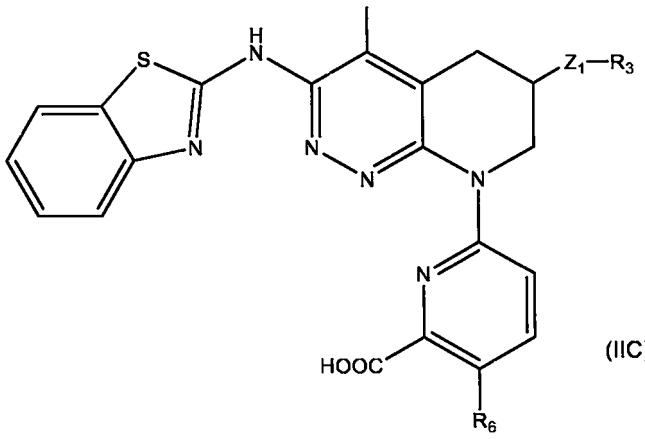
(IB)、



(IC)、



(IIB)、或



(IIC)，

或前述任一项的对映异构体、非对映异构体和/或药学上可接受的盐，其中：

◆对于式(IB)或(IC)，R_3表示选自以下的基团：氢；直链或支链C_1-C_6烷基；-X_1-NR_aR_b；-

X_1-$N^+R_aR_bR_c$；和-X_1-O-R_c；

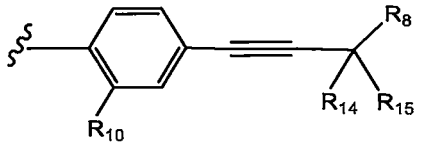
对于式(IIB)或(IIC)中，Z_1表示键，并且R_3表示氢；或Z_1表示-O-，并且R_3表示-X_1-NR_aR_b，

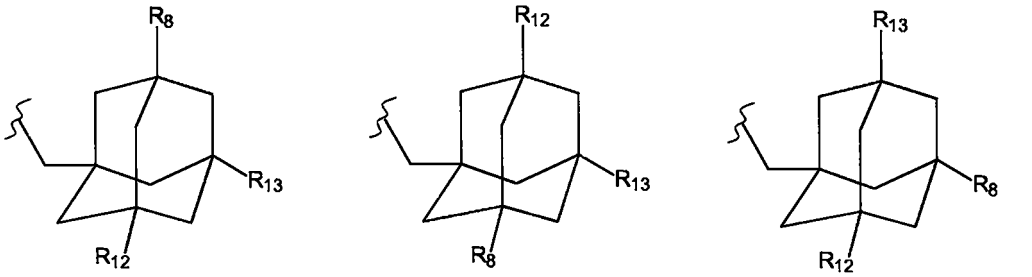
◆R_a和R_b彼此独立地表示选自以下的基团：氢；任选被一个或两个羟基取代的直链或支链C_1-C_6烷基；和C_1-C_6亚烷基-SO_2O^-，

◆R_c表示氢或直链或支链C_1-C_6烷基

◆R_6表示-X_2-O-R_7或任选被直链或支链C_1-C_6烷基取代的杂亚芳基-R_7基团，

◆R_7表示选自以下的基团：





，

◆R_8表示选自以下的基团：-$NR'_aR'_b$；-O-X'_2-$NR'_aR'_b$；和-X'_2-$NR'_aR'_b$，

◆R_{10}表示氟，

◆R_{12}和R_{13}彼此独立地表示氢原子或甲基，

◆R_{14}和R_{15}彼此独立地表示氢或甲基，

◆X_1和X_2彼此独立地表示直链或支链C_1-C_6亚烷基，其任选被一个或两个选自三氟甲基、羟基、卤素、C_1-C_6烷氧基的基团取代，

◆X'_2表示直链或支链的C_1-C_6亚烷基，

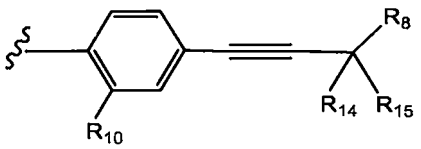
◆R'_a和R'_b彼此独立地表示选自以下的基团：氢；任选被一个或两个羟基或C_1-C_6烷氧基取代的直链或支链C_1-C_6烷基；C_1-C_6亚烷基-$NR'_dR'_e$；

或R'_a和R'_b与带有它们的氮原子形成环B_3，

◆R'_d、R'_e彼此独立地表示氢或直链或支链C_1-C_6烷基，

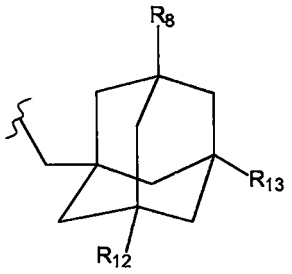
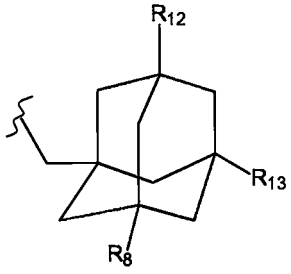
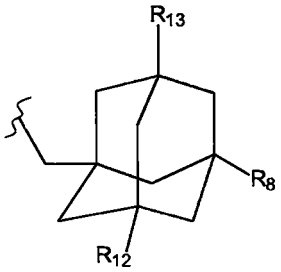
◆B_3表示C_3-C_8杂环烷基，所述基团可以：(i)是单环或双环基团，其中双环基团包括稠合、桥连或螺环系统，(ii)除氮原子外，还可以含有一个或两个独立地选自氧和氮的杂原子，(iii)被一个或两个选自以下的基团取代：氟、溴、氯、直链或支链C_1-C_6烷基、羟基和氧代。

51.如权利要求1-50中任一项所述的抗体-药物缀合物，其中R_7表示以下基团：



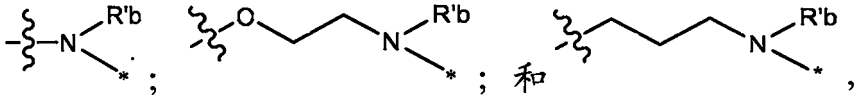
。

52.如权利要求1-50中任一项所述的抗体-药物缀合物，其中R_7表示选自以下的基团：

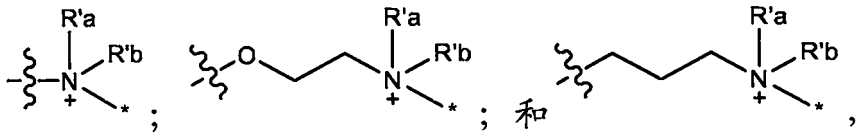




。

53.如权利要求41至52中任一项所述的抗体-药物缀合物，其中R_8表示选自以下的基团：



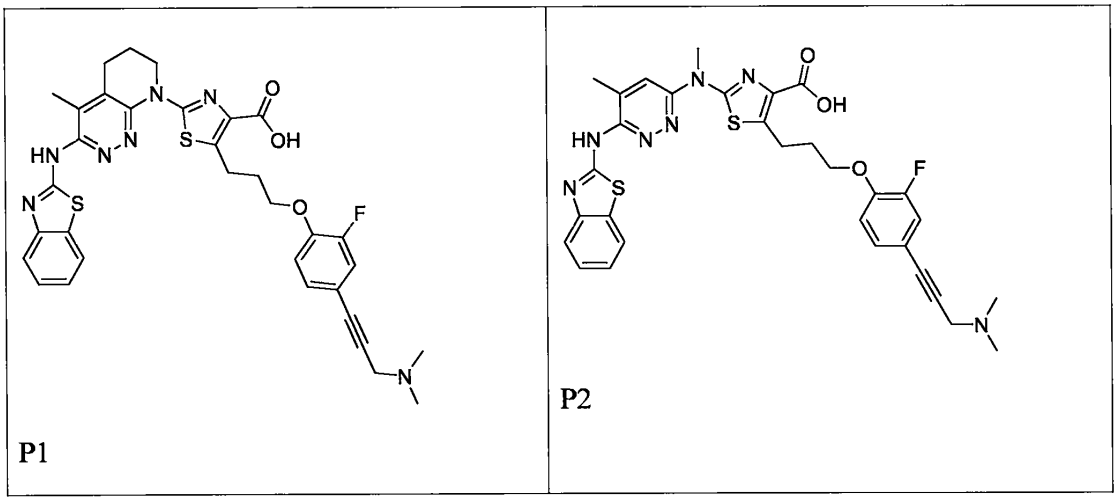
；和

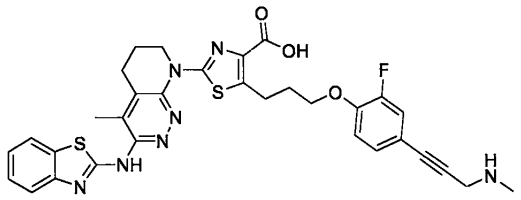
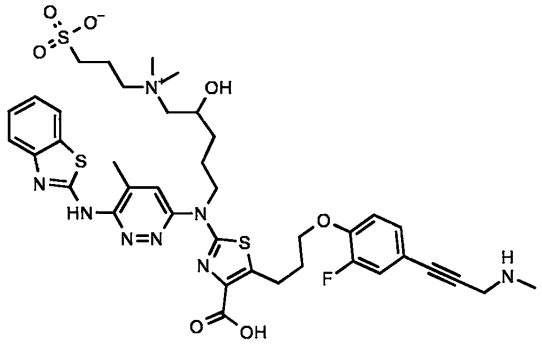
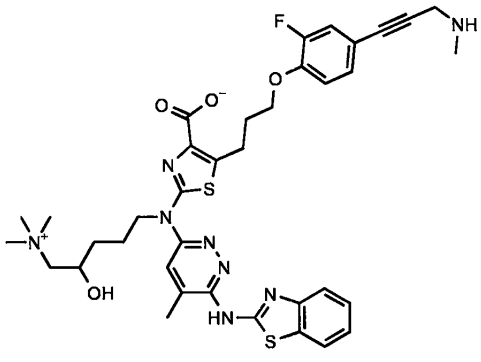
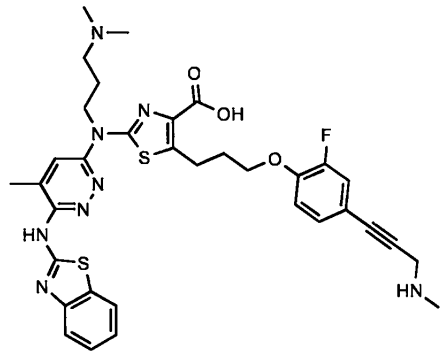
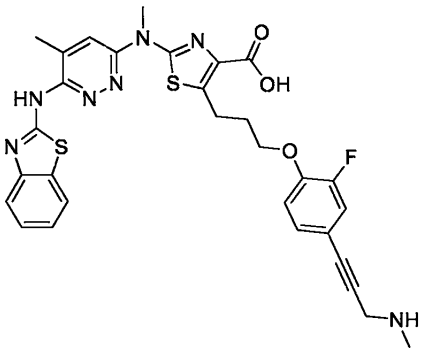
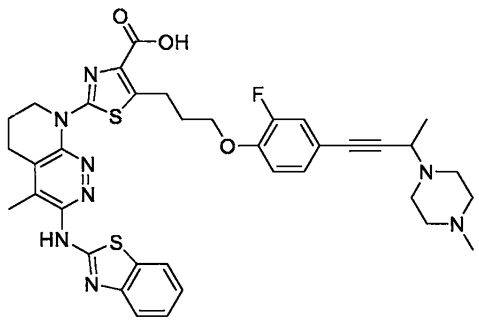


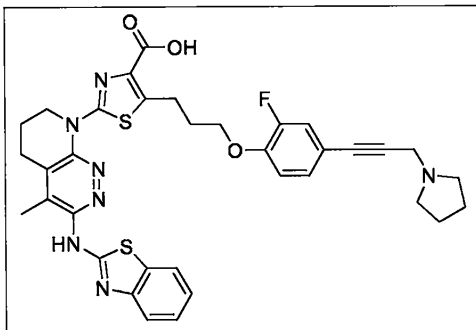
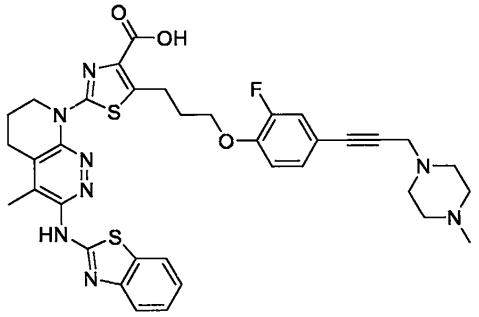
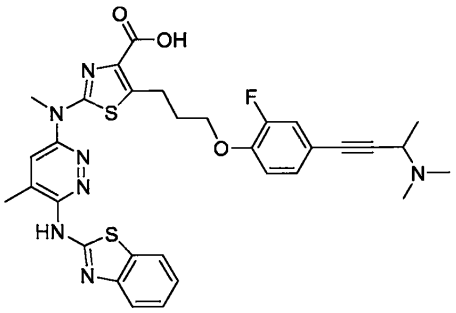
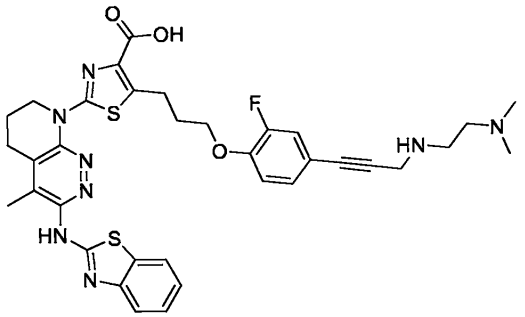
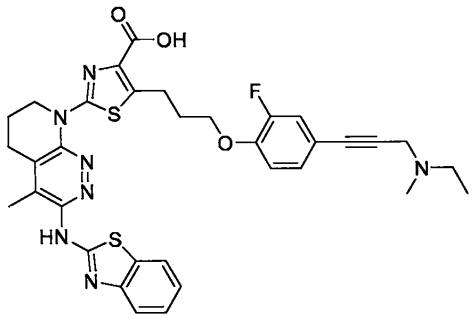
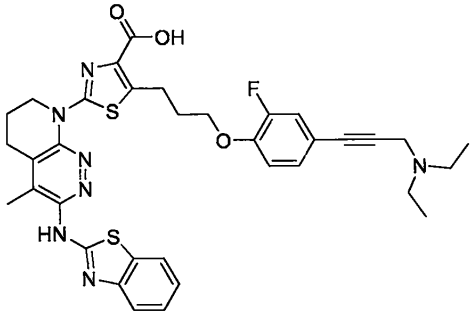
其中-*表示与接头的键。

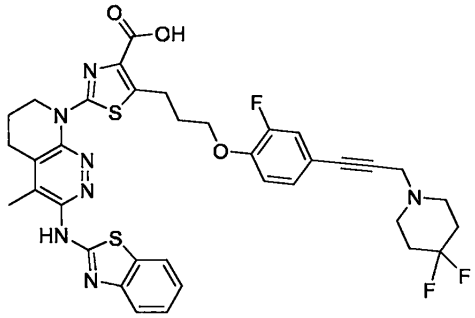
54.如权利要求41至53中任一项所述的抗体-药物缀合物，其中B_3表示选自吡咯烷基、哌啶基、哌嗪基、吗啉基、氮杂环庚基和4,4-二氟哌啶-1-基的C_3-C_8杂环烷基。

55.如权利要求1至40中任一项所述的抗体-药物缀合物，其中D表示附接至L的下列任一个：

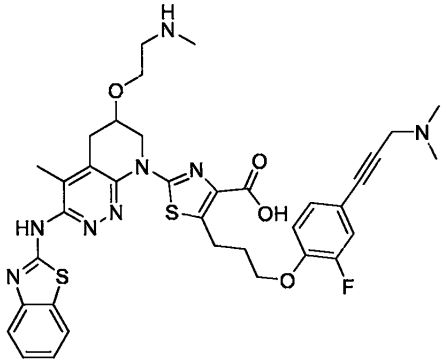


 P3	 P4
 P5	 P6
 P7	 P8

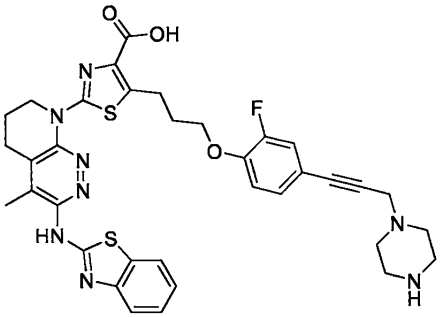
 P9	 P10
 P11	 P12
 P13	 P14



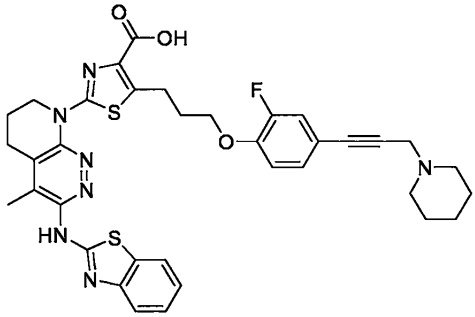
P15



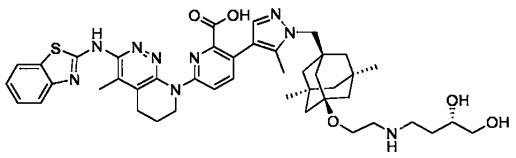
P16



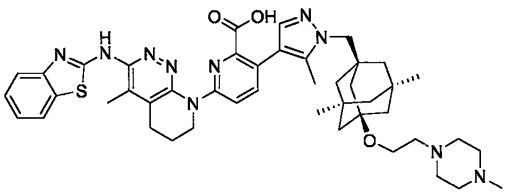
P17



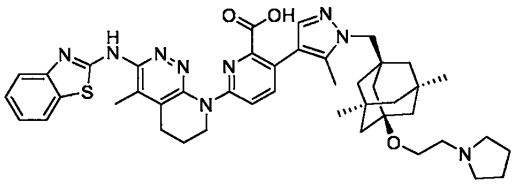
P18

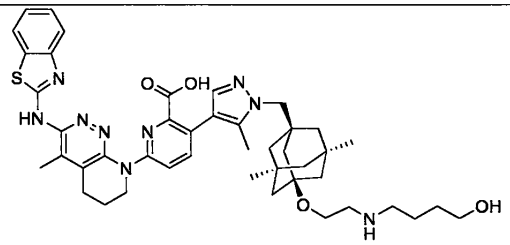
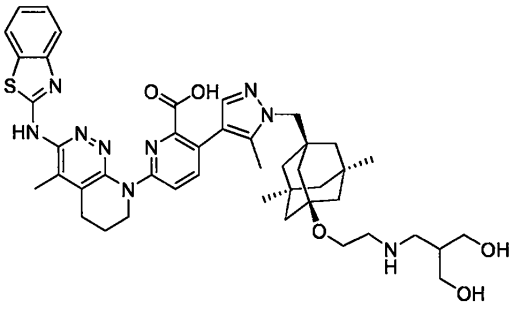
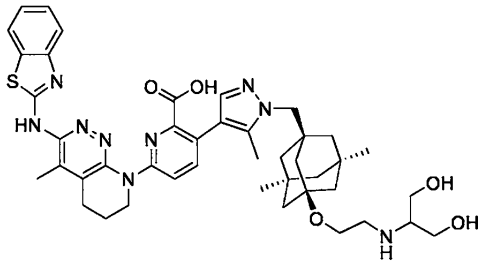
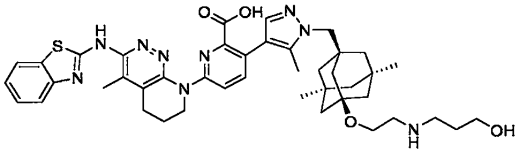
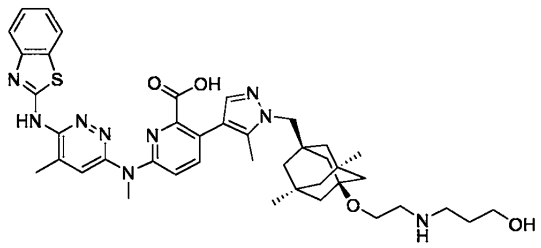
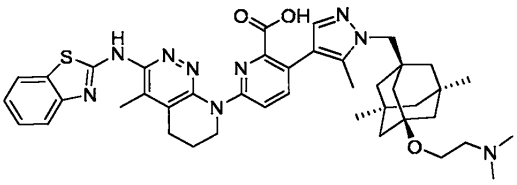


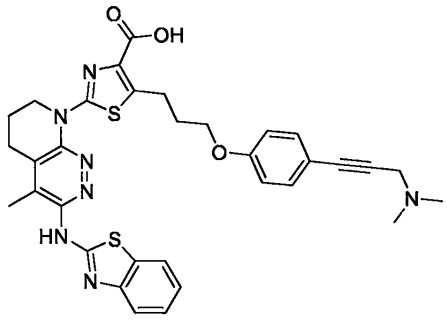
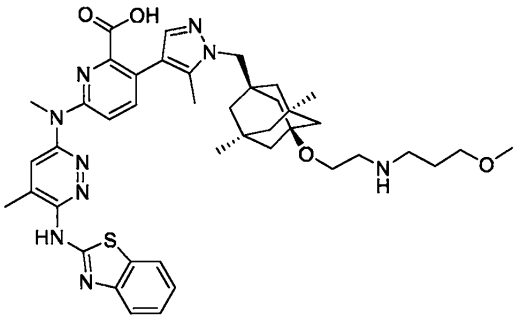
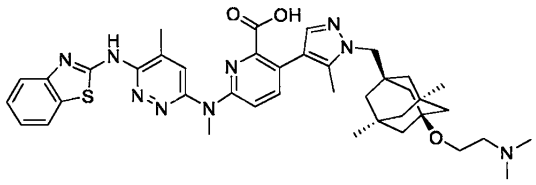
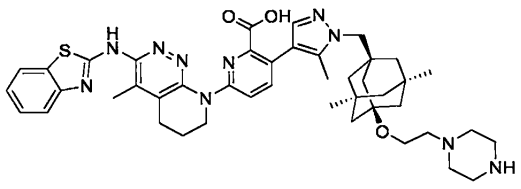
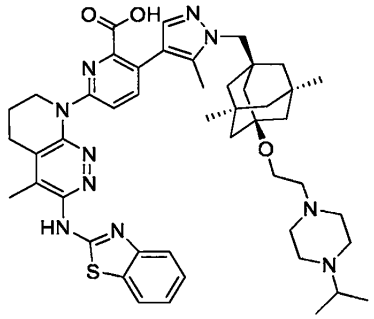
P19

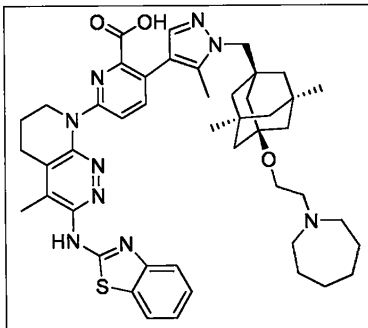


P20

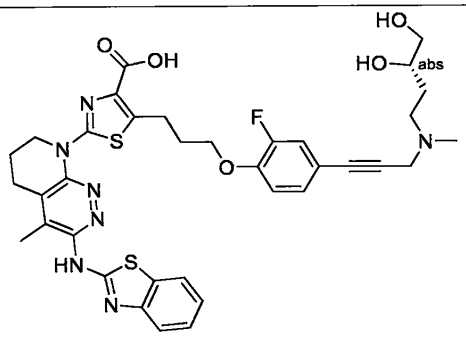


P21	 P22
 P23	 P24
 P25	 P26
 P27	

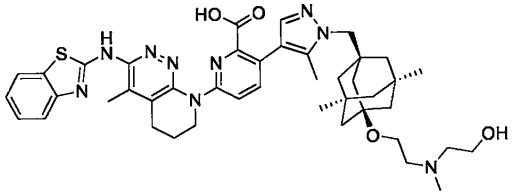
	 P28
 P29	 P30
 P31	 P32



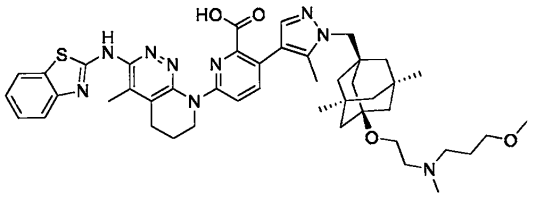
P33



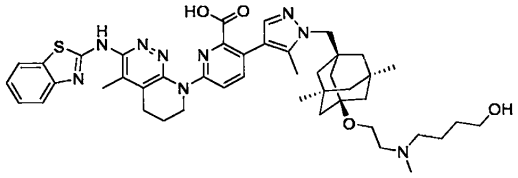
P34



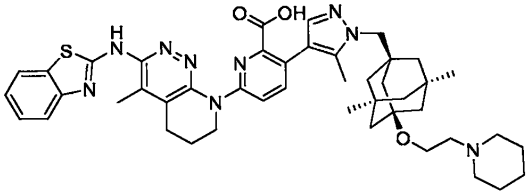
P35



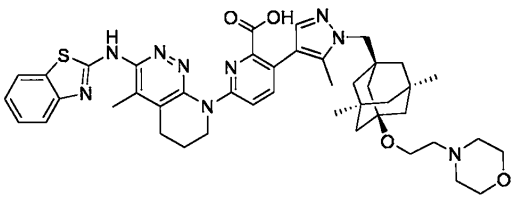
P36



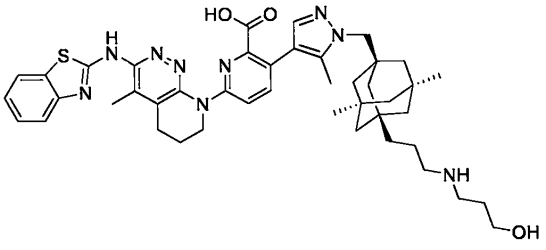
P37



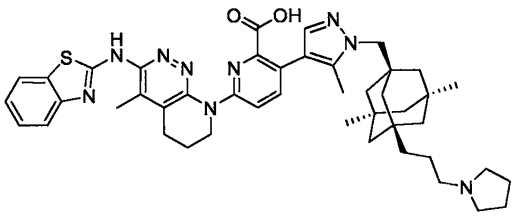
P38



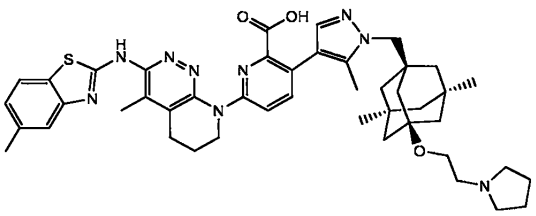
P39



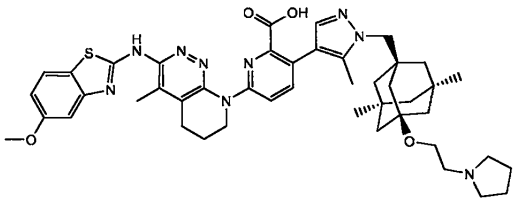
P40



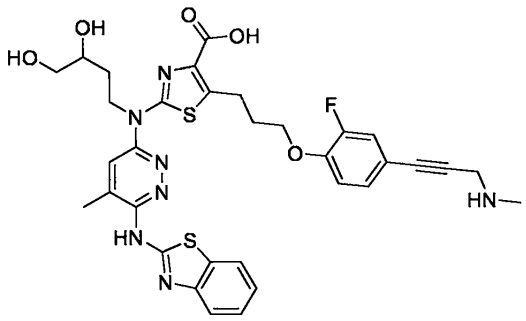
P41



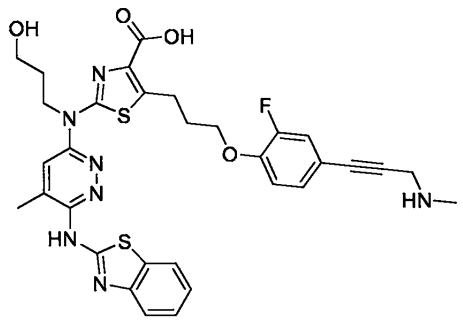
P42



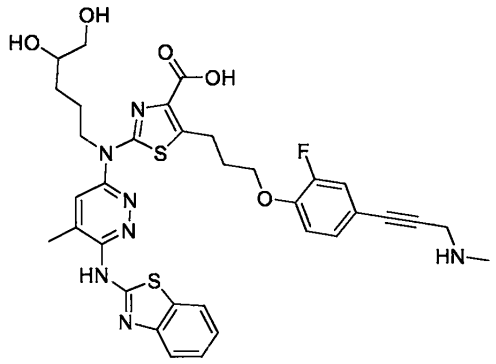
P43



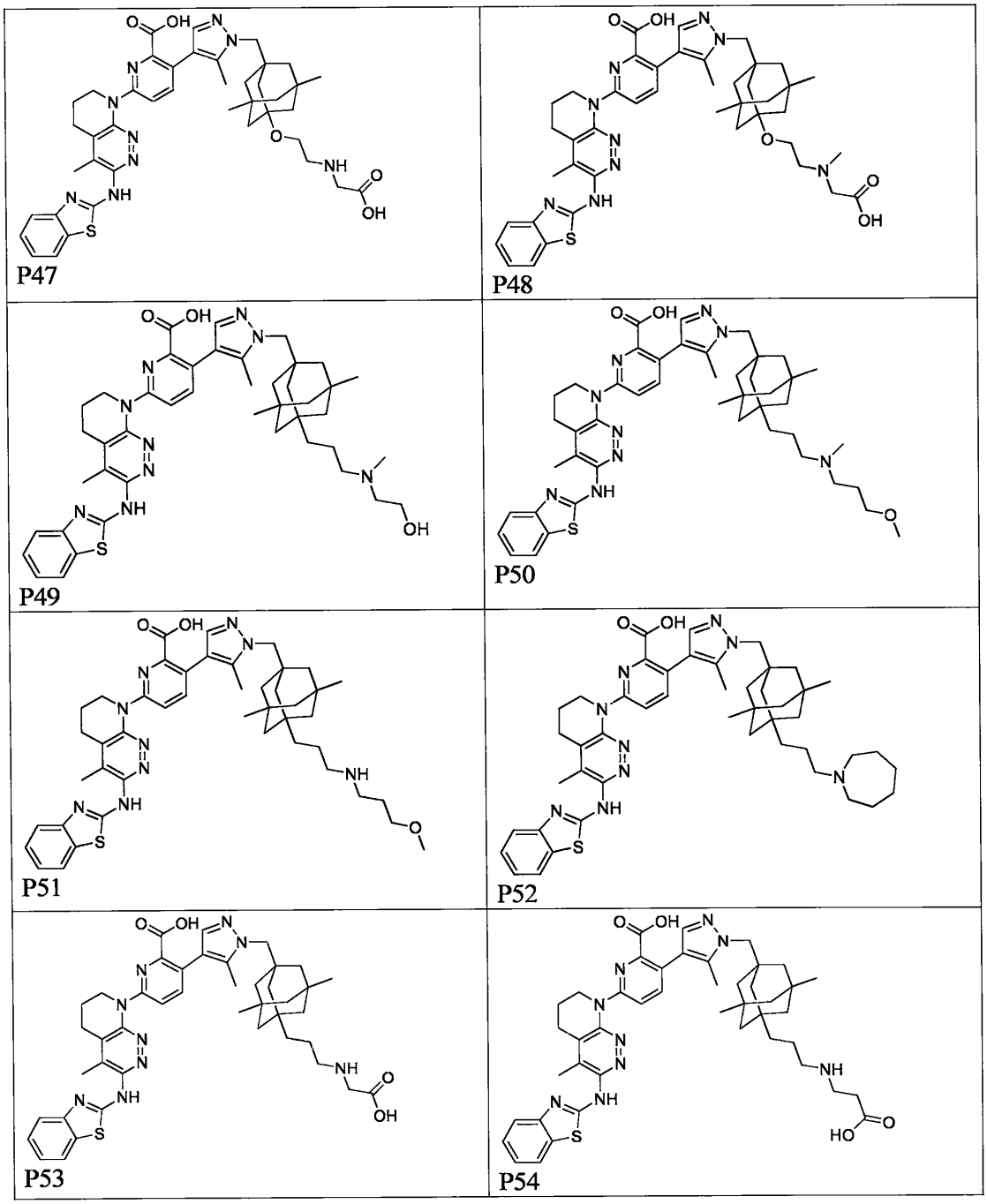
P44

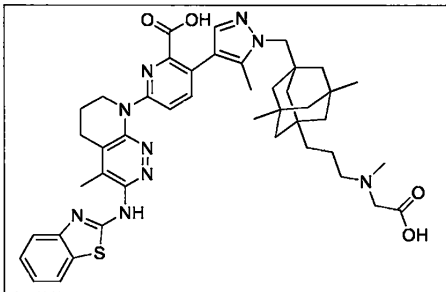


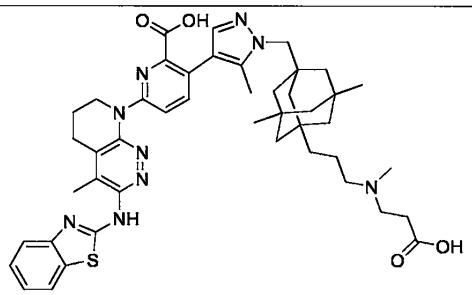
P45

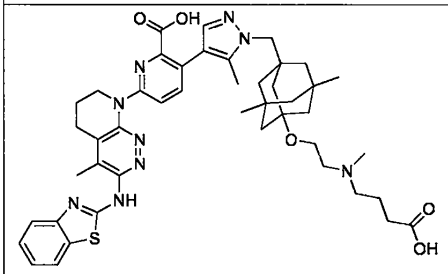


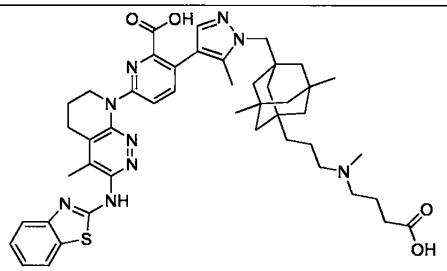
P46

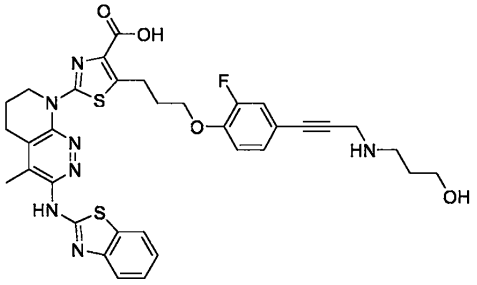

P47
P48
P49
P50
P51
P52
P53
P54

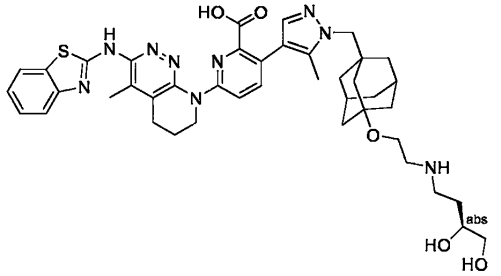

P55

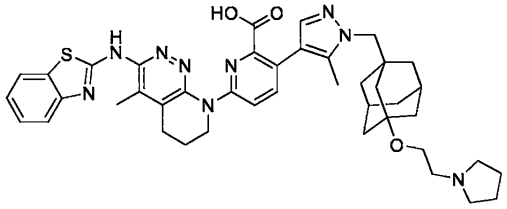

P56

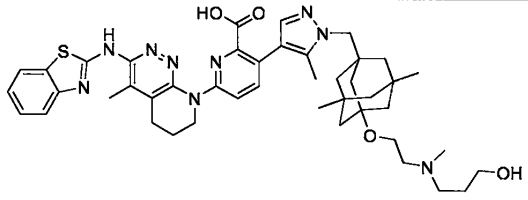

P57

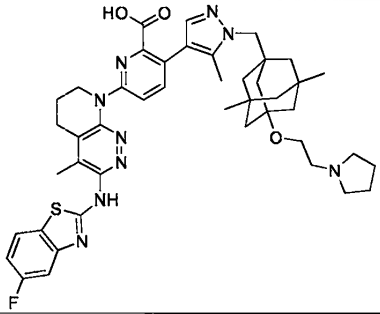

P58

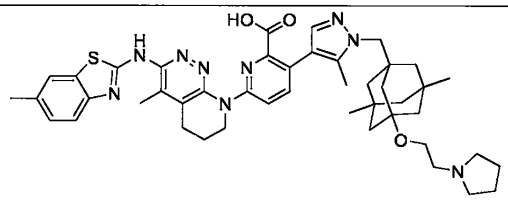

P59

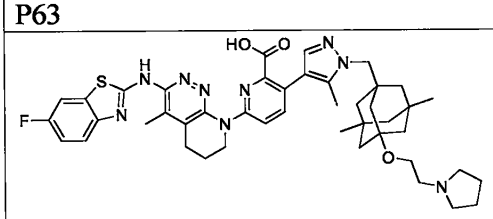
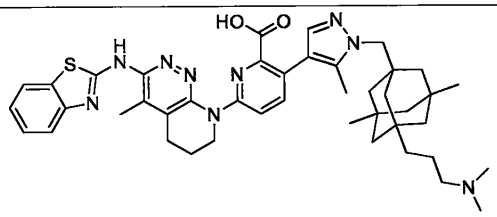
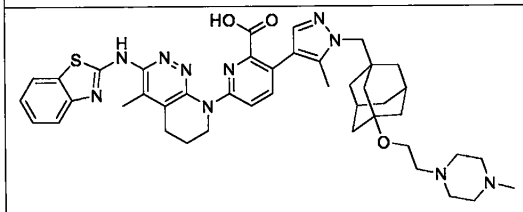
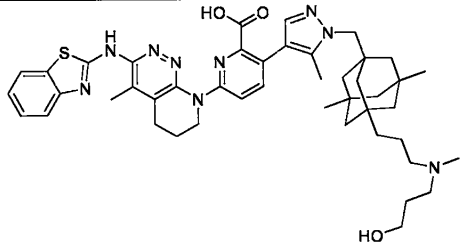
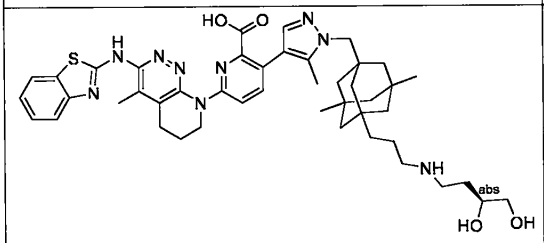
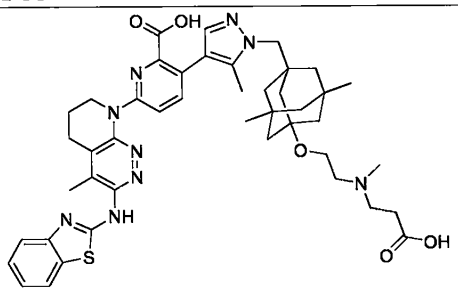
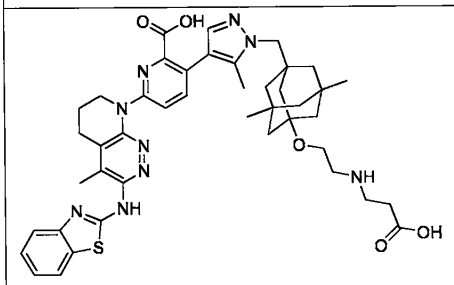
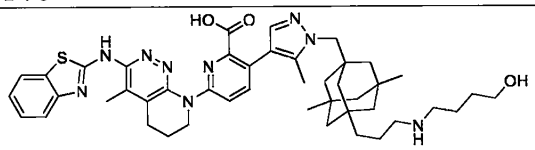

P60

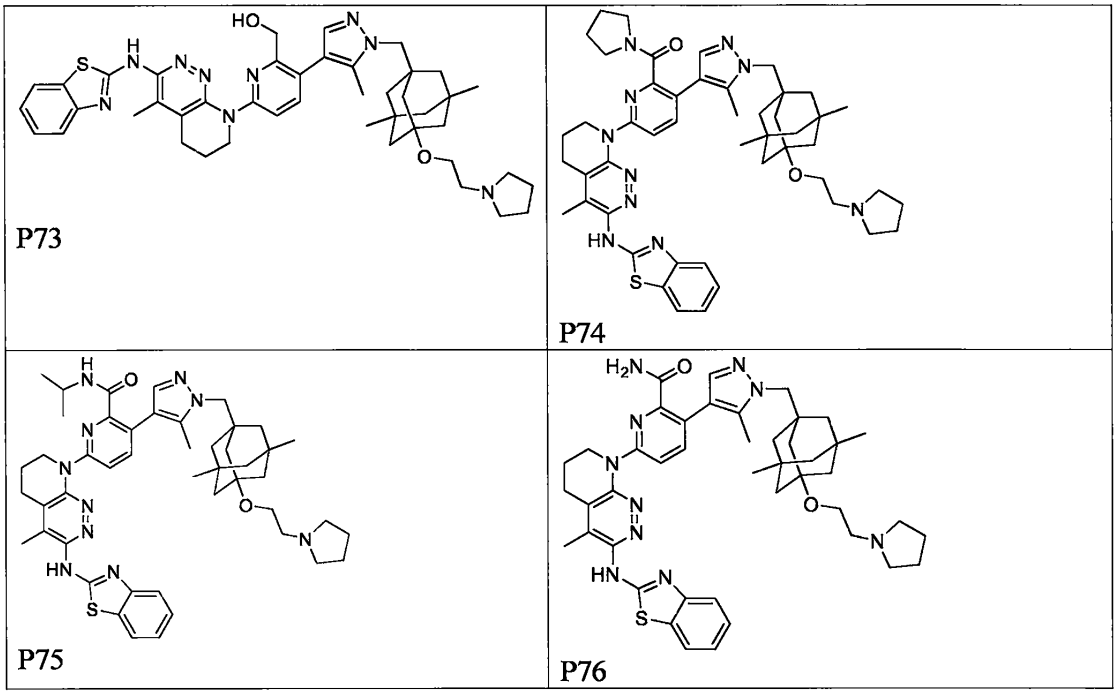

P61


P62




P64

P63	
 P65	 P66
 P67	 P68
 P69	 P70
 P71	 P72



或前述任一项的对映异构体、非对映异构体和/或药学上可接受的盐。

56.如权利要求1至40中任一项所述的抗体-药物缀合物，其中D包含由选自表A2中的那些的式表示的基团。

57.如权利要求1至40中任一项所述的抗体-药物缀合物，其中-(L-D)由表B中的化合物或任何前述的对映异构体、非对映异构体和/或药学上可接受的盐形成。

58.如权利要求1至57中任一项所述的抗体-药物缀合物，其中所述抗体或抗原结合片段结合癌细胞上的靶抗原。

59.如权利要求58所述的抗体-药物缀合物，其中：

(i)所述靶抗原选自BCMA、CD33、HER2、CD38、CD48、CD79b、PCAD、CD74、CD138、SLAMF7、CD123、CLL1、FLT3、CD7、CKIT、CD56、SEZ6、DLL3、DLK1、B7-H3、EGFR、CD71、EPCAM、FOLR1、ENPP3、MET、AXL、SLC34A2、Nectin4、TROP2、LIV1、CD46、MSLN、F3、MUC16、SLC39A6、TFRC、TACSTD2和GPNMB；

(ii)所述靶抗原选自EGFR、CD7、HER2、EPCAM、FOLR1、ENPP3、MET、AXL、SLC34A2、Nectin4、MSLN、F3、MUC16、SLC39A6、TFRC、TACSTD2和GPNMB；或者

(iii)所述靶抗原是EGFR、CD7或HER2。

60.如权利要求1至59中任一项所述的抗体-药物缀合物，其中所述抗体或抗原结合片段是抗EGFR抗体或抗原结合片段。

61.如权利要求60所述的抗体-药物缀合物，其中所述抗EGFR抗体或抗原结合片段包含：

(a)包含SEQ ID NO:92的氨基酸序列的重链可变区以及包含SEQ ID NO:93的氨基酸序列的轻链可变区；或者

(b)包含SEQ ID NO:124的氨基酸序列的重链可变区以及包含SEQ ID NO:125的氨基酸序列的轻链可变区。

62.如权利要求1至59中任一项所述的抗体-药物缀合物，其中所述抗体或抗原结合片

段是抗CD7抗体或抗原结合片段。

63.如权利要求62所述的抗体-药物缀合物,其中所述抗CD7抗体包含:

SEQ ID NO:143的重链氨基酸序列,和SEQ ID NO:144的轻链氨基酸序列。

64.如权利要求1至59中任一项所述的抗体-药物缀合物,其中所述抗体或抗原结合片段是抗HER2抗体或抗原结合片段。

65.如权利要求64所述的抗体-药物缀合物,其中:

(a)所述抗体或抗原结合片段包含三个重链互补决定区(HCDR),所述三个重链互补决定区包含SEQ ID NO:39(HCDR1)、SEQ ID NO:40(HCDR2)和SEQ ID NO:41(HCDR3)的氨基酸序列;以及三个轻链互补决定区(LCDR),所述三个轻链互补决定区包含SEQ ID NO:42(LCDR1)、SEQ ID NO:43(LCDR2)、和SEQ ID NO:44(LCDR3)的氨基酸序列;和/或

(b)所述抗体或抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:9的氨基酸序列的重链可变区以及含有SEQ ID NO:10的氨基酸序列的轻链可变区。

66.如权利要求64或65所述的抗体-药物缀合物,其中:

(a)所述抗体或抗原结合片段包含IgG1重链恒定结构域或经修饰的IgG1重链恒定结构域,任选地所述IgG1重链恒定结构域包含位置297处的谷氨酰胺(Q)或所述IgG1重链恒定结构域包含位置297处的丝氨酸(S);和/或

(b)所述抗体或抗原结合片段包含Igκ轻链恒定结构域。

67.一种组合物,其包含多个拷贝的如权利要求1至66中任一项所述的抗体-药物缀合物,其中所述组合物中抗体-药物缀合物的平均p为约2至约16,例如约2至约8,例如约2至约4。

68.一种药物组合物,其包含如权利要求1至64中任一项所述的抗体-药物缀合物或如权利要求67所述的组合物,以及药学上可接受的载剂。

69.一种治疗患有或疑似患有癌症的受试者的方法,所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的如权利要求1至66中任一项所述的抗体-药物缀合物、如权利要求67所述的组合物、或如权利要求68所述的药物组合物。

70.如权利要求69所述的方法,其中所述癌症表达靶抗原。

71.如权利要求69或70所述的方法,其中所述癌症是肿瘤或血液癌,任选地,所述癌症是乳腺癌、多发性骨髓瘤、浆细胞骨髓瘤、白血病、淋巴瘤、肉瘤、胃癌、急性髓性白血病、膀胱癌、脑癌、骨髓癌、宫颈癌、慢性淋巴细胞白血病、结直肠癌、食道癌、肝细胞癌、包括急性淋巴细胞白血病在内的淋巴细胞白血病、滤泡性淋巴瘤、T细胞或B细胞来源的淋巴恶性肿瘤、黑色素瘤、骨髓性白血病、骨髓瘤、口腔癌、卵巢癌、非小细胞肺癌、前列腺癌、小细胞肺癌、脾癌或头颈癌。

72.一种减少或抑制受试者中肿瘤生长的方法,所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的如权利要求1至66中任一项所述的抗体-药物缀合物、如权利要求65所述的组合物、或如权利要求66所述的药物组合物。

73.如权利要求72所述的方法,其中所述肿瘤表达靶抗原。

74.如权利要求72或73所述的方法,其中所述肿瘤是乳腺癌、胃癌、膀胱癌、脑癌、宫颈癌、结直肠癌、食道癌、肝细胞癌、黑素瘤、口腔癌、卵巢癌、非小细胞肺癌、前列腺癌、小细胞肺癌或脾癌。

75.一种减少或抑制受试者的血液癌的方法，所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的如权利要求1至66中任一项所述的抗体-药物缀合物、如权利要求67所述的组合物、或如权利要求68所述的药物组合物。

76.如权利要求75所述的方法，其中所述血液癌表达靶抗原。

77.如权利要求75或76所述的方法，其中所述血液癌是慢性淋巴细胞白血病(CLL)、滤泡性淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤、急性淋巴细胞白血病(ALL)、急性髓性白血病(AML)、慢性淋巴细胞白血病(CLL)、慢性粒细胞白血病(CML)、慢性粒单核细胞白血病(CMML)、急性单核细胞白血病(AMoL)、霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤或骨髓增生异常综合征(MDS)。

78.如权利要求72至77中任一项所述的方法，其中所述抗体-药物缀合物、组合物或药物组合物的施用将所述肿瘤或血液癌的生长减少或抑制至少约10％、至少约20％、至少约30％、至少约40％、至少约50％、至少约60％、至少约70％、至少约80％、至少约90％、至少约95％或至少约99％。

79.一种减少或减慢受试者体内癌细胞群扩增的方法，所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的如权利要求1至66中任一项所述的抗体-药物缀合物、如权利要求67所述的组合物、或如权利要求68所述的药物组合物。

80.如权利要求79所述的方法，其中所述癌细胞群表达靶抗原。

81.如权利要求79或80所述的方法，其中所述癌细胞群来自肿瘤或血液癌，任选地其中所述癌细胞群来自乳腺癌、多发性骨髓瘤、浆细胞骨髓瘤、白血病、淋巴瘤、肉瘤、胃癌、急性髓性白血病、膀胱癌、脑癌、骨髓癌、宫颈癌、慢性淋巴细胞白血病、结直肠癌、食道癌、肝细胞癌、包括急性淋巴细胞白血病在内的淋巴细胞白血病、滤泡性淋巴瘤、T细胞或B细胞来源的淋巴恶性肿瘤、黑色素瘤、骨髓性白血病、骨髓瘤、口腔癌、卵巢癌、非小细胞肺癌、前列腺癌、小细胞肺癌、脾癌或头颈癌。

82.如权利要求79至81中任一项所述的方法，其中所述抗体-药物缀合物、组合物或药物组合物的施用使所述癌细胞群减少或使所述癌细胞群的扩增减慢至少约10％、至少约20％、至少约30％、至少约40％、至少约50％、至少约60％、至少约70％、至少约80％、至少约90％、至少约95％或至少约99％。

83.如权利要求69至82中任一项所述的方法，其中所述抗体-药物缀合物作为单一疗法施用。

84.如权利要求69至82中任一项所述的方法，其中所述抗体-药物缀合物辅以另一种治疗剂或放射疗法施用。

85.如权利要求84所述的方法，其中所述抗体-药物缀合物以有效使所述肿瘤细胞对一种或多种另外的治疗剂和/或放射疗法敏感的量施用。

86.如权利要求69至82中任一项所述的方法，其进一步包括向有需要的受试者施用至少一种另外的治疗剂。

87.如权利要求86所述的方法，其中一种另外的治疗剂是Bcl-2抑制剂、紫杉烷、长春花生物碱、MEK抑制剂、ERK抑制剂、拓扑异构酶抑制剂或RAF抑制剂。

88.如权利要求86所述的方法，其中所述一种另外的治疗剂选自维奈托克、化合物A2、长春新碱、托泊替康、多西他赛、紫杉醇、LTT463、曲美替尼和LXH254。

89.一种抑制表达Bcl-xL的细胞中的Bcl-xL活性的方法,所述方法包括使所述细胞与能够结合所述细胞的如权利要求1至66中任一项所述的抗体-药物缀合物在其中所述抗体药物缀合物结合所述细胞的条件下接触。

90.一种确定患有或疑似患有癌症的受试者是否会对使用如权利要求1至66中任一项所述的抗体-药物缀合物、如权利要求67所述的组合物或如权利要求68所述的药物组合物的治疗有应答的方法,所述方法包括提供来自所述受试者的生物样品;将所述样品与所述抗体-药物缀合物接触;并且检测所述抗体-药物缀合物与所述样品中癌细胞的结合。

91.如权利要求90所述的方法,其中所述样品中的癌细胞表达靶抗原。

92.如权利要求90或权利要求91所述的方法,其中所述癌症表达靶抗原。

93.如权利要求90至92中任一项所述的方法,其中所述癌症是肿瘤或血液癌,任选地,所述癌症是乳腺癌、多发性骨髓瘤、浆细胞骨髓瘤、白血病、淋巴瘤、肉瘤、胃癌、急性髓性白血病、膀胱癌、脑癌、骨髓癌、宫颈癌、慢性淋巴细胞白血病、结直肠癌、食道癌、肝细胞癌、包括急性淋巴细胞白血病在内的淋巴细胞白血病、滤泡性淋巴瘤、T细胞或B细胞来源的淋巴恶性肿瘤、黑色素瘤、骨髓性白血病、骨髓瘤、口腔癌、卵巢癌、非小细胞肺癌、前列腺癌、小细胞肺癌、脾癌或头颈癌。

94.如权利要求90至91中任一项所述的方法,其中所述样品是组织活检样品、血液样品或骨髓样品。

95.如权利要求70至94中任一项所述的方法,其中:

(i)所述靶抗原选自BCMA、CD33、HER2、CD38、CD48、CD79b、PCAD、CD74、CD138、SLAMF7、CD123、CLL1、FLT3、CD7、CKIT、CD56、SEZ6、DLL3、DLK1、B7-H3、EGFR、CD71、EPCAM、FOLR1、ENPP3、MET、AXL、SLC34A2、Nectin4、TROP2、LIV1、CD46、MSLN、F3、MUC16、SLC39A6、TFRC、TACSTD2和GPNMB;

(ii)所述靶抗原选自EGFR、CD7、HER2、EPCAM、FOLR1、ENPP3、MET、AXL、SLC34A2、Nectin4、MSLN、F3、MUC16、SLC39A6、TFRC、TACSTD2和GPNMB;或者

(iii)所述靶抗原选自EGFR、CD7和HER2。

96.一种制备如权利要求1至67中任一项所述的抗体-药物缀合物的方法,所述方法包括在允许缀合的条件下,使抗体或抗原结合片段与接合至Bcl-xL抑制剂的可切割接头发生反应。

BCL-XL抑制剂抗体药物缀合物及其使用方法

[0001] 相关申请

[0002] 本申请要求2020年11月24日提交的美国临时申请号63/117,763根据35U.S.C.119(e)下的申请日权益和优先权,其全部内容通过引用以其整体并入本文。

[0003] 序列表

[0004] 本申请包含已经以ASCII格式电子提交的序列表,并且特此将其通过引用以其整体并入。所述ASCII复本创建于2021年11月19日,命名为132043-00420_SL.txt并且大小为550,925字节。

技术领域

[0005] 本公开涉及抗体-药物缀合物(ADC),其包含Bcl-xL抑制剂和结合抗原靶标(例如肿瘤或其他癌细胞上表达的抗原)的抗体或其抗原结合片段。本公开进一步涉及用于治疗和/或诊断表达靶抗原和/或适合通过调节Bcl-xL表达和/或活性进行治疗的癌症的方法和组合物,以及制备这些组合物的方法。还公开了包含Bcl-xL抑制剂药物部分的接头-药物缀合物及其制备方法。

背景技术

[0006] 细胞凋亡(程序性细胞死亡)是一种进化上保守的途径,对于组织稳态、发育和受损细胞的清除至关重要。细胞凋亡失调会导致人疾病,包括恶性肿瘤、神经退行性疾病、免疫系统疾病和自身免疫性疾病(Hanahan和Weinberg,Cell.2011年3月4日;144(5):646-74;Marsden和Strasser,Annu Rev Immunol.2003;21:71-105;Vaux和Flavell,Curr Opin Immunol.2000年12月;12(6):719-24)。细胞凋亡的逃逸被认为是癌症的一个标志,参与肿瘤的发展和持续扩增以及对抗癌治疗的抵抗(Hanahan和Weinberg,Cell.2000年1月7日;100(1):57-70)。

[0007] Bcl-2蛋白家族包含细胞存活的关键调节因子,其可以抑制(例如,Bcl-2、Bcl-xL、Mcl-1)或促进(例如,Bad、Bax)细胞凋亡(Gross等人.,Genes Dev.1999年8月1日;13(15):1899-911,Youle和Strasser,Nat.Rev.Mol.Cell Biol.2008年1月;9(1):47-59)。

[0008] 面对应激刺激,细胞能否存活或发生凋亡,取决于促进细胞死亡的Bcl-2家族成员与促进细胞存活的家族成员之间的配对程度。大多数情况下,这些相互作用涉及促凋亡家族成员的Bcl-2同源3(BH3)结构域对接至促存活成员表面的凹槽中。Bcl-2同源(BH)结构域的存在定义了Bcl-2家族的成员,根据蛋白质中存在的特定BH结构域,该家族分为三个主要组。Bcl-2、Bcl-xL和Mcl-1等促存活成员包含BH结构域1-4,而凋亡过程中线粒体外膜透化的促凋亡效应子Bax和Bak包含BH结构域1-3(Youle和Strasser,Nat.Rev.Mol.Cell Biol.2008年1月;9(1):47-59)。

[0009] Bcl-2家族促存活成员的过度表达是癌症的一个标志,并且已表明这些蛋白质在肿瘤的发展、维持和抗癌治疗耐药性中发挥着重要作用(Czabotar等人,Nat.Rev.Mol.Cell Biol.2014年1月;15(1):49-63)。Bcl-xL(也称为BCL2L1,源自BCL2-like 1)在癌症中经常

被扩增(Beroukhim等人,Nature 2010年2月18日;463(7283):899-905),并且已表明其表达与一组代表性癌细胞系(NCI-60)中对120多种抗癌治疗分子的敏感性呈负相关(Amundson等人,Cancer Res.2000年11月1日;60(21):6101-10)。

[0010] 此外,一些使用转基因敲除小鼠模型和Bcl-2家族成员转基因过度表达的研究强调了这些蛋白质在免疫系统疾病和自身免疫性疾病中的重要性(有关综述,请参见Merino等人],Apoptosis 2009年4月;14(4):570-83.doi:10.1007/s10495-008-0308-4.PMID:19172396)。T细胞区室中Bcl-xL的转基因过表达导致对糖皮质激素、g辐射和CD3交联诱导的细胞凋亡产生抵抗,表明转基因Bcl-xL过表达可以减少静息和活化T细胞的细胞凋亡(Droin等人,Biochim Biophys Acta 2004年3月1日;1644(2-3):179-88.doi:10.1016/j.bbamcr.2003.10.011.PMID:14996502)。在患者样品中,观察到抗凋亡Bcl-2家族蛋白的持续或高表达(Pope等人,Nat Rev Immunol.2002年7月;2(7):527-35.doi:10.1038/nri846.PMID:12094227)。特别是,从类风湿性关节炎患者的关节中分离出的T细胞表现出Bcl-xL表达增加,并且能够抵抗自发性细胞凋亡(Salmon等人,J Clin Invest.1997年2月1日;99(3):439-46.doi:10.1172/JCI119178.PMID:9022077)。

[0011] 上述发现推动了名为BH3模拟物的新型药物的发现和开发。这些分子能够破坏Bcl-2家族促凋亡和抗凋亡成员之间的相互作用,并且是细胞凋亡的有效诱导剂。该新型药物包括Bcl-2、Bcl-xL、Bcl-w和Mcl-1抑制剂。描述的第一个BH3模拟物是ABT-737和ABT-263,靶向Bcl-2、Bcl-xL和Bcl-w(Park等人,J.Med.Chem.2008年11月13日;51(21):6902-15;Roberts等人,J.Clin.Oncol.2012年2月10日;30(5):488-96)。之后,还发现了Bcl-2的选择性抑制剂(ABT-199和S55746)-Souers等人,Nat Med.2013年2月;19(2):202-8;Casara等人,Oncotarget 2018年4月13日;9(28):20075-20088)、Bcl-xL(A-1155463和A-1331852-Tai等人,ACS Med Chem Lett.2014年8月26日;5(10):1088-93;Leverson等人,Sci Transl Med.2015年3月18日;7(279):279ra40)和Mcl-1(A-1210477、S63845、S64315、AMG-176和AZD-5991-Leverson等人,Cell Death Dis.2015年1月15日;6:e1590.;Kotschy等人,Nature 2016,538,477-482;Maragno等人,AACR 2019,Poster#4482;Kotschy等人,WO 2015/097123;Caenepeel等人,Cancer Discov.2018年12月;8(12):1582-1597;Tron等人,Nat.Commun.2018年12月17日;9(1):5341)。选择性Bcl-2抑制剂ABT-199现已被批准用于在联合法中疗治疗CLL和AML患者,而其他抑制剂仍处于临床前或临床开发阶段。在临床前模型中,ABT-263在多种血液恶性肿瘤和实体瘤中显示出活性(Shoemaker等人,Clin.Cancer Res.2008年1月1日;14(11):3268-77;Ackler等人,Cancer Chemother.Pharmacol.2010年10月;66(5):869-80;Chen等人,Mol.Cancer Ther.2011年12月;10(12):2340-9)。在临床研究中,ABT-263在淋巴恶性肿瘤中表现出客观的抗肿瘤活性(Wilson等人,Lancet Oncol.2010年12月;11(12):1149-59;Roberts等人,J.Clin.Oncol.2012年2月10日;30(5):488-96),并且其活性正在与几种实体瘤疗法联合进行研究。选择性Bcl-xL抑制剂A-1155463或A-1331852在T-ALL(T细胞急性淋巴细胞白血病)和不同类型实体瘤的临床前模型中表现出体内活性(Tao等人,ACS Med.Chem.Lett.2014年8月26日;5(10):1088-93;Leverson等人,Sci.Transl.Med.2015年3月18日;7(279):279ra40)。BH3模拟物的使用在免疫系统疾病和自身免疫性疾病的临床前模型中也显示出益处。用ABT-737(Bcl-2、Bcl-xL和Bcl-w抑制剂)治疗可在体外有效抑制淋巴细胞增殖。重要的是,在关节炎和狼疮动物模型

中用ABT-737治疗的小鼠表现出疾病严重程度显著降低(Bardwell等人.,J Clin Invest.1997年2月1日;99(3):439-46.doi:10.1172/JCI119178.PMID:9022077)。此外,研究表明,ABT-737在体外防止同种异体T细胞活化、增殖和细胞毒性,并抑制皮肤移植后的同种异体T细胞和B细胞反应,对淋巴细胞具有高度选择性(Cippa等人,.Transpl Int.2011年7月;24(7):722-32.doi:10.1111/j.1432-2277.2011.01272.x.Epub 2011年5月25日.PMID:21615547)。因此,治疗性靶向凋亡信号通路中的Bcl-xL或其上游和/或下游蛋白代表了肿瘤学以及免疫和自身免疫疾病领域新颖疗法开发的极具吸引力的方法。

发明内容

[0012] 在一些实施方案中,本公开部分地提供了具有针对癌细胞的生物活性的新颖抗体-药物缀合物(ADC)化合物。这些化合物可以减缓、抑制和/或逆转哺乳动物中的肿瘤生长,和/或可以用于治疗人癌症患者。在一些实施方案中,本公开更具体地涉及能够结合并杀伤癌细胞的ADC化合物。在一些实施方案中,本文公开的ADC化合物包含将Bcl-xL抑制剂附接至全长抗体或抗原结合片段的接头。在一些实施方案中,ADC化合物还能够在结合后内化至靶细胞中。

[0013] 在一些实施方案中,ADC化合物可由式(1)表示:

[0014] $Ab-(L-D)_p$ (1)

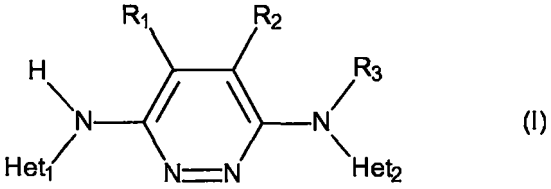
[0015] 其中Ab是抗体或其抗原结合片段;

[0016] D是Bcl-xL抑制剂;

[0017] L是将Ab共价连接至D的接头;以及

[0018] p是1至16的整数。在一些实施方案中,Ab是靶向癌细胞的抗体或其抗原结合片段。

[0019] 在一些实施方案中,对于式(I)的ADC化合物,D包含共价连接至接头L的式(I)或式(II)的Bcl-xL抑制剂化合物:

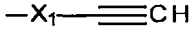
[0020]  (I),

[0021] 或前述任一项的对映异构体、非对映异构体和/或其与药学上可接受的酸或碱的加成盐(即,药学上可接受的盐),其中:

[0022] ◆R_1和R_2彼此独立地表示选自以下的基团:氢;直链或支链C_1-C_6烷基,其任选被羟基或C_1-C_6烷氧基取代;C_3-C_6环烷基;三氟甲基;直链或支链C_1-C_6亚烷基-杂环烷基,其中该杂环烷基任选地被直链或支链C_1-C_6烷基取代;

[0023] 或R_1和R_2与带有它们的碳原子形成C_3-C_6环亚烷基,

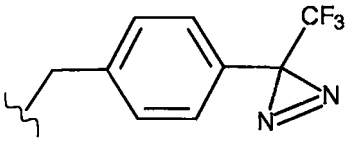
[0024] ◆R_3表示选自以下的基团:氢;C_3-C_6环烷基;直链或支链C_1-C_6烷基;$-X_1-NR_aR_b$;$-X_1-N^+R_aR_bR_c$;$-X_1-O-R_c$;$-X_1-COOR_c$;$-X_1-PO(OH)_2$;$-X_1-SO_2(OH)$;$-X_1-N_3$和:

[0025] ,

[0026] ◆R_a和R_b彼此独立地表示选自以下的基团:氢;杂环烷基;$-SO_2-$苯基,其中该苯基可以被直链或支链C_1-C_6烷基取代;任选被一个或两个羟基取代的直链或支链C_1-C_6烷基;C_1-

C_6亚烷基-SO_2OH;C_1-C_6亚烷基-SO_2O^-;C_1-C_6亚烷基-COOH;C_1-C_6亚烷基-$PO(OH)_2$;C_1-C_6亚烷基-NR_dR_e;C_1-C_6亚烷基-$N^+R_dR_eR_f$;C_1-C_6亚烷基-苯基,其中该苯基可以被C_1-C_6烷氧基取代;

[0027] 基团:

[0028] 

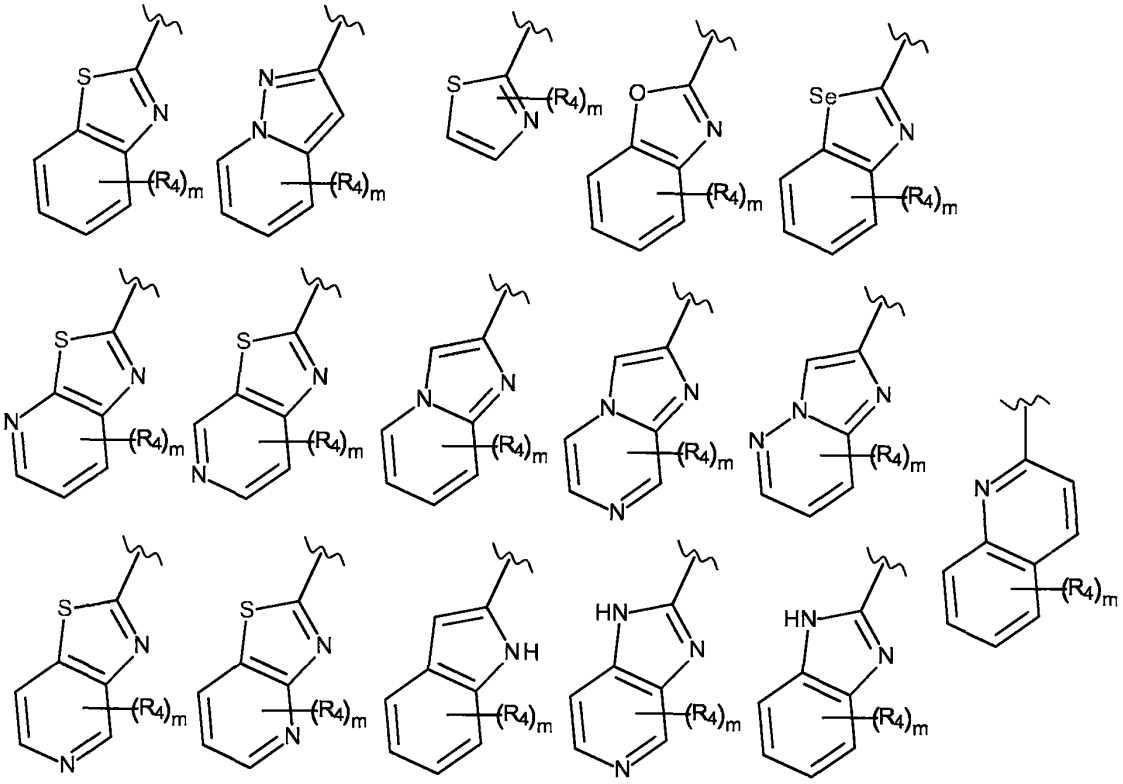
[0029] 或R_a和R_b与带有它们的氮原子形成环B_1;

[0030] 或R_a、R_b和R_c与带有它们的氮原子形成桥连的C_3-C_8杂环烷基,

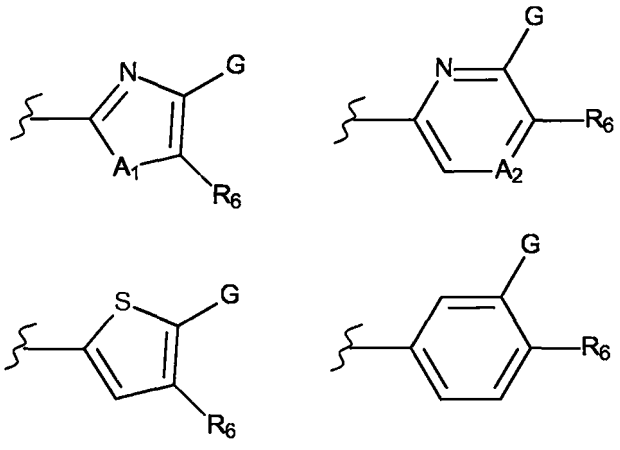
[0031] ◆R_c、R_d、R_e、R_f彼此独立地表示氢或直链或支链C_1-C_6烷基,或R_d和R_e与带有它们的氮原子形成环B_2,

[0032] 或R_d、R_e和R_f与带有它们的氮原子形成桥连的C_3-C_8杂环烷基,

[0033] ◆Het1表示选自以下的基团:

[0034] 

[0035] ◆Het2表示选自以下的基团:

[0036] 

[0037] ◆A_1是-NH-、-N(C_1-C_3烷基)、O、S或Se，

[0038] ◆A_2是N、CH或C(R_5)，

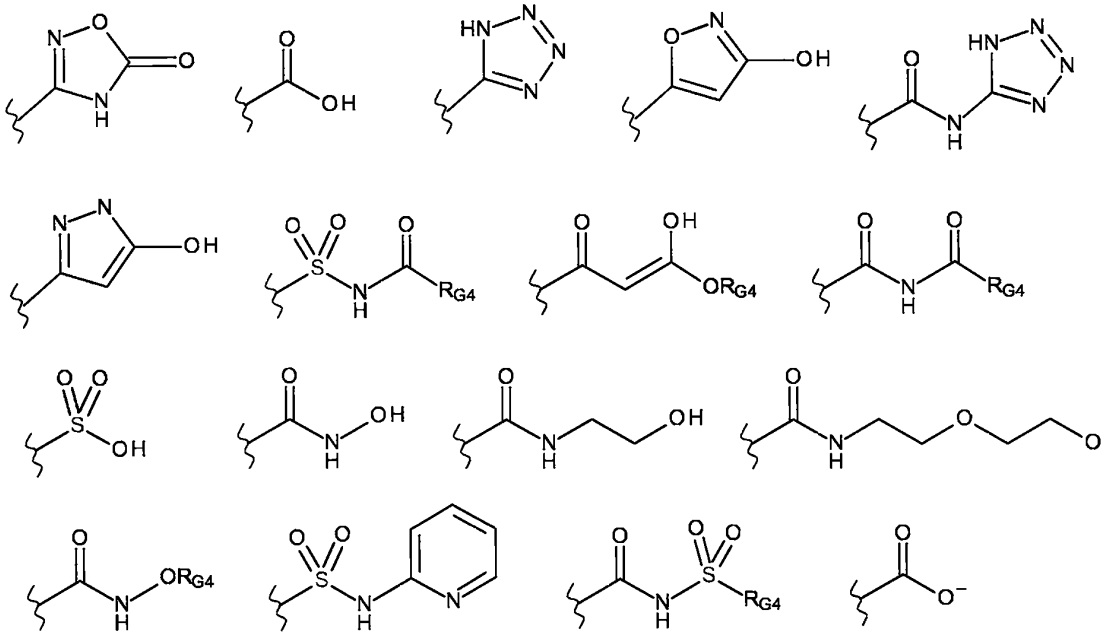
[0039] ◆G选自由以下组成的组：

[0040] -C(O)OR_{G3}、-C(O)$NR_{G1}R_{G2}$、-C(O)R_{G2}、-NR_{G1}C(O)R_{G2}、-NR_{G1}C(O)$NR_{G1}R_{G2}$、-OC(O)NRx_1R_{G2}、-NR_{G1}C(O)OR_{G3}、-C(=NOR_{G1})$NR_{G1}R_{G2}$、-NR_{G1}C(=NCN)$NR_{G1}R_{G2}$、-NR_{G1}S(O)$_2NR_{G1}R_{G2}$、-S(O)$_2R_{G3}$、-S(O)$_2NR_{G1}R_{G2}$、-NR_{G1}S(O)$_2R_{G2}$、-NR_{G1}C(=NR_{G2})$NR_{G1}R_{G2}$、-C(=S)$NR_{G1}R_{G2}$、-C(=NR_{G1})$NR_{G1}R_{G2}$、任选被羟基取代的C_1-C_6烷基、卤素、-NO_2和-CN，其中：

[0041] -R_{G1}和R_{G2}在每次出现时各自独立地选自由以下组成的组：氢、任选被1至3个卤素原子取代的C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_3-C_6环烷基、苯基和-$(CH_2)_{1-4}$-苯基；

[0042] -R_{G3}选自由以下组成的组：任选被1至3个卤素原子取代的烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_3-C_6环烷基、苯基和-$(CH_2)_{1-4}$-苯基；或者

[0043] R_{G1}和R_{G2}与各自所连接的原子一起组合形成C_3-C_8杂环烷基；或者在替代方案中，G选自由以下组成的组：

[0044] 

[0045] 其中R_{G4}选自氢、任选被1至3个卤素原子取代的C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基和C_3-C_6环烷基，

[0046] ◆R_4表示氢、氟、氯或溴原子、甲基、羟基或甲氧基，

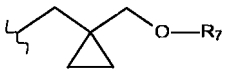
[0047] ◆R_5表示选自以下的基团：任选被1至3个卤素原子取代的C_1-C_6烷基；C_2-C_6烯基；C_2-C_6炔基；卤素或-CN，

[0048] ◆R_6表示选自以下的基团：

[0049] 氢；

[0050] -C_2-C_6烯基；

[0051] -X_2-O-R_7；

[0052] ；

[0053] -X_2-NSO_2-R_7；

[0054] -C=C(R_9)-Y_1-O-R_7;

[0055] C_3-C_6环烷基;

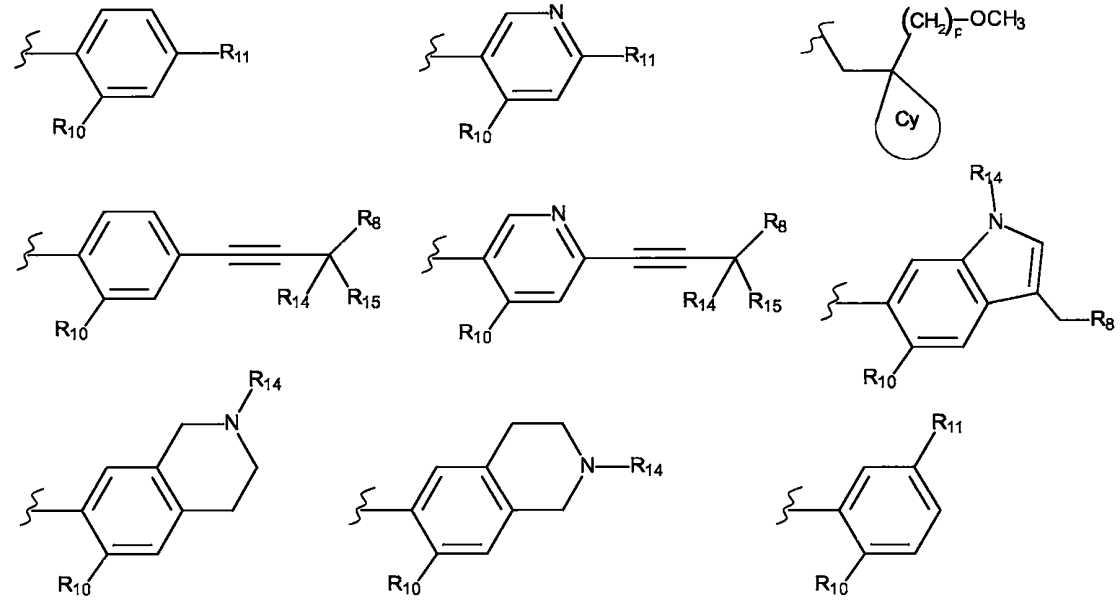
[0056] 任选被羟基取代的C_3-C_6杂环烷基;

[0057] C_3-C_6环亚烷基-Y_2-R_7;

[0058] C_3-C_6杂亚环烷基-Y_2-R_7基团,

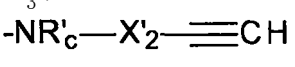
[0059] 任选被直链或支链C_1-C_6烷基取代的杂亚芳基-R_7基团,

[0060] ◆R_7表示选自以下的基团:直链或支链C_1-C_6烷基;(C_3-C_6)环亚烷基-R_8;或者:

[0061] 

[0062] 其中Cy表示C_3-C_8环烷基,

[0063] ◆R_8表示选自以下的基团:氢;直链或支链C_1-C_6烷基,-NR'$_a$R'$_b$;-NR'$_a$-CO-OR'$_c$;-NR'$_a$-CO-R'$_c$;-N^+R'$_a$R'$_b$R'$_c$;-O-R'$_c$;-NH-X'$_2$-N^+R'$_a$R'$_b$R'$_c$;-O-X'$_2$-NR'$_a$R'$_b$、-X'$_2$-NR'$_a$R'$_b$、-NR'$_c$-X'$_2$-N_3和:

[0064] ,

[0065] ◆R_9表示选自直链或支链C_1-C_6烷基、三氟甲基、羟基、卤素、C_1-C_6烷氧基的基团,

[0066] ◆R_{10}表示选自氢、氟、氯、溴、-CF_3和甲基的基团,

[0067] ◆R_{11}表示选自氢、C_1-C_3亚烷基-R_8、-O-C_1-C_3亚烷基-R_8、-CO-NR_hR_i和-CH=CH-C_1-C_4亚烷基-NR_hR_i、-CH=CH-CHO、C_3-C_8环亚烷基CH_2-R_8、C_3-C_8杂环亚烷基-CH_2-R_8的基团，

[0068] ◆R_{12}和R_{13}彼此独立地表示氢原子或甲基，

[0069] ◆R_{14}和R_{15}彼此独立地表示氢或甲基，或者R_{14}和R_{15}与带有它们的碳原子形成环己基，

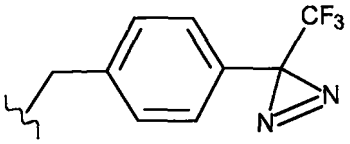
[0070] ◆R_h和R_i彼此独立地表示氢或直链或支链C_1-C_6烷基，

[0071] ◆X_1和X_2彼此独立地表示直链或支链C_1-C_6亚烷基，其任选被一个或两个选自三氟甲基、羟基、卤素、C_1-C_6烷氧基的基团取代，

[0072] ◆X'_2表示直链或支链C_1-C_6亚烷基，

[0073] ◆R'_a和R'_b彼此独立地表示选自以下的基团：氢；杂环烷基；-SO_2-苯基，其中该苯基可以被直链或支链C_1-C_6烷基取代；任选被一个或两个羟基或C_1-C_6烷氧基取代的直链或支链C_1-C_6烷基；C_1-C_6亚烷基-SO_2OH；C_1-C_6亚烷基-SO_2O^-；C_1-C_6亚烷基-COOH；C_1-C_6亚烷基-$PO(OH)_2$；C_1-C_6亚烷基-$NR'_dR'_e$；C_1-C_6亚烷基-$N^+R'_dR'_eR'_f$；C_1-C_6亚烷基-O-C_1-C_6亚烷基-OH；C_1-C_6亚烷基-苯基，其中该苯基可以被羟基或C_1-C_6烷氧基取代；

[0074] 基团：

[0075] 

[0076] 或R'_a和R'_b与带有它们的氮原子形成环B_3，

[0077] 或R'_a、R'_b和R'_c与带有它们的氮原子形成桥连的C_3-C_8杂环烷基，

[0078] ◆R'_c、R'_d、R'_e、R'_f彼此独立地表示氢或直链或支链C_1-C_6烷基，

[0079] 或R'_d和R'_e与带有它们的氮原子形成环B_4，

[0080] 或R'_d、R'_e和R'_f与带有它们的氮原子形成桥连的C_3-C_8杂环烷基，

[0081] ◆Y_1表示直链或支链C_1-C_4亚烷基，

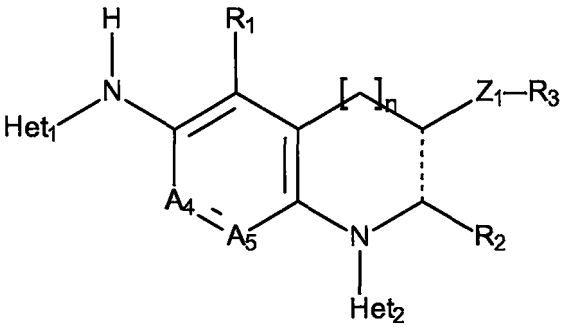
[0082] ◆Y_2表示键、-O-、-O-CH_2-、-O-CO-、-O-SO_2-、-CH_2-、-CH_2-O、-CH_2-CO-、-CH_2-SO_2-、-C_2H_5-、-CO-、-CO-O-、-CO-CH_2-、-CO-NH-CH_2-、-SO_2-、-SO_2-CH_2-、-NH-CO-、-NH-SO_2-、

[0083] ◆m＝0、1或2，

[0084] ◆p＝1、2、3或4，

[0085] ◆B_1、B_2、B_3和B_4彼此独立地表示C_3-C_8杂环烷基，该基团可以：(i)是单环或双环基团，其中双环基团包括稠合、桥连或螺环系统，(ii)除氮原子外，还可以含有一个或两个独立地选自氧、硫和氮的杂原子，(iii)被一个或两个选自以下的基团取代：氟、溴、氯、直链或支链C_1-C_6烷基、羟基、-NH_2、氧代或哌啶基，

[0086] 其中如果存在，R_3和R_8基团之一共价连接至接头，并且其中原子不会由于一个或多个与其键合的取代基而超出化合价；或者

[0087] 

(II),

[0088] 或前述项的对映异构体、非对映异构体和/或其与药学上可接受的酸或碱的加成盐(即,药学上可接受的盐),其中:

[0089] ◆n=0、1或2,

[0090] ◆------表示单键或双键。

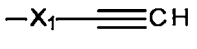
[0091] ◆A_4和A_5彼此独立地表示碳或氮原子,

[0092] ◆Z_1表示键、-N(R)-或-O-,其中R表示氢或直链或支链C_1-C_6烷基,

[0093] ◆R_1表示选自以下的基团:氢;直链或支链C_1-C_6烷基,其任选被羟基或C_1-C_6烷氧基取代;C_3-C_6环烷基;三氟甲基;直链或支链C_1-C_6亚烷基-杂环烷基,其中该杂环烷基任选地被直链或支链C_1-C_6烷基取代;

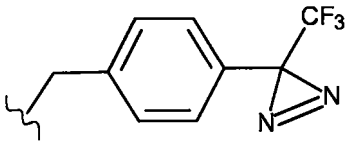
[0094] ◆R_2表示氢或甲基;

[0095] ◆R_3表示选自以下的基团:氢;直链或支链C_1-C_4烷基;-X_1-NR_aR_b;-X_1-$N^+R_aR_bR_c$;-X_1-O-R_c;-X_1-$COOR_c$;-X_1-$PO(OH)_2$;-X_1-$SO_2(OH)$;-X_1-N_3和:

[0096] ,

[0097] ◆R_a和R_b彼此独立地表示选自以下的基团:氢;杂环烷基;-SO_2-苯基,其中该苯基可以被直链或支链C_1-C_6烷基取代;任选被一个或两个羟基取代的直链或支链C_1-C_6烷基;C_1-C_6亚烷基-SO_2OH;C_1-C_6亚烷基-SO_2O^-;C_1-C_6亚烷基-COOH;C_1-C_6亚烷基-$PO(OH)_2$;C_1-C_6亚烷基-NR_dR_e;C_1-C_6亚烷基-$N^+R_dR_eR_f$;C_1-C_6亚烷基-苯基,其中该苯基可以被C_1-C_6烷氧基取代;

[0098] 基团:

[0099] 

[0100] 或R_a和R_b与带有它们的氮原子形成环B_1;

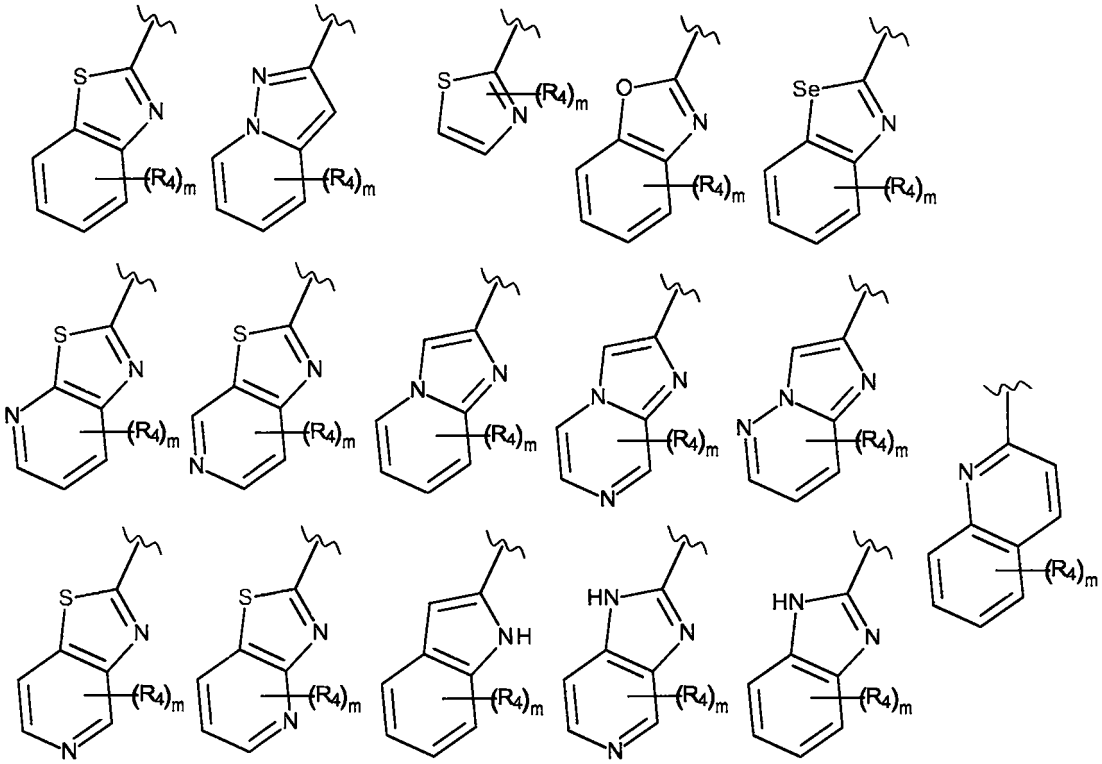
[0101] 或R_a、R_b和R_c与带有它们的氮原子形成桥连的C_3-C_8杂环烷基,

[0102] ◆R_c、R_d、R_e、R_f彼此独立地表示氢或直链或支链C_1-C_6烷基,

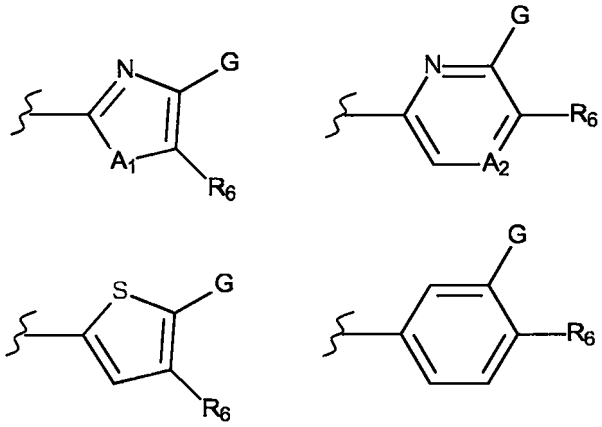
[0103] 或R_d和R_e与带有它们的氮原子形成环B_2,

[0104] 或R_d、R_e和R_f与带有它们的氮原子形成桥连的C_3-C_8杂环烷基,

[0105] ◆Het1表示选自以下的基团:

[0106] 

[0107] ◆Het2表示选自以下的基团：

[0108] 

[0109] ◆A_1是-NH-、-N(C_1-C_3烷基)、O、S或Se，

[0110] ◆A_2是N、CH或C(R_5)，

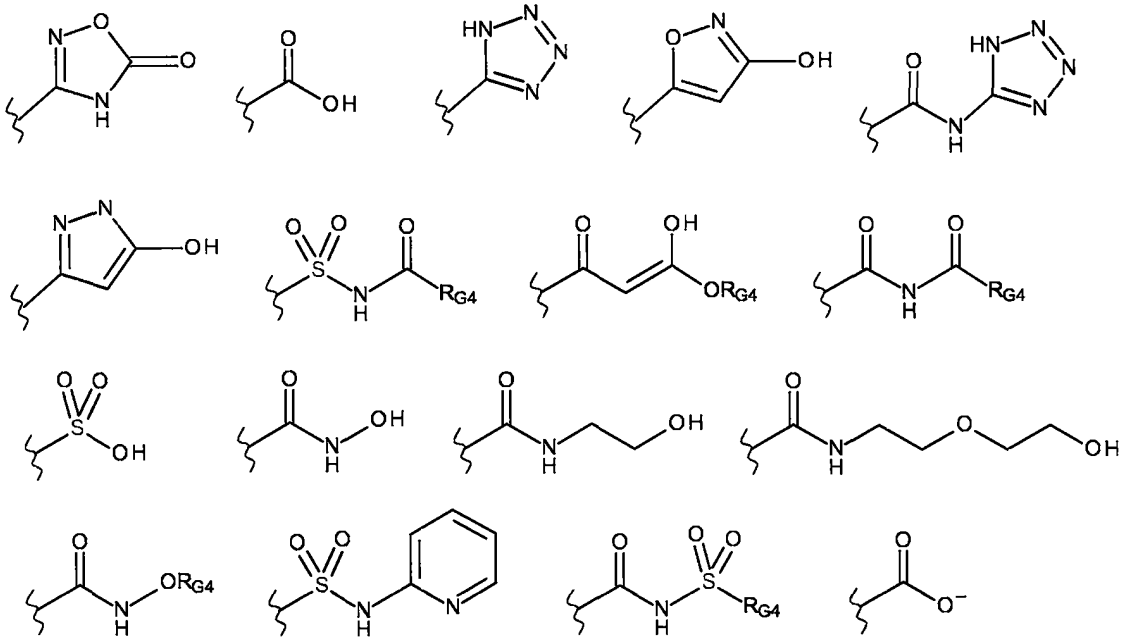
[0111] ◆G选自由以下组成的组：

[0112] -C(O)OR_{G3}、-C(O)$NR_{G1}R_{G2}$、-C(O)R_{G2}、-NR_{G1}C(O)R_{G2}、-NR_{G1}C(O)$NR_{G1}R_{G2}$、-OC(O)$NR_{G1}R_{G2}$、-NR_{G1}C(O)OR_{G3}、-C(=NOR_{G1})$NR_{G1}R_{G2}$、-NR_{G1}C(=NCN)$NR_{G1}R_{G2}$、-NR_{G1}S(O)$_2NR_{G1}R_{G2}$、-S(O)$_2R_{G3}$、-S(O)$_2NR_{G1}R_{G2}$、-NR_{G1}S(O)$_2R_{G2}$、-NR_{G1}C(=NR_{G2})$NR_{G1}R_{G2}$、-C(=S)$NR_{G1}R_{G2}$、-C(=NR_{G1})$NR_{G1}R_{G2}$、任选被羟基取代的C_1-C_6烷基、卤素、-NO_2和-CN，其中：

[0113] -R_{G1}和R_{G2}在每次出现时各自独立地选自由以下组成的组：氢、任选被1至3个卤素原子取代的C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_3-C_6环烷基、苯基和-$(CH_2)_{1-4}$-苯基；

[0114] -R_{G3}选自由以下组成的组：任选被1至3个卤素原子取代的烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_3-C_6环烷基、苯基和-$(CH_2)_{1-4}$-苯基；或者

[0115] R_{G1}和R_{G2}与各自所连接的原子一起组合形成C_3-C_8杂环烷基；或者在替代方案中，G选自由以下组成的组：

[0116] 

[0117] 其中R_{G4}选自氢、任选被1至3个卤素原子取代的C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基和C_3-C_6环烷基，

[0118] ◆R_4表示氢、氟、氯或溴原子、甲基、羟基或甲氧基，

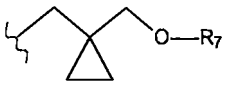
[0119] ◆R_5表示选自以下的基团：任选被1至3个卤素原子取代的C_1-C_6烷基；C_2-C_6烯基；C_2-C_6炔基；卤素或-CN，

[0120] ◆R_6表示选自以下的基团：

[0121] 氢；

[0122] -C_2-C_6烯基；

[0123] -X_2-O-R_7；

[0124] ；

[0125] -X_2-NSO_2-R_7；

[0126] -C＝C(R_9)-Y_1-O-R_7；

[0127] C_3-C_6环烷基；

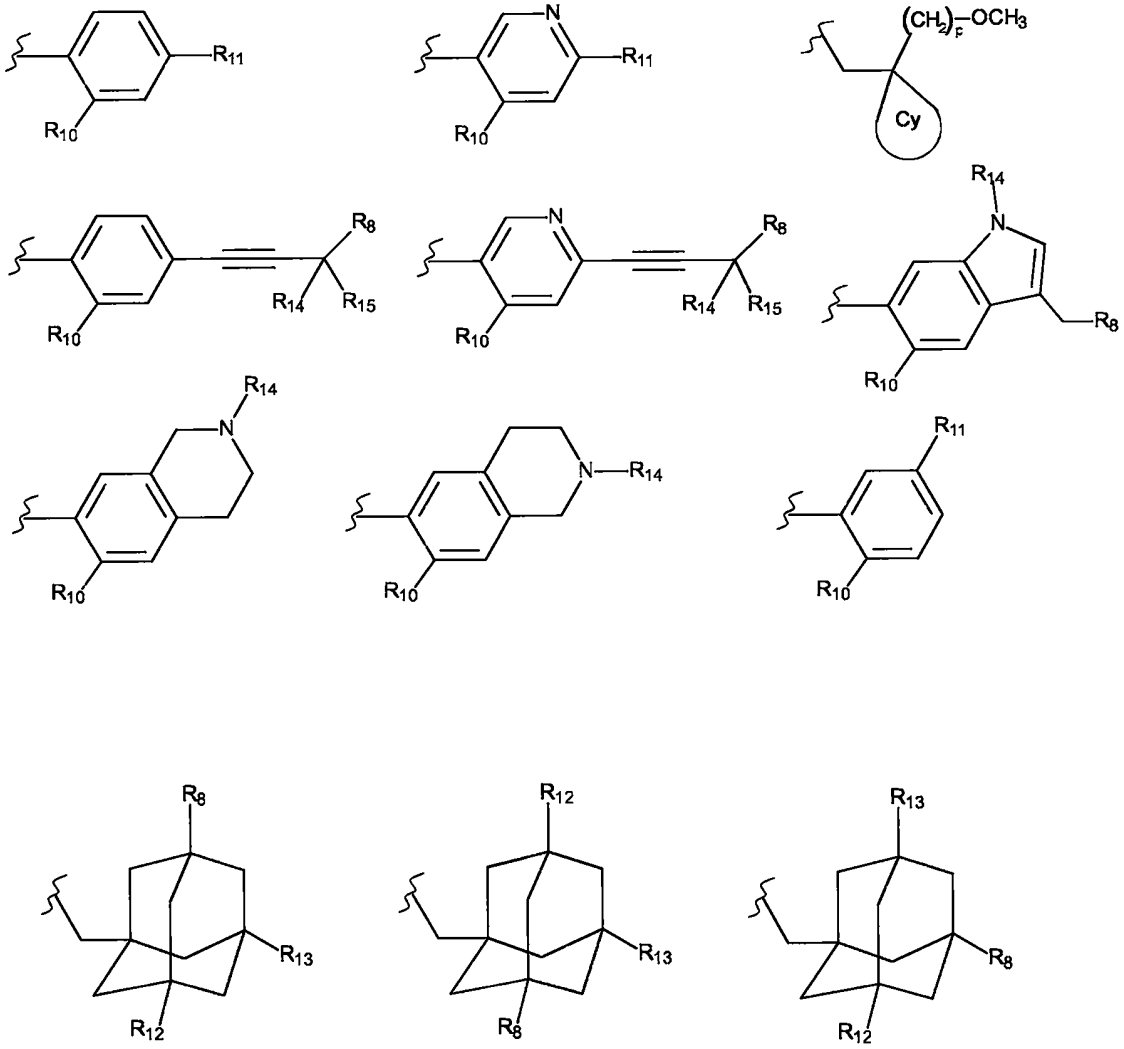
[0128] 任选被羟基取代的C_3-C_6杂环烷基；

[0129] C_3-C_6环亚烷基-Y_2-R_7；

[0130] C_3-C_6杂亚环烷基-Y_2-R_7基团，

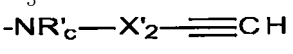
[0131] 任选被直链或支链C_1-C_6烷基取代的杂亚芳基-R_7基团，

[0132] ◆R_7表示选自以下的基团：直链或支链C_1-C_6烷基；(C_3-C_6)环亚烷基-R_8；或者：

[0133] 

[0134] 其中Cy表示C_3-C_8环烷基，

[0135] ◆R_8表示选自以下的基团：氢；直链或支链C_1-C_6烷基，-NR'$_a$R'$_b$；-NR'$_a$-CO-OR'$_c$；-NR'$_a$-CO-R'$_c$；-N^+R'$_a$R'$_b$R'$_c$；-O-R′c；-NH-X'$_2$-N^+R'$_a$R'$_b$R'$_c$；-O-X'$_2$-NR'$_a$R'$_b$、-X'$_2$-NR'$_a$R'$_b$、-NR'$_c$-X'$_2$-N_3和：

[0136] ，

[0137] ◆R_9表示选自直链或支链C_1-C_6烷基、三氟甲基、羟基、卤素、C_1-C_6烷氧基的基团，

[0138] ◆R_{10}表示选自氢、氟、氯、溴、-CF_3和甲基的基团，

[0139] ◆R_{11}表示选自氢、卤素、C_1-C_3亚烷基-R_8、-O-C_1-C_3亚烷基-R_8、-CO-NR_hR_i和-CH=CH-C_1-C_4亚烷基-NR_hR_i、-CH=CH-CHO、C_3-C_8环亚烷基-CH_2-R_8、C_3-C_8杂环亚烷基-CH_2-R_8的基团，

[0140] ◆R_{12}和R_{13}彼此独立地表示氢原子或甲基，

[0141] ◆R_{14}和R_{15}彼此独立地表示氢或甲基，或者R_{14}和R_{15}与带有它们的碳原子形成环己基，

[0142] ◆R_h和R_i彼此独立地表示氢或直链或支链C_1-C_6烷基，

[0143] ◆X_1表示直链或支链C_1-C_4亚烷基，其任选被一个或两个选自三氟甲基、羟基、卤素、C_1-C_6烷氧基的基团取代，

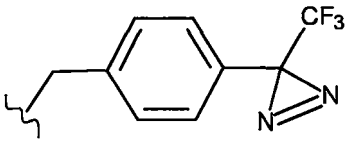
[0144] ◆X_2表示直链或支链C_1-C_6亚烷基，其任选被一个或两个选自三氟甲基、羟基、卤

素、C_1-C_6烷氧基的基团取代，

[0145] ◆X'_2表示直链或支链C_1-C_6亚烷基，

[0146] ◆R'_a和R'_b彼此独立地表示选自以下的基团：氢；杂环烷基；-SO_2-苯基，其中该苯基可以被直链或支链C_1-C_6烷基取代；任选被一个或两个羟基或C_1-C_6烷氧基取代的直链或支链C_1-C_6烷基；C_1-C_6亚烷基-SO_2OH；C_1-C_6亚烷基-SO_2O^-；C_1-C_6亚烷基-COOH；C_1-C_6亚烷基-$PO(OH)_2$；C_1-C_6亚烷基-$NR'_dR'_e$；C_1-C_6亚烷基-$N^+R'_dR'_eR'_f$；C_1-C_6亚烷基-O-C_1-C_6亚烷基-OH；C_1-C_6亚烷基-苯基，其中该苯基可以被羟基或C_1-C_6烷氧基取代；

[0147] 基团：

[0148] 

[0149] 或R'_a和R'_b与带有它们的氮原子形成环B_3，

[0150] 或R'_a、R'_b和R'_c与带有它们的氮原子形成桥连的C_3-C_8杂环烷基，

[0151] ◆R'_c、R'_d、R'_e、R'_f彼此独立地表示氢或直链或支链C_1-C_6烷基，

[0152] 或R'_d和R'_e与带有它们的氮原子形成环B_4，

[0153] 或R'_d、R'_e和R'_f与带有它们的氮原子形成桥连的C_3-C_8杂环烷基，

[0154] ◆Y_1表示直链或支链C_1-C_4亚烷基，

[0155] ◆Y_2表示键、-O-、-O-CH_2-、-O-CO-、-O-SO_2-、-CH_2-、-CH_2-O、-CH_2-CO-、-CH_2-SO_2-、-C_2H_5-、-CO-、-CO-O-、-CO-CH_2-、-CO-NH-CH_2-、-SO_2-、-SO_2-CH_2-、-NH-CO-、-NH-SO_2-、

[0156] ◆m＝0、1或2，

[0157] ◆p＝1、2、3或4，

[0158] ◆B_1、B_2、B_3和B_4彼此独立地表示C_3-C_8杂环烷基，该基团可以：(i)是单环或双环基团，其中双环基团包括稠合、桥连或螺环系统，(ii)除氮原子外，还可以含有一个或两个独立地选自氧、硫和氮的杂原子，(iii)被一个或两个选自以下的基团取代：氟、溴、氯、直链或支链C_1-C_6烷基、羟基、-NH_2、氧代或哌啶基，

[0159] ◆其中R_3和R_8基团之一(如果存在)共价连接至接头，并且其中原子不会由于一个或多个与其键合的取代基而超出化合价。

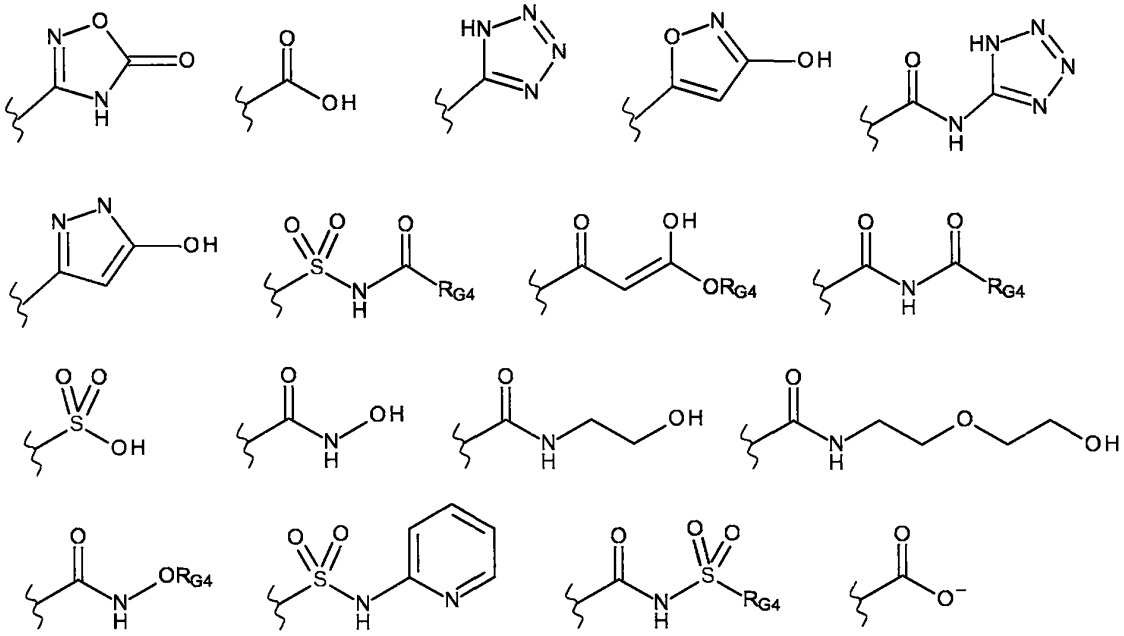
[0160] 在一些实施方案中，对于式(I)或式(II)，G选自由以下组成的组：

[0161] -C(O)OR_{G3}、-C(O)$NR_{G1}R_{G2}$、-C(O)R_{G2}、-NR_{G1}C(O)R_{G2}、-NR_{G1}C(O)$NR_{G1}R_{G2}$、-OC(O)$NR_{G1}R_{G2}$、-NR_{G1}C(O)OR_{G3}、-C(＝NOR_{G1})$NR_{G1}R_{G2}$、-NR_{G1}C(＝NCN)$NR_{G1}R_{G2}$、-$NR_{G1}S(O)_2NR_{G1}R_{G2}$、-S(O)$_2R_{G3}$、-S(O)$_2NR_{G1}R_{G2}$、-$NR_{G1}S(O)_2R_{G2}$、-$NR_{G1}$C(＝$NR_{G2}$)$NR_{G1}R_{G2}$、-C(＝S)$NR_{G1}R_{G2}$、-C(＝$NR_{G1}$)$NR_{G1}R_{G2}$、卤素、-$NO_2$和-CN，其中：

[0162] -R_{G1}和R_{G2}在每次出现时各自独立地选自由以下组成的组：氢、任选被1至3个卤素原子取代的C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_3-C_6环烷基、苯基和-$(CH_2)_{1-4}$-苯基；

[0163] -R_{G3}选自由以下组成的组：任选被1至3个卤素原子取代的烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_3-C_6环烷基、苯基和-$(CH_2)_{1-4}$-苯基；或者

[0164] R_{G1}和R_{G2}与各自所连接的原子一起组合形成C_3-C_8杂环烷基；或者在替代方案中，G选自由以下组成的组：

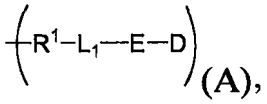
[0165] 

[0166] 其中R_{G4}选自任选被1至3个卤素原子取代的C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基和C_3-C_6环烷基。

[0167] 在一些实施方案中，p是1至8的整数。在一些实施方案中，p是1至5的整数。在一些实施方案中，p是2至4的整数。在一些实施方案中，p是2。在一些实施方案中，p是4。在一些实施方案中，p通过液相色谱-质谱法(LC-MS)测定。

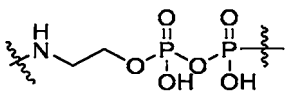
[0168] 在一些实施方案中，接头(L)包含附接基团、至少一个间隔基团和至少一个可切割基团。在一些情况下，可切割基团包含焦磷酸基团和/或自分解基团。在具体实施方案中，L包含附接基团；至少一个桥连间隔基团；和至少一个包含焦磷酸基团和/或自分解基团的可切割基团。

[0169] 在一些实施方案中，抗体-药物缀合物包含接头-药物(或“接头-负载”)部分-(L-D)具有式(A)：

[0170] 

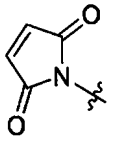
[0171] 其中R^1是附接基团，L_1是桥连间隔基团，并且E是可切割基团。

[0172] 在一些实施方案中，可切割基团包含焦磷酸基团。在一些实施方案中，可切割基团包含：

[0173] 。

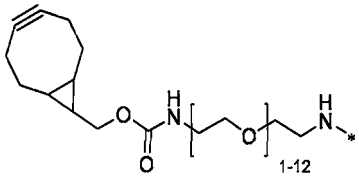
[0174] 在一些实施方案中，桥连间隔基团包含聚氧乙烯(PEG)基团。在一些情况下，PEG基团可选自PEG1、PEG2、PEG3、PEG4、PEG5、PEG6、PEG7、PEG8、PEG9、PEG10、PEG11、PEG12、PEG13、PEG14和PEG15。在一些实施方案中，桥连间隔基团可以包含：-CO-CH_2-CH_2-PEG12-。在其他实施方案中，桥连间隔基团包含丁酰基、戊酰基、己酰基、庚酰基或辛酰基。在一些实施方案中，桥连间隔基团包含己酰基。

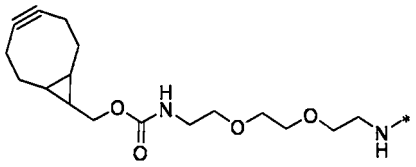
[0175] 在一些实施方案中，附接基团由至少一个选自马来酰亚胺基团、硫醇基团、环辛炔基团和叠氮基基团的反应性基团形成。例如，马来酰亚胺基团可以具有以下结构：

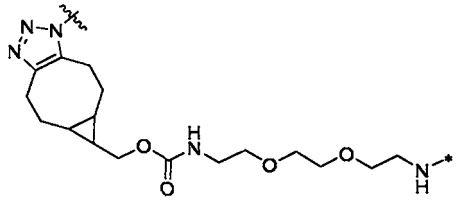
[0176] 。

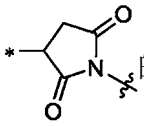
[0177] 叠氮基基团可以具有以下结构：-N＝N^+＝N^-。

[0178] 环辛炔基团可以具有以下结构：

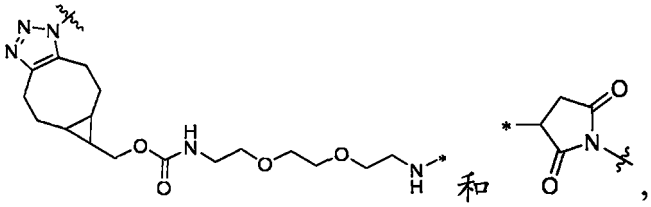
[0179] 并且其中-*是至抗体的键。

[0180] 在一些情况下，环辛炔基团具有以下结构：，并且其中-*是至抗体的键。

[0181] 在一些实施方案中，附接基团具有包含的式，并且其中-*是至抗体的键。

或 

[0182] 在一些实施方案中，抗体通过选自以下的附接基团与接头(L)连接：

[0183] ，

[0184] 其中-*是至抗体的键，并且其中是至桥连间隔基团的键。如本文所用，术语“接合”是指共价附接或共价连接。

[0185] 在一些实施方案中，桥连间隔基团与可切割基团接合或共价连接。

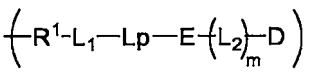
[0186] 在一些实施方案中，桥连间隔基团是-CO-CH_2-CH_2-PEG12-。

[0187] 在一些实施方案中，可切割基团是-焦磷酸-CH_2-CH_2-NH_2-。

[0188] 在一些实施方案中，可切割基团与Bcl-xL抑制剂(D)接合或共价连接。

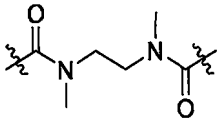
[0189] 在一些实施方案中，接头包含：附接基团、至少一个桥连间隔基团、肽基团和至少一个可切割基团。

[0190] 在一些实施方案中，抗体-药物缀合物包含接头-药物部分，-(L-D)，具有式(B)：

[0191]  **(B)**，

[0192] 其中R^1是附接基团，L_1是桥连间隔基，Lp是包含1至6个氨基酸残基的肽基团，E是可

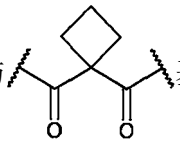
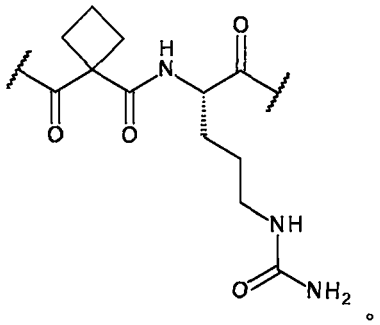
切割基团，L_2是桥连间隔基，m是0或1；D是Bcl-xL抑制剂。在一些情况下，m是1并且桥连间隔基包括：

[0193] 。

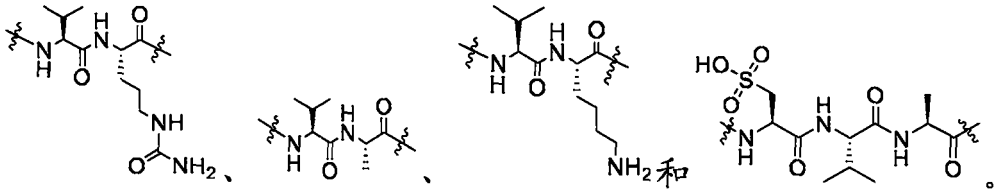
[0194] 在一些实施方案中，至少一个桥连间隔基包含PEG基团。在一些情况下，PEG基团选自PEG1、PEG2、PEG3、PEG4、PEG5、PEG6、PEG7、PEG8、PEG9、PEG10、PEG11、PEG12、PEG13、PEG14和PEG15。在一些情况下，至少一个桥连间隔基选自*-C(O)-CH_2-CH_2-PEG1-**、*-C(O)-CH_2-PEG3-**、*-C(O)-CH_2-CH_2-PEG12**、*-NH-CH_2-CH_2-PEG1-**、多羟基烷基、*-C(O)-N(CH_3)-CH_2-CH_2-N(CH_3)-C(O)-**、*-C(O)-CH_2-CH_2-PEG12-NH-C(O)CH_2-CH_2-**，其中**表示至少一个桥连间隔基直接或间接附接至附接基团的点，*表示至少一个桥连间隔基直接或间接附接至肽基团的点。

[0195] 在一些实施方案中，L_1选自*-C(O)-CH_2-CH_2-PEG1-**、*-C(O)-CH_2-PEG3-**、*-C(O)-CH_2-CH_2-PEG12**、*-NH-CH_2-CH_2-PEG1-**，和多羟基烷基，其中**表示L_1直接或间接附接至R^1的点，*表示L_1直接或间接附接至Lp的点。

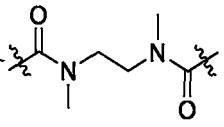
[0196] 在一些实施方案中，m是1且L_2是-C(O)-N(CH_3)-CH_2-CH_2-N(CH_3)-C(O)-。

[0197] 在一些实施方案中，肽基团包含1至12个氨基酸残基。在一些实施方案中，肽基团(Lp)包含1至10个氨基酸残基。在一些实施方案中，肽基团(Lp)包含1至8个氨基酸残基。在一些实施方案中，肽基团(Lp)包含1至6个氨基酸残基。在一些实施方案中，肽基团包含1至4个氨基酸残基。在一些实施方案中，肽基团包含1至3个氨基酸残基。在一些实施方案中，肽基团包含1至2个氨基酸残基。在一些情况下，氨基酸残基选自L-甘氨酸(Gly)、L-缬氨酸(Val)、L-瓜氨酸(Cit)、L-磺基丙氨酸(磺基-Ala)、L-赖氨酸(Lys)、L-异亮氨酸(Ile)、L-苯丙氨酸(Phe)、L-蛋氨酸(Met)、L-天冬酰胺(Asn)、L-脯氨酸(Pro)、L-丙氨酸(Ala)、L-亮氨酸(Leu)、L-色氨酸(Trp)和L-酪氨酸(Tyr)。例如，肽基团可包含Val-Cit、Val-Ala、Val-Lys和/或磺基-Ala-Val-Ala。在一些实施方案中，肽基团(Lp)包含与基团连接的1个氨基酸残基。在一些实施方案中，肽基团(Lp)包含基团：。

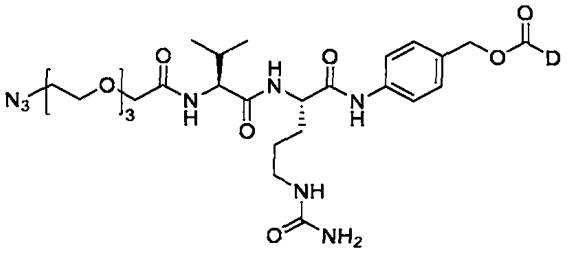
[0198] 在一些情况下，肽基团包含选自以下的基团：

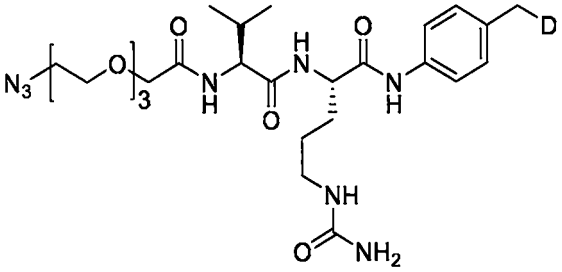
[0199] 。

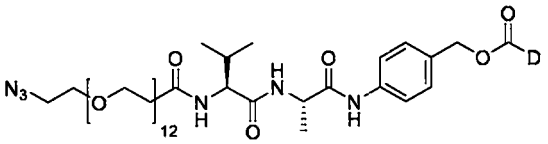
[0200] 在一些实施方案中,自分解基团包括对氨基苄基-氨基甲酸酯、对氨基苄基-铵、对氨基-(磺基)苄基-铵、对氨基-(磺基)苄基-氨基甲酸酯、对氨基-(烷氧基-PEG-烷基)苄基-氨基甲酸酯、对氨基-(多羟基羧基四氢吡喃基)烷基-苄基-氨基甲酸酯或对氨基-(多羟基羧基四氢吡喃基)烷基-苄基-铵。

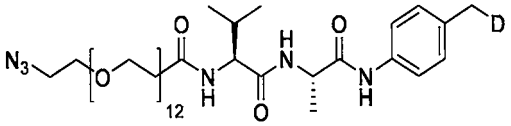
[0201] 在一些实施方案中,m为1且桥连间隔基包含。

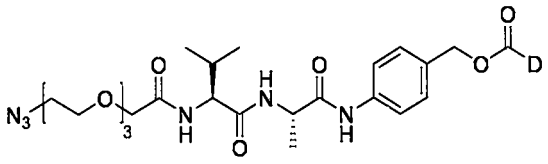
[0202] 在一些实施方案中,接头-药物部分,-(L-D),由选自以下的化合物形成:

[0203] ,

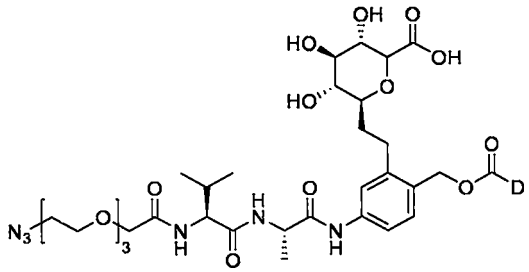

,

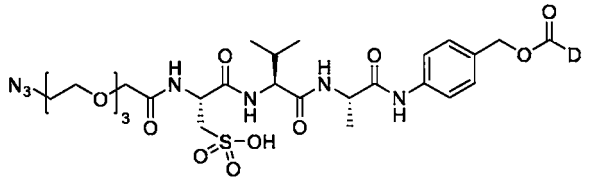

,

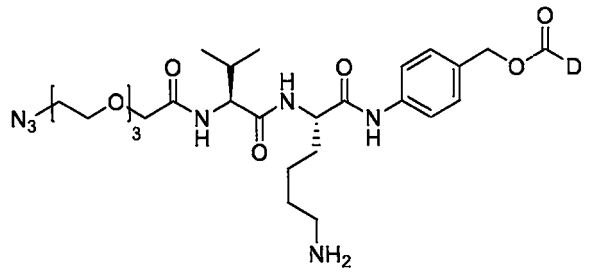

,

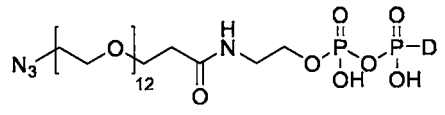

,

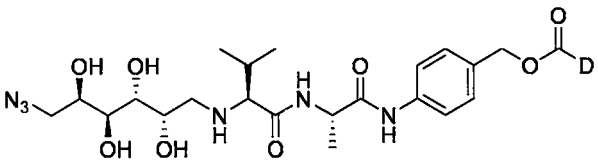
[0204]


,

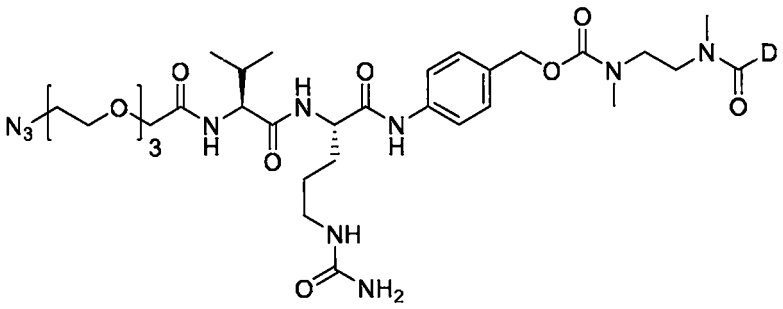

,


,


,

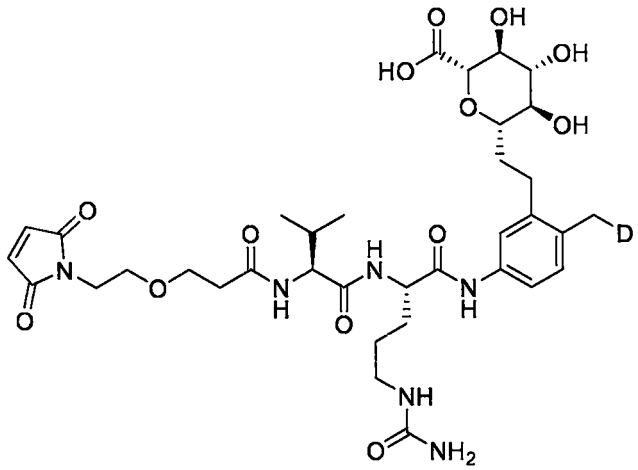


,

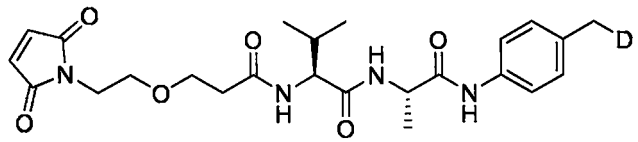


,

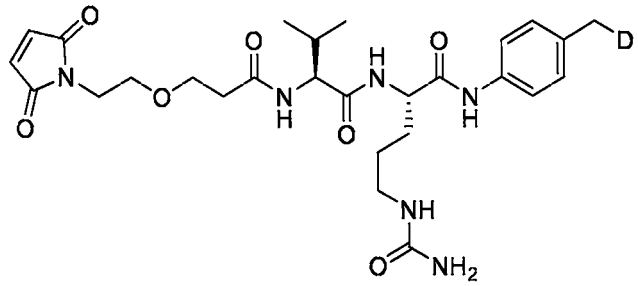
[0205]



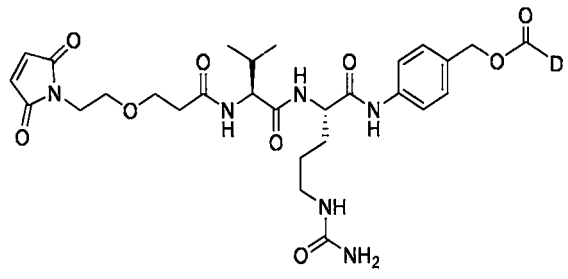
,



,

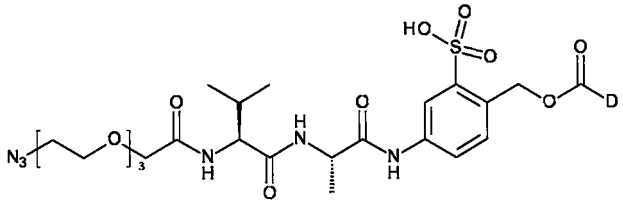


,

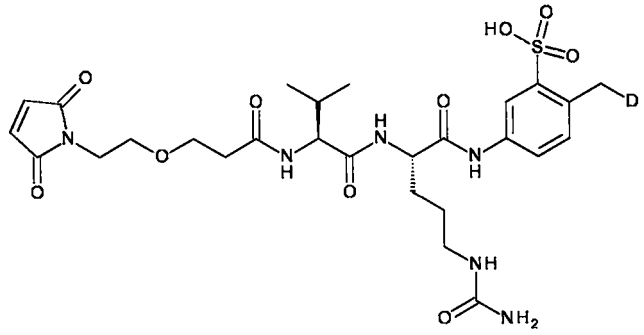


,

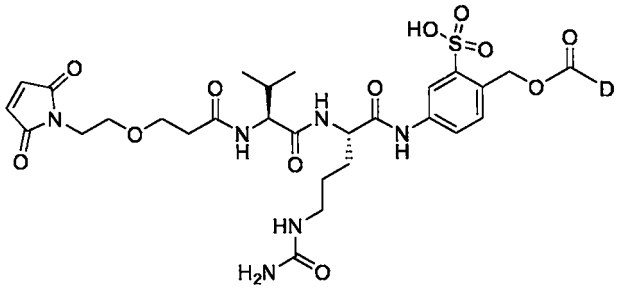
[0206]



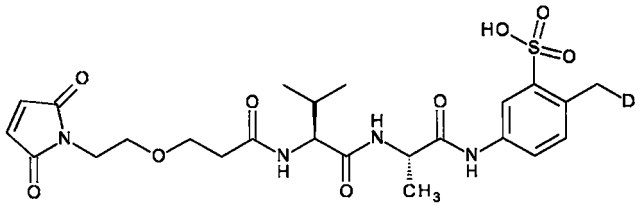
,



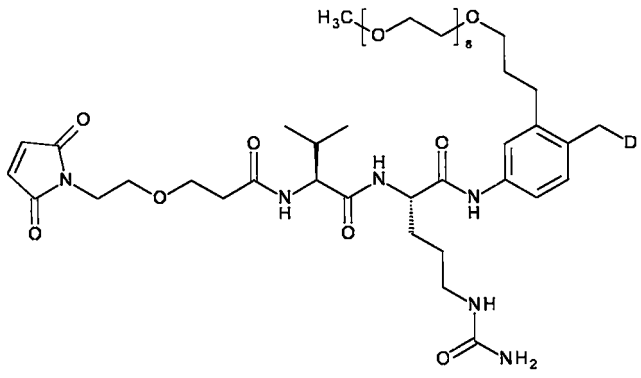
,



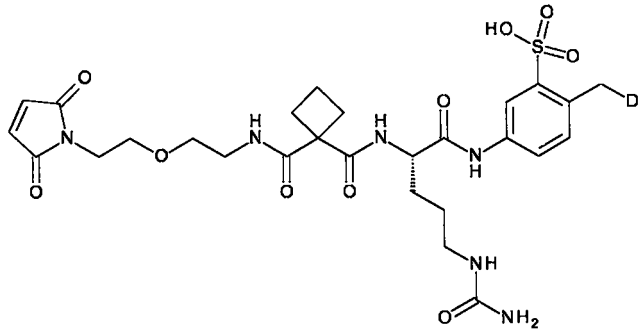
,



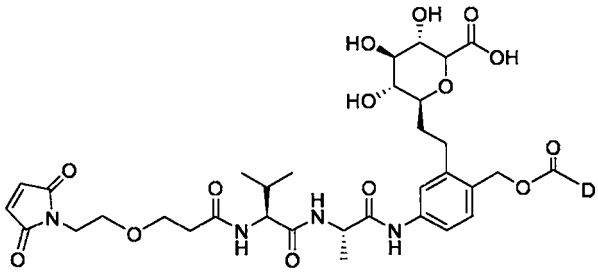
,



,

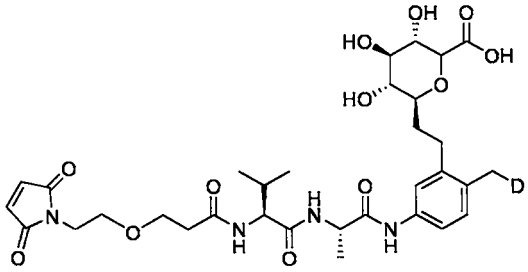


,

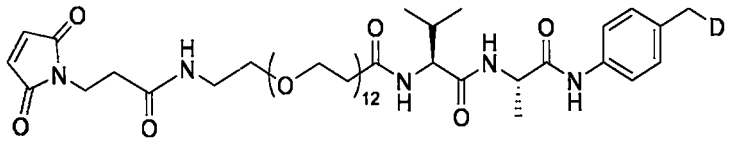


,

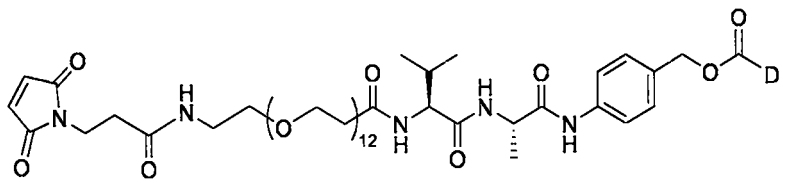
[0207]



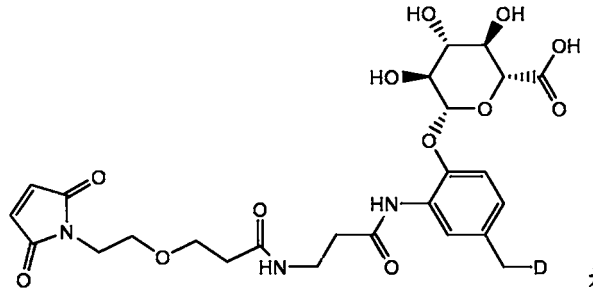
,



,

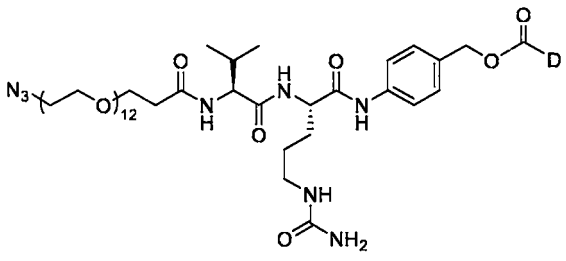


,



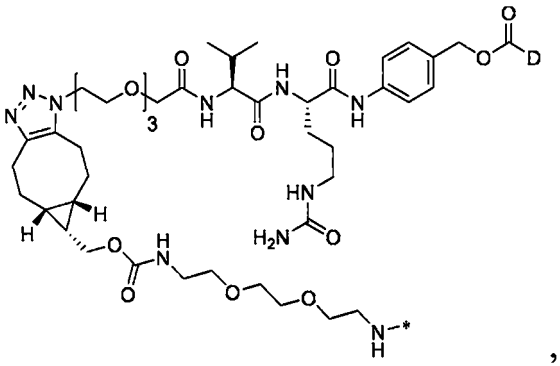
和

[0208]



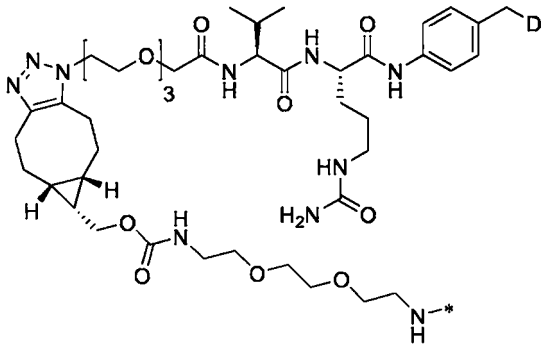
。

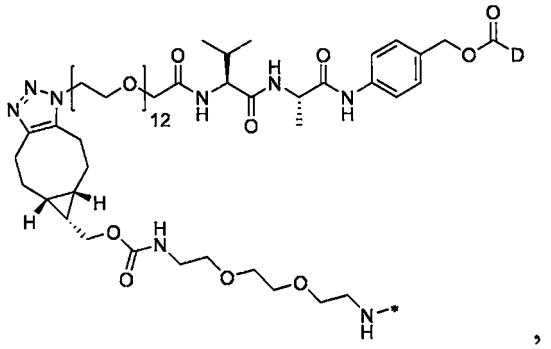
[0209] 在一些实施方案中，抗体-药物缀合物包含接头-药物基团，-(L-D)，其包含选自以下的式：



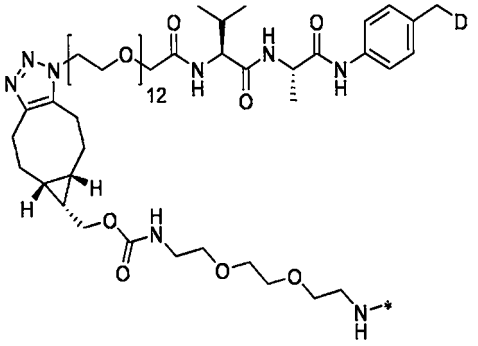
，

[0210]



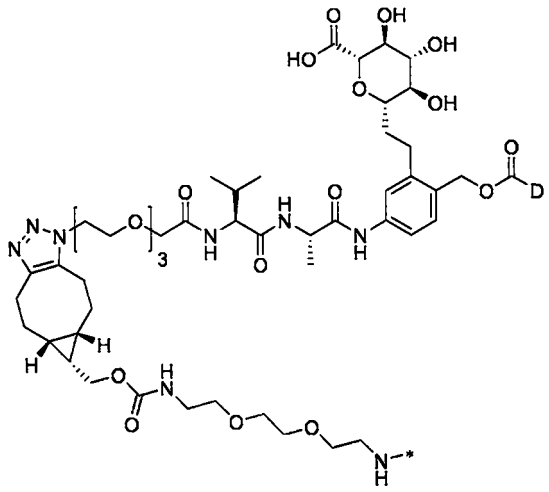


，

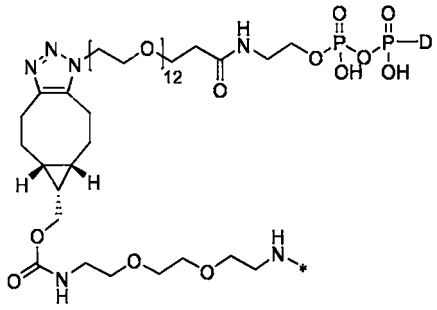


,

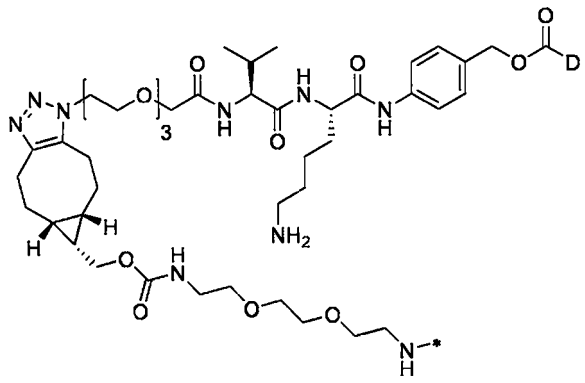
[0211]



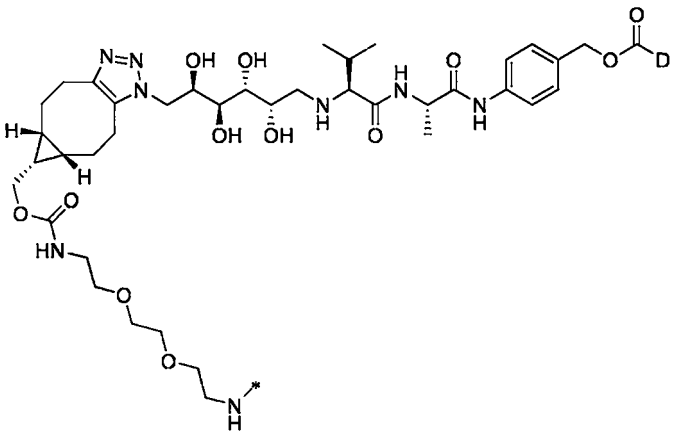
,



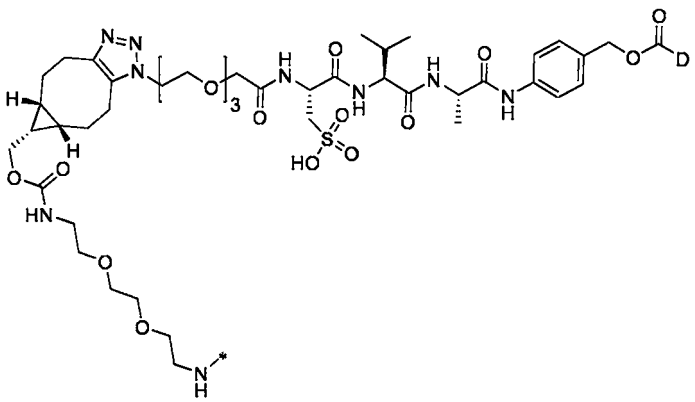
,



,

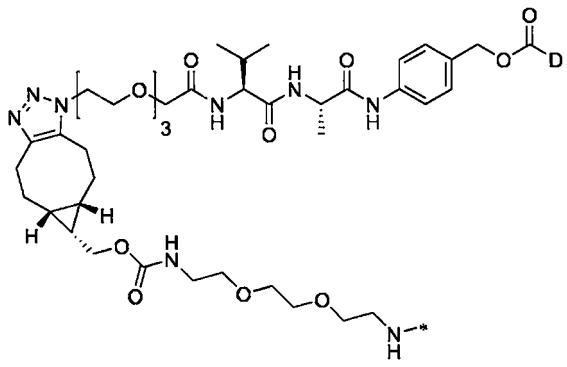


,

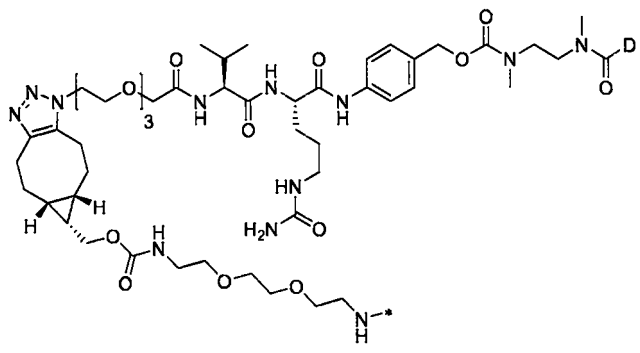


[0212]

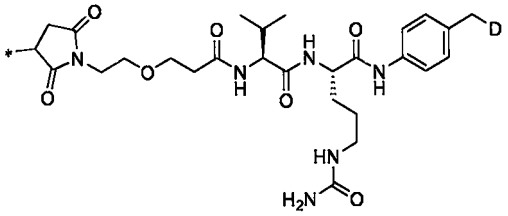
,



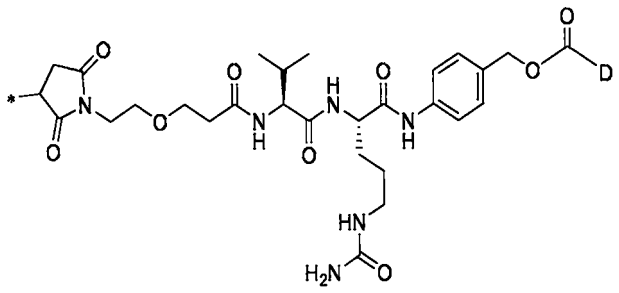
,



,

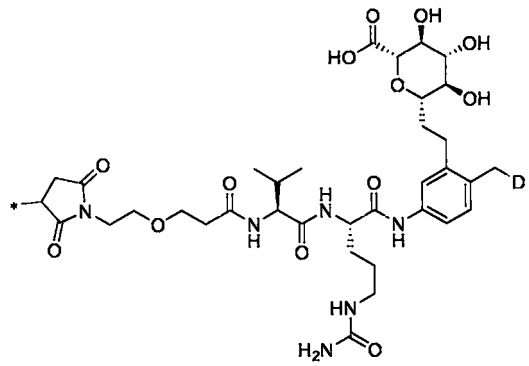


,

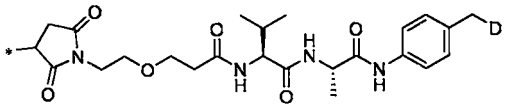


,

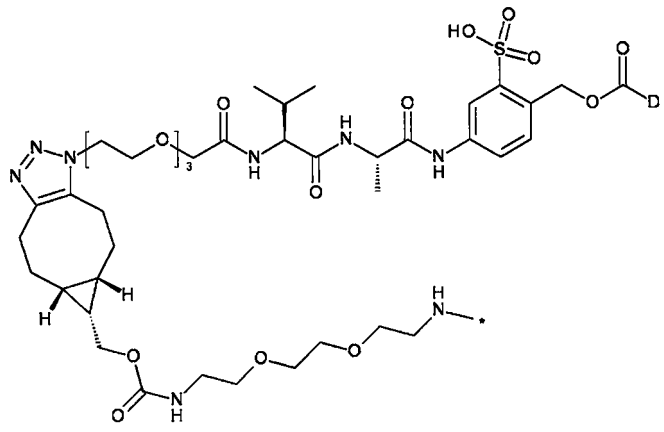
[0213]



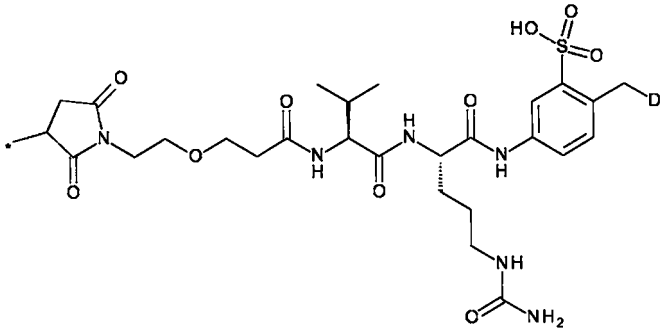
,



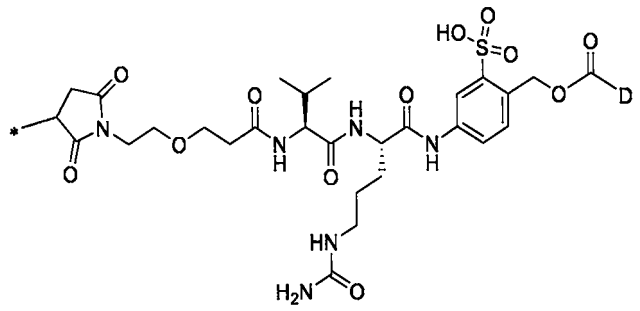
,



,

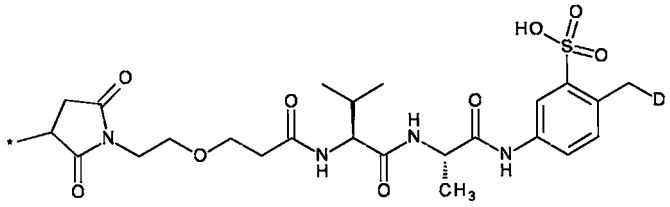


,

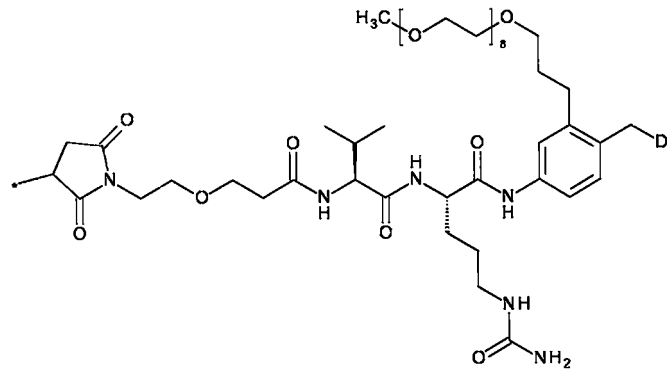


,

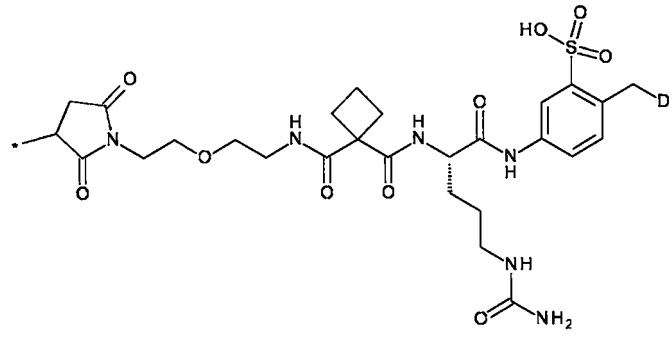
[0214]



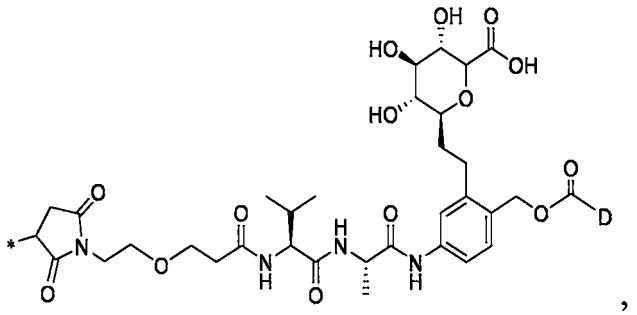
,



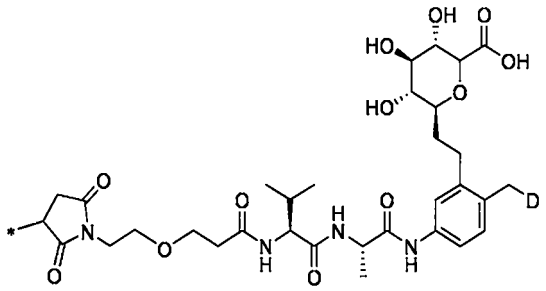
,



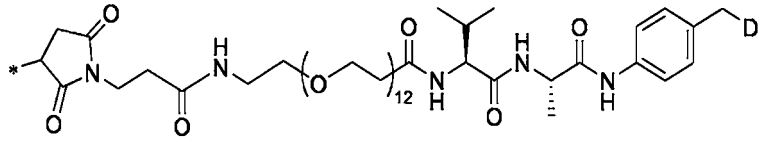
,



,

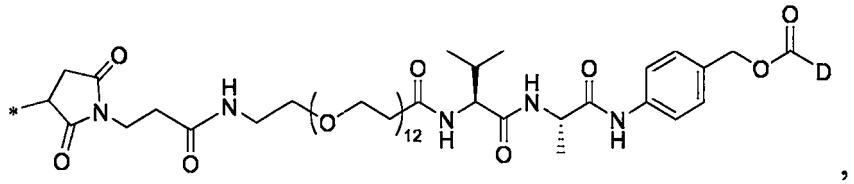


,

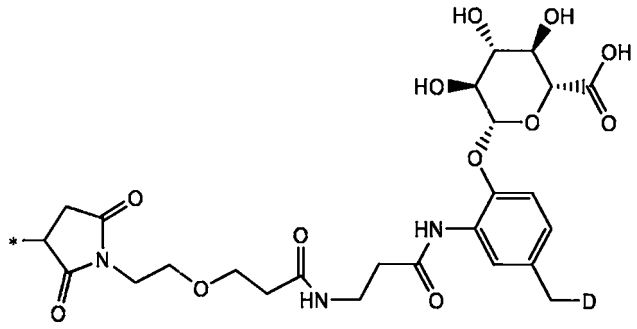


,

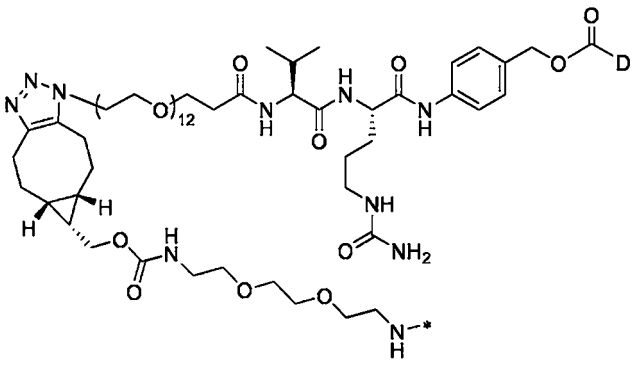
[0215]



,



,

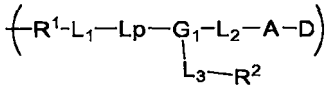


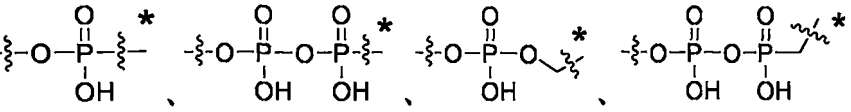
,

[0216] 以及

[0217] 以及其中-*是至抗体的键。

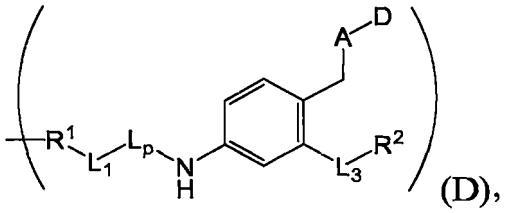
[0218] 在一些实施方案中,抗体-药物缀合物包含接头药物基团,-(L-D),其具有式(C):

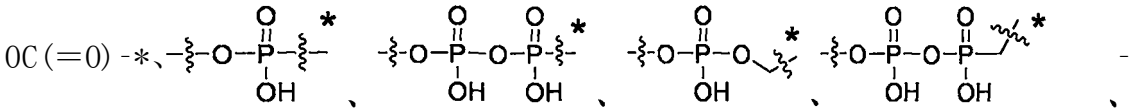
[0219]  (C),

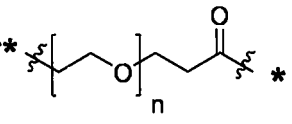
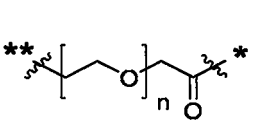
[0220] 其中:R^1是附接基团,L_1是桥连间隔基;L_p是包含1至6个氨基酸的肽基团;D是Bcl-xL抑制剂;G_1-L_2-A是自分解间隔基;L_2为键、亚甲基、新亚戊基或C_2-C_3亚烯基;A是键、-OC(=O)-*、、-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-*或-OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-*,

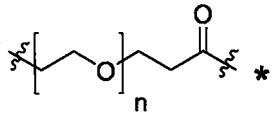
[0221] 其中每个R^a独立地选自H、C_1-C_6烷基和C_3-C_8环烷基,A的*表示与D的附接点;L_3是间隔基部分;并且R^2是亲水性部分。

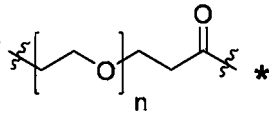
[0222] 在一些实施方案中,抗体-药物缀合物包含接头药物基团,-(L-D),其具有式(D):

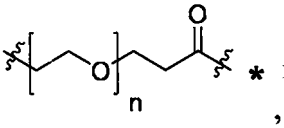
[0223]  (D),

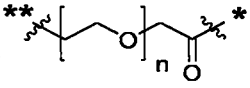
[0224] 其中:R^1是附接基团;L_1是桥连间隔基;Lp是包含1至6个氨基酸的肽基团;A是键、-OC(=O)-*、-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-*或-OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-*,其中每个R^a独立地选自H、C_1-C_6烷基和C_3-C_8环烷基,A的*表示与D的附接点;L_3是间隔基部分;并且R^2是亲水性部分。

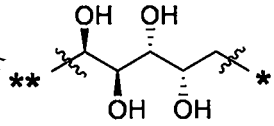
[0225] 在一些实施方案中,L_1包含:、或*-CH(OH)CH(OH)CH(OH)CH(OH)-**,其中每个n为1至12的整数,其中L_1的*表示与Lp直接或间接附接的点,L_1的**表示与R^1直接或间接附接的点。

[0226] 在一些实施方案中,L_1是,并且n是1至12的整数,其中L_1的*表示与Lp直接或间接附接的点,L_1的**表示与R^1直接或间接附接的点。

[0227] 在一些实施方案中,L_1是,并且n是1,其中L_1的*表示与Lp直接或间接附接的点,L_1的**表示与R^1直接或间接附接的点。

[0228] 在一些实施方案中,L_1是,并且n是12,其中L_1的*表示与Lp直接或间接附接的点,L_1的**表示与R^1直接或间接附接的点。

[0229] 在一些实施方案中，L_1是，并且n是1至12的整数，其中L_1的*表示与Lp直接或间接附接的点，L_1的**表示与R^1直接或间接附接的点。

[0230] 在一些实施方案中，L_1包含其中L_1的*表示与Lp直接或间接附接的点，L_1的**表示与R^1直接或间接附接的点。

[0231] 在一些实施方案中，L_1是桥连间隔基，其包含：

[0232] *-C(=O)$(CH_2)_m$O$(CH_2)_m$-**;*-C(=O)$((CH_2)_m O)_t(CH_2)_n$-**;*-C(=O)$(CH_2)_m$-**;

[0233] *-C(=O)NH$((CH_2)_m O)_t(CH_2)_n$-**;

[0234] *-C(=O)O$(CH_2)_m$SSC$(R^3)_2(CH_2)_m$C(=O)N$R^3(CH_2)_m$NR^3C(=O)$(CH_2)_m$-**;

[0235] *-C(=O)O$(CH_2)_m$C(=O)NH$(CH_2)_m$-**;*-C(=O)$(CH_2)_m$NH$(CH_2)_m$-**;

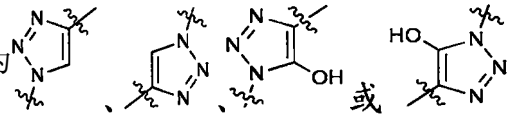
[0236] *-C(=O)$(CH_2)_m$NH$(CH_2)_n$C(=O)-**;*-C(=O)$(CH_2)_m X_1(CH_2)_m$-**;

[0237] *-C(=O)$((CH_2)_m O)_t(CH_2)_n X_1(CH_2)_n$-**;*-C(=O)$(CH_2)_m$NHC(=O)$(CH_2)_n$-**;

[0238] *-C(=O)$((CH_2)_m O)_t(CH_2)_n$NHC(=O)$(CH_2)_n$-**;*-C(=O)$(CH_2)_m$NHC(=O)$(CH_2)_n X_1(CH_2)_n$-**;

[0239] *-C(=O)$((CH_2)_m O)_t(CH_2)_n$NHC(=O)$(CH_2)_n X_1(CH_2)_n$-**;

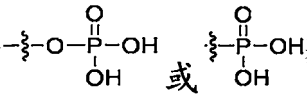
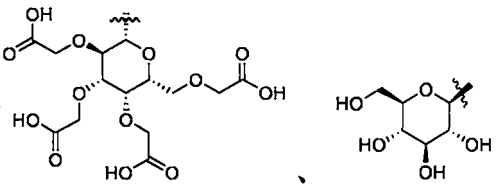
[0240] *-C(=O)$((CH_2)_m O)_t(CH_2)_n$C(=O)NH$(CH_2)_m$-**;*-C(=O)$(CH_2)_m C(R^3)_2$-**或

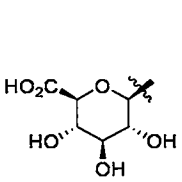
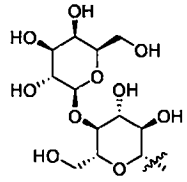
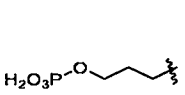
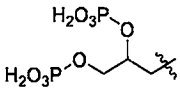
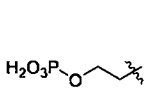
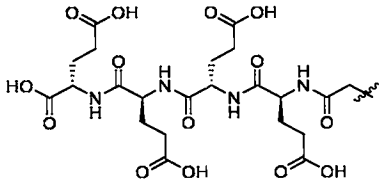
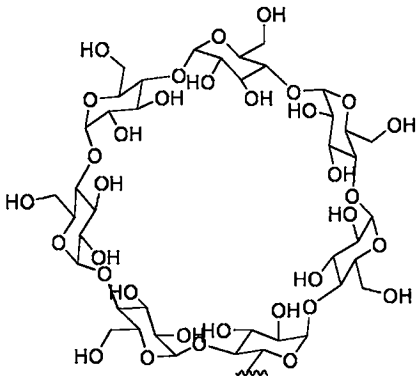
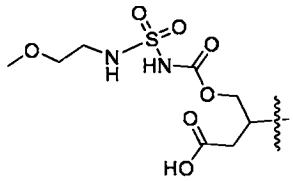
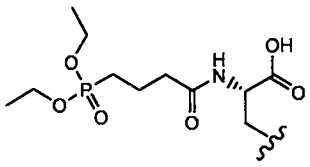
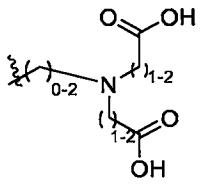
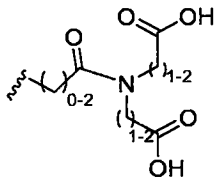
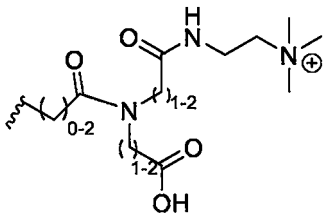
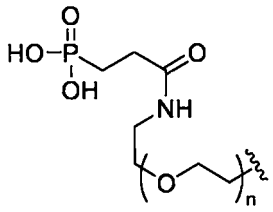
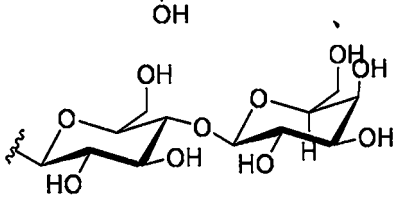
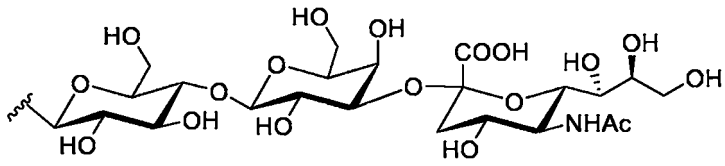
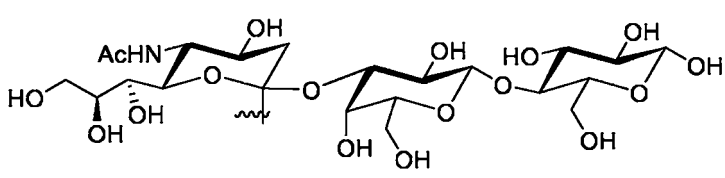
[0241] *-C(=O)$(CH_2)_m$C(=O)NH$(CH_2)_m$-**，其中L_1的*表示直接或间接附接到Lp的点，L_1的**表示直接或间接附接到R^1的点，其中X_1为以及；

[0242] 每个m独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10；

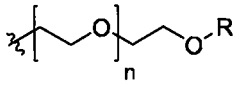
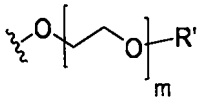
[0243] 每个n独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10；以及

[0244] 每个t独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29和30。

[0245] 在一些实施方案中，R^2是亲水部分，其包含聚乙二醇、聚亚烷基二醇、多元醇、聚肌氨酸、糖、寡糖、多肽、被1至3个基团取代的C_2-C_6烷基，或被1至2个独立选自-OC(=O)NHS(O)$_2$NHCH$_2$CH$_2$OCH$_3$、-NHC(=O)C_{1-4}亚烷基-P(O)$(OCH_2CH_3)_2$和-COOH基团的取代基取代的C_2-C_6烷基。在一些实施方案中，R2是、、


、

、

、

、

、

或

、

、

、

、

、


(其中n是1到6之间的整数)、

、

、

或

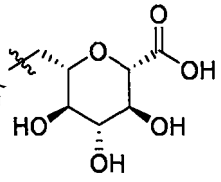
。

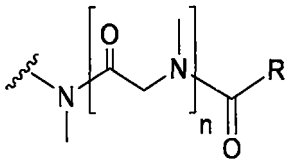
[0246] 在一些实施方案中,亲水部分包含下式的聚乙二醇:
或

,其中R为H、-$CH_3CH_2CH_2NHC(=O)OR_a$、-$CH_2CH_2NHC(=O)R_a$、或-$CH_2CH_2C(=O)OR_a$、R'为OH、-OCH_3、$CH_2CH_2NHC(=O)OR_a$、

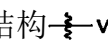
[0247] -$CH_2CH_2NHC(=O)R_a$或-$OCH_2CH_2C(=O)OR_a$,且m和n各自为2至25之间的整数(例如,

介于3至25之间)。

[0248] 在一些实施方案中，

[0249] 亲水部分包含。

[0250] 在一些实施方案中，亲水部分包含聚肌氨酸，例如具有以下部分，其中n是3至25之间的整数；R为H、$-CH_3$或$-CH_2CH_2C(=O)OH$。

[0251] 在一些实施方案中，L_3是具有结构的间隔基部分，

[0252] 其中：

[0253] W为$-CH_2-$、$-CH_2O-$、$-CH_2N(R^b)C(=O)O-$、$-NHC(=O)C(R^b)_2NHC(=O)O-$、$-NHC(=O)C(R^b)_2NH-$、$-NHC(=O)C(R^b)_2NHC(=O)-$、$-CH_2N(X-R^2)C(=O)O-$、$-C(=O)N(X-R^2)-$、$-CH_2N(X-R^2)C(=O)-$、$-C(=O)NR^b-$、$-C(=O)NH-$、$-CH_2NR^bC(=O)-$、$-CH_2NR^bC(=O)NH-$、$-CH_2NR^bC(=O)NR^b-$、$-NHC(=O)-$、$-NHC(=O)O-$、$-NHC(=O)NH-$、$-OC(=O)NH-$、$-S(O)_2NH-$、$-NHS(O)_2-$、$-C(=O)-$、$-C(=O)O-$或$-NH-$，其中每个$R^b$独立地选自H、$C_1-C_6$烷基和$C_3-C_8$环烷基；以及

[0254] X是键、三唑基或$-CH_2-$三唑基-，其中X与R^2连接。

[0255] 在一些实施方案中，L_3是具有结构的间隔基部分，

[0256] 其中：

[0257] W为$-CH_2-$、$-CH_2O-$、$-CH_2N(R^b)C(=O)O-$、$-NHC(=O)C(R^b)_2NHC(=O)O-$、$-NHC(=O)C(R^b)_2NH-$、$-NHC(=O)C(R^b)_2NHC(=O)-$、$-CH_2N(X-R^2)C(=O)O-$、$-C(=O)N(X-R^2)-$、$-CH_2N(X-R^2)C(=O)-$、$-C(=O)NR^b-$、$-C(=O)NH-$、$-CH_2NR^bC(=O)-$、$-CH_2NR^bC(=O)NH-$、$-CH_2NR^bC(=O)NR^b-$、$-NHC(=O)-$、$-NHC(=O)O-$、$-NHC(=O)NH-$、$-OC(=O)NH-$、$-S(O)_2NH-$、$-NHS(O)_2-$、$-C(=O)-$、$-C(=O)O-$或$-NH-$，其中每个$R^b$独立地选自H、$C_1-C_6$烷基和$C_3-C_8$环烷基；以及

[0258] X是$-CH_2-$三唑基$-C_{1-4}$亚烷基$-OC(O)NHS(O)_2NH-$、$-C_{4-6}$环亚烷基$-OC(O)NHS(O)_2NH-$、$-(CH_2CH_2O)_n-C(O)NHS(O)_2NH-$、$-(CH_2CH_2O)_n-C(O)NHS(O)_2NH-(CH_2CH_2O)_n-$、$-CH_2-$三唑基$-C_{1-4}$亚烷基$-OC(O)NHS(O)_2NH-(CH_2CH_2O)_n-$或$-C_{4-6}$环亚烷基$-OC(O)NHS(O)_2NH-(CH_2CH_2O)_n-$，其中每个n独立地为1、2或3并且其中X连接至$R^2$。

[0259] 在一些实施方案中，附接基团通过包含至少一个反应性基团的反应形成。在某些情况下，附接基团是通过以下形成的：使附接至接头的第一反应性基团以及附接至抗体或者是抗体的氨基酸残基的第二反应性基团进行反应。

[0260] 在一些实施方案中，至少一个反应性基团包括：

[0261] 硫醇、

[0262] 马来酰亚胺、

[0263] 卤代乙酰胺、

[0264] 叠氮化物、

[0265] 炔烃、

[0266] 环辛烯、

[0267] 三芳基膦、

[0268] 氧杂降冰片二烯、

[0269] 环辛炔、

[0270] 二芳基四嗪、

[0271] 单芳基四嗪、

[0272] 降冰片烯、

[0273] 醛、

[0274] 羟胺、

[0275] 肼、

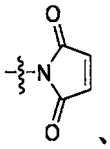
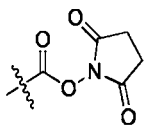
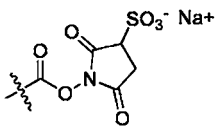
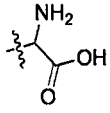
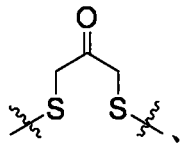
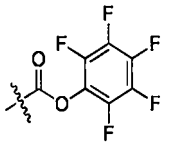
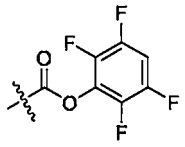
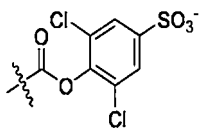
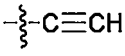
[0276] NH_2-NH-C(=O)-、

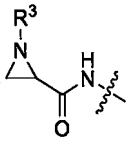
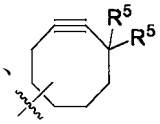
[0277] 酮、

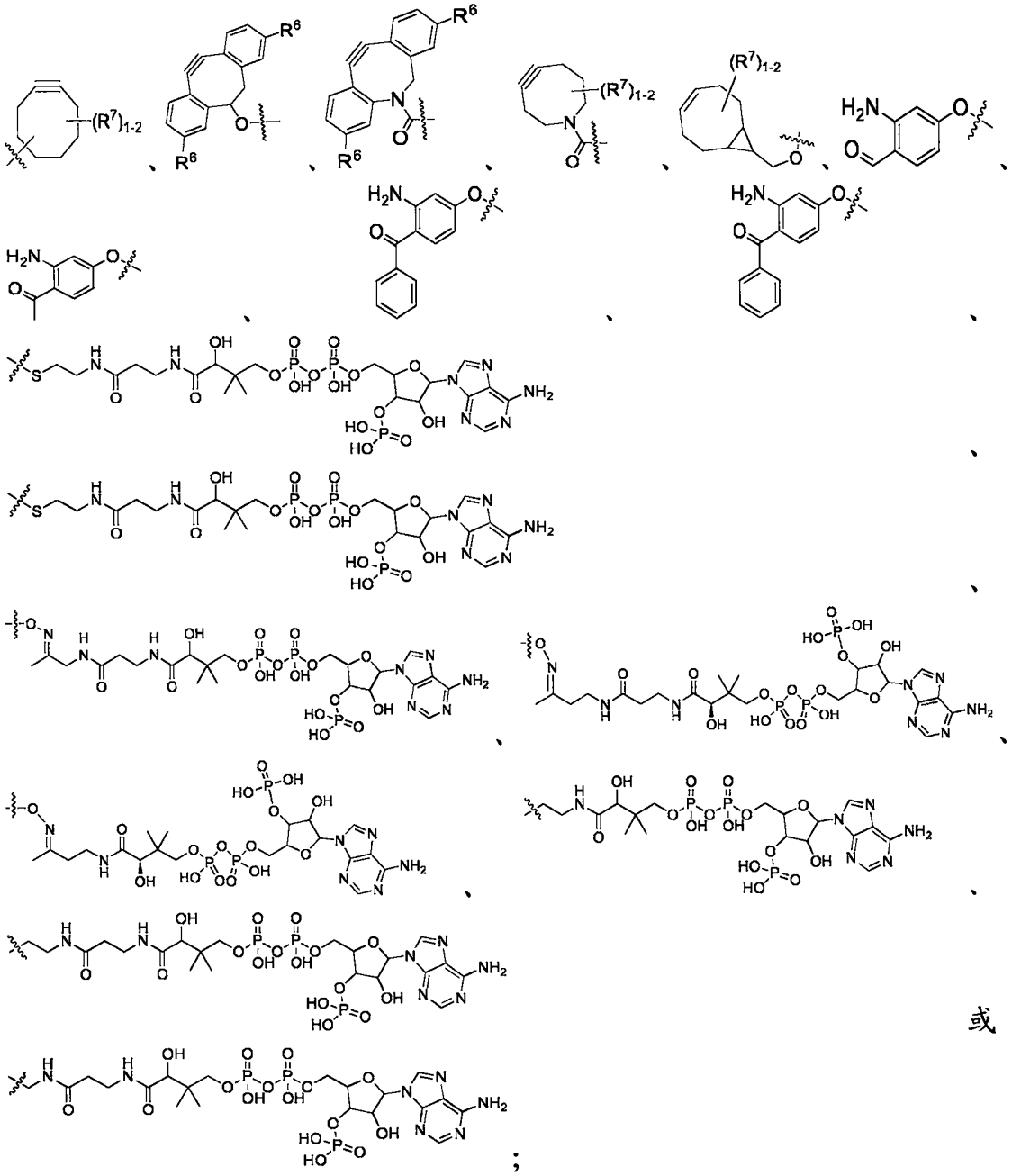
[0278] 乙烯基砜、

[0279] 氮杂环丙烷、

[0280] 氨基酸残基、

[0281] 、-ONH$_2$、-NH$_2$、、、、、、、、-N$_3$、、-SH、-SR^3、-SSR^4、-S(=O)$_2$(CH=CH$_2$)、-(CH$_2$)$_2$S(=O)$_2$(CH=CH$_2$)、-NHS(=O)$_2$(CH=CH$_2$)、

[0282] -NHC(=O)CH$_2$Br、-NHC(=O)CH$_2$I、、-C(O)NHNH$_2$、、

[0283] 

[0284] 其中：

[0285] 每个R^3独立地选自H和C_1-C_6烷基；

[0286] 每个R^4是2-吡啶基或4-吡啶基；

[0287] 每个R^5独立地选自H、C_1-C_6烷基、F、Cl和-OH；

[0288] 每个R^6独立地选自H、C_1-C_6烷基、F、Cl、-NH_2、-OCH_3、-OCH_2CH_3、-$N(CH_3)_2$、-CN、-NO_2和-OH；

[0289] 每个R^7独立地选自H、C_{1-6}烷基、氟、被-C(=O)OH取代的苄氧基、被-C(=O)OH取代的苄基、被-C(=O)OH取代的C_{1-4}烷氧基和被-C(=O)OH取代的C_{1-4}烷基。

[0290] 在一些实施方案中，第一反应性基团和第二反应性基团包括：

[0291] 硫醇和马来酰亚胺、

[0292] 硫醇和卤代乙酰胺、

[0293] 硫醇和乙烯基砜、

[0294] 硫醇和氮杂环丙烷、

[0295] 叠氮化物和炔烃、

[0296] 叠氮化物和环辛炔、

[0297] 叠氮化物和环辛烯、

[0298] 叠氮化物和三芳基膦、

[0299] 叠氮化物和氧代降冰片二烯、

[0300] 二芳基四嗪和环辛烯、

[0301] 单芳基四嗪和降冰片烯、

[0302] 醛和羟胺、

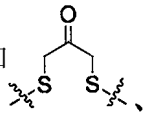
[0303] 醛和肼、

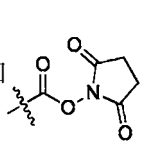
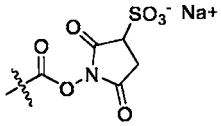
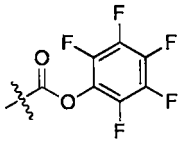
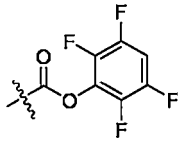
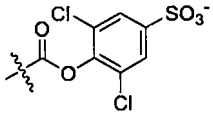
[0304] 醛和NH_2-NH-C(=O)-、

[0305] 酮和羟胺、

[0306] 酮和肼、

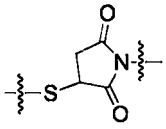
[0307] 酮和NH2-NH-C(=O)-、

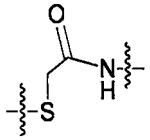
[0308] 羟胺和 、

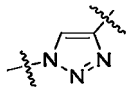
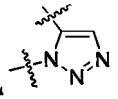
[0309] 胺和 、、、或 或 ,

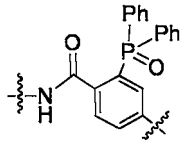
[0310] CoA或CoA类似物和丝氨酸残基。

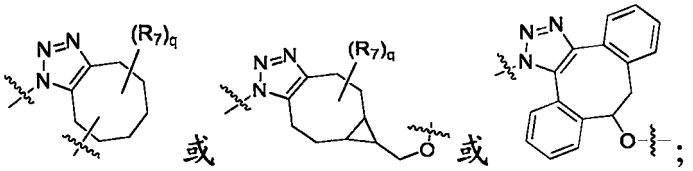
[0311] 在一些实施方案中,附接基团包括选自以下的基团:

;

[0312] ;

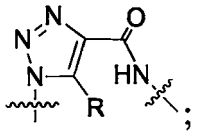
或;

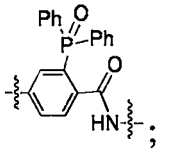
;

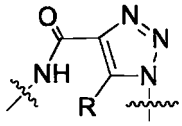

或

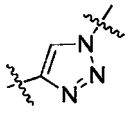
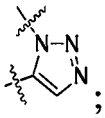
或

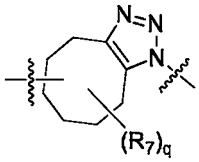
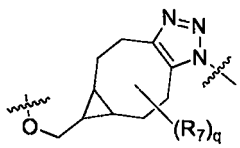
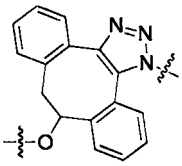
;

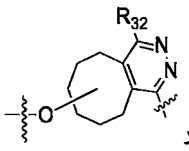
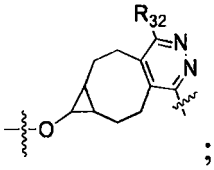

;

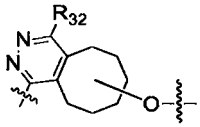
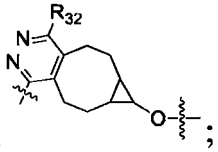

;

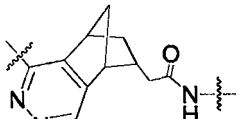

;

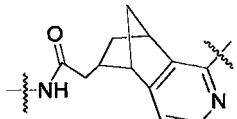

或

;

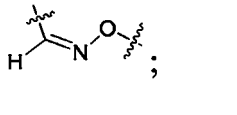
[0313]

(R7)q 或

(R7)q 或

;


或

;

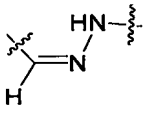

或

;

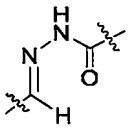

;

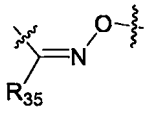

;

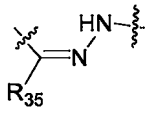

;

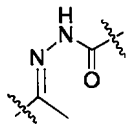
;

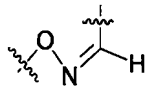

;

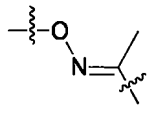

;


;

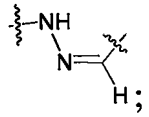

;

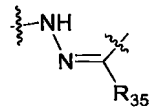

;

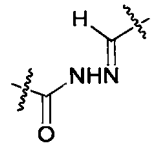

;

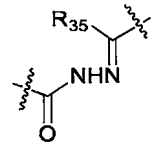

;

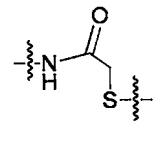
[0314]

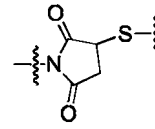

;


;

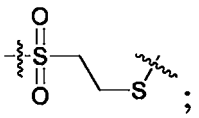

;

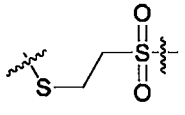

;

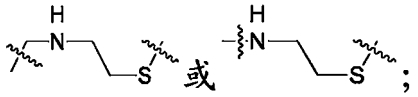

;

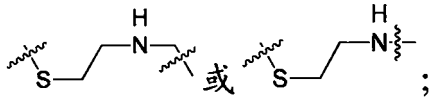

;

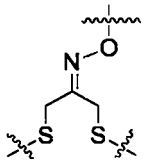
;

;

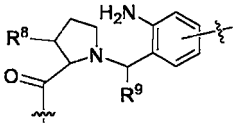
;

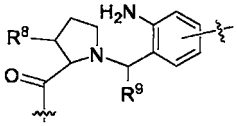
[0315] ;

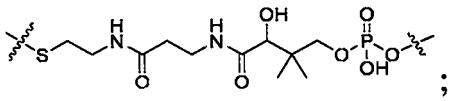
;

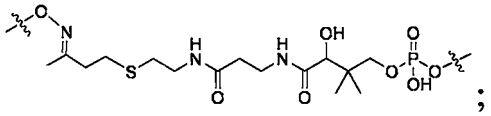
;

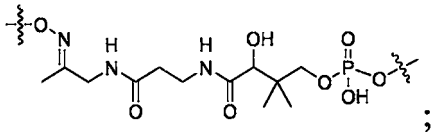
[0316] 酰胺;

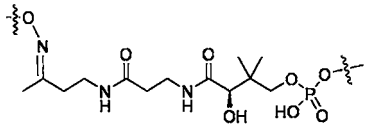
;

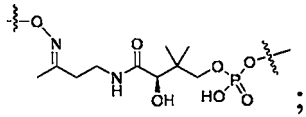
;

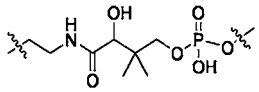
;

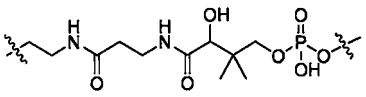
[0317] ;

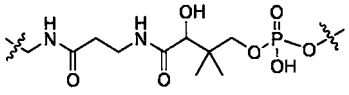
;

;

;

;

[0318] ;

[0319]  以及；

[0320] 二硫化物，

[0321] 其中：

[0322] R^{32}为H、C_{1-4}烷基、苯基、嘧啶或吡啶；

[0323] R^{35}为H、C_{1-6}烷基、苯基或被1至3个-OH基团取代的C_{1-4}烷基；

[0324] 每个R^{7}独立地选自H、C_{1-6}烷基、氟、被-C(=O)OH取代的苄氧基、被-C(=O)OH取代的苄基、被-C(=O)OH取代的C_{1-4}烷氧基和被-C(=O)OH取代的C_{1-4}烷基；

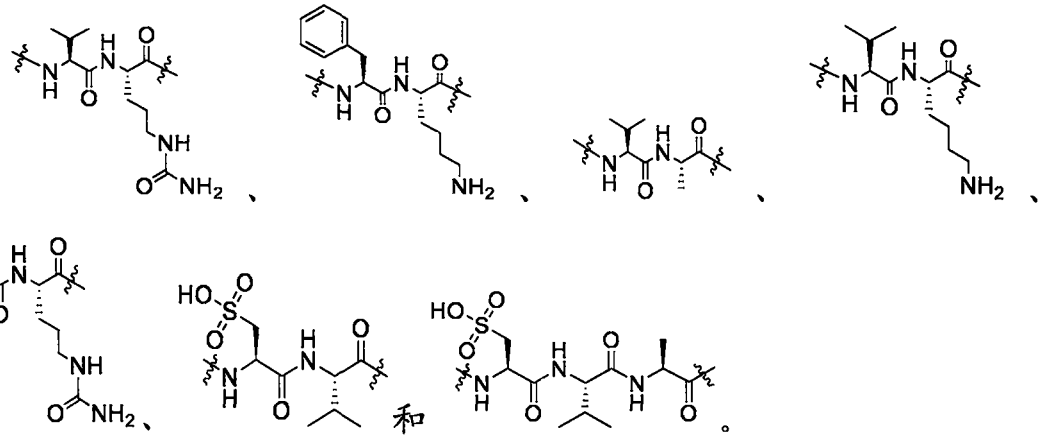
[0325] R^{37}独立地选自H、苯基和吡啶；

[0326] q为0、1、2或3；

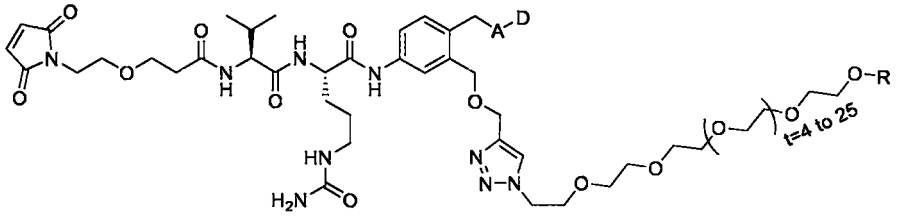
[0327] R^{8}为H或甲基；以及

[0328] R^{9}为H、$-CH_3$或苯基。

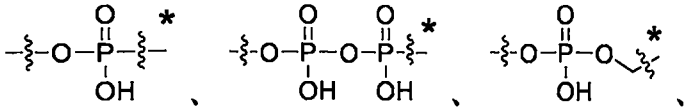
[0329] 在一些实施方案中，肽基团(Lp)包含1至6个氨基酸残基。在一些实施方案中，肽基团(Lp)包含1至4个氨基酸残基。在一些实施方案中，肽基团包含1至3个氨基酸残基。在一些实施方案中，肽基团包含1至2个氨基酸残基。在一些实施方案中，氨基酸残基选自L-甘氨酸(Gly)、L-缬氨酸(Val)、L-瓜氨酸(Cit)、L-磺基丙氨酸(磺基-Ala)、L-赖氨酸(Lys)、L-异亮氨酸(Ile)、L-苯丙氨酸(Phe)、L-蛋氨酸(Met)、L-天冬酰胺(Asn)、L-脯氨酸(Pro)、L-丙氨酸(Ala)、L-亮氨酸(Leu)、L-色氨酸(Trp)和L-酪氨酸(Tyr)。在一些实施方案中，肽基团包含Val-Cit、Phe-Lys、Val-Ala、Val-Lys、Leu-Cit、磺基-Ala-Val和/或磺基-Ala-Val-Ala。在一些实施方案中，Lp选自：

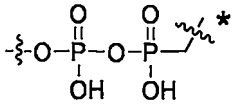
[0330] 

[0331] 在一些实施方案中，接头-药物基团-(L-D)包含下式化合物或由下式化合物形成：

[0332]  其中：

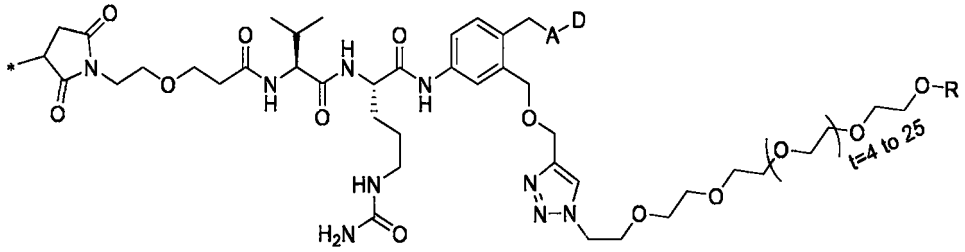
[0333] R是H、$-CH_3$或$-CH_2CH_2C(=O)OH$；

[0334] A是键、-OC(=O)-*、

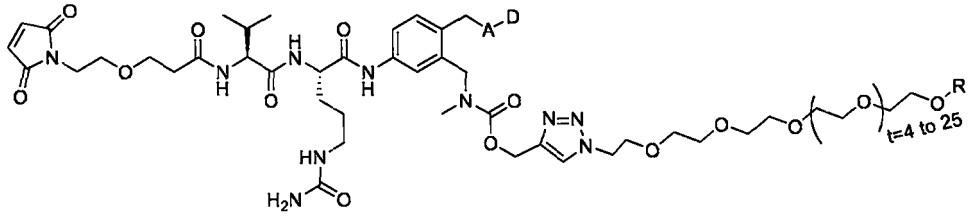


-OC(=O)N(CH$_3$)CH$_2$CH$_2$N(CH$_3$)C(=O)-*或-OC(=O)N(CH$_3$)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH$_3$)C(=O)-*,其中每个R^{a}独立地选自H、C$_1$-C$_6$烷基和C$_3$-C$_8$环烷基,A的*表示与D的附接点;以及

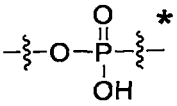
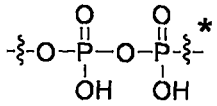
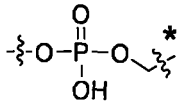
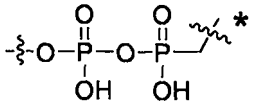
[0335] D是Bcl-xL抑制剂。在一些实施方案中,接头-药物基团-(L-D)包含下式:

[0336]  其中:-*是至抗体的键;并且A、D和R如上所定义。在一些实施方案中,A是键或-OC(=O)-*;R是-CH$_3$或-CH$_2$CH$_2$C(=O)OH。

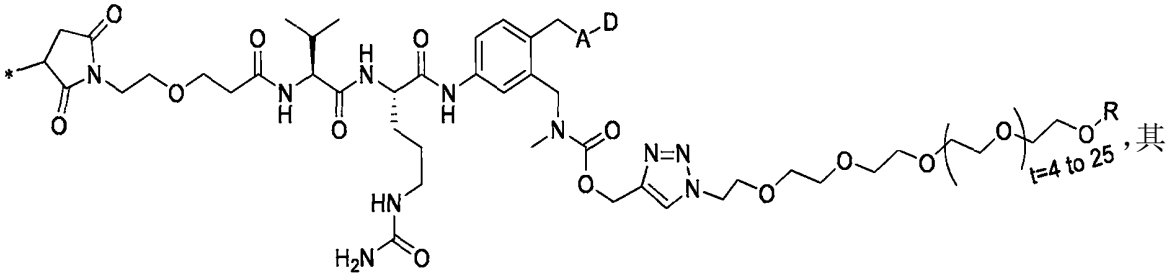
[0337] 在一些实施方案中,接头-药物基团-(L-D)包含下式化合物或由下式化合物形成:

[0338]  其中:

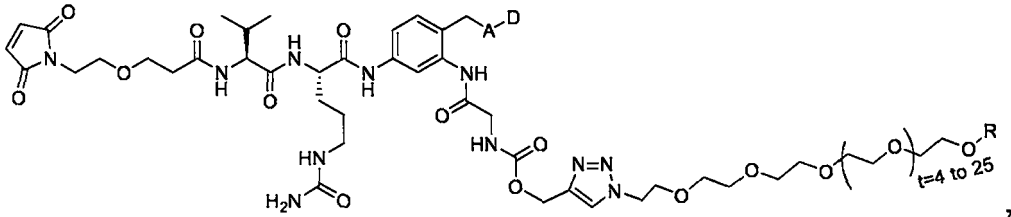
[0339] R是H、-CH$_3$或-CH$_2$CH$_2$C(=O)OH;

[0340] A是键、-OC(=O)-*、、、、-OC(=O)N(CH$_3$)CH$_2$CH$_2$N(CH$_3$)C(=O)-*或-OC(=O)N(CH$_3$)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH$_3$)C(=O)-*,其中每个R^{a}独立地选自H、C$_1$-C$_6$烷基和C$_3$-C$_8$环烷基,A的*表示与D的附接点;以及

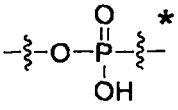
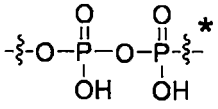
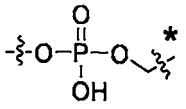
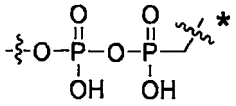
[0341] D是Bcl-xL抑制剂。在一些实施方案中,接头-药物基团-(L-D)包含下式:

,其中:-*是至抗体的键;并且A、D和R如上所定义。在一些实施方案中,A是键或-OC(=O)-*;R是-CH$_3$或-CH$_2$CH$_2$C(=O)OH。

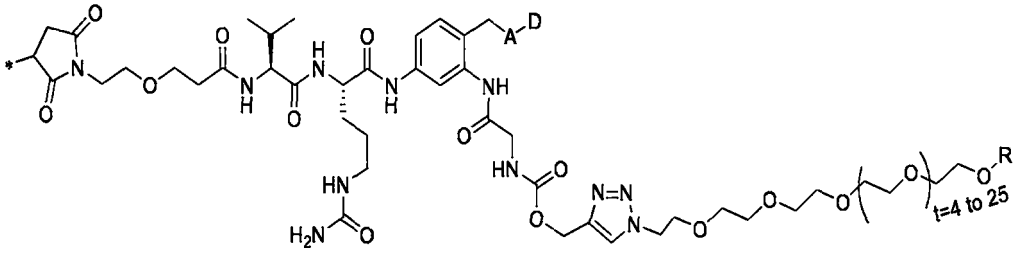
[0342] 在一些实施方案中,接头-药物基团-(L-D)包含下式化合物或由下式化合物形成:

[0343]  其中：

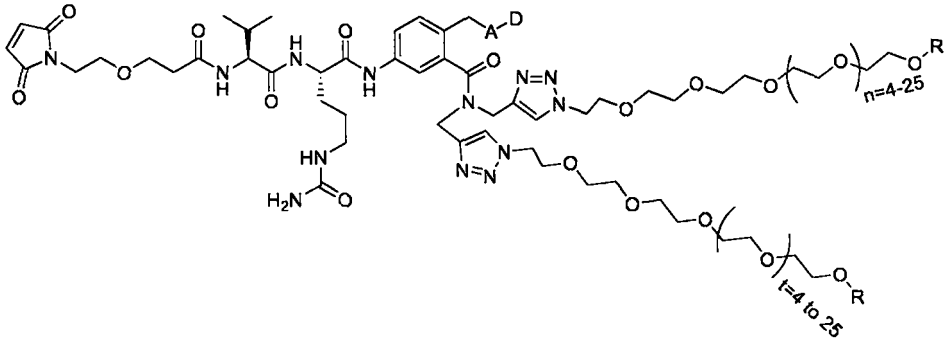
[0344] R是H、-CH_3或-$CH_2CH_2C(=O)OH$；

[0345] A是键、-OC(=O)-*、、、、、-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-*或-OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-*，其中每个R^a独立地选自H、C_1-C_6烷基和C_3-C_8环烷基，A的*表示与D的附接点；以及

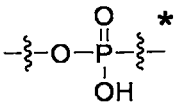
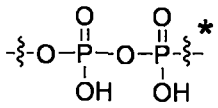
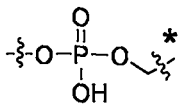
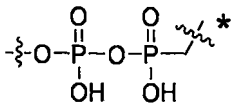
[0346] D是Bcl-xL抑制剂。在一些实施方案中，接头-药物基团-(L-D)包含下式：

 其中：-*是至抗体的键；并且A、D和R如上所定义。在一些实施方案中，A是键或-OC(=O)-*；R是-CH_3或-$CH_2CH_2C(=O)OH$。

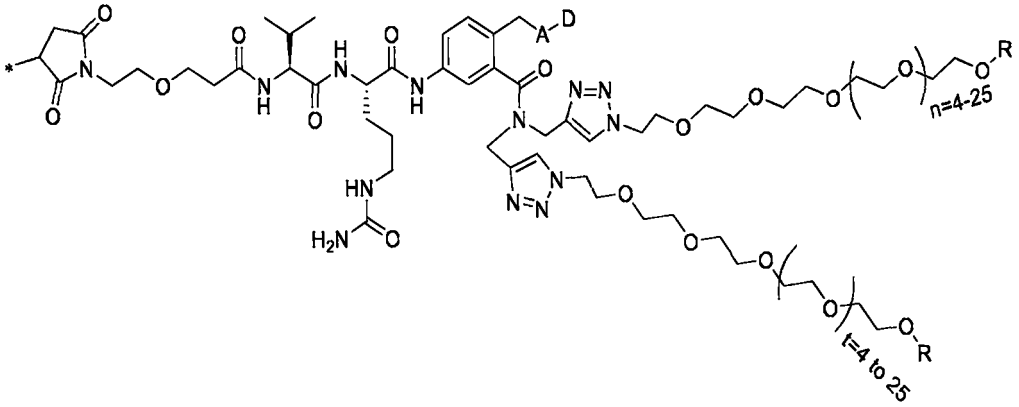
[0347] 在一些实施方案中，接头-药物基团-(L-D)包含下式化合物或由下式化合物形成：

[0348]  其中：

[0349] 每个R独立地选自H、-CH_3和-$CH_2CH_2C(=O)OH$；

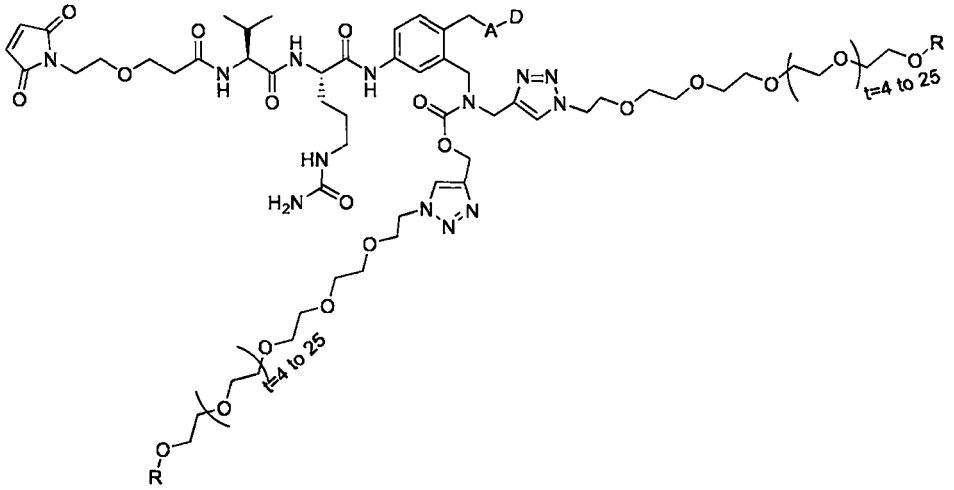
[0350] A是键、-OC(=O)-*、、、、、-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-*或-OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-*，其中每个R^a独立地选自H、C_1-C_6烷基和C_3-C_8环烷基，A的*表示与D的附接点；以及

[0351] D是Bcl-xL抑制剂。在一些实施方案中，接头-药物基团-(L-D)包含下式：

[0352] 

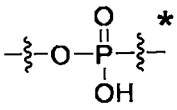
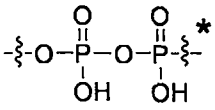
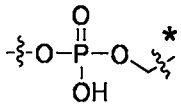
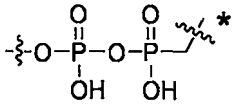
[0353] 其中：-*是至抗体的键；并且A、D和R如上所定义。在一些实施方案中，A是键或-OC(=O)-*；R是-CH_3或-CH_2CH_2C(=O)OH。

[0354] 在一些实施方案中，接头-药物基团-(L-D)包含下式化合物或由下式化合物形成：

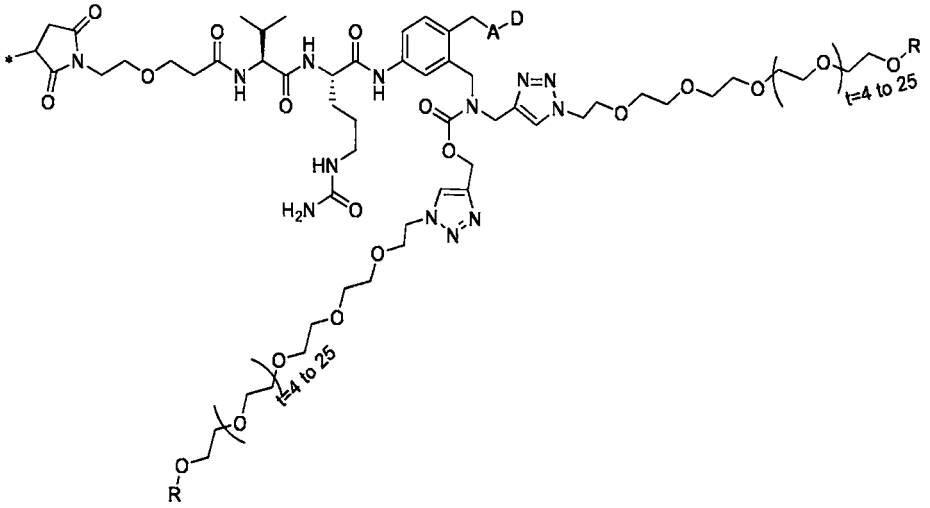
[0355] 

其中：

[0356] 每个R独立地选自H、-CH_3和-CH_2CH_2C(=O)OH；

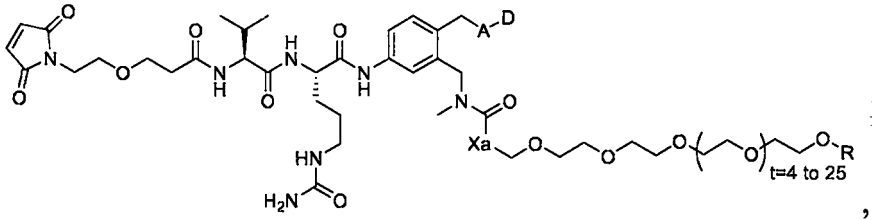
[0357] A是键、-OC(=O)-*、、、、、-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-*或-OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-*，其中每个R^a独立地选自H、C_1-C_6烷基和C_3-C_8环烷基，A的*表示与D的附接点；以及

[0358] D是Bcl-xL抑制剂。在一些实施方案中，接头-药物基团-(L-D)包含下式：

[0359] 

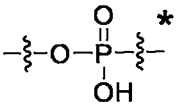
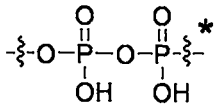
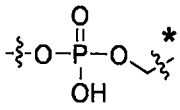
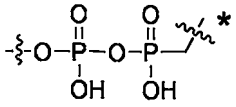
其中:-*是至抗体的键;并且A、D和R如上所定义。在一些实施方案中,A是键或-OC(=O)-*;R是-CH_3或-CH_2CH_2C(=O)OH。

[0360] 在一些实施方案中,接头-药物基团-(L-D)包含下式化合物或由下式化合物形成:

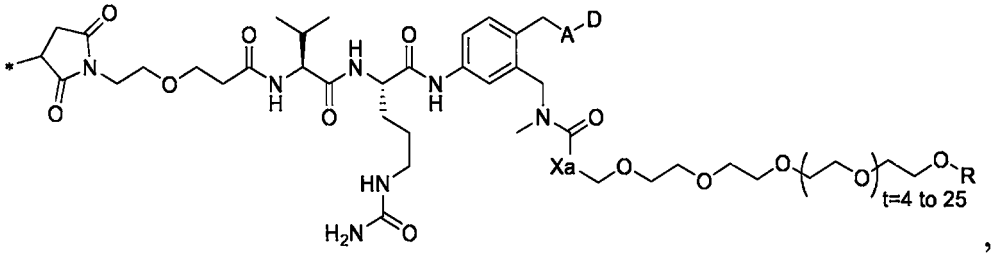
[0361] 

其中:

[0362] Xa是-CH_2-、-OCH_2-、-$NHCH_2$-或-$NRCH_2$-并且每个R独立地是H、-CH_3或-CH_2CH_2C(=O)OH;

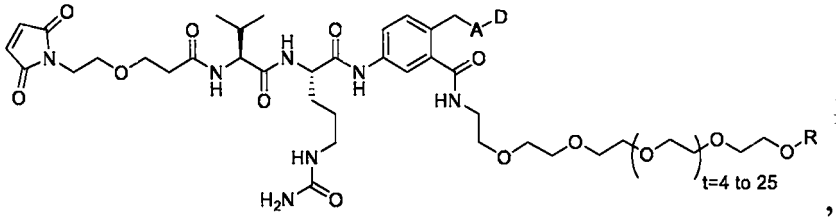
[0363] A是键、-OC(=O)-*、、、、、-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-*或-OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-*,其中每个R^a独立地选自H、C_1-C_6烷基和C_3-C_8环烷基,A的*表示与D的附接点;以及

[0364] D是Bcl-xL抑制剂。在一些实施方案中,接头-药物基团-(L-D)包含下式:

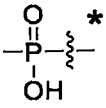
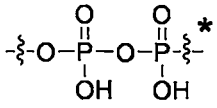
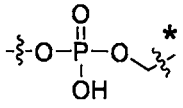
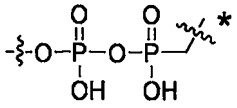
[0365] 

其中:-*是至抗体的键;并且Xa、A、D和R如上所定义。在一些实施方案中,Xa是-CH_2-或-$NHCH_2$-;A是键或-OC(=O)-*;R是-CH_3或-CH_2CH_2C(=O)OH。

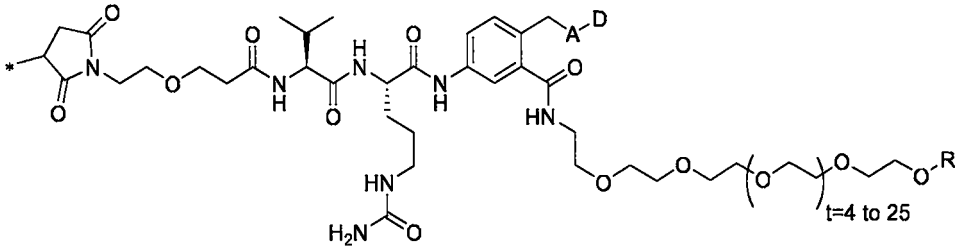
[0366] 在一些实施方案中,接头-药物基团-(L-D)包含下式化合物或由下式化合物形成:

[0367]  其中：

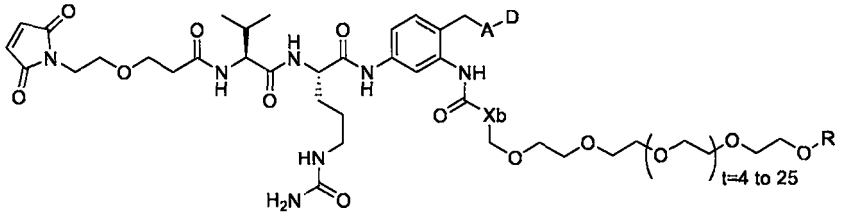
[0368] R是H、-CH_3或-$CH_2CH_2C(=O)OH$；

[0369] A是键、-OC(=O)-*、、、、、-$OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)$-*或-$OC(=O)N(CH_3)C(R^a)_2C(R^a)_2N(CH_3)C(=O)$-*，其中每个$R^a$独立地选自H、$C_1$-$C_6$烷基和$C_3$-$C_8$环烷基，A的*表示与D的附接点；以及

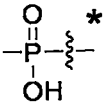
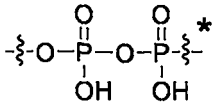
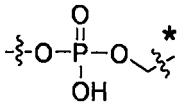
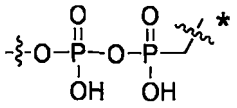
[0370] D是Bcl-xL抑制剂。在一些实施方案中，接头-药物基团-(L-D)包含下式：

[0371]  其中：-*是至抗体的键；并且A、D和R如上所定义。在一些实施方案中，A是键或-OC(=O)-*；R是-CH_3或-$CH_2CH_2C(=O)OH$。

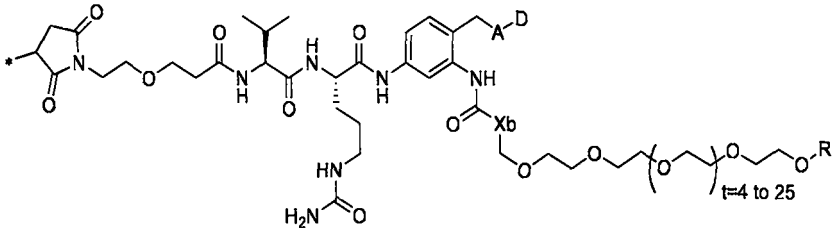
[0372] 在一些实施方案中，接头-药物基团-(L-D)包含下式化合物或由下式化合物形成：

[0373]  其中：

[0374] Xb是-CH_2-、-OCH_2-、-$NHCH_2$-或-$NRCH_2$-并且每个R独立地是H、-CH_3或-$CH_2CH_2C(=O)OH$；

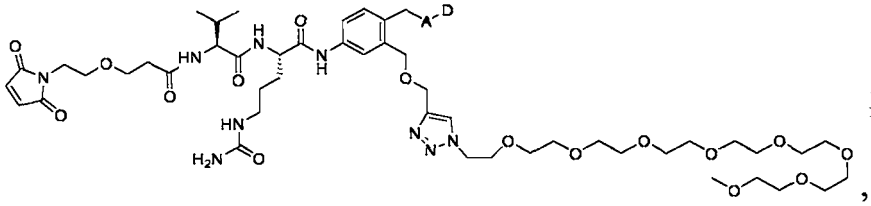
[0375] A是键、-OC(=O)-*、、、、、-$OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)$-*或-$OC(=O)N(CH_3)C(R^a)_2C(R^a)_2N(CH_3)C(=O)$-*，其中每个$R^a$独立地选自H、$C_1$-$C_6$烷基和$C_3$-$C_8$环烷基，A的*表示与D的附接点；以及

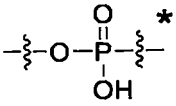
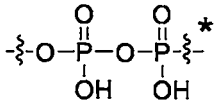
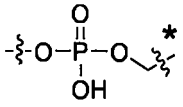
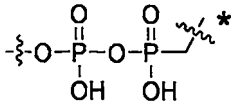
[0376] D是Bcl-xL抑制剂。在一些实施方案中，接头-药物基团-(L-D)包含下式：

[0377] 

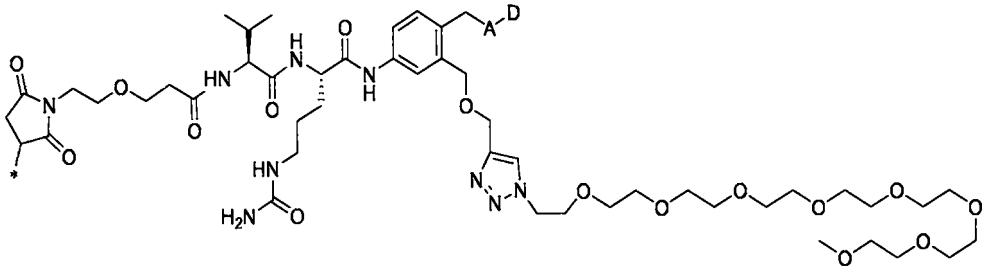
，其中：-*是至抗体的键；并且Xb、A、D和R如上所定义。在一些实施方案中，A是键或-OC(=O)-*；R是-CH_3或-CH_2CH_2C(=O)OH。

[0378] 在一些实施方案中，接头-药物基团-(L-D)包含下式化合物或由下式化合物形成：

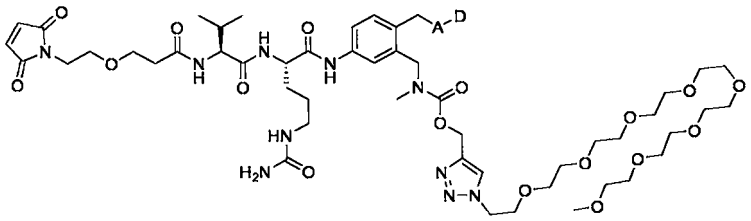
[0379] 
，其中：

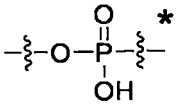
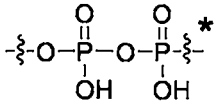
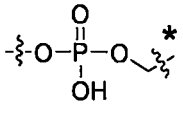
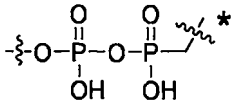
[0380] A是键、-OC(=O)-*、、、、、-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-*或-OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-*，其中每个R^a独立地选自H、C_1-C_6烷基和C_3-C_8环烷基，A的*表示与D的附接点；以及

[0381] D是Bcl-xL抑制剂。在一些实施方案中，接头-药物基团-(L-D)包含下式：

[0382] 
其中：-*是至抗体的键；并且A和如上所定义。在一些实施方案中，A是键或-OC(=O)-*。

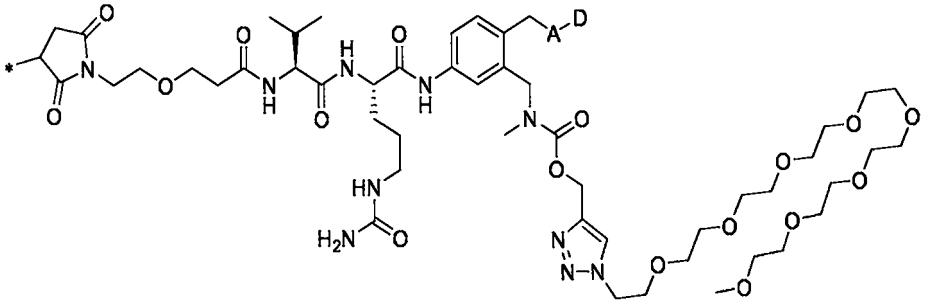
[0383] 在一些实施方案中，接头-药物基团-(L-D)包含下式化合物或由下式化合物形成：

[0384] 
其中：

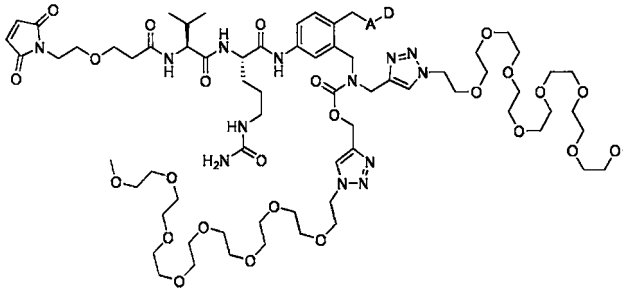
[0385] A是键、-OC(=O)-*、、、、、-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-*或-OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-*，其中每个R^a独立地选自H、C_1-C_6烷基和C_3-C_8环烷基，A的*表示与D的附

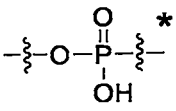
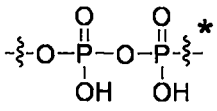
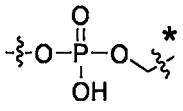
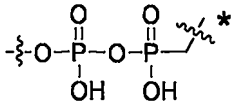
接点;以及

[0386] D是Bcl-xL抑制剂。在一些实施方案中,接头-药物基团-(L-D)包含下式:

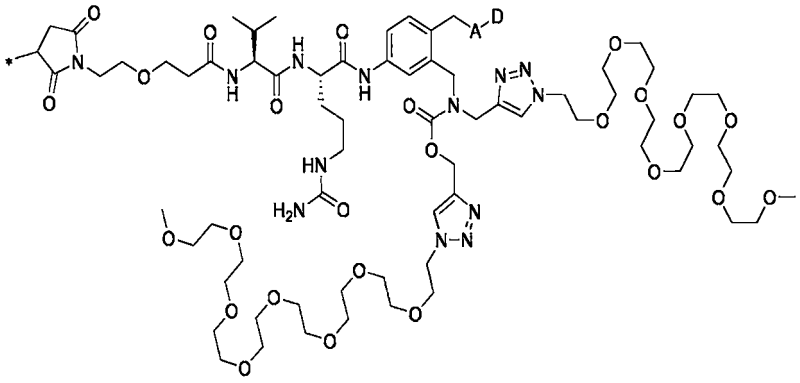
[0387]  其中:-*是至抗体的键;并且A和D如上所定义。在一些实施方案中,A是键或-OC(=O)-*。

[0388] 在一些实施方案中,接头-药物基团-(L-D)包含下式化合物或由下式化合物形成:

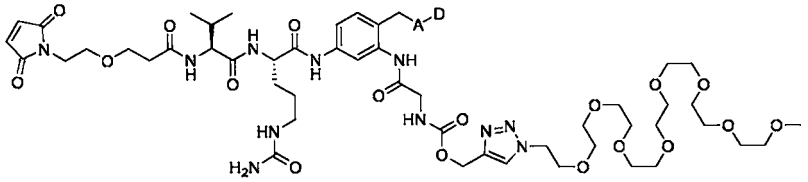
[0389]  其中:

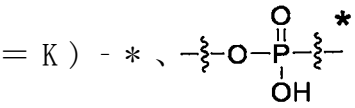
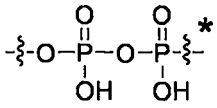
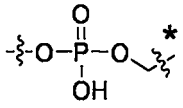
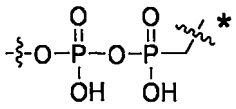
[0390] A是键、-OC(=O)-*、、、、、-OC(=O)N(CH$_3$)CH$_2$CH$_2$N(CH$_3$)C(=O)-*或-OC(=O)N(CH$_3$)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH$_3$)C(=O)-*,其中每个R^{a}独立地选自H、C$_1$-C$_6$烷基和C$_3$-C$_8$环烷基,A的*表示与D的附接点;以及

[0391] D是Bcl-xL抑制剂-在一些实施方案中,接头-药物基团-(L-D)包含下式:

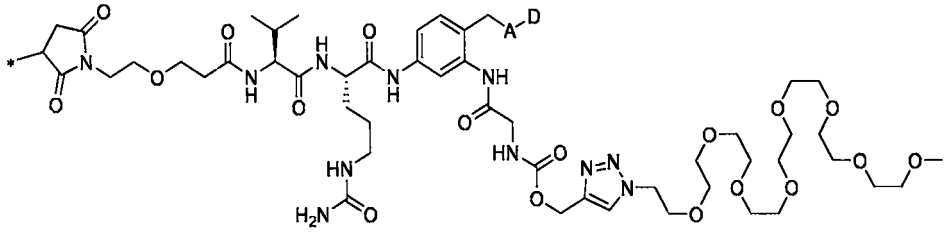
[0392]  其中:-*是至抗体的键;并且A和D如上所定义。在一些实施方案中,A是键或-OC(=O)-*。

[0393] 在一些实施方案中,接头-药物基团-(L-D)包含下式化合物或由下式化合物形成:

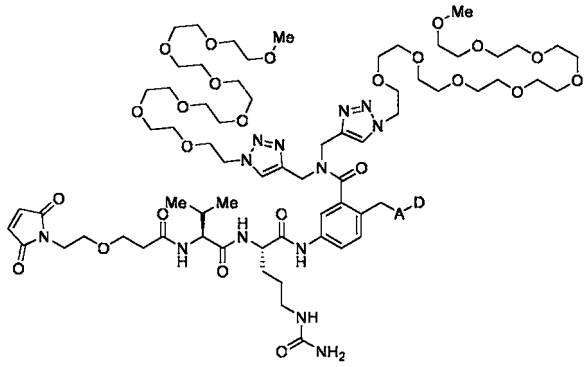
[0394]  其中:

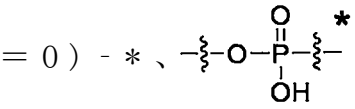
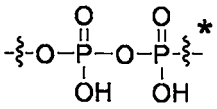
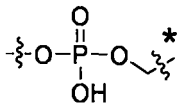
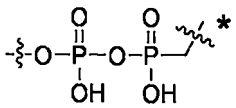
[0395] A是键、-OC(=K)-*、、、、、-OC(=O)N(CH$_3$)CH$_2$CH$_2$N(CH$_3$)C(=O)-*或-OC(=O)N(CH$_3$)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH$_3$)C(=O)-*,其中每个R^{a}独立地选自H、C$_1$-C$_6$烷基和C$_3$-C$_8$环烷基,A的*表示与D的附接点;以及

[0396] D是Bcl-xL抑制剂。在一些实施方案中,接头-药物基团-(L-D)包含下式:

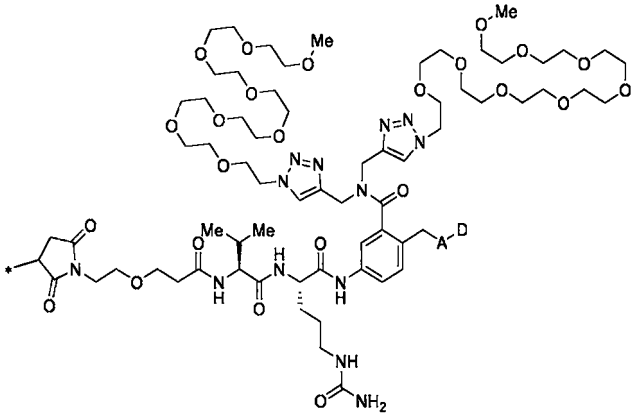
[0397] ,其中:-*是至抗体的键;并且A和D如上所定义。在一些实施方案中,A是键或-OC(=O)-*。

[0398] 在一些实施方案中,接头-药物基团-(L-D)包含下式化合物或由下式化合物形成:

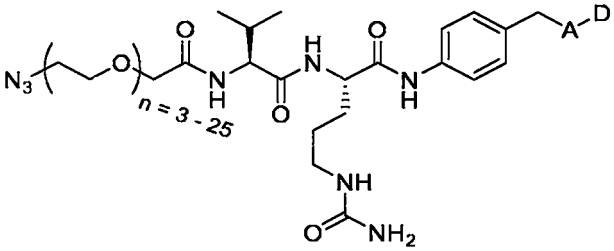
[0399] ,其中:

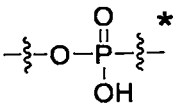
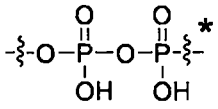
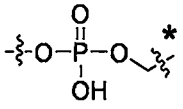
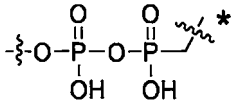
[0400] A是键、-OC(=O)-*、、、、、-OC(=O)N(CH$_3$)CH$_2$CH$_2$N(CH$_3$)C(=O)-*或-OC(=O)N(CH$_3$)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH$_3$)C(=O)-*,其中每个R^{a}独立地选自H、C$_1$-C$_6$烷基和C$_3$-C$_8$环烷基,A的*表示与D的附接点;以及

[0401] D是Bcl-xL抑制剂。在一些实施方案中,接头-药物基团-(L-D)包含下式:

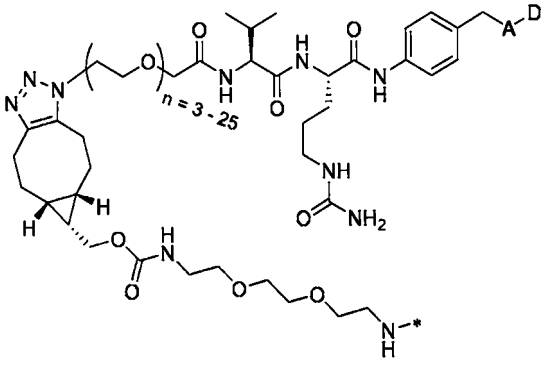
[0402]  其中：-*是至抗体的键；并且A和D如上所定义。在一些实施方案中，A是键或-OC(=O)-*。

[0403] 在一些实施方案中，接头-药物基团-(L-D)包含下式化合物或由下式化合物形成：

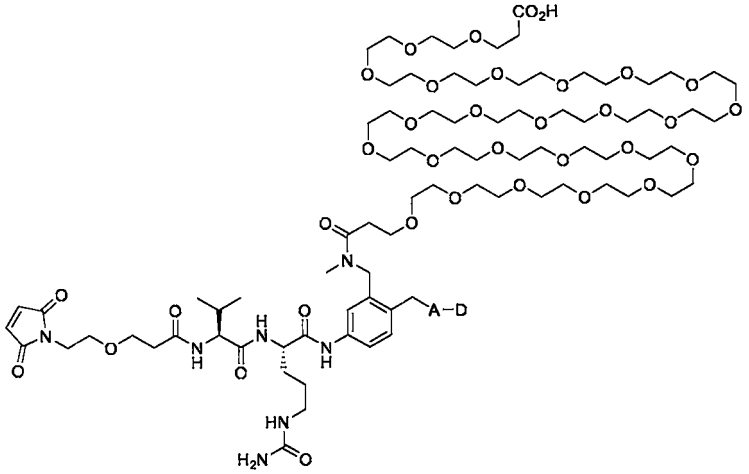
[0404]  其中：

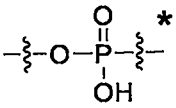
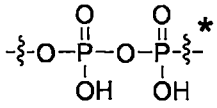
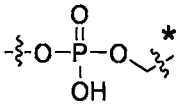
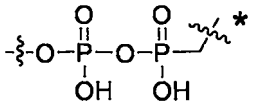
[0405] A是键、-OC(=O)-*、、、、、-OC(=O)N(CH$_3$)CH$_2$CH$_2$N(CH$_3$)C(=O)-*或-OC(=O)N(CH$_3$)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH$_3$)C(=O)-*，其中每个R^{a}独立地选自H、C$_1$-C$_6$烷基和C$_3$-C$_8$环烷基，A的*表示与D的附接点；以及

[0406] D是Bcl-xL抑制剂。在一些实施方案中，接头-药物基团-(L-D)包含下式：

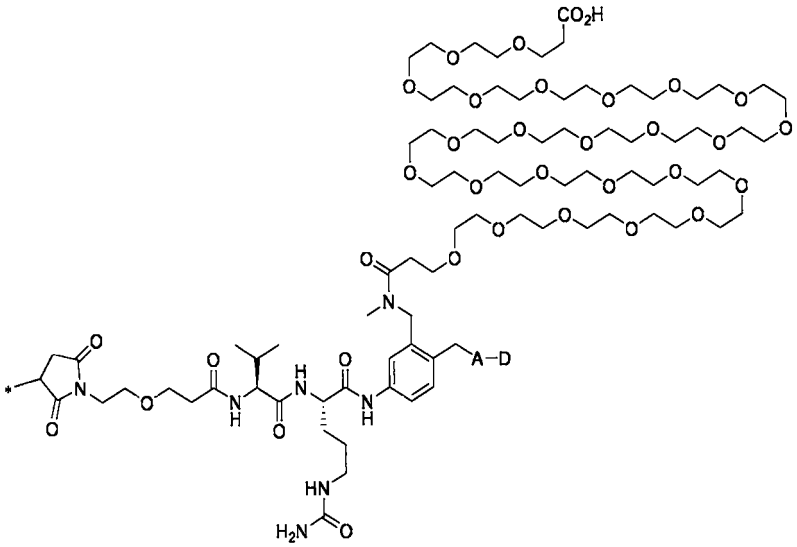
[0407]  其中：-*是至抗体的键；并且A和D如上所定义。在一些实施方案中，A是键或-OC(=O)-*。

[0408] 在一些实施方案中，接头-药物基团-(L-D)包含下式化合物或由下式化合物形成：

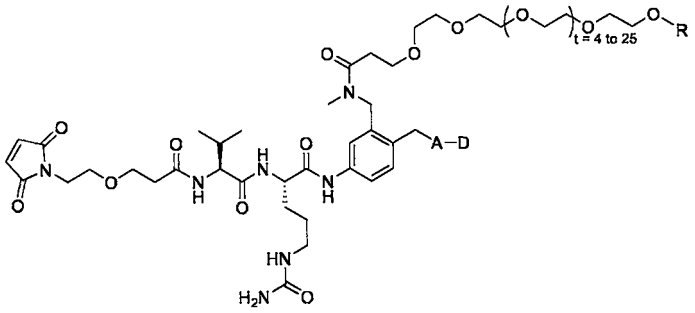
[0409]  其中：

[0410] A是键、-OC(=O)-*、、、、、-OC(=O)N(CH$_3$)CH$_2$CH$_2$N(CH$_3$)C(=O)-*或-OC(=O)N(CH$_3$)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH$_3$)C(=O)-*，其中每个R^{a}独立地选自H、C$_1$-C$_6$烷基和C$_3$-C$_8$环烷基，A的*表示与D的附接点；以及

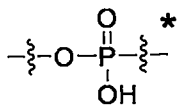
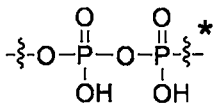
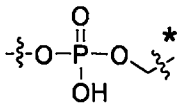
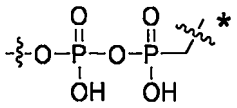
[0411] D是Bcl-xL抑制剂。在一些实施方案中，接头-药物基团-(L-D)包含下式：

[0412]  其中：-*是至抗体的键；并且A和D如上所定义。在一些实施方案中，A是键或-OC(=O)-*。

[0413] 在一些实施方案中，接头-药物基团-(L-D)包含下式化合物或由下式化合物形成：

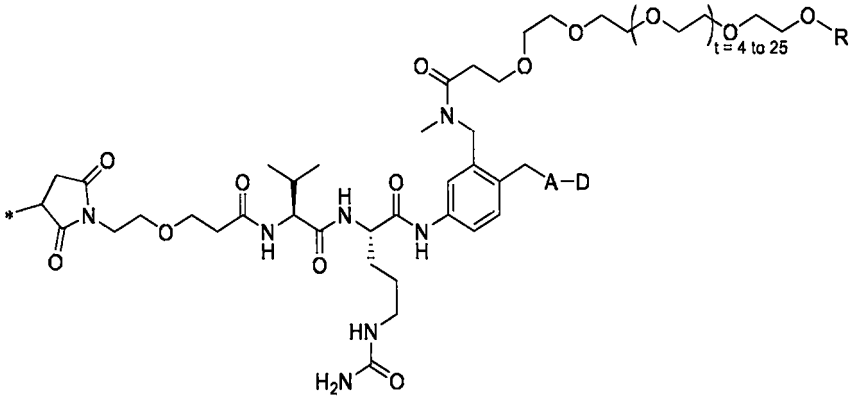
[0414]  其中：

[0415] 每个R独立地是H、-CH_3或-$CH_2CH_2C(=O)OH$；

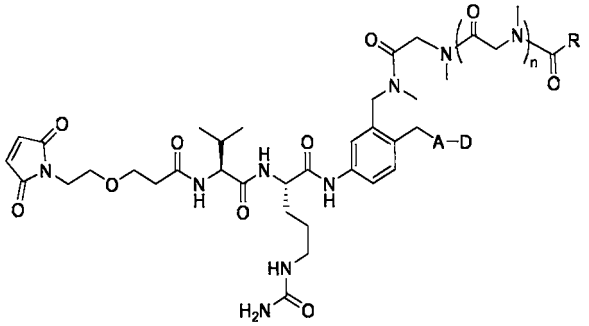
[0416] A是键、-OC(=O)-*、、、、、-$OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)$-*或-$OC(=O)N(CH_3)C(R^a)_2C(R^a)_2N(CH_3)C(=O)$-*、

[0417] 其中每个R^a独立地选自H、C_1-C_6烷基和C_3-C_8环烷基，A的*表示与D的附接点；以及

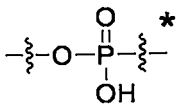
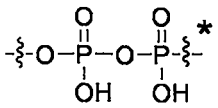
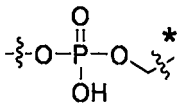
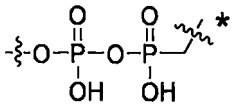
[0418] D是Bcl-xL抑制剂。在一些实施方案中，接头-药物基团-(L-D)包含下式：

[0419] ，其中：-*是至抗体的键；并且A、D和R如上所定义。在一些实施方案中，A是键或-OC(=O)-*；R是-CH_3或-$CH_2CH_2C(=O)OH$。

[0420] 在一些实施方案中，接头-药物基团-(L-D)包含下式化合物或由下式化合物形成：

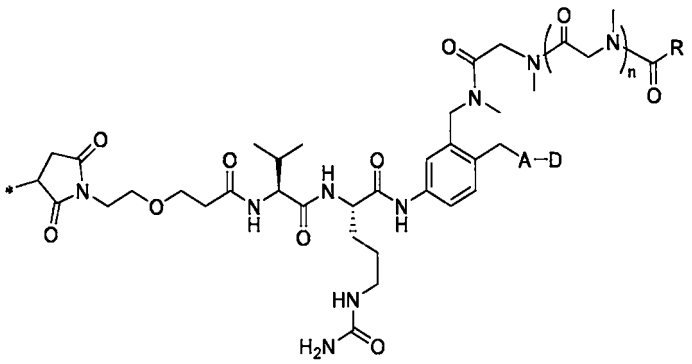
[0421] ，其中：

[0422] 每个R独立地是H、-CH_3或-$CH_2CH_2C(=O)OH$；

[0423] A是键、-OC(=O)-*、、、、、-$OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)$-*或-$OC(=O)N(CH_3)C(R^a)_2C(R^a)_2N(CH_3)C(=O)$-*、

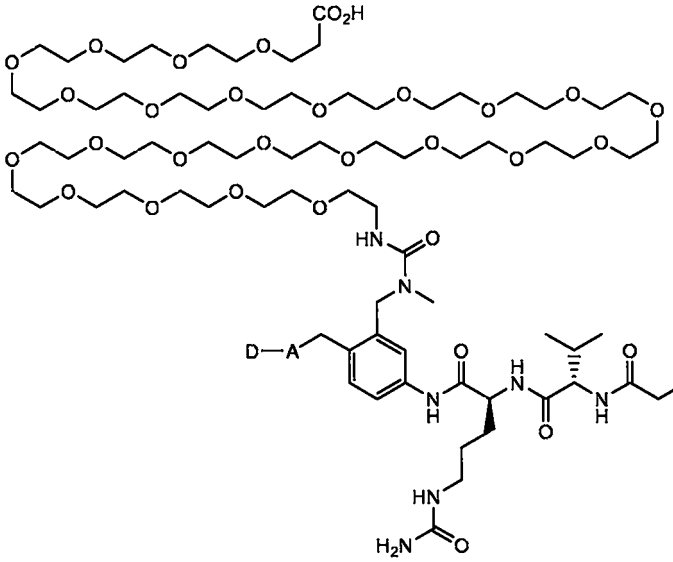
[0424] 其中每个R^a独立地选自H、C_1-C_6烷基和C_3-C_8环烷基，A的*表示与D的附接点；以及

[0425] D是Bcl-xL抑制剂。在一些实施方案中，接头-药物基团-(L-D)包含下式：

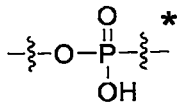
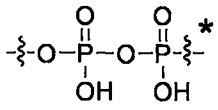
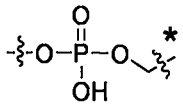
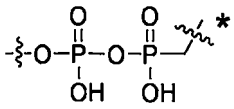
[0426] 

其中:-*是至抗体的键;并且A、D和R如上所定义。在一些实施方案中,A是键或-OC(=O)-*;R是-CH_3或-CH_2CH_2C(=O)OH。

[0427] 在一些实施方案中,接头-药物基团-(L-D)包含下式化合物或由下式化合物形成:



[0428] 其中:

[0429] A是键、-OC(=O)-*、、、、-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-*或-OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-*、

[0430] 其中每个R^a独立地选自H、C_1-C_6烷基和C_3-C_8环烷基,A的*表示与D的附接点;以及

[0431] D是Bcl-xL抑制剂。

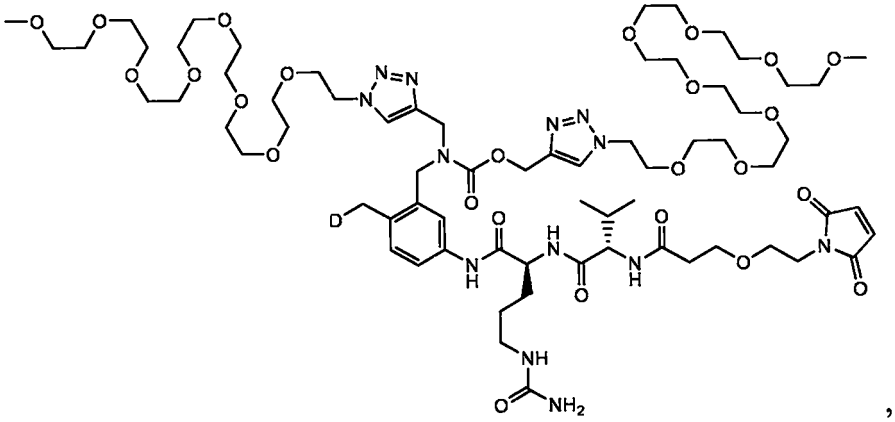
[0432] 在一些实施方案中,A是键。

[0433] 在一些实施方案中,A是-OC(=O)-*。

[0434] 在一些实施方案中,R是-CH_3。

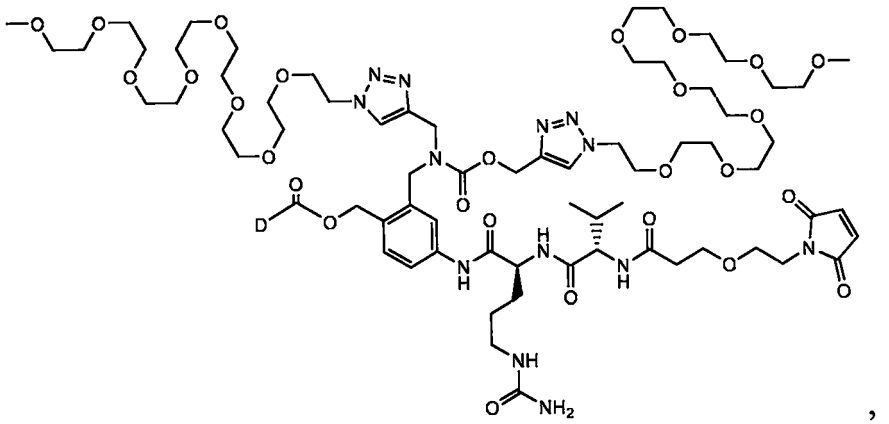
[0435] 在一些实施方案中,R是-CH_2CH_2COOH。

[0436] 在一些实施方案中,抗体-药物缀合物包含接头-药物基团-(L-D),其由选自以下的化合物形成:

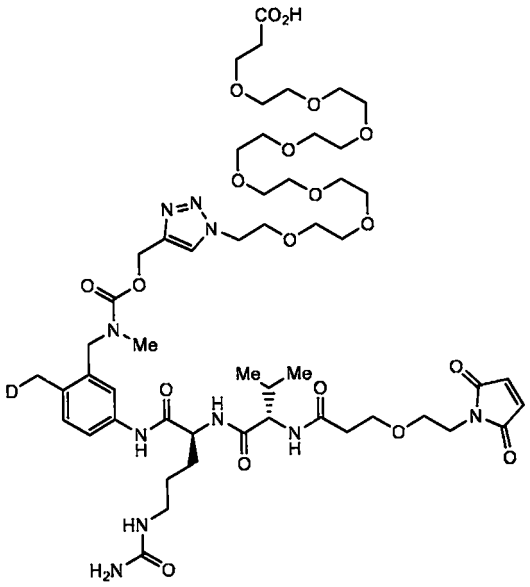


,

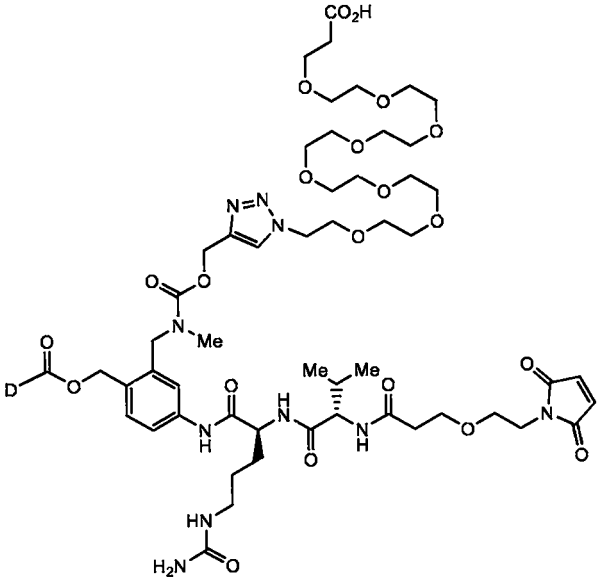
[0437]



,

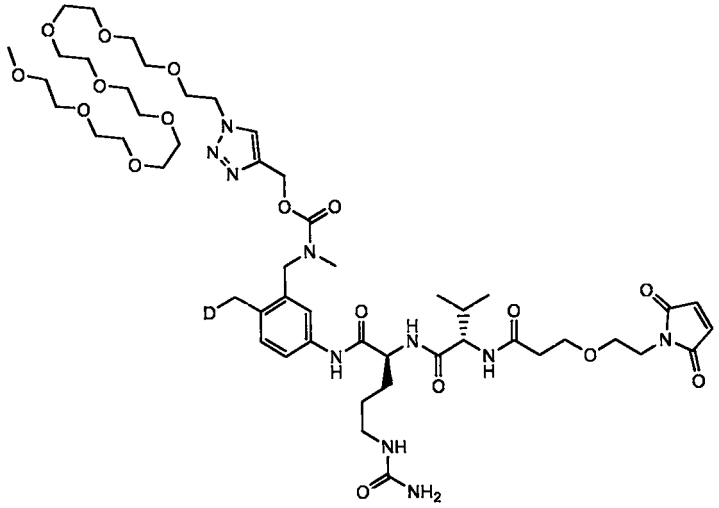


,

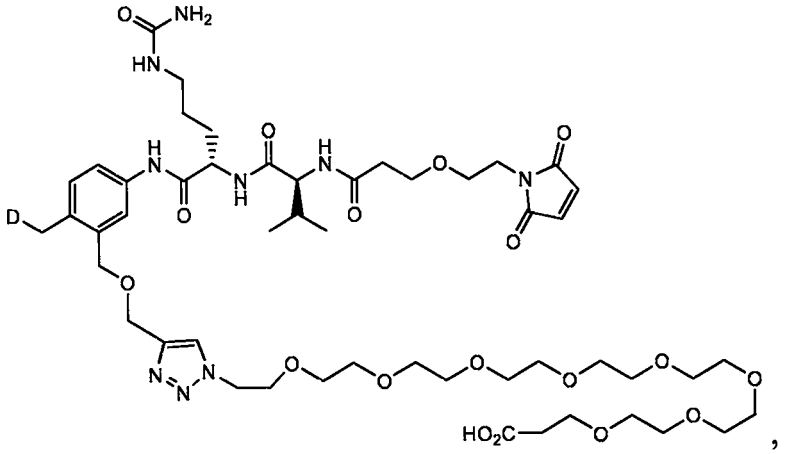


,

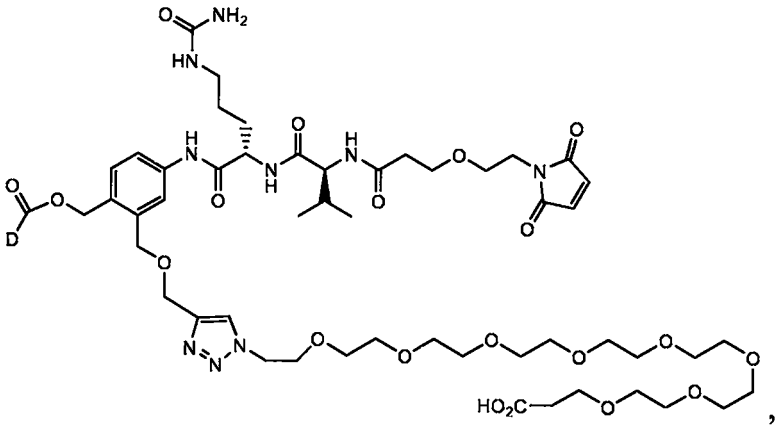
[0438]



,

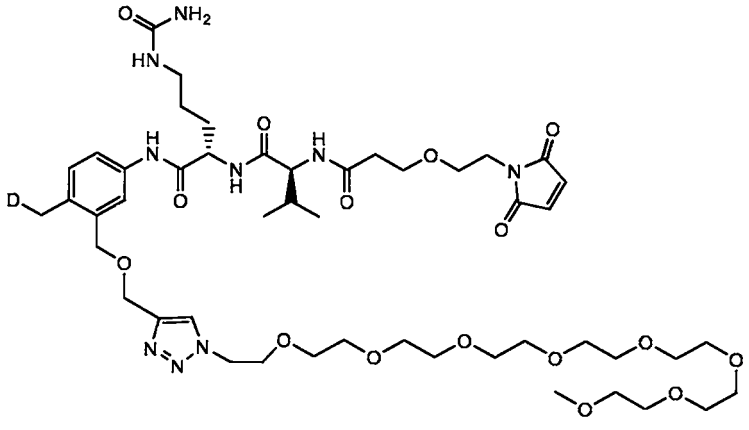


,

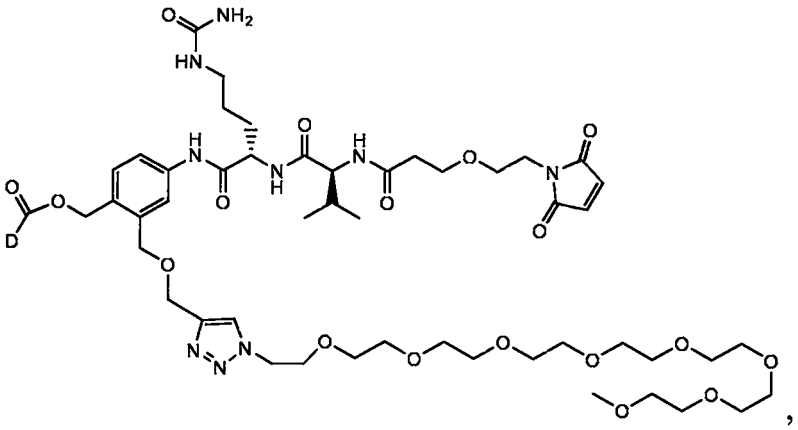


,

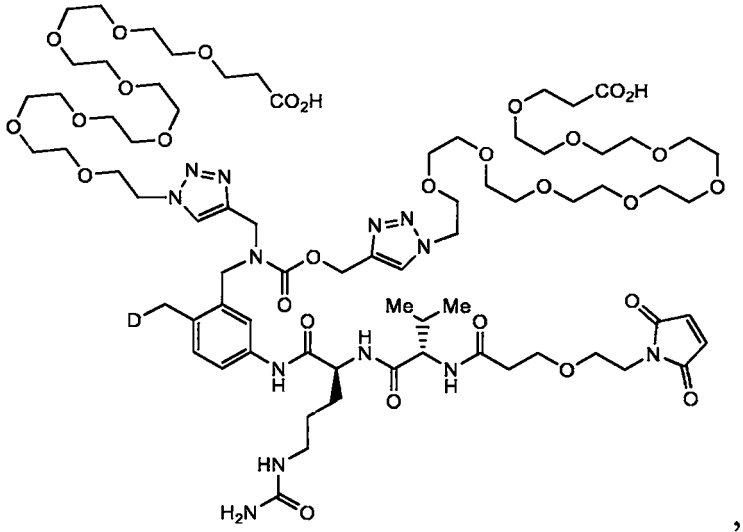
[0439]



,

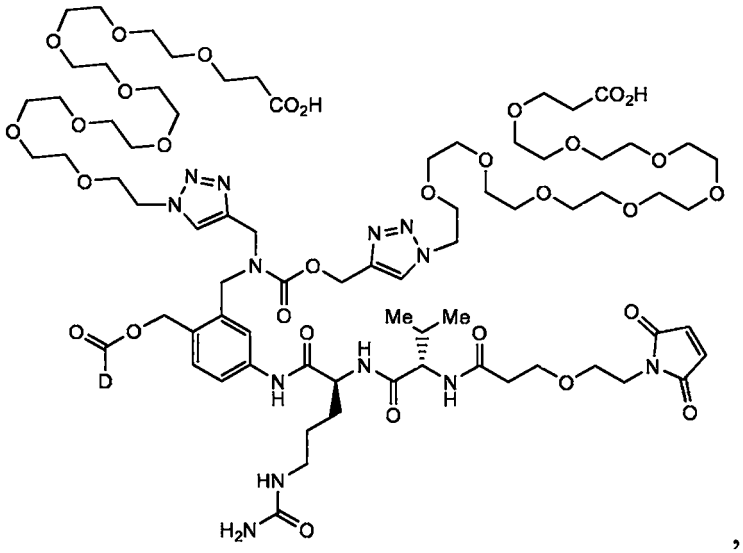


,

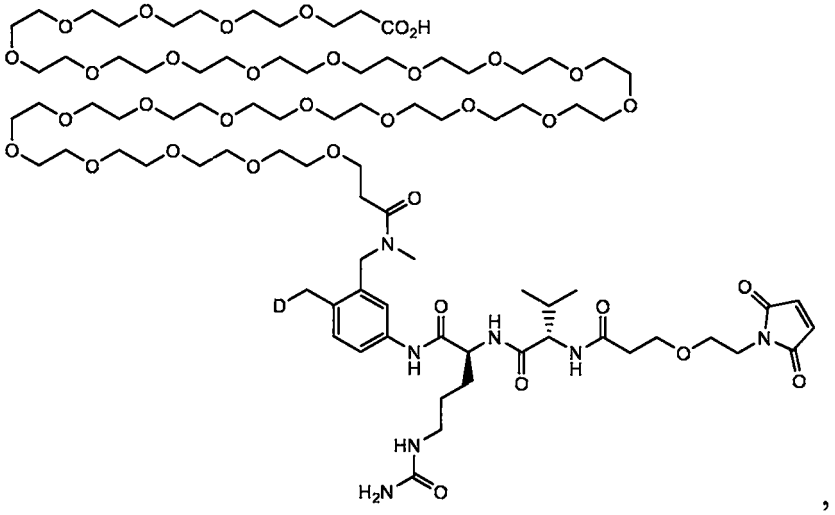


,

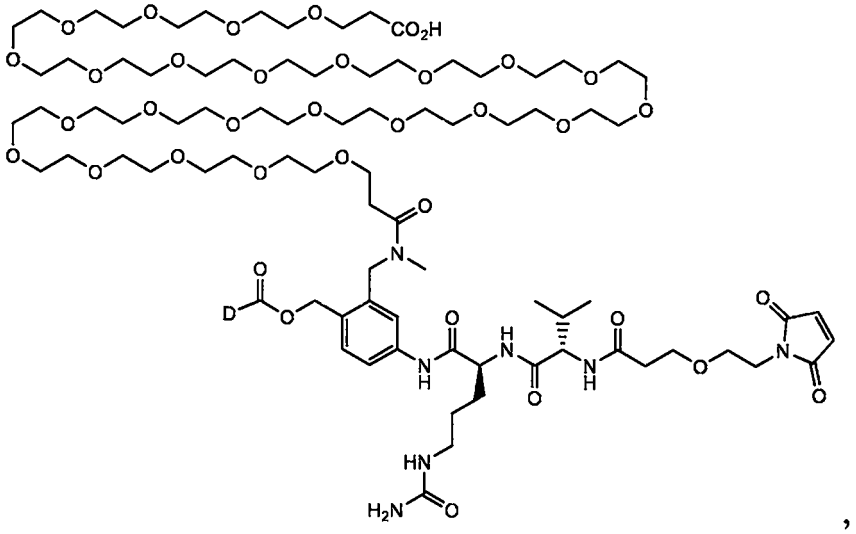
[0440]



,

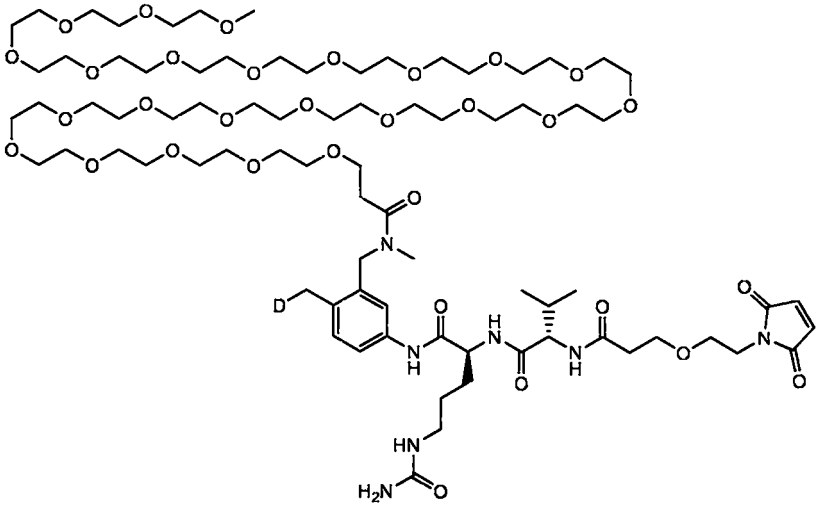


,

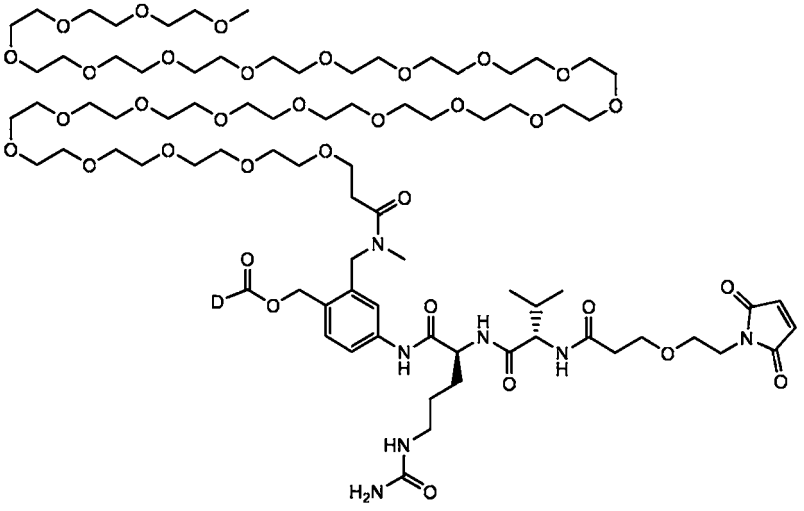


,

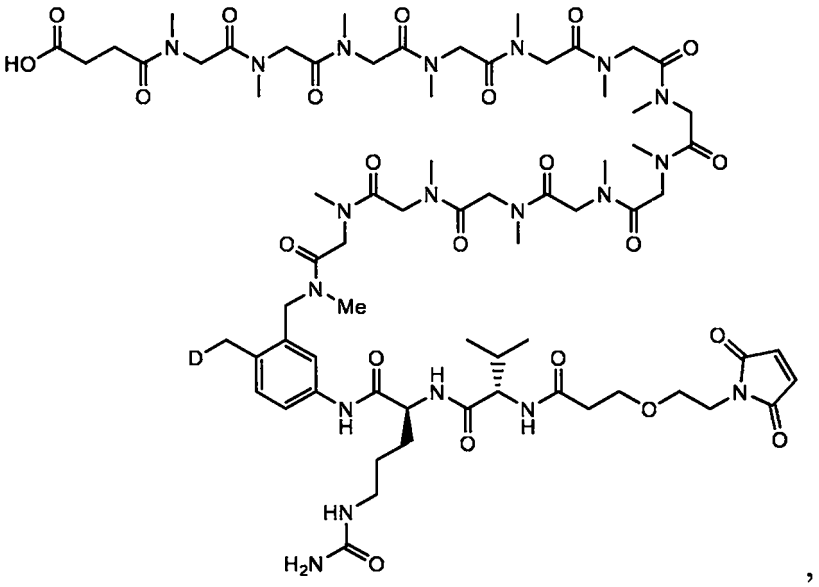
[0441]

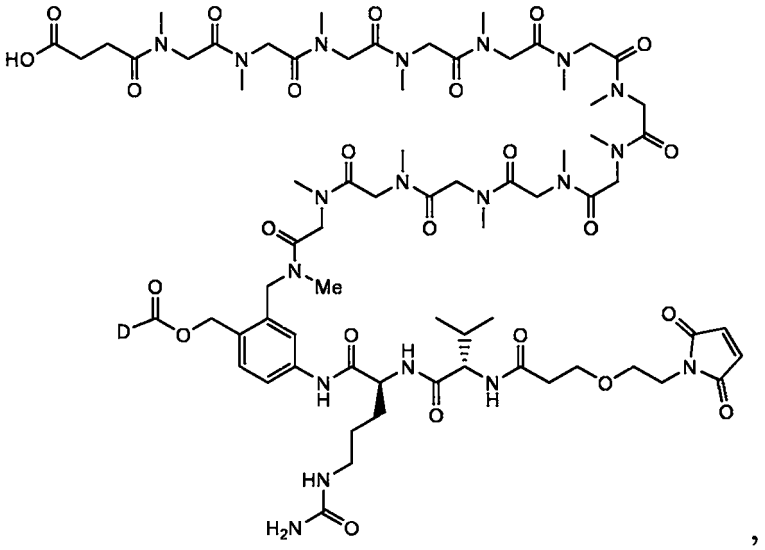


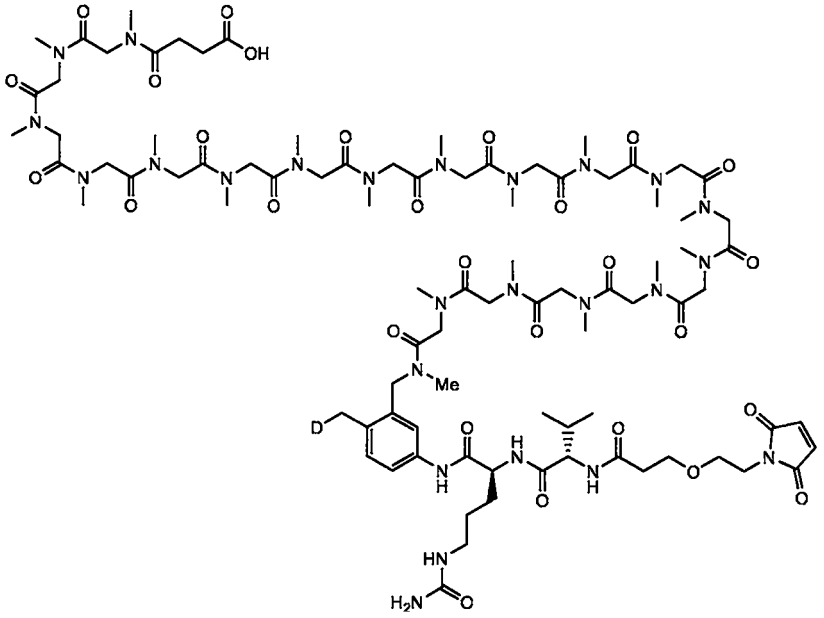
,



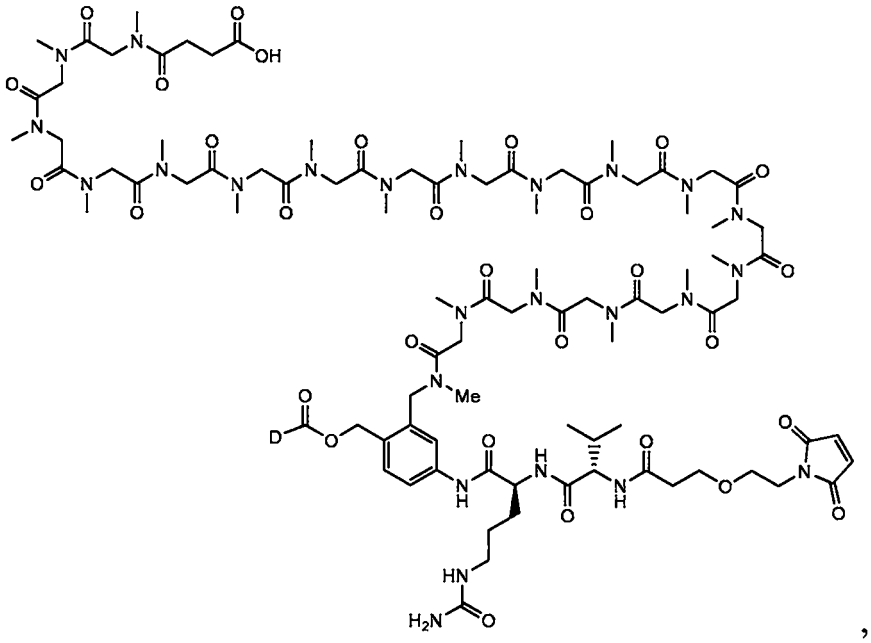
,

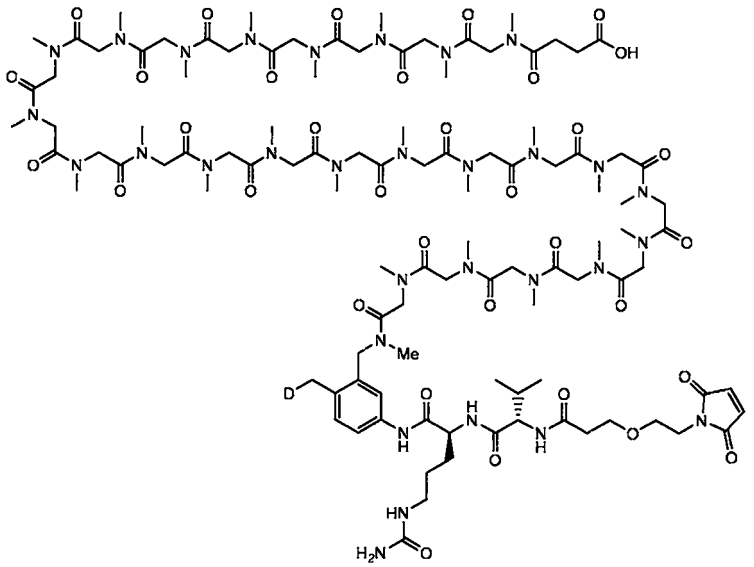
[0442] 
,


,

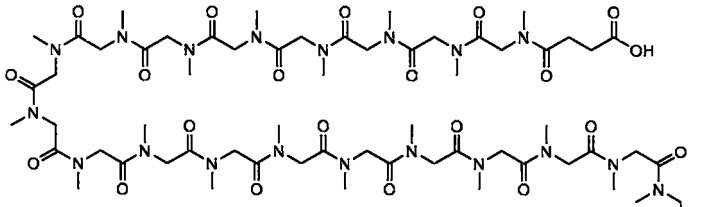


[0443]

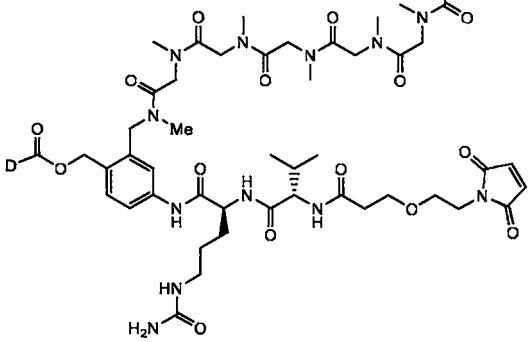




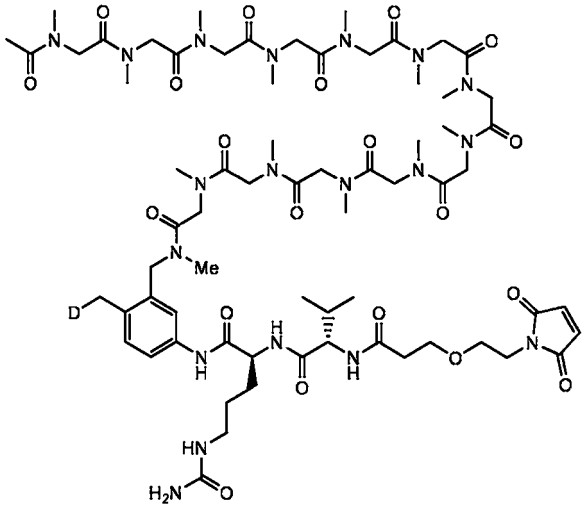
,



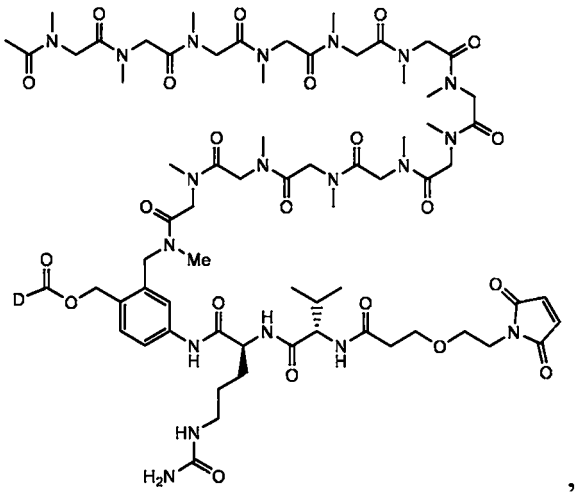
[0444]



,

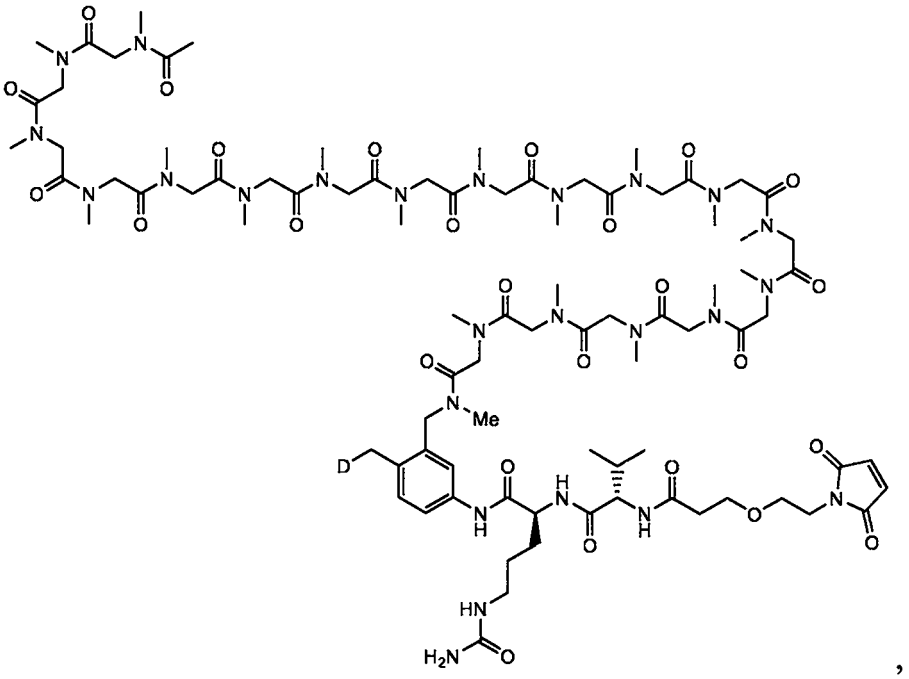


,

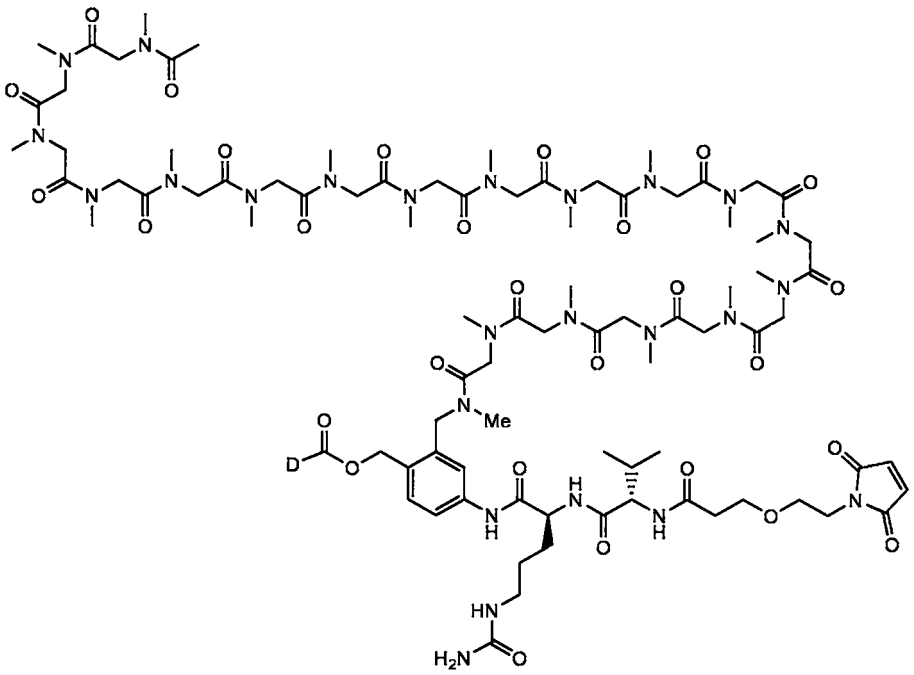


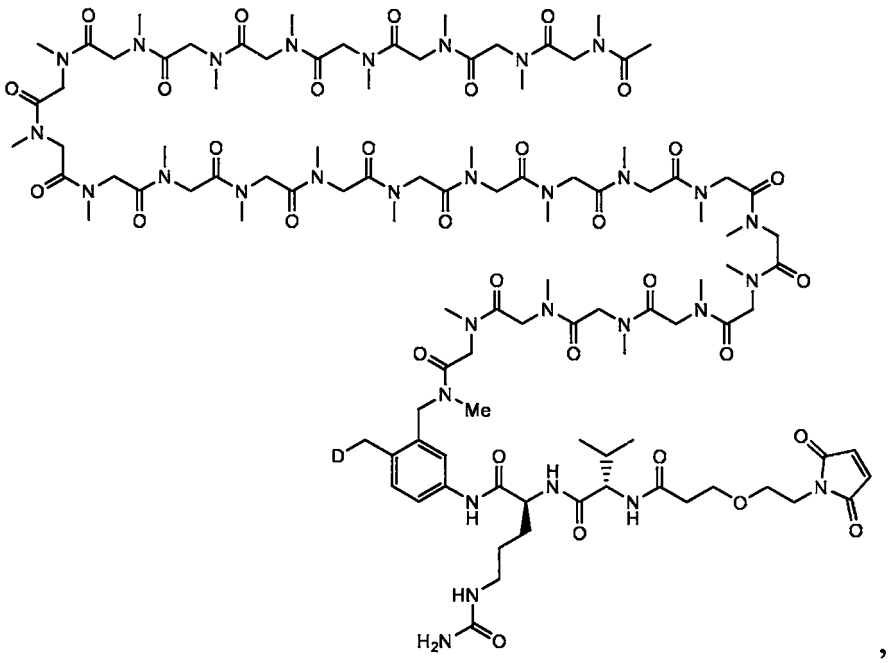
,

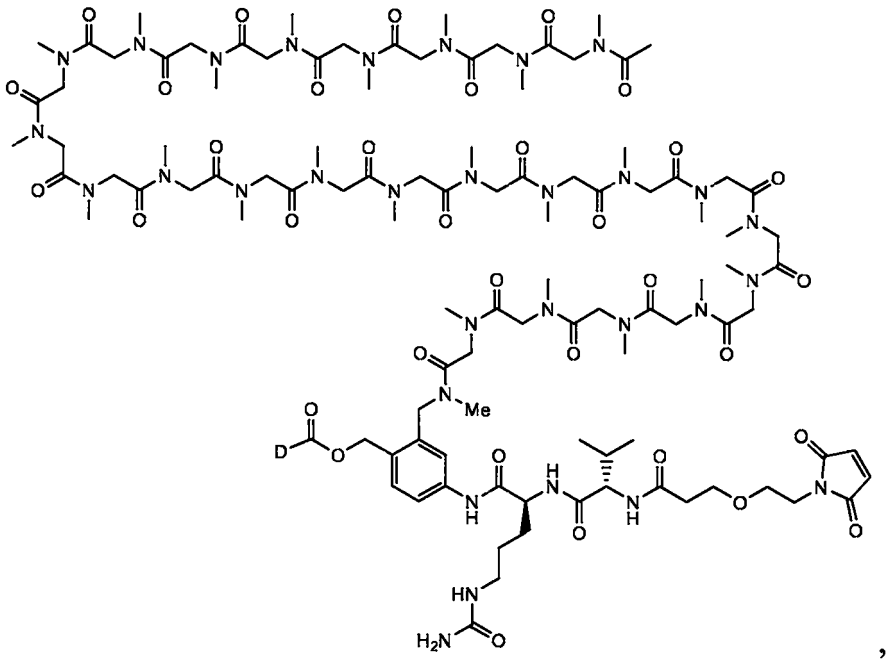
[0445]

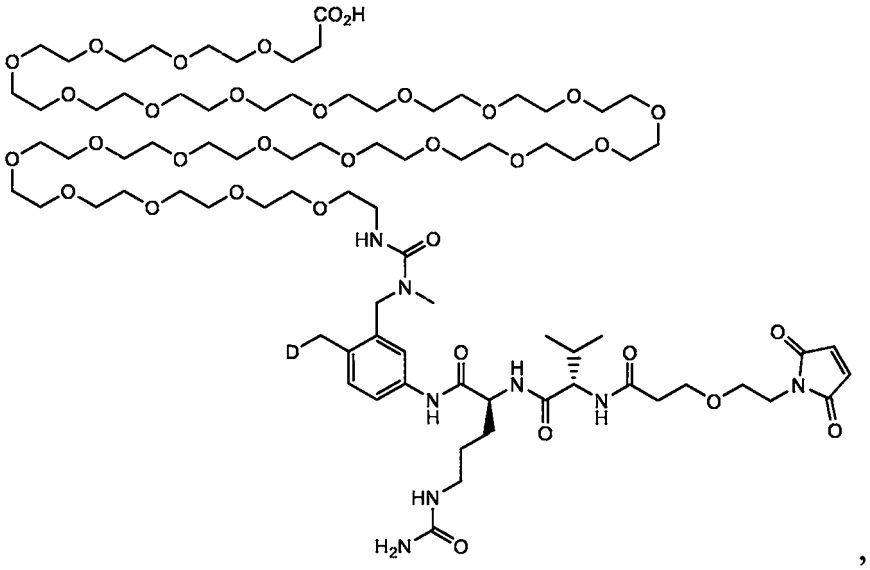


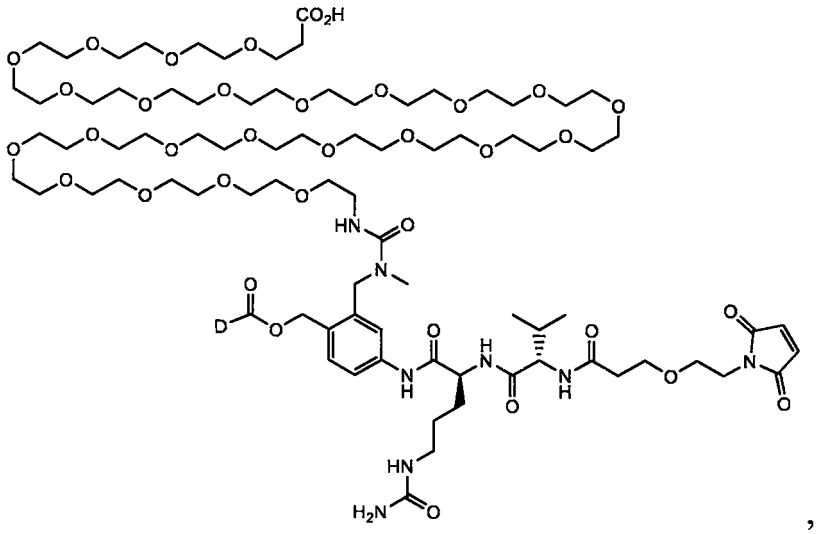
,

[0446] 
,


,

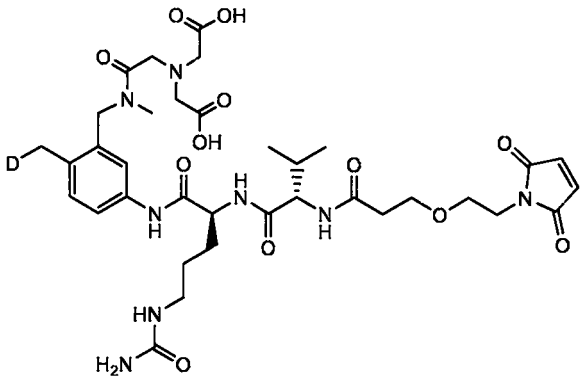
[0447] 
,


,

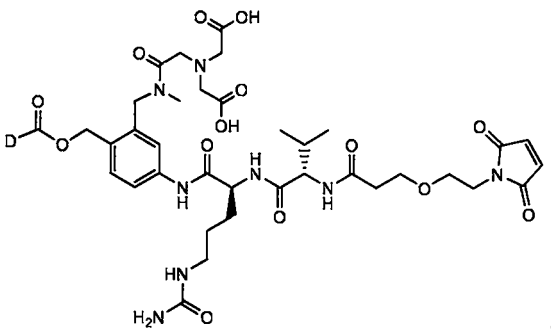


,

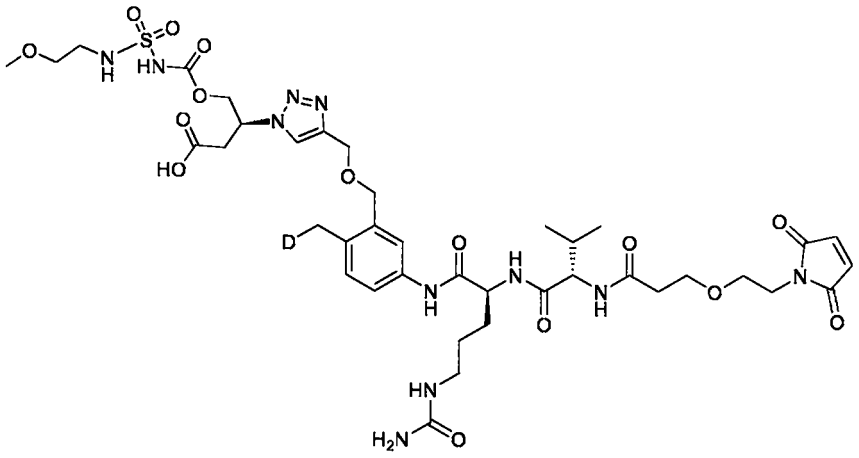
[0448]



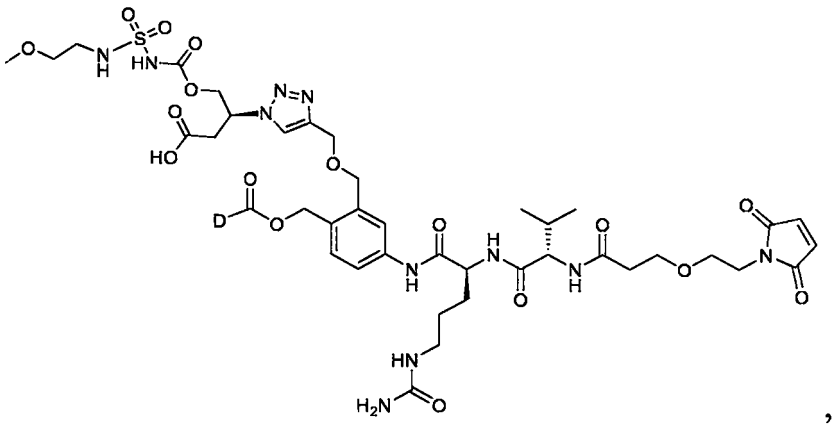
,



,

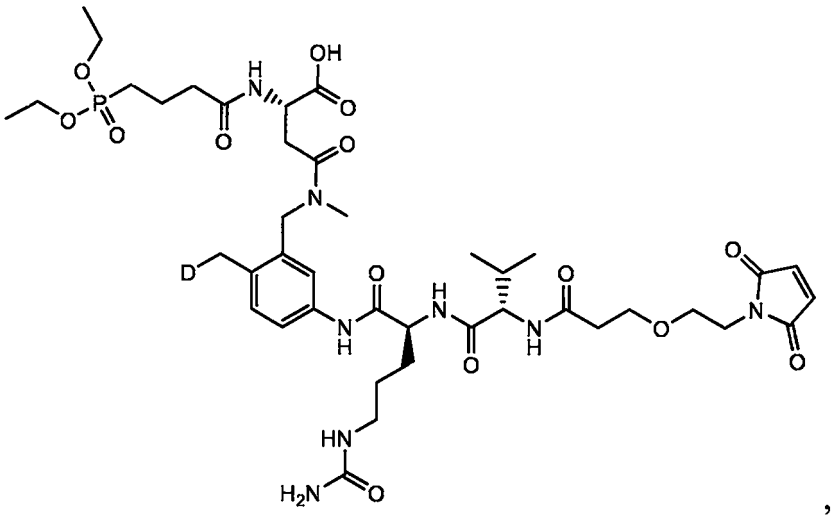


,

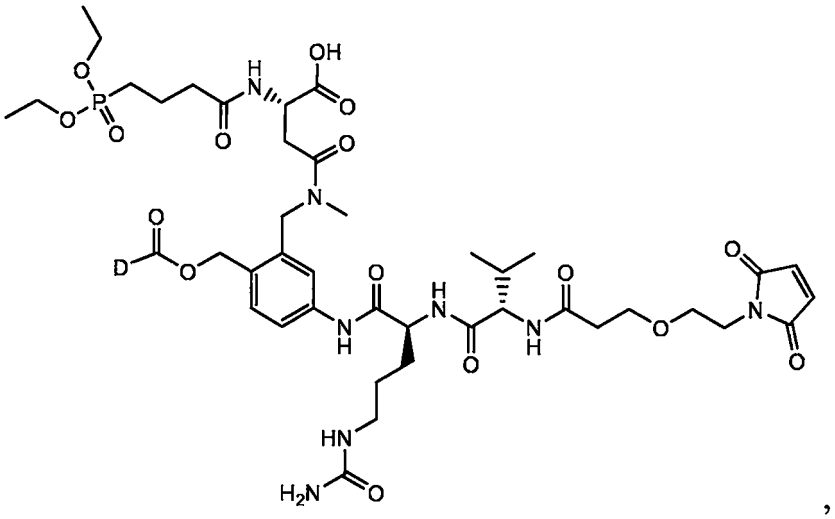


,

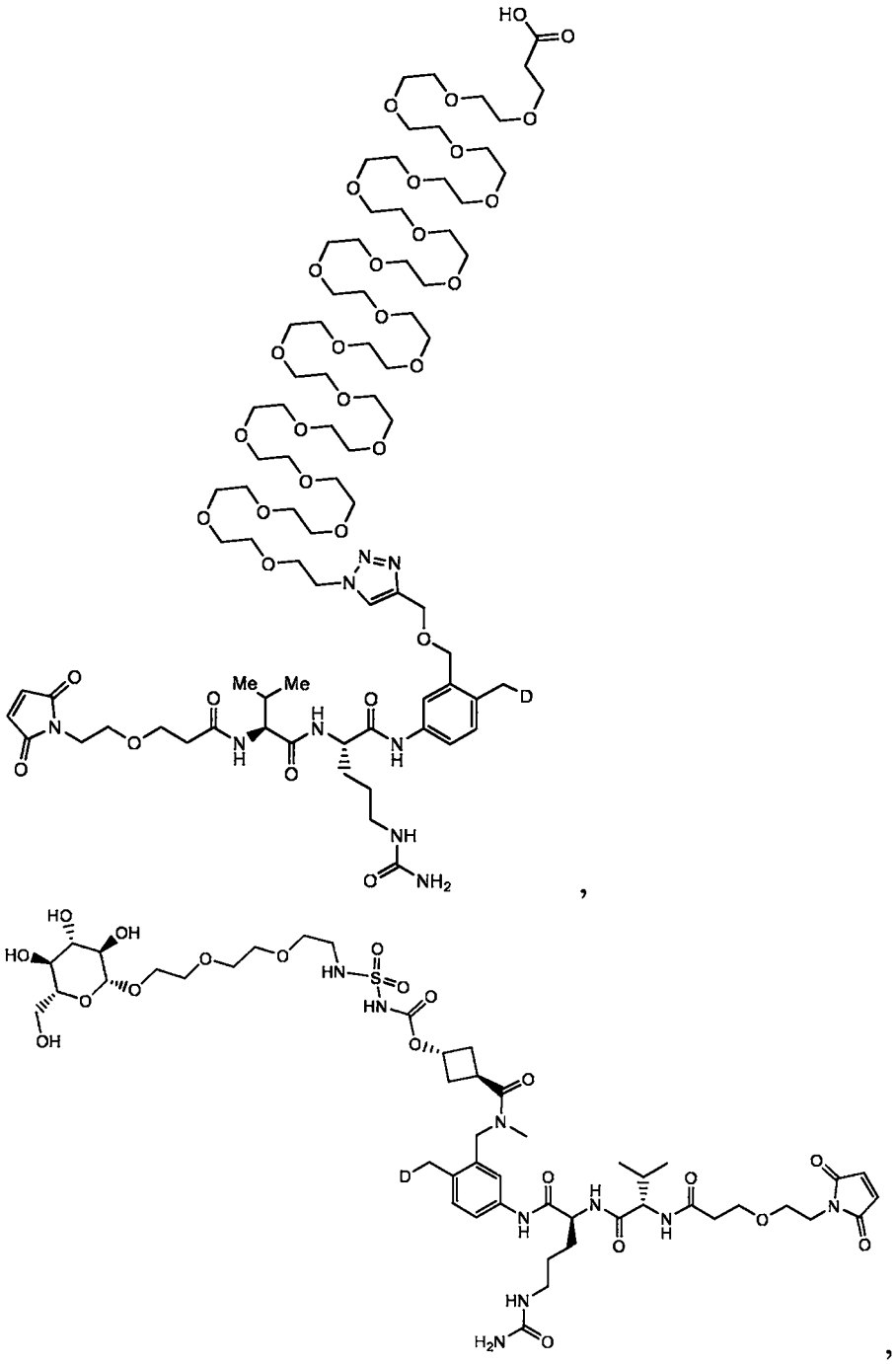
[0449]

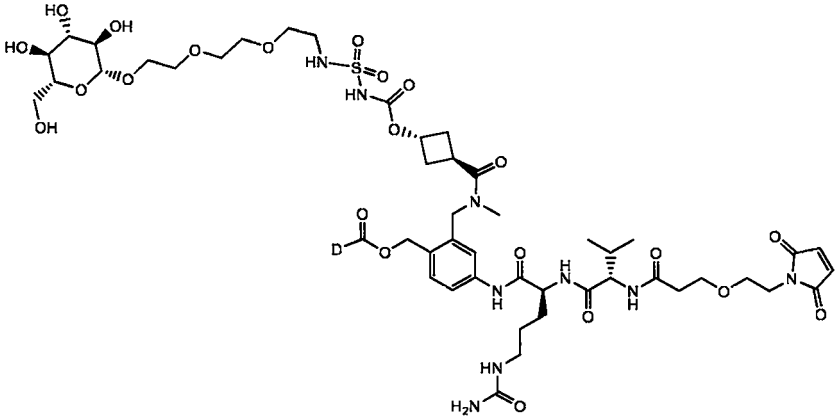


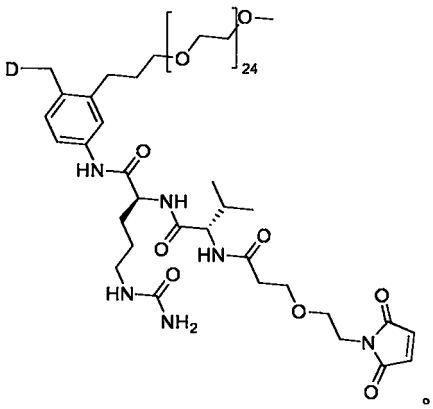
,



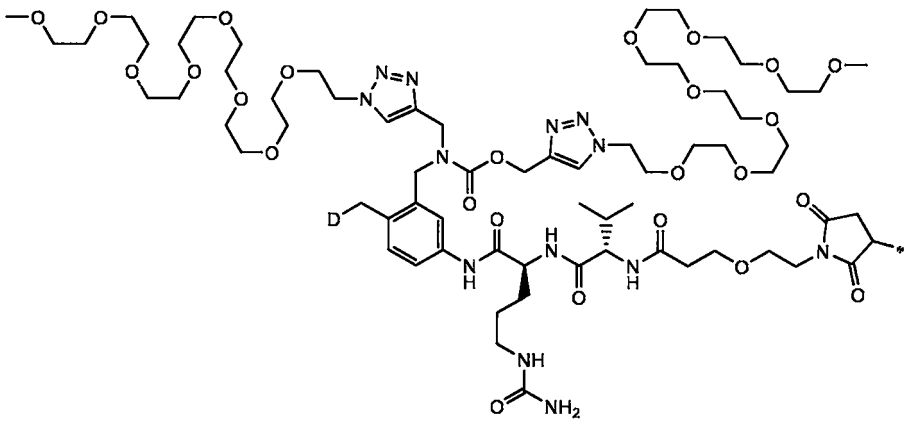
,

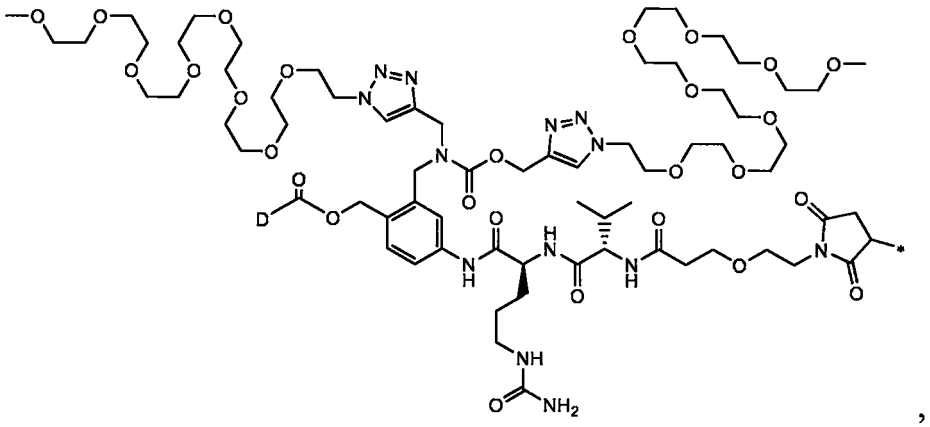
[0450] 

[0451] 
,


。

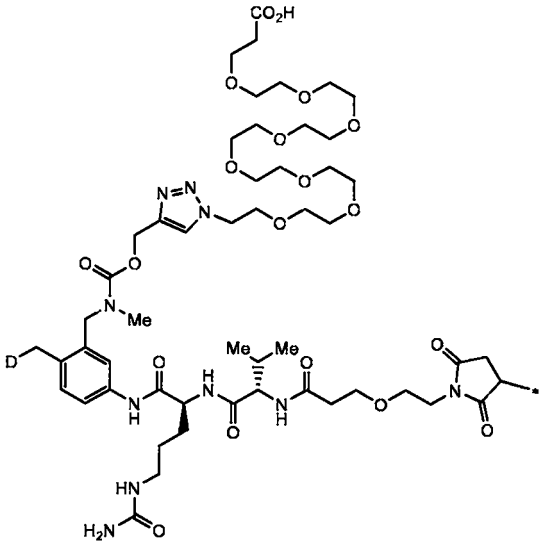
[0452] 在一些实施方案中,抗体-药物缀合物包含接头-药物基团,-(L-D),其包含选自以下的式:

[0453] 
,

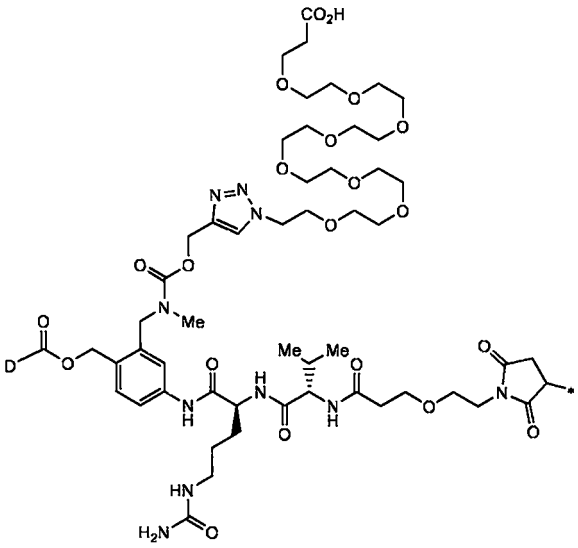


,

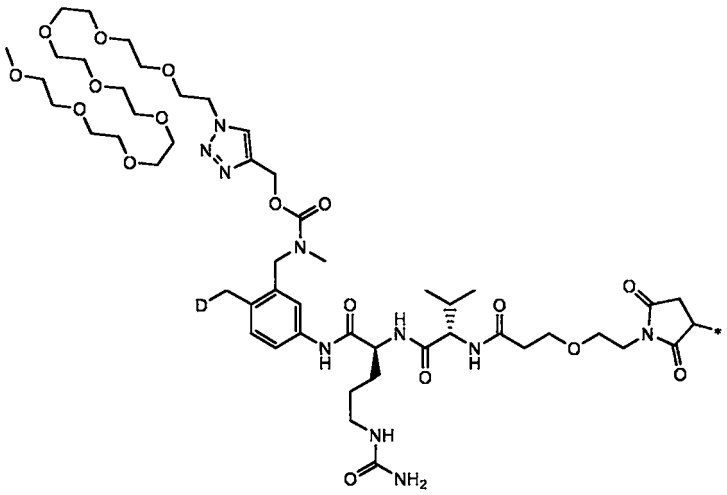
[0454]



,

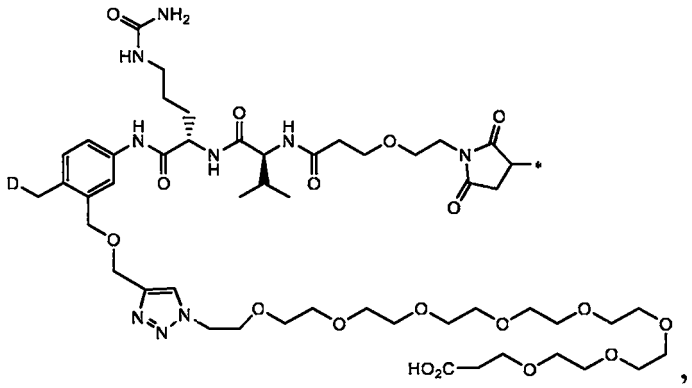


,

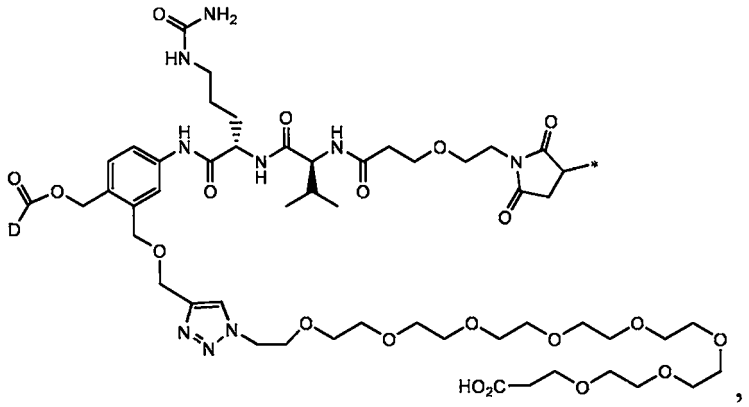


,

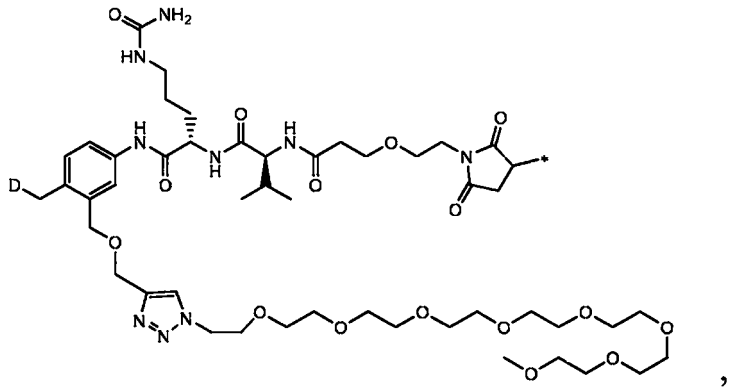
[0455]



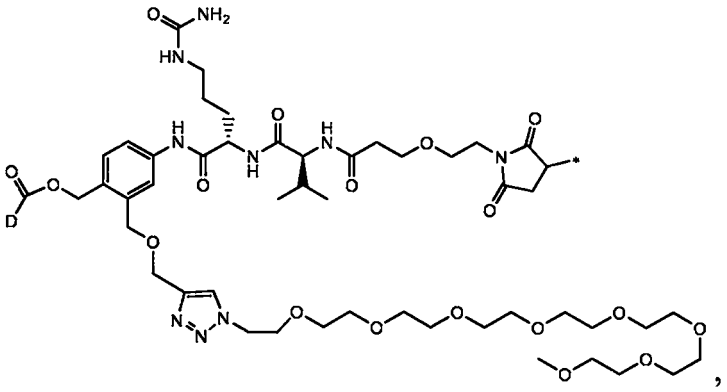
,



,

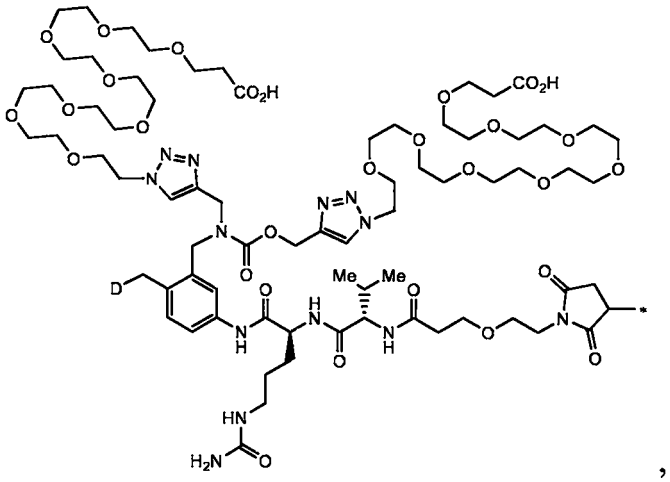


,

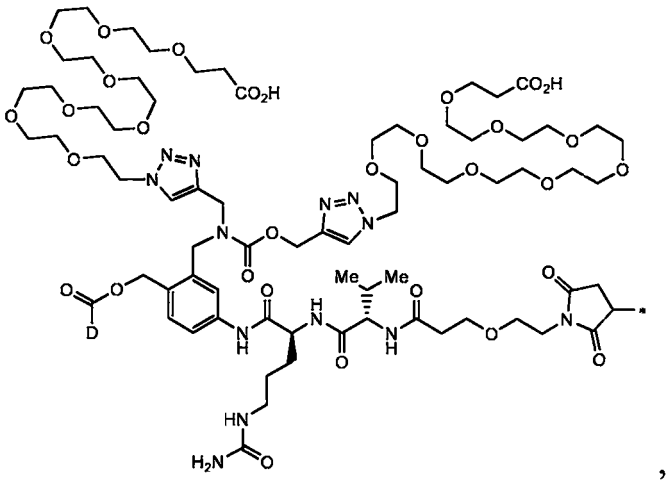


,

[0456]

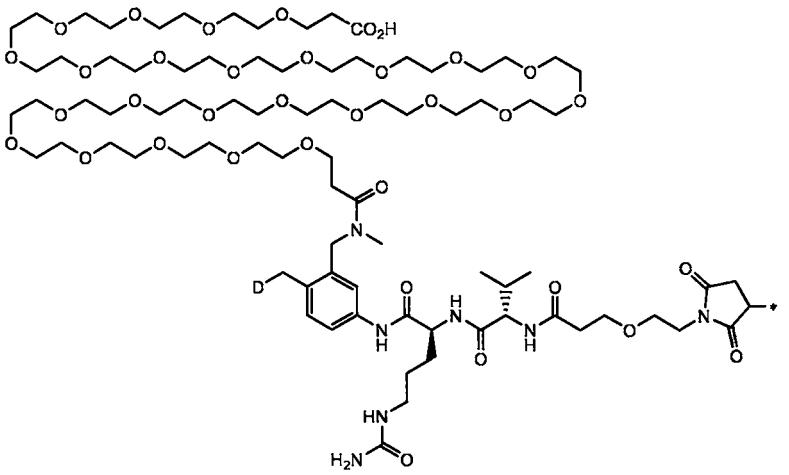


,

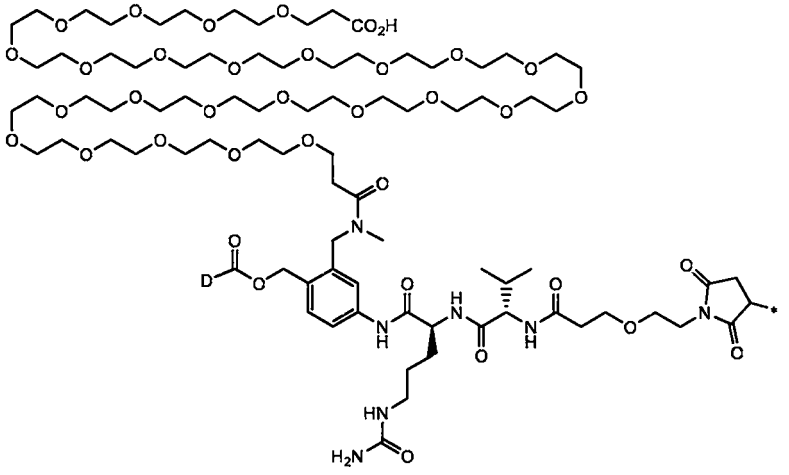


,

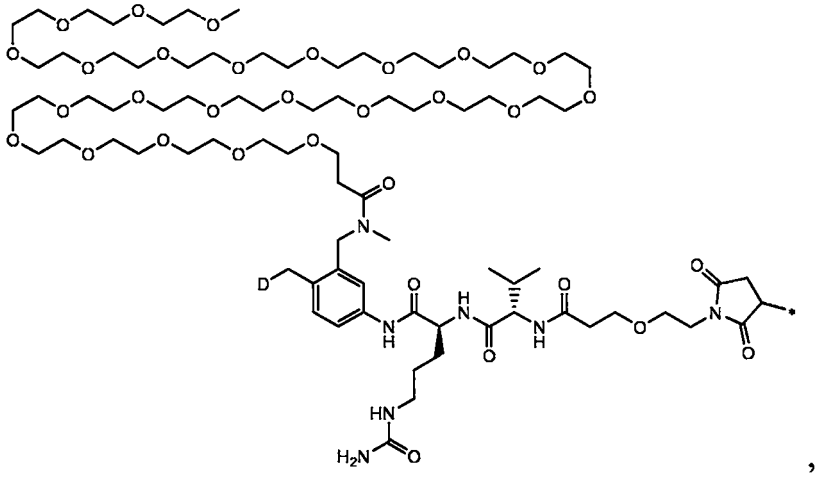
[0457]



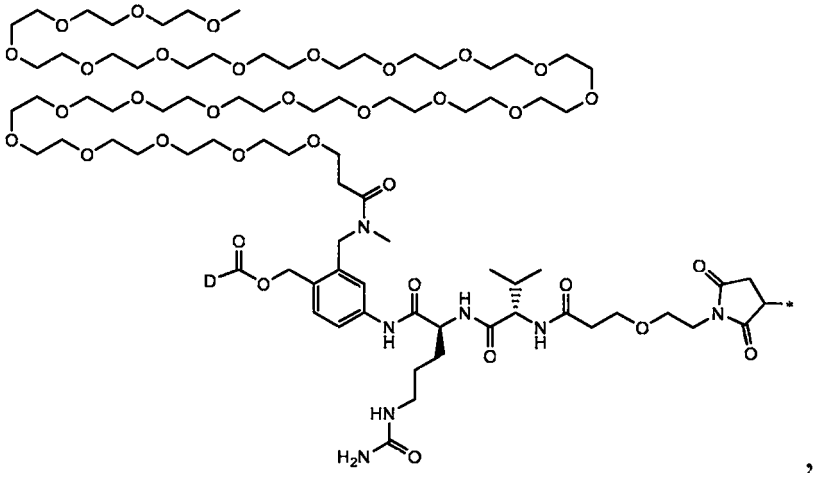
,



,

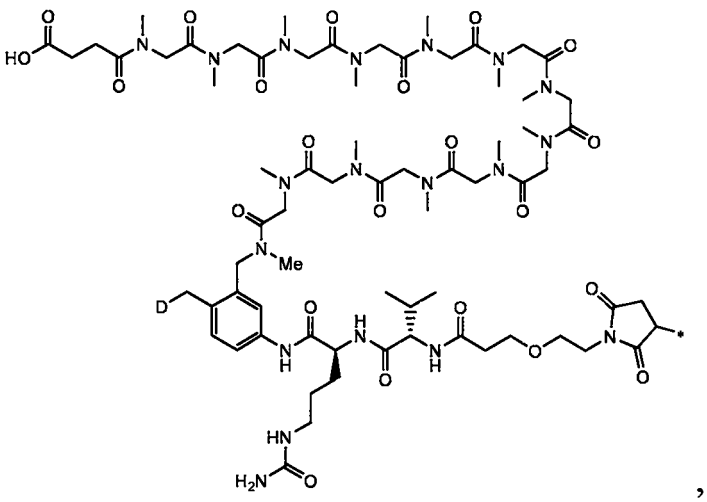


,

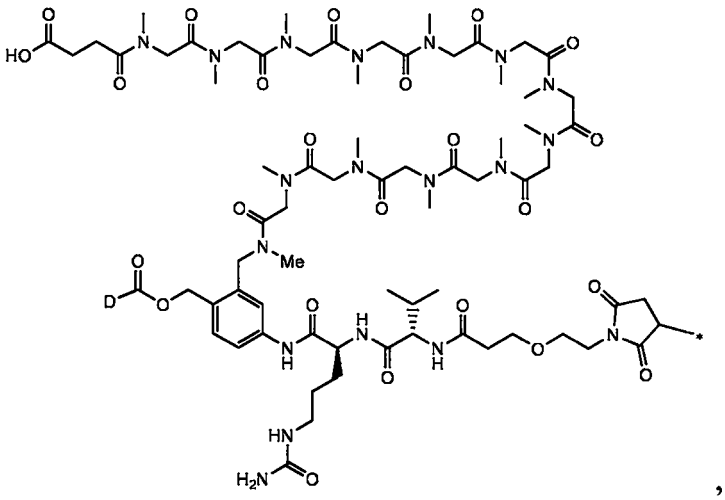


,

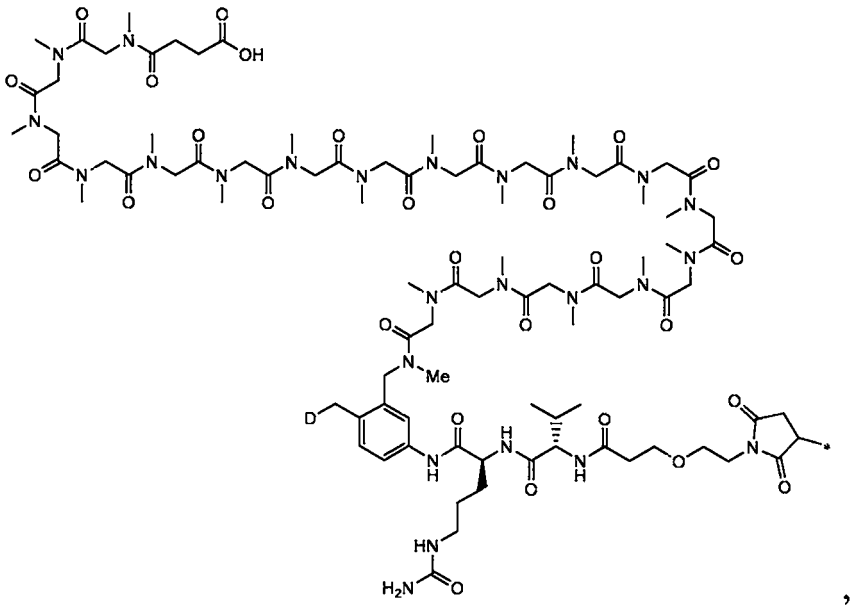
[0458]



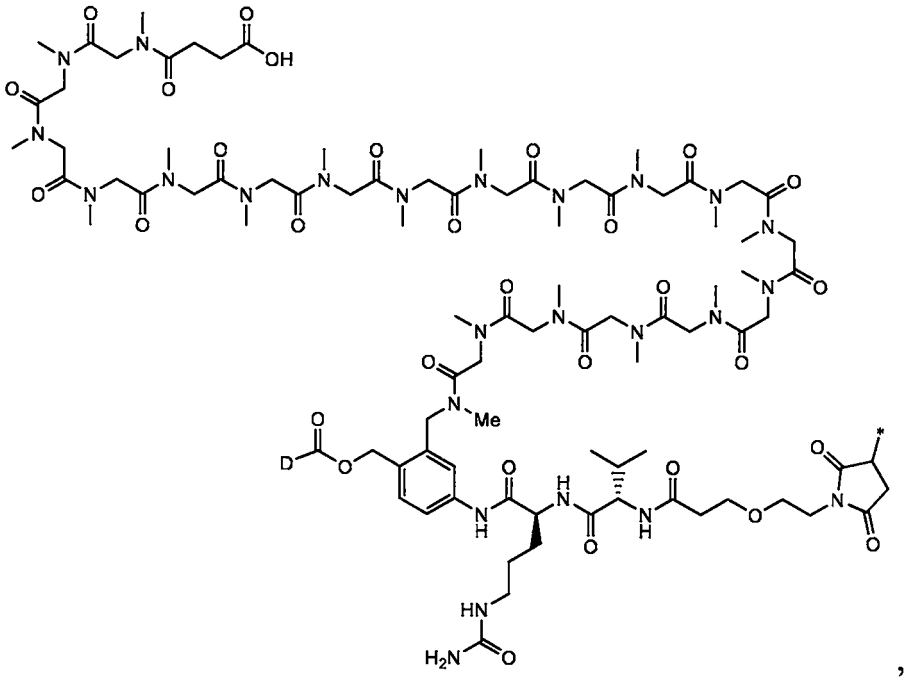
,

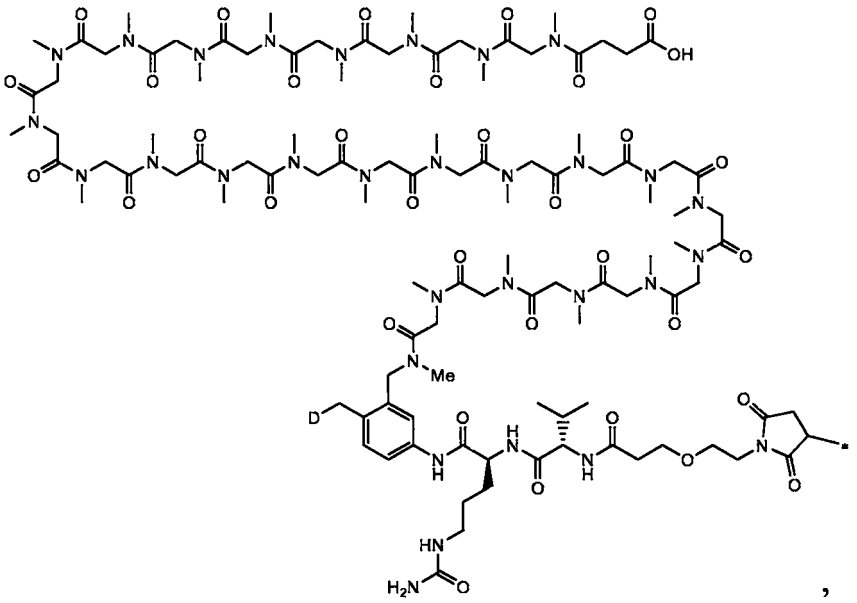


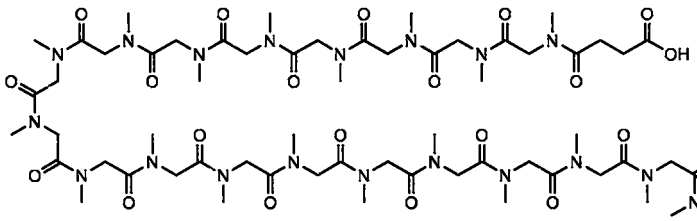
,



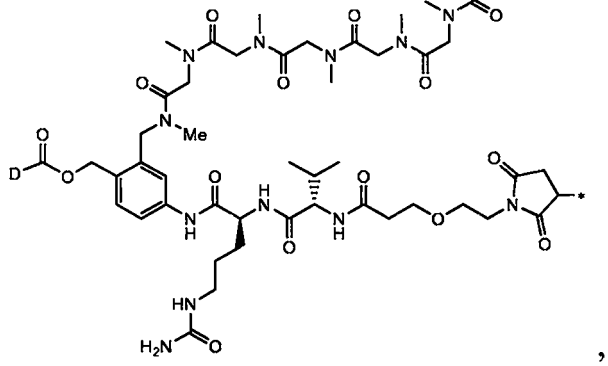
[0459]

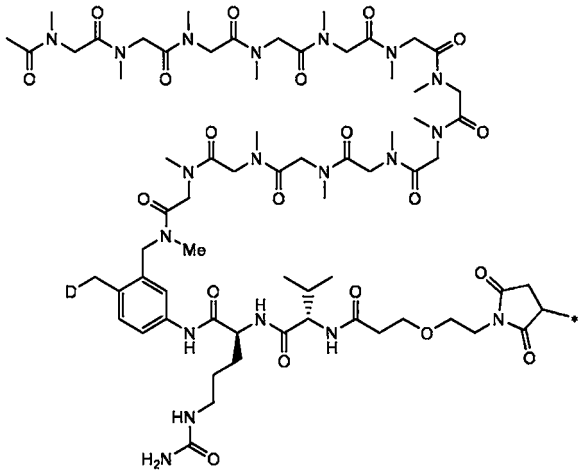


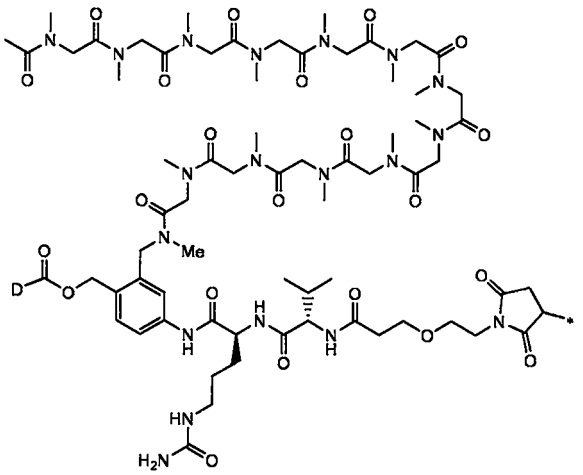




[0460]

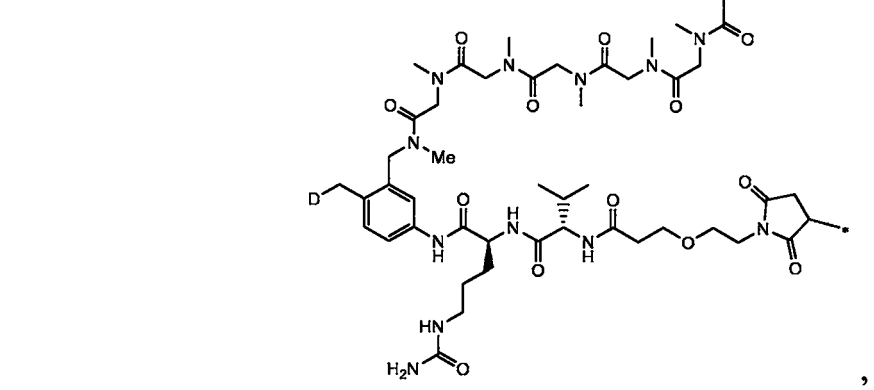




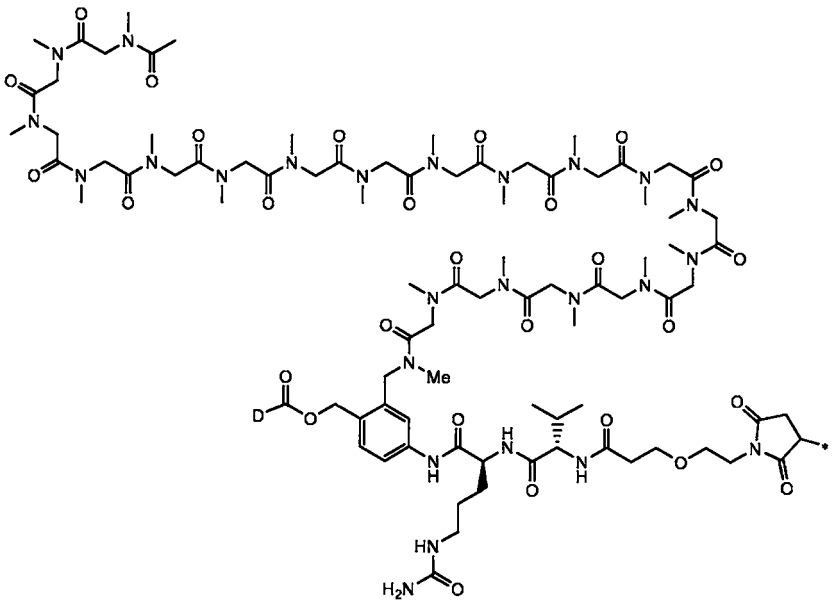


,

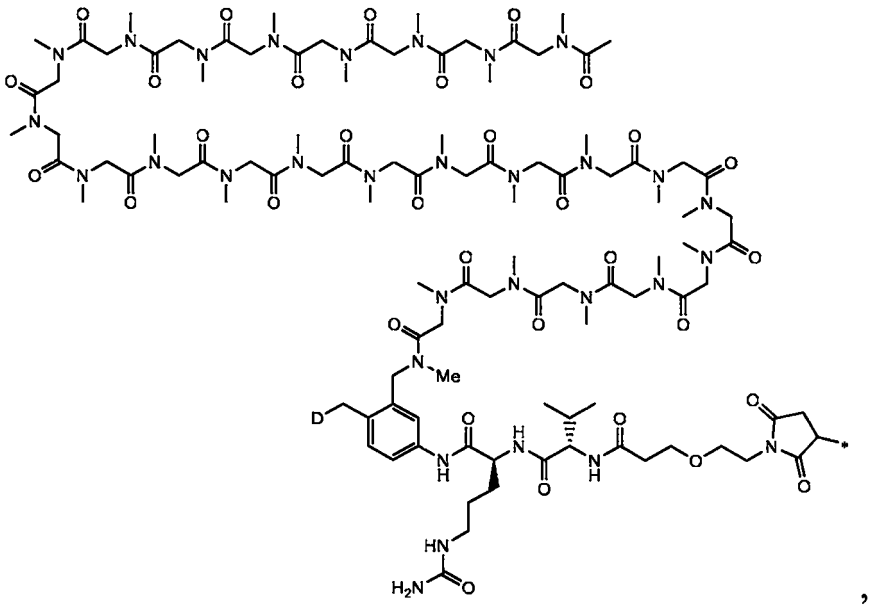
[0461]



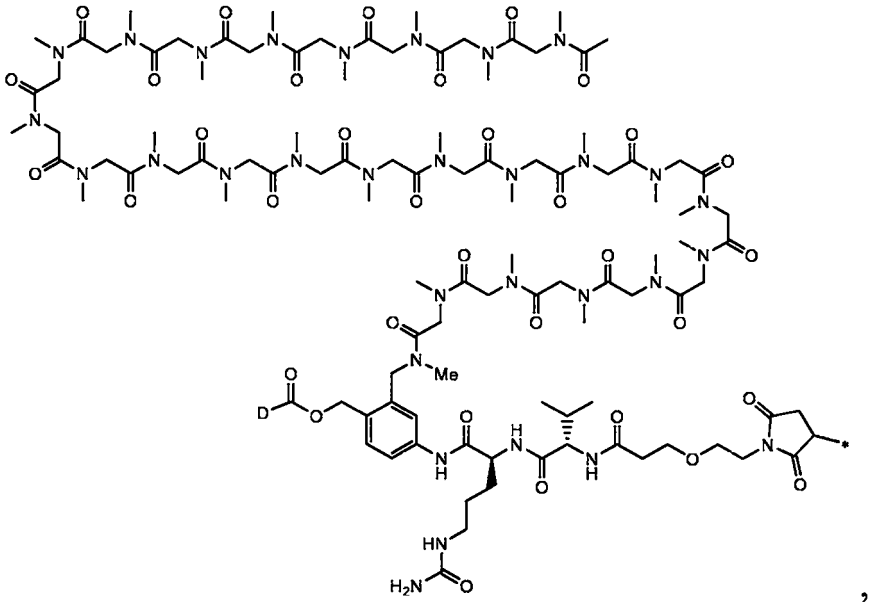
,



,

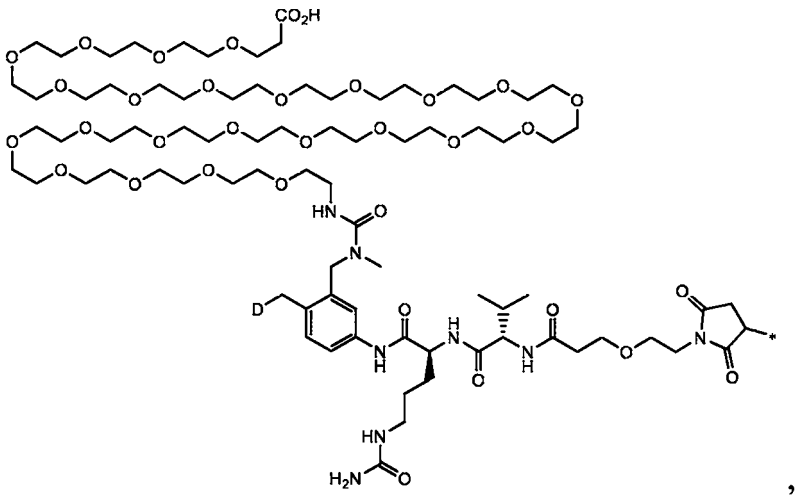


,

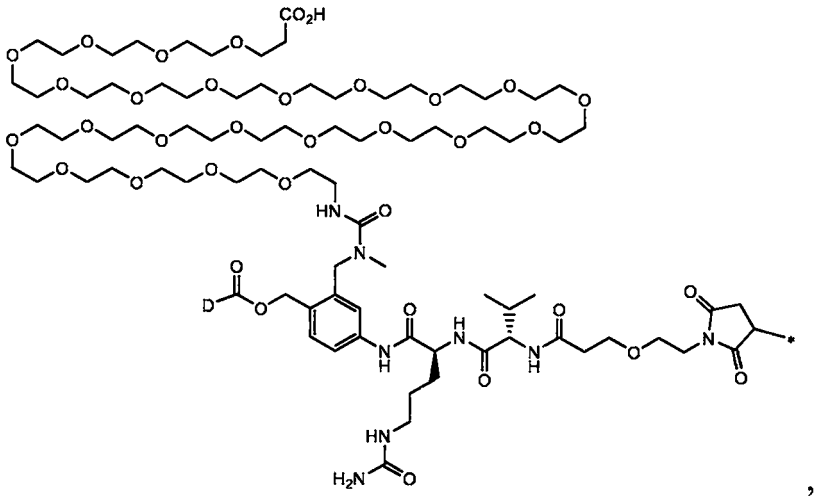


[0462]

,

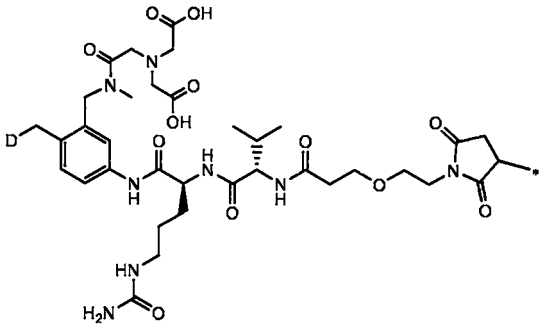


,

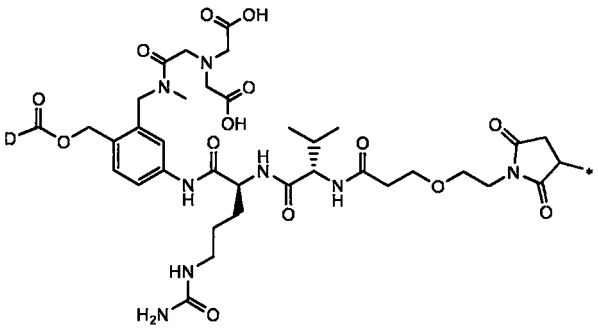


,

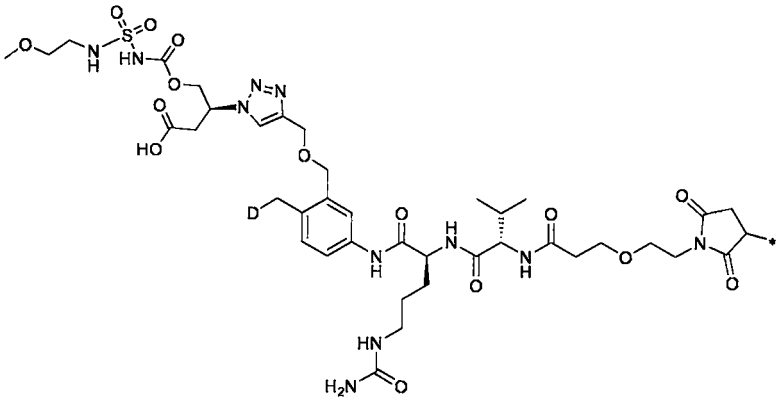
[0463]



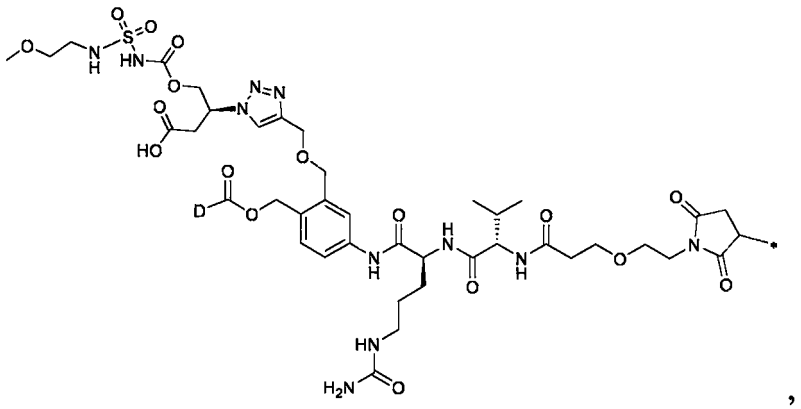
,



,

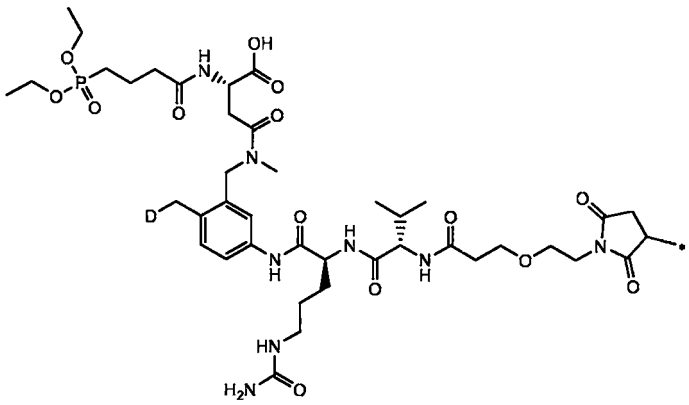


,

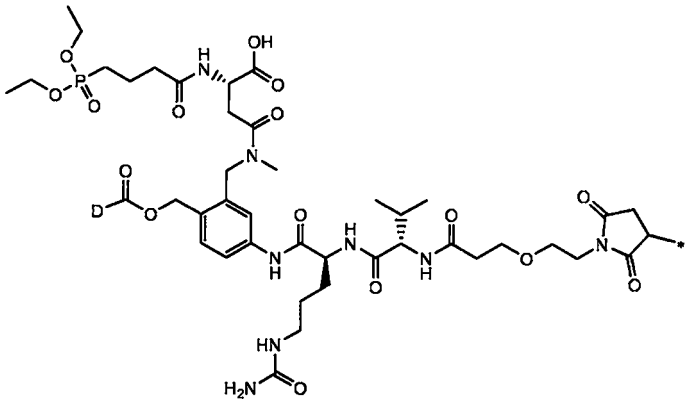


,

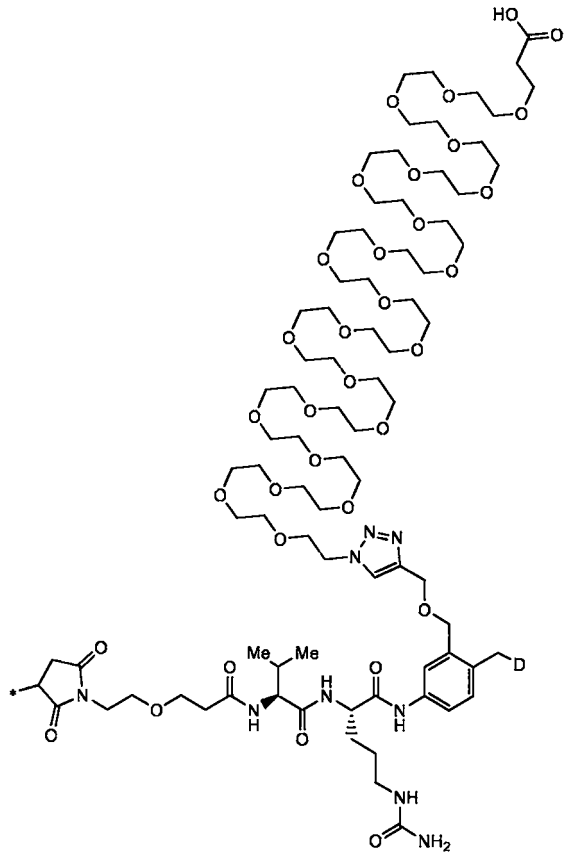
[0464]



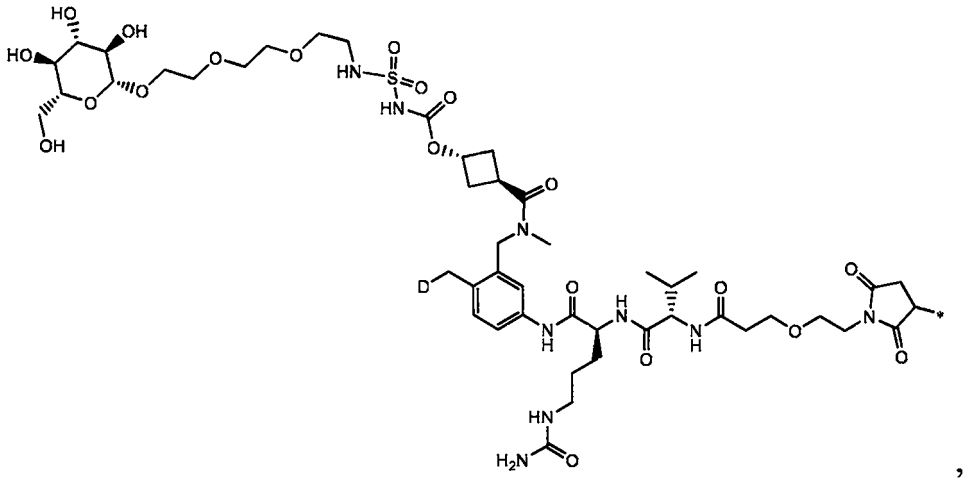
,



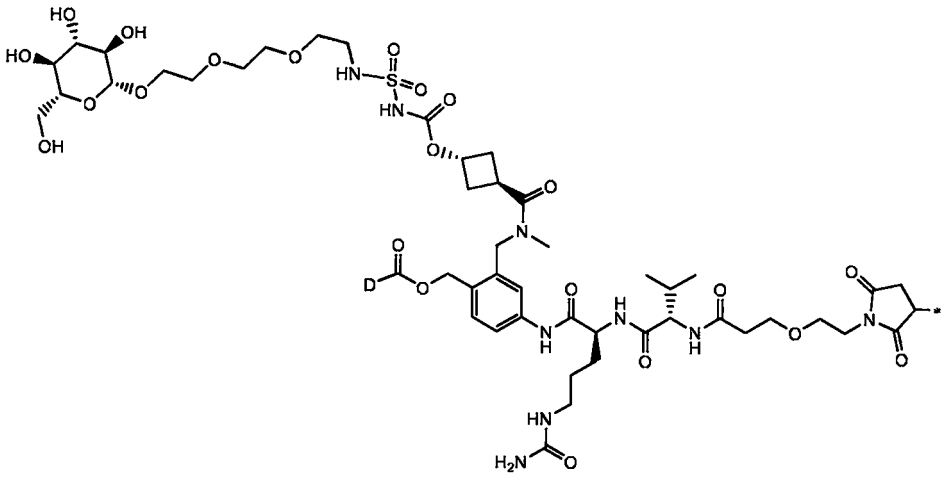
,

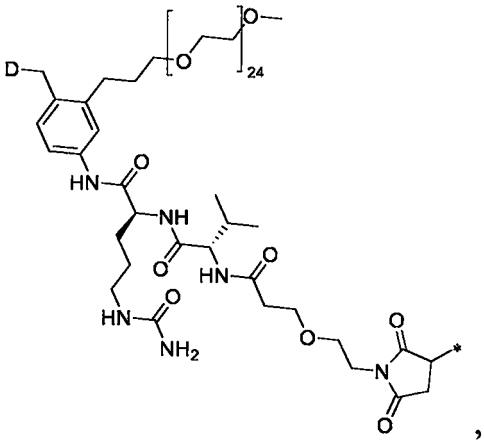
[0465] 

,



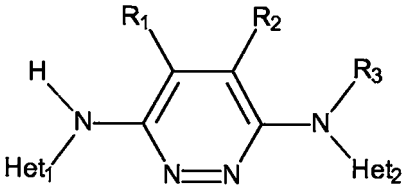
,

[0466] ，和

，

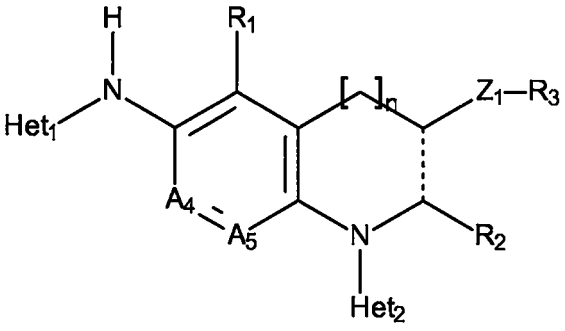
[0467] 以及其中-*是至抗体的键。

[0468] 在一些实施方案中，Bcl-xL抑制剂(D)包含式(I)的化合物：

[0469]  (I)

[0470] 或前述任一项的对映异构体、非对映异构体和/或药学上可接受的盐，其中变量如上文针对式(I)所述。在一些实施方案中，R1是直链或支链C1-6烷基并且R2是H。

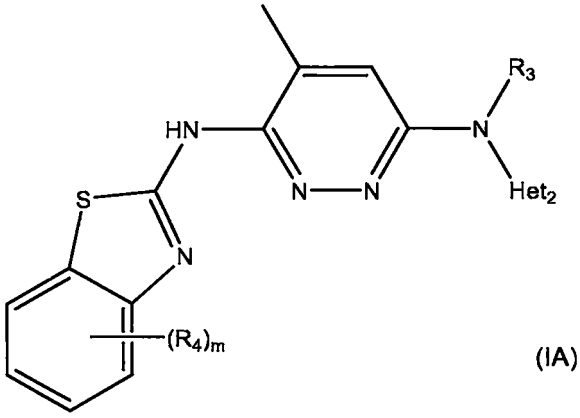
[0471] 在一些实施方案中，Bcl-xL抑制剂(D)包含式(II)的化合物：

[0472]  (II)，

[0473] 或前述任一项的对映异构体、非对映异构体和/或药学上可接受的盐，其中变量如上文针对式(II)所述。A1和A5均代表氮原子，R1是直链或支链C1-6烷基；R2是H；n是1；并

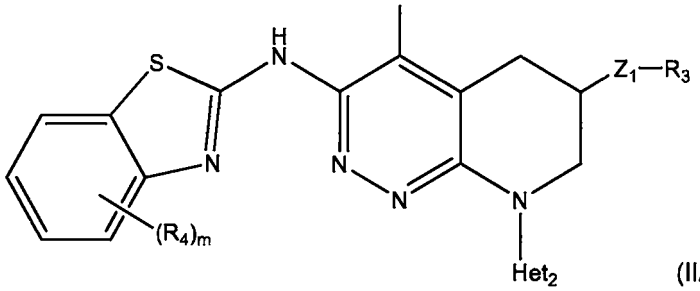
且------代表单键。

[0474] 在一些实施方案中,Bcl-xL抑制剂(D)包含式(IA)或(IIA)的化合物:

[0475] 

(IA)

、或



(IIA)

[0476] 或前述任一项的对映异构体、非对映异构体和/或药学上可接受的盐,其中:

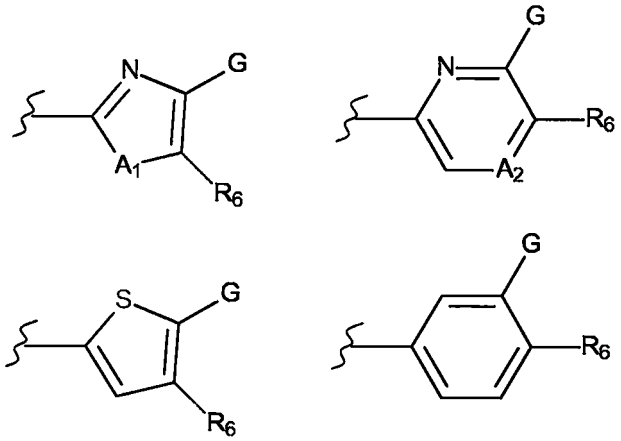
[0477] ◆Z1表示键或-O-,

[0478] ◆R_3表示选自以下的基团:氢;C_3-C_6环烷基;直链或支链C_1-C_6烷基;-X_1-NR_aN_b;-X_1-$N^+R_aR_bR_c$;和-X_1-O-R_c,

[0479] ◆R_a和R_b彼此独立地表示选自以下的基团:氢;任选被一个或两个羟基取代的直链或支链C_1-C_6烷基;和C_1-C_6亚烷基-SO_2O^-,

[0480] ◆R_c表示氢或直链或支链C_1-C_6烷基,

[0481] ◆Het_2表示选自以下的基团:

[0482] 

[0483] ◆A_1是-NH-、-N(C_1-C_3烷基)、O、S或Se,

[0484] ◆A_2是N、CH或C(R_5),

[0485] ◆G选自由以下组成的组:

[0486] -C(O)OH、-C(O)OR_{G3}、-C(O)$NR_{G1}R_{G2}$、-C(O)R_{G2}、-NR_{G1}C(O)R_{G2}、-NR_{G1}C(O)$NR_{G1}R_{G2}$、-OC

(O)$NR_{G1}R_{G2}$、-NR_{G1}C(O)OR_{G3}、-C(=NOR_{G1})$NR_{G1}R_{G2}$、-NR_{G1}C(=NCN)$NR_{G1}R_{G2}$、-NR_{G1}S(O)$_2NR_{G1}R_{G2}$、-S(O)$_2R_{G3}$、-S(O)$_2NR_{G1}R_{G2}$、-NR_{G1}S(O)$_2R_{G2}$、-NR_{G1}C(=NR_{G2})$NR_{G1}R_{G2}$、-C(=S)$NR_{G1}R_{G2}$、-C(=NR_{G1})$NR_{G1}R_{G2}$、任选被羟基取代的C_1-C_6烷基、卤素、-NO_2和-CN，其中：

[0487] -R_{G1}和R_{G2}在每次出现时各自独立地选自由以下组成的组：氢、和任选被1至3个卤素原子取代的C_1-C_6烷基；

[0488] -R_{G3}是任选被1至3个卤素原子取代的C_1-C_6烷基；或者

[0489] R_{G1}和R_{G2}与各自所连接的原子一起组合形成C_3-C_8杂环烷基；

[0490] ◆R_4表示氢、氟、氯或溴原子、甲基、羟基或甲氧基，

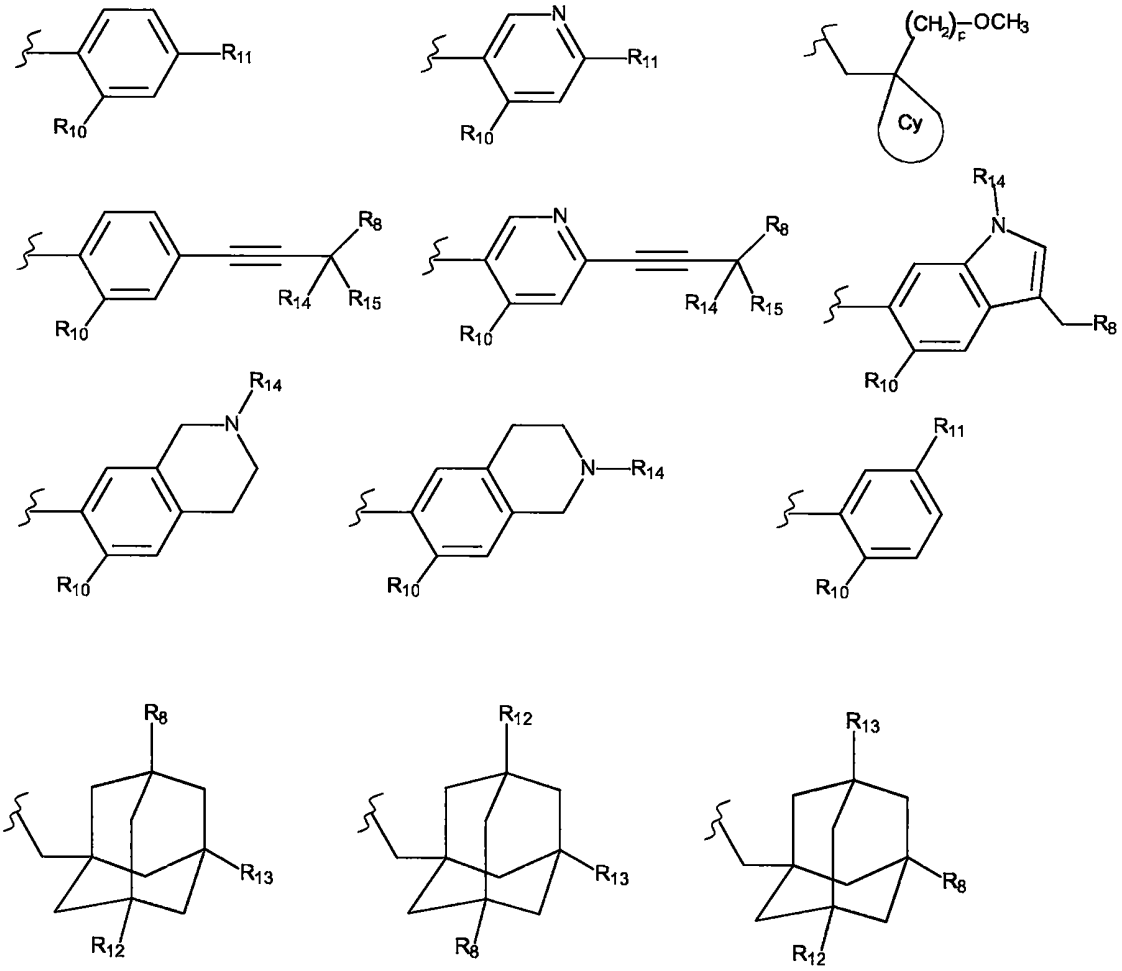
[0491] ◆R_5表示选自以下的基团：任选被1至3个卤素原子取代的C_1-C_6烷基；卤素或-CN，

[0492] ◆R_6表示选自以下的基团：

[0493] -X_2-O-R_7；以及

[0494] 任选被直链或支链C_1-C_6烷基取代的杂亚芳基-R_7基团，

[0495] ◆R_7表示选自以下的基团：直链或支链C_1-C_6烷基；(C_3-C_6)环亚烷基-R_8；或者：

[0496] 

[0497] 其中Cy表示C_3-C_8环烷基，

[0498] ◆R_8表示选自以下的基团：氢；直链或支链C_1-C_6烷基，-$NR'_aR'_b$；-NR'_a-CO-OR'_c；-NR'_a-CO-R'_c；-$N^+R'_aR'_bR'_c$；-O-R'_c；-NH-X'_2-$N^+R'_aR'_bR'_c$；-O-X'_2-$NR'_aR'_b$；-X'_2-$NR'_aR'_b$；-NR'_c-X'_2-N_3和：

[0499] -NR'_c-X'_2-≡CH，

[0500] ◆R_{10}表示选自氢、氟、氯、溴、-CF_3和甲基的基团，

[0501] ◆R_{11}表示选自氢、C_1-C_3亚烷基-R_8、-O-C_1-C_3亚烷基-R_8、CO-NR_hR_i和-CH＝CH-C_1-C_4亚烷基-NR_hR_i、-CH＝CH-CHO、C_3-C_8环亚烷基-CH_2-R_8、C_3-C_8杂环亚烷基-CH_2-R_8的基团，

[0502] ◆R_{12}和R_{13}彼此独立地表示氢原子或甲基，

[0503] ◆R_{14}和R_{15}彼此独立地表示氢或甲基，或者R_{14}和R_{15}与带有它们的碳原子形成环己基，

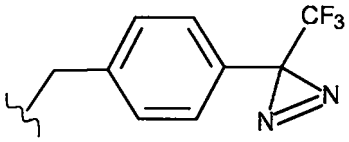
[0504] ◆R_h和R_i彼此独立地表示氢或直链或支链C_1-C_6烷基，

[0505] ◆X_1和X_2彼此独立地表示直链或支链C_1-C_6亚烷基，其任选被一个或两个选自三氟甲基、羟基、卤素、C_1-C_6烷氧基的基团取代，

[0506] ◆X'_2表示直链或支链C_1-C_6亚烷基，

[0507] ◆R'_a和R'_b彼此独立地表示选自以下的基团：氢；杂环烷基；-SO_2-苯基，其中该苯基可以被直链或支链C_1-C_6烷基取代；任选被一个或两个羟基或C_1-C_6烷氧基取代的直链或支链C_1-C_6烷基；C_1-C_6亚烷基-SO_2OH；C_1-C_6亚烷基-SO_2O^-；C_1-C_6亚烷基-COOH；C_1-C_6亚烷基-$PO(OH)_2$；C_1-C_6亚烷基-$NR'_dR'_e$；C_1-C_6亚烷基-$N^+R'_dR'_eR'_f$；C_1-C_6亚烷基-O-C_1-C_6亚烷基-OH；C_1-C_6亚烷基-苯基，其中该苯基可以被羟基或C_1-C_6烷氧基取代；

[0508] 基团：

[0509] 

[0510] 或R'_a和R'_b与带有它们的氮原子形成环B_3，

[0511] 或R'_a、R'_b和R'_c与带有它们的氮原子形成桥连的C_3-C_8杂环烷基，

[0512] ◆R'_c、R'_d、R'_e、R'_f彼此独立地表示氢或直链或支链C_1-C_6烷基，

[0513] 或R'_d和R'_e与带有它们的氮原子形成环B_4，

[0514] 或R'_d、R'_e和R'_f与带有它们的氮原子形成桥连的C_3-C_8杂环烷基，

[0515] ◆m＝0、1或2，

[0516] ◆p＝1、2、3或4，

[0517] ◆B_3和B_4彼此独立地表示C_3-C_8杂环烷基基团，该基团可以：(i)是单环或双环基团，其中双环基团包括稠合、桥连或螺环系统，(ii)除氮原子外，还可以含有一个或两个独立地选自氧、硫和氮的杂原子，(iii)被一个或两个选自以下的基团取代：氟、溴、氯、直链或支链C_1-C_6烷基、羟基、-NH_2.氧代或哌啶基。

[0518] 在一些实施方案中，对于式(IA)或(IIA)，G选自由以下组成的组：-C(O)OH、-C(O)OR_{G3}、-C(O)$NR_{G1}R_{G2}$、-C(O)R_{G2}、-NR_{G1}C(O)R_{G2}、-NR_{G1}C(O)$NR_{G1}R_{G2}$、-OC(O)$NR_{G1}R_{G2}$、-NR_{G1}C(O)OR_{G3}、-C(＝NOR_{G1})$NR_{G1}R_{G2}$、-NR_{G1}C(＝NCN)$NR_{G1}R_{G2}$、-NR_{G1}S(O)$_2NR_{G1}R_{G2}$、-S(O)$_2R_{G3}$、-S(O)$_2NR_{G1}R_{G2}$、-NR_{G1}S(O)$_2R_{G2}$、-NR_{G1}C(＝NR_{G2})$NR_{G1}R_{G2}$、-C(＝S)$NR_{G1}R_{G2}$、-C(＝NR_{G1})$NR_{G1}R_{G2}$、卤素、-NO_2和-CN，其中：

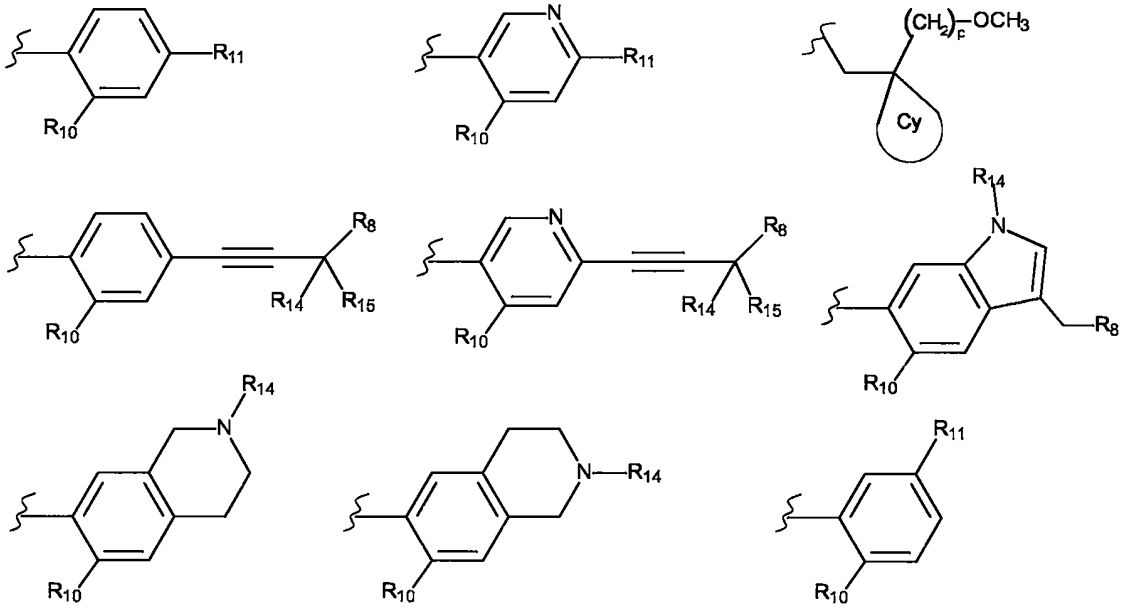
[0519] -R_{G1}和R_{G2}在每次出现时各自独立地选自由以下组成的组：氢、和任选被1至3个卤素原子取代的C_1-C_6烷基；

[0520] -R_{G3}是任选被1至3个卤素原子取代的C_1-C_6烷基；或者

[0521] -R_{G1}和R_{G2}与各自所连接的原子一起组合形成C_3-C_8杂环烷基。

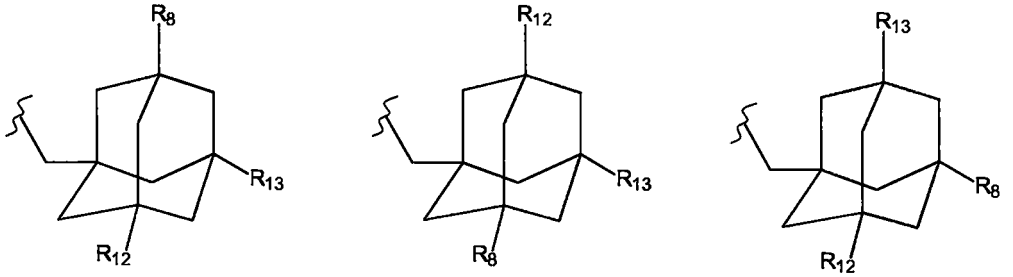
[0522] 在一些实施方案中，对于式(I)、(II)、(IA)或(IIA)，R_7表示选自以下的基团：直链

或支链C_1-C_6烷基;(C_3-C_6)环亚烷基-R_8;或者:

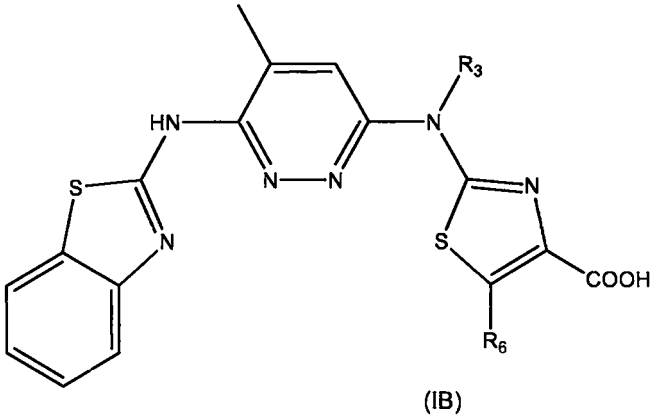
[0523] 

[0524] 其中Cy表示C_3-C_8环烷基。

[0525] 在一些实施方案中,对于式(I)、(II)、(IA)或(ILA),R_7表示选自以下的基团:

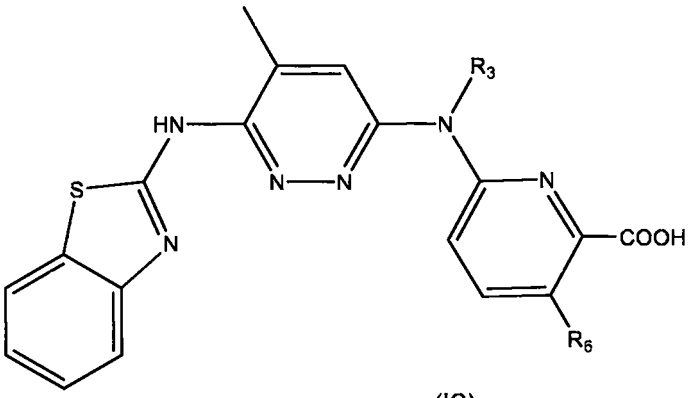
[0526] 

[0527] 在一些实施方案中,Bcl-xL抑制剂(D)包含式(IB)、(IC)、(IIB)或(IIC)的化合物:



(IB)

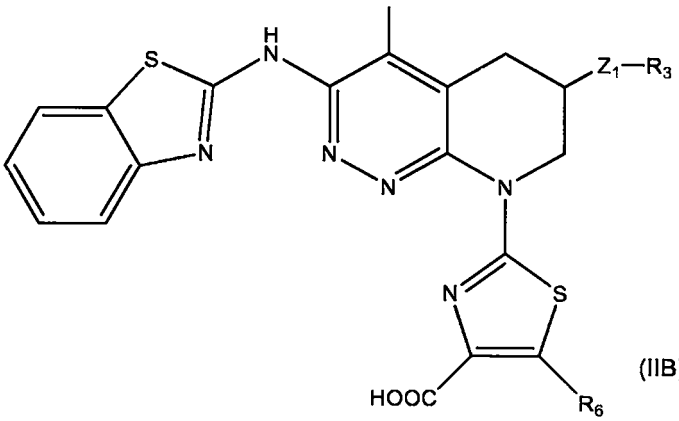
，



(IC)

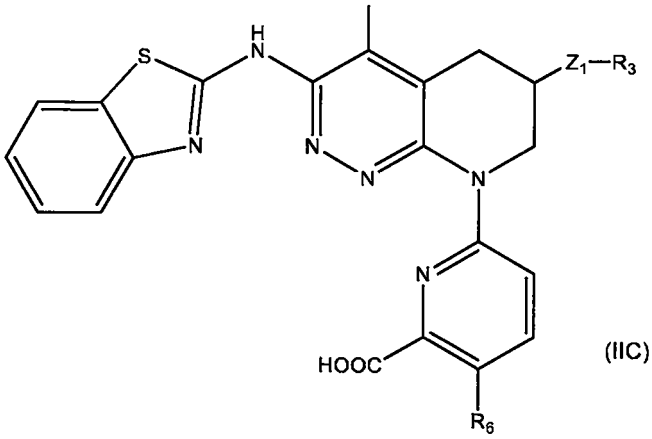
，

[0528]



(IIB)

、或



(IIC)

，

[0529] 或前述任一项的对映异构体、非对映异构体和/或药学上可接受的盐，其中：

[0530] ◆对于式(IB)或(IC)，R_3表示选自以下的基团：氢；直链或支链C_1-C_6烷基；-X_1-

NR_aR_b;$-X_1-N^+R_aR_bR_c$;和$-X_1-O-R_c$;

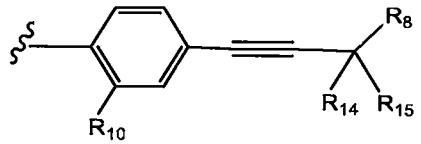
[0531] 对于式(IIB)或(IIC)中,Z_1表示键,并且R_3表示氢。或Z_1表示-O-,并且R_3表示$-X_1-NR_aR_b$,

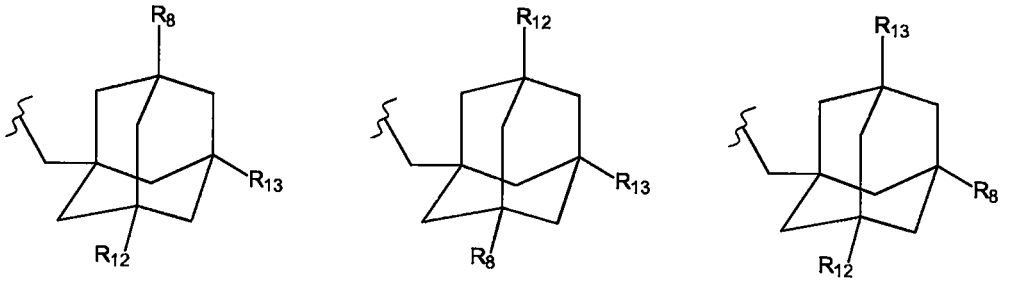
[0532] ◆R_a和R_b彼此独立地表示选自以下的基团:氢;任选被一个或两个羟基取代的直链或支链C_1-C_6烷基;和C_1-C_6亚烷基$-SO_2O^-$,

[0533] ◆R_c表示氢或直链或支链C_1-C_6烷基

[0534] ◆R_6表示$-X_2-O-R_7$或任选被直链或支链C_1-C_6烷基取代的杂亚芳基$-R_7$基团,

[0535] ◆R_7表示选自以下的基团:



[0536] 

,

[0537] ◆R_8表示选自以下的基团:$-NR'_aR'_b$;$-O-X'_2-NR'_aR'_b$;和$-X'_2-NR'_aR'_b$,

[0538] ◆R_{10}表示氟,

[0539] ◆R_{12}和R_{13}彼此独立地表示氢原子或甲基,

[0540] ◆R_{14}和R_{15}彼此独立地表示氢或甲基,

[0541] ◆X_1和X_2彼此独立地表示直链或支链C_1-C_6亚烷基,其任选被一个或两个选自三氟甲基、羟基、卤素、C_1-C_6烷氧基的基团取代,

[0542] ◆X'_2表示直链或支链的C_1-C_6亚烷基,

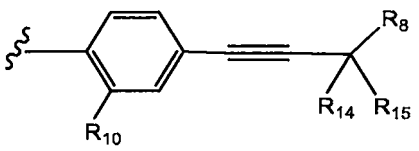
[0543] ◆R_a和R_b彼此独立地表示选自以下的基团:氢;任选被一个或两个羟基或C_1-C_6烷氧基取代的直链或支链C_1-C_6烷基;C_1-C_6亚烷基$-NR'_dR'_e$;

[0544] 或R'_a和R'_b与带有它们的氮原子形成环B_3,

[0545] ◆R'_d、R'_e彼此独立地表示氢或直链或支链C_1-C_6烷基,

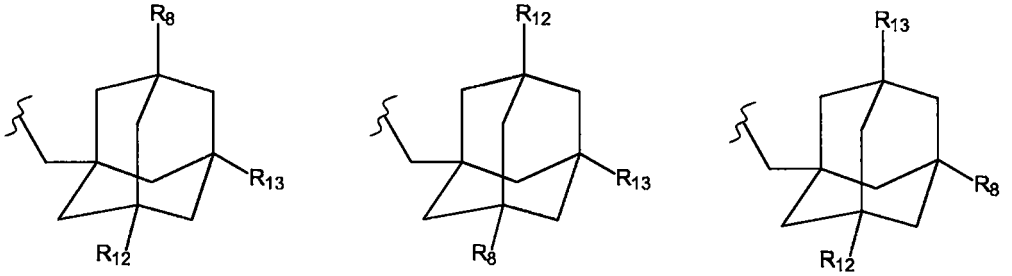
[0546] ◆B_3表示C_3-C_8杂环烷基,该基团可以:(i)是单环或双环基团,其中双环基团包括稠合、桥连或螺环系统,(ii)除氮原子外,还可以含有一个或两个独立地选自氧和氮的杂原子,(iii)被一个或两个选自以下的基团取代:氟、溴、氯、直链或支链C_1-C_6烷基、羟基和氧代。

[0547] 在一些实施方案中,R_7代表以下基团:

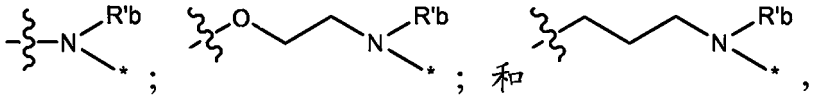
[0548] 

。

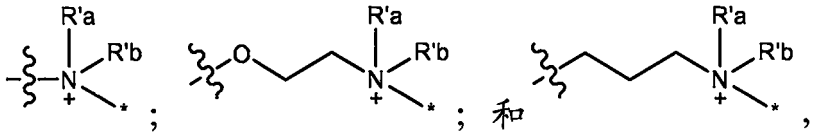
[0549] 在一些实施方案中,R_7表示选自以下的基团:

[0550] 

[0551] 在一些实施方案中，对于式(I)、(IA)、(IB)、(IC)、(II)、(IIA)、(IIB)或(IIC)，R_8表示选自以下的基团：



[0552]



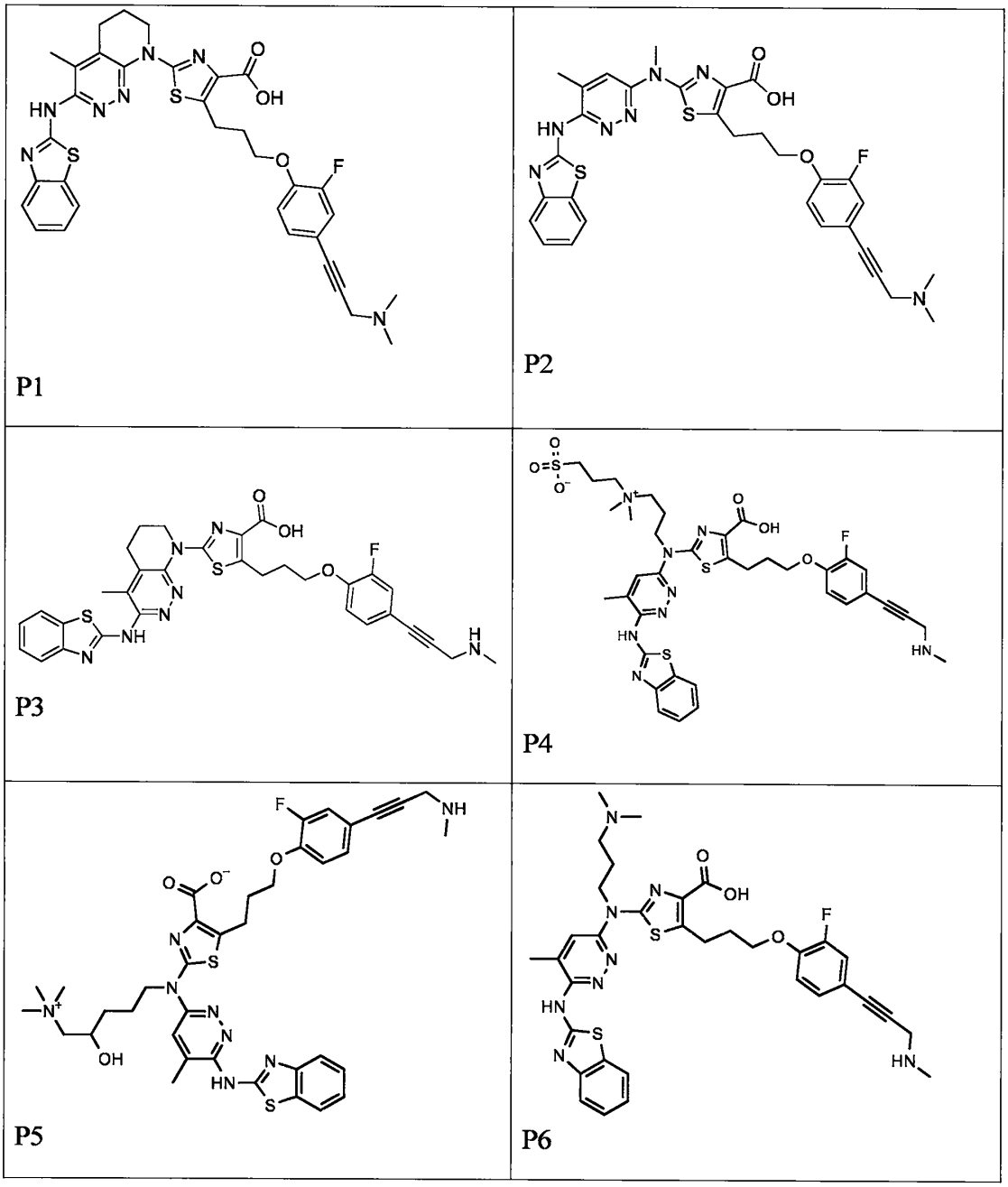
[0553] 其中——*表示与接头的键。

[0554] 在一些实施方案中，B3表示选自吡咯烷基、哌啶基、哌嗪基、吗啉基、氮杂环庚基和2,8-二氮杂螺[4,5]癸基的C3-C8杂环烷基。

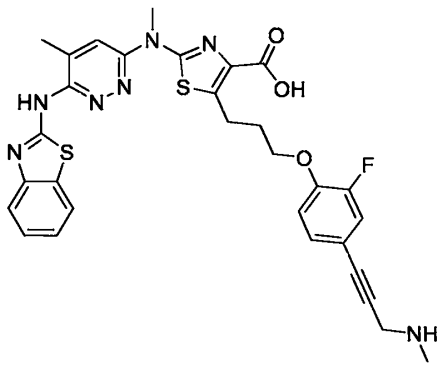
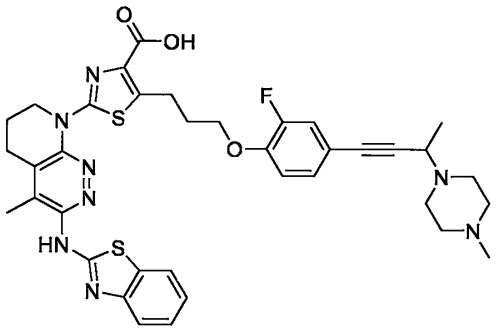
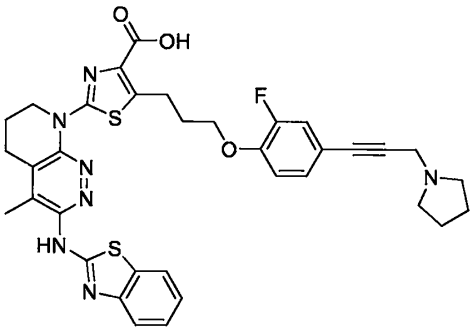
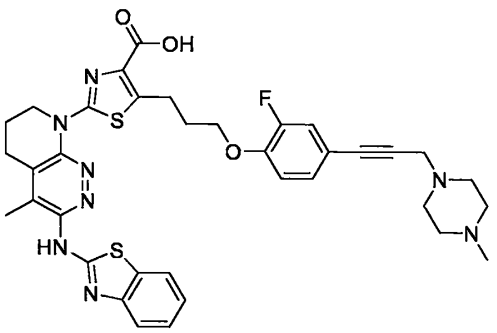
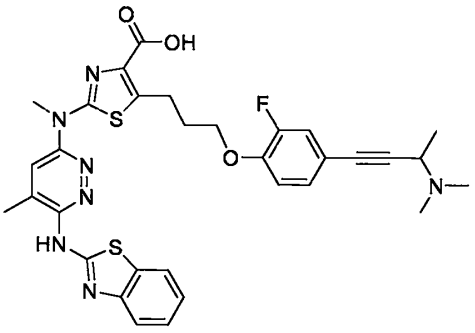
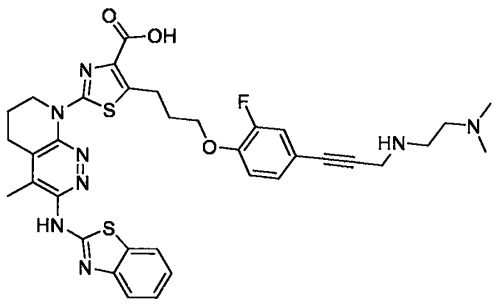
[0555] 在一些实施方案中，D表示通过共价键附接至接头L的Bcl-xL抑制剂，其中该Bcl-xL抑制剂选自表A1中的化合物：

[0556] 表A1

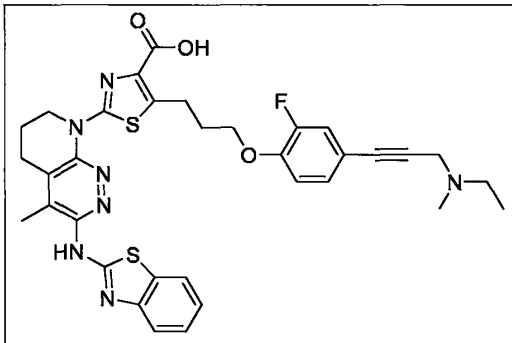
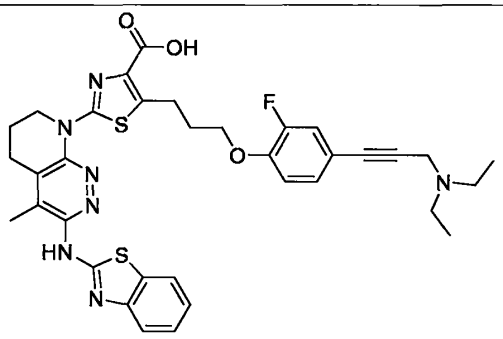
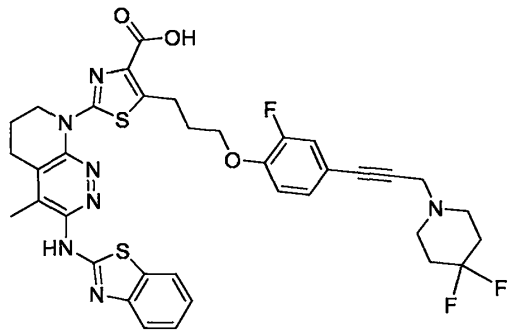
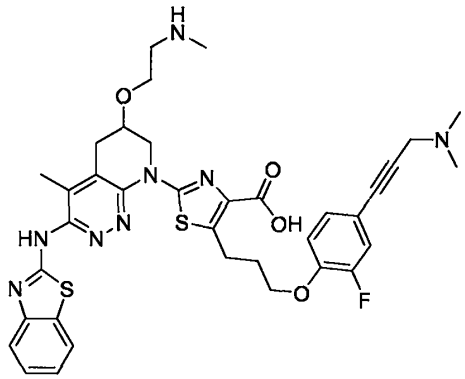
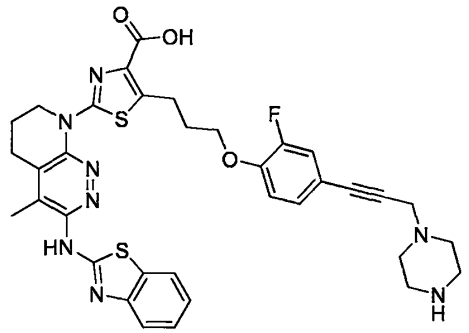
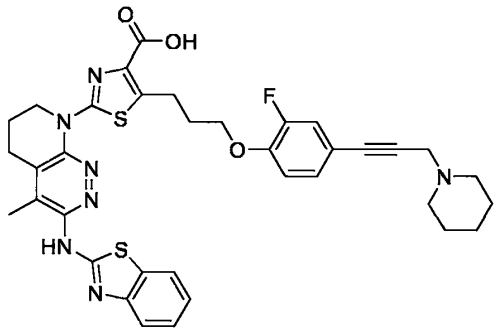
[0557]



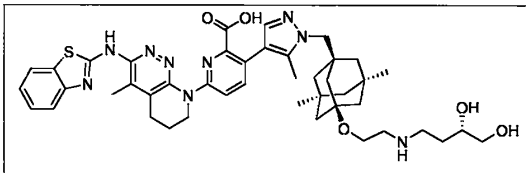
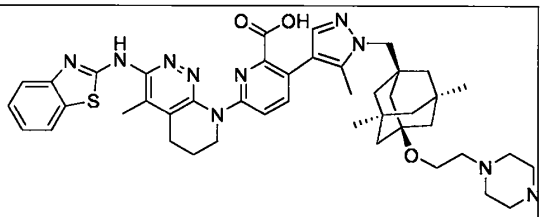
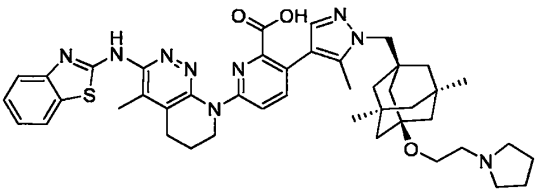
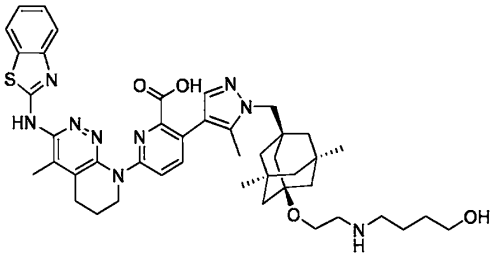
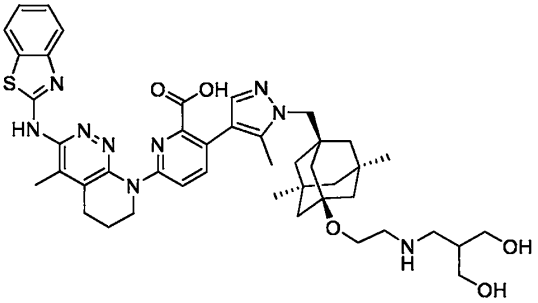
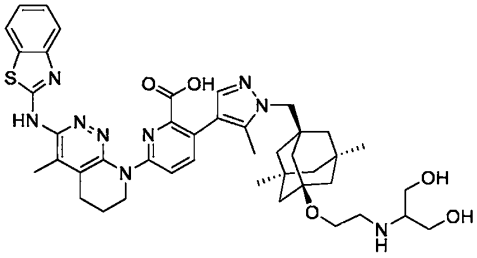
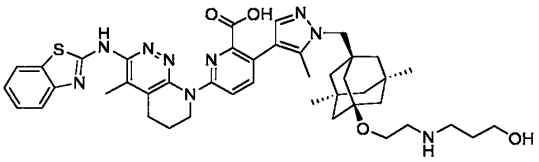
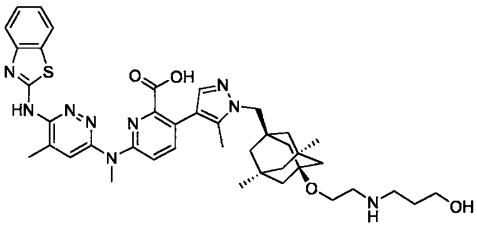
[0558]

 P7	 P8
 P9	 P10
 P11	 P12

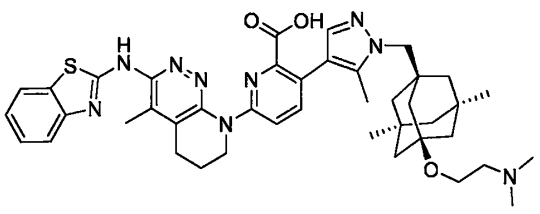
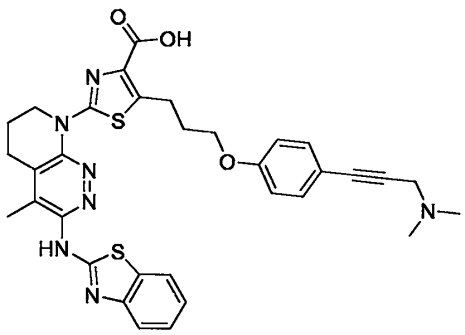
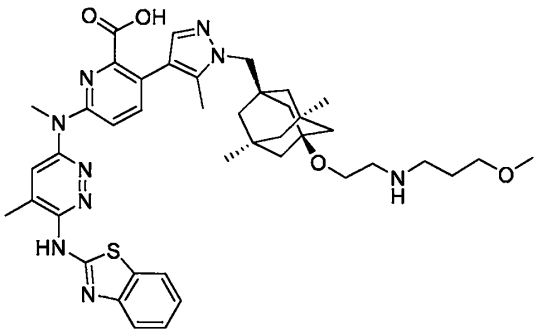
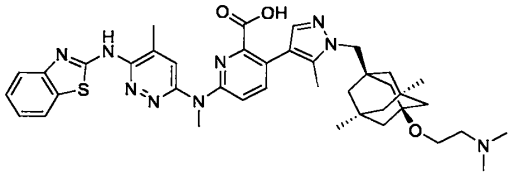
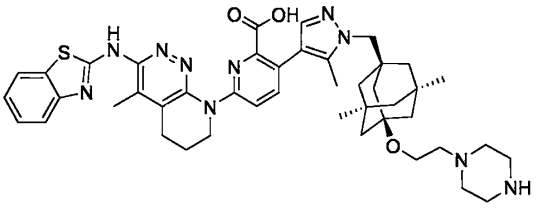
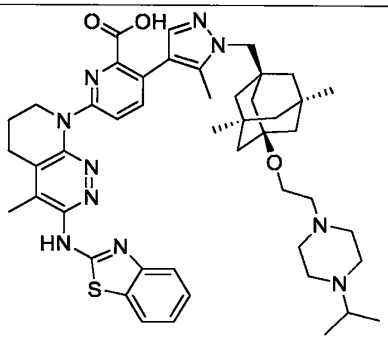
[0559]

 P13	 P14
 P15	 P16
 P17	 P18

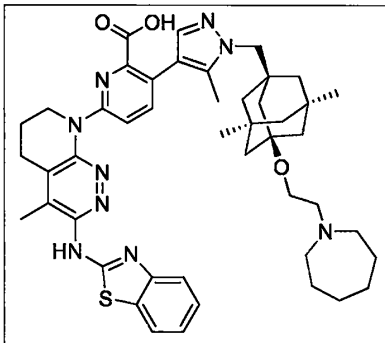
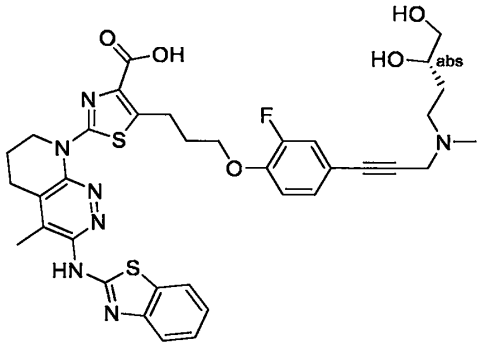
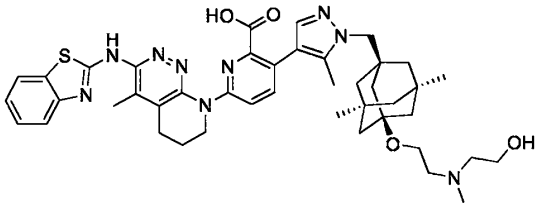
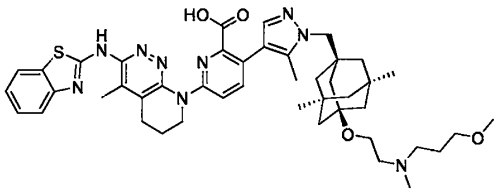
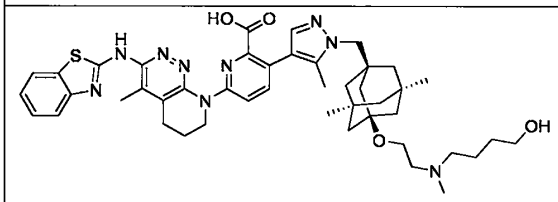
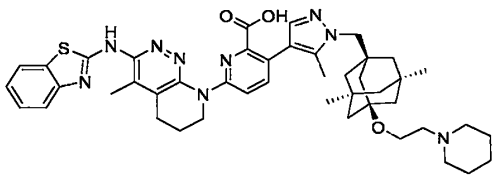
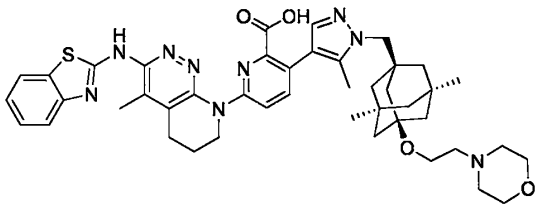
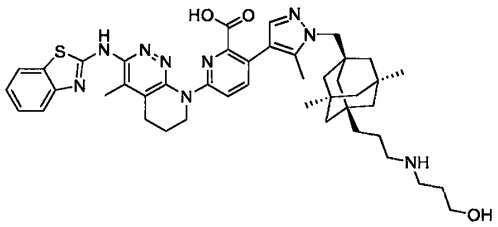
[0560]

 P19	 P20
 P21	 P22
 P23	 P24
 P25	 P26

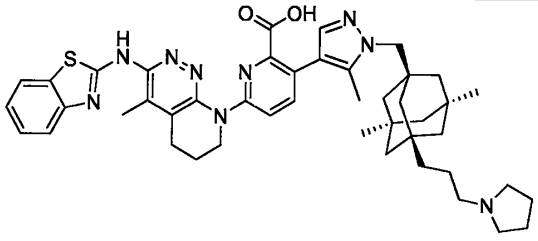
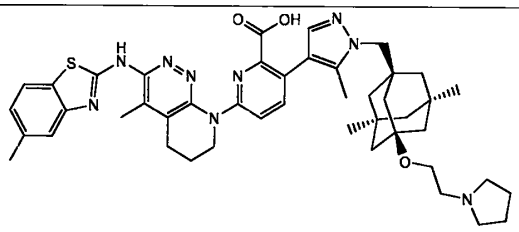
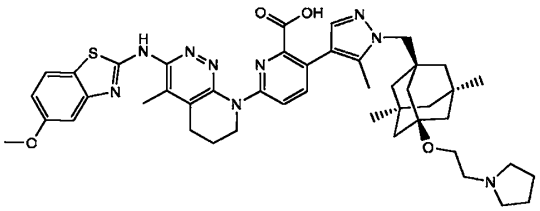
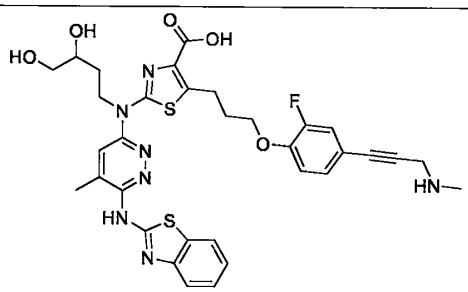
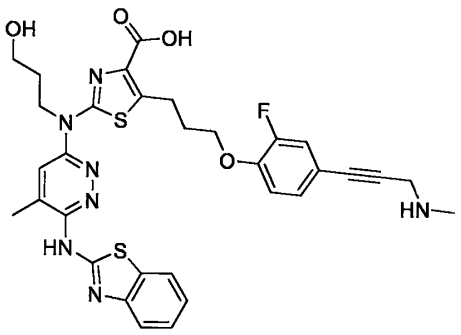
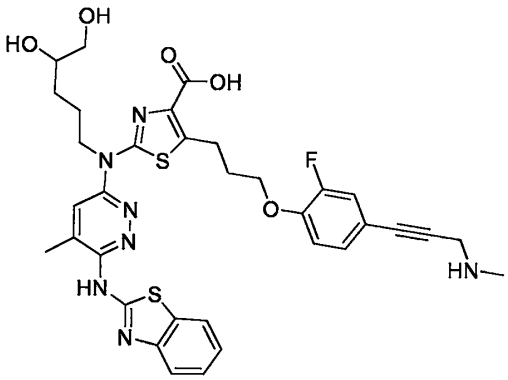
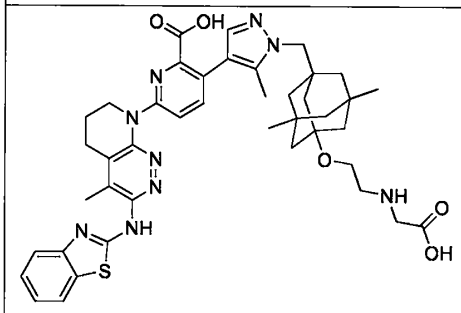
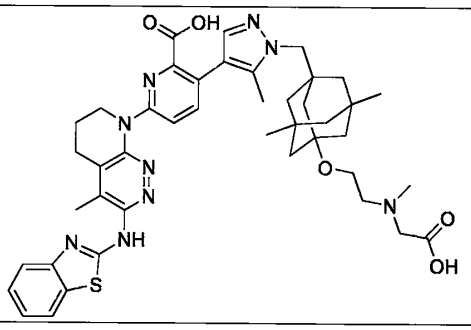
[0561]

 P27	 P28
 P29	 P30
 P31	 P32

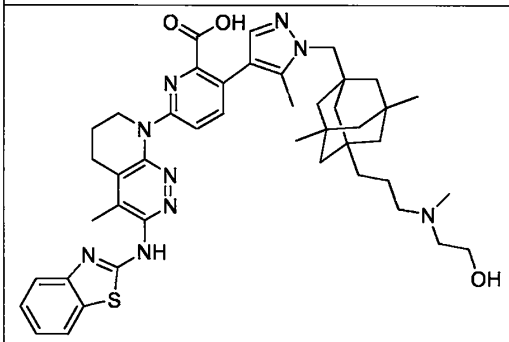
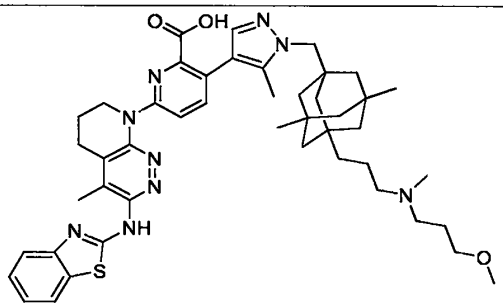
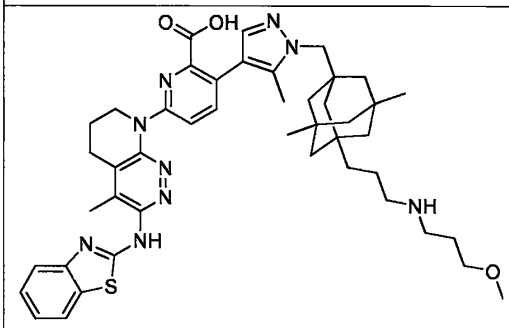
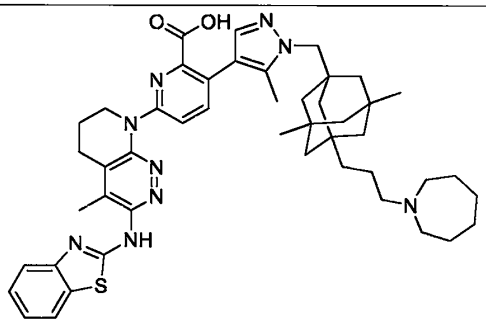
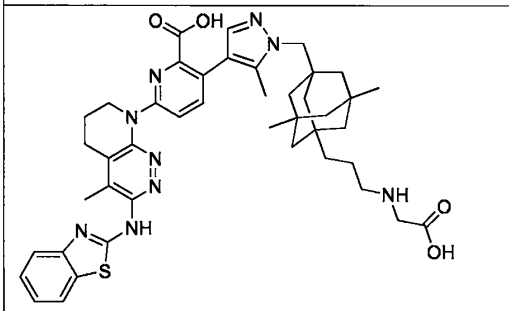
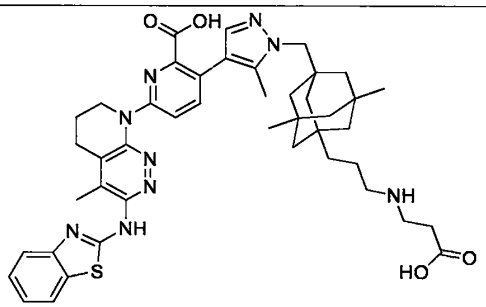
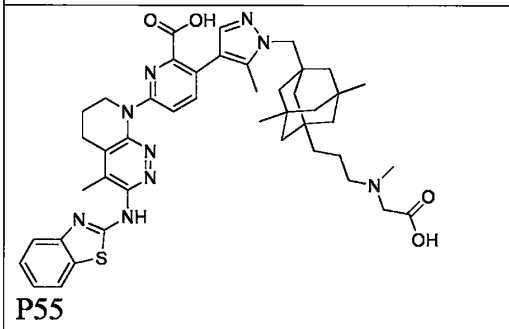
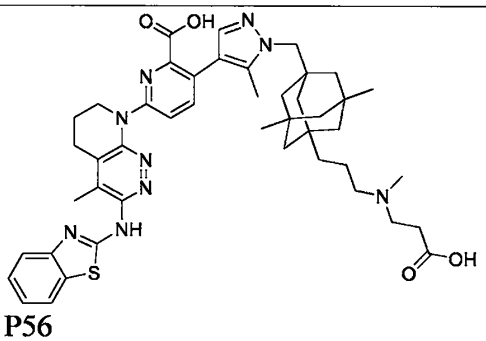
[0562]

 P33	 P34
 P35	 P36
 P37	 P38
 P39	 P40

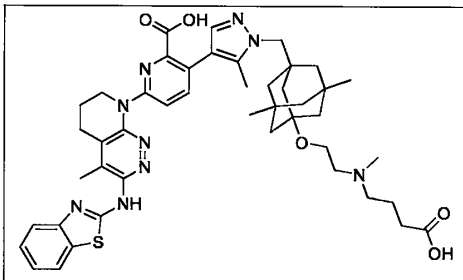
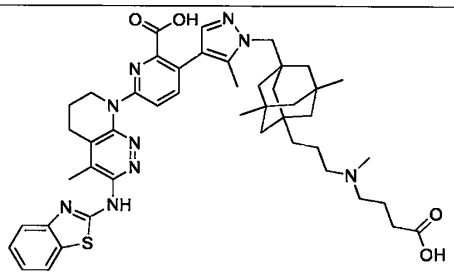
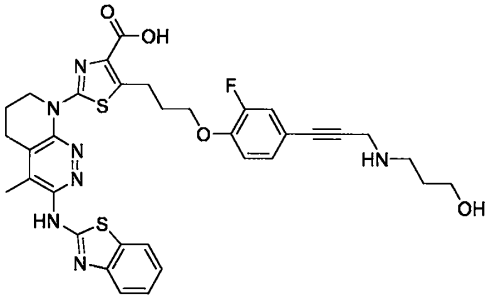
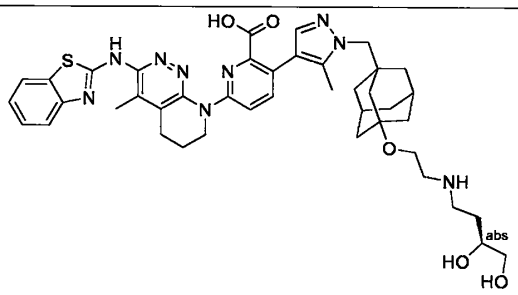
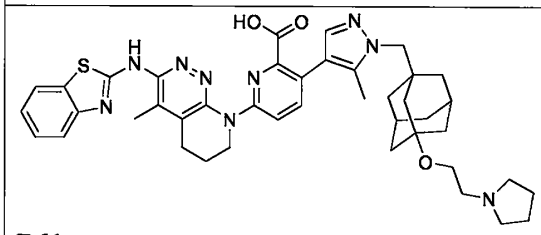
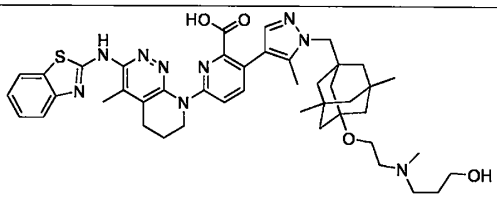
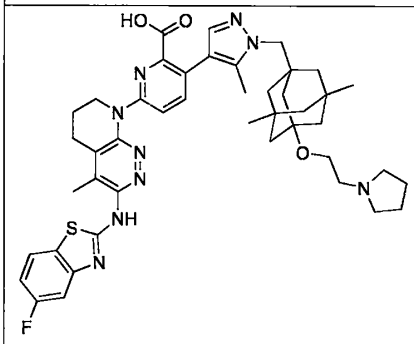
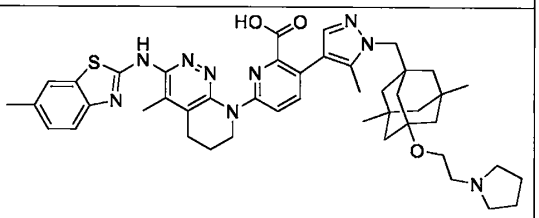
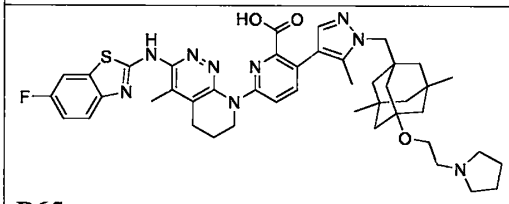
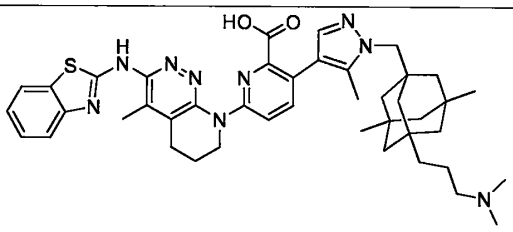
[0563]

 P41	 P42
 P43	 P44
 P45	 P46
	

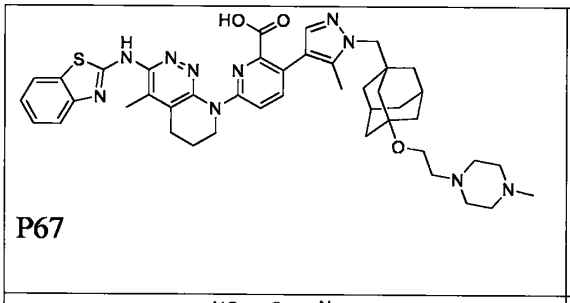
[0564]

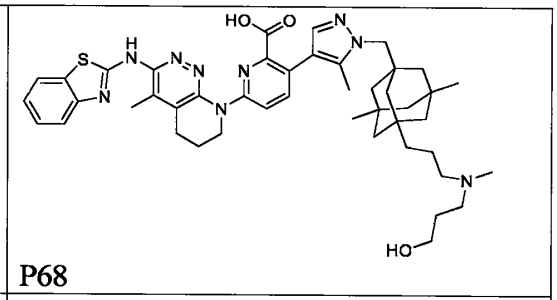
P47	P48
	
P49	P50
	
P51	P52
	
P53	P54
	
P55	P56

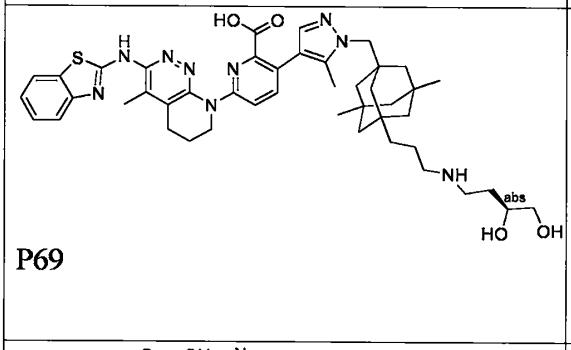
[0565]

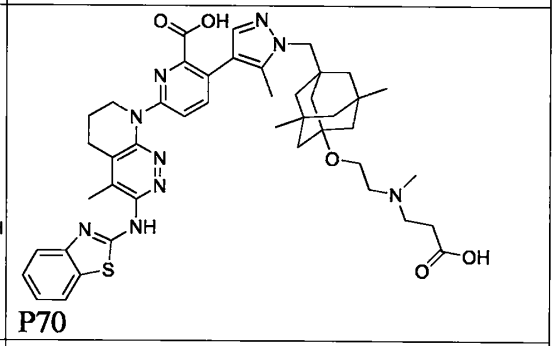
 P57	 P58
 P59	 P60
 P61	 P62
 P63	 P64
 P65	 P66

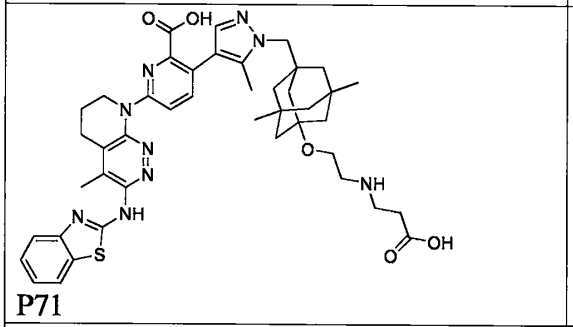
[0566]

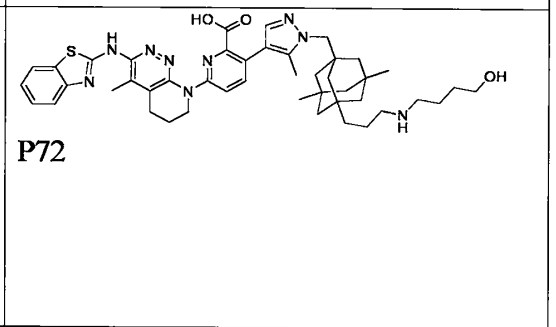

P67

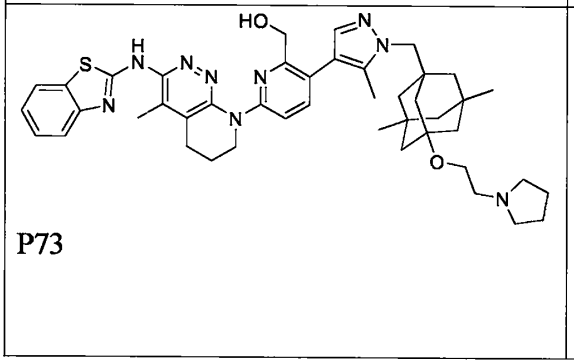

P68

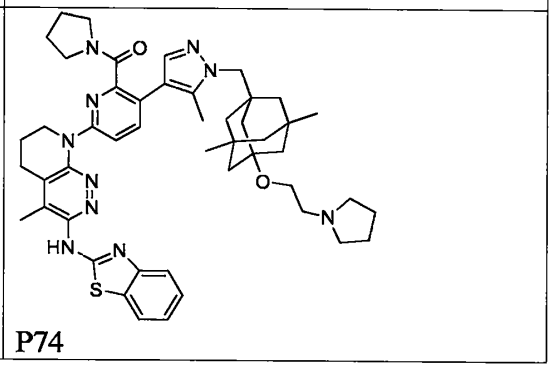

P69


P70

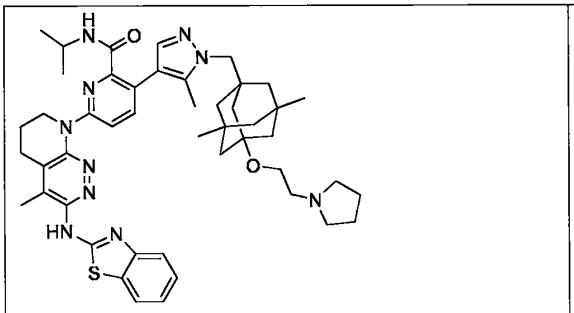

P71

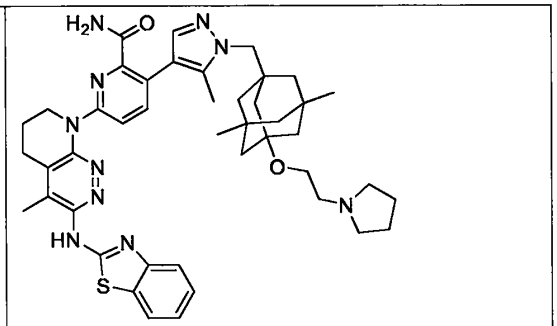

P72


P73


P74

[0567]


P75

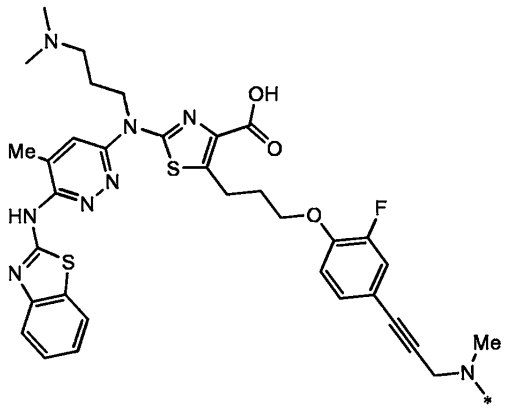
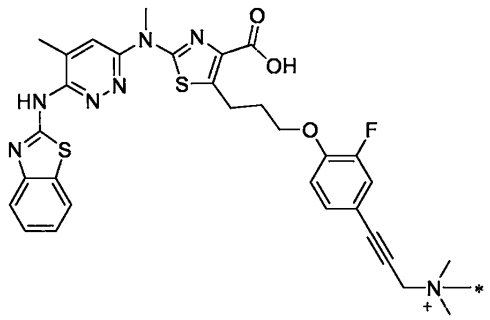
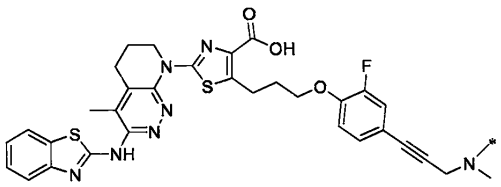
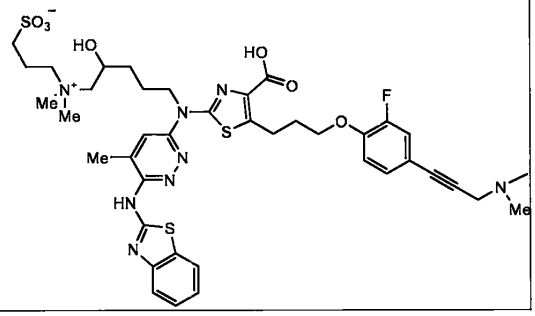

P76

[0568] 或前述任一项的对映异构体、非对映异构体和/或药学上可接受的盐。

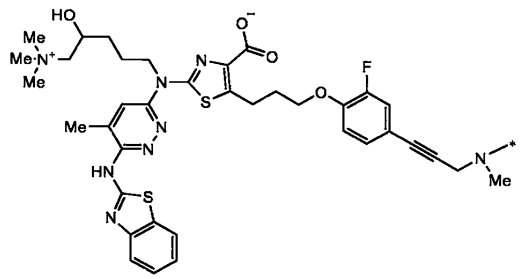
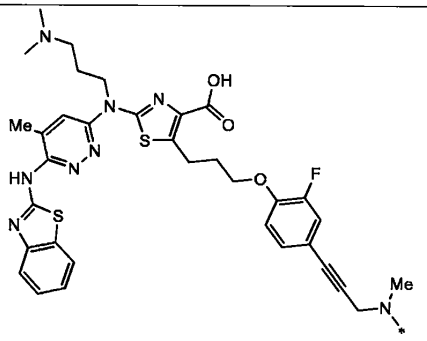
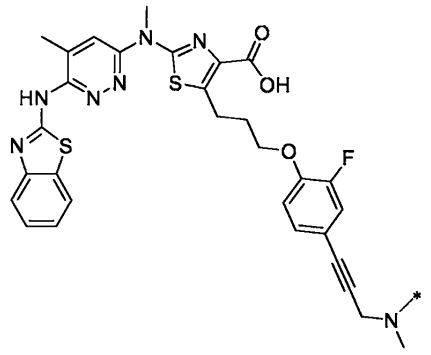
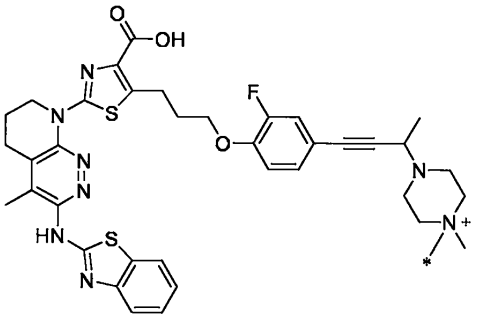
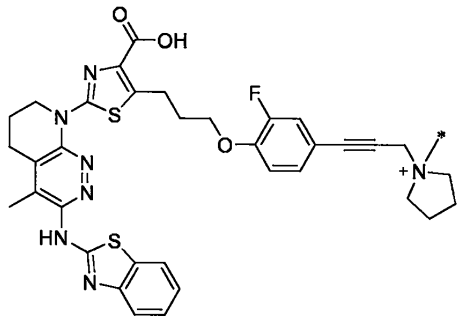
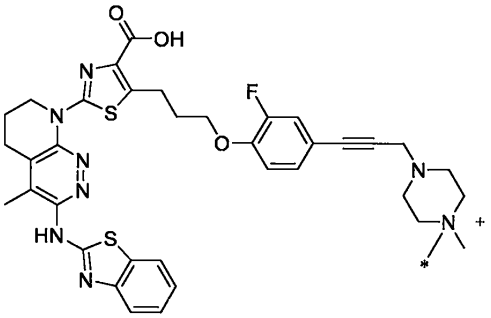
[0569] 在一些实施方案中，D包含选自表A2中的式中的任一个的式，或前述任一个的对映异构体、非对映异构体和/或药学上可接受的盐。

[0570] 表A2

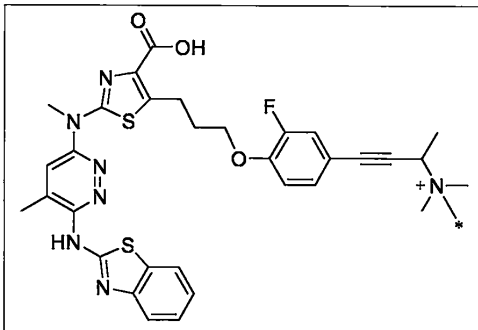
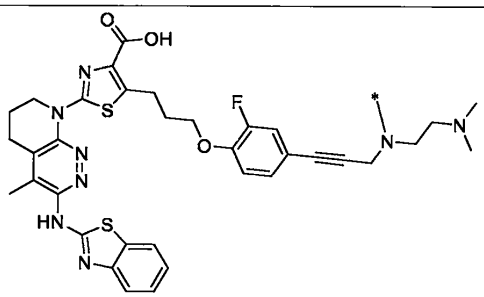
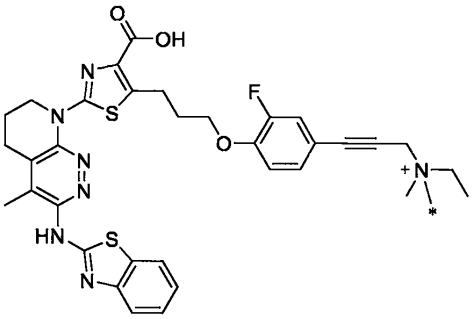
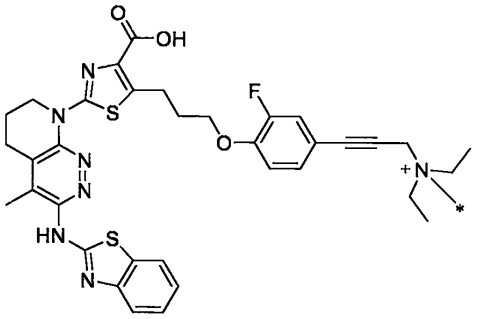
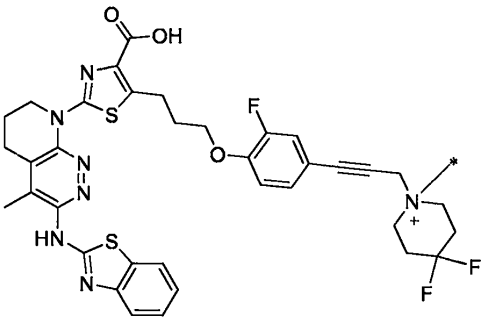
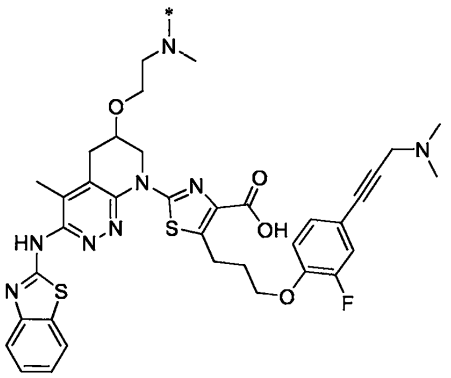
[0571]

 P1a	 P2a
 P3a	

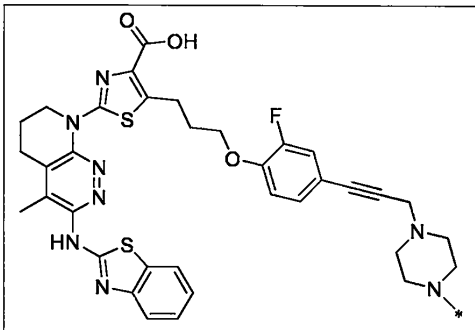
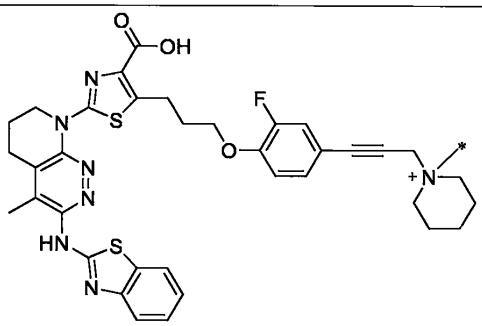
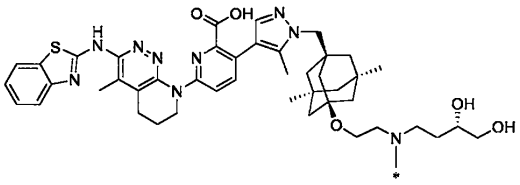
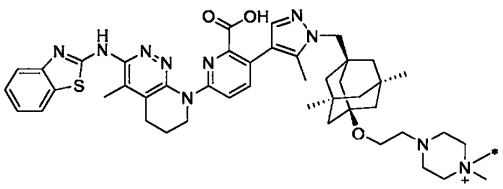
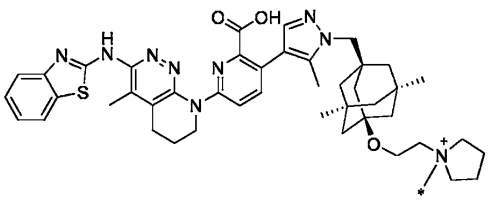
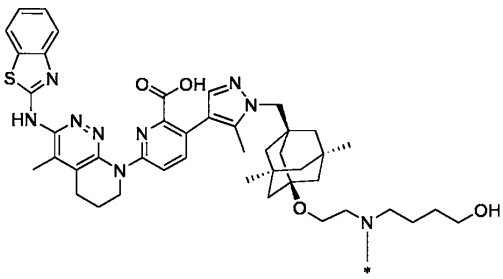
[0572]

	P4a
 P5a	 P6a
 P7a	 P8a
 P9a	 P10a

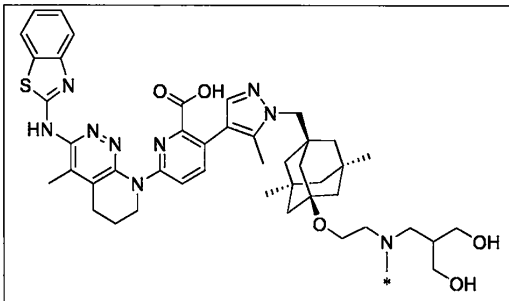
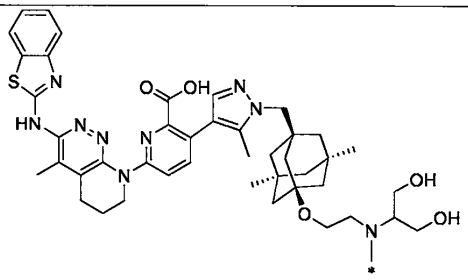
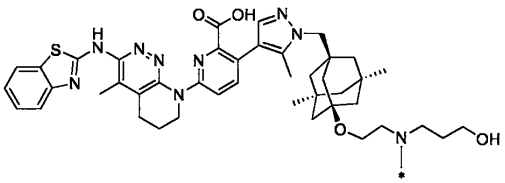
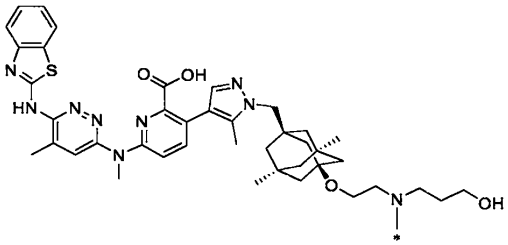
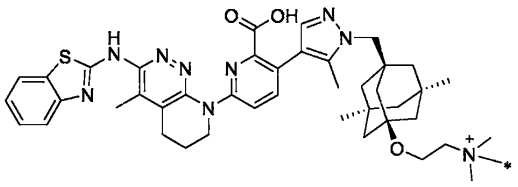
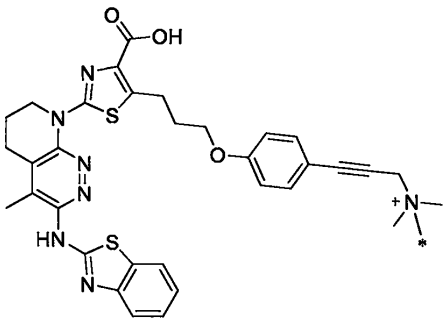
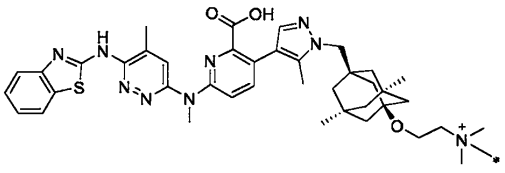
[0573]

 P11a	 P12a
 P13a	 P14a
 P15a	 P16a

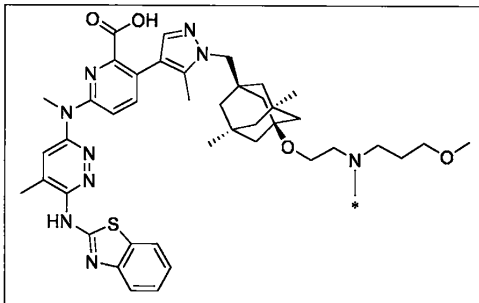
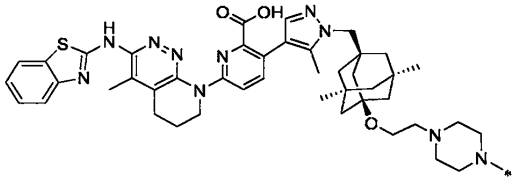
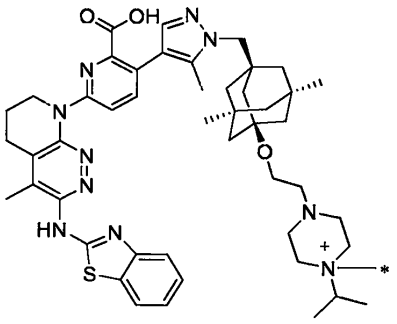
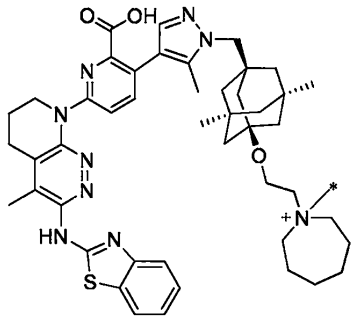
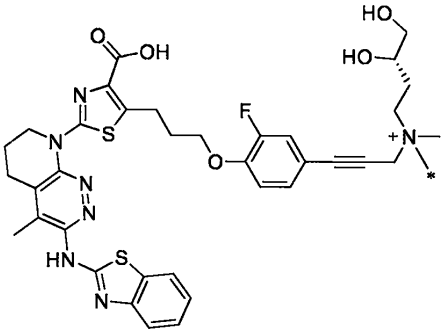
[0574]

 P17a	 P18a
 P19a	 P20a
 P21a	 P22a

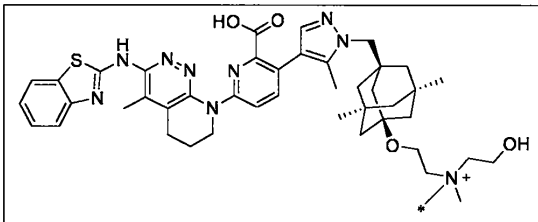
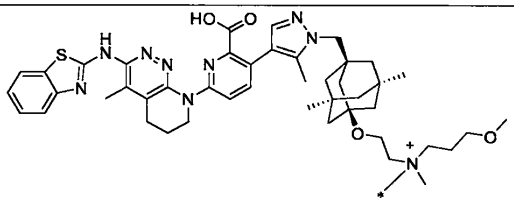
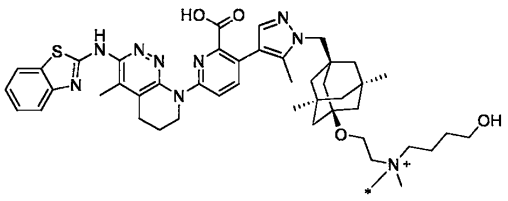
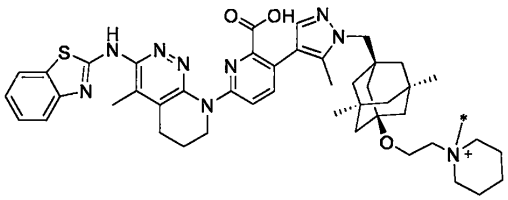
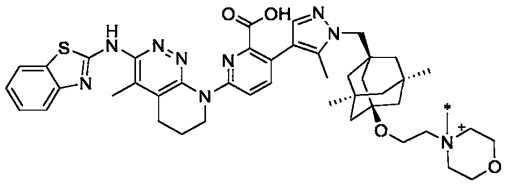
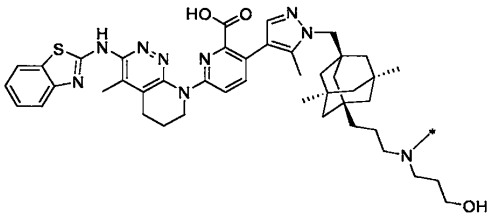
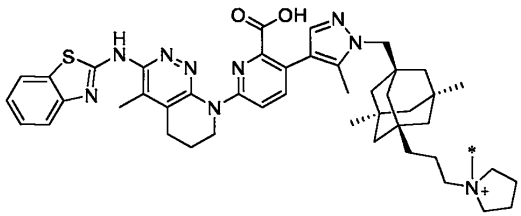
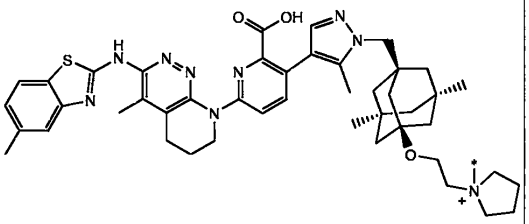
[0575]

 P23a	 P24a
 P25a	 P26a
 P27a	 P28a
	

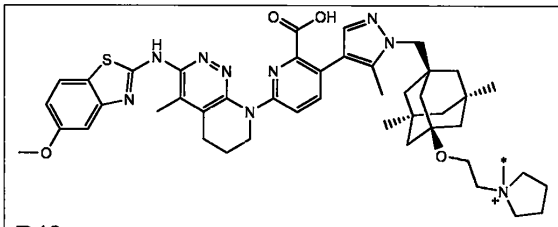
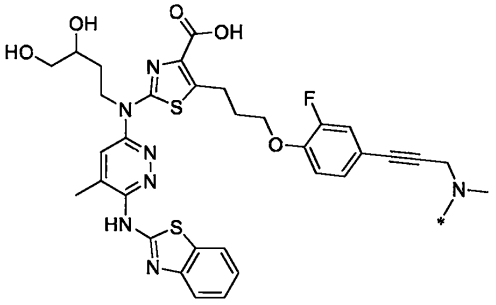
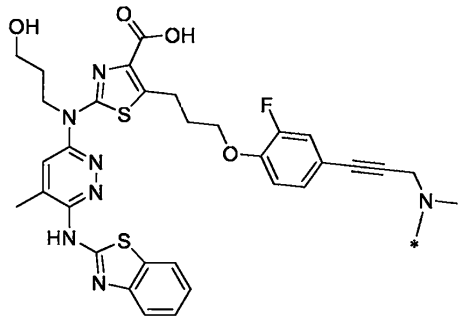
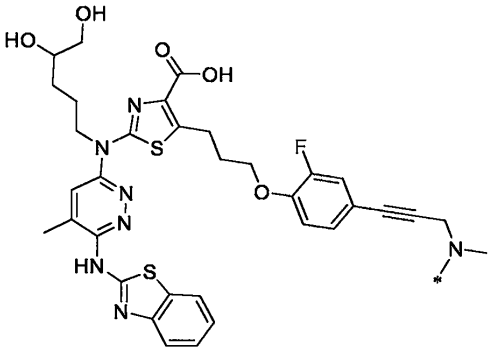
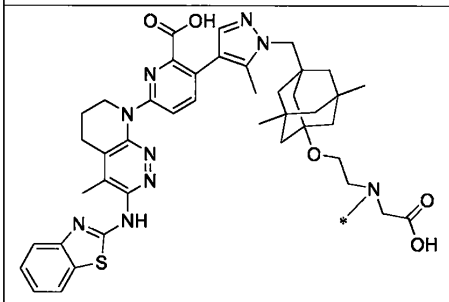
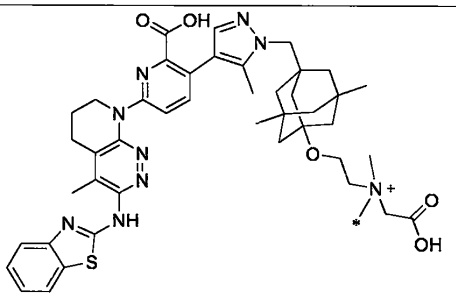
[0576]

 P29a	P30a
 P31a	 P32a
 P33a	 P34a

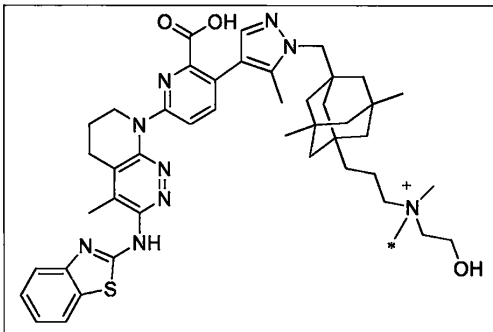
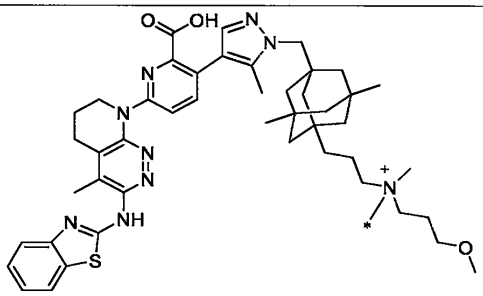
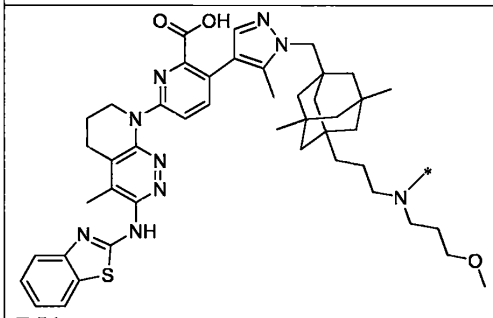
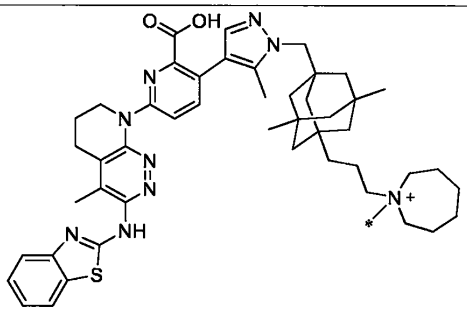
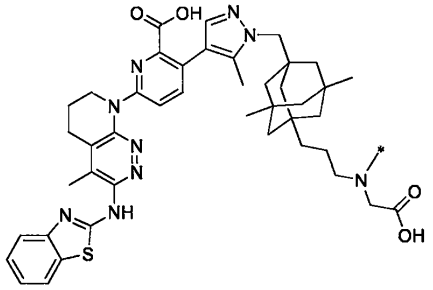
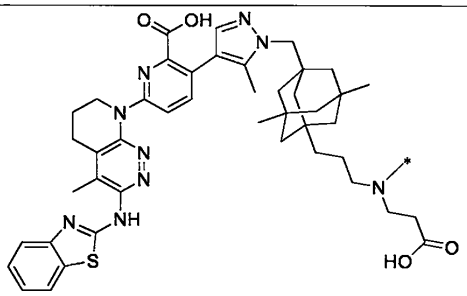
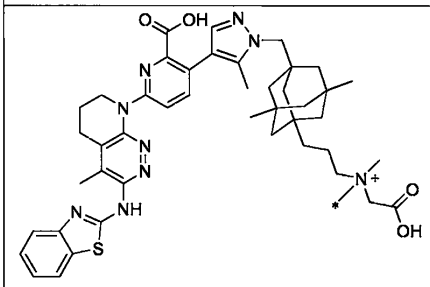
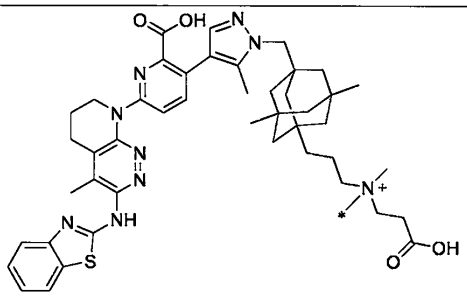
[0577]

 P35a	 P36a
 P37a	 P38a
 P39a	 P40a
 P41a	 P42a

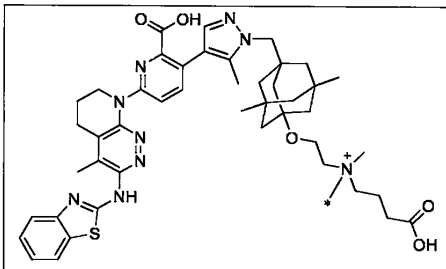
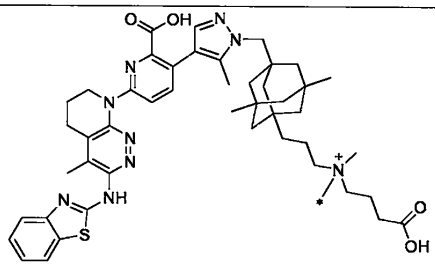
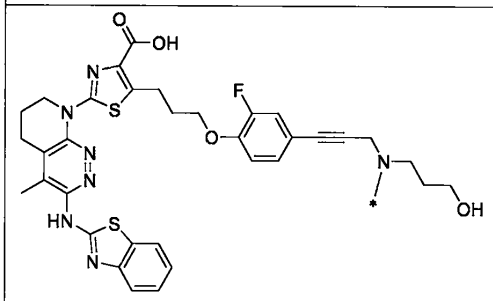
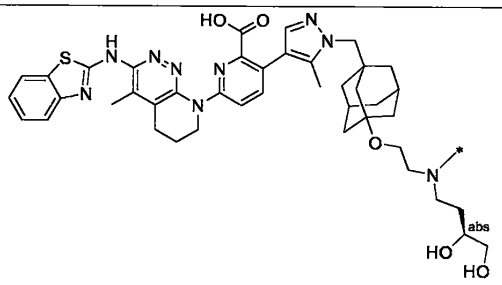
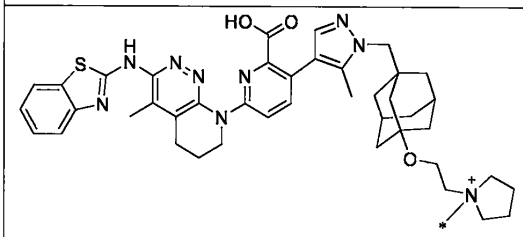
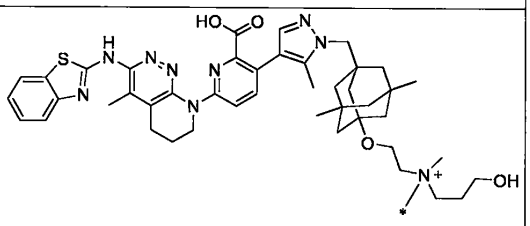
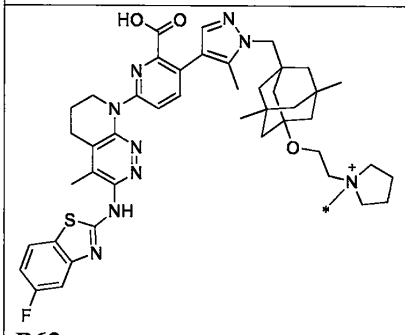
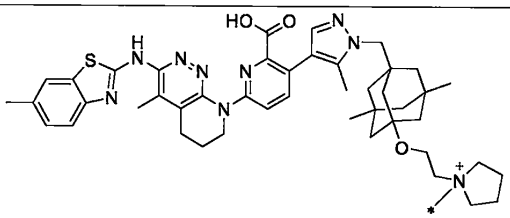
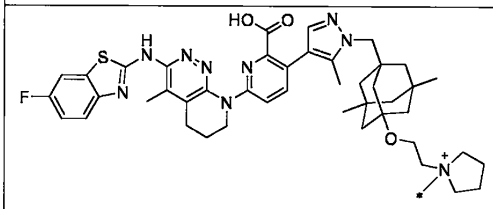
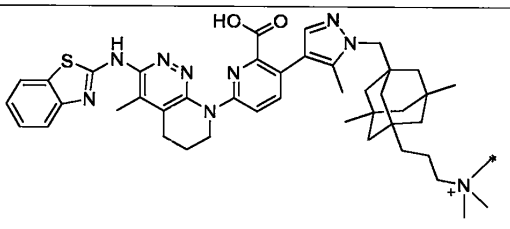
[0578]

 P43a	 P44a
 P45a	 P46a
 P47a	 P48a

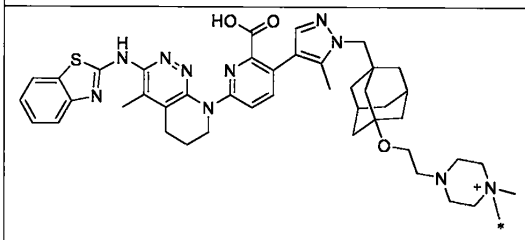
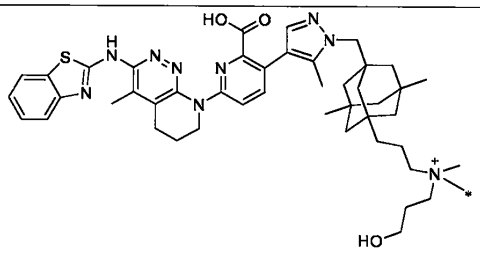
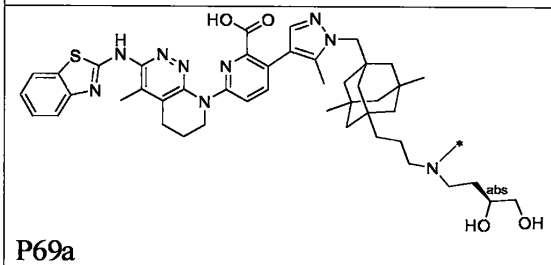
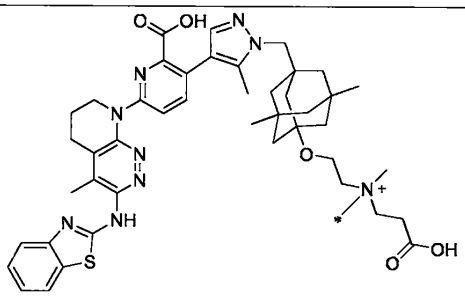
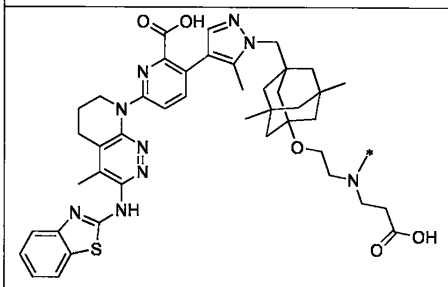
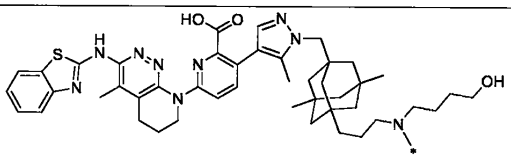
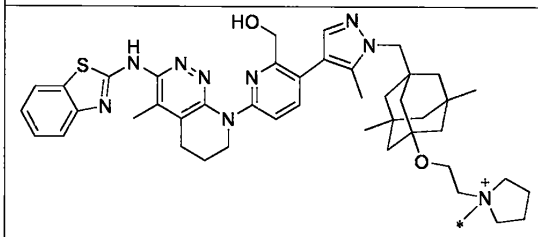
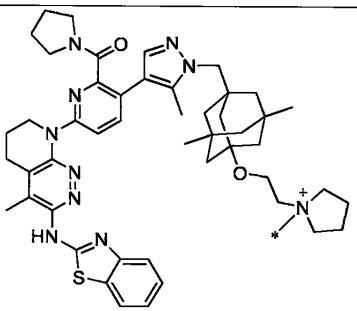
[0579]

 P49a	 P50a
 P51a	 P52a
 P53a	 P54a
 P55a	 P56a

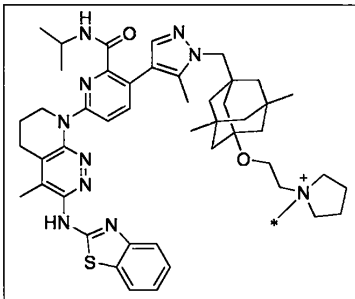
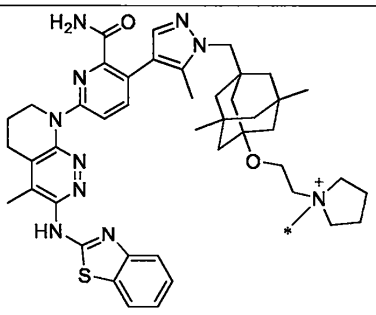
[0580]

 P57a	 P58a
 P59a	 P60a
 P61a	 P62a
 P63a	 P64a
 P65a	

[0581]

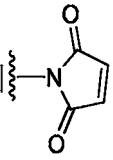
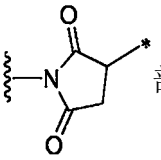
 P67a	P66a  P68a
 P69a	 P70a
 P71a	 P72a
 P73a	 P74a

[0582]

 P75a	 P76a

[0583] 其中——·表示与接头的键。

[0584] 在一些实施方案中，-(L-D)由选自表B的化合物或其对映异构体、非对映异构体

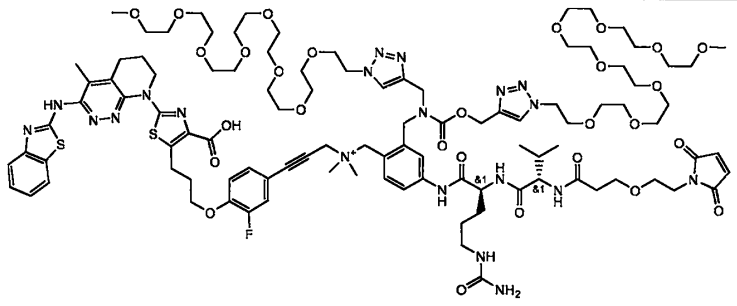
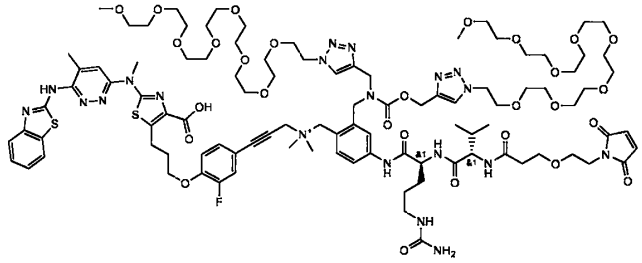
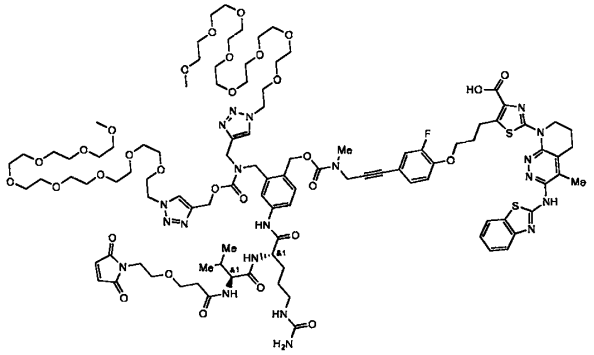
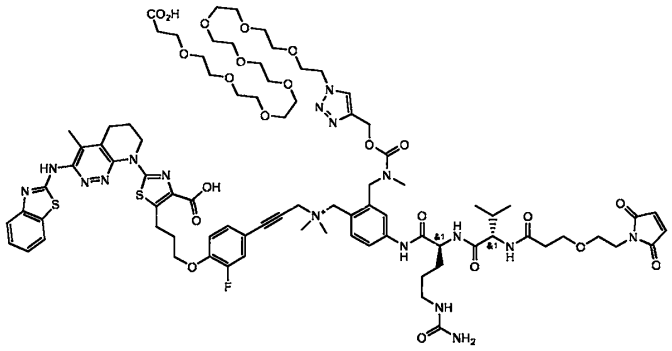
和/或药学上可接受的盐形成。在一些实施方案中，表B化合物中的马来酰亚胺基团与抗体或其抗原结合片段(Ab)形成共价键以形成包含部分的式(1)的ADC化合物，其中*表示与Ab的附接点。对于表A1、表A2、表B和表1中的化合物，取决于它们的电荷，这些化合物可以含有一种药学上可接受的一价阴离子抗衡离子M_1^-。在一些实施方案中，单价阴离子抗衡离子M_1^-可以选自溴离子、氯离子、碘离子、乙酸根、三氟乙酸根、苯甲酸根、甲磺酸根、甲苯磺酸根、三氟甲磺酸根、甲酸根等。在一些实施方案中，单价阴离子抗衡离子M_1^-为三氟乙酸根或甲酸根。

[0585] 表B.示例性接头药物组

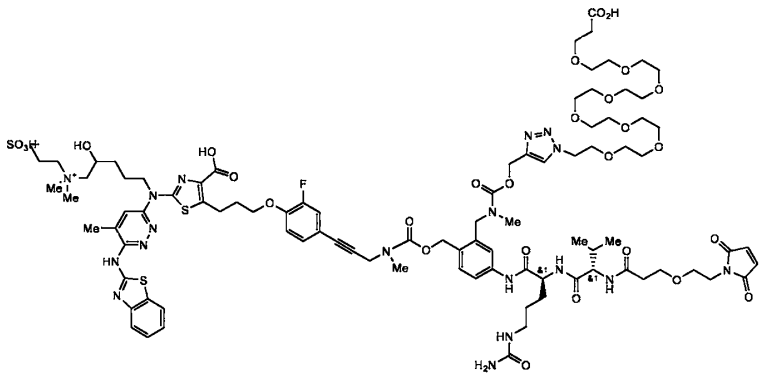
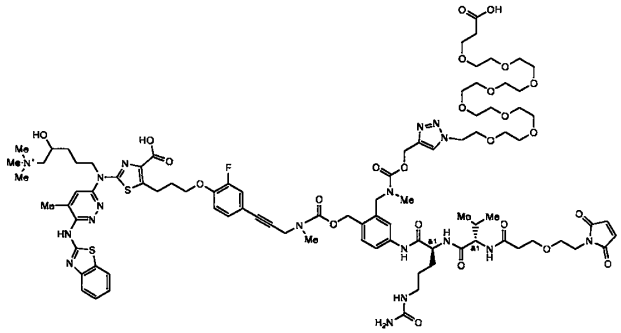
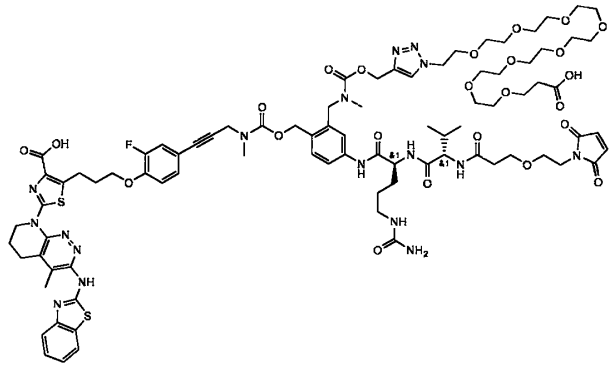
[0586]

名称	接头负载结构

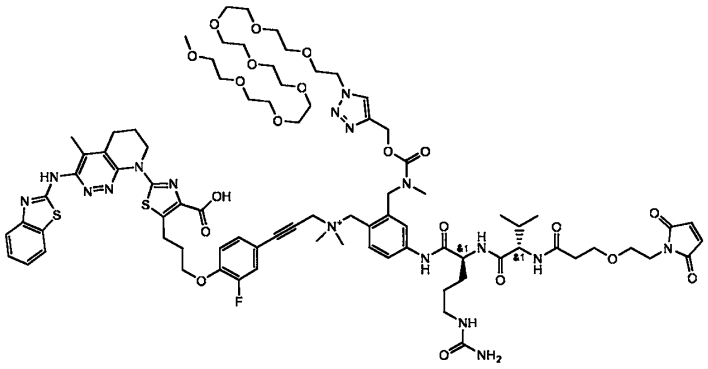
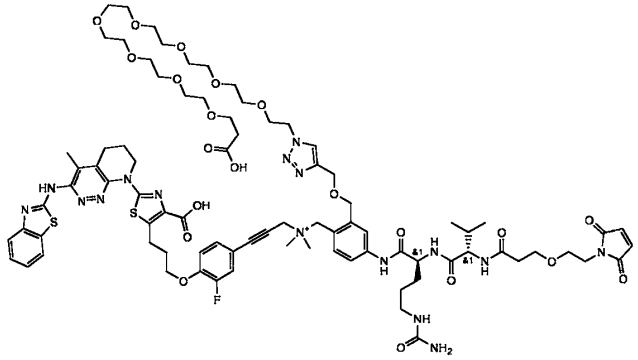
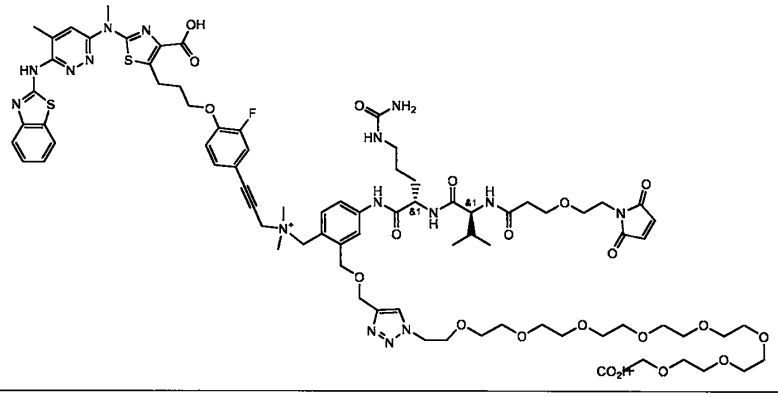
[0587]

L1A-P1	
L1A-P2	
L1C-P3	
L3A-P1	

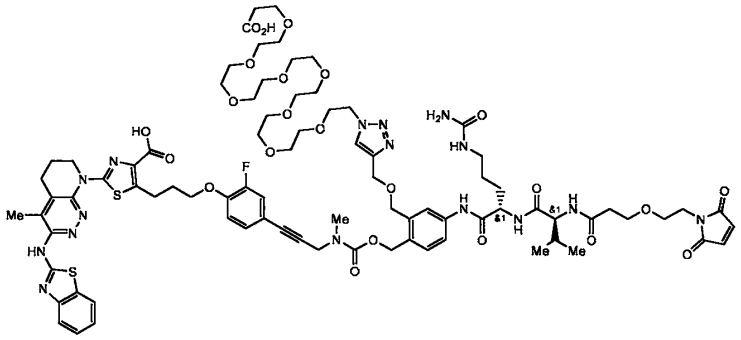
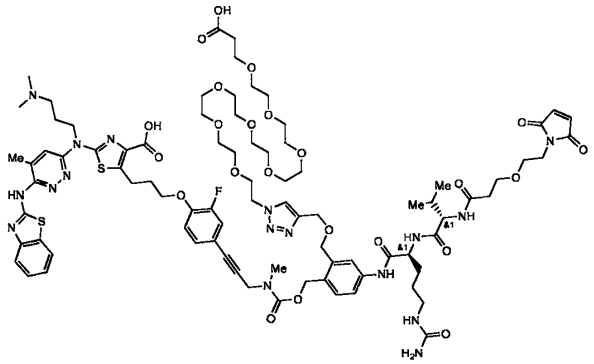
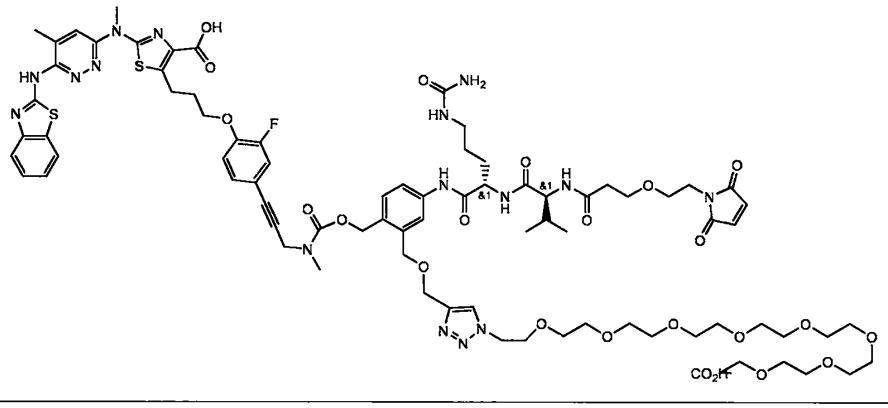
[0588]

L3C-P4	
L3C-P5	
L3C-P3	

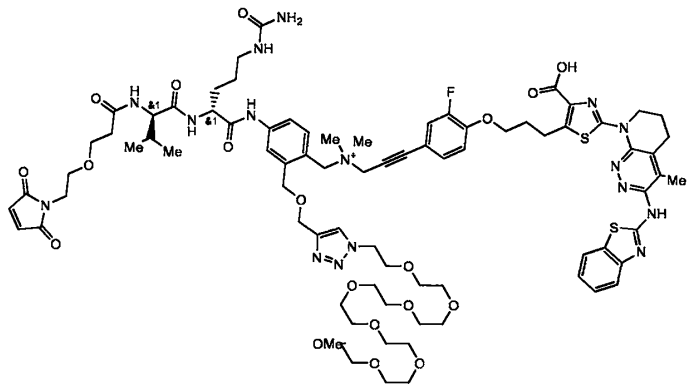
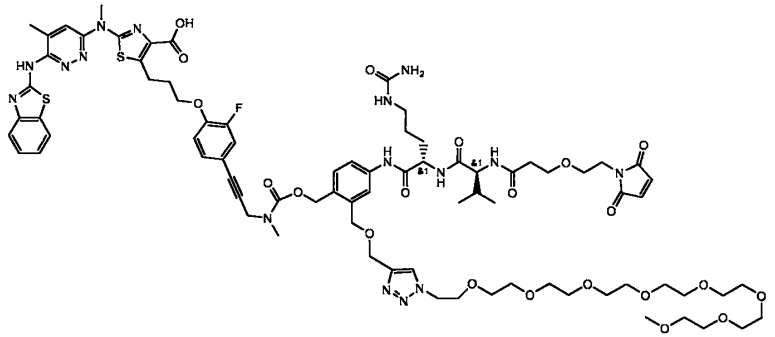
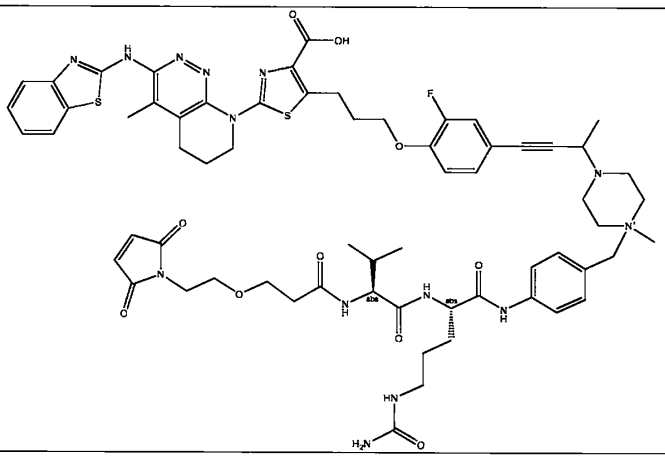
[0589]

L4A-P1	
L7A-P1	
L7A-P2	

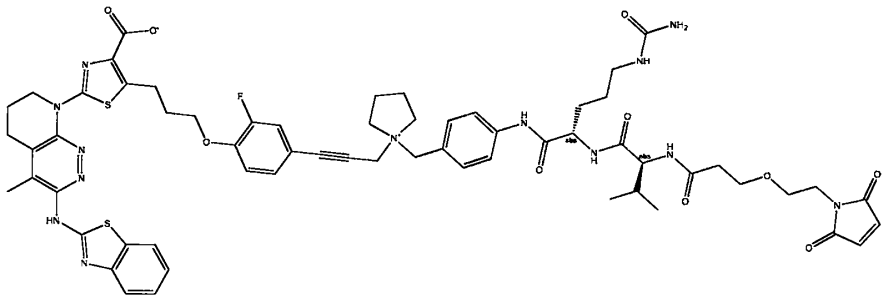
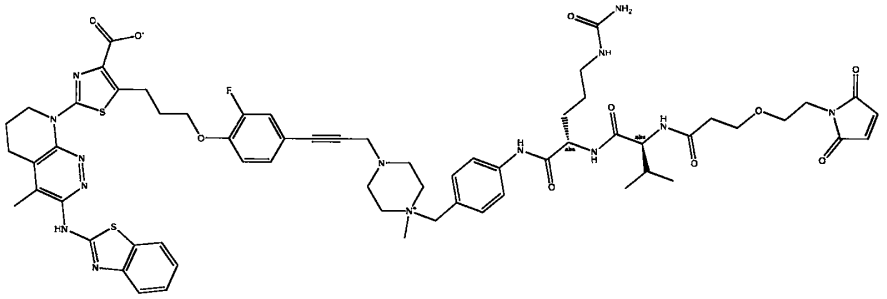
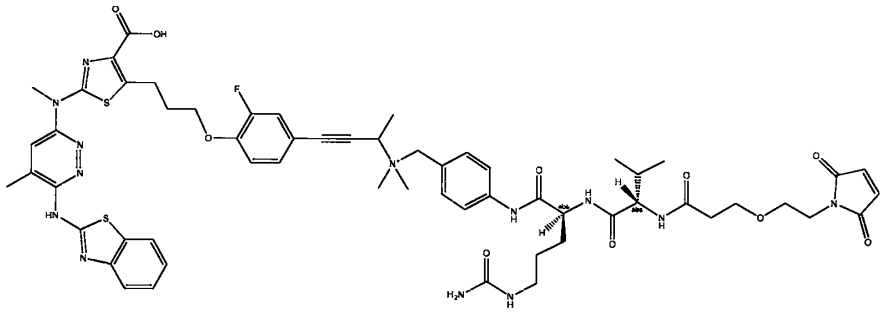
[0590]

L7C-P3	
L7C-P6	
L7C-P7	

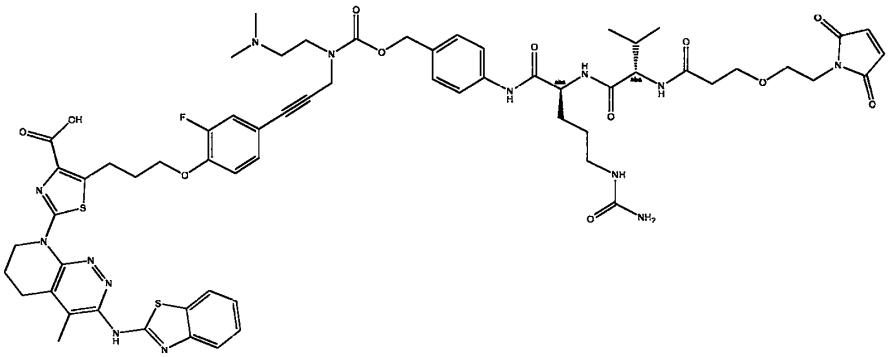
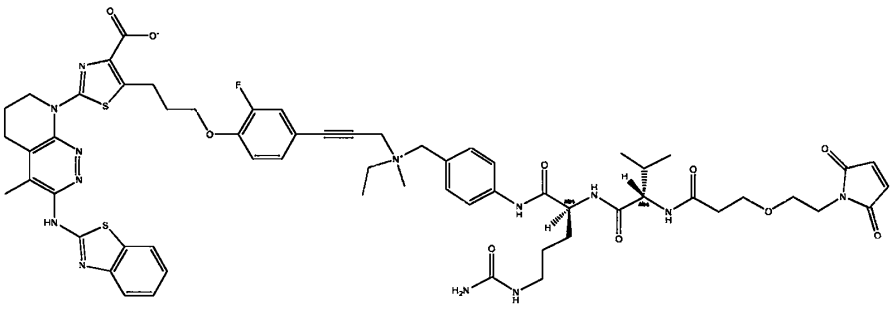
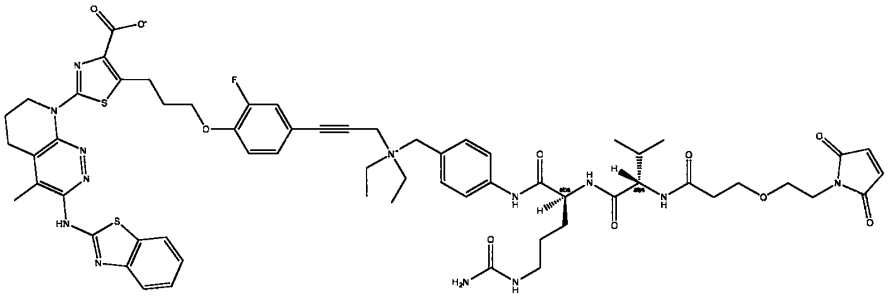
[0591]

L8A-P1	
L8C-P7	
L9A-P8	

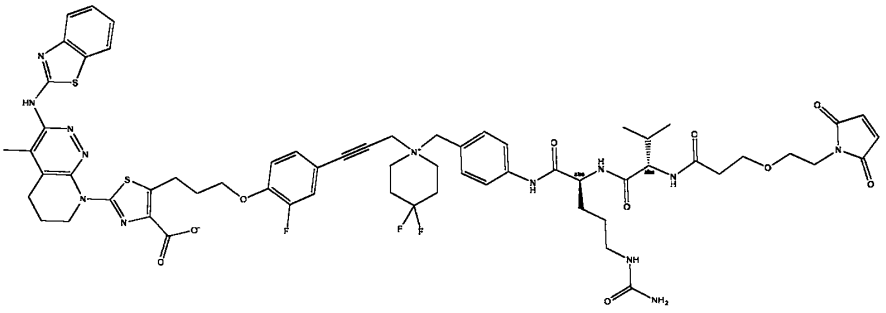
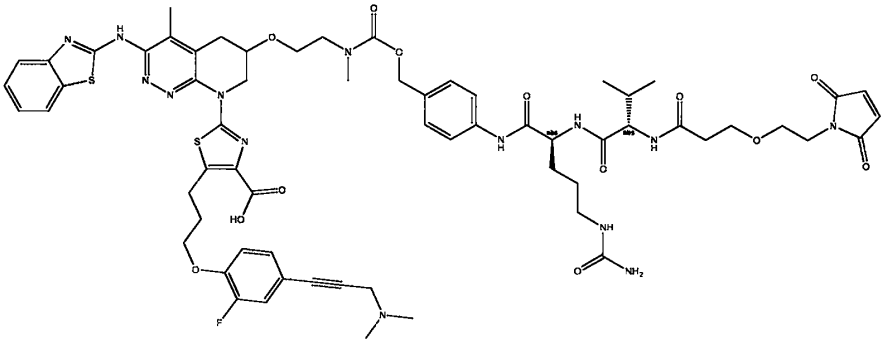
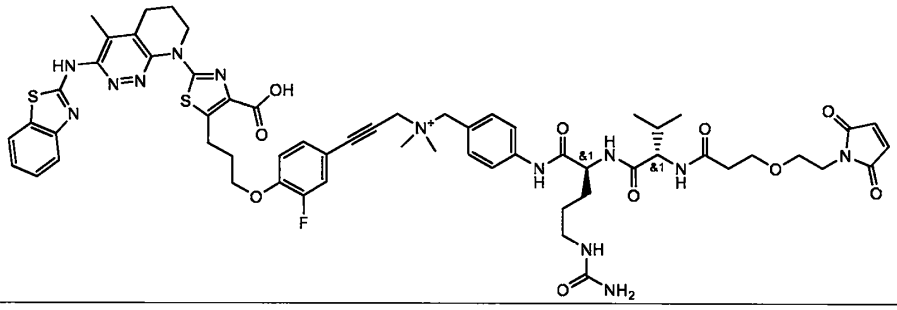
[0592]

L9A-P9	
L9A-P10	
L9A-P11	

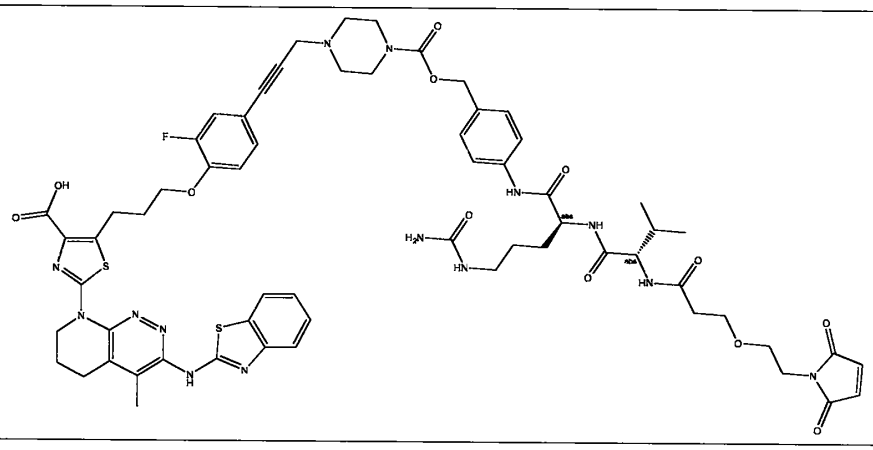
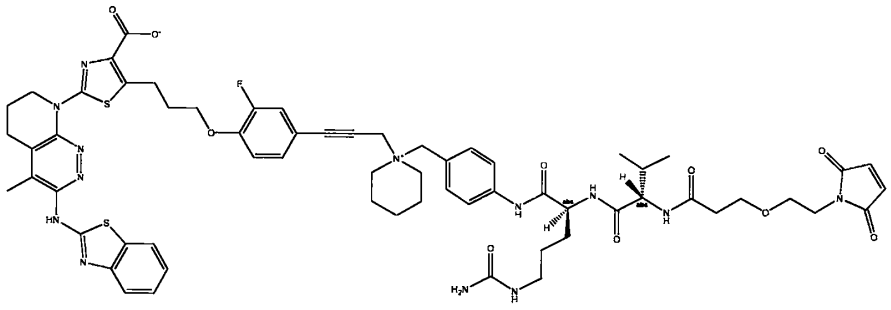
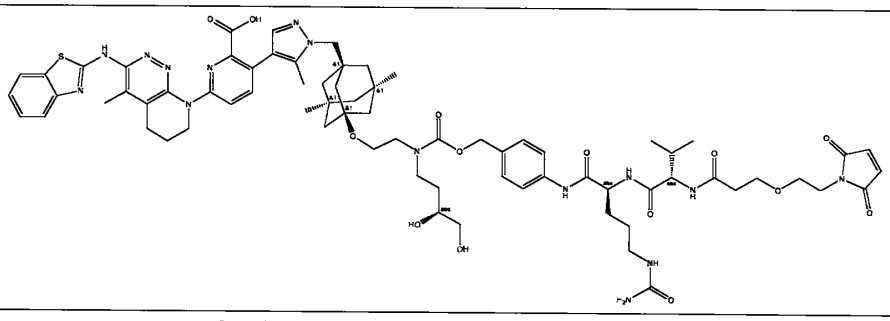
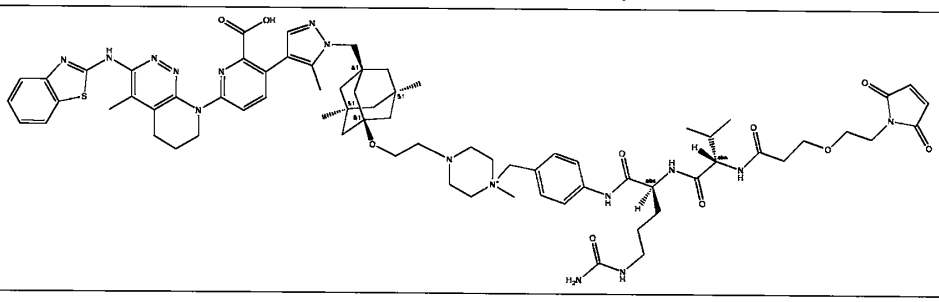
[0593]

L9C-P12	
L9A-P13	
L9A-P14	

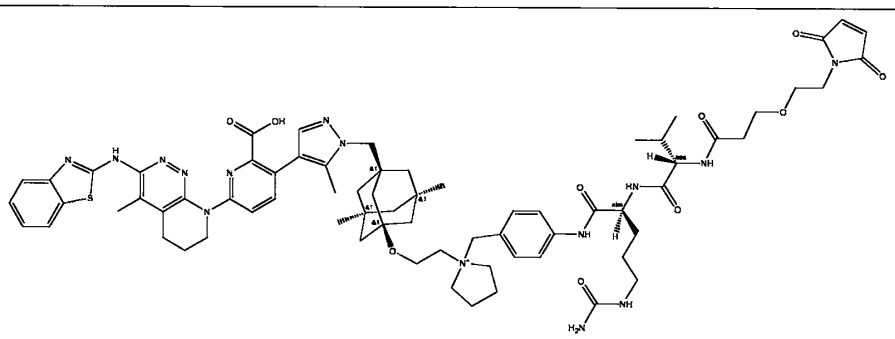
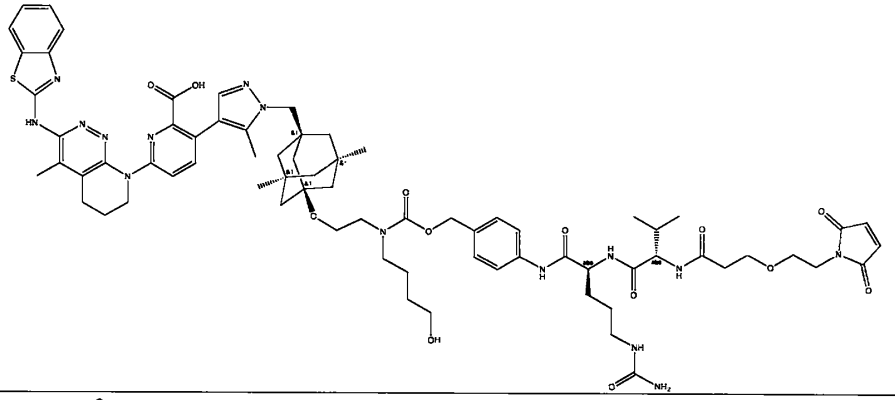
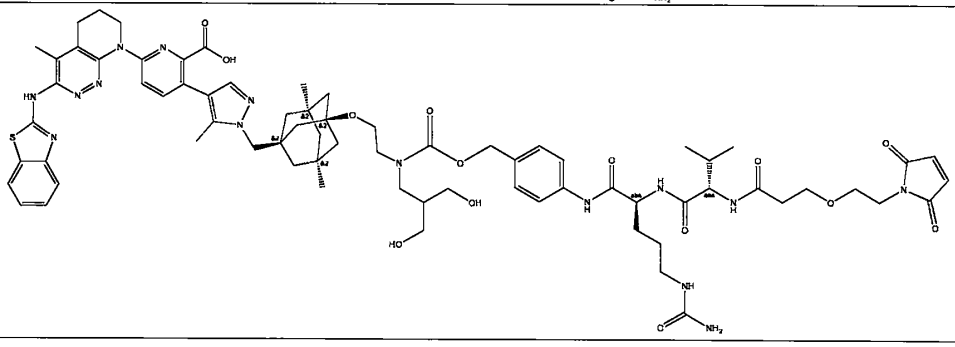
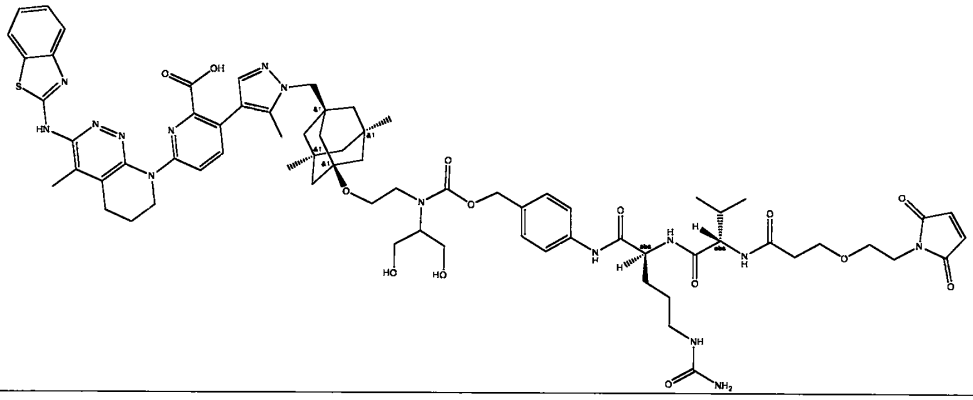
[0594]

L9A-P15	
L9C-P16	
L9A-P1	

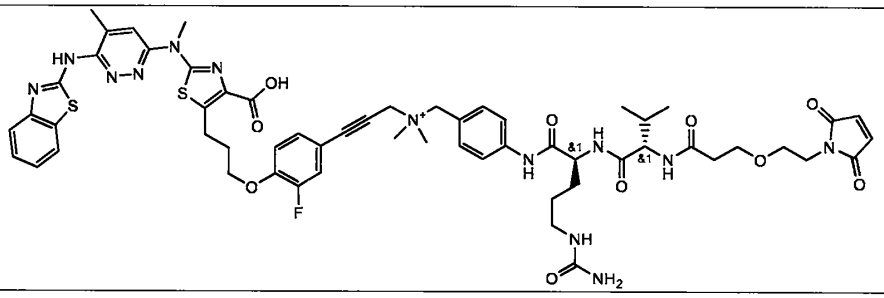
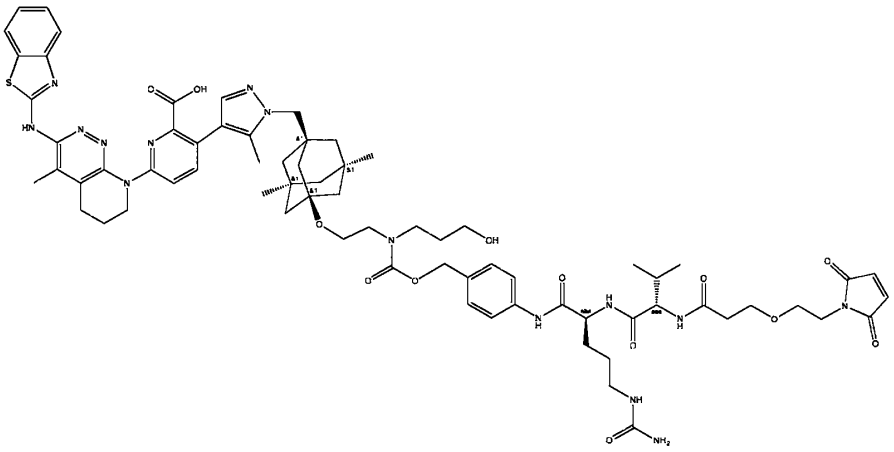
[0595]

L9C-P17	
L9A-P18	
L9C-P19	
L9A-P20	

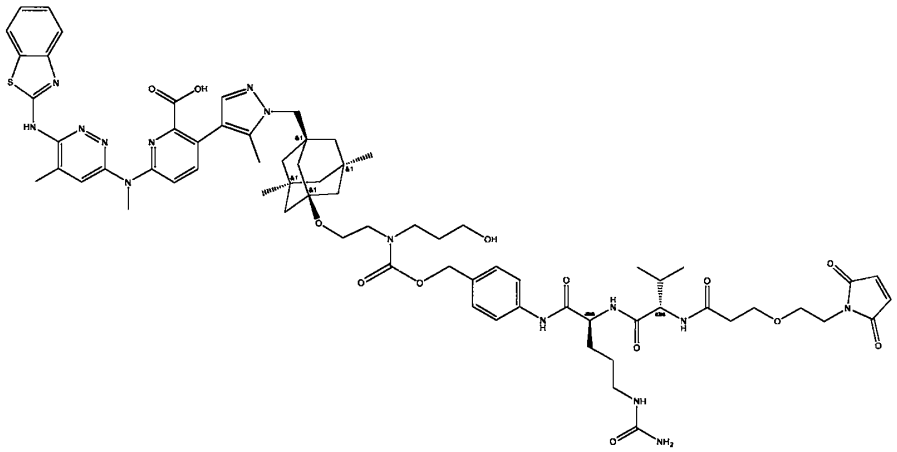
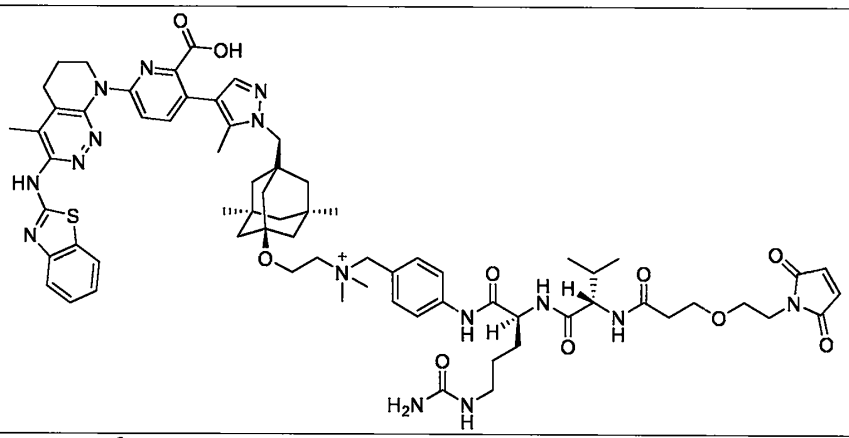
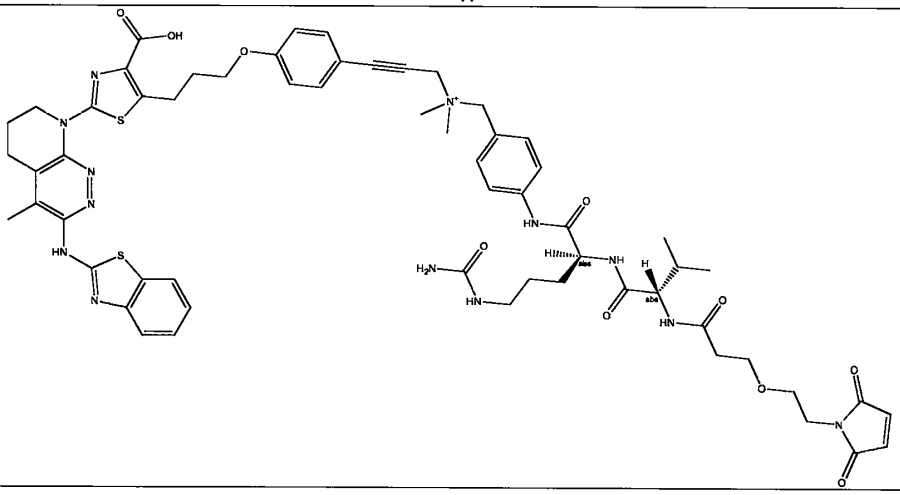
[0596]

L9A-P21	
L9C-P22	
L9C-P23	
L9C-P24	

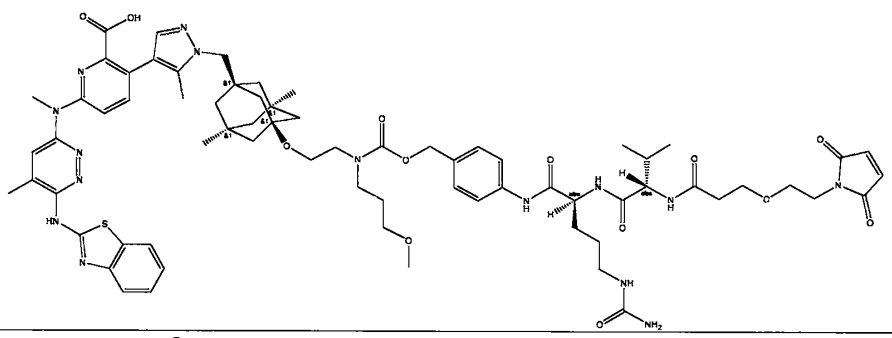
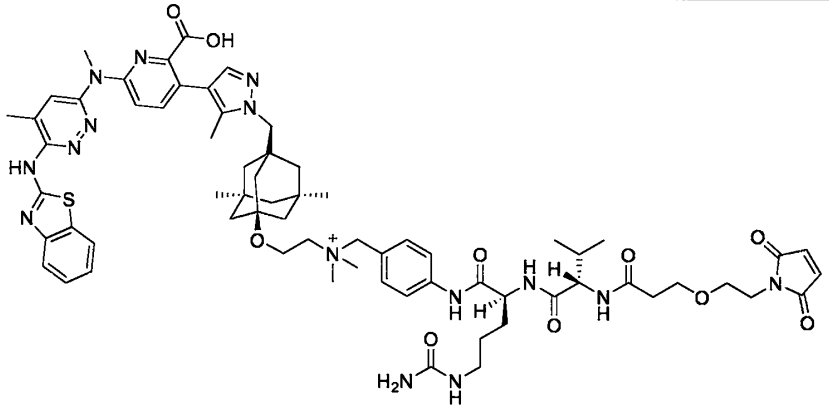
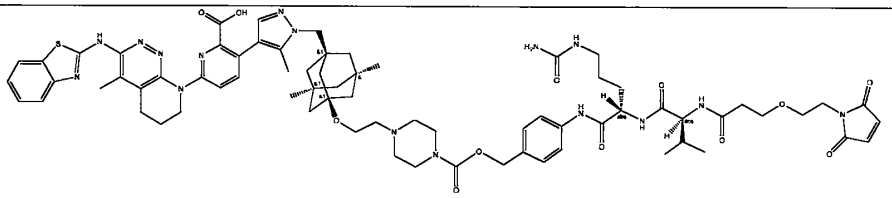
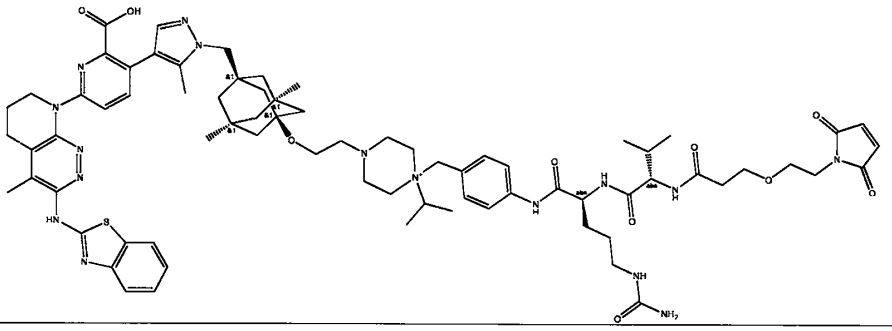
[0597]

L9A-P2	
L9C-P25	

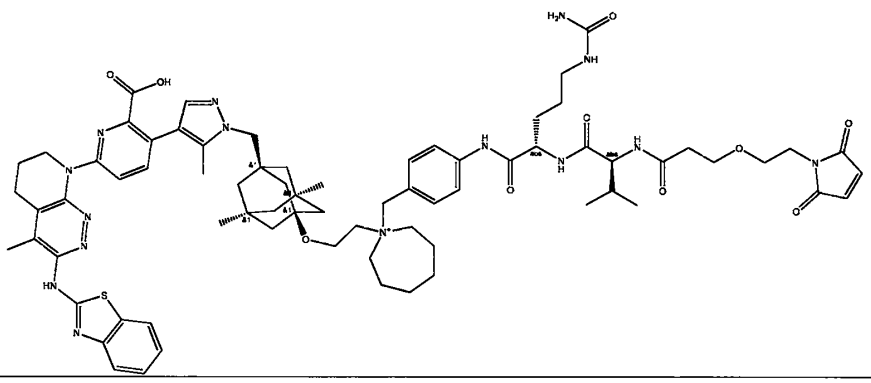
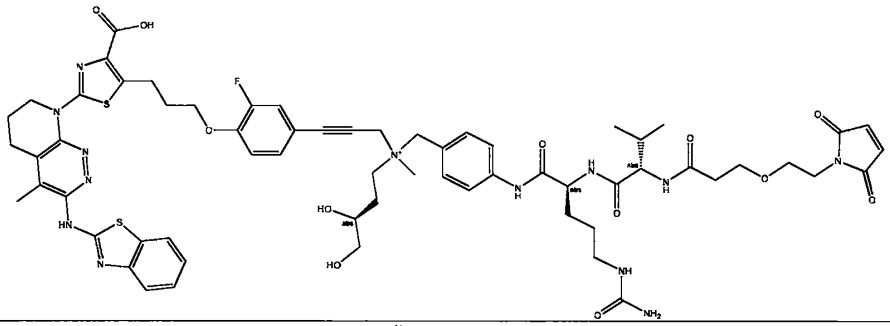
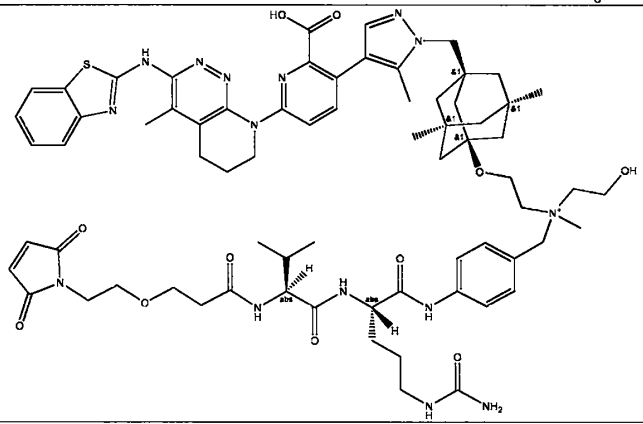
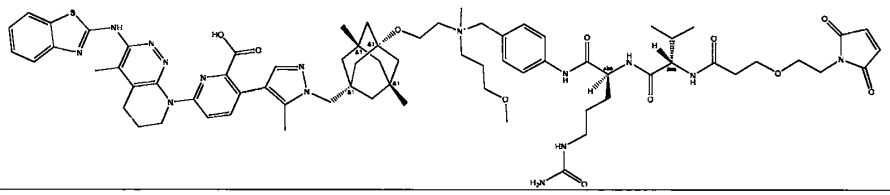
[0598]

L9C-P26	
L9A-P27	
L9A-P28	

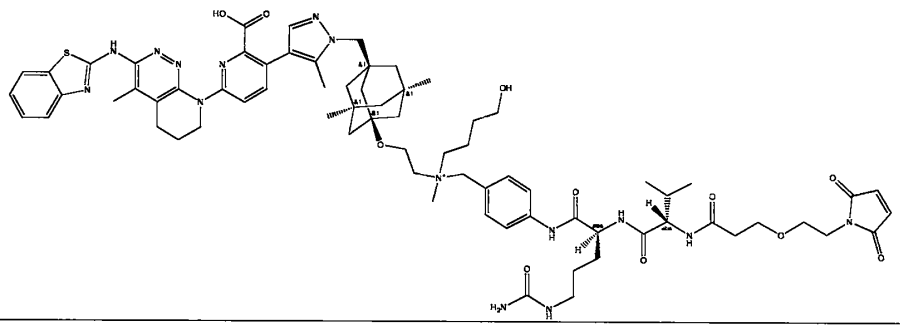
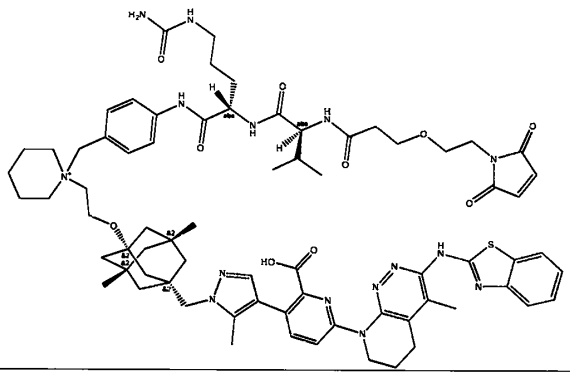
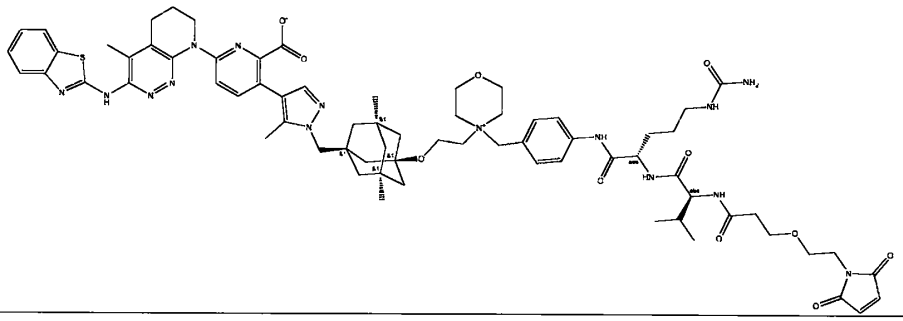
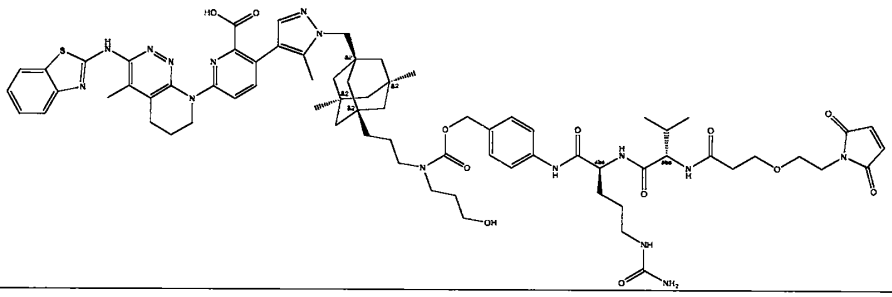
[0599]

L9C-P29	
L9A-P30	
L9C-P31	
L9A-P32	

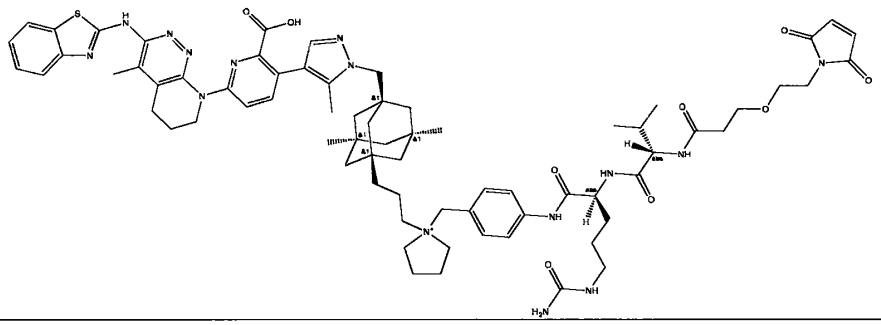
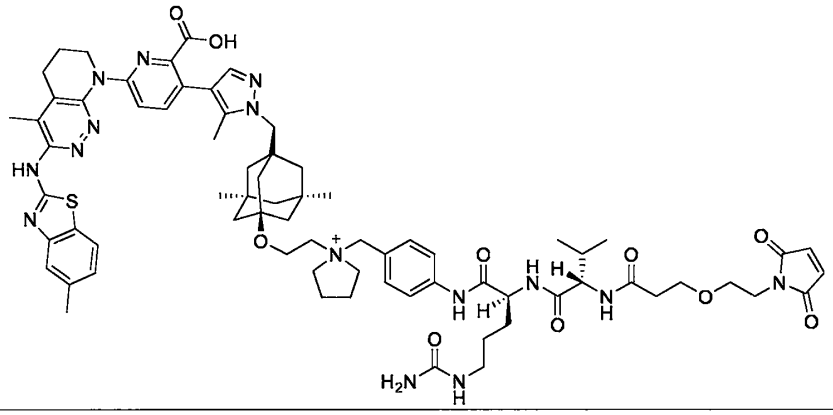
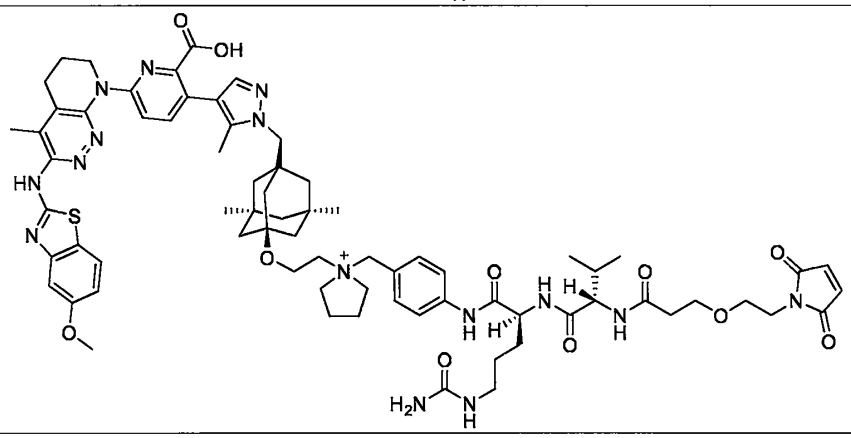
[0600]

L9A-P33	
L9A-P34	
L9A-P35	
L9A-P36	

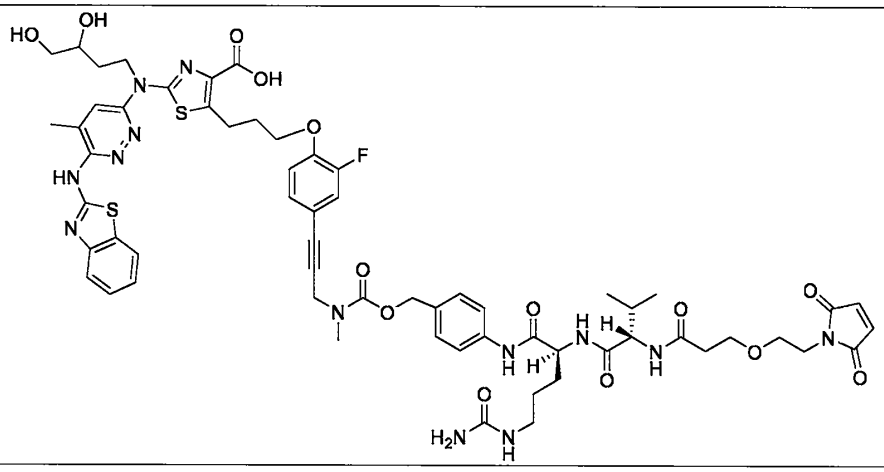
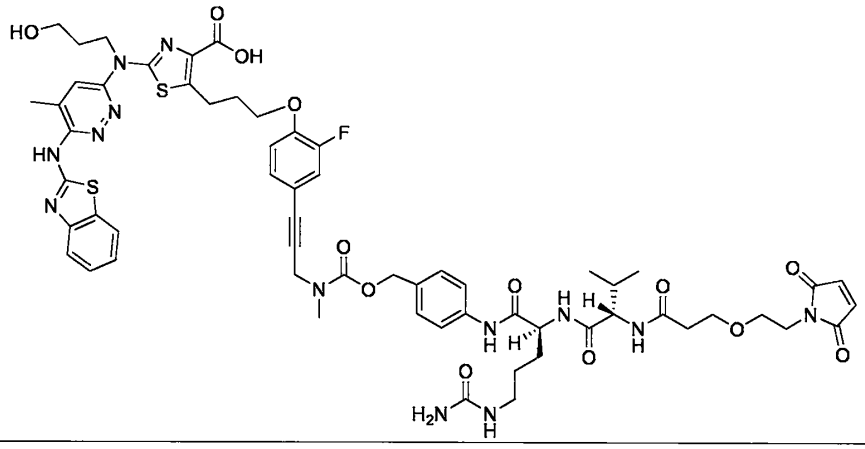
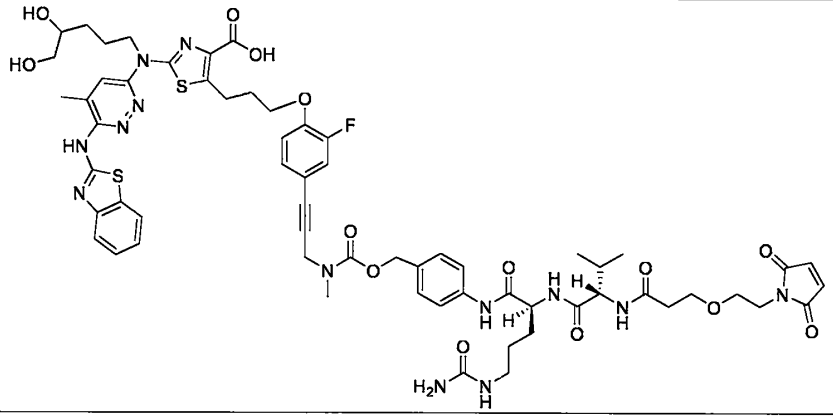
[0601]

L9A-P37	
L9A-P38	
L9A-P39	
L9C-P40	

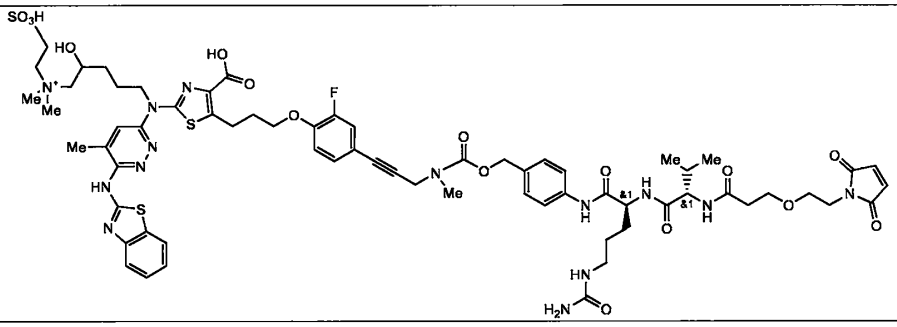
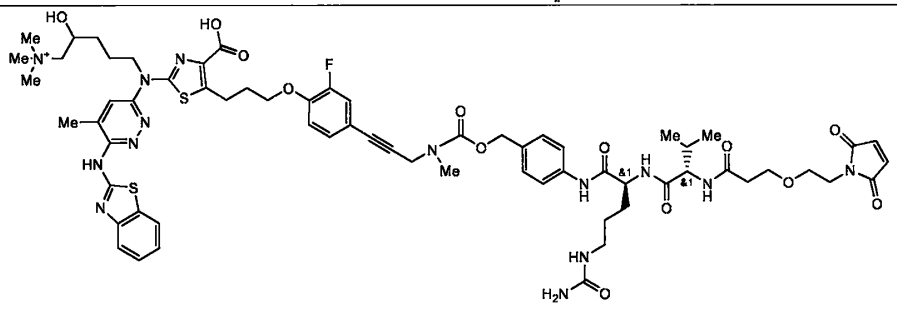
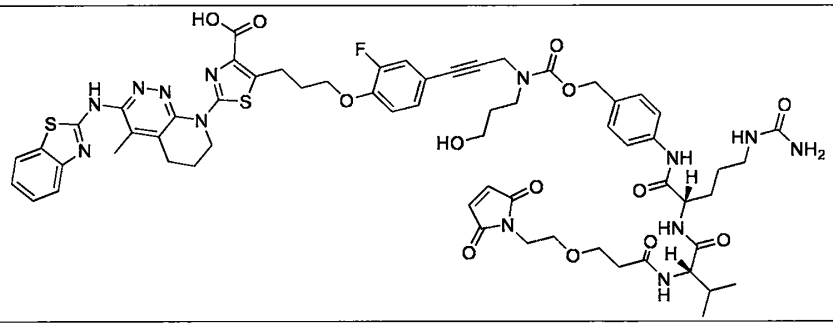
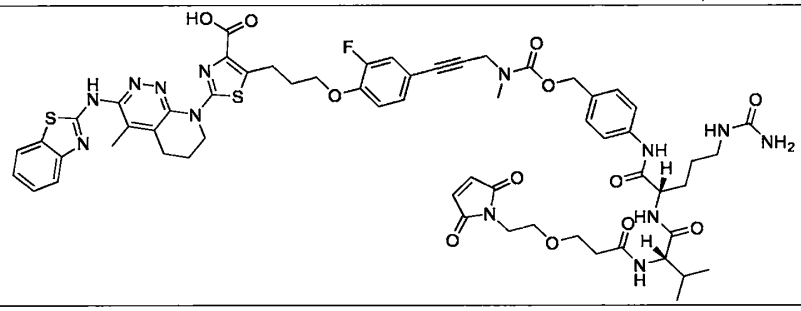
[0602]

L9A-P41	
L9A-P42	
L9A-P43	

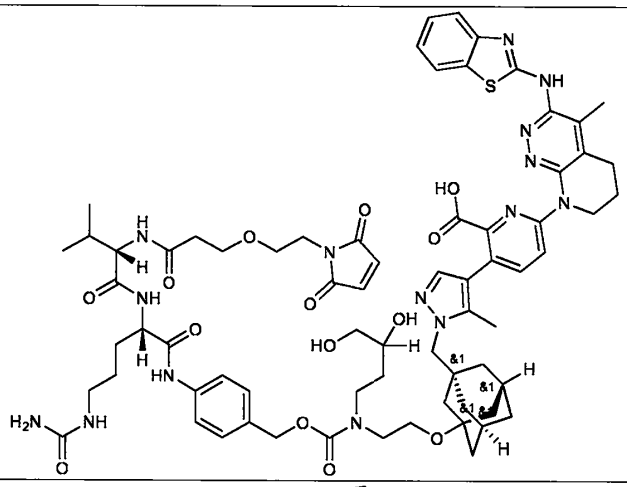
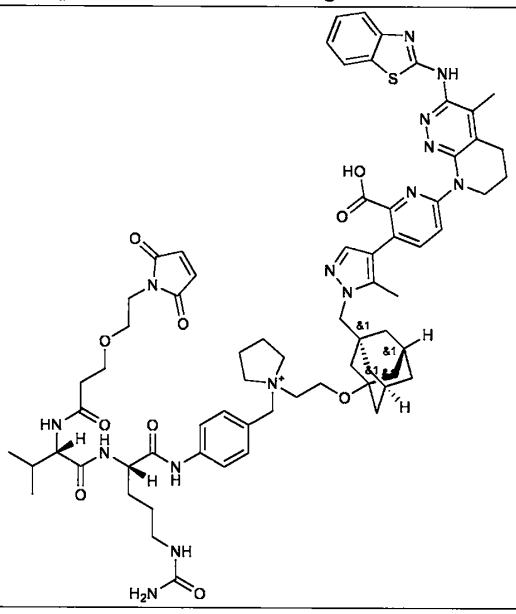
[0603]

L9C-P44	
L9C-P45	
L9C-P46	
L9C-P4	

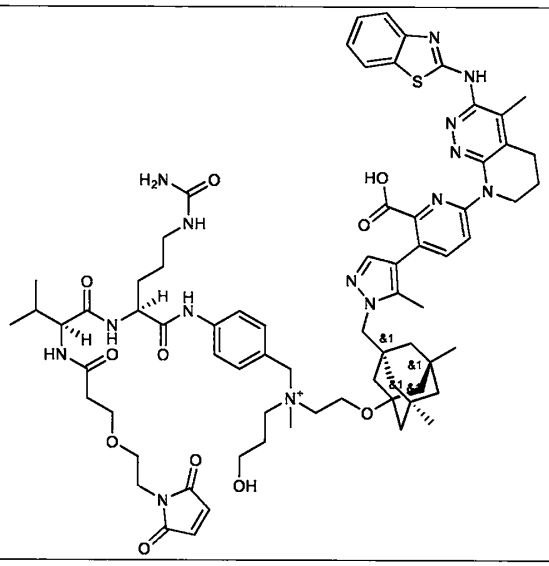
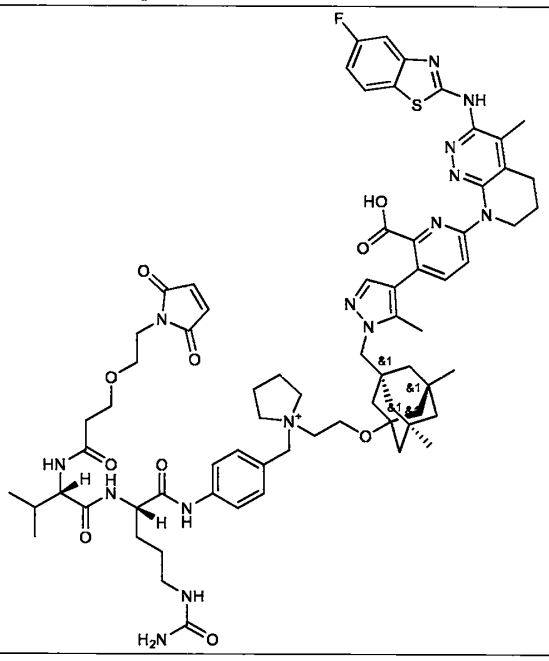
[0604]

	
L9C-P5	
L9C-P59	
L9C-P3	

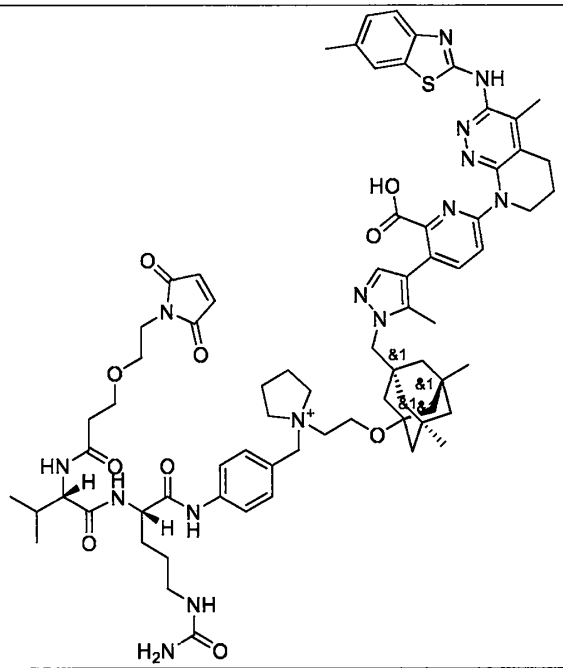
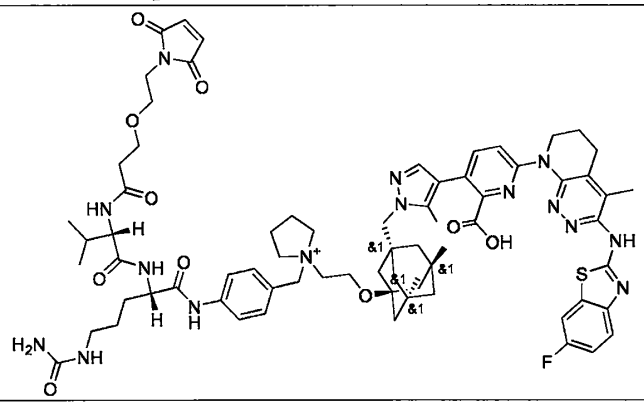
[0605]

L9C-P60	
L9A-P61	

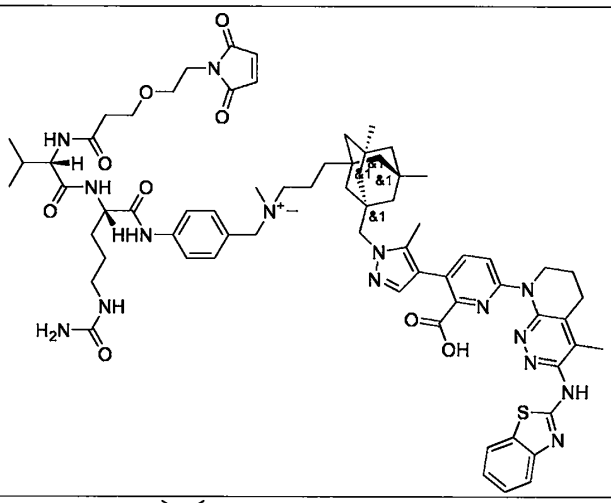
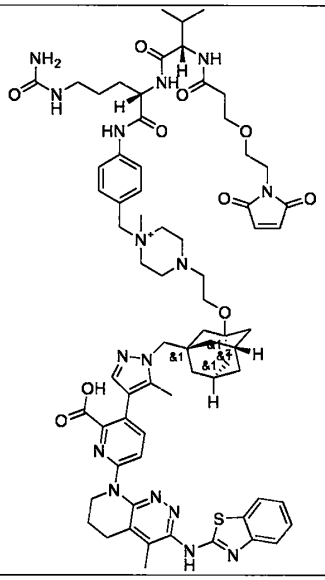
[0606]

L9A-P62	
L9A-P63	

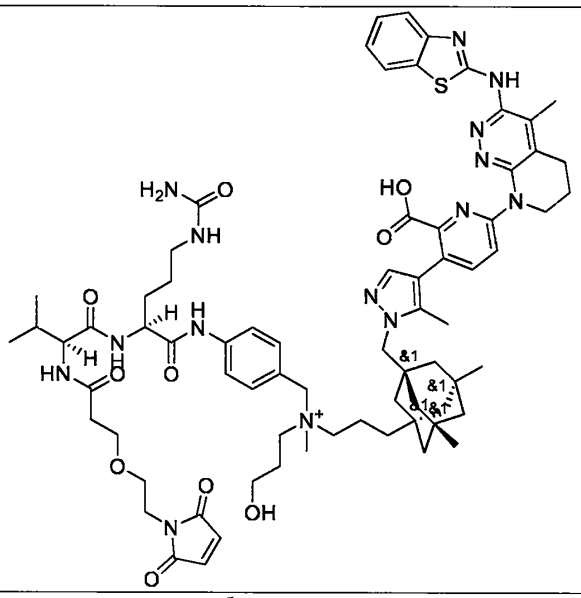
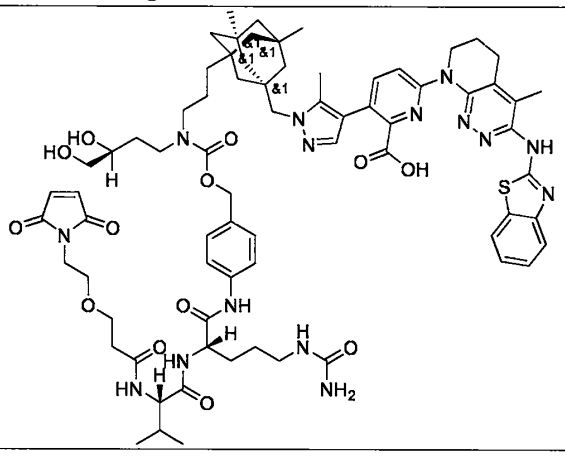
[0607]

L9A-P64	
L9A-P65	

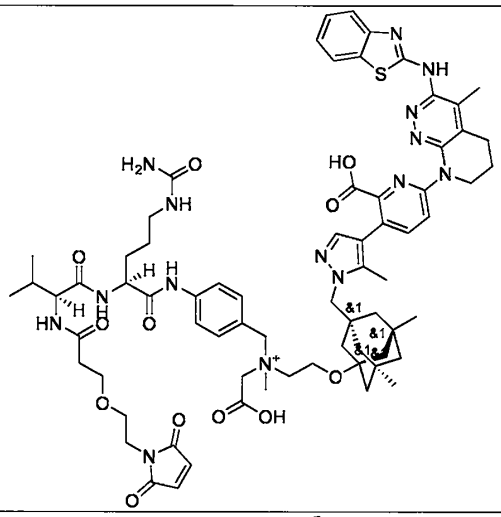
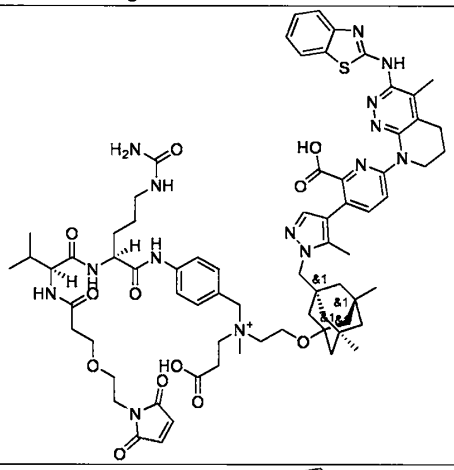
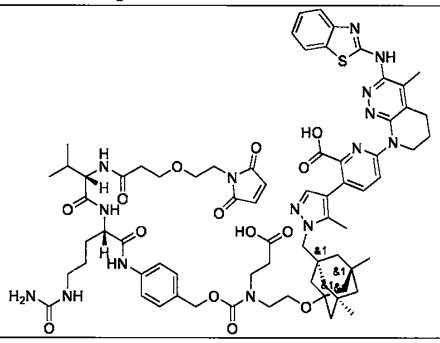
[0608]

L9A-P66	
L9A-P67	

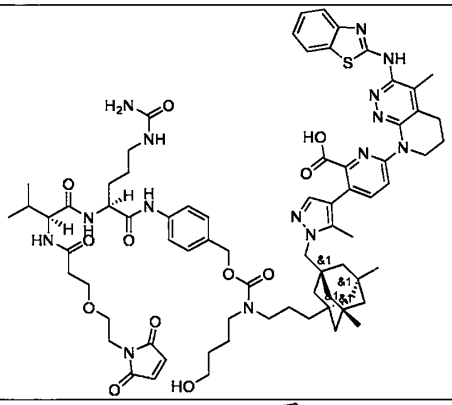
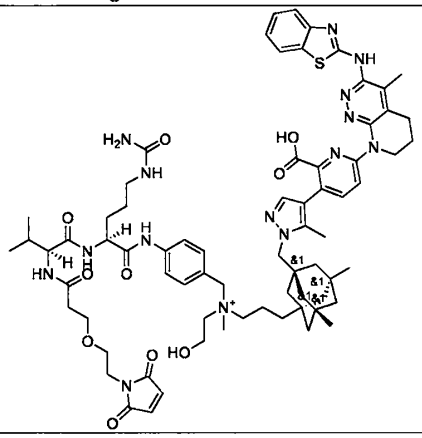
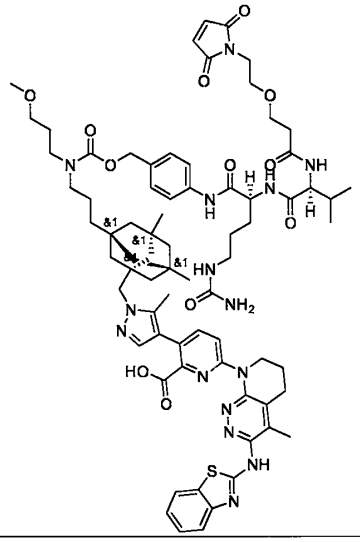
[0609]

L9A-P68	
L9C-P69	

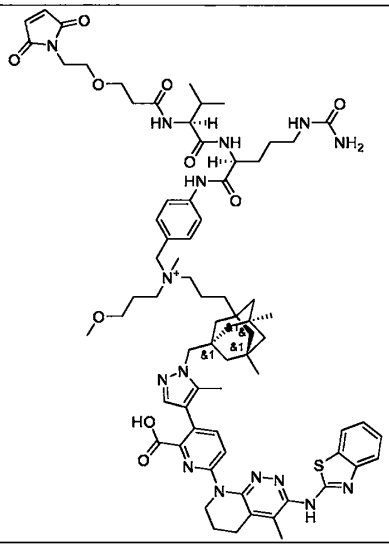
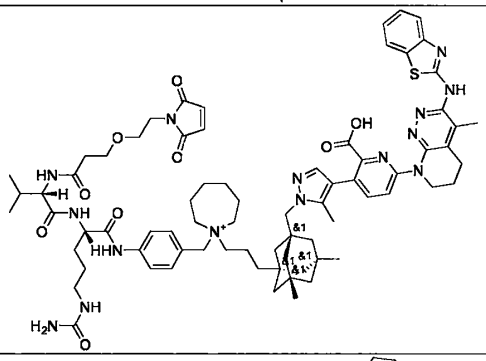
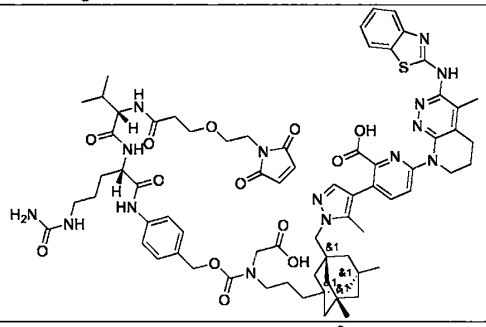
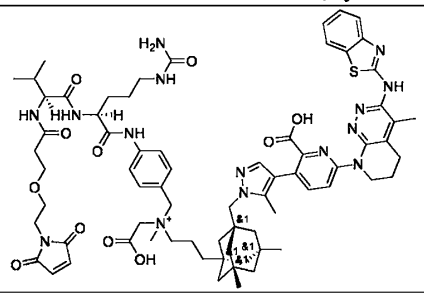
[0610]

L9A-P48	
L9A-P70	
L9C-P71	

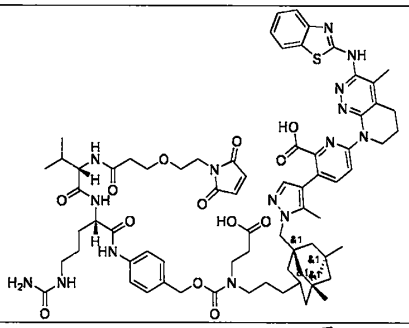
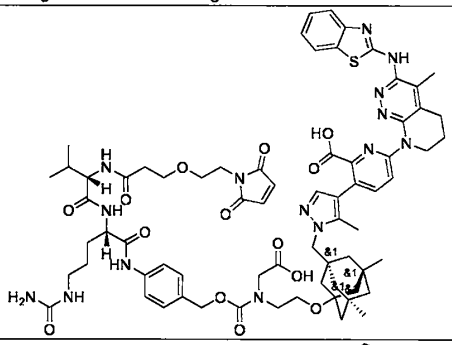
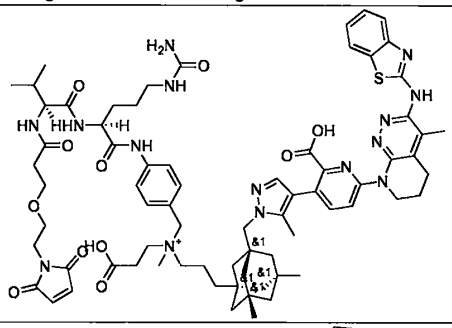
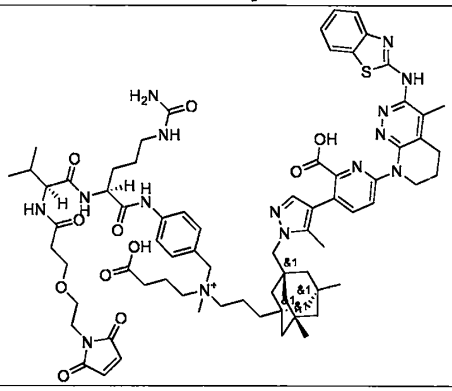
[0611]

L9C-P72	
L9A-P49	
L9C-P51	

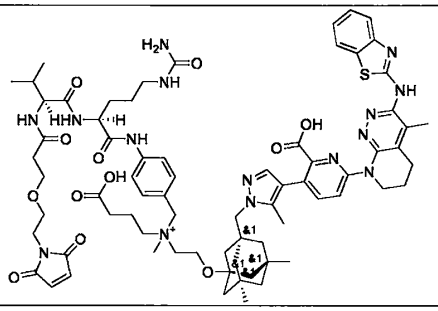
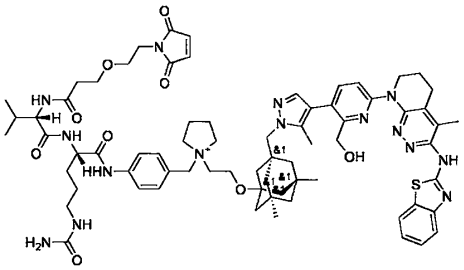
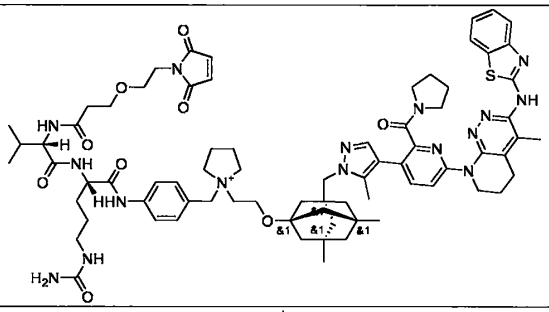
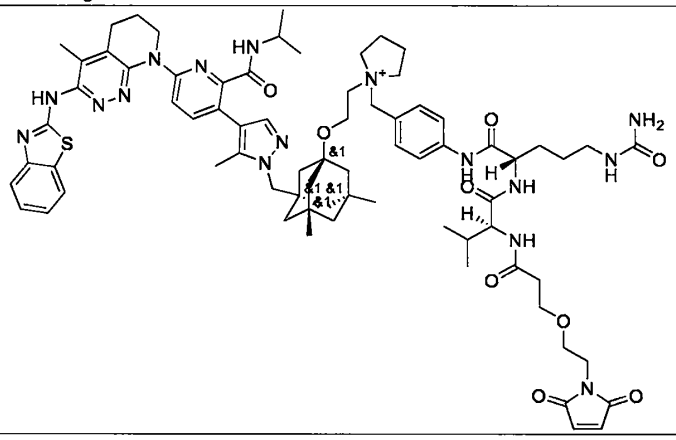
[0612]

L9A-P50	
L9A-P52	
L9C-P53	
L9A-P55	

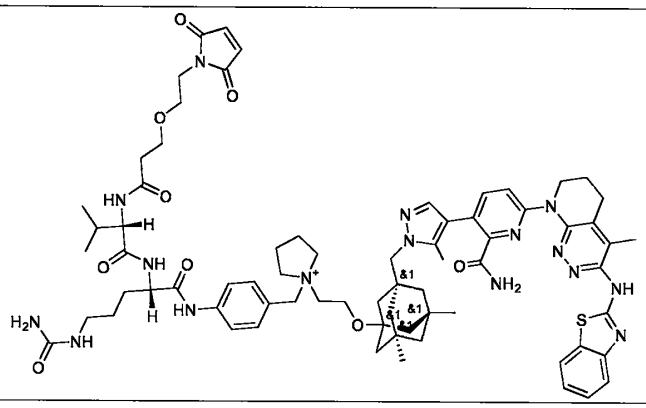
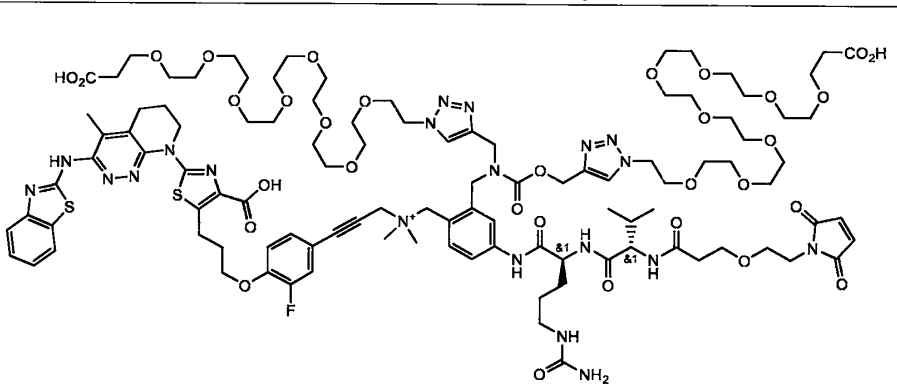
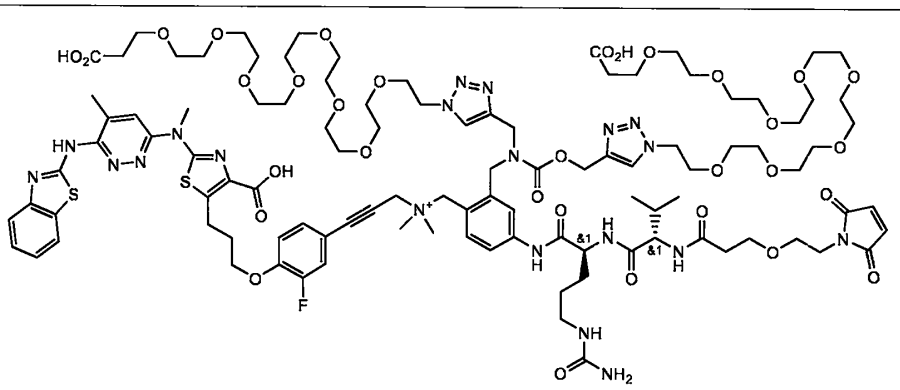
[0613]

L9C-P54	
L9C-P47	
L9A-P56	
L9A-P58	

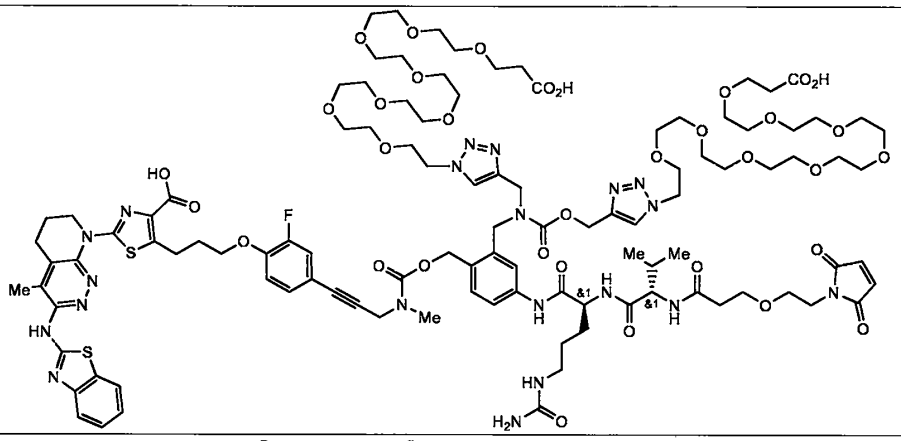
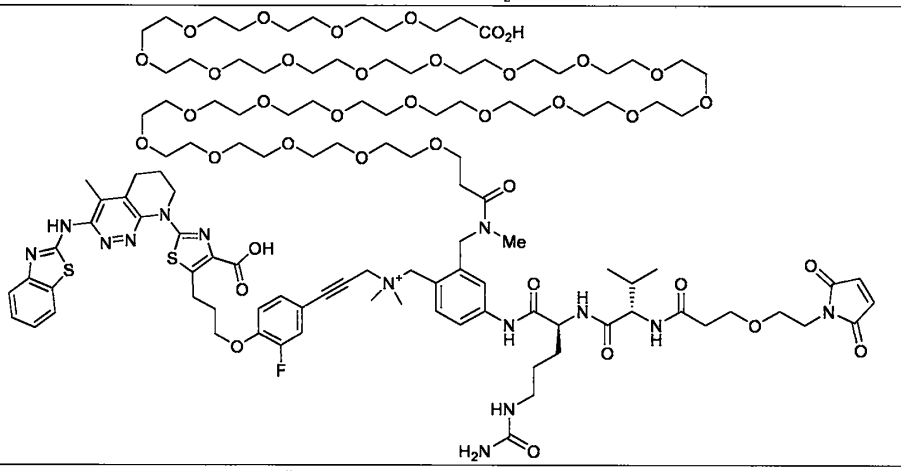
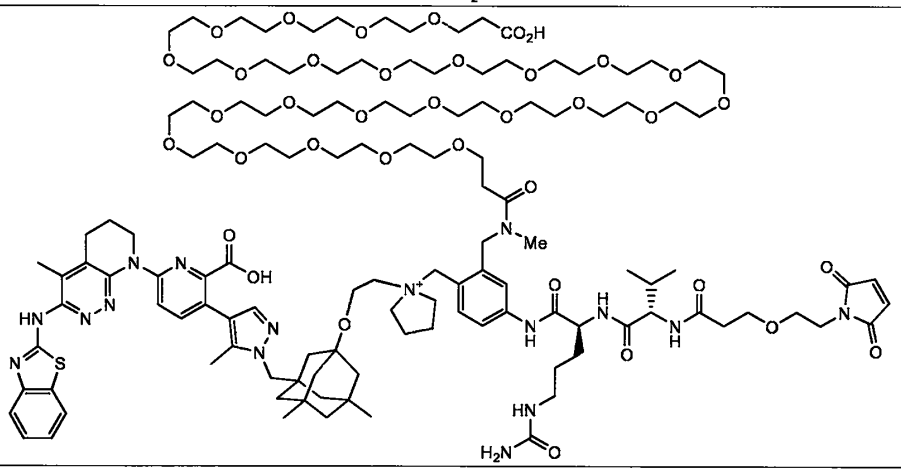
[0614]

L9A-P57	
L9A-P73	
L9A-P74	
L9A-P75	

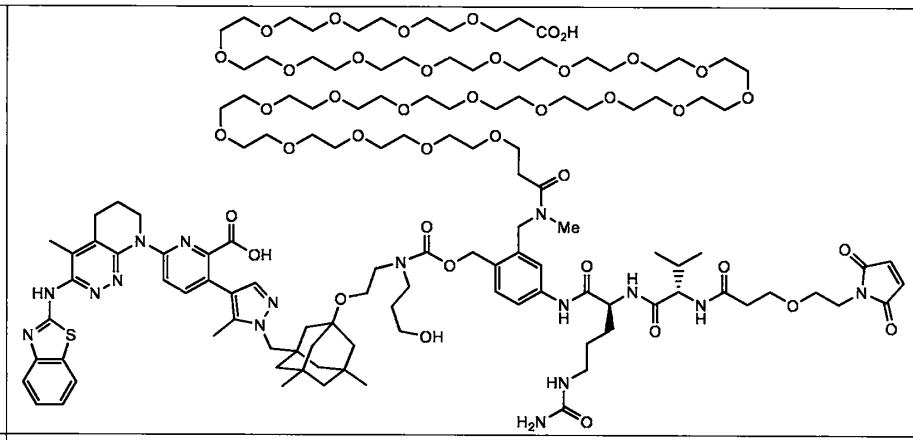
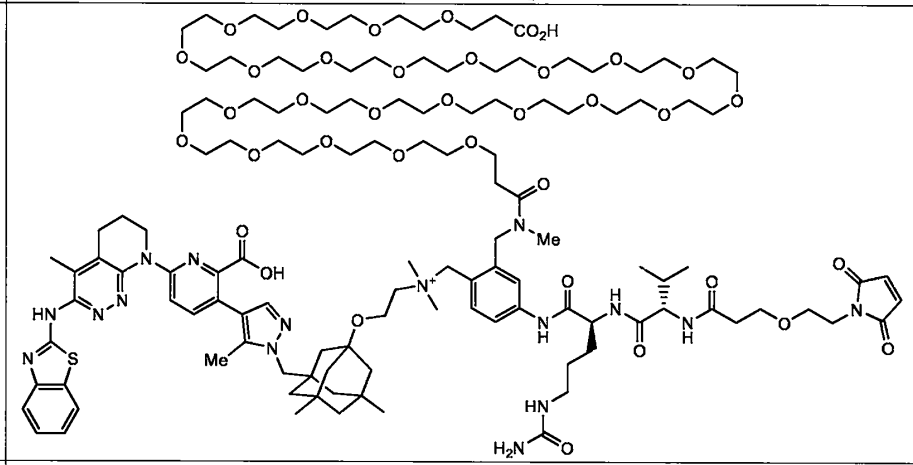
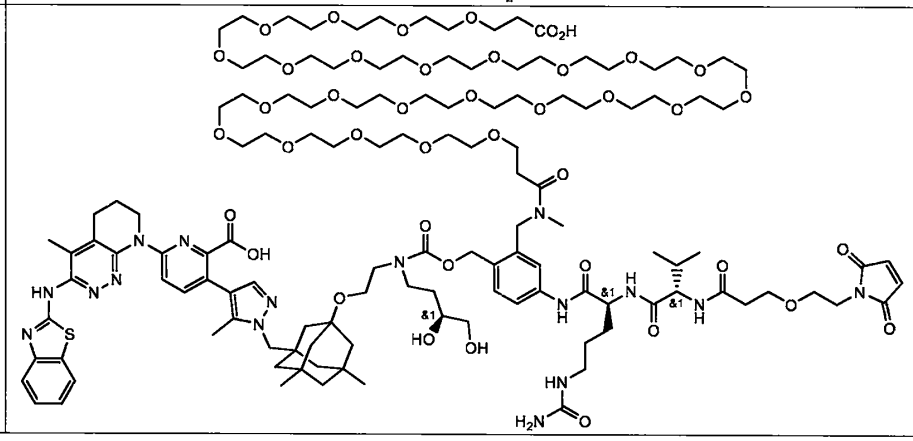
[0615]

L9A-P76	
L10A-P1	
L10A-P2	

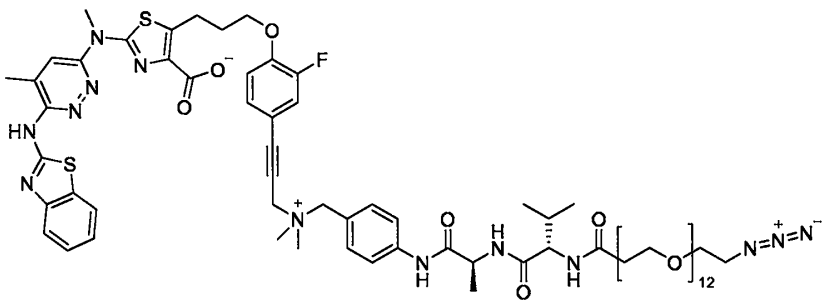
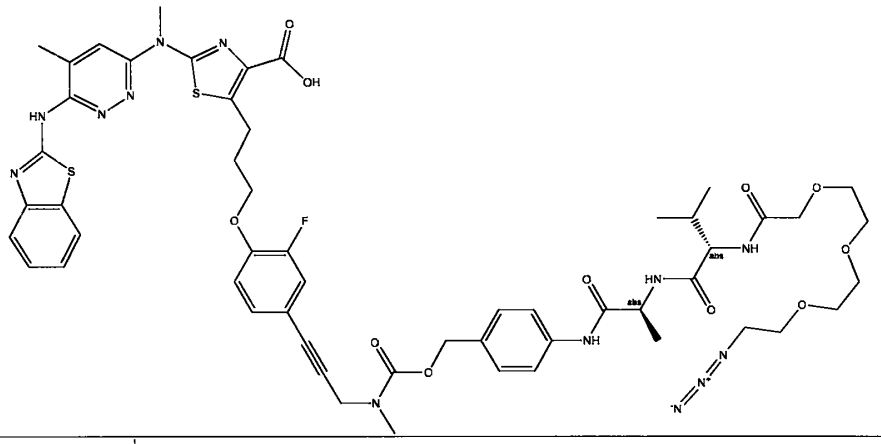
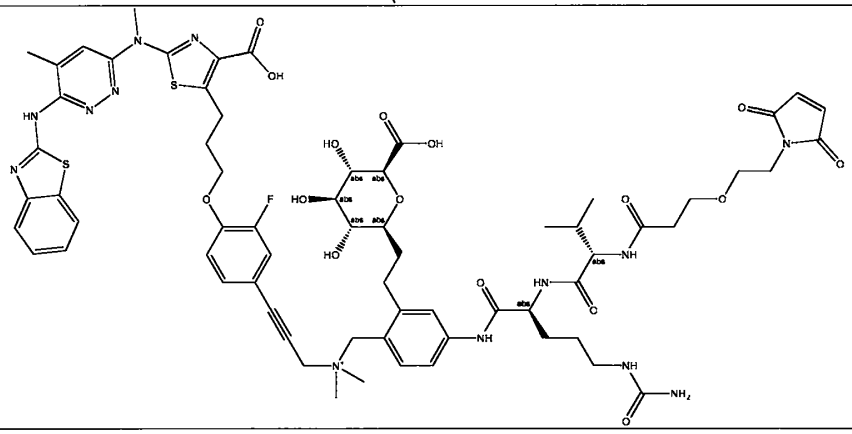
[0616]

L10C-P3	
L11A-P1	
L11A-P21	

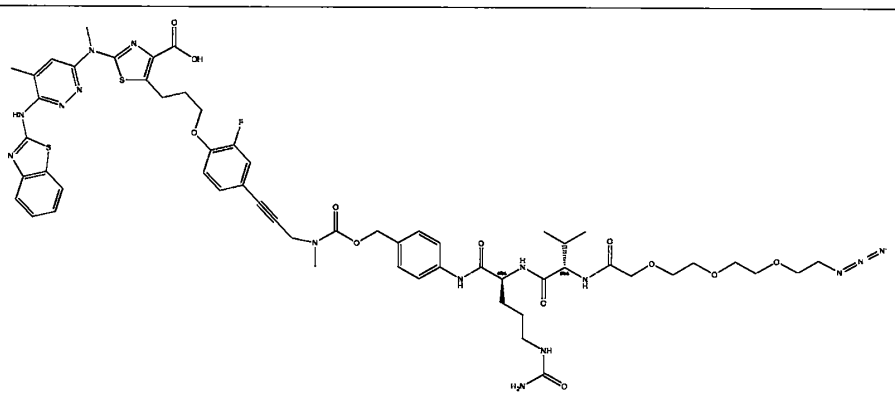
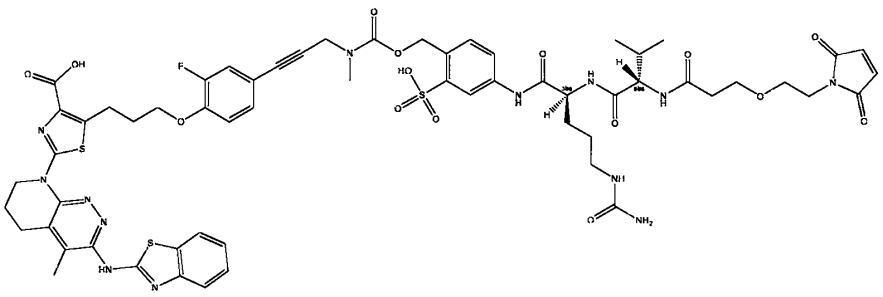
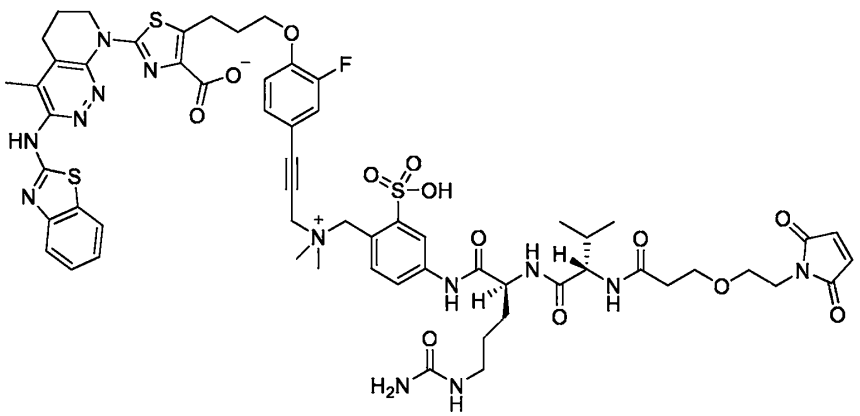
[0617]

L11C-P25	
L11A-P27	
L11C-P19	

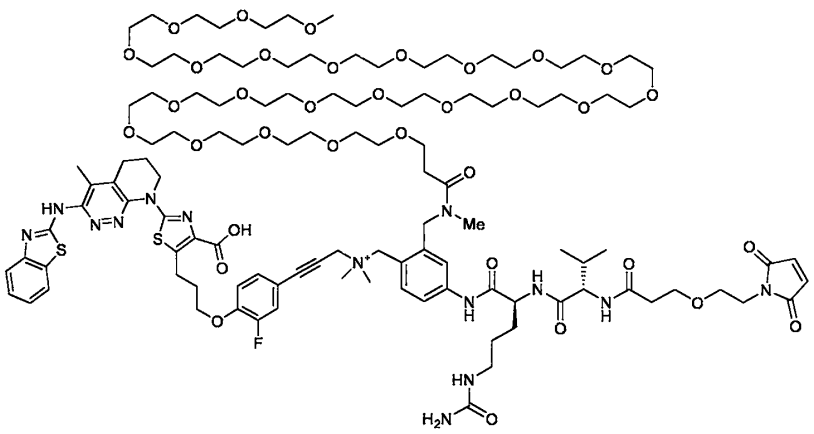
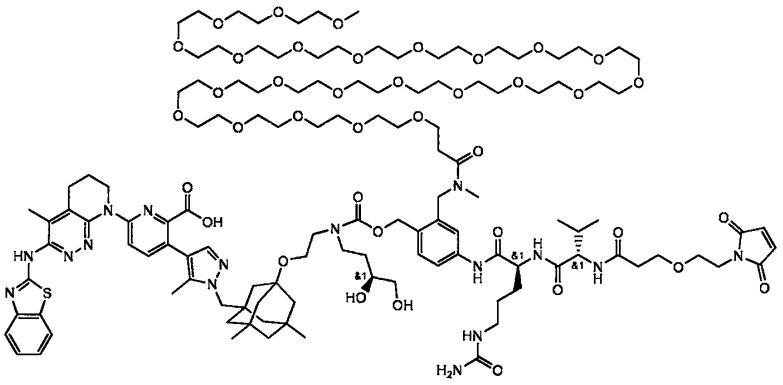
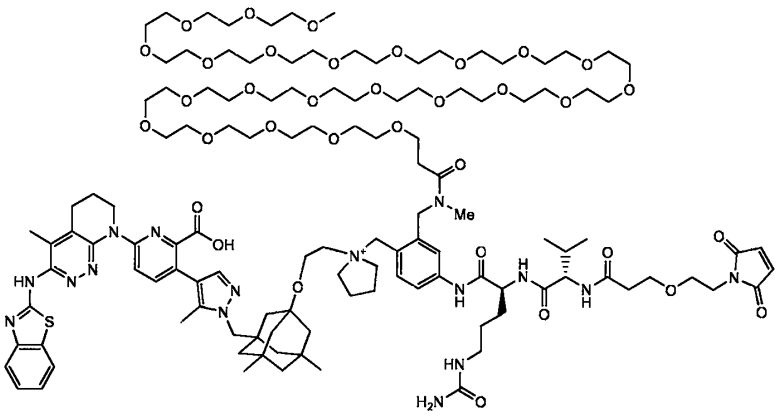
[0618]

L13A-P2	
L19C-P7	
L21A-P2	

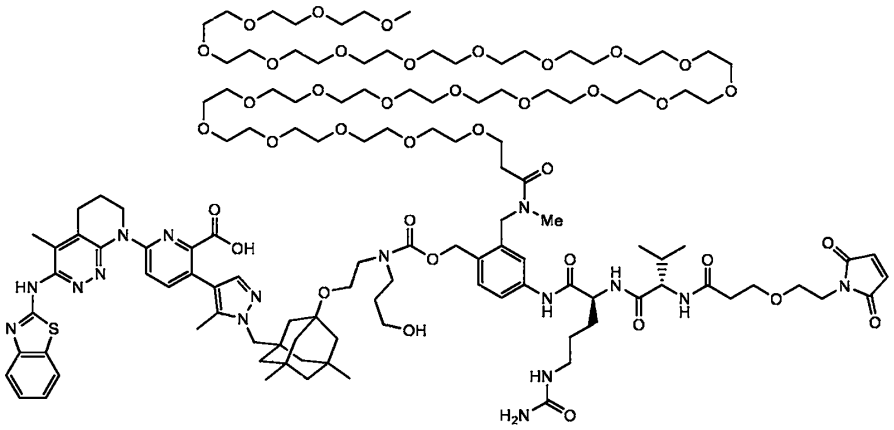
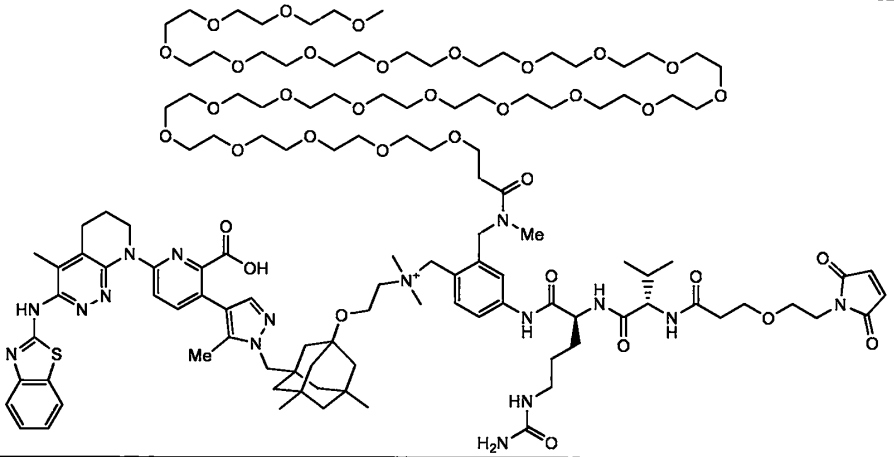
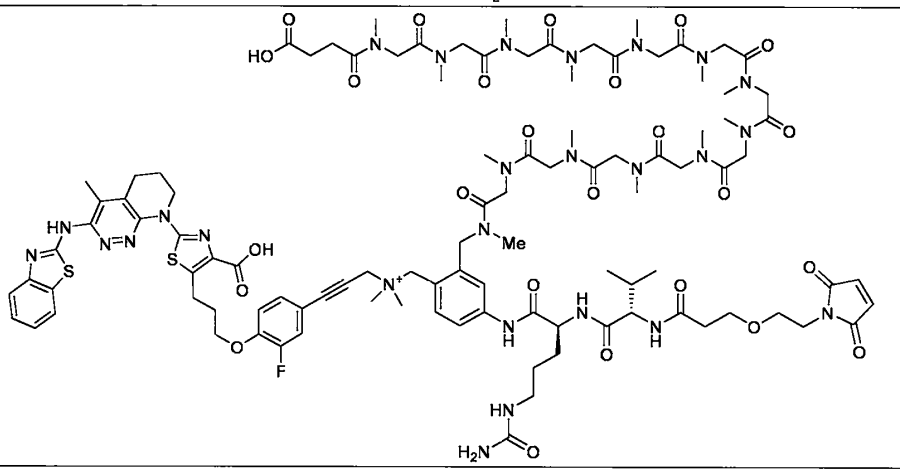
[0619]

L23C-P7	
L27C-P3	
L27A-P1	

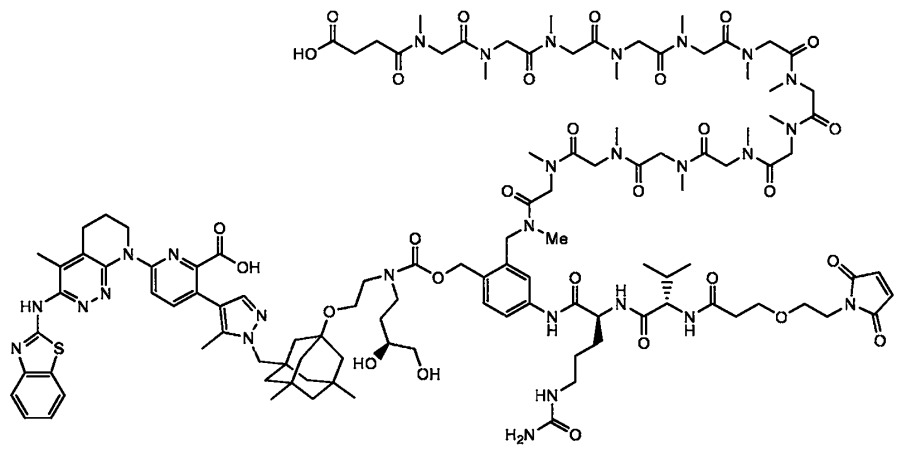
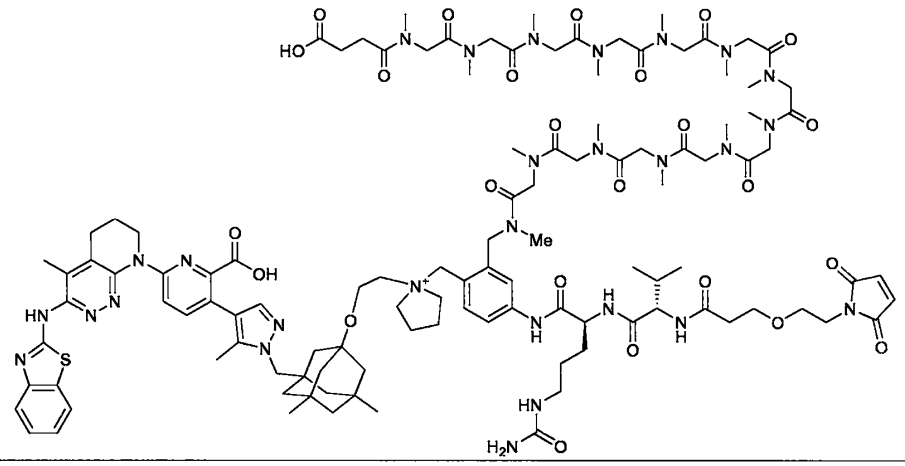
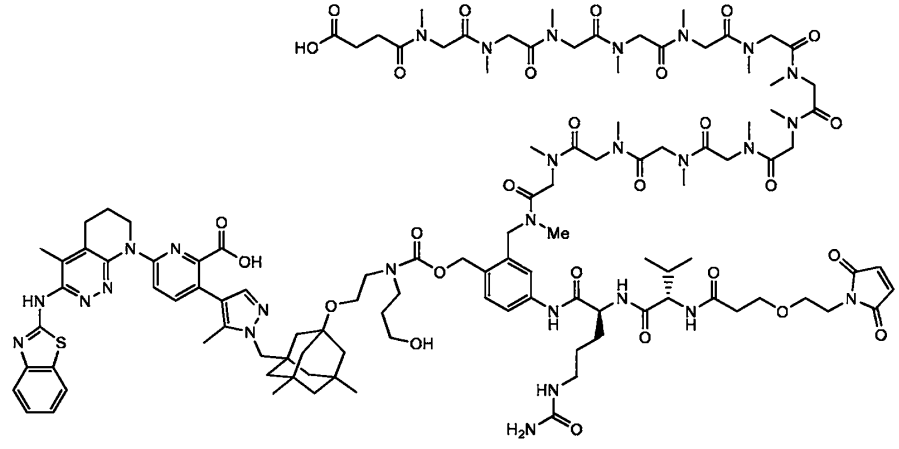
[0620]

L30A-P1	
L30C-P19	
L30A-P21	

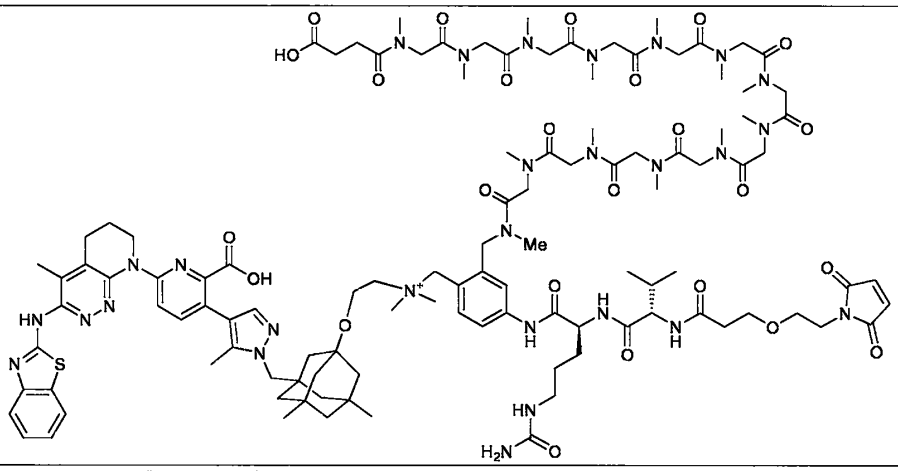
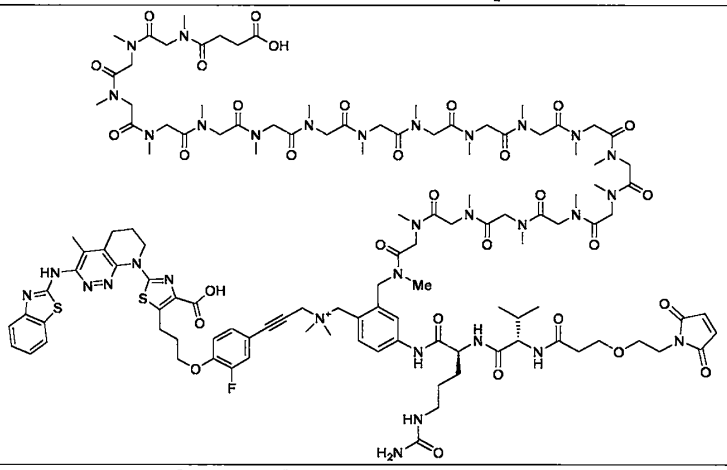
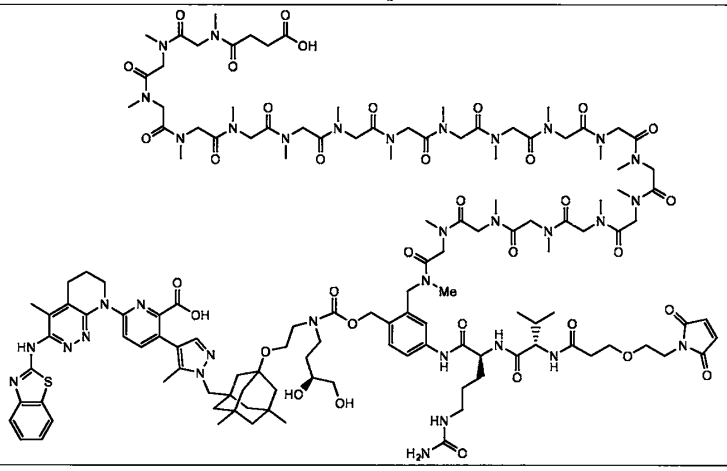
[0621]

L30C-P25	
L30A-P27	
L35A-P1	

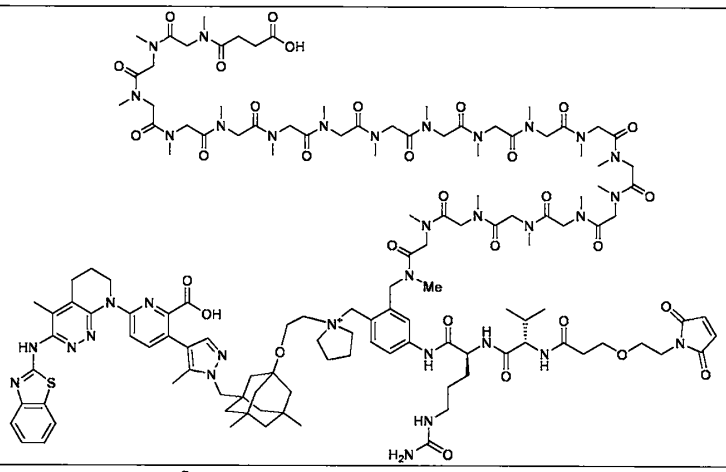
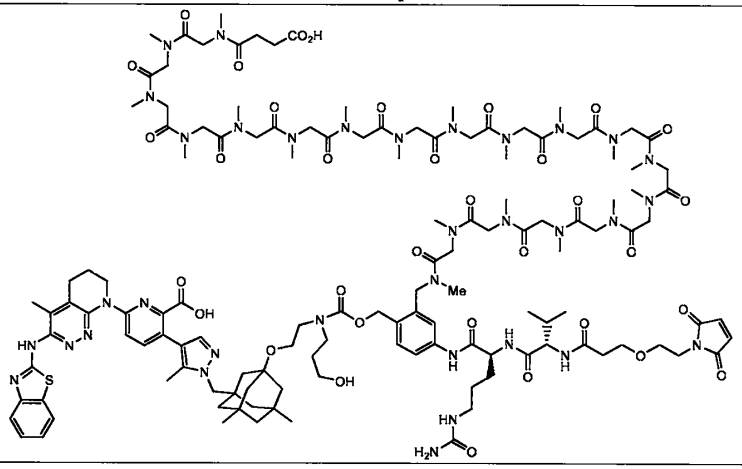
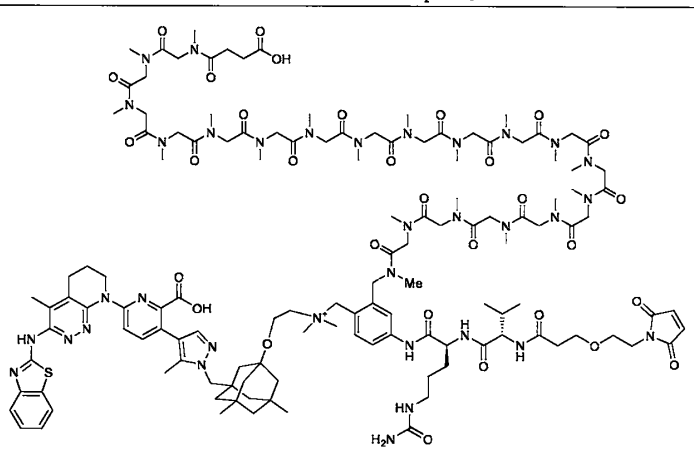
[0622]

L35C-P19	
L35A-P21	
L35C-P25	

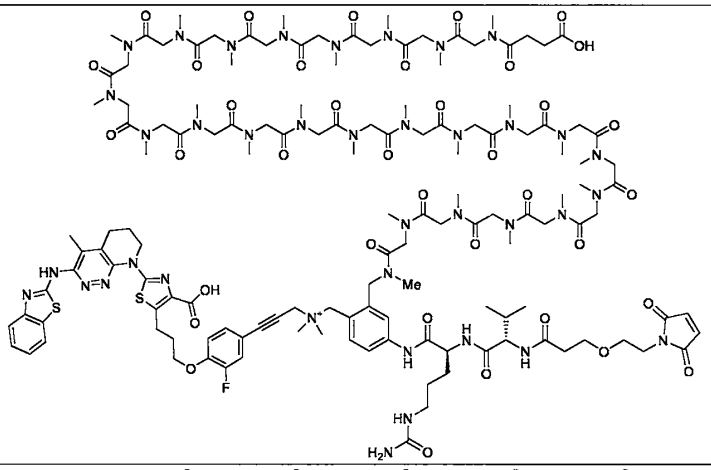
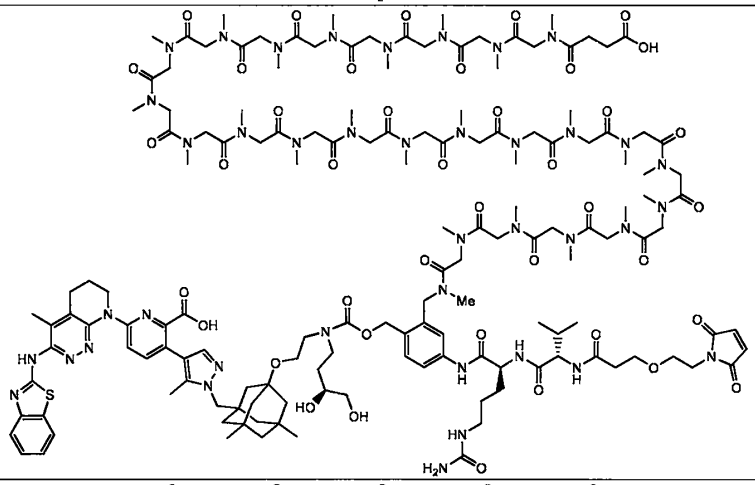
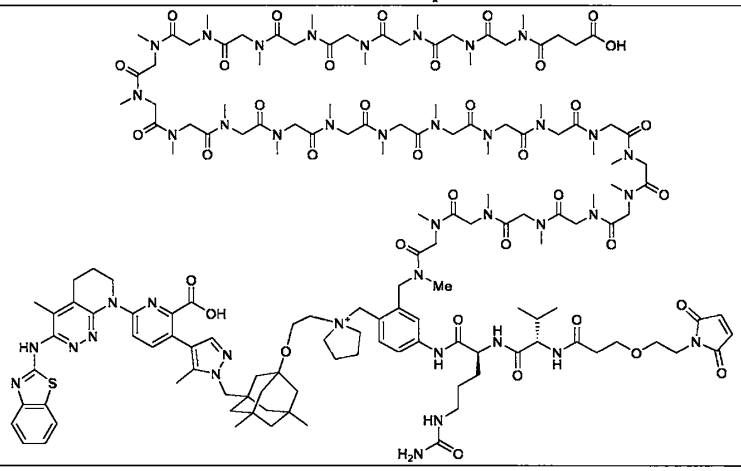
[0623]

L35A-P27	
L36A-P1	
L36C-P19	

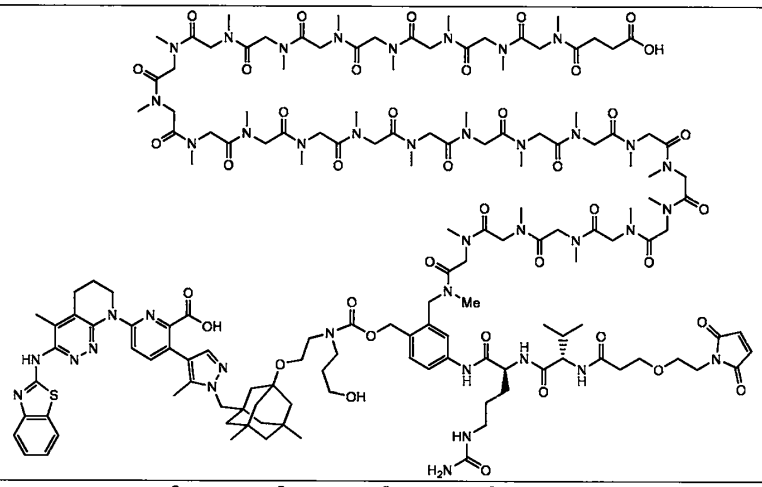
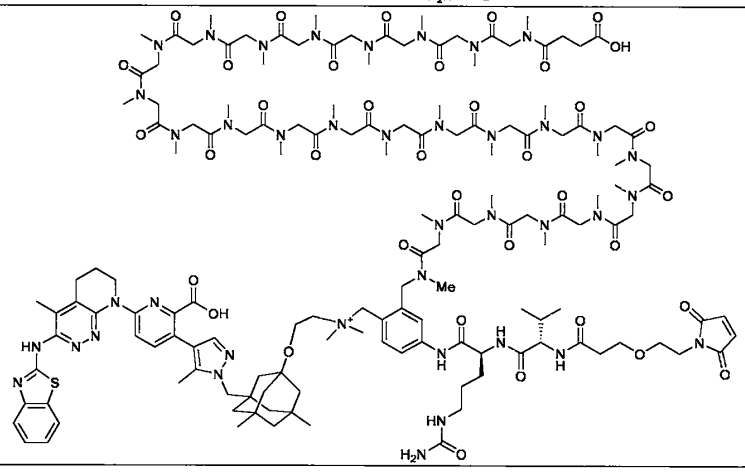
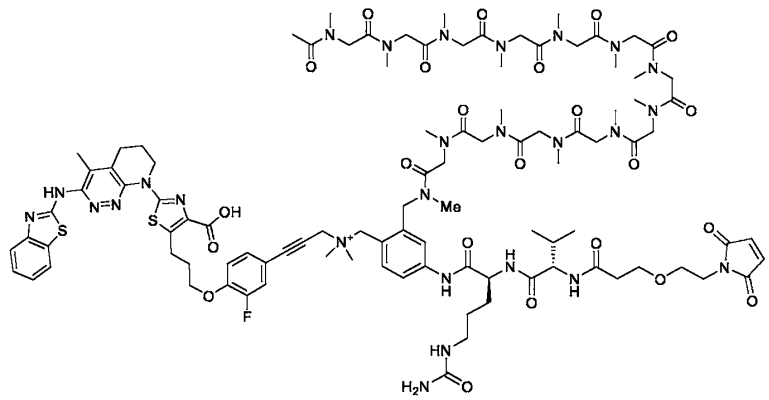
[0624]

L36A-P21	
L36C-P25	
L36A-P27	

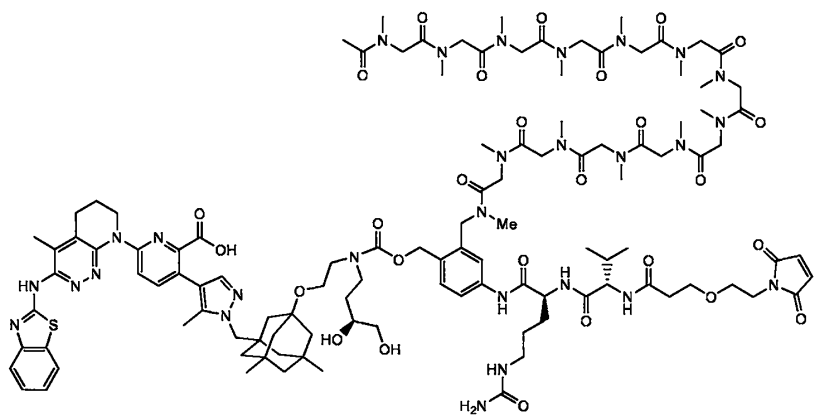
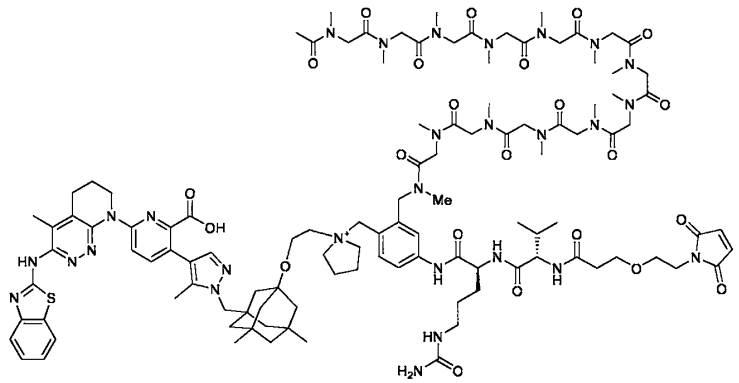
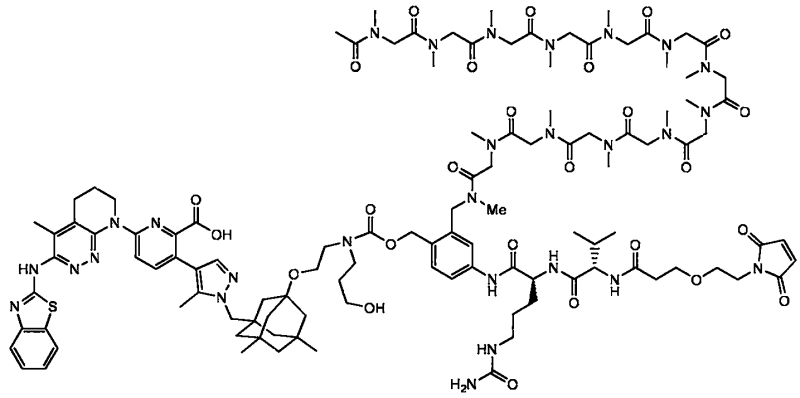
[0625]

L37A-P1	
L37C-P19	
L37A-P21	

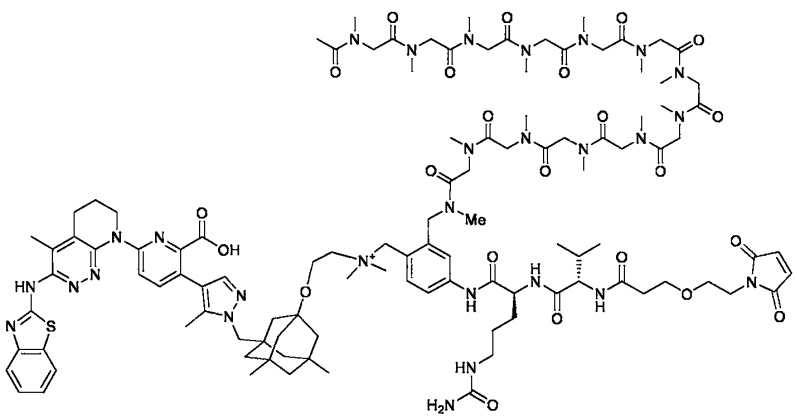
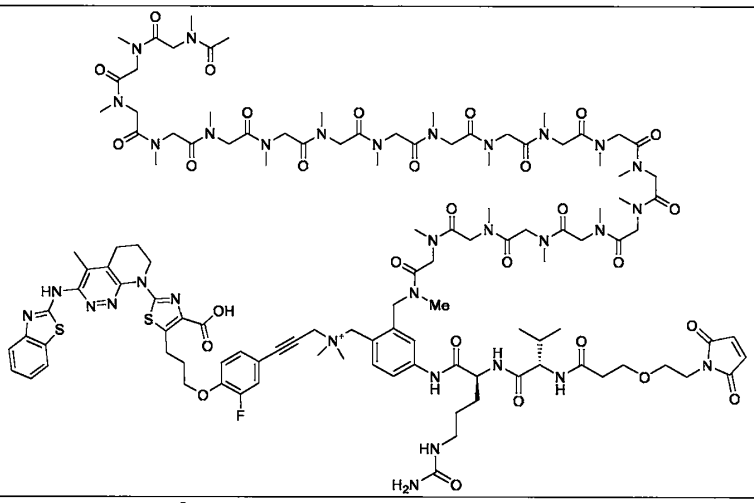
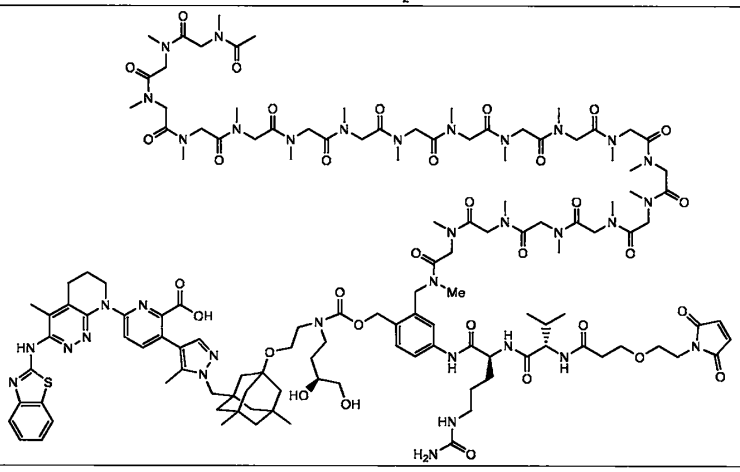
[0626]

L37C-P25	
L37A-P27	
L38A-P1	

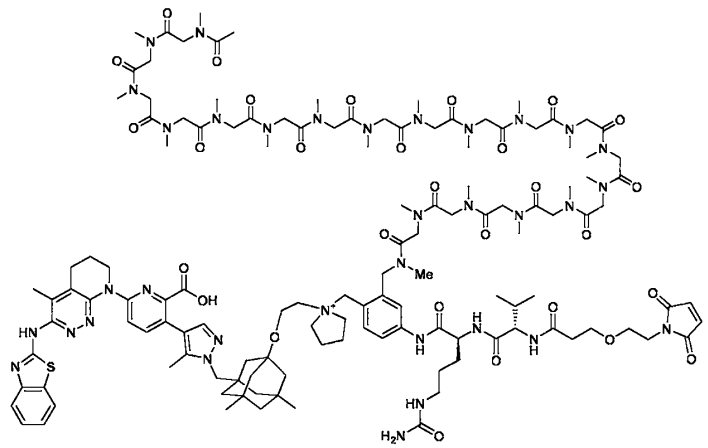
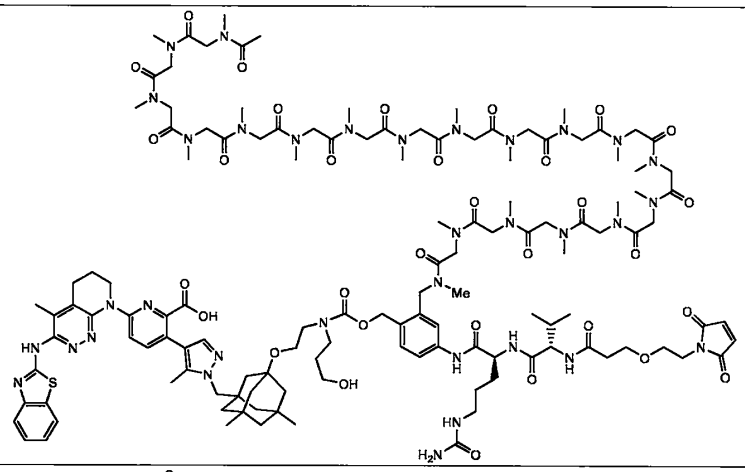
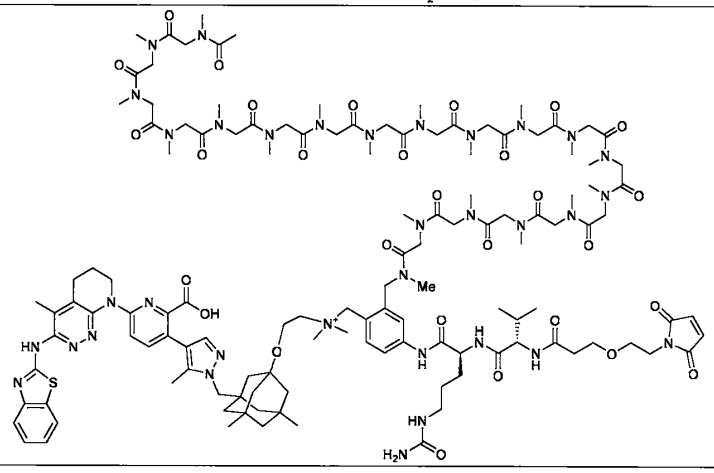
[0627]

L38C-P19	
L38A-P21	
L38C-P25	

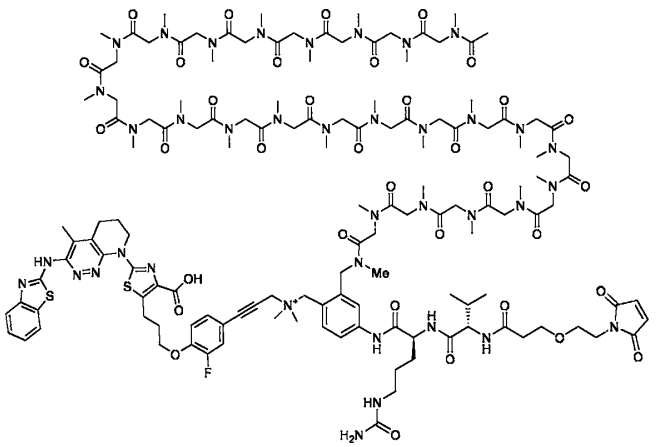
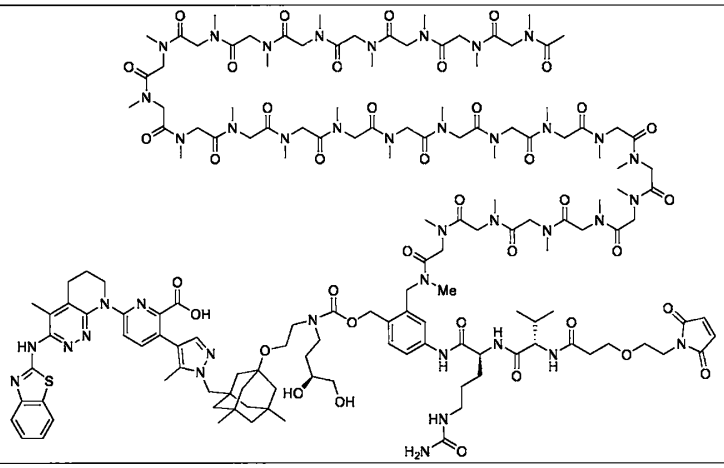
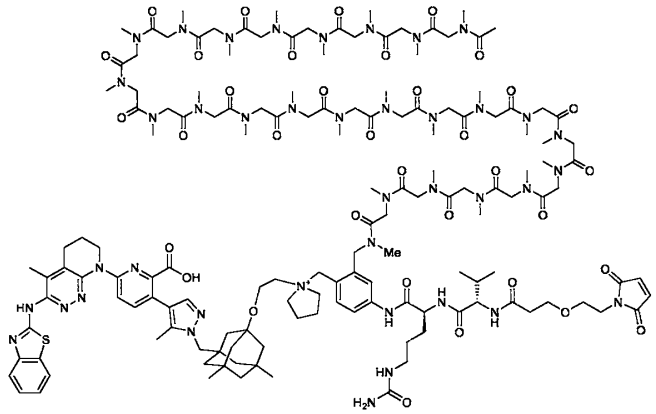
[0628]

L38A-P27	
L39A-P1	
L39C-P19	

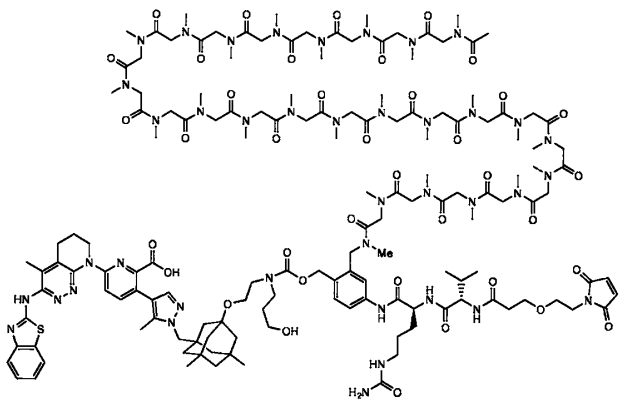
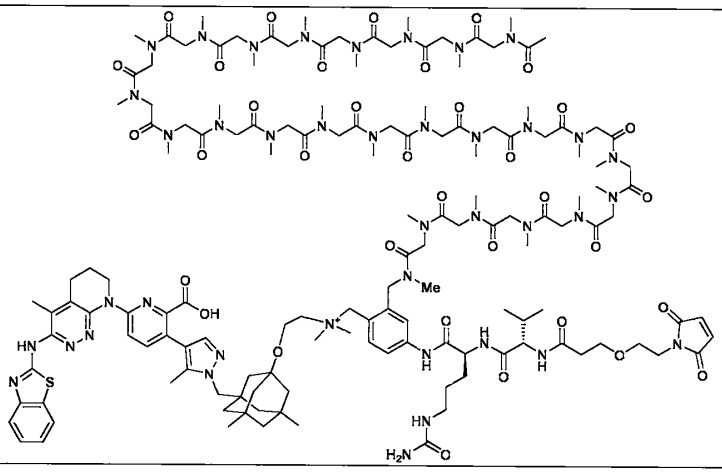
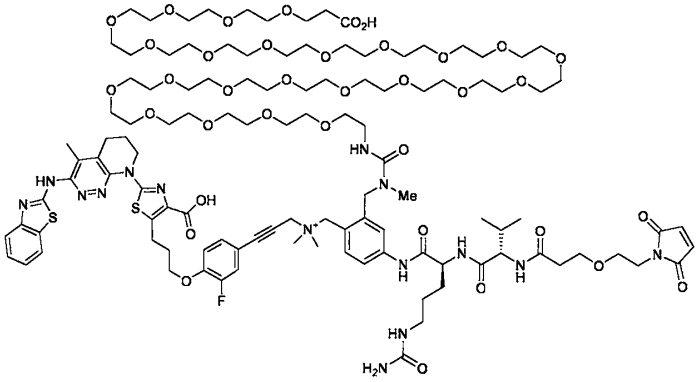
[0629]

L39A-P21	
L39C-P25	
L39A-P27	

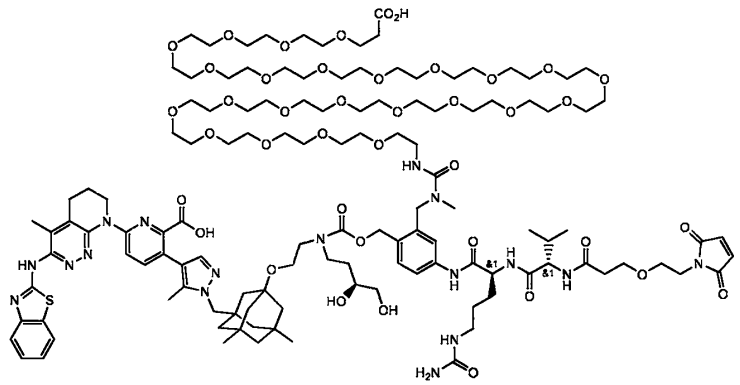
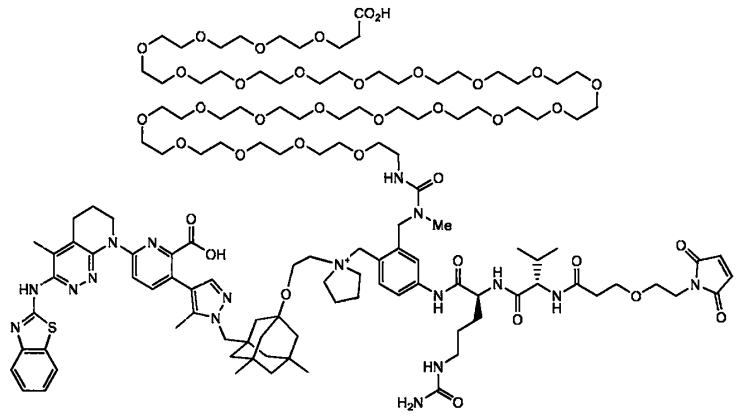
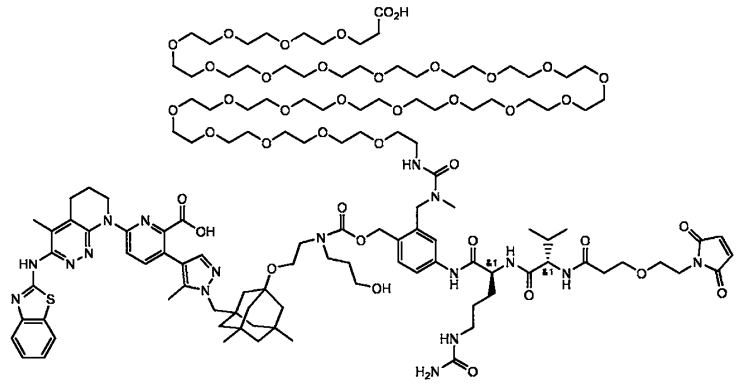
[0630]

L40A-P1	
L40C-P19	
L40A-P21	

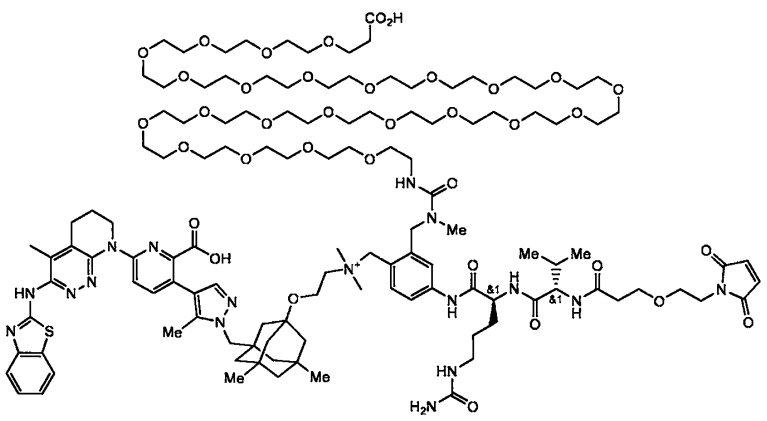
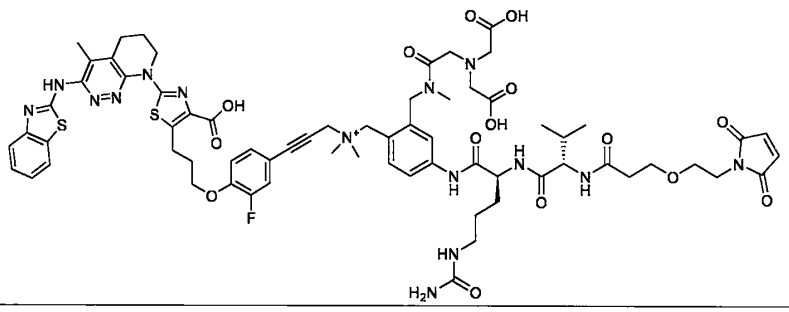
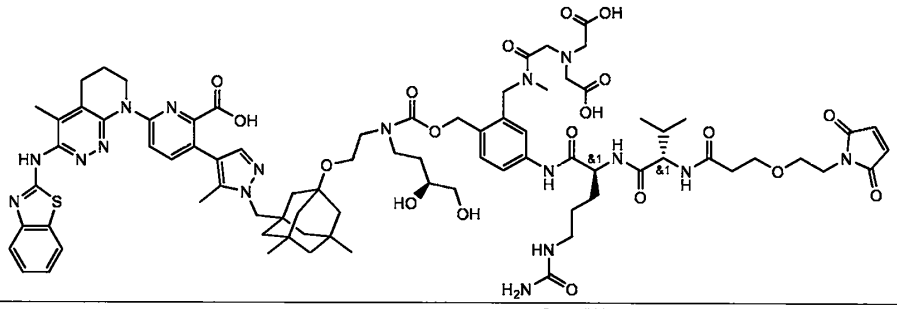
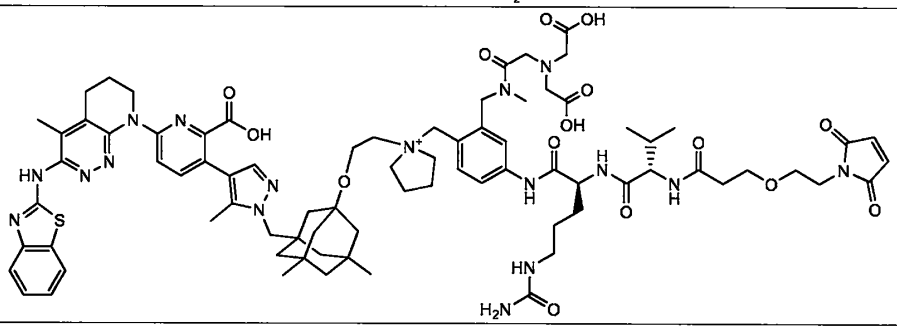
[0631]

L40C-P25	
L40A-P27	
L42A-P1	

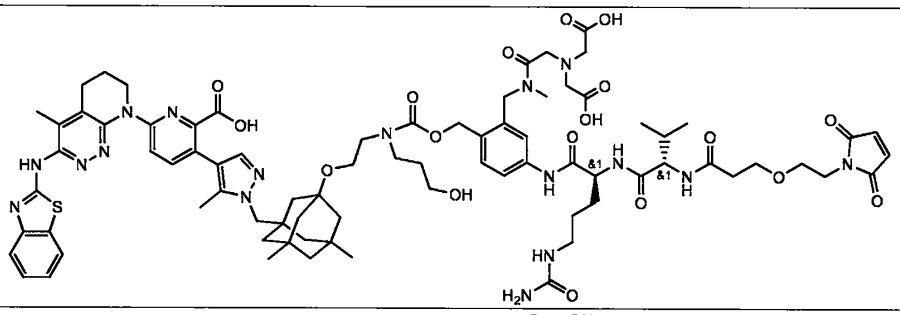
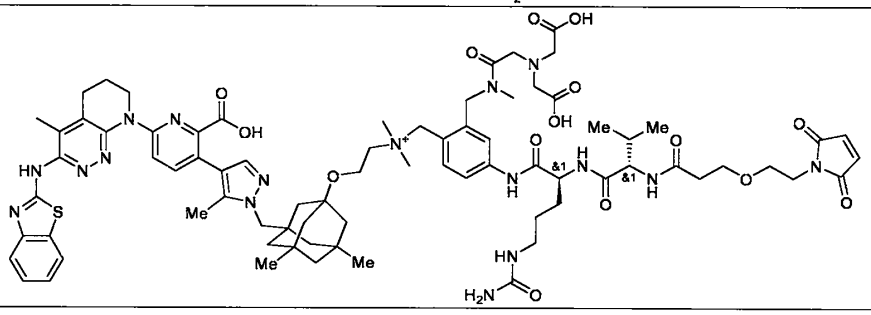
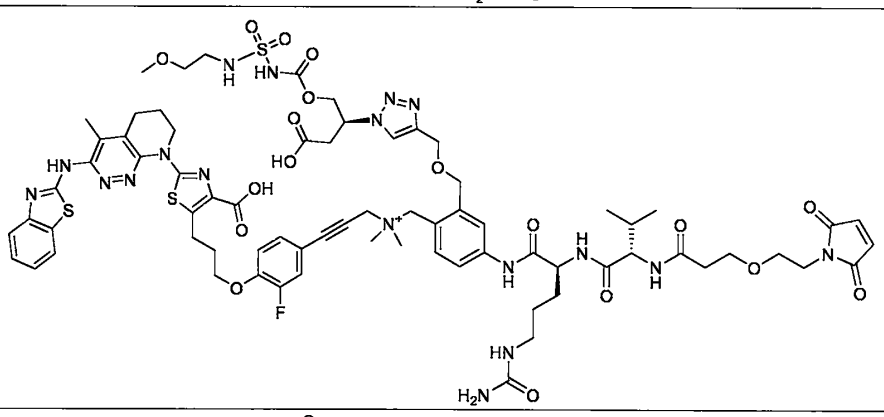
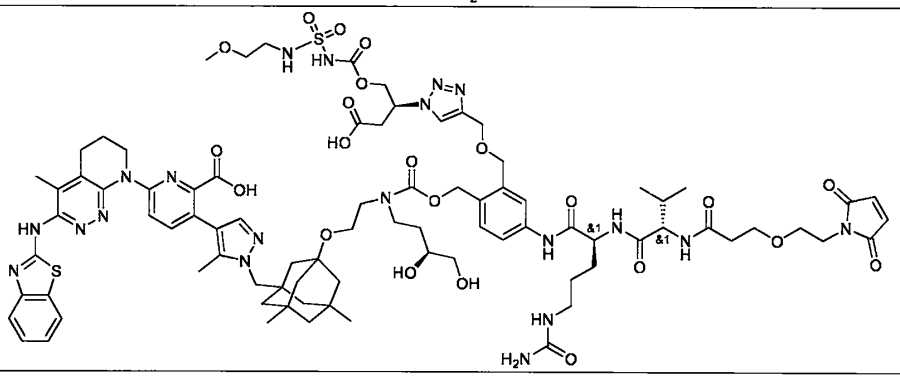
[0632]

L42C-P19	
L42A-P21	
L42C-P25	

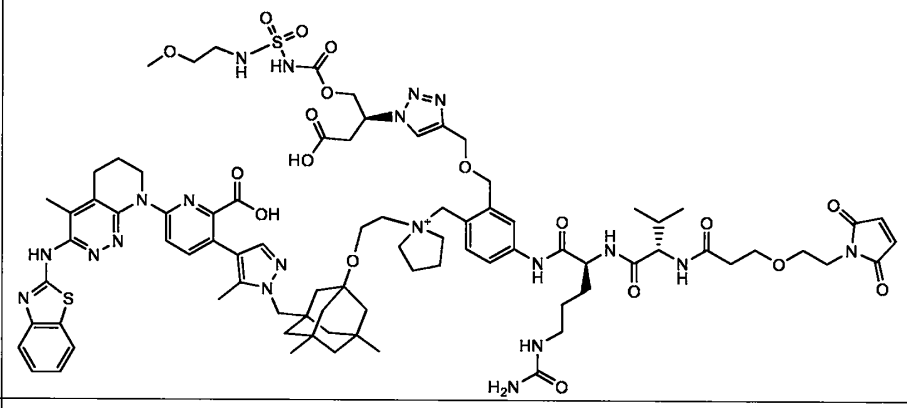
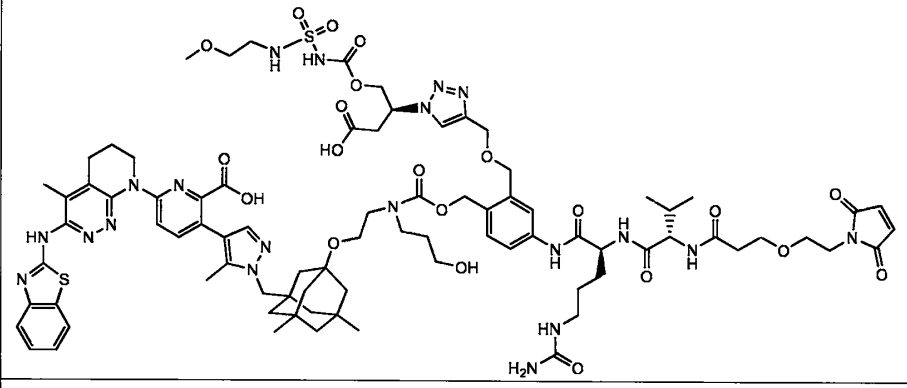
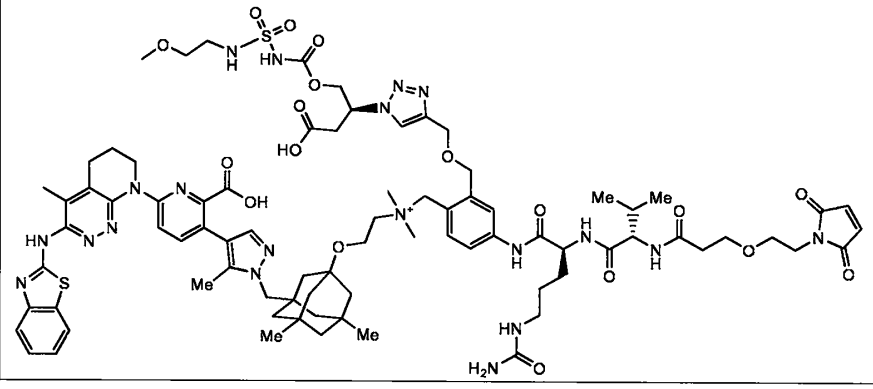
[0633]

L42A-P27	
L67A-P1	
L67C-P19	
L67A-P21	

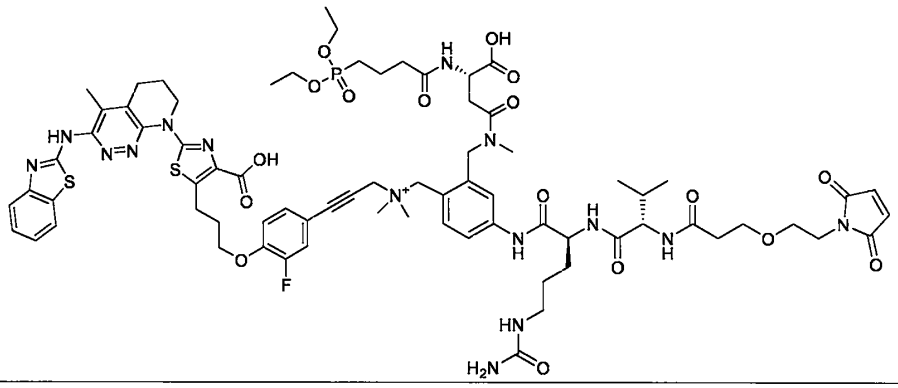
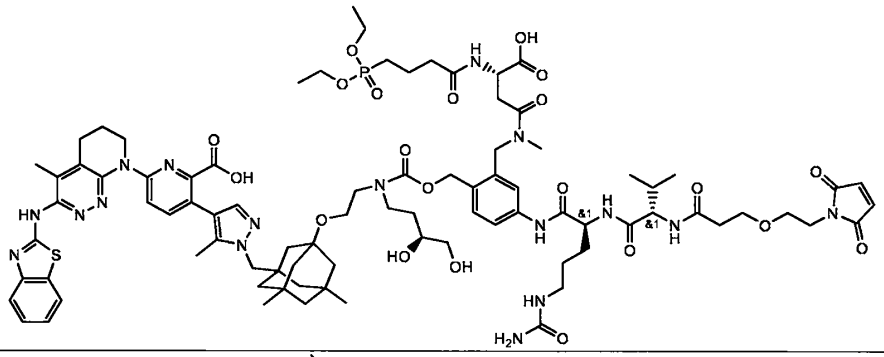
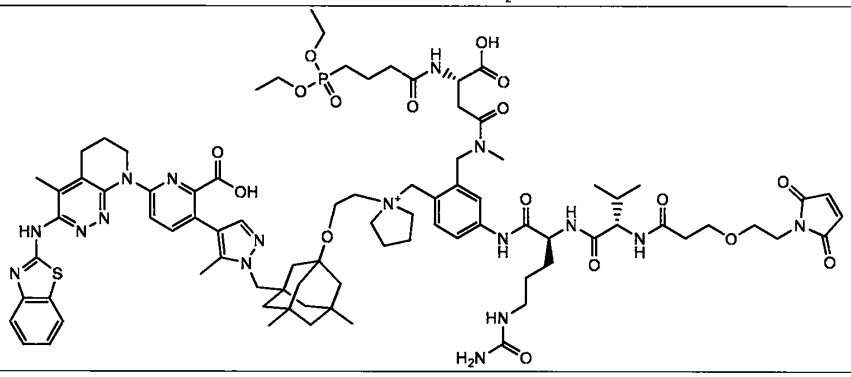
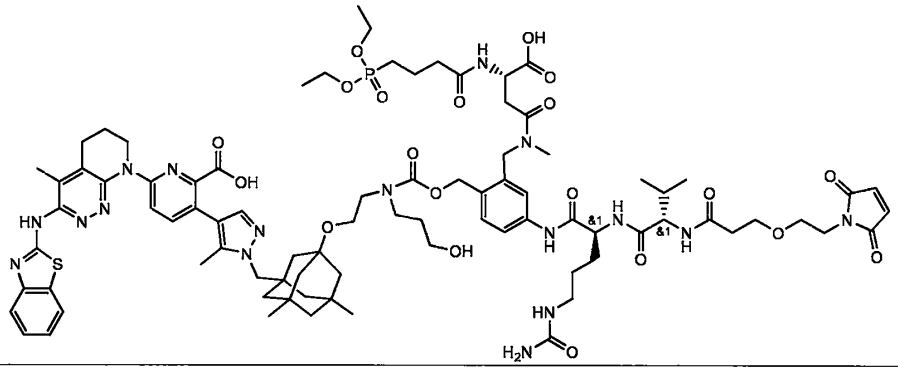
[0634]

L67C-P25	
L67A-P27	
L100A-P1	
L100C-P19	

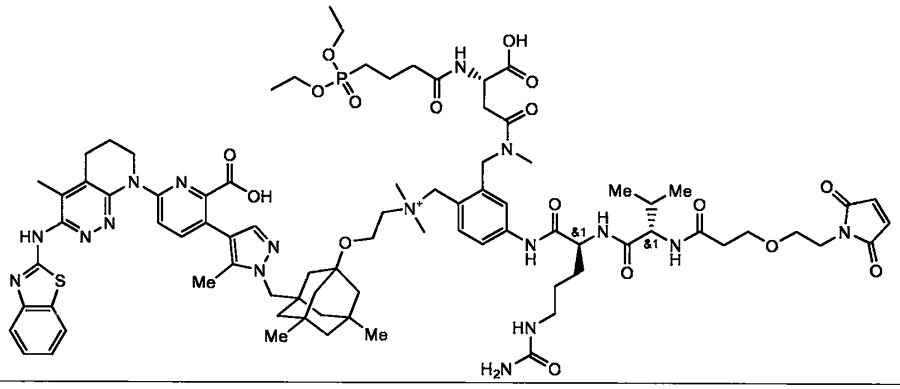
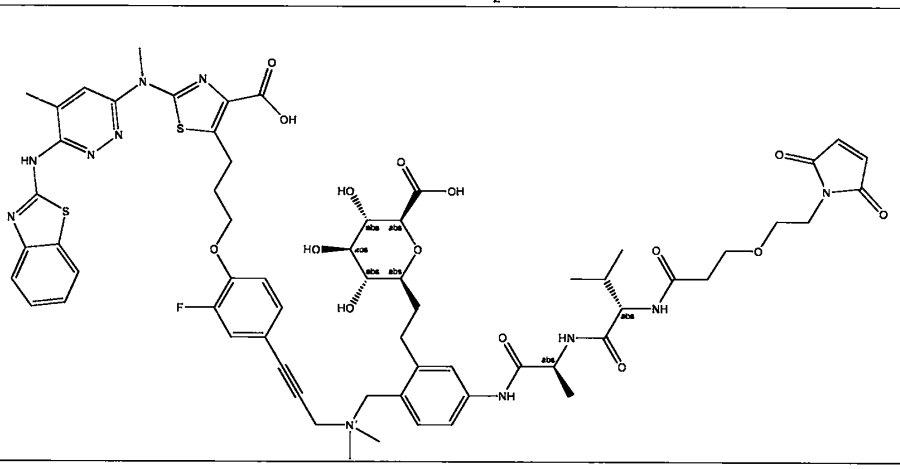
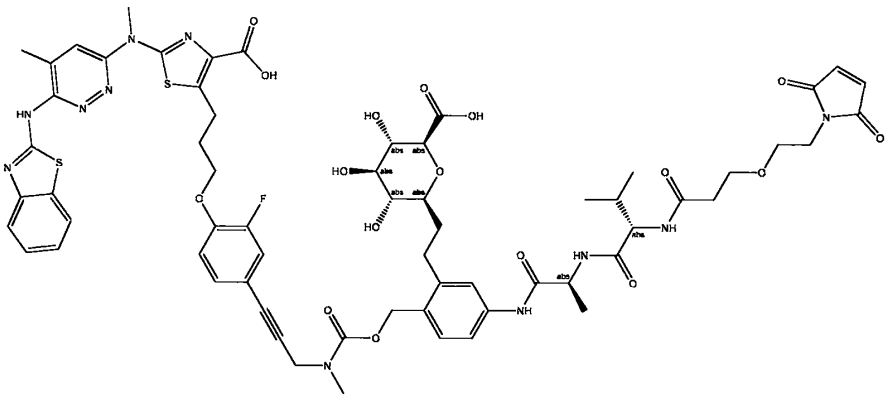
[0635]

L100A-P21	
L100C-P25	
L100A-P27	

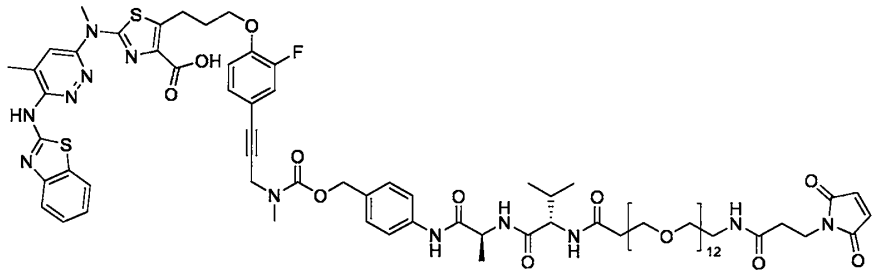
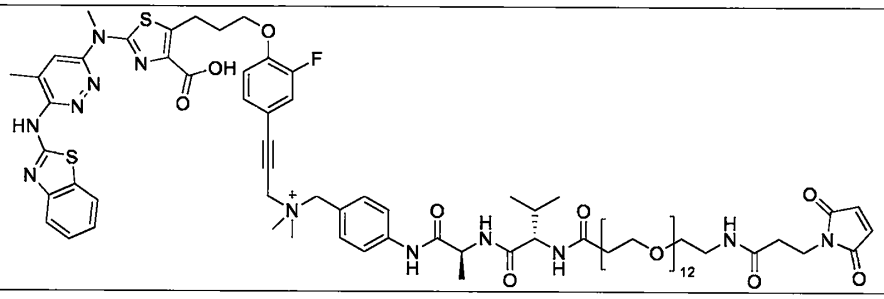
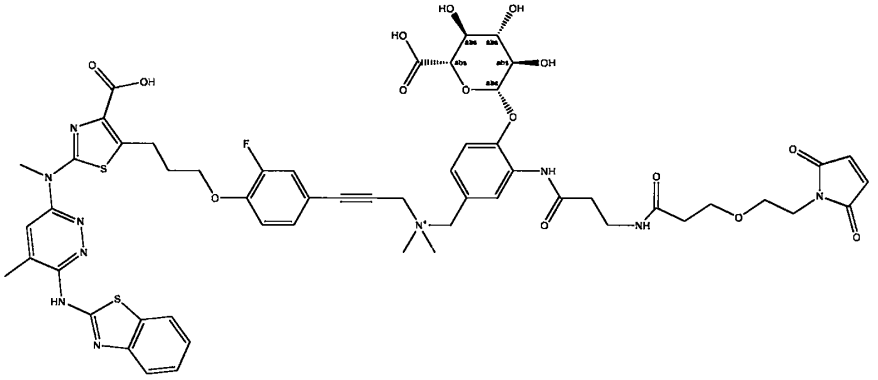
[0636]

L103A-P1	
L103C-P19	
L103A-P21	
L103C-P25	

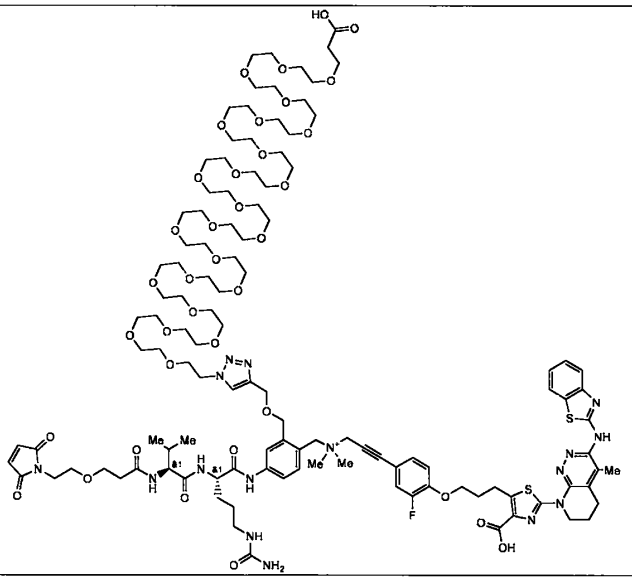
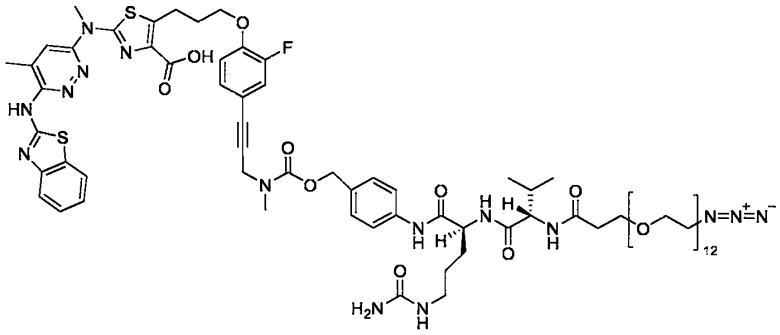
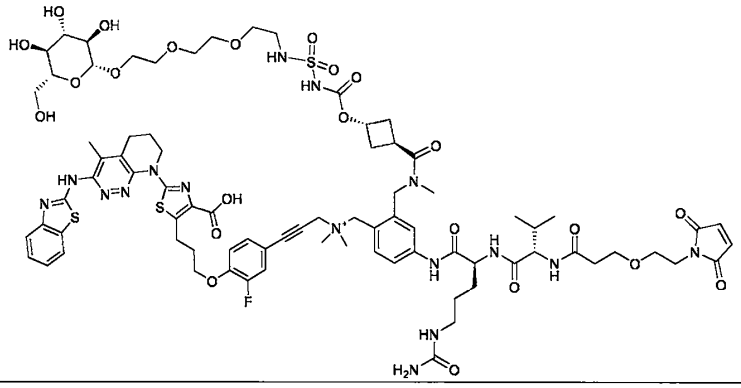
[0637]

L103A-P27	
L106A-P2	
L106C-P7	

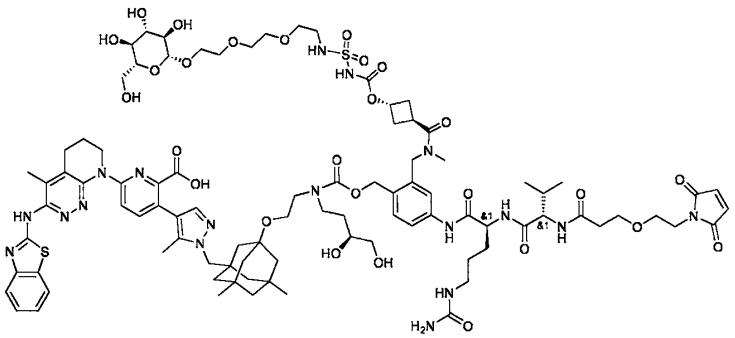
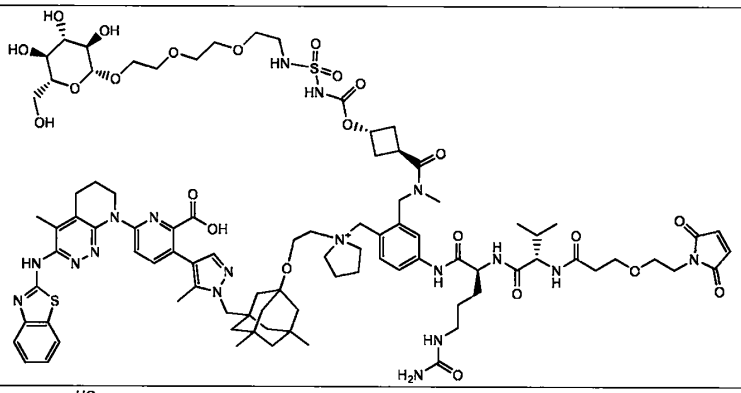
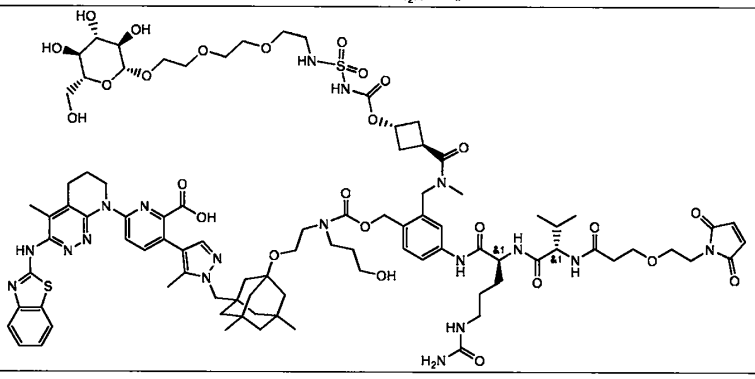
[0638]

L107C-P7	
L107A-P2	
L108A-P2	

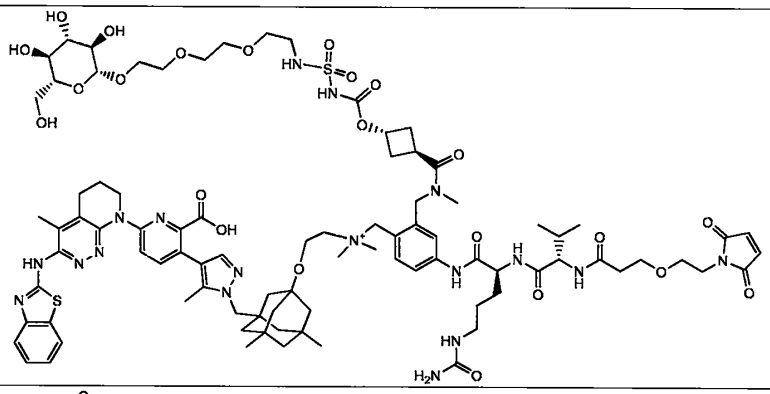
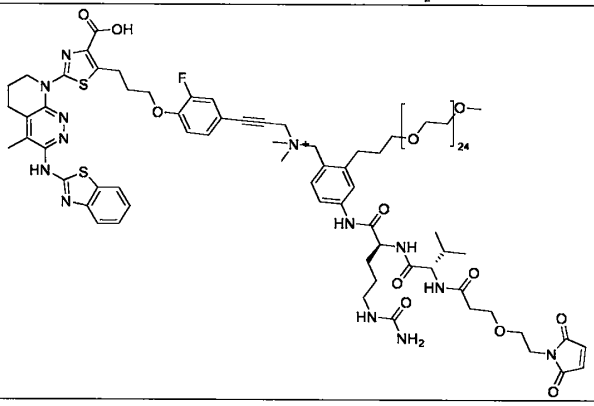
[0639]

L109A-P1	
L110C-P7	
L111A-P1	

[0640]

L111C-P19	
L111A-P21	
L111C-P25	

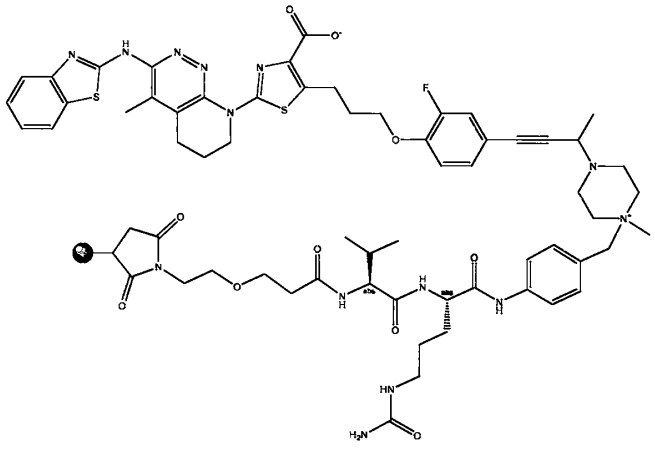
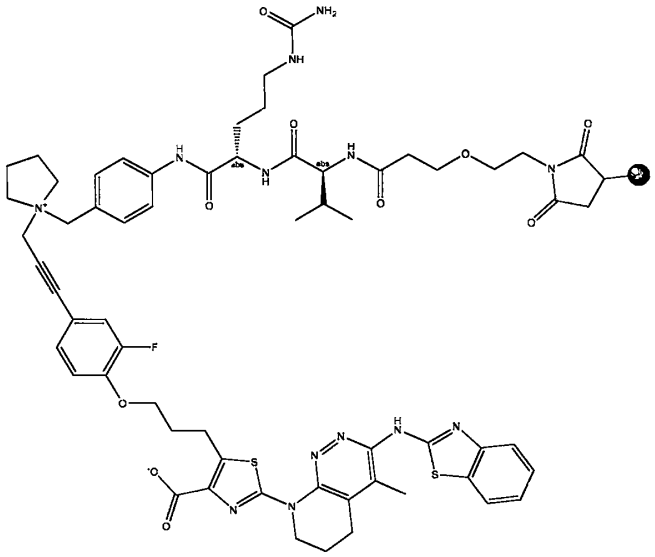
[0641]

L111A-P27	
L112A-P1	

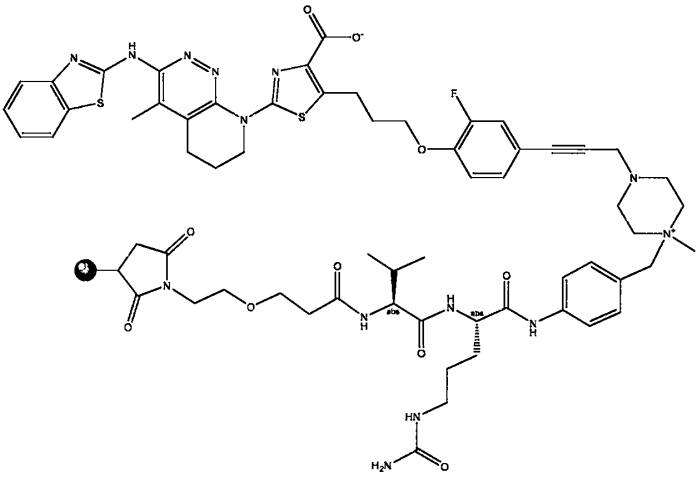
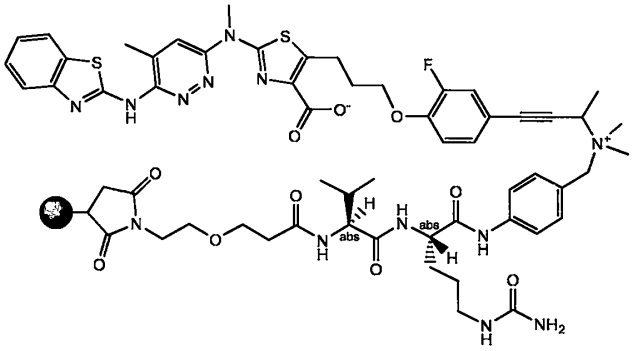
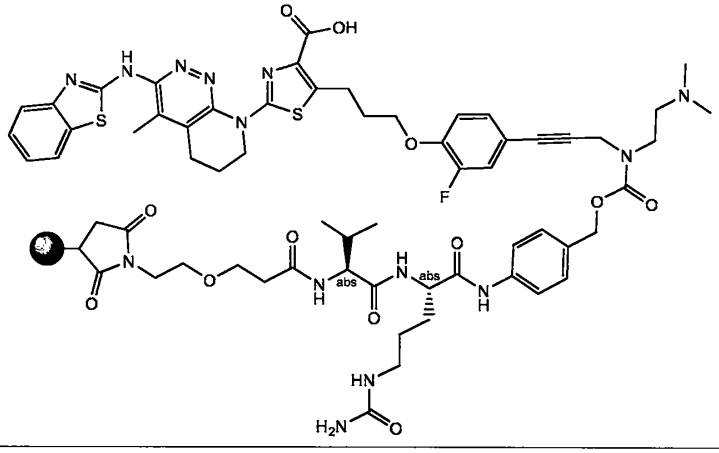
[0642] 在一些实施方案中,抗体-药物缀合物具有根据表1中所示的任一结构的式。

[0643] 表1.ADC结构

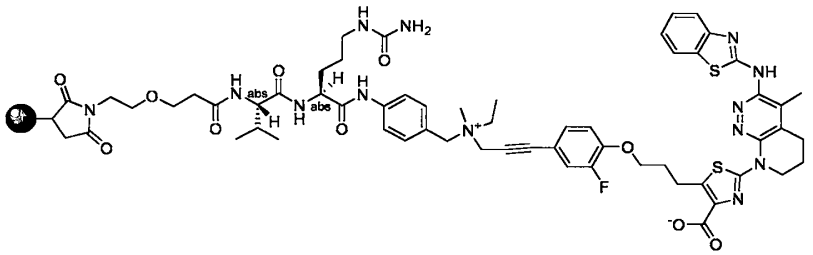
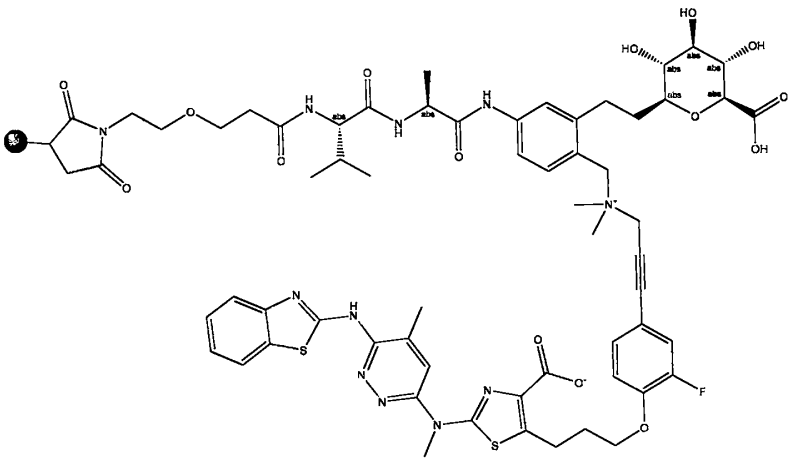
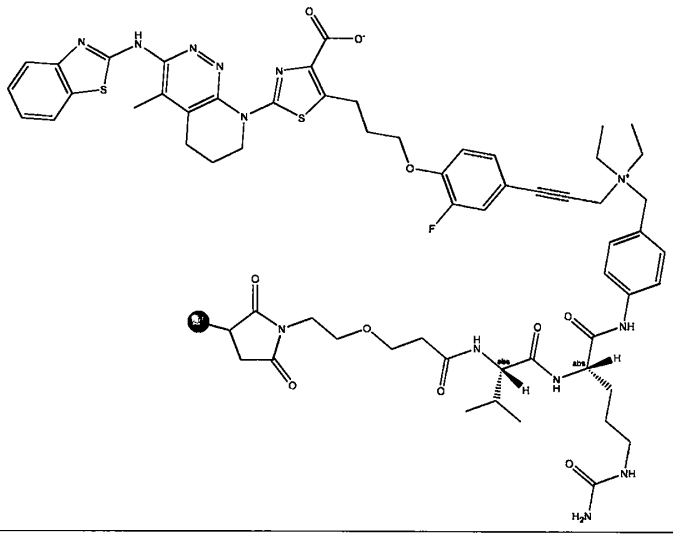
[0644]

ADC	结构
Ab C – L9A-P8	
Ab C – L9A-P9	

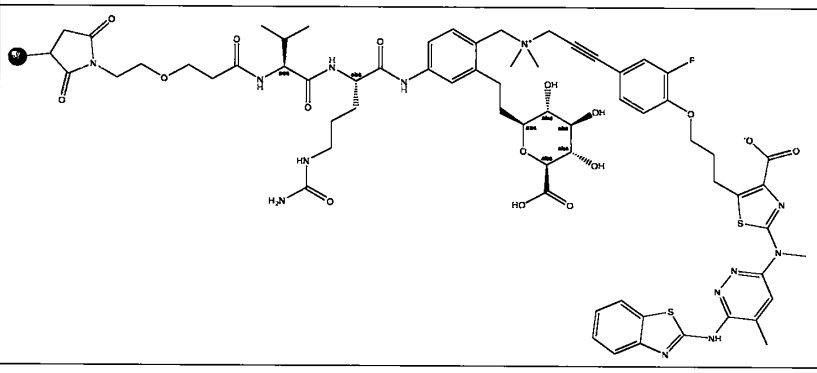
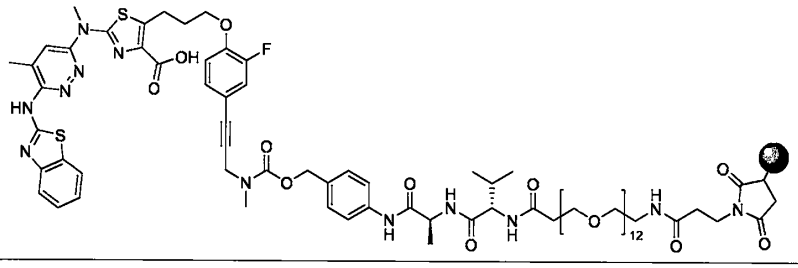
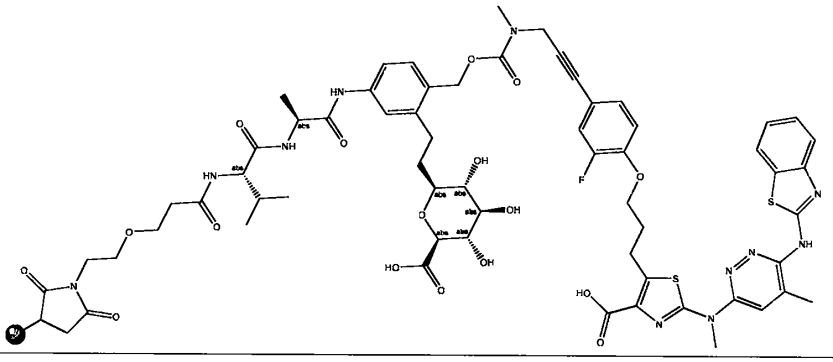
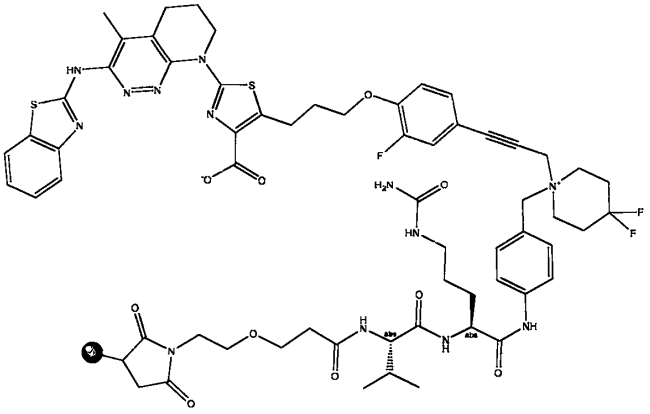
[0645]

ADC	结构
Ab C – L9A-P10	
Ab C – L9A-P11	
Ab C - L9C-P12	

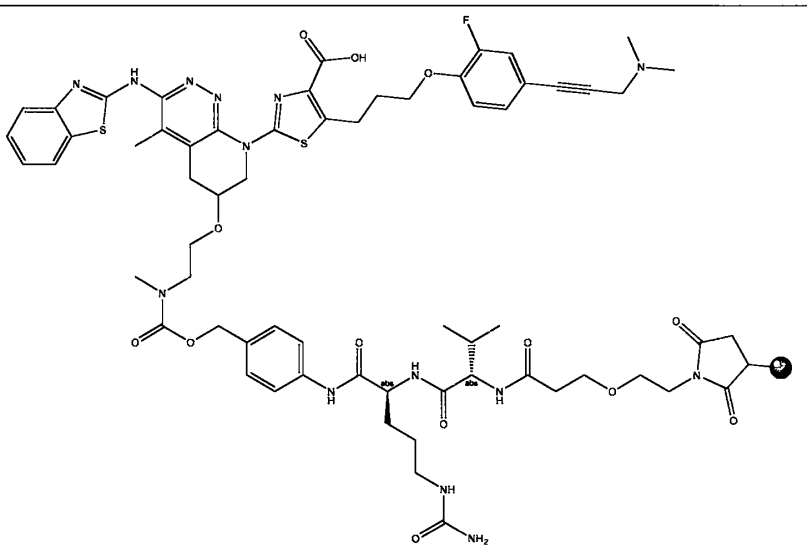
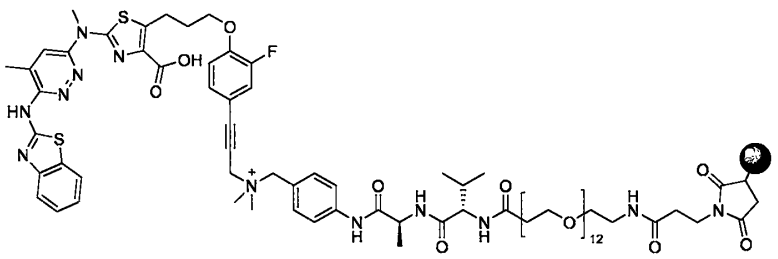
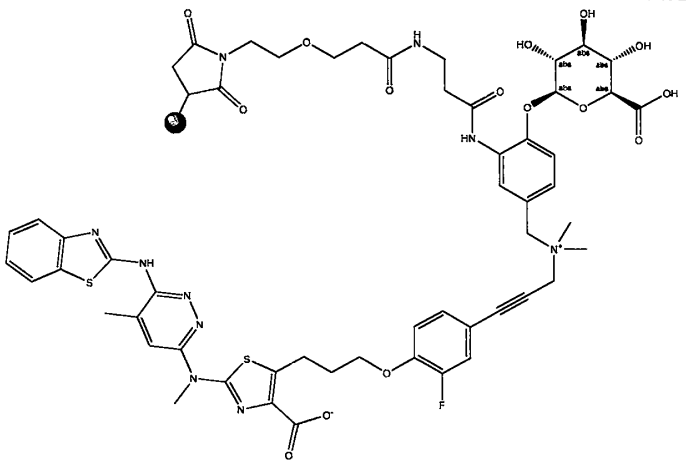
[0646]

ADC	结构
Ab C – L9A-P13	
Ab C – L106A-P2	
Ab C – L9A-P14	

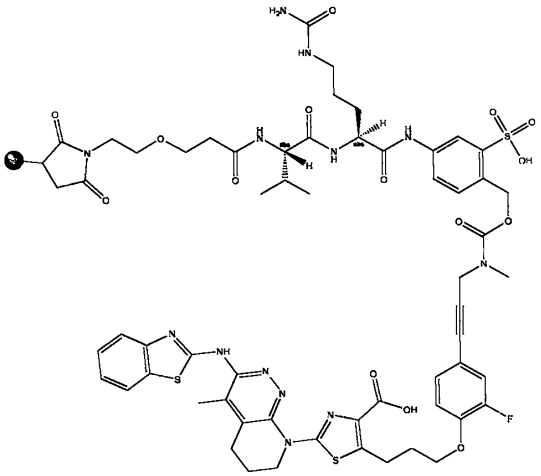
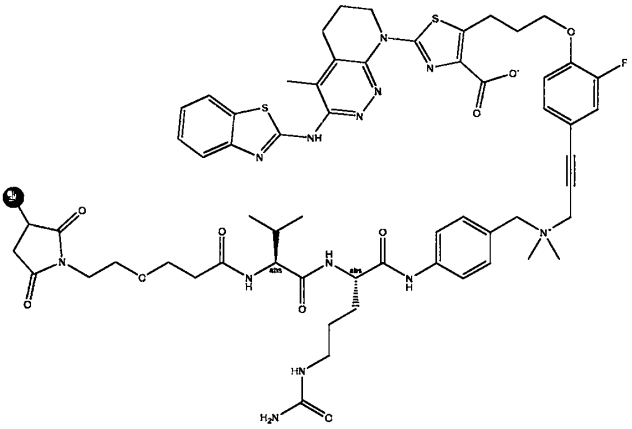
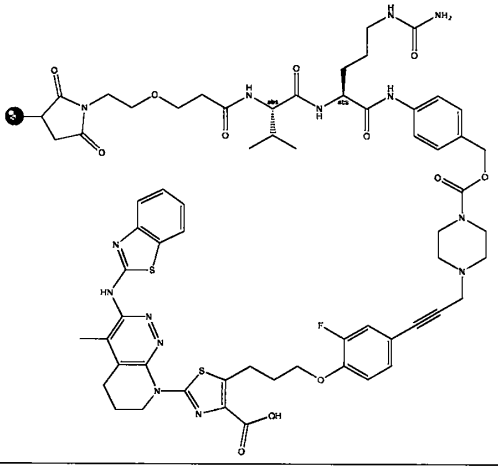
[0647]

ADC	结构
Ab C – L21A-P2	
Ab C – L107C-P7	
Ab C – L106C-P7	
Ab C – L9A-P15	

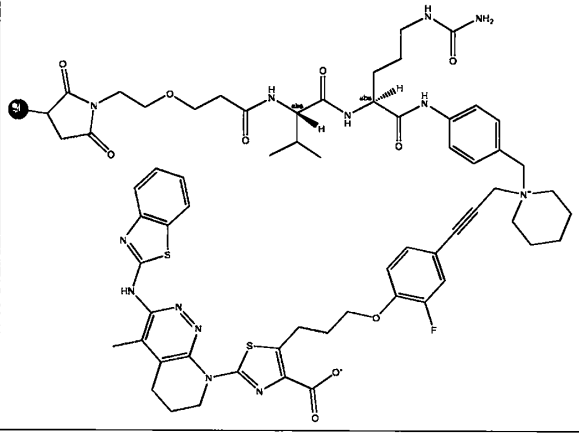
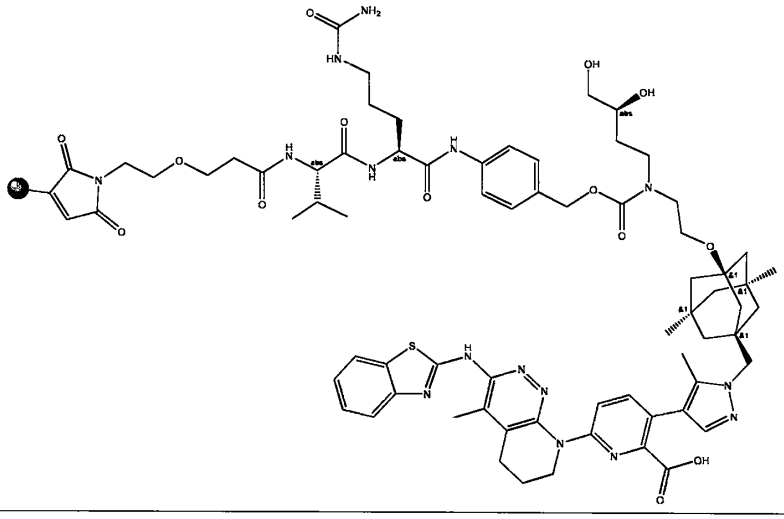
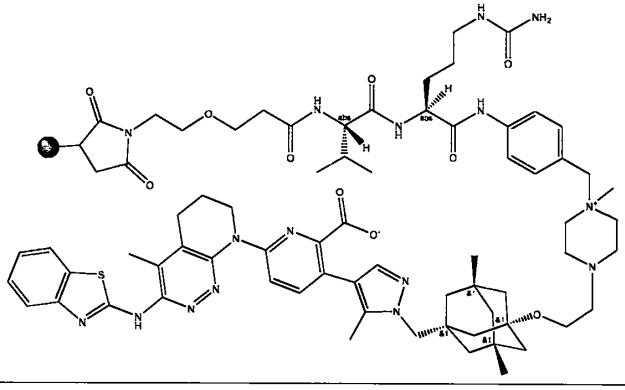
[0648]

ADC	结构
Ab C – L9C-P16	
Ab C – L107A-P2	
Ab C – L108A-P2	

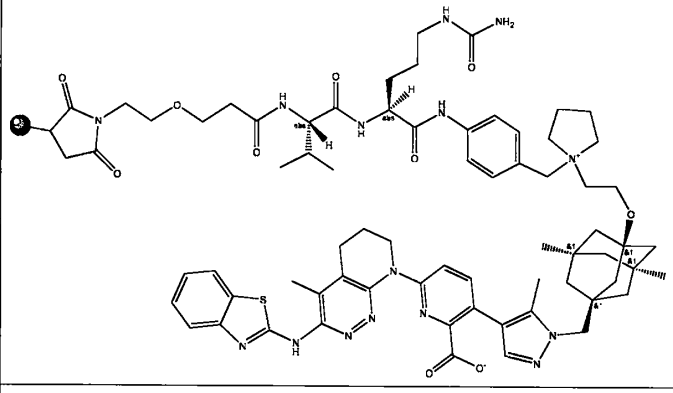
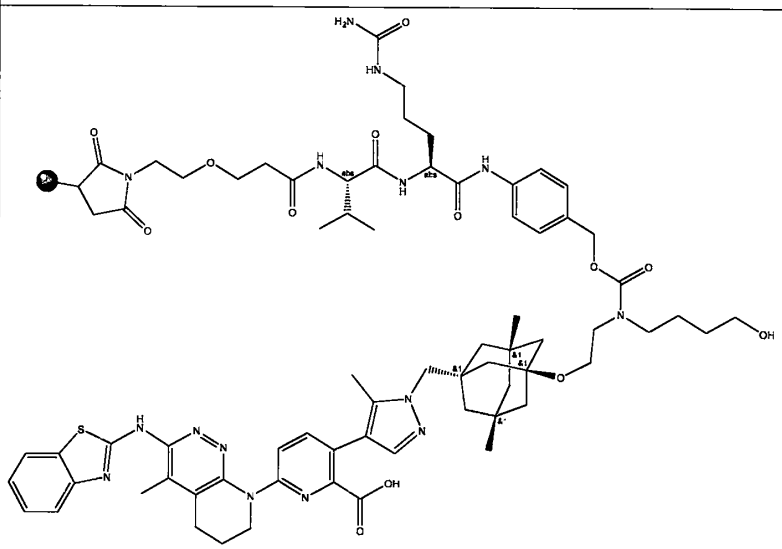
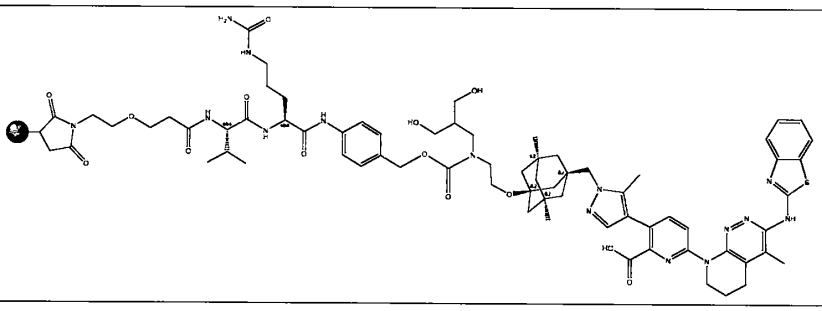
[0649]

ADC	结构
Ab C – L27C-P3	
Ab C – L9A-P1	
Ab C – L9C-P17	

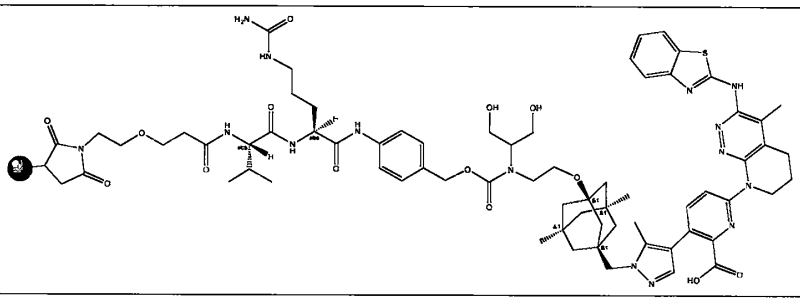
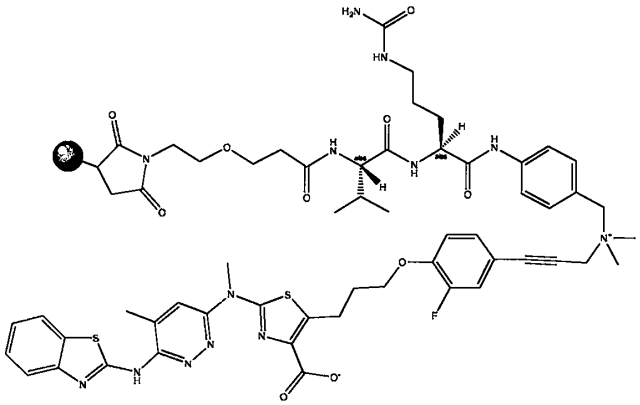
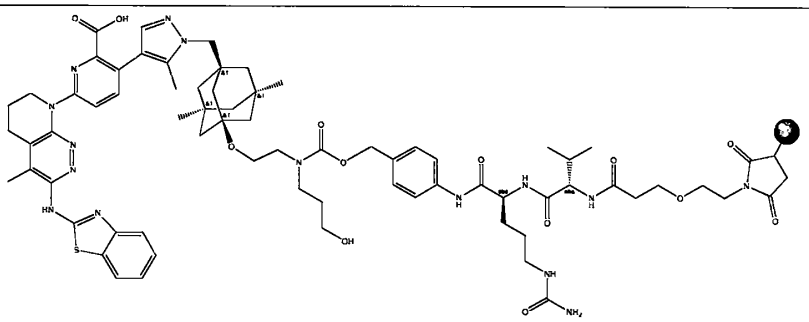
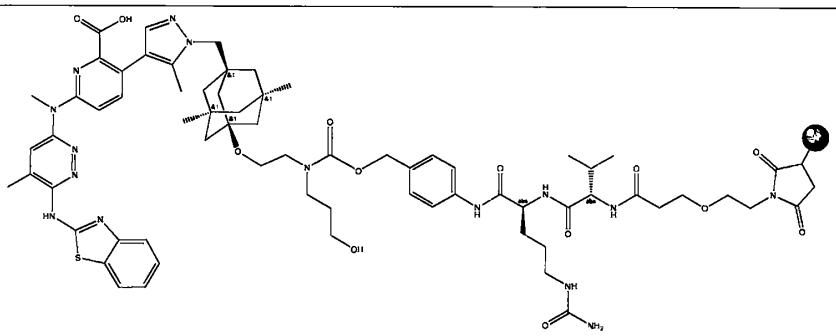
[0650]

ADC	结构
Ab C – L9A-P18	
Ab C – L9C-P19	
Ab C – L9A-P20	

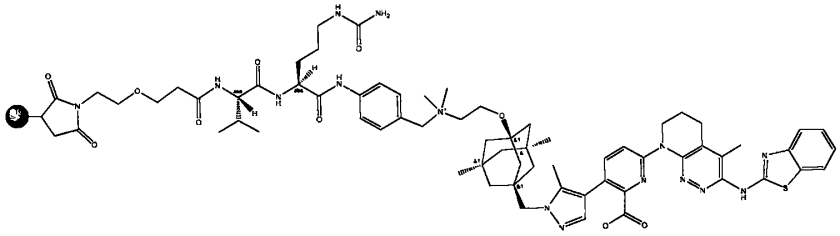
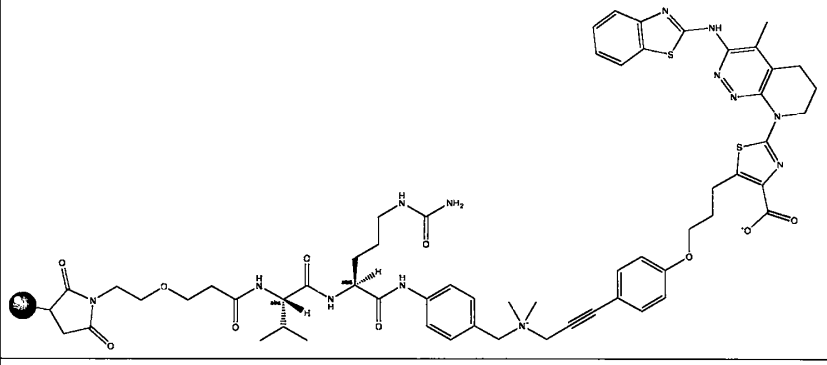
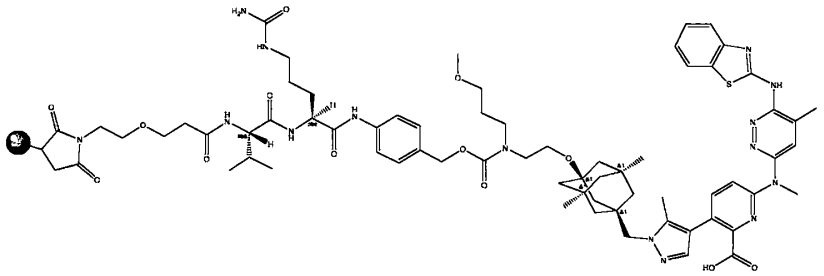
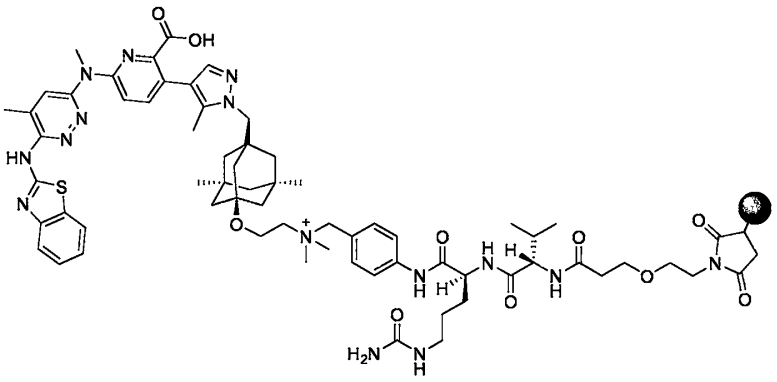
[0651]

ADC	结构
Ab C - L9A-P21	
Ab C – L9C-P22	
Ab C – L9C-P23	

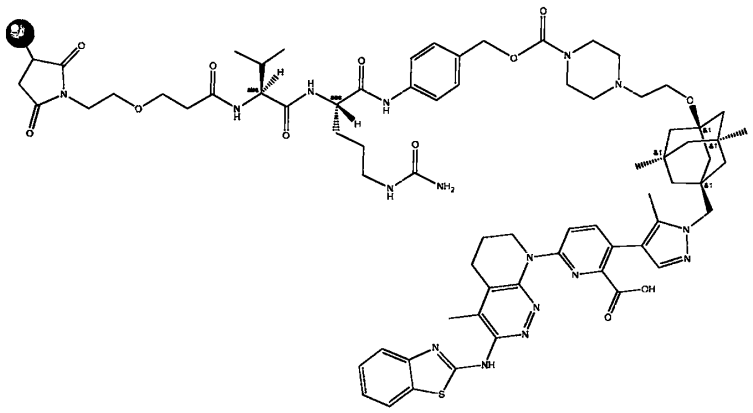
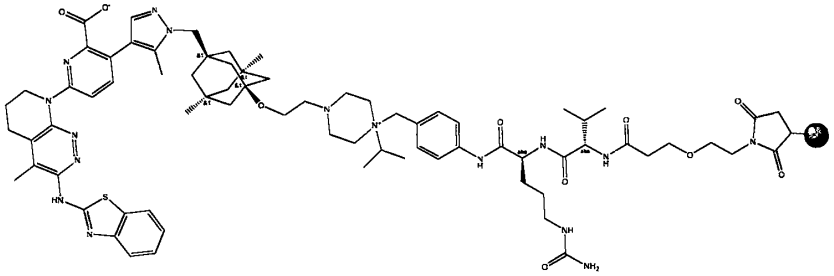
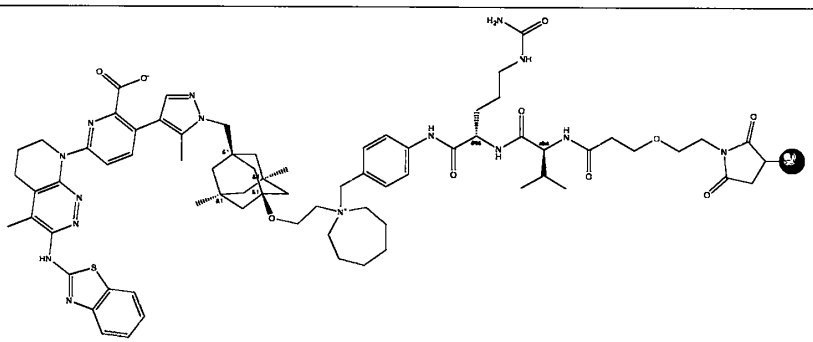
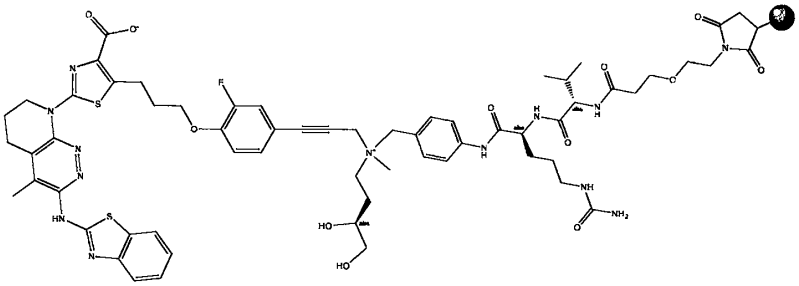
[0652]

ADC	结构
Ab C – L9C-P24	
Ab C – L9A-P2	
Ab C - L9C-P25	
Ab C – L9C-P26	

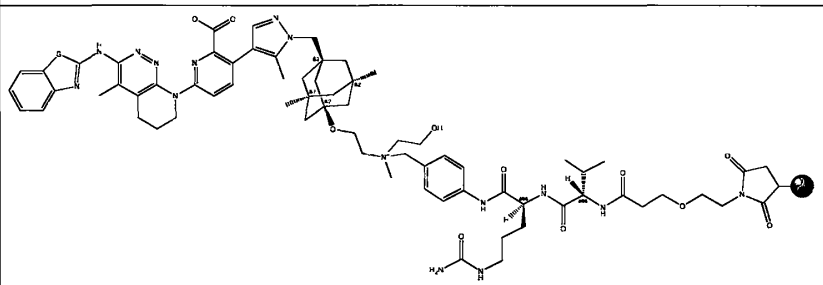
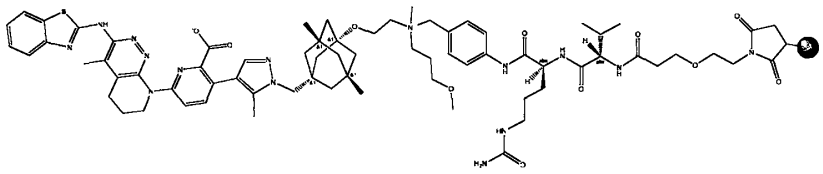
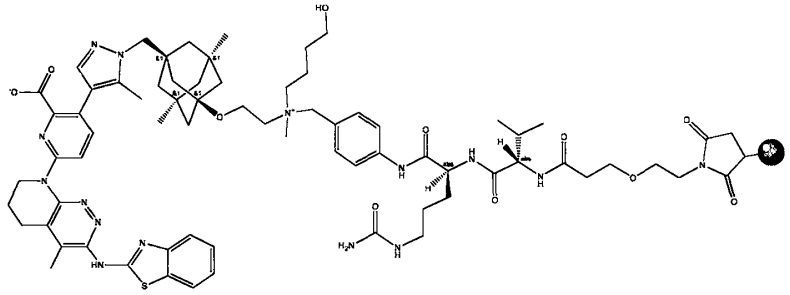
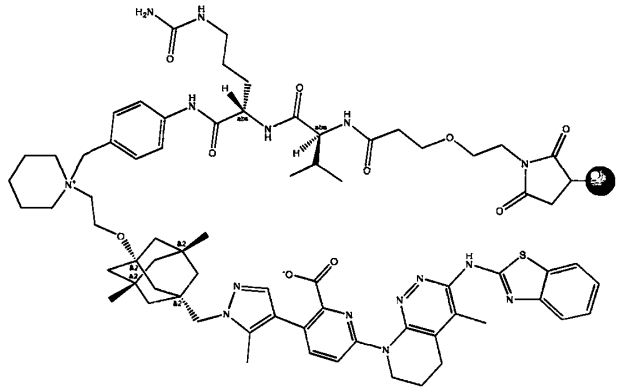
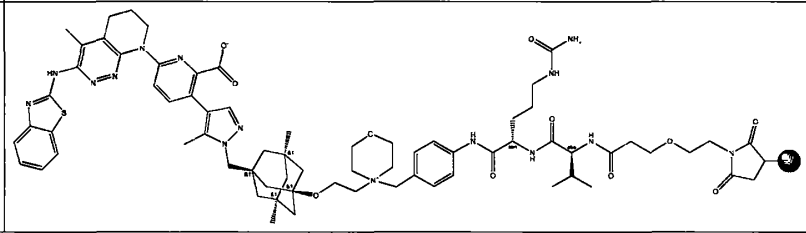
[0653]

ADC	结构
Ab C – L9A-P27	
Ab C – L9A-P28	
Ab C – L9C-P29	
Ab C - L9A-P30	

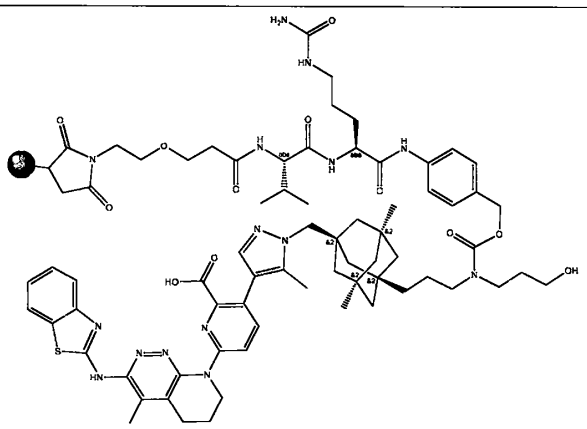
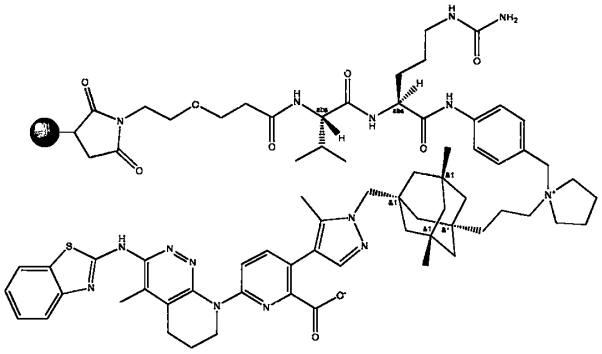
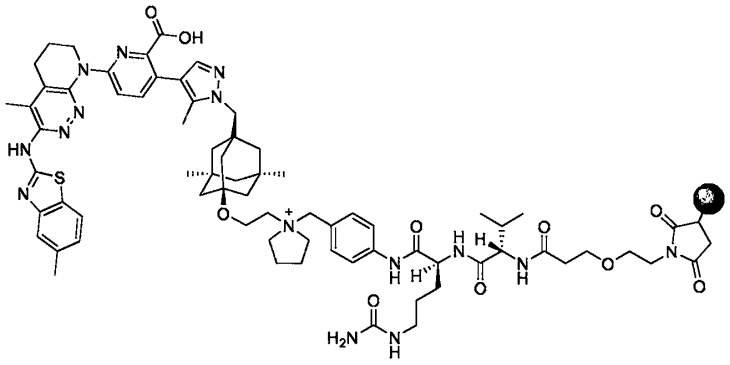
[0654]

ADC	结构
Ab C – L9C-P31	
Ab C – L9A-P32	
Ab C – L9A-P33	
Ab C – L9A-P34	

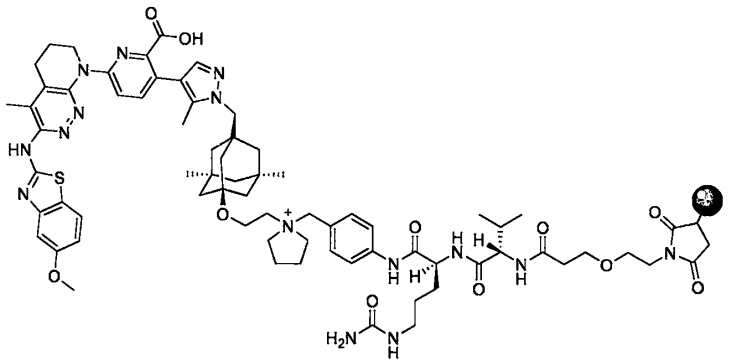
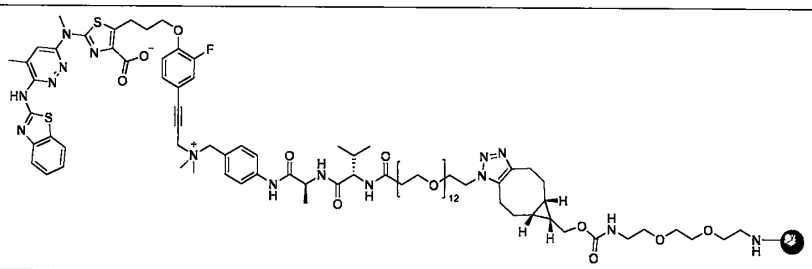
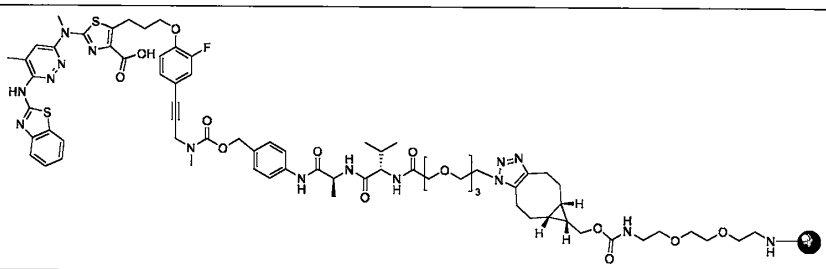
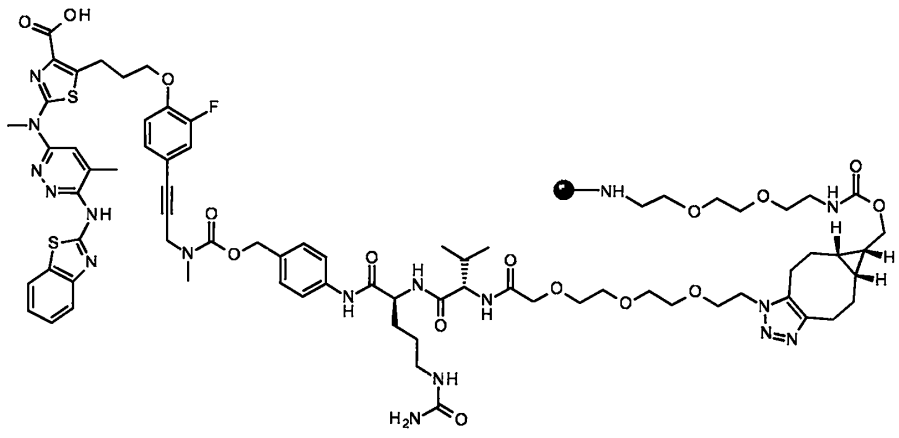
[0655]

ADC	结构
Ab C - L9A-P35	
Ab C - L9A-P36	
Ab C - L9A-P37	
Ab C - L9A-P38	
Ab C - L9A-P39	

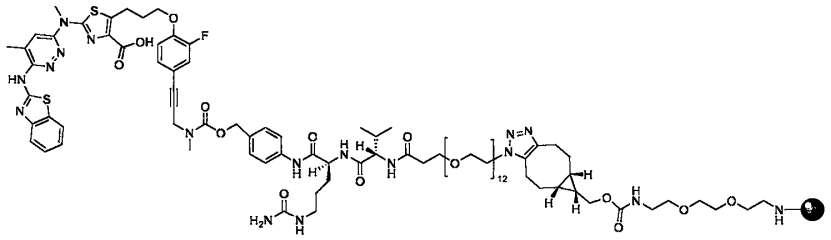
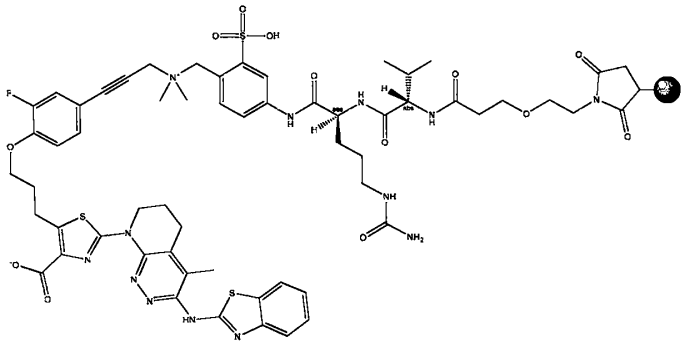
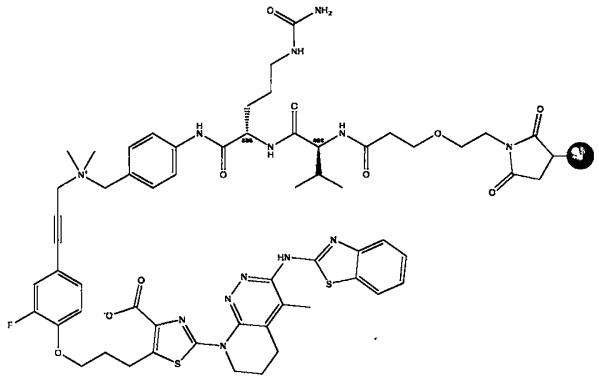
[0656]

ADC	结构
Ab C - L9C-P40	
Ab C - L9A-P41	
Ab C - L9A-P42	

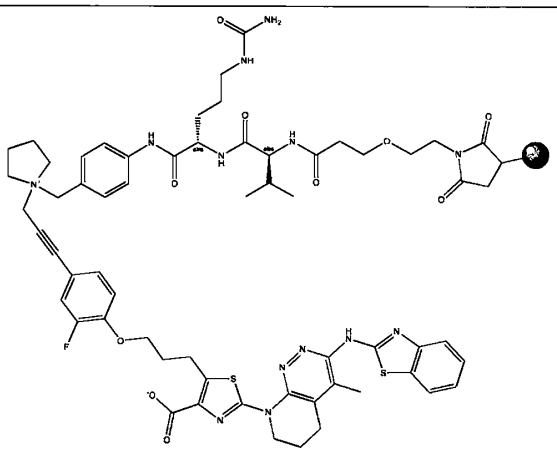
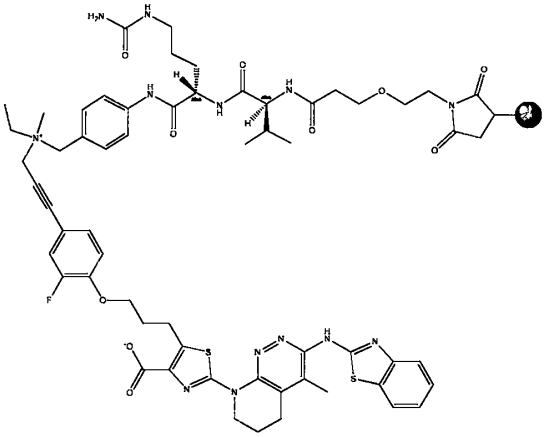
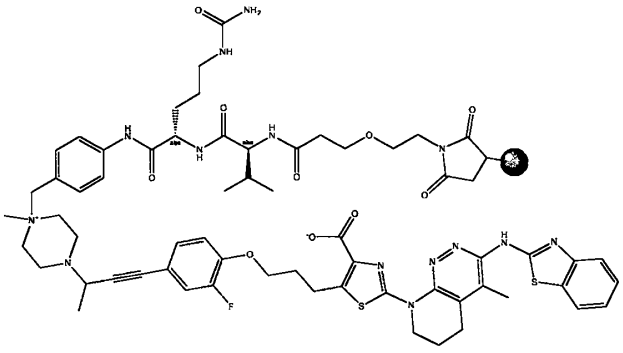
[0657]

ADC	结构
Ab C - L9A-P43	
Ab T – L13A-P2	
Ab T – L19C-P7	
Ab T – L23C-P7	

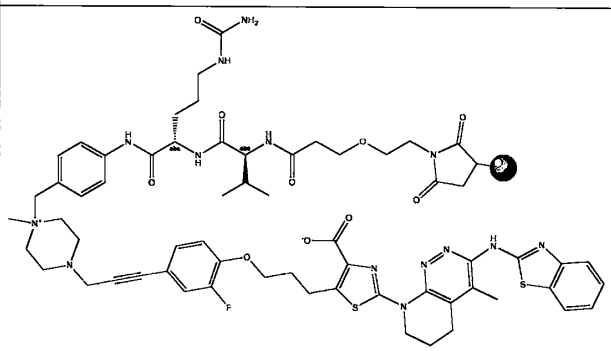
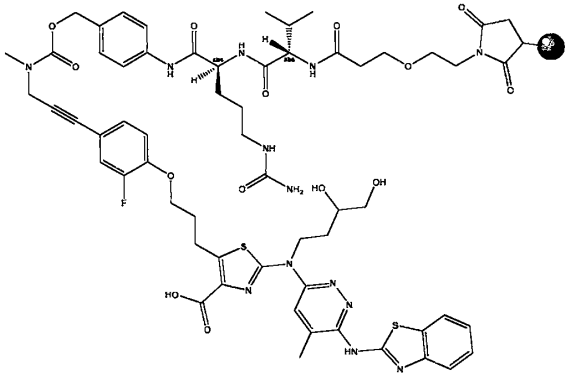
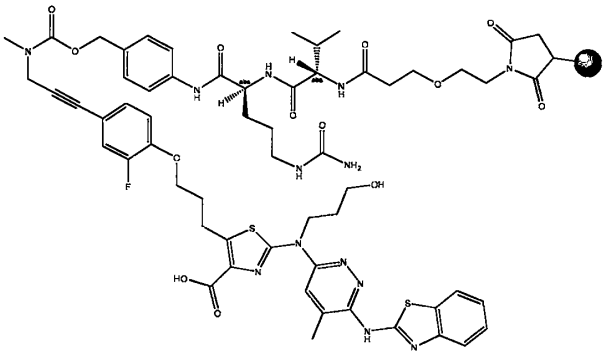
[0658]

ADC	结构
Ab T – L110C-P7	
Ab D – L27A - P1	
Ab D – L9A-P1	

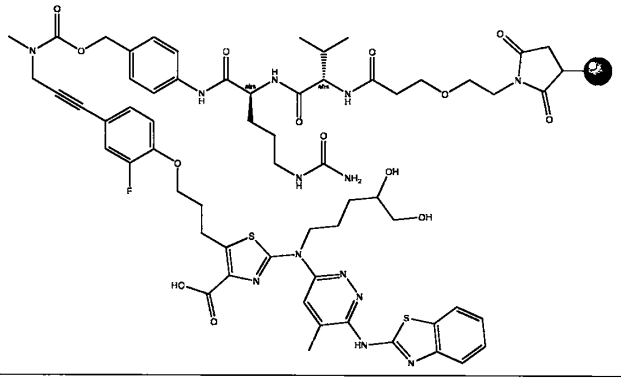
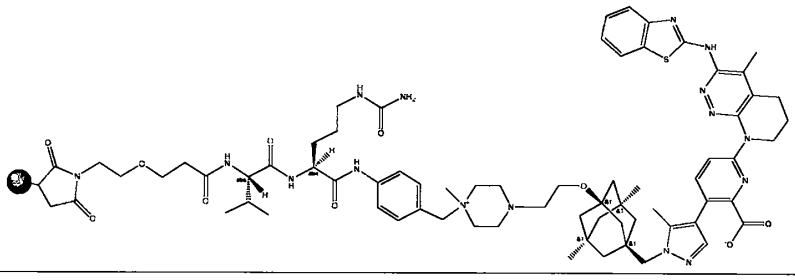
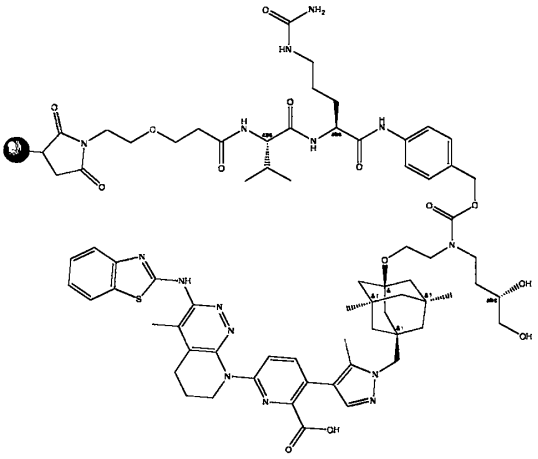
[0659]

ADC	结构
Ab D – L9A-P9	
Ab D – L9A-P13	
Ab D – L9A-P8	

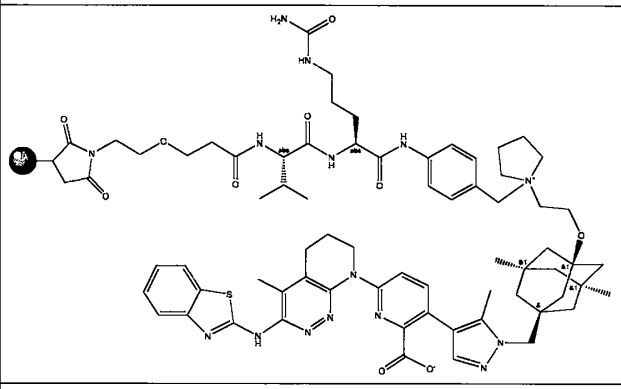
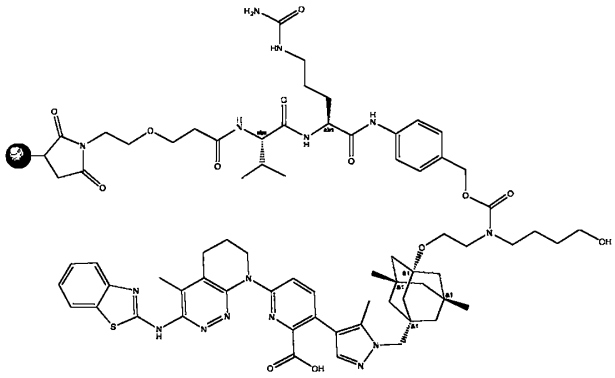
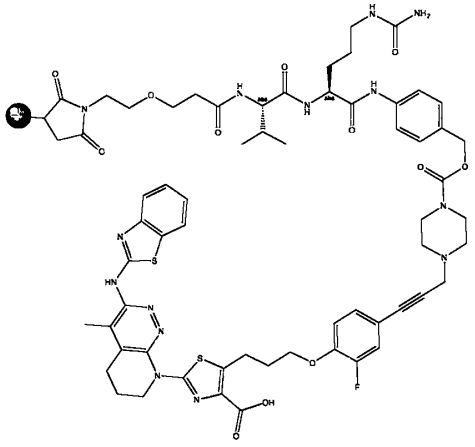
[0660]

ADC	结构
Ab D – L9A-P10	
Ab D – L9C-P44	
Ab D - L9C-P45	

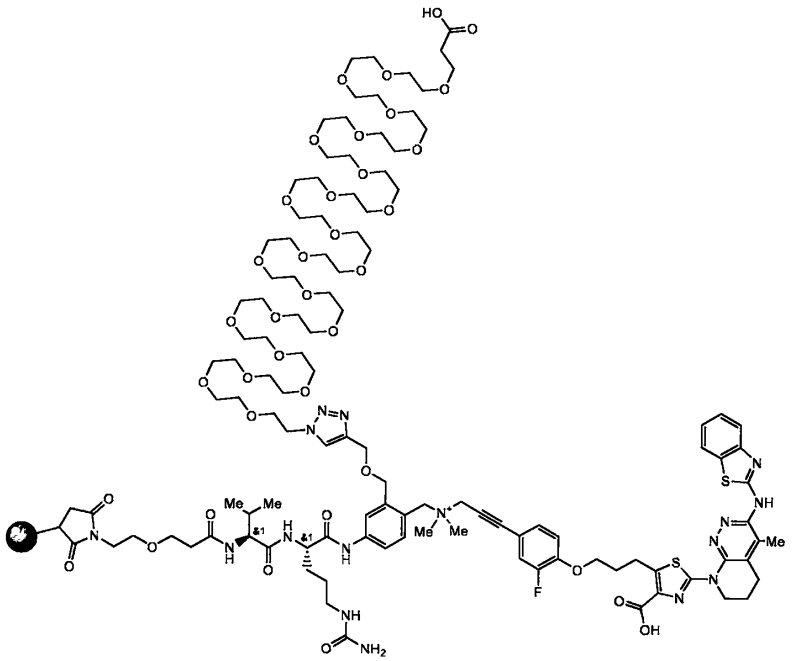
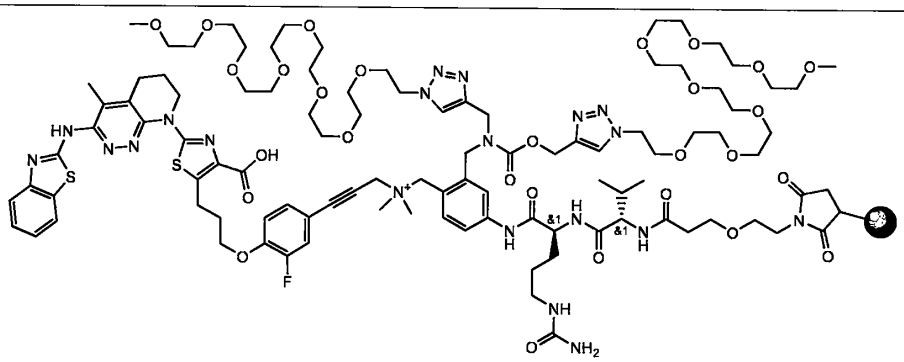
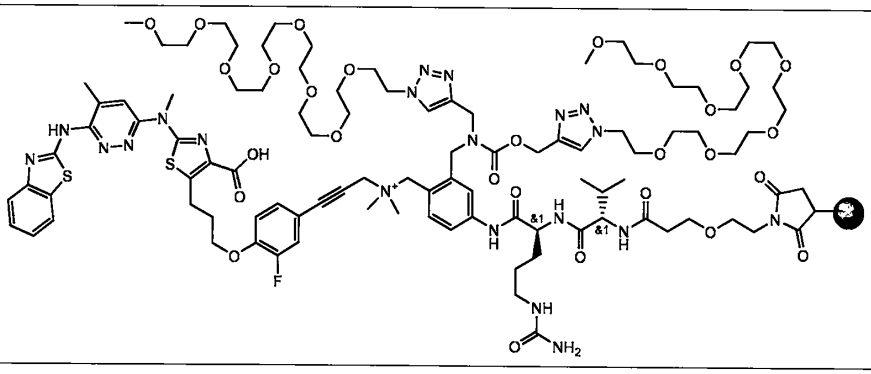
[0661]

ADC	结构
Ab D – L9C-P46	
Ab D – L9A-P20	
Ab D – L9C-P19	

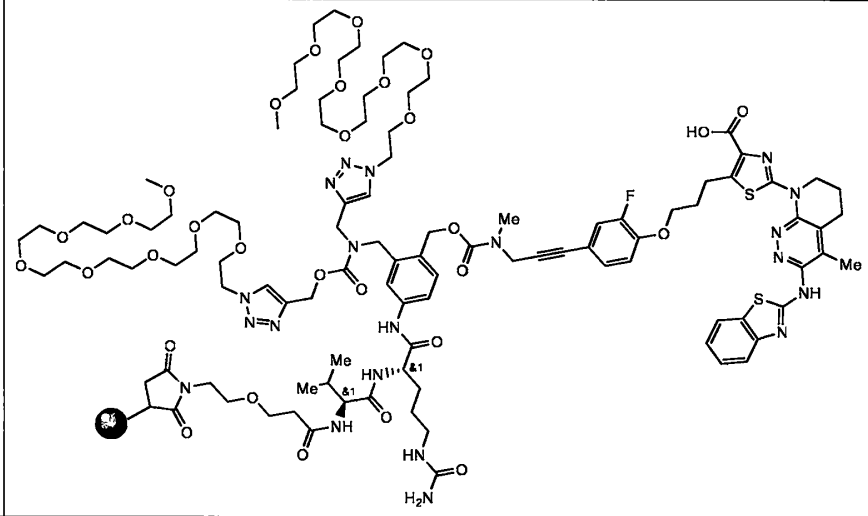
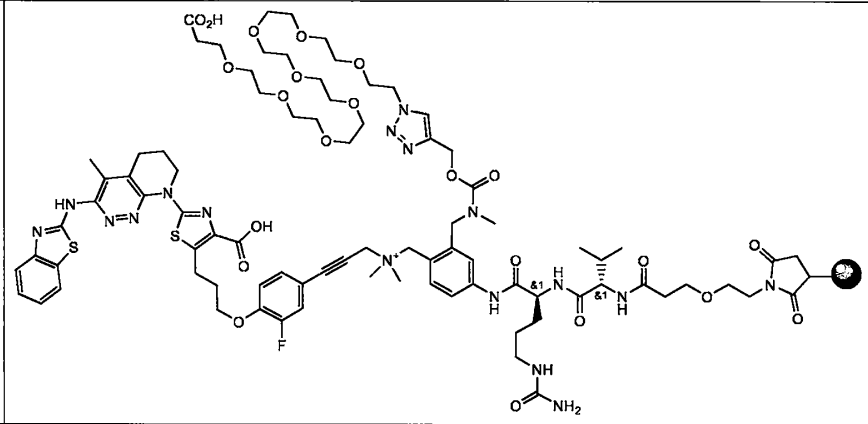
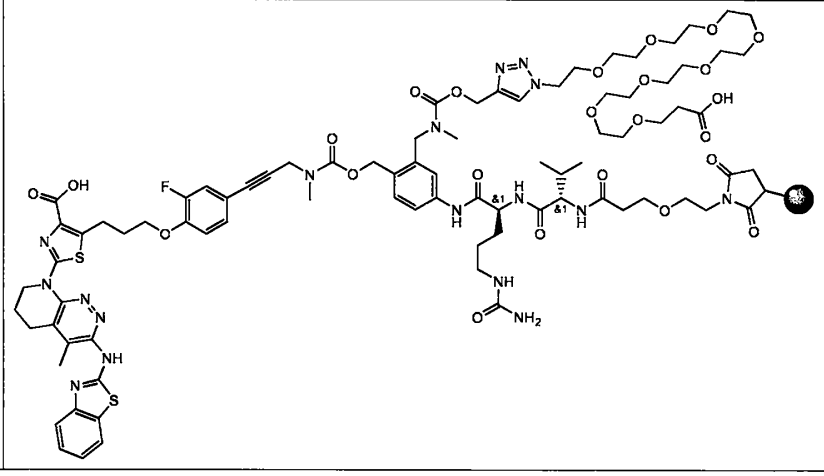
[0662]

ADC	结构
Ab D - L9A-P21	
Ab D – L9C-P22	
Ab D – L9C-P17	

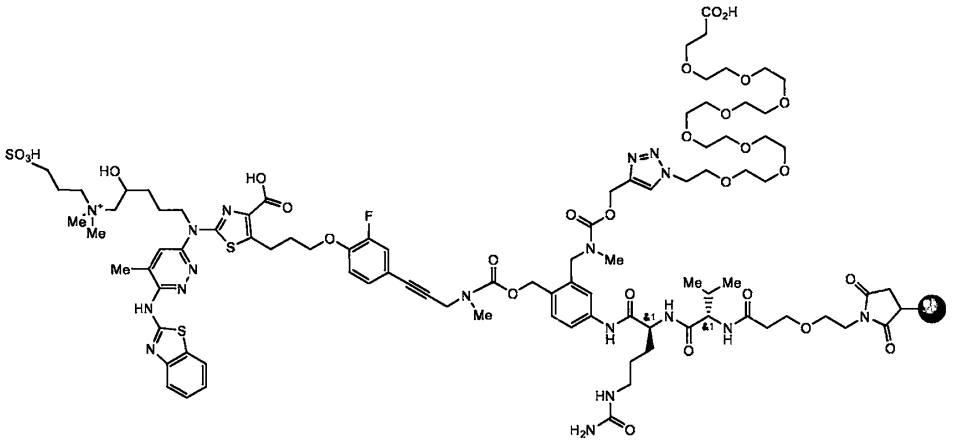
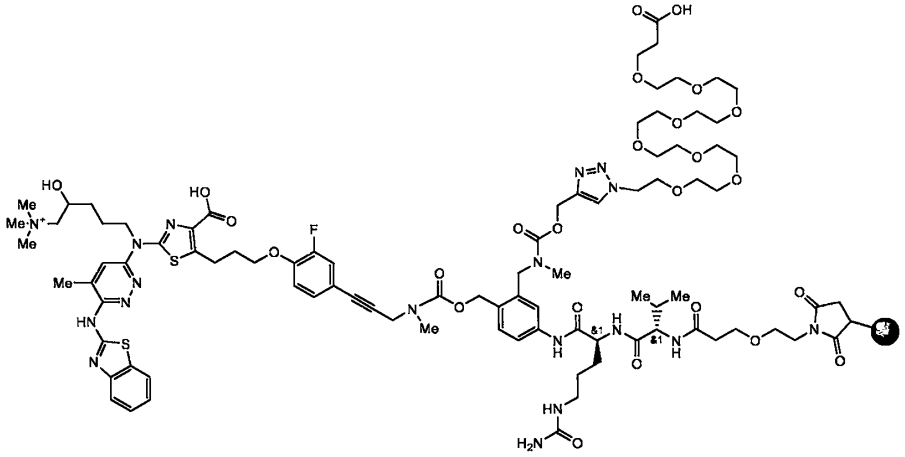
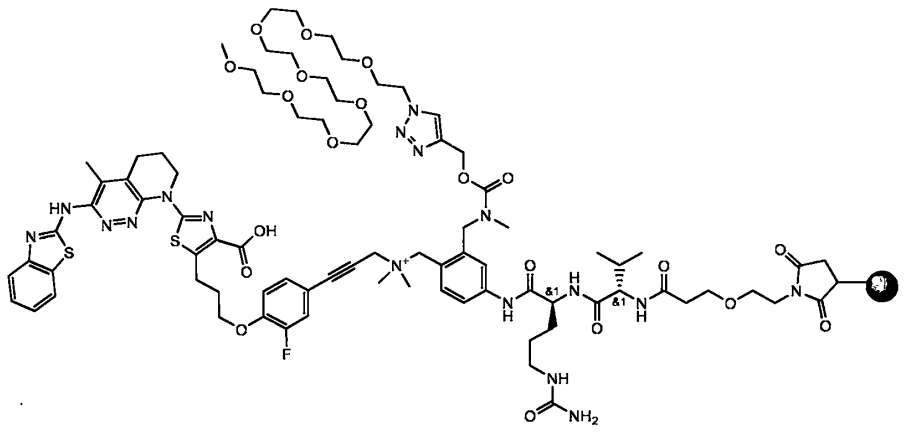
[0663]

ADC	结构
EGFR1 CysMab-L109A-P1	
EGFR1 CysMab-L1A-P1	
EGFR1 CysMab-L1A-P2	

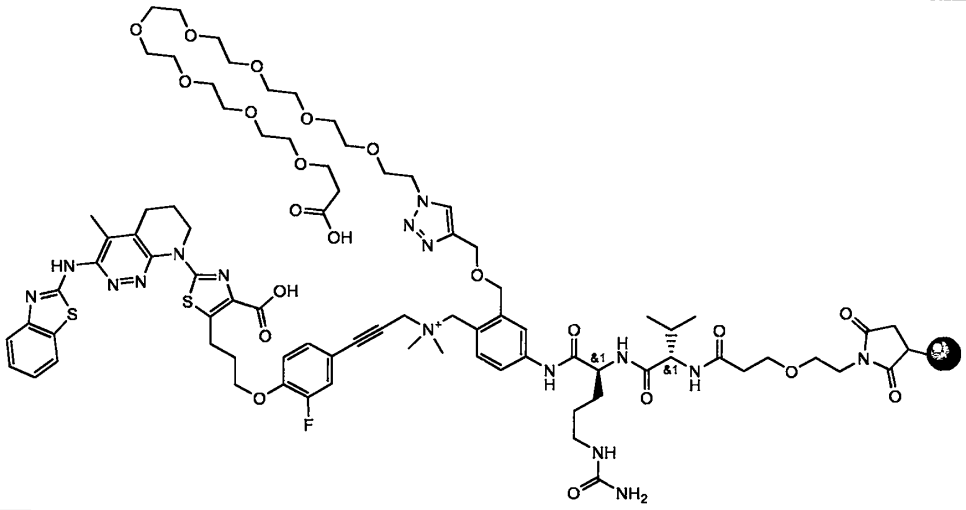
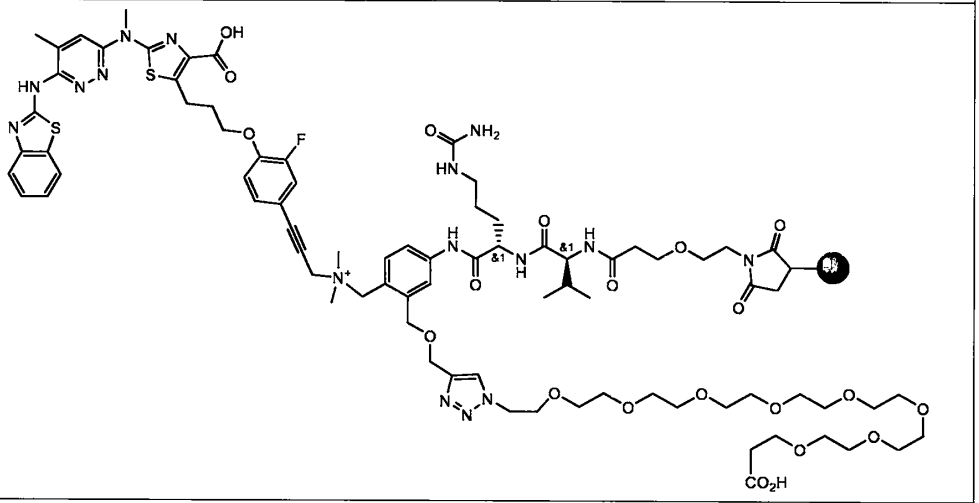
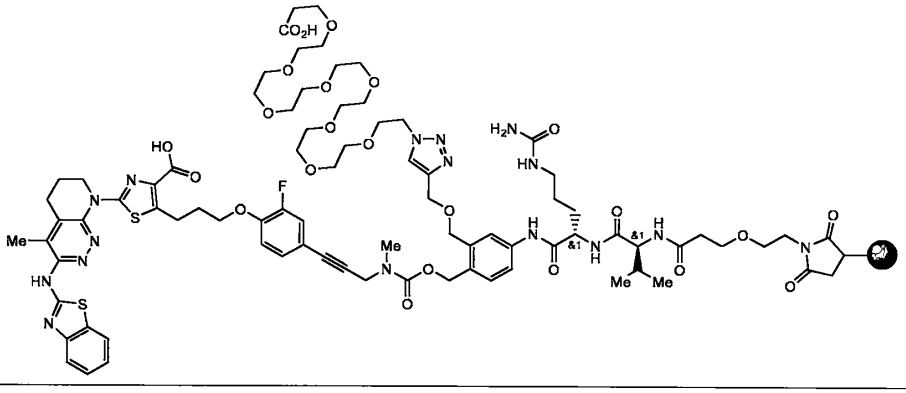
[0664]

ADC	结构
EGFR1 CysMab-L1C-P3	
EGFR1 CysMab-L3A-P1	
EGFR1 CysMab-L3C-P3	

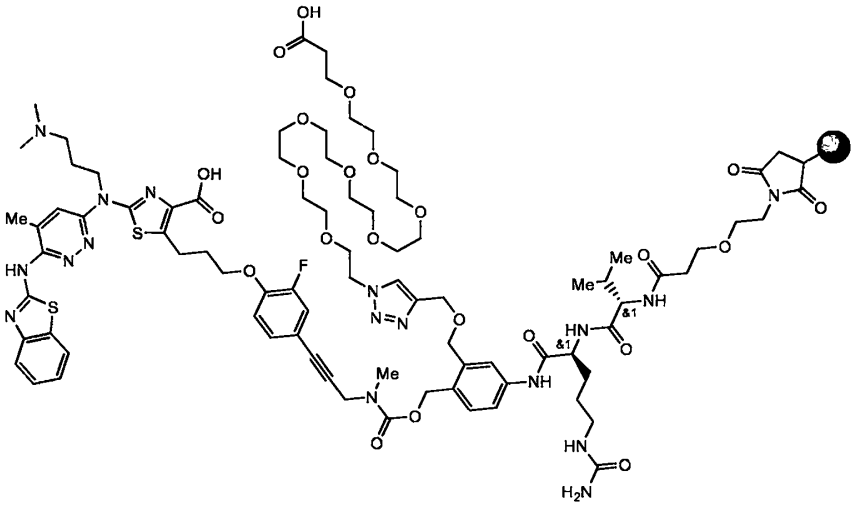
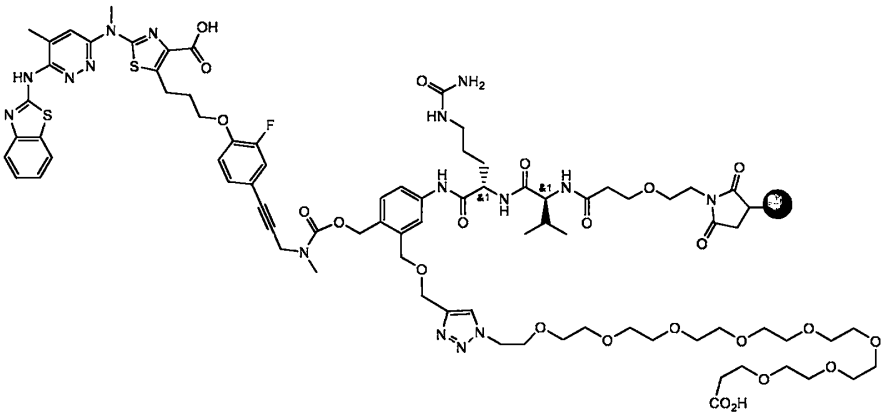
[0665]

ADC	结构
EGFR1 CysMab-L3C-P4	
EGFR1 CysMab-L3C-P5	
EGFR1 CysMab-L4A-P1	

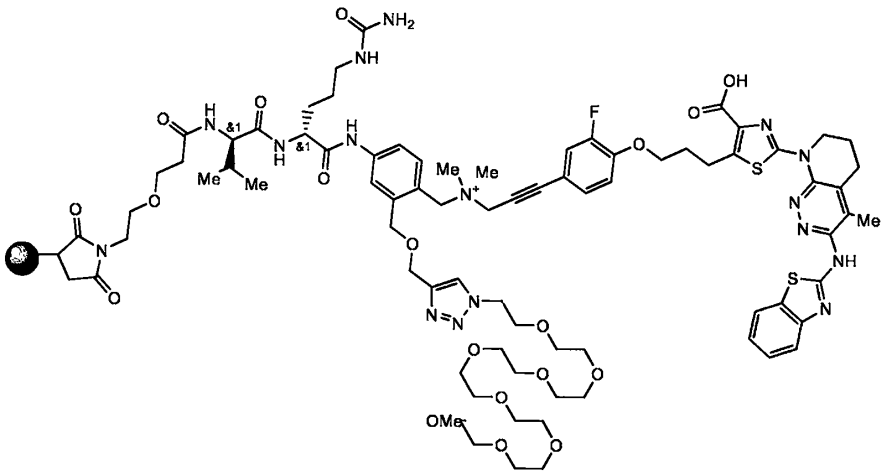
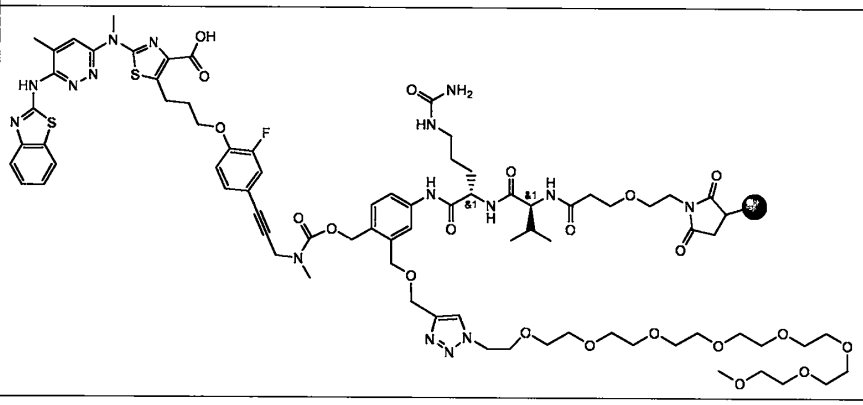
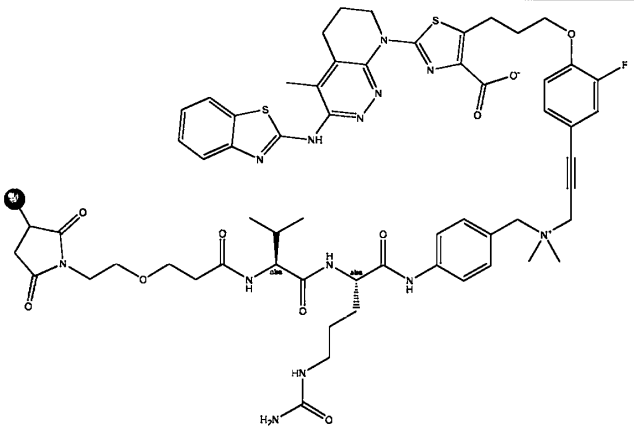
[0666]

ADC	结构
EGFR1 CysMab-L7A-P1	
EGFR1 CysMab-L7A-P2	
EGFR1 CysMab-L7C-P3	

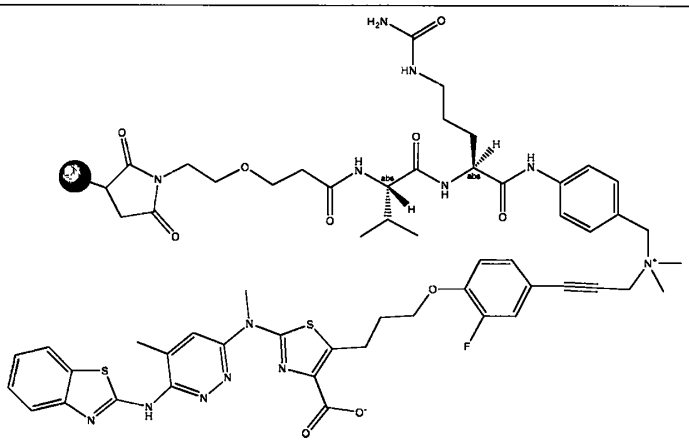
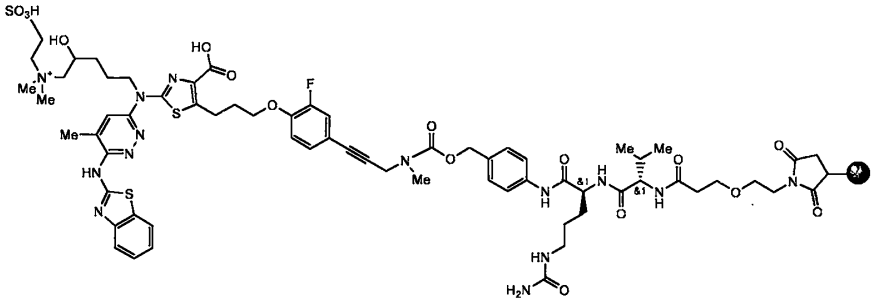
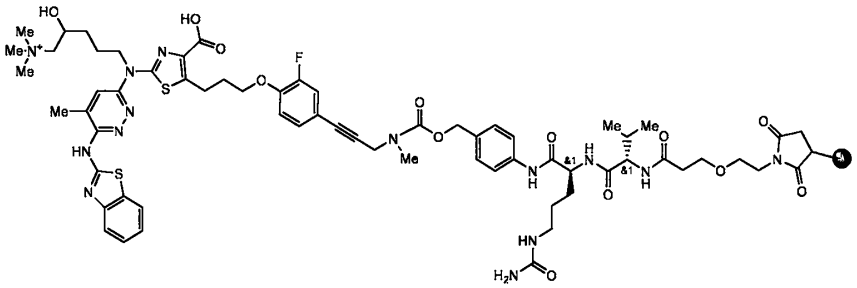
[0667]

ADC	结构
EGFR1 CysMab-L7C-P6	
EGFR1 CysMab-L7C-P7	

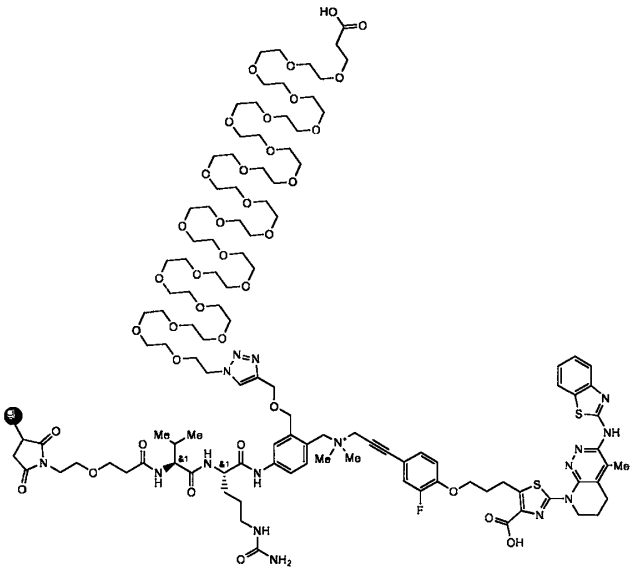
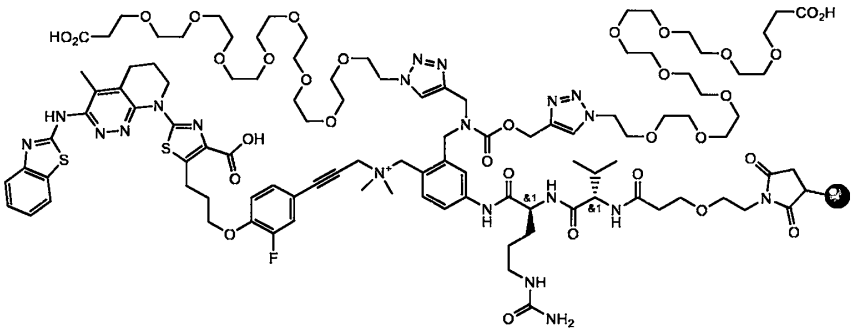
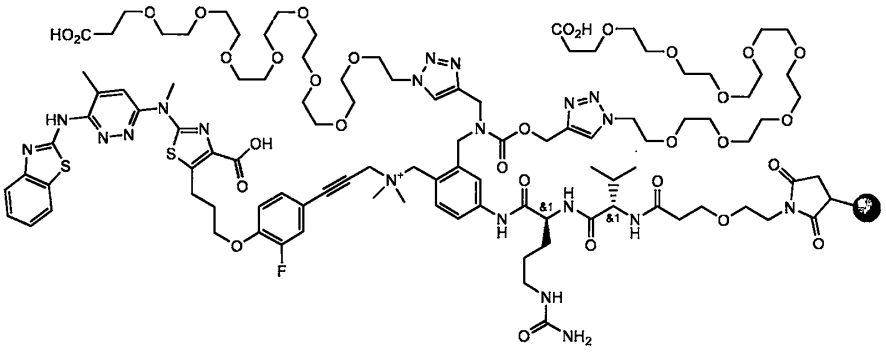
[0668]

ADC	结构
EGFR1 CysMab-L8A-P1	
EGFR1 CysMab-L8C-P7	
EGFR1 CysMab-L9A-P1	

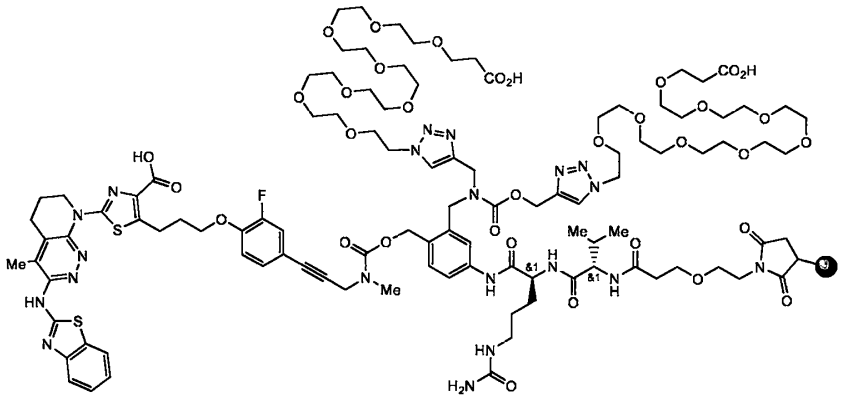
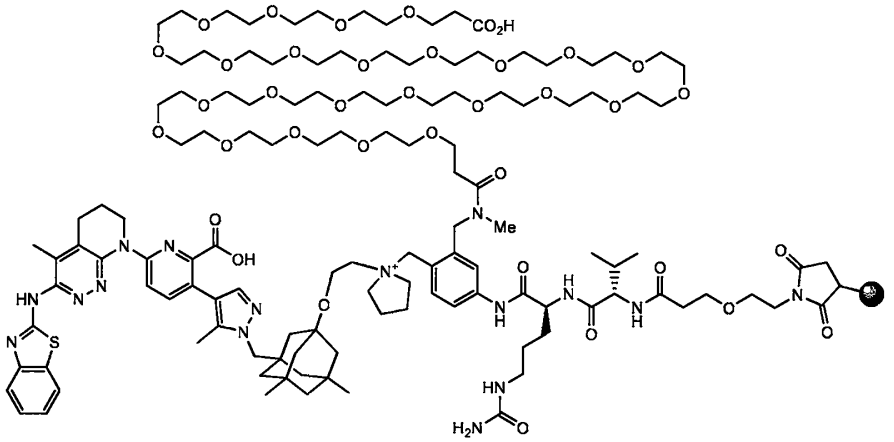
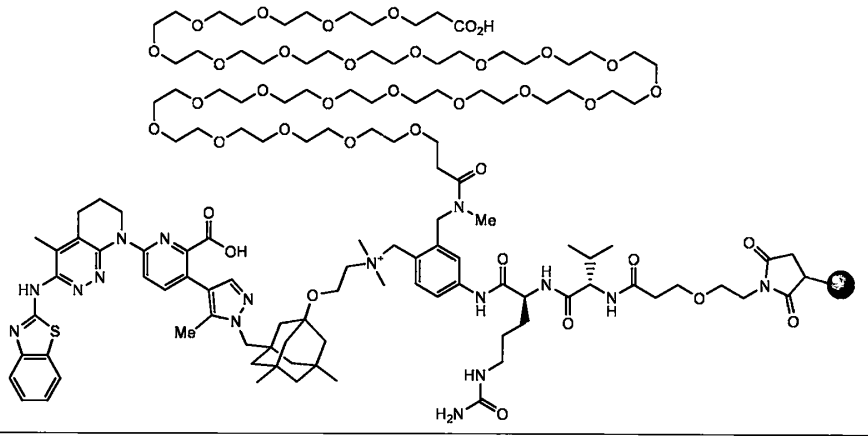
[0669]

ADC	结构
EGFR1 CysMab-L9A-P2	
EGFR1 CysMab-L9C-P4	
EGFR1 CysMab-L9C-P5	

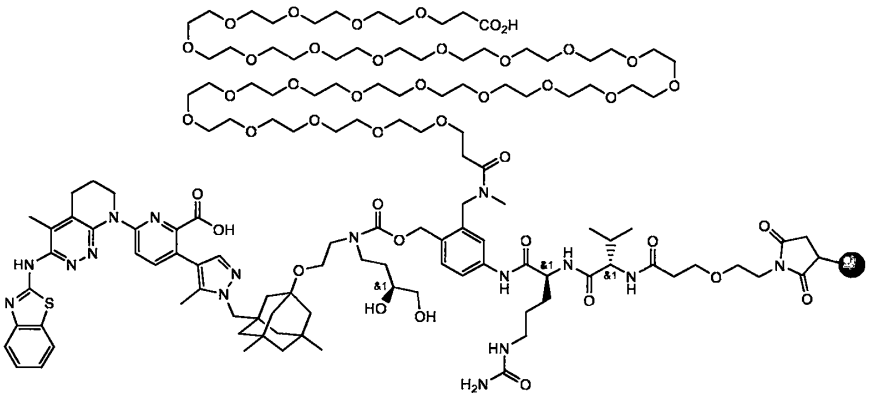
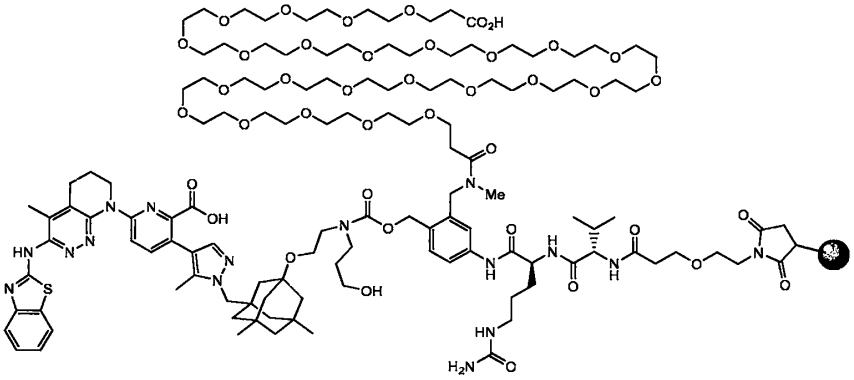
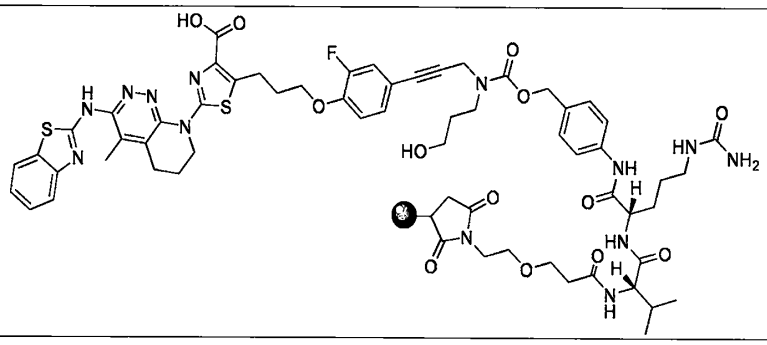
[0670]

ADC	结构
EGFR1 CysMab-L109A-P1	
EGFR1 CysMab-L10A-P1	
EGFR1 CysMab-L10A-P2	

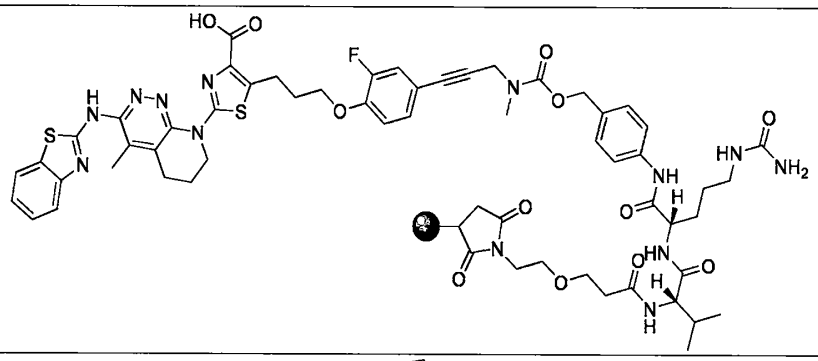
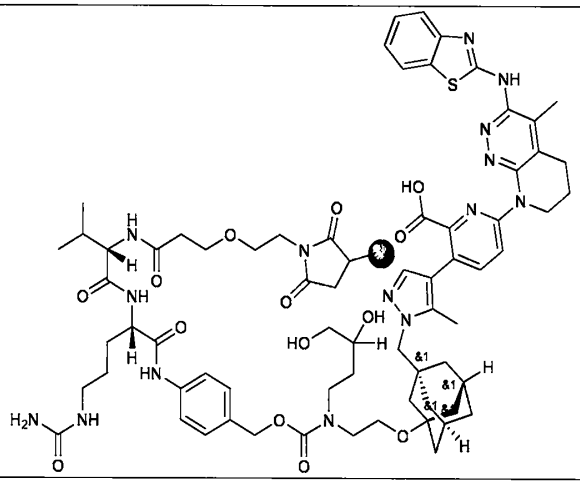
[0671]

ADC	结构
EGFR1 CysMab-L10C-P3	
EGFR1 CysMab-L11A-P21	
EGFR1 CysMab-L11A-P27	

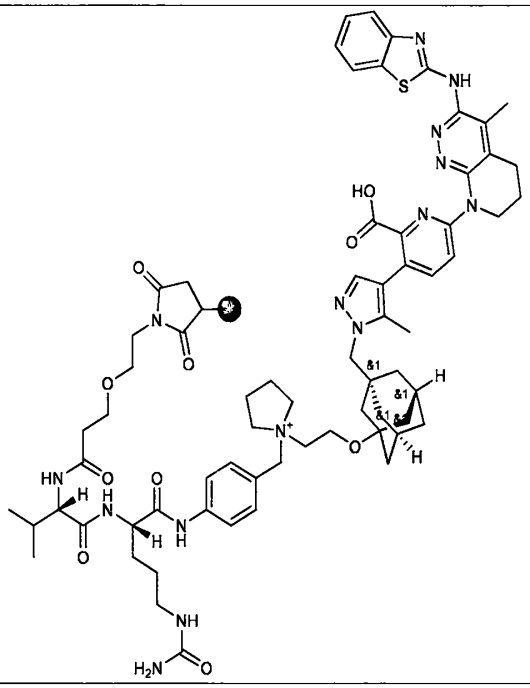
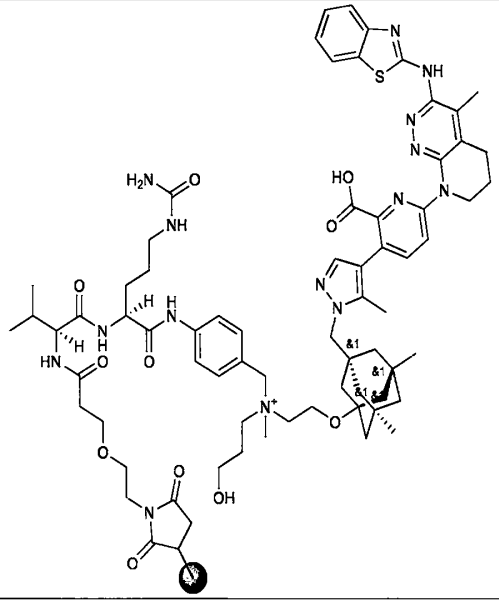
[0672]

ADC	结构
EGFR1 CysMab-L11C-P19	
EGFR1 CysMab-L11C-P25	
Ab-L9C-P59	

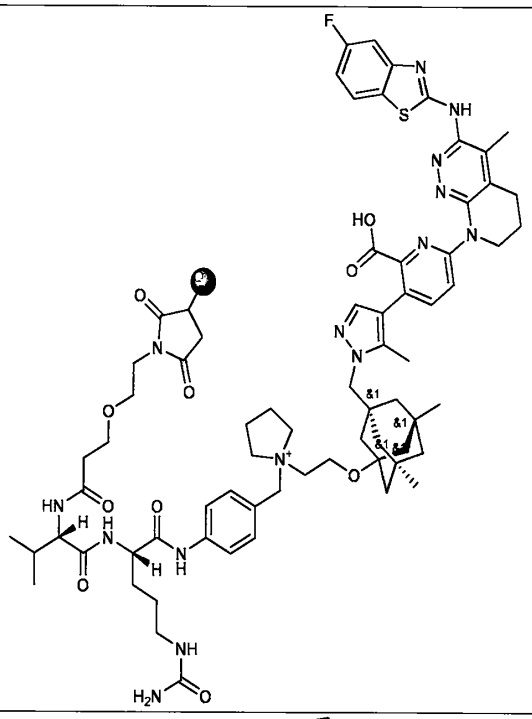
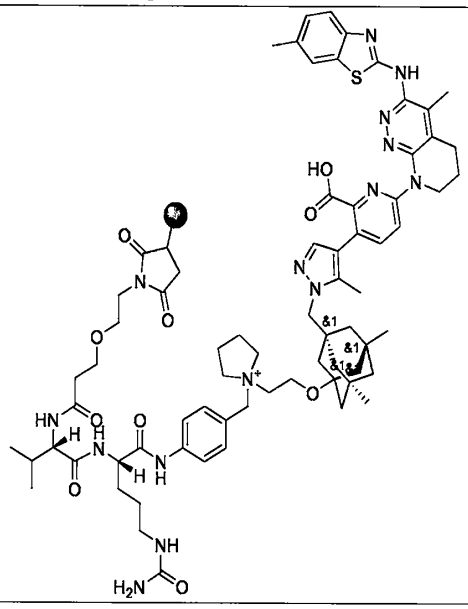
[0673]

ADC	结构
Ab-L9C-P3	
Ab-L9C-P60	

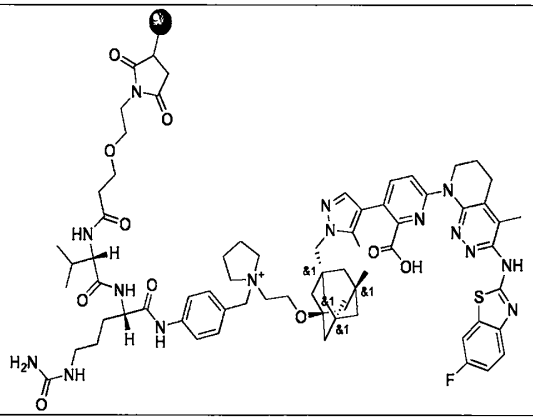
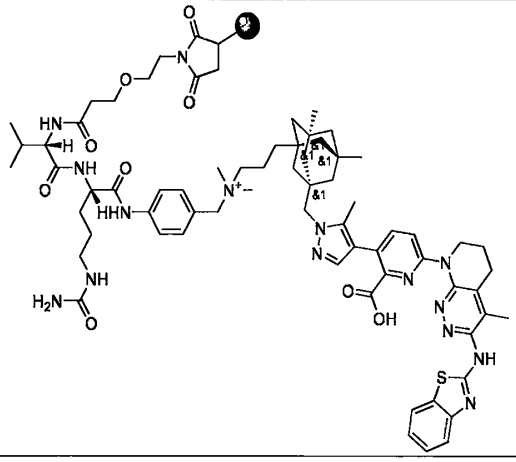
[0674]

ADC	结构
Ab-L9A-P61	
Ab-L9A-P62	

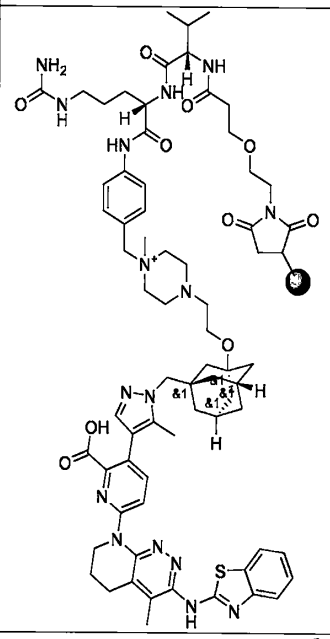
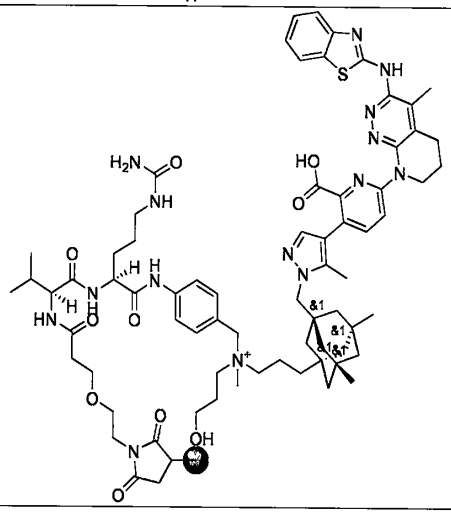
[0675]

ADC	结构
Ab-L9A-P63	
Ab-L9A-P64	

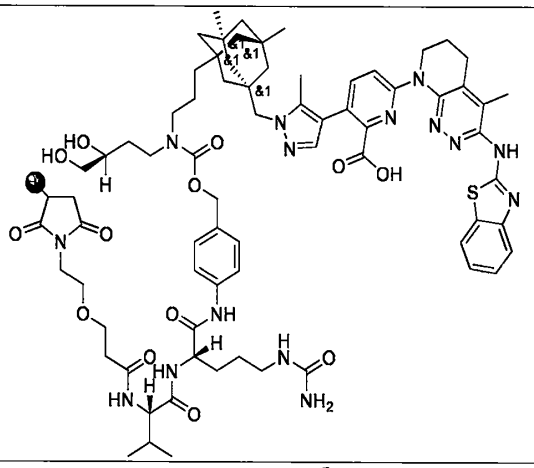
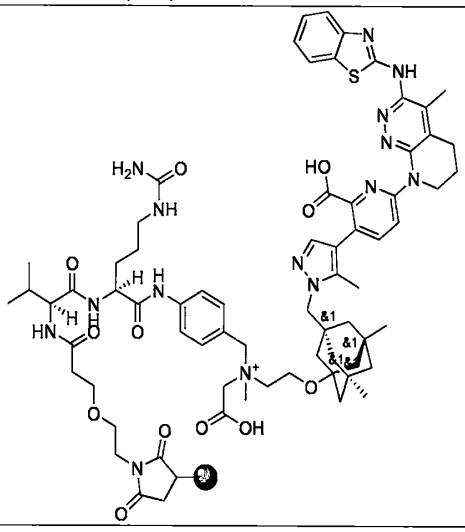
[0676]

ADC	结构
Ab-L9A-P65	
Ab-L9A-P66	

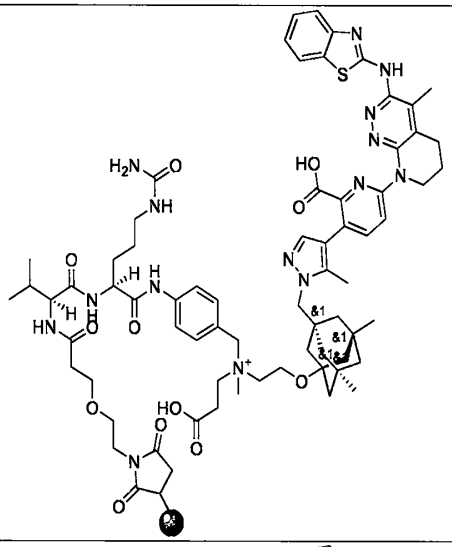
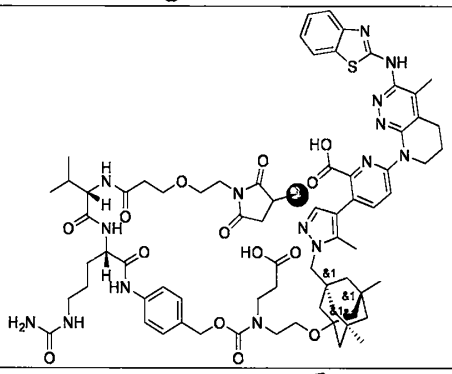
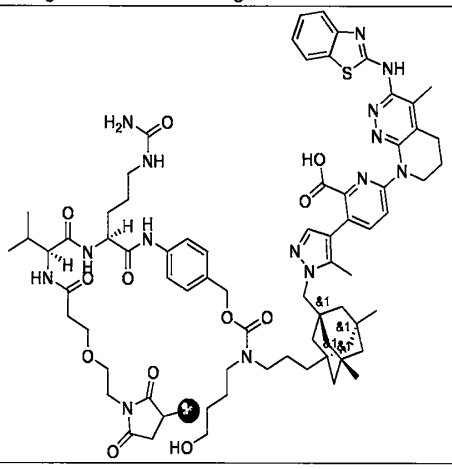
[0677]

ADC	结构
Ab-L9A-P67	
Ab-L9A-P68	

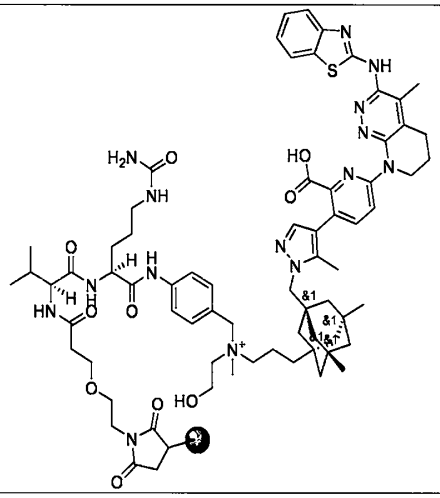
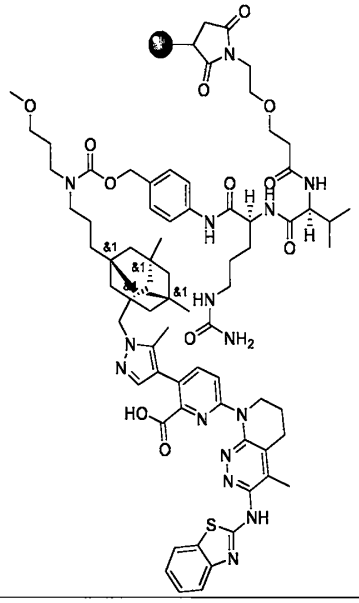
[0678]

ADC	结构
Ab-L9C-P69	
Ab-L9A-P48	

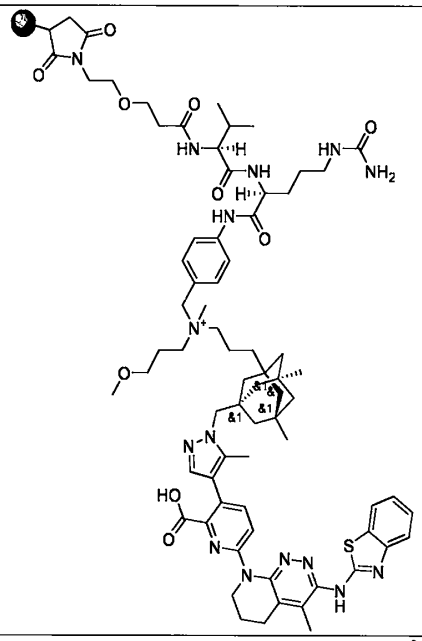
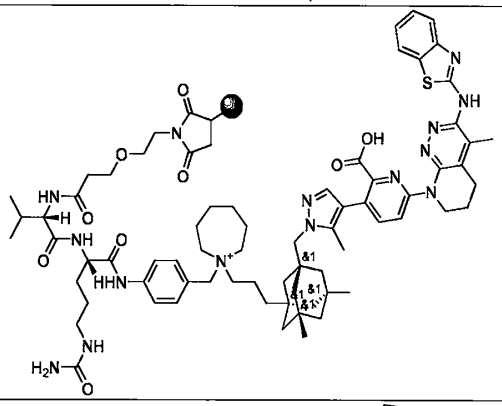
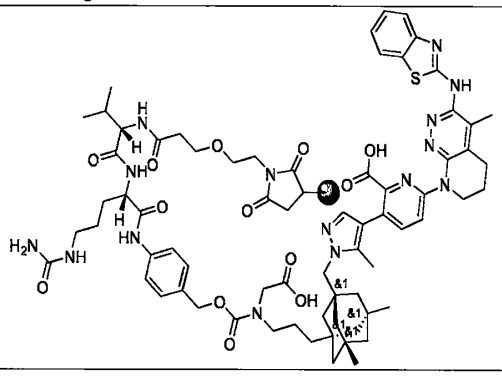
[0679]

ADC	结构
Ab-L9A-P70	
Ab-L9C-P71	
Ab-L9C-P72	

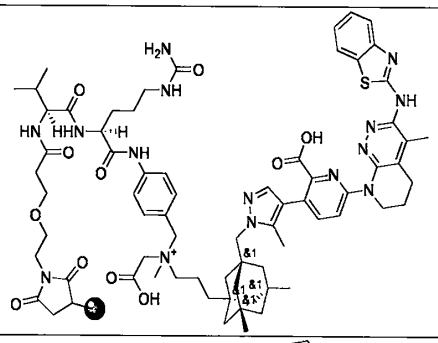
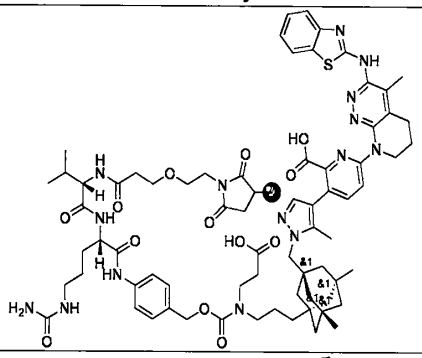
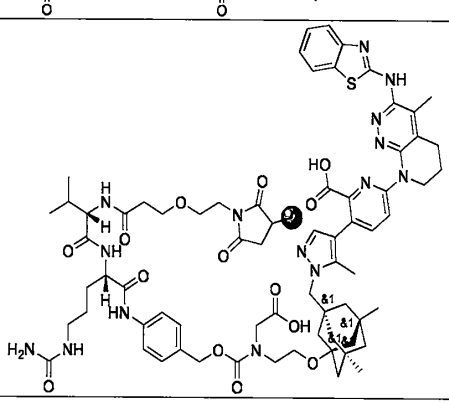
[0680]

ADC	结构
Ab-L9A-P49	
Ab-L9C-P51	

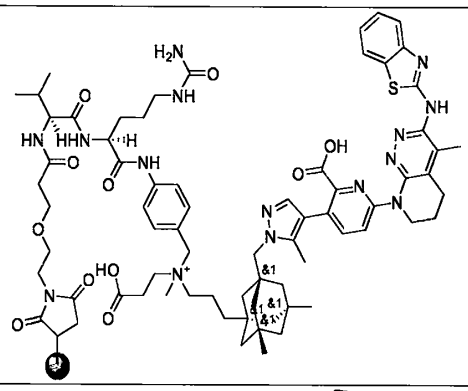
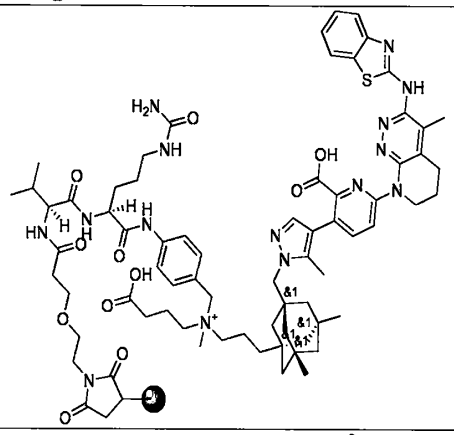
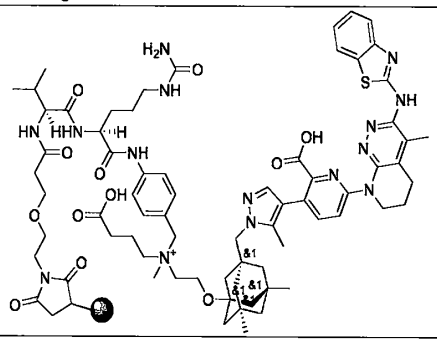
[0681]

ADC	结构
Ab-L9A-P50	
Ab-L9A-P52	
Ab-L9C-P53	

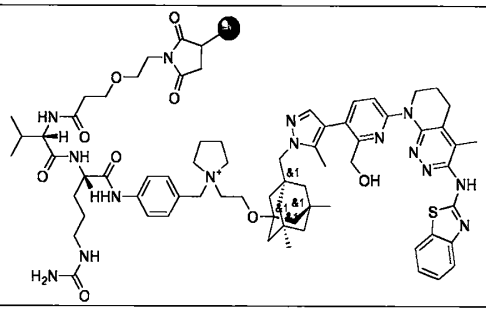
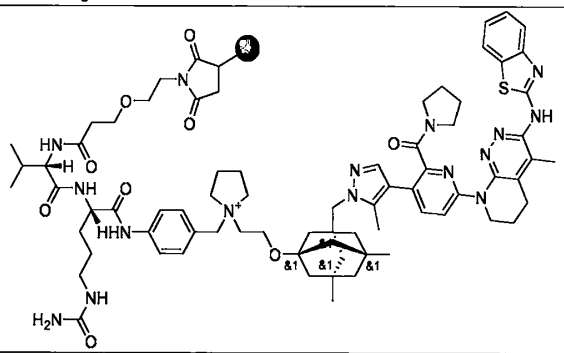
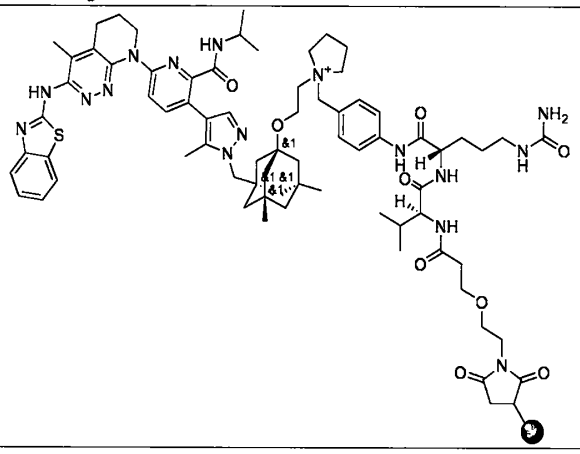
[0682]

ADC	结构
Ab-L9A-P55	
Ab-L9C-P54	
Ab-L9C-P47	

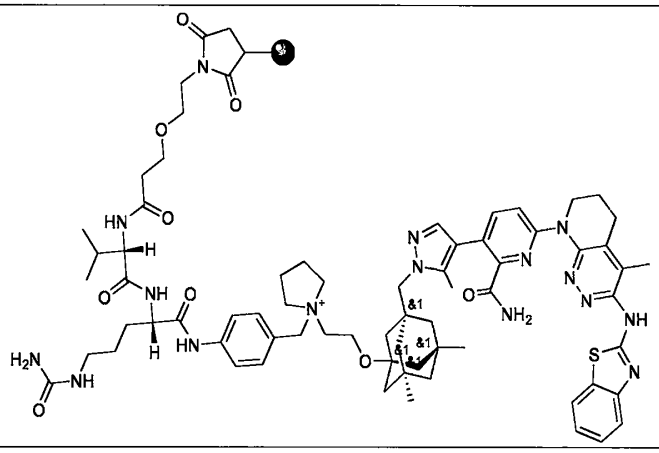
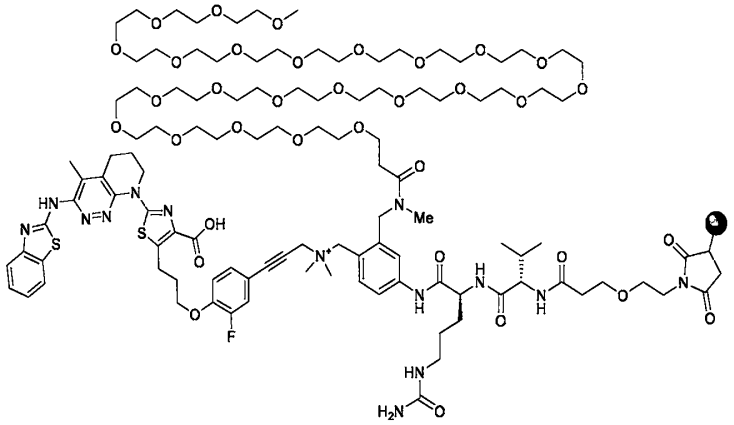
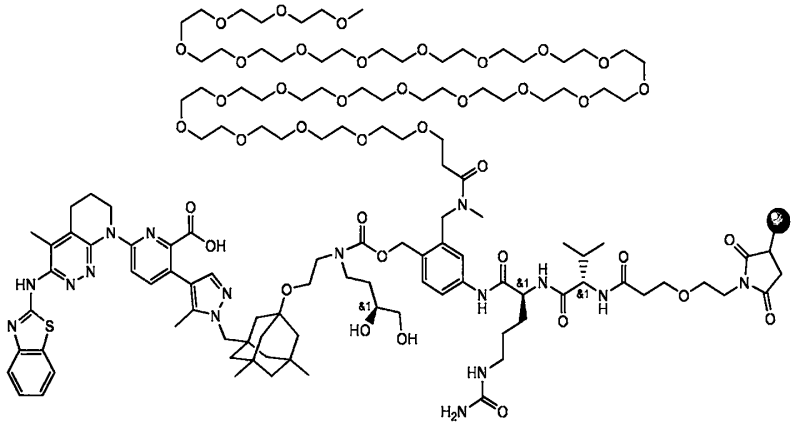
[0683]

ADC	结构
Ab-L9A-P56	
Ab-L9A-P58	
Ab-L9A-P57	

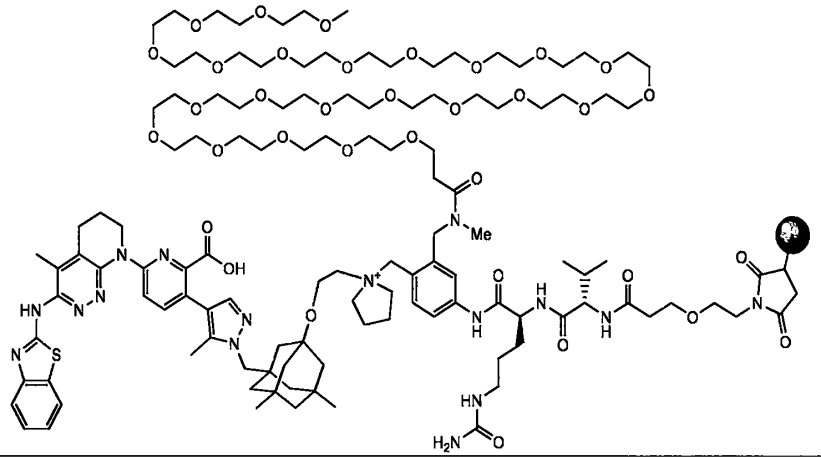
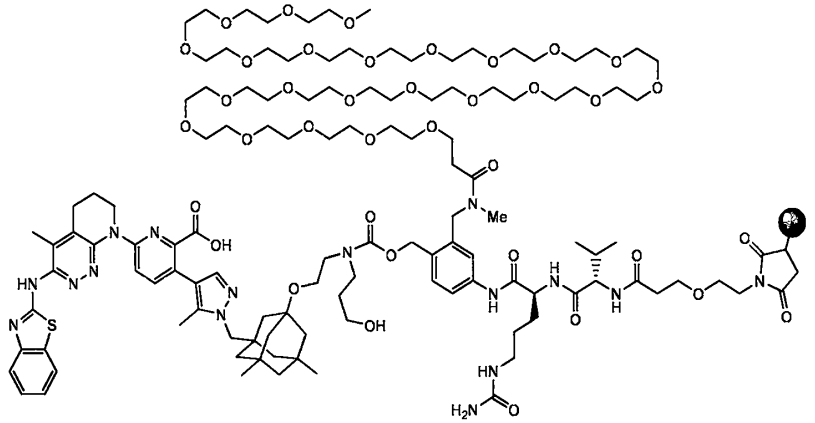
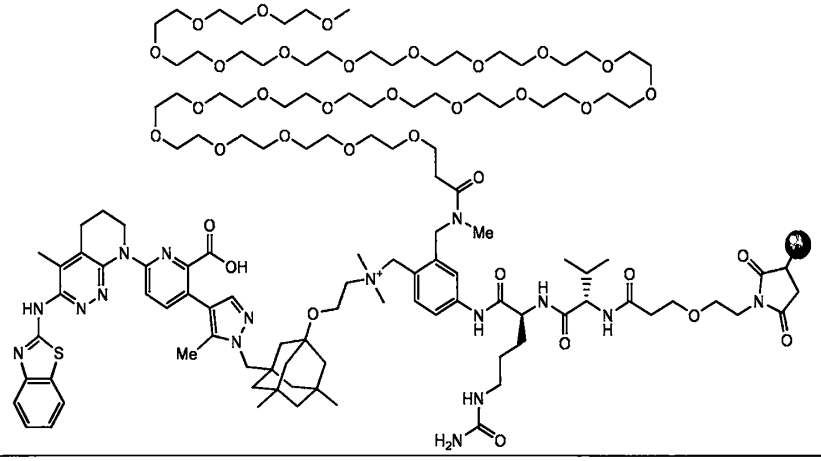
[0684]

ADC	结构
Ab-L9A-P73	
Ab-L9A-P74	
Ab-L9A-P75	

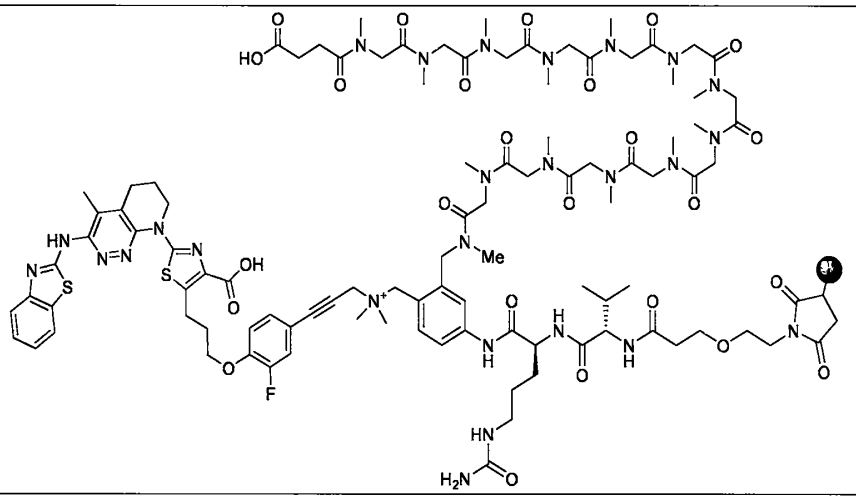
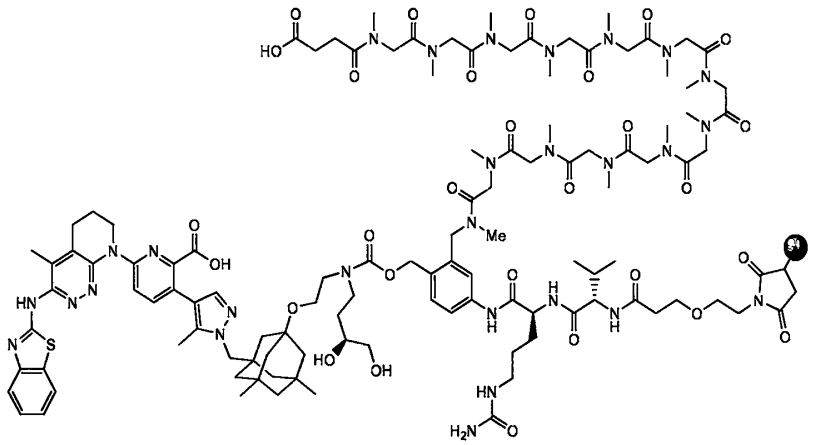
[0685]

ADC	结构
Ab-L9A-P76	
Ab-L30A-P1	
Ab-L30C-P19	

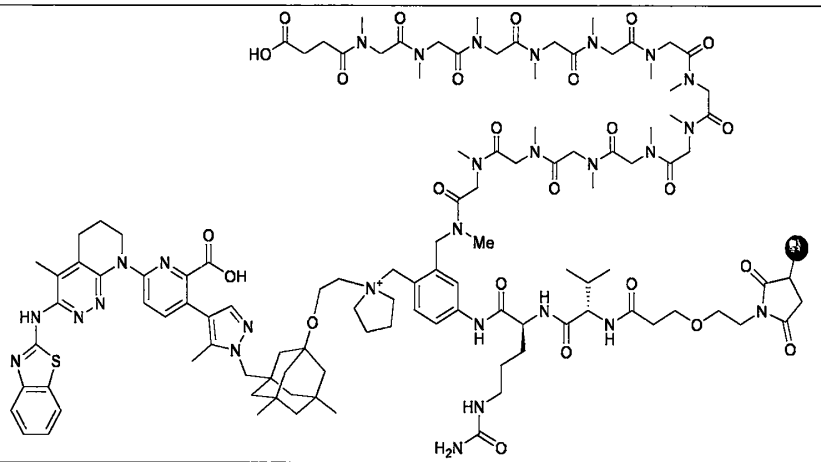
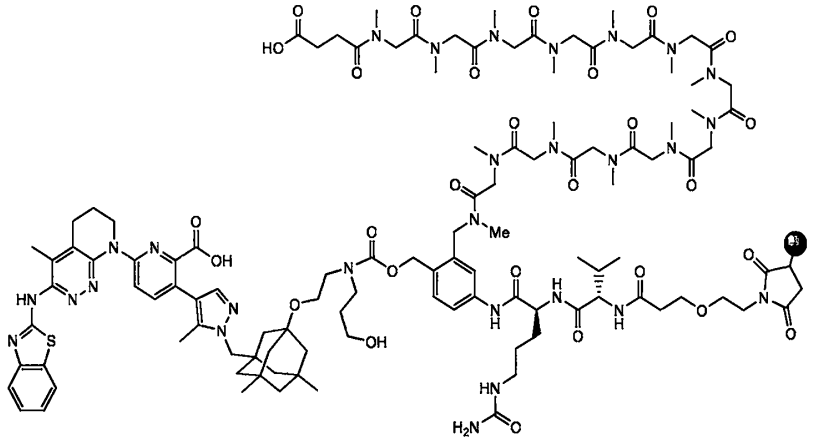
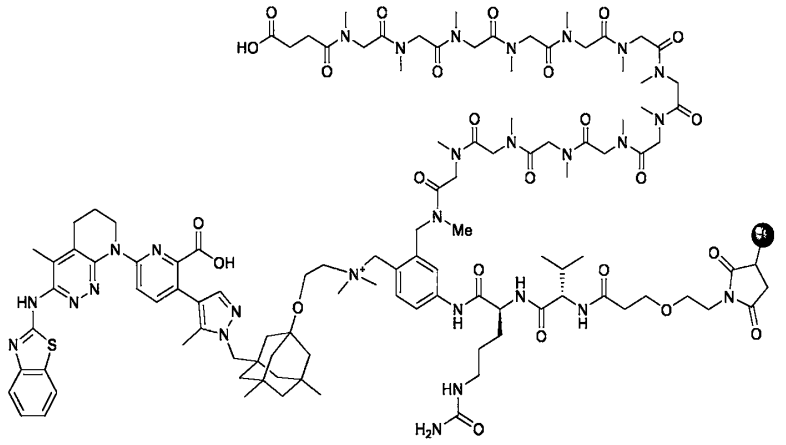
[0686]

ADC	结构
Ab-L30A-P21	
Ab-L30C-P25	
Ab-L30A-P27	

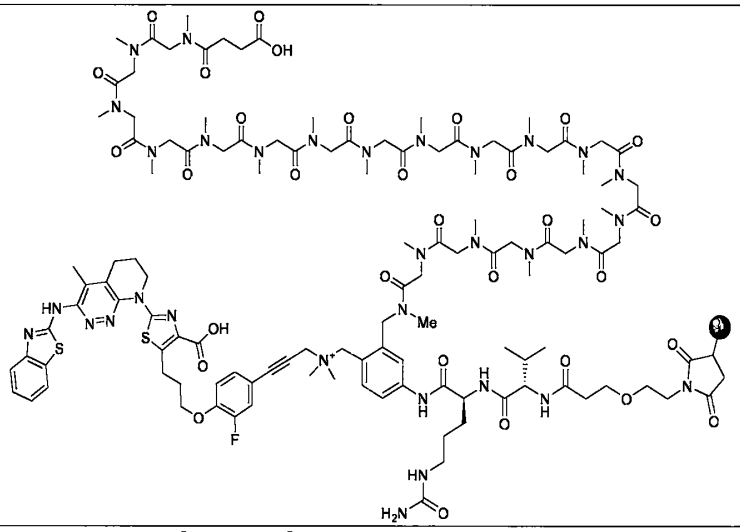
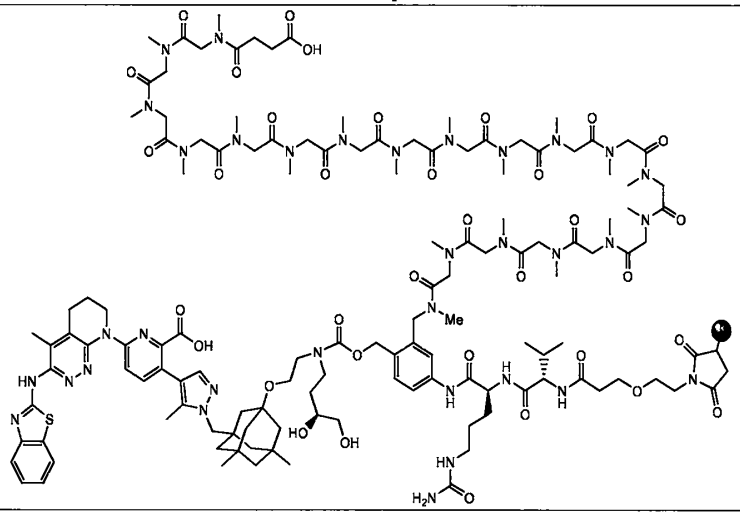
[0687]

ADC	结构
Ab-L35A-P1	
Ab-L35C-P19	
Ab-L35A-P21	

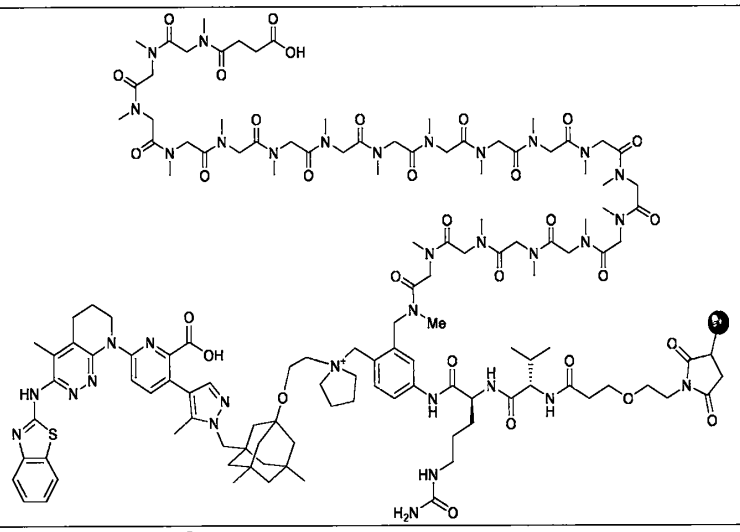
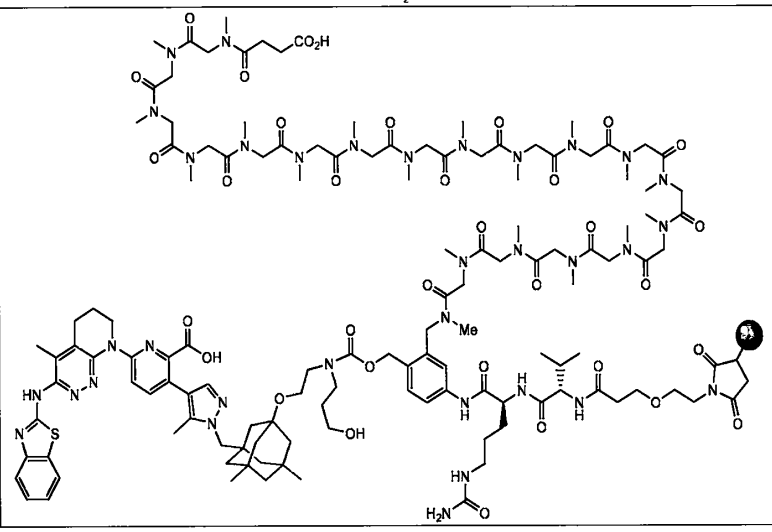
[0688]

ADC	结构
	
Ab-L35C-P25	
Ab-L35A-P27	

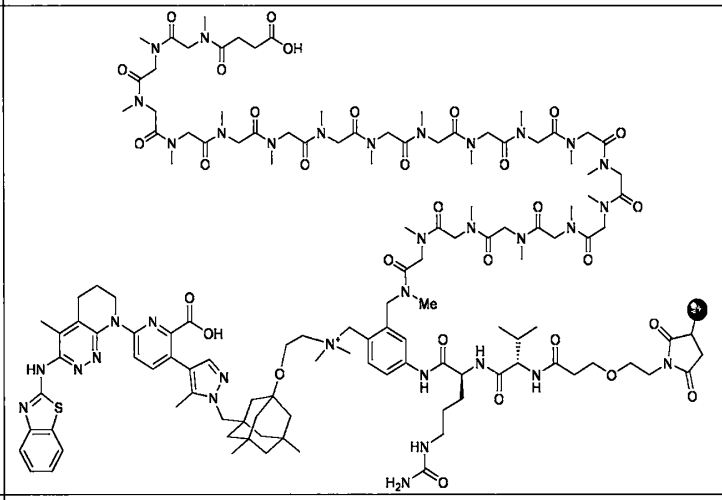
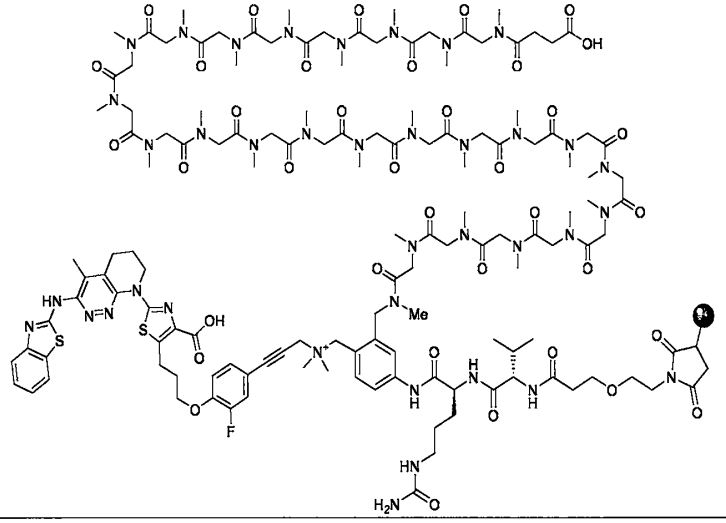
[0689]

ADC	结构
Ab-L36A-P1	
Ab-L36C-P19	

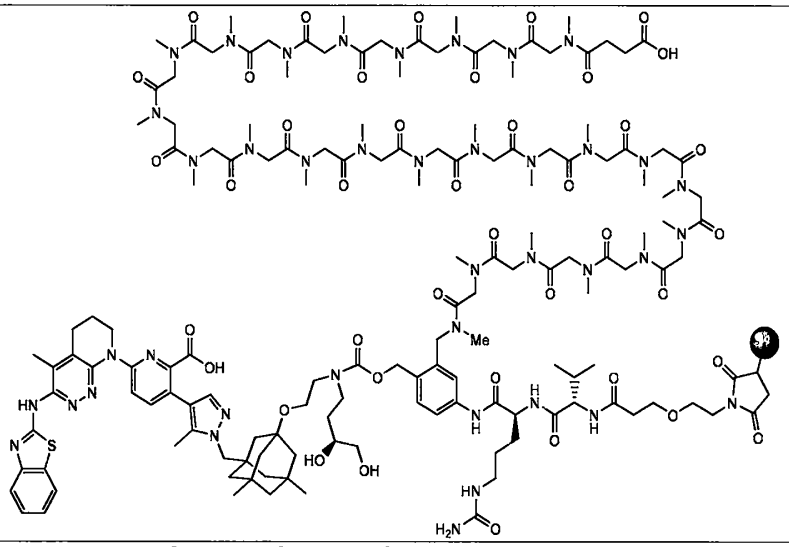
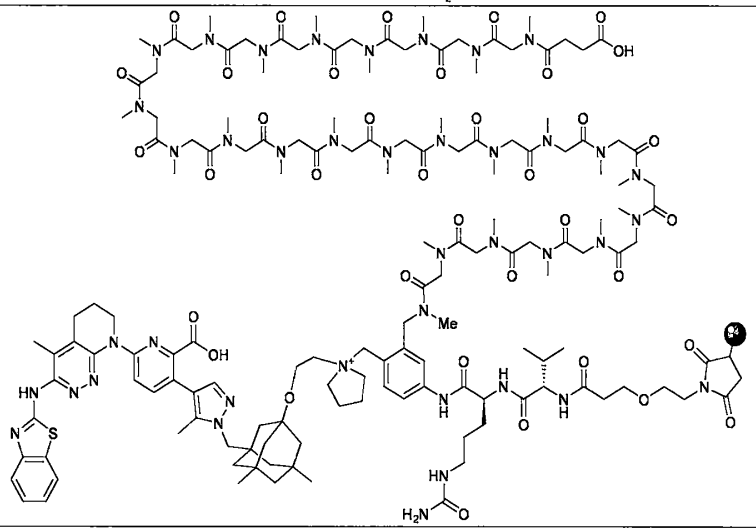
[0690]

ADC	结构
Ab-L36A-P21	
Ab-L36C-P25	

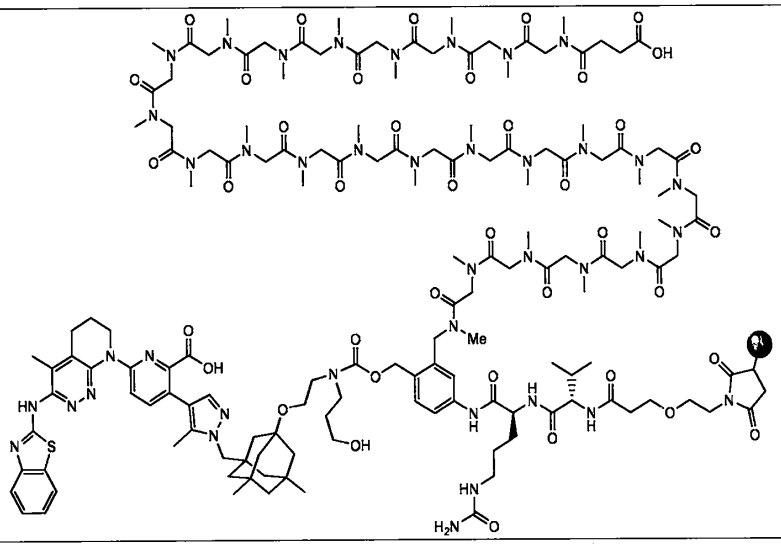
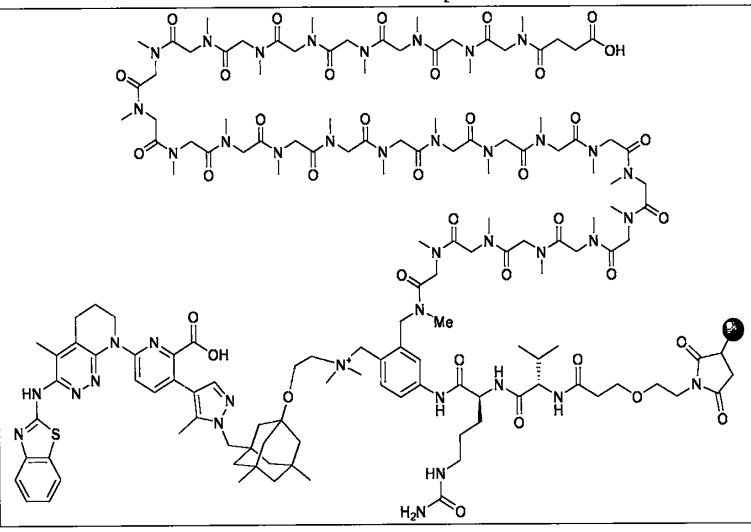
[0691]

ADC	结构
Ab-L36A-P27	
Ab-L37A-P1	

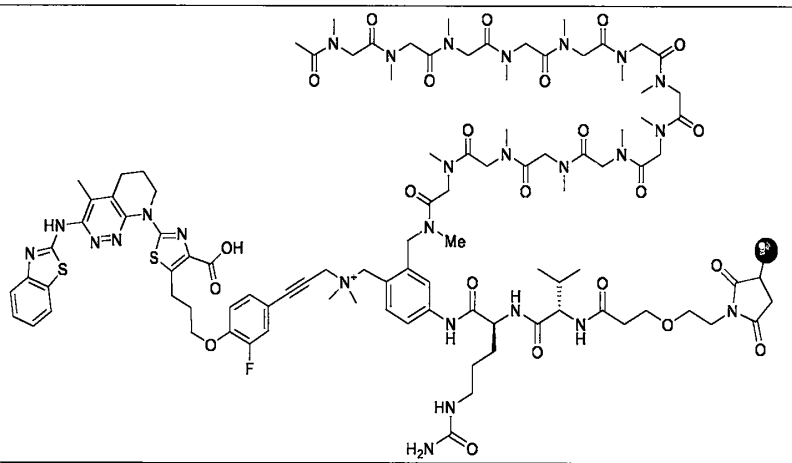
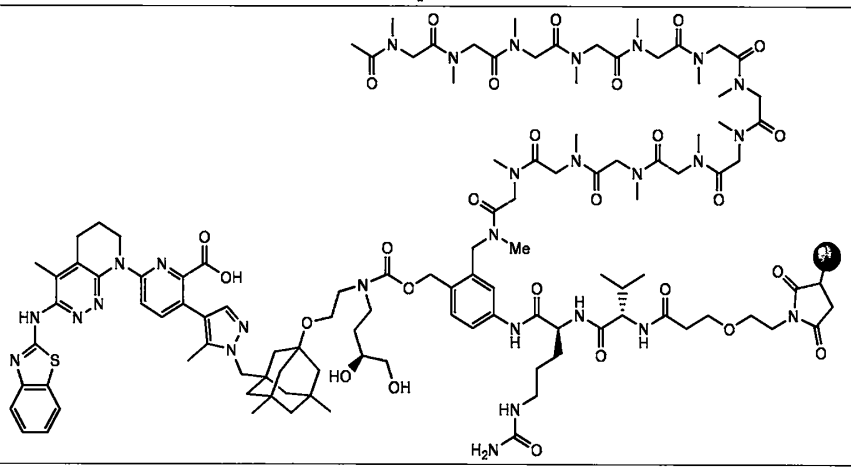
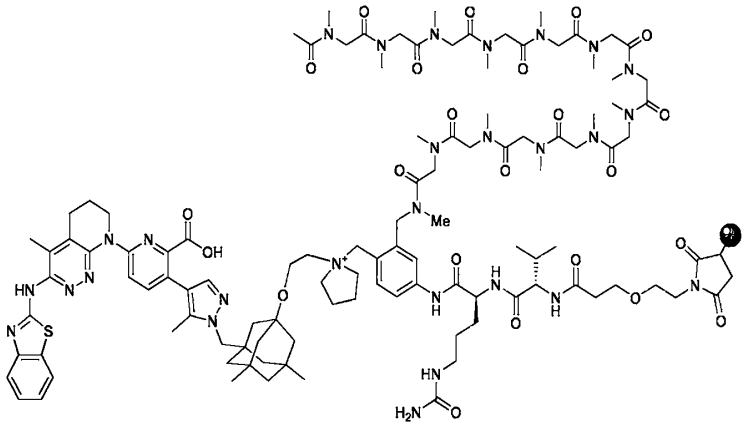
[0692]

ADC	结构
Ab-L37C-P19	
Ab-L37A-P21	

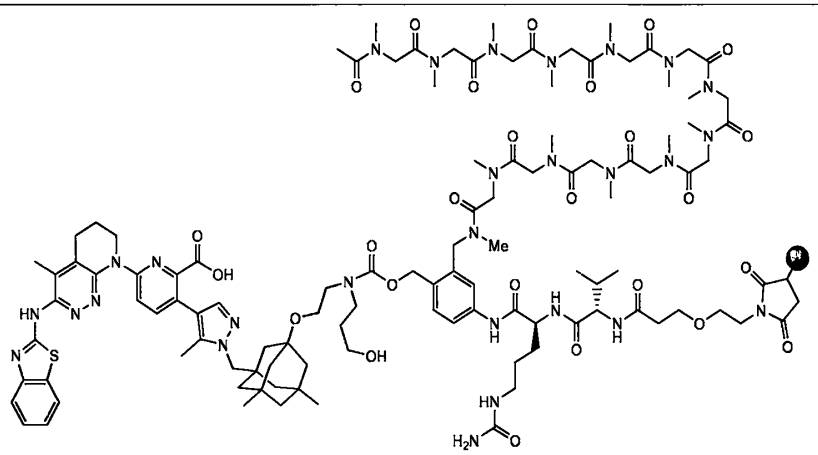
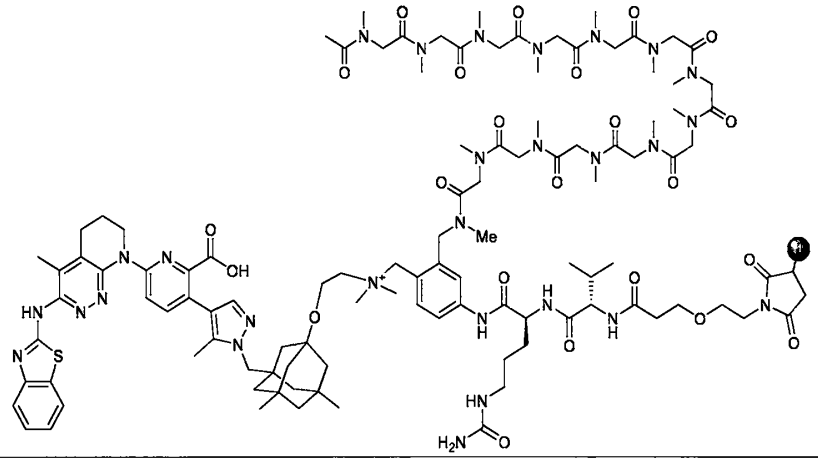
[0693]

ADC	结构
Ab-L37C-P25	
Ab-L37A-P27	

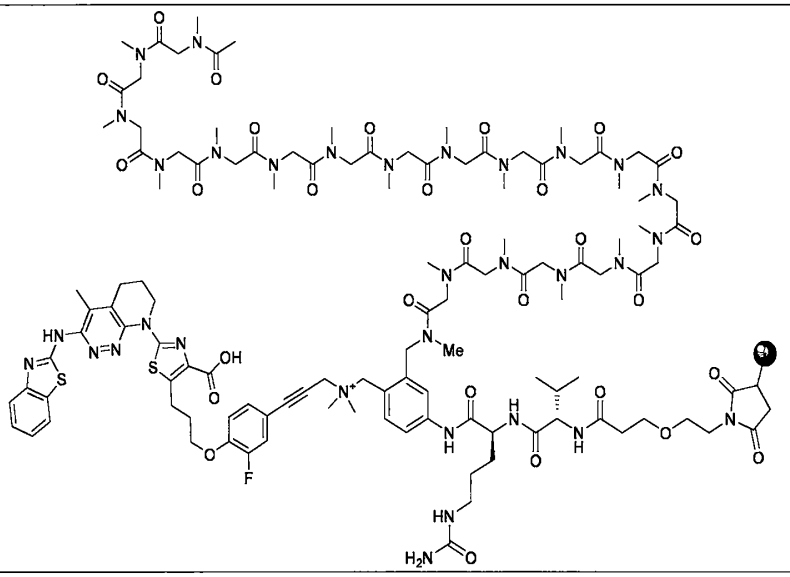
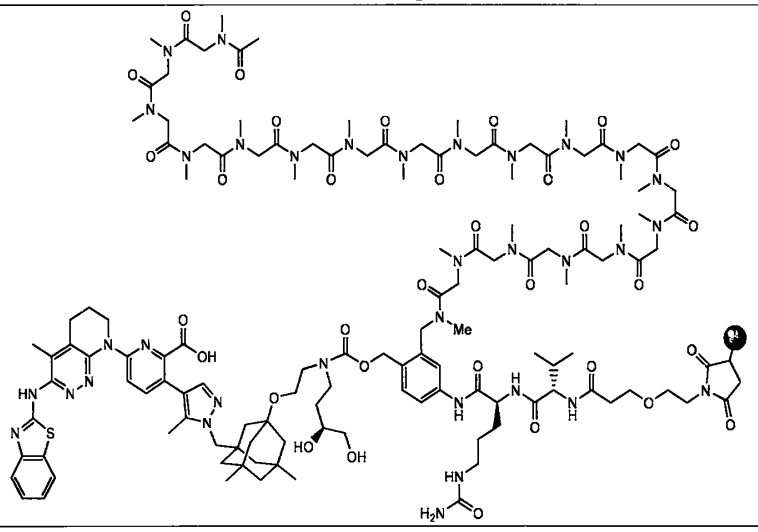
[0694]

ADC	结构
Ab-L38A-P1	
Ab-L38C-P19	
Ab-L38A-P21	

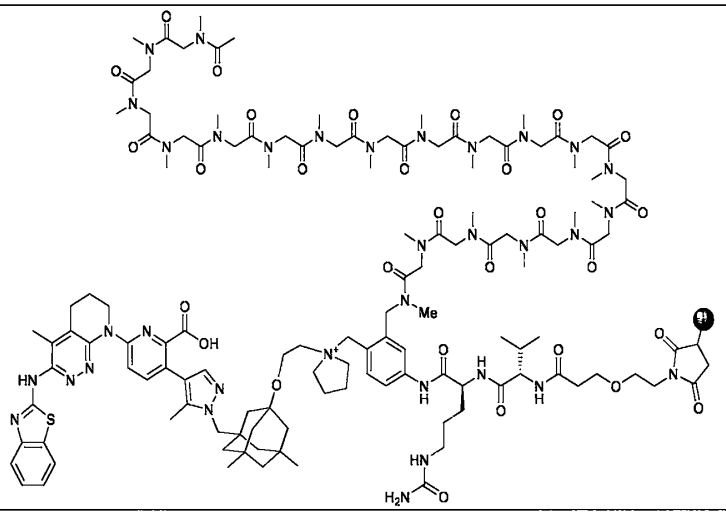
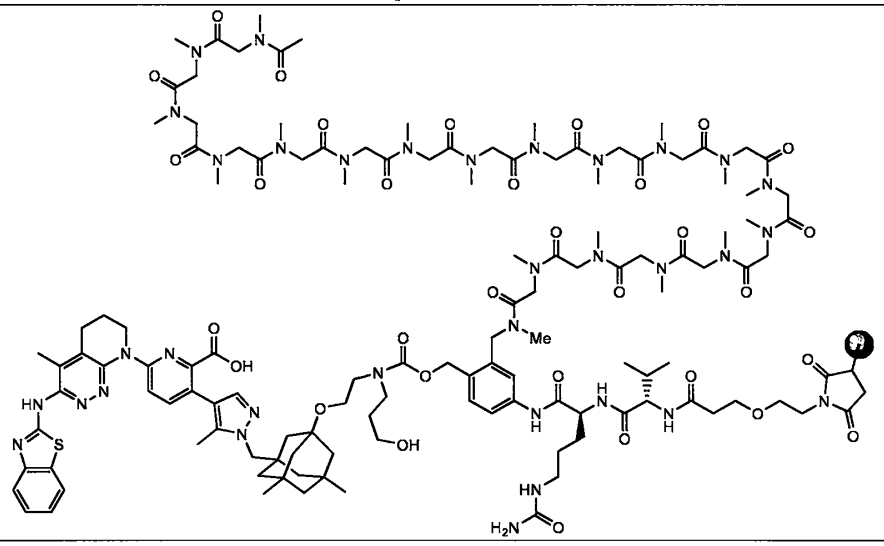
[0695]

ADC	结构
Ab-L38C-P25	
Ab-L38A-P27	

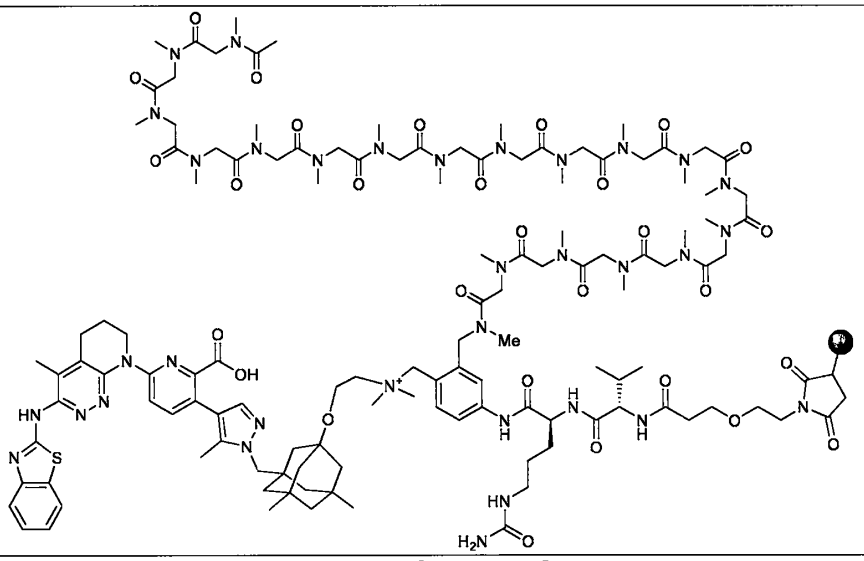
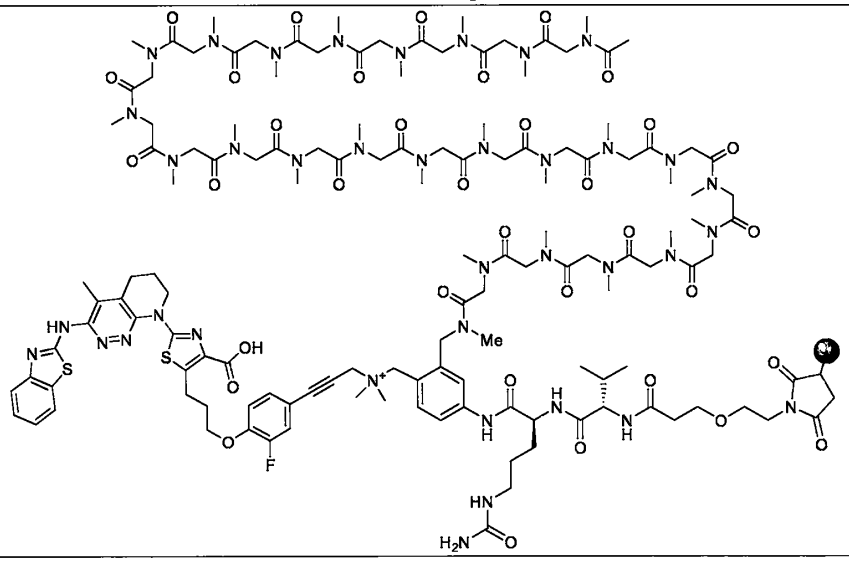
[0696]

ADC	结构
Ab-L39A-P1	
Ab-L39C-P19	

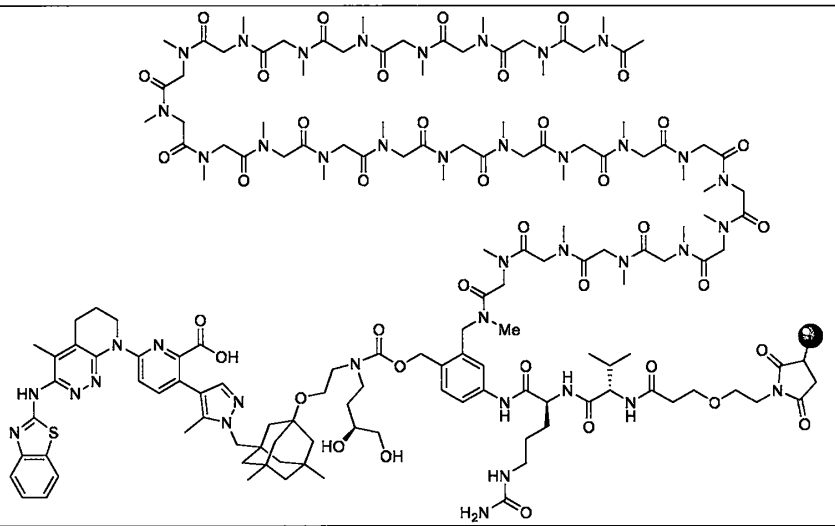
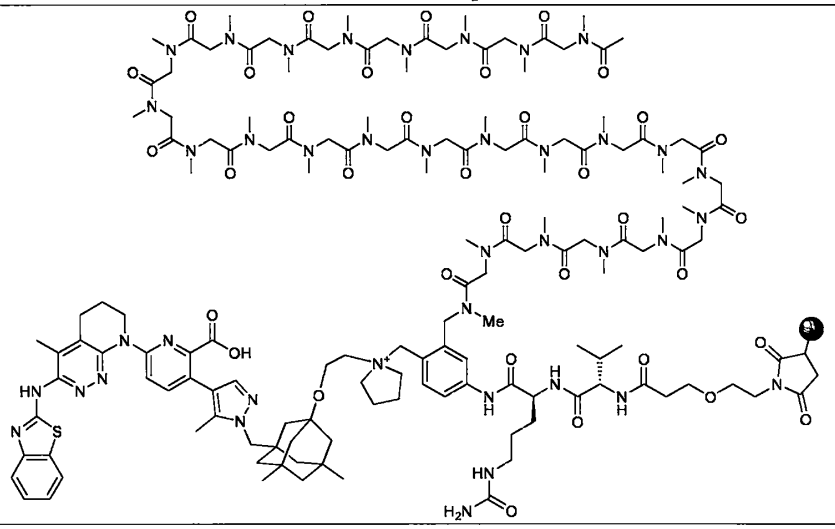
[0697]

ADC	结构
Ab-L39A-P21	
Ab-L39C-P25	

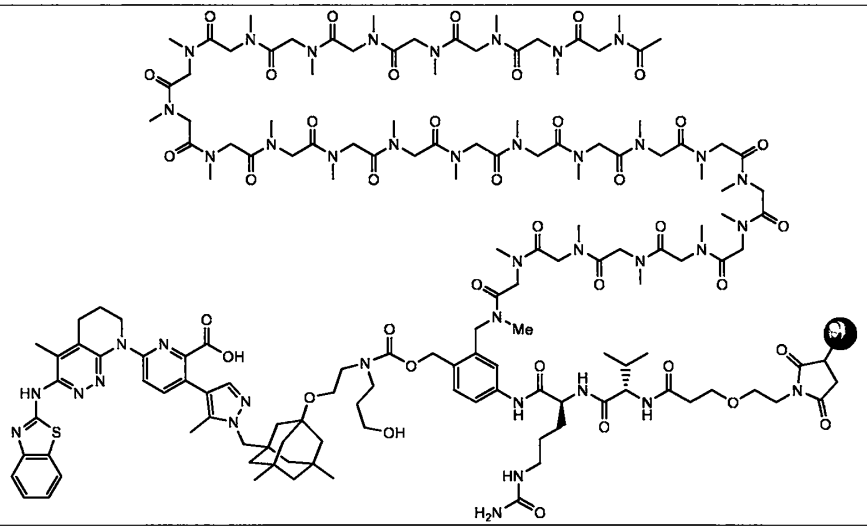
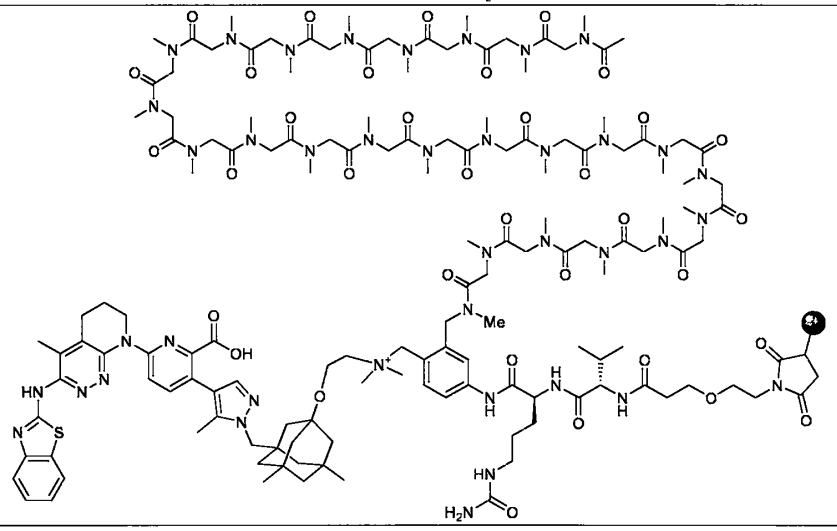
[0698]

ADC	结构
Ab-L39A-P27	
Ab-L40A-P1	

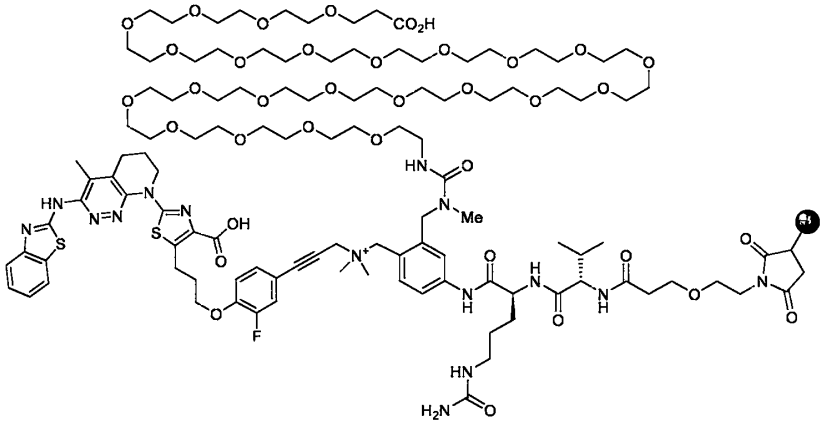
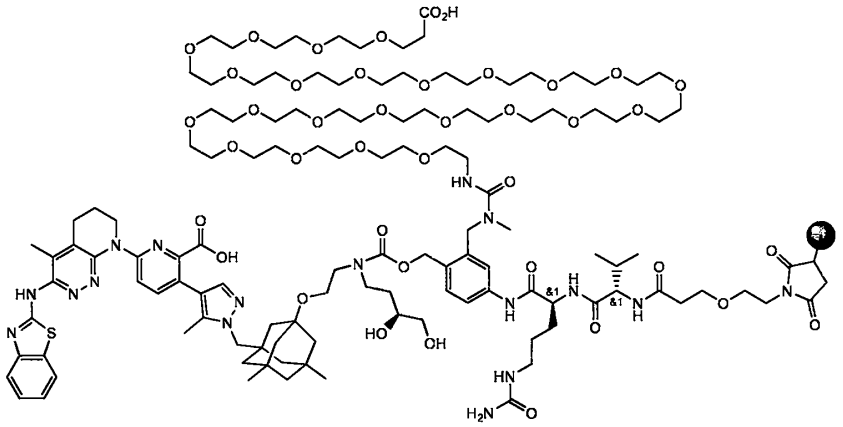
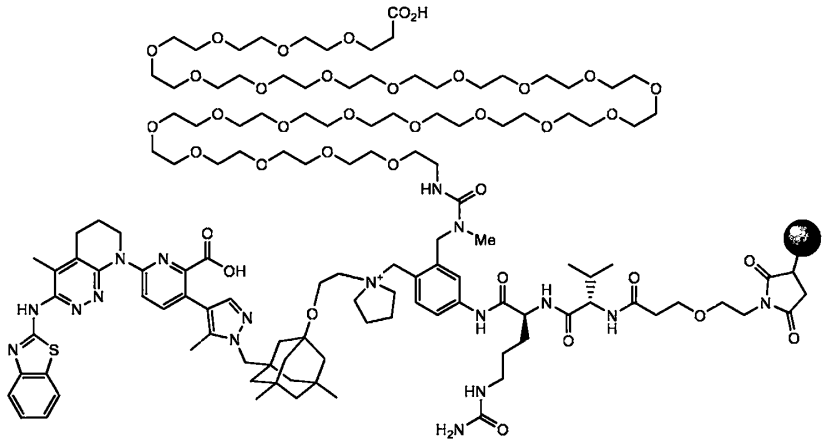
[0699]

ADC	结构
Ab-L40C-P19	
Ab-L40A-P21	

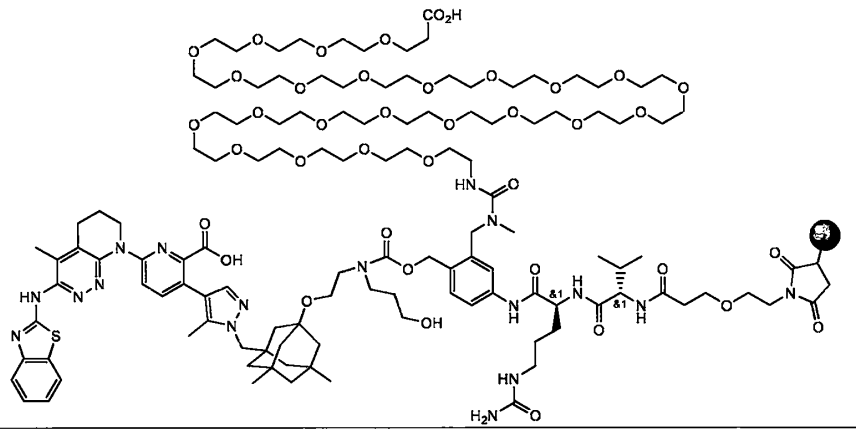
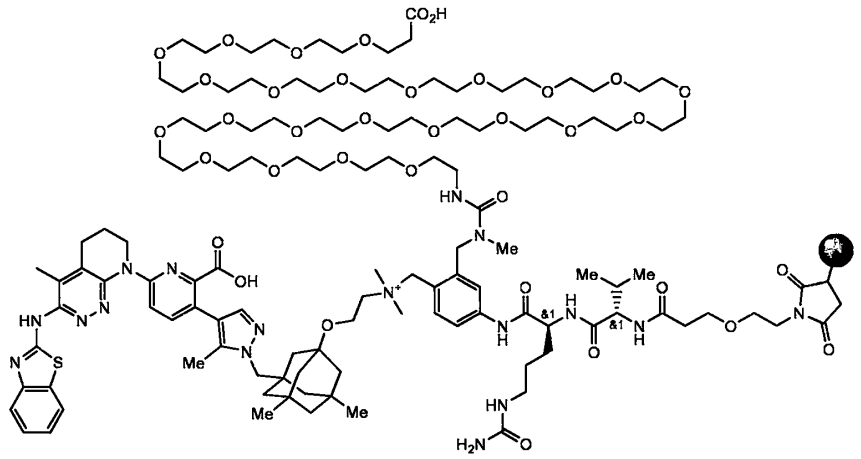
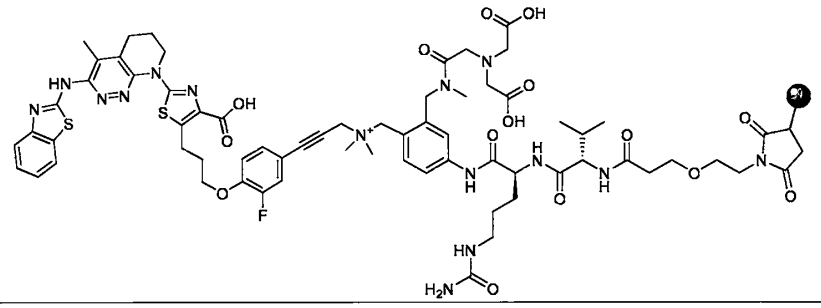
[0700]

ADC	结构
Ab-L40C-P25	
Ab-L40A-P27	

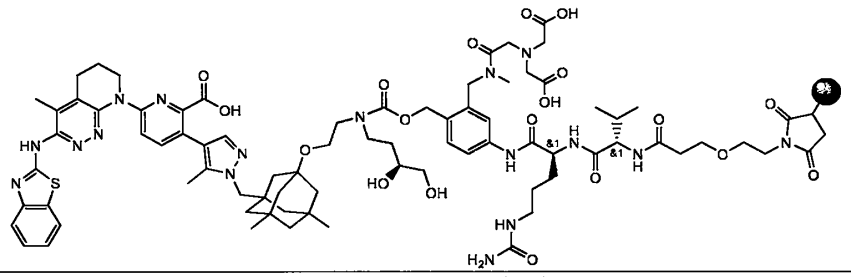
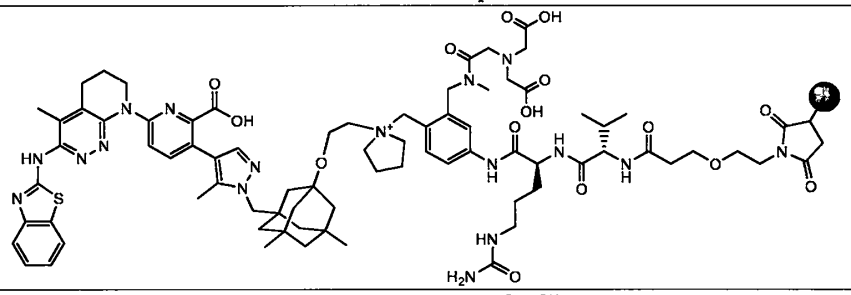
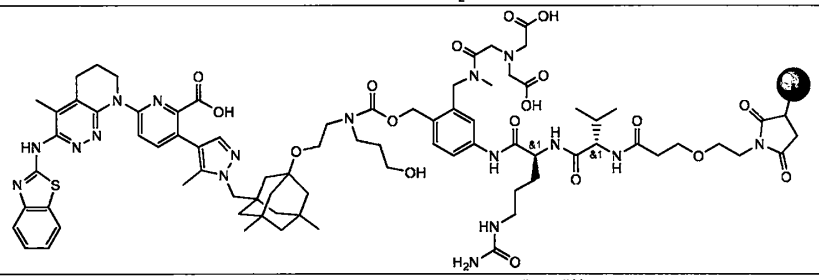
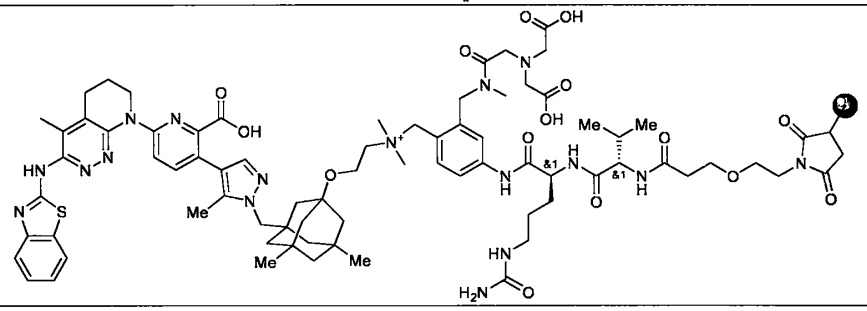
[0701]

ADC	结构
Ab-L42A-P1	
Ab-L42C-P19	
Ab-L42A-P21	

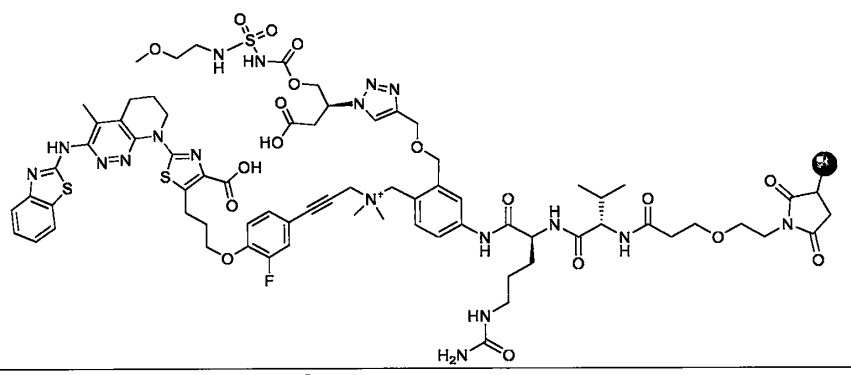
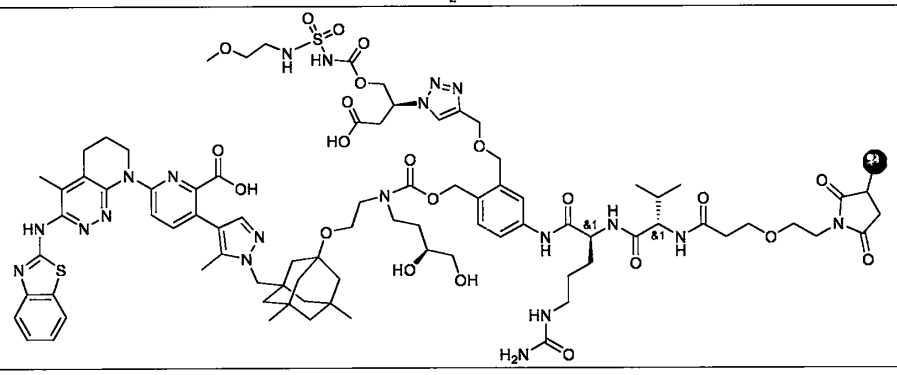
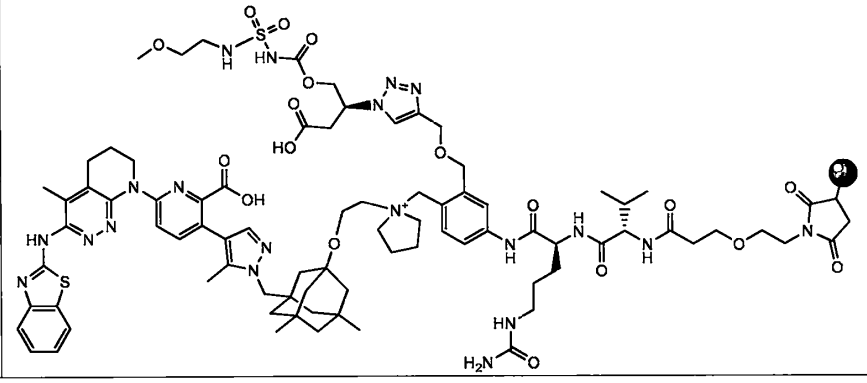
[0702]

ADC	结构
Ab-L42C-P25	
Ab-L42A-P27	
L67A-P1	

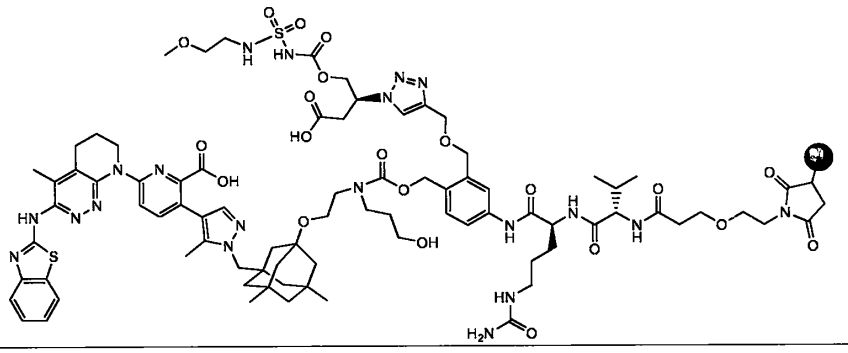
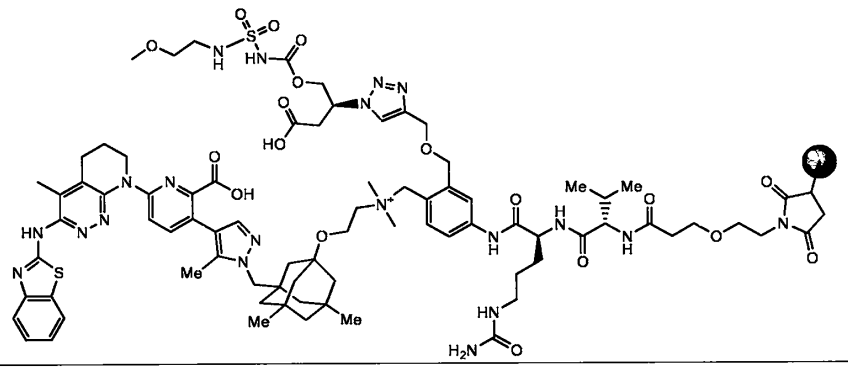
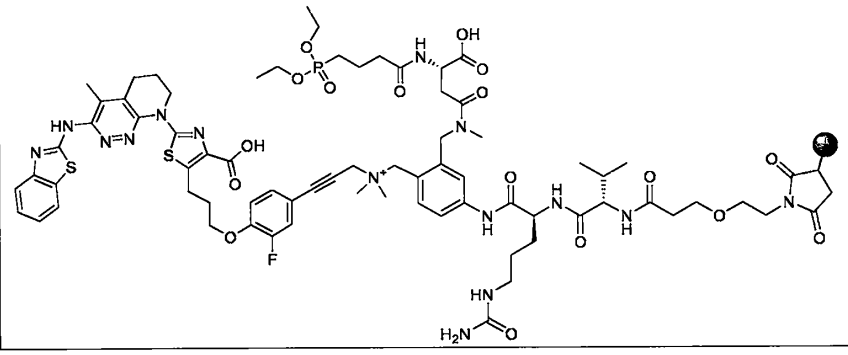
[0703]

ADC	结构
Ab-L67C-P19	
Ab-L67A-P21	
Ab-L67C-P25	
Ab-L67A-P27	

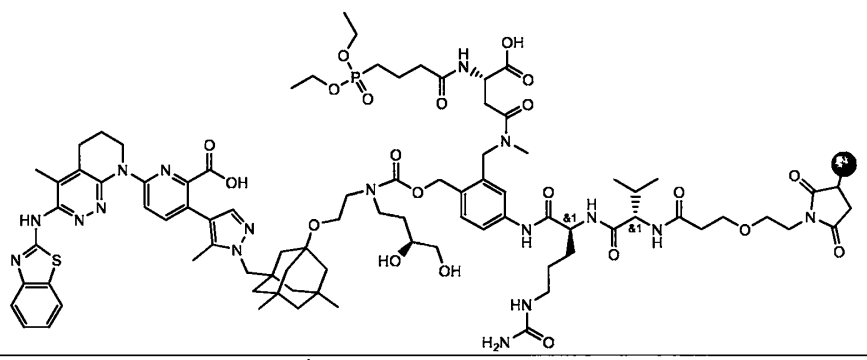
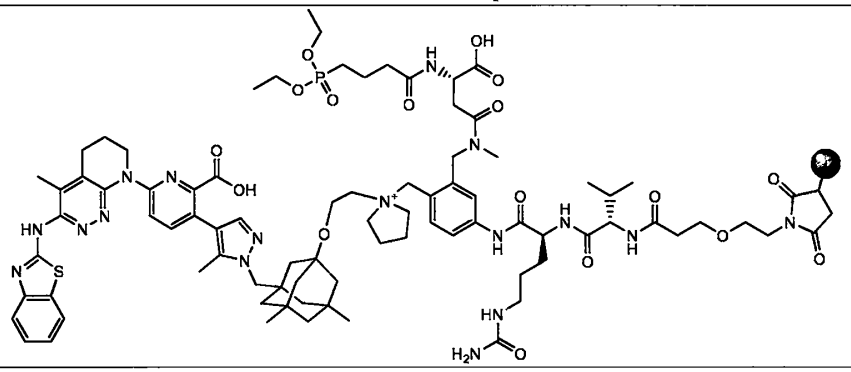
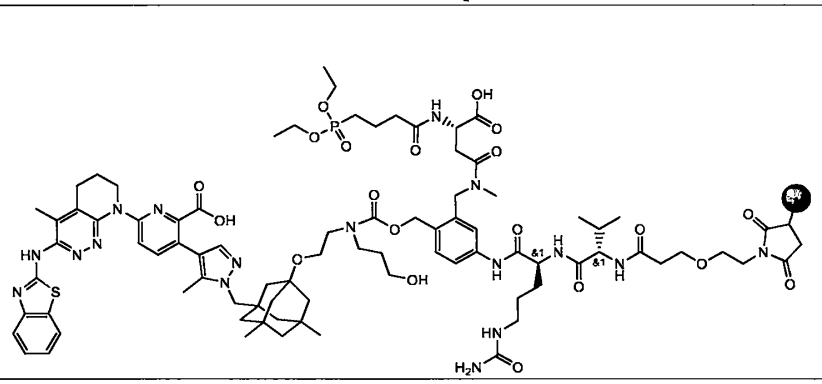
[0704]

ADC	结构
Ab-L100A-P1	
Ab-L100C-P19	
Ab-L100A-P21	

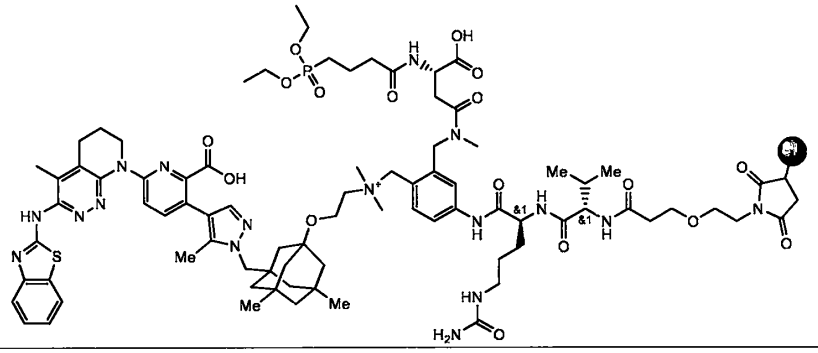
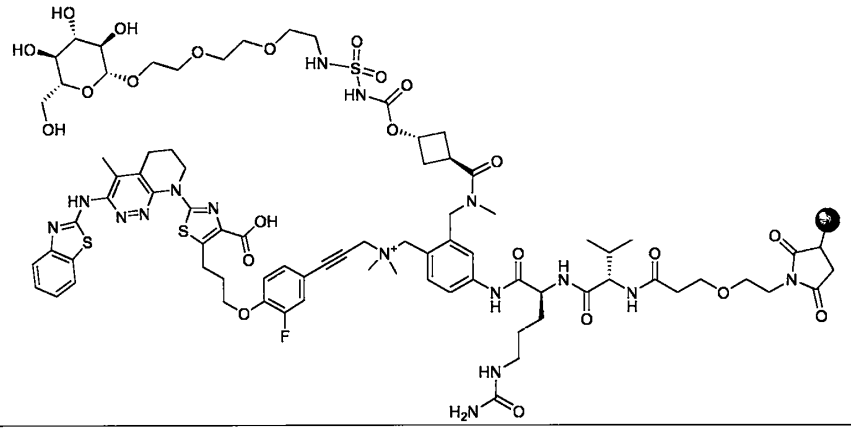
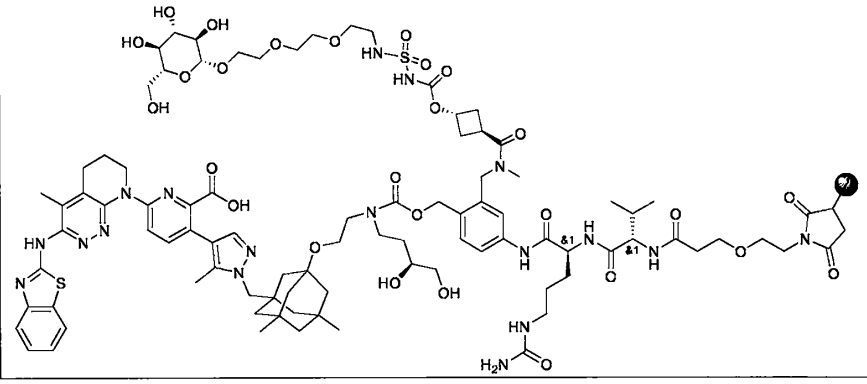
[0705]

ADC	结构
Ab-L100C-P25	
Ab-L100A-P27	
Ab-L103A-P1	

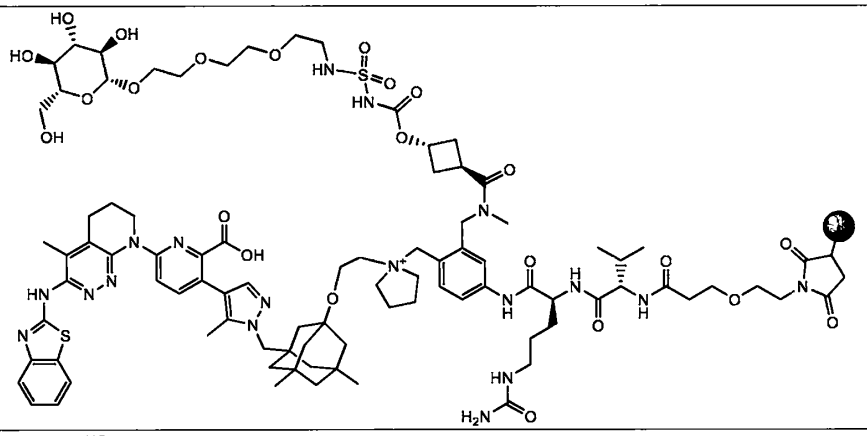
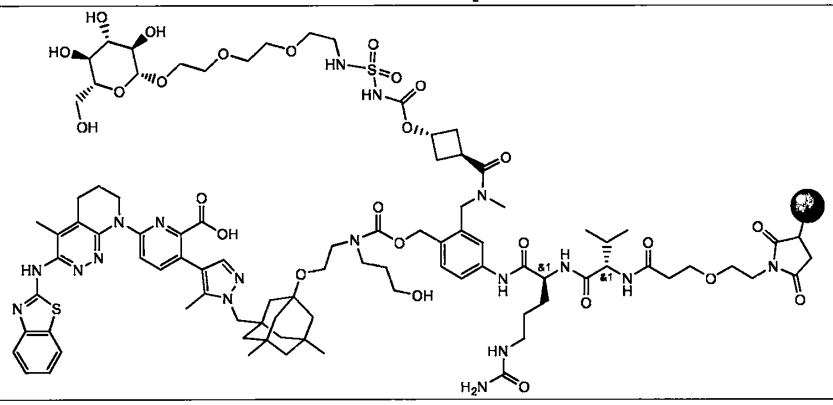
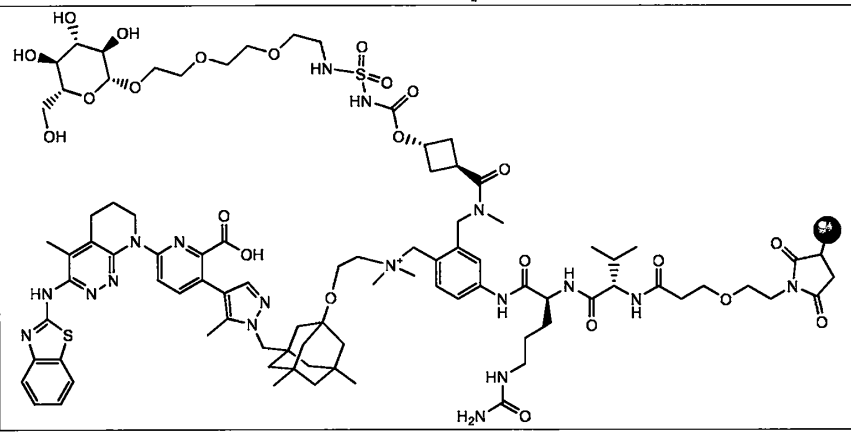
[0706]

ADC	结构
Ab-L103C-P19	
Ab-L103A-P21	
L103C-P25	

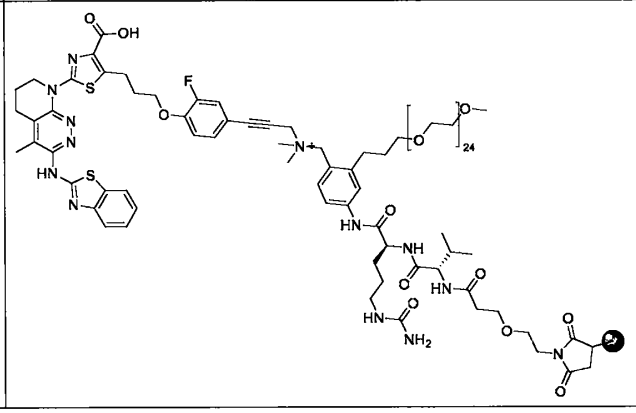
[0707]

ADC	结构
Ab-L103A-P27	
Ab-L111A-P1	
Ab-L111C-P19	

[0708]

ADC	结构
Ab-L111A-P21	
Ab-L111C-P25	
Ab-L111A-P27	

[0709]

ADC	结构
Ab-L112A-P1	

[0710] 上面描述的ADC也可以用以下式表示：

[0711] $Ab-(L-D)_p$ (1)，

[0712] 其中表示与上述接头-负载(L/P)共价连接的抗体或其抗原片段；p是1至16的整数。在一些实施方案中，p是1至8的整数。在一些实施方案中，p是1至5的整数。在一些实施方案中，p是2至4的整数。在一些实施方案中，p是2。在一些实施方案中，p是4。在一些实施方案中，p通过液相色谱-质谱法(LC-MS)测定。

[0713] 在一些实施方案中，对于表1中描绘的ADC，抗体是本文中描述的抗体或其抗原片段。在一些实施方案中，对于表1中描绘的ADC，抗体是抗EGFR抗体(例如，西妥昔单抗或Ab C)。在一些实施方案中，抗体是抗HER2抗体(例如，曲妥珠单抗或Ab T)。在其他实施方案中，抗体是抗CD7抗体(例如，Ab D或Ab E)。在其他实施方案中，抗体是抗鸡溶菌酶抗体(例如，Ab F)。在一些实施方案中，抗体是抗CD74抗体(例如，Ab G)。在一些实施方案中，抗体是抗CD38抗体(例如，Ab H)。在一些实施方案中，抗体是抗CD48抗体(例如，Ab I)。

[0714] 如本文所用，“L/P”是指本文公开的接头-负载、接头-药物或接头-化合物，并且术语“L#-P#”和“L#-C#”可互换使用，指本文公开的特定接头-药物，而代码“P#”和“C#”可互换使用，指特定化合物，除非另有说明。例如，“L1-C1”和“L1-P1”均指本文公开的相同接头-负载结构，而“C1”和“P1”均指本文公开的相同化合物，包括对映异构体、非对映异构体、阻转异构体、任何前述项的氘化衍生物和/或药学上可接受的盐。

[0715] 在一些实施方案中，抗体或抗原结合片段结合癌细胞上的靶抗原。在一些实施方案中，靶抗原是BCMA、CD33、HER2、CD38、CD48、CD79b、PCAD、CD74、CD138、SLAMF7、CD123、CLL1、FLT3、CD7、CKIT、CD56、DLL3、DLK1、B7-H3、EGFR、CD71、EPCAM、FOLR1、ENPP3、MET、AXL、SLC34A2、Nectin4、TROP2、LIV1、CD46、MSLN、F3、MUC16、SLC39A6、TFRC、TACSTD2或GPNMB。在一些实施方案中，靶抗原是EphA2、CD56、SEZ6、CD25、CCR8、CEACAM5、CEACAM6、4-1BB、5AC、5T4、甲胎蛋白、血管生成素2、ASLG659、TCLI、BMPRIB、Brevican BCAN、BEHAB、C242抗原、C5、CA-125、CA-125(imitation)、CA-IX(碳酸酐酶9)、CCR4、CD140a、CD152、CD19、CD20、CD200、CD21(C3DR)I)、CD22(B细胞受体CD22-B亚型)、CD221、CD23(gE受体)、CD28、CD30(TNFRSF8)、CD37、CD4、CD40、CD44 v6、CD51、CD52、CD70、CD72(Lyb-2、B细胞分化抗原CD72)、CD79a、CD80、CEA、CEA相关抗原、ch4D5、CLDN18.2、CRIPTO(CR、CRI、CRGF、TDGF1)、CTLA-4、CXCR5、

DLL4、DR5、E16(LATI、SLC7A5)、EGFL7、EphB2R(DRT、ERK、Hek5、EPHT3、Tyro5)、上皮唾蛋白(episialin)、ERBB3、ETBR(B型内皮素受体)、FCRHI(Fc受体样蛋白I)、FcRH2(IFGP4,IRTA4、SPAPI、SPAIB、SPAIC)、纤连蛋白额外结构域-B、卷曲受体、GD2、GD3神经节苷脂、GEDA、HER1、HER2/neu、HER3、HGF、HLA-DOB、HLA-DR、人散射因子受体激酶、IGF-I受体、IL-13、IL20R(ZCYTOR7)、IL-6、ILGF2、ILFRIR、整合素u、IRTA2(免疫球蛋白超家族受体易位相关2)、Lewis-Y抗原、LY64(RP105)、MCP-I、MDP(DPEPI)、MPF、MSLN、SMR、间皮素、巨核细胞、PD-I、PDDCDI、PDGF-Ru、前列腺特异性膜抗原、PSCA(前列腺干细胞抗原前体)、PSCA hlg、RANKL、RON、SDCI、Sema Sb、STEAP I、STEAP2、PCANAP I、STAMP I、STEAP2、STMP、前列腺癌相关基因I、TAG-72、TEMI、腱生蛋白C、TENB2、(TMEFF2、tomoregulin、TPEF、HPPI、TR)、TGF-IJ、TRAIL-E2、TRAIL-R1、TRAIL-R2、T17M4(BR22450,FLJ20041、TRPM4、TRPM4B、瞬时受体电位阳离子通道亚家族M,成员4)、TWEAK-R、TYRPI(糖蛋白75)、VEGF、VEGF-A、EGFR-I、VEGFR-2、或波形蛋白。在一些实施方案中,靶抗原是EGFR、CD7、HER2、EPCAM、FOLR1、ENPP3、MET、AXL、SLC34A2、Nectin4、MSLN、F3、MUC16、SLC39A6、TFRC、TACSTD2或GPNMB。在一些实施方案中,靶抗原是EGFR、CD7、或HER2。

[0716] 在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段是以下中公开的抗体或抗原结合片段:互联网go.drugbank.com/drugs/DB00002、国际申请公开WO2018/098306、WO2016/179257、WO2011/097627、WO2017/214282、WO2017/214301、WO2017/214233、WO2013/126810、WO2008/056833、WO2020/236817、WO2017/214335和WO2012147713以及美国专利号US6870034B2,其全部内容通过引用以其整体并入。

[0717] 在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段是抗BCMA抗体或抗原结合片段。在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段包含三个重链互补决定区(HCDR),其包含SEQ ID NO:15(HCDR1)、SEQ ID NO:16(HCDR2)和SEQ ID NO:17(HCDR3)的氨基酸序列;以及三个轻链互补决定区(LCDR),这些轻链互补决定区包含SEQ ID NO:18(LCDR1)、SEQ ID NO:19(LCDR2)、和SEQ ID NO:20(LCDR3)的氨基酸序列。在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的重链可变区以及含有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的轻链可变区。在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段包含IgG1重链恒定结构域或经修饰的IgG1重链恒定结构域。在一些实施方案中,IgG1重链恒定结构域在位置152和位置375处包含半胱氨酸残基(C)。在一些实施方案中,IgG1重链恒定结构域在位置156和位置379处包含半胱氨酸残基(C)。在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段包含Igκ轻链恒定结构域。

[0718] 在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段是抗CD33抗体或抗原结合片段。在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段包含三个重链互补决定区(HCDR),其包含SEQ ID NO:21(HCDR1)、SEQ ID NO:22(HCDR2)和SEQ ID NO:23(HCDR3)的氨基酸序列;以及三个轻链互补决定区(LCDR),这些轻链互补决定区包含SEQ ID NO:24(LCDR1)、SEQ ID NO:25(LCDR2)、和SEQ ID NO:26(LCDR3)的氨基酸序列。在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:3的氨基酸序列的重链可变区以及含有SEQ ID NO:4的氨基酸序列的轻链可变区。在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段包含IgG1重链恒定结构域或经修饰的IgG1重链恒定结构域。在一些实施方案中,IgG1重链恒定结构域在位置297处包含谷氨酰胺残基(Q)。在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段包含Igκ轻链恒定结构域。

[0719] 在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段是抗PCAD抗体或抗原结合片段。在一些

实施方案中,抗体或抗原结合片段包含三个重链互补决定区(HCDR),其包含SEQ ID NO:33(HCDR1)、SEQ ID NO:34(HCDR2)和SEQ ID NO:35(HCDR3)的氨基酸序列;以及三个轻链互补决定区(LCDR),这些轻链互补决定区包含SEQ ID NO:36(LCDR1)、SEQ ID NO:37(LCDR2)、和SEQ ID NO:38(LCDR3)的氨基酸序列。在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的重链可变区以及含有SEQ ID NO:8的氨基酸序列的轻链可变区。

[0720] 在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段是抗HER2抗体或抗原结合片段。在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段包含三个重链互补决定区(HCDR),其包含SEQ ID NO:39(HCDR1)、SEQ ID NO:40(HCDR2)和SEQ ID NO:41(HCDR3)的氨基酸序列;以及三个轻链互补决定区(LCDR),这些轻链互补决定区包含SEQ ID NO:42(LCDR1)、SEQ ID NO:43(LCDR2)、和SEQ ID NO:44(LCDR3)的氨基酸序列。在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:9的氨基酸序列的重链可变区以及含有SEQ ID NO:10的氨基酸序列的轻链可变区。在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段包含IgG1重链恒定结构域或经修饰的IgG1重链恒定结构域。在一些实施方案中,IgG1重链恒定结构域在位置297处包含谷氨酰胺残基(Q)。在一些实施方案中,IgG1重链恒定结构域在位置297处包含丝氨酸残基(S)。在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段包含Igκ轻链恒定结构域。

[0721] 在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段是抗CD38抗体或抗原结合片段。在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段是抗CD46抗体或抗原结合片段。在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段是抗CD48抗体或抗原结合片段。在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段是抗CD79b抗体或抗原结合片段。

[0722] 在一些实施方案中,本文还提供了包含多个拷贝的抗体-药物缀合物(例如,本文描述的任何示例性抗体-药物缀合物)的组合物。在一些实施方案中,组合物中抗体-药物缀合物的平均p为约2至约4。

[0723] 在一些实施方案中,本文还提供了药物组合物,其包含抗体-药物缀合物(例如,本文描述的任何示例性抗体-药物缀合物)或组合物(例如,本文描述的任何示例性组合物),以及药学上可接受的载剂。

[0724] 在一些实施方案中,本文进一步提供了所述ADC化合物和组合物的治疗用途,例如在治疗癌症中的用途。在一些实施方案中,本公开提供了治疗癌症(例如,表达ADC的抗体或抗原结合片段靶向的抗原,例如EGFR、CD7或HER2的癌症)的方法。在一些实施方案中,本公开提供了减少或减缓受试者中癌细胞群的扩增的方法。在一些实施方案中,本公开提供了确定患有或疑似患有癌症的受试者是否会对用本文公开的ADC化合物或组合物进行的治疗有应答的方法。

[0725] 示例性实施方案是治疗患有或疑似患有癌症的受试者的方法,该方法包括向受试者施用治疗有效量的抗体-药物缀合物、组合物或药物组合物(例如,本文公开的任何示例性抗体-药物缀合物、组合物或药物组合物)。在一些实施方案中,癌症表达靶抗原。在一些实施方案中,靶抗原是BCMA、CD33、HER2、CD38、CD48、CD79b、PCAD、CD74、CD138、SLAMF7、CD123、CLL1、FLT3、CD7、CKIT、CD56、DLL3、DLK1、B7-H3、EGFR、CD71、EPCAM、FOLR1、ENPP3、MET、AXL、SLC34A2、Nectin4、TROP2、LIV1、CD46、MSLN、F3、MUC16、SLC39A6、TFRC、TACSTD2或GPNMB。在一些实施方案中,靶抗原是EphA2、CD56、SEZ6、CD25、CCR8、CEACAM5、CEACAM6、4-

1BB、5AC、5T4、甲胎蛋白、血管生成素2、ASLG659、TCLI、BMPRIB、Brevican BCAN、BEHAB、C242抗原、C5、CA-125、CA-125(imitation)、CA-IX(碳酸酐酶9)、CCR4、CD140a、CD152、CD19、CD20、CD200、CD21(C3DR)I)、CD22(B细胞受体CD22-B亚型)、CD221、CD23(gE受体)、CD28、CD30(TNFRSF8)、CD37、CD4、CD40、CD44 v6、CD51、CD52、CD70、CD72(Lyb-2、B细胞分化抗原CD72)、CD79a、CD80、CEA、CEA相关抗原、ch4D5、CLDN18.2、CRIPTO(CR、CRI、CRGF、TDGF1)、CTLA-4、CXCR5、DLL4、DR5、E16(LATI、SLC7A5)、EGFL7、EphB2R(DRT、ERK、Hek5、EPHT3、Tyro5)、上皮唾蛋白(episialin)、ERBB3、ETBR(B型内皮素受体)、FCRHI(Fc受体样蛋白I)、FcRH2(IFGP4,IRTA4、SPAPI、SPAIB、SPAIC)、纤连蛋白额外结构域-B、卷曲受体、GD2、GD3神经节苷脂、GEDA、HER1、HER2/neu、HER3、HGF、HLA-DOB、HLA-DR、人散射因子受体激酶、IGF-I受体、IL-13、IL20R(ZCYTOR7)、IL-6、ILGF2、ILFRIR、整合素u、IRTA2(免疫球蛋白超家族受体易位相关2)、Lewis-Y抗原、LY64(RP105)、MCP-I、MDP(DPEPI)、MPF、MSLN、SMR、间皮素、巨核细胞、PD-I、PDDCDI、PDGF-Ru、前列腺特异性膜抗原、PSCA(前列腺干细胞抗原前体)、PSCA hlg、RANKL、RON、SDCI、Sema Sb、STEAP I、STEAP2、PCANAP I、STAMPI、STEAP2、STMP、前列腺癌相关基因I、TAG-72、TEMI、腱生蛋白C、TENB2、(TMEFF2、tomoregulin、TPEF、HPPI、TR)、TGF-IJ、TRAIL-E2、TRAIL-R1、TRAIL-R2、T17M4(BR22450,FLJ20041、TRPM4、TRPM4B、瞬时受体电位阳离子通道亚家族M,成员4)、TWEAK-R、TYRPI(糖蛋白75)、VEGF、VEGF-A、EGFR-I、VEGFR-2、或波形蛋白。在一些实施方案中,靶抗原是EGFR、CD7、HER2、EPCAM、FOLR1、ENPP3、MET、AXL、SLC34A2、Nectin4、MSLN、F3、MUC16、SLC39A6、TFRC、TACSTD2或GPNMB。在一些实施方案中,靶抗原是EGFR、CD7或HER2。在一些实施方案中,癌症是肿瘤或血液癌。在一些实施方案中,癌症是乳腺癌、多发性骨髓瘤、浆细胞骨髓瘤、白血病、淋巴瘤、肉瘤、胃癌、急性髓性白血病、膀胱癌、脑癌、骨髓癌、宫颈癌、慢性淋巴细胞白血病、结直肠癌、食道癌、肝细胞癌、淋巴细胞白血病(包括急性淋巴细胞白血病)、滤泡性淋巴瘤、T细胞或B细胞来源的淋巴恶性肿瘤、黑色素瘤、骨髓性白血病、骨髓瘤、口腔癌、卵巢癌、非小细胞肺癌、前列腺癌、小细胞肺癌、脾癌或头颈癌。在一些实施方案中,癌症是淋巴瘤或胃癌。

[0726] 另一个示例性实施方案是减少或抑制受试者中肿瘤生长的方法,该方法包括向受试者施用治疗有效量的抗体-药物缀合物、组合物或药物组合物(例如,本文公开的任何示例性抗体-药物缀合物、组合物或药物组合物)。在一些实施方案中,肿瘤表达靶抗原。在一些实施方案中,靶抗原是BCMA、CD33、HER2、CD38、CD48、CD79b、PCAD、CD74、CD138、SLAMF7、CD123、CLL1、FLT3、CD7、CKIT、CD56、DLL3、DLK1、B7-H3、EGFR、CD71、EPCAM、FOLR1、ENPP3、MET、AXL、SLC34A2、Nectin4、TROP2、LIV1、CD46、MSLN、F3、MUC16、SLC39A6、TFRC、TACSTD2或GPNMB。在一些实施方案中,靶抗原是EphA2、CD56、SEZ6、CD25、CCR8、CEACAM5、CEACAM6、4-1BB、5AC、5T4、甲胎蛋白、血管生成素2、ASLG659、TCLI、BMPRIB、Brevican BCAN、BEHAB、C242抗原、C5、CA-125、CA-125(imitation)、CA-IX(碳酸酐酶9)、CCR4、CD140a、CD152、CD19、CD20、CD200、CD21(C3DR)I)、CD22(B细胞受体CD22-B亚型)、CD221、CD23(gE受体)、CD28、CD30(TNFRSF8)、CD37、CD4、CD40、CD44 v6、CD51、CD52、CD70、CD72(Lyb-2、B细胞分化抗原CD72)、CD79a、CD80、CEA、CEA相关抗原、ch4D5、CLDN18.2、CRIPTO(CR、CRI、CRGF、TDGF1)、CTLA-4、CXCR5、DLL4、DR5、E16(LATI、SLC7A5)、EGFL7、EphB2R(DRT、ERK、Hek5、EPHT3、Tyro5)、上皮唾蛋白(episialin)、ERBB3、ETBR(B型内皮素受体)、FCRHI(Fc受体样蛋白I)、FcRH2(IFGP4,IRTA4、SPAPI、SPAIB、SPAIC)、纤连蛋白额外结构域-B、卷曲受体、GD2、GD3神

经节苷脂、GEDA、HER1、HER2/neu、HER3、HGF、HLA-DOB、HLA-DR、人散射因子受体激酶、IGF-I受体、IL-13、IL20R(ZCYTOR7)、IL-6、ILGF2、ILFRIR、整合素u、IRTA2(免疫球蛋白超家族受体易位相关2)、Lewis-Y抗原、LY64(RP105)、MCP-I、MDP(DPEPI)、MPF、MSLN、SMR、间皮素、巨核细胞、PD-I、PDDCDI、PDGF-Ru、前列腺特异性膜抗原、PSCA(前列腺干细胞抗原前体)、PSCA hlg、RANKL、RON、SDCI、Sema Sb、STEAP I、STEAP2、PCANAP I、STAMP I、STEAP2、STMP、前列腺癌相关基因I、TAG-72、TEMI、腱生蛋白C、TENB2、(TMEFF2、tomoregulin、TPEF、HPPI、TR)、TGF-IJ、TRAIL-E2、TRAIL-R1、TRAIL-R2、T17M4(BR22450,FLJ20041、TRPM4、TRPM4B、瞬时受体电位阳离子通道亚家族M,成员4)、TWEAK-R、TYRPI(糖蛋白75)、VEGF、VEGF-A、EGFR-I、VEGFR-2、或波形蛋白。在一些实施方案中,靶抗原是EGFR、CD7、HER2、EPCAM、FOLR1、ENPP3、MET、AXL、SLC34A2、Nectin4、MSLN、F3、MUC16、SLC39A6、TFRC、TACSTD2或GPNMB。在一些实施方案中,靶抗原是EGFR、CD7或HER2。在一些实施方案中,肿瘤是乳腺癌、胃癌、膀胱癌、脑癌、宫颈癌、结直肠癌、食道癌、肝细胞癌、黑素瘤、口腔癌、卵巢癌、非小细胞肺癌、前列腺癌、小细胞肺癌或脾癌。在一些实施方案中,肿瘤是胃癌。在一些实施方案中,抗体-药物缀合物、组合物或药物组合物的施用将肿瘤的生长减少或抑制至少约10%、至少约20%、至少约30%、至少约40%。至少约50%、至少约60%、至少约70%、至少约80%、至少约90%、至少约95%或至少约99%。

[0727] 另一个示例性实施方案是减少或减缓受试者体内癌细胞群扩增的方法,该方法包括向受试者施用治疗有效量的抗体-药物缀合物、组合物或药物组合物(例如,本文公开的任何示例性抗体-药物缀合物、组合物或药物组合物)。在一些实施方案中,癌细胞群表达靶抗原。在一些实施方案中,靶抗原是BCMA、CD33、HER2、CD38、CD48、CD79b、PCAD、CD74、CD138、SLAMF7、CD123、CLL1、FLT3、CD7、CKIT、CD56、DLL3、DLK1、B7-H3、EGFR、CD71、EPCAM、FOLR1、ENPP3、MET、AXL、SLC34A2、Nectin4、TROP2、LIV1、CD46、MSLN、F3、MUC16、SLC39A6、TFRC、TACSTD2或GPNMB。在一些实施方案中,靶抗原是EphA2、CD56、SEZ6、CD25、CCR8、CEACAM5、CEACAM6、4-1BB、5AC、5T4、甲胎蛋白、血管生成素2、ASLG659、TCLI、BMPRIB、Brevican BCAN、BEHAB、C242抗原、C5、CA-125、CA-125(imitation)、CA-IX(碳酸酐酶9)、CCR4、CD140a、CD152、CD19、CD20、CD200、CD21(C3DR)I)、CD22(B细胞受体CD22-B亚型)、CD221、CD23(gE受体)、CD28、CD30(TNFRSF8)、CD37、CD4、CD40、CD44 v6、CD51、CD52、CD70、CD72(Lyb-2、B细胞分化抗原CD72)、CD79a、CD80、CEA、CEA相关抗原、ch4D5、CLDN18.2、CRIPTO(CR、CRI、CRGF、TDGF1)、CTLA-4、CXCR5、DLL4、DR5、E16(LATI、SLC7A5)、EGFL7、EphB2R(DRT、ERK、Hek5、EPHT3、Tyro5)、上皮唾蛋白(episialin)、ERBB3、ETBR(B型内皮素受体)、FCRHI(Fc受体样蛋白I)、FcRH2(IFGP4,IRTA4、SPAPI、SPAIB、SPAIC)、纤连蛋白额外结构域-B、卷曲受体、GD2、GD3神经节苷脂、GEDA、HER1、HER2/neu、HER3、HGF、HLA-DOB、HLA-DR、人散射因子受体激酶、IGF-I受体、IL-13、IL20R(ZCYTOR7)、IL-6、ILGF2、ILFRIR、整合素u、IRTA2(免疫球蛋白超家族受体易位相关2)、Lewis-Y抗原、LY64(RP105)、MCP-I、MDP(DPEPI)、MPF、MSLN、SMR、间皮素、巨核细胞、PD-I、PDDCDI、PDGF-Ru、前列腺特异性膜抗原、PSCA(前列腺干细胞抗原前体)、PSCA hlg、RANKL、RON、SDCI、Sema Sb、STEAP I、STEAP2、PCANAP I、STAMPI、STEAP2、STMP、前列腺癌相关基因I、TAG-72、TEMI、腱生蛋白C、TENB2、(TMEFF2、tomoregulin、TPEF、HPPI、TR)、TGF-IJ、TRAIL-E2、TRAIL-R1、TRAIL-R2、T17M4(BR22450,FLJ20041、TRPM4、TRPM4B、瞬时受体电位阳离子通道亚家族M,成员4)、TWEAK-R、TYRPI(糖蛋白75)、VEGF、

VEGF-A、EGFR-I、VEGFR-2、或波形蛋白。在一些实施方案中，靶抗原是EGFR、CD7、HER2、EPCAM、FOLR1、ENPP3、MET、AXL、SLC34A2、Nectin4、MSLN、F3、MUC16、SLC39A6、TFRC、TACSTD2或GPNMB。在一些实施方案中，靶抗原是EGFR、CD7或HER2。在一些实施方案中，癌细胞群来自肿瘤或血液癌。在一些实施方案中，癌细胞群来自乳腺癌、多发性骨髓瘤、浆细胞骨髓瘤、白血病、淋巴瘤、肉瘤、胃癌、急性髓性白血病、膀胱癌、脑癌、骨髓癌、宫颈癌、慢性淋巴细胞白血病、结直肠癌、食道癌、肝细胞癌、淋巴细胞白血病(包括急性淋巴细胞白血病)、滤泡性淋巴瘤、T细胞或B细胞来源的淋巴恶性肿瘤、黑色素瘤、骨髓性白血病、骨髓瘤、口腔癌、卵巢癌、非小细胞肺癌、前列腺癌、小细胞肺癌、脾癌或头颈癌。在一些实施方案中，癌细胞群来自淋巴瘤或胃癌。在一些实施方案中，抗体-药物缀合物、组合物或药物组合物的施用使癌细胞群减少至少约10％、至少约20％、至少约30％、至少约40％。至少约50％、至少约60％、至少约70％、至少约80％、至少约90％、至少约95％或至少约99％。在一些实施方案中，抗体-药物缀合物、组合物或药物组合物的施用使癌细胞群的扩增减慢至少约10％、至少约20％、至少约30％、至少约40％。至少约50％、至少约60％、至少约70％、至少约80％、至少约90％、至少约95％或至少约99％。

[0728] 另一个示例性实施方案是用于治疗患有或疑似患有癌症的受试者的抗体-药物缀合物、组合物或药物组合物(例如，本文公开的任何示例性抗体-药物缀合物、组合物或药物组合物)。在一些实施方案中，癌症表达靶抗原。在一些实施方案中，靶抗原是BCMA、CD33、HER2、CD38、CD48、CD79b、PCAD、CD74、CD138、SLAMF7、CD123、CLL1、FLT3、CD7、CKIT、CD56、DLL3、DLK1、B7-H3、EGFR、CD71、EPCAM、FOLR1、ENPP3、MET、AXL、SLC34A2、Nectin4、TROP2、LIV1、CD46、MSLN、F3、MUC16、SLC39A6、TFRC、TACSTD2或GPNMB。在一些实施方案中，靶抗原是EphA2、CD56、SFZ6、CD25、CCR8、CEACAM5、CEACAM6、4-1BB、5AC、5T4、甲胎蛋白、血管生成素2、ASLG659、TCLI、BMPRIB、Brevican BCAN、BEHAB、C242抗原、C5、CA-125、CA-125(imitation)、CA-IX(碳酸酐酶9)、CCR4、CD140a、CD152、CD19、CD20、CD200、CD21(C3DR)I)、CD22(B细胞受体CD22-B亚型)、CD221、CD23(gE受体)、CD28、CD30(TNFRSF8)、CD37、CD4、CD40、CD44 v6、CD51、CD52、CD70、CD72(Lyb-2、B细胞分化抗原CD72)、CD79a、CD80、CEA、CEA相关抗原、ch4D5、CLDN18.2、CRIPTO(CR、CRI、CRGF、TDGF1)、CTLA-4、CXCR5、DLL4、DR5、E16(LATI、SLC7A5)、EGFL7、EphB2R(DRT、ERK、Hek5、EPHT3、Tyro5)、上皮唾蛋白(episialin)、ERBB3、ETBR(B型内皮素受体)、FCRHI(Fc受体样蛋白I)、FcRH2(IFGP4，IRTA4、SPAPI、SPAIB、SPAIC)、纤连蛋白额外结构域-B、卷曲受体、GD2、GD3神经节苷脂、GEDA、HER1、HER2/neu、HER3、HGF、HLA-DOB、HLA-DR、人散射因子受体激酶、IGF-I受体、IL-13、IL2OR(ZCYTOR7)、IL-6、ILGF2、ILFRIR、整合素u、IRTA2(免疫球蛋白超家族受体易位相关2)、Lewis-Y抗原、LY64(RP105)、MCP-I、MDP(DPEPI)、MPF、MSLN、SMR、间皮素、巨核细胞、PD-I、PDDCDI、PDGF-Ru、前列腺特异性膜抗原、PSCA(前列腺干细胞抗原前体)、PSCA hlg、RANKL、RON、SDCI、Sema Sb、STEAP I、STEAP2、PCANAP I、STAMP I、STEAP2、STMP、前列腺癌相关基因I、TAG-72、TEMI、腱生蛋白C、TENB2、(TMEFF2、tomoregulin、TPEF、HPPI、TR)、TGF-IJ、TRAIL-E2、TRAIL-R1、TRAIL-R2、T17M4(BR22450，FLJ20041、TRPM4、TRPM4B、瞬时受体电位阳离子通道亚家族M，成员4)、TWEAK-R、TYRPI(糖蛋白75)、VEGF、VEGF-A、EGFR-I、VEGFR-2、或波形蛋白。在一些实施方案中，靶抗原是EGFR、CD7、HER2、EPCAM、FOLR1、ENPP3、MET、AXL、SLC34A2、Nectin4、MSLN、F3、MUC16、SLC39A6、TFRC、TACSTD2或GPNMB。在一些实施方案中，靶抗原是EGFR、CD7或HER2。

在一些实施方案中，癌症是肿瘤或血液癌。在一些实施方案中，癌症是乳腺癌、多发性骨髓瘤、浆细胞骨髓瘤、白血病、淋巴瘤、肉瘤、胃癌、急性髓性白血病、膀胱癌、脑癌、骨髓癌、宫颈癌、慢性淋巴细胞白血病、结直肠癌、食道癌、肝细胞癌、淋巴细胞白血病(包括急性淋巴细胞白血病)、滤泡性淋巴瘤、T细胞或B细胞来源的淋巴恶性肿瘤、黑色素瘤、骨髓性白血病、骨髓瘤、口腔癌、卵巢癌、非小细胞肺癌、前列腺癌、小细胞肺癌、脾癌或头颈癌。在一些实施方案中，癌症是淋巴瘤或胃癌。

[0729] 另一个示例性实施方案是抗体-药物缀合物、组合物或药物组合物(例如，本文公开的任何示例性抗体-药物缀合物、组合物或药物组合物)在治疗患有或疑似患有癌症的受试者中的用途。在一些实施方案中，癌症表达靶抗原。在一些实施方案中，靶抗原是BCMA、CD33、HER2、CD38、CD48、CD79b、PCAD、CD74、CD138、SLAMF7、CD123、CLL1、FLT3、CD7、CKIT、CD56、DLL3、DLK1、B7-H3、EGFR、CD71、EPCAM、FOLR1、ENPP3、MET、AXL、SLC34A2、Nectin4、TROP2、LIV1、CD46、MSLN、F3、MUC16、SLC39A6、TFRC、TACSTD2或GPNMB。在一些实施方案中，靶抗原是EphA2、CD56、SEZ6、CD25、CCR8、CEACAM5、CEACAM6、4-1BB、5AC、5T4、甲胎蛋白、血管生成素2、ASLG659、TCLI、BMPRIB、BrevicanBCAN、BEHAB、C242抗原、C5、CA-125、CA-125(imitation)、CA-IX(碳酸酐酶9)、CCR4、CD140a、CD152、CD19、CD20、CD200、CD21(C3DR)I)、CD22(B细胞受体CD22-B亚型)、CD221、CD23(gE受体)、CD28、CD30(TNFRSF8)、CD37、CD4、CD40、CD44v6、CD51、CD52、CD70、CD72(Lyb-2、B细胞分化抗原CD72)、CD79a、CD80、CEA、CEA相关抗原、ch4D5、CLDN18.2、CRIPTO(CR、CRI、CRGF、TDGF1)、CTLA-4、CXCR5、DLL4、DR5、E16(LATI、SLC7A5)、EGFL7、EphB2R(DRT、ERK、Hek5、EPHT3、Tyro5)、上皮唾蛋白(episialin)、ERBB3、ETBR(B型内皮素受体)、FCRHI(Fc受体样蛋白I)、FcRH2(IFGP4，IRTA4、SPAPI、SPAIB、SPAIC)、纤连蛋白额外结构域-B、卷曲受体、GD2、GD3神经节苷脂、GEDA、HER1、HER2/neu、HER3、HGF、HLA-DOB、HLA-DR、人散射因子受体激酶、IGF-I受体、IL-13、IL20R(ZCYTOR7)、IL-6、ILGF2、ILFRIR、整合素u、IRTA2(免疫球蛋白超家族受体易位相关2)、Lewis-Y抗原、LY64(RP105)、MCP-I、MDP(DPEPI)、MPF、MSLN、SMR、间皮素、巨核细胞、PD-I、PDDCDI、PDGF-Ru、前列腺特异性膜抗原、PSCA(前列腺干细胞抗原前体)、PSCAhlg、RANKL、RON、SDCI、Sema Sb、STEAP I、STEAP2、PCANAP I、STAMP I、STEAP2、STMP、前列腺癌相关基因I、TAG-72、TEMI、腱生蛋白C、TENB2、(TMEFF2、tomoregulin、TPEF、HPPI、TR)、TGF-IJ、TRAIL-E2、TRAIL-R1、TRAH-R2、T17M4(BR22450，FLJ20041、TRPM4、TRPM4B、瞬时受体电位阳离子通道亚家族M，成员4)、TWEAK-R、TYRPI(糖蛋白75)、VEGF、VEGF-A、EGFR-I、VEGFR-2、或波形蛋白。在一些实施方案中，靶抗原是EGFR、CD7、HER2、EPCAM、FOLR1、ENPP3、MET、AXL、SLC34A2、Nectin4、MSLN、F3、MUC16、SLC39A6、TFRC、TACSTD2或GPNMB。在一些实施方案中，靶抗原是EGFR、CD7或HER2。在一些实施方案中，癌症是肿瘤或血液癌。在一些实施方案中，癌症是乳腺癌、多发性骨髓瘤、浆细胞骨髓瘤、白血病、淋巴瘤、肉瘤、胃癌、急性髓性白血病、膀胱癌、脑癌、骨髓癌、宫颈癌、慢性淋巴细胞白血病、结直肠癌、食道癌、肝细胞癌、淋巴细胞白血病(包括急性淋巴细胞白血病)、滤泡性淋巴瘤、T细胞或B细胞来源的淋巴恶性肿瘤、黑色素瘤、骨髓性白血病、骨髓瘤、口腔癌、卵巢癌、非小细胞肺癌、前列腺癌、小细胞肺癌、脾癌或头颈癌。在一些实施方案中，癌症是淋巴瘤或胃癌。

[0730] 另一个示例性实施方案是抗体-药物缀合物、组合物或药物组合物(例如，本文公开的任何示例性抗体-药物缀合物、组合物或药物组合物)在制备用于治疗患有或疑似患有

癌症的受试者的药物的方法中的用途。在一些实施方案中，癌症表达靶抗原。在一些实施方案中，靶抗原是BCMA、CD33、HER2、CD38、CD48、CD79b、PCAD、CD74、CD138、SLAMF7、CD123、CLL1、FLT3、CD7、CKIT、CD56、DLL3、DLK1、B7-H3、EGFR、CD71、EPCAM、FOLR1、ENPP3、MET、AXL、SLC34A2、Nectin4、TROP2、LIV1、CD46、MSLN、F3、MUC16、SLC39A6、TFRC、TACSTD2或GPNMB。在一些实施方案中，靶抗原是EphA2、CD56、SEZ6、CD25、CCR8、CEACAM5、CEACAM6、4-1BB、5AC、5T4、甲胎蛋白、血管生成素2、ASLG659、TCLI、BMPRIB、Brevican BCAN、BEHAB、C242抗原、C5、CA-125、CA-125(imitation)、CA-IX(碳酸酐酶9)、CCR4、CD140a、CD152、CD19、CD20、CD200、CD21(C3DR)I)、CD22(B细胞受体CD22-B亚型)、CD221、CD23(gE受体)、CD28、CD30(TNFRSF8)、CD37、CD4、CD40、CD44v6、CD51、CD52、CD70、CD72(Lyb-2、B细胞分化抗原CD72)、CD79a、CD80、CEA、CEA相关抗原、ch4D5、CLDN18.2、CRIPTO(CR、CRI、CRGF、TDGF1)、CTLA-4、CXCR5、DLL4、DR5、E16(LATI、SLC7A5)、EGFL7、EphB2R(DRT、ERK、Hek5、EPHT3、Tyro5)、上皮唾蛋白(episialin)、ERBB3、ETBR(B型内皮素受体)、FCRHI(Fc受体样蛋白I)、FcRH2(IFGP4，IRTA4、SPAPI、SPAIB、SPAIC)、纤连蛋白额外结构域-B、卷曲受体、GD2、GD3神经节苷脂、GEDA、HER1、HER2/neu、HER3、HGF、HLA-DOB、HLA-DR、人散射因子受体激酶、IGF-I受体、IL-13、IL20R(ZCYTOR7)、IL-6、ILGF2、ILFRIR、整合素u、IRTA2(免疫球蛋白超家族受体易位相关2)、Lewis-Y抗原、LY64(RP105)、MCP-I、MDP(DPEPI)、MPF、MSLN、SMR、间皮素、巨核细胞、PD-I、PDDCDI、PDGF-Ru、前列腺特异性膜抗原、PSCA(前列腺干细胞抗原前体)、PSCA hlg、RANKL、RON、SDCI、Sema Sb、STEAP I、STEAP2、PCANAP I、STAMP I、STEAP2、STMP、前列腺癌相关基因I、TAG-72、TEMI、腱生蛋白C、TENB2、(TMEFF2、tomoregulin、TPEF、HPPI、TR)、TGF-IJ、TRAIL-E2、TRAIL-R1、TRAIL-R2、T17M4(BR22450，FLJ20041、TRPM4、TRPM4B、瞬时受体电位阳离子通道亚家族M，成员4)、TWEAK-R、TYRPI(糖蛋白75)、VEGF、VEGF-A、EGFR-I、VEGFR-2、或波形蛋白。在一些实施方案中，靶抗原是EGFR、CD7、HER2、EPCAM、FOLR1、ENPP3、MET、AXL、SLC34A2、Nectin4、MSLN、F3、MUC16、SLC39A6、TFRC、TACSTD2或GPNMB。在一些实施方案中，靶抗原是EGFR、CD7或HER2。在一些实施方案中，癌症是肿瘤或血液癌。在一些实施方案中，癌症是乳腺癌、多发性骨髓瘤、浆细胞骨髓瘤、白血病、淋巴瘤、肉瘤、胃癌、急性髓性白血病、膀胱癌、脑癌、骨髓癌、宫颈癌、慢性淋巴细胞白血病、结直肠癌、食道癌、肝细胞癌、淋巴细胞白血病(包括急性淋巴细胞白血病)、滤泡性淋巴瘤、T细胞或B细胞来源的淋巴恶性肿瘤、黑色素瘤、骨髓性白血病、骨髓瘤、口腔癌、卵巢癌、非小细胞肺癌、前列腺癌、小细胞肺癌、脾癌或头颈癌。在一些实施方案中，癌症是淋巴瘤或胃癌。

[0731] 另一个示例性实施方案是通过以下来确定患有或疑似患有癌症的受试者是否会对用抗体-药物缀合物、组合物或药物组合物(例如本文公开的任何示例性抗体-药物缀合物、组合物或药物组合物)进行治疗有应答的方法：提供来自受试者的生物样品；将样品与抗体-药物缀合物接触；并且检测抗体-药物缀合物与样品中癌细胞的结合。在一些实施方案中，样品中的癌细胞表达靶抗原。在一些实施方案中，癌症表达靶抗原。在一些实施方案中，靶抗原是BCMA、CD33、HER2、CD38、CD48、CD79b、PCAD、CD74、CD138、SLAMF7、CD123、CLL1、FLT3、CD7、CKIT、CD56、DLL3、DLK1、B7-H3、EGFR、CD71、EPCAM、FOLR1、ENPP3、MET、AXL、SLC34A2、Nectin4、TROP2、LIV1、CD46、MSLN、F3、MUC16、SLC39A6、TFRC、TACSTD2或GPNMB。在一些实施方案中，靶抗原是EphA2、CD56、SEZ6、CD25、CCR8、CEACAM5、CEACAM6、4-1BB、5AC、5T4、甲胎蛋白、血管生成素2、ASLG659、TCLI、BMPRIB、Brevican BCAN、BEHAB、C242抗原、C5、

CA-125、CA-125(imitation)、CA-IX(碳酸酐酶9)、CCR4、CD140a、CD152、CD19、CD20、CD200、CD21(C3DR)I)、CD22(B细胞受体CD22-B亚型)、CD221、CD23(gE受体)、CD28、CD30(TNFRSF8)、CD37、CD4、CD40、CD44v6、CD51、CD52、CD70、CD72(Lyb-2、B细胞分化抗原CD72)、CD79a、CD80、CEA、CEA相关抗原、ch4D5、CLDN18.2、CRIPTO(CR、CRI、CRGF、TDGF1)、CTLA-4、CXCR5、DLL4、DR5、E16(LATI、SLC7A5)、EGFL7、EphB2R(DRT、ERK、Hek5、EPHT3、Tyro5)、上皮唾蛋白(episialin)、ERBB3、ETBR(B型内皮素受体)、FCRHI(Fc受体样蛋白I)、FcRH2(IFGP4,IRTA4、SPAPI、SPAIB、SPAIC)、纤连蛋白额外结构域-B、卷曲受体、GD2、GD3神经节苷脂、GEDA、HER1、HER2/neu、HER3、HGF、HLA-DOB、HLA-DR、人散射因子受体激酶、IGF-I受体、IL-13、IL20R(ZCYTOR7)、IL-6、ILGF2、ILFRIR、整合素u、IRTA2(免疫球蛋白超家族受体易位相关2)、Lewis-Y抗原、LY64(RP105)、MCP-I、MDP(DPEPI)、MPF、MSLN、SMR、间皮素、巨核细胞、PD-I、PDDCDI、PDGF-Ru、前列腺特异性膜抗原、PSCA(前列腺干细胞抗原前体)、PSCA hlg、RANKL、RON、SDCI、Sema Sb、STEAP I、STEAP2、PCANAP I、STAMPI、STEAP2、STMP、前列腺癌相关基因I、TAG-72、TEMI、腱生蛋白C、TENB2、(TMEFF2、tomoregulin、TPEF、HPPI、TR)、TGF-IJ、TRAIL-E2、TRAIL-R1、TRAIL-R2、T17M4(BR22450,FLJ20041、TRPM4、TRPM4B、瞬时受体电位阳离子通道亚家族M,成员4)、TWEAK-R、TYRPI(糖蛋白75)、VEGF、VEGF-A、EGFR-I、VEGFR-2、或波形蛋白。在一些实施方案中,靶抗原是EGFR、CD7、HER2、EPCAM、FOLR1、ENPP3、MET、AXL、SLC34A2、Nectin4、MSLN、F3、MUC16、SLC39A6、TFRC、TACSTD2或GPNMB。在一些实施方案中,靶抗原是EGFR、CD7或HER2。在一些实施方案中,癌症是肿瘤或血液癌。在一些实施方案中,癌症是乳腺癌、多发性骨髓瘤、浆细胞骨髓瘤、白血病、淋巴瘤、肉瘤、胃癌、急性髓性白血病、膀胱癌、脑癌、骨髓癌、宫颈癌、慢性淋巴细胞白血病、结直肠癌、食道癌、肝细胞癌、淋巴细胞白血病(包括急性淋巴细胞白血病)、滤泡性淋巴瘤、T细胞或B细胞来源的淋巴恶性肿瘤、黑色素瘤、骨髓性白血病、骨髓瘤、口腔癌、卵巢癌、非小细胞肺癌、前列腺癌、小细胞肺癌、脾癌或头颈癌。在一些实施方案中,癌症是淋巴瘤或胃癌。在一些实施方案中,样品是组织活检样品、血液样品或骨髓样品。

[0732] 还公开了生产所述ADC化合物和组合物的方法。示例性实施方案是通过使抗体或抗原结合片段与接合或共价附接至Bcl-xL抑制剂的可切割接头在允许缀合的条件下反应来产生抗体-药物缀合物的方法。

附图说明

[0733] 图1显示了示例性位点特异性半胱氨酸缀合。

[0734] 图2显示了使用细菌转谷氨酰胺酶(BTG)的示例性位点特异性抗体缀合。

[0735] 图3显示了ALL-SIL细胞系中抗CD7-Bcl-xL ADC和负载的体外活性(CTG 72h)。

[0736] 图4显示了DND-41细胞系中抗CD7-BclxL ADC和负载的体外活性(CTG 72h)。

[0737] 图5A及图5B显示了H1650细胞系中抗EGFR-BclxL ADC和负载的体外活性(3D,CTG 120h)。

[0738] 图6显示了使用CTG测定法作为单一药剂以及与紫杉醇组合的抗HER2-Bcl-xLADC对HCC1569细胞活力的影响。

[0739] 图7A、7B、7C和7D显示了Bcl-xLi负载和抗CD7-、抗-CD38-、抗-CD48-和抗-chLys-Bcl-xLi ADC在单一药剂或与长春新碱或BCL2抑制剂联合在HPB-ALL细胞系中的体外活性。

[0740] 图8A及图8B显示了EGFR-AbA-L109A-P1与MAP激酶途径抑制剂在各种癌细胞系中的体外组合活性。

[0741] 图9显示了EGFR2CysMab DANAPA-L109A-P1 ADC与多西他赛组合针对小鼠中的H1650人非小细胞肺癌(NSCLC)模型的肿瘤生长抑制。

[0742] 图10显示了EGFR2CysMab DANAPA-L109A-P1 ADC与多西他赛组合针对小鼠中H1650人非小细胞肺癌(NSCLC)模型的体重变化。

[0743] 图11显示了具有不同接头负载的EGFR-Bcl-xLi-ADC与多西他赛组合的抗肿瘤效果。值为平均值±SEM;样品量(n＝7只小鼠/组)。使用单向ANOVA事后Tukey多重比较检验对第21天(相比于媒剂对照组)以及第21天和第46天(相比于EGFR-L109A-P1)进行统计分析;TIBCO Spotfire中的Indigo InLife结果分析。#:p＜0.05。

[0744] 图12显示了用具有不同接头负载的EGFR-Bcl-xLi-ADC与多西他赛组合治疗后的体重变化。体重变化(%)代表评估日体重与第0天体重之间的比率,对于每只动物以百分比表示。值为平均值±SEM;样品量(n＝7只小鼠/组)。使用单向ANOVA事后Tukey多重比较检验对第21天(相比于媒剂对照组)以及第21天和第46天(相比于EGFR-L109A-P1)进行统计分析;TIBCO Spotfire中的Indigo InLife结果分析。#:p＜0.05。

[0745] 图13显示了EpCAM-DANAPA-L11C-P25ADC、3207-DANAPA-L11C-P25同种型对照ADC和EpCAM-DANAPACysMab对照抗体与紫杉醇组合的EBC-1生长动力学。

[0746] 图14显示了用EpCAM-DANAPA-L11C-P25ADC、3207-DANAPA-L11C-P25同种型对照ADC和EpCAM-DANAPA CysMab对照抗体与紫杉醇组合治疗后的体重变化。

[0747] 图15显示了用IgG1 DANAPA-L9A-P21,Ab D DANAPA_L9A-P1,Ab D DANAPA_L9A-P21,Ab D DANAPA_L9C-P25,Ab D DANAPA_L9A-P33 and Ab D DANAPA_L9C-P40(2.5和/或7.5mg/kg,静脉注射一次,n＝6)处理后,ALL-SIL移植的雌性NSG小鼠的肿瘤体积(mm^3)。

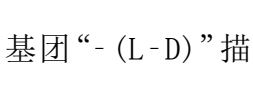
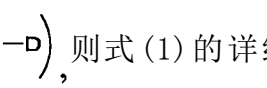
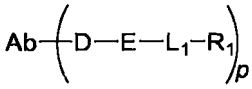
[0748] 图16显示了用IgG1DANAPA-L9A-P21,Ab D DANAPA_L9A-P1,Ab D DANAPA_L9A-P21,Ab D DANAPA_L9C-P25,Ab D DANAPA_L9A-P33 and Ab D DANAPA_L9C-P40(2.5和/或7.5mg/kg,静脉注射一次,n＝6)处理后,ALL-SIL移植的雌性NSG小鼠的体重。

具体实施方式

[0749] 结合附图,通过参考以下详细描述可更容易地理解所披露的组合物和方法,这些附图形成本公开的一部分。

[0750] 在本文中,描述涉及组合物和使用该组合物的方法。当本公开描述或要求保护与组合物相关的特征或实施方案时,这样的特征或实施方案同样适用于使用该组合物的方法。同样,当本公开描述或主张与使用所述组合物的方法相关联的特点或实施方案时,此类特点或实施方案同等地适用于该组合物。

[0751] 当表达值的范围时,其包括使用该范围内的任何特定值的实施方案。此外,对范围中规定的值的引用包括该范围内的每个值。所有范围均包含其端点并且可组合。当通过使用先行词“约”将值表示为近似值时,将理解所述特定值形成另一个实施方案。除非上下文另有明确指示,否则对特定数值的引用至少包括该特定值。除非其使用的具体上下文另有规定,否则“或”的使用将意味着“和/或”。出于所有目的,本文引用的所有参考文献均通过引用并入。当参考文献和说明书冲突时,将以说明书为准。

[0752] 除非描述的上下文另有说明，例如，在没有指示特定附接点的符号的情况下，当绘制结构或结构的片段时，它可以被单独使用或附接到ADC的其他执法，并且它可以以任何取向这样做，例如，抗体在任何合适的附接点附接到化学部分，例如接头-药物。然而，在指明的情况下，ADC的执法按照给定式中所示的取向附接。例如，如果将式(1)描述为$Ab-(L-D)_p$，基团“-(L-D)”描述为，则式(1)的详细结构)是。它不是。

[0753] 应当理解，出于清楚的目的本文描述于单独实施方案的上下文中的披露的组合物和方法的某些特征还可以按组合形式提供于单个实施方案中。相反地，出于简洁的目的描述于单个实施方案的上下文中的披露的组合物和方法的不同特征还可以分开地或以任何子组合形式提供。

[0754] 如本申请通篇所使用的，抗体药物缀合物可以使用“靶抗原/抗体-接头-负载”的通用格式的命名约定来识别。仅举例来说，如果抗体药物缀合物被称为“靶X-L0-P0”，则此类缀合物将包含结合靶标X的抗体、指定为L0的接头和指定为P0的负载。可替代地，如果抗体药物缀合物被称为“抗靶X-L0-P0”，则此类缀合物将包含结合靶标X的抗体、指定为L0的接头和指定为P0的负载。在另一个替代方案中，如果抗体药物缀合物被称为“AbX-L0-P0”，则这样的缀合物将包含指定为AbX的抗体、指定为L0的接头和指定为P0的负载。包含非特异性同种型对照抗体的对照抗体药物缀合物可称为“同种型对照IgG1-L0-P0”或“IgG1-L0-P0”。

[0755] 本文中给出的任何式还旨在代表化合物的非标记形式以及同位素标记形式。除了一个或多个原子被具有选定原子量或质量数的原子替换以外，同位素标记的化合物具有本文中给出的式所描述的结构。可以掺入本发明化合物中的同位素包括例如氢、碳、氮、氧、氟和氯的同位素，例如^{3}H、^{11}C，^{13}C、^{14}C、^{15}N、^{18}F和^{36}Cl。因此，应理解，本公开包括掺入一种或多种任何前述同位素(包括例如放射性同位素(如^{3}H和^{14}C))的化合物，或其中存在非放射性同位素(如^{2}H和^{13}C)的化合物。此类同位素标记的化合物可用于代谢研究(用^{14}C)、反应动力学研究(例如用^{2}H或^{3}H)、检测或成像技术(例如正电子发射断层扫描(PET)或单光子发射计算机断层扫描(SPECT)，包括药物或底物组织分布测定)，或用于患者的放射治疗。特别地，^{18}F或标记的化合物可能对于PET或SPECT研究是特别希望的。同位素标记的化合物通常可以通过本领域技术人员已知的常规技术来制备，例如使用适当的同位素标记的试剂代替未标记的先前使用的试剂来制备。

[0756] 定义

[0757] 整个说明书和权利要求书中使用了与本说明书的各方面相关的各种术语。除非另有说明，这些术语应具有其在本领域中的普通含义。其他具体定义的术语将以与本文提供的定义一致的方式解释。

[0758] 如本文所用，除非上下文另有明确指示，否则单数形式“一个/一种(a，an)”和“该(the)”包括复数形式。除非另有说明，术语“包含”、“具有”、“具有化学式”中的“具有”、“包括”和“含有”应被解释为开放术语(即，意思是“包括但不限于”)。另外，每当在实施方案中使用“包含”或另一开放式术语时，应当理解，可以使用中间术语“基本上由.....组成”或

封闭式术语“由.....组成”来更狭义地要求保护同一实施方案。

[0759] 当在数值和范围的上下文中使用时,术语“约”或“大约”是指近似或接近所列举的值或范围的值或范围,使得实施方案可以如预期那样执行,如显而易见的本领域技术人员可以从本文所包含的教导中获悉。在一些实施方案中,约是指数值量加或减20%、15%、10%、5%、1%、0.5%或0.1%。在一个实施方案中,术语“约”是指比指定值多或少10%的值范围。在另一个实施方案中,术语“约”是指比指定值多或少5%的值范围。在另一个实施方案中,术语“约”是指比指定值多或少1%的值范围。

[0760] 术语“抗体-药物缀合物”、“抗体缀合物”、“缀合物”、“免疫缀合物”和“ADC”可互换使用,并且指一个或多个治疗化合物(例如,Bcl-xL抑制剂)与一个或多个抗体或抗原结合片段连接。在一些实施方案中,ADC由通用式定义:Ab-(L-D)$_p$(式1),其中Ab=抗体或抗原结合片段,L=接头部分,D=药物部分(例如,Bcl-xL抑制剂药物部分),和p=药物部分数量/抗体或抗原结合片段的。在包含Bcl-xL抑制剂药物部分的ADC中,“p”是指与抗体或抗原结合片段连接的Bcl-xL抑制剂化合物的数量。

[0761] 术语“抗体”以最广泛的意义使用,指通过免疫球蛋白分子可变区内的至少一个抗原识别位点识别并特异性结合靶的免疫球蛋白分子,所述靶如蛋白质、多肽、碳水化合物、多核苷酸、脂质或上述物质的组合。抗体可以是多克隆或单克隆、多链或单链、或完整的免疫球蛋白,并且可以源自天然来源或重组来源。“完整”抗体是通常包含通过二硫键互连的至少两条重(H)链和两条轻(L)链的糖蛋白。每条重链由重链可变区(本文缩写为VH)和重链恒定区组成。重链恒定区包含三个结构域:CH1、CH2和CH3。每条轻链由轻链可变区(本文缩写为VL)和轻链恒定区组成。轻链恒定区由一个结构域CL组成。VH和VL区可以进一步再分为高变区,称为互补决定区(CDR),其间插着更为保守的区,称为框架区(FR)。每个VH和VL由从氨基末端排到羧基末端按以下顺序排列的三个CDR和四个FR构成:FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。重链和轻链的可变区含有与抗原相互作用的结合结构域。抗体的恒定区可以介导免疫球蛋白与宿主组织或因子(包括免疫系统的各种细胞(例如,效应细胞)以及经典补体系统的第一组分(C1q))的结合。抗体可以是单克隆抗体、人抗体、人源化抗体、骆驼化抗体或嵌合抗体。抗体可以是任何同种型(例如,IgG、IgE、IgM、IgD、IgA和IgY)、类别(例如,IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1和IgA2)或亚类。抗体可以是完整抗体或其抗原结合片段。

[0762] 在一些实施方案中,本文公开的抗体或抗体片段包括经修饰的或工程改造的氨基酸残基,例如一个或多个半胱氨酸残基,作为与药物部分缀合的位点(Junutula JR等人,Nat Biotechnol 2008,26:925-932)。在一个实施方案中,本公开提供了一种经修饰的抗体或抗体片段,所述经修饰的抗体或抗体片段包含在本文所述的位置处用半胱氨酸对一个或多个氨基酸的取代。半胱氨酸取代位点位于抗体或抗体片段的恒定区,因此适用于多种抗体或抗体片段,并且选择这些位点以提供稳定和均一的缀合物。经修饰的抗体或片段可以具有一个、两个或更多个半胱氨酸取代,并且这些取代可以与如本文所述的其他修饰和缀合方法组合使用。用于在抗体的特定位置插入半胱氨酸的方法是本领域已知的,参见,例如,Lyons等人,(1990)Protein Eng.,3:703-708、WO 2011/005481、WO2014/124316、WO 2015/138615。在某些实施方案中,经修饰的抗体包含在其恒定区上的选自以下位置用半胱氨酸对一个或多个氨基酸的取代:抗体的重链的位置117、119、121、124、139、152、153、155、157、164、169、171、174、189、191、195、197、205、207、246、258、269、274、286、288、290、292、

293、320、322、326、333、334、335、337、344、355、360、375、382、390、392、398、400和422，并且其中这些位置是根据EU系统编号的。在一些实施方案中，经修饰的抗体或抗体片段包含在其恒定区上的选自以下位置用半胱氨酸对一个或多个氨基酸的取代：抗体或抗体片段的轻链的位置107、108、109、114、129、142、143、145、152、154、156、159、161、165、168、169、170、182、183、197、199和203，其中位置根据EU系统编号，并且其中轻链是人κ轻链。在某些实施方案中，经修饰的抗体或其抗体片段包含在其恒定区上用半胱氨酸取代两个或更多个氨基酸的组合，其中所述组合包含在抗体重链的位置375、抗体重链的位置152、抗体重链的位置360，或抗体轻链的位置107处的取代，并且其中这些位置根据EU系统编号。在某些实施方案中，经修饰的抗体或其抗体片段包含在其恒定区上用半胱氨酸取代一个氨基酸，其中所述取代是抗体重链的位置375、抗体重链的位置152、抗体重链的位置360、抗体轻链的位置107、抗体轻链的位置165或抗体轻链的位置159处的取代，并且其中所述位置根据EU系统编号，并且其中所述轻链是κ链。在具体的实施方案中，经修饰的抗体或其抗体片段包含在其恒定区上用半胱氨酸取代两个氨基酸的组合，其中所述组合包含在抗体重链的位置375和抗体重链的位置152处的取代，其中所述位置根据EU系统编号。在具体实施方案中，经修饰的抗体或其抗体片段包含在抗体重链的位置360处用半胱氨酸取代一个氨基酸，其中位置是根据EU系统编号的。在其他具体实施方案中，经修饰的抗体或其抗体片段包含在抗体轻链的位置107处用半胱氨酸取代一个氨基酸，并且其中位置是根据EU系统编号，并且其中轻链是κ链。

[0763] 本文所用的术语“抗体片段”或“抗原结合片段”或“功能性抗体片段”是指抗体的至少一部分，所述至少一部分保留与抗原(例如EGFR、CD7或HER2)表位特异性地相互作用(例如，通过结合、空间位阻、稳定/去稳定、空间分布)的能力。抗原结合片段可以还保留了内化到抗原表达型细胞中的能力。在一些实施方案中，抗原结合片段还保留免疫效应子活性。术语抗体、抗体片段、抗原结合片段等旨在涵盖来自抗体的结合结构域在较大大分子例如ADC的背景下的使用。已经表明，全长抗体的片段可以执行全长抗体的抗原结合功能。抗体片段的实例包括但不限于Fab、Fab′、F(ab')2、Fv片段、scFv抗体片段、二硫键连接的Fv(sdFv)、由VH和CH1结构域组成的Fd片段、线性抗体、单结构域抗体如sdAb(VL或VH)、骆驼科VHH结构域、由抗体片段(例如包含通过铰链区处的二硫键连接的两个Fab片段的二价片段)以及抗体的分离的CDR或其他表位结合片段所形成的多特异性抗体。抗原结合片段也可以掺入到单结构域抗体、大型抗体(maxibodies)、微型抗体(minibodies)、纳米抗体、胞内抗体、双体抗体、三体抗体、四体抗体、、双特异性或多特异性抗体构建体、ADC、v-NAR和双-scFv(参见，例如，Holliger和Hudson(2005)Nat Biotechnol.23(9):1126-36)。还可以基于多肽例如III型纤连蛋白(Fn3)将抗原结合片段移植到支架中(参见美国专利号:6,703,199，其描述了纤连蛋白多肽微抗体)。术语“scFv”是指融合蛋白，其包含至少一个包含轻链可变区的抗原结合片段和至少一个包含重链可变区的抗原结合片段，其中轻链和重链可变区是例如经由合成的接头例如短的柔性多肽接头连续连接的并且能够表达为单链多肽，并且其中scFv保留了衍生其的完整抗体的特异性。除非另有说明，scFv可以以任一顺序(例如相对于多肽的N-末端和C-末端)具有VL和VH可变区，scFv可以包含VL-接头-VH或可以包含VH-接头VL。使用本领域技术人员已知的常规技术获得抗原结合片段，并以与完整抗体相同的方式筛选结合片段的效用(例如，结合亲和力、内化)。例如，抗原结合片段可以通过完整

蛋白质的切割来制备,例如通过蛋白酶或化学切割。

[0764] 如本文所用,术语“互补决定区”或“CDR”是指赋予抗原特异性和结合亲和力的抗体可变区内的氨基酸序列。例如,通常,每个重链可变区中存在三个CDR(例如,HCDR1、HCDR2和HCDR3),并且每个轻链可变区中有三个CDR(LCDR1、LCDR2和LCDR3)。给定CDR的精确氨基酸序列边界可以使用许多熟知的方案中的任何一种来确定,这些方案包括描述于以下的那些:Kabat等人(1991),“Sequences of Proteins of Immunological Interest[免疫学目的蛋白质序列]”,第5版,公共卫生署(Public Health Service),美国国立卫生研究院(National Institutes of Health),马里兰州贝塞斯达市(Bethesda,MD)(“Kabat”编号方案)、Al-Lazikani等人,(1997)J Mol Biol.273(4):927-48(“Chothia”编号方案);ImMunoGenTics(IMGT)编号(Lefranc(2001)Nucleic Acids Res.29(1):207-9;Lefranc等人(2003)Dev Comp Immunol.27(1):55-77)(“IMGT”编号方案);或其组合。在针对给定CDR区(例如,HC CDR1、HC CDR2、HC CDR3、LC CDR1、LC CDR2或LC CDR3)的组合卡巴特和乔西亚编号方案中,在一些实施方案中,这些CDR对应于被定义为卡巴特CDR的一部分的氨基酸残基,以及被定义为乔西亚CDR的一部分的氨基酸残基。如本文所使用的,根据“Chothia”编号方案定义的CDR有时也称为“高变环”。

[0765] 在一些实施方案中,在Kabat下,重链可变结构域(VH)中的CDR氨基酸残基编号为31-35(HCDR1)(例如,位置35之后的一个或多个插入)、50-65(HCDR2)和95-102(HCDR3);轻链可变结构域(VL)中的CDR氨基酸残基编号为24-34(LCDR1)(例如,位置27之后的一个或多个插入)、50-56(LCDR2)和89-97(LCDR3)。在一些实施方案中,在Chothia下,VH中的CDR氨基酸编号为26-32(HCDR1)(例如,位置31之后的一个或多个插入)、52-56(HCDR2)和95-102(HCDR3);VL中的氨基酸残基编号为26-32(LCDR1)(例如,位置30之后的一个或多个插入)、50-52(LCDR2)和91-96(LCDR3)。通过组合Kabat和Chothia两者的CDR定义,在一些实施方案中,CDR包含以下或由以下组成的组:例如人VH中的氨基酸残基26-35(HCDR1)、50-65(HCDR2)和95-102(HCDR3)或人VL中的氨基酸残基24-34(LCDR1)、50-56(LCDR2)和89-97(LCDR3)。在一些实施方案中,在IMGT下,VH中的CDR氨基酸残基编号为约26-35(CDR1),51-57(CDR2)和93-102(CDR3),VL中的CDR氨基酸残基编号为约27-32(CDR1),50-52(CDR2)和89-97(CDR3)。在一些实施方案中,在IMGT下,可以使用程序IMGT/DomainGap Align确定抗体的CDR区。

[0766] 如本文所使用,术语“单克隆抗体”是指自基本上同源的抗体群获得的一种抗体,即,构成该群体的个别抗体除以微量存在的可能天然存在的突变外为一致的。单克隆抗体是高度特异性的,针对单一抗原表位。相反,常规(多克隆)抗体制剂通常包括针对(或特异性针对)不同表位的多种抗体。修饰语“单克隆”表示从基本上同质的抗体群体获得的抗体的特征,而不应解释为要求通过任何特定方法来生产抗体。例如,根据本公开有待使用的单克隆抗体可以通过Kohler et al.(1975)Nature 256:495首次描述的杂交瘤方法,或可以通过重组DNA方法(参见,例如美国专利号4,816,567)制备。也可以使用例如Clackson等人(1991)Nature 352:624-8和Marks等人(1991)J Mol Biol.222:581-97中所述的技术从噬菌体抗体文库中分离单克隆抗体。该术语还包括单分子组成的抗体分子的制剂。单克隆抗体组合物表现出对特定表位的单一结合特异性和亲和力。

[0767] 本文所述的单克隆抗体可以是非人的、人的或人源化的。该术语具体包括“嵌合”

抗体,其中重和/或轻链的一部分与对应的衍生自一个特定种类的抗体或属于一个特定抗体种类或亚类的序列相同或同源,而该一个或多个链的其余部分是与衍生自另一个种类的抗体的或属于另一个抗体种类或亚类的抗体连同此种抗体的片段中的对应序列相同或同源,只要它们特异性结合靶抗原和/或表现出所需的生物活性即可。

[0768] 本文使用的术语"人抗体"是指由人产生的抗体或具有由人产生的抗体的氨基酸序列的抗体。该术语包括具有可变区的抗体,其中框架区和CDR区均衍生自人源序列。此外,如果抗体含有恒定区,则恒定区也源自此类人序列,例如人种系序列,或人种系序列的突变形式或含有衍生自人框架序列分析的共有框架序列的抗体,例如,如Knappik等人,(2000),J Mol Biol;296(1):57-86所述。免疫球蛋白可变结构域例如CDR的结构和位置可以使用熟知的编号方案来定义,例如Kabat编号方案、Chothia编号方案、或Kabat和Chothia的组合、和/或ImMunoGenTics(IMGT)编号方案。本发明的人抗体可以包含不是由人序列编码的氨基酸残基(例如,通过在体外随机诱变或位点特异性诱变、或通过在体内体细胞突变、或保守取代来引入突变以促进稳定性或生产)。然而,如本文所用的术语"人抗体"不旨在包括其中源自另一种哺乳动物物种例如小鼠种系的CDR序列已被移植到人框架序列中的抗体。

[0769] 本文所用的术语"重组人抗体"是指通过重组方式制备、表达、产生或分离的人抗体,如从动物(例如,小鼠)(所述动物对于人免疫球蛋白基因是转基因的或转染色体的)或由其制备的杂交瘤中分离的抗体;从转化以表达人抗体的宿主细胞中(例如,从转染瘤中)分离的抗体;从重组组合的人抗体文库中分离的抗体;以及通过任何其他方式(其涉及全部或部分的人免疫球蛋白基因、其他DNA序列的序列的剪接)制备、表达、产生或分离的抗体。此类重组人抗体具有可变区,其中框架区和CDR区衍生自人种系免疫球蛋白序列。然而,在一些实施方案中,这种重组人抗体可以进行体外诱变(或者,当使用人Ig序列的转基因动物时,进行体内体细胞诱变),因此,重组抗体的VH和VL区的氨基酸序列是这样的序列,其虽然衍生自人种系VH和VL序列并与之相关,但在体内可能不天然存在于人抗体种系库内。

[0770] 如本文所用,术语"嵌合抗体"是指其中免疫球蛋白分子的氨基酸序列衍生自两个或更多个物种的抗体。在一些情况下,重链和轻链的可变区对应于具有所期望特异性、亲和力和活性的衍生自一个物种的抗体的可变区,而恒定区与衍生自另一个物种(例如人)的抗体同源,以最小化后者物种中的免疫应答。

[0771] 如本文所用,术语"人源化抗体"是指包含来自非人(例如,鼠)抗体以及人抗体的序列的抗体形式。此类抗体是一种类型的嵌合抗体,其含有衍生自非人免疫球蛋白的最少序列。总体上,人源化抗体将包括至少一个、并且典型地两个可变结构域中的基本上全部,其中全部或基本上全部的高变环相应于非人免疫球蛋白的那些,并且全部或基本上全部的框架(FR)区是人免疫球蛋白序列的那些。人源化抗体还任选地包括免疫球蛋白恒定区(Fc)的至少一部分,典型地是人免疫球蛋白的至少一部分。可以通过在Fv框架区中和/或在替换的非人残基内的残基的取代来进一步修饰人源化抗体,以改善和优化抗体特异性、亲和力和/或活性。

[0772] 如本文所用,术语"Fc区"是指包含抗体恒定结构域的CH3、CH2和至少一部分铰链区的多肽。任选地,Fc区可以包括存在于一些抗体类别中的CH4结构域。Fc区可包含抗体恒定结构域的整个铰链区。在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段包含抗体的Fc区和CH1区。在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段包含抗体的Fc区CH3区。在一些实施方案中,抗

体或抗原结合片段包含来自抗体恒定结构域的Fc区、CH1区和κ/λ区。在一些实施方案中，抗体或抗原结合片段包含恒定区，例如重链恒定区和/或轻链恒定区。在一些实施方案中，与野生型恒定区相比，这样的恒定区被修饰。也就是说，多肽可以包含对三个重链恒定区(CH1、CH2或CH3)和/或轻链恒定区(CL)中的一个或多个的改变或修饰。示例性修饰包括一个或多个结构域中的一个或多个氨基酸的添加、缺失或取代。可以包括此类改变以优化效应子功能、半衰期等。

[0773] 如本文关于抗体或抗原结合片段所使用的“内化”是指抗体或抗原结合片段在与细胞结合后能够穿过细胞的脂质双层膜进入内部隔室(即，“内化”)，优选进入细胞中的降解隔室中。例如，内化抗HER2抗体是一种在与细胞膜上的HER2结合后能够被摄入细胞的抗体。在一些实施方案中，本文公开的ADC中使用的抗体或抗原结合片段靶向细胞表面抗原(例如，EGFR、CD7或HER2)并且是内化抗体或内化抗原结合片段(即，抗原结合后，ADC转移通过细胞膜)。在一些实施方案中，内化抗体或抗原结合片段结合细胞表面上的受体。靶向细胞膜上受体的内化抗体或内化抗原结合片段可以诱导受体介导的内吞作用。在一些实施方案中，内化抗体或内化抗原结合片段通过受体介导的胞吞作用被摄入细胞中。

[0774] 如本文所用，关于抗体或抗原结合片段的“非内化”是指在与细胞结合后保留在细胞表面的抗体或抗原结合片段。在一些实施方案中，本文公开的ADC中使用的抗体或抗原结合片段靶向细胞表面抗原并且是非内化抗体或非内化抗原结合片段(即，ADC保留在细胞表面并且抗原结合后不转移通过细胞膜)。在一些实施方案中，非内化抗体或抗原结合片段结合非内化受体或其他细胞表面抗原。示例性的非内化细胞表面抗原包括但不限于CA125和CEA，并且结合非内化抗原靶标的抗体也是本领域已知的(参见，例如，Bast等人(1981)J Clin Invest.68(5):1331-7；Scholler和Urban(2007)BiomarkMed.1(4):513-23；和Boudousq等人(2013)PLoS One 8(7):e69613)。

[0775] 如本文所用，术语“B细胞成熟抗原”或“BCMA”是指任何天然形式的人BCMA(也称为肿瘤坏死因子受体超家族成员17(TNFRSF17))。该术语包括全长人BCMA(例如，UniProt参考序列:Q02223；SEQ ID NO:72)，以及由细胞加工产生的任何形式的人BCMA。该术语还包括人BCMA的功能变体或片段，包括但不限于剪接变体、等位基因变体和保留人BCMA的一种或多种生物功能的同种型(即，变体和片段也包括在内，除非上下文指出该术语仅用于指野生型蛋白质)。BCMA可以从人中分离，或者可以重组或通过合成方法产生。

[0776] 如本文所用，术语“抗BCMA抗体”或“结合BCMA的抗体”是指结合(例如特异性结合)BCMA的任何形式的抗体或其抗原结合片段。该术语涵盖单克隆抗体(包括全长单克隆抗体)、多克隆抗体和生物学功能性抗原结合片段，只要它们与BCMA结合，例如特异性结合。WO 2012/163805提供了示例性BCMA结合序列，包括示例性抗BCMA抗体序列，并通过引用并入本文。在一些实施方案中，本文公开的ADC中使用的抗BCMA抗体是内化抗体或内化抗原结合片段。J6M0(WO 2012/163805)是示例性抗BCMA抗体。

[0777] 如本文所用，术语“骨髓细胞表面抗原CD33”或“CD33”是指人CD33的任何天然形式(也称为唾液酸结合Ig样凝集素3(SIGLEC3))。该术语包括全长人CD33(例如，UniProt参考序列:P20138；SEQ ID NO:73)，以及由细胞加工产生的任何形式的人CD33。该术语还包括人CD33的功能变体或片段，包括但不限于剪接变体、等位基因变体和保留人CD33的一种或多种生物功能的同种型(即，变体和片段也包括在内，除非上下文指出该术语仅用于指野生型

蛋白质)。CD33可以从人中分离,或者可以重组或通过合成方法产生。

[0778] 如本文所用,术语“抗CD33抗体”或“结合CD33的抗体”是指结合(例如特异性结合)CD33的任何形式的抗体或其抗原结合片段。该术语涵盖单克隆抗体(包括全长单克隆抗体)、多克隆抗体和生物学功能性抗原结合片段,只要它们与CD33结合,例如特异性结合。US 2013/0078241提供了示例性CD33结合序列,包括示例性抗CD33抗体序列,并通过引用并入本文。在一些实施方案中,本文公开的ADC中使用的抗CD33抗体是内化抗体或内化抗原结合片段。MuMy9-6ch(US 2013/0078241)是示例性抗CD33抗体。

[0779] 如本文所用,术语“P-钙粘蛋白”或“PCAD”是指任何天然形式的人PCAD(也称为钙粘蛋白3,1型或CDH3)。该术语包括全长人PCAD(例如,UniProt参考序列:P22223;SEQ ID NO:74),以及由细胞加工产生的任何形式的人PCAD。该术语还包括人PCAD的功能变体或片段,包括但不限于剪接变体、等位基因变体和保留人PCAD的一种或多种生物功能的同种型(即,变体和片段也包括在内,除非上下文指出该术语仅用于指野生型蛋白质)。PCAD可以从人中分离,或者可以重组或通过合成方法产生。

[0780] 如本文所用,术语“抗PCAD抗体”或“结合PCAD的抗体”是指结合(例如特异性结合)PCAD的任何形式的抗体或其抗原结合片段。该术语涵盖单克隆抗体(包括全长单克隆抗体)、多克隆抗体和生物学功能性抗原结合片段,只要它们与PCAD结合,例如特异性结合。WO 2016/203432提供了示例性PCAD结合序列,包括示例性抗PCAD抗体序列,并通过引用并入本文。在一些实施方案中,本文公开的ADC中使用的抗PCAD抗体是内化抗体或内化抗原结合片段。NOV169N31Q(WO 2016/203432)是示例性抗PCAD抗体。

[0781] 如本文所用,术语“人表皮生长因子受体2”、“HER2”或“HER2/NEU”是指人HER2的任何天然形式。该术语包括全长人HER2(例如,UniProt参考序列:P04626;SEQ ID NO:75),以及由细胞加工产生的任何形式的人HER2。该术语还包括人HER2的功能变体或片段,包括但不限于剪接变体、等位基因变体和保留人HER2的一种或多种生物功能的同种型(即,变体和片段也包括在内,除非上下文指出该术语仅用于指野生型蛋白质)。HER2可以从人中分离,或者可以重组或通过合成方法产生。

[0782] 如本文所用,术语“抗HER2抗体”或“结合HER2的抗体”是指结合(例如特异性结合)HER2的任何形式的抗体或其抗原结合片段。该术语涵盖单克隆抗体(包括全长单克隆抗体)、多克隆抗体和生物学功能性抗原结合片段,只要它们与HER2结合,例如特异性结合。美国专利号5,821,337和6,870,034提供了示例性HER2结合序列,包括示例性抗HER2抗体序列,并通过引用并入本文。在一些实施方案中,本文公开的ADC中使用的抗HER2抗体是内化抗体或内化抗原结合片段。曲妥珠单抗(美国专利号5,821,337和6,870,034;另请参阅Molina等人(2001)Cancer Res.61(12):4744-9)是示例性抗HER2抗体。

[0783] 如本文所用,术语“分化簇38”或“CD38”是指人CD38的任何天然形式(也称为ADP-核糖基环化酶/环状ADP-核糖水解酶)。该术语包括全长人CD38(例如,UniProt参考序列:P28907;SEQ ID NO:76),以及由细胞加工产生的任何形式的人CD38。该术语还包括人CD38的功能变体或片段,包括但不限于剪接变体、等位基因变体和保留人CD38的一种或多种生物功能的同种型(即,变体和片段也包括在内,除非上下文指出该术语仅用于指野生型蛋白质)。CD38可以从人中分离,或者可以重组或通过合成方法产生。

[0784] 如本文所用,术语“分化簇48”或“CD48”是指人CD48的任何天然形式(也称为B淋巴

细胞活化标记物(BLAST-1)或信号传导淋巴细胞活化分子2(SLAMF2))。该术语包括全长人CD48(例如,UniProt参考序列:P09326;SEQ ID NO:77),以及由细胞加工产生的任何形式的人CD48。该术语还包括人CD48的功能变体或片段,包括但不限于剪接变体、等位基因变体和保留人CD48的一种或多种生物功能的同种型(即,变体和片段也包括在内,除非上下文指出该术语仅用于指野生型蛋白质)。CD48可以从人中分离,或者可以重组或通过合成方法产生。

[0785] 如本文所用,术语"分化簇79b"或"CD79b"是指任何天然形式的人CD79b(也称为B细胞抗原受体复合物相关蛋白β链)。该术语包括全长人CD79b(例如,UniProt参考序列:P40259;SEQ ID NO:78),以及由细胞加工产生的任何形式的人CD79b。该术语还包括人CD79b的功能变体或片段,包括但不限于剪接变体、等位基因变体和保留人CD79b的一种或多种生物功能的同种型(即,变体和片段也包括在内,除非上下文指出该术语仅用于指野生型蛋白质)。CD79b可以从人中分离,或者可以重组或通过合成方法产生。

[0786] 如本文所用,术语"结合特异性"是指个体抗体或抗原结合片段相对于不同抗原决定簇优先与一个抗原决定簇反应的能力。特异性程度表示抗体或片段相对于不同抗原决定簇优先结合一个抗原决定簇的程度。此外,如本文所用,术语"特异性"、"特异性结合"和"特异性地结合"是指抗体或抗原结合片段(例如,抗HER2抗体)和蛋白质和其他生物制品的异质群体中的靶抗原(例如,HER2)之间的结合反应。可通过在给定条件集下比较与适当抗原的结合以及与无关抗原或抗原混合物的结合来测试抗体的结合特异性。如果抗体与适当抗原的结合亲和力比与不相关抗原或抗原混合物的亲和力高至少2、5、7、10或更多倍,则认为它是特异性的。"特异性抗体"或"靶特异性抗体"是仅结合靶抗原(例如,EGFR、CD7或HER2),但不结合(或表现出最小结合)其他抗原的抗体。在一些实施方案中,特异性结合靶抗原(例如,EGFR、CD7或HER2)的抗体或抗原结合片段具有小于$1x10^{-6}$M,小于$1x10^{-7}$M,小于$1x10^{-8}$M,小于$1x10^{-9}$M,小于$1x10^{-10}$M,小于$1x10^{-11}$M,小于$1x10^{-12}$M,或小于$1x10^{-13}$M的K_D。在一些实施方案中,K_D为1pM至500pM。在一些实施方案中,K_D在500pM至1μM、1μM至100nM或100mM至10nM之间。

[0787] 如本文所用,术语"亲和力"是指抗体和抗原在单个抗原位点处相互作用的强度。不受理论的束缚,在每个抗原结合位点内,抗体"臂"的可变区在多个位点通过弱非共价力与抗原相互作用;相互作用越多,通常亲和力就越强。抗体的结合亲和力是抗原决定簇和抗体结合位点之间作用的吸引力和排斥力的总和。

[0788] 术语"k_{on}"或"k_a"是指抗体与抗原缔合以形成抗体/抗原复合物的结合速率常数。可以使用标准测定法来确定该速率,例如表面等离子共振、生物层干涉测量法或ELISA测定法。

[0789] 术语"k_{off}"或"k_d"是指抗体从抗体/抗原复合物解离的解离速率常数。可以使用标准测定法来确定该速率,例如表面等离子共振、生物层干涉测量法或ELISA测定法。

[0790] 术语"K_D"是指特定抗体-抗原相互作用的平衡解离常数。K_D通过k_a/k_d计算。可以使用标准测定法来确定该速率,例如表面等离子共振、生物层干涉测量法或ELISA测定法。

[0791] 术语"表位"是指能够被抗体(或抗原结合片段)识别并特异性结合的抗原部分。表位决定簇通常由分子的化学活性表面基团(例如氨基酸或碳水化合物或糖侧链)组成,并且可以具有特定的三维结构特征以及特定的电荷特征。当抗原是多肽时,可以由连续氨基酸

或多肽的三级折叠并列的非连续氨基酸形成表位。表位可以是“线性的”或“构象的”。构象表位和线性表位的区别在于在变性溶剂的存在下丧失与前者而不是后者的结合。可以使用本领域已知的任何表位作图技术来鉴定抗体(或抗原结合片段)结合的表位,包括通过直接观察抗原-抗体复合物进行表位鉴定的X射线结晶学,以及监测抗体与抗原片段或突变变体的结合,或监测抗体和抗原不同部分的溶剂可及性。用于作图定位抗体表位的示例性策略包括但不限于基于阵列的寡肽扫描、有限蛋白水解、定点诱变、高通量诱变作图、氢-氘交换和质谱分析(参见,例如,Gershoni等人(2007)BioDrugs 21:145-56;以及Hager-Braun和Tomer(2005)Expert Rev Proteomics 2:745-56)。

[0792] 竞争性结合和表位分箱也可用于确定共享相同或重叠表位的抗体。可以使用交叉阻断测定来评估竞争性结合,例如“Antibodies,A Laboratory Manual,”Cold Spring Harbor Laboratory,Harlow and Lane(第1版1988,第2版2014)中描述的测定。在一些实施方案中,当测试抗体或结合蛋白在交叉阻断试验中减少参照抗体或结合蛋白与靶抗原如EGFR、CD7或HER2(例如,包含CDR和/或选自表3-5中鉴定的可变结构域的结合蛋白)的结合至少约50%(例如,50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%、99.5%或更多,或其间的任何百分比),则鉴定为竞争性结合,和/或反之亦然。在一些实施方案中,竞争性结合可能是由于共享或相似(例如,部分重叠)表位,或由于空间位阻,其中抗体或结合蛋白在附近表位处结合(参见,例如,zartos,Methods in Molecular Biology(Morris编辑(1998)第66卷,第55-66页))。在一些实施方案中,竞争性结合可用于分选共享相似表位的结合蛋白组。例如,竞争结合的结合蛋白可以被“分箱”为一组具有重叠或附近表位的结合蛋白,而那些不竞争的结合蛋白则被放置在不具有重叠或附近表位的单独的结合蛋白组中。

[0793] 如本文所用,术语“肽”、“多肽”和“蛋白质”可互换使用,指氨基酸残基的聚合物。该术语涵盖包含两个或更多个通过肽键彼此连接的氨基酸的氨基酸聚合物,其中一个或多个氨基酸残基是相应天然存在的氨基酸的人工化学模拟物,以及适用于天然存在的氨基酸聚合物和非天然存在的氨基酸聚合物。该术语包括例如生物活性片段、基本上同源的多肽、寡肽、同源二聚体、异源二聚体、多肽的变体、经修饰的多肽、衍生物、类似物、融合蛋白等。该术语还包括天然肽、重组肽、合成肽或其组合。除非另有说明,特定的多肽序列还隐含地涵盖其保守修饰的变体。

[0794] “重组”蛋白质是指使用重组技术(例如通过重组核酸的表达)制备的蛋白质(例如抗体)。

[0795] “分离的”蛋白质是指不伴有至少一些在其天然状态下通常与其相关的物质的蛋白质。例如,存在于活生物体中的天然存在的多核苷酸或多肽不是分离的,但与活生物体中的一些或全部共存材料分开的相同多核苷酸或多肽是分离的。该定义包括在本领域已知的多种生物体和/或宿主细胞中产生抗体。

[0796] 本文所用的“分离的抗体”是已经从其来源环境的一种或多种(例如,大部分)组分(按重量计)中,例如从杂交瘤细胞培养物或用于其生产的不同细胞培养物的组分中,鉴定并分离的抗体。在一些实施方案中,进行分离以使其充分去除否则可能干扰抗体对于所需应用(例如,用于治疗用途)的适用性的组分。用于制备分离的抗体的方法是本领域已知的,并且包括但不限于蛋白A色谱、阴离子交换色谱、阳离子交换色谱、病毒截留过滤和超滤。

[0797] 如本文所用,术语“变体”是指分别不同于参考核酸序列或氨基酸序列,但保留参

考序列的一种或多种生物学特性的核酸序列或氨基酸序列。变体可含有相对于参考序列的一个或多个氨基酸取代、缺失和/或插入(或相应的密码子取代、缺失和/或插入)。核酸变体的变化可能不会改变参考核酸序列编码的肽的氨基酸序列,或者可能导致氨基酸取代、添加、缺失、融合和/或截短。在一些实施方案中,本文公开的核酸变体编码与未修饰的核酸编码的氨基酸序列相同的氨基酸序列,或者编码保留未修饰的氨基酸序列的一种或多种功能特性的经修饰的氨基酸序列。肽变体序列的变化通常是有限的或保守的,因此未修饰的肽和变体的序列总体上非常相似,并且在许多区域中是相同的。在一些实施方案中,肽变体保留未修饰的肽序列的一种或多种功能特性。变体和未修饰的肽在氨基酸序列上可以因任意组合的一个或多个取代、添加、缺失而不同。

[0798] 核酸或肽的变体可以是天然存在的变体或未知天然存在的变体。核酸和肽的变体可以通过诱变技术、通过直接合成或通过本领域已知的其他技术来制备。变体不一定需要对参考序列进行物理操作。只要序列与参考序列相比包含不同的核酸或氨基酸,则无论它是如何合成的,它都被认为是“变体”。在一些实施方案中,与参考序列相比,变体具有高序列同一性(即,60%核酸或氨基酸序列同一性或更高)。在一些实施方案中,肽变体包括具有氨基酸取代、缺失和/或插入的多肽,只要所述多肽与参考序列或参考序列的相应片段(例如,功能片段)(例如,那些还保留参考序列的一种或多种功能的变体)具有至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%氨基酸序列同一性在一些实施方案中,核酸变体涵盖具有氨基酸取代、缺失和/或插入的多核苷酸,只要该多核苷酸与参考序列或参考序列的相应片段(例如,功能片段)具有至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%核酸序列同一性。

[0799] 术语‘经保守修饰的变体’适用于氨基酸和核酸序列两者。对于核酸序列,经保守修饰的变体是指编码相同或基本上相同的氨基酸序列的那些核酸。由于遗传密码的简并性,大量功能上相同的核酸编码任何给定的蛋白。例如,密码子GCA、GCC、GCG和GCU都编码氨基酸丙氨酸。因此,在丙氨酸由密码子指定的每个位置处,密码子可以改变为所描述的任何相应密码子,而不改变所编码的多肽。此类核酸变异是“沉默变异”,其是经保守修饰的变异中的一种。本文中编码多肽的每个核酸序列也描述了核酸的每种可能的沉默变异。本领域技术人员将认识到,核酸中的每个密码子(除了AUG,它通常是甲硫氨酸的唯一密码子,和TGG,它通常是色氨酸的唯一密码子)可以被修饰以产生功能相同的分子。因此,在每个所述序列中均隐含了编码多肽的核酸的每种沉默变异。对于多肽序列,经保守修饰的变体包括对多肽序列的单个取代、缺失或添加,从而使某个氨基酸取代为化学上类似的氨基酸。提供功能相似氨基酸的保守取代是本领域众所周知的。

[0800] 如本文所用,术语“保守序列修饰”是指不显著影响或改变例如含有氨基酸序列的抗体或抗原结合片段的结合特征的氨基酸修饰。此类保守修饰包括氨基酸取代、添加和缺失。可以通过本领域已知的标准技术,例如定点诱变和PCR介导的诱变,将修饰引入抗体或抗原结合片段中。保守氨基酸取代是其中氨基酸残基被具有类似侧链的氨基酸残基置换的取代。具有类似侧链的氨基酸残基的家族已在本领域中进行了定义。这些家族包括具有以下侧链的氨基酸:碱性侧链(例如赖氨酸、精氨酸、组氨酸),酸性侧链(例如天冬氨酸、谷氨

酸)，不带电荷的极性侧链(例如甘氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、丝氨酸、苏氨酸、酪氨酸、半胱氨酸、色氨酸)，非极性侧链(例如丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、脯氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸)，β-分支侧链(例如苏氨酸、缬氨酸、异亮氨酸)以及芳族侧链(例如酪氨酸、苯丙氨酸、色氨酸、组氨酸)。因此，在一些实施方案中，抗体内的一个或多个氨基酸残基可以用来自相同侧链家族的其他氨基酸残基替换，并且可以使用本文描述的功能测定来测试改变的抗体。

[0801] 如本文所用，术语“同源的”或“同一性”是指两个聚合分子之间，例如两个核酸分子(如两个DNA分子或两个RNA分子)之间或两个多肽分子之间的亚基序列同一性。当这两个分子中的亚基位置被相同的单体亚基占据时；例如，如果两个DNA分子中的每一个中的位置被腺嘌呤占据，则它们在该位置是同源的或相同的。两个序列之间的同源性是匹配位置或同源位置的数目的直接函数。例如，如果两个序列中一半的位置(例如，长度为十个亚基的聚合物中的五个位置)是匹配或同源的，则这两个序列是50％同源的；如果90％的位置(例如，10个中的9个)是匹配的或同源的，则这两个序列是90％同源的。

[0802] 通过在比较窗口上比较两个最佳比对的序列来确定“序列一致性的百分比”，其中比较窗口中的氨基酸序列的片段可以包含与参考序列(其不包含添加或缺失)相比的添加或缺失(例如，缺口或突出端)以使两个序列最佳比对。可以通过以下方法计算该百分比：测定在这两个序列中出现相同氨基酸残基的位置的数目以产生匹配位置数，将该匹配位置数除以该比较窗口中的位置总数，并将结果乘以100，从而得到序列同一性百分比。输出是主题序列相对于查询序列的同一性百分比。两个序列之间的同一性百分比是这两个序列共有的相同位置数目的函数，考虑缺口数、每个缺口的长度，它们需要被引入以进行两个序列的最佳比对。一般而言，本文公开的蛋白质及其变体，包括靶抗原的变体(例如EGFR、CD7或HER2)和抗体可变结构域的变体(包括单个变体CDR)之间的氨基酸同一性或同源性与本文描述的序列具有至少80％，例如至少85％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％、几乎100％或100％的同一性或同源性。

[0803] 可以使用数学算法完成序列的比较和两个序列之间的百分比同一性的确定。在一些实施方案中，使用Needleman和Wunsch((1970)J.Mol.Biol.48:444-53)算法(所述算法已并入GCG软件包中的GAP程序中)，使用Blossum 62矩阵或PAM250矩阵以及16、14、12、10、8、6或4的空位权重和1、2、3、4、5或6的长度权重来确定两个氨基酸序列之间的百分比同一性。在一些实施方案中，使用GCG软件包中的GAP程序，使用NWSgapdna.CMP矩阵和40、50、60、70或80的空位权重和1、2、3、4、5或6的长度权重来确定两个核苷酸序列之间的百分比同一性。一组示例性参数是Blossum 62评分矩阵，其空位罚分为12，空位延伸罚分为4，移码空位罚分为5。也可使用已经整合到ALIGN程序(版本2.0)中的Meyers和Miller((1989)CABIOS 4:11-17)的算法，使用PAM120权重残基表、空位长度罚分12和空位罚分4确定两个氨基酸或核苷酸序列之间的百分比同一性。

[0804] 术语“药剂”在本文中用于指化合物、化合物的混合物、生物大分子、由生物材料制成的提取物或其两种或更多种的组合。术语“治疗剂”或“药物”是指能够调节生物过程和/或具有生物活性的药剂。如本文所述的Bcl-xL抑制剂和包含它们的ADC是示例性治疗剂。

[0805] 术语“化学治疗剂”或“抗癌剂”在本文中用于指不管作用机制如何，均有效治疗癌症的所有药剂。抑制转移或血管生成通常是化疗剂的特性。化疗剂包括抗体、生物分子和小

分子,并且涵盖Bcl-xL抑制剂和包含它们的ADC,如本文所述。化疗剂可以是细胞毒性剂或细胞抑制剂。术语“细胞抑制剂”是指抑制或抑制细胞生长和/或细胞增殖的药剂。术语“细胞毒性剂”是指主要通过干扰细胞的表达活性和/或功能而导致细胞死亡的物质。

[0806] 如本文所用,术语“特大B细胞淋巴瘤”或“Bcl-xL”是指人Bcl-xL的任何天然形式,Bcl-xL是Bcl-2蛋白家族的抗凋亡成员。该术语包括全长人Bcl-xL(例如,UniProt参考序列:Q07817-1;SEQ ID NO:71),以及由细胞加工产生的任何形式的人Bcl-xL。该术语还包括人Bcl-xL的功能变体或片段,包括但不限于剪接变体、等位基因变体和保留人Bcl-xL的一种或多种生物功能的同种型(即,变体和片段也包括在内,除非上下文指出该术语仅用于指野生型蛋白质)。Bcl-xL可以从人中分离,或者可以重组或通过合成方法产生。

[0807] 如本文所用,术语“抑制”意指以可测量的量减少生物活性或过程,并且可以包括但不要求完全预防或抑制。在一些实施方案中,“抑制”意指降低Bcl-xL和/或其一种或多种上游调节剂或下游靶标的表达和/或活性。

[0808] 本文使用的术语“Bcl-xL抑制剂”是指能够降低Bcl-xL和/或其一种或多种上游调节剂或下游靶标的表达和/或活性的药剂。示例性Bcl-xL调节剂(包括示例性Bcl-xL抑制剂)描述于WO2010/080503、WO2010/080478、WO2013/055897、WO2013/055895、WO2016/094509、WO2016/094517、WO2016/0945、Tao等人,ACS Medicinal Chemistry Letters(2014),5(10),1088-109和Wang等人,ACS Medicinal Chemistry Letters(2020),11(10),1829-1836,每一篇都通过引用并入本文作为示例性Bcl-xL调节剂,包括示例性Bcl-xL抑制剂,可以作为药物部分包含在所公开的ADC中。

[0809] 如本文所用,“Bcl-xL抑制剂药物部分”、“Bcl-xL抑制剂”等是指ADC或组合物的组分,其提供Bcl-xL抑制剂化合物或经修饰以附接至ADC的化合物的结构,其与原始化合物相比保留基本上相同、相似或增强的生物功能或活性。在一些实施方案中,Bcl-xL抑制剂药物部分是式(1)的ADC中的组分(D)。

[0810] 本文所用的术语“癌症”是指具有致癌细胞的典型特征的细胞的存在,例如不受控制的增殖、永生性、转移潜力、快速生长和增殖速率、和/或某些形态学特征。通常,癌细胞可以呈肿瘤或肿块的形式,但此类细胞可以单独存在于受试者体内,或者可以作为独立细胞在血流中循环,例如白血病或淋巴瘤细胞。术语“癌症”包括所有类型的癌症和癌症转移,包括血液癌、实体瘤、肉瘤、癌和其他实体和非实体瘤癌症。血液癌可包括B细胞恶性肿瘤、血液癌(白血病)、浆细胞癌症(骨髓瘤,例如多发性骨髓瘤)或淋巴结癌症(淋巴瘤)。示例性B细胞恶性肿瘤包括慢性淋巴细胞白血病(CLL)、滤泡性淋巴瘤、套细胞淋巴瘤和弥漫性大B细胞淋巴瘤。白血病可包括急性淋巴细胞白血病(ALL)、急性粒细胞白血病(AML)、慢性淋巴细胞白血病(CLL)、慢性粒细胞白血病(CML)、慢性粒单核细胞白血病(CMML)、急性单核细胞白血病(AMoL)等。术语“急性淋巴细胞白血病”和“急性淋巴细胞白血病”可以互换使用来描述ALL。淋巴瘤可以包括霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤等。其他血液癌可以包括骨髓增生异常综合征(MDS)。实体瘤可包括癌,例如腺癌,例如乳腺癌、胰腺癌、前列腺癌、结肠癌或结直肠癌、肺癌、胃癌、宫颈癌、子宫内膜癌、卵巢癌、胆管癌、神经胶质瘤、黑素瘤等。在一些实施方案中,癌症是乳腺癌、多发性骨髓瘤、浆细胞骨髓瘤、白血病、淋巴瘤、肉瘤、胃癌、急性髓性白血病、膀胱癌、脑癌、骨髓癌、宫颈癌、慢性淋巴细胞白血病、结直肠癌、食道癌、肝细胞癌、淋巴细胞白血病(包括急性淋巴细胞白血病)、滤泡性淋巴瘤、T细胞或B细胞来源的淋

巴恶性肿瘤、黑色素瘤、骨髓性白血病、骨髓瘤、口腔癌、卵巢癌、非小细胞肺癌、前列腺癌、小细胞肺癌、脾癌或头颈癌。在一些实施方案中，癌症是淋巴瘤或胃癌。

[0811] 如本文所用，术语“肿瘤”是指由过度细胞生长或增殖产生的任何组织块，无论是良性的还是恶性的，包括癌前病变。在一些实施方案中，肿瘤是乳腺癌、胃癌、膀胱癌、脑癌、宫颈癌、结直肠癌、食道癌、肝细胞癌、黑素瘤、口腔癌、卵巢癌、非小细胞肺癌、前列腺癌、小细胞肺癌或脾癌。在一些实施方案中，肿瘤是胃癌。

[0812] 术语“肿瘤细胞”和“癌细胞”在本文中可以互换使用，并且指源自肿瘤或癌症的单个细胞或细胞总群，包括非致瘤细胞和癌症干细胞。当仅指那些缺乏更新和分化能力的细胞以将这些细胞与癌症干细胞区分开来时，术语“肿瘤细胞”和“癌细胞”将被术语“非致瘤性”修饰。

[0813] 如本文所用，术语“靶阴性”、“靶抗原阴性”或“抗原阴性”是指细胞或组织不存在靶抗原表达。术语“靶阳性”、“靶抗原阳性”或“抗原阳性”是指存在靶抗原表达。例如，不表达靶抗原的细胞或细胞系可被描述为靶阴性，而表达靶抗原的细胞或细胞系可被描述为靶阳性。

[0814] 术语“受试者”和“患者”在本文中可互换使用，是指需要治疗的任何人或非人动物。非人动物包括所有脊椎动物(例如，哺乳动物和非哺乳动物)，例如任何哺乳动物。哺乳动物的非限制性实例包括人、黑猩猩、猿、猴、牛、马、绵羊、山羊、猪、兔、狗、猫、大鼠、小鼠和豚鼠。非哺乳动物的非限制性实例包括鸟类和鱼。在一些实施方案中，受试者是人。

[0815] 本文所用术语“需要治疗的受试者”是指将从治疗(例如，用本文所述的任何一种或多种示例性ADC化合物进行的治疗)中在生物学、医学或生活质量方面受益的受试者。

[0816] 本文所用的术语“治疗”是指疾病、障碍或病症的任何后果的任何改善，例如延长存活、降低发病率和/或减轻副作用，来自替代治疗方式的结果。在一些实施方案中，治疗包括延迟或改善疾病、障碍或病症(即，减缓或阻止或减少疾病或其至少一种临床症状的发展)。在一些实施方案中，治疗包括延迟、减轻或改善疾病、障碍或病症的至少一种身体参数，包括患者可能无法辨别的那些。在一些实施方案中，治疗包括在身体上(例如，可辨别症状的稳定)、生理上(例如，身体参数的稳定)或两者上调节疾病、障碍或病症。在一些实施方案中，治疗包括向受试者(例如患者)施用所述ADC化合物或组合物以获得本文列举的治疗益处。治疗可以是治愈、愈合、缓解、延迟、预防、减轻、改变、补救、改善、缓和、改进或影响疾病、障碍或病症(例如，癌症)、疾病、障碍或病症(例如，癌症)的症状，或对疾病、障碍或病症(例如，癌症)的易感性。在一些实施方案中，除了治疗患有疾病、障碍或病症的受试者之外，还可以预防性地提供本文公开的组合物以预防或降低发生该疾病、障碍或病症的可能性。

[0817] 如本文所用，疾病、障碍或病症的术语“预防”是指疾病、障碍或病症的预防性治疗；或延缓疾病、障碍或病症的发作或进展。

[0818] 如本文所用，“药物组合物”是指组合物的制剂，例如ADC化合物或组合物，以及至少一种适合施用于受试者的其他(和任选地多于一种其他)组分，例如药学上可接受的载剂、稳定剂、稀释剂、分散剂、悬浮剂、增稠剂和/或赋形剂。本文提供的药物组合物采用允许施用并随后提供活性成分的预期生物活性和/或实现治疗效果的形式。本文提供的药物组合物优选不包含对于将施用制剂的受试者具有不可接受的毒性的另外组分。

[0819] 如本文所用，术语“药学上可接受的载剂”和“生理学上可接受的载剂”可互换使

用,是指不会对受试者造成显著刺激且不会消除所施用的ADC化合物或组合物和/或组合物中任何另外治疗剂的生物活性和性质的载剂或稀释剂。药学上可接受的载剂可以增强或稳定组合物或者可以用于促进组合物的制备。药学上可接受的载剂可包括溶剂、分散体介质、包衣、表面活性剂、抗氧化剂、防腐剂(例如,抗细菌剂、抗真菌剂)、等渗剂、吸收延迟剂、盐、防腐剂、药物稳定剂、粘合剂、赋形剂、崩解剂、润滑剂、甜味剂、调味剂、染料和类似物及其组合,以上是如本领域普通技术人员已知的(参见,例如Remington's Pharmaceutical Sciences,第18版,Mack Printing Company,1990,第1289至1329页)。除非任何常规载剂与活性成分不相容,否则考虑其在治疗或药物组合物中的用途。可选择载剂以使受试者中的不利副作用最小化,和/或使活性成分的降解最小化。佐剂也可以包含在任何这些制剂中。

[0820] 如本文所用,术语"赋形剂"是指添加到药物组合物中以进一步促进活性成分的施用的惰性物质。用于肠胃外施用的制剂可以例如包含赋形剂例如无菌水或盐水、聚亚烷基二醇例如聚乙二醇、植物油或氢化萘。其他示例性赋形剂包括但不限于碳酸氢钙、磷酸钙、各种糖和各类型淀粉、纤维素衍生物、明胶、乙烯-乙酸乙烯酯共聚物颗粒和表面活性剂,包括例如聚山梨醇酯20。

[0821] 本文所用的术语"药学上可接受的盐"是指不会消除本发明化合物的生物活性和性质,并且不会对其施用的受试者造成显著刺激的盐。此类盐的实例包括但不限于:(a)与无机酸形成的酸加成盐,例如盐酸、氢溴酸、硫酸、磷酸、硝酸等;以及与有机酸形成的盐,例如乙酸、草酸、酒石酸、琥珀酸、马来酸、富马酸、葡萄糖酸、柠檬酸、苹果酸、抗坏血酸、苯甲酸、单宁酸、棕榈酸、藻酸酸、聚谷氨酸、萘磺酸、甲磺酸、对甲苯磺酸、萘二磺酸、聚半乳糖醛酸等;以及(b)由元素阴离子如氯、溴和碘形成的盐。例如,参见Haynes等人,"Commentary: Occurrence of Pharmaceutically Acceptable Anions and Cations in the Cambridge Structural Database,"J.Pharmaceutical Sciences,vol.94,no.10(2005),和Berge等人,"Pharmaceutical Salts,"J.Pharmaceutical Sciences,vol.66,no.1(1977),其通过引用并入本文。

[0822] 在一些实施方案中,根据其电荷,本文所述的抗体-药物缀合物(ADC)、接头、负载和接头-负载可以含有单价阴离子抗衡离子M_1^-。可以使用任何合适的阴离子抗衡离子。在某些实施方案中,单价阴离子抗衡离子是药学上可接受的单价阴离子抗衡离子。在某些实施方案中,单价阴离子抗衡离子M_1^-可以选自溴离子、氯离子、碘离子、乙酸根、三氟乙酸根、苯甲酸根、甲磺酸根、甲苯磺酸根、三氟甲磺酸根、甲酸根等。在一些实施方案中,单价阴离子抗衡离子M_1^-为三氟乙酸根或甲酸根。

[0823] 本文所用的术语"治疗有效量"或"治疗有效剂量"是指本文所述的化合物(例如本文所述的ADC化合物或组合物)的量,该量能够实现所需的治疗结果(即,减少或抑制酶或蛋白质活性的改善、症状的改善、症状或病症的减轻、疾病进展的延迟、肿瘤大小的减小、肿瘤生长的抑制、转移的预防)。在一些实施方案中,治疗有效量不会诱导或不引起不期望的副作用。在一些实施方案中,治疗有效量诱导或引起副作用,但仅是治疗临床医生考虑到患者状况可接受的那些副作用。在一些实施方案中,治疗有效量对于可检测地杀伤、减少和/或抑制癌细胞的生长或扩散、肿瘤的大小或数量、和/或癌症的水平、阶段、进展和/或严重性的其他测量是有效的。该术语还适用于在靶细胞中诱导特定应答的剂量,例如细胞生长的减少、减慢或抑制。可以通过首先施用低剂量并且随后递增地增加所述剂量直至实现所期

望效果来确定治疗有效量。治疗有效量也可以根据预期的应用(体外或体内)或所治疗的受试者和疾病状况而变化,例如受试者的体重和年龄、疾病状况的严重程度、施用方式等,这可以由本领域普通技术人员容易地确定具体的量可以根据例如特定的药物组合物、受试者及其年龄和现有的健康状况或健康状况的风险、要遵循的给药方案、疾病的严重程度、是否与其他药物联合施用、施用时机、施用的组织和携带它的物理递送系统而变化。在癌症的情况下,治疗有效量的ADC可以减少癌细胞的数量、减小肿瘤大小、抑制(例如,减缓或停止)肿瘤转移、抑制(例如,减缓或停止)肿瘤生长,和/或缓解一种或多种症状。

[0824] 本文所用的术语“预防有效量”或“预防有效剂量”是指本文公开的化合物(例如本文所述的ADC化合物或组合物)在必要的剂量和时间段内有效达到所期望预防效果的量。通常,由于预防剂量在疾病之前或疾病早期阶段用于受试者,因此预防有效量将小于治疗有效量。在一些实施方案中,预防有效量可以预防疾病症状的发作,包括与癌症相关的症状。

[0825] 术语“p”或“药物负载”或“药物:抗体比率”或“药物与抗体比率”或“DAR”是指药物部分的数量/抗体或抗原结合片段,即药物负载量,或式(1)的ADC中的-L-D部分的数量/抗体或抗原结合片段(Ab)。在包含Bcl-xL抑制剂药物部分的ADC中,“p”是指与抗体或抗原结合片段连接的Bcl-xL抑制剂化合物的数量。例如,如果两个Bcl-xL抑制剂化合物连接至抗体或抗原结合片段,则p=2。在包含多个拷贝的式(1)的ADC的组合物中,“平均p”是指-L-D部分的平均数量/抗体或抗原结合片段,也称为“平均药物负载”。

[0826] 抗体-药物缀合物

[0827] 本公开的抗体-药物缀合物(ADC)化合物包括具有抗癌活性的那些。具体地,ADC化合物包括与药物部分(例如,Bcl-xL抑制剂)缀合(即,通过接头共价连接)的抗体或抗原结合片段,其中药物部分在未与抗体或抗原结合片段缀合时具有细胞毒性或细胞抑制作用。在一些实施方案中,药物部分在未缀合至抗体或抗原结合片段时能够降低Bcl-xL和/或其一种或多种上游调节剂或下游靶标的表达和/或活性。不受理论的束缚,在一些实施方案中,通过靶向Bcl-xL表达和/或活性,本文公开的ADC可以提供有效的抗癌剂。而且,不受理论的束缚,通过将药物部分缀合至结合与肿瘤细胞或癌症中的表达相关的抗原的抗体,ADC可以提供改善的活性、更好的细胞毒性特异性和/或减少的脱靶杀伤,如与单独施用时的药物部分相比。

[0828] 因此,在一些实施方案中,选择ADC的组分以(i)保留抗体和药物部分单独表现出的一种或多种治疗特性,(ii)维持抗体或抗原结合片段的特异性结合特性;(iii)优化药物负载和药物比抗体的比率;(iv)允许经由稳定连接至抗体或抗原结合片段而递送(例如,细胞内递送)药物部分;(v)保持ADC作为完整缀合物的稳定性直至转运或递送至靶位点为止;(vi)将施用之前或之后的ADC的聚集减至最少;(vii)在细胞环境中的切割或其他释放机制之后,允许实现药物部分的治疗作用(例如细胞毒性作用);(viii)表现出类似于或优于分离的抗体和药物部分的体内抗癌治疗功效;(ix)使药物部分引起的脱靶杀伤最小化;和/或(x)表现出所期望的药代动力学和药效学特性、可配制性和毒理/免疫特征。这些特性中的每一个都可以为治疗用途提供改进的ADC(Ab等人(2015)Mol Cancer Ther.14:1605-13)。

[0829] 本公开的ADC化合物可以选择性地将有效剂量的细胞毒性剂或细胞生长抑制剂递送至癌细胞或肿瘤组织。在一些实施方案中,ADC的细胞毒性和/或细胞抑制活性取决于细胞中的靶抗原表达。在一些实施方案中,所公开的ADC对于杀伤表达靶抗原的癌细胞同时最

小化脱靶杀伤特别有效。在一些实施方案中，所公开的ADC对不表达靶抗原的癌细胞不表现出细胞毒性和/或细胞抑制作用。

[0830] 示例性的表达BCMA的癌症包括但不限于多发性骨髓瘤(Cho等人(2018)FrontImmunol.9:1821)。

[0831] 示例性的表达CD33的癌症包括但不限于结直肠癌、胰腺癌、淋巴瘤和白血病(例如，急性髓性白血病)(Human Protein Atlas;Walter(2014)Expert Opin Ther Targets 18(7):715-8)。

[0832] 示例性的表达PCAD的癌症包括但不限于乳腺癌、胃癌、子宫内膜癌、卵巢癌、胰腺癌、膀胱癌、前列腺癌和黑素瘤(Vieira和Paredes(2015)Mol Cancer 14:178)。

[0833] 示例性的表达HER2的癌症包括但不限于乳腺癌、胃癌、膀胱癌、尿路上皮细胞癌、食道癌、肺癌(例如，肺腺癌)、子宫癌(例如，子宫浆液性子宫内膜癌)、唾液管癌、宫颈癌、子宫内膜癌和卵巢癌(English等人(2013)Mol Diagn Ther.17:85-99)。

[0834] 在某些方面，本文提供了ADC化合物，其包含抗体或其抗原结合片段(Ab)、Bcl-xL抑制剂药物部分(D)和将Ab共价连接至D的接头部分(L)。在一些实施方案中，本文提供了ADC化合物，其包含靶向癌细胞的抗体或其抗原结合片段(Ab)、Bcl-xL抑制剂药物部分(D)和将Ab共价连接至D的接头部分(L)。在一些实施方案中，抗体或抗原结合片段能够例如以高特异性和高亲和力结合肿瘤相关抗原(例如，EGFR、CD7或HER2)。在一些实施方案中，抗体或抗原结合片段在结合后内化至靶细胞中，例如内化至细胞中的降解区室中。在一些实施方案中，ADC在与靶细胞结合后内化、经历降解并释放Bcl-xL抑制剂药物部分以杀伤癌细胞。Bcl-xL抑制剂药物部分可以通过酶促作用、水解、氧化或任何其他机制从ADC的抗体和/或接头部分释放。

[0835] 示例性ADC具有式(1)：

[0836] $Ab-(L-D)_p$ (1)

[0837] 其中Ab＝抗体或抗原结合片段，L＝接头部分，D＝Bcl-xL抑制剂药物部分，并且p＝Bcl-xL抑制剂药物部分的数量/抗体或抗原结合片段。

[0838] 抗体

[0839] 式(1)的抗体或抗原结合片段(Ab)在其范围内包括与细胞上的靶抗原特异性结合的任何抗体或抗原结合片段。在一些实施方案中，式(1)的抗体或抗原结合片段(Ab)在其范围内包括与癌细胞上的靶抗原特异性结合的任何抗体或抗原结合片段。抗体或抗原结合片段可以以≤1mM、≤100nM或≤10nM或之间的任何量的解离常数(K_D)结合靶抗原，如通过例如，BIAcore®分析测量的。在一些实施方案中，K_D为1pM至500pM。在一些实施方案中，K_D在500pM至1μM、1μM至100nM或100mM至10nM之间。

[0840] 在一些实施方案中，抗体或抗原结合片段是四链抗体(也称为免疫球蛋白或全长或完整抗体)，包含两条重链和两条轻链。在一些实施方案中，抗体或抗原结合片段是免疫球蛋白的抗原结合片段。在一些实施方案中，抗体或抗原结合片段是免疫球蛋白的抗原结合片段，其保留结合靶癌抗原的能力和/或提供免疫球蛋白的至少一种功能。

[0841] 在一些实施方案中，抗体或抗原结合片段是内化抗体或其内化抗原结合片段。在一些实施方案中，内化抗体或其内化抗原结合片段与细胞表面上表达的靶癌抗原结合并在结合后进入细胞。在一些实施方案中，在ADC进入并存在于表达靶癌抗原的细胞中之后(即，

在ADC被内在化之后),例如通过切割、通过抗体或抗原结合片段的降解或通过任何其他合适的释放机制,ADC的Bcl-xL抑制剂药物部分从ADC的抗体或抗原结合片段中释放出来。

[0842] 在一些实施方案中,抗体包含介导抗体依赖性细胞毒性(ADCC)或补体依赖性细胞毒性(CDC)降低或无的突变。在一些实施方案中,这些突变被称为Fc的沉默、Fc沉默或Fc沉默突变。在一些实施方案中,IgG1恒定区的氨基酸残基L234和L235被取代为A234和A235(也称为“LALA”)。在一些实施方案中,IgG1恒定区的氨基酸残基N297被取代为A297(也称为“N297A”)。在一些实施方案中,IgG1恒定区的氨基酸残基D265和P329被取代为A265和A329(也称为“DAPA”)。也可以使用其他抗体Fc沉默突变。在一些实施方案中,组合使用Fc沉默突变,例如D265A、N297A和P329A(也称为“DANAPA”)。

[0843] 除了示例性抗原靶之外,本公开的示例性抗体的氨基酸序列在表2-6中列出。

[0844] 表2.抗体示例

[0845]

抗体靶标	抗体代码	mAb 参考
BCMA	BCMA 或 Ab B	J6M0
CD33	CD33ch 或 Ab G	MuMy9-6ch
CD33	CD33	吉妥珠单抗
PCAD	PCAD	NOV169N31Q
HER2/NEU	HER2 或 Ab T	曲妥珠单抗
CD38	CD38	达雷木单抗
CD46	CD46	抗 CD46
CD48	CD48	SGN-CD48A
CD79b	CD79b	波拉妥珠单抗（polatuzumab）
EGFR	Ab C 或 EGFR1 CysMab	西妥昔单抗
CD7	Ab D	抗 CD7
TFRC	TFRC CysMab	CD71（CX-2029）
EPCAM	EPCAM CysMab	奥波尔珠单抗（oportuzumab）
FOLR1	FOLR1 CysMab	米维妥昔单抗（Mirvetuximab）
ENPP3	ENPP3 CysMab	ENPP3 (AGS16-7.8)
MET	MET CysMab	特利索珠单抗（Telisotuzumab）
AXL	AXL CysMab	依那泊他单抗（Enapotamab）
SLC34A2	SLC34A2 CysMab	利法妥珠单抗（Lifastuzumab）
NECTIN4	NECTIN4 CysMab	恩福单抗（Enfortumab）
TACSTD2	TACSTD2 CysMab	沙珠单抗（Sacituzumab）
SLC39A6	SLC39A6 CysMab	拉迪拉珠单抗（Ladiratuzumab）
GPNMB	GPNMB CysMab	格伦巴妥单抗（Glembatumumab）
MSLN	MSLN CysMab	阿奈单抗（Anetumab）
CD74	CD74 CysMab	米拉妥珠单抗（Milatuzumab）
CD74	VHmil x VK1aNQ	VHmil x VK1aNQ
F3/TF	F3 CysMab	替索单抗（Tisotumab）
MUC16	MUC16 CysMab	索菲珠单抗（Sofituzumab）
EGFR	EGFR2 CysMab	Aba
CD56	CD56 CysMab	洛伏妥珠单抗（Lorvotuzumab）
SEZ6	SEZ6 CysMab	抗 SEZ6（Stemcentrx 17.46）
DLL3	DLL3 CysMab	罗伐匹珠单抗（Rovalpituzumab）
DLK1	DLK1 CysMab	抗 DLK1（DI-2-14）
B7-H3	B7-H3 CysMab	ABBV-155

[0846]

B7-H3	B7-H3	DS-5573a
IgG	IgG	抗 chi 溶菌酶（3207）

[0847] 表3.mAb可变区的氨基酸序列

mAb	IgG 链	SEQ ID NO	氨基酸序列
J6M0	VH	1	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVS CKASGGTFSNYWMHWVRQAP GQGLEWMGATYRGHSDTYYN QKFKGRVTITADKSTSTAYMEL SSLRSEDTAVYYCARGAIYNGY DVLDNWGQGTLVTVSS
J6M0	VL	2	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC SASQDISNYLNWYQQKPGKAP KLLIYYTSNLHSGVPSRFSGSGS GTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ YRKLPWTFGQGTKLEIK
MuMy9-6ch	VH	3	QVQLQQPGAEVVKPGASVKMS CKASGYTFTSYYIHWIKQTPGQ GLEWVGVIYPGNDDISYNQKF KGKATLTADKSSTTAYMQLSSL TSEDSAVYYCAREVRLRYFDV WGAGTTVTVSS
MuMy9-6ch	VL	4	NIMLTQSPSSLAVSAGEKVTMS CKSSQSVFFSSSQKNYLAWYQQ IPGQSPKLLIYWASTRESGVPDR FTGSGSGTDFTLIISSVQSEDLAI YYCHQYLSSRTFGGGTKLEIK
吉妥珠单抗	VH	5	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSC KASGYTITDSNIHWVRQAPGQS LEWIGYIYPYNGGTDYNQKFK NRATLTVDNPTNTAYMELSSLR SEDTAFYYCVNGNPWLAYWGQ GTLVTVSS
吉妥珠单抗	VL	6	DIQLTQSPSTLSASVGDRVTITC RASESLDNYGIRFLTWFQQKPG KAPKLLMYAASNQGSGVPSRFS GSGSGTEFTLTISSLQPDDFATY YCQQTKEVPWSFGQGTKVEVK
NOV169N31Q	VH	7	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTC AISGDSVSSQSAAWNWIRQSPS

[0848]

[0849]

			RGLEWLGRIYYRSKWYNDYAL SVKSRITINPDTSKNQFSLQLNS VTPEDTAVYYCARGEGYGREG FAIWGQGTLVTVSS
NOV169N31Q	VL	8	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC RASQTISNTLAWYQQKPGKAPK LLIYAASNLQSGVPSRFSGSGSG TDFTLTISSLQPEDFATYYCQQY LSWFTFGQGTKVEIK
曲妥珠单抗	VH	9	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSC AASGFNIKDTYIHWVRQAPGK GLEWVARIYPTNGYTRYADSVK GRFTISADTSKNTAYLQMNSLR AEDTAVYYCSRWGGDGFYAMD YWGQGTLVTVSS
曲妥珠单抗	VL	10	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC RASQDVNTAVAWYQQKPGKAP KLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRS GTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ HYTTPPTFGQGTKVEIKRT
达雷木单抗	VH	11	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSC AVSGFTFNSFAMSWVRQAPGK GLEWVSAISGSGGGTYYADSV KGRFTISRDNSKNTLYLQMNSL RAEDTAVYFCAKDKILWFGEPV FDYWGQGTLVTVSS
达雷木单抗	VL	12	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCR ASQSVSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYDASNRATGIPARFSGSGSG TDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQR SNWPPTFGQGTKVEI
SGN-48A	VH	13	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSC KASGYTFTDFGMNWVRQAPG QGLEWMGWINTFTGEPSYGNV FKGRFVFSLDTSVSTAYLQISSL KAEDTAVYYCARRHGNGNVFD SWGQGTLVTVSS
SGN-48A	VL	14	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITC RASQSIGSNIHWYQQKPDQSPK LLIKYTSESISGVPSRFSGSGSGT DFTLTINSLEAEDAATYYCQQS NSWPLTFGGGTKVEIK

[0850]

波拉妥珠单抗（polatuzumab）	VH	80	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFSSYWIEWVRQAPGKGLEWIGEILPGGGDTNYNEIFKGRATFSADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCTRRVPIRLDYWGQGTLVTVSS
波拉妥珠单抗（polatuzumab）	VL	81	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQSVDYEGDSFLNWYQQKPGKAPKLLIYAASNLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSNEDPLTFGQGTKVEIK
抗CD46	VH	90	QVQLVQSGGGVVQPGRSLRLACAASGLTVNNYAMHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGNNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKGGGYFDLWGRGTLVTVSS
抗CD46	VL	91	QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNNNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCSSYTSGTWLFGGGTKLTVL
西妥昔单抗	VH	151	EVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGYSISRDFAWNWIRQPPGKGLEWMGYISYNGNTRYQPSLKSRITISRDTSKNQFFLKLNSVTAADTATYYCVTASRGFPYWGQGTLVTVSS
西妥昔单抗	VL	152	DIQMTQSPSSMSVSVGDRVTITCHSSQDINSNIGWLQQKPGKSFKGLIYHGTNLDDGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCVQYAQFPWTFGGGTKLEIK
VHmil x VK1aNQ	VH	153	QVQLQQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTNYGVNWIKQAPGQGLQWMGWINPNTGEPTFDDDFKGRFAFSLDTSVSTAYLQISSLKADDTAVYFCSRSRGKNEAWFAYWGQGTLVTVSS

[0851]

VHmil x VK1aNQ	VL	154	DIVMTQTPLSLPVTPGEPASISC RSSQSLVHRNQNTYLHWYLQK PGQSPQLLIYTVSNRFSGVPDRF SGSGSGTDFTLKISRVEAEDVG VYFCSQSSHVPPTFGQGTKLEIK
SEZ6	VH	155	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYTFTSYWINWVRQAPG QGLEWIGNIFPDTTTTNYNEKF KGRVTLTRDTSISTAYMELSRLR SDDTAVYYCAREYYDGTYDAM DYWGQGTLVTVSS
SEZ6	VL	156	AIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC KASQSVNNDVAWYQQKPGKAP KLLIYYASNRYTGVPSRFSGSGS GTDFTLTISSLQPEDFATYFCQQ DYSSPRTFGQGTKLEIK
CD56	VH	157	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSC AASGFTFSSFGMHWVRQAPGK GLEWVAYISSGSFTIYYADSVKG RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCARMRKGYAMDYW GQGTLVTVSS
CD56	VL	158	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISC RSSQIIIHSDGNTYLEWFQQRPG QSPRRLIYKVSNRFSGVPDRFSG SGSGTDFTLKISRVEAEDVGVY YCFQGSHVPHTFGQGTKVEIK
DLL3	VH	159	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYTFTNYGMNWVRQAP GQGLEWMGWINTYTGEPTYAD DFKGRVTMTTDTSTSTAYMELR SLRSDDTAVYYCARIGDSSPSD YWGQGTLVTVSS
DLL3	VL	160	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSC KASQSVSNDVVWYQQKPGQAP RLLIYYASNRYTGIPARFSGSGS GTEFTLTISSLQSEDFAVYYCQQ DYTSPWTFGQGTKLEIK
DLK1	VH	161	EVQLQQSGAELVKPGASVKLSC TASGFNIRDTYIHWVKQRPEQG LEWIGRIDPPNGNLKYDPKFQG KATITADTSSNTAYLQFSSLTSE DTAVYYCARSDGYSFAYWGQG

[0852]

			TLVTVSS
DLK1	VL	162	DIVMTQAAPSVPVTPGESVSISC RSSKSLLHSNGNTYLYWFLQRP GQSPQLLIYRMSNLASGVPDRF SGSGSGTAFTLRISRVEAEDVGV YYCMQHVEYPFTFGSGTKLEIK
B7-H3 ABBV-155	VH	163	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSC KASGYTFSSYWMHWVRQAPG QGLEWIGLIHPESGSTNYNEMF KNRATLTVDRSTSTAYMELSSL RSEDTAVYYCAGGGRLYFDYW GQGTTVTVSS
B7-H3 ABBV-155	VL	164	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISC RSSQSLVHSNRDTYLRWYLQKP GQSPQLLIYKVSNRFSGVPDRFS GSGSGTDFTLKISRVEAEDVGV YYCSQSTHVPYTFGGGTKVEIK
B7-H3 DS-5573a	VH	165	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVS CKASGYTFTNYVMHWVRQAP GQGLEWMGYINPYNDDVKYN EKFKGRVTITADESTSTAYMELS SLRSEDTAVYYCARWGYYGSPL YYFDYWGQGTLVTVSS
B7-H3 DS-5573a	VL	166	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCR ASSRLIYMHWYQQKPGQAPRP LIYATSNLASGIPARFSGSGSGTD FTLTISSLEPEDFAVYYCQQWNS NPPTFGQGTKVEIK
IgG	VH	167	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTC AISGDSVSSNSAAWSWIRQSPG RGLEWLGRIYYRSKWYNDYAV SVKSRITINPDTSKNQFSLQLNS VTPEDTAVYYCARLDHRYHED TVYPGMDVWGQGTLVTVSS
IgG	VL	168	DIELTQPPSVSVAPGQTARISCSG DNLPAYTVTWYQQKPGQAPVL VIYDDSDRPSGIPERFSGSNSGN TATLTISGTQAEDEADYYCASW DPSSGVVFGGGTKLTVL

[0853] 表4.mAb CDR的氨基酸序列(组合)

[0854]

mAb	IgG 链	SEQ ID NO	氨基酸序列
J6M0	HCDR1	15	GGTFSNYWMH
J6M0	HCDR2	16	ATYRGHSDTYYNQKFKG
J6M0	HCDR3	17	GAIYNGYDVLDN
J6M0	LCDR1	18	SASQDISNYLN
J6M0	LCDR2	19	YTSNLHS
J6M0	LCDR3	20	QQYRKLPWT
MuMy9-6ch	HCDR1	21	GYTFTSYYIH
MuMy9-6ch	HCDR2	22	VIYPGNDDISYNQKFKG
MuMy9-6ch	HCDR3	23	EVRLRYFDV
MuMy9-6ch	LCDR1	24	KSSQSVFFSSSQKNYLA
MuMy9-6ch	LCDR2	25	WASTRES
MuMy9-6ch	LCDR3	26	HQYLSSRT
吉妥珠单抗	HCDR1	27	GYTITDSNIH
吉妥珠单抗	HCDR2	28	YIYPYNGGTDYNQKFKN
吉妥珠单抗	HCDR3	29	GNPWLAY
吉妥珠单抗	LCDR1	30	RASESLDNYGIRFLT
吉妥珠单抗	LCDR2	31	AASNQGS
吉妥珠单抗	LCDR3	32	QQTKEVPWS
NOV169N31Q	HCDR1	33	TCAISGDSVSSQSAAWN
NOV169N31Q	HCDR2	34	RIYYRSKWYNDYALSVKS
NOV169N31Q	HCDR3	35	GEGYGREGFAI
NOV169N31Q	LCDR1	36	RASQTISNTLA
NOV169N31Q	LCDR2	37	AASNLQS
NOV169N31Q	LCDR3	38	QQYLSWFT
曲妥珠单抗	HCDR1	39	GFNIKDTYIH
曲妥珠单抗	HCDR2	40	RIYPTNGYTRYADSVKG
曲妥珠单抗	HCDR3	41	WGGDGFYAMDV
曲妥珠单抗	LCDR1	42	RASQDVNTAVAW
曲妥珠单抗	LCDR2	43	SASFLES
曲妥珠单抗	LCDR3	44	QQHYTTPPT
达雷木单抗	HCDR1	45	GFTFNSFAMS
达雷木单抗	HCDR2	46	AISGSGGGTYYADSVKG
达雷木单抗	HCDR3	47	DKILWFGEPVFDY
达雷木单抗	LCDR1	48	RASQSVSSYLA
达雷木单抗	LCDR2	49	DASNRAT
达雷木单抗	LCDR3	50	QQRSNWPPT

[0855]

SGN-48A	HCDR1	51	GYTFTDFGMN
SGN-48A	HCDR2	52	WINTFTGEPSYGNVFKG
SGN-48A	HCDR3	53	RHGNGNVFDS
SGN-48A	LCDR1	54	RASQSIGSNIH
SGN-48A	LCDR2	55	YTSESIS
SGN-48A	LCDR3	56	QQSNSWPLT
波拉妥珠单抗（polatuzumab）	HCDR1	82	GYTFSSYWIE
波拉妥珠单抗（polatuzumab）	HCDR2	83	EILPGGGDTNYNEIFKG
波拉妥珠单抗（polatuzumab）	HCDR3	84	RVPIRLDY
波拉妥珠单抗（polatuzumab）	LCDR1	85	ITCKASQSVDYEGDSFLN
波拉妥珠单抗（polatuzumab）	LCDR2	86	AASNLES
波拉妥珠单抗（polatuzumab）	LCDR3	87	QQSNEDPLT
VHmil x VK1aNQ	HCDR1	169	GYTFTNYGVN
VHmil x VK1aNQ	HCDR2	170	WINPNTGEPTFDDDFKG
VHmil x VK1aNQ	HCDR3	171	SRGKNEAWFAY
VHmil x VK1aNQ	LCDR1	172	RSSQSLVHRNQNTYLH
VHmil x VK1aNQ	LCDR2	173	TVSNRFS
VHmil x VK1aNQ	LCDR3	174	SQSSHVPPT
SEZ6	HCDR1	175	GYTFTSYWIN
SEZ6	HCDR2	176	NIFPDTTTTNYNEKFKG
SEZ6	HCDR3	177	EYYDGTYDAMDY
SEZ6	LCDR1	178	KASQSVNNDVA

SEZ6	LCDR2	179	YASNRYT
SEZ6	LCDR3	180	QQDYSSPRT
CD56	HCDR1	181	GFTFSSFGMH
CD56	HCDR2	182	YISSGSFTIYYADSVKG
CD56	HCDR3	183	MRKGYAMDY
CD56	LCDR1	184	RSSQIIIHSDGNTYLE
CD56	LCDR2	185	KVSNRFS
CD56	LCDR3	186	FQGSHVPHT
DLL3	HCDR1	187	GYTFTNYGMN
DLL3	HCDR2	188	WINTYTGEPTYADDFKG
DLL3	HCDR3	189	IGDSSPSDY
DLL3	LCDR1	190	KASQSVSNDVV
DLL3	LCDR2	179	YASNRYT
DLL3	LCDR3	191	QQDYTSPWT
DLK1	HCDR1	192	GFNIRDTYIH
DLK1	HCDR2	193	RIDPPNGNLKYDPKFQG
DLK1	HCDR3	194	SDGYSFAY
DLK1	LCDR1	195	RSSKSLLHSNGNTYLY
DLK1	LCDR2	196	RMSNLAS
DLK1	LCDR3	197	MQHVEYPFT
[0856] B7-H3 ABBV-155	HCDR1	198	GYTFSSYWMH
B7-H3 ABBV-155	HCDR2	199	LIHPESGSTNYNEMFKN
B7-H3 ABBV-155	HCDR3	200	GGRLYFDY
B7-H3 ABBV-155	LCDR1	201	RSSQSLVHSNRDTYLR
B7-H3 ABBV-155	LCDR2	185	KVSNRFS
B7-H3 ABBV-155	LCDR3	202	SQSTHVPYT
B7-H3 DS-5573a	HCDR1	203	GYTFTNYVMH
B7-H3 DS-5573a	HCDR2	204	YINPYNDDVKYNEKFKG
B7-H3 DS-5573a	HCDR3	205	WGYYGSPLYYFDY
B7-H3 DS-5573a	LCDR1	206	RASSRLIYMH
B7-H3 DS-5573a	LCDR2	207	ATSNLAS

[0857]

B7-H3 DS-5573a	LCDR3	208	QQWNSNPPT
IgG	HCDR1	209	GDSVSSNSAAWS
IgG	HCDR2	210	RIYYRSKWYNDYAVSVKS
IgG	HCDR3	211	LDHRYHEDTVYPGMDV
IgG	LCDR1	212	SGDNLPAYTVT
IgG	LCDR2	213	DDSDRPS
IgG	LCDR3	214	ASWDPSSGVV

[0858] 表5.全长mAb Ig链的氨基酸序列

[0859]

mAb	IgG 链	SEQ ID NO	氨基酸序列
J6M0	重链	57	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTF SNYWMHWVRQAPGQGLEWMGATYRGHSDT YYNQKFKGRVTITADKSTSTAYMELSSLR SEDTAVYYCARGAIYNGYDVLDNWGQGTL VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPCPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP EVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PCDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPGK
J6M0	轻链	58	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASQDI SNYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSNLHSGV PSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYY CQQYRKLPWTFGQGTKLEIKRTVAAPSVF IFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYS LSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSS PVTKSFNRGEC
MuMy9-6ch	重链	59	QVQLQQPGAEVVKPGASVKMSCKASGYTF TSYYIHWIKQTPGQGLEWVGVIYPGNDDI SYNQKFKGKATLTADKSSTTAYMQLSSLT SEDSAVYYCAREVRLRYFDVWGAGTTVTV SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPCPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPA PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ

[0860]

			VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPCD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGK
MuMy9-6ch	轻链	60	NIMLTQSPSSLAVSAGEKVTMSCKSSQSV FFSSSQKNYLAWYQQIPGQSPKLLIYWAS TRESGVPDRFTGSGSGTDFTLIISSVQSE DLAIYYCHQYLSSRTFGGGTKLEIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFY PREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTH QGLSSPVTKSFNRGEC
吉妥珠单抗	重链	61	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTI TDSNIHWVRQAPGQSLEWIGYIYPYNGGT DYNQKFKNRATLTVDNPTNTAYMELSSLR SEDTAFYYCVNGNPWLAYWGQGTLVTVSS ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPCPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPE LLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPCDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPGK
吉妥珠单抗	轻链	62	DIQLTQSPSTLSASVGDRVTITCRASESL DNYGIRFLTWFQQKPGKAPKLLMYAASNQ GSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDF ATYYCQQTKEVPWSFGQGTKVEVKRTVAA PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYP REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD STYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQ GLSSPVTKSFNRGEC
NOV169N31Q	重链	63	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSV SSQSAAWNWIRQSPSRGLEWLGRIYYRSK

[0861]

			WYNDYALSVKSRITINPDTSKNQFSLQLN SVTPEDTAVYYCARGEGYGREGFAIWGQG TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGT AALGCLVKDYFPCPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKG FYPCDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK
NOV169N31Q	轻链	64	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQTI SNTLAWYQQKPGKAPKLLIYAASNLQSGV PSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYY CQQYLSWFTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKV QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSL SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGEC
曲妥珠单抗	重链	65	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNI KDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYT RYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLR AEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLV TVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKKVEPPKSCDKTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP EVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPGK

[0862]

曲妥珠单抗	轻链	66	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDV NTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGV PSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYY CQQHYTTPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVF IFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYS LSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSS PVTKSFNRGEC
达雷木单抗	重链	67	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFTF NSFAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGGT YYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLR AEDTAVYFCAKDKILWFGEPVFDYWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPCPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTY ICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCP PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLP PSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPCDIAVEW ESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSPGK
达雷木单抗	轻链	68	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSV SSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGI PARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYY CQQRSNWPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVF IFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYS LSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSS PVTKSFNRGEC
SGN-48A	重链	69	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTF TDFGMNWVRQAPGQGLEWMGWINTFTGEP SYGNVFKGRFVFSLDTSVSTAYLQISSLK AEDTAVYYCARRHGNGNVFDSWGQGTLVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG

[0863]

			CLVKDYFPCPVTVSWNSGALTSGVHTFPA VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCP APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPC DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSPGK
SGN-48A	轻链	70	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSI GSNIHWYQQKPDQSPKLLIKYTSESISGV PSRFSGSGSGTDFTLTINSLEAEDAATYY CQQSNSWPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVF IFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYS LSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSS PVTKSFNRGEC
波拉妥昔单抗 （Polatuzimab）	重链	88	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTF SSYWIEWVRQAPGKGLEWIGEILPGGGDT NYNEIFKGRATFSADTSKNTAYLQMNSLR AEDTAVYYCTRRVPIRLDYWGQGTLVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL VKDYFPCPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAP ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPCDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK
波拉妥昔单抗 （Polatuzimab）	轻链	89	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQSV DYEGDSFLNWYQQKPGKAPKLLIYAASNL ESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDF

[0864]

			ATYYCQQSNEDPLTFGQGTKVEIKRTVAA PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYP REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD STYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQ GLSSPVTKSFNRGEC
VHmil x VK1aNQ	重链	215	QVQLQQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTF TNYGVNWIKQAPGQGLQWMGWINPNTGEP TFDDDFKGRFAFSLDTSVSTAYLQISSLK ADDTAVYFCSRSRGKNEAWFAYWGQGTLV TVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPCPVTVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPC PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP CDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPGK
	轻链	216	DIVMTQTPLSLPVTPGEPASISCRSSQSL VHRNQNTYLHWYLQKPGQSPQLLIYTVSN RFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAED VGVYFCSQSSHVPPTFGQGTKLEIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFY PREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTH QGLSSPVTKSFNRGEC
SEZ6	重链	217	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTF TSYWINWVRQAPGQGLEWIGNIFPDTTTT NYNEKFKGRVTLTRDTSISTAYMELSRLR SDDTAVYYCAREYYDGTYDAMDYWGQGTL VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPCPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP

[0865]

			EVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PCDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPGK
SEZ6	轻链	218	AIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQSV NNDVAWYQQKPGKAPKLLIYYASNRYTGV PSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYF CQQDYSSPRTFGQGTKLEIKRTVAAPSVF IFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYS LSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSS PVTKSFNRGEC
CD56	重链	219	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTF SSFGMHWVRQAPGKGLEWVAYISSGSFTI YYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCARMRKGYAMDYWGQGTLVTV SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPCPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPA PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPCD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGK
CD56	轻链	220	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQII IHSDGNTYLEWFQQRPGQSPRRLIYKVSN RFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAED VGVYYCFQGSHVPHTFGQGTKVEIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFY PREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTH

[0866]

			QGLSSPVTKSFNRGEC
DLL3	重链	221	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTF TNYGMNWVRQAPGQGLEWMGWINTYTGEP TYADDFKGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLR SDDTAVYYCARIGDSSPSDYWGQGTLVTV SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPCPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPA PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPCD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGK
DLL3	轻链	222	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCKASQSV SNDVVWYQQKPGQAPRLLIYYASNRYTGI PARFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDFAVYY CQQDYTSPWTFGQGTKLEIKRTVAAPSVF IFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYS LSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSS PVTKSFNRGEC
DLK1	重链	223	EVQLQQSGAELVKPGASVKLSCTASGFNI RDTYIHWVKQRPEQGLEWIGRIDPPNGNL KYDPKFQGKATITADTSSNTAYLQFSSLT SEDTAVYYCARSDGYSFAYWGQGTLVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL VKDYFPCPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAP ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPCDI

[0867]

			AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK
DLK1	轻链	224	DIVMTQAAPSVPVTPGESVSISCRSSKSL LHSNGNTYLYWFLQRPGQSPQLLIYRMSN LASGVPDRFSGSGSGTAFTLRISRVEAED VGVYYCMQHVEYPFTFGSGTKLEIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFY PREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTH QGLSSPVTKSFNRGEC
B7-H3 ABBV-155	重链	225	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTF SSYWMHWVRQAPGQGLEWIGLIHPESGST NYNEMFKNRATLTVDRSTSTAYMELSSLR SEDTAVYYCAGGGRLYFDYWGQGTTVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL VKDYFPCPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAP ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPCDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK
B7-H3 ABBV-155	轻链	226	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSL VHSNRDTYLRWYLQKPGQSPQLLIYKVSN RFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAED VGVYYCSQSTHVPYTFGGGTKVEIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFY PREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTH QGLSSPVTKSFNRGEC
B7-H3 DS-5573a	重链	227	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTF TNYVMHWVRQAPGQGLEWMGYINPYNDDV KYNEKFKGRVTITADESTSTAYMELSSLR

[0868]

			SEDTAVYYCARWGYYGSPLYYFDYWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPCPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTY ICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCP PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF YPCDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK
B7-H3 DS-5573a	轻链	228	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASSRL IYMHWYQQKPGQAPRPLIYATSNLASGIP ARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYC QQWNSNPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKV QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSL SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGEC
IgG	重链	229	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSV SSNSAAWSWIRQSPGRGLEWLGRIYYRSK WYNDYAVSVKSRITINPDTSKNQFSLQLN SVTPEDTAVYYCARLDHRYHEDTVYPGMD VWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSS LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCD KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP PVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
IgG	轻链	230	DIELTQPPSVSVAPGQTARISCSGDNLPA

[0869]

			YTVTWYQQKPGQAPVLVIYDDSDRPSGIP ERFSGSNSGNTATLTISGTQAEDEADYYC ASWDPSSGVVFGGGTKLTVLGQPKAAPSV TLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAV TVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYA ASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTV EKTVAPTECS

[0870] 表6.示例性Bcl-xLand靶抗原氨基酸序列

[0871]

Bcl-xL/抗原	SEQ ID NO	氨基酸序列
Bcl-xL	71	MSQSNRELVVDFLSYKLSQKGYSWSQFSDVEENRTEAPEGTESEM ETPSAINGNPSWHLADSPAVNGATGHSSSLDAREVIPMAAVKQAL REAGDEFELRYRRAFSDLTSQLHITPGTAYQSFEQVVNELFRDGV NWGRIVAFFSFGGALCVESVDKEMQVLVSRIAAWMATYLNDHLEP WIQENGGWDTFVELYGNNAAAESRKGQERFNRWFLTGMTVAGVVL LGSLFSRK
BCMA	72	MLQMAGQCSQNEYFDSLLHACIPCQLRCSSNTPPLTCQRYCNASV TNSVKGTNAILWTCLGLSLIISLAVFVLMFLLRKINSEPLKDEFK NTGSGLLGMANIDLEKSRTGDEIILPRGLEYTVEECTCEDCIKSK PKVDSDHCFPLPAMEEGATILVTTKTNDYCKSLPAALSATEIEKS ISAR
CD33	73	MPLLLLLPLLWAGALAMDPNFWLQVQESVTVQEGLCVLVPCTFFH PIPYYDKNSPVHGYWFREGAIISRDSPVATNKLDQEVQEETQGRF RLLGDPSRNNCSLSIVDARRRDNGSYFFRMERGSTKYSYKSPQLS VHVTDLTHRPKILIPGTLEPGHSKNLTCSVSWACEQGTPPIFSWL SAAPTSLGPRTTHSSVLIITPRPQDHGTNLTCQVKFAGAGVTTER TIQLNVTYVPQNPTTGIFPGDGSGKQETRAGVVHGAIGGAGVTAL LALCLCLIFFIVKTHRRKAARTAVGRNDTHPTTGSASPKHQKKSK LHGPTETSSCSGAAPTVEMDEELHYASLNFHGMNPSKDTSTEYSE VRTQ
PCAD	74	MGLPRGPLASLLLLQVCWLQCAASEPCRAVFREAEVTLEAGGAEQ EPGQALGKVFMGCPGQEPALFSTDNDDFTVRNGETVQERRSLKER NPLKIFPSKRILRRHKRDWVVAPISVPENGKGPFPQRLNQLKSNK DRDTKIFYSITGPGADSPPEGVFAVEKETGWLLLNKPLDREEIAK YELFGHAVSENGASVEDPMNISIIVTDQNDHKPKFTQDTFRGSVL

[0872]

		EGVLPGTSVMQVTATDEDDAIYTYNGVVAYSIHSQEPKDPHDLMF TIHRSTGTISVISSGLDREKVPEYTLTIQATDMDGDGSTTTAVAV VEILDANDNAPMFDPQKYEAHVPENAVGHEVQRLTVTDLDAPNSP AWRATYLIMGGDDGDHFTITTHPESNQGILTTRKGLDFEAKNQHT LYVEVTNEAPFVLKLPTSTATIVVHVEDVNEAPVFVPPSKVVEVQ EGIPTGEPVCVYTAEDPDKENQKISYRILRDPAGWLAMDPDSGQV TAVGTLDREDEQFVRNNIYEVMVLAMDNGSPPTTGTGTLLLTLID VNDHGPVPEPRQITICNQSPVRQVLNITDKDLSPHTSPFQAQLTD DSDIYWTAEVNEEGDTVVLSLKKFLKQDTYDVHLSLSDHGNKEQL TVIRATVCDCHGHVETCPGPWKGGFILPVLGAVLALLFLLLVLLL LVRKKRKIKEPLLLPEDDTRDNVFYYGEEGGGEEDQDYDITQLHR GLEARPEVVLRNDVAPTIIPTPMYRPRPANPDEIGNFIIENLKAA NTDPTAPPYDTLLVFDYEGSGSDAASLSSLTSSASDQDQDYDYLN EWGSRFKKLADMYGGGEDD
HER2/NEU	75	MELAALCRWGLLLALLPPGAASTQVCTGTDMKLRLPASPETHLDM LRHLYQGCQVVQGNLELTYLPTNASLSFLQDIQEVQGYVLIAHNQ VRQVPLQRLRIVRGTQLFEDNYALAVLDNGDPLNNTTPVTGASPG GLRELQLRSLTEILKGGVLIQRNPQLCYQDTILWKDIFHKNNQLA LTLIDTNRSRACHPCSPMCKGSRCWGESSEDCQSLTRTVCAGGCA RCKGPLPTDCCHEQCAAGCTGPKHSDCLACLHFNHSGICELHCPA LVTYNTDTFESMPNPEGRYTFGASCVTACPYNYLSTDVGSCTLVC PLHNQEVTAEDGTQRCEKCSKPCARVCYGLGMEHLREVRAVTSAN IQEFAGCKKIFGSLAFLPESFDGDPASNTAPLQPEQLQVFETLEE ITGYLYISAWPDSLPDLSVFQNLQVIRGRILHNGAYSLTLQGLGI SWLGLRSLRELGSGLALIHHNTHLCFVHTVPWDQLFRNPHQALLH TANRPEDECVGEGLACHQLCARGHCWGPGPTQCVNCSQFLRGQEC VEECRVLQGLPREYVNARHCLPCHPECQPQNGSVTCFGPEADQCV ACAHYKDPPFCVARCPSGVKPDLSYMPIWKFPDEEGACQPCPINC THSCVDLDDKGCPAEQRASPLTSIISAVVGILLVVVLGVVFGILI KRRQQKIRKYTMRRLLQETELVEPLTPSGAMPNQAQMRILKETEL RKVKVLGSGAFGTVYKGIWIPDGENVKIPVAIKVLRENTSPKANK EILDEAYVMAGVGSPYVSRLLGICLTSTVQLVTQLMPYGCLLDHV RENRGRLGSQDLLNWCMQIAKGMSYLEDVRLVHRDLAARNVLVKS PNHVKITDFGLARLLDIDETEYHADGGKVPIKWMALESILRRRFT HQSDVWSYGVTVWELMTFGAKPYDGIPAREIPDLLEKGERLPQPP ICTIDVYMIMVKCWMIDSECRPRFRELVSEFSRMARDPQRFVVIQ NEDLGPASPLDSTFYRSLLEDDDMGDLVDAEEYLVPQQGFFCPDP APGAGGMVHHRHRSSSTRSGGGDLTLGLEPSEEEAPRSPLAPSEG

[0873]

		AGSDVFDGDLGMGAAKGLQSLPTHDPSPLQRYSEDPTVPLPSETD GYVAPLTCSPQPEYVNQPDVRPQPPSPREGPLPAARPAGATLERP KTLSPGKNGVVKDVFAFGGAVENPEYLTPQGGAAPQPHPPPAFSP AFDNLYYWDQDPPERGAPPSTFKGTPTAENPEYLGLDVPV
CD38	76	MANCEFSPVSGDKPCCRLSRRAQLCLGVSILVLILVVVLAVVVPR WRQQWSGPGTTKRFPETVLARCVKYTEIHPEMRHVDCQSVWDAFK GAFISKHPCNITEEDYQPLMKLGTQTVPCNKILLWSRIKDLAHQF TQVQRDMFTLEDTLLGYLADDLTWCGEFNTSKINYQSCPDWRKDC SNNPVSVFWKTVSRRFAEAACDVVHVMLNGSRSKIFDKNSTFGSV EVHNLQPEKVQTLEAWVIHGGREDSRDLCQDPTIKELESIISKRN IQFSCKNIYRPDKFLQCVKNPEDSSCTSEI
CD48	77	MCSRGWDSCLALELLLLPLSLLVTSIQGHLVHMTVVSGSNVTLNI SESLPENYKQLTWFYTFDQKIVEWDSRKSKYFESKFKGRVRLDPQ SGALYISKVQKEDNSTYIMRVLKKTGNEQEWKIKLQVLDPVPKPV IKIEKIEDMDDNCYLKLSCVIPGESVNYTWYGDKRPFPKELQNSV LETTLMPHNYSRCYTCQVSNSVSSKNGTVCLSPPCTLARSFGVEW IASWLVVTVPTILGLLLT
CD79b	78	MARLALSPVPSHWMVALLLLLSAEPVPAARSEDRYRNPKGSACSR IWQSPRFIARKRGFTVKMHCYMNSASGNVSWLWKQEMDENPQQLK LEKGRMEESQNESLATLTIQGIRFEDNGIYFCQQKCNNTSEVYQG CGTELRVMGFSTLAQLKQRNTLKDGIIMIQTLLIILFIIVPIFLL LDKDDSKAGMEEDHTYEGLDIDQTATYEDIVTLRTGEVKWSVGEH PGQE
EGFR (NP_005219.2)	126	MRPSGTAGAALLALLAALCPASRALEEKKVCQGTSNKLTQLGTFE DHFLSLQRMFNNCEVVLGNLEITYVQRNYDLSFLKTIQEVAGYVL IALNTVERIPLENLQIIRGNMYYENSYALAVLSNYDANKTGLKEL PMRNLQEILHGAVRFSNNPALCNVESIQWRDIVSSDFLSNMSMDF QNHLGSCQKCDPSCPNGSCWGAGEENCQKLTKIICAQQCSGRCRG KSPSDCCHNQCAAGCTGPRESDCLVCRKFRDEATCKDTCPPLMLY NPTTYQMDVNPEGKYSFGATCVKKCPRNYVVTDHGSCVRACGADS YEMEEDGVRKCKKCEGPCRKVCNGIGIGEFKDSLSINATNIKHFK NCTSISGDLHILPVAFRGDSFTHTPPLDPQELDILKTVKEITGFL LIQAWPENRTDLHAFENLEIIRGRTKQHGQFSLAVVSLNITSLGL RSLKEISDGDVIISGNKNLCYANTINWKKLFGTSGQKTKIISNRG ENSCKATGQVCHALCSPEGCWGPEPRDCVSCRNVSRGRECVDKCN LLEGEPREFVENSECIQCHPECLPQAMNITCTGRGPDNCIQCAHY IDGPHCVKTCPAGVMGENNTLVWKYADAGHVCHLCHPNCTYGCTG PGLEGCPTNGPKIPSIATGMVGALLLLLVVALGIGLFMRRRHIVR

[0874]

		KRTLRRLLQERELVEPLTPSGEAPNQALLRILKETEFKKIKVLGS GAFGTVYKGLWIPEGEKVKIPVAIKELREATSPKANKEILDEAYV MASVDNPHVCRLLGICLTSTVQLITQLMPFGCLLDYVREHKDNIG SQYLLNWCVQIAKGMNYLEDRRLVHRDLAARNVLVKTPQHVKITD FGLAKLLGAEEKEYHAEGGKVPIKWMALESILHRIYTHQSDVWSY GVTVWELMTFGSKPYDGIPASEISSILEKGERLPQPPICTIDVYM IMVKCWMIDADSRPKFRELIIEFSKMARDPQRYLVIQGDERMHLP SPTDSNFYRALMDEEDMDDVVDADEYLIPQQGFFSSPSTSRTPLL SSLSATSNNSTVACIDRNGLQSCPIKEDSFLQRYSSDPTGALTED SIDDTFLPVPEYINQSVPKRPAGSVQNPVYHNQPLNPAPSRDPHY QDPHSTAVGNPEYLNTVQPTCVNSTFDSPAHWAQKGSHQISLDNP DYQQDFFPKEAKPNGIFKGSTAENAEYLRVAPQSSEFIGA
CD7 (NP_006128.1)	127	MAGPPRLLLLPLLLALARGLPGALAAQEVQQSPHCTTVPVGASVN ITCSTSGGLRGIYLRQLGPQPQDIIYYEDGVVPTTDRRFRGRIDF SGSQDNLTITMHRLQLSDTGTYTCQAITEVNVYGSGTLVLVTEEQ SQGWHRCSDAPPRASALPAPPTGSALPDPQTASALPDPPAASALP AALAVISFLLGLGLGVACVLARTQIKKLCSWRDKNSAACVVYEDM SHSRCNTLSSPNQYQ
TFRC (NP_003225.2)	128	MMDQARSAFSNLFGGEPLSYTRFSLARQVDGDNSHVEMKLAVDEE ENADNNTKANVTKPKRCSGSICYGTIAVIVFFLIGFMIGYLGYCK GVEPKTECERLAGTESPVREEPGEDFPAARRLYWDDLKRKLSEKL DSTDFTGTIKLLNENSYVPREAGSQKDENLALYVENQFREFKLSK VWRDQHFVKIQVKDSAQNSVIIVDKNGRLVYLVENPGGYVAYSKA ATVTGKLVHANFGTKKDFEDLYTPVNGSIVIVRAGKITFAEKVAN AESLNAIGVLIYMDQTKFPIVNAELSFFGHAHLGTGDPYTPGFPS FNHTQFPPSRSSGLPNIPVQTISRAAAEKLFGNMEGDCPSDWKTD STCRMVTSESKNVKLTVSNVLKEIKILNIFGVIKGFVEPDHYVVV GAQRDAWGPGAAKSGVGTALLLKLAQMFSDMVLKDGFQPSRSIIF ASWSAGDFGSVGATEWLEGYLSSLHLKAFTYINLDKAVLGTSNFK VSASPLLYTLIEKTMQNVKHPVTGQFLYQDSNWASKVEKLTLDNA AFPFLAYSGIPAVSFCFCEDTDYPYLGTTMDTYKELIERIPELNK VARAAAEVAGQFVIKLTHDVELNLDYERYNSQLLSFVRDLNQYRA DIKEMGLSLQWLYSARGDFFRATSRLTTDFGNAEKTDRFVMKKLN DRVMRVEYHFLSPYVSPKESPFRHVFWGSGSHTLPALLENLKLRK QNNGAFNETLFRNQLALATWTIQGAANALSGDVWDIDNEF
EPCAM (NP_002345.2)	129	MAPPQVLAFGLLLAAATATFAAAQEECVCENYKLAVNCFVNNNRQ CQCTSVGAQNTVICSKLAAKCLVMKAEMNGSKLGRRAKPEGALQN NDGLYDPDCDESGLFKAKQCNGTSMCWCVNTAGVRRTDKDTEITC

[0875]

		SERVRTYWIIIELKHKAREKPYDSKSLRTALQKEITTRYQLDPKF ITSILYENNVITIDLVQNSSQKTQNDVDIADVAYYFEKDVKGESL FHSKKMDLTVNGEQLDLDPGQTLIYYVDEKAPEFSMQGLKAGVIA VIVVVVIAVVAGIVVLVISRKKRMAKYEKAEIKEMGEMHRELNA
FOLR1 (NP_057936.1)	130	MAQRMTTQLLLLLVWVAVVGEAQTRIAWARTELLNVCMNAKHHKE KPGPEDKLHEQCRPWRKNACCSTNTSQEAHKDVSYLYRFNWNHCG EMAPACKRHFIQDTCLYECSPNLGPWIQQVDQSWRKERVLNVPLC KEDCEQWWEDCRTSYTCKSNWHKGWNWTSGFNKCAVGAACQPFHF YFPTPTVLCNEIWTHSYKVSNYSRGSGRCIQMWFDPAQGNPNEEV ARFYAAAMSGAGPWAAWPFLLSLALMLLWLLS
ENPP3 (NP_005012.2)	131	MESTLTLATEQPVKKNTLKKYKIACIVLLALLVIMSLGLGLGLGL RKLEKQGSCRKKCFDASFRGLENCRCDVACKDRGDCCWDFEDTCV ESTRIWMCNKFRCGETRLEASLCSCSDDCLQRKDCCADYKSVCQG ETSWLEENCDTAQQSQCPEGFDLPPVILFSMDGFRAEYLYTWDTL MPNINKLKTCGIHSKYMRAMYPTKTFPNHYTIVTGLYPESHGIID NNMYDVNLNKNFSLSSKEQNNPAWWHGQPMWLTAMYQGLKAATYF WPGSEVAINGSFPSIYMPYNGSVPFEERISTLLKWLDLPKAERPR FYTMYFEEPDSSGHAGGPVSARVIKALQVVDHAFGMLMEGLKQRN LHNCVNIILLADHGMDQTYCNKMEYMTDYFPRINFFYMYEGPAPR IRAHNIPHDFFSFNSEEIVRNLSCRKPDQHFKPYLTPDLPKRLHY AKNVRIDKVHLFVDQQWLAVRSKSNTNCGGGNHGYNNEFRSMEAI FLAHGPSFKEKTEVEPFENIEVYNLMCDLLRIQPAPNNGTHGSLN HLLKVPFYEPSHAEEVSKFSVCGFANPLPTESLDCFCPHLQNSTQ LEQVNQMLNLTQEEITATVKVNLPFGRPRVLQKNVDHCLLYHREY VSGFGKAMRMPMWSSYTVPQLGDTSPLPPTVPDCLRADVRVPPSE SQKCSFYLADKNITHGFLYPPASNRTSDSQYDALITSNLVPMYEE FRKMWDYFHSVLLIKHATERNGVNVVSGPIFDYNYDGHFDAPDEI TKHLANTDVPIPTHYFVVLTSCKNKSHTPENCPGWLDVLPFIIPH RPTNVESCPEGKPEALWVEERFTAHIARVRDVELLTGLDFYQDKV QPVSEILQLKTYLPTFETTI
MET (NP_001120972.1)	132	MKAPAVLAPGILVLLFTLVQRSNGECKEALAKSEMNVNMKYQLPN FTAETPIQNVILHEHHIFLGATNYIYVLNEEDLQKVAEYKTGPVL EHPDCFPCQDCSSKANLSGGVWKDNINMALVVDTYYDDQLISCGS VNRGTCQRHVFPHNHTADIQSEVHCIFSPQIEEPSQCPDCVVSAL GAKVLSSVKDRFINFFVGNTINSSYFPDHPLHSISVRRLKETKDG FMFLTDQSYIDVLPEFRDSYPIKYVHAFESNNFIYFLTVQRETLD AQTFHTRIIRFCSINSGLHSYMEMPLECILTEKRKKRSTKKEVFN ILQAAYVSKPGAQLARQIGASLNDDILFGVFAQSKPDSAEPMDRS

[0876]

		AMCAFPIKYVNDFFNKIVNKNNVRCLQHFYGPNHEHCFNRTLLRN SSGCEARRDEYRTEFTTALQRVDLFMGQFSEVLLTSISTFIKGDL TIANLGTSEGRFMQVVVSRSGPSTPHVNFLLDSHPVSPEVIVEHT LNQNGYTLVITGKKITKIPLNGLGCRHFQSCSQCLSAPPFVQCGW CHDKCVRSEECLSGTWTQQICLPAIYKVFPNSAPLEGGTRLTICG WDFGFRRNNKFDLKKTRVLLGNESCTLTLSESTMNTLKCTVGPAM NKHFNMSIIISNGHGTTQYSTFSYVDPVITSISPKYGPMAGGTLL TLTGNYLNSGNSRHISIGGKTCTLKSVSNSILECYTPAQTISTEF AVKLKIDLANRETSIFSYREDPIVYEIHPTKSFISTWWKEPLNIV SFLFCFASGGSTITGVGKNLNSVSVPRMVINVHEAGRNFTVACQH RSNSEIICCTTPSLQQLNLQLPLKTKAFFMLDGILSKYFDLIYVH NPVFKPFEKPVMISMGNENVLEIKGNDIDPEAVKGEVLKVGNKSC ENIHLHSEAVLCTVPNDLLKLNSELNIEWKQAISSTVLGKVIVQP DQNFTGLIAGVVSISTALLLLLGFFLWLKKRKQIKDLGSELVRYD ARVHTPHLDRLVSARSVSPTTEMVSNESVDYRATFPEDQFPNSSQ NGSCRQVQYPLTDMSPILTSGDSDISSPLLQNTVHIDLSALNPEL VQAVQHVVIGPSSLIVHFNEVIGRGHFGCVYHGTLLDNDGKKIHC AVKSLNRITDIGEVSQFLTEGIIMKDFSHPNVLSLLGICLRSEGS PLVVLPYMKHGDLRNFIRNETHNPTVKDLIGFGLQVAKGMKYLAS KKFVHRDLAARNCMLDEKFTVKVADFGLARDMYDKEYYSVHNKTG AKLPVKWMALESLQTQKFTTKSDVWSFGVLLWELMTRGAPPYPDV NTFDITVYLLQGRRLLQPEYCPDPLYEVMLKCWHPKAEMRPSFSE LVSRISAIFSTFIGEHYVHVNATYVNVKCVAPYPSLLSSEDNADD EVDTRPASFWETS
AXL (NP_068713.2)	133	MAWRCPRMGRVPLAWCLALCGWACMAPRGTQAEESPFVGNPGNIT GARGLTGTLRCQLQVQGEPPEVHWLRDGQILELADSTQTQVPLGE DEQDDWIVVSQLRITSLQLSDTGQYQCLVFLGHQTFVSQPGYVGL EGLPYFLEEPEDRTVAANTPFNLSCQAQGPPEPVDLLWLQDAVPL ATAPGHGPQRSLHVPGLNKTSSFSCEAHNAKGVTTSRTATITVLP QQPRNLHLVSRQPTELEVAWTPGLSGIYPLTHCTLQAVLSDDGMG IQAGEPDPPEEPLTSQASVPPHQLRLGSLHPHTPYHIRVACTSSQ GPSSWTHWLPVETPEGVPLGPPENISATRNGSQAFVHWQEPRAPL QGTLLGYRLAYQGQDTPEVLMDIGLRQEVTLELQGDGSVSNLTVC VAAYTAAGDGPWSLPVPLEAWRPGQAQPVHQLVKEPSTPAFSWPW WYVLLGAVVAAACVLILALFLVHRRKKETRYGEVFEPTVERGELV VRYRVRKSYSRRTTEATLNSLGISEELKEKLRDVMVDRHKVALGK TLGEGEFGAVMEGQLNQDDSILKVAVKTMKIAICTRSELEDFLSE AVCMKEFDHPNVMRLIGVCFQGSERESFPAPVVILPFMKHGDLHS

[0877]

		FLLYSRLGDQPVYLPTQMLVKFMADIASGMEYLSTKRFIHRDLAA RNCMLNENMSVCVADFGLSKKIYNGDYYRQGRIAKMPVKWIAIES LADRVYTSKSDVWSFGVTMWEIATRGQTPYPGVENSEIYDYLRQG NRLKQPADCLDGLYALMSRCWELNPQDRPSFTELREDLENTLKAL PPAQEPDEILYVNMDEGGGYPEPPGAAGGADPPTQPDPKDSCSCL TAAEVHPAGRYVLCPSTTPSPAQPADRGSPAAPGQEDGA
SLC34A2 (NP_006415.3)	134	MAPWPELGDAQPNPDKYLEGAAGQQPTAPDKSKETNKTDNTEAPV TKIELLPSYSTATLIDEPTEVDDPWNLPTLQDSGIKWSERDTKGK ILCFFQGIGRLILLLGFLYFFVCSLDILSSAFQLVGGKMAGQFFS NSSIMSNPLLGLVIGVLVTVLVQSSSTSTSIVVSMVSSSLLTVRA AIPIIMGANIGTSITNTIVALMQVGDRSEFRRAFAGATVHDFFNW LSVLVLLPVEVATHYLEIITQLIVESFHFKNGEDAPDLLKVITKP FTKLIVQLDKKVISQIAMNDEKAKNKSLVKIWCKTFTNKTQINVT VPSTANCTSPSLCWTDGIQNWTMKNVTYKENIAKCQHIFVNFHLP DLAVGTILLILSLLVLCGCLIMIVKILGSVLKGQVATVIKKTINT DFPFPFAWLTGYLAILVGAGMTFIVQSSSVFTSALTPLIGIGVIT IERAYPLTLGSNIGTTTTAILAALASPGNALRSSLQIALCHFFFN ISGILLWYPIPFTRLPIRMAKGLGNISAKYRWFAVFYLIIFFFLI PLTVFGLSLAGWRVLVGVGVPVVFIIILVLCLRLLQSRCPRVLPK KLQNWNFLPLWMRSLKPWDAVVSKFTGCFQMRCCCCCRVCCRACC LLCDCPKCCRCSKCCEDLEEAQEGQDVPVKAPETFDNITISREAQ GEVPASDSKTECTAL
NECTIN4 (NP_112178.2)	135	MPLSLGAEMWGPEAWLLLLLLLASFTGRCPAGELETSDVVTVVLG QDAKLPCFYRGDSGEQVGQVAWARVDAGEGAQELALLHSKYGLHV SPAYEGRVEQPPPPRNPLDGSVLLRNAVQADEGEYECRVSTFPAG SFQARLRLRVLVPPLPSLNPGPALEEGQGLTLAASCTAEGSPAPS VTWDTEVKGTTSSRSFKHSRSAAVTSEFHLVPSRSMNGQPLTCVV SHPGLLQDQRITHILHVSFLAEASVRGLEDQNLWHIGREGAMLKC LSEGQPPPSYNWTRLDGPLPSGVRVDGDTLGFPPLTTEHSGIYVC HVSNEFSSRDSQVTVDVLDPQEDSGKQVDLVSASVVVVGVIAALL FCLLVVVVVLMSRYHRRKAQQMTQKYEEELTLTRENSIRRLHSHH TDPRSQPEESVGLRAEGHPDSLKDNSSCSVMSEEPEGRSYSTLTT VREIETQTELLSPGSGRAEEEEDQDEGIKQAMNHFVQENGTLRAK PTGNGIYINGRGHLV
TACSTD2 (NP_002344.2)	136	MARGPGLAPPPLRLPLLLLVLAAVTGHTAAQDNCTCPTNKMTVCS PDGPGGRCQCRALGSGMAVDCSTLTSKCLLLKARMSAPKNARTLV RPSEHALVDNDGLYDPDCDPEGRFKARQCNQTSVCWCVNSVGVRR TDKGDLSLRCDELVRTHHILIDLRHRPTAGAFNHSDLDAELRRLF

[0878]

		RERYRLHPKFVAAVHYEQPTIQIELRQNTSQKAAGDVDIGDAAYY FERDIKGESLFQGRGGLDLRVRGEPLQVERTLIYYLDEIPPKFSM KRLTAGLIAVIVVVVVALVAGMAVLVITNRRKSGKYKKVEIKELG ELRKEPSL
SLC39A6 (NP_036451.4)	137	MARKLSVILILTFALSVTNPLHELKAAAFPQTTEKISPNWESGIN VDLAISTRQYHLQQLFYRYGENNSLSVEGFRKLLQNIGIDKIKRI HIHHDHDHHSDHEHHSDHERHSDHEHHSEHEHHSDHDHHSHHNHA ASGKNKRKALCPDHDSDSSGKDPRNSQGKGAHRPEHASGRRNVKD SVSASEVTSTVYNTVSEGTHFLETIETPRPGKLFPKDVSSSTPPS VTSKSRVSRLAGRKTNESVSEPRKGFMYSRNTNENPQECFNASKL LTSHGMGIQVPLNATEFNYLCPAIINQIDARSCLIHTSEKKAEIP PKTYSLQIAWVGGFIAISIISFLSLLGVILVPLMNRVFFKFLLSF LVALAVGTLSGDAFLHLLPHSHASHHHSHSHEEPAMEMKRGPLFS HLSSQNIEESAYFDSTWKGLTALGGLYFMFLVEHVLTLIKQFKDK KKKNQKKPENDDDVEIKKQLSKYESQLSTNEEKVDTDDRTEGYLR ADSQEPSHFDSQQPAVLEEEEVMIAHAHPQEVYNEYVPRGCKNKC HSHFHDTLGQSDDLIHHHHDYHHILHHHHHQNHHPHSHSQRYSRE ELKDAGVATLAWMVIMGDGLHNFSDGLAIGAAFTEGLSSGLSTSV AVFCHELPHELGDFAVLLKAGMTVKQAVLYNALSAMLAYLGMATG IFIGHYAENVSMWIFALTAGLFMYVALVDMVPEMLHNDASDHGCS RWGYFFLQNAGMLLGFGIMLLISIFEHKIVFRINF
GPNMB (NP_001005340. 1)	138	MECLYYFLGFLLLAARLPLDAAKRFHDVLGNERPSAYMREHNQLN GWSSDENDWNEKLYPVWKRGDMRWKNSWKGGRVQAVLTSDSPALV GSNITFAVNLIFPRCQKEDANGNIVYEKNCRNEAGLSADPYVYNW TAWSEDSDGENGTGQSHHNVFPDGKPFPHHPGWRRWNFIYVFHTL GQYFQKLGRCSVRVSVNTANVTLGPQLMEVTVYRRHGRAYVPIAQ VKDVYVVTDQIPVFVTMFQKNDRNSSDETFLKDLPIMFDVLIHDP SHFLNYSTINYKWSFGDNTGLFVSTNHTVNHTYVLNGTFSLNLTV KAAAPGPCPPPPPPPRPSKPTPSLATTLKSYDSNTPGPAGDNPLE LSRIPDENCQINRYGHFQATITIVEGILEVNIIQMTDVLMPVPWP ESSLIDFVVTCQGSIPTEVCTIISDPTCEITQNTVCSPVDVDEMC LLTVRRTFNGSGTYCVNLTLGDDTSLALTSTLISVPDRDPASPLR MANSALISVGCLAIFVTVISLLVYKKHKEYNPIENSPGNVVRSKG LSVFLNRAKAVFFPGNQEKDPLLKNQEFKGVS
MSLN (NP_005814.2)	139	MALPTARPLLGSCGTPALGSLLFLLFSLGWVQPSRTLAGETGQEA APLDGVLANPPNISSLSPRQLLGFPCAEVSGLSTERVRELAVALA QKNVKLSTEQLRCLAHRLSEPPEDLDALPLDLLLFLNPDAFSGPQ ACTRFFSRITKANVDLLPRGAPERQRLLPAALACWGVRGSLLSEA

[0879]

		DVRALGGLACDLPGRFVAESAEVLLPRLVSCPGPLDQDQQEAARA ALQGGGPPYGPPSTWSVSTMDALRGLLPVLGQPIIRSIPQGIVAA WRQRSSRDPSWRQPERTILRPRFRREVEKTACPSGKKAREIDESL IFYKKWELEACVDAALLATQMDRVNAIPFTYEQLDVLKHKLDELY PQGYPESVIQHLGYLFLKMSPEDIRKWNVTSLETLKALLEVNKGH EMSPQVATLIDRFVKGRGQLDKDTLDTLTAFYPGYLCSLSPEELS SVPPSSIWAVRPQDLDTCDPRQLDVLYPKARLAFQNMNGSEYFVK IQSFLGGAPTEDLKALSQQNVSMDLATFMKLRTDAVLPLTVAEVQ KLLGPHVEGLKAEERHRPVRDWILRQRQDDLDTLGLGLQGGIPNG YLVLDLSMQEALSGTPCLLGPGPVLTVLALLLASTLA
CD74 (NP_001020330. 1)	140	MHRRRSRSCREDQKPVMDDQRDLISNNEQLPMLGRRPGAPESKCS RGALYTGFSILVTLLLAGQATTAYFLYQQQGRLDKLTVTSQNLQL ENLRMKLPKPPKPVSKMRMATPLLMQALPMGALPQGPMQNATKYG NMTEDHVMHLLQNADPLKVYPPLKGSFPENLRHLKNTMETIDWKV FESWMHHWLLFEMSRHSLEQKPTDAPPKVLTKCQEEVSHIPAVHP GSFRPKCDENGNYLPLQCYGSIGYCWCVFPNGTEVPNTRSRGHHN CSESLELEDPSSGLGVTKQDLGPVPM
F3 (NP_001984.1)	141	METPAWPRVPRPETAVARTLLLGWVFAQVAGASGTTNTVAAYNLT WKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQISTKSGDWKSKCFYTTDTECD LTDEIVKDVKQTYLARVFSYPAGNVESTGSAGEPLYENSPEFTPY LETNLGQPTIQSFEQVGTKVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFG KDLIYTLYYWKSSSSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCFSVQAVI PSRTVNRKSTDSPVECMGQEKGEFREIFYIIGAVVFVVIILVIIL AISLHKCRKAGVGQSWKENSPLNVS
MUC16 (NP_078966.2)	142	MLKPSGLPGSSSPTRSLMTGSRSTKATPEMDSGLTGATLSPKTST GAIVVTEHTLPFTSPDKTLASPTSSVVGRTTQSLGVMSSALPEST SRGMTHSEQRTSPSLSPQVNGTPSRNYPATSMVSGLSSPRTRTSS TEGNFTKEASTYTLTVETTSGPVTEKYTVPTETSTTEGDSTETPW DTRYIPVKITSPMKTFADSTASKENAPVSMTPAETTVTDSHTPGR TNPSFGTLYSSFLDLSPKGTPNSRGETSLELILSTTGYPFSSPEP GSAGHSRISTSAPLSSSASVLDNKISETSIFSGQSLTSPLSPGVP EARASTMPNSAIPFSMTLSNAETSAERVRSTISSLGTPSISTKQT AETILTFHAFAETMDIPSTHIAKTLASEWLGSPGTLGGTSTSALT TTSPSTTLVSEETNTHHSTSGKETEGTLNTSMTPLETSAPGEESE MTATLVPTLGFTTLDSKIRSPSQVSSSHPTRELRTTGSTSGRQSS STAAHGSSDILRATTSSTSKASSWTSESTAQQFSEPQHTQWVETS PSMKTERPPASTSVAAPITTSVPSVVSGFTTLKTSSTKGIWLEET SADTLIGESTAGPTTHQFAVPTGISMTGGSSTRGSQGTTHLLTRA

[0880]

		TASSETSADLTLATNGVPVSVSPAVSKTAAGSSPPGGTKPSYTMV SSVIPETSSLQSSAFREGTSLGLTPLNTRHPFSSPEPDSAGHTKI STSIPLLSSASVLEDKVSATSTFSHHKATSSITTGTPEISTKTKP SSAVLSSMTLSNAATSPERVRNATSPLTHPSPSGEETAGSVLTLS TSAETTDSPNIHPTGTLTSESSESPSTLSLPSVSGVKTTFSSSTP STHLFTSGEETEETSNPSVSQPETSVSRVRTTLASTSVPTPVFPT MDTWPTRSAQFSSSHLVSELRATSSTSVTNSTGSALPKISHLTGT ATMSQTNRDTFNDSAAPQSTTWPETSPRFKTGLPSATTTVSTSAT SLSATVMVSKFTSPATSSMEATSIREPSTTILTTETTNGPGSMAV ASTNIPIGKGYITEGRLDTSHLPIGTTASSETSMDFTMAKESVSM SVSPSQSMDAAGSSTPGRTSQFVDTFSDDVYHLTSREITIPRDGT SSALTPQMTATHPPSPDPGSARSTWLGILSSSPSSPTPKVTMSST FSTQRVTTSMIMDTVETSRWNMPNLPSTTSLTPSNIPTSGAIGKS TLVPLDTPSPATSLEASEGGLPTLSTYPESTNTPSIHLGAHASSE SPSTIKLTMASVVKPGSYTPLTFPSIETHIHVSTARMAYSSGSSP EMTAPGETNTGSTWDPTTYITTTDPKDTSSAQVSTPHSVRTLRTT ENHPKTESATPAAYSGSPKISSSPNLTSPATKAWTITDTTEHSTQ LHYTKLAEKSSGFETQSAPGPVSVVIPTSPTIGSSTLELTSDVPG EPLVLAPSEQTTITLPMATWLSTSLTEEMASTDLDISSPSSPMST FAIFPPMSTPSHELSKSEADTSAIRNTDSTTLDQHLGIRSLGRTG DLTTVPITPLTTTWTSVIEHSTQAQDTLSATMSPTHVTQSLKDQT SIPASASPSHLTEVYPELGTQGRSSSEATTFWKPSTDTLSREIET GPTNIQSTPPMDNTTTGSSSSGVTLGIAHLPIGTSSPAETSTNMA LERRSSTATVSMAGTMGLLVTSAPGRSISQSLGRVSSVLSESTTE GVTDSSKGSSPRLNTQGNTALSSSLEPSYAEGSQMSTSIPLTSSP TTPDVEFIGGSTFWTKEVTTVMTSDISKSSARTESSSATLMSTAL GSTENTGKEKLRTASMDLPSPTPSMEVTPWISLTLSNAPNTTDSL DLSHGVHTSSAGTLATDRSLNTGVTRASRLENGSDTSSKSLSMGN STHTSMTYTEKSEVSSSIHPRPETSAPGAETTLTSTPGNRAISLT LPFSSIPVEEVISTGITSGPDINSAPMTHSPITPPTIVWTSTGTI EQSTQPLHAVSSEKVSVQTQSTPYVNSVAVSASPTHENSVSSGSS TSSPYSSASLESLDSTISRRNAITSWLWDLTTSLPTTTWPSTSLS EALSSGHSGVSNPSSTTTEFPLFSAASTSAAKQRNPETETHGPQN TAASTLNTDASSVTGLSETPVGASISSEVPLPMAITSRSDVSGLT SESTANPSLGTASSAGTKLTRTISLPTSESLVSFRMNKDPWTVSI PLGSHPTTNTETSIPVNSAGPPGLSTVASDVIDTPSDGAESIPTV SFSPSPDTEVTTISHFPEKTTHSFRTISSLTHELTSRVTPIPGDW MSSAMSTKPTGASPSITLGERRTITSAAPTTSPIVLTASFTETST

[0881]

		VSLDNETTVKTSDILDARKTNELPSDSSSSSDLINTSIASSTMDV TKTASISPTSISGMTASSSPSLFSSDRPQVPTSTTETNTATSPSV SSNTYSLDGGSNVGGTPSTLPPFTITHPVETSSALLAWSRPVRTF STMVSTDTASGENPTSSNSVVTSVPAPGTWTSVGSTTDLPAMGFL KTSPAGEAHSLLASTIEPATAFTPHLSAAVVTGSSATSEASLLTT SESKAIHSSPQTPTTPTSGANWETSATPESLLVVTETSDTTLTSK ILVTDTILFSTVSTPPSKFPSTGTLSGASFPTLLPDTPAIPLTAT EPTSSLATSFDSTPLVTIASDSLGTVPETTLTMSETSNGDALVLK TVSNPDRSIPGITIQGVTESPLHPSSTSPSKIVAPRNTTYEGSIT VALSTLPAGTTGSLVFSQSSENSETTALVDSSAGLERASVMPLTT GSQGMASSGGIRSGSTHSTGTKTFSSLPLTMNPGEVTAMSEITTN RLTATQSTAPKGIPVKPTSAESGLLTPVSASSSPSKAFASLTTAP PTWGIPQSTLTFEFSEVPSLDTKSASLPTPGQSLNTIPDSDASTA SSSLSKSPEKNPRARMMTSTKAISASSFQSTGFTETPEGSASPSM AGHEPRVPTSGTGDPRYASESMSYPDPSKASSAMTSTSLASKLTT LFSTGQAARSGSSSSPISLSTEKETSFLSPTASTSRKTSLFLGPS MARQPNILVHLQTSALTLSPTSTLNMSQEEPPELTSSQTIAEEEG TTAETQTLTFTPSETPTSLLPVSSPTEPTARRKSSPETWASSISV PAKTSLVETTDGTLVTTIKMSSQAAQGNSTWPAPAEETGSSPAGT SPGSPEMSTTLKIMSSKEPSISPEIRSTVRNSPWKTPETTVPMET TVEPVTLQSTALGSGSTSISHLPTGTTSPTKSPTENMLATERVSL SPSPPEAWTNLYSGTPGGTRQSLATMSSVSLESPTARSITGTGQQ SSPELVSKTTGMEFSMWHGSTGGTTGDTHVSLSTSSNILEDPVTS PNSVSSLTDKSKHKTETWVSTTAIPSTVLNNKIMAAEQQTSRSVD EAYSSTSSWSDQTSGSDITLGASPDVTNTLYITSTAQTTSLVSLP SGDQGITSLTNPSGGKTSSASSVTSPSIGLETLRANVSAVKSDIA PTAGHLSQTSSPAEVSILDVTTAPTPGISTTITTMGTNSISTTTP NPEVGMSTMDSTPATERRTTSTEHPSTWSSTAASDSWTVTDMTSN LKVARSPGTISTMHTTSFLASSTELDSMSTPHGRITVIGTSLVTP SSDASAVKTETSTSERTLSPSDTTASTPISTFSRVQRMSISVPDI LSTSWTPSSTEAEDVPVSMVSTDHASTKTDPNTPLSTFLFDSLST LDWDTGRSLSSATATTSAPQGATTPQELTLETMISPATSQLPFSI GHITSAVTPAAMARSSGVTFSRPDPTSKKAEQTSTQLPTTTSAHP GQVPRSAATTLDVIPHTAKTPDATFQRQGQTALTTEARATSDSWN EKEKSTPSAPWITEMMNSVSEDTIKEVTSSSSVLRTLNTLDINLE SGTTSSPSWKSSPYERIAPSESTTDKEAIHPSTNTVETTGWVTSS EHASHSTIPAHSASSKLTSPVVTTSTREQAIVSMSTTTWPESTRA RTEPNSFLTIELRDVSPYMDTSSTTQTSIISSPGSTAITKGPRTE

[0882]

		ITSSKRISSSFLAQSMRSSDSPSEAITRLSNFPAMTESGGMILAM QTSPPGATSLSAPTLDTSATASWTGTPLATTQRFTYSEKTTLFSK GPEDTSQPSPPSVEETSSSSSLVPIHATTSPSNILLTSQGHSPSS TPPVTSVFLSETSGLGKTTDMSRISLEPGTSLPPNLSSTAGEALS TYEASRDTKAIHHSADTAVTNMEATSSEYSPIPGHTKPSKATSPL VTSHIMGDITSSTSVFGSSETTEIETVSSVNQGLQERSTSQVASS ATETSTVITHVSSGDATTHVTKTQATFSSGTSISSPHQFITSTNT FTDVSTNPSTSLIMTESSGVTITTQTGPTGAATQGPYLLDTSTMP YLTETPLAVTPDFMQSEKTTLISKGPKDVSWTSPPSVAETSYPSS LTPFLVTTIPPATSTLQGQHTSSPVSATSVLTSGLVKTTDMLNTS MEPVTNSPQNLNNPSNEILATLAATTDIETIHPSINKAVTNMGTA SSAHVLHSTLPVSSEPSTATSPMVPASSMGDALASISIPGSETTD IEGEPTSSLTAGRKENSTLQEMNSTTESNIILSNVSVGAITEATK MEVPSFDATFIPTPAQSTKFPDIFSVASSRLSNSPPMTISTHMTT TQTGSSGATSKIPLALDTSTLETSAGTPSVVTEGFAHSKITTAMN NDVKDVSQTNPPFQDEASSPSSQAPVLVTTLPSSVAFTPQWHSTS SPVSMSSVLTSSLVKTAGKVDTSLETVTSSPQSMSNTLDDISVTS AATTDIETTHPSINTVVTNVGTTGSAFESHSTVSAYPEPSKVTSP NVTTSTMEDTTISRSIPKSSKTTRTETETTSSLTPKLRETSISQE ITSSTETSTVPYKELTGATTEVSRTDVTSSSSTSFPGPDQSTVSL DISTETNTRLSTSPIMTESAEITITTQTGPHGATSQDTFTMDPSN TTPQAGIHSAMTHGFSQLDVTTLMSRIPQDVSWTSPPSVDKTSSP SSFLSSPAMTTPSLISSTLPEDKLSSPMTSLLTSGLVKITDILRT RLEPVTSSLPNFSSTSDKILATSKDSKDTKEIFPSINTEETNVKA NNSGHESHSPALADSETPKATTQMVITTTVGDPAPSTSMPVHGSS ETTNIKREPTYFLTPRLRETSTSQESSFPTDTSFLLSKVPTGTIT EVSSTGVNSSSKISTPDHDKSTVPPDTFTGEIPRVFTSSIKTKSA EMTITTQASPPESASHSTLPLDTSTTLSQGGTHSTVTQGFPYSEV TTLMGMGPGNVSWMTTPPVEETSSVSSLMSSPAMTSPSPVSSTSP QSIPSSPLPVTALPTSVLVTTTDVLGTTSPESVTSSPPNLSSITH ERPATYKDTAHTEAAMHHSTNTAVTNVGTSGSGHKSQSSVLADSE TSKATPLMSTTSTLGDTSVSTSTPNISQTNQIQTEPTASLSPRLR ESSTSEKTSSTTETNTAFSYVPTGAITQASRTEISSSRTSISDLD RPTIAPDISTGMITRLFTSPIMTKSAEMTVTTQTTTPGATSQGIL PWDTSTTLFQGGTHSTVSQGFPHSEITTLRSRTPGDVSWMTTPPV EETSSGFSLMSPSMTSPSPVSSTSPESIPSSPLPVTALLTSVLVT TTNVLGTTSPEPVTSSPPNLSSPTQERLTTYKDTAHTEAMHASMH TNTAVANVGTSISGHESQSSVPADSHTSKATSPMGITFAMGDTSV

[0883]

		STSTPAFFETRIQTESTSSLIPGLRDTRTSEEINTVTETSTVLSE VPTTTTTEVSRTEVITSSRTTISGPDHSKMSPYISTETITRLSTF PFVTGSTEMAITNQTGPIGTISQATLTLDTSSTASWEGTHSPVTQ RFPHSEETTTMSRSTKGVSWQSPPSVEETSSPSSPVPLPAITSHS SLYSAVSGSSPTSALPVTSLLTSGRRKTIDMLDTHSELVTSSLPS ASSFSGEILTSEASTNTETIHFSENTAETNMGTTNSMHKLHSSVS IHSQPSGHTPPKVTGSMMEDAIVSTSTPGSPETKNVDRDSTSPLT PELKEDSTALVMNSTTESNTVFSSVSLDAATEVSRAEVTYYDPTF MPASAQSTKSPDISPEASSSHSNSPPLTISTHKTIATQTGPSGVT SLGQLTLDTSTIATSAGTPSARTQDFVDSETTSVMNNDLNDVLKT SPFSAEEANSLSSQAPLLVTTSPSPVTSTLQEHSTSSLVSVTSVP TPTLAKITDMDTNLEPVTRSPQNLRNTLATSEATTDTHTMHPSIN TAVANVGTTSSPNEFYFTVSPDSDPYKATSAVVITSTSGDSIVST SMPRSSAMKKIESETTFSLIFRLRETSTSQKIGSSSDTSTVFDKA FTAATTEVSRTELTSSSRTSIQGTEKPTMSPDTSTRSVTMLSTFA GLTKSEERTIATQTGPHRATSQGTLTWDTSITTSQAGTHSAMTHG FSQLDLSTLTSRVPEYISGTSPPSVEKTSSSSSLLSLPAITSPSP VPTTLPESRPSSPVHLTSLPTSGLVKTTDMLASVASLPPNLGSTS HKIPTTSEDIKDTEKMYPSTNIAVTNVGTTTSEKESYSSVPAYSE PPKVTSPMVTSFNIRDTIVSTSMPGSSEITRIEMESTFSLAHGLK GTSTSQDPIVSTEKSAVLHKLTTGATETSRTEVASSRRTSIPGPD HSTESPDISTEVIPSLPISLGITESSNMTIITRTGPPLGSTSQGT FTLDTPTTSSRAGTHSMATQEFPHSEMTTVMNKDPEILSWTIPPS IEKTSFSSSLMPSPAMTSPPVSSTLPKTIHTTPSPMTSLLTPSLV MTTDTLGTSPEPTTSSPPNLSSTSHEILTTDEDTTAIEAMHPSTS TAATNVETTSSGHGSQSSVLADSEKTKATAPMDTTSTMGHTTVST SMSVSSETTKIKRESTYSLTPGLRETSISQNASFSTDTSIVLSEV PTGTTAEVSRTEVTSSGRTSIPGPSQSTVLPEISTRTMTRLFASP TMTESAEMTIPTQTGPSGSTSQDTLTLDTSTTKSQAKTHSTLTQR FPHSEMTTLMSRGPGDMSWQSSPSLENPSSLPSLLSLPATTSPPP ISSTLPVTISSSPLPVTSLLTSSPVTTTDMLHTSPELVTSSPPKL SHTSDERLTTGKDTTNTEAVHPSTNTAASNVEIPSSGHESPSSAL ADSETSKATSPMFITSTQEDTTVAISTPHFLETSRIQKESISSLS PKLRETGSSVETSSAIETSAVLSEVSIGATTEISRTEVTSSSRTS ISGSAESTMLPEISTTRKIIKFPTSPILAESSEMTIKTQTSPPGS TSESTFTLDTSTTPSLVITHSTMTQRLPHSEITTLVSRGAGDVPR PSSLPVEETSPPSSQLSLSAMISPSPVSSTLPASSHSSSASVTSL LTPGQVKTTEVLDASAEPETSSPPSLSSTSVEILATSEVTTDTEK

[0884]

		IHPFSNTAVTKVGTSSSGHESPSSVLPDSETTKATSAMGTISIMG DTSVSTLTPALSNTRKIQSEPASSLTTRLRETSTSEETSLATEAN TVLSKVSTGATTEVSRTEAISFSRTSMSGPEQSTMSQDISIGTIP RISASSVLTESAKMTITTQTGPSESTLESTLNLNTATTPSWVETH SIVIQGFPHPEMTTSMGRGPGGVSWPSPPFVKETSPPSSPLSLPA VTSPHPVSTTFLAHIPPSPLPVTSLLTSGPATTTDILGTSTEPGT SSSSSLSTTSHERLTTYKDTAHTEAVHPSTNTGGTNVATTSSGYK SQSSVLADSSPMCTTSTMGDTSVLTSTPAFLETRRIQTELASSLT PGLRESSGSEGTSSGTKMSTVLSKVPTGATTEISKEDVTSIPGPA QSTISPDISTRTVSWFSTSPVMTESAEITMNTHTSPLGATTQGTS TLDTSSTTSLTMTHSTISQGFSHSQMSTLMRRGPEDVSWMSPPLL EKTRPSFSLMSSPATTSPSPVSSTLPESISSSPLPVTSLLTSGLA KTTDMLHKSSEPVTNSPANLSSTSVEILATSEVTTDTEKTHPSSN RTVTDVGTSSSGHESTSFVLADSQTSKVTSPMVITSTMEDTSVST STPGFFETSRIQTEPTSSLTLGLRKTSSSEGTSLATEMSTVLSGV PTGATAEVSRTEVTSSSRTSISGFAQLTVSPETSTETITRLPTSS IMTESAEMMIKTQTDPPGSTPESTHTVDISTTPNWVETHSTVTQR FSHSEMTTLVSRSPGDMLWPSQSSVEETSSASSLLSLPATTSPSP VSSTLVEDFPSASLPVTSLLNPGLVITTDRMGISREPGTSSTSNL SSTSHERLTTLEDTVDTEDMQPSTHTAVTNVRTSISGHESQSSVL SDSETPKATSPMGTTYTMGETSVSISTSDFFETSRIQIEPTSSLT SGLRETSSSERISSATEGSTVLSEVPSGATTEVSRTEVISSRGTS MSGPDQFTISPDISTEAITRLSTSPIMTESAESAITIETGSPGAT SEGTLTLDTSTTTFWSGTHSTASPGFSHSEMTTLMSRTPGDVPWP SLPSVEEASSVSSSLSSPAMTSTSFFSTLPESISSSPHPVTALLT LGPVKTTDMLRTSSEPETSSPPNLSSTSAEILATSEVTKDREKIH PSSNTPVVNVGTVIYKHLSPSSVLADLVTTKPTSPMATTSTLGNT SVSTSTPAFPETMMTQPTSSLTSGLREISTSQETSSATERSASLS GMPTGATTKVSRTEALSLGRTSTPGPAQSTISPEISTETITRIST PLTTTGSAEMTITPKTGHSGASSQGTFTLDTSSRASWPGTHSAAT HRSPHSGMTTPMSRGPEDVSWPSRPSVEKTSPPSSLVSLSAVTSP SPLYSTPSESSHSSPLRVTSLFTPVMMKTTDMLDTSLEPVTTSPP SMNITSDESLATSKATMETEAIQLSENTAVTQMGTISARQEFYSS YPGLPEPSKVTSPVVTSSTIKDIVSTTIPASSEITRIEMESTSTL TPTPRETSTSQEIHSATKPSTVPYKALTSATIEDSMTQVMSSSRG PSPDQSTMSQDISTEVITRLSTSPIKTESTEMTITTQTGSPGATS RGTLTLDTSTTFMSGTHSTASQGFSHSQMTALMSRTPGDVPWLSH PSVEEASSASFSLSSPVMTSSSPVSSTLPDSIHSSSLPVTSLLTS

[0885]

GLVKTTELLGTSSEPETSSPPNLSSTSAEILAITEVTTDTEKLEM
TNVVTSGYTHESPSSVLADSVTTKATSSMGITYPTGDTNVLTSTP
AFSDTSRIQTKSKLSLTPGLMETSISEETSSATEKSTVLSSVPTG
ATTEVSRTEAISSSRTSIPGPAQSTMSSDTSMETITRISTPLTRK
ESTDMAITPKTGPSGATSQGTFTLDSSSTASWPGTHSATTQRFPQ
SVVTTPMSRGPEDVSWPSPLSVEKNSPPSSLVSSSSVTSPSPLYS
TPSGSSHSSPVPVTSLFTSIMMKATDMLDASLEPETTSAPNMNIT
SDESLAASKATTETEAIHVFENTAASHVETTSATEELYSSSPGFS
EPTKVISPVVTSSSIRDNMVSTTMPGSSGITRIEIESMSSLTPGL
RETRTSQDITSSTETSTVLYKMPSGATPEVSRTEVMPSSRTSIPG
PAQSTMSLDISDEVVTRLSTSPIMTESAEITITTQTGYSLATSQV
TLPLGTSMTFLSGTHSTMSQGLSHSEMTNLMSRGPESLSWTSPRF
VETTRSSSSLTSLPLTTSLSPVSSTLLDSSPSSPLPVTSLILPGL
VKTTEVLDTSSEPKTSSSPNLSSTSVEIPATSEIMTDTEKIHPSS
NTAVAKVRTSSSVHESHSSVLADSETTITIPSMGITSAVDDTTVF
TSNPAFSETRRIPTEPTFSLTPGFRETSTSEETTSITETSAVLYG
VPTSATTEVSMTEIMSSNRIHIPDSDQSTMSPDIITEVITRLSSS
SMMSESTQMTITTQKSSPGATAQSTLTLATTTAPLARTHSTVPPR
FLHSEMTTLMSRSPENPSWKSSLFVEKTSSSSSLLSLPVTTSPSV
SSTLPQSIPSSSFSVTSLLTPGMVKTTDTSTEPGTSLSPNLSGTS
VEILAASEVTTDTEKIHPSSSMAVTNVGTTSSGHELYSSVSIHSE
PSKATYPVGTPSSMAETSISTSMPANFETTGFEAEPFSHLTSGFR
KTNMSLDTSSVTPTNTPSSPGSTHLLQSSKTDFTSSAKTSSPDWP
PASQYTEIPVDIITPFNASPSITESTGITSFPESRFTMSVTESTH
HLSTDLLPSAETISTGTVMPSLSEAMTSFATTGVPRAISGSGSPF
SRTESGPGDATLSTIAESLPSSTPVPFSSSTFTTTDSSTIPALHE
ITSSSATPYRVDTSLGTESSTTEGRLVMVSTLDTSSQPGRTSSSP
ILDTRMTESVELGTVTSAYQVPSLSTRLTRTDGIMEHITKIPNEA
AHRGTIRPVKGPQTSTSPASPKGLHTGGTKRMETTTTALKTTTTA
LKTTSRATLTTSVYTPTLGTLTPLNASMQMASTIPTEMMITTPYV
FPDVPETTSSLATSLGAETSTALPRTTPSVFNRESETTASLVSRS
GAERSPVIQTLDVSSSEPDTTASWVIHPAETIPTVSKTTPNFFHS
ELDTVSSTATSHGADVSSAIPTNISPSELDALTPLVTISGTDTST
TFPTLTKSPHETETRTTWLTHPAETSSTIPRTIPNFSHHESDATP
SIATSPGAETSSAIPIMTVSPGAEDLVTSQVTSSGTDRNMTIPTL
TLSPGEPKTIASLVTHPEAQTSSAIPTSTISPAVSRLVTSMVTSL
AAKTSTTNRALTNSPGEPATTVSLVTHPAQTSPTVPWTTSIFFHS
KSDTTPSMTTSHGAESSSAVPTPTVSTEVPGVVTPLVTSSRAVIS

[0886]

		TTIPILTLSPGEPETTPSMATSHGEEASSAIPTPTVSPGVPGVVT SLVTSSRAVTSTTIPILTFSLGEPETTPSMATSHGTEAGSAVPTV LPEVPGMVTSLVASSRAVTSTTLPTLTLSPGEPETTPSMATSHGA EASSTVPTVSPEVPGVVTSLVTSSSGVNSTSIPTLILSPGELETT PSMATSHGAEASSAVPTPTVSPGVSGVVTPLVTSSRAVTSTTIPI LTLSSSEPETTPSMATSHGVEASSAVLTVSPEVPGMVTSLVTSSR AVTSTTIPTLTISSDEPETTTSLVTHSEAKMISAIPTLAVSPTVQ GLVTSLVTSSGSETSAFSNLTVASSQPETIDSWVAHPGTEASSVV PTLTVSTGEPFTNISLVTHPAESSSTLPRTTSRFSHSELDTMPST VTSPEAESSSAISTTISPGIPGVLTSLVTSSGRDISATFPTVPES PHESEATASWVTHPAVTSTTVPRTTPNYSHSEPDTTPSIATSPGA EATSDFPTITVSPDVPDMVTSQVTSSGTDTSITIPTLTLSSGEPE TTTSFITYSETHTSSAIPTLPVSPGASKMLTSLVISSGTDSTTTF PTLTETPYEPETTAIQLIHPAETNTMVPRTTPKFSHSKSDTTLPV AITSPGPEASSAVSTTTISPDMSDLVTSLVPSSGTDTSTTFPTLS ETPYEPETTATWLTHPAETSTTVSGTIPNFSHRGSDTAPSMVTSP GVDTRSGVPTTTIPPSIPGVVTSQVTSSATDTSTAIPTLTPSPGE PETTASSATHPGTQTGFTVPIRTVPSSEPDTMASWVTHPPQTSTP VSRTTSSFSHSSPDATPVMATSPRTEASSAVLTTISPGAPEMVTS QITSSGAATSTTVPTLTHSPGMPETTALLSTHPRTETSKTFPAST VFPQVSETTASLTIRPGAETSTALPTQTTSSLFTLLVTGTSRVDL SPTASPGVSAKTAPLSTHPGTETSTMIPTSTLSLGLLETTGLLAT SSSAETSTSTLTLTVSPAVSGLSSASITTDKPQTVTSWNTETSPS VTSVGPPEFSRTVTGTTMTLIPSEMPTPPKTSHGEGVSPTTILRT TMVEATNLATTGSSPTVAKTTTTFNTLAGSLFTPLTTPGMSTLAS ESVTSRTSYNHRSWISTTSSYNRRYWTPATSTPVTSTFSPGISTS SIPSSTAATVPFMVPFTLNFTITNLQYEEDMRHPGSRKFNATERE LQGLLKPLFRNSSLEYLYSGCRLASLRPEKDSSATAVDAICTHRP DPEDLGLDRERLYWELSNLTNGIQELGPYTLDRNSLYVNGFTHRS SMPTTSTPGTSTVDVGTSGTPSSSPSPTTAGPLLMPFTLNFTITN LQYEEDMRRTGSRKFNTMESVLQGLLKPLFKNTSVGPLYSGCRLT LLRPEKDGAATGVDAICTHRLDPKSPGLNREQLYWELSKLTNDIE ELGPYTLDRNSLYVNGFTHQSSVSTTSTPGTSTVDLRTSGTPSSL SSPTIMAAGPLLVPFTLNFTITNLQYGEDMGHPGSRKFNTTERVL QGLLGPIFKNTSVGPLYSGCRLTSLRSEKDGAATGVDAICIHHLD PKSPGLNRERLYWELSQLTNGIKELGPYTLDRNSLYVNGFTHRTS VPTSSTPGTSTVDLGTSGTPFSLPSPATAGPLLVLFTLNFTITNL KYEEDMHRPGSRKFNTTERVLQTLLGPMFKNTSVGLLYSGCRLTL

[0887]

		LRSEKDGAATGVDAICTHRLDPKSPGVDREQLYWELSQLTNGIKE LGPYTLDRNSLYVNGFTHWIPVPTSSTPGTSTVDLGSGTPSSLPS PTTAGPLLVPFTLNFTITNLKYEEDMHCPGSRKFNTTERVLQSLL GPMFKNTSVGPLYSGCRLTLLRSEKDGAATGVDAICTHRLDPKSP GVDREQLYWELSQLTNGIKELGPYTLDRNSLYVNGFTHQTSAPNT STPGTSTVDLGTSGTPSSLPSPTSAGPLLVPFTLNFTITNLQYEE DMHHPGSRKFNTTERVLQGLLGPMFKNTSVGLLYSGCRLTLLRPE KNGAATGMDAICSHRLDPKSPGLNREQLYWELSQLTHGIKELGPY TLDRNSLYVNGFTHRSSVAPTSTPGTSTVDLGTSGTPSSLPSPTT AVPLLVPFTLNFTITNLQYGEDMRHPGSRKFNTTERVLQGLLGPL FKNSSVGPLYSGCRLISLRSEKDGAATGVDAICTHHLNPQSPGLD REQLYWQLSQMTNGIKELGPYTLDRNSLYVNGFTHRSSGLTTSTP WTSTVDLGTSGTPSPVPSPTTTGPLLVPFTLNFTITNLQYEENMG HPGSRKFNITESVLQGLLKPLFKSTSVGPLYSGCRLTLLRPEKDG VATRVDAICTHRPDPKIPGLDRQQLYWELSQLTHSITELGPYTLD RDSLYVNGFTQRSSVPTTSTPGTFTVQPETSETPSSLPGPTATGP VLLPFTLNFTITNLQYEEDMRRPGSRKFNTTERVLQGLLMPLFKN TSVSSLYSGCRLTLLRPEKDGAATRVDAVCTHRPDPKSPGLDRER LYWKLSQLTHGITELGPYTLDRHSLYVNGFTHQSSMTTTRTPDTS TMHLATSRTPASLSGPMTASPLLVLFTINFTITNLRYEENMHHPG SRKFNTTERVLQGLLRPVFKNTSVGPLYSGCRLTLLRPKKDGAAT KVDAICTYRPDPKSPGLDREQLYWELSQLTHSITELGPYTLDRDS LYVNGFTQRSSVPTTSIPGTPTVDLGTSGTPVSKPGPSAASPLLV LFTLNFTITNLRYEENMQHPGSRKFNTTERVLQGLLRSLFKSTSV GPLYSGCRLTLLRPEKDGTATGVDAICTHHPDPKSPRLDREQLYW ELSQLTHNITELGPYALDNDSLFVNGFTHRSSVSTTSTPGTPTVY LGASKTPASIFGPSAASHLLILFTLNFTITNLRYEENMWPGSRKF NTTERVLQGLLRPLFKNTSVGPLYSGCRLTLLRPEKDGEATGVDA ICTHRPDPTGPGLDREQLYLELSQLTHSITELGPYTLDRDSLYVN GFTHRSSVPTTSTGVVSEEPFTLNFTINNLRYMADMGQPGSLKFN ITDNVMQHLLSPLFQRSSLGARYTGCRVIALRSVKNGAETRVDLL CTYLQPLSGPGLPIKQVFHELSQQTHGITRLGPYSLDKDSLYLNG YNEPGPDEPPTTPKPATTFLPPLSEATTAMGYHLKTLTLNFTISN LQYSPDMGKGSATFNSTEGVLQHLLRPLFQKSSMGPFYLGCQLIS LRPEKDGAATGVDTTCTYHPDPVGPGLDIQQLYWELSQLTHGVTQ LGFYVLDRDSLFINGYAPQNLSIRGEYQINFHIVNWNLSNPDPTS SEYITLLRDIQDKVTTLYKGSQLHDTFRFCLVTNLTMDSVLVTVK ALFSSNLDPSLVEQVFLDKTLNASFHWLGSTYQLVDIHVTEMESS

[0888]

		VYQPTSSSSTQHFYLNFTITNLPYSQDKAQPGTTNYQRNKRNIED ALNQLFRNSSIKSYFSDCQVSTFRSVPNRHHTGVDSLCNFSPLAR RVDRVAIYEEFLRMTRNGTQLQNFTLDRSSVLVDGYSPNRNEPLT GNSDLPFWAVILIGLAGLLGVITCLICGVLVTTRRRKKEGEYNVQ QQCPGYYQSHLDLEDLQ
SEZ6	231	MRPVALLLLPSLLALLAHGLSLEAPTVGKGQAPGIEETDGELTAA PTPEQPERGVHFVTTAPTLKLLNHHPLLEEFLQEGLEKGDEELRP ALPFQPDPPAPFTPSPLPRLANQDSRPVFTSPTPAMAAVPTQPQS KEGPWSPESESPMLRITAPLPPGPSMAVPTLGPGEIASTTPPSRA WTPTQEGPGDMGRPWVAEVVSQGAGIGIQGTITSSTASGDDEETT TTTTIITTTITTVQTPGPCSWNFSGPEGSLDSPTDLSSPTDVGLD CFFYISVYPGYGVEIKVQNISLREGETVTVEGLGGPDPLPLANQS FLLRGQVIRSPTHQAALRFQSLPPPAGPGTFHFHYQAYLLSCHFP RRPAYGDVTVTSLHPGGSARFHCATGYQLKGARHLTCLNATQPFW DSKEPVCIAACGGVIRNATTGRIVSPGFPGNYSNNLTCHWLLEAP EGQRLHLHFEKVSLAEDDDRLIIRNGDNVEAPPVYDSYEVEYLPI EGLLSSGKHFFVELSTDSSGAAAGMALRYEAFQQGHCYEPFVKYG NFSSSTPTYPVGTTVEFSCDPGYTLEQGSIIIECVDPHDPQWNET EPACRAVCSGEITDSAGVVLSPNWPEPYGRGQDCIWGVHVEEDKR IMLDIRVLRIGPGDVLTFYDGDDLTARVLGQYSGPRSHFKLFTSM ADVTIQFQSDPGTSVLGYQQGFVIHFFEVPRNDTCPELPEIPNGW KSPSQPELVHGTVVTYQCYPGYQVVGSSVLMCQWDLTWSEDLPSC QRVTSCHDPGDVEHSRRLISSPKFPVGATVQYICDQGFVLMGSSI LTCHDRQAGSPKWSDRAPKCLLEQLKPCHGLSAPENGARSPEKQL HPAGATIHFSCAPGYVLKGQASIKCVPGHPSHWSDPPPICRAASL DGFYNSRSLDVAKAPAASSTLDAAHIAAAIFLPLVAMVLLVGGVY FYFSRLQGKSSLQLPRPRPRPYNRITIESAFDNPTYETGSLSFAG DERI
CD56	232	MLQTKDLIWTLFFLGTAVSLQVDIVPSQGEISVGESKFFLCQVAG DAKDKDISWFSPNGEKLTPNQQRISVVWNDDSSSTLTIYNANIDD AGIYKCVVTGEDGSESEATVNVKIFQKLMFKNAPTPQEFREGEDA VIVCDVVSSLPPTIIWKHKGRDVILKKDVRFIVLSNNYLQIRGIK KTDEGTYRCEGRILARGEINFKDIQVIVNVPPTIQARQNIVNATA NLGQSVTLVCDAEGFPEPTMSWTKDGEQIEQEEDDEKYIFSDDSS QLTIKKVDKNDEAEYICIAENKAGEQDATIHLKVFAKPKITYVEN QTAMELEEQVTLTCEASGDPIPSITWRTSTRNISSEEKASWTRPE KQETLDGHMVVRSHARVSSLTLKSIQYTDAGEYICTASNTIGQDS QSMYLEVQYAPKLQGPVAVYTWEGNQVNITCEVFAYPSATISWFR

[0889]

		DGQLLPSSNYSNIKIYNTPSASYLEVTPDSENDFGNYNCTAVNRI GQESLEFILVQADTPSSPSIDQVEPYSSTAQVQFDEPEATGGVPI LKYKAEWRAVGEEVWHSKWYDAKEASMEGIVTIVGLKPETTYAVR LAALNGKGLGEISAASEFKTQPVQGEPSAPKLEGQMGEDGNSIKV NLIKQDDGGSPIRHYLVRYRALSSEWKPEIRLPSGSDHVMLKSLD WNAEYEVYVVAENQQGKSKAAHFVFRTSAQPTAIPANGSPTSGLS TGAIVGILIVIFVLLLVVVDITCYFLNKCGLFMCIAVNLCGKAGP GAKGKDMEEGKAAFSKDESKEPIVEVRTEEERTPNHDGGKHTEPN ETTPLTEPEKGPVEAKPECQETETKPAPAEVKTVPNDATQTKENE SKA
DLL3	233	MVSPRMSGLLSQTVILALIFLPQTRPAGVFELQIHSFGPGPGPGA PRSPCSARLPCRLFFRVCLKPGLSEEAAESPCALGAALSARGPVY TEQPGAPAPDLPLPDGLLQVPFRDAWPGTFSFIIETWREELGDQI GGPAWSLLARVAGRRRLAAGGPWARDIQRAGAWELRFSYRARCEP PAVGTACTRLCRPRSAPSRCGPGLRPCAPLEDECEAPLVCRAGCS PEHGFCEQPGECRCLEGWTGPLCTVPVSTSSCLSPRGPSSATTGC LVPGPGPCDGNPCANGGSCSETPRSFECTCPRGFYGLRCEVSGVT CADGPCFNGGLCVGGADPDSAYICHCPPGFQGSNCEKRVDRCSLQ PCRNGGLCLDLGHALRCRCRAGFAGPRCEHDLDDCAGRACANGGT CVEGGGAHRCSCALGFGGRDCRERADPCAARPCAHGGRCYAHFSG LVCACAPGYMGARCEFPVHPDGASALPAAPPGLRPGDPQRYLLPP ALGLLVAAGVAGAALLLVHVRRRGHSQDAGSRLLAGTPEPSVHAL PDALNNLRTQEGSGDGPSSSVDWNRPEDVDPQGIYVISAPSIYAR EVATPLFPPLHTGRAGQRQHLLFPYPSSILSVK
DLK1	234	MTATEALLRVLLLLLAFGHSTYGAECFPACNPQNGFCEDDNVCRC QPGWQGPLCDQCVTSPGCLHGLCGEPGQCICTDGWDGELCDRDVR ACSSAPCANNRTCVSLDDGLYECSCAPGYSGKDCQKKDGPCVING SPCQHGGTCVDDEGRASHASCLCPPGFSGNFCEIVANSCTPNPCE NDGVCTDIGGDFRCRCPAGFIDKTCSRPVTNCASSPCQNGGTCLQ HTQVSYECLCKPEFTGLTCVKKRALSPQQVTRLPSGYGLAYRLTP GVHELPVQQPEHRILKVSMKELNKKTPLLTEGQAICFTILGVLTS LVVLGTVGIVFLNKCETWVSNLRYNHMLRKKKNLLLQYNSGEDLA VNIIFPEKIDMTTFSKEAGDEEI
B7H3	79	MLRRRGSPGMGVHVGAALGALWFCLTGALEVQVPEDPVVALVGTD ATLCCSFSPEPGFSLAQLNLIWQLTDTKQLVHSFAEGQDQGSAYA NRTALFPDLLAQGNASLRLQRVRVADEGSFTCFVSIRDFGSAAVS LQVAAPYSKPSMTLEPNKDLRPGDTVTITCSSYQGYPEAEVFWQD GQGVPLTGNVTTSQMANEQGLFDVHSILRVVLGANGTYSCLVRNP

[0890]

		VLQQDAHSSVTITPQRSPTGAVEVQVPEDPVVALVGTDATLRCSF SPEPGFSLAQLNLIWQLTDTKQLVHSFTEGRDQGSAYANRTALFP DLLAQGNASLRLQRVRVADEGSFTCFVSIRDFGSAAVSLQVAAPY SKPSMTLEPNKDLRPGDTVTITCSSYRGYPEAEVFWQDGQGVPLT GNVTTSQMANEQGLFDVHSVLRVVLGANGTYSCLVRNPVLQQDAH GSVTITGQPMTFPPEALWVTVGLSVCLIALLVALAFVCWRKIKQS CEEENAGAEDQDGEGEGSKTALQPLKHSDSKEDDGQEIA

[0891] 在一些实施方案中,本文公开的ADC的抗体或抗原结合片段可以包含上表中列出的任何重链和轻链可变结构域组或来自上表中列出的任何一组重链和轻链可变结构域的一组六个CDR。在一些实施方案中,本文公开的ADC的抗体或抗原结合片段可包含经保守修饰的氨基酸序列和/或与上表所列序列同源的氨基酸序列,只要ADC保留结合其靶癌抗原的能力(例如,K_D小于$1x10^{-8}$M)并保留本文公开的ADC的一种或多种功能特性(例如,内化、结合抗原靶,例如肿瘤或其他癌细胞上表达的抗原等的能力)。

[0892] 在一些实施方案中,本文公开的ADC的抗体或抗原结合片段还包含人重链和轻链恒定结构域或其片段。例如,所述ADC的抗体或抗原结合片段可以包含人IgG重链恒定结构域(例如IgG1)和人κ或λ轻链恒定结构域。在一些实施方案中,所述ADC的抗体或抗原结合片段包含人免疫球蛋白G亚型1(IgG1)重链恒定域及人Igκ轻链恒定域。

[0893] 在一些实施方案中,ADC的靶癌抗原是BCMA。

[0894] 在一些实施方案中,抗BCMA抗体或其抗原结合片段包含如下三个重链CDR及三个轻链CDR:由SEQ ID NO:15组成的重链CDR1(HCDR1)、由SEQ ID NO:16组成的重链CDR2(HCDR2)、由SEQ ID NO:17组成的重链CDR3(HCDR3);由SEQ ID NO:18组成的轻链CDR1(LCDR1)、由SEQ ID NO:19组成的轻链CDR2(LCDR2)、和由SEQ ID NO:20组成的轻链CDR3(LCDR3)。

[0895] 在一些实施方案中,抗BCMA抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的重链可变区及包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列的轻链可变区。在一些实施方案中,抗BCMA抗体或其抗原结合片段包含SEQ ID NO:1的重链可变区氨基酸序列及SEQ ID NO:2的轻链可变区氨基酸序列或与公开的序列具有至少95%一致性的序列。在一些实施方案中,抗BCMA抗体或其抗原结合片段具有与SEQ ID NO:1具有至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致性的重链可变区氨基酸序列和/或与SEQ ID NO:2具有至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致性的轻链可变区氨基酸序列。

[0896] 在一些实施方案中,抗BCMA抗体或其抗原结合片段是内化抗体或内化抗原结合片段。在一些实施方案中,抗BCMA抗体包含人IgG1重链恒定结构域或经修饰的IgG1重链恒定结构域。在一些实施方案中,IgG1重链恒定结构域在对应于根据EU编号系统编号的野生型(未修饰)IgG1重链恒定结构域中的152和375的氨基酸位置处包含半胱氨酸残基(C)。在一些实施方案中,IgG1重链恒定结构域在对应于野生型(未修饰)IgG1重链恒定结构域中的156和379的氨基酸位置处包含半胱氨酸残基(C)。在一些实施方案中,抗BCMA抗体包含人Igκ轻链恒定结构域或经修饰的Igκ轻链恒定结构域。

[0897] 在一些实施方案中,抗BCMA抗体包含SEQ ID NO:57的重链氨基酸序列或与SEQ ID NO:57具有至少95%一致性的序列及SEQ ID NO:58的轻链氨基酸序列或与SEQ ID NO:58具有至少95%一致性的序列。在一些实施方案中,抗BCMA抗体包含SEQ ID NO:57的重链氨基

酸序列及SEQ ID NO:58的轻链氨基酸序列或与披露的序列具有至少95%一致性的序列。在一些实施方案中,抗BCMA抗体具有与SEQ ID NO:57具有至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致性的重链氨基酸序列和与SEQ ID NO:58具有至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致性的轻链氨基酸序列。在一些实施方案中,抗BCMA抗体是J6M0(WO 2012/163805)或其抗原结合片段。

[0898] 在一些实施方案中,抗BCMA抗体或其抗原结合片段包含J6M0的三个重链CDR和三个轻链CDR,或者其中CDR包含HCDR1(SEQ ID NO:15)、HCDR2(SEQ ID NO:16)、HCDR3(SEQ ID NO:17)的不超过1个、2个、3个、4个、5个或6个氨基酸添加、缺失或取代;LCDR1(SEQ ID NO:18),LCDR2(SEQ ID NO:19),和LCDR3(SEQ ID NO:20)。

[0899] 在一些实施方案中,ADC的靶癌抗原是CD33。

[0900] 在一些实施方案中,抗CD33抗体或其抗原结合片段包含如下三个重链CDR及三个轻链CDR:由SEQ ID NO:21组成的重链CDR1(HCDR1)、由SEQ ID NO:22组成的重链CDR2(HCDR2)、由SEQ ID NO:23组成的重链CDR3(HCDR3);由SEQ ID NO:24组成的轻链CDRI(LCDR1)、由SEQ ID NO:25组成的轻链CDR2(LCDR2)、和由SEQ ID NO:26组成的轻链CDR3(LCDR3)。

[0901] 在一些实施方案中,抗CD33抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:3的氨基酸序列的重链可变区及包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的轻链可变区。在一些实施方案中,抗CD33抗体或其抗原结合片段包含SEQ ID NO:3的重链可变区氨基酸序列及SEQ ID NO:4的轻链可变区氨基酸序列或与公开的序列具有至少95%一致性的序列。在一些实施方案中,抗CD33抗体或其抗原结合片段具有与SEQ ID NO:3具有至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致性的重链可变区氨基酸序列和/或与SEQ ID NO:4具有至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致性的轻链可变区氨基酸序列。

[0902] 在一些实施方案中,抗CD33抗体或其抗原结合片段是内化抗体或内化抗原结合片段。在一些实施方案中,抗CD33抗体包含人IgG1重链恒定结构域或经修饰的IgG1重链恒定结构域。在一些实施方案中,IgG1重链恒定结构域在对应于野生型(未修饰的)IgG1重链恒定结构域中的297的氨基酸位置处包含谷氨酰胺残基(Q)。在一些实施方案中,抗CD33抗体包含人Igκ轻链恒定结构域或经修饰的Igκ轻链恒定结构域。

[0903] 在一些实施方案中,抗CD33抗体包含SEQ ID NO:59的重链氨基酸序列或与SEQ ID NO:59具有至少95%一致性的序列及SEQ ID NO:60的轻链氨基酸序列或与SEQ ID NO:60具有至少95%一致性的序列。在一些实施方案中,抗CD33抗体包含SEQ ID NO:59的重链氨基酸序列及SEQ ID NO:60的轻链氨基酸序列或与披露的序列具有至少95%一致性的序列。在一些实施方案中,抗CD33抗体具有与SEQ ID NO:59具有至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致性的重链氨基酸序列和与SEQ ID NO:60具有至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致性的轻链氨基酸序列。在一些实施方案中,抗CD33抗体是MuMy9-6ch(US 2013/0078241)或其抗原结合片段。

[0904] 在一些实施方案中,抗CD33抗体或其抗原结合片段包含MuMy9-6ch的三个重链CDR和三个轻链CDR,或者其中CDR包含HCDR1(SEQ ID NO:21)、HCDR2(SEQ ID NO:22)、HCDR3(SEQ ID NO:23)的不超过1个、2个、3个、4个、5个或6个氨基酸添加、缺失或取代;LCDR1(SEQ ID NO:24),LCDR2(SEQ ID NO:25),和LCDR3(SEQ ID NO:26)。

[0905] 在一些实施方案中,抗CD33抗体或其抗原结合片段包含如下三个重链CDR及三个轻链CDR:由SEQ ID NO:27组成的重链CDR1(HCDR1)、由SEQ ID NO:28组成的重链CDR2(HCDR2)、由SEQ ID NO:29组成的重链CDR3(HCDR3);由SEQ ID NO:30组成的轻链CDR1(LCDR1)、由SEQ ID NO:31组成的轻链CDR2(LCDR2)、和由SEQ ID NO:32组成的轻链CDR3(LCDR3)。

[0906] 在一些实施方案中,抗CD33抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:5的氨基酸序列的重链可变区及包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的轻链可变区。在一些实施方案中,抗CD33抗体或其抗原结合片段包含SEQ ID NO:5的重链可变区氨基酸序列及SEQ ID NO:6的轻链可变区氨基酸序列或与公开的序列具有至少95%一致性的序列。在一些实施方案中,抗CD33抗体或其抗原结合片段具有与SEQ ID NO:5具有至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致性的重链可变区氨基酸序列和/或与SEQ ID NO:6具有至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致性的轻链可变区氨基酸序列。

[0907] 在一些实施方案中,抗CD33抗体或其抗原结合片段是内化抗体或内化抗原结合片段。在一些实施方案中,抗CD33抗体包含人IgG1重链恒定结构域或经修饰的IgG1重链恒定结构域。在一些实施方案中,IgG1重链恒定结构域在对应于根据EU编号系统编号的野生型(未修饰)IgG1重链恒定结构域中的152和375的氨基酸位置处包含半胱氨酸残基(C)。

[0908] 在一些实施方案中,抗CD33抗体包含SEQ ID NO:61的重链氨基酸序列或与SEQ ID NO:61具有至少95%一致性的序列及SEQ ID NO:62的轻链氨基酸序列或与SEQ ID NO:62具有至少95%一致性的序列。在一些实施方案中,抗CD33抗体包含SEQ ID NO:61的重链氨基酸序列及SEQ ID NO:62的轻链氨基酸序列或与披露的序列具有至少95%一致性的序列。在一些实施方案中,抗CD33抗体具有与SEQ ID NO:61具有至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致性的重链氨基酸序列和与SEQ ID NO:62具有至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致性的轻链氨基酸序列。在一些实施方案中,抗CD33抗体是吉妥珠单抗或其抗原结合片段。

[0909] 在一些实施方案中,抗CD33抗体或其抗原结合片段包含吉妥珠单抗的三个重链CDR和三个轻链CDR,或者其中CDR包含HCDR1(SEQ ID NO:27)、HCDR2(SEQ ID NO:28)、HCDR3(SEQ ID NO:29)的不超过1个、2个、3个、4个、5个或6个氨基酸添加、缺失或取代;LCDR1(SEQ ID NO:30),LCDR2(SEQ ID NO:31),和LCDR3(SEQ ID NO:32)。

[0910] 在一些实施方案中,ADC的靶癌抗原是PCAD。

[0911] 在一些实施方案中,抗PCAD抗体或其抗原结合片段包含如下三个重链CDR及三个轻链CDR:由SEQ ID NO:33组成的重链CDR1(HCDR1)、由SEQ ID NO:34组成的重链CDR2(HCDR2)、由SEQ ID NO:35组成的重链CDR3(HCDR3);由SEQ ID NO:36组成的轻链CDRI(LCDR1)、由SEQ ID NO:37组成的轻链CDR2(LCDR2)、和由SEQ ID NO:38组成的轻链CDR3(LCDR3)。

[0912] 在一些实施方案中,抗PCAD抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的重链可变区及包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列的轻链可变区。在一些实施方案中,抗PCAD抗体或其抗原结合片段包含SEQ ID NO:7的重链可变区氨基酸序列及SEQ ID NO:8的轻链可变区氨基酸序列或与公开的序列具有至少95%一致性的序列。在一些实施方案中,抗PCAD抗体或其抗原结合片段具有与SEQ ID NO:7具有至少96%、至少97%、至少98%

或至少99％一致性的重链可变区氨基酸序列和/或与SEQ ID NO:8具有至少96％、至少97％、至少98％或至少99％一致性的轻链可变区氨基酸序列。

[0913] 在一些实施方案中,抗PCAD抗体或其抗原结合片段是内化抗体或内化抗原结合片段。在一些实施方案中,抗PCAD抗体包含人IgG1重链恒定结构域或经修饰的IgG1重链恒定结构域。在一些实施方案中,IgG1重链恒定结构域在对应于根据EU编号系统编号的野生型(未修饰)IgG1重链恒定结构域中的152和375的氨基酸位置处包含半胱氨酸残基(C)。

[0914] 在一些实施方案中,抗PCAD抗体包含SEQ ID NO:63的重链氨基酸序列或与SEQ ID NO:63具有至少95％一致性的序列及SEQ ID NO:64的轻链氨基酸序列或与SEQ ID NO:64具有至少95％一致性的序列。在一些实施方案中,抗PCAD抗体包含SEQ ID NO:63的重链氨基酸序列及SEQ ID NO:64的轻链氨基酸序列或与披露的序列具有至少95％一致性的序列。在一些实施方案中,抗PCAD抗体具有与SEQ ID NO:63具有至少96％、至少97％、至少98％或至少99％一致性的重链氨基酸序列和与SEQ ID NO:64具有至少96％、至少97％、至少98％或至少99％一致性的轻链氨基酸序列。在一些实施方案中,抗PCAD抗体是NOV169N31Q(WO 2016/203432)或其抗原结合片段。

[0915] 在一些实施方案中,抗PCAD抗体或其抗原结合片段包含NOV169N31Q的三个重链CDR和三个轻链CDR,或者其中CDR包含HCDR1(SEQ ID NO:33)、HCDR2(SEQ ID NO:34)、HCDR3(SEQ ID NO:35)的不超过1个、2个、3个、4个、5个或6个氨基酸添加、缺失或取代;LCDR1(SEQ ID NO:36),LCDR2(SEQ ID NO:37),和LCDR3(SEQ ID NO:38)。

[0916] 在一些实施方案中,ADC的靶癌抗原是HER2。

[0917] 在一些实施方案中,抗HER2抗体或其抗原结合片段包含如下三个重链CDR及三个轻链CDR:由SEQ ID NO:39组成的重链CDR1(HCDR1)、由SEQ ID NO:40组成的重链CDR2(HCDR2)、由SEQ ID NO:41组成的重链CDR3(HCDR3);由SEQ ID NO:42组成的轻链CDR1(LCDR1)、由SEQ ID NO:43组成的轻链CDR2(LCDR2)、和由SEQ ID NO:44组成的轻链CDR3(LCDR3)。

[0918] 在一些实施方案中,抗HER2抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:9的氨基酸序列的重链可变区及包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列的轻链可变区。在一些实施方案中,抗HER2抗体或其抗原结合片段包含SEQ ID NO:9的重链可变区氨基酸序列及SEQ ID NO:10的轻链可变区氨基酸序列或与公开的序列具有至少95％一致性的序列。在一些实施方案中,抗HER2抗体或其抗原结合片段具有与SEQ ID NO:9具有至少96％、至少97％、至少98％或至少99％一致性的重链可变区氨基酸序列和/或与SEQ ID NO:10具有至少96％、至少97％、至少98％或至少99％一致性的轻链可变区氨基酸序列。

[0919] 在一些实施方案中,抗HER2抗体或其抗原结合片段是内化抗体或内化抗原结合片段。在一些实施方案中,抗HER2抗体包含人IgG1重链恒定结构域或经修饰的IgG1重链恒定结构域。在一些实施方案中,IgG1重链恒定结构域在对应于野生型(未修饰的)IgG1重链恒定结构域中的297的氨基酸位置处包含谷氨酰胺残基(Q)。在一些实施方案中,IgG1重链恒定结构域在对应于野生型(未修饰的)IgG1重链恒定结构域中的297的氨基酸位置处包含丝氨酸残基(S)。在一些实施方案中,IgG1重链恒定结构域在对应于根据EU编号系统编号的野生型(未修饰)IgG1重链恒定结构域中的152和375的氨基酸位置处包含半胱氨酸残基(C)。在一些实施方案中,抗HER2抗体包含人Igκ轻链恒定结构域或经修饰的Igκ轻链恒定结构

域。

[0920] 在一些实施方案中,抗HER2抗体包含SEQ ID NO:65的重链氨基酸序列或与SEQ ID NO:65具有至少95%一致性的序列及SEQ ID NO:66的轻链氨基酸序列或与SEQ ID NO:66具有至少95%一致性的序列。在一些实施方案中,抗HER2抗体包含SEQ ID NO:65的重链氨基酸序列及SEQ ID NO:66的轻链氨基酸序列或与披露的序列具有至少95%一致性的序列。在一些实施方案中,抗HER2抗体具有与SEQ ID NO:65具有至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致性的重链氨基酸序列和与SEQ ID NO:66具有至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致性的轻链氨基酸序列。在一些实施方案中,抗HER2抗体是曲妥珠单抗(美国专利号5,821,337和6,870,034;另见Molina等人(2001)Cancer Res.61(12):4744-9)或其抗原结合片段。

[0921] 在一些实施方案中,抗HER2抗体或其抗原结合片段包含曲妥珠单抗的三个重链CDR和三个轻链CDR,或者其中CDR包含HCDR1(SEQ ID NO:39)、HCDR2(SEQ ID NO:40)、HCDR3(SEQ ID NO:41)的不超过1个、2个、3个、4个、5个或6个氨基酸添加、缺失或取代;LCDR1(SEQ ID NO:42),LCDR2(SEQ ID NO:43),和LCDR3(SEQ ID NO:44)。

[0922] 在一些实施方案中,ADC的靶癌抗原是CD38。

[0923] 在一些实施方案中,抗CD38抗体或其抗原结合片段包含如下三个重链CDR及三个轻链CDR:由SEQ ID NO:45组成的重链CDR1(HCDR1)、由SEQ ID NO:46组成的重链CDR2(HCDR2)、由SEQ ID NO:47组成的重链CDR3(HCDR3);由SEQ ID NO:48组成的轻链CDR1(LCDR1)、由SEQ ID NO:49组成的轻链CDR2(LCDR2)、和由SEQ ID NO:50组成的轻链CDR3(LCDR3)。

[0924] 在一些实施方案中,抗CD38抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:11的氨基酸序列的重链可变区及包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列的轻链可变区。在一些实施方案中,抗CD38抗体或其抗原结合片段包含SEQ ID NO:11的重链可变区氨基酸序列及SEQ ID NO:12的轻链可变区氨基酸序列或与公开的序列具有至少95%一致性的序列。在一些实施方案中,抗CD38抗体或其抗原结合片段具有与SEQ ID NO:11具有至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致性的重链可变区氨基酸序列和/或与SEQ ID NO:12具有至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致性的轻链可变区氨基酸序列。

[0925] 在一些实施方案中,抗CD38抗体或其抗原结合片段是内化抗体或内化抗原结合片段。在一些实施方案中,抗CD38抗体包含人IgG1重链恒定结构域或经修饰的IgG1重链恒定结构域。在一些实施方案中,IgG1重链恒定结构域在对应于根据EU编号系统编号的野生型(未修饰)IgG1重链恒定结构域中的152和375的氨基酸位置处包含半胱氨酸残基(C)。

[0926] 在一些实施方案中,抗CD38抗体包含SEQ ID NO:67的重链氨基酸序列或与SEQ ID NO:67具有至少95%一致性的序列及SEQ ID NO:68的轻链氨基酸序列或与SEQ ID NO:68具有至少95%一致性的序列。在一些实施方案中,抗CD33抗体包含SEQ ID NO:67的重链氨基酸序列及SEQ ID NO:68的轻链氨基酸序列或与披露的序列具有至少95%一致性的序列。在一些实施方案中,抗CD38抗体具有与SEQ ID NO:67具有至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致性的重链氨基酸序列和与SEQ ID NO:68具有至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致性的轻链氨基酸序列。在一些实施方案中,抗CD38抗体是达雷木单抗或其抗原结合片段。

[0927] 在一些实施方案中,抗CD38抗体或其抗原结合片段包含吉妥珠单抗的三个重链CDR和三个轻链CDR,或者其中CDR包含HCDR1(SEQ ID NO:45)、HCDR2(SEQ ID NO:46)、HCDR3(SEQ ID NO:47)的不超过1个、2个、3个、4个、5个或6个氨基酸添加、缺失或取代;LCDR1(SEQ ID NO:48),LCDR2(SEQ ID NO:49),和LCDR3(SEQ ID NO:50)。

[0928] 在一些实施方案中,ADC的靶癌抗原是CD46。

[0929] 在一些实施方案中,抗CD46抗体或抗原结合片段是WO2018/089807中描述的那些,该文献通过引用并入本文。在一些实施方案中,抗CD46抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:90的氨基酸序列的重链可变区及包含SEQ ID NO:91的氨基酸序列的轻链可变区。在一些实施方案中,抗CD46抗体或其抗原结合片段包含SEQ ID NO:90的重链可变区氨基酸序列及SEQ ID NO:91的轻链可变区氨基酸序列或与公开的序列具有至少95%一致性的序列。在一些实施方案中,抗CD46抗体或其抗原结合片段具有与SEQ ID NO:90具有至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致性的重链可变区氨基酸序列和/或与SEQ ID NO:91具有至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致性的轻链可变区氨基酸序列。

[0930] 在一些实施方案中,ADC的靶癌抗原是CD48。

[0931] 在一些实施方案中,抗CD48抗体或其抗原结合片段包含如下三个重链CDR及三个轻链CDR:由SEQ ID NO:51组成的重链CDR1(HCDR1)、由SEQ ID NO:52组成的重链CDR2(HCDR2)、由SEQ ID NO:53组成的重链CDR3(HCDR3);由SEQ ID NO:54组成的轻链CDR1(LCDR1)、由SEQ ID NO:55组成的轻链CDR2(LCDR2)、和由SEQ ID NO:56组成的轻链CDR3(LCDR3)。

[0932] 在一些实施方案中,抗CD48抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:13的氨基酸序列的重链可变区及包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列的轻链可变区。在一些实施方案中,抗CD48抗体或其抗原结合片段包含SEQ ID NO:13的重链可变区氨基酸序列及SEQ ID NO:14的轻链可变区氨基酸序列或与公开的序列具有至少95%一致性的序列。在一些实施方案中,抗CD48抗体或其抗原结合片段具有与SEQ ID NO:13具有至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致性的重链可变区氨基酸序列和/或与SEQ ID NO:14具有至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致性的轻链可变区氨基酸序列。

[0933] 在一些实施方案中,抗CD48抗体或其抗原结合片段是内化抗体或内化抗原结合片段。在一些实施方案中,抗CD48抗体包含人IgG1重链恒定结构域或经修饰的IgG1重链恒定结构域。在一些实施方案中,IgG1重链恒定结构域在对应于根据EU编号系统编号的野生型(未修饰)IgG1重链恒定结构域中的152和375的氨基酸位置处包含半胱氨酸残基(C)。

[0934] 在一些实施方案中,抗CD48抗体包含SEQ ID NO:69的重链氨基酸序列或与SEQ ID NO:69具有至少95%一致性的序列及SEQ ID NO:70的轻链氨基酸序列或与SEQ ID NO:70具有至少95%一致性的序列。在一些实施方案中,抗CD48抗体包含SEQ ID NO:69的重链氨基酸序列及SEQ ID NO:70的轻链氨基酸序列或与披露的序列具有至少95%一致性的序列。在一些实施方案中,抗CD48抗体具有与SEQ ID NO:69具有至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致性的重链氨基酸序列和与SEQ ID NO:70具有至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致性的轻链氨基酸序列。在一些实施方案中,抗CD48抗体是SGN-48A或其抗原结合片段。

[0935] 在一些实施方案中,抗CD48抗体或其抗原结合片段包含吉妥珠单抗的三个重链

CDR和三个轻链CDR,或者其中CDR包含HCDR1(SEQ ID NO:51)、HCDR2(SEQ ID NO:52)、HCDR3(SEQ ID NO:53)的不超过1个、2个、3个、4个、5个或6个氨基酸添加、缺失或取代;LCDR1(SEQ ID NO:54),LCDR2(SEQ ID NO:55),和LCDR3(SEQ ID NO:56)。

[0936] 在一些实施方案中,ADC的靶癌抗原是CD79B。

[0937] 在一些实施方案中,抗CD48抗体或其抗原结合片段包含如下三个重链CDR及三个轻链CDR:由SEQ ID NO:82组成的重链CDR1(HCDR1)、由SEQ ID NO:83组成的重链CDR2(HCDR2)、由SEQ ID NO:84组成的重链CDR3(HCDR3);由SEQ ID NO:85组成的轻链CDR1(LCDR1)、由SEQ ID NO:86组成的轻链CDR2(LCDR2)、和由SEQ ID NO:87组成的轻链CDR3(LCDR3)。

[0938] 在一些实施方案中,抗CD79B抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:80的氨基酸序列的重链可变区及包含SEQ ID NO:81的氨基酸序列的轻链可变区。在一些实施方案中,抗CD79B抗体或其抗原结合片段包含SEQ ID NO:80的重链可变区氨基酸序列及SEQ ID NO:81的轻链可变区氨基酸序列或与公开的序列具有至少95%一致性的序列。在一些实施方案中,抗CD79B抗体或其抗原结合片段具有与SEQ ID NO:80具有至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致性的重链可变区氨基酸序列和/或与SEQ ID NO:81具有至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致性的轻链可变区氨基酸序列。

[0939] 在一些实施方案中,抗CD79B抗体或其抗原结合片段是内化抗体或内化抗原结合片段。在一些实施方案中,抗CD79B抗体包含人IgG1重链恒定结构域或经修饰的IgG1重链恒定结构域。在一些实施方案中,IgG1重链恒定结构域在对应于根据EU编号系统编号的野生型(未修饰)IgG1重链恒定结构域中的152和375的氨基酸位置处包含半胱氨酸残基(C)。

[0940] 在一些实施方案中,抗CD79B抗体包含SEQ ID NO:88的重链氨基酸序列或与SEQ ID NO:88具有至少95%一致性的序列及SEQ ID NO:89的轻链氨基酸序列或与SEQ ID NO:89具有至少95%一致性的序列。在一些实施方案中,抗CD79B抗体包含SEQ ID NO:88的重链氨基酸序列及SEQ ID NO:89的轻链氨基酸序列或与披露的序列具有至少95%一致性的序列。在一些实施方案中,抗CD79B抗体具有与SEQ ID NO:88具有至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致性的重链氨基酸序列和与SEQ ID NO:89具有至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致性的轻链氨基酸序列。在一些实施方案中,抗CD79B抗体是polatizumab或其抗原结合片段。

[0941] 在一些实施方案中,抗CD79B抗体或其抗原结合片段包含吉妥珠单抗的三个重链CDR和三个轻链CDR,或者其中CDR包含HCDR1(SEQ ID NO:82)、HCDR2(SEQ ID NO:83)、HCDR3(SEQ ID NO:84)的不超过1个、2个、3个、4个、5个或6个氨基酸添加、缺失或取代;LCDR1(SEQ ID NO:85),LCDR2(SEQ ID NO:86),和LCDR3(SEQ ID NO:87)。

[0942] 在一些实施方案中,抗EGFR抗体包含SEQ ID NO:92的重链氨基酸序列或与SEQ ID NO:92具有至少95%一致性的序列及SEQ ID NO:93的轻链氨基酸序列或与SEQ ID NO:93具有至少95%一致性的序列。在一些实施方案中,抗EGFR抗体包含SEQ ID NO:92的重链氨基酸序列及SEQ ID NO:93的轻链氨基酸序列或与披露的序列具有至少95%一致性的序列。在一些实施方案中,抗EGFR抗体具有与SEQ ID NO:92具有至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致性的重链氨基酸序列和与SEQ ID NO:93具有至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致性的轻链氨基酸序列。在一些实施方案中,抗EGFR抗体是西妥昔单抗或其抗

原结合片段。

[0943] 在一些实施方案中，抗EGFR抗体包含SEQ ID NO:124的重链氨基酸序列或与SEQ ID NO:124具有至少95％一致性的序列及SEQ ID NO:125的轻链氨基酸序列或与SEQ ID NO:125具有至少95％一致性的序列。在一些实施方案中，抗EGFR抗体包含SEQ ID NO:124的重链氨基酸序列及SEQ ID NO:125的轻链氨基酸序列或与披露的序列具有至少95％一致性的序列。在一些实施方案中，抗EGFR抗体具有与SEQ ID NO:124具有至少96％、至少97％、至少98％或至少99％一致性的重链氨基酸序列和与SEQ ID NO:125具有至少96％、至少97％、至少98％或至少99％一致性的轻链氨基酸序列。

[0944] 在一些实施方案中，抗TFRC抗体包含SEQ ID NO:94的重链氨基酸序列或与SEQ ID NO:94具有至少95％一致性的序列及SEQ ID NO:95的轻链氨基酸序列或与SEQ ID NO:95具有至少95％一致性的序列。在一些实施方案中，抗TFRC抗体包含SEQ ID NO:94的重链氨基酸序列及SEQ ID NO:95的轻链氨基酸序列或与披露的序列具有至少95％一致性的序列。在一些实施方案中，抗TFRC抗体具有与SEQ ID NO:94具有至少96％、至少97％、至少98％或至少99％一致性的重链氨基酸序列和与SEQ ID NO:95具有至少96％、至少97％、至少98％或至少99％一致性的轻链氨基酸序列。

[0945] 在一些实施方案中，抗EPCAM抗体包含SEQ ID NO:96的重链氨基酸序列或与SEQ ID NO:96具有至少95％一致性的序列及SEQ ID NO:97的轻链氨基酸序列或与SEQ ID NO:97具有至少95％一致性的序列。在一些实施方案中，抗EPCAM抗体包含SEQ ID NO:96的重链氨基酸序列及SEQ ID NO:97的轻链氨基酸序列或与披露的序列具有至少95％一致性的序列。在一些实施方案中，抗TFRC抗体具有与SEQ ID NO:96具有至少96％、至少97％、至少98％或至少99％一致性的重链氨基酸序列和与SEQ ID NO:97具有至少96％、至少97％、至少98％或至少99％一致性的轻链氨基酸序列。在一些实施方案中，抗EPCAM抗体是奥波尔珠单抗或其抗原结合片段。

[0946] 在一些实施方案中，抗FOLR1抗体包含SEQ ID NO:98的重链氨基酸序列或与SEQ ID NO:98具有至少95％一致性的序列及SEQ ID NO:99的轻链氨基酸序列或与SEQ ID NO:99具有至少95％一致性的序列。在一些实施方案中，抗FOLR1抗体包含SEQ ID NO:98的重链氨基酸序列及SEQ ID NO:99的轻链氨基酸序列或与披露的序列具有至少95％一致性的序列。在一些实施方案中，抗FOLR1抗体具有与SEQ ID NO:98具有至少96％、至少97％、至少98％或至少99％一致性的重链氨基酸序列和与SEQ ID NO:99具有至少96％、至少97％、至少98％或至少99％一致性的轻链氨基酸序列。在一些实施方案中，抗FOLR1抗体是米维妥昔单抗或其抗原结合片段。

[0947] 在一些实施方案中，抗ENPP3抗体包含SEQ ID NO:100的重链氨基酸序列或与SEQ ID NO:100具有至少95％一致性的序列及SEQ ID NO:101的轻链氨基酸序列或与SEQ ID NO:101具有至少95％一致性的序列。在一些实施方案中，抗ENPP3抗体包含SEQ ID NO:100的重链氨基酸序列及SEQ ID NO:101的轻链氨基酸序列或与披露的序列具有至少95％一致性的序列。在一些实施方案中，抗ENPP3抗体具有与SEQ ID NO:100具有至少96％、至少97％、至少98％或至少99％一致性的重链氨基酸序列和与SEQ ID NO:101具有至少96％、至少97％、至少98％或至少99％一致性的轻链氨基酸序列。

[0948] 在一些实施方案中，抗MET抗体包含SEQ ID NO:102的重链氨基酸序列或与SEQ ID

NO:102具有至少95%一致性的序列及SEQ ID NO:103的轻链氨基酸序列或与SEQ ID NO:103具有至少95%一致性的序列。在一些实施方案中,抗MET抗体包含SEQ ID NO:102的重链氨基酸序列及SEQ ID NO:103的轻链氨基酸序列或与披露的序列具有至少95%一致性的序列。在一些实施方案中,抗MET抗体具有与SEQ ID NO:102具有至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致性的重链氨基酸序列和与SEQ ID NO:103具有至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致性的轻链氨基酸序列。在一些实施方案中,抗MET抗体是特利索珠单抗或其抗原结合片段。

[0949] 在一些实施方案中,抗AXL抗体包含SEQ ID NO:104的重链氨基酸序列或与SEQ ID NO:104具有至少95%一致性的序列及SEQ ID NO:105的轻链氨基酸序列或与SEQ ID NO:105具有至少95%一致性的序列。在一些实施方案中,抗AXL抗体包含SEQ ID NO:104的重链氨基酸序列及SEQ ID NO:105的轻链氨基酸序列或与披露的序列具有至少95%一致性的序列。在一些实施方案中,抗AXL抗体具有与SEQ ID NO:104具有至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致性的重链氨基酸序列和与SEQ ID NO:105具有至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致性的轻链氨基酸序列。在一些实施方案中,抗AXL抗体是依那泊他单抗或其抗原结合片段。

[0950] 在一些实施方案中,抗SLC34A2抗体包含SEQ ID NO:106的重链氨基酸序列或与SEQ ID NO:106具有至少95%一致性的序列及SEQ ID NO:107的轻链氨基酸序列或与SEQ ID NO:107具有至少95%一致性的序列。在一些实施方案中,抗SLC34A2抗体包含SEQ ID NO:106的重链氨基酸序列及SEQ ID NO:107的轻链氨基酸序列或与披露的序列具有至少95%一致性的序列。在一些实施方案中,抗SLC34A2抗体具有与SEQ ID NO:106具有至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致性的重链氨基酸序列和与SEQ ID NO:107具有至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致性的轻链氨基酸序列。在一些实施方案中,抗SLC34A2抗体是利法妥珠单抗或其抗原结合片段。

[0951] 在一些实施方案中,抗NECTIN4抗体包含SEQ ID NO:108的重链氨基酸序列或与SEQ ID NO:108具有至少95%一致性的序列及SEQ ID NO:109的轻链氨基酸序列或与SEQ ID NO:109具有至少95%一致性的序列。在一些实施方案中,抗NECTIN4抗体包含SEQ ID NO:108的重链氨基酸序列及SEQ ID NO:109的轻链氨基酸序列或与披露的序列具有至少95%一致性的序列。在一些实施方案中,抗NECTIN4抗体具有与SEQ ID NO:108具有至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致性的重链氨基酸序列和与SEQ ID NO:109具有至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致性的轻链氨基酸序列。在一些实施方案中,抗NECTIN4抗体是恩福单抗或其抗原结合片段。

[0952] 在一些实施方案中,抗TACSTD2抗体包含SEQ ID NO:110的重链氨基酸序列或与SEQ ID NO:110具有至少95%一致性的序列及SEQ ID NO:111的轻链氨基酸序列或与SEQ ID NO:111具有至少95%一致性的序列。在一些实施方案中,抗TACSTD2抗体包含SEQ ID NO:110的重链氨基酸序列及SEQ ID NO:111的轻链氨基酸序列或与披露的序列具有至少95%一致性的序列。在一些实施方案中,抗TACSTD2抗体具有与SEQ ID NO:110具有至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致性的重链氨基酸序列和与SEQ ID NO:111具有至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致性的轻链氨基酸序列。在一些实施方案中,抗TACSTD2抗体是沙珠单抗或其抗原结合片段。

[0953] 在一些实施方案中，抗SLC39A6抗体包含SEQ ID NO:112的重链氨基酸序列或与SEQ ID NO:112具有至少95％一致性的序列及SEQ ID NO:113的轻链氨基酸序列或与SEQ ID NO:113具有至少95％一致性的序列。在一些实施方案中，抗SLC39A6抗体包含SEQ ID NO:112的重链氨基酸序列及SEQ ID NO:113的轻链氨基酸序列或与披露的序列具有至少95％一致性的序列。在一些实施方案中，抗SLC39A6抗体具有与SEQ ID NO:112具有至少96％、至少97％、至少98％或至少99％一致性的重链氨基酸序列和与SEQ ID NO:113具有至少96％、至少97％、至少98％或至少99％一致性的轻链氨基酸序列。在一些实施方案中，抗SLC39A6抗体是拉迪拉珠单抗或其抗原结合片段。

[0954] 在一些实施方案中，抗GPNMB抗体包含SEQ ID NO:114的重链氨基酸序列或与SEQ ID NO:114具有至少95％一致性的序列及SEQ ID NO:115的轻链氨基酸序列或与SEQ ID NO:115具有至少95％一致性的序列。在一些实施方案中，抗GPNMB抗体包含SEQ ID NO:114的重链氨基酸序列及SEQ ID NO:115的轻链氨基酸序列或与披露的序列具有至少95％一致性的序列。在一些实施方案中，抗GPNMB抗体具有与SEQ ID NO:114具有至少96％、至少97％、至少98％或至少99％一致性的重链氨基酸序列和与SEQ ID NO:115具有至少96％、至少97％、至少98％或至少99％一致性的轻链氨基酸序列。在一些实施方案中，抗GPNMB抗体是格伦巴妥单抗或其抗原结合片段。

[0955] 在一些实施方案中，抗MSLN抗体包含SEQ ID NO:116的重链氨基酸序列或与SEQ ID NO:116具有至少95％一致性的序列及SEQ ID NO:117的轻链氨基酸序列或与SEQ ID NO:117具有至少95％一致性的序列。在一些实施方案中，抗MSLN抗体包含SEQ ID NO:116的重链氨基酸序列及SEQ ID NO:117的轻链氨基酸序列或与披露的序列具有至少95％一致性的序列。在一些实施方案中，抗MSLN抗体具有与SEQ ID NO:116具有至少96％、至少97％、至少98％或至少99％一致性的重链氨基酸序列和与SEQ ID NO:117具有至少96％、至少97％、至少98％或至少99％一致性的轻链氨基酸序列。在一些实施方案中，抗MSLN抗体是阿奈单抗或其抗原结合片段。

[0956] 在一些实施方案中，抗CD74抗体包含SEQ ID NO:118的重链氨基酸序列或与SEQ ID NO:118具有至少95％一致性的序列及SEQ ID NO:119的轻链氨基酸序列或与SEQ ID NO:119具有至少95％一致性的序列。在一些实施方案中，抗CD74抗体包含SEQ ID NO:118的重链氨基酸序列及SEQ ID NO:119的轻链氨基酸序列或与披露的序列具有至少95％一致性的序列。在一些实施方案中，抗CD74抗体具有与SEQ ID NO:118具有至少96％、至少97％、至少98％或至少99％一致性的重链氨基酸序列和与SEQ ID NO:119具有至少96％、至少97％、至少98％或至少99％一致性的轻链氨基酸序列。在一些实施方案中，抗CD74抗体是米拉妥珠单抗或其抗原结合片段。

[0957] 在一些实施方案中，抗F3抗体包含SEQ ID NO:120的重链氨基酸序列或与SEQ ID NO:120具有至少95％一致性的序列及SEQ ID NO:121的轻链氨基酸序列或与SEQ ID NO:121具有至少95％一致性的序列。在一些实施方案中，抗F3抗体包含SEQ ID NO:120的重链氨基酸序列及SEQ ID NO:121的轻链氨基酸序列或与披露的序列具有至少95％一致性的序列。在一些实施方案中，抗F3抗体具有与SEQ ID NO:120具有至少96％、至少97％、至少98％或至少99％一致性的重链氨基酸序列和与SEQ ID NO:121具有至少96％、至少97％、至少98％或至少99％一致性的轻链氨基酸序列。在一些实施方案中，抗F3抗体是替索单抗或其

抗原结合片段。

[0958] 在一些实施方案中，抗MUC16抗体包含SEQ ID NO:122的重链氨基酸序列或与SEQ ID NO:122具有至少95％一致性的序列及SEQ ID NO:123的轻链氨基酸序列或与SEQ ID NO:123具有至少95％一致性的序列。在一些实施方案中，抗MUC16抗体包含SEQ ID NO:122的重链氨基酸序列及SEQ ID NO:123的轻链氨基酸序列或与披露的序列具有至少95％一致性的序列。在一些实施方案中，抗MUC16抗体具有与SEQ ID NO:122具有至少96％、至少97％、至少98％或至少99％一致性的重链氨基酸序列和与SEQ ID NO:123具有至少96％、至少97％、至少98％或至少99％一致性的轻链氨基酸序列。在一些实施方案中，抗MUC16抗体是替索单抗或其抗原结合片段。

[0959] 在一些实施方案中，抗CD7抗体包含SEQ ID NO:143的重链氨基酸序列或与SEQ ID NO:143具有至少95％一致性的序列及SEQ ID NO:144的轻链氨基酸序列或与SEQ ID NO:144具有至少95％一致性的序列。在一些实施方案中，抗CD7抗体包含SEQ ID NO:143的重链氨基酸序列及SEQ ID NO:144的轻链氨基酸序列或与披露的序列具有至少95％一致性的序列。在一些实施方案中，抗CD7抗体具有与SEQ ID NO:143具有至少96％、至少97％、至少98％或至少99％一致性的重链氨基酸序列和与SEQ ID NO:144具有至少96％、至少97％、至少98％或至少99％一致性的轻链氨基酸序列。

[0960] 如果两个或更多个多肽中的残基占据多肽结构中的类似位置，则称这些残基“对应”。两个或更多个多肽中的类似位置可以通过基于氨基酸序列或结构相似性比对多肽序列来确定。本领域技术人员理解，可能需要在任一序列中引入空位以产生令人满意的比对。

[0961] 在一些实施方案中，氨基酸取代是单个残基的。插入通常约为约1至约20个氨基酸残基，但只要保留生物功能(例如，与靶抗原结合)，可以容忍相当大的插入。缺失通常在约1至约20个氨基酸残基的范围内，尽管在一些情况下缺失可能大得多。取代、缺失、插入或其任何组合可用于得到最终衍生物或变体。通常这些变化在少数氨基酸上进行，从而将分子的改变，特别是抗原结合蛋白的免疫原性和特异性最小化。然而，在某些情况下，可以耐受更大变化。可以按照表7所示的图表进行保守取代。

[0962] 表7

原始残基	示例性取代
Ala	Ser
Arg	Lys
Asn	Gln, His
Asp	Glu
Cys	Ser
Gln	Asn
Glu	Asp
Gly	Pro
His	Asn, Gln
Ile	Leu, Val
Leu	Ile, Val
Lys	Arg, Gln, Glu
Met	Leu, Ile
Phe	Met, Leu, Tyr
Ser	Thr
Thr	Ser
Trp	Tyr
Tyr	Trp, Phe
Val	Ile, Leu

[0963]

[0964] 在变体抗体序列用于ADC的一些实施方案中，变体通常表现出相同定性的生物活性并将引发相同的免疫应答，尽管也可以根据需要选择变体来修饰抗原结合蛋白的特征。可替代地，可以设计变体以改变抗原结合蛋白的生物活性。例如，可以改变或去除糖基化位点。

[0965] 各种抗体可以与本文所用的ADC一起使用以靶向癌细胞。如下所示，本文公开的ADC中的接头负载对于不同的肿瘤抗原靶向抗体出乎意料地有效。在癌细胞而非健康细胞上表达的合适抗原，或者在癌细胞上以高于健康细胞的水平表达的合适抗原是本领域已知的，针对它们的抗体也是如此。本领域技术人员可以制备针对那些抗原靶标的其他抗体。这些抗体可以与本文公开的接头和Bcl-xL抑制剂负载一起使用。在一些实施方案中，抗体或抗原结合片段靶向BCMA，并且靶向BCMA的抗体或抗原结合片段是J6M0。在一些实施方案中，抗体或抗原结合片段靶向CD33，并且在一些实施方案中，靶向CD33的抗体或抗原结合片段是MuMy9-6ch。在一些实施方案中，抗体或抗原结合片段靶向PCAD，并且在一些实施方案中，靶向PCAD的抗体或抗原结合片段是NOV169N31Q。在一些实施方案中，抗体或抗原结合片段靶向HER2，并且在一些实施方案中，靶向HER2的抗体或抗原结合片段是曲妥珠单抗。在一些实施方案中，虽然所公开的接头和Bcl-xL抑制剂负载对于几种不同的肿瘤靶向抗体是出人

意料地有效，但是BCMA靶向抗体如J6M0、CD33靶向抗体如MuMy9-6ch、PCAD靶向抗体如NOV169N31Q和HER2靶向抗体如曲妥珠单抗提供了特别改善的药物：抗体比率、聚集水平、稳定性(即，体外和体内稳定性)、肿瘤靶向性(即，细胞毒性、效力)、最小化脱靶杀伤和/或治疗功效。经改善的治疗功效可在活体外或活体内量测，且可包括经减慢的肿瘤生长速率和/或经减小的肿瘤体积。

[0966] 在一些实施方案中，使用针对相同靶标的替代抗体或针对不同抗原靶标的抗体，并且提供至少一些上述有利的功能特性(例如，改进的稳定性、改进的肿瘤靶向性、改进的治疗功效等)。在一些实施方案中，当所公开的接头和Bcl-xL抑制剂负载缀合至替代性EGFR、CD7或HER2靶向抗体或抗原结合片段时，观察到这些有利的功能特性中的一些或全部。在一些其他实施方案中，当所公开的接头和Bcl-xL抑制剂负载缀合至EGFR靶向抗体或抗原结合片段时，观察到这些有利的功能特性中的一些或全部。在一些实施方案中，抗体或抗原结合片段靶向EGFR。在一些实施方案中，EGFR靶向抗体或抗原结合片段是J6M0。在其他实施方案中，当所公开的接头和Bcl-xL抑制剂负载缀合至CD7靶向抗体或抗原结合片段时，观察到这些有利的功能特性中的一些或全部。在一些实施方案中，抗体或抗原结合片段靶向CD7。在一些实施方案中，靶向CD7的抗体或抗原结合片段是MuMy9-6ch。在其他实施方案中，当所公开的接头和Bcl-xL抑制剂负载缀合至HER2靶向抗体或抗原结合片段时，观察到这些有利的功能特性中的一些或全部。在一些实施方案中，抗体或抗原结合片段靶向HER2。在一些实施方案中，HER2靶向抗体或抗原结合片段是曲妥珠单抗。

[0967] 接头

[0968] 在一些实施方案中，ADC中的接头以足以具治疗有效性的方式具胞外稳定性。在一些实施方案中，接头在细胞外部稳定以使得ADC在存在于细胞外条件(例如，在转运或递送至细胞中之前)中时保持完整。在ADC上下文中使用的术语“完整”是指抗体或抗原结合片段保持附接于药物部分(例如，Bcl-xL抑制剂)。

[0969] 如本文所用，在接头或包含接头的ADC的上下文中，“稳定”是指当ADC存在于细胞外条件下时，ADC样品中不超过20％、不超过约15％、不超过约10％、不超过约5％、不超过约3％或不超过约1％的接头(或其间的任何百分比)被切割(或在整个ADC不完整的情况下)。在一些实施方案中，与替代性接头和/或具有替代性接头和/或Bcl-xL抑制剂负载的ADC相比，本文公开的接头和/或ADC是稳定的。在一些实施方案中，本文公开的ADC可以保持完整超过约48小时、超过60小时、超过约72小时、超过约84小时或超过约96小时。

[0970] 可例如通过在血浆中包括ADC达预先确定的时间段(例如，2、4、6、8、16、24、48或72小时)且随后定量血浆中存在的游离药物部分的量来确定接头在细胞外是否稳定。稳定性可以使ADC有时间定位到靶向癌细胞并防止药物部分过早释放，这可能会通过不加区别地损害正常组织和癌症组织来降低ADC的治疗指数。在一些实施方案中，接头在靶细胞外部稳定且一旦处于细胞内部则自ADC释放药物部分，使得药物可结合其靶标。因此，有效的接头将：(i)维持抗体或抗原结合片段的特异性结合特性；(ii)允许经由稳定连接至抗体或抗原结合片段而递送(例如，细胞内递送)药物部分；(iii)保持稳定和完整，直到ADC被运输或递送到其靶位点；以及(iv)允许切割或替代性释放机制之后的药物部分的治疗作用，例如，细胞毒性作用。

[0971] 接头可能会影响ADC的物理化学性质。由于许多细胞毒性剂本质上是疏水性的，因

此用另外的疏水部分将它们与抗体连接可能会导致聚集。ADC聚集体是不溶性的，通常会限制抗体上可实现的药物负载，这会对ADC的效力产生负面影响。一般来说，生物制品的蛋白质聚集体也与免疫原性增加有关。如下所示，本文公开的接头产生具有低聚集水平和期望的药物负载水平的ADC。

[0972] 接头可以是“可切割的”或“不可切割的”(Ducry和Stump(2010)Bioconjugate Chem.21:5-13)。可切割接头被设计为在受到某些环境因素时(例如，当内化到靶细胞中时)释放药物部分(例如，Bcl-xL抑制剂)，而不可切割的接头通常依赖于抗体或抗原结合片段本身的降解。

[0973] 如本文所使用的，术语“烷基”是指仅由碳和氢原子组成的直链或支链烃链基团，所述基团中不存在不饱和。如本文所使用的，术语“C_1-C_6烷基”是指仅由碳和氢原子组成的直链或支链烃链基团，所述基团中不存在不饱和，具有从一个至六个碳原子，并且通过单键附接到分子的其余部分。“C_1-C_6烷基”基团的非限制性实例包括甲基(C_1烷基)、乙基(C_2烷基)、1-甲基乙基(C_3烷基)、正丙基(C_3烷基)、异丙基(C_3烷基)、正丁基(C_4烷基)、异丁基(C_4烷基)、仲丁基(C_4烷基)、叔丁基(C_4烷基)、正戊基(C_5烷基)、异戊基(C_5烷基)、新戊基(C_5烷基)和己基(C_6烷基)。

[0974] 如本文所使用的，术语“烯基”是指仅由碳和氢原子组成的直链或支链烃链基团，所述基团包含至少一个双键。如本文所使用的，术语“C_2-C_6烯基”是指仅由碳和氢原子组成的直链或支链烃链基团，所述基团包含至少一个双键，具有从两个至六个碳原子，通过单键附接到分子的其余部分。“C_2-C_6烯基”基团的非限制性实例包括乙烯基(C_2烯基)、丙-1-烯基(C_3烯基)、丁-1-烯基(C_4烯基)、戊-1-基(C_5烯基)、戊-4-基(C_5烯基)、戊-1,4-二烯基(C_5烯基)、六-1-烯基(C_6烯基)、六-2-烯基(C_6烯基)、六-3-烯基(C_6烯基)、六-1-,4-二烯基(C_6烯基)、六-1-,5-二烯基(C_6烯基)和六-2-,4-二烯基(C_6烯基)。如本文所使用的，术语“C_2-C_3烯基”是指仅由碳和氢原子组成的直链或支链烃链基团，所述基团包含至少一个双键，具有从两个至三个碳原子，通过单键附接到分子的其余部分。“C_2-C_3烯基”基团的非限制性实例包括乙烯基(C_2烯基)和丙-1-烯基(C_3烯基)。

[0975] 如本文所使用的，术语“亚烷基”是指仅由碳和氢原子组成的二价直链或支链烃链基团，所述基团中不存在不饱和。如本文所使用的，术语“C_1-C_6亚烷基”是指仅由碳和氢原子组成的二价直链或支链烃链基团，所述基团中不存在不饱和，具有从一个至六个碳原子。“C_1-C_6亚烷基”基团的非限制性实例包括亚甲基(C_1亚烷基)、亚乙基(C_2亚烷基)、1-甲基亚乙基(C_3亚烷基)、正亚丙基(C_3亚烷基)、异亚丙基(C_3亚烷基)、正亚丁基(C_4亚烷基)、异亚丁基(C_4亚烷基)、仲亚丁基(C_4亚烷基)、叔亚丁基(C_4亚烷基)、正亚戊基(C_5亚烷基)、异亚戊基(C_5亚烷基)、新亚戊基(C_5亚烷基)和亚己基(C_6亚烷基)。

[0976] 如本文所使用的，术语“亚烯基”是指仅由碳和氢原子组成的二价直链或支链烃链基团，所述基团包含至少一个双键。如本文所使用的，术语“C_2-C_6亚烯基”是指仅由碳和氢原子组成的二价直链或支链烃链基团，所述基团包含至少一个双键，并且具有从两个至六个碳原子。“C_2-C_6亚烯基”基团的非限制性实例包括亚乙烯基(C_2亚烯基)、丙-1-亚烯基(C_3亚烯基)、丙-1-亚烯基(C_3亚烯基)、丁-1-亚烯基(C_4亚烯基)、戊-1-亚烯基(C_5亚烯基)、戊-4-亚烯基(C_5亚烯基)、戊-1,4-二亚烯基(C_5亚烯基)、己-1-亚烯基(C_6亚烯基)、己-2-亚烯基(C_6亚烯基)、己-3-亚烯基(C_6亚烯基)、己-1-,4-二亚烯基(C_6亚烯基)、己-1-,5-二亚烯基

(C_6亚烯基)和己-2-,4-二烯基(C_6亚烯基)。如本文所使用的,术语"C_2-C_6亚烯基"是指仅由碳和氢原子组成的二价直链或支链烃链基团,所述基团包含至少一个双键,并且具有从两个至三个碳原子。"C_2-C_3亚烯基"基团的非限制性实例包括亚乙烯基(C_2亚烯基)和丙-1-亚烯基(C_2亚烯基)和丙-1-亚烯基(C_3亚烯基)。

[0977] 如本文所使用的,术语"环烷基"、或"C_3-C_8环烷基"是指饱和、单环、稠合二环、稠合三环或桥接多环形环系统。稠合双环或桥连多环系统的非限制性实例包括双环[1.1.1]戊烷、双环[2.1.1]己烷、双环[2.2.1]庚烷、双环[3.1.1]庚烷、双环[3.2.1]辛烷、双环[2.2.2]辛烷和金刚烷基。单环C_3-C_8环烷基的非限制性实例包括环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基和环辛基。

[0978] 本文所用的术语"芳基"是指苯基、萘基、联苯基或茚基。

[0979] 本文所用的术语"杂芳基"是指由5至10个环成员组成的任何单环或双环基团,其具有至少一个芳族部分并含有1至4个选自氧、硫和氮的杂原子(包括季氮)。

[0980] 本文所用的术语"环烷基"是指含有3至10个环成员的任何单环或双环非芳族碳环基团,其可包括稠合、桥连或螺环系统。稠合双环或桥连系统的非限制性实例包括双环[1.1.1]戊烷、双环[2.1.1]己烷、双环[2.2.1]庚烷、双环[3.1.1]庚烷、双环[3.2.1]辛烷和双环[2.2.2]辛烷。单环C_3-C_8环烷基的非限制性实例包括环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基和环辛基。

[0981] 术语"杂环烷基"是指任何单环或双环非芳族碳环基团,由3至10个环成员组成,并且含有1至3个选自氧、硫、SO2、SO22和氮的杂原子,应当理解,双环基团可以是稠合的或螺环类型的。C_3-C_8杂环烷基是指具有3至8个环碳原子的杂环烷基。杂环烷基可具有4至10个环成员。

[0982] 术语杂亚芳基、环亚烷基、杂环亚烷基是指二价杂芳基、环烷基和杂环烷基。

[0983] 本文所用的术语"卤代烷基"是指沿烃链被一个或多个卤素基团代替氢取代的直链或支链烷基链。适合在卤代烷基中取代的卤素基团的实例包括氟、溴、氯和碘。卤代烷基可包括用多个卤素基团取代烷基链中的氢,其中所述卤素基团可连接至烷基链中的相同碳或另一个碳。

[0984] 如本文所用,烷基、烯基、炔基、烷氧基、氨基、芳基、杂芳基、环烷基、和杂环烷基可任选被1至4个选自以下的基团取代:任选取代的直链或支链(C_1-C_6)烷基、任选取代的直链或支链(C_2-C_6)烯基、任选取代的直链或支链(C_2-C_6)炔基、任选取代的直链或支链(C_1-C_6)烷氧基、任选取代的(C_1-C_6)烷基-S-、羟基、氧代(或适当时的N-氧化物)、硝基、氰基、-C(O)-OR_0'、-O-C(O)-R_0'、-C(O)-NR_0'R_0"、-NR_0'R_0"、-(C=NR_0')-OR_0"、直链或支链(C_1-C_6)卤代烷基、三氟甲氧基、或卤素、其中R_0'和R_0"各自独立地是氢原子或任选取代的直链或支链(C_1-C_6)烷基、并且其中直链或支链(C_1-C_6)烷基的一个或多个碳原子任选地被氘代。

[0985] 本文使用的术语"聚氧乙烯"、"聚乙二醇"或"PEG"是指由(OCH_2CH_2)基团组成的直链、支链或星形构型。在某些实施方案中,聚乙烯或PEG基团是-(OCH_2CH_2)$_t$*-,其中t是140或4-40,并且其中"-"表示指向自分解间隔基的末端,"*-"表示与末端基团R′的附接点,其中R′是OH、OCH_3或OCH_2CH_2C(=O)OH。在其他实施方案中,聚乙烯或PEG基团是-(CH_2CH_2O)$_t$*-,其中t是1-40或4-40,其中"-"表示指向自分解间隔基的末端,"*-"表示与末端基团R″的附接点,其中R″是H、CH_3或CH_2CH_2C(=O)OH。例如,本文所用的术语"PEG12"是指t为12。

[0986] 本文使用的术语“聚亚烷基二醇”是指由$(O(CH_2)_m)_n$基团组成的直链、支链或星形构型。在某些实施方案中，聚乙烯或PEG基团是-$(O(CH_2)_m)_t$*-，其中m是1-10，t是1-40或4-40，并且其中“-”表示指向自分解间隔基的末端，“*-”表示与末端基团R′的附接点，其中R′是OH、OCH_3或$OCH_2CH_2C(=O)OH$。在其他实施方案中，聚乙烯或PEG基团是-$((CH_2)_mO)_t$*-，其中m是1-10，t是1-40或4-40，并且其中“-”表示指向自分解间隔基的末端，“*-”表示与末端基团R′的附接点，其中R′是H、CH_3或$CH_2CH_2C(=O)OH$。

[0987] 如本文所用，术语“反应性基团”是能够与抗体、抗体片段的官能团或附接于抗体或抗体片段的另一反应性基团形成共价键的官能团。此类官能团的非限制性实例包括本文提供的表8的反应性基团。

[0988] 如本文所用，术语“附接基团”或“偶联基团”是指将桥连间隔基连接至抗体或其片段的二价部分。连接或偶联基团是通过反应性基团与抗体或其片段上的官能团之间的反应形成的二价部分。此类二价部分的非限制性实例包括本文提供的表8和表9中给出的二价化学部分。

[0989] 本文所用的术语“桥连间隔基”是指共价连接在一起以形成二价部分的一个或多个接头组分，该二价部分将二价肽间隔基连接至反应性基团、将二价肽间隔基连接至偶联基团、或将附接基团连接至至少一个可切割基团。在某些实施方案中，“桥连间隔基”包含通过酰胺键附接至二价肽间隔基的N末端的羧基。

[0990] 如本文所用，术语“间隔基部分”是指共价连接在一起以形成将自分解间隔基连接至亲水部分的部分的一个或多个接头组分。

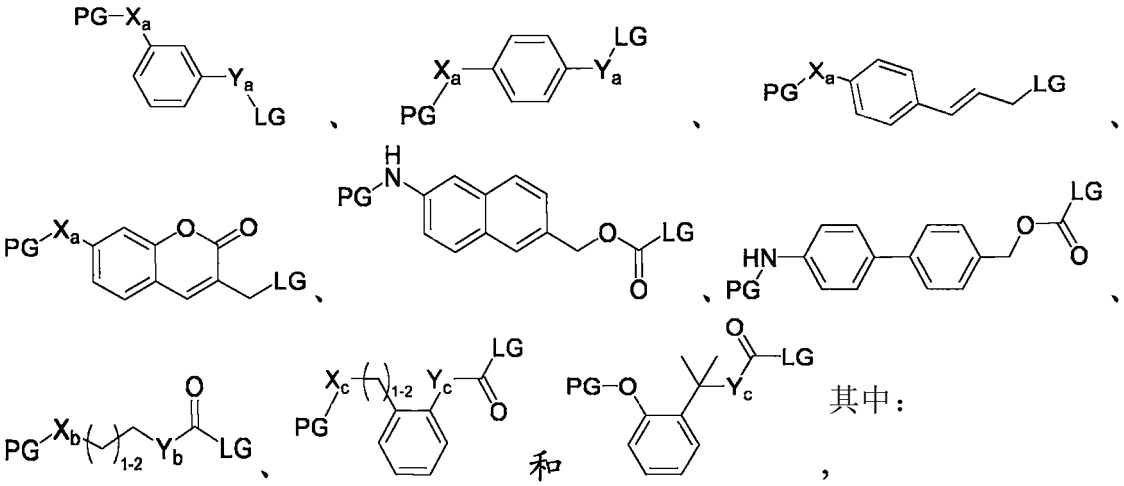
[0991] 如本文所用，术语“二价肽间隔基”是指包含一个或多个共价连接在一起以形成将桥连间隔基连接至自分解间隔基的部分的氨基酸残基的二价连接基。一个或多个氨基酸残基可以是选自丙氨酸(Ala)、半胱氨酸(Cys)、天门冬氨酸(Asp)、谷氨基酸(Glu)、苯丙氨酸(Phe)、甘氨酸(Gly)、组氨酸(His)、异亮氨酸(Ile)、赖氨酸(Lys)、亮氨酸(Leu)、甲硫氨酸(Met)、天冬酰胺(Asn)、脯氨酸(Pro)、谷氨酰胺(Gln)、精氨酸(Arg)、丝氨酸(Ser)、苏氨酸(Thr)、缬氨酸(Val)、色氨酸(Trp)、酪氨酸(Tyr)、瓜氨酸(Cit)、戊氨酸(Nva)、正亮氨酸(Nle)、硒代半胱氨酸(Sec)、吡咯赖氨酸(Pyl)、高丝氨酸、高半胱氨酸和去甲基吡咯赖氨酸。

[0992] 在某些实施方案中，“二价肽间隔基”是2至4个氨基酸残基的组合，其中每个残基独立地选自丙氨酸(Ala)、半胱氨酸(Cys)、天门冬氨酸(Asp)、谷氨基酸(Glu)、苯丙氨酸(Phe)、甘氨酸(Gly)、组氨酸(His)、异亮氨酸(Ile)、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)、精氨酸(Arg)、丝氨酸(Ser)、苏氨酸(Thr)、缬氨酸(Val)、色氨酸(Trp)、酪氨酸(Tyr)、瓜氨酸(Cit)、戊氨酸(Nva)、正亮氨酸(Nle)、硒代半胱氨酸(Sec)、吡咯赖氨酸(Pyl)、高丝氨酸、高半胱氨酸和去甲基吡咯赖氨酸;-CitVal*;-AlaAla*;-AlaCit*;-CitAla*;-AsnCit*;-CitAsn*;-CitCit*;-ValGlu*;-GluVal*;-SerCit*;-CitSer*;-LysCit*;-CitLys*;-AspCit*;-CitAsp*;-AlaVal*;-ValAla*;-PheAla*;-AlaPhe*;-PheLys*;-LysPhe*;-ValLys*;-LysVal*;-AlaLys*;-LysAla*;-PheCit*;-CitPhe*;-LeuCit*;-CitLeu*;-IleCit*;-CitIle*;-PheArg*;-ArgPhe*;-CitTrp*;-TrpCit*;-PhePheLys*;-LysPhePhe*;-DPhePheLys*;-DLysPhePhe*;-GlyPheLys*;-LysPheGly*;-GlyPheLeuGly-[SEQ ID NO:145];-GlyLeeuPheGly-[SEQ ID

NO:146];-AlaLeuAlaLeu-[SEQ ID NO:147],-GlyGlyGly*;-GlyGlyGlyGly-[SEQ ID NO:148];-GlyPheValGly-[SEQ ID NO:149];和-GlyValPheGly-[SEQ ID NO:150],其中“-”表示与桥连间隔基的附接点,“*”表示与自分解间隔基的附接点。

[0993] 如本文所用,术语“接头组分”是指作为接头一部分的化学部分。接头组分的实例包括:亚烷基基团:-$(CH_2)_n$-,其可以是直链的或支链的(其中在这种情况下n是1-18);亚烯基基团;亚炔基基团;烯基基团;炔基基团;乙二醇单元:-OCH_2CH_2-或-CH_2CH_2O-;聚乙二醇单元:$(-CH_2CH_2O-)_x$(其中x在本例中为2-20);-O-;-S-;羰基:-C(=O);酯:C(=O)-O或O-C(=O);碳酸盐:-OC(=O)O-;胺:-NH-;叔胺;酰胺:-C(=O)-NH-、-NH-C(=O)-或-C(=O)N(C_{1-6}烷基);氨基甲酸酯:-OC(=O)NH-或-NHC(=O)O;脲:-NHC(=O)NH;磺酰胺类:-$S(O)_2NH$-或-$NHS(O)_2$;醚:-CH_2O-或-OCH_2-;被一个或多个独立地选自羧基、磺酸酯、羟基、胺、氨基酸、糖、磷酸和膦酸酯的基团取代的亚烷基;被一个或多个独立地选自羧基、磺酸酯、羟基、胺、氨基酸、糖、磷酸和膦酸酯的基团取代的亚烯基;被一个或多个独立地选自羧基、磺酸酯、羟基、胺、氨基酸、糖、磷酸和膦酸酯的基团取代的亚炔基;C_1-$C_1$0亚烷基,其中一个或多个亚甲基被一个或多个-S-、-NH-或-O-部分替换;具有两个可用附接点的环系统,例如选自苯基(包括1,2-、1,3-和1,4-二取代的苯基)、C_5-C_6杂芳基、C_3-C_8环烷基(包括1,1-二取代的环丙基、环丁基、环戊基或环己基、以及1,4-二取代的环己基)和C_4-C_8杂环烷基;选自以下的氨基酸残基:丙氨酸(Ala)、半胱氨酸(Cys)、天门冬氨酸(Asp)、谷氨基酸(Glu)、苯丙氨酸(Phe)、甘氨酸(Gly)、组氨酸(His)、异亮氨酸(Ile)、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)、精氨酸(Arg)、丝氨酸(Ser)、苏氨酸(Thr)、缬氨酸(Val)、色氨酸(Trp)、酪氨酸(Tyr)、瓜氨酸(Cit)、戊氨酸(Nva)、正亮氨酸(Nle)、硒代半胱氨酸(Sec)、吡咯赖氨酸(Pyl)、高丝氨酸、高半胱氨酸和去甲基吡咯赖氨酸;2个或更多个氨基酸残基的组合,其中每个残基独立地选自选自如下氨基酸的残基:丙氨酸(Ala)、半胱氨酸(Cys)、天门冬氨酸(Asp)、谷氨基酸(Glu)、苯丙氨酸(Phe)、甘氨酸(Gly)、组氨酸(His)、异亮氨酸(Ile)、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)、精氨酸(Arg)、丝氨酸(Ser)、苏氨酸(Thr)、缬氨酸(Val)、色氨酸(Trp)、酪氨酸(Tyr)、瓜氨酸(Cit)、戊氨酸(Nva)、正亮氨酸(Nle)、硒代半胱氨酸(Sec)、吡咯赖氨酸(Pyl)、高丝氨酸、高半胱氨酸和去甲基吡咯赖氨酸,例如Val-Cit;Cit-Val;Ala-Ala;Ala-Cit;Cit-Ala;Asn-Cit;Cit-Asn;Cit-Cit;Val-Glu;Glu-Val;Ser-Cit;Cit-Ser;Lys-Cit;Cit-Lys;Asp-Cit;Cit-Asp;Ala-Val;Val-Ala;Phe-Lys;Lys-Phe;Val-Lys;Lys-Val;Ala-Lys;Lys-Ala;Phe-Cit;Cit-Phe;Leu-Cit;Cit-Leu;Ile-Cit;Cit-Ile;Phe-Arg;Arg-Phe;Cit-Trp;和Trp-Cit;和自分解间隔基,其中所述自分解间隔基包含一个或多个对酸诱导的切割、肽酶诱导的切割、酯酶诱导的切割、糖苷酶诱导的切割、磷酸二酯酶诱导的切割、磷酸酶诱导裂解、蛋白酶诱导裂解、脂肪酶诱导裂解或二硫键裂解敏感的保护(触发)基团。

[0994] 这种自分解间隔基的非限制性实例包括:

[0995] 

其中：

[0996] PG是保护(触发)基团；

[0997] X_a是O、NH或S；

[0998] X_b是O、NH、NCH_3或S；

[0999] X_c是O或NH；

[1000] Y_a是CH_2、CH_2O或CH_2NH；

[1001] Y_b是CH_2、O或NH；

[1002] Y_c是键、CH_2、O或NH，并且

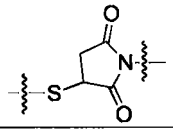
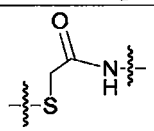
[1003] LG是离去基团，例如本发明的接头-药物基团的药物部分(D)。

[1004] 这种自分解间隔基的另外的非限制性实例描述于Angew.Chem.Int.Ed.2015,54,7492-7509。

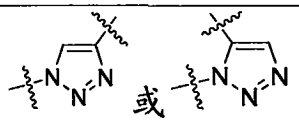
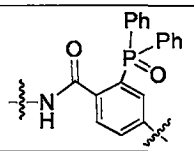
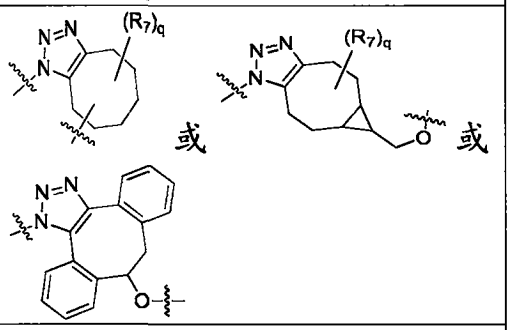
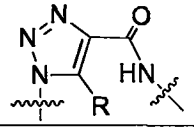
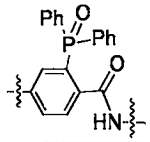
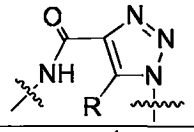
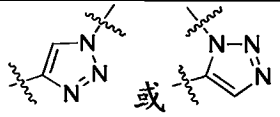
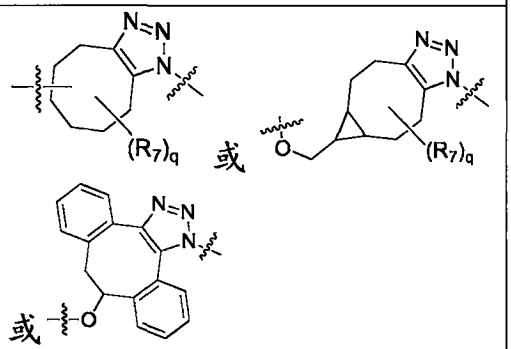
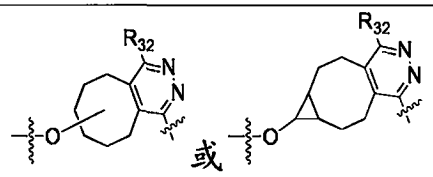
[1005] 另外，接头组分可以是通过两个反应性基团之间的反应容易形成的化学部分。表8中给出了此类化学部分的非限制性实例。

[1006] 表8

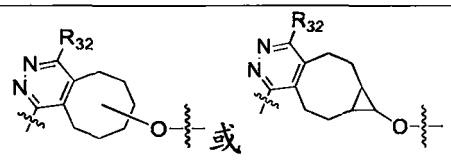
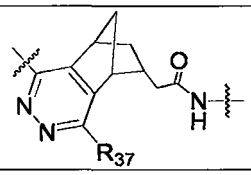
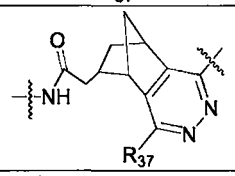
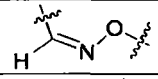
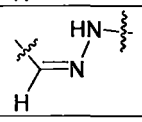
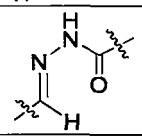
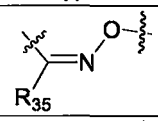
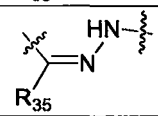
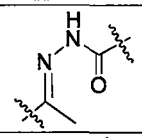
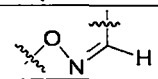
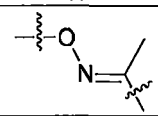
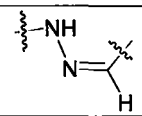
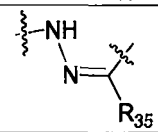
[1007]

反应性基团 1（RG1）	反应性基团 2（RG2）	化学部分
硫醇	硫醇	-S-S-
硫醇	马来酰亚胺	
硫醇	卤代乙酰胺	

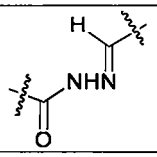
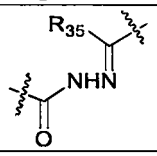
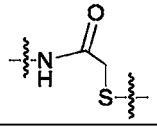
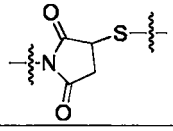
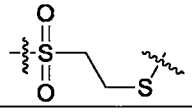
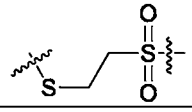
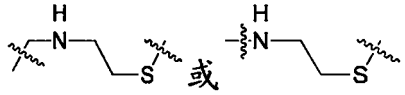
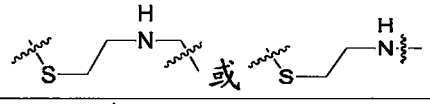
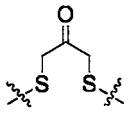
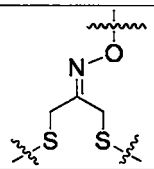
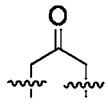
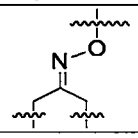
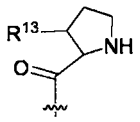
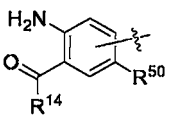
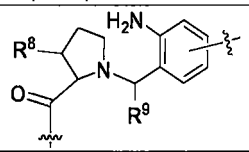
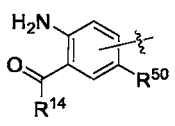
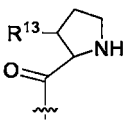
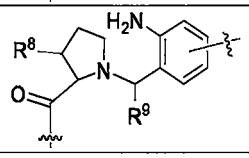
[1008]

反应性基团 1（RG1）	反应性基团 2（RG2）	化学部分
叠氮化物	炔烃	
叠氮化物	三芳基膦	
叠氮化物	环辛炔	
叠氮化物	氧杂降冰片二烯	
三芳基膦	叠氮化物	
氧杂降冰片二烯	叠氮化物	
炔烃	叠氮化物	
环辛炔	叠氮化物	
环辛烯	二芳基四嗪	

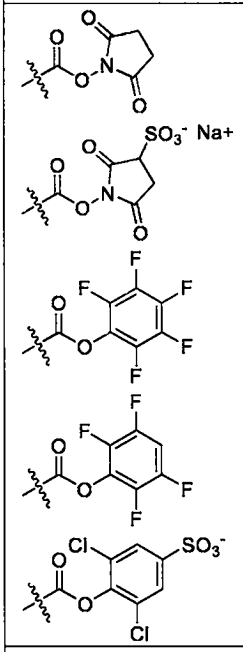
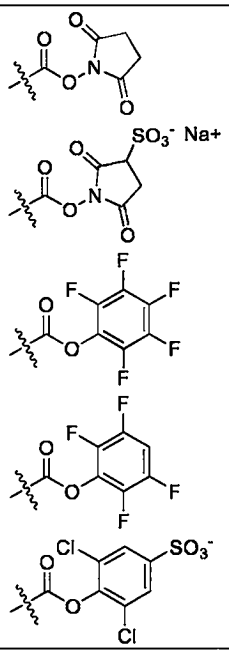
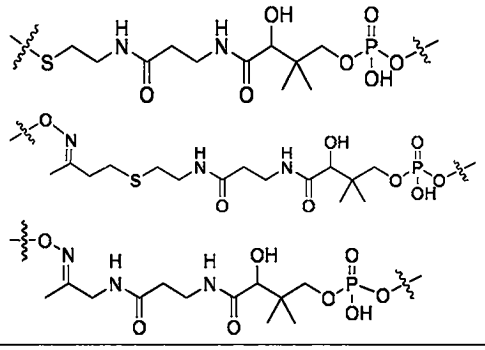
[1009]

反应性基团 1（RG1）	反应性基团 2（RG2）	化学部分
二芳基四嗪	环辛烯	
单芳基四嗪	降冰片烯	
降冰片烯	单芳基四嗪	
醛	羟胺	
醛	肼	
醛	NH_2-NH-C(=O)-	
酮	羟胺	
酮	肼	
酮	NH_2-NH-C(=O)-	
羟胺	醛	
羟胺	酮	
肼	醛	
肼	酮	

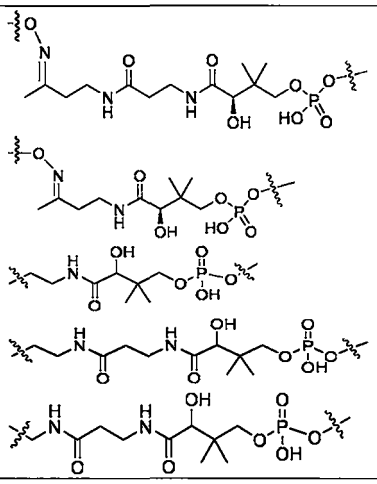
[1010]

反应性基团 1（RG1）	反应性基团 2（RG2）	化学部分
NH_2-NH-C(=O)-	醛	
NH_2-NH-C(=O)-	酮	
卤代乙酰胺	硫醇	
马来酰亚胺	硫醇	
乙烯基砜	硫醇	
硫醇	乙烯基砜	
氮杂环丙烷	硫醇	
硫醇	氮杂环丙烷	
	羟胺	
	羟胺	
		
		

[1011]

反应性基团 1（RG1）	反应性基团 2（RG2）	化学部分
	-NH_2，	酰胺
-NH_2，		酰胺
CoA 或 CoA 类似物	丝氨酸残基	

[1012]

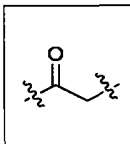
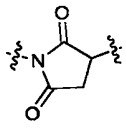
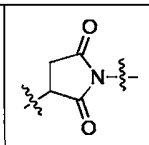
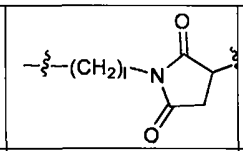
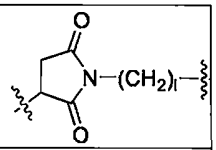
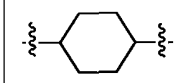
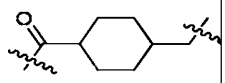
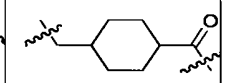
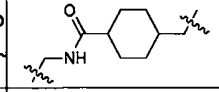
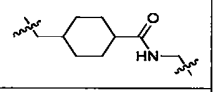
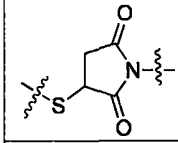
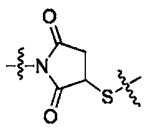
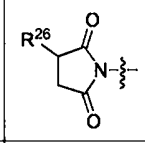
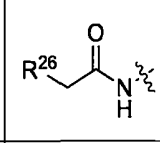
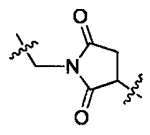
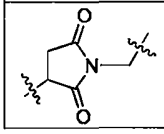
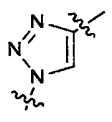
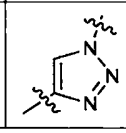
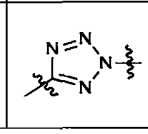
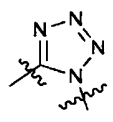
反应性基团 1（RG1）	反应性基团 2（RG2）	化学部分
		
吡啶二硫醇	硫醇	二硫化物

[1013] 其中：表8中的R^{32}为H、C_{1-4}烷基、苯基、嘧啶或吡啶；表8中的R^{35}为H、C_{1-6}烷基、苯基或被1至3个-OH基取代的C_{1-4}烷基；表8中的每个R^{7}独立地选自H、C_{1-6}烷基、氟、被-C(=O)OH取代的苄氧基、被-C(=O)OH取代的苄基、被-C(=O)OH取代的C_{1-4}烷氧基和被-C(=O)OH取代的C_{1-4}烷基；表8中的R^{37}独立地选自H、苯基和吡啶；表8中的q为0、1、2或3；表8中的R^{8}和R^{13}为H或甲基；表8中的R^{9}和R^{14}为H、-CH3或苯基。表8中的R是H或任何合适的取代基；并且表8中的R^{50}为H。

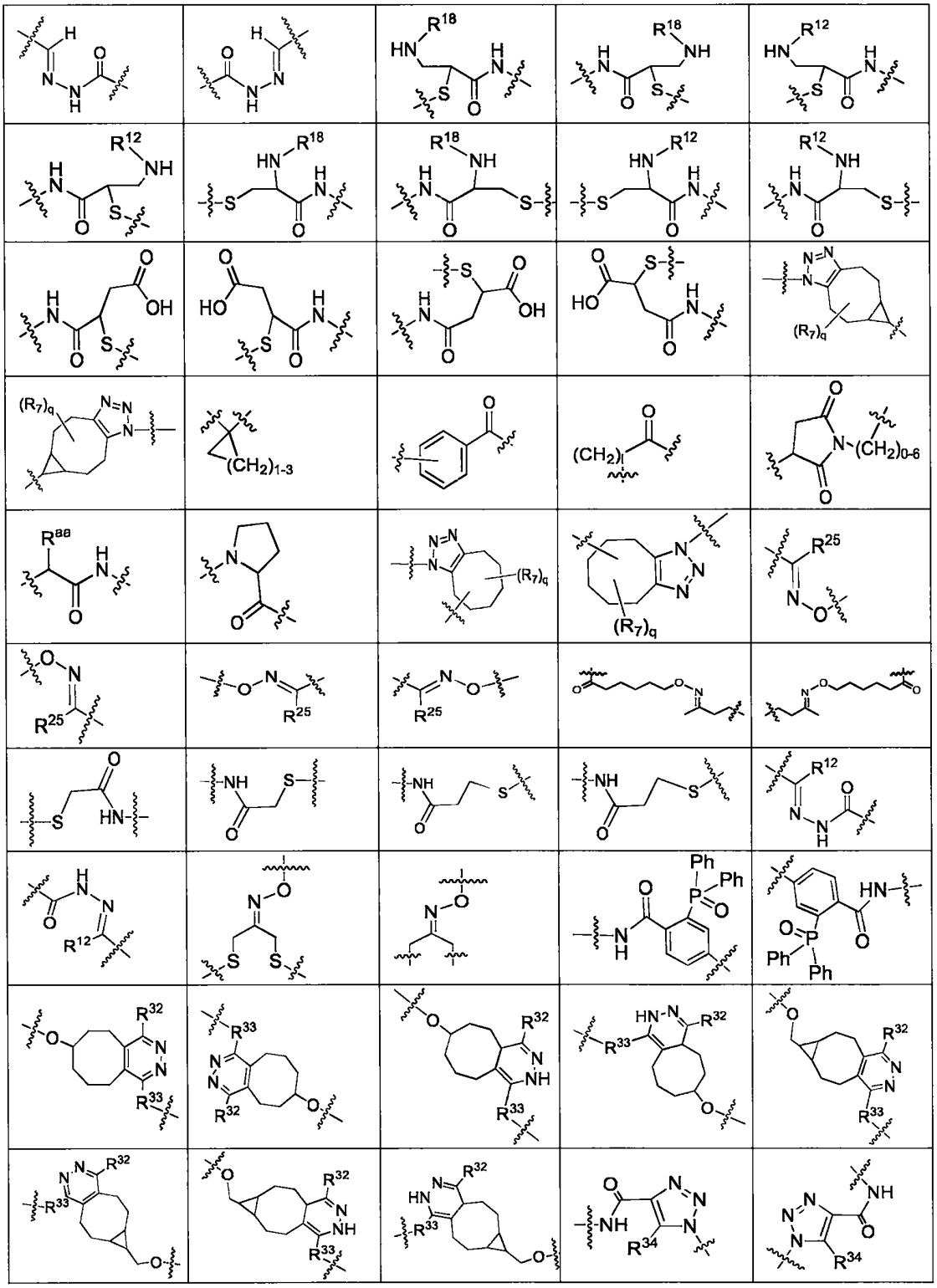
[1014] 另外，接头组分可以是下表9中列出的基团。

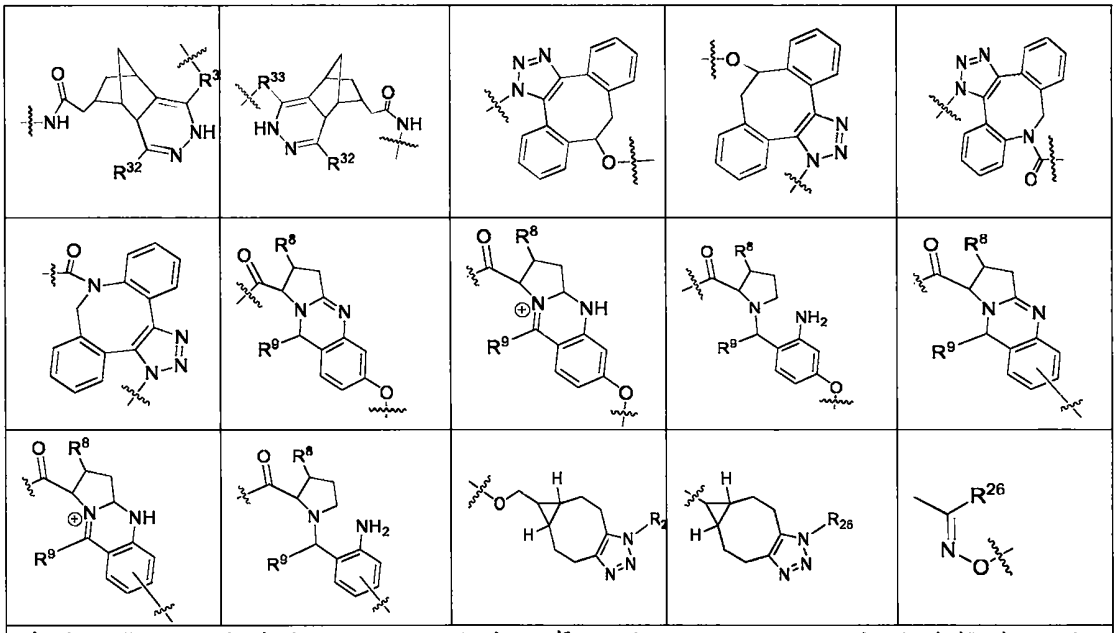
[1015] 表9.

[1016]

[1017]





[1018]

每个 R^7 独立地选自 H、C_{1-6} 烷基、氟、被-C(=O)OH 取代的苄氧基、被-C(=O)OH 取代的苄基，被-C(=O)OH 取代的 C_{1-4} 烷氧基和被-C(=O)OH 取代的 C_{1-4} 烷基;

每个 R^{12} 独立地选自 H 和 C_1-C_6 烷基

R^8 是 H 或甲基;

R^9 是 H、$-CH_3$ 或苯基;

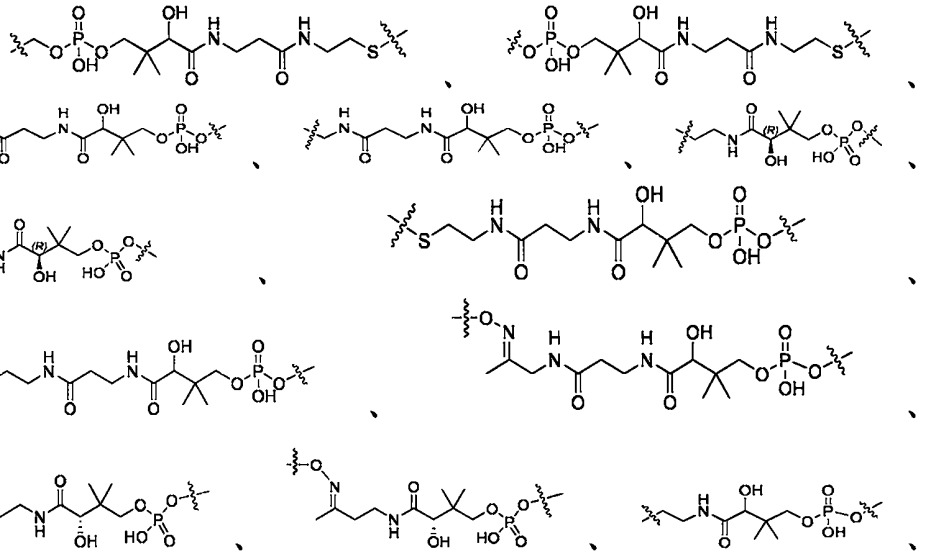
每个 R^{25} 独立地选自 H 或 C_{1-4} 烷基;

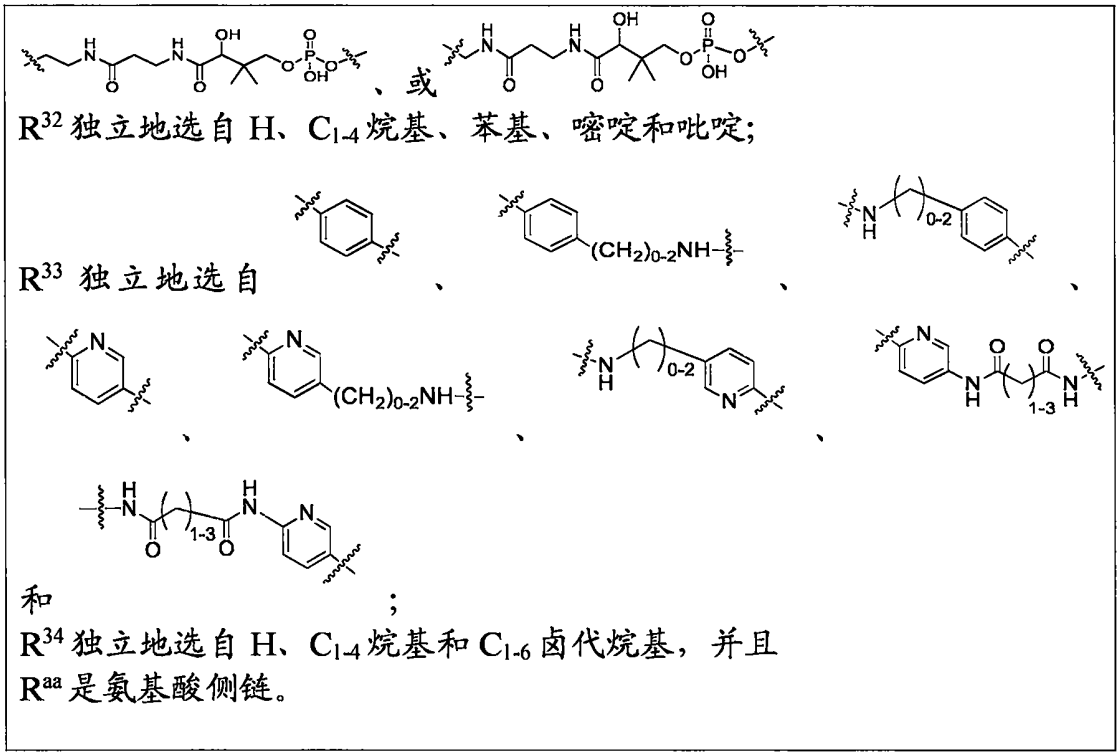
每个 R^{18} 独立地选自 C_1-C_6 烷基、被叠氮基取代的 C_1-C_6 烷基和被 1 至 5 个羟基取代的 C_1-C_6 烷基;

q 为 0、1、2 或 3;

l 是 1、2、3、4、5 或 6;

R^{26} 是

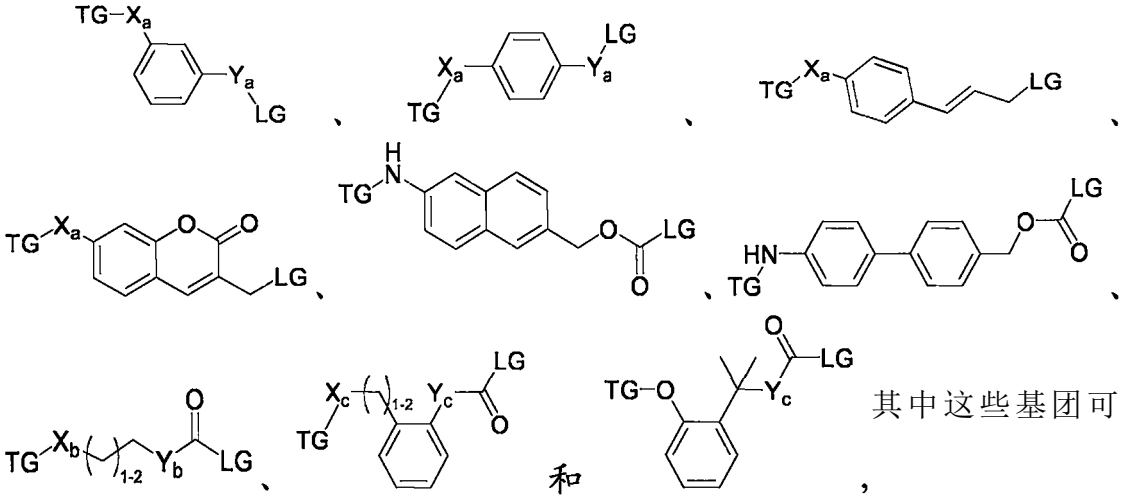


[1019] 

[1020] 如本文所用，当示出化合物的部分结构时，波浪线(～)表示部分结构与分子的其余部分的附接点。

[1021] 如本文所用，术语“自分解间隔基”和“自分解基团”是指包含一个或多个触发基团(TG)的部分，TG通过酸诱导的切割、肽酶诱导的切割、酯酶诱导的切割、糖苷酶诱导的切割、磷酸二酯酶诱导的切割、磷酸酶诱导的切割、蛋白酶诱导的切割、脂肪酶诱导的切割或二硫键裂解而激活，并且在激活后，保护基团被去除，这会产生级联的分解反应，导致按时间顺序释放离去基团。这种级联反应可以是但不限于1,4-、1,6-或1,8-消除反应。

[1022] 自分解间隔基或基团的非限制性实例包括：

[1023] 

其中这些基团可以任选被取代，并且

[1024] 其中：

[1025] TG是触发基团；

[1026] X_a是O、NH或S；

[1027] X_b是O、NH、NCH_3或S；

[1028] X_c是O或NH；

[1029] Y_a是CH_2、CH_2O或CH_2NH；

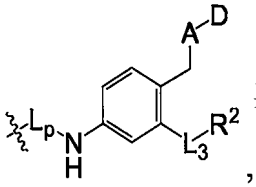
[1030] Y_b是CH_2、O或NH；

[1031] Y_c是键、CH_2、O或NH，并且

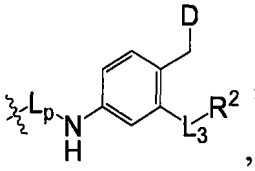
[1032] LG是离去基团，例如本发明的接头-药物基团的药物部分(D)。

[1033] 自分解间隔基的另外的非限制性实例描述于Angew.Chem.Int.Ed.2015,54,7492-7509。

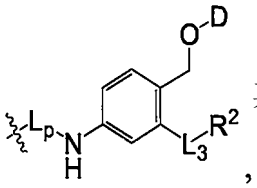
[1034] 在某些实施方案中，自分解间隔基是具有以下结构的部分

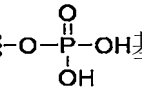
[1035] ，其中Lp是可酶促切割的二价肽间隔基并且A、D、L_3和R^2如本文所定义。

[1036] 在优选的实施方案中，自分解间隔基是具有以下结构的部分

[1037] ，其中Lp是可酶促切割的二价肽间隔基并且D、L_3和R^2如本文所定义。在一些实施方案中，D是含有季铵化叔胺的Bcl-xL抑制剂。

[1038] 在其他优选的实施方案中，自分解间隔基是具有以下结构的部分

[1039] ，其中Lp是可酶促切割的二价肽间隔基并且D、L_3和R^2如本文所定义。

[1040] 如本文所用，术语“亲水部分”是指具有亲水性质的部分，当药物部分(D)附接至本发明的连接基团时，具有亲水性质的部分增加药物部分(D)的水溶解度。此类亲水基团的实例包括但不限于聚乙二醇、聚亚烷基二醇、糖、寡糖、被1至3个基团取代的C_2-C_6烷基的多肽。

[1041] 药物部分

[1042] 在一些实施方案中，作为接头部分的前体的中间体与药物部分(例如，Bcl-xL抑制剂)在适当的条件下反应。在一些实施方案中，在药物和/或中间体或接头上使用反应性基团。药物和中间体或衍生化药物(药物加接头)之间的反应产物随后在有利于药物和中间体或衍生化药物和抗体或抗原结合片段缀合的条件下与抗体或抗原结合片段反应。可替代地，中间体或接头可以首先与抗体或抗原结合片段、或衍生化抗体或抗原结合片段反应，然后与药物或衍生化药物反应。

[1043] 许多不同的反应可用于将药物部分和/或接头部分共价连接至抗体或抗原结合片

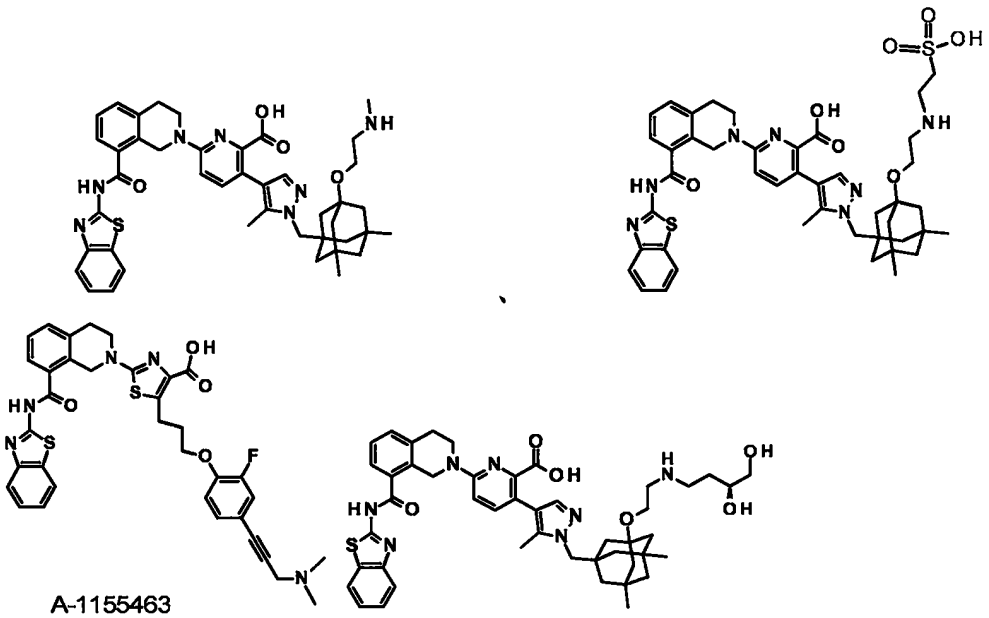
段。这通常通过抗体或抗原结合片段的一个或多个氨基酸残基的反应来完成，所述氨基酸残基包括赖氨酸的胺基、谷氨酸和天冬氨酸的游离羧酸基、半胱氨酸的巯基以及和芳族氨基酸的不同部分。例如，可以使用碳二亚胺反应进行非特异性共价连接，以将药物部分上的羧基(或氨基)基团连接至抗体或抗原结合片段上的氨基(或羧基)基团。另外，双官能试剂例如二醛或亚氨酸酯也可用于将药物部分上的氨基连接至抗体或抗原结合片段上的氨基。希夫碱(Schiff base)反应还可用于将药物(例如Bcl-xL抑制剂)连接至结合剂。该方法涉及含有二醇或羟基的药物的高碘酸盐氧化，从而形成醛，然后与结合剂反应。通过与结合剂的氨基形成希夫碱而发生附接。异硫氰酸酯也可用作将药物共价连接至结合剂的偶联剂。其他技术对于本领域技术人员来说是已知的并且在本公开的范围内。可以使用本领域已知的各种化学方法产生并连接至抗体或抗原结合片段的药物部分的实例包括Bcl-xL抑制剂，例如本文描述和例示的Bcl-xL抑制剂。

[1044] 合适的药物部分可以包含式(I)、(IA)、(IB)、(IC)、(II)、(IIA)、(IIB)或(IIC)的化合物或对映异构体、非对映异构体和/或其与药学上可接受的酸或碱的加成盐。另外，药物部分可包含本文所述的Bcl-xL抑制剂(D)的任何化合物。

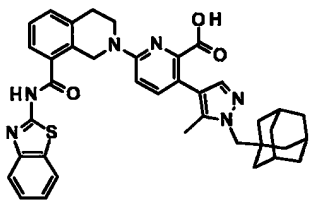
[1045] 在一些实施方案中，药物部分(D)包含选自表A2的式。

[1046] 在一些实施方案中，药物部分(D)包含本领域已知的Bcl-xL抑制剂，例如ABT-737和ABT-263。

[1047] 在一些实施方案中，药物部分(D)包含选自以下的Bcl-xL抑制剂：

[1048] 
A-1155463

和


A-1331852

。

[1049] 在一些实施方案中，接头-药物(或“接头-负载”)部分-(L-D)可包含表B中的化合物或任何前述的对映异构体、非对映异构体、氘代衍生物和/或药学上可接受的盐。

[1050] 药物负载

[1051] 药物负载由p表示,并且在本文中也称为药物比抗体比率(DAR)。药物负载可以是1至16个药物部分/抗体或抗原结合片段。在一些实施方案中,p是1至16的整数。在一些实施方案中,p是1至16、1至15、1至14、1至13、1至12、1至11、1至10、1至9、1至8、1至7、1至6、1至5、1至4、1至3或1至2的整数。在一些实施方案中,p是2至10、2至9、2至8、2至7、2至6、2至5、2至4或2至3的整数。在一些实施方案中,p是1至16的整数。在一些实施方案中,p是1至8的整数。在一些实施方案中,p是1至5的整数。在一些实施方案中,p是2至4的整数。在一些实施方案中,p是1、2、3、4、5、6、7或8。在一些实施方案中,p是2。在一些实施方案中,p是4。

[1052] 药物负载可能受到抗体或抗原结合片段上附接位点数量的限制。在一些实施方案中,ADC的接头部分(L)通过抗体或抗原结合片段上的一个或多个氨基酸残基上的化学活性基团附接至抗体或抗原结合片段。例如,接头可通过游离氨基、亚氨基、羟基、硫醇或羧基(例如,N-或C-末端、一个或多个赖氨酸残基的ε氨基、一个或多个谷氨酸或天冬氨酸残基的游离羧酸基团、或一个或多个半胱氨酸残基的巯基)与抗体或抗原结合片段附接。接头附接的位点可以是抗体或抗原结合片段的氨基酸序列中的天然残基,或者它可以被引入到抗体或抗原结合片段中,例如,通过DNA重组技术(例如,通过将半胱氨酸残基引入到氨基酸序列中)或通过蛋白质生物化学(例如,通过还原、pH调节或水解)。

[1053] 在一些实施方案中,可缀合至抗体或抗原结合片段的药物部分的数量受到游离半胱氨酸残基的数量限制。例如,在连接为半胱氨酸硫醇基团的情况下,抗体可具有仅一个或数个半胱氨酸硫醇基团,或可具有仅一个或数个接头可经由其连接的具有足够反应性的硫醇基团。通常,抗体不包含许多游离的和反应性的半胱氨酸硫醇基团,这些基团可以与药物部分连接;事实上,抗体中的大多数半胱氨酸硫醇残基都涉及链间或链内二硫键。因此,在一些实施方案中,与半胱氨酸的缀合可能需要抗体的至少部分还原。接头-毒素与抗体的过量连接可通过还原可供用于形成二硫键的半胱氨酸残基来使抗体去稳定。因此,最佳的药物:抗体比率应当增加ADC的效能(通过增加每个抗体所连接的药物部分的数目),同时不会使抗体或抗原结合片段不稳定。在一些实施方案中,最佳比率可以是2、4、6或8。在一些实施方案中,最佳比率可以是2或4。

[1054] 在一些实施方案中,在缀合之前将抗体或抗原结合片段暴露于还原条件以产生一个或多个游离半胱氨酸残基。在一些实施方案中,可在部分或总体还原条件下用诸如二硫苏糖醇(DTT)或三(2-羧乙基)膦(TCEP)等还原剂还原抗体以生成反应性半胱氨酸硫醇基团。不成对的半胱氨酸可以通过用有限摩尔当量的TCEP进行部分还原来产生,这可以还原连接轻链和重链(每个H-L配对一对)以及铰链区中两条重链(在人IgG1的情况下每个H-H配对两对)的链间二硫键,同时保持链内二硫键完整(Stefano等人(2013)Methods Mol Biol.1045:145-71)。在实施方案中,抗体内的二硫键被电化学还原,例如通过使用施加交替的还原和氧化电压的工作电极。该方法可以允许二硫键还原与分析装置(例如,电化学检测装置、NMR分光计或质谱仪)或化学分离装置(例如,液相色谱仪(例如,HPLC)或电泳装置(参见,例如,US 2014/0069822))在线偶联。在一些实施方案中,使抗体经历变性条件以显露出氨基酸残基(例如半胱氨酸)上的反应性亲核基团。

[1055] ADC的药物负载可以通过不同的方式控制,例如:(i)限制药物-接头中间体或接头试剂相对于抗体的摩尔过量;(ii)限制缀合反应时间或温度;(iii)半胱氨酸硫醇修饰的部

分或限制还原条件;和/或(iv)通过重组技术改造抗体的氨基酸序列,从而修饰半胱氨酸残基的数量和位置,以控制接头-药物连接的数量和/或位置。

[1056] 在一些实施方案中,将游离半胱氨酸残基引入抗体或抗原结合片段的氨基酸序列中。例如,可以制备半胱氨酸工程改造抗体,其中亲本抗体的一个或多个氨基酸被半胱氨酸氨基酸替代。任何形式的抗体都可以被如此工程改造,即突变。例如,亲本Fab抗体片段可以被工程改造以形成被称为"ThioFab"'的半胱氨酸工程改造Fab。类似地,亲本单克隆抗体可以被工程改造以形成"ThioMab"。单位点突变在ThioFab中产生单个工程改造半胱氨酸残基,而由于IgG抗体的二聚体性质,单位点突变在ThioMab中产生两个工程改造半胱氨酸残基。编码亲本多肽的氨基酸序列变体的DNA可以通过本领域已知的多种方法来制备(参见例如WO 2006/034488中描述的方法)。这些方法包括但不限于通过对早期制备的编码多肽的DNA进行定点(或寡核苷酸介导的)诱变、PCR诱变和盒式诱变进行制备。重组抗体的变体还可以通过限制性片段操作或通过使用合成寡核苷酸的重叠延伸PCR来构建。式(1)的ADC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等人(2012)Methods Enzymol.502:123-38)。在一些实施方案中,一个或多个游离半胱氨酸残基已经存在于抗体或抗原结合片段中,无需使用工程改造,在这种情况下,存在的游离半胱氨酸残基可用于将抗体或抗原结合片段与药物部分偶联。

[1057] 在包含多个拷贝的抗体或抗原结合片段和接头部分的反应混合物中,在超过一个亲核基团与药物-接头中间体或接头部分试剂反应、随后与药物部分试剂反应的情况下,所得产物可为ADC化合物的混合物,该混合物中分布有连接至混合物中的抗体或抗原结合片段的各拷贝的一个或多个药物部分。在一些实施方案中,由缀合反应得到的ADC混合物中的药物负载量在1至16个经连接的药物部分/抗体或抗原结合片段的范围内。药物部分的平均数目/抗体或抗原结合片段(即平均药物负载量或平均p)可通过此项技术中已知的任何常规方法,例如通过质谱分析(例如液相色谱-质谱法(LC-MS))和/或高效液相色谱(例如HIC-HPLC)来计算。在一些实施方案中,药物部分的平均数量/抗体或抗原结合片段通过液相色谱-质谱法(LC-MS)测定。在一些实施方案中,药物部分的平均数量/抗体或抗原结合片段的为约1.5至约3.5、约2.5至约4.5、约3.5至约5.5、约4.5至约6.5、约5.5至约7.5、约6.5至约8.5、或约7.5至约9.5。在一些实施方案中,药物部分的平均数量/抗体或抗原结合片段为约2至约4、约3至约5、约4至约6、约5至约7、约6至约8、约7至约9、约2至约8、或约4至约8。

[1058] 在一些实施方案中,药物部分的平均数量/抗体或抗原结合片段为约2。在一些实施方案中,药物部分的平均数量/抗体或抗原结合片段为约1.5、约1.6、约1.7、约1.8、约1.9、约2、约2.1、约2.2、约2.3、约2.4或约2.5。在一些实施方案中,药物部分的平均数量/抗体或抗原结合片段为2。

[1059] 在一些实施方案中,药物部分的平均数量/抗体或抗原结合片段为约4。在一些实施方案中,药物部分的平均数量/抗体或抗原结合片段为约3.5、约3.6、约3.7、约3.8、约3.9、约4、约4.1、约4.2、约4.3、约4.4或约4.5。在一些实施方案中,药物部分的平均数量/抗体或抗原结合片段为4。

[1060] 在一些实施方案中,当关于药物部分的平均数量/抗体或抗原结合片段使用时,术语"约"意指正或负20%、15%、10%、5%或1%。在一个实施方案中,术语"约"是指比指定值多或少10%的值范围。在另一个实施方案中,术语"约"是指比指定值多或少5%的值范围。

在另一个实施方案中,术语“约”是指比指定值多或少1%的值范围。

[1061] 各个ADC复合物或“种类”可在混合物中通过质谱法鉴定出且通过例如UPLC或HPLC(例如,疏水性相互作用色谱法(HIC-HPLC))分离。在一些实施方案中,具有单一负载值的均质或接近均质的ADC产物可例如通过电泳或色谱法自缀合混合物分离。

[1062] 在一些实施方案中,较高的药物载量(例如p>16)可能导致某些抗体-药物缀合物的聚集、不溶性、毒性、或丧失细胞通透性。较高的药物负载还可能对某些ADC的药代动力学(例如清除率)产生负面影响。在一些实施方案中,较低的药物负载(例如,p<2)可以降低某些ADC针对靶标表达细胞的效力。在一些实施方案中,本公开的ADC的药物负载范围为约2至约16、约2至约10、约2至约8;约2至约6;约2至约5;约3至约5;约2至约4;或约4至约8。

[1063] 在一些实施方案中,例如使用抗体或抗原结合片段上的链内二硫键的部分还原来实现约2的药物负载和/或平均药物负载,并且提供有益的性质。在一些实施方案中,例如使用抗体或抗原结合片段上的链内二硫键的部分还原来实现约4或约6或约8的药物负载和/或平均药物负载,并且提供有益的性质。在一些实施方案中,小于约2的药物负载和/或平均药物负载可能导致不可接受的高水平的未缀合抗体种类,其可以与ADC竞争结合靶抗原和/或提供减少的治疗功效。在一些实施方案中,超过约16的药物负载和/或平均药物负载可能导致不可接受的高水平的产品异质性和/或ADC聚集。由于稳定抗体或抗原结合片段所需的一个或多个化学键的损失,超过约16的药物负载和/或平均药物负载也可能影响ADC的稳定性。

[1064] 本公开包括产生所描述的ADC的方法。简言之,ADC包含作为抗体或抗原结合片段的抗体或抗原结合片段、药物部分(例如,Bcl-xL抑制剂)、以及连接药物部分和抗体或抗原结合片段的接头。在一些实施方案中,可以使用具有用于共价连接至药物部分和抗体或抗原结合片段的反应性官能团的接头来制备ADC。在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段被官能化以制备与接头或药物-接头中间体反应的官能团。例如,在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段的半胱氨酸硫醇可以与接头或药物-接头中间体的反应性官能团形成键以制备ADC。在一些实施方案中,用细菌转谷氨酰胺酶(BTG)-反应性谷氨酰胺制备抗体或抗原结合片段,所述反应性谷氨酰胺用含有环辛烯BCN(N-[(R,8S,9s)-双环[6.1.0]壬-4-炔-9-基甲基氧基羰基]-1,8-二氨基-3,6-二氧代辛烷)部分的胺特异性官能化。在一些实施方案中,进行接头或药物接头中间体与抗体或抗原结合片段的BCN部分的位点特异性缀合,例如,如本文描述和举例说明的。ADC的产生可以通过本领域技术人员已知的技术来完成。

[1065] 在一些实施方案中,通过将抗体或抗原结合片段与接头和药物部分(例如Bcl-xL抑制剂)以顺序方式接触来产生ADC,使得抗体或抗原结合片段首先共价连接至接头,然后预先形成的抗体-接头中间体与药物部分反应。在接触药物部分之前,抗体-接头中间体可以经过或不经过纯化步骤。在其他实施方案中,通过使抗体或抗原结合片段与通过使接头与药物部分反应而预先形成的接头-药物化合物接触来产生ADC。在接触抗体或抗原结合片段之前,预先形成的接头-药物化合物可以进行或可以不进行纯化步骤。在其他实施方案中,抗体或抗原结合片段在一个反应混合物中接触接头和药物部分,允许抗体或抗原结合片段和接头之间以及接头和药物部分之间同时形成共价键。该产生ADC的方法可以包括反应,其中抗体或抗原结合片段在将接头添加至反应混合物之前接触抗体或抗原结合片段,反之亦然。在一些实施方案中,通过使抗体或抗原结合片段与接合至药物部分(例如Bcl-xL

抑制剂)的接头在允许缀合的条件下反应来产生ADC。

[1066] 根据上述方法制备的ADC可以进行纯化步骤。纯化步骤可涉及本领域已知的用于纯化蛋白质的任何生化方法或其方法的任何组合。这些包括但不限于切向流过滤(TFF)、亲和色谱、离子交换色谱、基于任何电荷或等电点的色谱、混合模式色谱,例如CHT(陶瓷羟基磷灰石)、疏水相互作用色谱、尺寸排阻色谱、透析、过滤、选择性沉淀或其任何组合。

[1067] 治疗用途和组合物

[1068] 本文公开了使用本文描述的组合物(例如公开的ADC化合物和组合物)来治疗受试者的病症例如癌症的方法。组合物例如ADC可以单独施用或与至少一种另外的无活性剂和/或活性剂例如至少一种另外的治疗剂组合施用,并且可以以任何药学上可接受的制剂、剂量和给药方案施用。可以评估治疗效果的毒性以及功效指标并进行相应调整。功效测量包括但不限于体外观察到的细胞抑制和/或细胞毒性作用或体内、肿瘤体积减小、肿瘤生长抑制和/或延长存活。

[1069] 确定ADC是否对细胞发挥细胞抑制作用和/或细胞毒性作用的方法是已知的。例如,ADC的细胞毒性或细胞抑制活性可以通过以下来测量:例如将表达ADC靶抗原的哺乳动物细胞暴露于细胞培养基中;将细胞培养约6小时至约6天的时间;并测量细胞活力(例如,使用CellTiter-Glo®(CTG)或MTT细胞活力测定)。基于细胞的体外测定也可用于测量ADC的活力(增殖)、细胞毒性和细胞凋亡诱导(半胱天冬酶激活)。

[1070] 为了确定细胞毒性,可以测量坏死或细胞凋亡(程序性细胞死亡)。坏死通常伴随着质膜通透性增加、细胞肿胀和质膜破裂。例如,可以通过测量DNA片段化来定量细胞凋亡。商业光度法可用于定量体外DNA片段测定。此类测定法的实例,包括TUNEL(其检测片段化DNA中经标记的核苷酸的掺入)和基于ELISA的测定法,描述于Biochemica(1999)2:34-7(Roche Molecular Biochemicals)中。

[1071] 细胞凋亡也可以通过测量细胞的形态变化来确定。例如,与坏死一样,质膜完整性的丧失可以通过测量某些染料(例如荧光染料,例如吖啶橙或溴化乙锭)的摄取来确定。以下描述了一种测量凋亡细胞数量的方法:Duke和Cohen,Current Protocols in Immunology(Coligan等人,编辑(1992)第3.17.1-3.17.16页)。细胞也可以用DNA染料(例如吖啶橙、溴化乙锭或碘化丙啶)标记,并观察细胞沿内核膜的染色质凝缩和边集。在一些实施方案中,还可以通过筛选半胱天冬酶活性来确定细胞凋亡。在一些实施方案中,半胱天冬酶-Glo®测定可用于测量半胱天冬酶-3和半胱天冬酶-7的活性。在一些实施方案中,测定法在针对半胱天冬酶活性、荧光素酶活性和细胞裂解优化的试剂中提供发光半胱天冬酶-3/7底物。在一些实施方案中,以“添加-混合-测量”形式添加半胱天冬酶-Glo®3/7试剂可能导致细胞裂解,随后半胱天冬酶裂解底物并生成由荧光素酶产生的“发光型”发光信号。在一些实施方案中,发光可以与存在的半胱天冬酶活性的量成比例,并且可以充当细胞凋亡的指示剂。可以测量以确定细胞凋亡的其他形态变化包括例如细胞质凝缩、膜起泡增加和细胞收缩。确定这些对癌细胞的任何影响都表明ADC可用于治疗癌症。

[1072] 可以例如通过测定细胞中染料例如中性红、台盼蓝、结晶紫或ALAMAR™蓝的摄取来测量细胞活力(参见例如Page等人(1993)Intl J Oncology 3:473-6)。在这样的测定中,将细胞在含有染料的培养基中孵育,洗涤细胞,并通过分光光度法测量反映细胞对染料的吸收的剩余染料。

[1073] 还可以例如通过量化ATP(代谢活性细胞的指标)来测量细胞活力。在一些实施方案中,可以使用CellTiter-Glo®(CTG)细胞活力来评估制备的ADC或Bcl-xL抑制剂化合物的体外效力和/或细胞活力测定,如本文提供的实施方案中所述。在此测定中,在一些实施方案中,将单一试剂(CellTiter-Glo®试剂)直接添加至在补充血清的培养基中培养的细胞。添加试剂会导致细胞裂解并产生与存在的ATP量成比例的发光信号。ATP的量与培养物中细胞的数量成正比

[1074] 还可以例如通过测量四唑盐的还原来测量细胞活力。在一些实施方案中,可以使用MTT细胞活力来评估制备的ADC或Bcl-xL抑制剂化合物的体外效力和/或细胞活力测定,如本文提供的实施方案中所述。在此测定中,在一些实施方案中,黄色四唑MTT(3-(4,5-二甲基噻唑基-2)-2,5-二苯基四唑溴化物)被代谢活性细胞部分地通过脱氢酶的作用还原,以产生减少NADH和NADPH等的当量。然后可以将所得的细胞内紫色甲臜溶解并通过分光光度法进行定量。

[1075] 在某些方面,本公开内容的特征在于通过破坏Bcl-xL和/或其一种或多种上游调节剂或其下游靶标的表达和/或活性来杀伤、抑制或调节癌细胞或组织生长的方法。该方法可用于其中Bcl-xL表达和/或活性的破坏提供治疗益处的任何受试者。可以受益于破坏Bcl-xL表达和/或活性的受试者包括但不限于患有癌症或有风险患有癌症例如肿瘤或血液学癌症的受试者。在一些实施方案中,癌症是乳腺癌、多发性骨髓瘤、浆细胞骨髓瘤、白血病、淋巴瘤、肉瘤、胃癌、膀胱癌、脑癌、骨髓癌、宫颈癌、慢性淋巴细胞白血病、结直肠癌、食道癌、肝细胞癌、淋巴细胞白血病(包括急性淋巴细胞白血病)、滤泡性淋巴瘤、T细胞或B细胞来源的淋巴恶性肿瘤、黑色素瘤、骨髓性白血病、骨髓瘤、口腔癌、卵巢癌、非小细胞肺癌、前列腺癌、小细胞肺癌、脾癌或头颈癌。在一些实施方案中,癌症是淋巴瘤或胃癌。

[1076] 在一些实施方案中,所公开的ADC可以在表达BCMA的任何细胞或组织中施用,例如表达BCMA的癌细胞或组织。示例性实施方案包括杀伤表达BCMA的癌细胞或组织的方法。该方法可用于表达BCMA的任何细胞或组织,例如癌细胞或转移性病变。表达BCMA的癌症的非限制性实例包括多发性骨髓瘤(Cho等人(2018)FrontImmunol.9:1821)。表达BCMA的细胞的非限制性实例包括NCI-H929多发性骨髓瘤细胞和包含编码BCMA或其部分的重组核酸的细胞。

[1077] 在一些实施方案中,所公开的ADC可以在表达CD33的任何细胞或组织中施用,例如表达CD33的癌细胞或组织。示例性实施方案包括杀伤表达CD33的癌细胞或组织的方法。该方法可用于表达CD33的任何细胞或组织,例如癌细胞或转移性病变。表达CD33的癌症的非限制性实例包括结直肠癌、胰腺癌、淋巴瘤和白血病(例如,急性髓性白血病)(Human Protein Atlas;Walter(2014)Expert Opin Ther Targets 18(7):715-8)。表达CD33的细胞的非限制性实例包括MOLM-13白血病细胞和包含编码CD33或其部分的重组核酸的细胞。

[1078] 在一些实施方案中,所公开的ADC可以在表达PCAD的任何细胞或组织中施用,例如表达PCAD的癌细胞或组织。示例性实施方案包括杀伤表达PCAD的癌细胞或组织的方法。该方法可用于表达PCAD的任何细胞或组织,例如癌细胞或转移性病变。表达PCAD的癌症的非限制性实例包括乳腺癌、胃癌、子宫内膜癌、卵巢癌、胰腺癌、膀胱癌、前列腺癌和黑素瘤(Vieira和Paredes(2015)Mol Cancer 14:178)。

[1079] 在一些实施方案中,所公开的ADC可以在表达HER2的任何细胞或组织中施用,例如

表达HER2的癌细胞或组织。示例性实施方案包括杀伤表达HER2的癌细胞或组织的方法。该方法可用于表达HER2的任何细胞或组织，例如癌细胞或转移性病变。表达HER2的癌症的非限制性实例包括乳腺癌、胃癌、膀胱癌、尿路上皮细胞癌、食道癌、肺癌(例如，肺腺癌)、子宫癌(例如，子宫浆液性子宫内膜癌)、唾液管癌、宫颈癌、子宫内膜癌和卵巢癌(English等人(2013)Mol Diagn Ther.17:85-99)。表达HER2的细胞的非限制性实例包括HCC1954和HCC2218乳腺癌细胞，以及包含编码HER2或其部分的重组核酸的细胞。

[1080] 示例性方法包括使细胞与有效量(即足以杀伤细胞的量)的ADC接触的步骤，如本文所述。该方法可用于培养的细胞，例如，体外、体内、离体、或原位。例如，表达HER2的细胞(例如，通过肿瘤或转移性病变的活检收集的细胞；来自已建立的癌细胞系的细胞；或重组细胞)，可以在培养基中体外培养，并且可以通过向培养基中添加ADC来影响接触步骤。该方法将导致表达HER2的细胞被杀伤，特别包括表达HER2的癌细胞。可替代地，可以通过任何合适的施用途径(例如，静脉内、皮下或与肿瘤组织直接接触)将ADC施用给受试者以在体内发挥作用。这种方法可用于针对其他细胞表面抗原(例如EGFR、CD7、HER2)的抗体。

[1081] 可以在合适的动物模型中评价所公开的ADC治疗组合物的体内效果。例如，可以使用异种癌症模型，其中将癌症外植体或传代的异种移植组织引入免疫受损的动物，例如裸鼠或SCID小鼠(Klein等人(1997)Nature Med.3:402-8)。可以使用测量肿瘤形成的抑制、肿瘤消退或转移等的测定法来预测功效。

[1082] 体内测定法可评估细胞凋亡等机制对肿瘤死亡的促进作用。在一些实施方案中，可以检查来自用治疗组合物治疗的荷瘤小鼠的异种移植物中细胞凋亡灶的存在，并与未治疗的对照荷有异种移植物的小鼠进行比较。在治疗的小鼠的肿瘤中发现细胞凋亡灶的程度提供了组合物的治疗功效的指示。

[1083] 本文进一步提供治疗病症例如癌症的方法。本文描述的组合物，例如本文公开的ADC，可以出于治疗目的施用于非人哺乳动物或人受试者。该治疗方法包括向患有或疑似患有癌症的受试者施用治疗有效量的包含Bcl-xL抑制剂的组合物，例如ADC，其中抑制剂与结合抗原的靶向抗体相连，该抗原(1)在癌细胞上表达，(2)易于结合，和/或(3)与非癌细胞相比，定位于或主要表达于癌细胞表面。

[1084] 示例性实施方案是治疗患有或疑似患有癌症的受试者的方法，包括施用给受试者治疗有效量的本文公开的组合物，例如ADC、组合物或药物组合物(例如本文公开的任何示例性ADC、组合物或药物组合物)。在一些实施方案中，癌症表达靶抗原。在一些实施方案中，靶抗原是BCMA、CD33、HER2、CD38、CD48、CD79b、PCAD、CD74、CD138、SLAMF7、CD123、CIL1、FLT3、CD7、CKIT、CD56、DLL3、DLK1、B7-H3、EGFR、CD71、EPCAM、FOLR1、ENPP3、MET、AXL、SLC34A2、Nectin4、TROP2、LIV1、CD46、MSLN、F3、MUC16、SLC39A6、TFRC、TACSTD2或GPNMB。在一些实施方案中，靶抗原是EphA2、CD56、SEZ6、CD25、CCR8、CEACAM5、CEACAM6、4-1BB、5AC、5T4、甲胎蛋白、血管生成素2、ASLG659、TCLI、BMPRIB、Brevican BCAN、BEHAB、C242抗原、C5、CA-125、CA-125(imitation)、CA-IX(碳酸酐酶9)、CCR4、CD140a、CD152、CD19、CD20、CD200、CD21(C3DR)I)、CD22(B细胞受体CD22-B亚型)、CD221、CD23(gE受体)、CD28、CD30(TNFRSF8)、CD37、CD4、CD40、CD44v6、CD51、CD52、CD70、CD72(Lyb-2、B细胞分化抗原CD72)、CD79a、CD80、CEA、CEA相关抗原、ch4D5、CLDN18.2、CRIPTO(CR、CRI、CRGF、TDGF1)、CTLA-4、CXCR5、DLL4、DR5、E16(LATI、SLC7A5)、EGFL7、EphB2R(DRT、ERK、Hek5、EPHT3、Tyro5)、上皮唾蛋白

(episialin)、ERBB3、ETBR(B型内皮素受体)、FCRHI(Fc受体样蛋白I)、FcRH2(IFGP4,IRTA4、SPAPI、SPAIB、SPAIC)、纤连蛋白额外结构域-B、卷曲受体、GD2、GD3神经节苷脂、GEDA、HER1、HER2/neu、HER3、HGF、HLA-DOB、HLA-DR、人散射因子受体激酶、IGF-I受体、IL-13、IL20R(ZCYTOR7)、IL-6、ILGF2、ILFRIR、整合素u、IRTA2(免疫球蛋白超家族受体易位相关2)、Lewis-Y抗原、LY64(RP105)、MCP-I、MDP(DPEPI)、MPF、MSLN、SMR、间皮素、巨核细胞、PD-I、PDDCDI、PDGF-Ru、前列腺特异性膜抗原、PSCA(前列腺干细胞抗原前体)、PSCA hlg、RANKL、RON、SDCI、Sema Sb、STEAP I、STEAP2、PCANAP I、STAMPI、STEAP2、STMP、前列腺癌相关基因I、TAG-72、TEMI、腱生蛋白C、TENB2、(TMEFF2、tomoregulin、TPEF、HPPI、TR)、TGF-IJ、TRAIL-E2、TRAIL-R1、TRAIL-R2、T17M4(BR22450,FLJ20041、TRPM4、TRPM4B、瞬时受体电位阳离子通道亚家族M,成员4)、TWEAK-R、TYRPI(糖蛋白75)、VEGF、VEGF-A、EGFR-I、VEGFR-2、或波形蛋白。在一些实施方案中,靶抗原是EGFR、CD7、HER2、EPCAM、FOLR1、ENPP3、MET、AXL、SLC34A2、Nectin4、MSLN、F3、MUC16、SLC39A6、TFRC、TACSTD2或GPNMB。在一些实施方案中,靶抗原是EGFR、CD7或HER2。在一些实施方案中,癌症是肿瘤或血液癌。在一些实施方案中,癌症是乳腺癌、多发性骨髓瘤、浆细胞骨髓瘤、白血病、淋巴瘤、肉瘤、胃癌、急性髓性白血病、膀胱癌、脑癌、骨髓癌、宫颈癌、慢性淋巴细胞白血病、结直肠癌、食道癌、肝细胞癌、淋巴细胞白血病(包括急性淋巴细胞白血病)、滤泡性淋巴瘤、T细胞或B细胞来源的淋巴恶性肿瘤、黑色素瘤、骨髓性白血病、骨髓瘤、口腔癌、卵巢癌、非小细胞肺癌、前列腺癌、小细胞肺癌、脾癌或头颈癌。在一些实施方案中,癌症是淋巴瘤或胃癌。

[1085] 另一个示例性实施方案是将Bcl-xL抑制剂递送至表达BCMA的细胞的方法,该方法包括将Bcl-xL抑制剂与免疫特异性结合BCMA表位的抗体缀合并将细胞暴露于ADC。本公开内容的ADC适用的表达BCMA的示例性癌细胞包括多发性骨髓瘤细胞。

[1086] 另一个示例性实施方案是将Bcl-xL抑制剂递送至表达CD33的细胞的方法,该方法包括将Bcl-xL抑制剂与免疫特异性结合CD33表位的抗体缀合并将细胞暴露于ADC。本公开内容的ADC适用的表达CD33的示例性癌细胞包括白血病细胞。

[1087] 另一个示例性实施方案是将Bcl-xL抑制剂递送至表达PCAD的细胞的方法,该方法包括将Bcl-xL抑制剂与免疫特异性结合PCAD表位的抗体缀合并将细胞暴露于ADC。本公开的ADC适用的表达PCAD的示例性癌细胞包括乳腺癌和胃癌细胞。

[1088] 另一个示例性实施方案是将Bcl-xL抑制剂递送至表达HER2的细胞的方法,该方法包括将Bcl-xL抑制剂与免疫特异性结合HER2表位的抗体缀合并将细胞暴露于ADC。本公开的ADC适用的表达HER2的示例性癌细胞包括乳腺癌细胞。

[1089] 在某些方面,本公开还提供减少或抑制肿瘤(例如,表达BCMA的肿瘤、表达CD33的肿瘤、表达PCAD的肿瘤、表达HER2的肿瘤)生长的方法,该方法包括施用治疗性的有效量的ADC或包含ADC的组合物。在一些实施方案中,治疗足以减少或抑制患者肿瘤的生长、减少转移性病灶的数量或大小、减少肿瘤负荷、减少原发性肿瘤负荷、减少侵袭性、延长存活时间和/或维持或改善生活质量。在一些实施方案中,当单独施用时,肿瘤对ADC的抗体或抗原结合片段(例如,抗BCMA抗体、抗CD33抗体、抗PCAD抗体、抗HER2抗体)的治疗具有抗性或难治性,和/或当单独施用时,肿瘤对Bcl-xL抑制剂药物部分的治疗具有抗性或难治性。

[1090] 示例性实施方案是减少或抑制受试者中肿瘤生长的方法,该方法包括向受试者施用治疗有效量的ADC、组合物或药物组合物(例如本文公开的任何示例性ADC、组合物或药物

组合物)。在一些实施方案中,肿瘤表达靶抗原。在一些实施方案中,靶抗原是BCMA、CD33、HER2、CD38、CD48、CD79b、PCAD、CD74、CD138、SLAMF7、CD123、CLL1、FLT3、CD7、CKIT、CD56、DLL3、DLK1、B7-H3、EGFR、CD71、EPCAM、FOLR1、ENPP3、MET、AXL、SLC34A2、Nectin4、TROP2、LIV1、CD46、MSLN、F3、MUC16、SLC39A6、TFRC、TACSTD2或GPNMB。在一些实施方案中,靶抗原是EphA2、CD56、SEZ6、CD25、CCR8、CEACAM5、CEACAM6、4-1BB、5AC、5T4、甲胎蛋白、血管生成素2、ASLG659、TCLI、BMPRIB、Brevican BCAN、BEHAB、C242抗原、C5、CA-125、CA-125(imitation)、CA-IX(碳酸酐酶9)、CCR4、CD140a、CD152、CD19、CD20、CD200、CD21(C3DR)I)、CD22(B细胞受体CD22-B亚型)、CD221、CD23(gE受体)、CD28、CD30(TNFRSF8)、CD37、CD4、CD40、CD44v6、CD51、CD52、CD70、CD72(Lyb-2、B细胞分化抗原CD72)、CD79a、CD80、CEA、CEA相关抗原、ch4D5、CLDN18.2、CRIPTO(CR、CRI、CRGF、TDGF1)、CTLA-4、CXCR5、DLL4、DR5、E16(LATI、SLC7A5)、EGFL7、EphB2R(DRT、ERK、Hek5、EPHT3、Tyro5)、上皮唾蛋白(episialin)、ERBB3、ETBR(B型内皮素受体)、FCRHI(Fc受体样蛋白I)、FcRH2(IFGP4,IRTA4、SPAPI、SPAIB、SPAIC)、纤连蛋白额外结构域-B、卷曲受体、GD2、GD3神经节苷脂、GEDA、HER1、HER2/neu、HER3、HGF、HLA-DOB、HLA-DR、人散射因子受体激酶、IGF-I受体、IL-13、IL20R(ZCYTOR7)、IL-6、ILGF2、ILFRIR、整合素u、IRTA2(免疫球蛋白超家族受体易位相关2)、Lewis-Y抗原、LY64(RP105)、MCP-I、MDP(DPEPI)、MPF、MSLN、SMR、间皮素、巨核细胞、PD-I、PDDCDI、PDGF-Ru、前列腺特异性膜抗原、PSCA(前列腺干细胞抗原前体)、PSCAhlg、RANKL、RON、SDCI、Sema Sb、STEAP I、STEAP2、PCANAP I、STAMP I、STEAP2、STMP、前列腺癌相关基因I、TAG-72、TEMI、腱生蛋白C、TENB2、(TMEFF2、tomoregulin、TPEF、HPPI、TR)、TGF-IJ、TRAIL-E2、TRAIL-R1、TRAIL-R2、T17M4(BR22450,FLJ20041、TRPM4、TRPM4B、瞬时受体电位阳离子通道亚家族M,成员4)、TWEAK-R、TYRPI(糖蛋白75)、VEGF、VEGF-A、EGFR-I、VEGFR-2、或波形蛋白。在一些实施方案中,靶抗原是EGFR、CD7、HER2、EPCAM、FOLR1、ENPP3、MET、AXL、SLC34A2、Nectin4、MSLN、F3、MUC16、SLC39A6、TFRC、TACSTD2或GPNMB。在一些实施方案中,靶抗原是EGFR、CD7或HER2。在一些实施方案中,肿瘤是乳腺癌、胃癌、膀胱癌、脑癌、宫颈癌、结直肠癌、食道癌、肝细胞癌、黑素瘤、口腔癌、卵巢癌、非小细胞肺癌、前列腺癌、小细胞肺癌或脾癌。在一些实施方案中,肿瘤是胃癌。在一些实施方案中,ADC、组合物或药物组合物的施用将肿瘤的生长与不进行治疗的情况下的生长相比减少或抑制至少约10%、至少约20%、至少约30%、至少约40%、至少约,至少50%、至少约60%、至少约70%、至少约80%、至少约90%、至少约95%或至少约99%。

[1091] 另一个示例性实施方案是延迟或减慢受试者中肿瘤生长的方法,该方法包括向受试者施用治疗有效量的ADC、组合物或药物组合物(例如本文公开的任何示例性ADC、组合物或药物组合物)。在一些实施方案中,肿瘤表达靶抗原。在一些实施方案中,靶抗原是BCMA、CD33、HER2、CD38、CD48、CD79b、PCAD、CD74、CD138、SLAMF7、CD123、CLL1、FLT3、CD7、CKIT、CD56、DLL3、DLK1、B7-H3、EGFR、CD71、EPCAM、FOLR1、ENPP3、MET、AXL、SLC34A2、Nectin4、TROP2、LIV1、CD46、MSLN、F3、MUC16、SLC39A6、TFRC、TACSTD2或GPNMB。在一些实施方案中,靶抗原是EphA2、CD56、SEZ6、CD25、CCR8、CEACAM5、CEACAM6、4-1BB、5AC、5T4、甲胎蛋白、血管生成素2、ASLG659、TCLI、BMPRIB、Brevican BCAN、BEHAB、C242抗原、C5、CA-125、CA-125(imitation)、CA-IX(碳酸酐酶9)、CCR4、CD140a、CD152、CD19、CD20、CD200、CD21(C3DR)I)、CD22(B细胞受体CD22-B亚型)、CD221、CD23(gE受体)、CD28、CD30(TNFRSF8)、CD37、CD4、

CD40、CD44v6、CD51、CD52、CD70、CD72(Lyb-2、B细胞分化抗原CD72)、CD79a、CD80、CEA、CEA相关抗原、ch4D5、CLDN18.2、CRIPTO(CR、CRI、CRGF、TDGF1)、CTLA-4、CXCR5、DLL4、DR5、E16(LATI、SLC7A5)、EGFL7、EphB2R(DRT、ERK、Hek5、EPHT3、Tyro5)、上皮唾蛋白(episialin)、ERBB3、ETBR(B型内皮素受体)、FCRHI(Fc受体样蛋白I)、FcRH2(IFGP4,IRTA4、SPAPI、SPAIB、SPAIC)、纤连蛋白额外结构域-B、卷曲受体、GD2、GD3神经节苷脂、GEDA、HER1、HER2/neu、HER3、HGF、HLA-DOB、HLA-DR、人散射因子受体激酶、IGF-I受体、IL-13、IL20R(ZCYTOR7)、IL-6、ILGF2、ILFRIR、整合素u、IRTA2(免疫球蛋白超家族受体易位相关2)、Lewis-Y抗原、LY64(RP105)、MCP-I、MDP(DPEPI)、MPF、MSLN、SMR、间皮素、巨核细胞、PD-I、PDDCDI、PDGF-Ru、前列腺特异性膜抗原、PSCA(前列腺干细胞抗原前体)、PSCAhlg、RANKL、RON、SDCI、Sema Sb、STEAP I、STEAP2、PCANAP I、STAMP I、STEAP2、STMP、前列腺癌相关基因I、TAG-72、TEMI、腱生蛋白C、TENB2、(TMEFF2、tomoregulin、TPEF、HPPI、TR)、TGF-IJ、TRAIL-E2、TRAIL-R1、TRAIL-R2、T17M4(BR22450,FLJ20041、TRPM4、TRPM4B、瞬时受体电位阳离子通道亚家族M,成员4)、TWEAK-R、TYRPI(糖蛋白75)、VEGF、VEGF-A、EGFR-I、VEGFR-2、或波形蛋白。在一些实施方案中,靶抗原是EGFR、CD7、HER2、EPCAM、FOLR1、ENPP3、MET、AXL、SLC34A2、Nectin4、MSLN、F3、MUC16、SLC39A6、TFRC、TACSTD2或GPNMB。在一些实施方案中,靶抗原是EGFR、CD7或HER2。在一些实施方案中,肿瘤是乳腺癌、胃癌、膀胱癌、脑癌、宫颈癌、结直肠癌、食道癌、肝细胞癌、黑素瘤、口腔癌、卵巢癌、非小细胞肺癌、前列腺癌、小细胞肺癌或脾癌。在一些实施方案中,肿瘤是胃癌。在一些实施方案中,ADC、组合物或药物组合物的施用将肿瘤的生长与不进行治疗的情况下的生长相比延迟或减慢至少约10%、至少约20%、至少约30%、至少约40%、至少约,至少50%、至少约60%、至少约70%、至少约80%、至少约90%、至少约95%或至少约99%。

[1092] 在某些方面,本公开还提供了减少或减慢癌细胞群体(例如,表达BCMA的癌细胞群体、表达CD33的癌细胞群体、表达PCAD的癌细胞群体、表达HER2的癌细胞群体)扩增的方法,该方法包括施用治疗有效量的ADC或包含ADC的组合物。

[1093] 示例性实施方案是减少或减慢受试者体内癌细胞群扩增的方法,该方法包括向受试者施用治疗有效量的ADC、组合物或药物组合物(例如本文公开的任何示例性ADC、组合物或药物组合物)。在一些实施方案中,癌细胞群表达靶抗原。在一些实施方案中,靶抗原是BCMA、CD33、HER2、CD38、CD48、CD79b、PCAD、CD74、CD138、SLAMF7、CD123、CLL1、FLT3、CD7、CKIT、CD56、DLL3、DLK1、B7-H3、EGFR、CD71、EPCAM、FOLR1、ENPP3、MET、AXL、SLC34A2、Nectin4、TROP2、LIV1、CD46、MSLN、F3、MUC16、SLC39A6、TFRC、TACSTD2或GPNMB。在一些实施方案中,靶抗原是EphA2、CD56、SEZ6、CD25、CCR8、CEACAM5、CEACAM6、4-1BB、5AC、5T4、甲胎蛋白、血管生成素2、ASLG659、TCLI、BMPRIB、Brevican BCAN、BEHAB、C242抗原、C5、CA-125、CA-125(imitation)、CA-IX(碳酸酐酶9)、CCR4、CD140a、CD152、CD19、CD20、CD200、CD21(C3DR)I)、CD22(B细胞受体CD22-B亚型)、CD221、CD23(gE受体)、CD28、CD30(TNFRSF8)、CD37、CD4、CD40、CD44v6、CD51、CD52、CD70、CD72(Lyb-2、B细胞分化抗原CD72)、CD79a、CD80、CEA、CEA相关抗原、ch4D5、CLDN18.2、CRIPTO(CR、CRI、CRGF、TDGF1)、CTLA-4、CXCR5、DLL4、DR5、E16(LATI、SLC7A5)、EGFL7、EphB2R(DRT、ERK、Hek5、EPHT3、Tyro5)、上皮唾蛋白(episialin)、ERBB3、ETBR(B型内皮素受体)、FCRHI(Fc受体样蛋白I)、FcRH2(IFGP4,IRTA4、SPAPI、SPAIB、SPAIC)、纤连蛋白额外结构域-B、卷曲受体、GD2、GD3神经节苷脂、GEDA、HER1、HER2/neu、

HER3、HGF、HLA-DOB、HLA-DR、人散射因子受体激酶、IGF-I受体、IL-13、IL20R(ZCYTOR7)、IL-6、ILGF2、ILFRIR、整合素u、IRTA2(免疫球蛋白超家族受体易位相关2)、Lewis-Y抗原、LY64(RP105)、MCP-I、MDP(DPEPI)、MPF、MSLN、SMR、间皮素、巨核细胞、PD-I、PDDCDI、PDGF-Ru、前列腺特异性膜抗原、PSCA(前列腺干细胞抗原前体)、PSCAhlg、RANKL、RON、SDCI、Sema Sb、STEAP I、STEAP2、PCANAP I、STAMP I、STEAP2、STMP、前列腺癌相关基因I、TAG-72、TEMI、腱生蛋白C、TENB2、(TMEFF2、tomoregulin、TPEF、HPPI、TR)、TGF-IJ、TRAIL-E2、TRAIL-R1、TRAIL-R2、T17M4(BR22450,FLJ20041、TRPM4、TRPM4B、瞬时受体电位阳离子通道亚家族M,成员4)、TWEAK-R、TYRPI(糖蛋白75)、VEGF、VEGF-A、EGFR-I、VEGFR-2、或波形蛋白。在一些实施方案中,靶抗原是EGFR、CD7、HER2、EPCAM、FOLR1、ENPP3、MET、AXL、SLC34A2、Nectin4、MSLN、F3、MUC16、SLC39A6、TFRC、TACSTD2或GPNMB。在一些实施方案中,靶抗原是EGFR、CD7或HER2。在一些实施方案中,癌细胞群来自肿瘤或血液癌。在一些实施方案中,癌细胞群来自乳腺癌、多发性骨髓瘤、浆细胞骨髓瘤、白血病、淋巴瘤、肉瘤、胃癌、急性髓性白血病、膀胱癌、脑癌、骨髓癌、宫颈癌、慢性淋巴细胞白血病、结直肠癌、食道癌、肝细胞癌、淋巴细胞白血病(包括急性淋巴细胞白血病)、滤泡性淋巴瘤、T细胞或B细胞来源的淋巴恶性肿瘤、黑色素瘤、骨髓性白血病、骨髓瘤、口腔癌、卵巢癌、非小细胞肺癌、前列腺癌、小细胞肺癌、脾癌或头颈癌。在一些实施方案中,癌细胞群来自淋巴瘤或胃癌。在一些实施方案中,ADC、组合物或药物组合物的施用使癌细胞群与没有治疗的群体相比减少至少约10%、至少约20%、至少约30%、至少约40%、至少约50%、,至少约60%、至少约70%、至少约80%、至少约90%、至少约95%或至少约99%。在一些实施方案中,ADC、组合物或药物组合物的施用使癌细胞群的扩增与不进行治疗的情况下的扩增相比减慢至少约10%、至少约20%、至少约30%、至少约40%、至少约50%、至少约60%、至少约70%、至少约80%、至少约90%、至少约95%或至少约99%。

[1094] 本文还提供了确定患有或疑似患有癌症的受试者是否会对使用所公开的ADC和组合物的治疗有应答的方法.示例性实施方案是通过以下来确定患有或疑似患有癌症的受试者是否会对用ADC、组合物或药物组合物(例如本文公开的任何示例性ADC、组合物或药物组合物)进行治疗有应答的方法:提供来自受试者的生物样品;将样品与ADC接触;并且检测ADC与样品中癌细胞的结合。在一些实施方案中,样品是组织活检样品、血液样品或骨髓样品。在一些实施方案中,该方法包括提供来自受试者的生物样品;将样品与ADC接触;以及检测样品中癌细胞死亡的一种或多种标记物(例如,一种或多种细胞凋亡标记物的表达增加、培养物中癌细胞群的扩增减少等)。

[1095] 本文进一步提供了所公开的ADC和组合物的治疗用途。示例性实施方案是用于治疗患有或疑似患有癌症(例如,表达BCMA的癌症、表达CD33的癌症、表达PCAD的癌症、表达HER2的癌症)的受试者的ADC、组合物或药物组合物(例如,本文公开的任何示例性ADC、组合物或药物组合物)。另一个示例性实施方案是ADC、组合物或药物组合物(例如,本文公开的任何示例性ADC、组合物或药物组合物)用于治疗患有或疑似患有癌症(例如,表达BCMA的癌症、表达CD33的癌症、表达PCAD的癌症、表达HER2的癌症)的受试者的用途。另一个示例性实施方案是ADC、组合物或药物组合物(例如,本文公开的任何示例性ADC、组合物或药物组合物)在制造用于治疗患有或疑似患有癌症(例如,表达BCMA的癌症、表达CD33的癌症、表达PCAD的癌症、表达HER2的癌症)的受试者的药物的方法中的用途。用于鉴定患有表达靶抗原

(例如,EGFR、CD7或HER2)的癌症的受试者的方法是本领域已知的,并且可以用于鉴定适合用公开的ADC化合物或组合物治疗的患者。

[1096] 此外,出于兽医目的或作为人疾病的动物模型,本公开的ADC可施用于表达ADC能够与其结合的抗原的非人哺乳动物。就后者而言,这类动物模型可用于评估所公开的ADC的治疗功效(例如测试剂量及施用时程)。

[1097] 用于实施前述方法的治疗组合物可以配制成包含适合于所需递送方法的药学上可接受的载剂的药物组合物。示例性实施方案是药物组合物,其包含本公开的ADC和药学上可接受的载剂,例如适合于所选择的施用方式(例如静脉内施用)的载剂。药物组合物还可以包含一种或多种另外的适合于治疗或预防例如癌症的无活性剂和/或治疗剂(例如标准护理剂等)。药物组合物还可包含一种或多种载剂、赋形剂和/或稳定剂组分等。配制此类药物组合物和合适制剂的方法是本领域已知的(参见例如"Remington's Pharmaceutical Sciences,"Mack Publishing Co.,Easton,PA)。

[1098] 合适的载剂包括当与治疗组合物组合时保留治疗组合物的抗肿瘤功能并且通常不与患者的免疫系统反应的任何材料。药学上可接受的载剂包括生理上兼容的任何及所有溶剂、分散介质、包衣剂、抗细菌剂和抗真菌剂、等张剂和吸收延迟剂等。药学上可接受的载体的实例包括水、盐水、磷酸盐缓冲盐水、右旋糖、甘油、乙醇、甲磺酸盐中的一种或多种及其组合。在许多情况下,组合物中包含等渗剂,例如糖、多元醇(如甘露醇、山梨糖醇)或氯化钠。药学上可接受的载剂可进一步包含极少量的辅助物质,如润湿剂或乳化剂、防腐剂或缓冲液,这类辅助物质增强ADC的保存期限或有效性。

[1099] 本公开的药物组合物可通过本领域已知的各种方法施用。施用途径和/或方式可以根据所希望的结果而变化。在一些实施方案中,治疗制剂被溶解并通过能够将治疗组合物递送至癌症部位的任何途径施用。潜在有效的施用途径包括但不限于肠胃外(例如静脉内、皮下)、腹膜内、肌内、肿瘤内、皮内、器官内、原位等。在一些实施方案中,施用是静脉内、皮下、腹膜内或肌内的。药学上可接受的载剂应当适合于施用途径,例如静脉内或皮下施用(例如通过注射或输注)。取决于施用途径,活性化合物,即ADC和/或任何另外的治疗剂,可被包裹在材料中,以保护化合物免受酸和其它可能使化合物失活的自然条件的作用。施用可以是全身的或局部的。

[1100] 本文公开的治疗组合物在制造和储存条件下可以是无菌的和稳定的,并且可以是多种形式。这些包括例如液体、半固体和固体剂型,例如液体溶液(例如,可注射和可输注溶液)、分散剂或混悬剂、片剂、丸剂、粉末、脂质体和栓剂。形式取决于预期的施用模式和治疗应用。在一些实施方案中,所公开的ADC可以掺入适合肠胃外施用的药物组合物中。可注射溶液可以由在燧石或琥珀色小瓶、安瓿或预填充注射器或其他已知的递送或储存装置中的液体或冻干剂型组成。在一些实施方案中,一种或多种ADC或药物组合物以密封容器中的干燥无菌冻干粉末或无水浓缩物的形式提供,并且可以被重构(例如,用水或盐水)至合适的浓度以用于对受试者施用。

[1101] 通常,在本公开的药物组合物中采用治疗有效量或有效量的公开的组合物,例如公开的ADC。组合物,例如包含ADC的组合物,可以通过本领域已知的常规方法配制成药学上可接受的剂型。使用前述方法治疗癌症的剂量和施用方案将随方法和目标癌症而变化,并且通常取决于本领域已知的许多其他因素。

[1102] 可以调整本文公开的组合物的剂量方案,例如包含单独的ADC或与至少一种另外的无活性和/或活性治疗剂组合的那些组合物的剂量方案以提供最佳的期望应答(例如,治疗应答)。例如,一种或两种药物可以一次单次推注施用,可以在预定的时间内分几次施用,或者一种或两种药物的剂量可以根据治疗情况的紧急程度按比例增加或减少。在一些实施方案中,治疗涉及通过可接受的施用途径单次推注或重复施用ADC制剂。在一些实施方案中,每天、每周、每月或其间的任何时间段向患者施用ADC。对于任何特定受试者,具体的剂量方案可以根据个体的需要以及治疗临床医生的专业判断随时间进行调整。为了易于给予和剂量均匀性,可以将肠胃外组合物配制成单位剂型。如本文所用的剂量单位形式是指适合作为用于待被治疗的受试者的单元剂量的物理上离散的单位;每个单位含有经计算产生与所需药用载剂相关的所期望疗效的活性化合物的预定量。

[1103] 包含ADC和/或任何另外的治疗剂的组合物的剂量值可以基于活性化合物的独特特征和要实现的具体治疗效果来选择。医生或兽医可以以低于达到期望治疗效果所需的水平开始药物组合物中使用的ADC的剂量,并逐渐增加剂量直至达到期望效果。一般而言,本公开的组合物用于治疗癌症的有效剂量可以根据许多不同的因素而变化,包括施用方式、靶位点、患者的生理状态、患者是人还是人动物、施用的其他药物以及治疗是预防性的还是治疗性的。所选择的剂量水平还可以取决于多种药代动力学因素,包括所采用的本公开的特定组合物或其酯、盐或酰胺的活性、施用途径、施用时间、正在使用的特定化合物的排泄速率、治疗的持续时间、与所用特定组合物组合使用的其他药物、化合物和/或材料、正在治疗的患者的年龄、性别、体重、状况、总体健康和既往病史。可以调整治疗剂量以优化安全性和功效。

[1104] 本文提供的化合物的毒性和治疗功效可以通过标准制药程序在细胞培养物或动物模型中测定。例如,可以确定LD50、ED50、EC50和IC50,并且可以计算毒性作用和治疗作用之间的剂量比(LD50/ED50)作为治疗指数。从体外和体内测定获得的数据可用于估计或制定用于人的剂量范围。例如,本文公开的组合物和方法最初可以在异种癌症模型(例如NCI-H929多发性骨髓瘤小鼠模型)中进行评估。

[1105] 在一些实施方案中,ADC或包含ADC的组合物在单次施用。在其他实施方案中,多次施用ADC或包含ADC的组合物。单次剂量之间的间隔可以是例如每天、每周、每月或每年。基于测量患者体内施用的药剂(例如,ADC)的血液水平,间隔也可以是不规则的,以便维持药剂的相对一致的血浆浓度。ADC或包含ADC的组合物的施用剂量和频率也可以根据治疗是预防性的还是治疗性的而变化。在预防性应用中,可以在很长一段时间内以相对不频繁的间隔施用相对较低的剂量。一些患者在其余生中继续接受治疗。在治疗应用中,有时需要在相对较短的间隔内相对较高的剂量,直到疾病的进展减少或终止,并且优选地直到患者表现出疾病的一种或多种症状部分或完全改善。此后,可以对患者施用较低的例如预防性方案。

[1106] 上述治疗方法可以与多种另外的手术、化疗或放射治疗方案中的任何一种组合。在一些实施方案中,本文公开的ADC或组合物与一种或多种另外的治疗剂共同配制和/或共同施用,所述治疗剂例如一种或多种化疗剂、针对特定病症的一种或多种护理标准剂治疗。

[1107] 还提供了用于本文所述的治疗和/或诊断应用的试剂盒。此类试剂盒可包括载体、包装或容器,其被隔开以接收一个或多个容器,例如小瓶、管等,所述一个或多个容器中的每个包含将在本文公开的方法中使用的单独元件之一。标签可以存在于容器上或与容器一

起存在,以指示试剂盒内的ADC或组合物用于特定治疗或非治疗应用,例如预后、预防、诊断或实验室应用。标签还可以指示体内或体外使用的方向,例如本文所述的那些。在包括在试剂盒中或试剂盒上的一个或多个插页或一个或多个标签上还可包括指导和/或其他信息。标签可以在容器上或与容器相关联。当形成标签的字母、数字或其他字符被模制或蚀刻到容器本身中时,标签可以位于容器上。当标签存在于也保持容器的受器或载器中时,标签可以与容器相关联,例如作为包装插页。标签可以表明试剂盒内的ADC或组合物用于诊断或治疗病症,例如本文描述的癌症。

[1108] 在一些实施方案中,试剂盒包含ADC或包含ADC的组合物。在一些实施方案中,试剂盒还包含一种或多种另外组分,包括但不限于:使用说明书;其他试剂,例如治疗剂(例如标准护理剂);用于准备ADC进行施用的装置、容器或其他材料;药学上可接受的载剂;以及用于向受试者施用ADC的装置、容器或其他材料。使用说明书可以包括治疗应用的指导,包括例如在患有或疑似患有癌症的患者中的建议剂量和/或施用模式。在一些实施方案中,试剂盒包含ADC和使用ADC治疗、预防和/或诊断癌症的说明书。

[1109] 已知Bcl-xL表达升高与放射治疗和化疗耐药相关。作为治疗癌症的单一疗法可能不够有效的抗体-药物缀合物(ADC)可以与其他治疗剂(包括非靶向和靶向治疗剂)或放射疗法(包括放射性配体疗法)联合施用以提供治疗益处。不希望受理论束缚,据信本文所述的ADC使肿瘤细胞对其他治疗剂(包括肿瘤细胞可能已产生抗性的标准护理化疗剂)和/或放射疗法的治疗敏感。在一些实施方案中,本文所述的抗体药物缀合物以有效致敏肿瘤细胞的量施用于患有癌症的受试者。如本文所用,术语“致敏”是指用ADC治疗增加了用其他治疗剂治疗和/或放射疗法针对肿瘤细胞的效力或功效。

[1110] 组合疗法

[1111] 在一些实施方案中,本公开提供了治疗方法,其中本文公开的抗体-药物缀合物与一种或多种(例如,1或2种)另外的治疗剂组合施用。本文公开了示例性的组合伴侣。

[1112] 在某些实施方案中,本文所述的组合包含PD-1抑制剂。在一些实施方案中,所述PD-1抑制剂选自PDR001(Novartis)、纳武单抗(Bristol-Myers Squibb)、兰洛利珠单抗(Merck&Co)、匹地利珠单抗(CureTech)、MEDI0680(Medimmune)、REGN2810(Regeneron)、TSR-042(Tesaro)、PF-06801591(Pfizer)、BGB-A317(Beigene)、BGB-108(Beigene)、INCSHR1210(Incyte)、或AMP-224(Amplimmune)。在一些实施方案中,PD-1抑制剂是PDR001。PDR001还被称为斯巴达珠单抗。

[1113] 在某些实施方案中,本文所述的组合包含LAG-3抑制剂。在一些实施方案中,LAG-3抑制剂选自LAG525(Novartis)、BMS-986016(Bristol-Myers Squibb)或TSR-033(Tesaro)。

[1114] 在某些实施方案中,本文所述的组合包含TIM-3抑制剂。在一些实施方案中,TIM-3抑制剂是MBG453(Novartis)、TSR-022(Tesaro)、LY-3321367(Eli Lily)、Sym23(Symphogen)、BGB-A425(Beigene)、INCAGN-2390(Agenus)、BMS-986258(BMS)、RO-7121661(Roche)或LY-3415244(Eli Lilly)。

[1115] 在某些实施方案中,本文描述的组合包含PDL1抑制剂。在一个实施方案中,PDL1抑制剂选自FAZ053(Novartis)、阿特珠单抗(Genentech)、德瓦鲁单抗(Astra Zeneca)或avelumab(Pfizer)。

[1116] 在某些实施方案中,本文描述的组合包含GITR激动剂。在一些实施方案中,GITR激

动剂选自GWN323(NVS)、BMS-986156、MK-4166或MK-1248(Merck)、TRX518(Leap Therapeutics)、INCAGN1876(Incyte/Agenus)、AMG 228(Amgen)或INBRX-110(Inhibrx)。

[1117] 在一些实施方案中,本文所述的组合包含IAP抑制剂。在一些实施方案中,IAP抑制剂包含LCL161或国际申请公开号WO2008/016893中所披露的化合物。

[1118] 在实施方案中,组合包含mTOR抑制剂,例如RAD001(也称为依维莫司)。

[1119] 在实施方案中,该组合包含HDAC抑制剂,例如LBH589。LBH589也称为帕比司他。

[1120] 在实施方案中,该组合包含IL-17抑制剂,例如CJM112。

[1121] 在某些实施方案中,本文描述的组合包含雌激素受体(ER)拮抗剂。在一些实施方案中,雌激素受体拮抗剂与PD-1抑制剂、CDK4/6抑制剂或两者组合使用。在一些实施方案中,该组合用于治疗ER阳性(ER+)癌症或乳腺癌(例如,ER+乳腺癌)。

[1122] 在一些实施方案中,雌激素受体拮抗剂是选择性雌激素受体降解剂(SERD)。SERD是雌激素受体拮抗剂,可与受体结合并产生,例如,受体的降解或下调(Boer K.等人,(2017)Therapeutic Advances in Medical Oncology9(7):465-479)。ER是一种激素激活的转录因子,对例如人生殖系统的生长、发育和生理非常重要。ER由例如,雌激素(17β雌二醇)激活。ER表达和信号转导与癌症(例如乳腺癌),例如ER阳性(ER+)乳腺癌有关。在一些实施方案中,SERD选自LSZ102、氟维司群、布利司群(brilanestrant)、或依拉司群(elacestrant)。

[1123] 在一些实施方案中,SERD包含国际申请公开号WO 2014/130310中所披露的化合物,该申请通过引用并入以其整体并入本文。

[1124] 在一些实施方案中,SERD包含LSZ102。LSZ102的化学名称为:(E)-3-(4-((2-(2-(1,1-二氟乙基)-4-氟苯基)-6-羟基苯并[b]噻吩-3-基)氧基)苯基)丙烯酸。在一些实施方案中,SERD包含SERD包含氟维司群(CAS登记号:129453-61-8)或国际申请公开号WO 2001/051056中所披露的化合物,该申请通过引用并入以其整体并入本文。在一些实施方案中,SERD包含依拉司群(CAS登记号:722533-56-4)或美国专利号7,612,114中所披露的化合物,该专利通过引用并入以其整体并入本文。依拉司群也称为RAD1901、ER-306323或(6R)-6-{2-[乙基({4-[2-(乙基氨基)乙基]苯基}甲基)氨基]-4-甲氧基苯基}-5,6,7,8-四氢萘-2-醇。依拉司群是一种口服生物可利用的非类固醇组合选择性雌激素受体调节剂(SERM)和SERD。例如,在Garner F等人,(2015)Anticancer Drugs 26(9):948-56也公开了依拉司群。在一些实施方案中,SERD是布利司群(CAS登记号:1365888-06-7)或国际申请公开号WO 2015/136017中所披露的化合物,该申请通过引用并入以其整体并入本文。

[1125] 在一些实施方案中,SERD选自RU 58668、GW7604、AZD9496、巴多昔芬、哌喷昔芬(pipendoxifene)、阿佐昔芬、OP-1074、或阿考比芬,例如,如McDonell等人(2015)Journal of Medicinal Chemistry 58(12)4883-4887中所披露的。

[1126] 其他示例性雌激素受体拮抗剂披露于,例如WO 2011/156518、WO 2011/159769、WO 2012/037410、WO 2012/037411、和US 2012/0071535中,所有这些均通过引用以其整体并入本文

[1127] 在某些实施方案中,本文描述的组合包含细胞周期蛋白依赖性激酶4或6(CDK4/6)的抑制剂。在一些实施方案中,CDK4/6抑制剂与PD-1抑制剂、雌激素受体(ER)拮抗剂或两者组合使用。在一些实施方案中,该组合用于治疗ER阳性(ER+)癌症或乳腺癌(例如,ER+乳腺

癌)。在一些实施方案中,CDK4/6抑制剂选自利波西利、阿贝西利(abemaciclib)(Eli Lilly)或帕柏西利。

[1128] 在一些实施方案中,CDK4/6抑制剂包含利波西利(CAS登记号:1211441-98-3)或美国专利号8,415,355和8,685,980中所披露的化合物,其通过引用并入以其整体并入本文。

[1129] 在一些实施方案中,CDK4/6抑制剂包含国际申请公开号WO 2010/020675,以及美国专利号8,415,355和8,685,980中所披露的化合物,其通过引用并入以其整体并入本文。

[1130] 在一些实施方案中,CDK4/6抑制剂包含帕博西尼(CAS登记号:1211441-98-3)。帕博西尼也称为LEE011、KISQALI®或7-环戊基-N,N-二甲基-2-((5-(哌嗪-1-基)吡啶-2-基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-甲酰胺。

[1131] 在一些实施方案中,CDK4/6抑制剂包含阿贝西利(CAS登记号:1231929-97-7)。阿贝西利也称为LY835219或N-[5-[(4-乙基-1-哌嗪基)甲基]-2-吡啶基]-5-氟-4-[4-氟-2-甲基-1-(1-甲基乙基)-1H-苯并咪唑-6-基]-2-嘧啶胺。阿贝西利是一种对CDK4和CDK6具有选择性的CDK抑制剂,并且已被公开,例如,在Torres-Guzman R等人(2017)Oncotarget 10.18632/oncotarget.17778中。

[1132] 在一些实施方案中,CDK4/6抑制剂包括帕博西尼(CAS登记号:571190-30-2)。帕博西尼也称为PD-0332991、IBRANCE®或6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-2-{[5-(1-哌嗪基)-2-吡啶基]氨基}吡啶并[2,3-d]嘧啶-7(8H)-酮。帕博西尼以11nM的IC50抑制CDK4,并以16nM的IC50抑制CDK6,并且已公开在,例如Finn等人(2009)Breast Cancer Research 11(5):R77中。

[1133] 在某些实施方案中,本文描述的组合包含趋化因子(C-X-C基序)受体2(CXCR2)的抑制剂。在一些实施方案中,CXCR2抑制剂选自6-氯-3-((3,4-二氧代-2-(戊烷-3-基氨基)环丁-1-烯-1-基)氨基)-2-羟基-N-甲氧基-N-甲基苯磺酰胺、达尼利星(danirixin)、瑞帕利星(reparixin)、或那伐利星(navarixin)。

[1134] 在一些实施方案中,CSF-1/1R结合剂选自巨噬细胞集落刺激因子(M-CSF)的抑制剂,例如,M-CSF的单克隆抗体或Fab(例如,MCS110),CSF-1R酪氨酸激酶抑制剂(例如,4-((2-(((1R,2R)-2-羟基环己基)氨基)苯并[d]噻唑-6-基)氧基)-N-甲基吡啶酰胺或BLZ945),受体酪氨酸激酶抑制剂(RTK)(例如,培达替尼(pexidartinib))或靶向CSF-1R的抗体(例如,依米妥珠单抗(emactuzumab)或FPA008)。在一些实施方案中,CSF-1/1R抑制剂是BLZ945。在一些实施方案中,CSF-1/1R结合剂是MCS110。在其他实施方案中,CSF-1/1R结合剂是培达替尼。

[1135] 在某些实施方案中,本文所述的组合包含c-MET抑制剂。c-MET(在许多肿瘤细胞类型中过表达或突变的受体酪氨酸激酶)在肿瘤细胞增殖、存活、侵袭、转移和肿瘤血管生成中起关键作用。抑制c-MET可能会诱导过度表达c-MET蛋白或表达组成型激活的c-MET蛋白的肿瘤细胞死亡。在一些实施方案中,c-MET抑制剂选自卡玛替尼(INC280)、JNJ-3887605、AMG 337、LY2801653、MSC2156119J、克唑替尼(crizotinib)、替万替尼、或戈伐替尼(golvatinib)。

[1136] 在某些实施方案中,本文所述的组合包含转化生长因子β(也称为TGF-β、TGFβ、TGFb或TGF-β,在本文中可互换使用)抑制剂。在一些实施方案中,该TGF-β抑制剂选自夫苏木单抗或XOMA 089。

[1137] 在某些实施方案中,本文所述的组合包含腺苷A2a受体(A2aR)拮抗剂(例如A2aR途径的抑制剂,例如腺苷抑制剂,例如A2aR或CD-73的抑制剂)。在一些实施方案中,A2aR拮抗剂与PD-1抑制剂和CXCR2抑制剂、CSF-1/1R结合剂、LAG-3抑制剂、GITR激动剂、c-MET抑制剂或IDO抑制剂中的一种或多种(例如,两种、三种、四种、五种或全部)组合使用。在一些实施方案中,所述组合用于治疗胰腺癌、结肠直肠癌、胃癌、或黑色素瘤(例如难治性黑色素瘤)。在一些实施方案中,A2aR拮抗剂选自PBF509(NIR178)(Palobiofarma/Novartis)、CPI444/V81444(Corvus/Genentech)、AZD4635/HTL-1071(AstraZeneca/Heptares)、Vipadenant(Redox/Juno)、GBV-2034(Globavir)、AB928(Arcus Biosciences)、茶碱、Istradefylline(Kyowa Hakko Kogyo)、Tozadenant/SYN-115(Acorda)、KW-6356(Kyowa Hakko Kogyo)、ST-4206(Leadiant Biosciences)或Preladenant/SCH 420814(Merck/Schering)。不希望受理论束缚,据信在一些实施方案中,A2aR的抑制导致IL-1b的上调。

[1138] 在某些实施方案中,本文所述的组合包含吲哚胺2,3-双加氧酶(IDO)和/或色氨酸2,3-双加氧酶(TDO)的抑制剂。在一些实施方案中,IDO抑制剂与PD-1抑制剂和TGF-β抑制剂、A2aR拮抗剂、CSF-1/1R结合剂、c-MET抑制剂或GITR激动剂中的一种或多种(例如,两种、三种、四种或全部)组合使用。在一些实施方案中,所述组合用于治疗胰腺癌、结肠直肠癌、胃癌、或黑色素瘤(例如难治性黑色素瘤)。在一些实施方案中,IDO抑制剂选自(4E)-4-[(3-氯-4-氟苯胺基)-亚硝基亚甲基]-1,2,5-噁二唑-3-胺(也称为依多司他(epacadostat)或INCB24360)、英多莫德(NLG8189)、(1-甲基-D-色氨酸)、α-环己基-5H-咪唑并[5,1-a]异吲哚-5-乙醇(也称为NLG919)、英多莫德、BMS-986205(以前称为F001287)。

[1139] 在某些实施方案中,本文所述的组合包含半乳糖凝集素,例如半乳糖凝集素-1或半乳糖凝集素-3抑制剂。在一些实施方案中,该组合包含半乳糖凝集素-1抑制剂和半乳糖凝集素-3抑制剂。在一些实施方案中,该组合包含靶向半乳糖凝集素-1和半乳糖凝集素-3两者的双特异性抑制剂(例如,双特异性抗体分子)。在一些实施方案中,半乳糖凝集素抑制剂与本文所述的一种或多种治疗剂组合使用。在一些实施方案中,半乳糖凝集素抑制剂选自抗半乳糖凝集素抗体分子、GR-MD-02(Galectin Therapeutics)、Galectin-3C(Mandal Med)、Anginex或OTX-008(OncoEthix,Merck)。

[1140] 在一些实施方案中,本文所述的组合包含MAP激酶途径的抑制剂,包括ERK抑制剂、MEK抑制剂和RAF抑制剂。

[1141] 在一些实施方案中,本文所述的组合包含MEK抑制剂。在一些实施方案中,MEK抑制剂选自曲美替尼、司美替尼、AS703026、BIX 02189、BIX 02188、CI-1040、PD0325901、PD98059、U0126、XL-518、G-38963、或G02443714。

[1142] 在一些实施方案中,MEK抑制剂是曲美替尼。Trametinib也称为JTP-74057、TMT212、N-(3-{3-环丙基-5-[(2-氟-4-碘苯基)氨基]-6,8-二甲基-2,4,7-三氧代-3,4,6,7-四氢吡啶并[4,3-d]嘧啶-1(2H)-基}苯基)乙酰胺或Mekinist(CAS号871700-17-3)。

[1143] 在一些实施方案中,MEK抑制剂包括司美替尼,其具有化学名称:(5-[(4-溴-2-氯苯基)氨基]-4-氟-N-(2-羟基乙氧基)-1-甲基-1H-苯并咪唑-6-甲酰胺。司美替尼也称为AZD6244或ARRY 142886,例如,如PCT公开号WO2003077914中所述。

[1144] 在一些实施方案中,MEK抑制剂包含AS703026、BIX 02189或BIX 02188。

[1145] 在一些实施方案中,MEK抑制剂包含2-[(2-氯-4-碘苯基)氨基]-N-(环丙基甲氧

基)-3,4-二氟-苯甲酰胺(也称为CI-1040或PD184352),例如,PCT公开号WO2000035436中描述)。

[1146] 在一些实施方案中,MEK抑制剂包含N-[(2R)-2,3-二羟基丙氧基]-3,4-二氟-2-[(2-氟-4-碘苯基)氨基]-苯甲酰胺(也称为PD0325901),例如,如PCT公开号WO2002006213中所描述的。

[1147] 在一些实施方案中,MEK抑制剂包含2'-氨基-3'-甲氧基黄酮(也称为PD98059),其可获自Biaffin GmbH&Co.,KG,Germany。

[1148] 在一些实施方案中,MEK抑制剂包含2,3-双[氨基[(2-氨基苯基)硫基]亚甲基]-丁二腈(也称为U0126),例如,如美国专利号2,779,780中所述。

[1149] 在一些实施方案中,MEK抑制剂包括XL-518(也称为GDC-0973),其具有CAS号1029872-29-4并且可从ACC Corp.获得。

[1150] 在一些实施方案中,MEK抑制剂包含G-38963。

[1151] 在一些实施方案中,MEK抑制剂包含G02443714(也称为AS703206)

[1152] MEK抑制剂的另外的实例公开于WO 2013/019906、WO 03/077914、WO 2005/121142、WO 2007/04415、WO 2008/024725和WO 2009/085983中,其内容通过引用并入本文。MEK抑制剂的其他实例包括但不限于2,3-双[氨基[(2-氨基苯基)硫代]亚甲基]-丁二腈(也称为U0126并在美国专利号2,779,780中描述);(3S,4R,5Z,8S,9S,11E)-14-(乙基氨基)-8,9,16-三羟基-3,4-二甲基-3,4,9,19-四氢-1H-2-苯并氧杂环丁烷-1,7(8H)-二酮](也称为E6201,描述于PCT公开号WO2003076424中);维莫非尼(PLX-4032,CAS 918504-65-1);(R)-3-(2,3-二羟基丙基)-6-氟-5-(2-氟-4-碘苯基氨基)-8-甲基吡啶并[2,3-d]嘧啶-4,7(3H,8H)-二酮(TAK-733,CAS 1035555-63-5);pimasertib(AS-703026,CAS 1204531-26-9);2-(2-氟-4-碘苯基氨基)-N-(2-羟基乙氧基)-1,5-二甲基-6-氧代-1,6-二氢吡啶-3-甲酰胺(AZD 8330);和3,4-二氟-2-[(2-氟-4-碘苯基)氨基]-N-(2-羟基乙氧基)-5-[(3-氧代-[1,2]噁嗪基-2-基)甲基]苯甲酰胺(CH 4987655或Ro 4987655)。

[1153] 在一些实施方案中,本文所述的组合包含RAF抑制剂。

[1154] RAF抑制剂包括但不限于维莫非尼(或Zelboraf®,PLX-4032,CAS 918504-65-1)、GDC-0879、PLX-4720(Symansis)、达拉菲尼(或GSK2118436)、LGX 818、CEP-32496、UI-152、RAF 265、瑞戈非尼(Regorafenib)(BAY73-4506)、CCT239065、或索拉非尼(或甲苯磺酸索拉非尼或Nexavar®)。

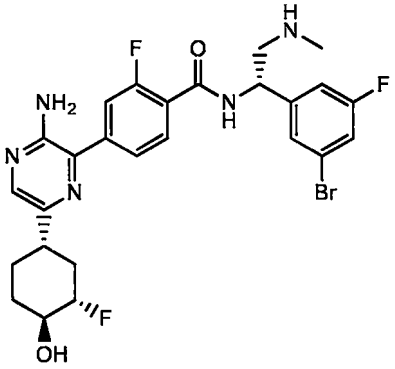
[1155] 在一些实施方案中,RAF抑制剂是达拉非尼。

[1156] 在一些实施方案中,RAF抑制剂是LXH254。

[1157] 在一些实施方案中,本文所述的组合包含ERK抑制剂。

[1158] ERK抑制剂包括但不限于LTT462、尤利塞替尼(ulixertinib)(BVD-523)、LY3214996、GDC-0994、KO-947和MK-8353。

[1159] 在一些实施方案中,ERK抑制剂是LTI462。LTT462是4-(3-氨基-6-((1S,3S,4S)-3-氟-4-羟基-环己基)吡嗪-2-基)-N-((S)-1-(3-溴-5-氟苯基)-2-(甲基氨基)乙基)-2-氟苯甲酰胺,且是具有以下结构的化合物:

[1160] 

[1161] LTT462的制备描述于PCT专利申请公开WO2015/066188中。LTF462是细胞外信号调节激酶1和2(ERK 1/2)的抑制剂。

[1162] 在一些实施方案中,本文所述的组合包含紫杉烷、长春花生物碱、MEK抑制剂、ERK抑制剂或RAF抑制剂。

[1163] 在一些实施方案中,本文描述的组合包含至少两种独立地选自MEK抑制剂、ERK抑制剂和RAF抑制剂的抑制剂。

[1164] 在一些实施方案中,本文描述的组合包含抗有丝分裂药物。

[1165] 在一些实施方案中,本文描述的组合包含紫杉烷。

[1166] 紫杉烷类包括但不限于多西他赛、紫杉醇或卡巴他赛。在一些实施方案中,紫杉烷是多西他赛。

[1167] 在一些实施方案中,本文所述的组合包含长春花生物碱。

[1168] 长春花生物碱包括但不限于长春新碱、长春花碱和环氧长春碱。

[1169] 在一些实施方案中,本文所述的组合包含拓扑异构酶抑制剂。

[1170] 拓扑异构酶抑制剂包括但不限于托泊替康、伊立替康、喜树碱、二氟莫替康、片螺素D、玫瑰树碱、依托泊苷(VP-16)、替尼泊苷、多柔比星、柔红霉素、米托蒽醌、安吖啶、金精三羧酸和HU-331。

[1171] 在一个实施方案中,本文描述的组合包括白细胞介素-1β(IL-1β)抑制剂。在一些实施方案中,IL-1β抑制剂选自卡那单抗(canakinumab)、格沃吉珠单抗(gevokizumab)、阿那白滞素、或利纳西普(Rilonacept)。

[1172] 在某些实施方案中,本文所述的组合包含IL-15/IL-15Ra复合物。在一些实施方案中,IL-15/IL-15Ra复合物选自NIZ985(Novartis)、ATL-803(Altor)或CYP0150(Cytune)。

[1173] 在某些实施方案中,本文所述的组合包含小鼠双微体2同源物(MDM2)抑制剂。MDM2的人同源物也称为HDM2。在一些实施方案中,本文所述的MDM2抑制剂也称为HDM2抑制剂。在一些实施方案中,MDM2抑制剂选自HDM201或CGM097。

[1174] 在实施方案中,MDM2抑制剂包含(S)-1-(4-氯苯基)-7-异丙氧基-6-甲氧基-2-(4-(甲基(((1r,4S)-4-(4-甲基-3-氧代哌嗪-1-基)环己基)甲基)氨基)苯基)-1,2-二氢异喹啉-3(4H)-酮(也称为CGM097)或PCT公开号WO 2011/076786中公开的化合物,用于治疗障碍例如,本文描述的障碍)。在一个实施方案中,本文公开的治疗剂与CGM097组合使用。

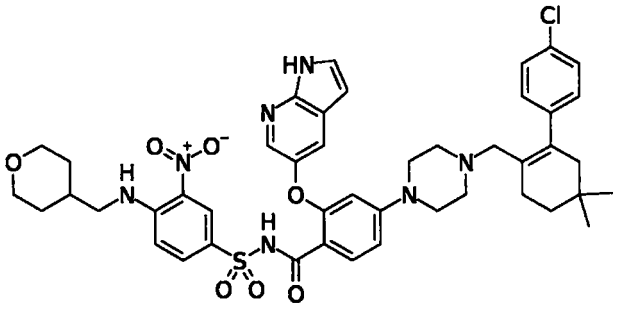
[1175] 在一些实施方案中,本文所述的组合包含低甲基化剂(HMA)。在一些实施方案中,HMA选自地西他滨或阿扎胞苷。

[1176] 在一些实施方案中,本文所述的组合包含糖皮质激素。在一些实施方案中,糖皮质

激素是地塞米松。

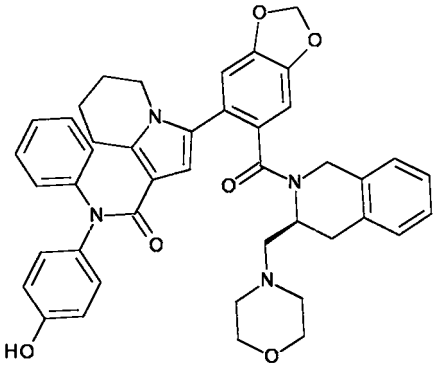
[1177] 在一些实施方案中,本文描述的组合包含天冬酰胺酶。

[1178] 在某些实施方案中,本文描述的组合包含作用于Bcl2家族的任何促存活蛋白的抑制剂。在某些实施方案中,本文所述的组合包含Bcl-2抑制剂。在一些实施方案中,Bcl-2抑制剂是维奈托克(venetoclax)(也称为ABT-199):

[1179] 

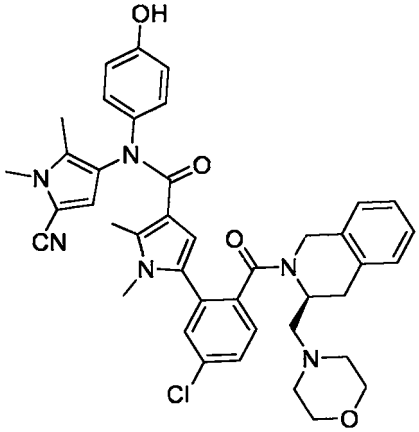
(维奈托克)。

[1180] 在一个实施方案中,Bcl-2抑制剂选自WO 2013/110890和WO 2015/011400中描述的化合物。在一些实施方案中,Bcl-2抑制剂包括navitoclax(ABT-263)、ABT-737、BP1002、SPC2996、APG-1252、奥布妥拉甲磺酸盐(GX15-070MS)、PNT2258、Zn-d5、BGB-11417或奥利默森(olimersen)(G3139)。在一些实施方案中,Bcl-2抑制剂是N-(4-羟基苯基)-3-[6-[(3S)-3-(吗啉代甲基)-3,4-二氢-1H-异喹啉-2-羰基]-1,3-苯并间二氧杂环戊烯-5-基]-N-苯基-5,6,7,8-四氢中氮茚-1-甲酰胺,化合物A1:

[1181] 

(化合物A1)。

[1182] 在一些实施方案中,Bcl-2抑制剂是(S)-5-(5-氯-2-(3-(吗啉代甲基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-2-羰基)苯基)-N-(5-氰基-1,2-二甲基-1H-吡咯-3-基)-N-(4-羟基苯基)-1,2-二甲基-1H-吡咯-3-甲酰胺),化合物A2:

[1183] 

(化合物A2)。

[1184] 在一个实施方案中,本文公开的抗体-药物缀合物或组合适合于体内治疗癌症。例

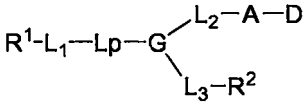
如,该组合可用于抑制癌性肿瘤的生长。该组合还可以与以下一种或多种组合使用:标准护理治疗(例如,用于癌症或传染病)、疫苗(例如,治疗性癌症疫苗)、细胞疗法、激素疗法(例如,使用抗雌激素或抗雄激素)、放射疗法、手术或任何其他治疗剂或方式,以治疗本文的病症。例如,为了实现抗原特异性免疫增强,可以将该组合与目的抗原一起施用。本文公开的组合可以按顺序或同时施用。

[1185] 另外的实施方案

[1186] 本公开提供了接头-药物基团、抗体-药物缀合物、接头基团和缀合方法的以下另外的实施方案。

[1187] 接头-药物基团

[1188] 在一些实施方案中,本发明的接头-药物基团可以是具有式(A')结构的化合物或其药学上可接受的盐:

[1189] 

式 (A')

[1190] 其中:

[1191] R^1是反应性基团;

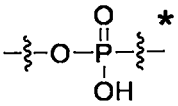
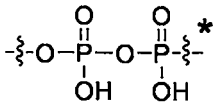
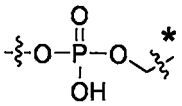
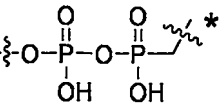
[1192] L^1是桥连间隔基;

[1193] Lp是二价肽间隔基;

[1194] G-L_2-A是自分解间隔基;

[1195] R^2是亲水部分;

[1196] L_2是键、亚甲基、新亚戊基或C_2-C_3亚烯基;

[1197] A是键、-OC(=O)-*、、、、、

[1198] -OC(=D)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-*或-OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-*,其中每个R^a独立地选自H、C_1-C_6烷基和C_3-C_8环烷基,A的*表示与D的附接点;

[1199] L_3是间隔基部分;以及

[1200] D是当例如从本文公开的抗体药物缀合物或免疫缀合物中释放时能够抑制Bcl-xL蛋白的活性的药物部分。

[1201] 本发明的接头-药物组的某些方面和实例在以下列举的实施方案的列表中提供。应认识到,每个实施方案中指定的特征可以与其他指定特征组合以提供本发明的另外的实施方案。

[1202] 实施方案1.式(A')的化合物或其药学上可接受的盐,其中:

[1203] R^1是反应性基团;

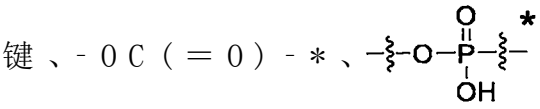
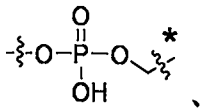
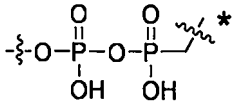
[1204] L_1是桥连间隔基;

[1205] Lp是包含二至四个氨基酸残基的二价肽间隔基;

[1206] G-L_2-A是自分解间隔基；

[1207] R^2是亲水部分；

[1208] L_2是键、亚甲基、新亚戊基或C_2-C_3亚烯基；

[1209] A是键、-OC(=O)-*、、、、、

[1210] -OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-*或-OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-*，其中每个R^a独立地选自H、C_1-C_6烷基和C_3-C_8环烷基，A的*表示与D的附接点；

[1211] L_3是间隔基部分；以及

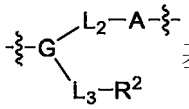
[1212] D是本文定义的药物部分，例如Bcl-xL抑制剂。

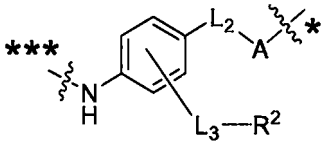
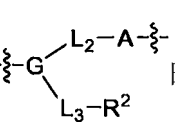
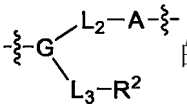
[1213] 实施方案2.式(A')的化合物或其药学上可接受的盐，其中：

[1214] R^1是反应性基团；

[1215] L_1是桥连间隔基；

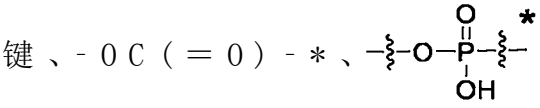
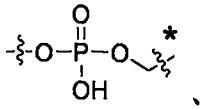
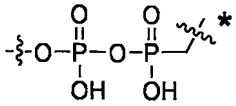
[1216] Lp是包含二至四个氨基酸残基的二价肽间隔基；

[1217] 基团选自：

[1218] 其中，的*表示与D的附接点(例如，与药物部分的N或O的附接点)，的***表示与Lp的附接点；

[1219] R^2是亲水部分；

[1220] L_2是键、亚甲基、新亚戊基或C_2-C_3亚烯基；

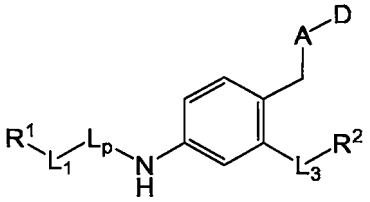
[1221] A是键、-OC(=O)-*、、、、、

[1222] -OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-*或-OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-*，其中每个R^a独立地选自H、C_1-C_6烷基和C_3-C_8环烷基，A的*表示与D的附接点；

[1223] L_3是间隔基部分；以及

[1224] D是本文定义的药物部分，例如Bcl-xL抑制剂。

[1225] 实施方案3.式(A')的化合物或其药学上可接受的盐，具有式(B')结构：

[1226] 

式 (B')

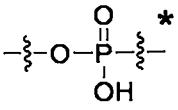
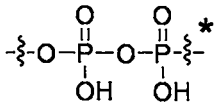
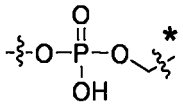
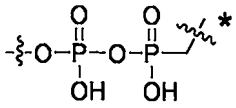
[1227] 其中：

[1228] R^1是反应性基团；

[1229] L_1是桥连间隔基；

[1230] Lp是包含二至四个氨基酸残基的二价肽间隔基；

[1231] R^2是亲水部分；

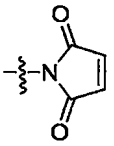
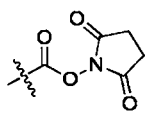
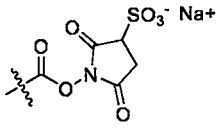
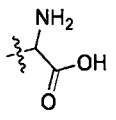
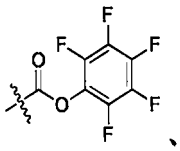
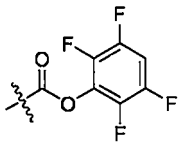
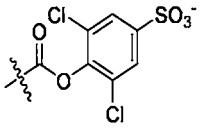
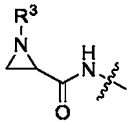
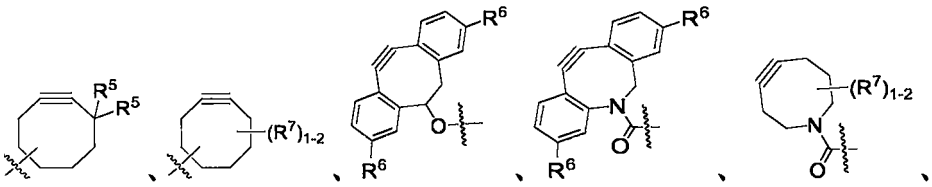
[1232] A是键、-OC(=O)-*、、、、、

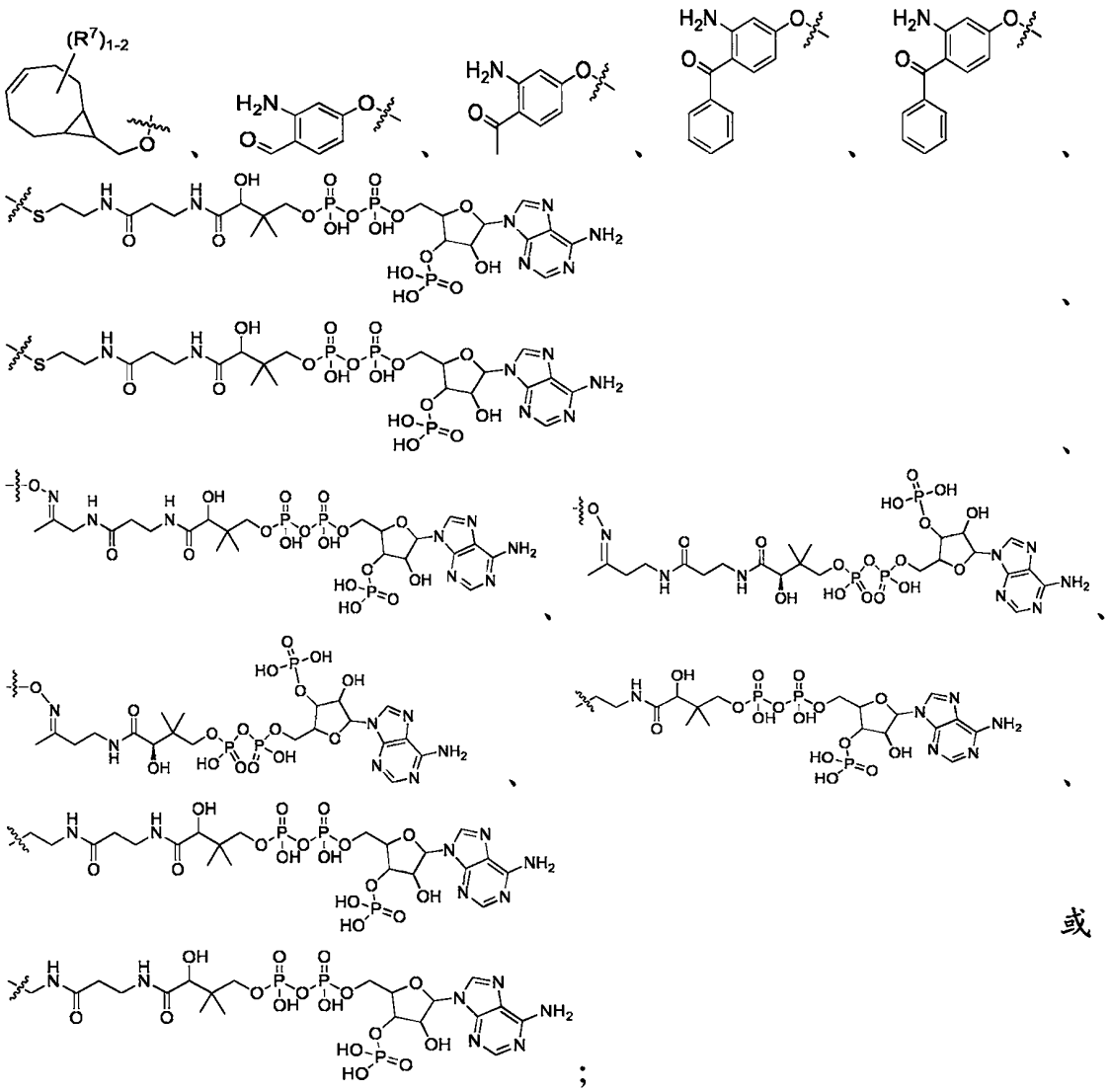
[1233] -OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-*或-OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-*，其中每个R^a独立地选自H、C_1-C_6烷基和C_3-C_8环烷基，A的*表示与D的附接点；

[1234] L_3是间隔基部分；以及

[1235] D是如本文所定义的并且包含N的药物部分，其中D通过从A到药物部分的N的直接键连接至A。

[1236] 实施方案4.实施方案1至3中任一项所述的式(A')的化合物或其药学上可接受的盐，其中：

[1237] R^1为、-ONH$_2$、-NH$_2$、、、、、、、-N_3、、-SH、-SR^3、-SSR^4、-S(=O)$_2$(CH=CH_2)、-(CH_2)$_2$S(=O)$_2$(CH=CH_2)、-NHS(=O)$_2$(CH=CH_2)、-NHC(=O)CH_2Br、-NHC(=O)CH_2I、、-C(O)$NHNH_2$、、



或

;

[1238] L_1是*-C(=O)$(CH_2)_m$O$(CH_2)_m$-**;

[1239] *-C(=O)$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$-**;

[1240] *-C(=O)$(CH_2)_m$-**;

[1241] *-C(=O)NH$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$-**;

[1242] *-C(=O)O$(CH_2)_m$SSC$(R^3)_2(CH_2)_m$C(=O)N$R^3(CH_2)_m$NR^3C(=O)$(CH_2)_m$-**;

[1243] *-C(=O)O$(CH_2)_m$C(=O)NH$(CH_2)_m$-**;

[1244] *-C(=O)$(CH_2)_m$NH$(CH_2)_m$-**;*-C(=O)$(CH_2)_m$NH$(CH_2)_n$C(=O)-**;

[1245] *-C(=O)$(CH_2)_mX_1(CH_2)_m$-**;*-C(=O)$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_nX_1(CH_2)_n$-**;

[1246] *-C(=O)$(CH_2)_m$NHC(=O)$(CH_2)_n$-**;

[1247] *-C(=O)$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$NHC(=O)$(CH_2)_n$-**;

[1248] *-C(=O)$(CH_2)_m$NHC(=O)$(CH_2)_nX_1(CH_2)_n$-**;

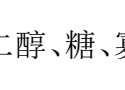
[1249] *-C(=O)$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$NHC(=O)$(CH_2)_nX_1(CH_2)_n$-**;

[1250] *-C(=O)$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$C(=O)NH$(CH_2)_m$-**;

[1251] *-C(=O)$(CH_2)_mC(R^3)_2$-**;或者

[1252] *-C(=O)$(CH_2)_m$C(=O)NH$(CH_2)_m$-**,

[1253] 其中L_1的*表示与Lp的附接点,L_1的**表示与R^1的附接点;

[1254] R^2是选自聚乙二醇、聚亚烷基二醇、糖、寡糖、多肽或被1至3个基团取代的C_2-C_6烷基的亲水部分；

[1255] 每个R^3独立地选自H和C_1-C_6烷基；

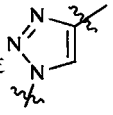
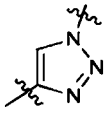
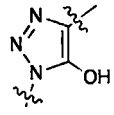
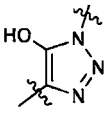
[1256] R^4是2-吡啶基或4-吡啶基；

[1257] 每个R^5独立地选自H、C_1-C_6烷基、F、Cl和-OH；

[1258] 每个R^6独立地选自H、C_1-C_6烷基、F、Cl、$-NH_2$、$-OCH_3$、$-OCH_2CH_3$、$-N(CH_3)_2$、-CN、$-NO_2$和-OH；

[1259] 每个R^7独立地选自H、C_{1-6}烷基、氟、被-C(=O)OH取代的苄氧基、被-C(=O)OH取代的苄基，被

[1260] -C(=O)OH取代的C_{1-4}烷氧基和被-C(=O)OH取代的C_{1-4}烷基；

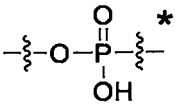
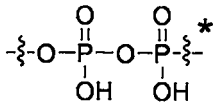
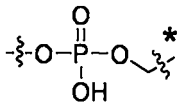
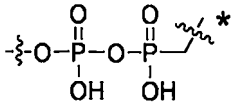
[1261] X_1是、、或；

[1262] 每个m独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10；

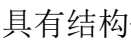
[1263] 每个n独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10；

[1264] 每个t独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29和30；

[1265] Lp是包含选自甘氨酸、缬氨酸、瓜氨酸、赖氨酸、异亮氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸、天冬酰胺、脯氨酸、丙氨酸、亮氨酸、色氨酸和酪氨酸的氨基酸残基的二价肽间隔基；

[1266] A是键、-OC(=O)-*、、、、、

[1267] -OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-*或-OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-*，其中每个R^a独立地选自H、C_1-C_6烷基和C_3-C_8环烷基，A的*表示与D的附接点；

[1268] L_3是具有结构的间隔基部分，

[1269] 其中

[1270] W是CH_2O-**、$-CH_2N(R^b)C(=O)O$-**、-NHC(=O)C(R^b)$_2$NHC(=O)O-**、-NHC(=O)C(R^b)$_2$NH-**、-NHC(=O)C(R^b)$_2$NHC(=O)-**、$-CH_2N(X-R^2)C(=O)O$-**、-C(=O)N(X-R^2)-**、$-CH_2N(X-R^2)C(=O)$-**、-C(=O)NR^b-**、-C(=O)NH-**、$-CH_2NR^bC(=O)$-**、$-CH_2NR^bC(=O)NH$-**、$-CH_2NR^bC(=O)NR^b$-**、-NHC(=O)-**、-NHC(=O)O-**、-NHC(=O)NH-**、-OC(=O)NH-**、$-S(O)_2$NH-**、$-NHS(O)_2$-**、-C(=O)-、-C(=O)O-**或

[1271] -NH-，其中每个R^b独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基并且其中W的**表示与X的附接点；

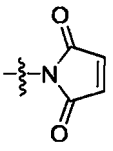
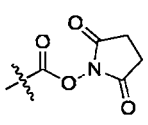
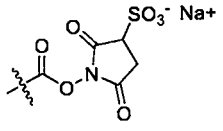
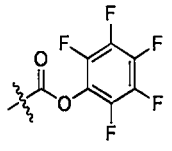
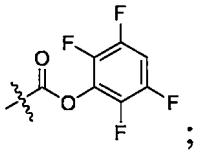
[1272] X是键、三唑基或***-CH_2-三唑基-*，其中X的***表示与W的附接点，X的*表示与R^2的附接点；以及

[1273] L_3的*表示与R^2的附接点；

[1274] 以及

[1275] D是如本文所定义的并且包含N或O的药物部分，其中D通过从A到药物部分的N或O的直接键连接至A。

[1276] 实施方案5.实施方案1至4中任一项所述的式(A')的化合物或其药学上可接受的盐，其中：

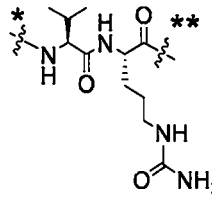
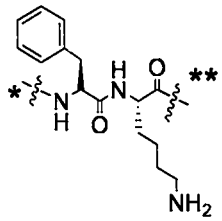
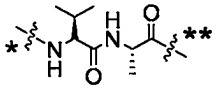
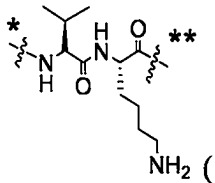
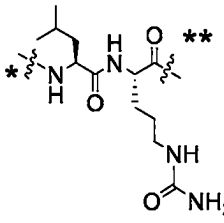
[1277] R^1 为  、-ONH$_2$、、、或；

[1278] L_1是*-C(=O)$(CH_2)_m$O$(CH_2)_m$-**;*-C(=O)$((CH_2)_m O)_t(CH_2)_n$-**;*-C(=O)$(CH_2)_m$-**;或*-C(=O)NH$((CH_2)_m O)_t(CH_2)_n$-，其中L_1的*表示与Lp的附接点，L_1的**表示与R^1的附接点；

[1279] 每个m独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10；

[1280] 每个n独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10；

[1281] 每个t独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29和30；

[1282] Lp是选自 （ValCit）、（PheLys）、（ValAla）、（ValLys）和（LeuCit）的二价肽间隔基，其中Lp的*表示与L_1的附接点，Lp的**表示与G的-NH-基团的附接点；

[1283] L_3是具有结构-W—X-的间隔基部分，

[1284] 其中

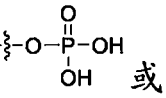
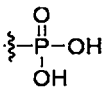
[1285] W是-CH_2O-**、-CH_2N(R^b)C(=O)O-**、-NHC(=O)CH_2NHC(=O)O-**、-NHC(=O)CH_2NH-**、-NHC(=O)CH_2NHC(=O)-**、-CH_2N(X-R^2)C(=O)O-**、-C(=O)N(X-R^2)-**、-CH_2N(X-R^2)C(=O)-**、-C(=O)NR^b-**、-C(=O)NH-**、-CH_2NR^bC(=O)-**、-CH_2NR^bC(=O)NH-**、-CH_2NR^bC(=O)NR^b-**、-NHC(=O)-**、-NHC(=O)O-**、-NHC(=O)NH-**、-OC(=O)NH-**、-S(O)$_2$NH-**、-NHS(O)$_2$-**、-C(=O)-、-C(=O)O-**或

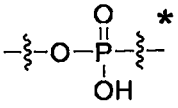
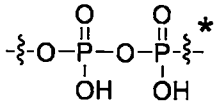
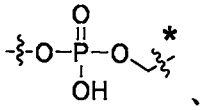
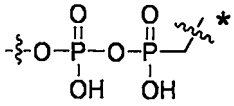
[1286] -NH-，其中每个R^b独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基并且其中W的**表示与X的附接点；

[1287] X是键、三唑基或***-CH2-三唑基-*,其中X的***表示与W的附接点,X的*表示与R^2的附接点;

[1288] 以及

[1289] L_3的*表示与R^2的附接点;

[1290] R^2是选自聚乙二醇、聚亚烷基二醇、糖、寡糖、多肽或被1至3个或取代的C_2-C_6烷基的亲水部分;

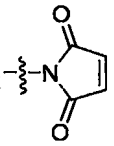
[1291] A是键、-OC(=O)-*、、、、、

[1292] -OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-*或者

[1293] -OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-*,其中每个R^a独立地选自H、C_1-C_6烷基和C_3-C_8环烷基,A的*表示与D的附接点;以及

[1294] D是如本文所定义的并且包含N或O的药物部分,其中D通过从A到药物部分的N或O的直接键连接至A。

[1295] 实施方案6.实施方案1至5中任一项所述的式(A')的化合物或其药学上可接受的盐,其中:

[1296] R^1是;

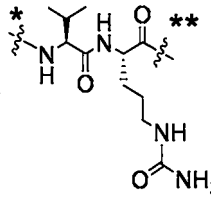
[1297] L_1是*-C(=O)$(CH_2)_m$O$(CH_2)_m$-**;*-C(=O)$((CH_2)_m$O$)_t(CH_2)_n$-**;*-C(=O)$(CH_2)_m$-**;或者

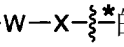
[1298] 或*-C(=O)NH$((CH_2)_m$O$)_t(CH_2)_n$-,其中L_1的*表示与Lp的附接点,L_1的**表示与R^1的附接点;

[1299] 每个m独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10;

[1300] 每个n独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10;

[1301] 每个t独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29和30;

[1302] Lp是选自(ValCit)的二价肽间隔基,其中Lp的*表示与L_1的附接点,Lp的**表示与G的-NH-基团的附接点;

[1303] L_3是具有结构的间隔基部分,

[1304] 其中

[1305] W是-CH_2O-**、-CH_2N(R^b)C(=O)O-**、-NHC(=O)CH_2NHC(=O)O-**、

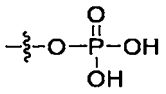
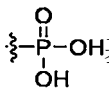
[1306] $-CH_2N(X-R^2)C(=O)O-**$、$-C(=O)N(X-R^2)-**$、$-CH_2N(X-R^2)C(=O)-**$、$-C(=O)NR^b-**$、$-C(=O)NH-**$、$-CH_2NR^bC(=O)-**$、$-CH_2NR^bC(=O)NH-**$、$-CH_2NR^bC(=O)NR^b-**$、$-NHC(=O)-**$、$-NHC(=O)O-**$、$-NHC(=O)NH-**$、$-OC(=O)NH-**$、$-S(O)_2NH-**$、$-NHS(O)_2-**$、$-C(=O)-$、$-C(=O)O-**$或

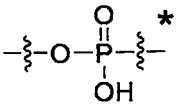
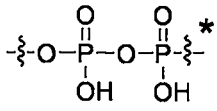
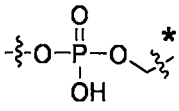
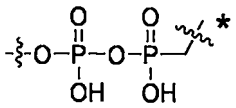
[1307] $-NH-$，其中每个R^b独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基并且其中W的**表示与X的附接点；

[1308] X是键、三唑基或***-CH_2-三唑基-*，其中X的***表示与W的附接点，X的*表示与R^2的附接点；

[1309] 以及

[1310] L_3的*表示与R^2的附接点；

[1311] R^2是选自聚乙二醇、聚亚烷基二醇、糖、寡糖、多肽或被1至3个或基团取代的C_2-C_6烷基的亲水部分；

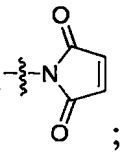
[1312] A是键、-OC(=O)-*、、、、、$-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-*$或

[1313] $-OC(=O)N(CH_3)C(R^a)_2C(R^a)_2N(CH_3)C(=O)-*$，其中每个$R^a$独立地选自H、$C_1$-$C_6$烷基和$C_3$-$C_8$环烷基，A的*表示与D的附接点；

[1314] 以及

[1315] D是如本文所定义的并且包含N或O的药物部分，其中D通过从A到药物部分的N或O的直接键连接至A。

[1316] 实施方案7.实施方案1至6中任一项所述的式(A')的化合物或其药学上可接受的盐，其中：

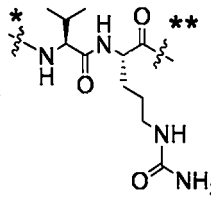
[1317] R^1是；

[1318] L_1是$*-C(=O)(CH_2)_mO(CH_2)_m-**$；$*-C(=O)((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n-**$；$*-C(=O)(CH_2)_m-**$；或$*-C(=O)NH((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n-$，其中$L_1$的*表示与Lp的附接点，$L_1$的**表示与$R^1$的附接点；

[1319] 每个m独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10；

[1320] 每个n独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10；

[1321] 每个t独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29和30；

[1322] Lp是选自（ValCit）的二价肽间隔基，其中Lp的*表示与L_1的附接点，Lp的**表示与G的-NH-基团的附接点；

[1323] L_3是具有结构-§-W—X-§*的间隔基部分，

[1324] 其中

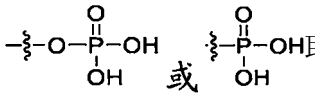
[1325] W是-CH_2O-**、-$CH_2N(R^b)C(=O)O$-**、-$NHC(=O)CH_2NHC(=O)O$-**、

[1326] -$CH_2N(X-R^2)C(=O)O$-**、-$C(=O)N(X-R^2)$-**、-$C(=O)NR^b$-**、-$C(=O)NH$-**、-$CH_2NR^bC(=O)$-**、-$CH_2NR^bC(=O)NH$-**、-$CH_2NR^bC(=O)NR^b$-**、-$NHC(=O)$-**、-$NHC(=O)O$-**或-$NHC(=O)NH$-**，其中每个R^b独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基并且其中W的**表示与X的附接点；

[1327] X是键、三唑基或***-CH2-三唑基-*，其中X的***表示与W的附接点，X的*表示与R^2的附接点；

[1328] 以及

[1329] L_3的*表示与R^2的附接点；

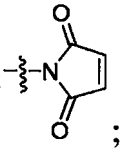
[1330] R^2是选自聚乙二醇、聚亚烷基二醇、糖、寡糖、多肽或被1至3个取代的C_2-C_6烷基的亲水部分；

[1331] A是键或-OC(=O)*，其中*表示与D的附接点；

[1332] 以及

[1333] D是如本文所定义的并且包含N或O的药物部分，其中D通过从A到药物部分的N或O的直接键连接至A。

[1334] 实施方案8.实施方案1至7中任一项所述的式(A')的化合物或其药学上可接受的盐，其中：

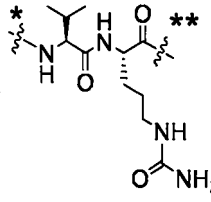
[1335] R^1是；

[1336] L_1是*-$C(=O)(CH_2)_mO(CH_2)_m$-**；*-$C(=O)((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$-**；*-$C(=O)(CH_2)_m$-**；或*-$C(=O)NH((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$-，其中$L_1$的*表示与Lp的附接点，$L_1$的**表示与$R^1$的附接点；

[1337] 每个m独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10；

[1338] 每个n独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10；

[1339] 每个t独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29和30；

[1340] Lp是选自  （ValCit）的二价肽间隔基，其中Lp的*表示与L_1的附接点，Lp的**表示与G的-NH-基团的附接点；

[1341] L_3是具有结构-W-X-*的间隔基部分，

[1342] 其中

[1343] W是-CH_2O-**、-$CH_2N(R^b)C(=O)O$-**、-$NHC(=O)CH_2NHC(=O)O$-**、

[1344] -$CH_2N(X\text{-}R^2)C(=O)O$-**或-$C(=O)N(X\text{-}R^2)$-**，其中每个$R^b$独立地选自H、$C_1$-$C_6$烷基或$C_3$-$C_8$环烷基并且其中W的**表示与X的附接点；

[1345] X是***-CH_2-三唑基-*，其中X的***表示与W的附接点，X的*表示与R^2的附接点；

[1346] 以及

[1347] L_3的*表示与R^2的附接点；

[1348] R^2是选自聚乙二醇、聚亚烷基二醇、糖、寡糖、多肽或被1至3个-O-P(=O)(OH)-OH基团取代的C_2-C_6烷基的亲水部分；

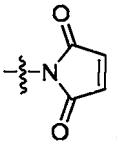
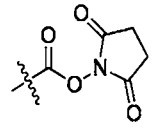
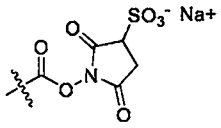
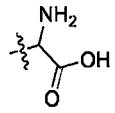
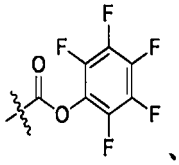
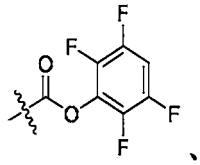
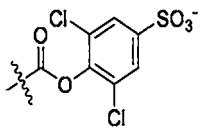
[1349] A是键或-OC(=O)*，其中*表示与D的附接点；

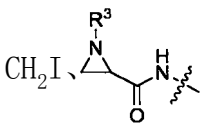
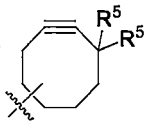
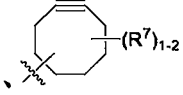
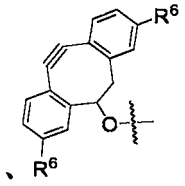
[1350] 以及

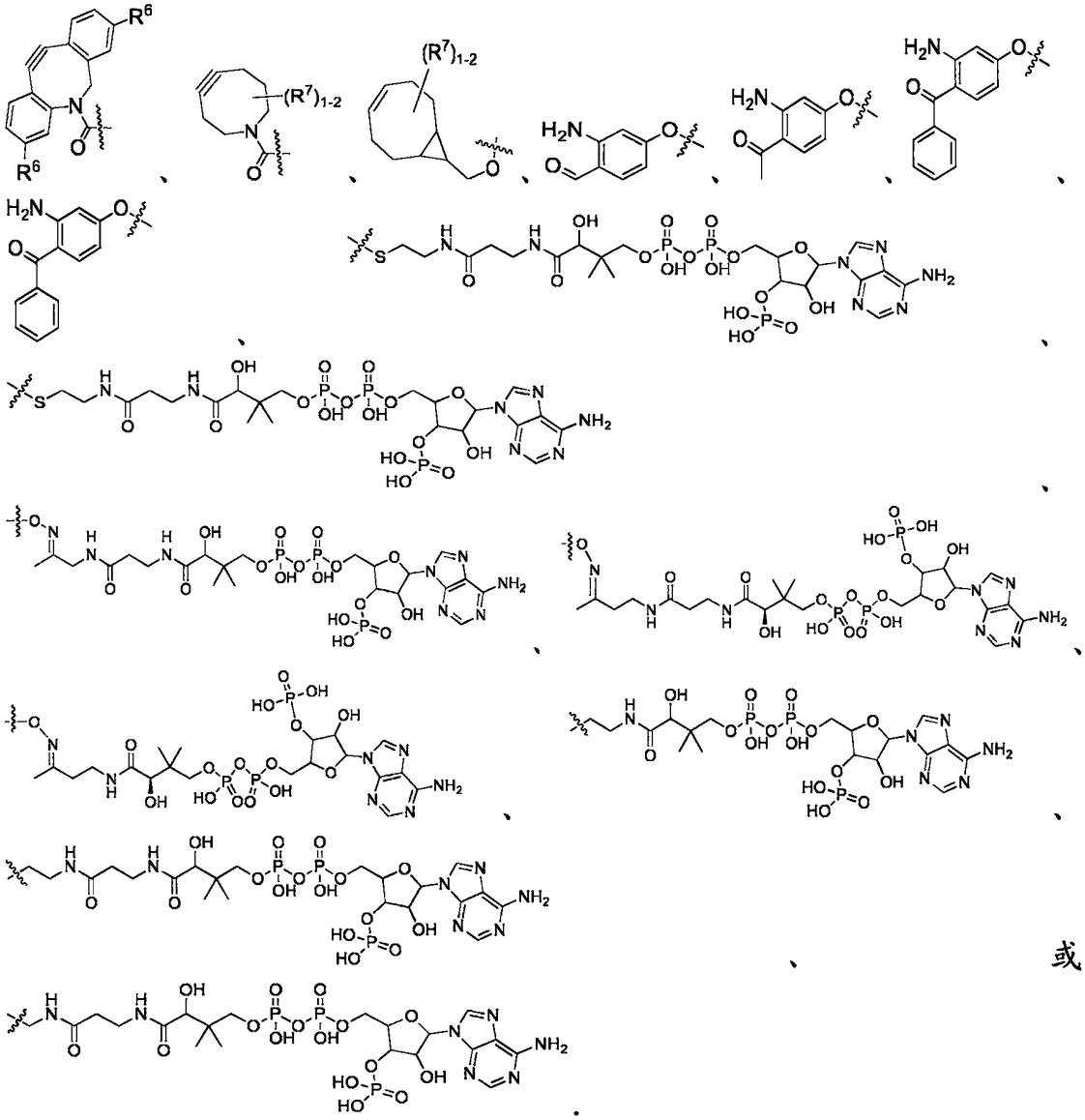
[1351] D是如本文所定义的并且包含N或O的药物部分，其中D通过从A到药物部分的N或O的直接键连接至A。

[1352] 实施方案9.实施方案1至8中任一项所述的式(A')的化合物或其药学上可接受的盐，其中R^1是选自表8的反应性基团。

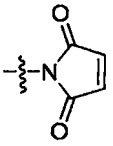
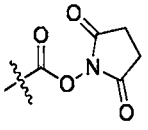
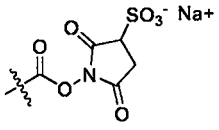
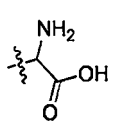
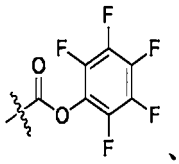
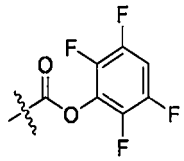
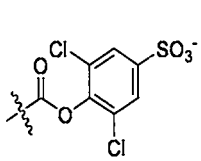
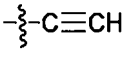
[1353] 实施方案10.实施方案1至9中任一项所述的式(A')的化合物或其药学上可接受的盐，其中：

[1354] R^1是 、-ONH$_2$、-NH$_2$、、、、、、、-N_3、、-SH、-SR^3、-SSR^4、-S(=O)$_2$(CH=CH_2)、

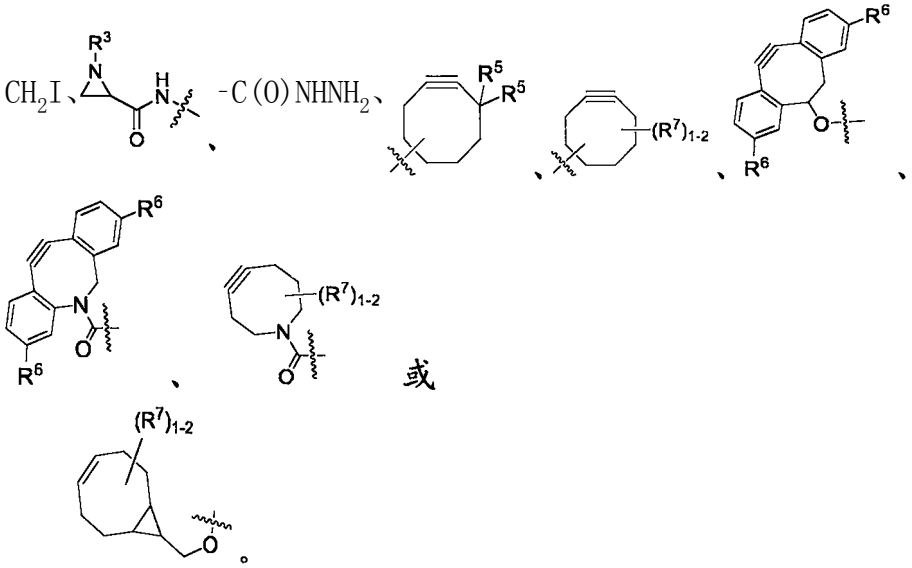
[1355] -$(CH_2)_2$S(=O)$_2$(CH=CH_2)、-NHS(=O)$_2$(CH=CH_2)、-NHC(=O)CH_2Br、-NHC(=O)CH_2I、、-C(O)$NHNH_2$、、、、



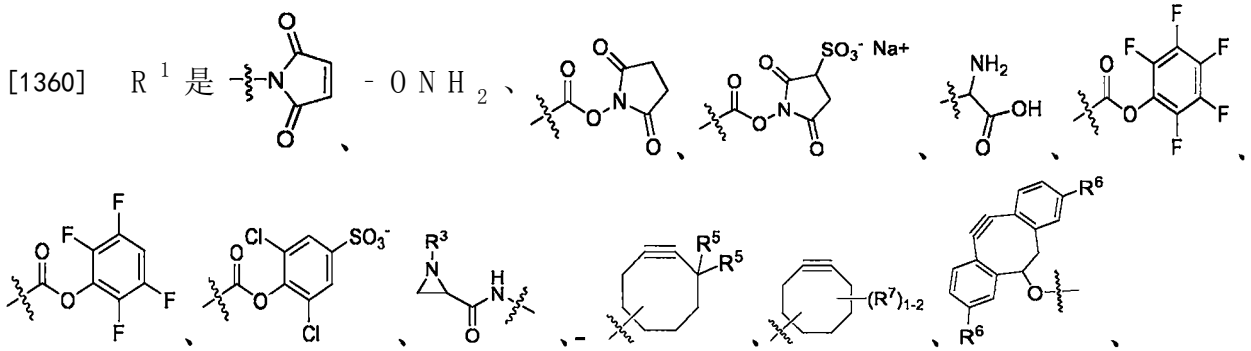
[1356] 实施方案11.实施方案1至9中任一项所述的式(A')的化合物或其药学上可接受的盐,其中:

[1357] R^1 是  、-ONH$_2$、-NH$_2$、、、、、、、-N$_3$、、-SH、-SR^3、-SSR^4、-S(=O)$_2$(CH=CH$_2$)、

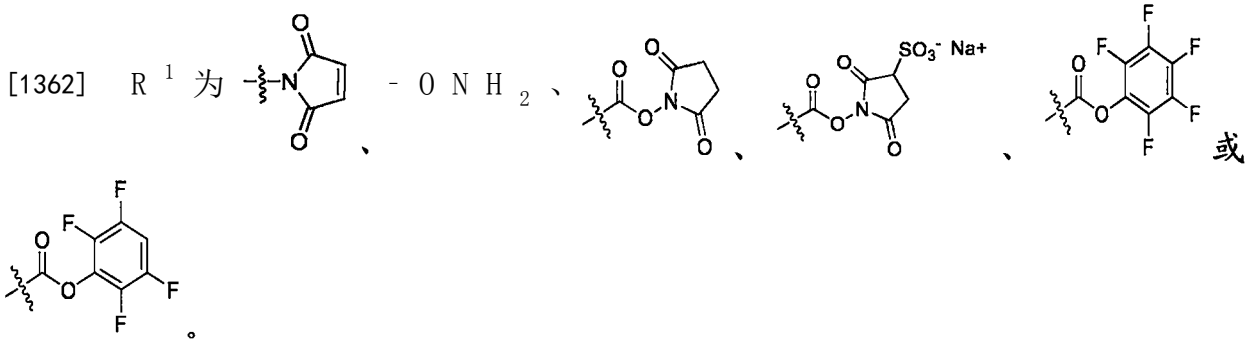
[1358] -(CH$_2$)$_2$S(=O)$_2$(CH=CH$_2$)、-NHS(=O)$_2$(CH=CH$_2$)、-NHC(=O)CH$_2$Br、-NHC(=O)



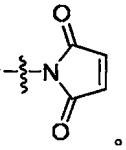
[1359] 实施方案12.实施方案1至9中任一项所述的式(A')的化合物或其药学上可接受的盐,其中:

[1360] R^1 是 

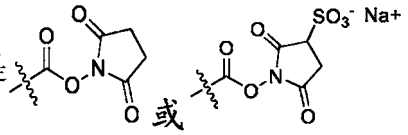
[1361] 实施方案13.实施方案1至9中任一项所述的式(A')的化合物或其药学上可接受的盐,其中:

[1362] R^1 为 

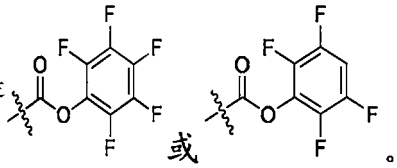
[1363] 实施方案14.实施方案1至9中任一项所述的式(A')的化合物或其药学上可接受的

盐，其中R^1为。

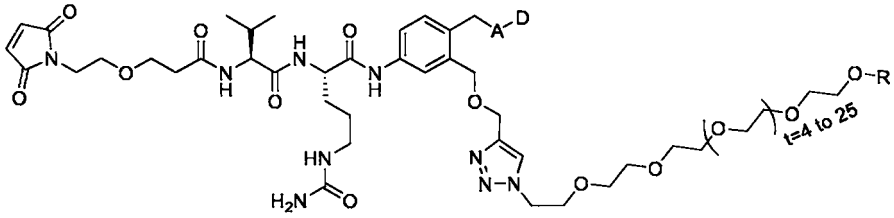
[1364] 实施方案15.实施方案1至9中任一项所述的式(A')的化合物或其药学上可接受的盐，其中R^1是$-ONH_2$。

[1365] 实施方案16.实施方案1至9中任一项所述的式(A')的化合物或其药学上可接受的盐，其中：R^1是。

[1366] 实施方案17.实施方案1至9中任一项所述的式(A')的化合物或其药学上可接受的盐，其中：

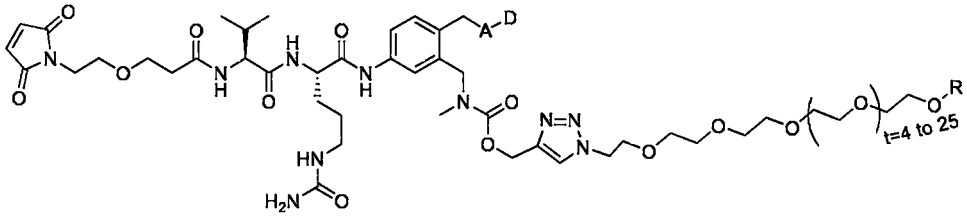
[1367] R^1是。

[1368] 实施方案18.实施方案1至9中任一项所述的式(A')的化合物或其药学上可接受的盐，具有以下结构：

[1369] 其中，

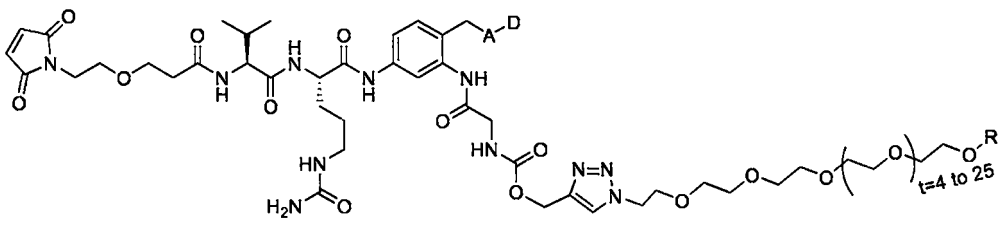
[1370] R是H、$-CH_3$或$-CH_2CH_2C(=O)OH$。

[1371] 实施方案19.实施方案1至9中任一项所述的式(A')的化合物或其药学上可接受的盐，具有以下结构：

[1372] 其中，

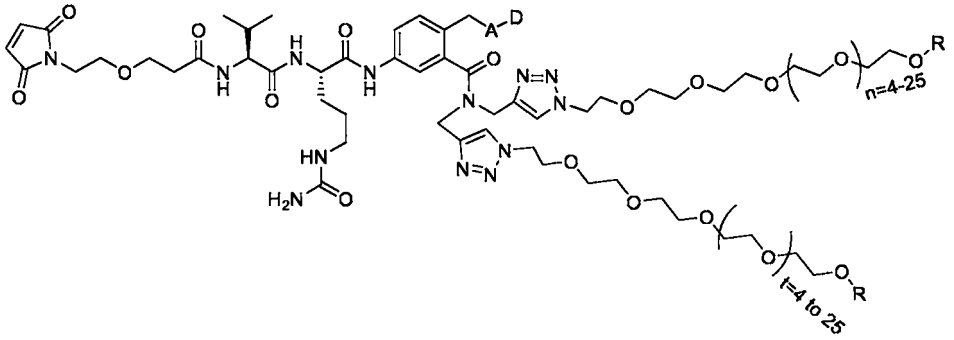
[1373] R是H、$-CH_3$或$-CH_2CH_2C(=O)OH$。

[1374] 实施方案20.实施方案1至9中任一项所述的式(A')的化合物或其药学上可接受的盐，具有以下结构：

[1375] 其中，

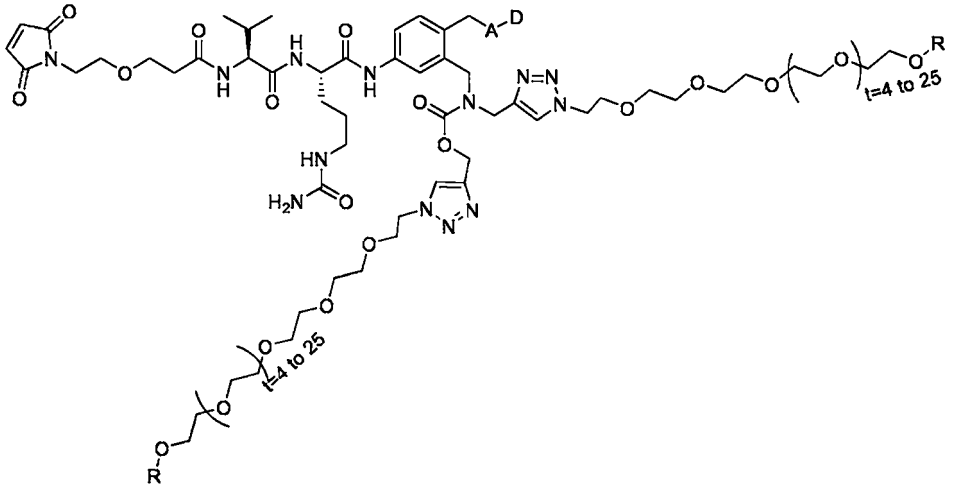
[1376] R是H、$-CH_3$或$-CH_2CH_2C(=O)OH$。

[1377] 实施方案21.实施方案1至9中任一项所述的式(A')的化合物或其药学上可接受的盐,具有以下结构:

[1378]  其中

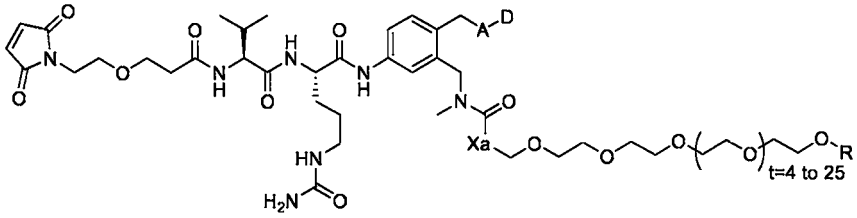
[1379] 每个R独立地选自H、-CH_3或-CH_2CH_2C(=O)OH。

[1380] 实施方案22.实施方案1至9中任一项所述的式(A')的化合物或其药学上可接受的盐,具有以下结构:

[1381]  其中

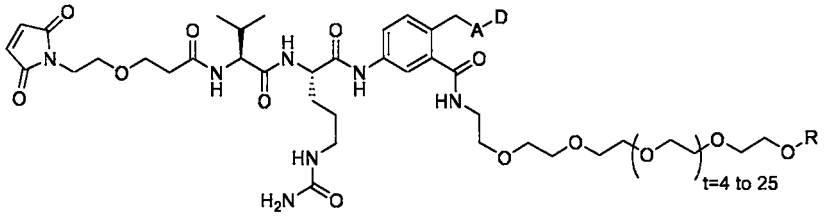
[1382] 每个R独立地选自H、-CH_3或-CH_2CH_2C(=O)OH。

[1383] 实施方案23.实施方案1至9中任一项所述的式(A')的化合物或其药学上可接受的盐,具有以下结构:

[1384]  其中

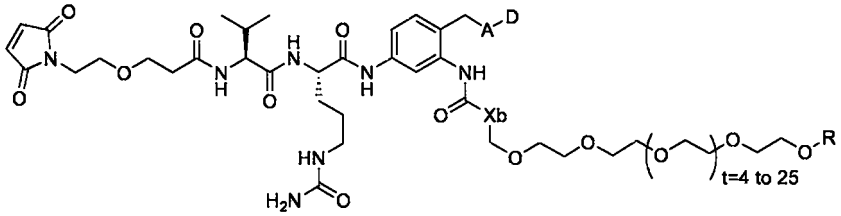
[1385] Xa是-CH_2-、-OCH_2-、-$NHCH_2$-或-$NRCH_2$-并且每个R独立地是H、-CH_3或-CH_2CH_2C(=O)OH。

[1386] 实施方案24.实施方案1至9中任一项所述的式(A')的化合物或其药学上可接受的盐,具有以下结构:

[1387]  其中

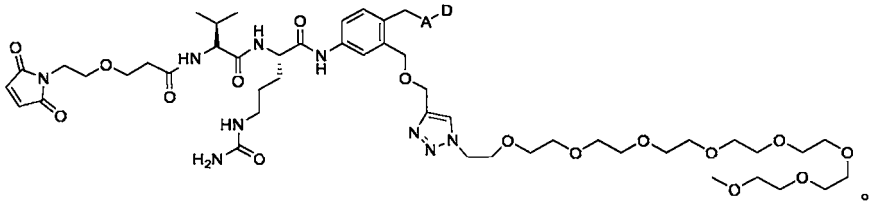
[1388] R是H、-CH_3或-CH_2CH_2C(=O)OH。

[1389] 实施方案25.实施方案1至9中任一项所述的式(A')的化合物或其药学上可接受的盐,具有以下结构:

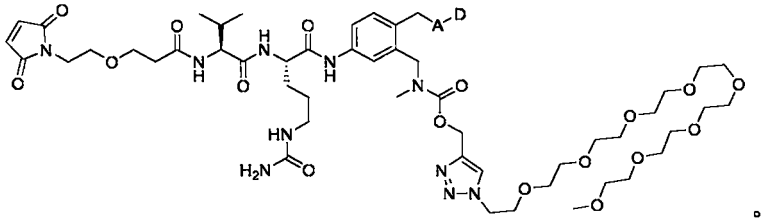
[1390]  其中

[1391] Xb是-CH_2-、-OCH_2-、-$NHCH_2$-或-$NRCH_2$-并且每个R独立地是H、-CH_3或-CH_2CH_2C(=O)OH。

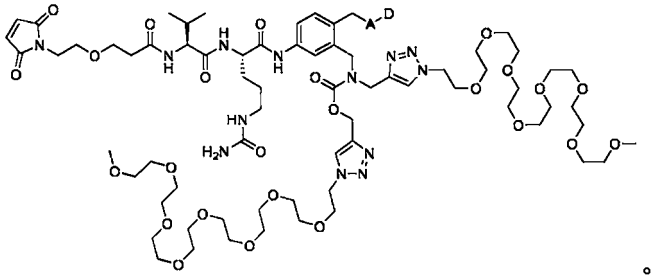
[1392] 实施方案26.实施方案1至9中任一项所述的式(A')的化合物或其药学上可接受的盐,具有以下结构:

[1393] 

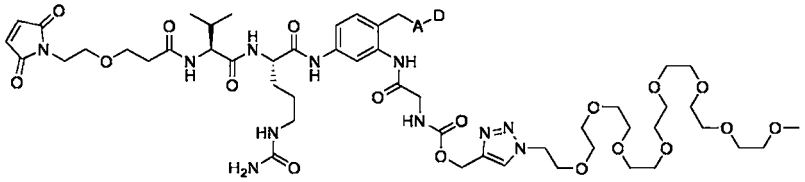
[1394] 实施方案27.实施方案1至9中任一项所述的式(A')的化合物或其药学上可接受的盐,具有以下结构:

[1395] 

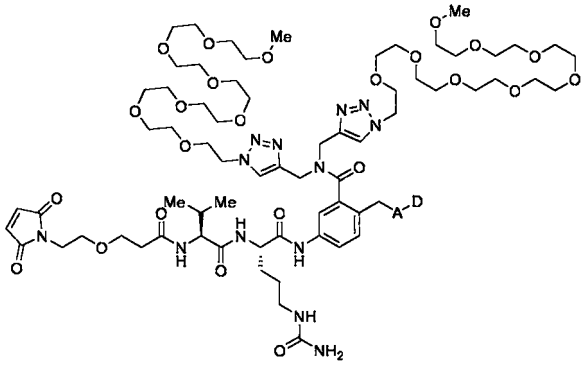
[1396] 实施方案28.实施方案1至9中任一项所述的式(A')的化合物或其药学上可接受的盐,具有以下结构:

[1397] 

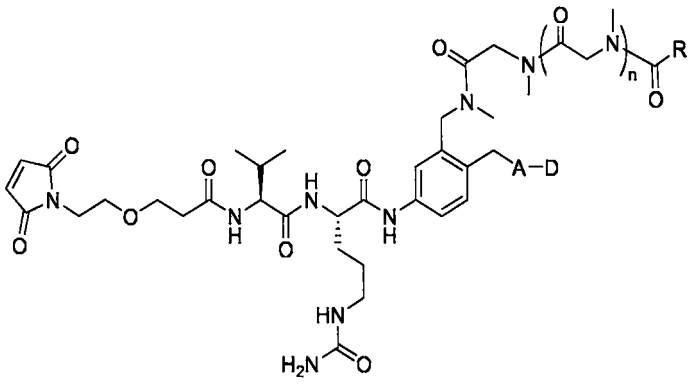
[1398] 实施方案29.实施方案1至9中任一项所述的式(A')的化合物或其药学上可接受的盐,具有以下结构:

[1399] 

[1400] 实施方案30.实施方案1至9中任一项所述的式(A')的化合物或其药学上可接受的盐,具有以下结构:

[1401] 

[1402] 实施方案31.实施方案1至9中任一项所述的式(A')的化合物或其药学上可接受的盐,具有以下结构:

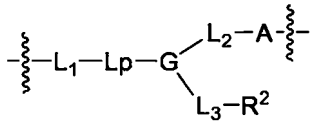
[1403] 

其中n是2到24之间的整数。

,

[1404] 实施方案32.实施方案1至9中任一项所述的式(A')的化合物或其药学上可接受的盐,具有表B中的化合物的结构。

[1405] 实施方案33.式(A')接头-药物基团的接头,其具有式(C')结构

[1406] 

式 (C')

[1407] 其中

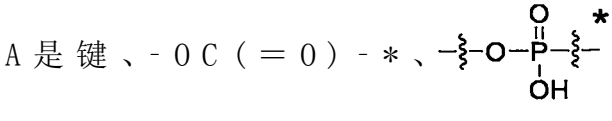
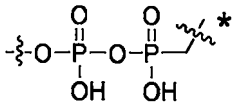
[1408] L_1是桥连间隔基;

[1409] Lp是二价肽间隔基;

[1410] G-L_2-A是自分解间隔基;

[1411] R^2是亲水部分;

[1412] L_2是键、亚甲基、新亚戊基或C_2-C_3亚烯基;

[1413] A是键、-OC(=O)-*、、-OC(=O)N(CH$_3$)CH$_2$CH$_2$N(CH$_3$)C(=O)-*或-OC(=O)N(CH$_3$)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH$_3$)C(=O)-*,其中每个R^{a}独立地选自H、C$_1$-C$_6$烷基和C$_3$-C$_8$环烷基,A的*表示与D的附接点,

[1414] 以及

[1415] L$_3$是间隔基部分。

[1416] 实施方案34.实施方案33所述的接头,其中:

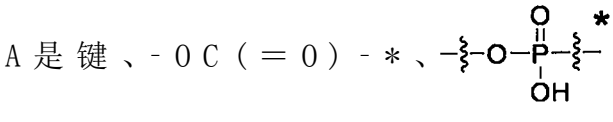
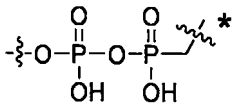
[1417] L$_1$是桥连间隔基;

[1418] Lp是包含二至四个氨基酸残基的二价肽间隔基;

[1419] G-L$_2$-A是自分解间隔基;

[1420] R^{2}是亲水部分;

[1421] L$_2$是键、亚甲基、新亚戊基或C$_2$-C$_3$亚烯基;

[1422] A是键、-OC(=O)-*、、-OC(=O)N(CH$_3$)CH$_2$CH$_2$N(CH$_3$)C(=O)-*或-OC(=O)N(CH$_3$)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH$_3$)C(=O)-*,其中每个R^{a}独立地选自H、C$_1$-C$_6$烷基和C$_3$-C$_8$环烷基,A的*表示与D的附接点,

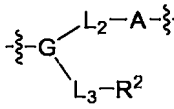
[1423] 以及

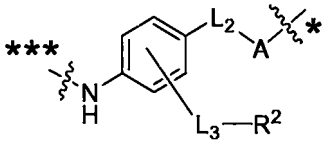
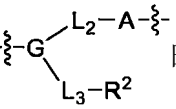
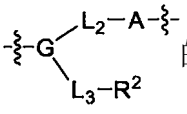
[1424] L$_3$是间隔基部分。

[1425] 实施方案35.实施方案33或34所述的接头,其中:

[1426] L$_1$是桥连间隔基;

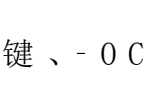
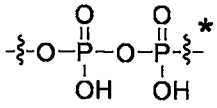
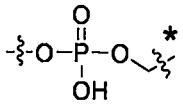
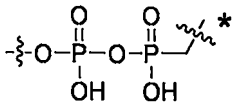
[1427] Lp是包含二至四个氨基酸残基的二价肽间隔基;

[1428] 基团选自:

[1429] ,其中,的*表示与D的附接点(例如,与药物部分的N或O的附接点),的***表示与Lp的附接点;

[1430] R^{2}是亲水部分;

[1431] L$_2$是键、亚甲基、新亚戊基或C$_2$-C$_3$亚烯基;

[1432] A是键、-OC(=O)-*、、、、、-OC(=O)N(CH$_3$)CH$_2$CH$_2$N(CH$_3$)C(=O)-*或-OC(=O)N(CH$_3$)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH$_3$)C(=O)-*,其中每个R^{a}独立地选自H、C$_1$-C$_6$烷基和C$_3$-C$_8$环烷基,A的*表示与D的附接点,

[1433] 以及

[1434] L$_3$是间隔基部分。

[1435] 实施方案36.实施方案33至35中任一项所述的接头,其中:

[1436] L$_1$是*-C(=O)(CH$_2$)$_m$O(CH$_2$)$_m$-**;*-C(=O)((CH$_2$)$_m$O)$_t$(CH$_2$)$_n$-**;*-C(=O)(CH$_2$)$_m$-**;

[1437] *-C(=O)NH((CH$_2$)$_m$O)$_t$(CH$_2$)$_n$-**;

[1438] *-C(=O)O(CH$_2$)$_m$SSC(R^3)$_2$(CH$_2$)$_m$C(=O)NR^3(CH$_2$)$_m$NR^{3}C(=O)(CH$_2$)$_m$-**;

[1439] *-C(=O)O(CH$_2$)$_m$C(=O)NH(CH$_2$)$_m$-**;*-C(=O)(CH$_2$)$_m$NH(CH$_2$)$_m$-**;

[1440] *-C(=O)(CH$_2$)$_m$NH(CH$_2$)$_n$C(=O)-**;*-C(=O)(CH$_2$)$_m$X$_1$(CH$_2$)$_m$-**;

[1441] *-C(=O)((CH$_2$)$_m$O)$_t$(CH$_2$)$_n$X$_1$(CH$_2$)$_n$-**;*-C(=O)(CH$_2$)$_m$NHC(=O)(CH$_2$)$_n$-**;

[1442] *-C(=O)((CH$_2$)$_m$O)$_t$(CH$_2$)$_n$NHC(=O)(CH$_2$)$_n$-**;

[1443] *-C(=O)(CH$_2$)$_m$NHC(=O)(CH$_2$)$_n$X$_1$(CH$_2$)$_n$-**;

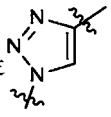
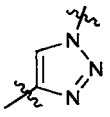
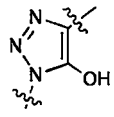
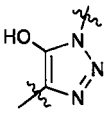
[1444] *-C(=O)((CH$_2$)$_m$O)$_t$(CH$_2$)$_n$NHC(=O)(CH$_2$)$_n$X$_1$(CH$_2$)$_n$-**;

[1445] *-C(=O)((CH$_2$)$_m$O)$_t$(CH$_2$)$_n$C(=O)NH(CH$_2$)$_m$-**;

[1446] *-C(=O)(CH$_2$)$_m$C(R^3)$_2$-**或*-C(=O)(CH$_2$)$_m$C(=O)NH(CH$_2$)$_m$-**,其中L$_1$的*表示与Lp的附接点;

[1447] R^{2}是选自聚乙二醇、聚亚烷基二醇、糖、寡糖、多肽或被1至3个基团取代的C$_2$-C$_6$烷基的亲水部分;

[1448] 每个R^{3}独立地选自H和C$_1$-C$_6$烷基;

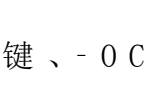
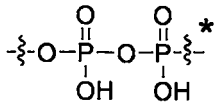
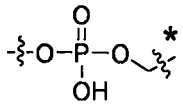
[1449] X$_1$是、、或;

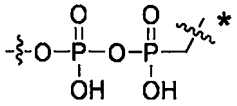
[1450] 每个m独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10;

[1451] 每个n独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10;

[1452] 每个t独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29和30;

[1453] Lp是包含选自甘氨酸、缬氨酸、瓜氨酸、赖氨酸、异亮氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸、天冬酰胺、脯氨酸、丙氨酸、亮氨酸、色氨酸和酪氨酸的氨基酸残基的二价肽间隔基;

[1454] A是键、-OC(=O)-*、、、、



[1455] -OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-*或-OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-*,其中每个R^a独立地选自H、C_1-C_6烷基和C_3-C_8环烷基,A的*表示与D的附接点;

[1456] L_3是具有结构-W-X-*的间隔基部分,

[1457] 其中

[1458] W是CH_2O-**、-CH_2N(R^b)C(=O)O-**、-NHC(=O)C(R^b)$_2$NHC(=O)O-**、-NHC(=O)C(R^b)$_2$NH-**、-NHC(=O)C(R^b)$_2$NHC(=O)-**、-CH_2N(X-R^2)C(=O)O-**、-C(=O)N(X-R^2)-**、-CH_2N(X-R^2)C(=O)-**、-C(=O)NR^b-**、-C(=O)NH-**、-CH_2NR^bC(=O)-**、-CH_2NR^bC(=O)NH-**、-CH_2NR^bC(=O)NR^b-**、-NHC(=O)-**、-NHC(=O)O-**、-NHC(=O)NH-**、-OC(=O)NH-**、-S(O)$_2$NH-**、-NHS(O)$_2$-**、-C(=O)-、-C(=O)O-**或-NH-,其中每个R^b独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基并且其中W的**表示与X的附接点;

[1459] X是键、三唑基或***-CH_2-三唑基-*,其中X的***表示与W的附接点,X的*表示与R^2的附接点;

[1460] 以及

[1461] L_3的*表示与R^2的附接点。

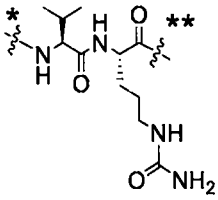
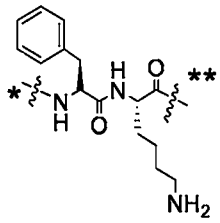
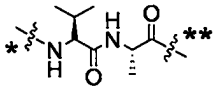
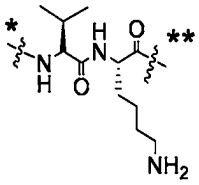
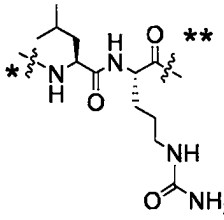
[1462] 实施方案37.实施方案33至36中任一项所述的接头,其中:

[1463] L_1是*-C(=O)$(CH_2)_m$O$(CH_2)_m$-**;*-C(=O)$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$-**;*-C(=O)$(CH_2)_m$-**;或者*-C(=O)NH$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$-,其中L_1的*表示与Lp的附接点;

[1464] 每个m独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10;

[1465] 每个n独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10;

[1466] 每个t独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29和30;

[1467] Lp是选自(ValCit)、(PheLys)、(ValAla)、(ValLys)和(LeuCit)的二价肽间隔基,其中Lp的*表示与L_1的附接点;

[1468] L_3是具有结构-W-X-*的间隔基部分,

[1469] 其中

[1470] W是-CH_2O-**、-CH_2N(R^b)C(=O)O-**、-NHC(=O)CH_2NHC(=O)O-**、-NHC(=O)CH_2NH-**、-NHC(=O)CH_2NHC(=O)-**、-CH_2N(X-R^2)C(=O)O-**、-C(=O)N(X-R^2)-**、-CH_2N

(X-R^2)C(=O)-**、-C(=O)NR^b-**、-C(=O)NH-**、-CH_2NR^bC(=O)-**、-CH_2NR^bC(=O)NH-**、-CH_2NR^bC(=O)NR^b-**、-NHC(=O)-**、-NHC(=O)O-**、-NHC(=O)NH-**、-OC(=O)NH-**、-S(O)$_2$NH-**、-NHS(O)$_2$-**、-C(=O)-、-C(=O)O-**或-NH-、其中每个R^b独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基并且其中W的**表示与X的附接点；

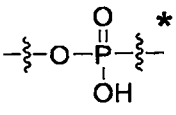
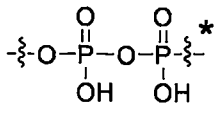
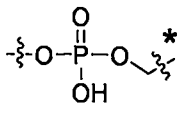
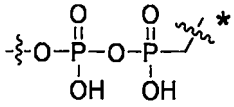
[1471] X是键、三唑基或***-CH_2-三唑基-*，其中X的***表示与W的附接点，X的*表示与R^2的附接点；

[1472] 以及

[1473] L_3的*表示与R^2的附接点；

[1474] R^2是选自聚乙二醇、聚亚烷基二醇、糖、寡糖、多肽或被1至3个基团取代的C_2-C_6烷基的亲水部分；

[1475] 以及

[1476] A是键、-OC(=O)-*、、、、-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-*或-OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-*，其中每个R^a独立地选自H、C_1-C_6烷基和C_3-C_8环烷基，A的*表示与D的附接点。

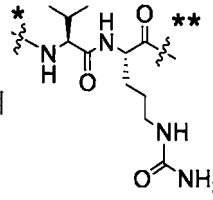
[1477] 实施方案38.实施方案33至37中任一项所述的接头，其中：

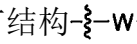
[1478] L_1是*-C(=O)$(CH_2)_m$O$(CH_2)_m$-**；*-C(=O)$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$-**；*-C(=O)$(CH_2)_m$-**；或者*-C(=O)NH$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$-，其中L_1的*表示与Lp的附接点；

[1479] 每个m独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10；

[1480] 每个n独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10；

[1481] 每个t独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29和30；

[1482] Lp是选自（ValCit）的二价肽间隔基，其中Lp的*表示与L_1的附接点，Lp的**表示与G的-NH-基团的附接点；

[1483] L_3是具有结构的间隔基部分，

[1484] 其中

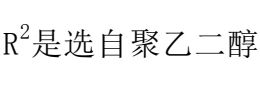
[1485] W是-CH_2O-**、-CH2N(Rb)C(=O)O-**、-NHC(=O)CH_2NHC(=O)O-**、-CH_2N(X-R^2)C(=O)O-**、-C(=O)N(X-R^2)-**、-CH_2N(X-R^2)C(=O)-**、-C(=O)NR^b-**、-C(=O)NH-**、-CH_2NR^bC(=O)-**、-CH_2NR^bC(=O)NH-**、-CH_2NR^bC(=O)NR^b-**、-NHC(=O)-**、-NHC(=O)O-**、-NHC(=O)NH-**、-OC(=O)NH-**、-S(O)$_2$NH-**、-NHS(O)$_2$-**、-C(=O)-、-C(=O)O-**或

[1486] -NH-,其中每个R^b独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基并且其中W的**表示与X的附接点;

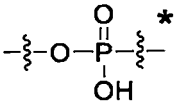
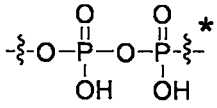
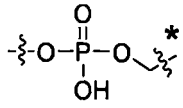
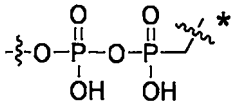
[1487] X是键、三唑基或***-CH_2-三唑基-*,其中X的***表示与W的附接点,X的*表示与R^2的附接点;

[1488] 以及

[1489] L_3的*表示与R^2的附接点;

[1490] R^2是选自聚乙二醇、聚亚烷基二醇、糖、寡糖、多肽或被1至3个基团取代的C_2-C_6烷基的亲水部分;

[1491] 以及

[1492] A是键、-OC(=O)-*、、、、、-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-*或-OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-*,其中每个R^a独立地选自H、C_1-C_6烷基和C_3-C_8环烷基,A的*表示与D的附接点。

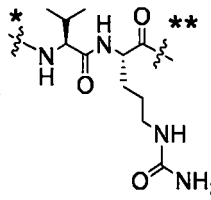
[1493] 实施方案39.实施方案33至38中任一项所述的接头,其中:

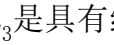
[1494] L_1是*-C(=O)(CH_2)$_m$O(CH_2)$_m$-**;*-C(=O)((CH_2)$_m$O)$_t$(CH_2)$_n$-**;*-C(=O)(CH_2)$_m$-**;或者*-C(=O)NH((CH_2)$_m$O)$_t$(CH_2)$_n$-,其中L_1的*表示与Lp的附接点;

[1495] 每个m独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10;

[1496] 每个n独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10;

[1497] 每个t独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29和30;

[1498] Lp是选自(ValCit)的二价肽间隔基,其中Lp的*表示与L_1的附接点;

[1499] L_3是具有结构的间隔基部分,

[1500] 其中

[1501] W是-CH_2O-**、-CH2N(Rb)C(=O)O-**、-NHC(=O)CH_2NHC(=O)O-**、-CH_2N(X-R^2)C(=O)O-**、-C(=O)N(X-R^2)-**、-C(=O)NR^b-**、-C(=O)NH-**、-CH_2NR^bC(=O)-**、-CH_2NR^bC(=O)NH-**、-CH_2NR^bC(=O)NR^b-**、-NHC(=O)-**、-NHC(=O)O-**或-NHC(=O)NH-**,其中每个R^b独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基并且其中W的**表示与X的附接点;

[1502] X是键、三唑基或***-CH_2-三唑基-*,其中X的***表示与W的附接点,X的*表示与R^2的附接点;

[1503] 以及

[1504] L_3的*表示与R^2的附接点；

[1505] R^2是选自聚乙二醇、聚亚烷基二醇、糖、寡糖、多肽或被1至3个基团取代的C_2-C_6烷基的亲水部分；

[1506] 以及

[1507] A是键或-OC(=O)*，其中*表示与D的附接点。

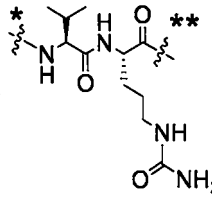
[1508] 实施方案40.实施方案33至39中任一项所述的接头，其中：

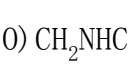
[1509] L_1是*-C(=O)$(CH_2)_m$O$(CH_2)_m$-**；*-C(=O)$((CH_2)_m O)_t(CH_2)_n$-**；*-C(=O)$(CH_2)_m$-**；或者*-C(=O)NH$((CH_2)_m O)_t(CH_2)_n$-，其中L_1的*表示与Lp的附接点；

[1510] 每个m独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10；

[1511] 每个n独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10；

[1512] 每个t独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29和30；

[1513] Lp是选自（ValCit）的二价肽间隔基，其中Lp的*表示与L_1的附接点；

[1514] L_3是具有结构的间隔基部分，

[1515] 其中

[1516] W是-CH_2O-**、-CH2N(Rb)C(=O)O-**、-NHC(=O)CH_2NHC(=O)O-**、-CH_2N(X-R^2)C(=O)O-**或-C(=O)N(X-R^2)-**，其中每个R^b独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基并且其中W的**表示与X的附接点；

[1517] X是***-CH_2-三唑基-*，其中X的***表示与W的附接点，X的*表示与R^2的附接点；

[1518] 以及

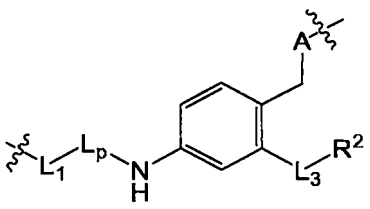
[1519] L_3的*表示与R^2的附接点；

[1520] R^2是选自聚乙二醇、聚亚烷基二醇、糖、寡糖、多肽或被1至3个基团取代的C_2-C_6烷基的亲水部分；

[1521] 以及

[1522] A是键或-OC(=O)*，其中*表示与D的附接点。

[1523] 实施方案41.式(C')的接头，其具有式(D')的结构，

[1524] 

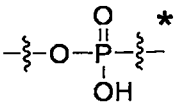
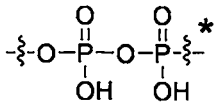
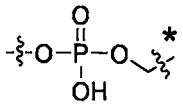
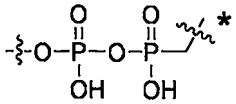
式 (D')

[1525] 其中

[1526] L_1是桥连间隔基；

[1527] Lp是二价肽间隔基；

[1528] R^2是亲水部分；

[1529] A是键、-OC(=O)-*、、、、、

[1530] -OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-*或者

[1531] -OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-*，其中每个R^a独立地选自H、C_1-C_6烷基和C_3-C_8环烷基，A的*表示与D的附接点，

[1532] 以及

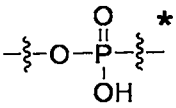
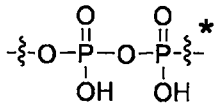
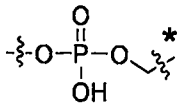
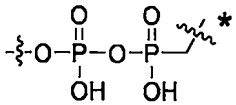
[1533] L_3是间隔基部分。

[1534] 实施方案42.实施方案41所述的接头，其中：

[1535] L_1是桥连间隔基；

[1536] Lp是包含二至四个氨基酸残基的二价肽间隔基；

[1537] R^2是亲水部分；

[1538] A是键、-OC(=O)-*、、、、、

[1539] -OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-*或者

[1540] -OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-*，其中每个R^a独立地选自H、C_1-C_6烷基和C_3-C_8环烷基，A的*表示与D的附接点，

[1541] 以及

[1542] L_3是间隔基部分。

[1543] 实施方案43.实施方案41或42所述的接头，其中：

[1544] L_1是*-C(=O)$(CH_2)_m$O$(CH_2)_m$-**;*-C(=O)$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$-**;*-C(=O)$(CH_2)_m$-**;

[1545] *-C(=O)NH$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$-**;

[1546] *-C(=O)O$(CH_2)_m$SSC(R^3)$_2$$(CH_2)_m$C(=O)N$R^3$$(CH_2)_mNR^3$C(=O)$(CH_2)_m$-**;

[1547] *-C(=O)O$(CH_2)_m$C(=O)NH$(CH_2)_m$-**;*-C(=O)$(CH_2)_m$NH$(CH_2)_m$-**;

[1548] *-C(=O)$(CH_2)_m$NH$(CH_2)_n$C(=O)-**;*-C(=O)$(CH_2)_mX_1(CH_2)_m$-**;

[1549] *-C(=O)$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_nX_1(CH_2)_n$-**;*-C(=O)$(CH_2)_m$NHC(=O)$(CH_2)_n$-**;

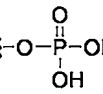
[1550] *-C(=O)$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$NHC(=O)$(CH_2)_n$-**;

[1551] *-C(=O)$(CH_2)_m$NHC(=O)$(CH_2)_nX_1(CH_2)_n$-**;

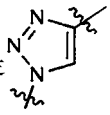
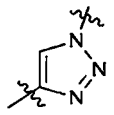
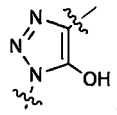
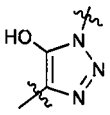
[1552] *-C(=O)$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$NHC(=O)$(CH_2)_nX_1(CH_2)_n$-**;

[1553] *-C(=O)$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$C(==O)NH$(CH_2)_m$-**;*-C(=O)$(CH_2)_m$C(R^3)$_2$-**或

[1554] *-C(=O)$(CH_2)_m$C(=O)NH$(CH_2)_m$-**,其中L_1的*表示与Lp的附接点;

[1555] R^2是选自聚乙二醇、聚亚烷基二醇、糖、寡糖、多肽或被1至3个基团取代的C_2-C_6烷基的亲水部分;

[1556] 每个R^3独立地选自H和C_1-C_6烷基;

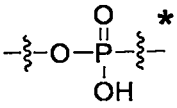
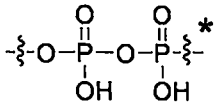
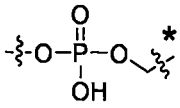
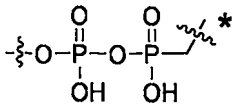
[1557] X_1是、、或;

[1558] 每个m独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10;

[1559] 每个n独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10;

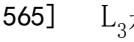
[1560] 每个t独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29和30;

[1561] Lp是包含选自甘氨酸、缬氨酸、瓜氨酸、赖氨酸、异亮氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸、天冬酰胺、脯氨酸、丙氨酸、亮氨酸、色氨酸和酪氨酸的氨基酸残基的二价肽间隔基;

[1562] A是键、-OC(=O)-*、、、、、

[1563] -OC(=O)N$(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)$C(=O)-*或者

[1564] -OC(=O)N(CH_3)C$(R^a)_2$C$(R^a)_2$N(CH_3)C(=O)-*,其中每个R^a独立地选自H、C_1-C_6烷基和C_3-C_8环烷基,A的*表示与D的附接点;

[1565] L_3是具有结构的间隔基部分,

[1566] 其中

[1567] W是-CH_2O-**、-CH2N(Rb)C(=O)O-**、-NHC(=O)CH_2NHC(=O)O-**、-CH_2N(X-R^2)C(=O)O-**、-C(=O)N(X-R^2)-**、-CH_2N(X-R^2)C(=O)-**、-C(=O)NR^b-**、-C(=O)NH-**、-CH_2NR^bC(=O)-**、-CH_2NR^bC(=O)NH-**、-CH_2NR^bC(=O)NR^b-**、-NHC(=O)-**、-NHC(=O)O-**、-NHC(=O)NH-**、-OC(=O)NH-**、-S(O)$_2$NH-**、-NHS(O)$_2$-**、-C(=O)-、-C(=O)O-**或

[1568] -NH-,其中每个R^b独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基并且其中W的**表示与X的附接点;

[1569] X是键、三唑基或***-CH_2-三唑基-*,其中X的***表示与W的附接点,X的*表示与R^2的附接点;

[1570] 以及

[1571] L_3的*表示与R^2的附接点。

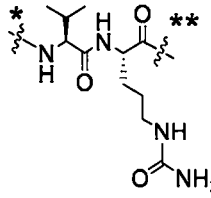
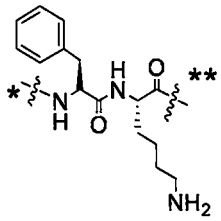
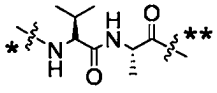
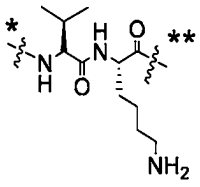
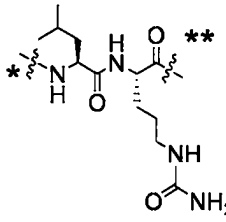
[1572] 实施方案44.实施方案41至43中任一项所述的接头,其中:

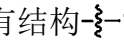
[1573] L_1是*-C(=O)$(CH_2)_m$O$(CH_2)_m$-**;*-C(=O)$((CH_2)_m$O$)_t(CH_2)_n$-**;*-C(=O)$(CH_2)_m$-**;或者*-C(=O)NH$((CH_2)_m$O$)_t(CH_2)_n$-,其中L_1的*表示与Lp的附接点;

[1574] 每个m独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10;

[1575] 每个n独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10；

[1576] 每个t独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29和30；

[1577] Lp是选自（ValCit）、（PheLys）、（ValAla）、（ValLys）和（LeuCit）的二价肽间隔基，其中Lp的*表示与L_1的附接点，Lp的**表示与G的-NH-基团的附接点；

[1578] L_3是具有结构的间隔基部分，

[1579] 其中

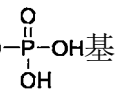
[1580] W是-CH_2O-**、-CH2N(Rb)C(=O)O-**、-NHC(=O)CH_2NHC(=O)O-**、-CH_2N(X-R^2)C(=O)O-**、-C(=O)N(X-R^2)-**、-CH_2N(X-R^2)C(=O)-**、-C(=O)NR^b-**、-C(=O)NH-**、-CH_2NR^bC(=O)-**、-CH_2NR^bC(=O)NH-**、-CH_2NR^bC(=O)NR^b-**、-NHC(=O)-**、-NHC(=O)O-**、-NHC(=O)NH-**、-OC(=O)NH-**、-S(O)$_2$NH-**、-NHS(O)$_2$-**、-C(=O)-、-C(=O)O-**或

[1581] -NH-，其中每个R^b独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基并且其中W的**表示与X的附接点；

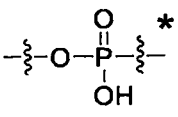
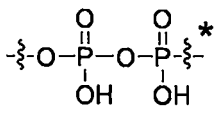
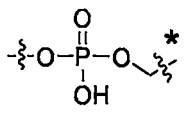
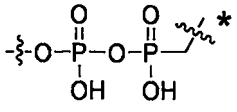
[1582] X是键、三唑基或***-CH_2-三唑基-*，其中X的***表示与W的附接点，X的*表示与R^2的附接点；

[1583] 以及

[1584] L_3的*表示与R^2的附接点；

[1585] R^2是选自聚乙二醇、聚亚烷基二醇、糖、寡糖、多肽或被1至3个基团取代的C_2-C_6烷基的亲水部分；

[1586] 以及

[1587] A是键、-OC(=O)-*、、、、、-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-*或-OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-*，其中每个R^a独立地选自H、C_1-C_6烷基和C_3-C_8环烷基，A的*表示与D的附接点。

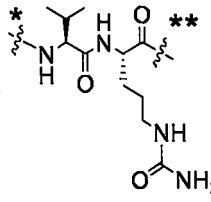
[1588] 实施方案45.实施方案41至44中任一项所述的接头，其中：

[1589] L_1是*-C(=O)$(CH_2)_m$O$(CH_2)_m$-**;*-C(=O)$((CH_2)_m O)_t(CH_2)_n$-**;*-C(=O)$(CH_2)_m$-**;或者*-C(=O)NH$((CH_2)_m O)_t(CH_2)_n$-,其中L_1的*表示与Lp的附接点;

[1590] 每个m独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10;

[1591] 每个n独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10;

[1592] 每个t独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29和30;

[1593] Lp是选自的二价肽间隔基,其中Lp的*表示与L_1的附接点,Lp的**表示与G的-NH-基团的附接点;

（ValCit）

[1594] L_3是具有结构-W—X-*的间隔基部分,

[1595] 其中

[1596] W是-CH_2O-**、-CH_2N(Rb)C(=O)O-**、-NHC(=O)CH_2NHC(=O)O-**、-CH_2N(X-R^2)C(=O)O-**、-C(=O)N(X-R^2)-**、-CH_2N(X-R^2)C(=O)-**、-C(=O)NR^b-**、-C(=O)NH-**、-CH_2NR^bC(=O)-**、-CH_2NR^bC(=O)NH-**、-CH_2NR^bC(=O)NR^b-**、-NHC(=O)-**、-NHC(=O)O-**、-NHC(=O)NH-**、-OC(=O)NH-**、-S(O)$_2$NH-**、-NHS(O)$_2$-**、-C(=O)-、-C(=O)O-**或

[1597] -NH-,其中每个R^b独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基并且其中W的**表示与X的附接点;

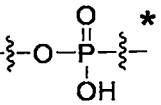
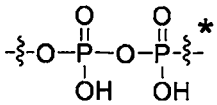
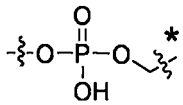
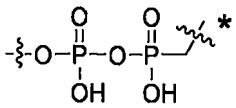
[1598] X是键、三唑基或***-CH2-三唑基-*,其中X的***表示与W的附接点,X的*表示与R^2的附接点;

[1599] 以及

[1600] L_3的*表示与R^2的附接点;

[1601] R^2是选自聚乙二醇、聚亚烷基二醇、糖、寡糖、多肽或被1至3个-O-P(=O)(OH)-OH基团取代的C_2-C_6烷基的亲水部分;

[1602] 以及

[1603] A是键、-OC(=O)-*、、、、-OC(=O)N$(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)$C(=O)-*或者-OC(=O)N$(CH_3)C(R^a)_2C(R^a)_2N(CH_3)$C(=O)-*,其中每个$R^a$独立地选自H、$C_1$-$C_6$烷基和$C_3$-$C_8$环烷基,A的*表示与D的附接点。

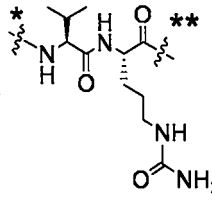
[1604] 实施方案46.实施方案41至45中任一项所述的接头,其中:

[1605] L_1是*-C(=O)$(CH_2)_m$O$(CH_2)_m$-**;*-C(=O)$((CH_2)_m O)_t(CH_2)_n$-**;*-C(=O)$(CH_2)_m$-**;或者*-C(=O)NH$((CH_2)_m O)_t(CH_2)_n$-,其中L_1的*表示与Lp的附接点;

[1606] 每个m独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10；

[1607] 每个n独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10；

[1608] 每个t独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29和30；

[1609] Lp是选自（ValCit）的二价肽间隔基，其中Lp的*表示与L_1的附接点，Lp的**表示与G的-NH-基团的附接点；

[1610] L_3是具有结构-W-X-的间隔基部分，

[1611] 其中

[1612] W是-CH_2O-**、-$CH_2N(Rb)C(=O)O$-**、-$NHC(=O)CH_2NHC(=O)O$-**、-$CH_2N(X-R^2)C(=O)O$-**、-$C(=O)N(X-R^2)$-**、-$C(=O)NR^b$-**、-$C(=O)NH$-**、-$CH_2NR^bC(=O)$-**、-$CH_2NR^bC(=O)NH$-**、-$CH_2NR^bC(=O)NR^b$-**、-$NHC(=O)$-**、-$NHC(=O)O$-**或-$NHC(=O)NH$-**，其中每个R^b独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基并且其中W的**表示与X的附接点；

[1613] X是键、三唑基或***-CH_2-三唑基-*，其中X的***表示与W的附接点，X的*表示与R^2的附接点；

[1614] 以及

[1615] L_3的*表示与R^2的附接点；

[1616] R^2是选自聚乙二醇、聚亚烷基二醇、糖、寡糖、多肽或被1至3个-O-P(=O)(OH)-OH基团取代的C_2-C_6烷基的亲水部分；

[1617] 以及

[1618] A是键或-OC(=O)*，其中*表示与D的附接点。

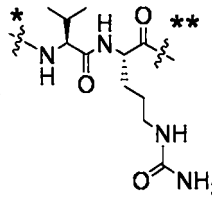
[1619] 实施方案47.实施方案41至46中任一项所述的接头，其中：

[1620] L_1是*-C(=O)$(CH_2)_mO(CH_2)_m$-**；*-C(=O)$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$-**；*-C(=O)$(CH_2)_m$-**；或者*-C(=O)NH$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$-，其中L_1的*表示与Lp的附接点；

[1621] 每个m独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10；

[1622] 每个n独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10；

[1623] 每个t独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29和30；

[1624] Lp是选自（ValCit）的二价肽间隔基，其中Lp的*表示与L_1的附接点，Lp的**表示与G的-NH-基团的附接点；

[1625] L_3是具有结构-W-X-的间隔基部分，

[1626] 其中

[1627] W是-CH_2O-**、-$CH_2N(Rb)C(=O)O$-**、-$NHC(=O)CH_2NHC(=O)O$-**、-$CH_2N(X\text{-}R^2)C(=O)O$-**或-$C(=O)N(X\text{-}R^2)$-**，其中每个$R^b$独立地选自H、$C_1$-$C_6$烷基或$C_3$-$C_8$环烷基并且其中W的**表示与X的附接点；

[1628] X是***-CH_2-三唑基-*，其中X的***表示与W的附接点，X的*表示与R^2的附接点；

[1629] 以及

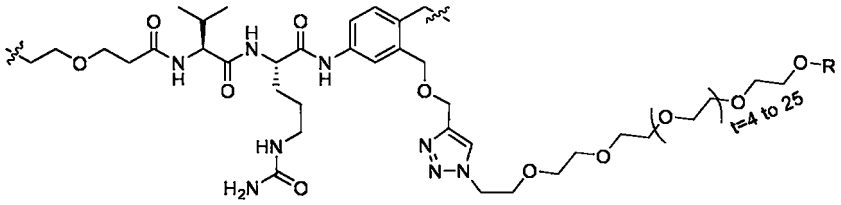
[1630] L_3的*表示与R^2的附接点；

[1631] R^2是选自聚乙二醇、聚亚烷基二醇、糖、寡糖、多肽或被1至3个-O-P(=O)(OH)-OH基团取代的C_2-C_6烷基的亲水部分；

[1632] 以及

[1633] A是键或-OC(=O)*，其中*表示与D的附接点。

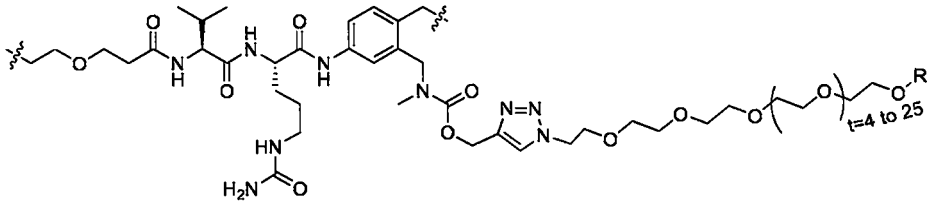
[1634] 实施方案48.实施方案33至47中任一项所述的接头，其具有以下结构：

[1635] 

其中

[1636] R是H、-CH_3或-$CH_2CH_2C(=O)OH$。

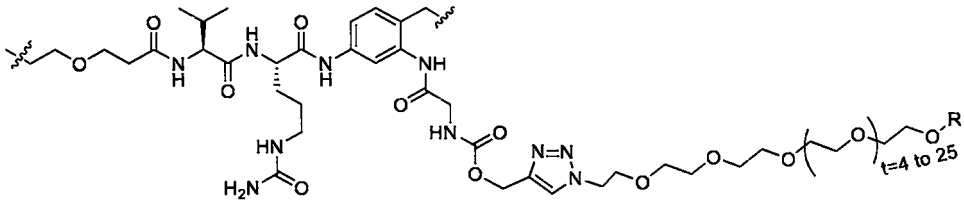
[1637] 实施方案49.实施方案33至47中任一项所述的接头，其具有以下结构：

[1638] 

其中

[1639] R是H、-CH_3或-$CH_2CH_2C(=O)OH$。

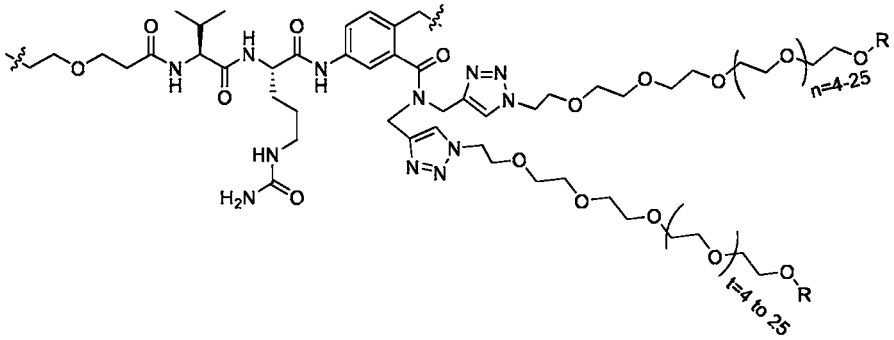
[1640] 实施方案50.实施方案33至47中任一项所述的接头，其具有以下结构：

[1641] 

其中

[1642] R是H、-CH_3或-$CH_2CH_2C(=O)OH$。

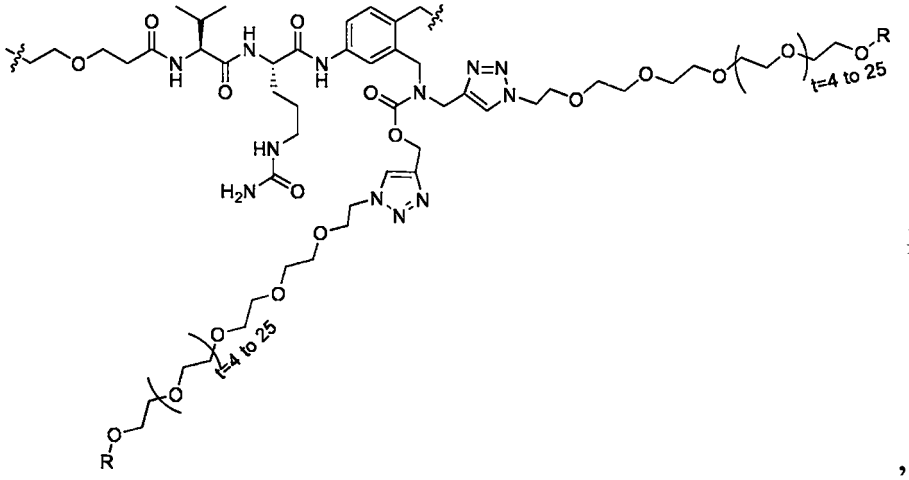
[1643] 实施方案51.实施方案33至47中任一项所述的接头，其具有以下结构：

[1644] 

其中

[1645] 每个R独立地选自H、-CH_3或-$CH_2CH_2C(=O)OH$。

[1646] 实施方案52.实施方案37至47中任一项所述的接头，其具有以下结构：

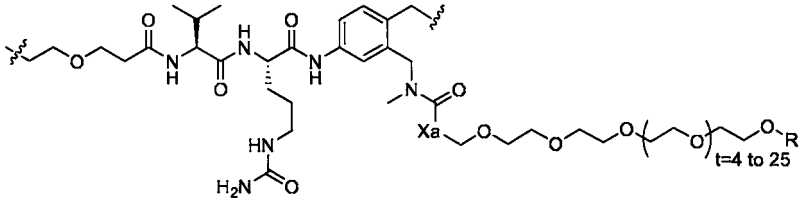


[1647] 其中

，

[1648] 每个R独立地选自H、-CH_3或-$CH_2CH_2C(=O)OH$。

[1649] 实施方案53.实施方案33至47中任一项所述的接头，其具有以下结构：

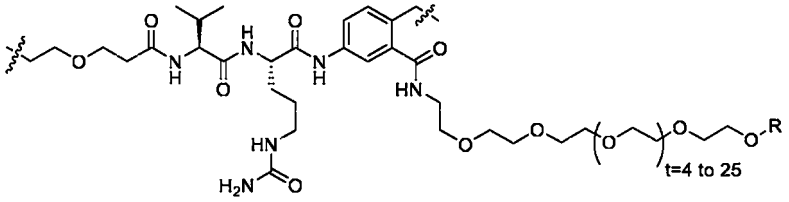
[1650] 

其中

，

[1651] Xa是-CH_2-、-OCH_2-、-$NHCH_2$-或-$NRCH_2$-并且每个R独立地是H、-CH_3或-$CH_2CH_2C(=O)OH$。

[1652] 实施方案54.实施方案33至47中任一项所述的接头，其具有以下结构：

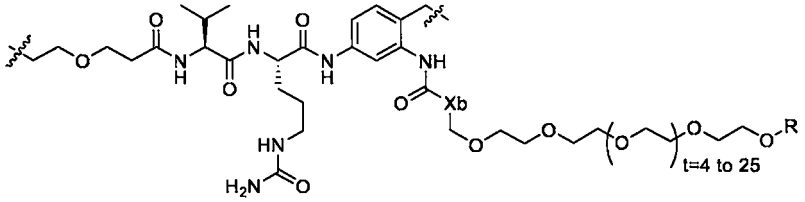
[1653] 

其中

，

[1654] R是H、-CH_3或-$CH_2CH_2C(=O)OH$。

[1655] 实施方案55.实施方案33至47中任一项所述的接头，其具有以下结构：

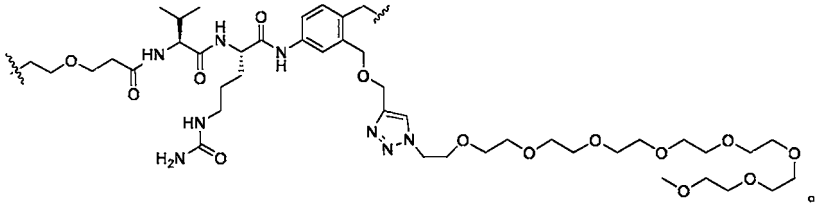
[1656] 

其中

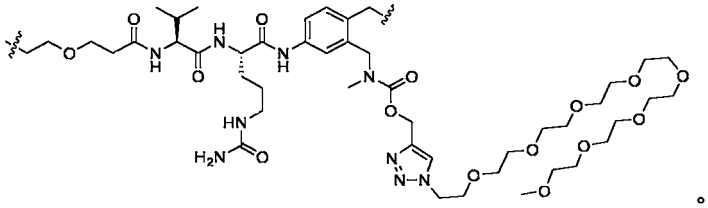
，

[1657] Xb是-CH_2-、-OCH_2-、-$NHCH_2$-或-$NRCH_2$-并且每个R独立地是H、-CH_3或-$CH_2CH_2C(=O)OH$。

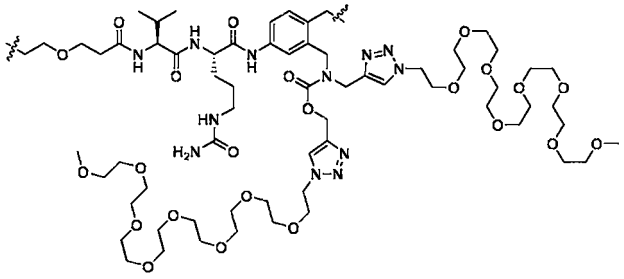
[1658] 实施方案56.实施方案33至47中任一项所述的接头，其具有以下结构：

[1659] 。

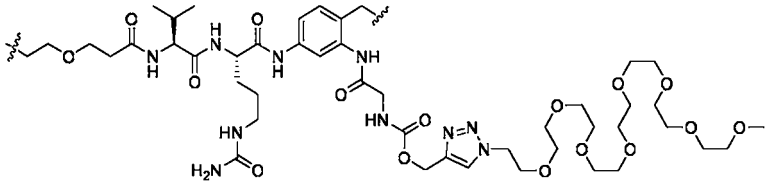
[1660] 实施方案57.实施方案33至47中任一项所述的接头,其具有以下结构:

[1661] 。

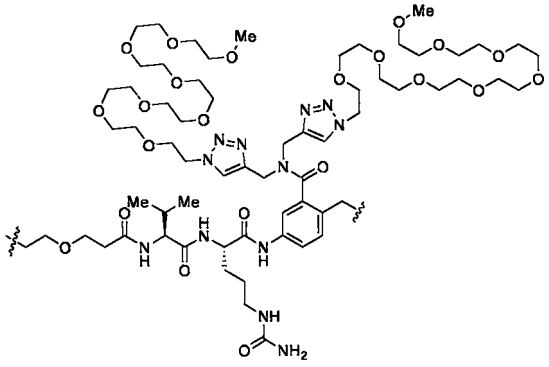
[1662] 实施方案58.实施方案37至47中任一项所述的接头,其具有以下结构:

[1663] 。

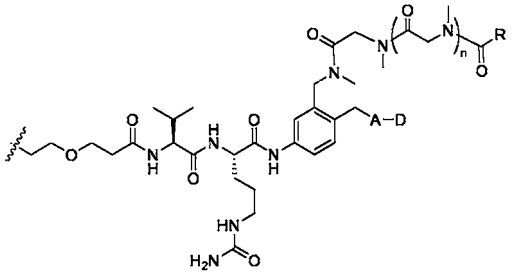
[1664] 实施方案59.实施方案33至47中任一项所述的接头,其具有以下结构:

[1665] 

[1666] 实施方案60.实施方案33至47中任一项所述的接头,其具有以下结构:

[1667] 。

[1668] 实施方案61.实施方案33至47中任一项所述的接头,其具有以下结构:

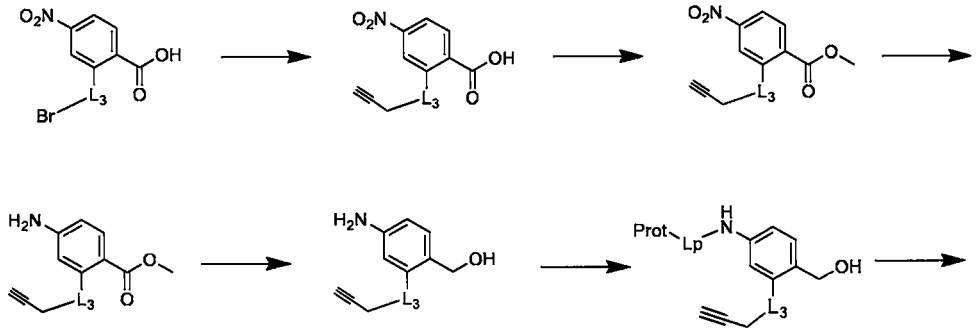
[1669]  其中n是2到24之间的整数,

[1670] 为了说明的目的,本文描述的一般反应方案提供了合成本发明化合物以及关键中

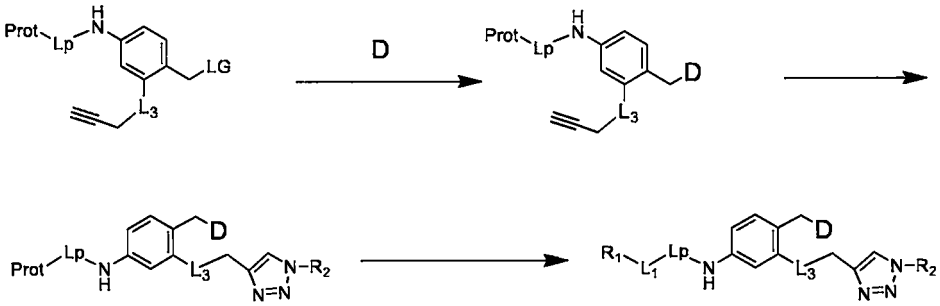
间体的潜在途径。有关各个反应步骤的详细说明，请参见下面的实例部分。尽管在方案中描述了具体的原料和试剂，并在下面进行了讨论，但是可以容易地替换其他起始材料和试剂以提供各种衍生物和/或反应条件。另外，根据本披露，可以使用本领域技术人员熟知的常规化学进一步修饰通过下述方法制备的许多化合物。

[1671] 举例来说，式(B')的化合物的一般合成如下方案1所示。

[1672] 方案1



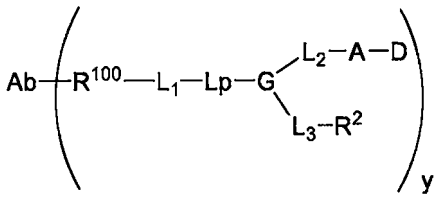
[1673]



[1674] 本发明的抗体药物缀合物

[1675] 本发明提供了抗体药物缀合物，在本文中也称为免疫缀合物，其包含含有一个或多个亲水部分的接头。

[1676] 本发明的抗体药物缀合物具有式(E')的结构：

[1677] 

式 (E')

[1678] 其中：

[1679] Ab是抗体或其片段；

[1680] R^{100}是偶联基团；

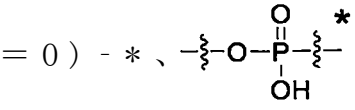
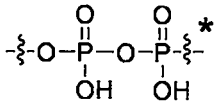
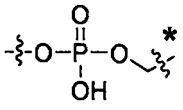
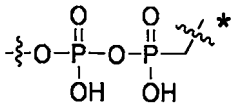
[1681] L_1是桥连间隔基；

[1682] Lp是二价肽间隔基；

[1683] G-L_2-A是自分解间隔基；

[1684] R^2是亲水部分；

[1685] L_2是键、亚甲基、新亚戊基或C_2-C_3亚烯基；

[1686] A是键、-OC(=O)-*、、、、、

[1687] -OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-*或者

[1688] -OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-*,其中每个R^a独立地选自H、C_1-C_6烷基和C_3-C_8环烷基,A的*表示与D的附接点;

[1689] L_3是间隔基部分;

[1690] D是如本文定义的药物部分,例如Bcl-xL抑制剂,并且可以包含N,其中D可以通过从A到药物部分的N的直接键连接到A,

[1691] 以及

[1692] y是1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15或16。

[1693] 本发明的抗体药物缀合物的某些方面和实例在以下列举的实施方案的列表中提供。应认识到,每个实施方案中指定的特征可以与其他指定特征组合以提供本发明的另外的实施方案。

[1694] 实施方案62.式(E')的免疫缀合物,其中:

[1695] Ab是抗体或其片段;

[1696] R^{100}是偶联基团;

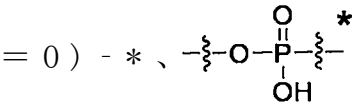
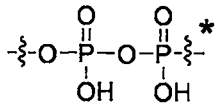
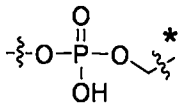
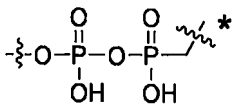
[1697] L_1是桥连间隔基;

[1698] Lp是包含二至四个氨基酸残基的二价肽间隔基;

[1699] G-L_2-A是自分解间隔基;

[1700] R^2是亲水部分;

[1701] L_2是键、亚甲基、新亚戊基或C_2-C_3亚烯基;

[1702] A是键、-OC(=O)-*、、、、-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-*或

[1703] -OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-*,其中每个R^a独立地选自H、C_1-C_6烷基和C_3-C_8环烷基,A的*表示与D的附接点;

[1704] L_3是间隔基部分;

[1705] D是如本文所定义的药物部分,其中D通过从A到D(例如,药物部分的N)的直接键连接至A,

[1706] 以及

[1707] y是1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15或16。

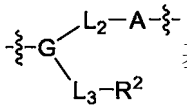
[1708] 实施方案63.实施方案62所述的式(E')的免疫缀合物,其中:

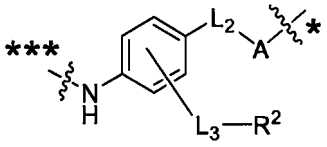
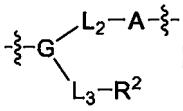
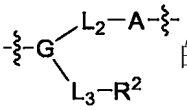
[1709] Ab是抗体或其片段;

[1710] R^{100}是偶联基团;

[1711] L_1是桥连间隔基；

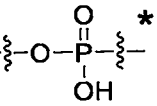
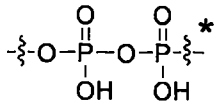
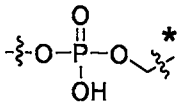
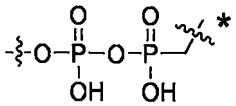
[1712] Lp是包含二至四个氨基酸残基的二价肽间隔基；

[1713]  基团选自：

[1714]  其中， 的*表示与D的附接点(例如，与药物部分的N或O的附接点)， 的***表示与Lp的附接点；

[1715] R^2是亲水部分；

[1716] L_2是键、亚甲基、新亚戊基或C_2-C_3亚烯基；

[1717] A是键、-OC(=O)-*、、、、、

[1718] -OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-*或者

[1719] -OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-*，其中每个R^a独立地选自H、C_1-C_6烷基和C_3-C_8环烷基，A的*表示与D的附接点；

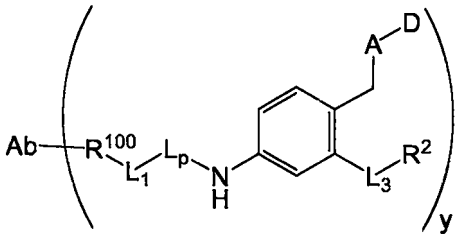
[1720] L_3是间隔基部分；

[1721] D是如本文所定义的并且包含N的药物部分，其中D通过从A到药物部分的N的直接键连接至A。

[1722] 以及

[1723] y是1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15或16。

[1724] 实施方案64.实施方案62至63中任一项所述的式(E')的免疫缀合物，其具有式(F')的结构，

[1725] 

式 (F')

[1726] 其中：

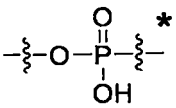
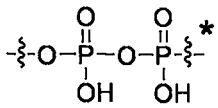
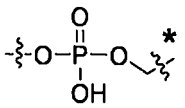
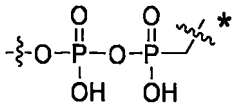
[1727] Ab是抗体或其片段；

[1728] R^{100}是偶联基团；

[1729] L_1是桥连间隔基；

[1730] Lp是包含二至四个氨基酸残基的二价肽间隔基；

[1731] R^2是亲水部分；

[1732] A是键、-OC(=O)-*、、、、、-OC(=O)N(CH$_3$)CH$_2$CH$_2$N(CH$_3$)C(=O)-*或

[1733] -OC(=O)N(CH$_3$)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH$_3$)C(=O)-*，其中每个R^{a}独立地选自H、C$_1$-C$_6$烷基和C$_3$-C$_8$环烷基，A的*表示与D的附接点；

[1734] L_3是间隔基部分；

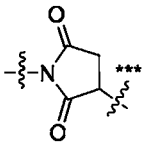
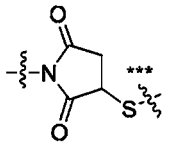
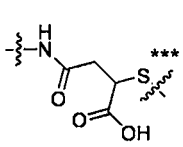
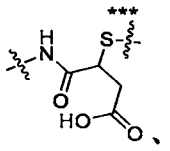
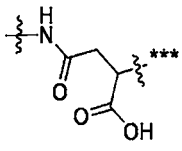
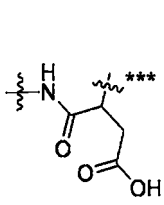
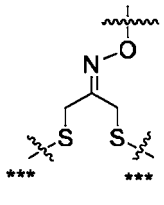
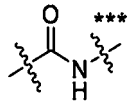
[1735] D是如本文所定义的并且包含N的药物部分，其中D通过从A到药物部分的N的直接键连接至A。

[1736] 以及

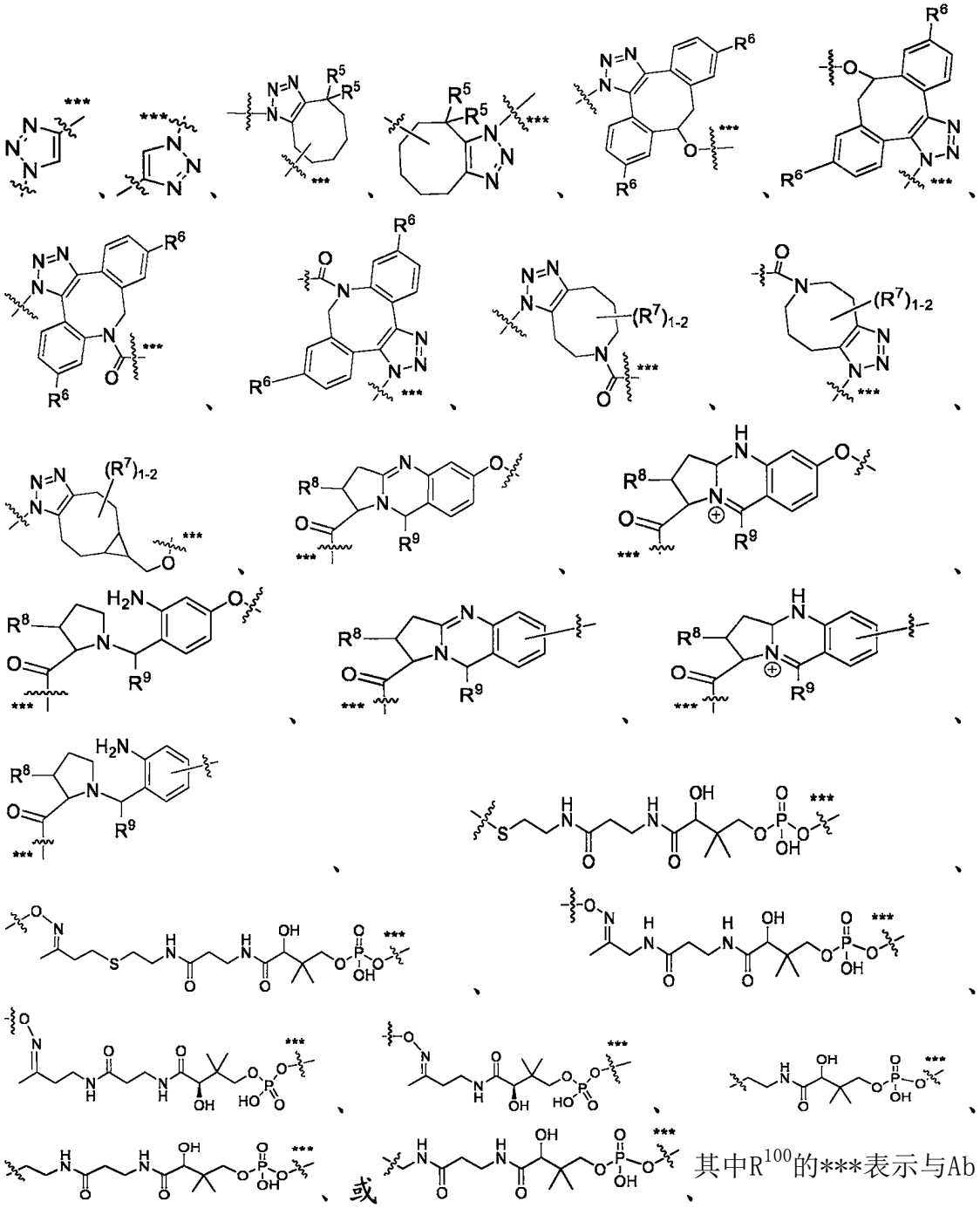
[1737] y是1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15或16。

[1738] 实施方案65.实施方案62至64中任一项所述的式(D')的免疫缀合物，其中：

[1739] Ab是抗体或其片段；

[1740] R^{100}是、、、、、、、、-S-、-C(=O)-、-ON=***、-NHC(=O)CH$_2$-***、-S(=O)$_2$CH$_2$CH$_2$-***、-(CH$_2$)$_2$S(=O)$_2$CH$_2$CH$_2$-***、-NHS(=O)$_2$CH$_2$CH$_2$-***、

[1741] -NHC(=O)CH$_2$CH$_2$-***、-CH$_2$NHCH$_2$CH$_2$-***、-NHCH$_2$CH$_2$-***、



其中R^{100}的***表示与Ab的附接点；

[1742] L_1是*-C(=O)$(CH_2)_m$O$(CH_2)_m$-**;*-C(=O)$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$-**;*-C(=O)$(CH_2)_m$-**;

[1743] *-C(=O)NH$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$-**;

[1744] *-C(=O)O$(CH_2)_m$SSC$(R^3)_2(CH_2)_m$C(=O)N$R^3(CH_2)_m$NR^3C(=O)$(CH_2)_m$-**;

[1745] *-C(=O)O$(CH_2)_m$C(=O)NH$(CH_2)_m$-**;*-C(=O)$(CH_2)_m$NH$(CH_2)_m$-**;

[1746] *-C(=O)$(CH_2)_m$NH$(CH_2)_n$C(=O)-**;*-C(=O)$(CH_2)_mX_1(CH_2)_m$-**;

[1747] *-C(=O)$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_nX_1(CH_2)_n$-**;*-C(=O)$(CH_2)_m$NHC(=O)$(CH_2)_n$-**;

[1748] *-C(=O)$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$NHC(=O)$(CH_2)_n$-**;

[1749] *-C(=O)$(CH_2)_m$NHC(=O)$(CH_2)_nX_1(CH_2)_n$-**;

[1750] *-C(=O)((CH$_2$)$_m$O)$_t$(CH$_2$)$_n$NHC(=O)(CH$_2$)$_n$X$_1$(CH$_2$)$_n$-**;

[1751] *-C(=O)((CH$_2$)$_m$O)$_t$(CH$_2$)$_n$C(=O)NH(CH$_2$)$_m$-**;*-C(=O)(CH$_2$)$_m$C(R^3)$_2$-**或

[1752] *-C(=O)(CH$_2$)$_m$C(=O)NH(CH$_2$)$_m$-**,其中L$_1$的*表示与Lp的附接点,L$_1$的**表示与R^{100}的附接点;

[1753] R^{2}是选自聚乙二醇、聚亚烷基二醇、糖、寡糖、多肽或被1至3个基团取代的C$_2$-C$_6$烷基的亲水部分;

[1754] 每个R^{3}独立地选自H和C$_1$-C$_6$烷基;

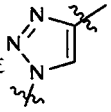
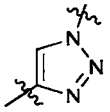
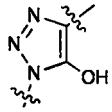
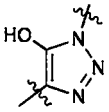
[1755] R^{4}是2-吡啶基或4-吡啶基;

[1756] 每个R^{5}独立地选自H、C$_1$-C$_6$烷基、F、Cl和-OH;

[1757] 每个R^{6}独立地选自H、C$_1$-C$_6$烷基、F、Cl、-NH$_2$、-OCH$_3$,

[1758] -OCH$_2$CH$_3$、-N(CH$_3$)$_2$、-CN、-NO$_2$和-OH;

[1759] 每个R^{7}独立地选自H、C$_{1-6}$烷基、氟、被-C(=O)OH取代的苄氧基、被-C(=O)OH取代的苄基,被-C(=O)OH取代的C$_{1-4}$烷氧基和被-C(=O)OH取代的C$_{1-4}$烷基;

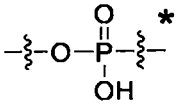
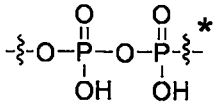
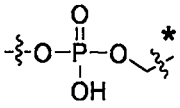
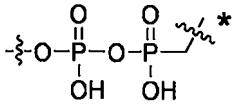
[1760] X$_1$是、、或;

[1761] 每个m独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10;

[1762] 每个n独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10;

[1763] 每个t独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29和30;

[1764] Lp是包含选自缬氨酸、瓜氨酸、赖氨酸、异亮氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸、天冬酰胺、脯氨酸、丙氨酸、亮氨酸、色氨酸和酪氨酸的氨基酸残基的二价肽间隔基;

[1765] A是键、-OC(=O)-*、、、、-OC(=O)N(CH$_3$)CH$_2$CH$_2$N(CH$_3$)C(=O)-*或

[1766] -OC(=O)N(CH$_3$)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH$_3$)C(=O)-*,其中每个R^{a}独立地选自H、C$_1$-C$_6$烷基和C$_3$-C$_8$环烷基,A的*表示与D的附接点;

[1767] L$_3$是具有结构的间隔基部分,

[1768] 其中

[1769] W是-CH$_2$O-**、-CH$_2$N(Rb)C(=O)O-**、-NHC(=O)C(R^b)$_2$NHC(=O)O-**、-NHC(=O)C(R^b)$_2$NH-**、-NHC(=O)C(R^b)$_2$NHC(=O)-**、-CH$_2$N(X-R^2)C(=O)O-**、-C(=O)N(X-R^2)-**、-CH$_2$N(X-R^2)C(=O)-**、-C(=O)NR^b-**、-C(=O)NH-**、-CH$_2$NR^{b}C(=O)-**、-CH$_2$NR^{b}C(=O)NH-**、-CH$_2$NR^{b}C(=O)NR^b-**、-NHC(=O)-**、-NHC(=O)O-**、-NHC(=O)NH-**、-OC(=O)NH-**、-S(O)$_2$NH-**、-NHS(O)$_2$-**、-C(=O)-、-C(=O)O-**或-NH-,其中每个R^{b}独立地选自H、C$_1$-C$_6$烷基或C$_3$-C$_8$环烷基并且其中W的**表示与X的附接点;

[1770] X是键、三唑基或***-CH$_2$-三唑基-*,其中X的***表示与W的附接点,X的*表示与R^2

的附接点；

[1771] 以及

[1772] L_3的*表示与R^2的附接点；

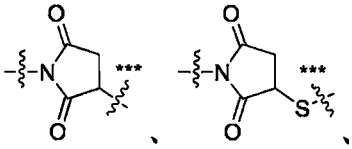
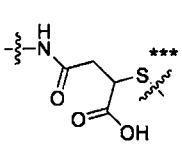
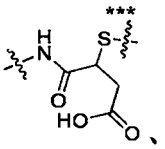
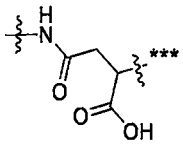
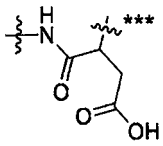
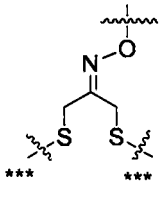
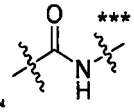
[1773] D是如本文所定义的并且包含N的药物部分，其中D通过从A到药物部分的N的直接键连接至A。

[1774] 以及

[1775] y是1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15或16。

[1776] 实施方案66.实施方案62至65中任一项所述的式(D')的免疫缀合物，其中：

[1777] Ab是抗体或其片段；

[1778] R^{100}是 、、、、、、或，其中R^{100}的***表示与Ab的附接点；

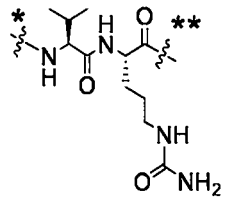
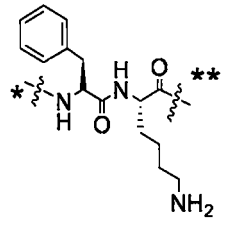
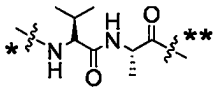
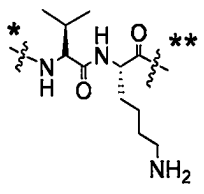
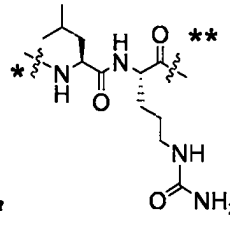
[1779] L_1是*-C(=O)$(CH_2)_m$O$(CH_2)_m$-**;*-C(=O)$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$-**;*-C(=O)$(CH_2)_m$-**;或者

[1780] 或*-C(=O)NH$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$-，其中L_1的*表示与Lp的附接点，L_1的**表示与R^{100}的附接点；

[1781] 每个m独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10；

[1782] 每个n独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10；

[1783] 每个t独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29和30；

[1784] Lp是选自 （ValCit）、（PheLys）、（ValAla）、（ValLys）和（LeuCit）的二价肽间隔基，其中Lp的*表示与L_1的附接点，Lp的**表示与G的-NH-基团的附接点；

[1785] L_3是具有结构-W-X-*的间隔基部分，

[1786] 其中

[1787] W是-CH_2O-**、-CH_2N(Rb)C(=O)O-**、-NHC(=O)CH_2NHC(=O)O-**、-NHC(=O)

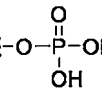
CH_2NH-**、-NHC(=O)CH_2NHC(=O)-**、-CH_2N(X-R^2)C(=O)O-**、-C(=O)N(X-R^2)-**、-CH_2N(X-R^2)C(=O)-**、-C(=O)NR^b-**、-C(=O)NH-**、-CH_2NR^bC(=O)-**、-CH_2NR^bC(=O)NH-**、-CH_2NR^bC(=O)NR^b-**、-NHC(=O)-**、-NHC(=O)O-**、-NHC(=O)NH-**、-OC(=O)NH-**、-S(O)$_2$NH-**、-NHS(O)$_2$-**、-C(=O)-、-C(=O)O-**或

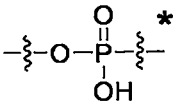
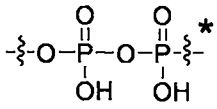
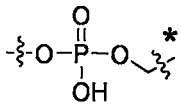
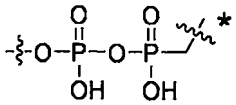
[1788] -NH-,其中每个R^b独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基并且其中W的**表示与X的附接点;

[1789] X是键、三唑基或***-CH_2-三唑基-*,其中X的***表示与W的附接点,X的*表示与R^2的附接点;

[1790] 以及

[1791] L_3的*表示与R^2的附接点;

[1792] R^2是选自聚乙二醇、聚亚烷基二醇、糖、寡糖、多肽或被1至3个基团取代的C_2-C_6烷基的亲水部分;

[1793] A是键、-OC(=O)-*、、、、、

[1794] -OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-*或者

[1795] -OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-*,其中每个R^a独立地选自H、C_1-C_6烷基和C_3-C_8环烷基,A的*表示与D的附接点;

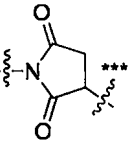
[1796] D是如本文所定义的并且包含N或O的药物部分,其中D通过从A到药物部分的N或O的直接键连接至A,

[1797] 以及

[1798] y是1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15或16。

[1799] 实施方案67.实施方案62至66中任一项所述的式(E')的免疫缀合物,其中:

[1800] Ab是抗体或其片段;

[1801] R^{100}为其中R^{100}的***表示与Ab的附接点;

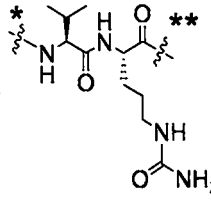
[1802] L_1是*-C(=O)$(CH_2)_m$O$(CH_2)_m$-**;*-C(=O)$((CH_2)_m$O$)_t(CH_2)_n$-**;*-C(=O)$(CH_2)_m$-**;或者

[1803] 或*-C(=O)NH$((CH_2)_m$O$)_t(CH_2)_n$-,其中L_1的*表示与Lp的附接点,L_1的**表示与R^{100}的附接点;

[1804] 每个m独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10;

[1805] 每个n独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10;

[1806] 每个t独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29和30;

[1807] Lp是选自（ValCit）的二价肽间隔基，其中Lp的*表示与L_1的附接点，Lp的**表示与G的-NH-基团的附接点；

[1808] L_3是具有结构-§-W—X-§*的间隔基部分，

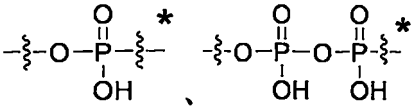
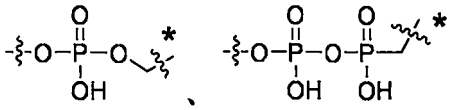
[1809] 其中

[1810] W是-CH_2O-**、-CH_2N(Rb)C(=O)O-**、-NHC(=O)CH_2NHC(=O)O-**、-CH_2N(X-R^2)C(=O)O-**、-C(=O)N(X-R^2)-**、-CH_2N(X-R^2)C(=O)-**、-C(=O)NR^b-**、-C(=O)NH-**、-$CH_2$$NR^b$C(=O)-**、-$CH_2$$NR^b$C(=O)NH-**、-$CH_2$$NR^b$C(=O)$NR^b$-**、-NHC(=O)-**、-NHC(=O)O-**、-NHC(=O)NH-**、-OC(=O)NH-**、-S(O)$_2$NH-**、-NHS(O)$_2$-**、-C(=O)-、-C(=O)O-**或-NH-，其中每个R^b独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基并且其中W的**表示与X的附接点；

[1811] X是键、三唑基或***-CH_2-三唑基-*，其中X的***表示与W的附接点，X的*表示与R^2的附接点；

[1812] 以及

[1813] L_3的*表示与R^2的附接点；

[1814] R^2是选自聚乙二醇、聚亚烷基二醇、糖、寡糖、多肽或被1至3取代的C_2-C_6烷基的亲水部分。A是键、-OC(=O)-*、、、

[1815] -OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-*或者

[1816] -OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-*，其中每个R^a独立地选自H、C_1-C_6烷基和C_3-C_8环烷基，A的*表示与D的附接点；

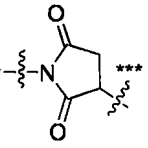
[1817] D是如本文所定义的并且包含N或O的药物部分，其中D通过从A到药物部分的N或O的直接键连接至A，

[1818] 以及

[1819] y是1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15或16。

[1820] 实施方案68.实施方案62至67中任一项所述的式(E')的免疫缀合物，其中：

[1821] Ab是抗体或其片段；

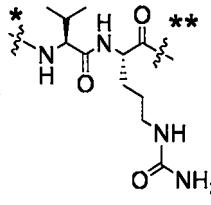
[1822] R^{100}为其中R^{100}的***表示与Ab的附接点；

[1823] L_1是*-C(=O)$(CH_2)_m$O$(CH_2)_m$-**；*-C(=O)$((CH_2)_m$O$)_t(CH_2)_n$-**；*-C(=O)$(CH_2)_m$-**；或*-C(=O)NH$((CH_2)_m$O$)_t(CH_2)_n$-，其中L 1的*表示与Lp的附接点，L_1的**表示与R^{100}的附接点；

[1824] 每个m独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10；

[1825] 每个n独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10；

[1826] 每个t独立地选自2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29和30；

[1827] Lp是选自（ValCit）的二价肽间隔基，其中Lp的*表示与L_1的附接点，Lp的**表示与G的-NH-基团的附接点；

[1828] L_3是具有结构-§-W—X-§*的间隔基部分，

[1829] 其中

[1830] W是-CH_2O-**、-CH_2N(Rb)C(=O)O-**、-NHC(=O)CH_2NHC(=O)O-**、-CH_2N(X-R^2)C(=O)O-**、-C(=O)N(X-R^2)-**、-C(=O)NR^b-**、-C(=O)NH-**、-CH_2NR^bC(=O)-**、-CH_2NR^bC(=O)NH-**、-CH_2NR^bC(=O)NR^b-**、-NHC(=O)-**、-NHC(=O)O-**或-NHC(=O)NH-**，其中每个R^b独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基并且其中W的**表示与X的附接点；

[1831] X是键、三唑基或***-CH_2-三唑基-*，其中X的***表示与W的附接点，X的*表示与R^2的附接点；

[1832] 以及

[1833] L_3的*表示与R^2的附接点；

[1834] R^2是选自聚乙二醇、聚亚烷基二醇、糖、寡糖、多肽或被1至3个-§-O-P(=O)(OH)-OH基团取代的C_2-C_6烷基的亲水部分；

[1835] A是键或-OC(=O)*，其中*表示与D的附接点；

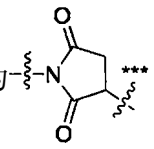
[1836] D是如本文所定义的并且包含N或O的药物部分，其中D通过从A到药物部分的N或O的直接键连接至A，

[1837] 以及

[1838] y是1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15或16。

[1839] 实施方案69.实施方案62至68中任一项所述的式(E')的免疫缀合物，其中：

[1840] Ab是抗体或其片段；

[1841] R^{100}为，其中R^{100}的***表示与Ab的附接点；

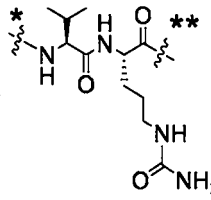
[1842] L_1是*-C(=O)$(CH_2)_m$O$(CH_2)_m$-**；*-C(=O)$((CH_2)_m$O$)_t(CH_2)_n$-**；*-C(=O)$(CH_2)_m$-**；或*-C(=O)NH$((CH_2)_m$O$)_t(CH_2)_n$-，其中L_1的*表示与Lp的附接点，L_1的**表示与R^{100}的附接点；

[1843] 每个m独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10；

[1844] 每个n独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10；

[1845] 每个t独立地选自2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、

22、23、24、25、26、27、28、29和30；

[1846] Lp是选自  的二价肽间隔基，其中Lp的*表示与L_1的附接点，Lp的**表示与G的-NH-基团的附接点；

[1847] L_3是具有结构-W-X-的间隔基部分，

[1848] 其中

[1849] W是-CH_2O-**、-$CH_2N(Rb)C(=O)O$-**、-$NHC(=O)CH_2NHC(=O)O$-**、-$CH_2N(X-R^2)C(=O)O$-**或-$C(=O)N(X-R^2)$-**，其中每个R^b独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基并且其中W的**表示与X的附接点；

[1850] X是***-CH_2-三唑基-*，其中X的***表示与W的附接点，X的*表示与R^2的附接点；

[1851] 以及

[1852] L_3的*表示与R^2的附接点；

[1853] R^2是选自聚乙二醇、聚亚烷基二醇、糖、寡糖、多肽或被1至3个-O-P(=O)(OH)-OH基团取代的C_2-C_6烷基的亲水部分；

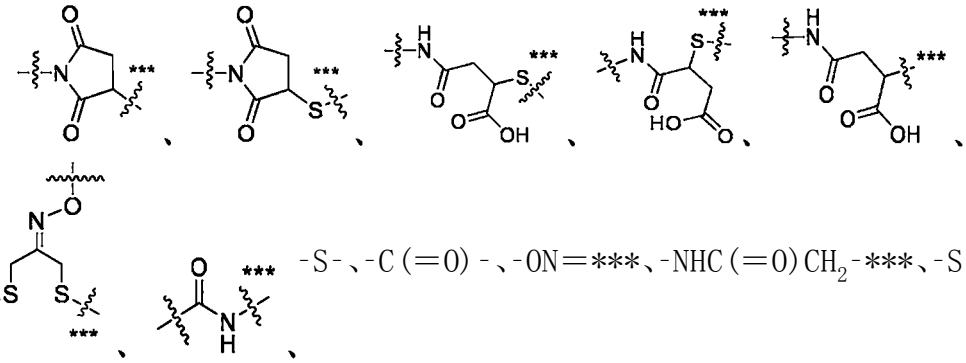
[1854] A是键或-OC(=O)*，其中*表示与D的附接点；

[1855] D是如本文所定义的并且包含N或O的药物部分，其中D通过从A到药物部分的N或O的直接键连接至A，

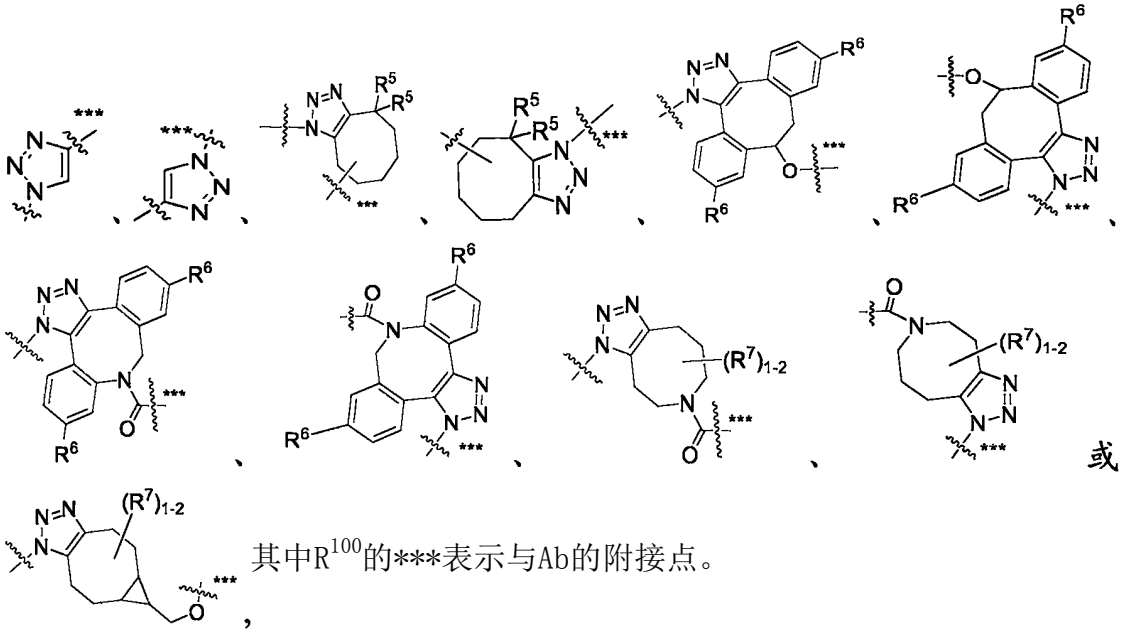
[1856] 以及

[1857] y是1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15或16。

[1858] 实施方案70.实施方案62至65中任一项所述的式(E')的免疫缀合物，其中

[1859] R^{100}是  -S-、-C(=O)-、-ON=***、-NHC(=O)CH_2-***、-S(=O)$_2CH_2CH_2$-***、-$(CH_2)_2$S(=O)$_2CH_2CH_2$-***、-NHS(=O)$_2CH_2CH_2$-***、

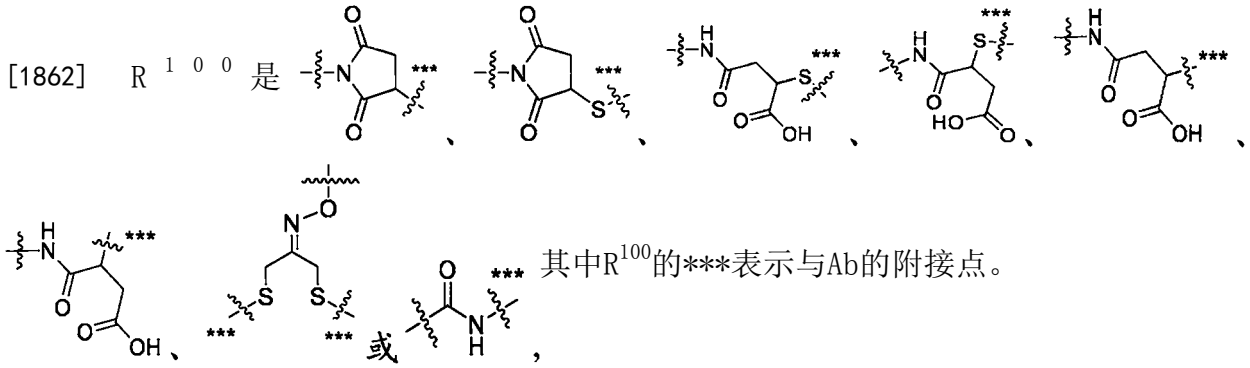
[1860] -NHC(=O)CH_2CH_2-***、-$CH_2NHCH_2CH_2$-***、-$NHCH_2CH_2$-***、



其中R^{100}的***表示与Ab的附接点。

[1861] 实施方案71.实施方案60至63中任一项所述的式(E')的免疫缀合物,其中

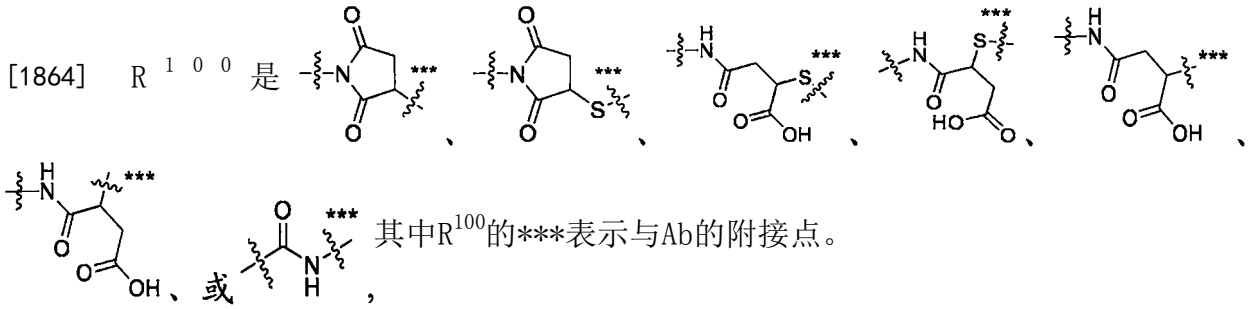
[1862] R^{100}是



其中R^{100}的***表示与Ab的附接点。

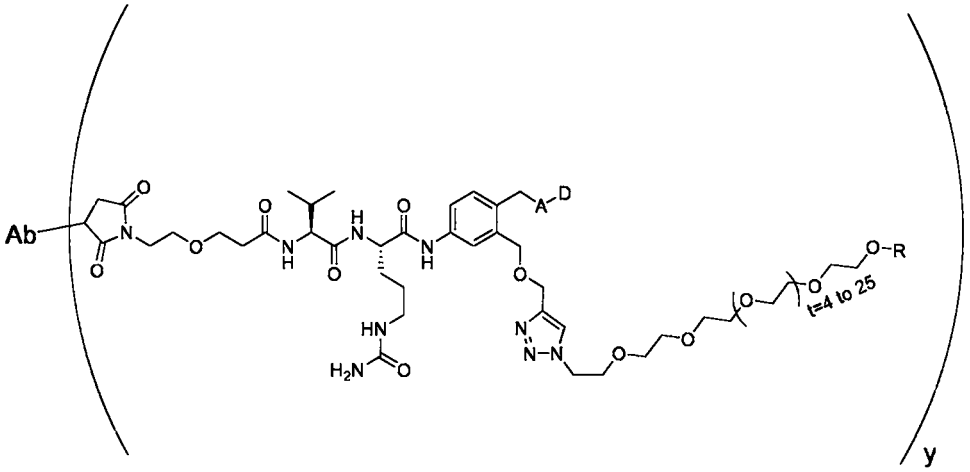
[1863] 实施方案72.实施方案62至65中任一项所述的式(E')的免疫缀合物,其中

[1864] R^{100}是



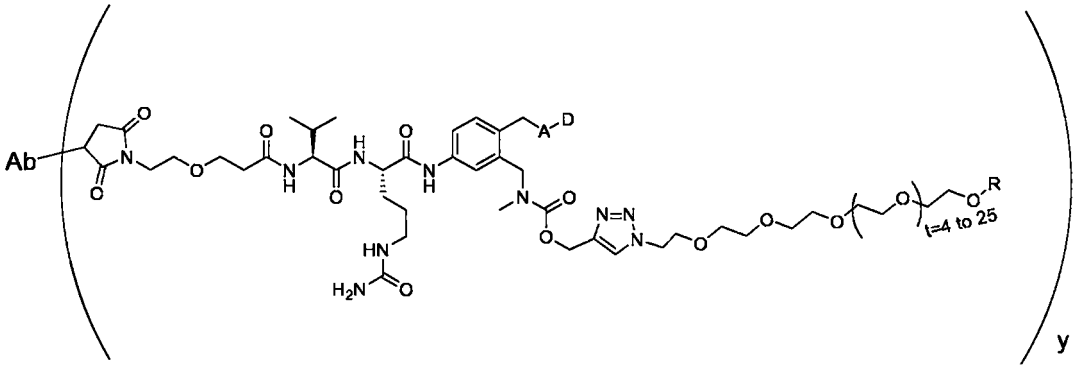
其中R^{100}的***表示与Ab的附接点。

[1865] 实施方案73.实施方案62至72中任一项所述的式(E')的免疫缀合物,其具有以下结构:

[1866]  其中

[1867] R是H、-CH_3或-CH_2CH_2C(=O)OH并且y是1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15或16。

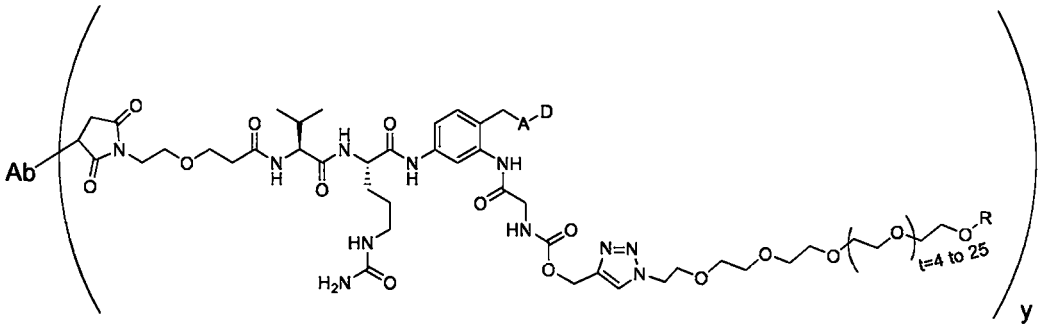
[1868] 实施方案74.实施方案62至72中任一项所述的式(E')的免疫缀合物,其具有以下结构:

[1869] 

[1870] ,其中

[1871] R是H、-CH_3或-CH_2CH_2C(=O)OH并且y是1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15或16。

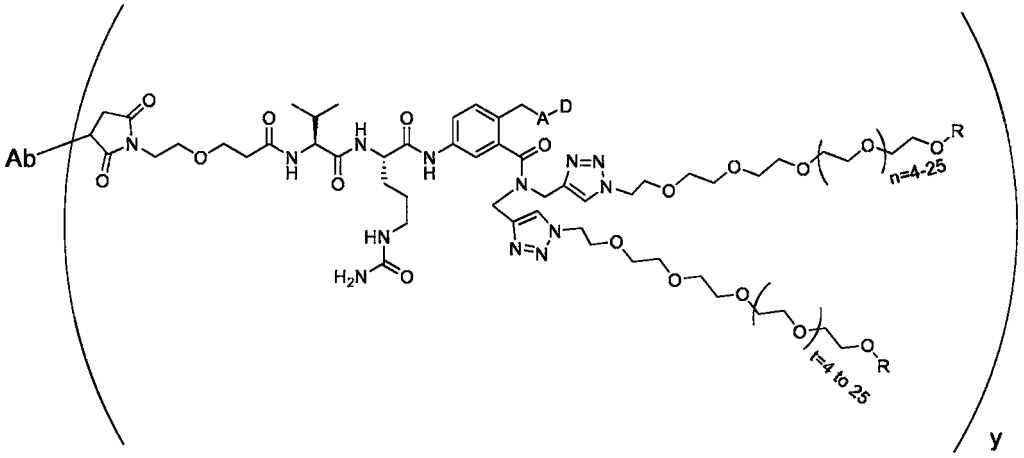
[1872] 实施方案75.实施方案62至72中任一项所述的式(E')的免疫缀合物,其具有以下结构:

[1873] 

[1874] 其中

[1875] R是H、-CH_3或-CH_2CH_2C(=O)OH并且y是1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15或16。

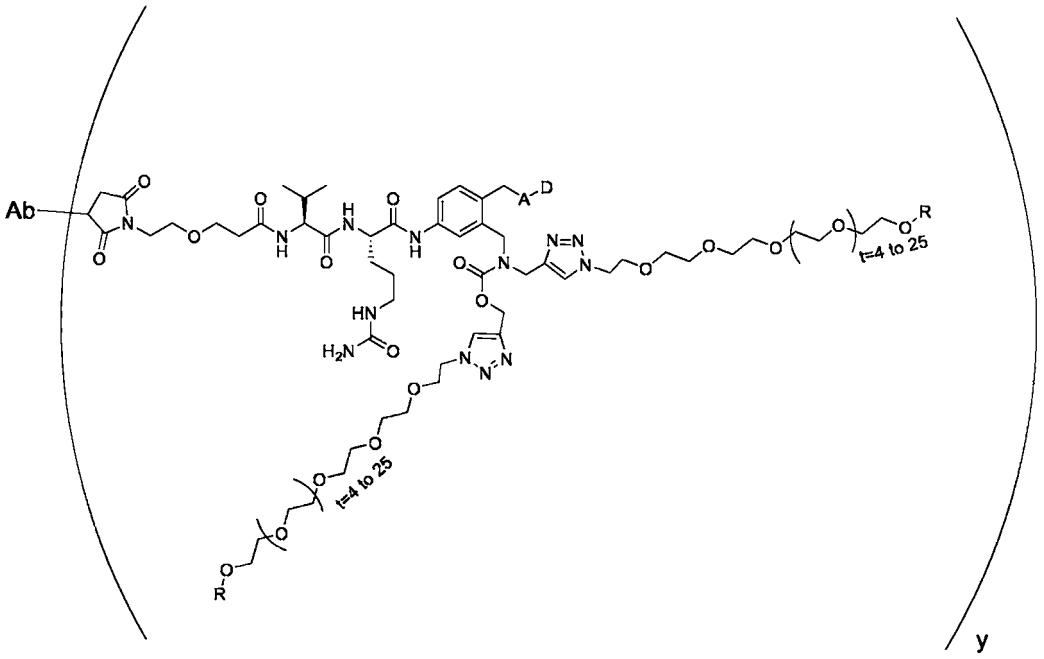
[1876] 实施方案76.实施方案62至72中任一项所述的式(E')的免疫缀合物,其具有以下结构:

[1877] 

[1878] 其中

[1879] 每个R独立地选自H、-CH_3或-CH_2CH_2C(=O)OH并且y是1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15或16。

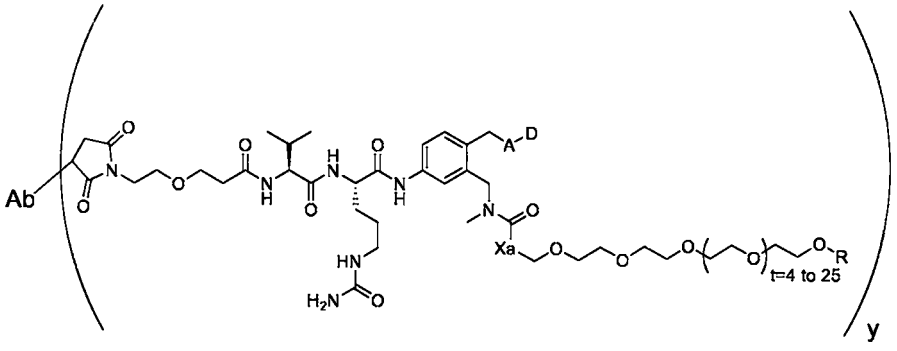
[1880] 实施方案77.实施方案62至72中任-项所述的式(E')的免疫缀合物,其具有以下结构:

[1881] 

[1882] 其中

[1883] 每个R独立地选自H、-CH_3或-CH_2CH_2C(=O)OH并且y是1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15或16。

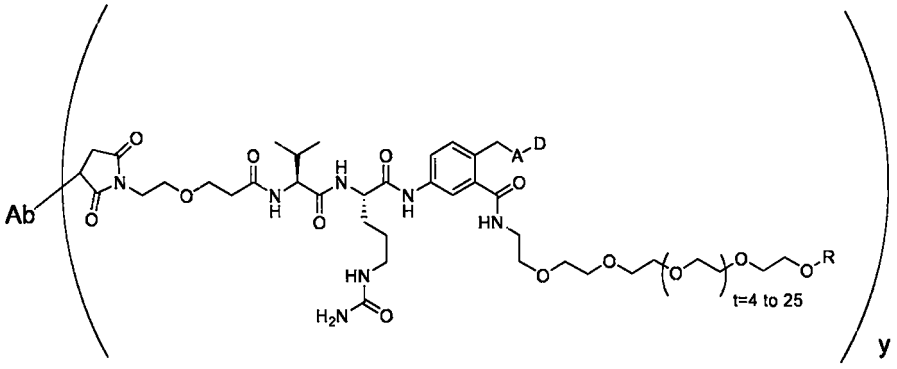
[1884] 实施方案78.实施方案62至72中任一项所述的式(E')的免疫缀合物,其具有以下结构:

[1885] 

其中

[1886] Xa是-CH_2-、-OCH_2-、-$NHCH_2$-或-$NRCH_2$-并且每个R独立地是H、-CH_3或-CH_2CH_2C(=O)OH,并且y是1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15或16。

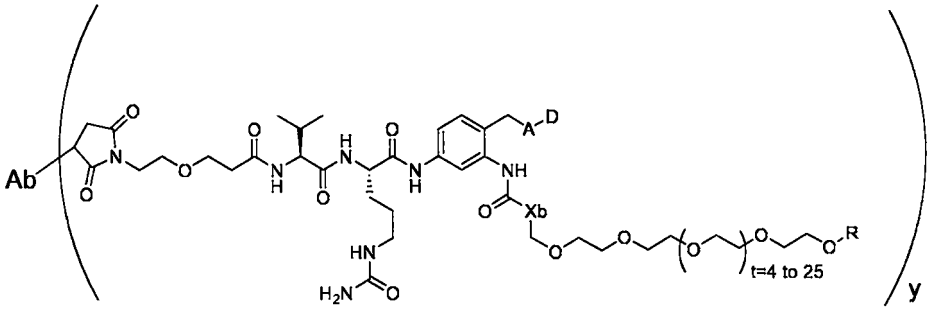
[1887] 实施方案79.实施方案62至72中任一项所述的式(E')的免疫缀合物,其具有以下结构:

[1888] 

其中

[1889] R是H、-CH_3或-CH_2CH_2C(=O)OH并且y是1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15或16。

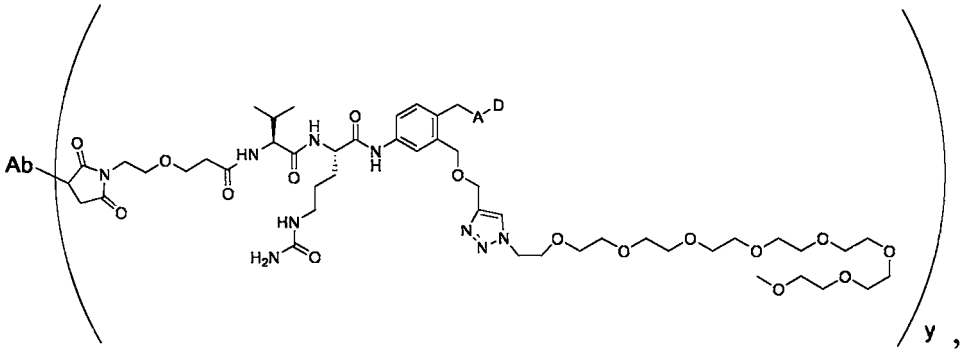
[1890] 实施方案80.实施方案62至72中任一项所述的式(E')的免疫缀合物,其具有以下结构:

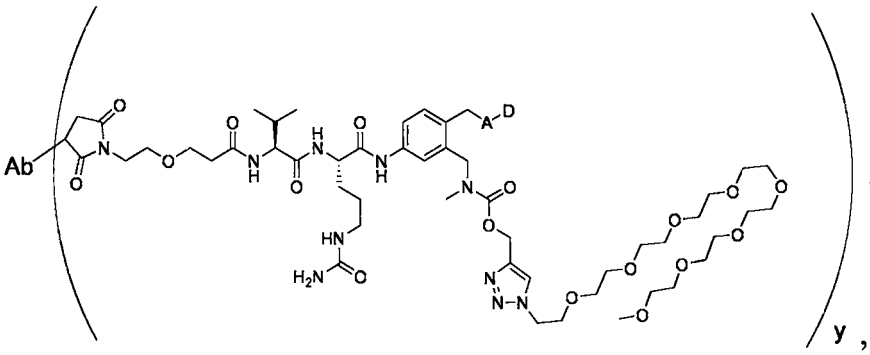
[1891] 

其中

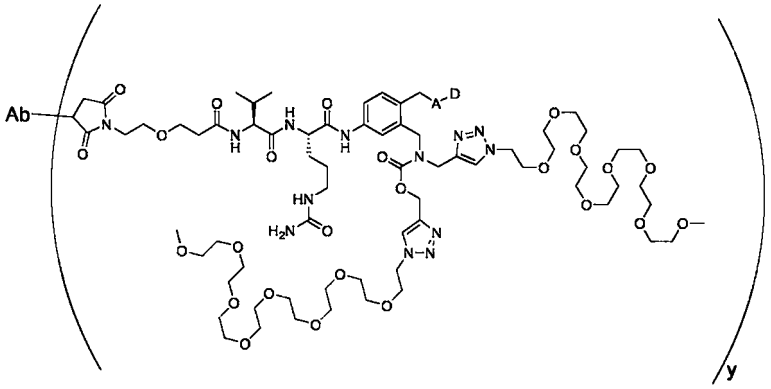
[1892] Xb是-CH_2-、-OCH_2-、-$NHCH_2$-或-$NRCH_2$-并且每个R独立地是H、-CH_3或-CH_2CH_2C(=O)OH并且y是1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15或16。

[1893] 实施方案81.实施方案62至72中任一项所述的式(E')的免疫缀合物,其具有以下结构:

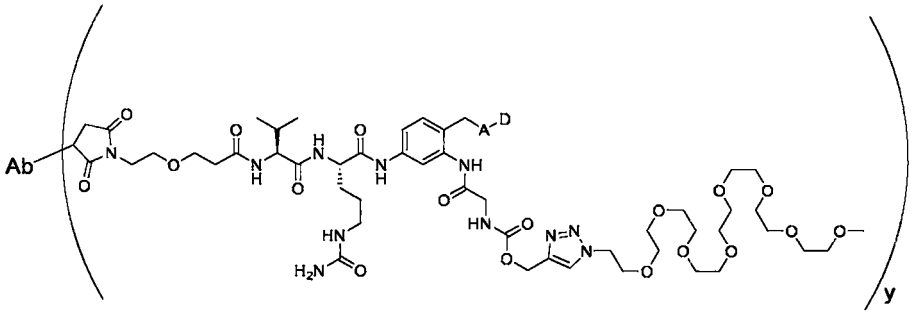
[1894]  其中y是1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15或16。

[1895] 实施方案82.实施方案62至72中任一项所述的式(E')的免疫缀合物,其具有以下结构: 其中y是1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15或16。

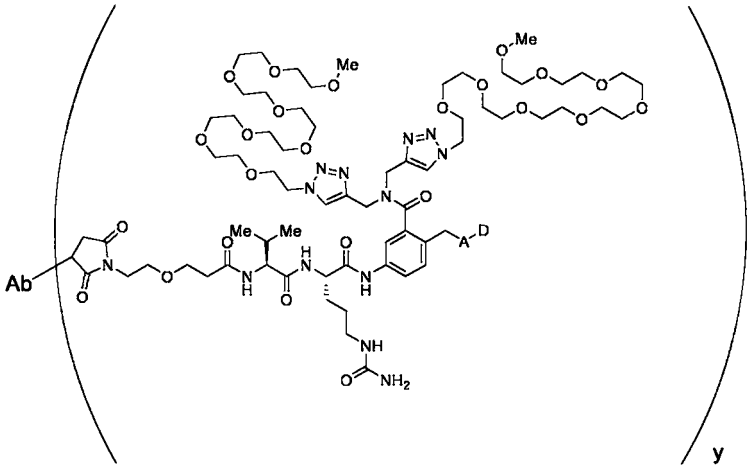
[1896] 实施方案83.实施方案62至72中任一项所述的式(E')的免疫缀合物,其具有以下结构:

[1897]  其中y是1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15或16。

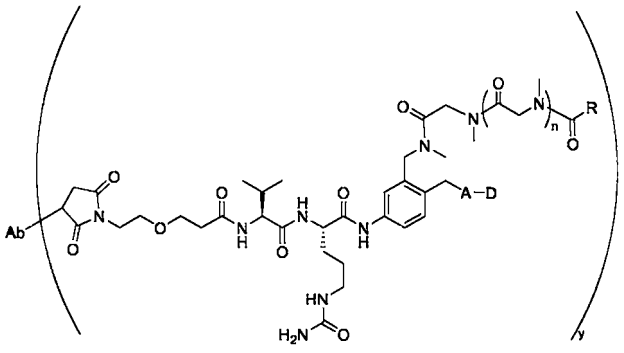
[1898] 实施方案84.实施方案62至72中任一项所述的式(E')的免疫缀合物,其具有以下结构:

[1899]  其中y是1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15或16。

[1900] 实施方案85.实施方案62至72中任一项所述的式(E')的免疫缀合物,其具有以下结构:

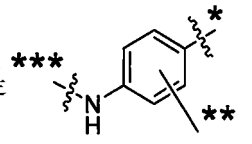
[1901]  其中y是1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15或16。

[1902] 实施方案86.实施方案62至72中任一项所述的式(E')的免疫缀合物,其具有以下结构:

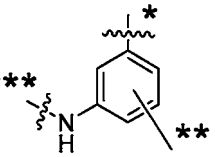
[1903]  其中y是1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15或16。

[1904] 本发明的接头-药物基团、接头和抗体药物缀合物的某些方面和实例在以下另外列举的实施方案的列表中提供。应认识到,每个实施方案中指定的特征可以与其他指定特征组合以提供本发明的另外的实施方案。

[1905] 实施方案87.实施方案1至2中任一项所述的式(A′)的化合物或其药学上可接受的盐、实施方案33至40中任一项所述的式(C')的接头、以及实施方案62至63中任一项所述的式(E')的免疫缀合物,其中:

[1906] G是  其中G的*表示与L_2的附接点,G的**表示与L_3的附接点,G的***表示与Lp的附接点。

[1907] 实施方案88.实施方案1至2中任一项所述的式(A′)的化合物或其药学上可接受的盐、实施方案33至40中任一项所述的式(C')的接头、以及实施方案62至63中任一项所述的式(E')的免疫缀合物,其中:

[1908] G是，其中G的*表示与L_2的附接点，G的**表示与L_3的附接点，G的***表示与Lp的附接点。

[1909] 实施方案89.实施方案1至17中任一项所述的式(A')的化合物或其药学上可接受的盐、实施方案33至47中任一项所述的式(C')的接头、以及实施方案62至72中任一项所述的式(E')的免疫缀合物，其中：

[1910] L_1是*-C(=O)$(CH_2)_m$O$(CH_2)_m$-**;*-C(=O)$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$-**;*-C(=O)$(CH_2)_m$-**;

[1911] *-C(=O)NH$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$-**;

[1912] *-C(=O)O$(CH_2)_m$SSC$(R^3)_2(CH_2)_m$C(=O)N$R^3(CH_2)_m$NR^3C(=O)$(CH_2)_m$-**;

[1913] *-C(=O)O$(CH_2)_m$C(=O)NH$(CH_2)_m$-**;*-C(=O)$(CH_2)_m$NH$(CH_2)_m$-**;

[1914] *-C(=O)$(CH_2)_m$NH$(CH_2)_n$C(=O)-**;*-C(=O)$(CH_2)_mX_1(CH_2)_m$-**;

[1915] *-C(=O)$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_nX_1(CH_2)_n$-**;*-C(=O)$(CH_2)_m$NHC(=O)$(CH_2)_n$-**;

[1916] *-C(=O)$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$NHC(=O)$(CH_2)_n$-**;*-C(=O)$(CH_2)_m$NHC(=O)$(CH_2)_nX_1(CH_2)_n$-**;*-C(=O)$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$NHC(=O)$(CH_2)_nX_1(CH_2)_n$-**;

[1917] *-C(=O)$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$C(=O)NH$(CH_2)_m$-**;*-C(=O)$(CH_2)_mC(R^3)_2$-**或

[1918] *-C(=O)$(CH_2)_m$C(=O)NH$(CH_2)_m$-**，其中L_1的*表示与Lp的附接点，L_1的**表示与R^1的附接点(如果存在)或L_1的**表示与R^{100}(如果存在)的附接点。

[1919] 实施方案90.实施方案1至17中任一项所述的式(A')的化合物或其药学上可接受的盐、实施方案33至47中任一项所述的式(C')的接头、以及实施方案62至72中任一项所述的式(E')的免疫缀合物，其中：

[1920] L_1是*-C(=O)$(CH_2)_m$O$(CH_2)_m$-**;*-C(=O)$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$-**;*-C(=O)$(CH_2)_m$-**;*-C(=O)NH$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$-**;*-C(=O)$(CH_2)_m$NH$(CH_2)_m$-**;*-C(=O)$(CH_2)_m$NH$(CH_2)_n$C(=O)-**;*-C(=O)$(CH_2)_m$NHC(=O)$(CH_2)_n$-**;*-C(=O)$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$NHC(=O)$(CH_2)_n$-**;*-C(=O)$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$C(=O)NH$(CH_2)_m$-**;*-C(=O)$(CH_2)_mC(R^3)_2$-**或*-C(=O)$(CH_2)_m$C(=O)NH$(CH_2)_m$-**，其中L_1的*表示与Lp的附接点，L_1的**表示与R^1的附接点(如果存在)或L_1的**表示与R^{100}(如果存在)的附接点。

[1921] 实施方案91.实施方案1至17中任一项所述的式(A')的化合物或其药学上可接受的盐、实施方案33至47中任一项所述的式(C')的接头、以及实施方案62至72中任一项所述的式(E')的免疫缀合物，其中：

[1922] L_1是*-C(=O)$(CH_2)_m$O$(CH_2)_m$-**;*-C(=O)$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$-**;*-C(=O)$(CH_2)_m$-**;*-C(=O)NH$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$-**;*-C(=O)$(CH_2)_m$NH$(CH_2)_m$-**;*-C(=O)$(CH_2)_m$NH$(CH_2)_n$C(=O)-**;或*-C(=O)$(CH_2)_m$NHC(=O)$(CH_2)_n$-**，其中L_1的*表示与Lp的附接点，L_1的**表示与R^1的附接点(如果存在)或L_1的**表示与R^{100}(如果存在)的附接点。

[1923] 实施方案92.实施方案1至17中任一项所述的式(A')的化合物或其药学上可接受的盐、实施方案33至47中任一项所述的式(C')的接头、以及实施方案62至72中任一项所述的式(E')的免疫缀合物，其中：

[1924] L_1是*-C(=O)$(CH_2)_m$O$(CH_2)_m$-**;*-C(=O)$((CH_2)_m O)_t(CH_2)_n$-**;*-C(=O)$(CH_2)_m$-**或

[1925] *-C(=O)NH$((CH_2)_m O)_t(CH_2)_n$-**,其中L_1的*表示与Lp的附接点,L_1的**表示与R^1的附接点(如果存在)或L_1的**表示与R^{100}(如果存在)的附接点。

[1926] 实施方案93.实施方案1至17中任一项所述的式(A')的化合物或其药学上可接受的盐、实施方案33至47中任一项所述的式(C')的接头、以及实施方案62至72中任一项所述的式(E')的免疫缀合物,其中L_1是*-C(=O)$(CH_2)_m$O$(CH_2)_m$-**,其中L_1的*表示与Lp的附接点,L_1的**表示与R^1的附接点(如果存在)或L_1的**表示与R^{100}(如果存在)的附接点。

[1927] 实施方案94.实施方案1至17中任一项所述的式(A')的化合物或其药学上可接受的盐、实施方案33至47中任一项所述的式(C')的接头、以及实施方案62至72中任一项所述的式(E')的免疫缀合物,其中L_1是*-C(=O)$((CH_2)_m O)_t(CH_2)_n$-**,其中L_1的*表示与Lp的附接点,L_1的**表示与R^1的附接点(如果存在)或L_1的**表示与R^{100}(如果存在)的附接点。

[1928] 实施方案95.实施方案1至17中任一项所述的式(A')的化合物或其药学上可接受的盐、实施方案33至47中任一项所述的式(C')的接头、以及实施方案62至72中任一项所述的式(E')的免疫缀合物,其中L_1是*-C(=O)$(CH_2)_m$-**,其中L1的*表示与Lp的附接点,L_1的**表示与R^1的附接点(如果存在)或L_1的**表示与R^{100}(如果存在)的附接点。

[1929] 实施方案96.实施方案1至17中任一项所述的式(A')的化合物或其药学上可接受的盐、实施方案32至46中任一项所述的式(C')的接头、以及实施方案60至70中任一项所述的式(E')的免疫缀合物,其中L_1是*-C(=O)NH$((CH_2)_m O)_t(CH_2)_n$-**,其中L_1的*表示与Lp的附接点,L_1的**表示与R^1的附接点(如果存在)或L_1的**表示与R^{100}(如果存在)的附接点。

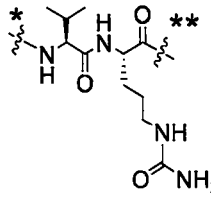
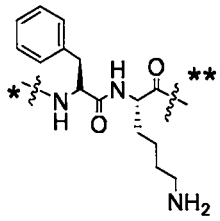
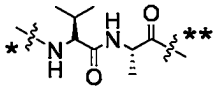
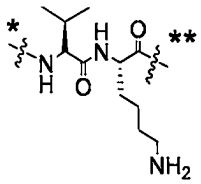
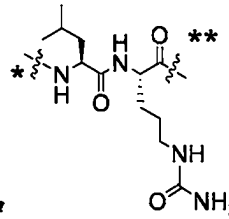
[1930] 实施方案97.实施方案1至17中任一项所述的式(A′)的化合物或其药学上可接受的盐、实施方案33至47中任一项所述的式(C')的接头、以及实施方案62至72中任一项或实施方案84至93中任一项所述的式(E')的免疫缀合物,其中Lp是可酶促切割的二价肽间隔基。

[1931] 实施方案98.实施方案1至17中任一项所述的式(A′)的化合物或其药学上可接受的盐、实施方案32至46中任一项所述的式(C')的接头、以及实施方案60至70中任一项或实施方案87至97中任一项所述的式(E')的免疫缀合物,其中Lp是包含选自甘氨酸、缬氨酸、瓜氨酸、赖氨酸、异亮氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸、天冬酰胺、脯氨酸、丙氨酸、亮氨酸、色氨酸和酪氨酸的氨基酸残基的二价肽间隔基。

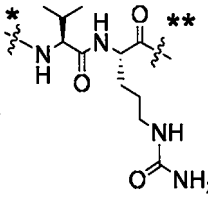
[1932] 实施方案99.实施方案1至17中任一项所述的式(A′)的化合物或其药学上可接受的盐、实施方案33至47中任一项所述的式(C')的接头、以及实施方案62至72中任一项或实施方案87至98中任一项所述的式(E')的免疫缀合物,其中Lp是包含二至四个氨基酸残基的二价肽间隔基。

[1933] 实施方案100.实施方案1至17中任一项所述的式(A′)的化合物或其药学上可接受的盐、实施方案33至47中任一项所述的式(C')的接头、以及实施方案62至72中任一项或实施方案87至99中任一项所述的式(E')的免疫缀合物,其中Lp是包含二至四个氨基酸残基的二价肽间隔基,每个氨基酸残基独立地选自甘氨酸、缬氨酸、瓜氨酸、赖氨酸、异亮氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸、天冬酰胺、脯氨酸、丙氨酸、亮氨酸、色氨酸和酪氨酸的氨基酸残基的二价肽间隔基。

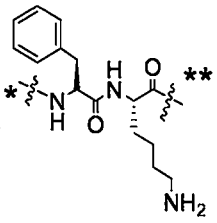
[1934] 实施方案101.实施方案1至17中任一项所述的式(A′)的化合物或其药学上可接受的盐、实施方案33至47中任一项所述的式(C')的接头、以及实施方案62至72中任一项或实施方案87至100中任一项所述的式(E')的免疫缀合物,其中:

[1935] Lp是选自  (ValCit)、  (PheLys)、  (ValAla)、  (ValLys)和  (LeuCit)的二价肽间隔基,其中Lp的*表示与L_1的附接点,Lp的**表示与式(B')的-NH-基团的附接点或Lp的**表示与式(A')的G的附接点。

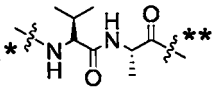
[1936] 实施方案102.实施方案1至17中任一项所述的式(A′)的化合物或其药学上可接受的盐、实施方案33至47中任一项所述的式(C')的接头、以及实施方案62至72中任一项或实施方案87至101中任一项所述的式(E')的免疫缀合物,其中:

[1937] Lp是  (ValCit),其中Lp的*表示与L_1的附接点,Lp的**表示与式(B')的-NH-基团的附接点或Lp的**表示与式(A')的G的附接点。

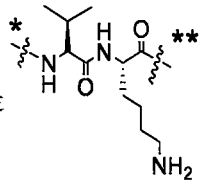
[1938] 实施方案103.实施方案1至17中任一项所述的式(A′)的化合物或其药学上可接受的盐、实施方案33至47中任一项所述的式(C')的接头、以及实施方案62至72中任一项或实施方案87至101中任一项所述的式(E')的免疫缀合物,其中:

[1939] Lp是  (PheLys),其中Lp的*表示与L_1的附接点,Lp的**表示与式(B')的-NH-基团的附接点或Lp的**表示与式(A')的G的附接点。

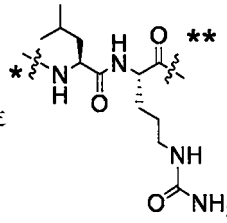
[1940] 实施方案104.实施方案1至17中任一项所述的式(A′)的化合物或其药学上可接受的盐、实施方案33至47中任一项所述的式(C')的接头、以及实施方案62至72中任一项或实施方案87至101中任一项所述的式(E')的免疫缀合物,其中:

[1941] Lp是  (ValAla),其中Lp的*表示与L_1的附接点,Lp的**表示与式(B')的-NH-基团的附接点或Lp的**表示与式(A')的G的附接点。

[1942] 实施方案105.实施方案1至17中任一项所述的式(A′)的化合物或其药学上可接受的盐、实施方案33至47中任一项所述的式(C')的接头、以及实施方案62至72中任一项或实施方案87至101中任一项所述的式(E')的免疫缀合物,其中:

[1943] Lp是  其中Lp的*表示与L_1的附接点,Lp的**表示与式(B')的-NH-基团的附接点或Lp的**表示与式(A')的G的附接点。

[1944] 实施方案106.实施方案1至17中任一项所述的式(A′)的化合物或其药学上可接受的盐、实施方案33至47中任一项所述的式(C')的接头、以及实施方案62至72中任一项或实施方案87至101中任一项所述的式(E')的免疫缀合物,其中:

[1945] Lp是  其中Lp的*表示与L_1的附接点,Lp的**表示与式(B')的-NH-基团的附接点或Lp的**表示与式(A')的G的附接点。

[1946] 实施方案107.实施方案1至17中任一项所述的式(A′)的化合物或其药学上可接受的盐、实施方案33至47中任一项所述的式(C')的接头、以及实施方案62至72中任一项或实施方案87至106中任一项所述的式(E')的免疫缀合物,其中L_2是键、亚甲基或C_2-C_3亚烯基。

[1947] 实施方案108.实施方案1至17中任一项所述的式(A′)的化合物或其药学上可接受的盐、实施方案33至47中任一项所述的式(C')的接头、以及实施方案62至72中任一项或实施方案87至107中任一项所述的式(E')的免疫缀合物,其中L_2是键或亚甲基。

[1948] 实施方案109.实施方案1至17中任一项所述的式(A′)的化合物或其药学上可接受的盐、实施方案33至47中任一项所述的式(C')的接头、以及实施方案62至72中任一项或实施方案87至108中任一项所述的式(E')的免疫缀合物,其中L_2是键。

[1949] 实施方案110.实施方案1至17中任一项所述的式(A′)的化合物或其药学上可接受的盐、实施方案33至47中任一项所述的式(C')的接头、以及实施方案62至72中任一项或实施方案87至108中任一项所述的式(E')的免疫缀合物,其中L_2是亚甲基。

[1950] 实施方案111.实施方案1至30中任一项所述的式(A′)的化合物或其药学上可接受的盐、实施方案33至47中任一项所述的式(C')的接头、以及实施方案62至85中任一项或实施方案87至110中任一项所述的式(E')的免疫缀合物,其中:

[1951] A是键、-OC(=O)-、-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-或-OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-,其中每个R^a独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基。

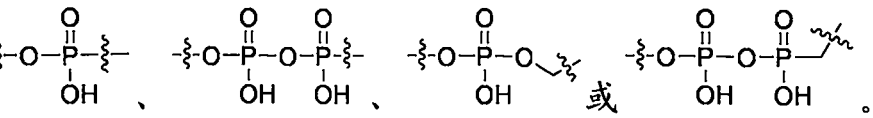
[1952] 实施方案112.实施方案1至32中任一项所述的式(A′)的化合物或其药学上可接受的盐、实施方案33至61中任一项所述的式(C')的接头、以及实施方案62至86中任一项或实施方案87至111中任一项所述的式(E')的免疫缀合物,其中A是键或-OC(=O)。

[1953] 实施方案113.实施方案1至32中任一项所述的式(A′)的化合物或其药学上可接受的盐、实施方案33至61中任一项所述的式(C')的接头、以及实施方案62至86中任一项或实

施方案87至112中任一项所述的式(E')的免疫缀合物,其中A是键。

[1954] 实施方案114.实施方案1至32中任一项所述的式(A')的化合物或其药学上可接受的盐、实施方案33至61中任一项所述的式(C')的接头、以及实施方案62至86中任一项或实施方案87至112中任一项所述的式(E')的免疫缀合物,其中A或-OC(=O)。

[1955] 实施方案115.实施方案1至32中任一项所述的式(A')的化合物或其药学上可接受的盐、实施方案33至61中任一项所述的式(C')的接头、以及实施方案62至86中任一项或实施方案87至110中任一项所述的式(E')的免疫缀合物,其中:

[1956] A是。

[1957] 实施方案116.实施方案1至32中任一项所述的式(A')的化合物或其药学上可接受的盐、实施方案33至61中任一项所述的式(C')的接头、以及实施方案62至85中任一项或实施方案86至110中任一项所述的式(E')的免疫缀合物,其中:

[1958] A是-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-或-OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-,其中每个R^a独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基。

[1959] 实施方案117.实施方案1至17中任一项所述的式(A')的化合物或其药学上可接受的盐、实施方案33至49中任一项所述的式(C')的接头、以及实施方案62至72中任一项或实施方案87至116中任一项所述的式(E')的免疫缀合物,其中:

[1960] L_3是具有结构-W-X-*的间隔基部分,

[1961] 其中

[1962] W是CH_2O-**、-CH_2N(R^b)C(=O)O-**、-NHC(=O)C(R^b)$_2$NHC(=O)O-**、-NHC(=O)C(R^b)$_2$NH-**、-NHC(=O)C(R^b)$_2$NHC(=O)-**、-CH_2N(X-R^2)C(=O)O-**、-C(=O)N(X-R^2)-**、-CH_2N(X-R^2)C(=O)-**、-C(=O)NR^b-**、-C(=O)NH-**、-CH_2NR^bC(=O)-**、-CH_2NR^bC(=O)NH-**、-CH_2NR^bC(=O)NR^b-**、-NHC(=O)-**、-NHC(=O)O-**、-NHC(=O)NH-**、-OC(=O)NH-**、-S(O)$_2$NH-**、-NHS(O)$_2$-**、-C(=O)-、-C(=O)O-**或-NH-,其中每个R^b独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基并且其中W的**表示与X的附接点;

[1963] X是键、三唑基或***-CH_2-三唑基-*,其中X的***表示与W的附接点,X的*表示与R^2的附接点;

[1964] 以及

[1965] L_3的*表示与R^2的附接点。

[1966] 实施方案118.实施方案1至17中任一项所述的式(A')的化合物或其药学上可接受的盐、实施方案33至47中任一项所述的式(C')的接头、以及实施方案62至72中任一项或实施方案87至117中任一项所述的式(E')的免疫缀合物,其中:

[1967] L_3是具有结构-W-X-*的间隔基部分,

[1968] 其中

[1969] W是-CH_2O-**、-CH_2N(R^b)C(=O)O-**、-NHC(=O)CH_2NHC(=O)O-**、

[1970] -NHC(=O)CH_2NH-**、-NHC(=O)CH_2NHC(=O)-**、-CH_2N(X-R^2)C(=O)O-**、-C(=O)N(X-R^2)-**、-CH_2N(X-R^2)C(=O)-**、-C(=O)NR^b-**、-C(=O)NH-**、-CH_2NR^bC(=O)-**、-CH_2NR^bC(=O)NH-**、-CH_2NR^bC(=O)NR^b-**、-NHC(=O)-**、-NHC(=O)O-**、-NHC(=O)

NH-**、-OC(=O)NH-**、-S(O)$_2$NH-**、-NHS(O)$_2$-**、-C(=O)-、-C(=O)O-**或-NH-，其中每个R^b独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基并且其中W的**表示与X的附接点；

[1971] X是键；

[1972] 以及

[1973] L_3的*表示与R^2的附接点。

[1974] 实施方案119.实施方案1至17中任一项所述的式(A')的化合物或其药学上可接受的盐、实施方案33至47中任一项所述的式(C')的接头、以及实施方案62至72中任一项或实施方案87至118中任一项所述的式(E')的免疫缀合物，其中：

[1975] L_3是具有结构-§-W—X-§*的间隔基部分，

[1976] 其中

[1977] W是-CH_2O-**、-CH_2N(R^b)C(=O)O-**、-NHC(=O)CH_2NHC(=O)O-**、

[1978] -NHC(=O)CH_2NH-**、-NHC(=O)CH_2NHC(=O)-**、-CH_2N(X-R^2)C(=O)O-**、-C(=O)N(X-R^2)-**、-CH_2N(X-R^2)C(=O)-**、-C(=O)NR^b-**、-C(=O)NH-**、-CH_2NR^bC(=O)-**、-CH_2NR^bC(=O)NH-**、-CH_2NR^bC(=O)NR^b-**、-NHC(=O)-**、-NHC(=O)O-**、-NHC(=O)NH-**、-OC(=O)NH-**、-S(O)$_2$NH-**、-NHS(O)$_2$-**、-C(=O)-、-C(=O)O-**或-NH-，其中每个R^b独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基并且其中W的**表示与X的附接点；

[1979] X是三唑基，其中X的***表示与W的附接点，X的*表示与R^2的附接点；

[1980] 以及

[1981] L_3的*表示与R^2的附接点。

[1982] 实施方案120.实施方案1至17中任一项所述的式(A')的化合物或其药学上可接受的盐、实施方案33至47中任一项所述的式(C')的接头、以及实施方案62至72中任一项或实施方案87至118中任一项所述的式(E')的免疫缀合物，其中：

[1983] L_3是具有结构-§-W—X-§*的间隔基部分，

[1984] 其中

[1985] W是-CH_2O-**、-CH_2N(R^b)C(=O)O-**、-NHC(=O)CH_2NHC(=O)O-**、-NHC(=O)CH_2NH-**、-NHC(=O)CH_2NHC(=O)-**、-CH_2N(X-R^2)C(=O)O-**、-C(=O)N(X-R^2)-**、-CH_2N(X-R^2)C(=O)-**、-C(=O)NR^b-**、-C(=O)NH-**、-CH_2NR^bC(=O)-**、-CH_2NR^bC(=O)NH-**、-CH_2NR^bC(=O)NR^b-**、-NHC(=O)-**、-NHC(=O)O-**、-NHC(=O)NH-**、-OC(=O)NH-**、-S(O)$_2$NH-**、-NHS(O)$_2$-**、-C(=O)-、-C(=O)O-**或-NH-，其中每个R^b独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基并且其中W的**表示与X的附接点；

[1986] X是***-CH_2-三唑基-*，其中X的***表示与W的附接点，X的*表示与R^2的附接点；

[1987] 以及

[1988] L_3的*表示与R^2的附接点。

[1989] 实施方案121.实施方案1至17中任一项所述的式(A')的化合物或其药学上可接受的盐、实施方案33至47中任一项所述的式(C')的接头、以及实施方案62至72中任一项或实施方案87至118中任一项所述的式(E')的免疫缀合物，其中：

[1990] L_3是具有结构-§-W—X-§*的间隔基部分，

[1991] 其中

[1992] W是-CH_2O-**、-$CH_2N(R^b)C(=O)O$-**、-$NHC(=O)CH_2NHC(=O)O$-**、-$CH_2N(X\text{-}R^2)C(=O)O$-**、-$C(=O)N(X\text{-}R^2)$-**,其中每个$R^b$独立地选自H、$C_1$-$C_6$烷基或$C_3$-$C_8$环烷基并且其中W的**表示与X的附接点;

[1993] X是键、三唑基或***-CH_2-三唑基-*,其中X的***表示与W的附接点,X的*表示与R^2的附接点;

[1994] 以及

[1995] L_3的*表示与R^2的附接点。

[1996] 实施方案122.实施方案1至17中任一项所述的式(A')的化合物或其药学上可接受的盐、实施方案33至47中任一项所述的式(C')的接头、以及实施方案62至72中任一项或实施方案87至118中任一项所述的式(E')的免疫缀合物,其中:

[1997] L_3是具有结构的间隔基部分,

[1998] 其中

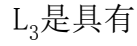
[1999] W是-CH_2O-**、-$CH_2N(R^b)C(=O)O$-**、-$NHC(=O)CH_2NHC(=O)O$-**、-$CH_2N(X\text{-}R^2)C(=O)O$-**、-$C(=O)N(X\text{-}R^2)$-**,其中每个$R^b$独立地选自H、$C_1$-$C_6$烷基或$C_3$-$C_8$环烷基并且其中W的**表示与X的附接点;

[2000] X是键;

[2001] 以及

[2002] L_3的*表示与R^2的附接点。

[2003] 实施方案123.实施方案1至17中任一项所述的式(A')的化合物或其药学上可接受的盐、实施方案33至47中任一项所述的式(C')的接头、以及实施方案62至72中任一项或实施方案83至118中任一项所述的式(E')的免疫缀合物,其中:

[2004] L_3是具有结构的间隔基部分,

[2005] 其中

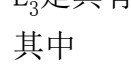
[2006] W是-CH_2O-**、-$CH_2N(R^b)C(=O)O$-**、-$NHC(=O)CH_2NHC(=O)O$-**、-$CH_2N(X\text{-}R^2)C(=O)O$-**、-$C(=O)N(X\text{-}R^2)$-**,其中每个$R^b$独立地选自H、$C_1$-$C_6$烷基或$C_3$-$C_8$环烷基并且其中W的**表示与X的附接点;

[2007] X是三唑基,其中X的***表示与W的附接点,X的*表示与R^2的附接点;

[2008] 以及

[2009] L_3的*表示与R^2的附接点。

[2010] 实施方案124.实施方案1至17中任一项所述的式(A')的化合物或其药学上可接受的盐、实施方案33至47中任一项所述的式(C')的接头、以及实施方案62至72中任一项或实施方案87至118中任一项所述的式(E')的免疫缀合物,其中:

[2011] L_3是具有结构的间隔基部分,

[2012] 其中

[2013] W是-CH_2O-**、-$CH_2N(R^b)C(=O)O$-**、-$NHC(=O)CH_2NHC(=O)O$-**、-$CH_2N(X\text{-}R^2)C(=O)O$-**、-$C(=O)N(X\text{-}R^2)$-**,其中每个$R^b$独立地选自H、$C_1$-$C_6$烷基或$C_3$-$C_8$环烷基并且其中W的**表示与X的附接点;

[2014] X是***-CH_2-三唑基-*,其中X的***表示与W的附接点,X的*表示与R^2的附接点;

[2015] 以及

[2016] L_3的*表示与R^2的附接点。

[2017] 实施方案125.实施方案1至17中任一项所述的式(A′)的化合物或其药学上可接受的盐、实施方案33至47中任一项所述的式(C')的接头、以及实施方案62至72中任一项或实施方案86至124中任一项所述的式(E')的免疫缀合物,其中R^2是选自聚乙二醇、聚亚烷基二醇、糖、寡糖、多肽或被1至3个基团取代的C_2-C_6烷基的亲水部分。

[2018] 实施方案126.实施方案1至17中任一项所述的式(A′)的化合物或其药学上可接受的盐、实施方案33至47中任一项所述的式(C')的接头、以及实施方案62至72中任一项或实施方案87至125中任一项所述的式(E')的免疫缀合物,其中R^2是糖。

[2019] 实施方案127.实施方案1至17中任一项所述的式(A′)的化合物或其药学上可接受的盐、实施方案33至47中任一项所述的式(C')的接头、以及实施方案62至72中任一项或实施方案87至125中任一项所述的式(E')的免疫缀合物,其中R^2为寡糖。

[2020] 实施方案128.实施方案1至17中任一项所述的式(A′)的化合物或其药学上可接受的盐、实施方案33至47中任一项所述的式(C')的接头、以及实施方案62至72中任一项或实施方案87至125中任一项所述的式(E')的免疫缀合物,其中R^2是多肽。

[2021] 实施方案129.实施方案1至17中任一项所述的式(A′)的化合物或其药学上可接受的盐、实施方案33至47中任一项所述的式(C')的接头、以及实施方案62至72中任一项或实施方案87至125中任一项所述的式(E')的免疫缀合物,其中R^2为聚亚烷基二醇。

[2022] 实施方案130.实施方案1至17中任一项所述的式(A′)的化合物或其药学上可接受的盐、实施方案33至47中任一项所述的式(C')的接头、以及实施方案62至72中任一项或实施方案87至125中任一项所述的式(E')的免疫缀合物,其中R^2是具有结构-(O$(CH_2)_m)_t$R'的聚亚烷基二醇,其中R′为OH、OCH_3或OCH_2CH_2C(=O)OH,m为1-10且t为4-40。

[2023] 实施方案131.实施方案1至17中任一项所述的式(A′)的化合物或其药学上可接受的盐、实施方案33至47中任一项所述的式(C')的接头、以及实施方案62至72中任一项或实施方案87至125中任一项所述的式(E')的免疫缀合物,其中R^2是具有结构-($(CH_2)_m$O$)_t$R"-的聚亚烷基二醇,其中R″为H、CH_3或CH_2CH_2C(=O)OH,m为1-10且t为4-40。

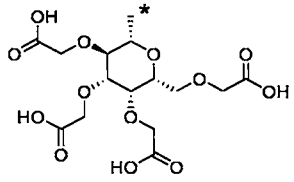
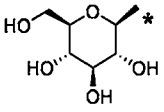
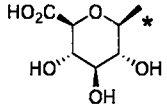
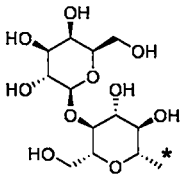
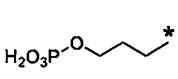
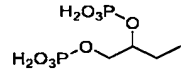
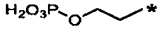
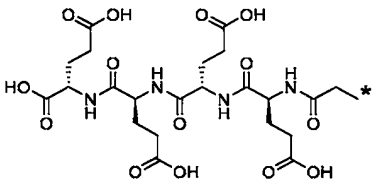
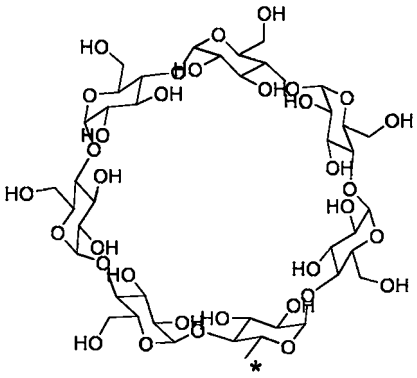
[2024] 实施方案132.实施方案1至17中任一项所述的式(A′)的化合物或其药学上可接受的盐、实施方案33至47中任一项所述的式(C')的接头、以及实施方案62至72中任一项或实施方案87至125中任一项所述的式(E')的免疫缀合物,其中R^2为聚乙二醇。

[2025] 实施方案133.实施方案1至17中任一项所述的式(A′)的化合物或其药学上可接受的盐、实施方案33至47中任一项所述的式(C')的接头、以及实施方案62至72中任一项或实施方案87至125中任一项所述的式(E')的免疫缀合物,其中R^2是具有结构-$(OCH_2CH_2)_t$R'的聚乙二醇,其中R′为OH、OCH_3或OCH_2CH_2C(=O)OH且t为4-40。

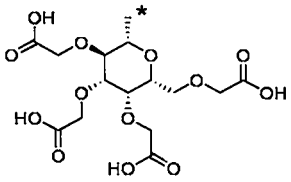
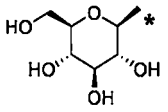
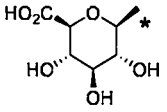
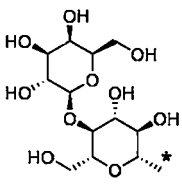
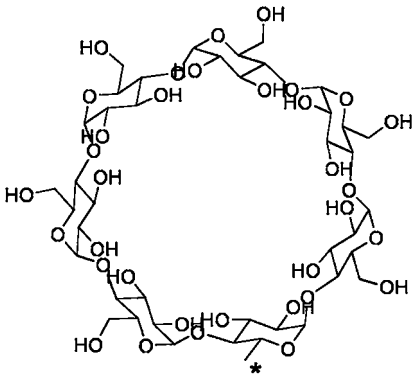
[2026] 实施方案134.实施方案1至17中任一项所述的式(A′)的化合物或其药学上可接受的盐、实施方案33至47中任一项所述的式(C')的接头、以及实施方案62至72中任一项或实施方案87至125中任一项所述的式(E')的免疫缀合物,其中R^2是具有结构-$(CH_2CH_2O)_t$R"-的聚乙二醇,其中R″为H、CH_3或CH_2CH_2C(=O)OH且t为4-40。

[2027] 实施方案135.实施方案1至17中任一项所述的式(A′)的化合物或其药学上可接受的盐、实施方案33至47中任一项所述的式(C')的接头、以及实施方案62至72中任一项或实

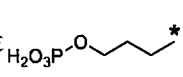
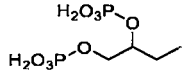
施方案87至125中任一项所述的式(E')的免疫缀合物,其中:

[2028] R^2 是  、 、 、 、 、 、 、 或  ,其中R^2的*表示与X或L_3的附接点。

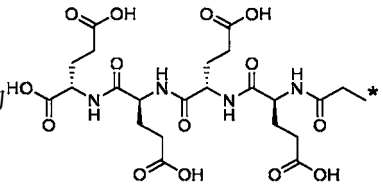
[2029] 实施方案136.实施方案1至17中任一项所述的式(A')的化合物或其药学上可接受的盐、实施方案33至47中任一项所述的式(C')的接头、以及实施方案62至72中任一项或实施方案87至125中任一项所述的式(E')的免疫缀合物,其中:

[2030] R^2 是  、 、 、 或  ,其中R^2的*表示与X或L_3的附接点。

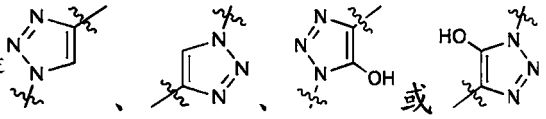
[2031] 实施方案137.实施方案1至17中任一项所述的式(A')的化合物或其药学上可接受的盐、实施方案33至47中任一项所述的式(C')的接头、以及实施方案62至72中任一项或实施方案87至125中任一项所述的式(E')的免疫缀合物,其中:

[2032] R^2是  、 或 ,其中R^2的*表示与X或L_3的附接点。

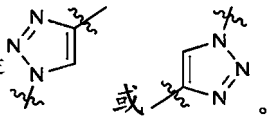
[2033] 实施方案138.实施方案1至17中任一项所述的式(A′)的化合物或其药学上可接受的盐、实施方案33至47中任一项所述的式(C')的接头、以及实施方案62至72中任一项或实施方案87至125中任一项所述的式(E')的免疫缀合物,其中:

[2034] R^2为 其中R^2的*表示与X或L_3的附接点。

[2035] 实施方案139.实施方案1至17中任一项所述的式(A′)的化合物或其药学上可接受的盐、实施方案33至47中任一项所述的式(C')的接头、以及实施方案62至72中任一项或实施方案87至138中任一项所述的式(E')的免疫缀合物,其中:

[2036] X_1是

[2037] 实施方案140.实施方案1至17中任一项所述的式(A′)的化合物或其药学上可接受的盐、实施方案33至47中任一项所述的式(C')的接头、以及实施方案62至72中任一项或实施方案87至138中任一项所述的式(E')的免疫缀合物,其中:

[2038] X_1是

[2039] 实施方案141.实施方案1至17中任一项所述的式(A′)的化合物或其药学上可接受的盐、实施方案33至47中任一项所述的式(C')的接头、以及实施方案62至72中任一项或实施方案87至140中任一项所述的式(E')的免疫缀合物,其中:

[2040] 每个m独立地选自1、2、3、4和5。

[2041] 实施方案142.实施方案1至17中任一项所述的式(A′)的化合物或其药学上可接受的盐、实施方案33至47中任一项所述的式(C')的接头、以及实施方案62至72中任一项或实施方案87至140中任一项所述的式(E')的免疫缀合物,其中:

[2042] 每个m独立地选自1、2和3。

[2043] 实施方案143.实施方案1至17中任一项所述的式(A′)的化合物或其药学上可接受的盐、实施方案33至47中任一项所述的式(C')的接头、以及实施方案62至72中任一项或实施方案87至142中任一项所述的式(E')的免疫缀合物,其中:

[2044] 每个n独立地选自1、2、3、4和5。

[2045] 实施方案144.实施方案1至17中任一项所述的式(A′)的化合物或其药学上可接受的盐、实施方案33至47中任一项所述的式(C')的接头、以及实施方案62至72中任一项或实施方案87至142中任一项所述的式(E')的免疫缀合物,其中:

[2046] 每个n独立地选自1、2和3。

[2047] 实施方案145.实施方案1至17中任一项所述的式(A′)的化合物或其药学上可接受的盐、实施方案33至47中任一项所述的式(C')的接头、以及实施方案62至72中任一项或实施方案87至144中任一项所述的式(E')的免疫缀合物,其中:

[2048] 每个t独立地选自2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29和30。

[2049] 实施方案146.实施方案1至17中任一项所述的式(A′)的化合物或其药学上可接受的盐、实施方案33至47中任一项所述的式(C')的接头、以及实施方案62至72中任一项或实施方案87至144中任一项所述的式(E')的免疫缀合物,其中:

[2050] 每个t独立地选自4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25。

[2051] 实施方案147.实施方案1至17中任一项所述的式(A′)的化合物或其药学上可接受的盐、实施方案33至47中任一项所述的式(C')的接头、以及实施方案62至72中任一项或实施方案87至144中任一项所述的式(E')的免疫缀合物,其中:

[2052] 每个t独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17和18。

[2053] 实施方案148.实施方案62至72中任一项或实施方案87至147中任一项所述的式(E')的免疫缀合物,其中y是1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14。

[2054] 实施方案149.实施方案62至72中任一项或实施方案87至147中任一项所述的式(E')的免疫缀合物,其中y是1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11或12。

[2055] 实施方案150.实施方案62至72中任一项或实施方案87至147中任一项所述的式(E')的免疫缀合物,其中y是1、2、3、4、5、6、7、8、9或10。

[2056] 实施方案151.实施方案62至72中任一项或实施方案87至147中任一项所述的式(E')的免疫缀合物,其中y是1、2、3、4、5、6、7或8。

[2057] 实施方案152.实施方案62至72中任一项或实施方案87至147中任一项所述的式(E')的免疫缀合物,其中y是1、2、3、4、5或6。

[2058] 实施方案153.实施方案62至72中任一项或实施方案87至147中任一项所述的式(E')的免疫缀合物,其中y是1、2、3或4。

[2059] 实施方案154.实施方案62至72中任一项或实施方案87至147中任一项所述的式(E')的免疫缀合物,其中y是1或2。

[2060] 实施方案155.实施方案62至72中任一项或实施方案87至147中任一项所述的式(E')的免疫缀合物,其中y是2。

[2061] 实施方案156.实施方案62至72中任一项或实施方案87至147中任一项所述的式(E')的免疫缀合物,其中y是4。

[2062] 实施方案157.实施方案62至72中任一项或实施方案87至147中任一项所述的式(E')的免疫缀合物,其中y是6。

[2063] 实施方案158.实施方案62至72中任一项或实施方案87至147中任一项所述的式(E')的免疫缀合物,其中y是8。

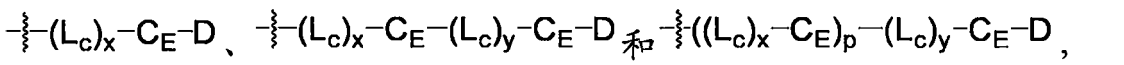
[2064] 实施方案159.实施方案1至31中任一项所述的式(A')的化合物或其药学上可接受的盐、实施方案62至72中任一项或实施方案87至158中任一项所述的式(E')的免疫缀合物,其中当从所述免疫缀合物中释放时,D是Bcl-xL抑制剂。

[2065] 其他接头基团

[2066] 适合于制备本文公开的Bcl-xL抑制剂的ADC或免疫缀合物的接头基团的其他实例包括国际申请出版物中公开的那些,例如WO2018200812、WO2017214456、WO2017214458、WO2017214462、WO2017214233、WO2017214282WO2017214301、WO2017214322、WO2017214335、WO2017214339、WO2016094509、WO2016094517和WO2016094505,其各自的内容通过引用以其

整体并入。

[2067] 例如，本文公开的Bcl-xL抑制剂的免疫缀合物可以具有选自以下的接头-负载("-L-D")结构：

[2068] 

[2069] 其中：

[2070] Lc是接头组分，并且每个Lc独立地选自如本文披露的接头组分；

[2071] x是选自1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19和20的整数；

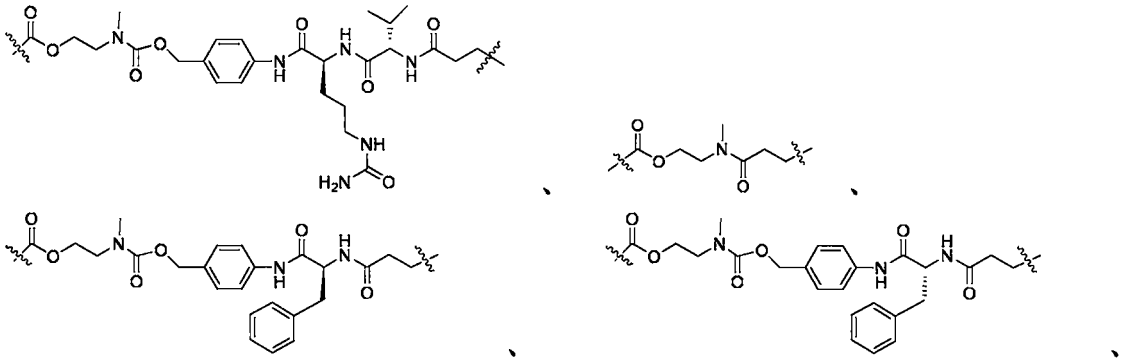
[2072] y是选自1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19和20的整数；

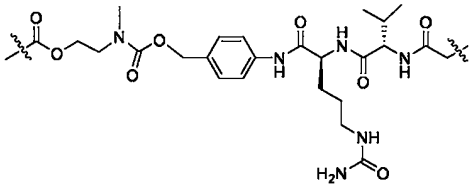
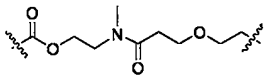
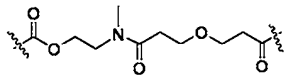
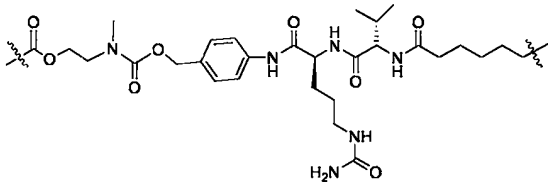
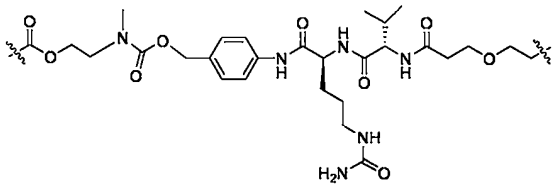
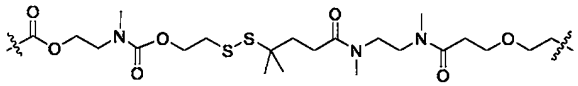
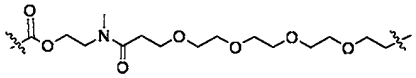
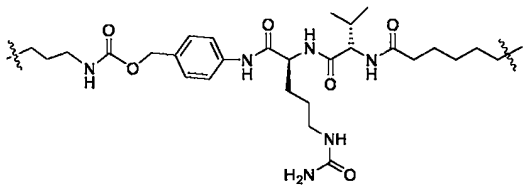
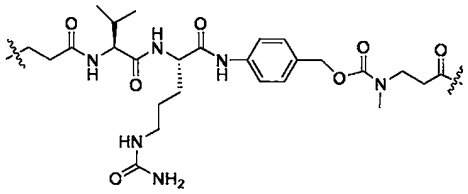
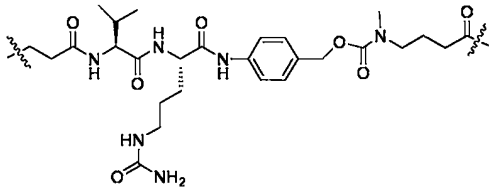
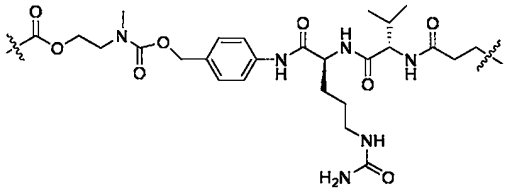
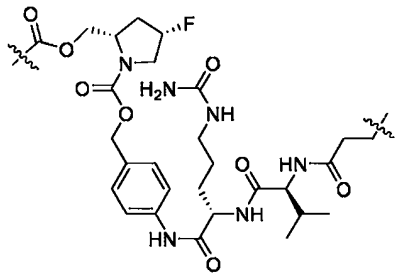
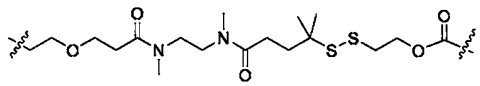
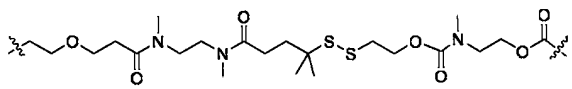
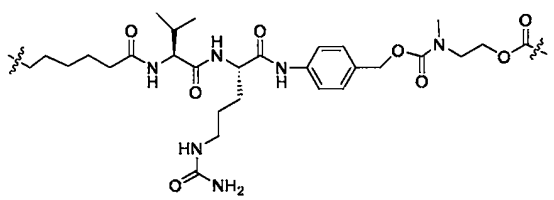
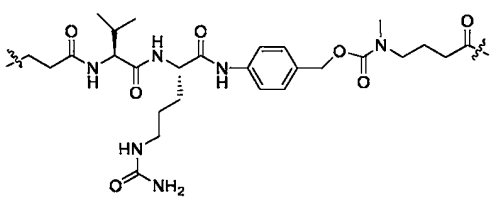
[2073] p是选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10的整数；

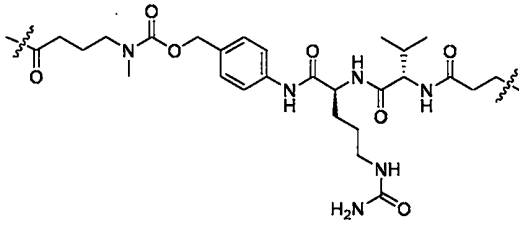
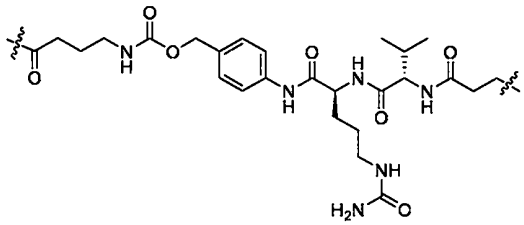
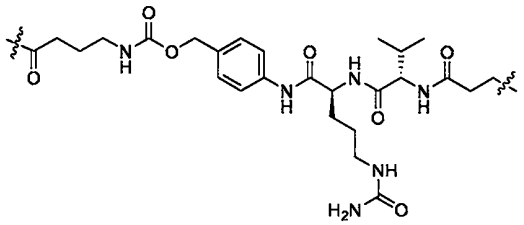
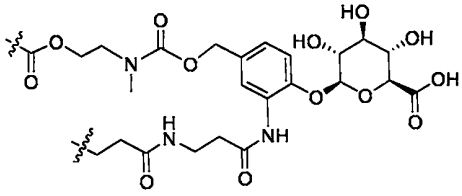
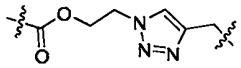
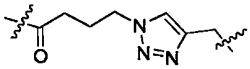
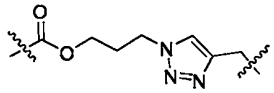
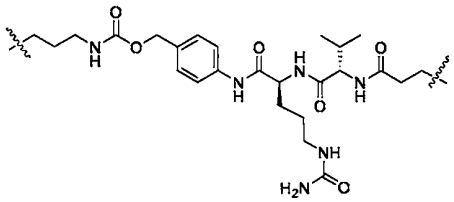
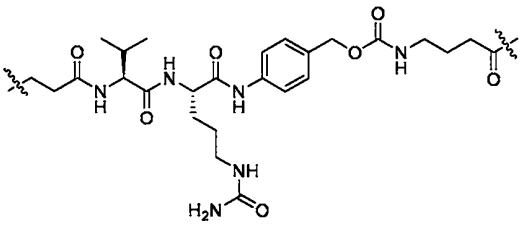
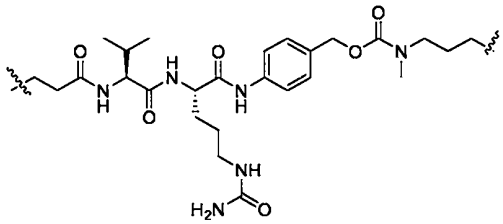
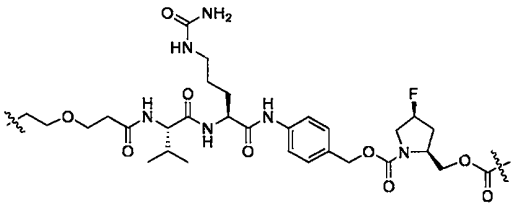
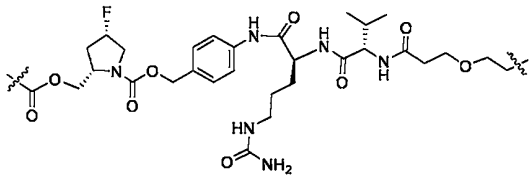
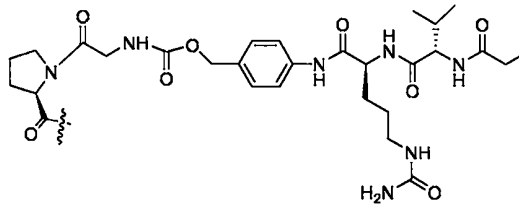
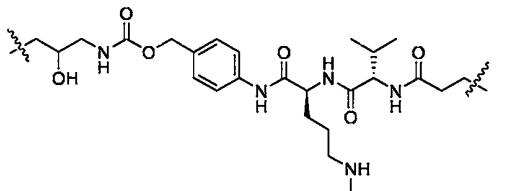
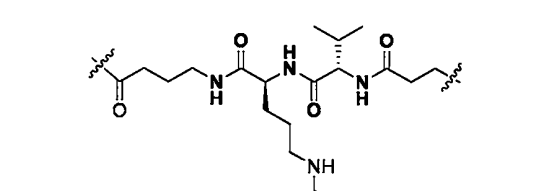
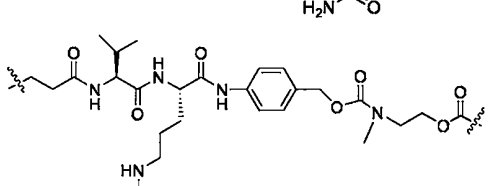
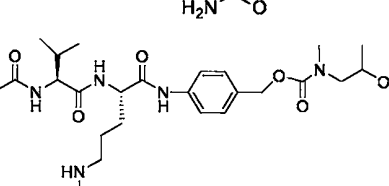
[2074] D是本文公开的Bcl-xL抑制剂；

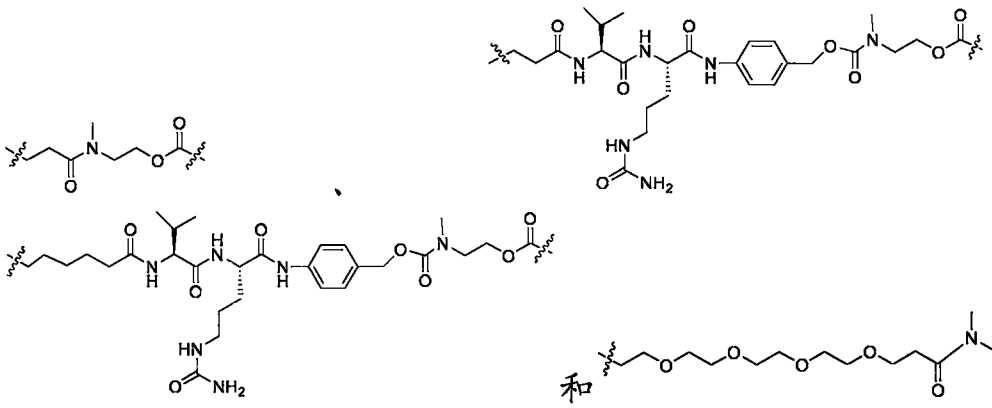
[2075] 并且每个切割元件(C_E)独立地选自自分解间隔基和易于切割的基团，所述切割选自酸诱导的切割、肽酶诱导的切割、酯酶诱导的切割、糖苷酶诱导的切割、磷酸二酯酶诱导的切割、磷酸酶诱导的切割、蛋白酶诱导的切割、脂肪酶诱导的切割或二硫键切割。

[2076] 在一些实施方案中，L具有选自以下的结构，或L包含选自以下的结构组分：

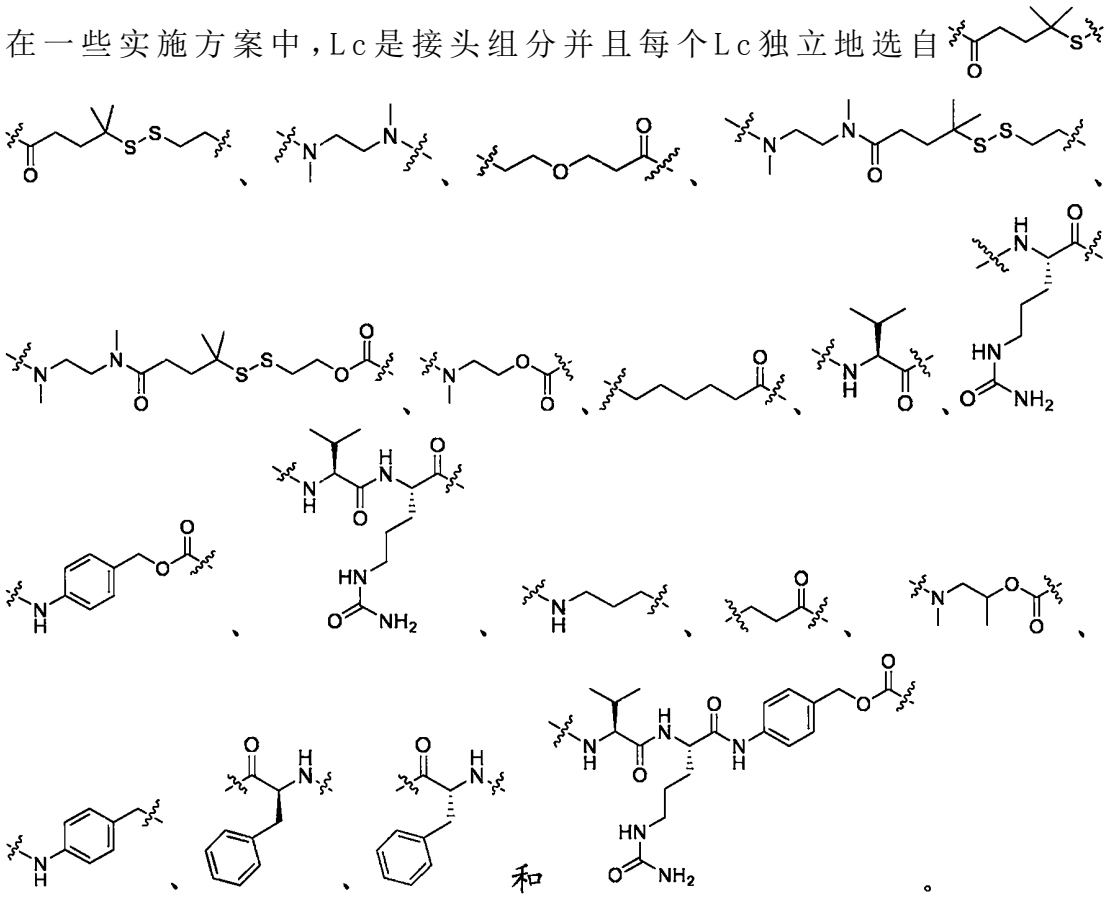




[2077] 在一些实施方案中，Lc是接头组分并且每个Lc独立地选自



[2078] 在一些实施方案中，接头L包含选自以下的接头组分：

[2079] -**C(=O)O(CH$_2$)$_m$NR^{11}C(=O)(CH$_2$)$_m$-；-**C(=O)O(CH$_2$)$_m$NR^{11}C(=O)(CH$_2$)$_m$O(CH$_2$)$_m$-；

[2080] -**C(=O)O(CH$_2$)$_m$NR^{11}C(=O)X$_{1a}$X$_{2a}$C(=O)(CH$_2$)$_m$-；

[2081] -**C(=O)OC(R^{12})$_2$(CH$_2$)$_m$NR^{11}C(=O)X$_{1a}$X$_{2a}$C(=O)(CH$_2$)$_m$-；

[2082] -**C(=O)O(CH$_2$)$_m$NR^{11}C(=O)X$_{1a}$X$_{2a}$C(=O)(CH$_2$)$_m$O(CH$_2$)$_m$-；

[2083] -**C(=O)O(CH$_2$)$_m$NR^{11}C(=O)X$_{1a}$X$_{2a}$C(=O)(CH$_2$)$_m$O(CH$_2$)$_m$C(=O)-；

[2084] -**C(=O)O(CH$_2$)$_m$NR^{11}C(=O)X$_4$C(=O)NR^{11}(CH$_2$)$_m$NR^{11}C(=O)(CH$_2$)$_m$O(CH$_2$)$_m$-；

[2085] -**C(=O)O(CH$_2$)$_m$NR^{11}C(=O)X$_5$C(=O)(CH$_2$)$_m$NR^{11}C(=O)(CH$_2$)$_m$-；

[2086] -**C(=O)X$_4$C(=O)NR^{11}(CH$_2$)$_m$NR^{11}C(=O)(CH$_2$)$_m$O(CH$_2$)$_m$-；

[2087] -**C(=O)(CH$_2$)$_m$NR^{11}C(=O)X$_{1a}$X$_{2a}$C(=O)(CH$_2$)$_m$-；

[2088] -**C(=O)O(CH2)mX6C(=O)X1aX2aC(=O)(CH2)m-;

[2089] -**C(=O)(CH2)mNR11C(=O)((CH2)mO)n(CH2)m-

[2090] -**C(=O)O(CH2)mX6C(=O)(CH2)m-;-**C(=O)O(CH2)mX6C(=O)(CH2)mO(CH2)m-;

[2091] -**C(=O)O(CH2)mX6C(=O)X1aX2aC(=O)(CH2)m-;

[2092] -**C(=O)O(CH2)mX6C(=O)X1aX2aC(=O)(CH2)mO(CH2)m-;

[2093] -**C(=O)O(CH2)mX6C(=O)X1aX2aC(=O)(CH2)mO(CH2)mC(=O)-;

[2094] -**C(=O)O(CH2)mX6C(=O)X4C(=O)NR11(CH2)mNR11C(=O)(CH2)mO(CH2)m-;

[2095] -**C(=O)X4C(=O)X6(CH2)mNR11C(=O)(CH2)mO(CH2)m-;

[2096] -**C(=O)(CH2)mX6C(=O)X1 aX2aC(=O)(CH2)m-;

[2097] -**C(=O)O((CH2)mO)n(CH2)mNR11C(=O)X5C(=O)(CH2)m-;

[2098] -**C(=O)O((CH2)mO)n(CH2)mNR11C(=O)X5C(=O)(CH2)mNR11C(=O)(CH2)m-;

[2099] -**C(=O)O((CH2)mO)n(CH2)mNR11C(=O)X5C(=O)(CH2)mX3(CH2)m-;

[2100] -**C(=O)O((CH2)mO)n(CH2)mNR11C(=O)X5C(=O)((CH2)mO)n(CH2)m-;

[2101] -**C(=O)O((CH2)mO)n(CH2)mNR11C(=O)X5C(=O)((CH2)mO)n(CH2)mNR11C(=O)(CH2)m-;

[2102] -**C(=O)O((CH2)mO)n(CH2)mNR11C(=O)X5C(=O)((CH2)mO)n(CH2)mNR11C(=O)(CH2)mX3(CH2)m-;

[2103] -**C(=O)O((CH2)mO)n(CH2)mNR11C(=O))X5C(=O)((CH2)mO)n(CH2)mX3(CH2)m-;

[2104] -**C(=O)O((CH2)mO)n(CH2)mNR11C(=O)X5C(=O)(CH2)mNR11C(=O)((CH2)mO)n(CH2)m-;

[2105] -**C(=O)O((CH2)mO)n(CH2)mNR11C(=O)X5C(=O)(CH2)mNR11C(=O)((CH2)mO)n(CH2)mX3(CH2)m-;

[2106] -**C(=O)O((CH2)mO)n(CH2)mNR11C(=O)X5(CH2)mX3(CH2)m-;

[2107] -**C(=O)O((CH2)mO)n(CH2)mNR11C(=O)X5((CH2)mO)n(CH2)m-;

[2108] -**C(=O)O((CH2)mO)n(CH2)mNR11C(=O)X5((CH2)mO)n(CH2)mNR11C(=O)(CH2)m-;

[2109] -**C(=O)O((CH2)mO)n(CH2)mNR11C(=O)X5((CH2)mO)n(CH2)mNR11C(=O)(CH2)mX3(CH2)m-;

[2110] -**C(=O)O((CH2)mO)n(CH2)mNR11C(=O)X5((CH2)mO)n(CH2)mX3(CH2)m-;

[2111] -**C(=O)O((CH2)mO)n(CH2)mNR11C(=O)X5(CH2)mNR11((CH2)mO)n(CH2)m-;

[2112] -**C(=O)O((CH2)mO)n(CH2)mNR11C(=O)X5C(=O)(CH2)mNR11((CH2)mO)n(CH2)mX3(CH2)m-;

[2113] -**C(=O)O((CH2)mO)n(CH2)mNR11C(=O)X5(CH2)m-;

[2114] -**C(=O)O((CH2)mO)n(CH2)mNR11C(=O)X5C(=O)((CH2)mC)n(CH2)m-;

[2115] -**C(=O)O((CH2)mO)n(CH2)mNR11C(=O)X5(CH2)mX3(CH2)m-;-**C(=O)O(CH2)m-;

[2116] -**C(=O)O((CH2)mO)n(CH2)m-;-**C(=O)O(CH2)mNR11(CH2)m-;

[2117] -**C(=O)O(CH2)mNR11(CH2)mC(=O)X2aX1aC(=O)-;

[2118] -**C(=O)O(CH2)mX3(CH2)m-;-**C(=O)O((CH2)mO)n(CH2)mX3(CH2)m-;

[2119] -**C(=O)O((CH2)mO)n(CH2)mNR11C(=O)(CH2)m-;-**C(=O)O(CH2)mNR11C(=O(CH2)mX3(CH2)m-;

[2120] -**C(=O)O((CH$_2$)$_m$O)$_n$(CH$_2$)$_m$NR^{11}C(=O)(CH$_2$)$_m$X$_3$(CH$_2$)$_m$-;

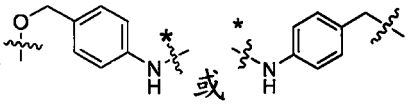
[2121] -**C(=O)O((CH$_2$)$_m$O)$_n$X$_3$(CH$_2$)$_m$-;-**C(=O)O((CH$_2$)$_m$O)$_n$(CH$_2$)$_m$X$_3$(CH$_2$)$_m$-;

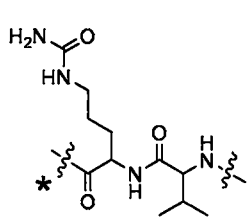
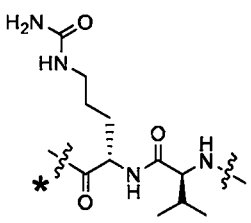
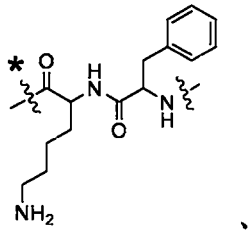
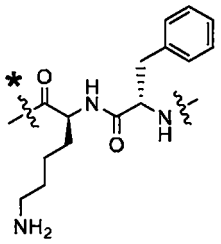
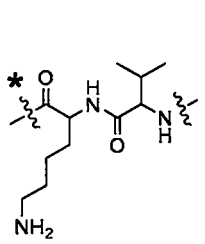
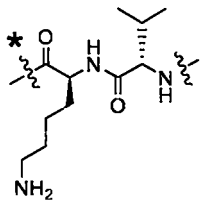
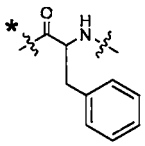
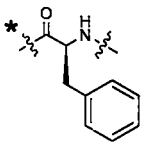
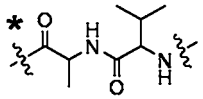
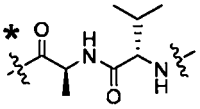
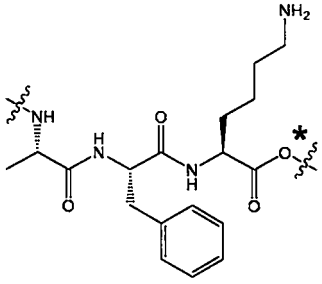
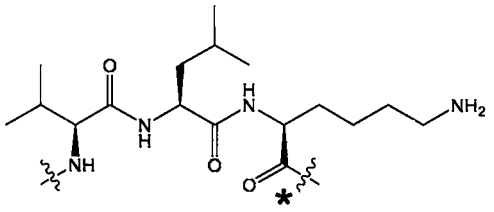
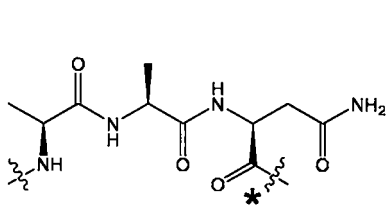
[2122] -**C(=O)O((CH$_2$)$_m$O)$_n$(CH$_2$)$_m$C(=O)NR^{11}(CH$_2$)$_m$-;-**C(=O)O(CH$_2$)$_m$C(R^{12})$_2$-;

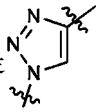
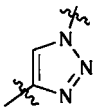
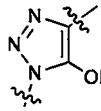
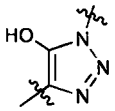
[2123] -**C(=O)OCH$_2$)$_m$C(R^{12})$_2$SS(CH$_2$)$_m$NR^{11}C(=O)(CH$_2$)$_m$-、和

[2124] -**C(=O)O(CH$_2$)$_m$C(=O)NR^{11}(CH$_2$)$_m$-、where:**表示与药物部分(D)的附接点,另一端可连接至R^{100},即本文所述的偶联基团;

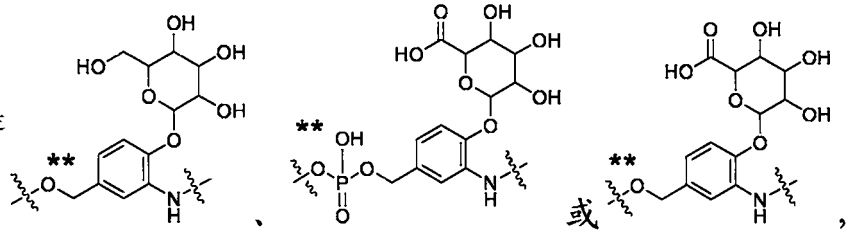
[2125] 其中:

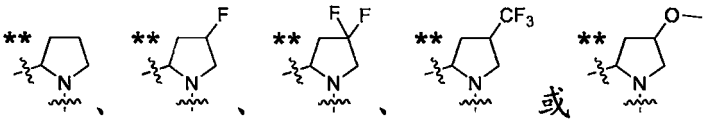
[2126] X$_{1a}$是或,其中*表示与X$_{2a}$的附接点;

[2127] X$_{2a}$选自、、、、、、、、、、、和;其中*表示至X$_{1a}$的附着点;

[2128] X$_3$是、、或;

[2129] X$_4$是-O(CH$_2$)$_n$SSC(R^{12})$_2$(CH$_2$)$_n$-或-(CH$_2$)$_n$C(R^{12})$_2$SS(CH$_2$)$_n$O-;

[2130] X_5是  其中**指示朝向药物部分的方向；

[2131] X_6是  其中**指示朝向药物部分的方向；

[2132] 每个R^{11}独立地选自H和C_1-C_6烷基；

[2133] 每个R^{12}独立地选自H和C_1-C_6烷基；

[2134] 每个m独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10，并且

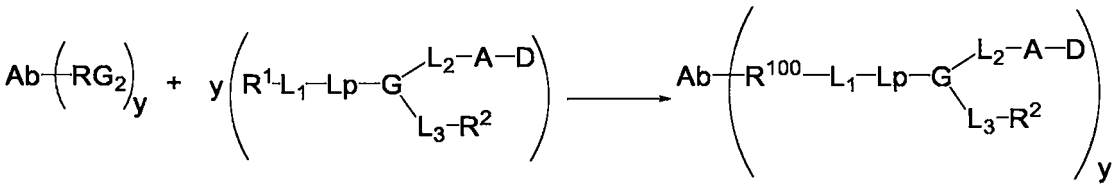
[2135] 每个n独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17和18。

[2136] 缀合方法

[2137] 本发明提供了将本发明的接头-药物基团与抗体或抗体片段缀合以产生抗体药物缀合物的多种方法，所述抗体药物缀合物包含具有一个或多个亲水部分的接头。

[2138] 形成式(E')的抗体药物缀合物的一般反应方案如以下方案2所示：

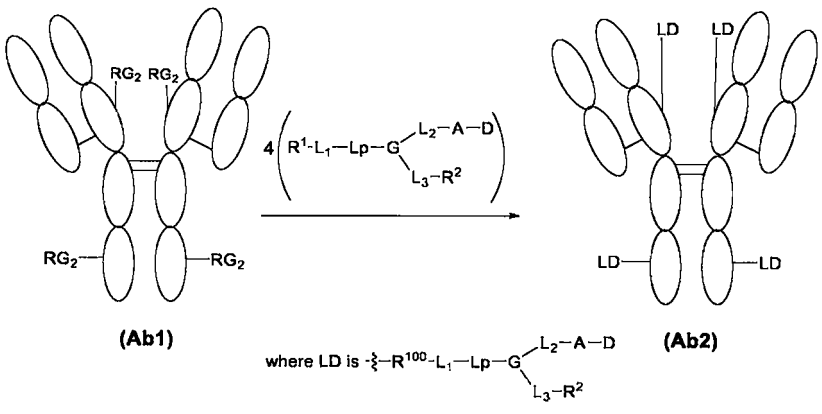
[2139] 方案2

[2140] 

[2141] 其中：RG_2是与相容的R^1基团反应形成相应的R^{100}基团(此类基团在表8和表9中说明)的反应性基团。D、R^1、L_1、Lp、L_2、L_3、R^2、A、G、Ab、y和R^{100}如本文所定义。

[2142] 方案3进一步说明了用于形成式(E')的抗体药物缀合物的一般方法，其中抗体包含与R^1基团(如本文定义)反应的反应性基团(RG_2)以将接头-药物基团经由R^{100}基团(如本文定义)共价附接至抗体。仅出于说明目的，方案3显示了具有四个RG_2基团的抗体。

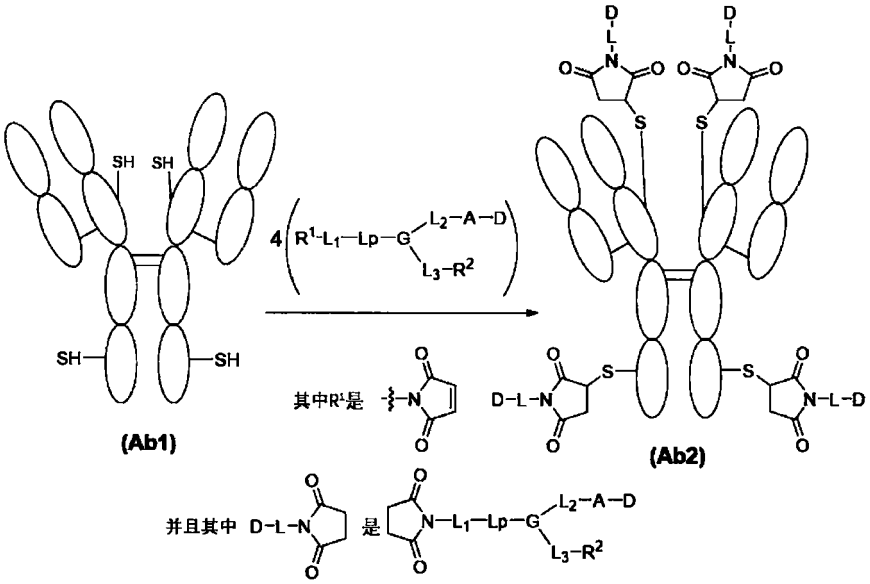
[2143] 方案3

[2144] 

[2145] 一方面，接头-药物基团通过抗体中经修饰的半胱氨酸残基与抗体缀合(参见例如

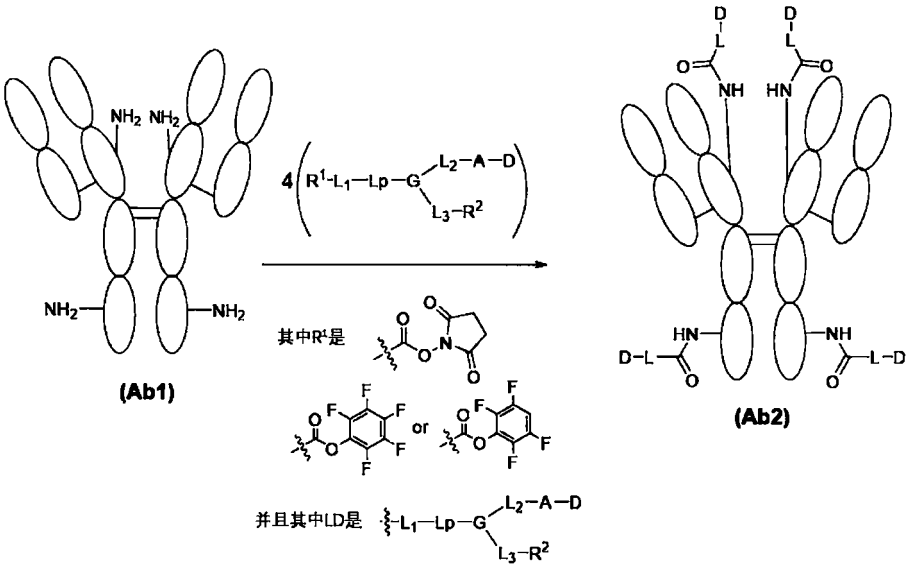
WO2014/124316)。方案4说明了用于形成式(E')的抗体药物缀合物的这种方法,其中由抗体中的工程改造半胱氨酸残基产生的游离硫醇基团与R^1基团(其中R^1是马来酰亚胺)反应,通过R^{100}基团(其中R^{100}是琥珀酰亚胺环)将接头药物基团共价附接至抗体。仅出于说明目的,方案4显示了具有四个游离硫醇基团的抗体。

[2146] 方案4

[2147] 

[2148] 另一方面,接头-药物基团通过抗体中的赖氨酸残基与抗体缀合。方案5说明了用于形成式(E')的抗体药物缀合物的这种方法,其中来自抗体中赖氨酸残基的游离胺基团与R^1基团(其中R^1是NHS酯、五氟苯基或四氟苯基)反应,以通过R^{100}基团(其中R^{100}是酰胺)将接头-药物基团共价附接至抗体。仅出于说明目的,方案5显示了具有四个胺基团的抗体。

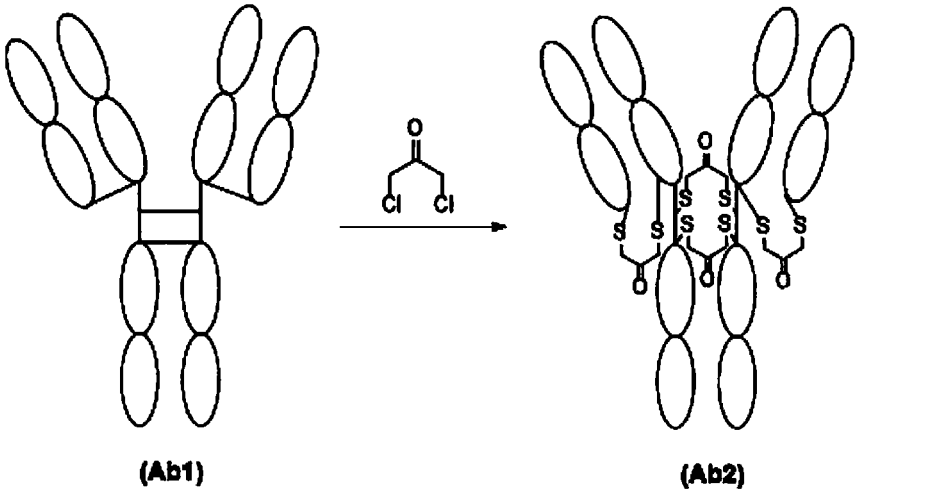
[2149] 方案5

[2150] 

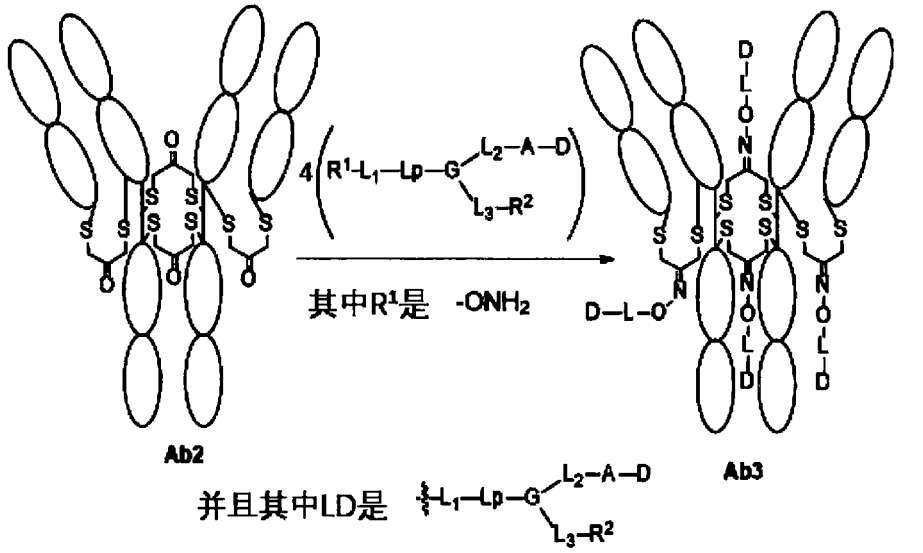
[2151] 在另一个方面,接头-药物基团通过在抗体的天然存在的二硫桥处形成肟桥而与抗体缀合。肟桥是通过还原抗体的链间二硫键最初产生酮桥并使用1,3-二卤代丙酮(例如1,3-二氯丙酮)重新桥连而形成的。随后与包含羟胺的接头-药物基团反应,从而形成肟连接(肟桥),其将接头-药物基团附接至抗体(参见例如WO2014/083505)。方案6说明了形成式

(E')的抗体药物缀合物的这种方法。

[2152] 方案6

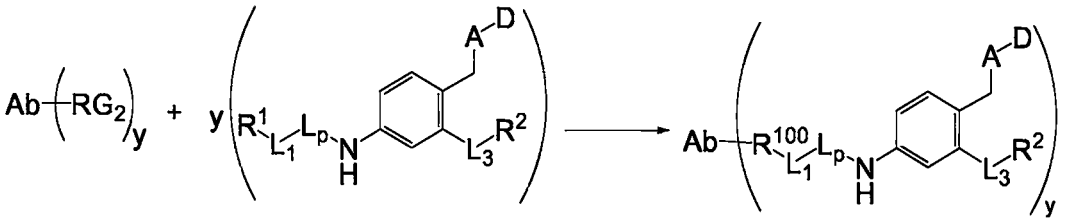


[2153]



[2154] 形成式(F')的抗体药物缀合物的一般反应方案如以下方案7所示：

[2155] 方案7

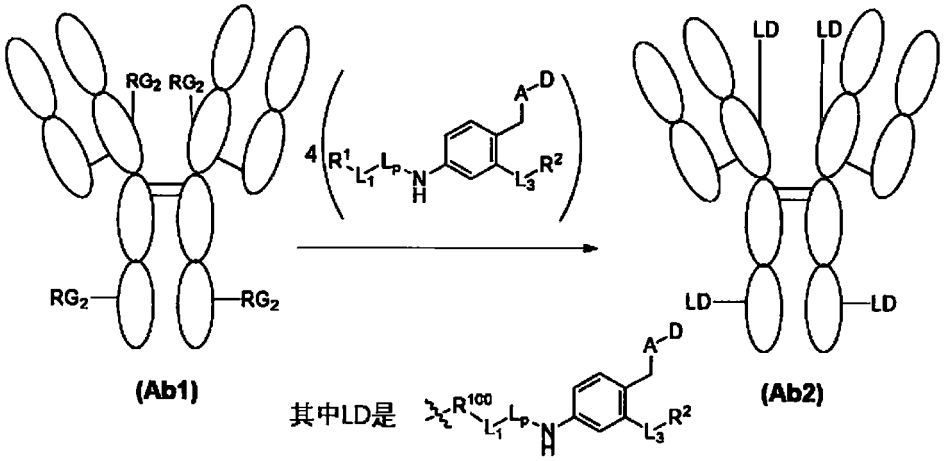
[2156] 

[2157] 其中：RG_2是与相容的R^1基团反应形成相应的R^{100}基团(此类基团在表8和表9中说明)的反应性基团。D、R^1、L_1、Lp、Ab、y和R^{100}如本文所定义。

[2158] 方案8进一步说明了用于形成式(F')的抗体药物缀合物的一般方法，其中抗体包含与R^1基团(如本文定义)反应的反应性基团(RG_2)以将接头-药物基团经由R^{100}基团(如本文定义)共价附接至抗体。仅出于说明目的，方案8显示了具有四个RG_2基团的抗体。

[2159] 方案8

[2160]

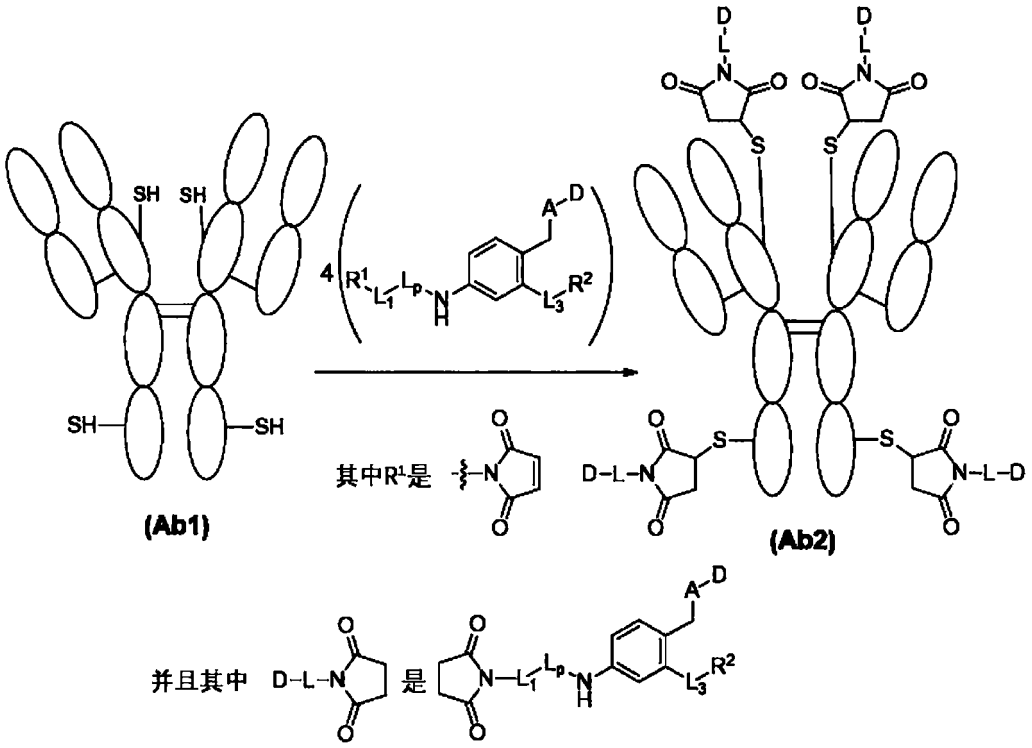


。

[2161] 一方面，接头-药物基团通过抗体中经修饰的半胱氨酸残基与抗体缀合(参见例如WO2014/124316)。方案9说明了用于形成式(F')的抗体药物缀合物的这种方法，其中由抗体中的工程改造半胱氨酸残基产生的游离硫醇基团与R^1基团(其中R^1是马来酰亚胺)反应，通过R^{100}基团(其中R^{100}是琥珀酰亚胺环)将接头药物基团共价附接至抗体。仅出于说明目的，方案9显示了具有四个游离硫醇基团的抗体。

[2162] 方案9

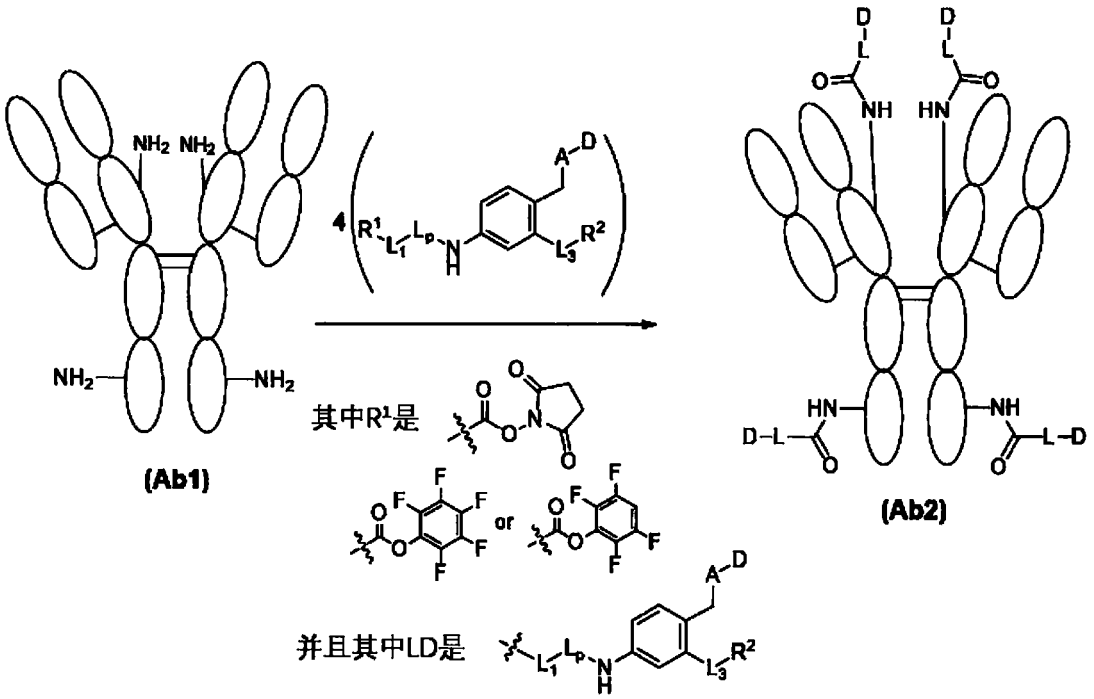
[2163]



[2164] 另一方面，接头-药物基团通过抗体中的赖氨酸残基与抗体缀合。方案10说明了用于形成式(F')的抗体药物缀合物的这种方法，其中来自抗体中赖氨酸残基的游离胺基团与R^1基团(其中R^1是NHS酯、五氟苯基或四氟苯基)反应，以通过R^{100}基团(其中R^{100}是酰胺)将接头-药物基团共价附接至抗体。仅出于说明目的，方案10显示了具有四个胺基团的抗体。

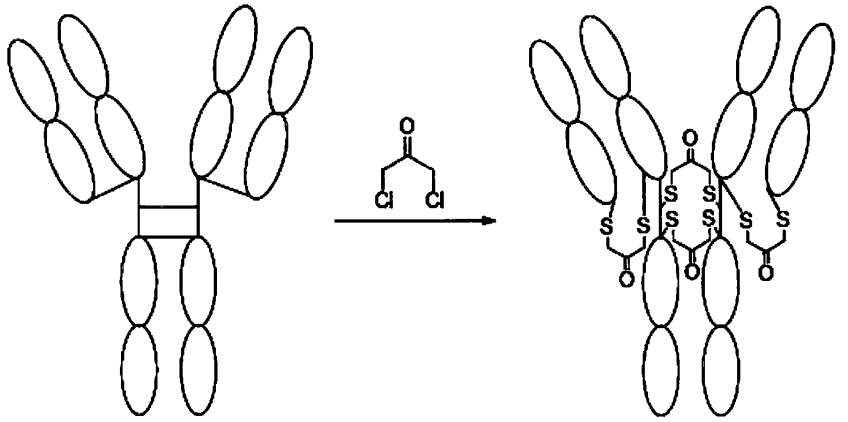
[2165] 方案10

[2166]



[2167] 在另一个方面，接头-药物基团通过在抗体的天然存在的二硫桥处形成肼桥而与抗体缀合。肼桥是通过还原抗体的链间二硫键最初产生酮桥并使用1,3-二卤代丙酮(例如1,3-二氯丙酮)重新桥连而形成的。随后与包含羟胺的接头-药物基团反应，从而形成肟连接(肟桥)，其将接头-药物基团附接至抗体(参见例如WO2014/083505)。方案11说明了形成式(F')的抗体药物缀合物的这种方法。

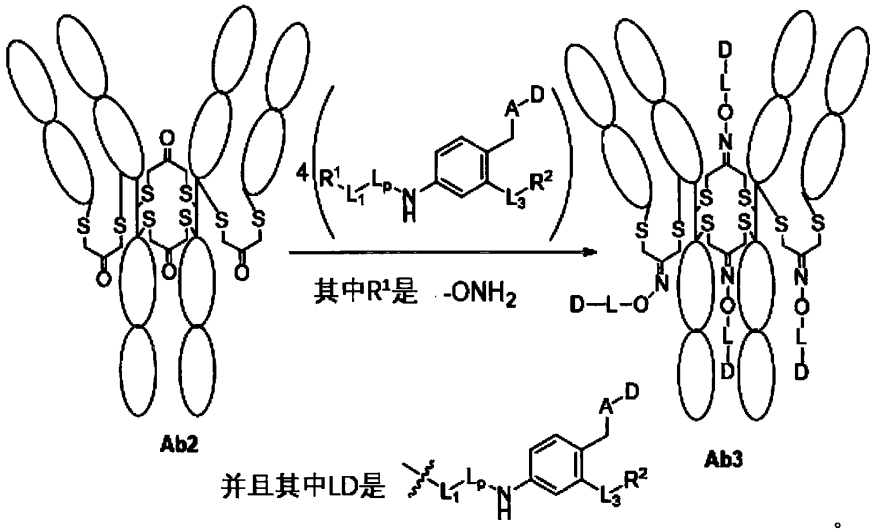
[2168] 方案11



(Ab1) (Ab2)

(4 链间二硫键修饰 (Ab1))

[2169]



[2170] 还提供了用于评估本发明抗体缀合物的分析方法学的某些方面的方案。此类分析方法和结果可以证明缀合物具有有利的性质,例如使它们更容易制造、更容易施用于患者、对患者更有效和/或可能更安全的性质。一个实例是通过尺寸排阻色谱法(SEC)测定分子大小,其中相对于样品中存在的高分子量污染物(例如二聚体、多聚体或聚集抗体)或低分子量污染物(例如抗体片段、降解产物或单个抗体链)的量来测定样品中所需抗体种类的量。一般而言,由于例如聚集物对抗体样品的其他性质的影响,例如但不限于清除率、免疫原性和毒性,所以期望具有较高量的单体和较低量的例如聚集的抗体。另一个实例是通过疏水相互作用色谱(HIC)测定疏水性,其中相对于一组已知特性的标准抗体评估样品的疏水性。一般而言,由于疏水性对抗体样品的其他性质的影响,例如但不限于聚集、随时间的聚集、对表面的粘附、肝毒性、清除率和药代动力学暴露,所以希望具有低疏水性。参见Damle,N.K.,Nat Biotechnol.2008;26(8):884-885;Singh,S.K.,Pharm Res.2015;32(11):3541-71。当通过疏水相互作用色谱法测量时,较高的疏水性指数得分(即,从HIC柱洗脱更快)反映缀合物的较低疏水性。如下文实施例所示,大多数测试的抗体缀合物显示出大于0.8的疏水性指数。在一些实施方案中,提供了如通过疏水相互作用色谱法所测得的,具有0.8或更高疏水性指数的抗体缀合物。

[2171] 实施例

[2172] 以下实施方案提供了本公开的说明性实施方案。本领域普通技术人员将认识到可以在不改变本公开的精神或范围的情况下执行多种修改和变化。这样的修改和变化包含在本公开的范围内。所提供的实施例不以任何方式限制本公开。

[2173] 实施例1.Bcl-xL负载的合成和表征

[2174] 使用本实施例中描述的示例性方法合成示例性负载。所有从商业来源获得的试剂均无需进一步纯化即可使用。无水溶剂从商业来源获得并且无需进一步干燥即可使用。

[2175] 柱色谱法:使用以下在ISCO**CombiFlash®Rf**200或**CombiFlash®Rf**+Lumen™上进行自动快速柱色谱分析:**RediSep®**Rf正相硅胶柱(35-70μm,**60 Å**)、RediSep Rf**Gold®**正相硅胶高性能色谱柱(20-40μm,**60 Å**)、**RediSep®**Rf反相C18色谱柱(40-63μm,**60 Å**)或RediSep Rf**Gold®**反相C18高性能色谱柱(20-40μm,**100 Å**)。

[2176] 薄层色谱(TLC):使用涂有Merck Type 60 F_{254}硅胶的5x10cm板进行薄层色谱分析。

[2177] 微波反应:使用CEM**Discover®SP**或Anton Paar单波微波反应器进行微波加热。

[2178] NMR:^{1}H-NMR测量是在Bruker Avance III 500MHz光谱仪、Bruker Avance III 400MHz光谱仪或Bruker DPX-400光谱仪上使用DMSO-d6或$CDCl_3$作为溶剂进行的。^{1}H NMR数据采用delta值的形式,以百万分率(ppm)为单位,使用溶剂的残留峰(对于DMSO-d6为2.50ppm,对于$CDCl_3$为7.26ppm)作为内标。分裂模式指定为:s(单峰)、d(双峰)、t(三重峰)、q(四重峰)、quint(五重峰)、sept(七重峰)、m(多重峰)、brs(宽单峰)、dd(双二重峰)、td(三二重峰)、dt(双三重峰)、ddd(双双二重峰)。

[2179] LC-MS分析:本发明的某些化合物通过在配备Agilent 6140四极杆LC/MS的Agilent HP1200上以正离子或负离子电喷雾电离模式操作的高效液相色谱-质谱法(HPLC-MS)来表征。分子量扫描范围为100至1350。在210nm和254nm处进行平行UV检测。样品以ACN溶液或THF/H_2O(1:1)中的1mM溶液形式提供,采用5L定量环进样。LCMS分析在两台仪器上进行,其中一台使用碱性洗脱液,另一台使用酸性洗脱液。

[2180] 碱性LCMS:Gemini-NX,3μm,C18,50mm×3.00mm内径,在23℃,以1mL min-1的流速,使用5mM碳酸氢铵(溶剂A)和乙腈(溶剂B),梯度从100%溶剂A开始,到100%溶剂B结束,经过各种/一定的持续时间。

[2181] 酸性LCMS:KINATEX XB-C18-100A,2.6μm,50mm*2.1mm色谱柱,40℃,流速1mL min-1,使用0.02%v/v甲酸水溶液(溶剂A)和0.02%v/v甲酸的乙腈溶液(溶剂B),梯度从100%溶剂A开始,到100%溶剂B结束,持续不同/一定的时间。

[2182] 本发明的某些其他化合物通过如下具体命名的方法进行HPLC-MS表征。对于所有这些方法,UV检测均通过二极管阵列检测器在230、254和270nm处进行。样品注射量为1μL。使用HPLC级溶剂,通过定义以下流动相的流速和百分比混合物来进行梯度洗脱:

[2183] 溶剂A:10mM甲酸铵水溶液+0.04%(v/v)甲酸

[2184] 溶剂B:乙腈+5.3%(v/v)溶剂A+0.04%(v/v)甲酸。

[2185] 这些命名方法的保留时间(RT)以分钟为单位报告。电离以正模式、负模式或正负切换模式记录。各个方法的具体细节如下。

[2186] LCMS-V-B方法:使用连接到配有ESI-APCI多模式源的Agilent MSD 6140单四极杆的Agilent 1200SL系列仪器(方法LCMS-V-B1和LCMS-V-B2)或使用连接到配有电喷雾离子

源的Agilent TOF 6230的Agilent 1290 Infinity II系列仪器(方法LCMS-V-B1);柱:Thermo Accucore 2.6μm,C18,50mm x 2.1mm,55℃。LCMS-V-B1和LCMS-V-B2方法的梯度详细信息如下表所示:

[2187]

时间(分钟)	LCMS-V-B1		LCMS-V-B2		流量(mL/min)
	溶剂A(%)	溶剂B(%)	溶剂A(%)	溶剂B(%)	
0	95	5	60	40	1.1
0.12	95	5	60	40	1.3
1.30	5	95	2	98	1.3
1.35	5	95	2	98	1.6
1.85	5	95	2	98	1.6
1.90	5	95	2	98	1.3
1.95	95	5	95	5	1.3

[2188] LCMS-V-C方法:使用连接到带有ESI-APCI多模式源的Agilent MSD 6140单四极杆的Agilent 1200 SL系列仪器;柱:Agilent Zorbax Eclipse plus 3.5μm,C18(2),30mm x 2.1mm at 35℃。LCMS-V-C方法的梯度详细信息如下表所示:

[2189]

时间(分钟)	溶剂A(%)	溶剂B(%)	流量(mL/min)
0	95	5	1
0.25	95	5	1
2.50	95	5	1
2.55	5	95	1.7
3.60	5	95	1.7
3.65	5	95	1
3.70	95	5	1
3.75	95	5	1

[2190]

[2191] 制备型HPLC:本发明的某些化合物通过以下来纯化:高效液相色谱(HPLC),在Armen Spot液相色谱或TeledyneEZ系统上,用Gemini-NX®10μM C18,250mm×50mm内径色谱柱以118mL min-1的流速运行,采用UV二极管阵列检测(210-400nm),使用25mM NH_4HCO_3水溶液和MeCN或0.1%TFA水溶液和MeCN作为洗脱液。

[2192] 本发明的某些其他化合物按照如下具体命名的方法通过HPLC纯化:

[2193] HPLC-V-A方法:这些分析是在Waters FractionLynx MS自动纯化系统上进行的,配有Gemini®5 μmC18(2)、100mm×20mm内径Phenomenex色谱柱,以20cm^3min^{-1}的流速运行,

具有UV二极管阵列检测(210-400nm)和质量定向收集。质谱仪是Waters Micromass ZQ2000质谱仪,以正离子或负离子电喷雾电离模式运行,分子量扫描范围为150至1000。

[2194] 方法HPLC-V-A1(pH4):溶剂A:10mM醋酸铵水溶液+0.08%(v/v)甲酸;溶剂B:乙腈+5%(v/v)溶剂A+0.08%(v/v)甲酸

[2195] 方法HPLC-V-A2(pH 9):溶剂A:10mM醋酸铵水溶液+0.08%(v/v)浓氨;溶剂B:乙腈+5%(v/v)溶剂A+0.08%(v/v)浓氨

[2196] HPLC-V-B方法:在AccQPrep HP125(Teledyne ISCO)系统上进行,配备Gemini®NX 5μm C18(2)、150mm×21.2mm内径Phenomenex色谱柱,以20cm^3min^{-1}的流速运行,并使用UV(214和254nm)和ELS检测。

[2197] 方法HPLC-V-B1(pH 4):溶剂A:水+0.08%(v/v)甲酸;溶剂B:乙腈+0.08%(v/v)甲酸。

[2198] 方法HPLC-V-B2(pH 9):溶剂A:水+0.08%(v/v)浓氨;溶剂B:乙腈+0.08%(v/v)浓氨。

[2199] 方法HPLC-V-B3(中性):溶剂A:水;溶剂B:乙腈。

[2200] GC-MS分析:气相色谱-低分辨率质谱联用(GC-MS)在Agilent 6850气相色谱仪和Agilent 5975C质谱仪上进行,使用具有0.25μm HP-5MS涂层的15m×0.25mm色谱柱,以氦气作为载气。离子源:EI+,70eV,230℃,四极杆:150℃,接口:300℃。

[2201] 高分辨率MS:高分辨率质谱在配备喷射流电喷雾离子源的Agilent 6230飞行时间质谱仪上以正离子模式采集。使用Agilent 1290 Infinity HPLC系统,以1.5ml/min的流速(5mM甲酸铵水溶液和乙腈梯度程序)将0.5μl注入质谱仪。喷射流参数:干燥气体(N2)流量和温度:分别为8.0l/min和325℃;雾化器气体(N2)压力:30psi;毛细管电压:3000V;鞘气流量和温度:325 ℃和10.0l/min;TOFMS参数:碎裂电压:100V;撇渣器电势(skimmer potential):60V;OCT 1RF Vpp:750V。在m/z范围105-1700内以995.6ms/谱的采集速率采集全扫描质谱,并通过Agilent MassHunter B.04.00软件进行处理。

[2202] 化学命名:IUPAC首选名称是使用MarvinSketch或JChem for Excel(JChem版本16.6.13-18.22.3)中的ChemAxon的"结构到名称"(s2n)功能生成的,或者使用Biovia® Draw 4.2提供的化学命名功能。

[2203] 缩写

[2204] Ahx 6-己酸单体

[2205] Boc 叔丁氧基羰基

[2206] Boc_2O 二碳酸二叔丁酯

[2207] AgOTf 三氟甲磺酸银

[2208] ^tBuOH 叔丁醇

[2209] cc.或conc. 浓缩的

[2210] CyOH 环己醇

[2211] dba (1E,4E)-1,5-二苯基戊-1,4-二烯-3-酮,二亚苄基丙酮

[2212] DCM 二氯甲烷

[2213] DEA 二乙醇胺

[2214] DIAD 二异丙基偶氮二甲酸酯

[2215] DIBAL-H 二异丁基氢化铝

[2216] DIPA N-异丙基丙-2-胺,二异丙胺

[2217] DIPEA N-乙基-N-异丙基-丙-2-胺,二异丙基乙胺

[2218] DMAP 4-二甲氨基吡啶

[2219] ee. 对映体过量

[2220] eq. 当量

[2221] EtO_2 二乙醚

[2222] EtOAc 乙酸乙酯

[2223] HF×Pyr 氟化氢吡啶

[2224] hs 智人

[2225] LDA 二异丙基酰胺锂

[2226] MeCN 乙腈

[2227] MeOH 甲醇

[2228] MTBE 甲基叔丁基醚

[2229] NMP N-甲基-2-吡咯烷酮

[2230] $Pd(AtaPhos)_2Cl_2$ 双(二叔丁基(4-二甲氨基苯基)膦)二氯化钯(II)

[2231] PPh_3 三苯基膦

[2232] rt 室温

[2233] RT 保留时间(分钟)

[2234] on 过夜

[2235] Pd\C 钯碳

[2236] TBAF 四丁基氟化铵

[2237] TBAOH 四丁基氢氧化铵

[2238] TBDPS-Cl 叔丁基氯二苯基硅烷

[2239] TBSCl 叔丁基氯二甲基硅烷

[2240] TEA N,N-二乙基乙胺

[2241] TFA 2,2,2-三氟乙酸

[2242] pTSA 4-甲基苯磺酸

[2243] THF 四氢呋喃

[2244] TIPSCl 氯(三异丙基)硅烷

[2245] TMP-MgCl 2,2,6,6-四甲基哌啶氯化镁氯化锂络合物溶液

[2246] DIAD 二异丙基偶氮二甲酸酯

[2247] Xantphos 4,5-双(二苯基膦基)-9,9-二甲基呫吨

[2248] BrettPhos 2-(二环己基膦)-3,6-二甲氧基-2′,4′,6′-三异丙基-1,1′-联苯

[2249] JosiPhos (2R)-1-[(1R)-1-(二环己基膦基)乙基]-2-(二苯基膦基)二茂铁

[2250] JosiPhos Pd G3 {(R)-1-[(Sp)-2-(二环己基膦基)二茂铁基]乙基二叔丁基膦}[2-(2′-氨基-1,1′-联苯基)]甲磺酸钯(II)

[2251] Xantphos Pd G3 [(4,5-双(二苯基膦基)-9,9-二甲基呫吨)-2-(2’-氨基-1,1’-联苯基)]甲磺酸钯(II)

[2252] BINAP 2,2′-双(二苯基膦基)-1,1′-联萘

[2253] rac-BINAP Pd G3 [(2,2′-双(二苯基膦基)-1,1′-联萘)-2-(2’-氨基-1,1’-联苯基)]甲磺酸钯(II)

[2254] $Pd(dppf)Cl_2.CH_2Cl_2$ [1,1′-双(二苯基膦)二茂铁]二氯化钯(II)

[2255] $Pd_2(dba)_3$ 三(二亚苄基丙酮)二钯(0)

[2256] $Pd(PPh_3)_2Cl_2$ 双(三苯基膦)氯化钯

[2257] $Pd(AtaPhos)_2Cl_2$ 双(二叔丁基(4-二甲氨基苯基)膦)二氯化钯(II)

[2258] 命名的一般程序

[2259] 以下是代表性的实验程序,在随后的准备工作中通过名称引用。

[2260] 菌头(Sonogashira)一般程序

[2261] 将1当量芳基卤化物、2当量乙炔、0.05当量$Pd(PPh_3)_2Cl_2$、0.05当量CuI和DIPA(1mL/mmol)在THF(5mL/mmol)中的混合物保持在60℃。达到适当的转化后,减压除去挥发物,通过快速色谱法使用庚烷/EtOAc作为洗脱剂纯化粗制中间体。

[2262] HFIP脱保护一般程序

[2263] HFIP(10mL/mmol)中的底物在压力瓶中保持在100-120℃。达到适当的转化后,减压除去挥发物,通过快速色谱法使用庚烷/EtOAc作为洗脱剂纯化粗制中间体。

[2264] 脱保护和水解一般程序

[2265] 在60℃下搅拌1当量底物和100当量HFxPyr在MeCN(15mL/mmol)中的混合物。达到适当的转化后,减压除去挥发物,将残余物悬浮在THF-水(30mL/mmol)的1:1混合物中,添加150当量的LiOH x H_2O,并将混合物在室温搅拌。达到适当转化率后,减压除去挥发物;粗产物通过快速色谱法纯化,使用DCM和MeOH(含有1.2%NH3)作为洗脱剂。在一些替代程序中,THF-水1:1的混合物被1,4-二噁烷-水1:1的混合物替代。

[2266] 烷基化一般程序

[2267] 将1当量苯酚/氨基甲酸酯、1-2当量烷基碘/溴化物和2-3当量Cs_2CO_3在丙酮(5mL/mmol)中的混合物对于酚类在室温搅拌,对于氨基甲酸酯类在55℃搅拌。达到适当的转化后,在减压下除去挥发物,通过快速色谱法(例如使用庚烷/EtOAc作为洗脱剂)或反相快速柱色谱法纯化粗制中间体。

[2268] 用甲苯磺酸酯进行烷基化的一般程序

[2269] 在烘干的小瓶中安装PTFE涂覆的磁性搅拌棒,并加入1当量甲苯磺酸酯和5当量悬浮在MeCN(5mL/mmol)中的适当胺。然后将反应混合物温热至50℃并在该温度下搅拌直至观察不到进一步的转化。将反应混合物用DCM稀释,然后将其注射到DCM预调节的硅胶柱上。然后使用DCM和MeOH(1.2%NH3)作为洗脱剂通过快速色谱法纯化。

[2270] Buchwald一般程序I

[2271] 将1当量氯底物、2当量1,3-苯并噻唑-2-胺、0.1当量$Pd_2(dba)_3$、0.2当量XantPhos和3当量DIPEA在CyOH(5mL/mmol)中的混合物保持在140℃。达到合适的转化率后,将反应混合物用DCM(10mL/mmol)稀释,注射至预调节的硅胶柱上并通过快速色谱法纯化(例如使用庚烷/EtOAc作为洗脱剂)。

[2272] Buchwald一般程序II

[2273] 将氯化合物,2当量1,3-苯并噻唑-2-胺、10mol%JosiPhos Pd(G3)和3当量DIPE悬

浮在1,4-二噁烷(5mL/mmol)中的混合物在回流下搅拌直至观察不到进一步的转化。将硅藻土添加到反应混合物中并在减压下除去挥发物。然后将其通过120g硅胶柱上的快速色谱法纯化,使用庚烷-EtOAc或DCM-MeOH(1.2%NH_3)作为洗脱剂。

[2274] Buchwald一般程序III

[2275] 将1当量噻唑胺、1.2-1.5当量(Z)-N-(6-氯-4-甲基-哒嗪-3-基)-3-(2-三甲基甲硅烷基乙氧基甲基)-1,3-苯并噻唑-2-亚胺,3当量Cs_2CO_3、0.1当量$Pd_2(dba)_3$、0.2当量XantPhos和3当量DIPEA在1,4-二噁烷(5mL/mmol)中的混合物保持回流。达到适当的转化率后,减压除去挥发物,通过快速柱色谱法纯化粗制中间体。

[2276] 光信(Mitsunobu)一般程序I

[2277] 向1当量脂肪醇、1当量氨基甲酸酯/苯酚和1当量三苯基膦在甲苯(5mL/mmol)中的混合物中添加1当量偶氮二甲酸二叔丁基酯。对于氨基甲酸酯,将混合物在50℃下搅拌,对于苯酚,将混合物在室温搅拌。达到适当的转化后,减压除去挥发物,通过快速色谱法使用庚烷/EtOAc作为洗脱剂纯化粗制中间体。

[2278] 光信(Mitsunobu)一般程序II

[2279] 向1.0-1.5当量脂肪醇、1当量氨基甲酸酯/苯酚和1-2当量三苯基膦在THF或甲苯(5mL/mmol)中的混合物中一次性添加1-3当量偶氮二甲酸二叔丁酯/偶氮二甲酸二异丙酯。如果需要,对于氨基甲酸酯,将混合物在室温或50℃下搅拌,对于苯酚,将混合物在室温搅拌。达到适当的转化率后,减压除去挥发物,通过快速柱色谱法纯化粗制中间体。

[2280] 季盐脱保护一般程序

[2281] 向适当季盐的THF(5mL/mmol)溶液中添加3当量TBAF,然后将其在室温搅拌直至观察不到进一步的转化。将反应混合物减压蒸发至干燥。向1当量脱甲硅烷基季盐在干MeCN(15mL/mmol)中的悬浮液中,添加100当量HF x Pyr,然后在60℃下搅拌。达到适当的转化后,减压除去挥发物,将残余物悬浮在THF-水(30mL/mmol)的1:1混合物中,添加150当量的LiOH x H_2O,并将混合物在室温搅拌。达到适当转化率后,减压除去挥发物。粗产物通过快速色谱法纯化,使用DCM和MeOH(含有1.2%NH_3)作为洗脱剂。

[2282] 炔丙胺制备一般程序

[2283] 烘干的小瓶配备有PTFE涂层的磁力搅拌棒,装入2当量的PPh3并且添加2当量咪唑,然后添加DCM(5mL/mmol)。向所得混合物分批加入2当量碘,然后在室温搅拌15分钟。向所得混合物中加入溶解在DCM中的1当量合适的醇,并在室温搅拌,直到观察不到进一步的转化。向生成的碘代化合物中加入20当量的适当胺,然后在室温搅拌30分钟,同时观察到完全转化。将硅藻土添加到反应混合物中并在减压下除去挥发物。然后使用DCM和MeOH(1.2%NH_3)作为洗脱剂通过快速色谱法纯化。

[2284] 银催化炔丙胺制备一般程序

[2285] 24ml小瓶配备搅拌棒,并装入1当量2-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-5-[3-(4-乙炔基-2-氟-苯氧基)丙基]噻唑-4-甲酸、20当量多聚甲醛/丙酮和20当量适当的胺在无水乙醇(5ml/mmol)中在20mol%甲苯磺酸银存在下于80℃搅拌直至观察不到进一步的转化。将硅藻土添加到反应混合物中并在减压下除去挥发物。然后使用DCM和MeOH(1.2%NH_3)作为洗脱剂通过快速色谱法纯化。

[2286] 水解一般程序

[2287] 将适当的甲酯悬浮在THF-水(5mL/mmol)1:1混合物中并且添加10当量LiOH x H_2O,并将混合物在50℃搅拌。达到适当转化率后,减压除去挥发物;粗产物通过快速色谱法纯化,使用DCM和MeOH(含有1.2%NH_3)作为洗脱剂。

[2288] 胺取代和水解一般程序I

[2289] 向制备12和13中的产物在乙腈和N-甲基-2-吡咯烷酮(10ml/mmol)的1:1混合物中加入适当的胺(3-10当量),并将反应混合物在50℃搅拌2-24小时。通过柱色谱(硅胶,使用DCM和MeOH作为洗脱剂)纯化取代产物后,将产物溶解在THF(10ml/mmol)和水(2ml/mmol)中并且添加LiOH×H_2O(3-5当量)。然后,将反应混合物在20-40℃搅拌1-4小时。通过制备型HPLC(使用乙腈和5mM NH_4HCO_3水溶液作为洗脱剂)纯化水解产物,得到所需产物。

[2290] 胺取代和水解一般程序II

[2291] 向制备14_01的产物在乙腈和N-甲基-2-吡咯烷酮(10ml/mmol)的1:1混合物中添加适当的胺(3-10eq),并将混合物在50℃搅拌2-24小时。在室温添加70%HF的吡啶溶液(50-100当量)后,将混合物搅拌4-18小时。通过柱色谱(硅胶,使用DCM和MeOH作为洗脱剂)纯化取代产物后,将产物溶解在THF(8ml/mmol)和水(2ml/mmol)中并且添加LiOH×H_2O(5当量),并在20-40℃搅拌1-4小时。通过制备型HPLC(使用乙腈和5mM NH_4HCO_3水溶液作为洗脱剂)纯化水解产物,得到所需产物。

[2292] 胺取代和水解一般程序III

[2293] 向在乙腈(13ml/mmol)中的制备13或制备16的产物中添加适当的胺(3当量)和Na_2CO_3(12当量),并将反应混合物在微波反应器中于120℃搅拌1.5-3小时。添加KOH(3当量)后,将反应混合物在120℃搅拌0.75-1小时。通过制备型HPLC或HILIC色谱法(使用乙腈和5mM NH_4HCO_3水溶液作为洗脱剂)纯化水解产物,得到所需产物。

[2294] 烷基化、脱保护和水解一般程序

[2295] 将叔胺(1当量)和烷基化剂(10当量)在乙腈(3mL/mmol)中的混合物在室温搅拌。达到合适的转化率后,减压除去挥发物,必要时通过反相快速柱色谱纯化,否则将残余物直接溶解于乙腈(3mL/mmol)中,添加HF×Pyr(100当量)并在60℃搅拌混合物。达到适当的转化后,减压除去挥发物,将残余物悬浮在1,4-二噁烷-水(10mL/mmol)的1:1混合物中,添加LiOH×H_2O(150当量)并将混合物在60℃搅拌。在达到所需产物的适当转化后,减压除去挥发物并通过反相快速柱色谱法纯化粗产物。

[2296] 制备1a:甲基2-(叔丁氧基羰基氨基)-5-[3-(2-氟-4-碘-苯氧基)丙基]噻唑-4-甲酸酯

[2297] 步骤A:甲基2-(叔丁氧基羰基氨基)-5-碘-噻唑-4-甲酸酯

[2298] 将50.00g甲基2-(叔丁氧基羰基氨基)噻唑-4-甲酸酯(193.55mmol,1当量)悬浮600mL干MeCN中。添加52.25gN-碘琥珀酰亚胺(232.30mmol)并将所得混合物在室温搅拌过夜。

[2299] 将反应混合物用饱和盐水稀释,然后用EtOAc萃取。将合并的有机层用1M $Na_2S_2O_3$萃取,然后再次用盐水萃取。然后经Na_2SO_4干燥,过滤并在减压下浓缩滤液。使用庚烷作为洗脱剂通过快速色谱纯化粗产物以获得60g所期望产物(156mmol,80%产率)。^1H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δppm12.03/11.06(br s),3.78(s,3H),1.47(s,9H);^{13}C NMR(100MHz,DMSO-d_6)δppm 153.8,82.5,77.7,52.3,28.3;HRMS-ESI(m/z):$[M+H]^+$针对$C_{10}H_{14}IN_2O_4S$的计

算值:384.9713;发现值384.9708.

[2300] 步骤B:甲基2-(叔丁氧基羰基氨基)-5-(3-羟基丙-1-炔基)噻唑-4-甲酸酯

[2301] 经烘箱干燥的500mL单颈圆底烧瓶配备经PTFE涂层的磁力搅拌棒并配备回流冷凝器。将其中装入9.6g来自步骤A的产物(25mmol,1当量)、2.80g丙-2-炔-1-醇(2.91mL,50mmol,2当量)和36.10g DIPA(50mL,356.8mmol,14.27当量),然后添加125mL干THF,并用氩气冲洗该系统。在惰性气氛下搅拌5分钟后,添加549mg $Pd(PPh3)_2Cl_2$(1.25mmol,0.05当量)和238mgCuI(1.25mmol,0.05当量)。然后将所得混合物升温至60℃并在该温度搅拌直至观察不到进一步的转化。将硅藻土添加到反应混合物中并在减压下除去挥发物。然后使用庚烷和EtOAc作为洗脱剂通过快速色谱法将其纯化,得到7.30g所期望产物(23mmol,93%产率),呈黄色固体。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δppm 12.1(br s,1H),5.45(t,1H),4.36(d,2H),3.79(s,3H),1.48(s,9H);^{13}C NMR(100MHz,DMSO-d_6)δppm 12.1(br s,1H),5.45(t,1H),4.36(d,2H),3.79(s,3H),1.48(s,9H);HRMS-ESI(m/z):$[M+H]^+$针对$C_{13}H_{17}N_2O_5S$的计算值:313.0852,发现值313.0866.

[2302] 步骤C:甲基2-(叔丁氧基羰基氨基)-5-(3-羟基丙基)噻唑-4-甲酸酯

[2303] 将配备经PTFE涂层的磁性搅拌棒的经烘箱干燥的1L压力瓶中装入44.75g来自步骤B的产物(143.3mmol,1当量)、7.62Pd/C(7.17mmol,0.05当量)在340mL乙醇中,然后使用氢化系统将其置于氮气气氛下。之后,将其充满4巴H_2气体并在室温搅拌过夜。观察到完全转化,但仅形成烯烃产物。通过硅藻土垫过滤催化剂后,用5mol%新催化剂重复整个过程。将所得混合物搅拌过夜以获得完全转化。将硅藻土添加到反应混合物中并在减压下除去挥发物。然后使用庚烷和EtOAc作为洗脱液通过快速色谱柱纯化,得到31.9g所期望产物(101mmol,70.4%产率),呈浅黄色晶体。^{1}H NMR(500MHz,DMSO-d_6):δppm 11.61(br s,1H),4.54(t,1H),3.76(s,3H),3.43(m,2H),3.09(t,2H),1.74(m,2H),1.46(s,9H);^{13}C NMR(125MHz,DMSO-d_6)δppm 162.8,143.1,135.4,60.3,51.9,34.5,28.3,23.4;HRMS-ESI(m/z):$[M+H]^+$针对$C_{13}H_{21}N_2O_5S$的计算值:317.1165发现值317.1164(M+H).

[2304] 步骤D:甲基2-(叔丁氧基羰基氨基)-5-[3-(2-氟-4-碘-苯氧基)丙基]噻唑-4-甲酸酯

[2305] 将配备经PTFE涂层的磁性搅拌棒的经烘箱干燥的250mL单颈圆底烧瓶中装入3.40g 2-氟代-4-碘代-苯酚(14mmol,1当量)、5.00g来自步骤C的产物(16mmol,1.1当量)和4.10g PPh_3(16mmol,1.1当量)溶解在71mL干甲苯中。在氮气气氛下搅拌5分钟后,将3.10mL DIAD(3.20g,16mmol,1.1当量)一次性加入,同时将反应混合物升温。然后将反应混合物加热至50℃并在该温度下搅拌30分钟,此时反应达到完全转化。将反应混合物直接注射到预调节的硅胶柱上,然后使用庚烷和EtOAc作为洗脱剂通过快速色谱法将其纯化。粗产物从MeOH中结晶以得到4.64g所期望产物(9.24mmol,66%产率)。^{1}H NMR(500MHz,DMSO-d_6)δppm 11.64(br s,1H),7.59(dd,1H),7.45(dd,1H),6.98(t,1H),4.06(t,2H),3.73(s,3H),3.22(t,2H),2.06(m,2H),1.46(s,9H);^{13}C NMR(125MHz,DMSO-d_6)δppm 134,124.9,117.6,68.2,51.9,30.5,28.3,23.2;HRMS-ESI(m/z):$[M+H]^+$针对$C_{19}H_{23}N_2O_5FSI$的计算值:537.0350;发现值537.0348.

[2306] 制备1c:甲基2-(叔丁氧基羰基氨基)-5-[3-[4-[3-(二甲基氨基)丙-1-炔基]-2-氟-苯氧基]丙基]噻唑4-甲酸酯

[2307] 经烘箱干燥的250mL单颈圆底烧瓶配备经PTFE涂层的磁力搅拌棒并配备回流冷凝器。将其中装入5.36g制备1a(10mmol,1当量)、1.66gN,N-二甲基丙-2-炔-1-胺(20mmol,2当量)和20mL DIPA(142.7mmol,14.27当量),然后添加50mL干THF,并用氩气冲洗该系统。在惰性气氛下搅拌5分钟后,添加220mg(0.5mmol,0.05当量)和95CuI(0.5mmol,0.05当量)。然后将所得混合物升温至60℃并在该温度搅拌直至观察不到进一步的转化。将硅藻土添加到反应混合物中并在减压下除去挥发物。然后使用DCM和MeOH(1.2%NH_3)作为洗脱剂通过快速色谱法将其纯化,得到4.5g所期望产物(7.8mmol,78%产率)。^{1}H NMR(500MHz,DMSO-d_6)δppm 11.66(s,1H),7.29(dd,1H),7.19(m,1H),7.12(t,1H),4.09(t,2H),3.73(s,3H),3.44(s,2H),3.23(t,2H),2.24(s,6H),2.07(m,2H),1.45(s,9H);^{13}C NMR(125MHz,DMSO-d_6)δppm 162.8,147.3,129,119.2,115.4,84.3,68,51.9,48.1,44.2,30.6,28.3,23.2;HRMS-ESI(m/z):$[M+H]^+$针对$C_{24}H_{31}FN_3O_5S$的计算值:492.1962;发现值492.1956(M+H).

[2308] 制备2a:3-(3,6-二氯-5-甲基-哒嗪-4-基)丙-1-醇

[2309] 步骤A:[(戊-4-炔-1-基氧基)甲基]苯

[2310] 向烘箱干燥的烧瓶中添加4-戊炔-1-醇(11.1mL,119mmol,1当量)在THF(100mL)中的溶液,并将该溶液冷却至0℃。分批添加氢化钠(60%分散体;7.13g,178mmol,1.5当量),在逐滴添加苄基溴(15.6mL,131mmol,1.1当量)之前,允许混合物在0℃下搅拌30分钟。使混合物升温至环境温度并搅拌16小时,然后冷却至0℃,用饱和氯化铵水溶液(30mL)淬灭并用水(30mL)稀释。将混合物用乙酸乙酯(2x150mL)萃取,将合并的有机萃取物依次用稀氢氧化铵水溶液、氢氧化铵(150mL)和盐水(100mL)洗涤,干燥(硫酸镁)并在真空中浓缩。通过自动快速柱色谱法(CombiFlash Rf,330g RediSep™硅胶柱)纯化,用异-庚烷中的0-10%乙酸乙酯的梯度洗脱,得到呈黄色液体的所期望产物(19.5g,112mmol,94%)。LC/MS($C_{12}H_{14}O$)175$[M+H]^+$;RT 1.28(LCMS-V-B1).^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ7.37-7.32(m,4H),7.31-7.27(m,1H),4.52(s,2H),3.58(t,J=6.1Hz,2H),2.32(td,J=7.1,2.6Hz,2H),1.95(t,J=2.7Hz,1H),1.83(tt,J=7.1,6.2Hz,2H).

[2311] 步骤B:[(己-4-炔-1-基氧基)甲基]苯

[2312] 向烘箱干燥的烧瓶中,添加来自步骤A的产物(19.5g,112mmol,1当量)和四氢呋喃(200mL)并将该溶液冷却至-78℃。经30min逐滴添加n-丁基锂(66.9mL,135mmol,1.2当量)并将该反应物搅拌1h,然后逐滴添加碘甲烷(10.5mL,168mmol,1.5当量)并允许该混合物经1h升温至0℃。将该反应物通过添加饱和氯化铵水溶液(40mL)淬灭,用水(40mL)稀释,用乙酸乙酯(3x100mL)萃取,并且将该合并的有机提取物用2M硫代硫酸钠水溶液(200mL)和盐水(200mL)依次清洗,干燥(硫酸镁)并在真空中浓缩。通过自动快速柱色谱法(CombiFlash Rf,330g RediSep™硅胶柱)纯化,用异-庚烷中的0-10%乙酸乙酯的梯度洗脱,得到呈黄色液体的所期望产物(19.2g,0.1mol,91%)。LC/MS($C_{13}H_{16}O$)189$[M+H]^+$;RT 1.34(LCMS-V-B1).^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ7.41-7.23(m,5H),4.46(s,2H),3.48(t,J=6.3Hz,2H),2.23-2.14(m,2H),1.72(s,3H),1.70-1.65(m,2H).

[2313] 步骤C:4-[3-(苄基氧基)丙基]-3,6-二氯-5-甲基哒嗪

[2314] 将3,6-二氯-1,2,4,5-四嗪(5g,33.1mmol,1当量)和来自步骤B的产物(7.48g,39.8mmol,1.2当量)在四氢呋喃(30mL)中的溶液在密封烧瓶中在160℃加热19h。使反应冷却至环境温度,然后真空浓缩。通过自动快速柱色谱法(CombiFlash Rf,220g RediSep™硅

胶柱)纯化,用异-庚烷中的0-30%乙酸乙酯的梯度洗脱,得到呈橙色油状物的所期望产物(7.32g,23.5mmol,71%)。LC/MS($C_{15}H_{16}Cl_2N_2O$)311[M+H]$^+$;RT 1.35(LCMS-V-B1).^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ7.45-7.18(m,5H),4.48(s,2H),3.53(t,J=5.9Hz,2H),2.96-2.83(m,2H),2.42(s,3H),1.88-1.69(m,2H).

[2315] 步骤D:3-(3,6-二氯-5-甲基哒嗪-4-基)丙-1-醇

[2316] 向来自步骤C的产物(7.32g,23.5mmol,1当量)在二氯甲烷(100mL)中的冷却溶液中逐滴添加三氯化硼溶液(1M,在二氯甲烷中;58.8mL,58.8mmol,2.5当量),并允许该混合物在环境温度搅拌1h。通过添加甲醇将该反应物淬灭并在真空中浓缩。将残余物在二氯甲烷(100mL)和饱和碳酸氢钠水溶液(150mL)之间分配,将有机相用盐水(150mL)洗涤,干燥(硫酸镁)并真空浓缩。通过自动快速柱色谱法(CombiFlash Rf,80g RediSep^{TM}硅胶柱)纯化,用异-庚烷中的0-80%乙酸乙酯的梯度洗脱,得到呈黄色油状物的所期望产物(4.19g,19mmol,81%)。LC/MS($C_8H_{10}Cl_2N_2O$)221[M+H]$^+$;RT 0.84(LCMS-V-B1).^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ4.67(t,J=5.1Hz,1H),3.49(td,J=6.0,5.1Hz,2H),2.91-2.80(m,2H),2.43(s,3H),1.72-1.59(m,2H).

[2317] 制备3a:甲基2-(3-氯-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基)-5-[3-(2-氟-4-碘-苯氧基)丙基]噻唑-4-甲酸酯

[2318] 步骤A:甲基2-{[(叔丁氧基)羰基][3-(3,6-二氯-5-甲基哒嗪-4-基)丙基]氨基}-5-[3-(2-氟-4-碘苯氧基)丙基]-1,3-噻唑-4-甲酸酯

[2319] 使用光信通用程序I,从4.85g制备1a(9.04mmol,1当量)作为合适氨基甲酸酯和2g制备2a(9.04mmol,1当量)作为合适醇开始,获取4.6g期望的产物(69%产率)。^{1}H NMR(500MHz,DMSO-d_6)δppm 7.56(dd,1H),7.44(dm,1H),7.08(m,2H),6.96(t,1H),4.05(t,2H),3.75(s,3H),3.21(t,2H),2.82(m,2H),2.4(s,3H),2.06(m,2H),1.88(m,2H),1.48(s,9H);^{13}C NMR(125MHz,DMSO-d_6)δppm 162.7,157.6,156.7,156.5/153.2,152.2,147,142.1,139.8,134,124.9,117.6,84,82.4,68.1,52.1,46.1,30.4,28.1,27.5,25.8,23.1,16.4;HRMS-ESI(m/z):[M+H]$^+$针对$C_{27}H_{31}Cl_2FIN_4O_5S$的计算值:739.0415,发现值739.0395.

[2320] 步骤B:甲基2-[3-(3,6-二氯-5-甲基-哒嗪-4-基)丙基氨基]-5-[3-(2-氟-4-碘-苯氧基)丙基]噻唑-4-甲酸酯

[2321] 使用HFIPA脱保护通用程序,从来自步骤A的产物作为合适氨基甲酸酯开始,获取3.70g期望的产物(97%产率)。^{1}H NMR(500MHz,DMSO-d_6)δppm 7.71(t,1H),7.59(dd,1H),7.44(dm,1H),6.96(t,1H),4.03(t,2H),3.7(s,3H),3.29(m,2H),3.11(t,2H),2.84(m,2H),2.39(s,3H),2(m,2H),1.76(m,2H);^{13}C NMR(125MHz,DMSO-d_6)δppm 164.6,163,152.3,147.1,134.1,124.8,117.6,82.4,68.1,51.9,44,30.7,28,26.9,23.3,16.4;HRMS-ESI(m/z):[M+H]$^+$针对$C_{22}H_{23}Cl_2FIN_4O_3S$的计算值:638.9891,发现值638.9888.

[2322] 步骤C:甲基2-(3-氯-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基)-5-[3-(2-氟-4-碘苯氧基)丙基]噻唑-4-甲酸酯

[2323] 将3g来自步骤B的产物(4.69mmol,1当量)和1.81g碳酸铯(9.3853mmol,2当量)的悬浮液在80℃在25mL干1,4-二噁烷中搅拌3h至达到完全转化。将反应混合物直接蒸发至硅藻土,然后使用DCM-MeOH作为洗脱剂通过快速色谱法纯化以获得2.67g的标题化合物(94%产率)。^{1}H NMR(500MHz,DMSO-d_6)δppm 7.57(dd,1H),7.43(dm,1H),6.97(t,1H),4.23(t,

2H),4.08(t,2H),3.77(s,3H),3.22(t,2H),2.86(t,2H),2.29(s,3H),2.08(m,2H),2.03(m,2H);^{13}C NMR(125MHz,DMSO-d_6)δppm 163.1,155.4,152.2,151.6,151.2,147,142.5,136,134.8,134,128.9,124.9,117.6,82.3,68.4,51.9,46.3,30.7,24.2,23,19.7,15.7;HRMS-ESI(m/z):[M+H]$^+$针对$C_{22}H_{22}ClFIN_4O_3S$的计算值:603.0124,发现值603.0108.

[2324] 制备3c:2-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-5-[3-(4-乙炔基-2-氟-苯氧基)丙基]噻唑-4-甲酸

[2325] 步骤A:甲基2-(3-氯-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基)-5-[3-[2-氟-4-(2-三甲基甲硅烷乙炔基)苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸酯

[2326] 经烘箱干燥的250mL单颈圆底烧瓶配备经PTFE涂层的磁力搅拌棒并配备回流冷凝器。将其中装入5g制备3a(8.29mmol,1当量)、2.34mL乙炔基(三甲基)硅烷(16.58mmol,2当量)和10mL DIPEA,然后添加40mL干THF,并用氩气冲洗该系统。在惰性气氛下搅拌5分钟后,添加182mg $Pd(PPh_3)_2Cl_2$(0.41mmol,0.05当量)和79mg(0.41mmol,0.05当量)。然后将所得混合物升温至60℃并在该温度下搅拌2小时以达到完全转化。将硅藻土添加到反应混合物中并在减压下除去挥发物。然后使用庚烷-EtOAc作为洗脱剂通过快速色谱法纯化得到4.26g所期望产物(89%产率)。^{1}H NMR(500MHz,DMSO-d_6)δppm 7.31(dd,1H),7.23(dn,1H),7.13(t,1H),4.25(t,2H),4.12(t,2H),3.77(s,3H),3.24(t,2H),2.87(t,2H),2.31(s,3H),2.1(m,2H),2.03(m,2H),0.21(s,9H);^{13}C NMR(125MHz,DMSO-d_6)δppm 163.0,155.3,151.7,151.3,136.1,129.4,129.0,119.4,115.3,104.6,93.7,68.2,51.9,46.3,30.7,24.1,23.0,19.7,15.7,0.4;HRMS-ESI(m/z):针对$C_{27}H_{30}ClFN_4O_3SSi$的[M]+计算值:572.1481,发现值572.1480.

[2327] 步骤B:甲基2-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-5-[3-[2-氟-4-(2-三甲基甲硅烷乙炔基)苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸酯

[2328] 将配备经PTFE涂层的磁性搅拌棒的经烘箱干燥的100mL单颈圆底烧瓶中装入4.25g来自步骤A的产物(7.4mmol,1.0当量)、2.23g 1,3-苯并噻唑-2-胺(14.8mmol,2.0当量)和3.87mL DIPEA(2.87mg,22.2mmol,3.0当量),然后添加40mL环己醇,并用氩气冲洗该系统。在惰性气氛下搅拌5分钟后,添加679mg $Pd_2(dba)_3$(0.74mmol,0.10当量)和858mgXantPhos(1.48mmol,0.20当量)。然后将所得混合物升温至140℃并在该温度下搅拌30分钟以达到完全转化。将反应混合物用DCM稀释并直接注射到预调节的硅胶柱上,然后使用庚烷和EtOAc作为洗脱剂通过快速色谱法将其纯化。合并纯级分并减压浓缩,得到3.90g所期望产物(77%产率)。^{1}H NMR(500MHz,DMSO-d_6)δppm 12.27/10.91(brs,1H),8.1-7.1(brm,4H),7.34(dd,1H),7.24(dm,1H),7.16(t,1H),4.25(t,2H),4.15(t,2H),3.78(s,3H),3.28(t,2H),2.87(t,2H),2.34(s,3H),2.13(m,2H),2.04(m,2H),0.19(s,9H);HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{34}H_{36}FN_6O_3S_2Si$的计算值:687.2038,发现值687.2020.

[2329] 步骤C:2-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-5-[3-(4-乙炔基-2-氟-苯氧基)丙基]噻唑-4-甲酸

[2330] 经烘箱干燥的10mL单颈圆底烧瓶配备经PTFE涂层的磁力搅拌棒并配备回流冷凝器。将其中装入343mg来自步骤B的产物(0.5mmol,1.0当量),该产物溶解在2.5mLTHF/H_2O(4:1)中。然后添加105mgLiOH x H2O(2.50mmol,5.0当量)并将所得混合物加热至60℃并在此温度下搅拌4小时。反应达到完全转化。将硅藻土凝胶添加到反应混合物中并在减压下除去

挥发物。然后使用DCM和MeOH(1.2%NH_3)作为洗脱剂通过快速色谱法纯化,得到200mg标题化合物(66%产率)。^{1}H NMR(500MHz,DMSO-d_6)δppm 7.88(d,1H),7.49(br.,1H),7.37(t,1H),7.36(dd,1H),7.25(dm,1H),7.19(t,1H),7.16(t,1H),4.27(t,2H),4.15(t,2H),4.11(s,1H),3.27(t,2H),2.87(t,2H),2.33(s,3H),2.14(m,2H),2.04(m,2H);^{13}C NMR(125MHz,DMSO-d_6)δppm 164.2,151.5,147.9,129.4,126.5,122.5,122.3,119.5,115.5,114.5,82.9,80.5,68.5,46.2,31.0,23.9,23.1,20.3,12.9;HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{30}H_{26}FN_6O_3S_2$的计算值:601.1486发现值601.1498.

[2331] 制备3d:甲基2-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-5-[3-[2-氟-4-(3-羟基丙-1-炔基)苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸酯

[2332] 步骤A:甲基5-[3-[4-[3-[叔丁基(二甲基)甲硅烷基]氧基丙-1-炔基]-2-氟-苯氧基]丙基]-2-(3-氯-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基)噻唑-4-甲酸酯

[2333] 使用菌头一般程序从4.00g的制备3a(6.63mmol,1.0当量)和2.26g叔丁基-二甲基-丙-2-炔氧基-硅烷(13.27mmol,2当量)作为合适的乙炔开始,得到2.80g所期望产物(65%产率)。^{1}H NMR(500MHz,DMSO-d_6)δppm 7.27(dd,1H),7.19(dd,1H),7.14(t,1H),4.51(s,1H),4.25(m,2H),4.12(t,2H),3.77(s,3H),3.24(t,2H),2.87(t,2H),2.3(s,3H),2.1(quint.,2H),2.03(m,2H),0.88(s,9H),0.12(s,6H);^{13}C NMR(125MHz,DMSO-d_6)δppm 163.0,128.9,119.1,115.5,68.3,52.1,51.9,46.3,30.7,26.2,24.2,23.0,19.7,15.7,-4.6;HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{31}H_{39}ClFN_4O_4SSi$的计算值:645.2128,发现值645.2120.

[2334] 步骤B:甲基2-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-5-[3-[4-[3-[叔丁基(二甲基)甲硅烷基]氧基丙-1-炔基]-2-氟-苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸酯

[2335] 使用Buchwald一般程序II从的2.8g产物(4.34mmol,1.0当量)和1.30g 1,3-苯并噻唑-2-胺(8.67mmol,2.0当量)开始,获得2.1g所期望产物(64%产率)。^{1}H NMR(500MHz,DMSO-d_6)δppm 12.25/10.91(brs 1H),7.88(br,1H),7.51(br,1H),7.37(t,1H),7.29(dd,1H),7.2(t,1H),7.2(dd,1H),7.17(t,1H),4.49(s,2H),4.25(t,2H),4.14(t,2H),3.77(s,3H),3.27(t,2H),2.86(t,2H),2.32(s,3H),2.13(qn,2H),2.04(qn,2H),0.87(s,9H),0.1(s,6H);^{13}C NMR(125MHz,DMSO-d_6)δppm 163.2,155.7,151.6,148.5,147.6,141.5,128.9,127.6,126.5,122.5,122.3,119.1,116.9,115.5,114.8,88.2,84,68.4,52.1,51.9,46.4,31,26.2,24,23.1,20.4,12.9,-4.6;HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{38}H_{44}FN_6O_4S_2Si$的计算值:759.2613,发现值759.2609.

[2336] 步骤C:甲基2-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-5-[3-[2-氟-4-(3-羟基丙-1-炔基)苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸酯

[2337] 经烘箱干燥的100mL单颈圆底烧瓶配备经PTFE涂层的磁力搅拌棒并配备回流冷凝器。将其中装入2.10g来自步骤B的产物(2.76mmol,1.0当量),该产物溶解在15mL THF中。然后经2分钟的时间通过注射器逐滴添加3.32mL TBAF(3.32mmol,1.2当量,1M,在THF中),并在该温度搅拌30min。用饱和NH_4Cl对该反应混合物淬灭,然后直接蒸发至硅藻土,并使用庚烷-EtOAc作为洗脱剂通过快速色谱法将其纯化,得到1.6g期望的产物(90%产率)。^{1}H NMR(500MHz,DMSO-d_6)δppm 11.14(brs,1H),7.83(brd,1H),7.49(brs,1H),7.36(m,1H),7.24(dd,1H),7.19(m,1H),7.18(dm,1H),7.15(t,1H),5.08(t,1H),4.28(m,2H),4.27(d,2H),

4.17(t,2H),3.8(s,3H),3.29(m,2H),2.89(m,2H),2.35(s,3H),2.15(m,2H),2.07(m,2H);HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{32}H_{30}FN_6O_4S_2$的计算值:645.1748发现值645.1738.

[2338] 制备3f:乙基2-{3-[(1,3-苯并噻唑-2-基)氨基]-4-甲基-5H,6H,7H,8H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基}-1,3-噻唑-4-甲酸酯

[2339] 步骤A:乙基2-[(己-4-炔-1-基)氨基]-1,3-噻唑-4-甲酸酯

[2340] 向乙基2-溴代-1,3-噻唑-4-甲酸酯(1.17g,4.97mmol,1当量)在乙腈中的溶液(16mL)中添加己-4-炔-1-胺(725mg,7.46mmol,1.5当量)和三乙胺(1.04mL,7.46mmol,1.5当量)并将该混合物在微波照射下在150℃加热4h。将反应在乙酸乙酯和盐水之间分配,将有机相干燥(硫酸镁)并真空浓缩。通过自动快速柱色谱法(CombiFlash Rf,40g RediSep™硅胶柱)纯化,用异-庚烷中的0-60%乙酸乙酯的梯度洗脱,得到呈米色固体的所期望产物(741mg,2.94mmol,59%)。LC/MS($C_{12}H_{16}N_2O_2S$)253$[M+H]^+$;RT 2.32(LCMS-V-C).

[2341] 步骤B:乙基2-{3-氯-4-甲基-5H,6H,7H,8H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基}-1,3-噻唑-4-甲酸酯

[2342] 向3,6-二氯-1,2,4,5-四嗪(443mg,2.94mmol,1当量)在四氢呋喃(15mL)中的溶液中添加来自步骤A的产物(741mg,2.94mmol,1当量)并将该混合物在密封管中在110℃加热过夜。将反应真空浓缩并将残余物与甲醇一起研磨,过滤并在真空下干燥以提供呈米色固体的所期望产物(607mg,1.79mmol,61%)。LC/MS($C_{14}H_{15}ClN_4O_2S$)339$[M+H]^+$;RT 2.41(LCMS-V-C).^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ8.06(s,1H),4.38-4.25(m,4H),2.92(t,J=6.3Hz,2H),2.34(s,3H),2.14-2.01(m,2H),1.31(t,J=7.1Hz,3H).

[2343] 步骤C:乙基2-{3-[(1,3-苯并噻唑-2-基)氨基]-4-甲基-5H,6H,7H,8H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基}-1,3-噻唑-4-甲酸酯

[2344] 向烘箱干燥的微波小瓶添加来自步骤B的产物(607mg,1.79mmol,1当量)、2-氨基苯并噻唑(404mg,2.69mmol,1.5当量))、XantPhos(207mg,0.36mmol,0.2当量)、碳酸铯(1.17g,3.58mmol,2当量)和1,4-二噁烷(36mL)并将该容器排空并用氮气冲洗,然后添加三(二亚苄基丙酮)二钯(0)(164mg,0.18mmol,0.1当量)并将该混合物用氮气喷淋(10min)然后在150℃在微波照射下加热4小时。将反应用乙酸乙酯稀释并通过硅藻土过滤,然后用盐水洗涤,干燥(硫酸镁)并真空浓缩。通过自动快速柱色谱法(CombiFlash Rf,24g RediSep™硅胶柱)纯化,用异-庚烷中的0-100%乙酸乙酯的梯度洗脱,得到固体,用乙醚研磨,过滤并真空干燥,得到所期望产物,呈黄色固体(329mg,0.73mmol,41%)。LC/MS($C_{21}H_{20}N_6O_2S_2$)453$[M+H]^+$;RT 2.73(LCMS-V-C).^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ7.99(br s+s,2H),7.65(br s,1H),7.43-7.31(m,1H),7.28-7.15(m,1H),4.35-4.25(m,4H),2.96-2.85(m,2H),2.36(s,3H),2.15-2.00(m,2H),1.32(t,J=7.1Hz,3H).

[2345] 制备3g:乙基5-(3-羟基丙基)-2-(4-甲基-3-{[(2Z)-3-{[2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基]甲基}-2,3-二氢-1,3-苯并噻唑-2-亚基]氨基}-5H,6H,7H,8H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基)-1,3-噻唑-4-甲酸酯

[2346] 步骤A:乙基2-(4-甲基-3-{[(2Z)-3-{[2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基]甲基}-2,3-二氢-1,3-苯并噻唑-2-亚基]氨基}-5H,6H,7H,8H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基)-1,3-噻唑-4-甲酸酯

[2347] 向来自制备3f的产物(11.7g,25.8mmol,1当量)在二甲基甲酰胺(700mL)中的溶液

中添加N,N-二异丙基乙基胺(13.5mL,77.4mmol,3当量)。5分钟后,混合物冷却至0℃,加入4-(二甲基氨基)吡啶(630mg,5.16mmol,0.2当量)和2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基甲基氯(13.6mL,77.4mmol,3当量),混合物在环境温度下搅拌过夜。将反应真空浓缩,然后在二氯甲烷和盐水之间分配,将有机相干燥(硫酸镁)并真空浓缩。通过自动快速柱色谱法(CombiFlash Rf,330g RediSep™硅胶柱)纯化,用异-庚烷中的0-40%乙酸乙酯的梯度洗脱,得到呈黄色固体的所期望产物(9.61g,16.5mmol,64%)。LC/MS($C_{27}H_{34}N_6O_3SiS_2$)583[M+H]$^+$;RT 2.90(LCMS-V-C).^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ7.99(s,1H),7.82(dd,J=7.7,1.1Hz,1H),7.49-7.38(m,2H),7.28-7.19(m,1H),5.86(s,2H),4.38-4.23(m,4H),3.77-3.67(m,2H),2.89(t,J=6.2Hz,2H),2.38(s,3H),2.13-2.01(m,2H),1.31(t,J=7.1Hz,3H),0.91(dd,J=8.5,7.4Hz,2H),-0.11(s,9H).

[2348] 步骤B:乙基5-溴-2-(4-甲基-3-{[(2Z)-3-{[2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基]甲基}-2,3-二氢-1,3-苯并噻唑-2-亚基]氨基}-5H,6H,7H,8H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基)-1,3-噻唑-4-甲酸酯

[2349] 向步骤A的产物(9.61g,16.5mmol,1当量)在二氯甲烷中的溶液(400mL)中添加N-溴琥珀酰亚胺(3.52g,19.8mmol,1.2当量)并将该混合物在环境温度搅拌过夜。反应在二氯甲烷和水之间分配,将有机相用盐水洗涤,干燥(PTFE分相器)并真空浓缩。通过自动快速柱色谱法(CombiFlash Rf,220g RediSep™硅胶柱)纯化,用异-庚烷中的0-40%乙酸乙酯的梯度洗脱,得到呈黄色固体的所期望产物(9.66g,14.6mmol,89%)。LC/MS($C_{27}H_{33}BrN_6O_3SiS_2$)663[M+H]$^+$;RT 3.13(LCMS-V-C).^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ7.84(dd,J=7.5,1.1Hz,1H),7.59-7.38(m,2H),7.24(ddd,J=8.3,6.7,1.7Hz,1H),5.85(s,2H),4.37-4.23(m,4H),3.72(dd,J=8.5,7.4Hz,2H),2.87(t,J=6.2Hz,2H),2.38(s,3H),2.13-2.00(m,2H),1.32(t,3H),0.95-0.81(m,2H),-0.12(s,9H).

[2350] 步骤C:乙基5-[(1E)-3-[(叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基]丙-1-烯-1-基]-2-(4-甲基-3-{[(2Z)-3-{[2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基]甲基}-2,3-二氢-1,3-苯并噻唑-2-亚基]氨基}-5H,6H,7H,8H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基)-1,3-噻唑-4-甲酸酯

[2351] 向烘箱干燥的密封烧瓶中添加来自步骤B的产物(9.66g,14.6mmol,1当量)、(E)-3-(叔-丁基二甲基甲硅烷基氧基)丙烯-1-基-硼酸频哪醇酯(5.74mL,17.5mmol,1.2当量)、碳酸钾(6.05g,43.8mmol,3当量)、[1,1'-二(二苯基膦基)二茂铁]二氯化钯(II)(1.19g,1.46mmol,0.1当量)、四氢呋喃(360mL)和水(120mL),并将该混合物用氮气喷淋(10min)然后在120℃加热2h。将反应在乙酸乙酯和水之间分配,将有机层用盐水洗涤,干燥(硫酸镁)并真空浓缩。通过自动快速柱色谱法(CombiFlash Rf,220g RediSep™硅胶柱)纯化,用异-庚烷中的0-30%乙酸乙酯的梯度洗脱,得到呈黄色固体的所期望产物(6.46g,8.58mmol,59%)。LC/MS($C_{36}H_{52}N_6O_4Si_2S_2$)753[M+H]$^+$;RT 1.62(LCMS-V-B2).^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ7.80(dd,J=7.6,1.0Hz,1H),7.51-7.38(m,3H),7.24(ddd,J=8.3,6.8,1.8Hz,1H),6.28(dt,J=16.0,4.3Hz,1H),5.85(s,2H),4.37(dd,J=4.4,2.1Hz,2H),4.35-4.25(m,4H),3.72(dd,J=8.5,7.4Hz,2H),2.88(t,J=6.3Hz,2H),2.37(s,3H),2.09-1.99(m,2H),1.31(t,J=7.1Hz,3H),0.93(s,9H),0.92-0.83(m,2H),0.11((s,6H),-0.11(s,9H).

[2352] 步骤D:乙基5-{3-[(叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基]丙基}-2-(4-甲基-3-{[(2Z)-3-{[2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基]甲基}-2,3-二氢-1,3-苯并噻唑-2-亚基]氨基}-5H,6H,

7H,8H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基)-1,3-噻唑-4-甲酸酯

[2353] 在氮气气氛下向来自步骤C的产物(6.46g,8.58mmol,1当量)在乙酸乙酯中的溶液(300mL)中添加铂(IV)氧化物(390mg,1.72mmol,0.2当量)。将容器抽真空并用氮气回填(x3),然后抽真空,置于氢气气氛下,并在环境温度下振荡3天。将反应物通过硅藻土过滤,用乙酸乙酯洗脱并真空浓缩,得到所期望产物,呈棕色胶状物(6.72g,8.9mmol,>100%)。LC/MS($C_{36}H_{54}N_6O_4Si_2S_2$)755[M+H]$^+$;RT 1.67(LCMS-V-B2).^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ7.76(d,1H),7.48-7.35(m,2H),7.24(ddd,J=8.2,6.5,1.9Hz,1H),5.84(s,2H),4.33-4.22(m,4H),3.76-3.62(m,4H),3.15(t,J=7.5Hz,2H),2.87(t,J=6.4Hz,2H),2.37(s,3H),2.10-1.98(m,3H),1.91-1.79(m,2H),1.31(t,J=7.1Hz,3H),0.95-0.85(m,11H),0.06(s,6H),-0.12(s,9H).

[2354] 步骤E:乙基5-(3-羟基丙基)-2-(4-甲基-3-{[(2Z)-3-{[2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基]甲基}-2,3-二氢-1,3-苯并噻唑-2-亚基]氨基}-5H,6H,7H,8H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基)-1,3-噻唑-4-甲酸酯

[2355] 向来自步骤D的产物(6.72g,8.9mmol,1当量)在1,4-二噁烷(400mL)中的溶液添加盐酸(4M,在二噁烷中;67mL,267mmol,30当量)并将该混合物在环境温度搅拌1h。将该反应物冷却至0℃并用1N氢氧化钠水溶液(300mL)中和,然后在乙酸乙酯和水之间分配,将该有机相干燥(硫酸镁)并在真空中浓缩。通过自动快速柱色谱法(CombiFlash Rf,120g RediSep™硅胶柱)纯化,用异-庚烷中的0-80%乙酸乙酯的梯度洗脱,得到固体,用乙醚研磨,过滤并真空干燥,得到所期望产物,呈白色固体(3.87g,6.04mmol,68%)。LC/MS($C_{30}H_{40}N_6O_4SiS_2$)641[M+H]$^+$;RT 2.80(LCMS-V-C).^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ7.83(dd,J=7.6,1.1Hz,1H),7.48-7.37(m,2H),7.23(ddd,J=8.3,6.7,1.8Hz,1H),5.85(s,2H),4.56(t,J=5.1Hz,1H),4.33-4.22(m,4H),3.72(dd,J=8.6,7.3Hz,2H),3.48(td,J=6.3,5.1Hz,2H),3.17-3.08(m,2H),2.88(t,J=6.4Hz,2H),2.38(s,3H),2.11-1.99(m,2H),1.87-1.75(m,2H),1.31(t,J=7.1Hz,3H),0.96-0.86(m,2H),-0.11(s,9H).

[2356] 制备4c:叔丁基N-[3-(3-氟-4-羟基-苯基)丙-2-炔基]-N-甲基-氨基甲酸酯

[2357] 使用菌头一般程序从10.00g2-氟-4-碘苯酚(42.0mmol,1当量)作为合适的苯酚和10.67g叔-丁基N-甲基-N-丙-2-炔基氨基甲酸酯(63.1mmol,1.5当量)作为炔烃,获得10.8g(92%)的所期望产物。^{1}H NMR(500MHz,DMSO-d_6)δppm 10.32(s,1H),7.22(brd,1H),7.08(dm,1H),6.92(dd,1H),4.21(s,2H),2.85(s,3H),1.41(s,9H);^{13}C NMR(125MHz,DMSO-d_6)δppm 150.8,146.4,129.0,119.6,118.4,113.2,84.4,82.7,38.5,33.8,28.5;HRMS-ESI(m/z):[M-C_4H_8+H]$^+$针对$C_{11}H_{11}FNO_3$的计算值:224.0717,发现值224.0720.

[2358] 制备7:叔丁基-二苯基-[2-[[3,5-二甲基-7-[[5-甲基-4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂环戊硼烷-2-基)吡唑-1-基]甲基]-1-金刚烷基]氧基]乙氧基]硅烷

[2359] 步骤A:3-溴-5,7-二甲基金刚烷-1-甲酸

[2360] 在0℃将铁(6.7g,120mmol)在溴(30.7mL,600mmol,5当量)中搅拌1小时后,添加3,5-二甲基金刚烷-1-甲酸(25g,1当量)并将该反应混合物在室温搅拌2天。添加EtOAc后,将反应混合物在0℃用饱和硫代硫酸钠溶液小心处理并搅拌15分钟。通过硅藻土垫过滤并用EtOAc冲洗后,分离有机相,用饱和硫代硫酸钠溶液和盐水洗涤,干燥,浓缩得到所期望产物(34.28g,74.6%),其无需进一步纯化即可使用。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δppm 12.33

(br.,1H),2.21(s,2H),1.96/1.91(d+d,4H),1.50/1.43(d+d,4H),1.21/1.14(dm+dm,2H),0.86(s,6H);13C NMR(100MHz,DMSO-d_6)δppm 176.8,66.8,54.0,48.7,48.5,45.7,43.3,35.5,29.4;HRMS-ESI(m/z):针对$C_{13}H_{18}BrO_2$:285.0496的[M-H]-计算值:285.0496;发现值285.0498.

[2361] 步骤B:3-溴-5,7-二甲基-1-金刚烷基-甲醇

[2362] 向在THF(77.6mL)中的来自步骤A的产物(34.3g,119mmol)中缓慢添加BH3-THF在THF中的1M溶液(358mL,3当量)并将该反应混合物搅拌18h。添加甲醇并搅拌30min后,通过柱色谱法(硅胶,庚烷和MTBE作为洗脱剂)纯化以得到期望的产物(16.19g,49.6%)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δppm 4.51(t,1H),3.05(d,2H),1.91(s,2H),1.91(s,4H),1.19/1.09(d+d,2H),1.19/1.05(d+d,4H),0.85(s,6H)^{13}C NMR(100MHz,DMSO-d_6)δppm 70.4,68.9,54.9,49.8,49.3,43.8,41.4,35.7,29.7;HRMS-ESI(m/z):针对$C_{13}H_{21}O$的[M-Br]-计算值:193.1598发现值:193.1589.

[2363] 步骤C:1-[3-溴-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]吡唑

[2364] 向在甲苯(178mL)中的来自步骤B的产物(16.19g,59.26mmol)和1H-吡唑(4.841g,1.2当量)中一次性添加氰基亚甲基三丁基磷烷(18.64mL,1.2当量)并将该反应混合物在90℃搅拌2h。通过柱色谱法(硅胶,庚烷和MTBE作为洗脱剂)纯化以得到期望的产物(17.88g,93%)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δppm 7.63(d,1H),7.43(d,1H),6.23(t,1H),3.90(s,2H),1.92-1.02(m,12H),0.83(s,6H);^{13}C NMR(100MHz,DMSO-d_6)δppm 139.0,131.8,105.2,67.7,61.4,54.4/48.8/44.6,50.4,35.7,29.6;HRMS-ESI(m/z):[M]+针对$C_{16}H_{23}BrN_2$的计算值:322.1045发现值:322.1014.

[2365] 步骤D:5-甲基-1-[[-3-溴-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]吡唑

[2366] 在-78℃向来自步骤C的产物(17.88g,55.3mmol)在THF(277mL)中的溶液中添加丁基锂(2.5M,在THF中,66mL,3当量),然后1h后,添加碘甲烷(17.2mL,5当量)。10分钟后,将反应混合物用NH_4Cl饱和溶液淬灭,用EtOAc萃取,将合并的有机层干燥并浓缩,得到所期望产物(18.7g,100%),其无需进一步纯化即可用于下一步。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δppm 7.31(d,1H),6.00(d,1H),3.79(s,2H),2.23(s,3H),2.01(s,2H),1.89/1.85(d+d,4H),1.23/1.15(d+d,4H),1.16/1.05(d+d,2H),0.83(s,6H);^{13}C NMR(100MHz,DMSO-d_6)δppm 139.2,138.0,105.2,67.8,57.8,54.4,50.6,48.8,44.8,41.5,35.7,29.6,11.8;HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{17}H_{26}BrN_2$的计算值:337.1279发现值:337.1289.

[2367] 步骤E:2-[[-3,5-二甲基-7-[(5-甲基吡唑-1-基)甲基]-1-金刚烷基]氧基]乙醇

[2368] 在120℃将来自步骤D的产物(18.7g,55.3mmol)、乙二醇(123mL,40当量)和DIPEA(48.2mL,5当量)的混合物搅拌6h。在将该反应混合物用水稀释并用EtOAc萃取后,将合并的有机层干燥并浓缩得到期望的产物(18.5g,105%),其不经进一步纯化即用于下一步骤。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δppm 7.29(d,1H),5.99(d,1H),4.45(t,1H),3.78(s,2H),3.39(q,2H),3.32(t,2H),2.23(s,3H),1.34(s,2H),1.27/1.21(d+d,4H),1.13/1.07(d+d,4H),1.04/0.97(d+d,2H),0.84(s,6H);^{13}C NMR(100MHz,DMSO-d_6)δppm 139.0,137.8,105.1,74.0,62.1,61.5,58.5,50.1,47.0,46.1,43.3,39.7,33.5,30.2,11.9;HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{19}H_{31}N_2O_2$的计算值:319.2386发现值:319.2387.

[2369] 步骤F:叔丁基-二苯基-[2-[[-3,5-二甲基-7-[(5-甲基吡唑-1-基)甲基]-1-金刚

烷基]氧基]乙氧基]硅烷

[2370] 向来自步骤E的产物(17.6g,55.3mmol)和咪唑(5.65g,1.5当量)在DCM(150ml)中的混合物中添加叔-丁基-氯代-二苯基-硅烷(18.6g,1.2当量)并将该反应混合物搅拌1h。通过柱色谱法(硅胶,庚烷和MTBE作为洗脱剂)纯化以得到期望的产物(27.0g,87.8%)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δppm 7.72-7.34(m,10H),7.29(d,1H),5.99(br.,1H),3.78(s,2H),3.67(t,2H),3.44(t,2H),2.21(s,3H),1.33(s,2H),1.26/1.18(d+d,4H),1.12/1.06(d+d,4H),1.03/0.96(d+d,2H),0.98(s,9H),0.82(s,6H);^{13}C NMR(100MHz,DMSO-d_6)δppm 139.0,137.8,105.1,74.2,64.4,61.7,58.5,50.0,46.9,46.0,43.4,39.6,33.5,30.1,27.1,19.3,11.9;HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{35}H_{49}N_2O_2Si$的计算值:557.3563发现值:557.3564.

[2371] 步骤G:叔丁基-二苯基-[2-[[3-[(4-碘-5-甲基-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]氧基]乙氧基]硅烷

[2372] 向来自步骤F的产物(27.0g,48.56mmol)在DMF(243mL)中的溶液中添加N-碘代琥珀酰亚胺(13.6g,1.25当量)并将该反应混合物搅拌2h。在用水稀释后,将该混合物用DCM萃取。将合并的有机层用饱和硫代硫酸钠溶液和盐水洗涤,干燥并浓缩,得到所期望产物(30.1g,90%)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δppm 7.68-7.37(m,10H),7.45(s,1H),3.89(s,2H),3.67(t,2H),3.44(t,2H),2.23(s,3H),1.30(s,2H),1.26/1.17(d+d,4H),1.12/1.05(d+d,4H),1.00/0.96(d+d,2H),0.98(s,9H),0.82(s,6H);^{13}C NMR(100MHz,DMSO-d_6)δppm 142.5,140.8,133.7,64.4,61.7,60.3,59.9,49.9,46.8,45.9,43.2,39.7,33.5,30.1,27.1,19.3,12.2;HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{35}H_{48}IN_2O_2Si$的计算值:683.2530发现值:683.2533.

[2373] 步骤H:叔丁基-二苯基-[2-[[3,5-二-甲基-7-[[5-甲基-4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂环戊硼烷-2-基)吡唑-1-基]甲基]-1-金刚烷基]氧基]乙氧基]硅烷

[2374] 在0℃向在THF(128mL)中的来自步骤G的产物(17.5g,25.6mmol)中添加氯代(异丙基)镁-LiCl(1.3M,在THF中,24mL,1.2当量),搅拌40min,用2-异丙氧基-4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂环戊硼烷(15.7mL,3当量)处理,并将该反应混合物搅拌10min。在用NH_4Cl饱和溶液稀释并用EtOAc萃取后,将合并的有机相浓缩并通过柱色谱法(硅胶,庚烷和MTBE作为洗脱剂)纯化以得到所期望产物(15.2g,86.9%)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δppm 7.65(dm,4H),7.47(s,1H),7.45(tm,2H),7.40(tm,4H),3.80(s,2H),3.66(t,2H),3.44(t,2H),2.35(s,3H),1.35-0.94(m,12H),1.24(s,12H),0.97(s,9H),0.83(s,6H);^{13}C NMR(100MHz,DMSO-d_6)δppm 146.9,144.3,135.6,130.2,128.2,104.7,83.0,74.2,64.4,61.7,58.4,30.1,27.1,25.2,19.3,12.0;HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{41}H_{60}BN_2O_4Si$的计算值:683.4415发现值:683.4423.

[2375] 制备8:叔丁基-[3-[3,5-二甲基-7-[[5-甲基-4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂环戊硼烷-2-基)吡唑-1-基]甲基]-1-金刚烷基]丙氧基]-二苯基-硅烷

[2376] 步骤A:1-[[3-烯丙基-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑

[2377] 向在THF(232mL)中的制备7步骤D的产物(15.66g,46.43mmol)和AgOTf(597mg,0.05当量)中添加烯丙基-Mg-Cl在THF中的2M溶液(46.4mL,2当量),并将该反应混合物搅拌0.5h。用NH_4Cl饱和溶液淬灭并用EtOAc萃取后,将合并的有机相浓缩并通过柱色谱法(硅胶,庚烷和MTBE作为洗脱剂)纯化以得到期望的产物(11.32g,81.7%)。^{1}H NMR(400MHz,

DMSO-d_6):δppm 7.27(d,1H),5.98(m,1H),5.76(m,1H),5.01/4.96(dm+dm,2H),3.73(s,2H),2.22(s,3H),1.83(d,2H),1.15-0.93(m,12H),0.78(s,6H);^{13}C NMR(100MHz,DMSO-d_6)δppm 139.0,137.7,135.0,117.7,105.0,59.0,47.8,44.2,35.0,31.8,30.6,11.9;HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{20}H_{31}N_2$的计算值:299.2487发现值:299.2485.

[2378] 步骤B:3-[3,5-二甲基-7-[(5-甲基吡唑-1-基)甲基]-1-金刚烷基]丙-1-醇

[2379] 向在THF(85mL)中的步骤A的产物(10.2g,34.17mmol)中添加BH_3-THF在THF中的1M溶液(85.4mL,2当量)并将该反应混合物搅拌1h。在0℃后用10M NaOH溶液(24mL,7当量)和33%过氧化氢溶液(73mL,25当量)处理后,在室温将该反应物搅拌1h。然后,将其用HCl水溶液淬灭,用EtOAc萃取,并通过柱色谱法(硅胶,庚烷和MTBE作为洗脱剂)纯化以得到期望的产物(9.75g,90%)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δppm 7.28(d,1H),5.98(m,1H),4.33(t,1H),3.73(s,2H),3.32(m,2H),2.22(brs,3H),1.32(m,2H),1.12-0.92(m,12H),1.06(m,2H),0.78(s,6H);^{13}C NMR(100MHz,DMSO-d_6)δppm 137.7,105.0,62.1,59.1,39.7,30.7,26.5,11.9,HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{20}H_{33}N_2O$的计算值:317.2593发现值:317.2590

[2380] 步骤C:叔丁基-[3-[3,5-二甲基-7-[(5-甲基吡唑-1-基)甲基]-1-金刚烷基]丙氧基]-二苯基-硅烷

[2381] 向在DCM(92ml)中的步骤B的产物(9.75g,30.8mmol)和咪唑(3.1g,1.5当量)中添加叔-丁基-氯代-二苯基-硅烷(9.45mL,1.2当量),并将该反应混合物搅拌1h,通过柱色谱法(硅胶,庚烷和MTBE作为洗脱剂)纯化以得到期望的产物(12.5g,73%)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δppm 7.63-7.39(m,10H),7.27(d,1H),5.98(d,1H),3.72(s,2H),3.59(t,2H),2.21(s,3H),1.42(m,2H),1.1-0.92(br.,12H),1.09(m,2H),0.98(s,9H),0.77(s,6H);^{13}C NMR(100MHz,DMSO-d_6)δppm 137.7,105.0,64.8,59.1,39.3,38.0,34.2,31.8,30.6,27.2,26.1,19.2,11.9;HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{36}H_{51}N_2OSi$的计算值:555.3771发现值:555.3770.

[2382] 步骤D:叔丁基-[3-[3-[(4-碘-5-甲基-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]丙氧基]-二苯基-硅烷

[2383] 向在DMF(112mL)中的步骤C的产物(12.5g,22.54mmol)中添加N-碘代琥珀酰亚胺(6.34g,1.25当量)并将该反应混合物搅拌2h。在用硫代硫酸钠饱和溶液淬灭并用DCM萃取后,将合并的有机相用饱和硫代硫酸钠和盐水清洗、干燥、并蒸发以提供期望的产物(16.3g,105%)。LC/MS($C_{36}H_{50}IN_2OSi$)681$[M+H]^+$.

[2384] 步骤E:叔丁基-[3-[3,5-二甲基-7-[[5-甲基-4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂环戊硼烷-2-基)吡唑-1-基]甲基]-1-金刚烷基]丙氧基]-二苯基-硅烷

[2385] 在0℃向在THF(119mL)中的步骤D的产物(16.25g,23.9mmol)中添加氯代(异丙基)镁-LiCl(1.3M,在THF中,22mL,1.2当量),将该混合物搅拌40min,用2-异丙氧基-4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂环戊硼烷(14.6mL,3当量)处理,并搅拌10min。在用NH_4Cl饱和溶液稀释并用EtOAc萃取后,将合并的有机相浓缩并通过柱色谱法(硅胶,庚烷和MTBE作为洗脱剂)纯化以得到所期望产物(11.4g,70%)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δppm 7.59(d,4H),7.46(s,1H),7.45(t,2H),7.43(t,4H),3.74(s,2H),3.59(t,2H),2.35(s,3H),1.41(qn,2H),1.24(s,12H),1.09(m,2H),1.08(s,4H),1.05(s,2H),0.98(s,9H),0.98(s,2H),0.94(s,4H),0.78(s,6H);^{13}C NMR(100MHz,DMSO-d_6)δppm 146.9,144.2,135.5,133.8,130.3,

128.3,104.6,83.0,64.7,64.7,59.0,50.6,48.2,46.5,44.1,39.2,37.9,31.8,30.7,27.2,26.1,25.2,19.2,12.0;HRMS-ESI(m/z):[M+H]$^+$针对$C_{42}H_{62}BN_2O_3Si$的计算值:681.4623发现值:681.4631.

[2386] 制备10:甲基3-溴-6-[3-(3,6-二氯-5-甲基-哒嗪-4-1)丙基氨基]吡啶-2-甲酸酯

[2387] 步骤A:甲基6-[双(叔丁氧基羰基)氨基]-3-溴-吡啶-2-甲酸酯

[2388] 在0℃向在DCM(541mL)中的甲基6-氨基-3-溴代-吡啶-2-甲酸酯(25.0g,108.2mmol)和DMAP(1.3g,0.1当量)中添加Boc20(59.0g,2.5当量)并将该反应混合物搅拌2.5h。在添加$NaHCO_3$饱和溶液并用DCM萃取后,将合并的有机相干燥和浓缩以提供期望的产物(45.0g,72.3%)。LC/MS($C_{17}H_{23}BrN_2O_6Na$)453[M+Na]$^+$.

[2389] 步骤B:甲基3-溴-6-(叔丁氧基羰基氨基)吡啶-2-甲酸酯

[2390] 在0℃向在DCM(370mL)中的来自步骤A的产物(42.7g,74.34mmol)中添加TFA(17.1mL,3当量),并将该反应混合物搅拌18h。在用$NaHCO_3$饱和溶液和盐水清洗后,将合并的有机相干燥、浓缩,并通过柱色谱法(硅胶,庚烷和EtOAc作为洗脱剂)纯化以得到期望的产物(28.3g,115.2%)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δppm 10.29(s,1H),8.11(d,1H),7.88(d,1H),3.87(s,3H),1.46(s,9H)^{13}C NMR(100MHz,DMSO-d_6)δppm 165.6,153.1,151.8/148.3,143.5,116.3,109.2,53.2,28.4.LC/MS($C_{12}H_{15}BrN_2O_4Na$)353[M+Na]$^+$.

[2391] 步骤C:甲基3-溴-6-[叔丁氧基羰基-[3-(3,6-二氯-5-甲基-哒嗪-4-基)丙基]氨基]吡啶-2-甲酸酯

[2392] 向在丙酮(150mL)中的来自步骤B的产物(10.0g,30.1967mmol)中添加Cs_2CO_3(29.5g,3当量)和3,6-二氯-4-(3-碘代丙基)-5-甲基-哒嗪(9.9g,1当量)并将该反应混合物搅拌18h。在用水稀释并用EtOAc萃取后,将合并的有机相用盐水清洗、干燥并浓缩以得到期望的产物(17.5g,108%)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δppm 8.13(d,1H),7.78(d,1H),3.91(t,2H),3.89(s,3H),2.79(m,2H),2.38(s,3H),1.82(m,2H),1.46(s,9H);^{13}C NMR(100MHz,DMSO-d_6)δppm 165.3,157.6,156.6,153.2,152.9,147.2,143.1,142.2,139.7,122.6,111.8,82.2,53.3,46.4,28.1,27.7,26.5,16.3;HRMS-ESI(m/z):[M+Na]$^+$针对$C_{20}H_{23}BrCl_2N_4NaO_4$的计算值:555.0177发现值:555.0172.

[2393] 步骤D:甲基3-溴-6-[3-(3,6-二氯-5-甲基-哒嗪-4-1)丙基氨基]吡啶-2-甲酸酯

[2394] 将来自步骤C的产物(17.5g,32.7mmol)在1,1,1,3,3,3-六氟异丙醇(330mL)中于110℃搅拌18H。通过柱色谱法(硅胶,庚烷和EtOAc作为洗脱液)纯化得到所期望产物(9.9g,70%)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δppm 7.63(d,1H),7.22(t,1H),6.57(d,1H),3.83(s,3H),3.30(m,2H),2.83(m,2H),2.37(s,3H),1.74(m,2H)^{13}C NMR(100MHz,DMSO-d_6)δppm 166.5,141.5,112.6,52.9,40.9,28.0,27.0,16.4.

[2395] 制备11:(4-甲氧基苯基)甲基3-溴-6-[3-(3,6-二氯-5-甲基-哒嗪-4-基)丙基氨基]吡啶-2-甲酸酯

[2396] 步骤A:3-溴-6-[3-(3,6-二氯-5-甲基-哒嗪-4-基)丙基氨基]吡啶-2-甲酸

[2397] 在60℃将来自制备10的产物(35.39g,81.52mmol)和$LiOH\times H_2O$(13.68g,4当量)在1,4-二噁烷(408mL)和水(82mL)中的混合物搅拌1h。在用HCl的1M溶液淬灭并用EtOAc萃取后,将合并的有机相干燥、浓缩并通过快速色谱法(硅胶,使用DCM和MeOH作为洗脱剂)纯化以得到期望的产物(27.74g,81%)。LC/MS($C_{14}H_{14}BrCl_2N_4O_2$)421[M+H]$^+$.

[2398] 步骤B:(4-甲氧基苯基)甲基3-溴-6-[3-(3,6-二氯-5-甲基-哒嗪-4-基)丙基氨基]吡啶-2-甲酸酯

[2399] 向在甲苯(660mL)和THF(20ml)中的步骤A的产物(27.7g,65.9mmol)、(4-甲氧基苯基)甲醇(16.4mL,2当量)和(34.6g,2当量)中逐滴添加偶氮二甲酸二异丙酯(26mL,2当量)并在50℃将该反应混合物搅拌1h。通过快速色谱法(硅胶,使用庚烷和EtOAc作为洗脱剂)纯化提供期望的产物(23.65g,66.4%)。^{1}H NMR(500MHz,dmso-d6)δppm 7.62(d,1H),7.37(dn,2H),7.21(t,1H),6.91(dm,2H),6.56(d,1H),5.25(s,2H),3.74(s,3H),3.30(q,2H),2.81(m,2H),2.33(s,3H),1.73(m,2H);^{13}C NMR(500MHz,dmso-d6)δppm 165.9,159.7,157.6,157.5,156.8,148.0,142.7,141.5,139.7,130.6,127.8,114.3,112.6,101.6,67.0,55.6,40.9,28.0,27.1,16.4;HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{22}H_{22}BrCl_2N_4O_3$的计算值:539.0252,发现值:539.0246.

[2400] 制备12:甲基6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[3,5-二甲基-7-[2-(p-甲苯基磺酰基氧基)乙氧基]-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸酯

[2401] 步骤A:甲基6-[3-(3,6-二氯-5-甲基-哒嗪-4-基)丙基氨基]-3-[5-甲基-1-[[3-[2-[叔丁基(二苯基)甲硅烷基]氧基乙氧基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸酯

[2402] 在80℃将来自制备10的产物(15.0g,34.55mmol)、来自制备7的产物(30.7g,1.3当量)、CS_2CO_3(33.8g,3.0当量)和Pd(AtaPhos)$_2$Cl$_2$(1.53g,0.1当量)在1,4-二噁烷(207mL)和H_2O(34.5mL)中的混合物搅拌1.5h。通过柱色谱法(硅胶,庚烷和EtOAc作为洗脱剂)纯化提供期望的产物(18.5g,58%)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δppm 7.69-7.37(m,10H),7.32(d,1H),7.23(s,1H),6.98(t,1H),6.63(d,1H),3.82(s,2H),3.67(t,2H),3.58(s,3H),3.46(t,2H),3.35(m,2H),2.86(m,2H),2.40(s,3H),2.06(s,3H),1.78(m,2H),1.35(s,2H),1.27/1.2(m+m,4H),1.15/1.09(m+m,4H),1.05/0.97(m+m,2H),0.97(s,9H),0.84(s,6H);HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{50}H_{63}Cl_2N_6O_4Si$的计算值:909.4057发现值:909.4053.

[2403] 步骤B:甲基6-(3-氯-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基)3-[5-甲基-1-[[3-[2-[叔丁基(二苯基)甲硅烷基]氧基乙氧基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸酯

[2404] 在110℃将来自步骤A的产物(18.5g,20.3mmol)、Cs_2CO_3(13.2g,2当量)、DIPEA(7.1mL,2当量)和Pd(Ataphos)$_2$Cl$_2$(900mg,0.1当量)在1,4-二噁烷(102mL)中的混合物搅拌18h。过滤及浓缩后,将残余物用DCM吸收,用水清洗,并通过柱色谱法(硅胶,DCM和EtOAc作为洗脱剂)纯化,得到期望的产物(12.6g,71%)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δppm 7.85(d,1H),7.69(d,1H),7.66(dm,4H),7.47-7.36(m,6H),7.38(s,1H),3.97(t,2H),3.87(s,2H),3.68(t,2H),3.66(s,3H),3.47(t,2H),2.87(t,2H),2.30(s,3H),2.14(s,3H),1.99(br.,2H),1.38(s,2H),1.32-0.96(br.,10H),0.98(s,9H),0.85(s,6H);^{13}C NMR(100MHz,DMSO-d_6)δppm 139.9,137.6,120.5,64.4,61.7,58.9,52.3,46.0,43.4,30.2,27.1,24.6,21.0,15.5,10.9;HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{50}H_{62}ClN_6O_4Si$的计算值:873.4290发现值:873.4291.

[2405] 步骤C:甲基6-(3-氯-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基)-3-[1-

[[3-(2-羟基乙氧基)-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸酯

[2406] 向在THF(95mL)中的来自步骤B的产物(8.46g,9.68mmol)中添加TBAF在THF中的1M溶液(10.6mL,1.1当量)并在0℃将该反应混合物搅拌2h。在用NH_4Cl饱和溶液淬灭并用EtOAc萃取后,将合并的有机相用盐水清洗、干燥并通过柱色谱法(硅胶,DCM和MeOH作为洗脱剂)纯化以得到期望的产物(5.38g,88%)。^1H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δppm 7.86(d,1H),7.71(d,1H),7.38(s,1H),4.46(t,1H),3.97(t,2H),3.87(s,2H),3.70(s,3H),3.40(m,2H),3.35(t,2H),2.87(t,2H),2.30(s,3H),2.15(s,3H),1.99(m,2H),1.42-0.95(m,12H),0.87(s,6H);HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{34}H_{44}ClN_6O_4$的计算值:635.3113发现值:635.3112.

[2407] 步骤D:甲基6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[3-(2-羟基乙氧基)-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸酯

[2408] 使用Buchwald一般程序I在130℃持续1小时,从步骤C(5.78mmol)的3.7g产物和1.74g 1,3-苯并噻唑-2-胺(2当量)开始,获得3.1g所期望产物(72%产率)。^1H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δppm 7.96(d,1H),7.82(br.,1H),7.70(d,1H),7.50(br.,1H),7.38(s,1H),7.35(t,1H),7.17(t,1H),4.46(br.,1H),4.00(t,2H),3.88(s,2H),3.70(s,3H),3.40(brt.,2H),3.35(t,2H),2.86(t,2H),2.32(s,3H),2.16(s,3H),2.03-1.94(m,2H),1.42-0.96(m,12H),0.87(s,6H);^{13}C NMR(100MHz,DMSO-d_6)δppm 139.8,137.5,126.4,122.4,122.1,119.0,62.1,61.5,59.0,52.6,45.4,30.2,24.3,21.7,12.6,10.9;HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{41}H_{49}N_8O_4S$的计算值:749.3597发现值:749.3595.

[2409] 步骤E:甲基6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[3,5-二甲基-7-[2-(p-甲苯基磺酰基氧基)乙氧基]-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸酯

[2410] 向在DCM(50mL)中的来自步骤D的产物(3.85g,5.14mmol)和三乙基胺(2.15mL,3当量)中添加p-甲苯基磺酰基4-甲基苯磺酸酯(2.51g,1.5当量)并将该反应混合物搅拌1h。通过柱色谱法(硅胶,庚烷和EtOAc作为洗脱剂)纯化提供期望的产物(3.2g,69%)。^1H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δppm 7.96(d,1H),7.81(br.,1H),7.77(d,2H),7.70(d,1H),7.50(br.,1H),7.46(d,2H),7.39(s,1H),7.35(t,1H),7.17(t,1H),4.06(t,2H),4.00(t,2H),3.85(s,2H),3.69(s,3H),3.49(t,2H),2.86(t,2H),2.40(s,3H),2.32(s,3H),2.15(s,3H),1.99(m,2H),1.32-0.93(m,12H),0.84(s,6H);^{13}C NMR(100MHz,DMSO-d_6)δppm 139.8,137.6,130.6,128.1,126.4,122.4,122.1,119,71.5,58.8,58.4,52.6,45.4,30.1,24.3,21.7,21.6,12.6,10.9;HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{48}H_{55}N_8O_6S_2$的计算值:903.3686发现值:903.3685.

[2411] 制备13:(4-甲氧基苯基)甲基6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[3,5-二甲基-7-[3-(p-甲苯基磺酰基氧基)丙基]-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸酯

[2412] 叔骤A:(4-甲氧基苯基)甲基3-[1-[[3-[3-[叔丁基(二苯基)甲硅烷基]氧基丙基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]-6-[3-(3,6-二氯-5-甲基-哒嗪-4-基)丙基氨基]吡啶-2-甲酸酯

[2413] 在80℃将来自制备11的产物(3.67g,6.79mmol)、来自制备8的产物(5.09g,1.1当量)、$Pd(AtaPhos)_2Cl_2$(301mg,0.1当量)和Cs_2CO_3(6.64g,3当量)在1,4-二噁烷(41mL)和H_2O

(6.8mL)中的混合物搅拌18h。通过柱色谱法(硅胶,庚烷和EtOAc作为洗脱剂)纯化提供期望的产物(4.43g,64%)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δppm 7.62-7.38(m,10H),7.32(d,1H),7.26(s,1H),7.10(m,2H),6.98(t,1H),6.83(m,2H),6.63(d,1H),4.98(s,2H),3.74(s,2H),3.70(s,3H),3.58(t,2H),3.35(m,2H),2.84(m,2H),2.34(s,3H),2.02(s,3H),1.77(m,2H),1.43(m,2H),1.18-0.85(m,12H),1.09(t,2H),0.97(s,9H),0.77(s,6H);HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{58}H_{71}Cl_2N_6O_4Si$的计算值:1013.4683发现值:1013.4683;

[2414] 步骤B:(4-甲氧基苯基)甲基3-[1-[[3-[3-[叔丁基(二苯基)甲硅烷基]氧基丙基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]-6-(3-氯-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基)吡啶-2-甲酸酯

[2415] 在110℃将来自步骤A的产物(4.43g,4.37mmol)、Cs_2CO_3(2.84g,2当量)、DIPEA(1.5mL,2当量)和Pd(AtaphoS)$_2$$Cl_2$(193mg,0.1当量)在1,4-二噁烷(22mL)中的混合物搅拌18h。在用水淬灭并用EtOAc萃取后,将合并的有机相干燥、浓缩并通过柱色谱法(硅胶,DCM和EtOAc作为洗脱剂)纯化以得到期望的产物(2.83g,66%)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δppm 7.84(d,1H),7.68(d,1H),7.59(d,4H),7.44(t,2H),7.42(t,4H),7.38(s,1H),7.14(d,2H),6.87(d,2H),5.07(s,2H),3.96(t,2H),3.78(s,2H),3.71(s,3H),3.59(t,2H),2.86(t,2H),2.29(s,3H),2.08(s,3H),1.97(qn,2H),1.43(qn,2H),1.12(s,4H),1.10(s,2H),1.09(t,2H),0.97(s,9H),0.95(s,2H),0.94/0.91(d+d,4H),0.78(s,6H);^{13}C NMR(100MHz,DMSO-d_6)δppm166.9,159.6,156.3,153.6,150.8,147.7,140.1,137.5,137.3,136.0,135.5,133.8,130.3,130.1,129.1,128.3,127.6,123.1,120.5,115.5,114.3,66.8,64.8,64.8,59.6,55.6,50.5,48.1,46.4,46.0,44.2,39.3,38.1,31.7,30.6,27.2,26.1,24.6,21.0,19.3,15.5,10.9;HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{58}H_{70}ClN_6O_4Si$的计算值:977.4916发现值:977.4915.

[2416] 步骤C:(4-甲氧基苯基)甲基6-(3-氯-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基)-3-[1-[[3-(3-羟基丙基)-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸酯

[2417] 向在THF(95mL)中的来自步骤B的产物(2.83g,2.89mmol)中添加TBAF在THF中的1M溶液(3.2mL,1.1当量)并在0℃将该反应混合物搅拌2h。在用NH_4Cl饱和溶液淬灭并用EtOAc萃取后,将合并的有机相用盐水清洗、干燥并通过柱色谱法(硅胶,DCM和MeOH作为洗脱剂)纯化以得到期望的产物(2.21g,103%)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δppm 7.85(d,1H),7.70(d,1H),7.39(s,1H),7.17(d,2H),6.90(d,2H),5.09(s,2H),4.34(t,1H),3.96(t,2H),3.79(s,2H),3.74(s,3H),3.32(q,2H),2.86(t,2H),2.29(s,3H),2.09(s,3H),1.98(qn,2H),1.34(qn,2H),1.13(s,2H),1.13(s,4H),1.06(t,2H),0.99/0.95(d+d,4H),0.97(s,2H),0.78(s,6H);^{13}C NMR(100MHz,DMSO-d_6)δppm 166.9,159.7,156.4,153.6,150.8,147.7,140.2,137.5,137.3,136.0,130.2,129.1,127.6,123.1,120.4,115.5,114.3,66.8,66.8,62.1,59.7,55.6,50.6,48.2,46.5,46.0,44.3,39.7,38.1,31.8,30.6,26.5,24.6,21.0,15.5,10.9;HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{42}H_{52}ClN_6O_4$的计算值:739.3739发现值:739.3739.

[2418] 步骤D:(4-甲基苯基)甲基6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[3-(3-羟基丙基)-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸酯

[2419] 在130℃将来自步骤C的产物(1.71g,2.31mmol)、1,3-苯并噻唑-2-胺(695mg,2当量)、Pd_2dba_3(212mg,0.1当量)、XantPhos(268mg,0.2当量)和DIPEA(1.2mL,3当量)在环己醇(14mL)中的混合物搅拌1h。通过柱色谱法(硅胶,庚烷、DCM和MeCN作为洗脱剂)纯化提供期望的产物(1.25g,63%)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δppm12.08/10.87(brs/brs,1H),7.95(d,1H),7.81(br,1H),7.68(d,1H),7.50(br,1H),7.39(s,1H),7.35(t,1H),7.18(d,2H),7.17(t,1H),6.90(d,2H),5.10(s,2H),4.34(t,1H),3.99(t,2H),3.79(s,2H),3.74(s,3H),3.33(q,2H),2.85(t,2H),2.32(s,3H),2.11(s,3H),1.98(qn,2H),1.34(qn,2H),1.14(s,4H),1.14(s,2H),1.07(t,2H),1.00/0.95(d+d,2H),0.99/0.95(d+d,4H),0.79(s,6H);^{13}C NMR(100MHz,DMSO-d_6)δppm 140.0,137.6,130.2,126.4,122.4,122.0,119.0,114.3,66.7,62.1,59.6,55.6,50.6,48.2,46.5,45.4,44.3,39.7,30.6,26.5,24.3,21.7,12.6,11.0;HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{49}H_{57}N_8O_4S$的计算值:853.4223发现值:853.4229.

[2420] 步骤E:(4-甲基苯基)甲基6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-5-基]-3-[1-[[3,5-二甲基-7-[3-(p-甲苯基磺酰基氧基)丙基]-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸酯

[2421] 向在DCM(15mL)中的来自步骤D的产物(1.25g,1.47mmol)和三乙基胺(0.61mL,3当量)中添加p-甲苯基磺酰基4-甲基苯磺酸酯(717mg,1.5当量)并将该反应混合物搅拌1h。通过柱色谱法(硅胶,庚烷和EtOAc作为洗脱剂)纯化提供800mg(54%)期望的产物。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δppm 7.95(d,1H),7.88(brs,1H),7.77(m,2H),7.68(d,1H),7.62(brs,1H),7.47(m,2H),7.39(s,1H),7.35(brs,1H),7.17(brs,1H),7.10(m,2H),6.90(m,2H),5.09(s,2H),4.00(m,2H),3.98(t,2H),3.77(s,2H),3.74(s,3H),2.85(t,2H),2.40(s,3H),2.32(s,3H),2.09(s,3H),1.98(m,2H),1.45(m,2H),1.17-0.8(m,12H),0.98(m,2H),0.77(s,6H);HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{56}H_{63}N_8O_6S_2$的计算值:1007.4312发现值:1007.4318.

[2422] 制备15:乙基2-(3-氯-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基)-5-[3-(2-氟-4-碘-苯氧基)丙基]噻唑-4-甲酸酯

[2423] 步骤A:2-(3-氯-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基)-5-[3-(2-氟-4-碘-苯氧基)丙基]噻唑-4-甲酸

[2424] 在60℃将来自制备3a的产物(35.39g,81.52mmol)和LiOH×H_2O(4当量)在1,4-二噁烷(408mL)和水(82mL)中的混合物搅拌1h。在用HCl的1M溶液淬灭并用EtOAc萃取后,将合并的有机相干燥、浓缩并通过快速色谱法(硅胶,使用DCM和MeOH作为洗脱剂)纯化以得到期望的产物(27.7g,81%)。^{1}H NMR(500MHz,dmso-d6)δppm 7.56(dd,1H),7.43(brd.,1H),6.96(t,1H),4.18(t,2H),4.05(t,2H),3.28(t,2H),2.84(t,2H),2.29(s,3H),2.07(m,2H),1.97(m,2H);^{13}C NMR(500MHz,dmso-d6)δppm 166.4,154.8,152.1,151.8,151.1,147.1,143.9,135.7,134.0,133.8,129.0,124.9,117.6,82.3,68.8,46.3,31.0,24.0,22.5,19.8,15.7;HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{21}H_{20}ClFIN_4O_3S$的计算值:588.9973发现值:588.9969.

[2425] 步骤B:乙基2-(3-氯-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基)-5-[3-(2-氟-4-碘-苯氧基)丙基]噻唑-4-甲酸酯

[2426] 向步骤A的产物(27.7g,65.9mmol)、乙醇(2当量)和PPh3(2当量)在甲苯(660mL)和THF(20ml)中的混合物中逐滴添加偶氮二甲酸二异丙酯(2当量)并在50℃将该反应物搅拌1h。通过快速色谱法(硅胶,使用庚烷和EtOAc作为洗脱剂)纯化提供期望的产物(23.65g,

66.4%)。^{1}H NMR(500MHz,dmso-d6)δppm 7.59(dd,1H),7.44(dm,1H),6.98(t,1H),4.29(m,2H),4.25(q,2H),4.08(t,2H),3.24(t,2H),2.89(t,2H),2.32(s,3H),2.09(m,2H),2.04(m,2H),1.28(t,3H);^{13}C NMR(500MHz,dmso-d6)δppm 162.6,155.4,152.2,151.7,151.3,147.0,134.0,124.9,117.6,82.4,68.3,60.7,46.3,30.8,24.1,23.1,19.7,15.7,14.6;HRMS-ESI(m/z):[M+H]$^{+}$针对$C_{23}H_{24}ClFIN_4O_3S$的计算值:617.0286,发现值:617.0282.

[2427] 制备16:(4-甲氧基苯基)甲基6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[3,5-二甲基-7-[2-(p-甲苯基磺酰基氧基)乙氧基]-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸酯

[2428] 步骤A:3-[1-[[3-[2-[叔丁基(二苯基)甲硅烷基]氧基乙氧基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]-6-(3-氯-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[23-c]哒嗪-8-基)吡啶-2-甲酸

[2429] 在60℃将1.5g(1.72mmol)制备12步骤B的产物、290mg(4当量)LiOH在17mL 4∶1 THF和水的混合物中的混合物搅拌以达到完全转化。通过添加1M HCl水溶液淬灭反应后,用EtOAc萃取混合物,干燥有机相,浓缩,并通过柱色谱法(硅胶,使用DCM和MeOH作为洗脱剂)纯化,得到1.23g(83%)的所期望产物。^{1}H NMR(500MHz,dmso-d6)δppm13.11(s,1H),7.80(d,1H),7.66(d,4H),7.65(d,1H),7.44(t,2H),7.41(s,1H),7.40(t,4H),3.99(t,2H),3.86(s,2H),3.68(t,2H),3.47(t,2H),2.87(t,2H),2.29(s,3H),2.17(s,3H),1.99(qn,2H),1.39(s,2H),1.27/1.22(d+d,4H),1.17/1.12(d+d,4H),1.05/0.99(d+d,2H),0.98(s,9H),0.85(s,6H);^{13}C NMR(500MHz,dmso-d6)δppm 168.5,156.5,153.2,150.7,148.9,139.8,137.7,137.3,136.0,135.6,133.8,130.2,129.0,128.3,122.1,119.9,115.7,74.3,64.4,61.7,59.0,50.1,46.9,46.0,46.0,43.4,39.7,33.6,30.2,27.1,24.6,21.0,19.2,15.5,11.1;HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{49}H_{60}ClN_6O_4Si$的计算值:859.4134发现值:859.4130.

[2430] 步骤B:(4-甲氧基苯基)甲基3-[1-[[3-[2-[叔丁基(二苯基)甲硅烷基]氧基乙氧基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]-6-(3-氯-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基)吡啶-2-甲酸酯

[2431] 向在7mL的甲苯中1.23g(1.43mmol)的来自步骤A的产物、0.35mL(2当量)的(4-甲氧基苯基)甲醇、748mg(2当量)的PPh_3中逐滴添加0.56mL(2当量)的DIAD,并在50℃将该混合物搅拌直至完全转化。通过柱色谱法(硅胶,使用DCM和EtOAc作为洗脱剂)纯化产物,得到1.11g(79%)的所期望产物。^{1}H NMR(500MHz,dmso-d6)δppm 7.84(d,1H),7.67(d,1H),7.65(d,4H),7.44(t,2H),7.41(s,1H),7.40(t,4H),7.15(d,2H),6.87(d,2H),5.07(s,2H),3.96(t,2H),3.83(s,2H),3.71(s,3H),3.66(t,2H),3.45(t,2H),2.86(t,2H),2.29(s,3H),2.08(s,3H),1.97(qn,2H),1.38(s,2H),1.25/1.18(d+d,4H),1.18/1.12(d+d,4H),1.01/0.93(d+d,2H),0.97(s,9H),0.82(s,6H);^{13}C NMR(500MHz,dmso-d6)δppm 166.8,159.7,156.3,153.6,150.8,147.7,140.1,137.6,137.3,136.0,135.6,133.8,130.2,130.2,129.1,128.2,127.7,123.0,120.4,115.6,114.3,74.2,66.8,64.4,61.7,59.3,55.6,49.9,46.8,46.0,46.0,43.3,39.7,33.6,30.1,27.1,24.6,21.0,19.3,15.5,10.8;HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{57}H_{68}ClN_6O_5Si$的计算值:979.4709发现值:979.4710.

[2432] 步骤C:(4-甲氧基苯基)甲基6-(3-氯-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基)-3-[1-[[3-(2-羟基乙氧基)-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡

啶-2-甲酸酯

[2433] 向在470mL的THF中的45.4g(46.3mmol)的来自步骤B的产物中添加51mL(1.1当量)的TBAF在THF中的1M溶液并将混合物搅拌2h。在用饱和NH_4Cl溶液淬灭后,将该混合物用EtOAc萃取并将该有机相干燥及通过柱色谱法(硅胶,使用DCM和MeOH作为洗脱剂)纯化以得到21.6g(63%)期望的产物。^1H NMR(500MHz,dmso-d6)δppm 7.85(d,1H),7.70(d,1H),7.39(s,1H),7.18(d,2H),6.90(d,2H),5.10(s,2H),4.45(t,1H),3.96(t,2H),3.84(s,2H),3.74(s,3H),3.40(q,2H),3.33(t,2H),2.86(t,2H),2.29(s,3H),2.09(s,3H),1.98(qn,2H),1.39(s,2H),1.27/1.21(d+d,4H),1.18/1.12(d+d,4H),1.03/0.94(d+d,2H),0.84(s,6H);^{13}C NMR(500MHz,dmso-d6)δppm 166.8,159.7,156.3,153.6,150.8,147.8,140.2,137.6,137.3,136,130.2,129.1,127.7,123.0,120.4,115.6,114.3,74.0,66.8,62.2,61.5,59.0,55.6,50.0,46.9,46.0,46.0,43.3,39.7,33.5,30.1,24.6,21.0,15.5,10.9;HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{41}H_{50}ClN_6O_5$的计算值:741.3531发现值:741.3530.

[2434] 步骤D:(4-甲氧基苯基)甲基6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[3-(2-羟基乙氧基)-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸酯

[2435] 在130℃将7.1g(9.6mmol)的来自步骤C的产物、2.8g(19mmol)的1,3-苯并噻唑-2-胺、4.8mL(28mmol)的N-乙基-N-异丙基-丙-2-胺,861mg(0.94mmol)的$Pd_2(dba)_3$和1.1g(1.9mmol)的XantPhos在66mL的环己醇中的混合物搅拌2h。将该产物通过柱色谱法(硅胶,使用DCM和MeOH作为洗脱剂)纯化以得到5.71g(63%)的期望的产物。^1H NMR(500MHz,dmso-d6)δppm 7.95(d,1H),7.81(brd,1H),7.69(d,1H),7.49(brs,1H),7.39(s,1H),7.35(m,1H),7.19(m,2H),7.16(m,1H),6.91(m,2H),5.10(s,2H),4.46(t,1H),3.99(m,2H),3.85(s,2H),3.75(s,3H),3.40(m,2H),3.34(t,2H),2.85(t,2H),2.32(s,3H),2.11(s,3H),1.99(m,2H),1.45-0.9(m,12H),0.84(s,6H);HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{48}H_{55}N_8O_5S$的计算值:855.4016发现值:855.4011.

[2436] 步骤E:(4-甲基苯基)甲基6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[3,5-二甲基-7-[2-(p-甲苯基磺酰基氧基)乙氧基]-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸酯

[2437] 向在50mL的二氯甲烷中的5.0g(5.8mmol)的来自步骤D的产物中添加2.5mL(3.1当量)的N,N-二乙基乙胺和2.9g(1.5当量)的p-甲苯基磺酰基4-甲基苯磺酸酯,然后将该混合物搅拌18h。将该产物通过柱色谱法(硅胶,使用DCM和EtOAc作为洗脱剂)纯化以得到2.95g(50%)的期望的产物。^1H NMR(500MHz,dmso-d6)δppm 7.95(d,1H),7.81(brs,1H),7.76(m,2H),7.45(brs,1H),7.45(m,2H),7.40(s,1H),7.35(m,1H),7.18(m,2H),7.17(m,1H),6.97(d,1H),6.90(m,2H),5.10(s,2H),4.05(m,2H),4.00(m,2H),3.82(s,2H),3.74(s,3H),3.47(m,2H),2.85(m,2H),2.40(s,3H),2.32(s,3H),2.10(s,3H),1.98(m,2H),1.87-1.34(m,12H),0.81(s,6H);HRMS-ESI(m/z):[M+Na]+针对$C_{55}H_{61}N_8O_7S_2$的计算值:1009.4105发现值:1009.4102.

[2438] 制备17:叔7基-[2-[[3-[[5-甲基-4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂环戊硼烷-2-基)吡唑-1-基]甲基]-1-金刚烷基]氧基]乙氧基]-二苯基-硅烷

[2439] 步骤A:(3-溴-1-金刚烷基)甲醇

[2440] 向在THF(25mL)中的3-溴金刚烷-1-甲酸(10.0g,38.6mmol)缓慢添加BH3-THF在THF中的1M溶液(115mL,3当量),并将该混合物搅拌48h。在添加甲醇并搅拌30min后,通过柱色谱法(硅胶,庚烷和MTBE作为洗脱剂)纯化提供期望的产物(8.37g,88%)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δppm 4.50(t,1H),3.02(d,2H),2.28/2.21(dm+dm,4H),2.11(m,2H),2.07(s,2H),1.66/1.56(dm+dm,2H),1.48/1.39(dm+dm,4H);^{13}C NMR(100MHz,DMSO-d_6)δppm 70.9,69.3,51.3,49.0,40.6,37.3,35.1,32.3.

[2441] 步骤B:1-[(3-溴-1-金刚烷基)甲基]吡唑

[2442] 向在甲苯(100mL)中的来自步骤A的产物(8.37g,34.1mmol)、1H-吡唑(2.79g,1.2当量)中添加(氰基亚甲基)三丁基磷烷(10.7mL,1.2当量)并在90℃将该混合物搅拌2h。通过柱色谱法(硅胶,庚烷和MTBE作为洗脱剂)纯化提供期望的产物(8.50g,84%)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δppm 7.63(dd,1H),7.43(dd,1H),6.23(t,1H),3.87(s,2H),2.24/2.13(m+m,4H),2.10(m,2H),2.07(s,2H),1.63/1.50(m+m,2H),1.47/1.43(m+m,4H);^{13}C NMR(100MHz,DMSO-d_6)δppm 138.9,131.7,105.1,68.0,61.8,51.8,48.5,39.8,38.3,34.6,32.1;HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{14}H_{20}BrN_2$的计算值:295.0810发现值:295.0804.

[2443] 步骤C:1-[(3-溴-1-金刚烷基)甲基]-5-甲基吡唑

[2444] 在-78℃向在THF(30mL)中的来自步骤B的产物(1.70g,5.76mmol)中添加丁基锂(2.5M,在THF中,12mL,5当量)。1h后,将碘甲烷(7.2mL,5当量)添加至该混合物中。10分钟后,将反应混合物用NH_4Cl饱和溶液淬灭,用EtOAc萃取,将合并的有机层干燥并浓缩,得到所期望产物(2.0g,112%),其无需进一步纯化即可用于下一步。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δppm 7.31(d,1H),6.01(d,1H),3.76(s,2H),2.25/2.15(d+d,4H),2.24(s,3H),2.16(s,2H),2.10(m,2H),1.63/1.52(d+d,2H),1.52/1.49(d+d,4H);^{13}C NMR(100MHz,DMSO-d_6)δppm 139.2,138.0,105.2,68.2,58.3,52.1,48.5,40.5,38.4,34.5,32.2,11.8;HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{15}H_{22}BrN_2$的计算值:309.0966发现值:309.0962.

[2445] 步骤D:2-[[3-[(5-甲基吡唑-1-基)甲基]-1-金刚烷基]氧基]乙醇

[2446] 在120℃将来自步骤C的产物(2.00g,6.47mmol)、乙二醇(14.4mL,40当量)和DIPEA(5.6mL,5当量)的混合物搅拌6h。在用水稀释并用EtOAc萃取后,将合并的有机相通过柱色谱法(硅胶,庚烷和MTBE作为洗脱剂)纯化以得到期望的产物(1.62g,86.6%)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δppm 7.28(d,1H),5.99(m,1H),4.46(t,1H),3.75(s,2H),3.40(m,2H),3.32(m,2H),2.23(brs,3H),2.13(m,2H),1.61/1.52(m+m,4H),1.47/1.43(m+m,2H),1.45(s,2H),1.44-1.35(m,4H);^{13}C NMR(100MHz,DMSO-d_6)δppm 137.8,105.1,61.8,61.5,59.0,44.6,40.8,39.6,35.7,30.0,11.9;HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{17}H_{27}N_2O_2$的计算值:291.2073发现值:291.2069.

[2447] 步骤E:叔7基-[2-[[3-[(5-甲基吡唑-1-基)甲基]-1-金刚烷基]氧基]乙氧基]-二苯基-硅烷

[2448] 向在DCM(67ml)中的来自步骤D的产物(6.52g,22.5mmol)和咪唑(2.29g,1.5当量)中添加叔-丁基-氯代-二苯基-硅烷(6.9mL,1.2当量)并将该反应混合物搅拌1h。通过柱色谱法(硅胶,庚烷和MTBE作为洗脱剂)纯化提供期望的产物(11.0g,92.7%)。LC/MS($C_{33}H_{45}N_2O_2Si$)529$[M+H]^+$.

[2449] 步骤F:叔丁基-[2-[[3-[(4-碘-5-甲基-吡唑-1-基)甲基]-1-金刚烷基]氧基]乙

氧基]-二苯基-硅烷

[2450] 向在DMF(105mL)中的来自步骤E的产物(11.0g,20.8mmol)中添加N-碘代琥珀酰亚胺(5.85g,1.25当量)并将该反应混合物搅拌3h。将该反应混合物用水稀释并用DCM萃取后,将合并的有机相用饱和硫代硫酸钠和盐水清洗、干燥并蒸发获得期望的产物(11.0g,81%)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δppm 7.70-7.36(m,10H),7.44(s,1H),3.86(s,2H),3.67(t,2H),3.45(t,2H),2.24(s,3H),2.12(m,2H),1.66-1.32(m,12H),0.98(s,9H)^{13}C NMR(100MHz,DMSO-d_6)δppm 142.4,140.9,64.4,61.4,60.4,60.3,30.0,27.1,12.2;HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{33}H_{44}IN_2O_2Si$的计算值:655.2217发现值:655.2217.

[2451] 步骤G:叔丁基-[2-[[3-[[5-甲基-4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂环戊硼烷-2-基)吡唑-1-基]甲基]-1-金刚烷基]氧基]乙氧基]-二苯基-硅烷

[2452] 在0℃向在THF(84mL)中的来自步骤F的产物(11.0g,16.8mmol)中添加氯代(异丙基)镁-LiCl(1.3M,在THF中,17mL,1.2当量),将该反应混合物搅拌40min,用2-异丙氧基-4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂环戊硼烷(10.3mL,3当量)处理,并搅拌10min。在用NH_4Cl饱和溶液稀释并用EtOAc萃取后,将合并的有机相浓缩并通过柱色谱法(硅胶,庚烷和MTBE作为洗脱剂)纯化以得到所期望产物(9.0g,82%)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δppm 7.66(d,4H),7.47(s,1H),7.45(t,2H),7.40(t,4H),3.77(s,2H),3.67(t,2H),3.44(t,2H),2.36(s,3H),2.11(br,2H),1.60/1.48(d+d,4H),1.44(d,2H),1.44(s,2H),1.40(d,4H),1.23(s,12H),0.97(s,9H);^{13}C NMR(100MHz,DMSO-d_6)δppm 146.9,144.2,133.8,130.2,128.3,125.7,104.6,83.0,72.5,64.4,61.4,58.9,44.6,40.7,39.6,38.7,35.6,30.0,27.1,25.2,19.3,12.1;HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{39}H_{56}BN_2O_4Si$的计算值:655.4102发现值:655.4108.

[2453] 制备18:(4-甲氧基苯基)甲基6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[5-甲基-1-[[3-[2-(p-甲苯基磺酰基氧基)乙氧基]-1-金刚烷基]甲基]吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸酯

[2454] 步骤A:(4-甲氧基苯基)甲基3-[1-[[3-[2-[叔丁基(二苯基)甲硅烷基]氧基乙氧基]-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]-6-[3-(3,6-二氯-5-甲基-哒嗪-4-基)丙基氨基]吡啶-2-甲酸酯

[2455] 在80℃将来自制备11的产物(3.67g,6.79mmol)、来自制备17的产物(4.89g,1.1当量)、Pd(AtaPhos)$_2$Cl$_2$(301mg,0.1当量)和Cs_2CO_3(6.64g,3当量)在1,4-二噁烷(41mL)和H2O(6.8mL)中的混合物搅拌12h。通过柱色谱法(硅胶,庚烷和EtOAc作为洗脱剂)纯化提供期望的产物(3.0g,45%)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δppm 7.69-7.37(m,10H),7.31(d,1H),7.24(s,1H),7.12(m,2H),6.98(t,1H),6.83(m,2H),6.62(d,1H),4.99(s,2H),3.76(s,2H),3.70(s,3H),3.66(t,2H),3.45(t,2H),3.35(m,2H),2.85(m,2H),2.34(s,3H),2.12(m,2H),2.02(s,3H),1.77(m,2H),1.65-1.33(m,12H),0.97(s,9H);HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{55}H_{65}Cl_2N_6O_5Si$的计算值:987.4163发现值:987.4158.

[2456] 步骤B:(4-甲氧基苯基)甲基3-[1-[[3-[2-[叔丁基(二苯基)甲硅烷基]氧基乙氧基]-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]-6-(3-氯-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基)吡啶-2-甲酸酯

[2457] 在110℃将来自步骤A的产物(3.00g,3.00mmol)、Cs_2CO_3(1.95g,2当量)、DIPEA(1.0mL,2当量)和Pd(Ataphos)$_2$Cl$_2$(212mg,0.1当量)在1,4-二噁烷(15mL)中的混合物搅拌

18h。通过柱色谱法(硅胶,DCM和MeOH作为洗脱剂)纯化提供期望的产物(1.74g,60%)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δppm 7.84(d,1H),7.68(d,1H),7.68-7.37(m,10H),7.36(s,1H),7.16(m,2H),6.87(m,2H),5.08(s,2H),3.96(m,2H),3.81(s,2H),3.72(s,3H),3.67(t,2H),3.46(t,2H),2.87(t,2H),2.29(s,3H),2.13(m,2H),2.09(s,3H),1.98(m,2H),1.65-1.37(m,12H),0.97(s,9H);HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{55}H_{64}ClN_6O_5Si$的计算值:951.4396发现值:951.4397.

[2458] 步骤C:(4-甲氧基苯基)甲基6-(3-氯-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基)-3-[1-[[3-(2-羟基乙氧基)-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸酯

[2459] 在0℃向在THF(20mL)中的来自步骤B的产物(1.73g,1.82mmol)中添加TBAF在THF中的1M溶液(2.0mL,1.1当量)并将该反应混合物搅拌2h。通过柱色谱法(硅胶,DCM和MeOH作为洗脱剂)纯化提供期望的产物(1.06g,82%)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δppm 7.85(d,1H),7.71(d,1H),7.36(s,1H),7.19(m,2H),6.90(m,2H),5.10(s,2H),4.47(t,1H),3.96(m,2H),3.81(s,2H),3.75(s,3H),3.40(m,2H),3.34(t,2H),2.87(t,2H),2.29(s,3H),2.14(m,2H),2.10(s,3H),1.98(m,2H),1.67-1.36(m,12H);HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{39}H_{46}ClN_6O_5$的计算值:713.3218发现值:713.3217.

[2460] 步骤D:(4-甲氧基苯基)甲基6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[3-(2-羟基乙氧基)-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸酯

[2461] 在130℃将来自步骤C的产物(1.00g,1.40mmol)、1,3-苯并噻唑-2-胺(421mg,2当量)、$Pd_2(dba)_3$(128mg,0.1当量)、XantPhos(162mg,0.2当量)和DIPEA(0.72mL,3当量)在环己醇(10mL)中的混合物搅拌1h。通过柱色谱法(硅胶,庚烷、接着DCM和MeOH作为洗脱剂)纯化提供期望的产物(600mg,53%)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δppm12.18/10.84(brs/brs,1H),7.94(d,1H),7.83(br,1H),7.69(d,1H),7.57(br,1H),7.36(s,1H),7.35(brt,1H),7.20(d,2H),7.17(brt,1H),6.91(d,2H),5.11(s,2H),4.47(brt,1H),4.00(t,2H),3.81(s,2H),3.75(s,3H),3.41(brq,2H),3.35(t,2H),2.85(t,2H),2.32(s,3H),2.14(m,2H),2.12(s,3H),1.99(qn,2H),1.62/1.53(d+d,4H),1.53(s,2H),1.49/1.44(d+d,2H),1.44(s,4H);^{13}C NMR(100MHz,DMSO-d_6)δppm 139.9,137.6,130.1,126.4,122.4,122.0,118.9,114.2,66.7,61.9,61.5,59.5,55.6,45.4,44.7,40.8,39.5,35.6,30.1,24.3,21.7,12.6,10.8;HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{46}H_{51}N_8O_5S$的计算值:827.3703发现值:827.3709.

[2462] 步骤E:(4-甲氧基苯基)甲基6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[5-甲基-1-[[3-[2-(p-甲苯基磺酰基氧基)乙氧基]-1-金刚烷基]甲基]吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸酯

[2463] 向在二氯甲烷(7mL)中的来自步骤D的产物(600mg,0.726mmol)和N,N-二乙基乙胺(0.31mL,3当量)中添加p-甲苯基磺酰基4-甲基苯磺酸酯(357mg,1.5当量)并将该反应混合物搅拌18h。通过快速色谱法(硅胶,使用DCM和MeOH作为洗脱剂)纯化提供354mg(50%)的期望的产物。^{1}H NMR(500MHz,dmso-d6)δppm 12.22/10.85(brs/brs,1H),7.94(d,1H),7.81(br,1H),7.77(d,2H),7.70(d,1H),7.52(br,1H),7.45(d,2H),7.37(s,1H),7.35(t,1H),7.19(d,2H),7.17(t,1H),6.89(d,2H),5.10(s,2H),4.05(t,2H),4.00(t,2H),3.79(s,2H),3.74(s,3H),3.49(t,2H),2.86(t,2H),2.40(s,3H),2.32(s,3H),2.11(m,2H),2.11(s,3H),

1.99(qn,2H),1.55-1.36(m,12H);^{13}C NMR(500MHz,dmso-d6)δppm 139.9,137.6,130.5,130.3,128.1,126.4,122.4,122.0,118.9,114.2,71.4,66.8,59.4,58.2,55.6,45.4,30.0,24.2,21.6,21.6,12.6,10.9;HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{53}H_{57}N_8O_7S_2$的计算值:981.3792发现值:981.3795.

[2464] 制备1b_01:甲基2-(叔丁氧基羰基氨基)-5-[3-[4-[3-[叔丁氧基羰基(甲基)氨基]丙-1-炔基]-2-氟-苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸酯

[2465] 经烘箱干燥的500mL单颈圆底烧瓶配备经PTFE涂层的磁力搅拌棒并配备回流冷凝器。将其装入13.41g的制备1a(25mmol,1当量)、8.46g的叔-丁基N-甲基-N-丙-2-炔基-氨基甲酸酯(50mmol,2当量)和50mL的DIPA(36.10g,50mL,356.8mmol,14.27当量)然后添加125mL的干THF并用氩气冲洗该系统。在惰性气氛下搅拌5分钟后,添加549mg$Pd(PPh_3)_2Cl_2$(1.25mmol,0.05当量)和238mg CuI(1.25mmol,0.05当量)。然后将所得混合物升温至60℃并在该温度搅拌直至观察不到进一步的转化。将硅藻土添加到反应混合物中并在减压下除去挥发物。然后使用庚烷和EtOAc作为洗脱剂通过快速柱色谱纯化得到10.5g(18.2mmol,73%)所期望产物。^{1}H NMR(500MHz,DMSO-d_6)δppm 11.65(br s,1H),7.31(br d,1H),7.21(br d,1H),7.14(t,1H),4.23(s,2H),4.10(t,2H),3.73(s,3H),3.23(t,2H),2.86(s,3H),2.07(m,2H),1.46/1.41(s,18H);^{13}C NMR(125MHz,DMSO-d_6)δppm 129.1,119.2,115.4,68.1,51.9,38.6,33.8,30.5,23.2;HRMS-ESI(m/z):$[M+H]^+$针对$C_{28}H_{37}FN_3O_7S$的计算值:578.2331,发现值578.2331.

[2466] 制备2a_01:5-[叔丁基(二甲基)甲硅烷基]氧基-4-[叔丁基(二苯基)甲硅烷基]氧基-戊-1-醇

[2467] 步骤A:戊-4-烯基苯甲酸酯

[2468] 将30.00g的戊-4-烯-1-醇(0.35mol,1当量)和58.5mL的N,N-二乙基乙胺(0.42mol,1.2当量)在200mL的DCM中混合然后冷却至0℃。在0℃在惰性气氛下通过滴液漏斗将48.5mL的苯甲酰氯(0.42mol,1.2当量)添加至该混合物中。添加后,将混合物在0℃进一步搅拌30分钟,然后在室温继续搅拌。将混合物用100mL DCM稀释,然后将有机相分别用水、1M NaOH、1M HCl、盐水洗涤。将有机相经$MgSO4_4$干燥,过滤,浓缩并使用庚烷和EtOAc作为洗脱剂通过快速柱色谱纯化,得到63.19g(95%)所期望产物,呈无色液体。^{1}H NMR(500MHz,DMSO-d_6)δppm7.97(dd,2H),7.66(t,1H),7.53(t,2H),5.91-5.81(m,1H),5.09-4.97(m,2H),4.27(t,2H),2.17(q,2H),1.81(qv,2H);^{13}C NMR(125MHz,DMSO-d_6)δppm 166.2,138.2,133.8,130.3,129.6,129.2,115.8,64.5,30.1,27.8;GC-MS-EI(m/z):$[M]^+$针对$C_{12}H_{14}O_2$的计算值:190.1,发现值190.

[2469] 步骤B:4,5-二羟基戊基苯甲酸酯

[2470] 将42.22g步骤A的产物(0.26mol,1.0当量),50.40g 4-甲基-4-氧化-吗啉-4-鎓;水合物(0.37mol,1.7当量)混合在360mL的2-甲基异丙-2-醇和40mL的水中,然后添加6.57g的四氧代锇(2.5w%,在2-甲基异丙-2-醇中,0.64mmol,0.002当量)并在60℃将混合物搅拌24小时。观察到全部转化。将混合物冷却至室温并添加1M$Na_2S_2O_3$,然后在室温再搅拌10分钟。添加DCM并分离有机相,分别用水、盐水洗涤。将溶液经$MgSO4_4$干燥,过滤,浓缩并使用庚烷和EtOAc作为洗脱剂通过快速柱色谱纯化,得到36.9g(63%)所期望产物,呈白色固体。^{1}H NMR(500MHz,DMSO-d_6)δppm 7.99-7.50(m,5H),4.50(m,2H),4.28(m,2H),3.45(m,1H),

3.30-3.24(m+m,2H),1.85-1.72(m+m,2H),1.59-1.33(m+m,2H);^{13}C NMR(125MHz,DMSO-d_6)δppm 166.2,133.8-129.1,71.2,66.3,65.5,30.3,25.2;HRMS-ESI(m/z):[M+Na]$^+$针对$C_{12}H_{16}NaO_4$的计算值:247.0941,发现值247.0941.

[2471] 步骤C:5-[叔丁基(二甲基)甲硅烷基]氧基-4-羟基-戊基]苯甲酸酯

[2472] 将24.86g步骤B的产物(0.11mol,1当量)和15.09g咪唑(0.22mol,2当量)在120mL N,N-二甲基甲酰胺中混合然后在惰性气氛下冷却至-20℃。经30分钟的时间以缓慢速率添加在40mL的N,N-二甲基甲酰胺中的16.71g的叔-丁基-氯-二甲基-硅烷(0.11mol,1当量),用10mL的DCM支持,然后静置至升温至室温并进一步搅拌。观察到完全转化。用浓NH_4Cl淬灭然后蒸发大部分挥发物。将EtOAc和水添加至残余物中,将该有机相分离然后用水和盐水清洗、用$MgSO_4$干燥、过滤、浓缩并使用庚烷和EtOAc作为洗脱剂通过快速柱色谱法纯化以得到33.71g(90%)的期望的产物,呈无色油状物。^{1}H NMR(500MHz,DMSO-d_6)δppm 7.95(m,2H),7.66(m,1H),7.52(m,2H),4.58(d,1H),4.29(m,2H),3.51-3.35(dd+dd,2H),3.48(m,1H),1.86-1.74(m+m,2H),1.67-1.34(m+m,2H),0.83(s,9H),0.01(s,6H);^{13}C NMR(125MHz,DMSO-d_6)δppm 166.2,133.7,130.4,129.5,129.2,70.6,67.7,65.3,30.2,26.3,24.9,-4.9.

[2473] 步骤D:[5-[叔丁基(二甲基)甲硅烷基]氧基-4-[叔丁基(二苯基)甲烷基]氧基-戊基]苯甲酸酯

[2474] 将33.51g的来自步骤C的产物(0.10mol,1当量)、16.85g的咪唑(0.25mol,2.5当量)和1.21g的N,N-二甲基吡啶-4-胺(0.01,0.1当量)混合入230mL的N,N-二甲基甲酰胺中,然后以缓慢速率添加38mL的叔-丁基-氯代-二苯基-硅烷(0.15mol,1.5当量),用20mL的N,N-二甲基甲酰胺支持,然后在50℃搅拌过夜。观察到完全转化。将混合物冷却至室温,用浓NH_4Cl淬灭然后蒸发大部分挥发物。将EtOAc和水添加至残余物中,将该有机相分离然后用水和盐水清洗、用$MgSO_4$干燥、过滤、浓缩并使用庚烷和EtOAc作为洗脱剂通过快速柱色谱法纯化以得到56.43g(99%)的期望的产物,呈无色稠油状物。^{1}H NMR(500MHz,DMSO-d_6)δppm7.91-7.37(m,15H),4.17(m,2H),3.76(m,1H),3.45(m,2H),1.72(m,2H),1.66-1.57(m+m,2H),0.99(s,9H),0.74(s,9H),-0.12/-0.16(s+s,6H);^{13}C NMR(125MHz,DMSO-d_6)δppm 166.1,136.0-128.0,73.3,66.0,65.1,30.3,27.3,26.1,24.0,-5.1;HRMS-ESI(m/z):[M+Na]$^+$针对$C_{34}H_{48}NaO_4Si_2$的计算值:599.2983,发现值599.2981.

[2475] 步骤E:5-[叔丁基(二甲基)甲硅烷基]氧基-4-[叔丁基(二苯基)甲硅烷基]氧基-戊-1-醇

[2476] 将46.10g步骤D的产物(0.08mol,1当量)溶解在227mL MeOH和117mL THF中,然后将12.79g NaOH(0.32mol,4.0当量)溶解在85mL缓慢加入的水中,同时用冰冷却混合物。添加后,将混合物在室温搅拌直至观察到完全转化(约4小时)。添加EtOAc和水然后分离,并将该有机相用盐水清洗,用$MgSO_4$干燥、过滤、浓缩并通过快速柱色谱法使用庚烷和EtOAc作为洗脱剂纯化以得到29.32g(78%)的期望的产物,呈无色油状物。^{1}H NMR(500MHz,DMSO-d_6)δppm 7.65-7.37(m,10H),4.34(t,1H),3.71(m,1H),3.42(m,2H),3.26(m,2H),1.52(m,2H),1.42(m,2H),0.99(s,9H),0.77(s,9H),-0.13(s,6H);^{13}C NMR(125MHz,DMSO-d_6)δppm 135.8,135.8,134.3,134.0,130.3,130.2,128.2,128.0,74.0,66.4,61.4,30.4,28.3,27.3,26.2,-5.1;HRMS-ESI(m/z):[M+Na]$^+$针对$C_{27}H_{44}NaO_3Si2$的计算值:495.2721,发现值495.2706.

[2477] 制备3a_01:甲基5-[3-[4-[3-[叔丁氧基羰基(甲基)氨基]丙-1-炔基]-2-氟-苯氧基]丙基]-2-[[5-[叔丁基(二甲基)甲硅烷基]氧基-4-[叔丁基(二苯基)甲硅烷基]氧基-戊基]氨基]噻唑-.4-甲酸酯

[2478] 步骤A:甲基2-[叔丁氧基羰基-[5-[叔丁基(二甲基)甲硅烷基]氧基-4-[叔丁基(二苯基)甲硅烷基]氧基-戊基]氨基]-5-[3-[4-[3-[叔丁氧基羰基(甲基)氨基]丙-1-炔基]-2-氟-苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸酯

[2479] 使用光信一般程序II从制备1b_01作为合适的氨基甲酸酯和制备2a_01作为合适的醇开始,获得2.5g(61%)的所期望产物。^{1}H NMR(500MHz,DMSO-d_6)δppm 7.60-7.33(m,10H),7.28(dd,1H),7.17(m,1H),7.1(t,1H),4.22(s,2H),4.09(t,2H),3.94(m,2H),3.71(s,3H),3.67(m,1H),3.38(m,2H),3.22(t,2H),2.85(s,3H),2.07(m,2H),1.65(m,2H),1.48(m,2H),1.45/1.40(s+s,18H),0.93(s,9H),0.71(s,9H),-0.17/-0.22(s+s,6H);^{13}C NMR(125MHz,DMSO-d_6)δppm 147.4,129,119.3,115.4,85.1,82.3,73.3,68.1,65.6,51.9,46.5,38.4,33.8,30.5,30.5,28.5/28,27.2,26.0,23.1,23.0,-5.3;HRMS-ESI(m/z):[M+H]$^{+}$针对$C_{55}H_{79}FN_3O_9SSi_2$的计算值:1032.5054发现值1032.5060.

[2480] 步骤B:甲基5-[3-[4-[3-[叔丁氧基羰基(甲基)氨基]丙-1-炔基]-2-氟-苯氧基]丙基]-2-[[5-[叔丁基(二甲基)甲硅烷基]氧基-4-[叔丁基(二苯基)甲硅烷基]氧基-戊基]氨基]噻唑-4-甲酸酯

[2481] 使用HFIP脱保护通用程序,从来自步骤A的产物作为合适氨基甲酸酯开始,获得1.2g(53%)的所期望产物。^{1}H NMR(500MHz,DMSO-d_6)δppm 7.68-7.35(m,10H),7.56(t,1H),7.30(d,1H),7.20(d,1H),7.11(t,1H),4.22(br.,2H),4.07(t,2H),3.70(m,1H),3.68(s,3H),3.42/3.38(dd+dd,2H),3.11(t,2H),3.04(brq.,2H),2.86(br.,3H),1.99(quint.,2H),1.54(m,2H),1.53/1.45(m+m,2H),1.41(s,9H),0.97(s,9H),0.74(s,9H),-0.14/-0.18(s+s,6H);^{13}C NMR(125MHz,DMSO-d_6)δppm 164.6,163.0,154.9,151.4,147.5,136.9,136.0,129.1,119.3,115.4,114.8,85.2,82.3,79.8,73.6,68.0,66.2,51.7,44.7,38.5,33.8,31.1,30.6,28.5,27.2,26.2,24.3,23.3,19.4,18.3,-5.2;HRMS-ESI(m/z):[M+H]$^{+}$针对$C_{50}H_{71}FN_3O_7SSi_2$的计算值:932.4530发现值932.4526.

[2482] 制备3e_01:乙基5-(3-氯丙基)-2-(甲基氨基)噻唑-4-甲酸酯

[2483] 将2.25g的甲基硫脲(25.0mmol,1当量)在100mL的乙醇中的悬浮液冷却至0℃,然后在此温度逐滴添加7.46g的乙基3-溴代-6-氯代-2-氧代-己酸酯(27.5mmol,1.1当量)。在0℃搅拌15分钟后,添加7mLTEA(5.06g,50mmol,2当量)。将所得混合物在室温搅拌过夜。观察到完全转化。真空除去挥发物,然后将所得残余物在EtOAc和水之间分配。分离各层,然后用水洗涤有机层,然后用盐水洗涤。将合并的有机层经Na_2SO_4干燥,过滤并在减压下浓缩滤液。然后使用庚烷和EtOAc作为洗脱剂通过快速柱色谱纯化得到5g(76%)所期望产物。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δppm 7.55(q,1H),4.21(q,2H),3.65(t,2H),3.09(m,2H),2.78(d,3H),1.98(m,2H),1.26(t,3H);^{13}C NMR(125MHz,DMSO-d_6)δppm 165.6,162.5,137.4,135.5,60.5,45.0,34.1,31.2,24.4,14.7;HRMS-ESI(m/z):[M+H]$^{+}$针对$C_{10}H_{16}ClN_2O_2S$的计算值:263.0616,发现值263.0615.

[2484] 制备3h_01:甲基5-[3-[4-[3-[叔丁氧基羰基(甲基)氨基]丙-1-炔基]-2-氟-苯氧基]丙基]-2-[2-(2,2-二甲基-1,3-二氧戊环-4-基)乙基氨基]噻唑-4-甲酸酯

[2485] 步骤A:甲基2-[叔丁氧基羰基-[2-(2,2-二甲基-1,3-二氧戊环-4-基)乙基]氨基]-5-[3-(2-氟-4-碘-苯氧基)丙基]噻唑-4-甲酸酯

[2486] 使用光信通用程序II从2.68g的制备1a(5mmol,1当量)和1.46g的2-(2,2-二甲基-1,3-二氧戊环-4-基)乙醇(1.42mL,10mmol,2当量)作为合适醇开始,获取2.8g(84%)的期望的产物。^{1}H NMR(500MHz,DMSO-d_6)δppm 7.57(dd,1H),7.44(dm,1H),6.96(t,1H),4.12/4.02(m+m,2H),4.07(m,1H),4.05(t,2H),4.02/3.54(dd+dd,2H),3.75(s,3H),3.21(t,2H),2.06(m,2H),1.86/1.82(m+m,2H),1.51(s,9H),1.29(s,3H),1.22(s,3H);^{13}C NMR(125MHz,DMSO-d_6)δppm 134.0,124.9,117.6,73.8,68.9,68.1,52.0,44.0,32.2,30.5,28.1,27.3,25.9,23.1;HRMS-ESI(m/z):$[M+H]^+$针对$C_{26}H_{35}FIN_2O_7S$的计算值:665.1188,发现值665.1175.

[2487] 步骤B:甲基2-[2-(2,2-二甲基-1,3-二氧戊环-4-基)乙基氨基]-5-[3-(2-氟-4-碘-苯氧基)丙基]噻唑-4-甲酸酯

[2488] 使用HFIP脱保护通用程序,从2.5g来自步骤A的产物(3.80mmol)作为合适氨基甲酸酯开始,获得1.6g(75%)的所期望产物。^{1}H NMR(500MHz,DMSO-d_6)δppm 7.6(t,1H),7.59(dd,1H),7.45(dm,1H),6.97(dd,1H),4.10(m,1H),4.03(t,2H),4.01/3.48(dd+dd,2H),3.69(s,3H),3.27/3.19(m+m,2H),3.11(t,2H),1.99(m,2H),1.76/1.72(m+m,2H),1.31(s,3H),1.25(s,3H);HRMS-ESI(m/z):$[M+H]^+$针对$C_{21}H_{27}FIN_2O_5S$的计算值:565.0663,发现值565.0642.

[2489] 步骤C:甲基5-[3-[4-[3-[叔丁氧基羰基(甲基)氨基]丙-1-炔基]-2-氟-苯氧基]丙基]-2-[2-(2,2-二甲基-1,3-二氧戊环-4-基)乙基氨基]噻唑-4-甲酸酯

[2490] 使用蘭头一般程序从来自步骤B的400mg产物(0.71mmol,1当量)和240mg叔丁基N-甲基-N-丙-2-炔基-氨基甲酸酯(1.42mmol,2当量)作为合适的乙炔开始,得到300mg(70%)的所期望产物。^{1}H NMR(500MHz,DMSO-d_6)δppm 7.60(t,1H),7.31(brd,1H),7.21(dd,1H),7.13(t,1H),4.23(brs,2H),4.09(m,1H),4.07(t,2H),4.00/3.48(dd+dd,2H),3.69(s,3H),3.27/3.19(m+m,2H),3.12(t,2H),2.86(brs,3H),2.00(m,2H),1.74(m,2H),1.41(s,9H),1.31(s,3H),1.25(s,3H);^{13}C NMR(125MHz,DMSO-d_6)δppm164.5,136.9,136.4,129.1,119.3,115.4,85.2,82.3,73.8,69.0,68.0,51.7,41.4,38.4,33.8,33.2,30.6,28.5,27.3,26.1,23.3;HRMS-ESI(m/z):$[M+H]^+$针对$C_{30}H_{41}FN_3O_7S$的计算值:606.2644,发现值606.2650.

[2491] 制备3n_01:甲基5-[3-[4-[3-[叔丁氧基羰基(甲基)氨基]丙-1-炔基]-2-氟-苯氧基]丙基]-2-[3-[叔丁基(二甲基)甲硅烷基]氧基丙基氨基]噻唑-4-甲酸酯

[2492] 步骤A:甲基2-[叔丁氧基羰基-[3-[叔丁基(二甲基)甲硅烷基]氧基丙基]氨基]-5-[3-[4-[3-[叔丁氧基羰基(甲基)氨基]丙-1-炔基]-2-氟-苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸酯

[2493] 使用光信通用程序II从577mg制备1b_01(1mmol,1当量)作为适当的氨基甲酸酯和380mg 3-[叔丁基(二甲基)甲硅烷基]氧基丙-1-醇(2mmol,2当量)作为合适的醇开始,得到600mg(80%)的所期望产物。

[2494] 步骤B:甲基5-[3-[4-[3-[叔丁氧基羰基(甲基)氨基]丙-1-炔基]-2-氟-苯氧基]丙基]-2-[3-[叔丁基(二甲基)甲硅烷基]氧基丙基氨基]噻唑-4-甲酸酯

[2495] 使用HFIP脱保护通用程序,从来自步骤A的产物作为合适氨基甲酸酯开始,获得310mg(47%)的所期望产物。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δppm 7.50(t,1H),7.30(d,1H),7.20

(d,1H),7.11(t,1H),4.21(bs,2H),4.05(t,2H),3.62(t,2H),3.67(s,3H),3.19(q,2H),3.10(t,2H),2.84(brs,3H),2.04-1.94(m,2H),1.74-1.63(m,2H),1.40(s,9H),0.84(s,9H),0.00(s,6H).

[2496] 制备4a_01:N-(6-氯-4-甲基-哒嗪-3-基)-3-(2-三甲基甲硅烷基乙氧基甲基)-1,3-苯并噻唑-2-亚胺

[2497] 步骤A:N-(6-氯-4-甲基-哒嗪-3-基)-1,3-苯并噻唑-2-胺

[2498] 经烘箱干燥的2L单颈圆底烧瓶配备经PTFE涂层的磁力搅拌棒和回流冷凝器。将其中装入34.0g的6-氯代-4-甲基-哒嗪-3-胺(237mmol,1当量)、34mL的2-氯代-1,3-苯并噻唑(44.2g,260mmol,1.1当量)、124mL的DIPEA(91.8g,710mmol,3当量)和137g的Cs_2CO_3(710mmol,3当量),然后添加1L的DMF并用氩气冲洗该系统。在惰性气氛下搅拌5分钟后,添加2.01g $Pd_2(dba)_3$(5.9mmol,0.025当量)和6.85gXantPhos(11.8mmol,0.05当量)。然后将所得混合物升温至75℃并在该温度下搅拌4小时以达到完全转化。将反应混合物冷却至室温,然后倒入3L水中,同时剧烈搅拌。30分钟后过滤除去沉淀产物,然后用水洗涤2次(2×2L)。产物在高真空下干燥过夜。将干燥的粗产物在1L庚烷:Et_2O(3:2)中搅拌30分钟,然后过滤,得到64.5g(98%)所期望产物,呈绿色粉末。^1H NMR(500MHz,DMSO-d_6)δppm 11.96(brs,1H),7.86(d,1H),7.65(s,1H),7.51(d,1H),7.38(t,1H),7.21(t,1H),2.37(s,3H);^{13}C NMR(125MHz,DMSO-d_6)δppm 130.3,129.5,126.6,122.8,122.3,17.2;HRMS-ESI(m/z):[M+H]$^+$针对$C_{12}H_{10}ClN_4S$的计算值:277.0309,发现值277.0305.

[2499] 步骤B:N-(6-氯-4-甲基-哒嗪-3-基)-3-(2-三甲基甲硅烷基乙氧基甲基)-1,3-苯并噻唑-2-亚胺

[2500] 将配备经PTFE涂层的磁性搅拌棒的经烘箱干燥的2L单颈圆底烧瓶中装入64.5g的来自步骤A的产物(236mmol,1当量)、123mL的DIPEA(9.16g,708mmol,3当量)、14.43g的N,N-二甲基吡啶-4-胺(11.81mmol,0.05当量)在N_2下在1L的干DCM中冷却至0℃。并且在强烈的机械搅拌期间,将46.00mL的2-(氯代甲氧基)乙基-三甲基-硅烷(43.32g,259mmol,1.1当量)经5分钟的时间逐滴添加至混合物中。当反应达到完全转化时,将其在0℃搅拌30分钟。向反应混合物中加入24.5mL水,然后向反应混合物中加入硅藻土,减压除去挥发物。使用庚烷和EtOAc作为洗脱剂通过快速柱色谱纯化得到46.62g(48%)所期望产物。^1H NMR(500MHz,DMSO-d_6)δppm 7.85(dm,1H),7.72(q,1H),7.53(dm,1H),7.47(m,1H),7.29(m,1H),5.89(s,2H),3.70(m,2H),2.39(d,3H),0.90(m,2H),-0.12(s,9H);^{13}C NMR(125MHz,DMSO-d6)δppm 159.5,158.5,150.0,138.1,137.4,129.5,127.4,125.5,123.8,123.2,112.4,73.0,66.8,17.7,17.1,-1.0;HRMS-ESI(m/z):[M+H]$^+$针对$C_{18}H_{24}ClN_4OSSi$的计算值:407.1123,发现值407.1120.

[2501] 制备5a_01:甲基5-[3-[4-[3-[叔丁氧基羰基(甲基)氨基]丙-1-炔基]-2-氟-苯氧基]丙基]-2-[[4-[叔丁基(二苯基)甲硅烷基]氧基-5-(p-甲苯基磺酰基氧基)戊基]-[5-甲基-6-[(Z)-[3-(2-三甲基甲硅烷基乙氧基甲基)-1,3-苯并噻唑-2-亚基]氨基]哒嗪-3-基]氨基]噻唑-4-甲酸酯

[2502] 步骤A:甲基5-[3-[4-[3-[叔丁氧基羰基(甲基)氨基]丙-1-炔基]-2-氟-苯氧基]丙基]-2-[[5-[叔丁基(二甲基)甲硅烷基]氧基-4-[叔丁基(二苯基甲硅烷基]氧基-戊基]-[5-甲基-6-[(Z)-[3-(2-三甲基甲硅烷基乙氧基甲基)-1,3-苯并噻唑-2-亚基]氨基]哒嗪-

3-基]氨基]噻唑-4-甲酸酯

[2503] 使用Buchwald一般程序III从12g制备3a_01(13mmol)和6.30g制备4a_01(15.6mmol)作为合适的卤化物开始,获得14g(83%)所期望产物。^{1}H NMR(500MHz,DMSO-d_6)δppm 7.85-7.23(m,14H),7.58(s,1H),7.31(t,1H),7.19(m,1H),7.14(t,1H),5.86(s,2H),4.37(t,2H),4.20(s,2H),4.15(t,2H),3.73(s,3H),3.71(t,2H),3.67(m,1H),3.39(m,2H),3.27(t,2H),2.83(s,3H),2.41(s,3H),2.12(m,2H),1.72(m,2H),1.52(m,2H),1.40(s,9H),0.90(t,2H),0.89(s,9H),0.69(s,9H),-0.14(s,9H),-0.19/-0.23(s+s,6H);^{13}C NMR(125MHz,DMSO-d_6)δppm 147.5,129.1,119.3,117.5,115.4,73.4,72.3,68.4,66.8,65.8,51.8,46.6,38.5,33.8,31.0,30.5,28.5,27.1,26.1,23.0,22.6,17.9,17.8,-1.0,-5.3;HRMS-ESI(m/z):[M+H]$^+$针对$C_{68}H_{93}FN_7O_8S_2Si_3$的计算值:1302.5813发现值1302.5819.

[2504] 步骤B:甲基5-[3-[4-[3-[叔丁氧基羰基(甲基)氨基]丙-1-炔基]-2-氟-苯氧基]丙基]-2-[[4-[叔丁基(二苯基)甲硅烷基]氧基-5-羟基-戊基]-[5-甲基-6-[(Z)-[3-(2-三甲基甲硅烷基乙氧基甲基)-1,3-苯并噻唑-2-亚基]氨基]哒嗪-3-基]氨基]-噻唑-4-甲酸酯

[2505] 经烘箱干燥的100mL单颈圆底烧瓶配备经PTFE涂层的磁力搅拌棒并配备回流冷凝器。将其中装入1.40g的来自步骤A的产物(1.1mmol,1当量)和12mg的樟脑磺酸(0.054mmol,0.05当量)、5mL的DCM和1mL的MeOH。将所得混合物在室温搅拌过夜以达到完全转化。将反应混合物直接浓缩至硅藻土,然后使用庚烷和EtOAc作为洗脱剂通过快速柱色谱法纯化,得到700mg(55%)呈黄色固体的所期望产物。^{1}H NMR(500MHz,DMSO-d_6)δppm 7.85-7.14(m,14H),7.56(s,1H),7.32(dd,1H),7.20(m,1H),7.15(t,1H),5.86(s,2H),4.56(t,1H),4.33(m,2H),4.20(s,2H),4.15(t,2H),3.74(s,3H),3.72(t,2H),3.65(m,1H),3.27(t,2H),3.27(t,2H),2.83(s,3H),2.41(s,3H),2.13(m,2H),1.73/1.64(m+m,2H),1.52(m,2H),1.40(s,9H),0.90(t,2H),0.86(s,9H),-0.13(s,9H);^{13}C NMR(125MHz,DMSO-d_6)δppm154.9,147.6,129.1,119.4,117.5,115.4,82.4,73.7,72.9,68.4,66.8,64.5,51.9,46.8,38.5,33.8,31.0,30.6,28.5,27.2,23.1,22.5,17.9,17.8,-1.0;HRMS-ESI(m/z):[M+H]$^+$针对$C_{62}H_{79}FN_7O_8S_2Si_2$的计算值:1188.4949发现值1188.4938.

[2506] 步骤C:甲基5-[3-[4-[3-[叔丁氧基羰基(甲基)氨基]丙-1-炔基]-2-氟-苯氧基]丙基]-2-[[4-[叔丁基(二苯基)甲硅烷基]氧基-5-(p-甲苯基磺酰基氧基)戊基]-[5-甲基-6-[(Z)-[3-(2-三甲基甲硅烷基乙氧基甲基)-1,3-苯并噻唑-2-亚基]氨基]哒嗪-3-基]氨基]噻唑-4-甲酸酯

[2507] 将配备经PTFE涂层的磁性搅拌棒的经烘箱干燥的100mL单颈圆底烧瓶中装入700mg的来自步骤B的产物(0.58mmol,1当量)和907mg的N,N-二甲基-1-(p-甲苯基磺酰基)吡啶-1-鎓-4-胺氯化盐(2.9mmol,5当量;参见,例如,Trtrahedron Lett.2016,57,4620)溶解在35mL的DCM中并在室温搅拌过夜。反应达到完全转化。将反应混合物直接浓缩到硅藻土上,然后使用庚烷和EtOAc作为洗脱剂通过快速柱色谱法纯化,得到450mg(56%)的所期望产物。^{1}H NMR(500MHz,DMSO-d_6)δppm 7.88-7.23(m,14H),7.58(m,2H),7.53(s,1H),7.31(m,2H),7.31(dd,1H),7.19(m,1H),7.15(t,1H),5.86(s,2H),4.20(s,2H),4.16(t,2H),4.15(t,2H),3.92(m,2H),3.84(m,1H),3.72(t,2H),3.70(s,3H),3.27(t,2H),2.83(s,3H),2.41(s,3H),2.33(s,3H),2.13(m,2H),1.47(m,2H),1.47(m,2H),1.40(s,9H),0.91(t,2H),0.86

(s,9H),-0.13(s,9H);^{13}C NMR(125MHz,DMSO-d_6)δppm 147.5,145.3,130.4,129.1,128.0,119.3,117.4,115.5,72.9,72.6,70.4,68.4,66.8,51.8,46.2,38.6,33.8,31.0,30.1,28.5,27.0,23.1,22.4,21.5,17.8,17.8,-1.0;HRMS-ESI(m/z):[M+H]$^+$针对$C_{69}H_{85}FN_7O_{10}S_3Si_2$的计算值:1342.5037发现值1342.5039.

[2508] 制备5g_01:乙基5-(3-碘丙基)-2-[甲基-[5-甲基-6-[(Z)-[3-(2-三甲基甲硅烷基乙氧基甲基)-1,3-苯并噻唑-2-亚基]氨基]哒嗪-3-基]氨基]噻唑-4-甲酸酯

[2509] 步骤A:乙基5-(3-氯丙基)-2-[甲基-[5-甲基-6-[(Z)-[3-(2-三甲基甲硅烷基乙氧基甲基)-1,3-苯并噻唑-2-亚基]氨基]哒嗪-3-基]氨基]噻唑-4-甲酸酯

[2510] 使用Buchwald一般程序III从3.15g制备3e_01(12mmol,1.2当量)和4.07g制备4a_01(10mmol,1当量)作为合适的卤化物开始,获得2.6g(41%)所期望产物。^{1}H NMR(500MHz,DMSO-d_6)δppm 7.84(d,1H),7.65(s,1H),7.45(d,1H),7.43(tm,1H),7.25(tm,1H),5.85(s,2H),4.30(q,2H),3.77(s,3H),3.71(t,2H),3.71(t,2H),3.22(t,2H),2.48(s,3H),2.10(quin,2H),1.31(t,3H),0.92(t,2H),-0.11(s,9H);^{13}C NMR(125MHz,DMSO-d_6)δppm162.6,157.4,156.8,155.1,151.7,140.5,137.6,137.1,135.3,125.6,123.5,123.2,123.1,117.6,111.9,72.9,66.7,60.7,45.3,35.4,34.4,24.3,18.0,17.8,14.7,-1.0;HRMS-ESI(m/z):[M+H]$^+$针对$C_{28}H_{38}ClN_6O_3S_2Si$的计算值:633.1899,发现值633.1891.

[2511] 步骤B:乙基5-(3-碘丙基)-2-[甲基-[5-甲基-6-[(Z)-[3-(2-三甲基甲硅烷基乙氧基甲基)-1,3-苯并噻唑-2-亚基]氨基]哒嗪-3-基]氨基]噻唑-4-甲酸酯

[2512] 100mL单颈圆底烧瓶配备经PTFE涂层的磁力搅拌棒和回流冷凝器。将其中装入2.6g的来自步骤A的产物(4.10mmol,1当量)、1.23g的NaI(8.2mmol,2当量)和20mL的干丙酮。当反应达到完全转化时,将反应混合物升温至60℃并在该温度搅拌3天。将反应混合物通过添加水稀释然后通过过滤收集沉淀的产物,用水洗涤,然后在高真空下干燥以获得2.5g(84%)的所期望产物。^{1}H NMR(500MHz,DMSO-d_6)δ7.82(d,1H),7.61(s,1H),7.47-7.39(m,1H),7.47-7.39(m,1H),7.23(t,1H),5.83(s,2H),4.29(q,2H),3.75(s,3H),3.71(t,2H),3.33(t,2H),3.16(t,2H),2.42(s,3H),2.13(quint.,2H),1.33(t,3H),0.91(t,2H),-0.12(s,9H);^{13}C NMR(125MHz,DMSO-d_6)δppm 162.6,157.3,156.7,155.1,151.6,140.2,137.6,137.1,135.2,127.1,125.4,123.4,123.2,117.5,111.9,72.8,66.7,60.7,35.2,35.2,27.6,17.8,17.8,14.8,7.8,-1.0;HRMS-ESI(m/z):[M+H]$^+$针对$C_{28}H_{38}IN_6O_3S_2Si$的计算值:725.1255,发现值725.1248.

[2513] 制备5j_01:乙基5-(3-{2-氟-4-[3-(甲基氨基)丙-1-炔-1-基]苯氧基}丙基)-2-[甲基(5-甲基-6-{[(2Z)-3-{[2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基]甲基}-2,3-二氢-1,3-苯并噻唑-2-亚基]氨基}哒嗪-3-基)氨基]-1,3-噻唑-4-甲酸酯

[2514] 步骤A:乙基5-{3-[4-(3-{[(叔丁氧基)羰基](甲基)氨基}丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基]丙基}-2-[甲基(5-甲基-6-{[(2Z)-3-{[2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基]甲基}-2,3-二氢-1,3-苯并噻唑-2-亚基]氨基}哒嗪3-基)氨基]-1,3-噻唑-4-甲酸酯

[2515] 向在二甲基甲酰胺(50mL)中的来自制备5g_01(1.75g,2.41mmol,1当量)的产物中添加在二甲基甲酰胺(10mL)和碳酸铯(2.36g,7.24mmol,3当量)中的来自制备6a_01(877mg,3.14mmol,1.3当量)的产物,并在80℃将该混合物加热16h。将该反应在真空中浓缩,然后在乙酸乙酯和盐水之间分配,并将该有机相干燥(硫酸镁)且在真空中浓缩。通过自

动快速柱色谱法(CombiFlash Rf,40g RediSep™硅胶柱)纯化,用异-庚烷中的0-50%乙酸乙酯的梯度洗脱,得到呈黄色油状物的所期望产物(1.75g,2mmol,83%)。LC/MS($C_{43}H_{54}FN_7O_6SiS_2$)876[M+H]$^+$;RT 1.46(LCMS-V-B2).^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ7.83(dd,1H),7.65(d,J=1.1Hz,1H),7.49-7.39(m,2H),7.35-7.28(m,1H),7.27-7.12(m,3H),5.86(s,2H),4.25(q,J=7.1Hz,2H),4.19(s,2H),4.14(t,J=6.1Hz,2H),3.77(s,3H),3.76-3.68(m,2H),3.26(t,J=7.7Hz,2H),2.84(s,3H),2.45(s,3H),2.19-2.05(m,1H),1.41(s,9H),1.30(t,3H),0.97-0.88(m,2H),-0.12(s,9H).

[2516] 步骤B:乙基5-(3-{2-氟-4-[3-(甲基氨基)丙-1-炔-1-基]苯氧基}丙基)-2-[甲基(5-甲基-6-{[(2Z)-3-{[2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基]甲基}-2,3-二氢-1,3-苯并噻唑-2-亚基]氨基}哒嗪-3-基)氨基]-1,3-噻唑-4-甲酸酯

[2517] 将三氟乙酸(20mL)添加到步骤A的产物(1.5g,1.71mmol,1当量)在二氯甲烷(60mL)中的搅拌溶液中,并将混合物在环境温度搅拌5小时。将反应用二氯甲烷稀释,冷却至0℃并通过添加2N氢氧化钠水溶液碱化。将有机相干燥(硫酸镁)并真空浓缩。通过自动快速柱色谱(CombiFlash Rf,40g RediSep™硅胶柱)纯化,用二氯甲烷中的0-10%甲醇梯度洗脱,得到呈黄色胶状物的所期望产物(329mg,0.42mmol,25%)。LC/MS($C_{38}H_{46}FN_7O_4SiS_2$)776[M+H]$^+$;RT 2.58(LCMS-V-C).^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ7.84(dd,1H),7.67(d,J=1.0Hz,1H),7.49-7.40(m,2H),7.31-7.22(m,2H),7.21-7.11(m,2H),5.86(s,2H),4.26(q,J=7.1Hz,2H),4.15(t,J=6.1Hz,2H),3.76(s,3H),3.76-3.67(m,2H),3.45(s,2H),3.33-3.22(m,2H),2.46(d,J=1.0Hz,3H),2.30(s,3H),2.18-2.06(m,2H),1.29(t,J=7.1Hz,3H),0.97-0.88(m,2H),-0.11(s,9H).

[2518] 制备6a_01:叔丁基N-[3-(3-氟-4-羟基-苯基)丙-2-炔基]-N-甲基-氨基甲酸酯

[2519] 使用菌头一般程序从10.00g2-氟-4-碘苯酚(42.0mmol,1当量)作为合适的苯酚和10.67g叔-丁基N-甲基-N-丙-2-炔基氨基甲酸酯(63.1mmol,1.5当量)作为炔烃反应物,获得10.8g(92%)的所期望产物。^{1}H NMR(500MHz,DMSO-d_6)δppm 10.32(s,1H),7.22(brd,1H),7.08(dm,1H),6.92(dd,1H),4.21(s,2H),2.85(s,3H),1.41(s,9H);^{13}C NMR(125MHz,DMSO-d_6)δppm 150.8,146.4,129.0,119.6,118.4,113.2,84.4,82.7,38.5,33.8,28.5;HRMS-ESI(m/z):[M-C_4H_8+H]$^+$针对$C_{11}H_{11}FNO_3$的计算值:224.0717,发现值224.0720.

[2520] 制备6b_01:4-[3-(二甲基氨基)丙-1-炔基]-2-氟-苯酚

[2521] 使用菌头一般程序从10.00g 2-氟-4-碘苯酚(42.0mmol,1当量)作为合适的苯酚和5.24g N,N-二甲基丙-2-炔-1-胺(63mmol,1.5当量)作为炔烃反应物,得到7.30g(90%)所期望产物。^{1}H NMR(500MHz,DMSO-d_6)δppm 7.20(dd,1H),7.07(dm,1H),6.91(m,1H),3.39(m,2H),2.21(m,3H);^{13}C NMR(125MHz,DMSO-d_6)δppm 150.9,146.2,128.9,119.5,118.4,113.6,84.5,84.2,48.2,44.3;HRMS-ESI(m/z):[M+H]$^+$针对$C_{11}H_{13}FNO$的计算值:194.0976,发现值194.0981.

[2522] 制备6f_01:4-[3-(二甲基氨基)丁-1-炔基]-2-氟-苯酚

[2523] 步骤A:4-(3-氟-4-三异丙基甲硅烷基氧基-苯基)丁-3-炔-2-醇

[2524] 经烘箱干燥的500mL单颈圆底烧瓶配备经PTFE涂层的磁力搅拌棒。将其中装入4.76g的2-氟代-4-碘代-苯酚(20mmol,1当量)和3.96g的K_2CO_3(40mmol,2当量)然后添加100mL的干MeCN。在室温近乎剧烈搅拌下向所得混合物中逐滴添加5.13mL的TIPSCl(4.62g,

24mmol,1.2当量)。将所得混合物在室温搅拌30分钟,同时反应达到完全转化。将反应混合物通过硅藻土垫过滤以除去固体颗粒,然后向滤液中添加3.10mL的丁-3-炔-2-醇(2.81g,40mmol,2当量)和20mL的DIPA,并通过进气口置于氮气气氛下。添加702mgPd(PPh_3)$_2Cl_2$(1mmol,0.05当量)和190mg CuI(1mmol,0.05当量)后,将所得混合物在室温反应30min,至反应完全转化。将硅藻土添加到反应混合物中并在减压下除去挥发物。然后使用庚烷和EtOAc作为洗脱剂通过快速柱色谱纯化得到6.2g(92%)所期望产物,呈黄色油状物。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δppm 7.26(dd,1H),7.12(dm,1H),6.98(t,1H),5.44(d,1H),4.55(m,1H),1.36(d,3H),1.24(sp,1H),1.05(d,18H);^{13}C NMR(100MHz,DMSO-d_6)δppm 153.2,144.1,128.8,122.3,119.6,116.5,93.4,81.4,57.1,25.0,18.0,12.5;HRMS-ESI(m/z):[M+H]$^+$针对$C_{19}H_{30}FO_2Si$的计算值:337.1994,发现值337.1994.

[2525] 步骤B:4-(3-氟-4-三异丙基甲硅烷基氧基-苯基)-N,N-二甲基-丁丁-3-炔-2-胺

[2526] 使用烷基化和原位生成碘一般程序从644mg步骤A的产物(2mmol,1当量)作为适当的醇和5mLN-甲基甲胺(10mmol,5当量,2M溶液,在MeOH中)开始,获得360mg(50%)的所期望产物。^{1}H NMR(500MHz,DMSO-d_6)δppm 7.28(dd,1H),7.14(dm,1H),6.97(t,1H),3.67(q,1H),2.19(s,6H),1.27(d,3H),1.25(m,3H),1.05(d,18H);^{13}C NMR(500MHz,dmso-d6)δppm 153.1,144.0,129.0,122.3,119.8,116.6,88.2,84.1,52.3,41.3,20.1,18.0,12.5;HRMS-ESI(m/z):[M+H]$^+$针对$C_{21}H_{35}FNOSi$的计算值:364.2466,发现值364.2470.

[2527] 步骤C:4-[3-(二甲基氨基)丁丁-1-炔基]-2-氟-苯酚

[2528] 在配备经PTFE涂层的磁力搅拌棒的经烘箱干燥的4mL小瓶中装入溶解在3.0mL的干THF中的200mg的来自步骤B的产物(0.55mmol,1当量),然后在室温逐滴添加660uL的TBAF(1M,在THF中,0.66mmol,1.1当量)。当反应达到完全转化时,将所得混合物在室温搅拌15分钟。通过添加200uL浓NH_4Cl将反应混合物淬灭,然后将硅藻土添加到反应混合物中并在减压下除去挥发物。然后使用DCM和MeOH(1.2%NH3)作为洗脱剂通过快速柱色谱纯化得到80mg(70%)的所期望产物。

[2529] 制备13_01:甲基3-溴-6-(甲基氨基)吡啶-2-甲酸酯

[2530] 步骤A:甲基6-[双(叔丁氧基羰基)氨基]-3-溴-吡啶-2-甲酸酯

[2531] 在0℃向在DCM(541mL)中的甲基6-氨基-3-溴代-吡啶-2-甲酸酯(25.0g,108.2mmol)和DMAP(1.3g,0.1当量)中添加Boc_2O(59.0g,2.5当量)并将该反应混合物搅拌2.5h。在添加$NaHCO_3$饱和溶液并用DCM萃取后,将合并的有机相干燥和浓缩以提供期望的产物(45.0g,72.3%)。LC/MS($C_{17}H_{23}BrN_2O_6Na$)453[M+H]$^+$.

[2532] 步骤B:甲基3-溴-6-(叔丁氧基羰基氨基)吡啶-2-甲酸酯

[2533] 在0℃向在DCM(370mL)中的来自步骤A的产物(42.7g,74.34mmol)中添加TFA(17.1mL,3当量),并将该反应混合物搅拌18h。在用$NaHCO_3$饱和溶液和盐水清洗后,将合并的有机相干燥、浓缩,并通过柱色谱法(硅胶,庚烷和EtOAc作为洗脱剂)纯化以得到期望的产物(28.3g,115.2%)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δppm 10.29(s,1H),8.11(d,1H),7.88(d,1H),3.87(s,3H),1.46(s,9H)^{13}C NMR(100MHz,DMSO-d_6)δppm 165.6,153.1,151.8/148.3,143.5,116.3,109.2,53.2,28.4.LC/MS($C_{12}H_{15}BrN_2O_4Na$)353[M+H]$^+$.

[2534] 步骤C:甲基3-溴-6-[叔丁氧基羰基(甲基)氨基]吡啶-2-甲酸酯

[2535] 向在丙酮(45mL)中的来自步骤B的产物(2.96g,8.93mmol)中添加Cs_2CO_3(8.7g,3当

量)和碘甲烷(0.67mL,1.2当量)并将该反应混合物搅拌3h。在用水稀释并用EtOAc萃取后,将合并的有机相用盐水清洗、干燥并浓缩以得到期望的产物(3.5g,112%)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δppm 8.13(d,1H),7.78(d,1H),3.90(s,3H),3.27(s,3H),1.47(s,9H);^{13}C NMR(100MHz,DMSO-d_6)δppm 165.5,153.6,153.6,147.5,142.8,122.5,111.3,82.0,53.3,34.3,28.2;HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{13}H_{18}BrN_2O_4$的计算值:345.0450发现值:345.0429.

[2536] 步骤D:甲基3-溴-6-(甲基氨基)吡啶-2-甲酸酯

[2537] 将来自步骤C的产物(3.0g,8.9mmol)在1,1,1,3,3,3-六氟异丙醇(90mL)中于100℃搅拌18H。通过柱色谱法(硅胶,庚烷和EtOAc作为洗脱液)纯化得到所期望产物(2.1g,96%)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δppm 7.63(d,1H),7.04(q,1H),6.53(d,1H),3.83(s,3H),2.73(d,3H);^{13}C NMR(100MHz,DMSO-d_6)δppm 166.6,158.2,148.2,141.3,112.1,101.3,52.9,28.3;HRMS-ESI(m/z):[M]+针对$C_8H_9BrN_2O_2$的计算值:243.9847发现值:243.9843.

[2538] 制备14_01:甲基3-[1-[[3,5-二甲基-7-[2-(p-甲苯基磺酰基氧基)乙氧基]-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]-6-[甲基-[5-甲基-6-[(Z)-[3-(2-三甲基甲硅烷基乙氧基甲基)-1,3-苯并噻唑-2-亚基]氨基]哒嗪-3-基]氨基]吡啶-2-甲酸酯

[2539] 步骤A:甲基3-[1-[[3-[2-[叔丁基(二苯基)甲硅烷基]氧基乙氧基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]-6-(甲基氨基)吡啶-2-甲酸酯

[2540] 在80℃将来自制备13_01的产物(2.07g,8.45mmol)、来自制备7的产物(6.9g,1.2当量)、Cs_2CO_3(8.26g,3当量)和Pd(AtaPhos)$_2$Cl$_2$(374mg,0.1当量)在1,4-二噁烷(51mL)和水(8.5mL)中的混合物搅拌1h。通过柱色谱法(硅胶,庚烷和EtOAc作为洗脱剂)纯化提供期望的产物(4.5g,74%)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δppm 7.66(dm,4H),7.47-7.38(m,6H),7.31(d,1H),7.23(s,1H),6.78(q,1H),6.59(d,1H),3.82(s,2H),3.67(t,2H),3.58(s,3H),3.46(t,2H),2.77(d,3H),2.06(s,3H),1.35(s,2H),1.27/1.20(d+d,4H),1.14/1.09(d+d,4H),1.05/0.97(d+d,2H),0.98(s,9H),0.84(s,6H);^{13}C NMR(100MHz,DMSO-d_6)δppm 140.1,137.4,135.6,130.2/128.3,109.8,74.2,64.4,61.7,58.9,52.2,50.0,46.9,46.0,43.4,39.8,33.5,30.1,28.4,27.1,10.8;HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{43}H_{57}N_4O_4Si$的计算值:721.4149发现值:721.4148.

[2541] 步骤B:甲基3-[1-[[3-[2-[叔丁基(二苯基)甲硅烷基]氧基乙氧基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]-6-[甲基-[5-甲基-6-[(Z)-[3-(2-三甲基甲硅烷基乙氧基甲基)-1,3-苯并噻唑-2-亚基]氨基]哒嗪3-基]氨基]吡啶-2-甲酸酯

[2542] 使用Buchwald-般程序III从步骤A的产物开始回流18小时,获得4.7g(86%)的所期望产物。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δppm 7.78(dm,1H),7.69-7.36(m,10H),7.63(q,1H),7.63(d,1H),7.47(dm,1H),7.44(m,1H),7.35(s,1H),7.31(d,1H),7.24(m,1H),5.86(s,2H),3.86(s,2H),3.72(m,2H),3.67(t,2H),3.64(s,3H),3.61(s,3H),3.46(t,2H),2.36(d,3H),2.13(s,3H),1.40-0.94(m,12H),0.97(s,9H),0.92(m,2H),0.85(s,6H),-0.11(s,9H);HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{61}H_{79}N_8O_5SSi_2$的计算值:1091.5433发现值:1091.5426.

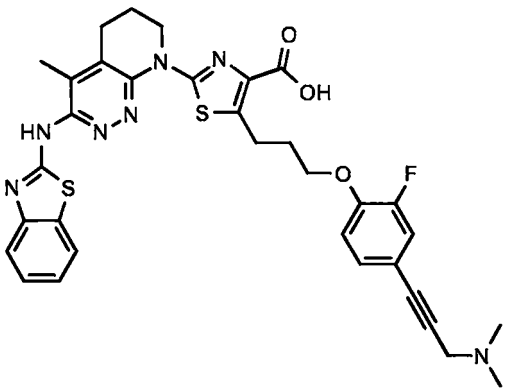
[2543] 步骤C:甲基3-[1-[[3-(2-羟基乙氧基)-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]-6-[甲基-[5-甲基-6-[(Z)-[3-(2-三甲基甲硅烷基乙氧基甲基)-1,3-苯并噻唑-2-亚基]氨基]哒嗪3-基]氨基]吡啶-2-甲酸酯

[2544] 在0℃向在THF(9mL)中的来自步骤B的产物(1.0g,0.916mmol)中添加TBAF在THF中的1M溶液(1.0mL,1.1当量)并将该反应混合物搅拌1h。在用NH_4Cl饱和溶液淬灭并用EtOAc萃取后,将合并的有机相干燥、浓缩并通过柱色谱法(硅胶,DCM和MeOH作为洗脱剂)纯化以得到期望的产物(752mg,96%)。^1H NMR(500MHz,dmso-d6)δppm7.79(dm,1H),7.66(d,1H),7.64(s,1H),7.47(dm,1H),7.43(m,1H),7.36(s,1H),7.33(d,1H),7.25(m,1H),5.87(s,2H),4.46(t,1H),3.86(s,2H),3.73(m,2H),3.68(s,3H),3.62(s,3H),3.40(m,2H),3.35(t,2H),2.37(s,3H),2.14(s,3H),1.42-0.96(m,12H),0.92(m,2H),0.86(s,6H),-0.10(s,9H);HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{45}H_{61}N_8O_5SSi$的计算值:853.4255发现值:853.4256.

[2545] 步骤D:甲基3-[1-[[3,5-二甲基-7-[2-(p-甲苯基磺酰基氧基)乙氧基]-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]-6-[甲基-[5-甲基-6-[(Z)-[3-(2-三甲基甲硅烷基乙氧基甲基)-1,3-苯并噻唑-2-亚基]氨基]哒嗪-3-基]氨基]吡啶-2-甲酸酯

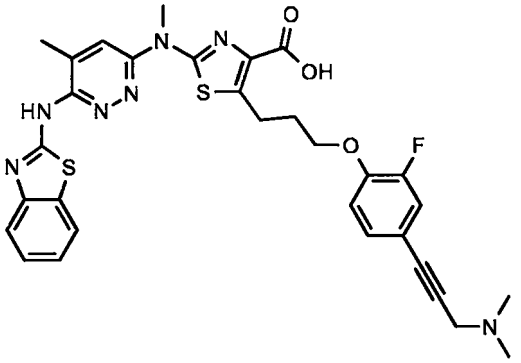
[2546] 向在DCM(4.4mL)中的来自步骤C的产物(752mg,0.88mmol)和三乙基胺(0.5mL,4当量)中添加p-甲苯基磺酰基-4-甲基苯磺酸酯(575.4mg,1.76mmol,2当量)并将该反应混合物搅拌1h。通过柱色谱法(硅胶,庚烷和EtOAc作为洗脱剂)纯化提供期望的产物(722mg,81%)。^1H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δppm 7.79(dm,1H),7.76(dm,2H),7.68(d,1H),7.64(s,1H),7.47(m,1H),7.46(dm,2H),7.43(td,1H),7.36(s,1H),7.33(d,1H),7.25(td,1H),5.87(s,2H),4.06(m,2H),3.84(s,2H),3.73(t,2H),3.66(s,3H),3.62(s,3H),3.48(m,2H),2.40(s,3H),2.37(s,3H),2.13(s,3H),1.31-0.94(m,12H),0.92(t,2H),0.83(s,6H),-0.10(s,9H);^{13}C NMR(100MHz,DMSO-d_6)δppm 141.2,137.5,130.6,128.1,127.2,123.4,123.4,123.1,114.7,112.0,72.9,71.5,66.7,58.8,58.4,52.6,36.6,30.1,21.6,17.8,17.4,10.8,-0.9;HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{52}H_{67}N_8O_7S_2Si$的计算值:1007.4343发现值:1007.4344.

[2547] 制备P1:2-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-5-[3-[4-[3-(二甲基氨基)丙-1-炔基]-2-氟-苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸

[2548] 

[2549] 使用炔丙胺制备一般程序从制备3d和二甲胺作为合适的胺开始。然后从合适的甲酯开始水解一般程序,得到所期望产物。HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{34}H_{35}FN_7O_3S_2$的计算值:672.2221发现值672.2205.

[2550] 制备P2:2-[[6-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-5-甲基-哒嗪-3-基]-甲基-氨基]-5-[3-[4-[3-(二甲基氨基)丙-1-炔基]-2-氟-苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸

[2551] 

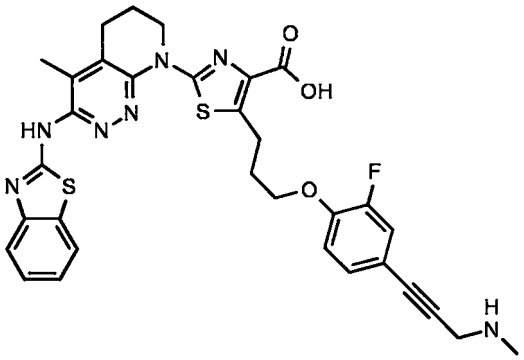
[2552] 步骤A:乙基5-[3-[4-[3-(二甲基氨基)丙-1-炔基]-2-氟-苯氧基]丙基]-2-[甲基-[5-甲基-6-[(Z)-[3-(2-三甲基甲硅烷基乙氧基甲基)-1,3-苯并噻唑-2-亚基]氨基]哒嗪3-基]氨基]噻唑-4-甲酸酯

[2553] 使用烷基化一般程序从制备5g_01和制备6b_01作为合适的苯酚开始,获得所期望产物。^{1}H NMR(500MHz,DMSO-d_6)δppm 7.84(d,1H),7.67(s,1H),7.47(d,1H),7.44(t,1H),7.33(dd,1H),7.25(t,1H),7.22(dd,1H),7.16(t,1H),5.86(s,2H),4.26(q,2H),4.15(t,2H),3.77(s,3H),3.72(t,2H),3.49(brs,2H),3.27(t,2H),2.46(s,3H),2.27(s,6H),2.13(qn,2H),1.29(t,3H),0.92(t,2H),-0.11(s,9H);^{13}C NMR(125MHz,DMSO-d_6)δppm 129.0,127.2,123.5,123.2,119.2,117.7,115.5,111.9,72.8,68.5,66.7,60.7,48.2,44.0,35.3,31.1,23.2,17.9,17.8,14.6,-0.9;HRMS-ESI(m/z):[M+H]$^{+}$针对$C_{39}H_{49}FN_7O_4S_2Si$的计算值:790.3035,发现值790.3023.

[2554] 步骤B:2-[[6-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-5-甲基-哒嗪-3-基]-甲基-氨基]-5-[3-[4-[3-(二甲基氨基)丙-1-炔基]-2-氟-苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸

[2555] 使用脱保护和水解一般程序从来自步骤A的产物作为合适的乙酯开始,获得所期望产物。HRMS-ESI(m/z):[M+H]$^{+}$针对$C_{31}H_{31}FN_7O_3S_2$的计算值:632.1908发现值632.1913.

[2556] 制备P3:2-{3-[(1,3-苯并噻唑-2-基)氨基]-4-甲基-5H,6H,7H,8H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基}-5-(3-{2-氟-4-[3-(甲基氨基)丙-1-炔-1-基]苯氧基}丙基)-1,3-噻唑-4-甲酸

[2557] 

[2558] 步骤A:乙基5-{3-[4-(3-{[(叔丁氧基)羰基](甲基)氨基}丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基]丙基}-2-(4-甲基-3-{[(2Z)-3-{[2-(三-甲基甲硅烷基)乙氧基]甲基}-2,3-二氢-1,3-苯并噻唑-2-亚基]-氨基}-5H,6H,7H,8H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基)-1,3-噻唑-4-甲酸酯

[2559] 向来自制备3g的产物(500mg,0.78mmol,1当量)在甲苯(15mL)中的溶液中添加来

自制备4c的产物(327mg,1.17mmol,1.5当量),然后是三苯基膦(307mg,1.17mmol,1.5当量)和偶氮二甲酸二异丙酯(230μL,1.17mmol,1.5当量)并将混合物加热回流过夜。反应在二氯甲烷和水之间分配,将有机相干燥(PTFE分相器)并真空浓缩。通过自动快速柱色谱法(CombiFlash Rf,24g RediSep™硅胶柱)纯化,用异-庚烷中的0-50%乙酸乙酯的梯度洗脱,得到呈灰白色泡沫状物的所期望产物(715mg,0.79mmol,>100%)。LC/MS($C_{45}H_{56}FN_7O_6SiS_2$)902[M+H]$^+$;RT 1.46(LCMS-V-B2).^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ7.82(dt,J=7.6,0.9Hz,1H),7.48-7.37(m,2H),7.33(d,J=11.6Hz,1H),7.28-7.13(m,3H),5.84(s,2H),4.32-4.17(m,6H),4.15(t,J=6.1Hz,2H),3.72(dd,J=8.5,7.4Hz,2H),3.27(d,J=15.4Hz,2H),2.93-2.75(m,5H),2.36(s,3H),2.19-2.10(m,2H),2.10-1.98(m,2H),1.40(s,9H),1.28(t,3H),0.96-0.89(m,2H),-0.11(s,9H).

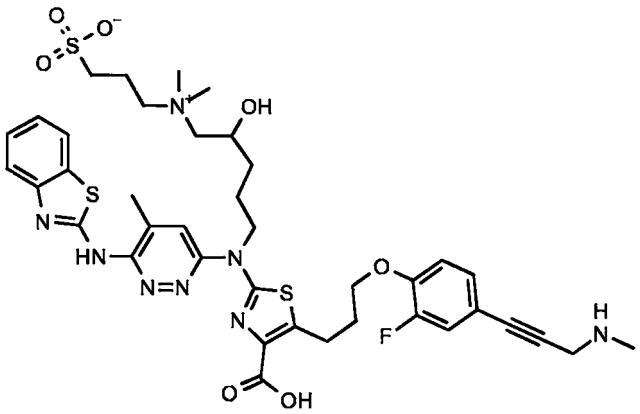
[2560] 步骤B:乙基2-{3-[(1,3-苯并噻唑-2-基)氨基]-4-甲基-5H,6H,7H,8H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基}-5-(3-{2-氟-4-[3-(甲基氨基)丙-1-炔-1-基]苯氧基}丙基)-1,3-噻唑-4-甲酸酯

[2561] 向来自步骤A的产物(1.67g,1.85mmol,1当量)在乙腈(17mL)中的溶液中添加氟化氢-吡啶(3.22mL,37mmol,20当量),并在60℃将该混合物加热2h。该反应在3:1二氯甲烷/异丙醇和2N氢氧化钠水溶液之间分配,并将该有机相用盐水清洗,干燥(PTFE分相器)并在真空中浓缩。通过自动快速柱色谱(CombiFlash Rf,80g RediSep™硅胶柱)纯化,用二氯甲烷中的0-7%甲醇梯度洗脱,得到呈黄色固体的所期望产物(1.02g,1.52mmol,82%)。LC/MS($C_{34}H_{34}FN_7O_3S_2$)672[M+H]$^+$;RT 2.06(LCMS-V-C).^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ7.89(dd,J=7.8,1.2Hz,1H),7.50(d,J=8.1Hz,1H),7.38(ddd,J=8.2,7.3,1.2Hz,1H),7.32-7.25(m,1H),7.23-7.12(m,3H),4.32-4.21(m,4H),4.15(t,J=6.1Hz,2H),3.45(s,2H),3.32-3.23(m,2H),2.89(t,J=6.4Hz,2H),2.35(s,3H),2.31(s,3H),2.20-2.10(m,2H),2.09-1.97(m,2H),1.30(t,J=7.1Hz,3H).

[2562] 步骤C:2-{3-[(1,3-苯并噻唑-2-基)氨基]-4-甲基-5H,6H,7H,8H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基}-5-(3-{2-氟-4-[3-(甲基氨基)丙-1-炔-1-基]苯氧基}丙基)-1,3-噻唑-4-甲酸

[2563] 向来自步骤B的产物(1.02g,1.52mmol,1当量)在1,4-二噁烷(50mL)中的溶液中添加氢氧化锂一水合物(637mg,15.2mmol,10当量)并在110℃将该混合物加热过夜。通过自动快速柱色谱法(CombiFlash Rf,80g RediSep™硅胶柱)纯化,用二氯甲烷中的0-70%0.7N甲醇氨的梯度洗脱,得到固体,用乙腈研磨,过滤并在真空下干燥,得到所期望产物,呈黄色固体(657mg,1.02mmol,67%)。HRMS-ESI(m/z)[M+H]+针对$C_{32}H_{31}FN_7O_3S_2$的计算值:644.1914,发现值644.1930.

[2564] 制备P4:3-[[5-[[6-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-5-甲基-哒嗪-3-基]-[4-羧基-5-[3-[2-氟-4-[3-(甲基氨基)丙-1-炔基]苯氧基]丙基]噻唑-2-基]氨基]-2-羟基-戊基]-二甲基-氨]丙烷-1-磺酸酯

[2565] 

[2566] 步骤A:甲基5-[3-[4-[3-[叔丁氧基羰基(甲基)氨基]丙-1-炔基]-2-氟-苯氧基]丙基]-2-[[4-[叔丁基(二苯基)甲硅烷基]氧基-5-(二甲基氨基)戊基]-[5-甲基-6-[(Z)-[3-(2-三甲基甲硅烷基乙氧基甲基)-1,3-苯并噻唑-2-基]氨基]哒嗪-3-基]氨基]噻唑-4-甲酸酯

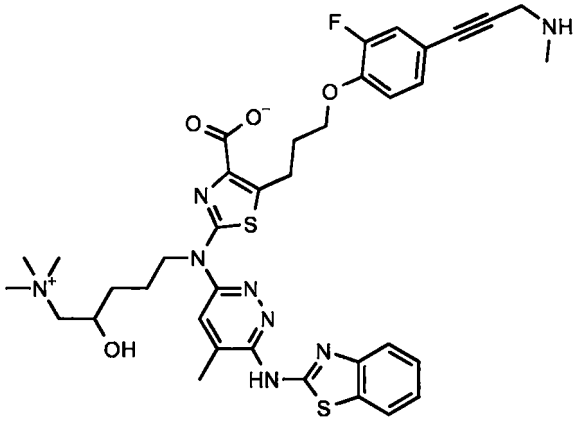
[2567] 使用用甲苯磺酸酯烷基化的一般程序的烷基化,从制备5a_01和N-甲基甲胺作为合适的胺开始,获得所期望产物。

[2568] HRMS-ESI(m/z):$[M+H]^+$针对$C_{64}H_{84}FN_8O_7S_2Si_2$的计算值:1215.5421发现值1215.5389.

[2569] 步骤B:3-[[5-[[6-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-5-甲基-哒嗪-3-基]-[4-羧基-5-[3-[2-氟-4-[3-(甲基氨基)丙-1-炔基]苯氧基]丙基]噻唑-2-基]氨基]-2-羟基-戊基]-二甲基-氨]丙烷-1-磺酸酯

[2570] 将步骤A的产物悬浮在MeCN(5mL/mmol)中,然后加入氧硫杂环戊烷2,2-二氧化物(10当量)并在60℃搅拌持续(观察到完全转化)。将反应混合物浓缩。该粗混合物,其含有3-[[5-[[5-[3-[4-[3-[叔-丁氧基羰基(甲基)氨基]丙-1-炔基]-2-氟代-苯氧基]丙基]-4-甲氧基羰基-噻唑-2-基]-[5-甲基-6-[(Z)-[3-(2-三甲基甲硅烷基乙氧基甲基)-1,3-苯并噻唑-2-亚基]氨基]哒嗪-3-基]氨基]-2-[叔-丁基(二苯基)甲硅烷基]氧基-戊基]-二甲基-铵基]丙烷-1-磺酸酯(LC-MS-ESI(m/z):对于$C_{67}H_{90}FN_8O_{10}S_3Si_2$的$[M+H]^+$计算值:1337.5,发现值1337.6)使用季盐脱保护一般程序直接转移到下一反应,得到所期望产物。HRMS-ESI(m/z):$[M+H]^+$针对$C_{39}H_{48}FN_8O_7S_3$的计算值:855.2787发现值855.2786.

[2571] 制备P5:2-[[6-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-5-甲基-哒嗪-3-基]-[4-羟基-5-(三甲基氨)戊基]氨基]-5-[3-[2-氟-4-[3-(甲基氨基)丙-1-炔基]苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸酯

[2572] 

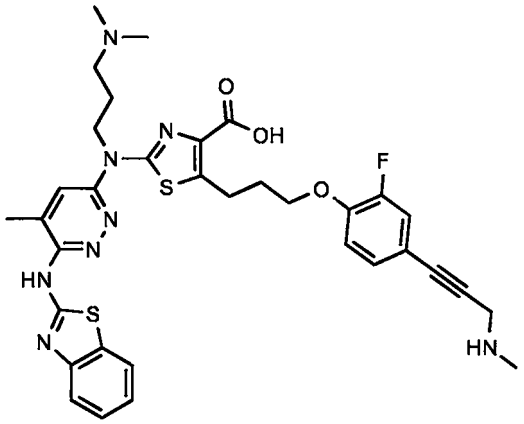
[2573] 步骤A:甲基5-[3-[4-[3-[叔丁氧基羰基(甲基)氨基]丙-1-炔基]-2-氟-苯氧基]丙基]-2-[[4-[叔丁基(二苯基)甲硅烷基]氧基-5-(二甲基氨基)戊基]-[5-甲基-6-[(Z)-[3-(2-三甲基甲硅烷基乙氧基甲基)-1,3-苯并噻唑-2-亚基]氨基]哒嗪-3-基]氨基]噻唑-4-甲酸酯

[2574] 使用用甲苯磺酸酯烷基化的一般程序的烷基化,从制备5a_01和N-甲基甲胺作为合适的胺开始,获得所期望产物。HRMS-ESI(m/z):$[M+H]^+$针对$C_{64}H_{84}FN_8O_7S_2Si_2$的计算值:1215.5421发现值1215.5389.

[2575] 步骤B:2-[[6-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-5-甲基-哒嗪-3-基]-[4-羟基-5-(三甲基氨)戊基]氨基]-5-[3-[2-氟-4-[3-(甲基氨基)丙-1-炔基]苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸酯

[2576] 将步骤A的产物溶解在乙腈(4mL/mmol)和N,N-二甲基甲酰胺(1mL/mmol)的混合物中,然后添加碘甲烷(5当量)并在室温搅拌直至观察到完全转化(约1小时)。将反应混合物浓缩。该粗混合物,其含有[5-[[5-[3-[4-[3-[叔-丁氧基羰基(甲基)氨基]丙-1-炔基]-2-氟代-苯氧基]丙基]-4-甲氧基羰基-噻唑-2-基]-[5-甲基-6-[(Z)-[3-(2-三甲基甲硅烷基乙氧基甲基)-1,3-苯并噻唑-2-亚基]氨基]哒嗪-3-基]氨基]-2-[叔-丁基(二苯基)甲硅烷基]氧基-戊基]-三甲基-铵(LC-MS-ESI(m/z):对于$C_{65}H_{86}FN_8O_7S_2Si_2$的$[M]^+$计算值:1229.6,发现值1229.4)使用季盐脱保护一般程序转移到下一反应,得到所期望产物。HRMS-ESI(m/z):$[M+H]^+$针对$C_{37}H_{44}FN_8O_4S_2$的计算值:747.2905发现值747.2900.

[2577] 制备P6:2-[[6-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-5-甲基-哒嗪-3-基]-[3-(二甲基氨基)丙基]氨基]-5-[3-[2-氟-4-[3-(甲基氨基)丙-1-炔基]苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸

[2578] 

[2579] 步骤A:甲基2-[叔丁氧基羰基-[3-(二甲基氨基)丙基]氨基]-5-[3-[4-[3-[叔丁氧基羰基(甲基)氨基]丙-1-炔基]-2-氟-苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸酯

[2580] 使用光信一般程序II,从制备1b_01和3-(二甲基氨基)丙-1-醇开始,获得1.40g(定量,样品中含有约35n/n%DIAD-2H)的所期望产物。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δppm 7.30(dd,1H),7.21(dm,1H),7.13(t,1H),4.23(s,2H),4.10(t,2H),4.01(t,2H),3.74(s,3H),3.22(t,2H),2.86(s,3H),2.24(t,2H),2.12(s,6H),2.08(m,2H),1.74(m,2H),1.51/1.41(s,18H);HRMS-ESI(m/z):[M+H]$^+$针对$C_{33}H_{48}FN_4O_7S$的计算值:663.3228,发现值663.3218.

[2581] 步骤B:甲基5-[3-[4-[3-[叔丁氧基羰基(甲基)氨基]丙-1-炔基]-2-氟-苯氧基]丙基]-2-[3-(二甲基氨基)丙基氨基]噻唑-4-甲酸酯

[2582] 使用HFIP脱保护通用程序,从来自步骤A的产物开始,获得0.95g(80%)的所期望产物。^{1}H NMR(500MHz,DMSO-d_6)δppm 7.57(t,1H),7.31(d,1H),7.21(d,1H),7.13(t,1H),4.23(br.,2H),4.07(t,2H),3.69(s,3H),3.17(q,2H),3.12(t,2H),2.86(br.,3H),2.24(t,2H),2.11(s,6H),2.00(quint.,2H),1.63(m,2H),1.41(s,9H);^{13}C NMR(125MHz,DMSO-d_6)δppm 129.1,119.3,115.4,68,57.0,51.7,45.6,42.8,38.6,33.8,30.6,28.5,27.0,23.3;HRMS-ESI(m/z):[M+H]$^+$针对$C_{28}H_{40}FN_4O_5S$的计算值:563.2703,发现值563.2694.

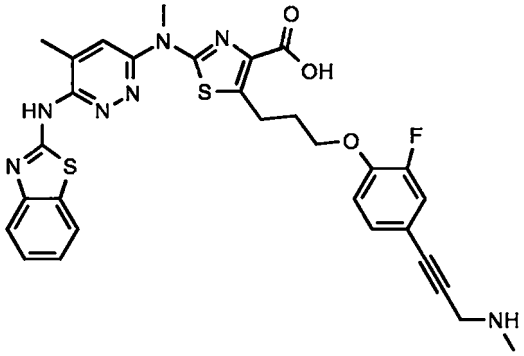
[2583] 步骤C:甲基5-[3-[4-[3-[叔丁氧基羰基(甲基)氨基]丙-1-炔基]-2-氟-苯氧基]丙基]-2-[3-(二甲基氨基)丙基-[5-甲基-6-[(Z)-[3-(2-三甲基甲硅烷基乙氧基甲基)-1,3-苯并噻唑-2-亚基]氨基]哒嗪-3-基]氨基]噻唑-4-甲酸酯

[2584] 使用Buchwald一般程序III从步骤B的产物和制备4a_01开始回流18小时,获得0.79g(51%)的所期望产物。^{1}H NMR(500MHz,DMSO-d_6)δppm 7.84(d,1H),7.73(s,1H),7.46(dd,1H),7.43(td,1H),7.31(brd.,1H),7.25(td,1H),7.21(d,1H),7.16(t,1H),5.86(s,2H),4.35(t,2H),4.20(br.,2H),4.15(t,2H),3.76(s,3H),3.72(t,2H),3.27(t,2H),2.84(br.,3H),2.45(s,3H),2.32(t,2H),2.18(s,6H),2.13(m,2H),1.86(m,2H),1.40(s,9H),0.92(t,2H),-0.11(s,9H);^{13}C NMR(125MHz,DMSO-d_6)δppm 129.1,127.2,123.4,123.2,119.3,117.6,115.4,111.9,72.8,68.4,66.7,56.4,51.9,45.7,45.5,38.5,33.8,31.0,28.5,25.0,23.1,17.9,17.8,-1.0;HRMS-ESI(m/z):[M+H]$^+$针对$C_{46}H_{62}FN_8O_6S_2Si$的计算值:933.3987,发现值933.3990.

[2585] 步骤D:2-[[6-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-5-甲基-哒嗪-3-基]-[3-(二甲基氨基)丙基]氨基]-5-[3-[2-氟-4-[3-(甲基氨基)丙-1-炔基]苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸

[2586] 使用脱保护和水解一般程序,然后通过反相制备色谱法(C18,0.1%TFA水溶液:MeCN)再纯化,从来自步骤C的产物开始,获得所期望的产物的TFA-盐。HRMS-ESI(m/z):[M+2H]$^{2+}$针对$C_{34}H_{39}FN_8O_3S_2$的计算值:345.1280,发现值345.1265.

[2587] 制备P7:2-({6-[(1,3-苯并噻唑-2-基)氨基]-5-甲基哒嗪-3-基}(甲基)氨基)-5-(3-{2-氟-4-[3-(甲基氨基)丙-1-炔-1-基]苯氧基}丙基)-1,3-噻唑-4-甲酸

[2588] 

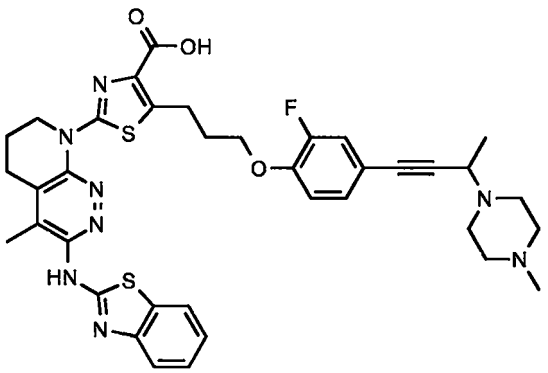
[2589] 步骤A:乙基2-({6-[(1,3-苯并噻唑-2-基)氨基]-5-甲基哒嗪-3-基}(甲基)氨基)-5-(3-{2-氟-4-[3-(甲基氨基)丙-1-炔-1-基]苯氧基}丙基)-1,3-噻唑-4-甲酸酯

[2590] 将三氟乙酸(20mL)添加到制备5j_01步骤A的产物(1.5g,1.71mmol,1当量)在二氯甲烷(60mL)中的搅拌溶液中,并将混合物在环境温度搅拌过夜。将反应用二氯甲烷稀释,冷却至0℃,然后通过加入2N氢氧化钠水溶液碱化,将有机相干燥(硫酸镁)并在真空中浓缩。通过自动快速柱色谱(CombiFlash Rf,40g RediSep™硅胶柱)纯化,用二氯甲烷中的0-10%甲醇梯度洗脱,得到呈黄色固体的所期望产物(361mg,0.56mmol,33%)。LC/MS($C_{32}H_{32}FN_7O_3S_2$)646[M+H]$^+$;RT 1.98(LCMS-V-C).^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ7.91(d,1H),7.68(d,J=1.2Hz,1H),7.53(d,J=7.9Hz,1H),7.39(ddd,J=8.2,7.2,1.3Hz,1H),7.32-7.11(m,4H),4.25(q,J=7.1Hz,2H),4.15(t,J=6.2Hz,2H),3.77(s,3H),3.46(s,2H),3.27(t,J=7.7Hz,2H),2.47(d,J=1.0Hz,3H),2.31(s,3H),2.19-2.07(m,2H),2.23(s,1H),1.30(t,J=7.1Hz,3H).

[2591] 步骤B:2-({6-[(1,3-苯并噻唑-2-基)氨基]-5-甲基哒嗪-3-基}(甲基)氨基)-5-(3-{2-氟-4-[3-(甲基氨基)丙-1-炔-1-基]苯氧基}丙基)-1,3-噻唑-4-甲酸

[2592] 向来自步骤B的产物(361mg,0.56mmol,1当量)在1,4-二噁烷(15mL)中的溶液中添加氢氧化锂一水合物(352mg,8.39mmol,15当量)并在100℃将该混合物加热过夜。使反应冷却至环境温度,然后真空浓缩。将残余物用水研磨,过滤,用水然后乙醚洗涤,真空干燥得到所期望产物,呈黄色固体(286mg,0.46mmol,83%)[作为锂盐]。HRMS-ESI(m/z)[M+H]+针对$C_{30}H_{29}FN_7O_3S_2$的计算值:618.1752,发现值618.1767.

[2593] 制备P8:2-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-5-[3-[2-氟-4-[3-(4-甲基哌嗪-1-基)丁-1-炔基]苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸

[2594] 

[2595] 步骤A:甲基2-(3-氯-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基)-5-[3-[2-氟-4-[3-(4-甲基哌嗪-1-基)丁-1-炔基]苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸酯

[2596] 将经烘箱干燥的24mL小瓶配备PTFE涂层的磁力搅拌棒，并将其中装入溶解在2.5mL干THF中的250mg 1-甲基哌嗪(2.5mmol，5.0当量)然后经5分钟的时间通过注射器逐滴添加133mg 3-溴丁-1-炔(1.0mmol，2.0当量)，并在该温度搅拌30min。向该所得混合物添加301mg的制备3a(0.50mmol，1.0当量)、18.15mg $Pd(PPh_3)_2Cl_2$(0.025mmol，0.05当量)和4.76CuI(0.025mmol，0.05当量)，然后将其加热至60℃并在该温度搅拌2h。反应达到完全转化。将硅藻土添加到反应混合物中并在减压下除去挥发物。然后使用DCM和MeOH(1.2%NH_3)作为洗脱剂通过快速色谱纯化得到300mg(95%产率)的所期望产物。

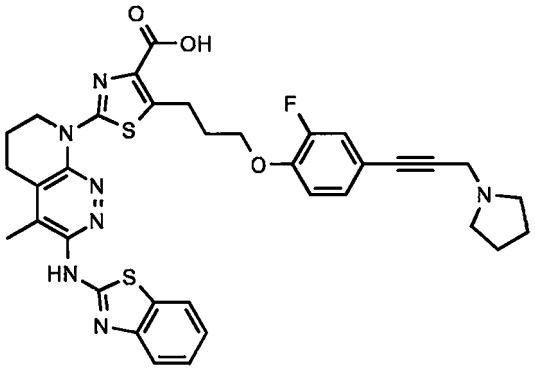
[2597] 步骤B：甲基2-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-5-[3-[2-氟-4-[3-(4-甲基哌嗪-1-基)丁-1-炔基]苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸酯

[2598] 使用Buchwald一般程序II从的300mg产物(0.47mmol，1.0当量)和140mg1,3-苯并噻唑-2-胺(0.94mmol，2.0当量)开始，获得150mg(42%)mg的所期望产物。

[2599] 步骤C：2-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-5-[3-[2-氟-4-[3-(4-甲基哌嗪-1-基)丁-1-炔基]苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸

[2600] 使用水解一般程序从来自步骤B的产物作为合适的甲酯开始，获得所期望产物。^{1}H NMR(500MHz，DMSO-d_6)δppm 7.87(d,1H)，7.49(d,1H)，7.36(t,1H)，7.26(dd,1H)，7.2(t,1H)，7.16(dd,1H)，7.13(t,1H)，4.27(t,2H)，4.12(t,2H)，3.65(q,1H)，3.27(t,2H)，2.87(t,2H)，2.62-2.21(brm,8H)，2.14(s,3H)，2.13(qn,2H)，2.04(qn,2H)，1.33(s,3H)，1.25(d,3H)；^{13}C NMR(125MHz，DMSO-d_6)δppm 164.3,155.4,151.5,151.4,148.6,147.2,145.1,140.2,136.3,130.2,129.0,129.0,127.6,126.5,122.5,122.3,119.2,116.4,115.5,115.4,88.4,84.1,68.5,51.7,46.3,46.1,31,23.9,23.0,20.3,19.6,12.9；HRMS-ESI(m/z)$[M+H]^+$针对$C_{37}H_{40}FN_8O_3S_2$的计算值：727.2649，发现值727.2630

[2601] 制备P9：2-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-5-[3-[2-氟-4-(3-吡咯烷-1-基丙-1-炔基)苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸

[2602] 

[2603] 步骤A：甲基2-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-5-[3-[2-氟-4-(3-吡咯烷-1-基丙-1-炔基)苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸酯

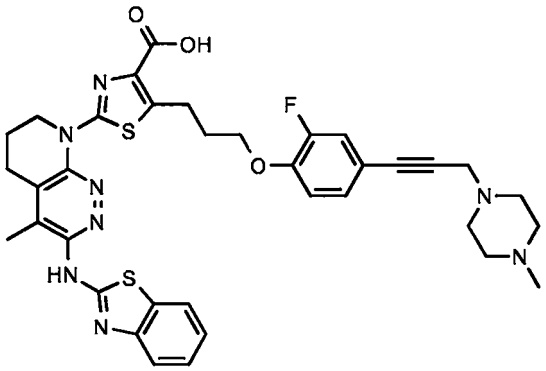
[2604] 使用炔丙胺制备一般程序从258mg制备3d(0.40mmol，1当量)作为适当的炔丙醇和吡咯烷(20当量，670mg)开始，获得120mg所期望产物(43%)。

[2605] 步骤B：2-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-5-[3-[2-氟-4-(3-吡咯烷-1-基丙-1-炔基)苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸

[2606] 使用水解一般程序从来自步骤A的产物作为合适的甲酯开始，获得所期望产物。^{1}H

NMR(500MHz,DMSO-d_6)δppm 7.88(d,1H),7.49(d,1H),7.37(t,1H),7.29(dd,1H),7.2(dd,1H),7.19(t,1H),7.14(t,1H),4.27(t,2H),4.14(t,2H),3.52(s,2H),3.27(t,2H),2.88(t,2H),2.52(t,4H),2.34(s,3H),2.13(qn,2H),2.04(qn,2H),1.69(t,4H);^{13}C NMR(125MHz,DMSO-d_6)δppm 151.5,151.4,148.6,147.3,145.1,140.1,136.7,130.2,129.0,129.0,127.5,126.5,122.5,122.3,119.2,116.5,115.5,115.4,85.9,83.3,68.6,52.3,46.3,43.3,31.1,23.8,23.8,23.0,20.4,12.9;HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{35}H_{35}FN_7O_3S_2$的计算值:684.2221发现值684.2209.

[2607] 制备P10:2-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-5-[3-[2-氟-4-[3-(4-甲基哌嗪-1-基)丙-1-炔基]苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸

[2608] 

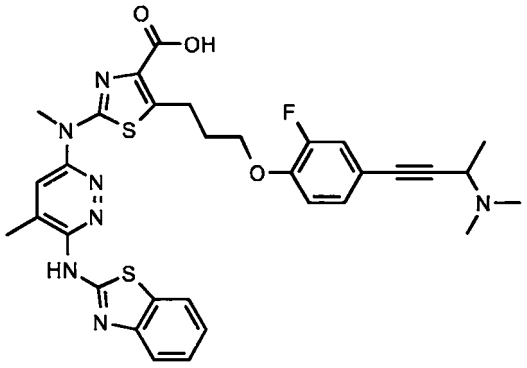
[2609] 步骤A:甲基2-[3-[1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-5-[3-[2-氟-4-[3-(4-甲基哌嗪-1-基)丙-1-炔基]苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸酯

[2610] 使用炔丙胺制备一般程序从100mg制备3d(0.155mmol,1当量)作为适当的炔丙醇和1-甲基哌嗪(310.7mg,20当量)开始,获得150mg所期望产物(79%)。

[2611] 步骤B:2-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-5-[3-[2-氟-4-[3-(4-甲基哌嗪-1-基)丙-1-炔基]苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸

[2612] 使用水解一般程序从来自步骤A的产物作为合适的甲酯开始,获得所期望产物。HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{36}H_{38}FN_8O_3S_2$的计算值:713.2486发现值713.2474.

[2613] 制备P11:2-[[6-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-5-甲基-哒嗪-3-基]-甲基-氨基]-5-[3-[4-[3-(二甲基氨基)丁-1-炔基]-2-氟-苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸

[2614] 

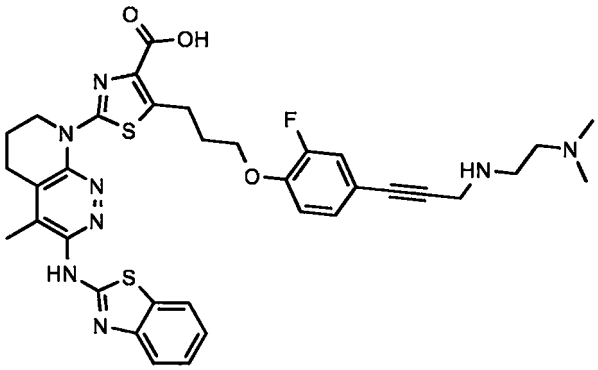
[2615] 步骤A:乙基5-[3-[4-[3-(二甲基氨基)丁-1-炔基]-2-氟-苯氧基]丙基]-2-[甲基-[5-甲基-6-[(Z)-[3-(2-三甲基甲硅烷基乙氧基甲基)-1,3-苯并噻唑-2-亚基]氨基]哒嗪-3-基]氨基]噻唑-4-甲酸酯

[2616] 使用烷基化一般程序从制备5g_01和制备6f_01作为合适的苯酚开始，获得所期望产物。

[2617] 步骤B:2-[[6-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-5-甲基-哒嗪-3-基]-甲基-氨基]-5-[3-[4-[3-(二甲基氨4丁-1-炔基]-2-氟-苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸

[2618] 使用脱保护和水解一般程序从来自步骤A的产物作为合适的乙酯开始，获得所期望产物。HRMS-ESI(m/z):$[M+H]^+$针对$C_{32}H_{33}FN_7O_3S_2$的计算值:646.2065发现值646.2057.

[2619] P12的制备:2-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3c]哒嗪-8-基]-5-[3-[4-[3-[2-(二甲基氨基)乙基氨基]丙-1-炔基]-2-氟-苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸

[2620] 

[2621] 步骤A:甲基5-[3-[4-[3-[叔丁氧基羰基-[2-(二甲基氨基)乙基]氨基]丙-1-炔基]-2-氟-苯氧基]丙基]-2-(3-氯-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基)噻唑-4-甲酸酯

[2622] 使用菌头一般程序，从1.00g制备3a(1.66mmol,1当量)和413mg的叔丁基N-[2-(二甲基氨基)乙基]-N-丙-2-炔基-氨基甲酸酯(1.83mmol,1.1当量)作为合适的炔烃，分离出所期望产物，呈黄色固体。^{1}H NMR(500MHz,DMSO-d_6)δppm 7.30(d,1H),7.21(d,1H),7.15(t,1H),4.27(brt,2H),4.26(t,2H),4.12(t,2H),3.77(s,3H),3.47(brt,2H),3.26(t,2H),2.89(t,2H),2.82(brs,2H),2.45(brs,6H),2.32(s,3H),2.11(qn,2H),2.04(qn,2H),1.43(s,9H);^{13}C NMR(125MHz,DMSO-d_6)δppm 163.1,155.4,151.8,151.4,151.4,147.5,142.4,136.2,135,129.1,129.1,119.2,115.5,114.8,82.3,80.3,68.3,56.3,52.0,46.4,46.4,44.6,43.1,30.7,28.5,24.2,23,19.7,15.7;HRMS-ESI(m/z):$[M+H]^+$针对$C_{34}H_{43}ClFN_6O_5S$的计算值:701.2683,发现值701.2678.

[2623] 步骤B:甲基2-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-5-[3-[4-[3-[叔丁氧基羰基-[2-(二甲基氨基)乙基]氨基]丙-1-炔基]-2-氟-苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸酯

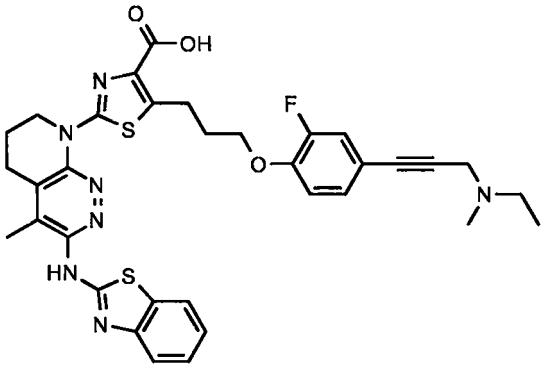
[2624] 使用Buchwald一般程序II从步骤A的产物和1,3-苯并噻唑-2-胺开始回流1,3小时，获得4.7g(86%)的所期望产物。LC-MS-ESI(m/z):$[M+H]^+$针对$C_{41}H_{48}FN_8O_5S_2$的计算值:815.3发现值815.4.

[2625] 步骤C:2-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-5-[3-[4-[3-[2-(二甲基氨基)乙基氨基]丙-1-炔基]-2-氟-苯氧基]丙基]噻唑-4-甲甲酸

[2626] 使用脱保护和水解一般程序，然后通过反相制备色谱法(C18,在水中的25mM

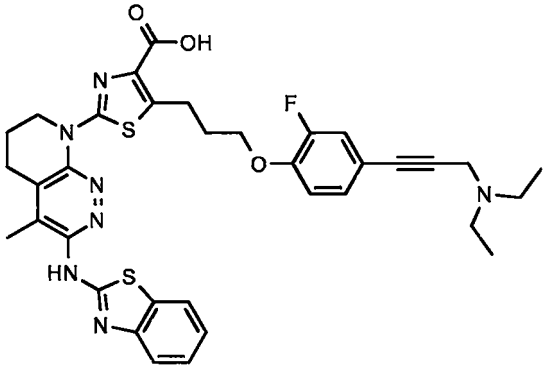
NH_4HCO_3:MeCN)再纯化,从来自步骤B的产物开始,获得所期望的产物。HRMS-ESI(m/z):[M+H]$^+$针对$C_{35}H_{38}FN_8O_3S_2$的计算值:701.2487发现值701.2483.

[2627] P13的制备:2-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-5-[3-[4-[3-[乙基(甲基)氨基]丙-1-炔基]-2-氟-苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸

[2628] 

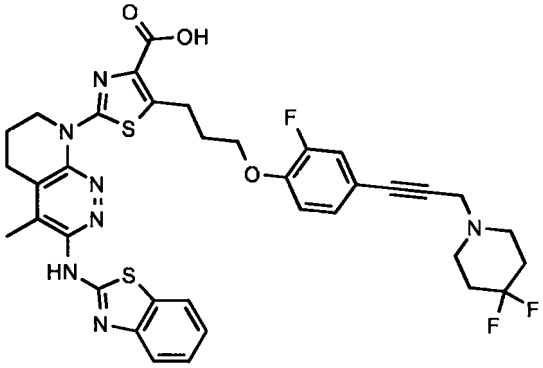
[2629] 使用银催化炔丙胺制备一般程序从制备3c,多聚甲醛作为醛和N-甲基乙胺作为合适的仲胺开始,得到所期望产物。HRMS-ESI(m/z):[M+H]$^+$针对$C_{34}H_{35}FN_7O_3S_2$的计算值:672.2221发现值672.2206.

[2630] P14的制备:2-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-5-[3-[4-[3-(二乙基氨基)丙-1-炔基]-2-氟-苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸

[2631] 

[2632] 使用银催化炔丙胺制备一般程序从制备3c,多聚甲醛作为醛和二乙胺作为合适的仲胺开始,得到所期望产物。HRMS-ESI(m/z):[M+H]$^+$针对$C_{35}H_{37}FN_7O_3S_2$的计算值:686.2377发现值686.2386.

[2633] P15的制备:2-{3-[(1,3-苯并噻唑-2-基)氨基]-4-甲基-5H,6H,7H,8H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基}-5-(3-{4-[3-(4,4-二氟哌啶-1-基)丙-1-炔-1-基]-2-氟苯氧基}丙基)-1,3噻唑-4-甲酸

[2634] 

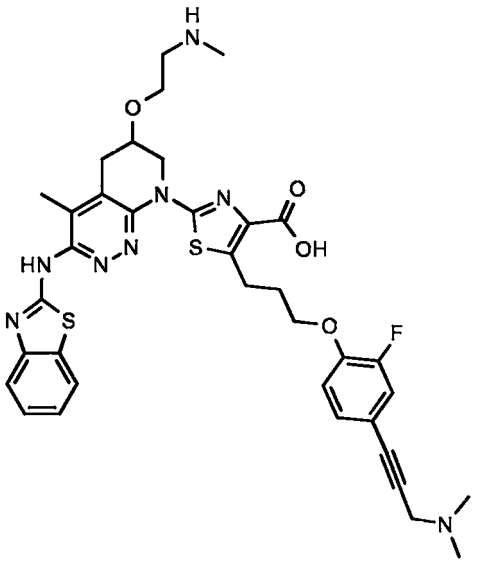
[2635] 步骤A:甲基2-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-5-[3-[4-[3-(4,4-二氟-1-哌啶基)丙-1-炔基]-2-氟-苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸酯

[2636] 使用炔丙胺制备一般程序从100mg制备3d(0.155mmol,4,4当量)作为适当的炔丙醇和4,4-二氟哌啶(20当量)开始,获得120mg所期望产物(72%)。

[2637] 步骤B:2-{3-[(1,3-苯并噻唑-2-基)氨基]-4-甲基-5H,6H,7H,8H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基}-5-(3-{4-[3-(4,4-二氟哌啶-1-4丙-1-炔-1-基]-2-氟苯氧基}丙基)-1,3-噻唑-4-甲酸

[2638] 使用水解一般程序从来自步骤A的产物作为合适的甲酯开始,获得所期望产物。HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{36}H_{35}F_3N_7O_3S_2$的计算值:734.2189发现值734.2185.

[2639] P16的制备:2-{3-[(1,3-苯并噻唑-2-基)氨基]-4-甲基-6-[2-(甲基氨基)乙氧基]-5H,6H,7H,8H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基}-5-(3-{4-[3-(二甲基氨基)丙-1-炔-1-基]-2-氟苯氧基}丙基)-1,3-噻唑-4-甲酸

[2640] 

[2641] 步骤A:4-甲基吗啉-3-酮

[2642] 将2-(甲基氨基)乙醇(5.32mL,66.6mmol,1当量)在乙醇(100mL)中的溶液和35%氢氧化钠水溶液(6.25mL)冷却至15-20℃并在经1h伴随剧烈搅拌下添加氯乙酰氯(13.3mL,166mmol,2.5当量)和35%氢氧化钠水溶液(22mL)。将混合物搅拌20分钟,然后用盐酸水溶液中和并用二氯甲烷(3×100mL)萃取。用水洗涤合并的有机萃取物,干燥(PTFE分相器)并在真空中浓缩。通过自动快速柱色谱法(CombiFlash Rf,80g RediSep™硅胶柱)纯化,用异-

庚烷中的0-100％乙酸乙酯的梯度洗脱，得到呈无色油状物的所期望产物(4.4g,38.2mmol,58％)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ4.00(s,2H),3.84-3.78(m,2H),3.36-3.29(m,2H),2.86(s,3H).

[2643] 步骤B:2-(丁-2-炔-1-基)-4-甲基吗啉-3-酮

[2644] 冷却至-78℃,向二异丙基胺(6.45mL,45.9mmol,1.2当量)在四氢呋喃(130mL)中的溶液中逐滴添加n-丁基锂(2.06M,在己烷中;20.4mL,42mmol,1.1当量)。1分钟后,滴加步骤A的产物(4.4g,38.2mmol,1当量)的四氢呋喃(30mL)溶液。15分钟后,滴加1-溴-2-丁炔(4.02mL,45.9mmol,1.2当量)的四氢呋喃(15mL)溶液,并将混合物在-78℃下搅拌1然后让其升温至环境温度。添加饱和氯化铵水溶液并用乙酸乙酯(x3)萃取混合物,将合并的有机萃取物干燥(硫酸镁)并真空浓缩。通过自动快速柱色谱法(CombiFlash Rf,80g RediSep™硅胶柱)纯化,用异-庚烷中的0-100％乙酸乙酯的梯度洗脱,得到呈黄色油状物的所期望产物(5.15g,30.8mmol,81％)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ4.09(dd,J＝7.6,3.5Hz,1H),4.01-3.94(m,1H),3.76(ddd,J＝11.9,10.0,3.6Hz,1H),3.52-3.41(m,1H),3.26-3.18(m,1H),2.86(s,3H),2.67-2.58(m,1H),2.57-2.44(m,1H),1.73(t,J＝2.6Hz,3H).

[2645] 步骤C:2-[2-(甲基氨基)乙氧基]己-4-炔酸

[2646] 向来自步骤B的产物(3.25g,19.4mmol,1当量)在甲醇(110mL)中的溶液添加1M氢氧化锂水溶液(60.3mL,60.3mmol,3.1当量)并将该混合物加热回流过夜。将反应在真空中浓缩,得到所期望产物,呈橙色胶状物(5.15g,27.8mmol,100％),无需进一步表征,直接用于后续步骤。

[2647] 步骤D:2-[2-({[(9H-芴-9-基)甲氧基]羰基}{甲基)氨基)乙氧基]己-4-炔酸

[2648] 在0℃向来自步骤C的产物(5.15g,27.8mmol,1当量)在1,4-二噁烷(45mL)和水(160mL)中的溶液中添加碳酸钾(15.4g,111mmol,4当量),然后是9H-芴-9-基-甲基氯甲酸酯(7.19g,27.8mmol,1当量),并允许该混合物升温至环境温度并搅拌2h。将该反应物在水和乙酸乙酯之间分配,水相用盐酸酸化至pH 2-3并用乙酸乙酯(3 x 300mL)萃取。将合并的有机萃取物用盐水洗涤,干燥(硫酸镁)并真空浓缩。通过自动快速柱色谱(CombiFlash Rf,120g RediSep™硅胶柱)纯化,用二氯甲烷中的0-20％甲醇梯度洗脱,得到呈深黄色胶状物的所期望产物(7.06g,17.3mmol,62％)。LC/MS($C_{24}H_{25}NO_5$)408[M+H]$^+$;RT 0.74(LCMS-V-B2).^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ7.90(t,J＝6.8Hz,2H),7.65(dd,J＝7.5,1.1Hz,2H),7.42(td,J＝7.4,3.0Hz,2H),7.34(td,J＝7.4,1.3Hz,2H),4.43-4.22(m,3H),3.50-3.42(m,1H),3.39-3.28(m,1H),3.26-3.15(m,3H),2.90-2.82(m,3H),2.51-2.44(m,2H),1.71(dt,J＝13.8,2.5Hz,3H).

[2649] 步骤E:(9H-芴-9-基)甲基N-{2-[(1-羟基己-4-炔-2-基)氧基]乙基}-N-甲基氨基甲酸酯

[2650] 将来自步骤D的产物(7.06g,17.33mmol,1当量)在四氢呋喃(120mL)中的溶液冷却至-10℃,然后逐滴添加在THF(40mL)中的三乙基胺(2.65mL,19.1mmol,1.1当量)和异丁基氯甲酸酯(2.7mL,20.8mmol,1.2当量)。通过过滤除去沉淀并将溶液冷却至-10℃。滴加硼氢化钠(2.62g,69.3mmol,4当量)的水(40mL)溶液,并将混合物在-10℃下搅拌1小时。使用1N盐酸水溶液将溶液的pH调节至pH5,然后使用饱和碳酸氢钠水溶液调节至pH 10。分离各层并将有机相依次用水(100mL)和盐水(50mL)洗涤,干燥(硫酸镁)并真空浓缩。通过自动快速

柱色谱法(CombiFlash Rf,80g RediSep™硅胶柱)纯化,用异-庚烷中的0-100%乙酸乙酯的梯度洗脱,得到呈无色胶状物的所期望产物(4.64g,11.8mmol,68%)。LC/MS($C_{24}H_{27}NO_4$)394[M+H]$^+$;RT 0.77(LCMS-V-B2).^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ7.90(d,J=7.5Hz,2H),7.65(dt,J=7.4,0.9Hz,2H),7.43(t,J=7.4Hz,2H),7.35(td,J=7.4,1.2Hz,2H),4.68-4.60(m,1H),4.39(d,J=6.0Hz,1H),4.34(d,J=6.7Hz,1H),4.28(t,J=6.4Hz,1H),3.60-3.51(m,1H),3.46-3.36(m,2H),3.34-3.28(m,2H),3.19(dd,J=16.6,5.5Hz,2H),2.84(d,J=10.8Hz,3H),2.38-2.15(m,2H),1.71(t,J=2.5Hz,3H).

[2651] 步骤F:(9H-芴-9-基)甲基N-[2-({1-[(叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基]己-4-炔-2-基}氧基)乙基]-N-甲基氨基甲酸酯

[2652] 向来自步骤E的产物(4.64g,11.8mmol,1当量)和咪唑(1.56mL,23.6mmol,2当量)在二氯甲烷(200mL)中的冷却溶液中逐滴添加叔-丁基(氯代)二苯基硅烷(6.13mL,23.6mmol,2当量)并允许该混合物升温至环境温度并搅拌过夜。将反应用2M氯化铵水溶液淬灭,将混合物用二氯甲烷(3×200mL)萃取。用盐水洗涤合并的有机萃取物,干燥(PTFE分相器)并在真空中浓缩。通过自动快速柱色谱法(CombiFlash Rf,120g RediSep™硅胶柱)纯化,用异-庚烷中的0-25%乙酸乙酯的梯度洗脱,得到呈无色胶状物的所期望产物(5.86g,9.27mmol,79%)。LC/MS($C_{40}H_{45}NO_4Si$)632[M+H]$^+$;RT 1.38(LCMS-V-B2).^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ7.87(dd,J=20.0,7.5Hz,2H),7.67-7.56(m,6H),7.53-7.39(m,7H),7.39-7.22(m,3H),4.38(t,J=4.8Hz,1H),4.31(s,1H),4.24(t,J=5.7Hz,1H),3.73-3.61(m,1H),3.60-3.44(m,2H),3.34-3.29(m,2H),3.29-3.18(m,1H),3.16-3.06(m,1H),2.81(d,J=14.1Hz,3H),2.43-2.26(m,2H),1.69(t,J=2.4Hz,3H),0.98(s,9H).

[2653] 步骤G:(9H-芴-9-基)甲基N-[2-({1-[(叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基]-3-(3,6-二氯-5-甲基哒嗪-4-基)丙-2-基}氧基)乙基]-N-甲基氨基甲甲酸酯

[2654] 在150℃在密封烧瓶中将来自步骤F的产物(5.86g,9.27mmol,1当量)和3,6-二氯-1,2,4,5-四嗪(5.6g,37.1mmol,4当量)在甲苯(130mL)中的溶液加热过夜。反应在真空中浓缩并通过自动快速柱色谱法(CombiFlash Rf,120g RediSep™硅胶柱)纯化,用异-庚烷中的0-30%乙酸乙酯的梯度洗脱,得到呈粉色泡沫状物的所期望产物(2.99g,3.97mmol,43%)。LC/MS($C_{42}H_{45}Cl_2N_3O_4Si$)754[M+H]$^+$;RT 1.37(LCMS-V-B2).^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ7.90(d,J=7.7Hz,1H),7.78(d,J=7.4Hz,1H),7.68-7.59(m,5H),7.57-7.50(m,1H),7.47-7.41(m,6H),7.45-7.37(m,1H),7.36-7.28(m,2H),7.23(t,J=7.5Hz,1H),4.30(d,J=5.7Hz,1H),4.27-4.11(m,2H),3.81-3.60(m,3H),3.55-3.45(m 1H),3.20-2.98(m,4H),2.89-2.77(m,1H),2.58(d,J=23.0Hz,3H),2.39(d,J=13.1Hz,3H),1.01(s,9H).

[2655] 步骤H:4-{3-[(叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基]-2-[2-(甲基氨基)乙氧基]丙基}-3,6-二氯-5-甲基哒嗪

[2656] 在环境温度将来自步骤G的产物(2.79g,3.7mmol,1当量)和二乙基胺(0.77mL,7.39mmol,2当量)在乙腈(60mL)中的溶液搅拌过夜。添加水并且将混合物用乙酸乙酯(3 x 70mL)萃取。将合并的有机萃取物用盐水(100mL)洗涤,干燥(硫酸镁)并真空浓缩。通过自动快速柱色谱(CombiFlash Rf,40g RediSep™硅胶柱)纯化,用二氯甲烷中的0-16%甲醇梯度洗脱,得到呈橙色/粉红色胶状物的所期望产物(1.9g,3.57mmol,96%)。LC/MS($C_{27}H_{35}Cl_2N_3O_2Si$)532[M+H]$^+$;RT 0.84(LCMS-V-B2).^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ7.69-7.62

(m,4H),7.54-7.41(m,6H),3.83-3.60(m,3H),3.42-3.36(m,1H),3.16-2.97(m,3H),2.45(s,3H),2.39-2.23(m,2H),2.06(s,3H),1.02(s,9H).

[2657] 步骤I:叔丁基N-[2-({1-[(叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基]-3-(3,6-二氯-5-甲基哒嗪-4-基)丙-2-基}氧基)乙基]-N-甲基氨基甲酸酯

[2658] 向来自步骤H的产物(1.9g,3.57mmol,1当量)在二氯甲烷(100mL)中的溶液中添加二-叔-丁基二碳酸酯(1.53mL,7.14mmol,2当量),然后是三乙基胺(1.99mL,14.3mmol,4当量)并在环境温度将该混合物搅拌4h。将该反应物在二氯甲烷和水之间分配,将水相酸化至pH 4并用二氯甲烷(3x80mL)萃取。用盐水洗涤合并的有机萃取物,干燥(PTFE分相器)并在真空中浓缩。通过自动快速柱色谱法(CombiFlash Rf,40g RediSep™硅胶柱)纯化,用异-庚烷中的0-25%乙酸乙酯的梯度洗脱,得到呈无色胶状物的所期望产物(1.83g,2.9mmol,81%)。LC/MS($C_{32}H_{43}Cl_2N_3O_4Si$)532[M-Boc+H]$^+$;RT 1.33(LCMS-V-B2).^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ7.69-7.62(m,4H),7.54-7.41(m,6H),3.76(qd,J=10.7,4.7Hz,2H),3.66(d,J=5.5Hz,1H),3.44(q,J=7.9,6.3Hz,1H),3.20-3.10(m,3H),3.04(dd,J=14.0,4.1Hz,2H),2.58(s,3H),2.44(s,3H),1.31(d,J=22.6Hz,9H),1.02(s,9H).

[2659] 步骤J:叔丁基N-(2-{[1-(3,6-二氯-5-甲基哒嗪-4-基)-3-羟基丙-2-基]氧基}乙基)-N-甲基氨基甲酸酯

[2660] 将来自步骤I的产物(1.83g,2.9mmol,1当量)在四氢呋喃(75mL)中的溶液冷却至0℃然后添加四丁基氟化铵(1M,在四氢呋喃中;2.9mL,2.9mmol,1当量)并在0℃搅拌30min,然后在环境温度搅拌1h。该反应物在二氯甲烷和水之间分配,并将水相用二氯甲烷(x2)萃取。用盐水洗涤合并的有机萃取物,干燥(PTFE分相器)并在真空中浓缩。通过自动快速柱色谱法(CombiFlash Rf,24g RediSep™硅胶柱)纯化,用异-庚烷中的0-100%乙酸乙酯的梯度洗脱,得到呈浅橙色胶状物的所期望产物(0.73g,1.86mmol,64%)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ4.93(t,J=5.5Hz,1H),3.62-3.44(m,4H),3.23(dt,J=9.6,6.0Hz,1H),3.11(d,J=23.9Hz,2H),3.02(dd,J=6.5,2.0Hz,2H),2.60(d,J=8.1Hz,3H),2.45(s,3H),1.35(d,J=13.0Hz,9H).

[2661] 步骤K:甲基2-{[(叔丁氧基)羰基][2-(2-{[(叔丁氧基)羰基](四基)氨基}乙氧基)-3-(3,6-二氯-5-甲基哒嗪-4-基)丙基]氨基}-5-(3-{4-[3-(二甲基氨基)丙-1-炔-1-基]-2-氟苯氧基}丙基)-1,3-噻唑-4-甲酸酯

[2662] 向来自步骤J的产物(125mg,0.32mmol,1当量)在甲苯(20mL)中的溶液中添加来自制备1c的产物(171mg,0.35mmol,1.1当量)、二-叔-丁基偶氮二甲酸酯(146mg,0.63mmol,2当量)和三苯基膦(166mg,0.63mmol,2当量)并在50℃将该混合物搅拌1h。该反应在二氯甲烷和水之间分配,并将水相用二氯甲烷(x2)萃取,并将合并的有机萃取物用盐水清洗、干燥(硫酸镁)且在真空中浓缩。通过自动快速柱色谱法(CombiFlash Rf,12g RediSep™硅胶柱)纯化,用异-庚烷中的0-100%乙酸乙酯的梯度洗脱,得到呈淡黄色胶状物的所期望产物(282mg,0.32mmol,102%)。LC/MS($C_{40}H_{53}Cl_2FN_6O_8S$)867[M+H]$^+$;RT 0.97(LCMS-V-B2).^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ7.30(dd,1H),7.23-7.17(m,1H),7.12(t,1H),4.29(dd,J=13.9,5.7Hz,1H),4.10(t,J=6.0Hz,2H),3.96-3.87(m,1H),3.74(s,3H),3.61-3.48(m,1H),3.42(s,3H),3.32(s,2H),3.25(dt,J=7.1,3.9Hz,3H),3.16-2.99(m,2H),2.97-2.89(m,1H),2.58(d,J=11.6Hz,2H),2.45(s,3H),2.23(s,6H),2.10(t,J=6.9Hz,2H),1.52(s,9H),

1.31(d,J＝39.6Hz,9H).

[2663] 步骤L:甲基2-{[2-(2-{[(叔丁氧基)羰基](甲基)氨基}乙氧基)-3-(3,6-二氯-5-甲基哒嗪-4-基)丙基]氨基}-5-(3-{4-[3-(二甲基氨基)丙-1-炔-1-基]-2-氟苯氧基}丙基)-1,3-噻唑-4-甲酸酯

[2664] 在100℃在微波照射下将来自步骤K的产物(275mg,0.32mmol,1当量)在1,1,1,3,3,3-六氟代-2-丙醇(2.5mL,23.7mmol,74.7当量)中的溶液加热60min。反应在真空中浓缩并通过自动快速柱色谱法(CombiFlash Rf,12g RediSep™硅胶柱)纯化,用二氯甲烷中的0-7％甲醇梯度洗脱,得到呈白色固体的所期望产物(154mg,0.2mmol,63％)。LC/MS($C_{35}H_{45}Cl_2FN_6O_6S$)767[M+H]$^+$;RT 0.70(LCMS-V-B2).^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ7.83(br s,1H),7.30(dd,J＝11.9,2.0Hz,1H),7.24-7.17(m,1H),7.12(t,J＝8.7Hz,1H),4.08(t,J＝6.1Hz,2H),3.82(dt,J＝9.0,4.5Hz,1H),3.70(s,3H),3.60-3.49(m,1H),3.46-3.39(m,4H),3.33(s,2H),3.29-3.18(m,1H),3.14(t,2H),3.10-3.02(m,2H),2.98(dd,J＝13.9,3.8Hz,1H),2.64-2.53(m,2H),2.44(s,3H),2.23(s,6H),2.07-1.95(m,2H),1.32(d,J＝30.8Hz,9H).

[2665] 步骤M:甲基2-[6-(2-{[(叔丁氧基)羰基](甲基)氨基}乙氧基)-3-氯-4-甲基-5H,6H,7HV8H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-5-(3-{4-[3-(二甲基氨基)丙-1-炔-1-基]-2-氟苯氧基}丙基)-1,3-噻唑-4-甲酸酯

[2666] 向来自步骤L的产物(154mg,0.2mmol,1当量)在1,4-二噁烷(14mL)中的溶液中添加碳酸铯(131mg,0.4mmol,2当量)、N,N-二异丙基乙基胺(0.07mL,0.4mmol,2当量)和双(二-叔-丁基(4-二甲基氨基苯基)膦)二氯化钯(II)(14.2mg,0.02mmol,0.1当量)并在80℃将该混合物加热45min。将该反应物在二氯甲烷和水之间分配,并将水相用二氯甲烷(x2)萃取。将合并的有机萃取物用盐水洗涤,干燥(硫酸镁)并真空浓缩。通过自动快速柱色谱(CombiFlash Rf,12g RediSep™硅胶柱)纯化,用二氯甲烷中的0-8％甲醇梯度洗脱,得到呈奶油状物的所期望产物(136mg,0.19mmol,93％)。LC/MS($C_{35}H_{44}ClFN_6O_6S$)731[M+H]$^+$;RT 0.75(LCMS-V-B2).^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ7.31(dt,J＝12.0,1.9Hz,1H),7.25-7.19(m,1H),7.14(t,1H),4.86(dd,1H),4.25(s,1H),4.13(t,J＝6.2Hz,2H),3.93(d,J＝13.5Hz,1H),3.78(s,3H),3.56(t,J＝5.6Hz,2H),3.42(s,3H),3.32(s,2H),3.30-3.23(m,2H),3.21-3.09(m,2H),3.08-3.00(m,1H),2.58-2.52(m,1H),2.34(s,3H),2.23(s,6H),2.12(p,J＝6.7Hz,2H),1.27(d,J＝28.5Hz,9H).

[2667] 步骤N:甲基2-{3-[(1,3-苯并噻唑-2-基)氨基]-6-(2-{[(叔丁氧基)羰基](甲基)氨基}乙氧基)-4-甲基-5H,6H,7H,8H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基}-5-)3-{4-[3-(二甲基氨基)丙-1-炔-1-基]-2-氟苯氧基}丙基)-1,3-噻唑-4-甲酸酯

[2668] 向来自步骤M的产物(136mg,0.19mmol,1当量)在环己醇(4.5mL)中的溶液中添加2-氨基苯并噻唑(55.7mg,0.37mmol,2当量)和N,N-二异丙基乙基胺(0.1mL,0.56mmol,3当量)并将该混合物用氮气喷淋(10min)。添加Xantphos(21.5mg,0.04mmol,0.2当量)和三(二亚苄基丙酮)二钯(0)(17mg,0.02mmol,0.1当量),并将混合物在140℃下在微波照射下加热1小时。将反应在二氯甲烷和水之间分配,水相用二氯甲烷(3x 40mL)萃取。用盐水洗涤合并的有机萃取物,干燥(PTFE分相器)并在真空中浓缩。通过反相自动快速色谱法(CombiFlash Rf,C18 15.5g Gold RediSep柱)纯化,用5-95％的乙腈水溶液梯度洗脱,得到呈黄色固体

的所期望产物(70.8mg,0.08mmol,45%)。LC/MS($C_{42}H_{49}FN_8O_6S_2$)845[M+H]$^+$;RT 0.86(LCMS-V-B2).^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ11.52(br s,1H),7.88(d,J=7.8Hz,1H),7.49(d,J=8.1Hz,1H),7.37(ddd,J=8.2,7.3,1.3Hz,1H),7.31(dd,J=11.9,1.9Hz,1H),7.24-7.12(m,3H),4.80(dd,1H),4.22(s,1H),4.15(t,J=6.2Hz,2H),3.94(d,J=13.4Hz,1H),3.78(s,3H),3.56(t,J=5.7Hz,2H),3.44-3.37(m,1H),3.31(s,2H),3.28(d,1H),3.24-3.14(m,2H),3.12-2.97(m,2H),2.58(d,J=12.3Hz,3H),2.33(s,3H),2.19(s,6H),2.14(q,J=7.0Hz,2H),1.27(d,9H).

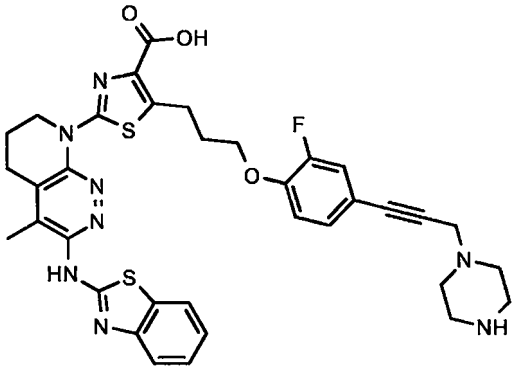
[2669] 步骤O:甲基2-{3-[(1,3-苯并噻唑-2-基)氨基]-4-甲基-6-[2-(甲基氨基)乙氧基]-5H,6H,7H,8H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基}-5-(3-{4-[3-(二甲基氨基)丙-1-炔-1-基]-2-氟苯氧基}丙基)-1,3-噻唑-4-甲酸酯

[2670] 向来自步骤N的产物(70.8mg,0.08mmol,1当量)在二氯甲烷(5mL)中的溶液中缓慢添加三氟乙酸(1mL)并在环境温度将该混合物搅拌1h。将该反应物在二氯甲烷和饱和碳酸氢钠水溶液之间分配,并将水相用二氯甲烷(3 x 30mL)萃取。将合并的有机萃取物用盐水洗涤,干燥(PTFE分相器)并真空浓缩,得到所期望产物,呈亮黄色固体(59.8mg,0.08mmol,96%)。LC/MS($C_{37}H_{41}FN_8O_4S_2$)745[M+H]$^+$;RT 1.07(LCMS-V-B1).^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ7.88(dd,J=7.8,1.2Hz,1H),7.49(d,J=8.1Hz,1H),7.37(ddd,J=8.2,7.2,1.3Hz,1H),7.32(dd,J=11.9,1.9Hz,1H),7.24-7.12(m,3H),4.79-4.69(m,1H),4.26-4.19(m,1H),4.15(t,J=6.2Hz,2H),4.03(dd,J=13.5,2.4Hz,1H),3.78(s,3H),3.60(t,J=5.5Hz,2H),3.39(s,2H),3.32-3.27(m,2H),3.15(d,J=14.6Hz,1H),3.08-2.99(m,1H),2.70(t,J=5.5Hz,2H),2.38(s,3H),2.29(s,3H),2.22(s,6H),2.17-2.08(m,2H).

[2671] 步骤P:2-{3-[(1,3-苯并噻唑-2-基)氨基]-4-甲基-6-[2-(甲基氨基)乙氧基]-5H,6H,7H,8H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基}-5-(3-{4-[3-(二甲基氨基)丙-1-炔-1-基]-2-氟苯氧基}丙基)-1,3-噻唑-4-甲酸

[2672] 向来自步骤O的产物(59.8mg,0.08mmol,1当量)在1,4-二噁烷(2mL)中的溶液中添加1M氢氧化锂水溶液(0.24mL,0.24mmol,3当量)并在50℃将该混合物加热2h。过滤收集固体并在真空下干燥,得到所期望产物,呈亮黄色固体(43mg,0.06mmol,73%),为锂盐。HRMS-ESI(m/z)[M+H]+针对$C_{36}H_{40}FN_8O_4S_2$的计算值:731.2598,发现值731.2623.

[2673] P17的制备:2-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-5-[3-[2-氟-4-(3-哌嗪-1-基丙-1-炔基)苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸

[2674] 

[2675] 步骤A:2-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-5-[3-[4-[3-(4-叔丁氧基羰基哌嗪-1-基)丙-1-炔基]-2-氟-苯氧基]丙基]噻

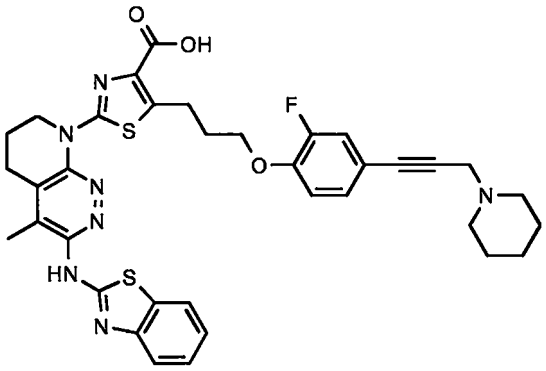
唑-4-甲酸

[2676] 使用银催化炔丙胺制备一般程序从制备3c，多聚甲醛作为醛和叔丁基-哌嗪-1-甲酸酯作为合适的仲胺开始，得到所期望产物。

[2677] 步骤B：2-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氟-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-5-[3-[2-氟-4-(3-哌嗪-1-基丙-1-炔基)苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸

[2678] 在60℃将来自步骤A的产物(207mg，0.25mmol)和HFxPyr(2.5mmol，10当量)在乙腈(4.3mL)中的混合物搅拌2.5h。通过快速色谱法在24g硅胶柱上使用DCM和MeOH(NH_3)作为洗脱剂，将该产物纯化以得到143mg(79％)的期望的产物。HRMS-ESI(m/z)：$[M+H]^+$针对$C_{35}H_{36}FN_8O_3S_2$的计算值：699.2330发现值699.2322.

[2679] P18的制备：2-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-5-[3-[2-氟-4-[3-(1-哌啶基)丙-1-炔基]苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸

[2680] 

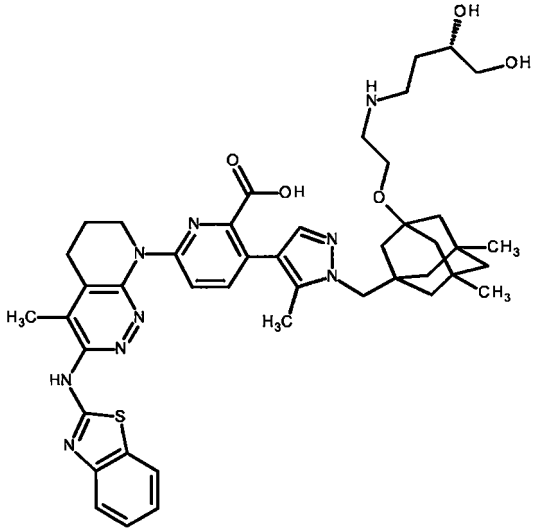
[2681] 步骤A：甲基2-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-5-[3-[2-氟-4-[3-(1-哌啶基)丙-1-炔基]-苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸酯

[2682] 使用炔丙胺制备一般程序从100mg制备3d(0.155mmol，1当量)作为适当的炔丙醇和哌啶(264.2mg，20当量)开始，获得55mg所期望产物(50％)。

[2683] 步骤B：2-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-5-[3-[2-氟-4-[3-(1-哌啶基)丙-1-炔基]苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸

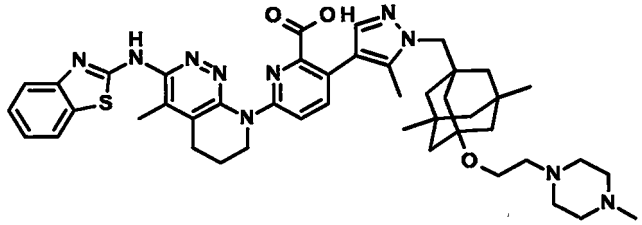
[2684] 使用水解一般程序从步骤A的产物作为合适的甲酯开始，获得所期望产物。HRMS-ESI(m/z)：[M+H]+针对$C_{36}H_{37}FN_7O_3S_2$的计算值：698.2377发现值698.2373.

[2685] P19的制备：6-{3-[(1,3-苯并噻唑-2-基)氨基]-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基}-3-(1-{[3-(2-{[(3S)-3,4-二羟基丁基]氨基}乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基]甲基}-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-甲酸

[2686] 

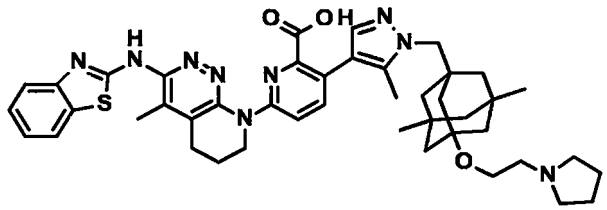
[2687] 使用胺取代和水解一般程序I从制备12和2-[(4S)-2,2-二甲基-1,3-二氧戊环-4-基]乙胺作为合适的胺开始,得到具有二羟基保护胺的化合物。用10%HCl溶液(室温,1小时)水解并通过制备型HPLC纯化(使用乙腈和5mM NH_4HCO_3水溶液作为洗脱剂)提供所期望产物。HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{44}H_{55}N_9O_5$的计算值:822.4125,发现值:822.4120.

[2688] P20的制备:6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[3,5-二甲基-7-[2-(4-甲基哌嗪-1-基)乙氧基]-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸

[2689] 

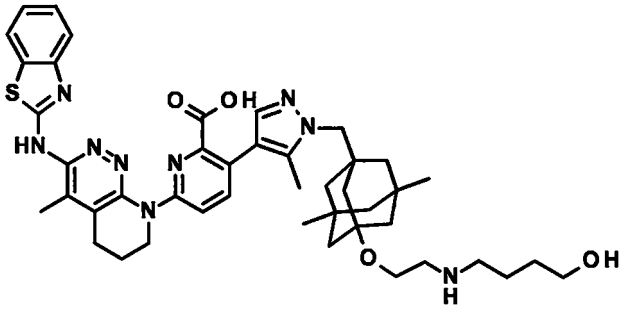
[2690] 使用胺取代和水解一般程序I从制备12和1-甲基哌嗪作为合适的胺开始,获得所期望产物。HRMS-ESI(m/z):[M+2H]2+针对$C_{45}H_{58}N_{10}O_3S$的计算值:409.2207,发现值:409.2208.

[2691] P21的制备:6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[3,5-二甲基-7-(2-吡咯烷-1-基乙氧基)-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸

[2692] 

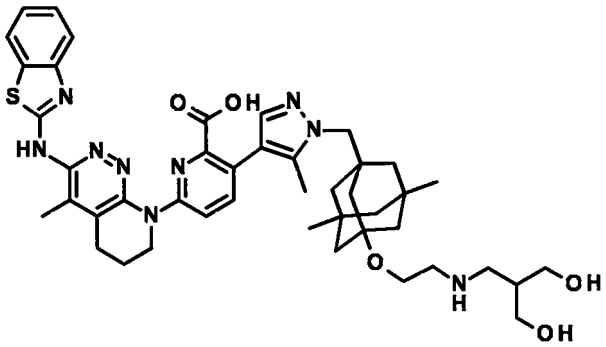
[2693] 使用胺取代和水解一般程序I从制备12和吡咯烷作为合适的胺开始,获得所期望产物。HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{44}H_{54}N_9O_3S$的计算值:788,4070,发现值:788.4068.

[2694] P22的制备:6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[3-[2-(4-羟基丁基氨基)乙氧基]-5,7-.二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸

[2695] 

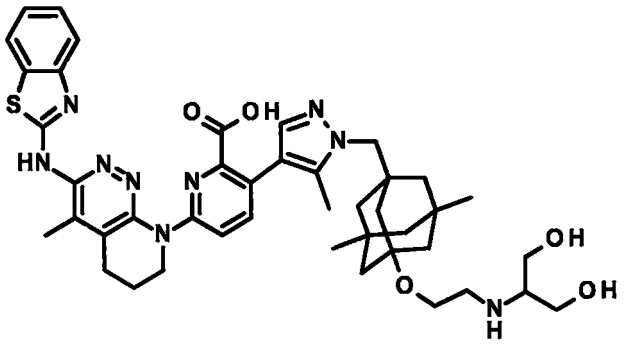
[2696] 使用胺取代和水解一般程序I从制备12和4-氨基丁-1-醇作为合适的胺开始,获得了所期望的产物。HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{44}H_{56}N_9O_4S$的计算值:806.4176,发现值:806.4174.

[2697] P23的制备:6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[3-[2-[[3-羟基-2-(羟基甲基)丙基]氨基]乙氧基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸

[2698] 

[2699] 使用胺取代和水解一般程序I从开始制备12和(2,2-二甲基-1,3-二噁烷-5-基)甲胺作为合适的胺,获得了具有二羟基保护胺的化合物。用10%HCl溶液(室温,1小时)水解并通过制备型HPLC纯化(使用乙腈和5mM NH_4HCO_3水溶液作为洗脱剂)提供所期望产物。HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{44}H_{56}N_9O_5S$的计算值:822,4125,发现值:822.4099.

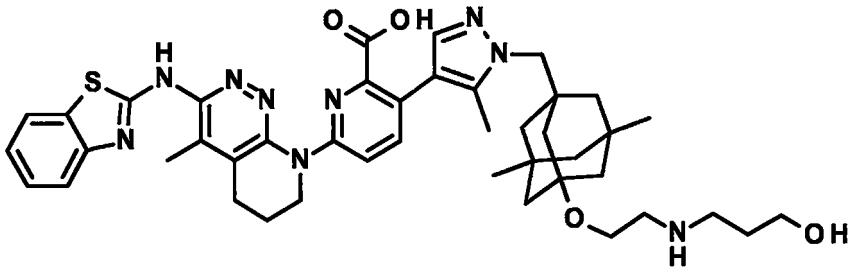
[2700] P24的制备:6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[3-[2-[[2-羟基-1-(羟基甲基)乙基]氨基]乙氧基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸

[2701] 

[2702] 使用胺取代和水解一般程序I从制备12和2-氨基丙烷-1,3-二醇作为合适的胺开始,获得了所期望的产物。HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{43}H_{54}N_9O_5S$的计算值:808.3969,发现值:808.3965.

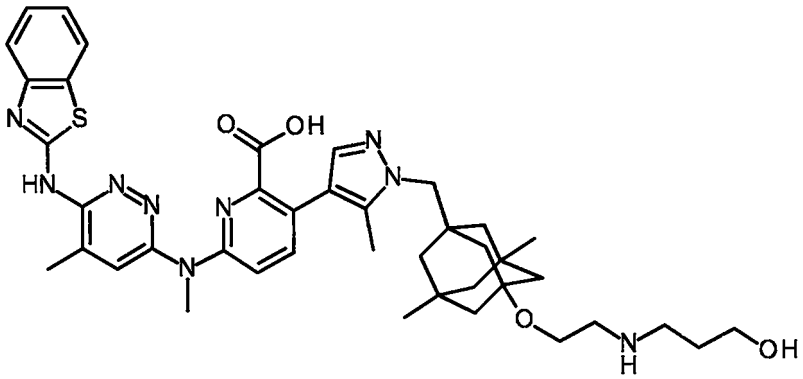
[2703] P25的制备:6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[3-[2-(3-羟基丙基氨基)乙氧基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-

5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸

[2704] 

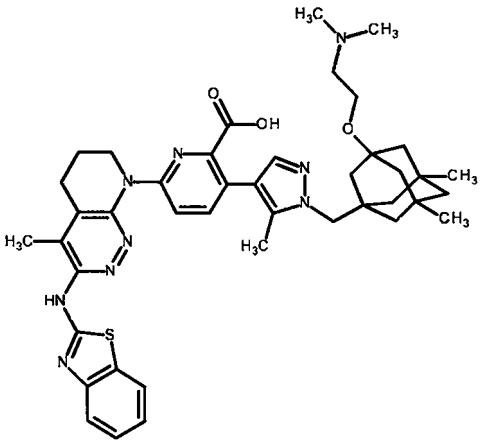
[2705] 使用胺取代和水解一般程序I从制备12和3-氨基丙-1-醇作为合适的胺开始，获得了所期望的产物。HRMS-ESI(m/z)：[M+H]+针对$C_{43}H_{54}N_9O_4S$的计算值：792.4019，发现值：792.4012.

[2706] P26的制备：6-[[6-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-5-甲基-哒嗪-3-基]-甲基-氨基]-3-[1-[[3-[2-(3-羟基丙基氨基)乙氧基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸

[2707] 

[2708] 使用胺取代和水解一般程序II从制备14_01和3-氨基丙烷-1-醇作为合适的胺开始，获得所期望产物。HRMS-ESI(m/z)：[M+H]+针对$C_{41}H_{52}N_9O_4S$的计算值：766.3863，发现值：766.3860.

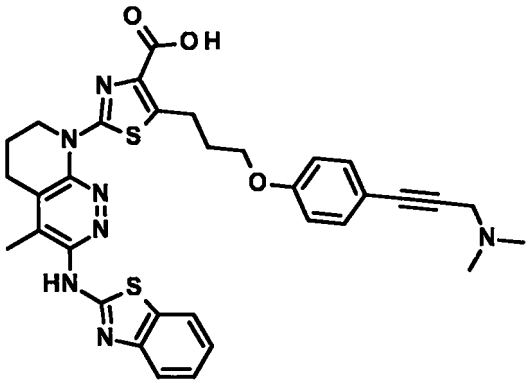
[2709] P27的制备：6-{3-[(1,3-苯并噻唑-2-基)氨基]-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基}-3-[1-({3-[2-(二甲基氨基)乙氧基]-5,7-二甲基金刚烷-1-基}甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸

[2710] 

[2711] 使用胺取代和水解一般程序I从制备12和二甲胺作为合适的胺开始，获得所期望产物。HRMS-ESI(m/z)：[M+H]+针对$C_{42}H_{52}N_9O_3S$的计算值：762.3914，发现值：762.3912.

[2712] P28的制备：2-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-

c]哒嗪-8-基]-5-[3-[4-[3-(二甲基氨基)丙-1-炔基]苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸

[2713] 

[2714] 步骤A:4-[3-(二甲基氨基)丙-1-炔基]苯酚

[2715] 使用菌头一般程序从10.0g 4-碘苯酚(45.45mmol)和4.91g(1.3当量)N,N-二甲基丙-2-炔-1-胺开始,获得3.29g(41%)的所期望产物。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δppm 9.83(brs,1H),7.25(d,2H),6.74(d,2H),3.44(s,2H),2.26(s,6H);LC/MS($C_{11}H_{14}NO$)176[M+H]$^{+}$.

[2716] 步骤B:甲基2-(叔丁氧基羰基氨基)-5-[3-[叔丁基(二苯基)甲硅烷基]氧基丙基]噻唑-4-甲酸酯

[2717] 向在DMF(973mL)中的步骤C制备1a的产物(77.0g,243.7mmol)、咪唑(33.14g,2当量)和DMAP(1.49g,0.05当量)中逐滴添加叔-丁基(氯代)二苯基硅烷(93.5mL,1.5当量),并在室温将该反应混合物搅拌16h。除去挥发物后,通过柱色谱法(硅胶,使用庚烷和EtOAc作为洗脱剂)纯化提供13.56g(99%)的期望的产物。^{1}H NMR(500MHz,DMSO-d_6)δppm 11.63(s,1H),7.60(d,4H),7.45(t,2H),7.42(t,4H),3.74(s,3H),3.67(t,2H),3.20(t,2H),1.87(qn,2H),1.47(s,9H),0.99(s,9H);^{13}C NMR(125MHz,DMSO-d_6)δppm 162.8,156.0,142.6,135.6,135.5,133.5,130.3,128.3,81.8,62.9,51.9,34.0,28.3,27.1,23.2,19.2;HRMS-ESI(m/z):[M+H]$^{+}$针对$C_{29}H_{39}N_2O_5SSi$的计算值:555.2349,发现值:555.2336.

[2718] 步骤C:甲基2-[叔丁氧基羰基-[3-(3,6-二氯-5-甲基-哒嗪-4-基)丙基]氨基]-5-[3-[叔丁基(二苯基)甲硅烷基]氧基丙基]噻唑-4-甲酸酯

[2719] 使用烷基化一般程序,从34.95g(63mmol)步骤B的产物和25.0g(1.2当量)3,6-二氯-4-(3-碘丙基)-5-甲基-哒嗪作为合适的碘化合物开始,获得51.0g(定量产率)的所期望产物。^{1}H NMR(500MHz,DMSO-d_6)δppm 7.63-7.37(m,10H),4.09(t,2H),3.75(s,3H),3.67(t,2H),3.20(t,2H),2.82(m,2H),2.40(s,3H),1.87(m,2H),1.87(m,2H),1.50(s,9H),0.97(s,9H);^{13}C NMR(125MHz,DMSO-d_6)δppm 62.9,52.0,46.1,33.9,28.1,27.5,27.1,25.9,23.8,16.4;HRMS-ESI(m/z):[M+H]$^{+}$针对$C_{37}H_{47}C_{12}N_4O_5SSi$的计算值:757.2413,发现值:757.2395.

[2720] 步骤D:甲基5-[3-[叔丁基(二苯基)甲硅烷基]氧基丙基]-2-[3-(3,6-二氯-5-甲基-哒嗪-4-基)丙基氨基]噻唑-4-甲酸酯

[2721] 使用HFIP脱保护通用程序,从51.70g来自步骤C的产物(68mmol)开始,获得36.32g(81%)的所期望产物。^{1}H NMR(500MHz,DMSO-d_6)δppm 7.71(t,1H),7.63-7.37(m,10H),3.69(s,3H),3.67(t,2H),3.30(m,2H),3.10(t,2H),2.85(m,2H),2.83(s,3H),1.79(m,2H),1.78(m,2H),0.98(s,9H);^{13}C NMR(125MHz,DMSO-d_6)δppm 62.9,51.7,44.1,34.2,28.0,27.1,27.0,23.4,16.4;HRMS-ESI(m/z):[M+H]$^{+}$针对$C_{32}H_{39}Cl_2N_4O_3SSi$的计算值:657.1889,发现值:657.1875.

[2722] 步骤E:甲基5-[3-[叔丁基(二苯基)甲硅烷基]氧基丙基]-2-(3-氯-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基)噻唑-4-甲酸酯

[2723] 在90℃将36.0g(54.7mmol)的来自步骤D的产物和35.7g(2当量)的Cs_2CO_3在1,4-二噁烷(383mL)中的混合物搅拌18h。用水稀释后,滤出沉淀的固体,用乙醚清洗,干燥以得到34.0g(99%)的期望的产物。^1H NMR(500MHz,DMSO-d_6)δppm 7.61(d,4H),7.43(t,2H),7.42(t,4H),4.26(t,2H),3.77(s,3H),3.70(t,2H),3.23(t,2H),2.90(t,2H),2.33(s,3H),2.04(qn,2H),1.90(qn,2H),1.00(s,9H);^{13}C NMR(125MHz,DMSO-d_6)δppm 163.1,155.3,151.8,151.4,143.2,136.2,135.5,134.7,133.6,130.3,129.0,128.3,63.1,51.9,46.3,34.1,27.1,24.2,23.1,19.8,19.2,15.7;HRMS-ESI(m/z):$[M+H]^+$针对$C_{32}H_{38}ClN_4O_3SSi$的计算值:621.2122,发现值:621.2097.

[2724] 步骤F:甲基2-(3-氯-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基)-5-(3-羟基丙基)噻唑-4-甲酸酯

[2725] 在室温将23.36g(37.6mmol)的来自步骤E的产物和45mL(1.2当量)的在THF中的1M TBAF溶液(5mL/mmol)的混合物搅拌2h。除去挥发物后,通过柱色谱法(硅胶,使用EtOAc和MeOH/NH_3作为洗脱剂)纯化提供12.88g(89%)的期望的产物。^1H NMR(500MHz,DMSO-d_6)δppm 4.54(br.,1H),4.25(m,2H),3.80(s,3H),3.45(t,2H),3.11(m,2H),2.88(t,2H),2.31(s,3H),2.04(m,2H),1.77(m,2H);^{13}C NMR(125MHz,DMSO-d_6)δppm 163.1,155.2,151.2,143.8,136.1,134.5,129.0,60.5,52.0,46.3,34.6,24.2,23.2,19.7,15.7;HRMS-ESI(m/z):$[M+H]^+$针对$C_{16}H_{20}ClN_4O_3S$的计算值:383.0945,发现值:383.0937.

[2726] 步骤G:甲基2-(3-氯-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基)-5-[3-[4-[3-(二甲基氨基)丙-1-炔基]苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸酯

[2727] 使用光信一般程序I,从0.65g(1.2当量)步骤F的产物和250mg(1.43mmol)4-[3-(二甲基氨基)丙-1-炔基]苯酚的THF溶液(9mL/mmol)开始,得到0.28g(37%)所期望产物。^1H NMR(500MHz,DMSO-d_6)δppm 7.34(d,2H),6.91(d,2H),4.26(t,2H),4.03(t,2H),3.78(s,3H),3.40(s,2H),3.25(t,2H),2.88(t,2H),2.31(s,3H),2.22(s,6H),2.08(qn,2H),2.03(qn,2H);^{13}C NMR(125MHz,DMSO-d_6)δppm 163.1,158.9,155.3,151.7,151.3,142.7,136.2,134.9,133.3,129.0,115.2,115.0,85.2,84.1,67.1,52.0,48.3,46.3,44.3,30.8,24.1,23.1,19.7,15.7;HRMS-ESI(m/z):$[M+H]^+$针对$C_{27}H_{31}ClN_5O_3S$的计算值:540.1836,发现值:540.1834.

[2728] 步骤H:甲基2-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-5-[3-[4-[3-(二甲基氨基)丙-1-炔基]苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸酯

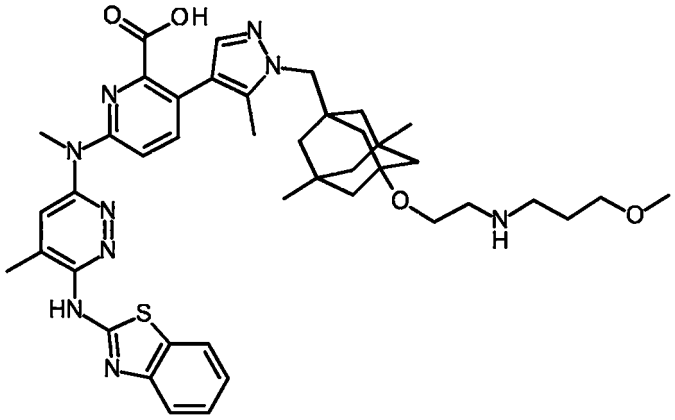
[2729] 使用Buchwald一般程序I从0.27g来自步骤G的产物开始(0.5mmol),获得0.29g(89%)的所期望产物。^1H NMR(500MHz,DMSO-d_6)δppm7.83(dm,1H),7.50(dm,1H),7.36(m,1H),7.35(m,2H),7.18(m,1H),6.94(m,2H),4.28(m,2H),4.09(t,2H),3.80(s,3H),3.39(s,2H),3.29(t,2H),2.88(t,2H),2.35(s,3H),2.23(s,6H),2.13(m,2H),2.07(m,2H);HRMS-ESI(m/z):$[M+H]^+$针对$C_{34}H_{36}N_7O_3S_2$的计算值:654.2321,发现值:654.2322.

[2730] 步骤I:2-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-5-[3-[4-[3-(二甲基氨基)丙-1-炔基]苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸

[2731] 向来自步骤H的产物(280mg,0.43mmol)在1:1 THF和水(10mL/mmol)的混合物中添

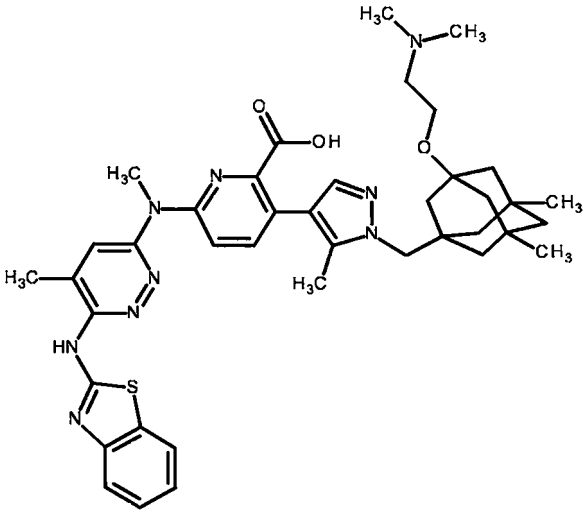
加90mg(5当量)的$LiOHxH_2O$,并在50℃将该反应混合物搅拌18h。除去挥发物后,通过反相制备色谱法(C18,0.1%TFA水溶液和MeCN作为洗脱剂)纯化提供132mg(48%)的期望的化合物。HRMS-ESI(m/z):$[M+H]^+$针对$C_{33}H_{34}N_7O_3S_2$的计算值:640.2165,发现值:640.2160.

[2732] P29的制备:6-[[6-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-5-甲基-哒嗪-3-基]-甲基-氨基]-3-[1-[[3-[2-(3-甲氧基丙基氨基)乙氧基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸

[2733] 

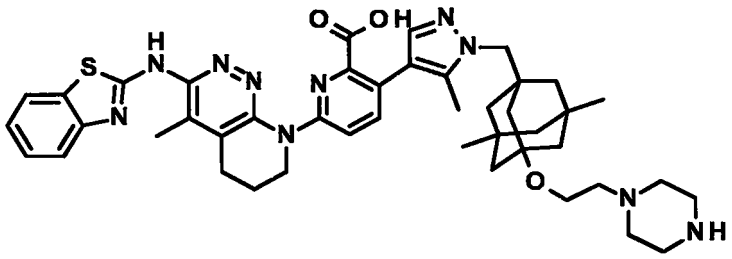
[2734] 使用胺取代和水解一般程序II从制备14_01和3-甲氧基丙-1-胺作为合适的胺开始,获得所期望产物。HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{42}H_{54}N_9O_4S$的计算值:780.4019,发现值:780.4019.

[2735] 制备P30:6-[{6-[(1,3-苯并噻唑-2-基)氨基]-5-甲基哒嗪-3-基}(甲基)氨基]-3-[1-({3-[2-(二甲基氨基)乙氧基]-5,7-二甲基金刚烷-1-基}甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸

[2736] 

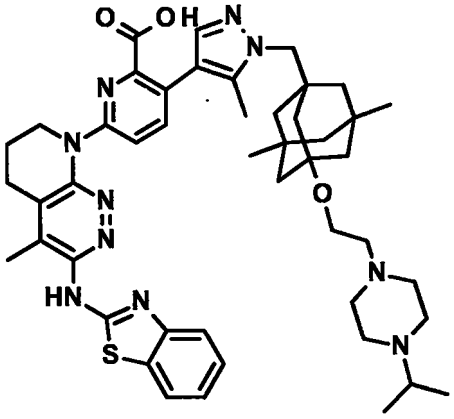
[2737] 使用胺取代和水解一般程序II从制备14_01和二甲胺作为合适的胺开始,获得所期望产物。HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{40}H_{50}N_9O_3S$的计算值:736.3757,发现值:736.3751.

[2738] P31的制备:6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[3,5-二甲基-7-(2-哌嗪-1-基乙氧基)-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸

[2739] 

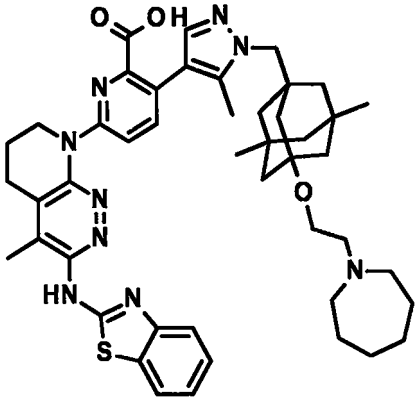
[2740] 使用胺取代和水解一般程序I从制备12和哌嗪作为合适的胺开始，获得所期望产物。HRMS-ESI(m/z)：[M+H]+针对$C_{44}H_{55}N_{10}O_3S$的计算值：803.4179，发现值：803.4177.

[2741] P32的制备：6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[3-[2-(4-异丙基哌嗪-1-基)乙氧基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸

[2742] 

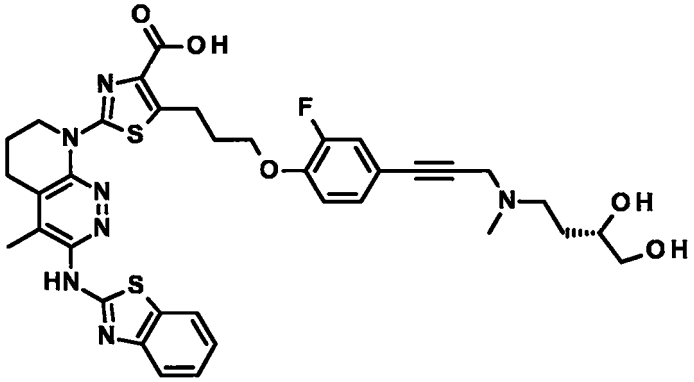
[2743] 使用胺取代和水解一般程序I从制备12和1-异丙基哌嗪作为合适的胺开始，获得所期望产物。HRMS-ESI(m/z)：[M+H]+针对$C_{47}H_{61}N_{10}O_3S$的计算值：845.4649，发现值：845.4646.

[2744] P33的制备：3-[1-[[3-[2-(氮杂环庚烷-1-基)乙氧基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]-6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]吡啶-2-甲酸

[2745] 

[2746] 使用胺取代和水解一般程序I从制备12和氮杂环庚烷作为合适的胺开始，获得所期望产物。HRMS-ESI(m/z)：[M+H]+针对$C_{46}H_{58}N_9O_3S$的计算值：816.4383，发现值：816.4379.

[2747] P34的制备：2-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-5-[3-[4-[3-[[(3S)-3,4-二羟基丁基]-甲基-氨基]丙-1-炔基]-2-氟-苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸

[2748] 

[2749] 步骤A:2-[(4S)-2,2-二甲基-1,3-二氧戊环-4-基]乙基4-甲基苯磺酸酯

[2750] 在0℃向在34mL的DCM中的1.0g(6.8mmol)的2-[(4S)-2,2-二甲基-1,3-二氧戊环-4-基]乙醇和3.8mL(4当量)的三乙基胺中添加4.5g(2当量)的p-甲苯基磺酰基4-甲基苯磺酸酯。搅拌反应混合物直至观察不到进一步的转化,浓缩并用二异丙醚处理。然后,滤出沉淀的盐酸盐,浓缩母液并通过快速色谱法(硅胶,使用庚烷和EtOAc作为洗脱液)纯化,得到1.6g(81%)所期望产物。^{1}H NMR(500MHz,dmso-d6)δppm 7.79(dm,2H),7.49(dm,2H),4.08(m,2H),4.00(m,1H),3.91/3.44(dd+dd,2H),2.42(s,3H),1.83/1.77(m+m,2H),1.24/1.20(s+s,6H);^{13}C NMR(500MHz,dmso-d6)δppm 132.7,132.7,130.7,128.1,108.6,72.3,68.7,68.4,32.9,27.2/25.9,21.6;HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对C14H21O5S的计算值:301.1110,发现值:301.1107.

[2751] 步骤B:N-[2-[(4S)-2,2-二甲基-1,3-二氧戊环-4-基]乙基]丙-2-炔-1-胺

[2752] 在50℃将来自步骤A的产物(7.6g,25.3mmol)、丙-2-炔-1-胺(16mL,10当量)和DIPEA(13.22mL,3当量)在127mL的MeCN中的混合物搅拌16h。浓缩后,在DCM中吸收并用浓$NaHCO_3$溶液和盐水萃取,将合并的有机层干燥并浓缩,得到5.0g(107%)所期望产物,其不经任何进一步纯化即使用。^{1}H NMR(500MHz,dmso-d6)δppm 4.07(m,1H),3.98/3.43(dd+t,2H),3.28(m,2H),3.05(t,1H),2.62/2.55(m+m,2H),2.23(brs,1H),1.63/1.59(m+m,2H),1.30(s,3H),1.25(s,3H);^{13}C NMR(500MHz,dmso-d6)δppm 108.2,83.4,74.6,74.1,69.2,45.1,37.8,33.6,27.3,26.2;HRMS(EI)(m/z):[M]+针对$C_{10}H_{17}NO_2$的计算值:183.1259,发现值:183.1260.

[2753] 步骤C:N-[2-[(4S)-2,2-二甲基-1,3-二氧戊环-4-基]乙基]-N-甲基-丙-2-炔-1-胺

[2754] 在0℃向在N,N-二甲基甲酰胺(14mL)中的来自步骤B的产物(500mg,2.73mmol)中分批添加氢化钠(120mg,1.1当量)。在0℃搅拌0.5h后,将该混合物用碘甲烷(0.17mL,1当量)处理并在室温搅拌18h。在用饱和溶液NH_4Cl和水淬灭后,将该混合物用Et_2O萃取。将合并的有机相干燥并浓缩得到所期望产物(362mg,67%)。GC/MS($C_{11}H_{19}NO_2$)197[M^+].

[2755] 步骤D:乙基2-(3-氯-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基)-5-[3-[4-[3-[2-[(4S)-2,2-二甲基-1,3-二氧戊环-4-基]乙基-甲基-氨基]丙-1-炔基]-2-氟-苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸酯

[2756] 使用菌头一般程序从0.548g(0.89mmol)制备15的产物和350mg(2当量)来自步骤C的产物作为加入适当的乙炔,得到510mg(82%)所期望产物。LC/MS($C_{34}H_{42}ClFN_5O_5S$)686[M+H]$^+$.

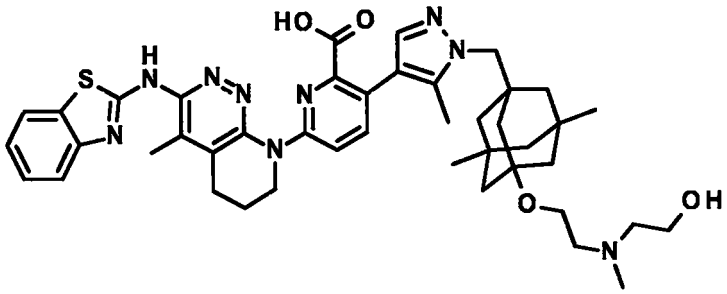
[2757] 步骤E:乙基2-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-5-[3-[4-[3-[2-[(4S)-2,2-二甲基-1,3-二氧戊环-4-基]乙基-甲基-氨基]丙-1-炔基]-2-氟-苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸酯

[2758] 使用Buchwald一般程序I从510mg(0.52mmol)步骤D的产物和234mg(3当量)1,3-苯并噻唑-2-胺,得到200mg(48%)的所期望产物。^{1}H NMR(500MHz,dmso-d6)δppm 7.88(dm,1H),7.49(brd,1H),7.37(m,1H),7.3(dd,1H),7.20(dm,1H),7.19(m,1H),7.16(t,1H),4.26(m,2H),4.25(q,2H),4.14(t,2H),4.04(m,1H),3.98/3.45(dd+dd,2H),3.46(s,2H),3.28(m,2H),2.87(t,2H),2.45/2.39(m+m,2H),2.34(s,3H),2.21(s,3H),2.13(m,2H),2.04(m,2H),1.63(m,2H),1.29(t,3H),1.29(s,3H),1.24(s,3H);HRMS(ESI)(m/z):[M+H]+针对$C_{41}H_{47}FN_7O_5S_2$的计算值:800.3064,发现值:800.3064.

[2759] 步骤F:2-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-5-[3-[4-[3-[[(3S)-3,4-二羟基丁基]-甲基-氨基]丙-1-炔基]-2-氟-苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸

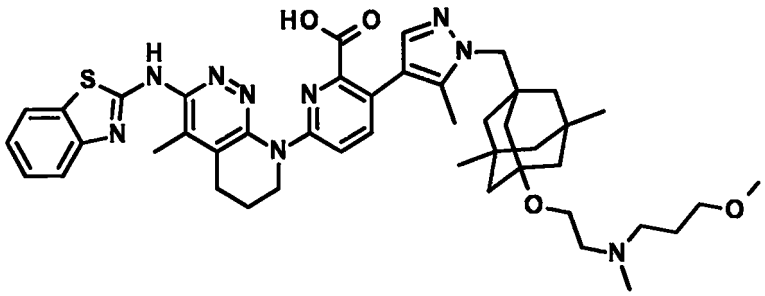
[2760] 在60℃将200mg(0.25mmol)的来自步骤E的产物和53mg的LiOHxH_2O(5当量)在5mL的THF/水(1:1)中的混合物搅拌18h。在0°C(pH=2-3)将该反应混合物用0.125mL(6当量)的浓缩氯化氢处理并在室温搅拌,然后在60℃搅拌0.5h。在将该反应混合物浓缩以除去THF并冻干后,将固体溶解于在MeOH中的6N NH_3溶液中并通过反相色谱法(使用5mM NH_4HCO_3和MeCN作为洗脱剂)纯化,以得到47mg(25%)期望的产物。HRMS(ESI)(m/z):[M+H]+针对$C_{36}H_{39}FN_7O_5S_2$的计算值:732.2438,发现值:732.2441.

[2761] 制备P35:6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[3-[2-[2-羟基乙基(甲基)氨基]乙氧基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸

[2762] 

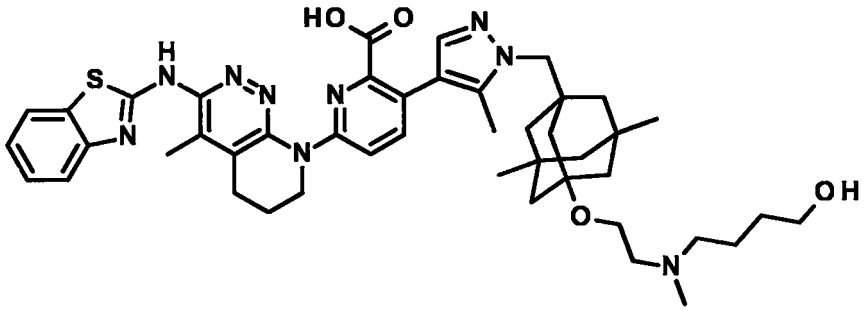
[2763] 使用胺取代和水解一般程序I从制备12和2-(甲基氨基)乙醇作为合适的胺开始,获得所期望产物。HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{43}H_{54}N_9O_4S$的计算值:792.4019,发现值:792.4019.

[2764] 制备P36:6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[3-[2-[3-甲氧基丙基(甲基)氨基]乙氧基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸

[2765] 

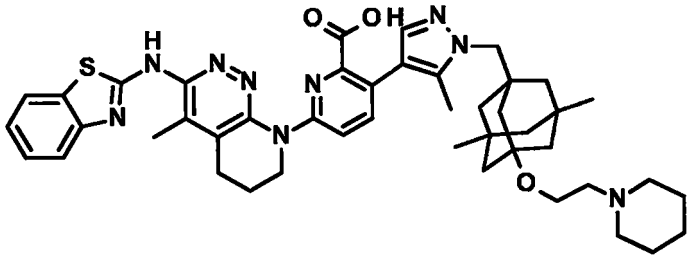
[2766] 使用胺取代和水解一般程序I从制备12和3-甲氧基-N-甲基-丙-1-胺作为合适的胺开始,获得了所期望的产物。HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{45}H_{58}N_9O_4S$的计算值:820.4332,发现值:820.4328.

[2767] 制备P37:6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[3-[2-[4-羟基丁基(甲基)氨基]乙氧基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸

[2768] 

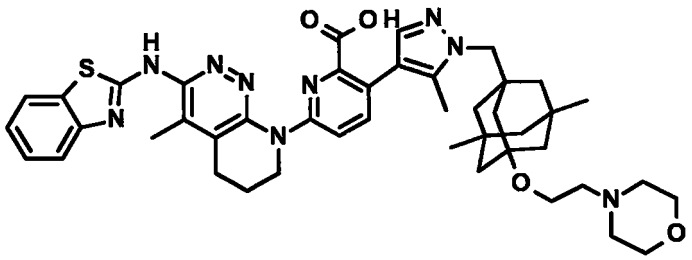
[2769] 使用胺取代和水解一般程序I从制备12和4-(甲基氨基)丁-1-醇作为合适的胺开始,获得了所期望的产物。HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{45}H_{58}N_9O_4S$的计算值:820.4332,发现值:820.4339.

[2770] P38的制备:6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[3,5-二甲基-7-[2-(1-哌啶基)乙氧基]-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸

[2771] 

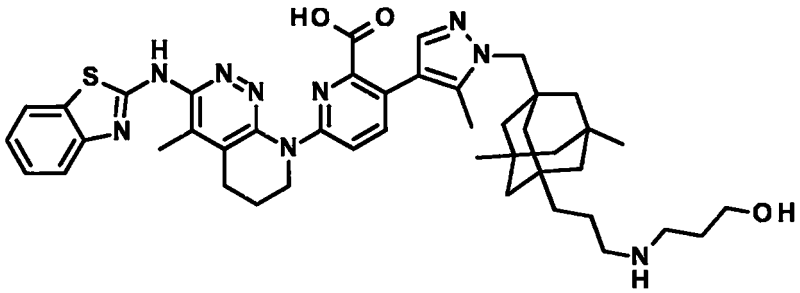
[2772] 使用胺取代和水解一般程序I从制备12和哌啶作为合适的胺开始,获得所期望产物。HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{45}H_{56}N_9O_3S$的计算值:802.4227,发现值:802.4223.

[2773] P39的制备:6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[3,5-二甲基-7-(2-吗啉代乙氧基)-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸

[2774] 

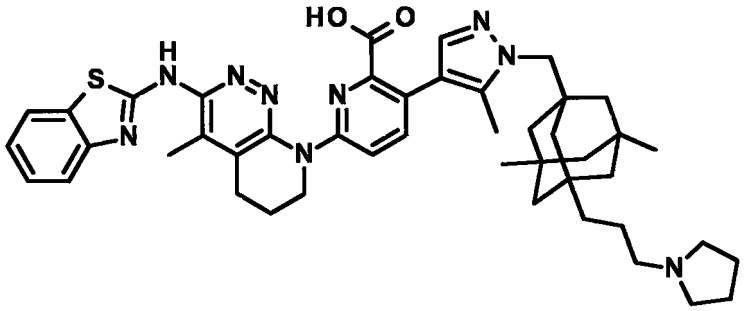
[2775] 使用胺取代和水解一般程序I从制备12和吗啉作为合适的胺开始，获得所期望产物。HRMS-ESI(m/z)：[M+H]+针对$C_{44}H_{54}N_9O_4S$的计算值：804.4019，发现值：804.4012.

[2776] P40的制备：6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[3-[3-(3-羟基丙基氨基)丙基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸

[2777] 

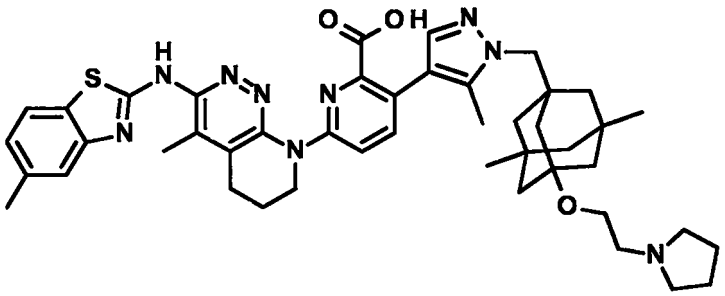
[2778] 使用胺取代和水解一般程序I从制备13和3-氨基丙-1-醇作为合适的胺开始，获得了所期望的产物。HRMS-ESI(m/z)：$[M+H]^+$针对$C_{44}H_{56}N_9O_3S$的计算值：790.4227，发现值：790.4220.

[2779] P41的制备：6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[3,5-二甲基-7-(3-吡咯烷-1-基丙基)-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸

[2780] 

[2781] 使用胺取代和水解一般程序I从制备13和吡咯烷作为合适的胺开始，获得所期望产物。HRMS-ESI(m/z)：$[M+H]^+$针对$C_{45}H_{56}N_9O_2S$的计算值：786.4278，发现值：786.4273.

[2782] 制备P42：3-[1-[[3,5-二甲基-7-(2-吡咯烷-1-基乙氧基)-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]-6-[4-甲基-3-[(5-甲基-1,3-苯并噻唑-2-基)氨基]-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]吡啶-2-甲酸

[2783] 

[2784] 步骤A:甲基3-[1-[[3-(2-羟基乙氧基)-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]-6-[4-甲基-3-[(5-甲基-1,3-苯并噻唑-2-基)氨基]-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3c]哒嗪-8-基]吡啶-2-甲酸酯

[2785] 使用Buchwald一般程序I在130℃ 1.5小时,从制备12步骤C的产物的140mg(0.22mmol)和54.3mg(1.5当量)的5-甲基-1,3-苯并噻唑-2-胺开始,获得126mg(75%)的所期望产物。^{1}H NMR(500MHz,dmso-d6)δppm 12.08/10.89(brs/brs,1H),7.95(d,1H),7.69(d,1H),7.67(br,1H),7.38(s,1H),7.30(br,1H),7.00(d,1H),4.46(brs,1H),4.00(t,2H),3.88(s,2H),3.70(s,3H),3.41(t,2H),3.35(t,2H),2.85(t,2H),2.39(s,3H),2.32(s,3H),2.16(s,3H),1.98(qn,2H),1.39(s,2H),1.30/1.25(d+d,4H),1.18/1.12(d+d,4H),1.08/1.02(d+d,2H),0.87(s,6H);^{13}C NMR(500MHz,dmso-d6)δppm139.8,137.5,123.6,121.6,119.0,62.1,61.5,59.0,52.7,50.1,47.0,46.0,45.4,43.3,30.2,24.3,21.7,21.6,12.6,10.9;HRMS-ESI(m/z):[M+H]$^{+}$针对$C_{42}H_{51}N_8O_4S$的计算值:763.3760,发现值:763.3754.

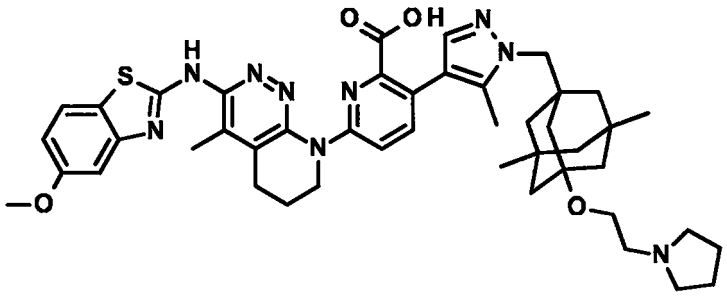
[2786] 步骤B:甲基3-[1-[[3,5-二甲基-7-[2-(p-甲苯基磺酰基氧基)乙氧基]-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]-6-[4-甲基-3-[(5-甲基-1,3-苯并噻唑-2-基)氨基]-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]吡啶-2-甲酸酯

[2787] 向在DCM(2mL)中的来自步骤A的产物(119mg,0.16mmol)和三乙基胺(0.066mL,3当量)中添加p-甲苯基磺酰基4-甲基苯磺酸酯(76mg,1.5当量)并将该反应混合物搅拌1h。通过柱色谱法(硅胶,DCM和EtOAc作为洗脱剂)纯化提供期望的产物(93mg,65%)。^{1}H NMR(500MHz,dmso-d6)δppm 12.17/10.83(brs/brs,1H),7.95(d,1H),7.77(d,2H),7.7(d,1H),7.69(br,1H),7.46(d,2H),7.42(br,1H),7.39(s,1H),7.00(d,1H),4.07(t,2H),4(t,2H),3.96(s,3H),3.85(s,2H),3.49(t,2H),2.85(t,2H),2.40(s,3H),2.39(s,3H),2.32(s,3H),2.15(s,3H),1.99(qn,2H),1.29(s,2H),1.17/1.1(d+d,4H),1.12/1.1(d+d,4H),1.02/0.97(d+d,2H),0.84(s,6H);^{13}C NMR(500MHz,dmso-d6)δppm 139.8,137.6,130.6,128.1,123.6,119.0,71.5,58.8,58.4,52.7,49.9,46.6,45.9,45.4,43.0,30.1,24.3,21.6,21.6,21.6,12.6,10.9;HRMS-ESI(m/z):[M+H]$^{+}$针对$C_{49}H_{57}N_8O_6S_2$的计算值:917.3842,发现值:917.3840.

[2788] 步骤C:3-[1-[[3,5-二甲基-7-(2-吡咯烷-1-基乙氧基)-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]-6-[4-甲基-3-[(5-甲基-1,3-苯并噻唑-2-基)氨基]-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]吡啶-2-甲酸

[2789] 使用胺取代和水解一般程序I从步骤B的产物和吡咯烷作为合适的胺开始,获得所期望产物。HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{45}H_{56}N_9O_3S$的计算值:802.4227,发现值:802.4220.

[2790] P43的制备:3-[1-[[3,5-二甲基-7-(2-吡咯烷-1-基乙氧基)-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]-6-[3-[(5-甲氧基-1,3-苯并噻唑-2-基)氨基]-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]吡啶-2-甲酸

[2791] 

[2792] 步骤A:甲基3-[1-[[3-(2-羟基乙氧基)-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]-6-[3-[(5-甲氧基-1,3-苯并噻唑-2-基)氨基]-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3c]哒嗪-8-基]吡啶-2-甲酸酯

[2793] 使用Buchwald一般程序I在130℃ 2.5小时,从制备12步骤C的产物的140mg(0.22mmol)和60mg(1.5当量)的5-甲基-1,3-苯并噻唑-2-胺开始,获得129mg(75%)的所期望产物。^{1}H NMR(500MHz,dmso-d6)δppm 7.95(d,1H),7.69(d,1H),7.67(br.,1H),7.38(s,1H),7.02(br.,1H),6.80(dd,1H),4.46(br.,1H),4.00(t,2H),3.88(s,2H),3.80(s,3H),3.70(s,3H),3.41(t,2H),3.35(t,2H),2.85(t,2H),2.32(s,3H),2.16(s,3H),1.98(m,2H),1.39(s,2H),1.30/1.25(d+d,4H),1.18/1.12(d+d,4H),1.08/1(d+d,2H),0.87(s,6H);^{13}C NMR(500MHz,dmso-d6)δppm 139.8,137.5,122.6,119.0,110.5,62.1,61.5,58.9,55.8,52.6,50.1,47.0,46.0,45.4,43.3,30.2,24.3,21.7,12.6,10.9;HRMS-ESI(m/z):[M+H]$^{+}$针对$C_{42}H_{51}N_8O_5S$的计算值:779.3703,发现值:779.3687.

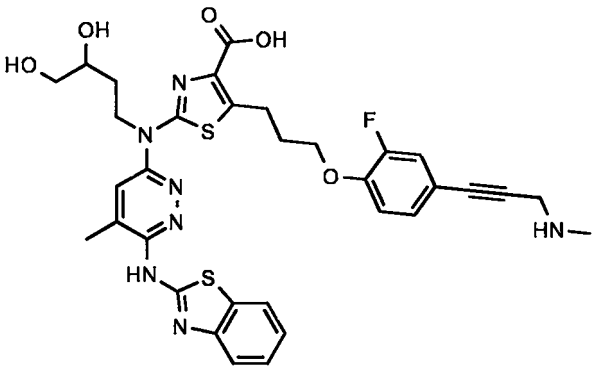
[2794] 步骤B:甲基3-[1-[[3,5-二甲基-7-[2-(p-甲苯基磺酰基氧基)乙氧基]-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]-6-[3-[(5-甲氧基-1,3-苯并噻唑-2-基)氨基]-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]吡啶-2-甲酸酯

[2795] 向在DCM(2mL)中的来自步骤A的产物(122mg,0.16mmol)和三乙基胺(0.066mL,3当量)中添加p-甲苯基磺酰基4-甲基苯磺酸酯(77mg,1.5当量)并将该反应混合物搅拌1h。通过柱色谱法(硅胶,DCM和EtOAc作为洗脱剂)纯化提供期望的产物(79mg,54%)。^{1}H NMR(500MHz,dmso-d6)δppm 12.17/10.83(brs/brs,1H),7.95(d,1H),7.77(d,2H),7.72(d,1H),7.67(brd,1H),7.46(d,2H),7.39(s,1H),7.02(br,1H),6.80(d,1H),4.07(t,2H),4.00(t,2H),3.86(s,2H),3.80(s,3H),3.69(s,3H),3.49(t,2H),2.86(t,2H),2.41(s,3H),2.33(s,3H),2.15(s,3H),1.99(qn,2H),1.29(s,2H),1.17/1.1(d+d,4H),1.12/1.10(d+d,4H),1.02/0.97(d+d,2H),0.84(s,6H);^{13}C NMR(500MHz,dmso-d6)δppm 139.9,137.6,130.6,128.1,119.0,110.6,71.5,58.8,58.4,55.9,52.6,49.9,46.6,45.9,45.8,43.0,30.1,24.3,21.6,21.6,12.7,10.9;HRMS-ESI(m/z):[M+H]$^{+}$针对$C_{49}H_{57}N_8O_7S_2$的计算值:933.3792,发现值:933.3794.

[2796] 步骤C:3-[1-[[3,5-二甲基-7-(2-吡咯烷-1-基乙氧基)-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]-6-[3-[(5-甲氧基-1,3-苯并噻唑-2-基)氨基]-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]吡啶-2-甲酸

[2797] 使用胺取代和水解一般程序I从步骤B的产物和吡咯烷作为合适的胺开始,获得所期望产物。HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{45}H_{57}N_9O_4S$的计算值:818.4176,发现值:818.4172.

[2798] P44的制备:2-[[6-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-5-甲基-哒嗪-3-基]-(3,4-二羟基丁基)氨基]-5-[3-[2-氟-4-[3-(甲基氨基)丙-1-炔基]苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸

[2799] 

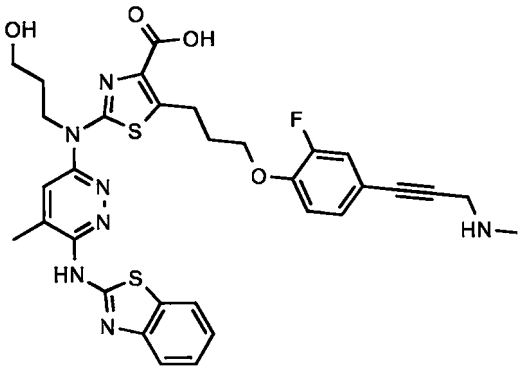
[2800] 步骤A:甲基5-[3-[4-[3-[叔丁氧基羰基(甲基)氨基]丙-1-炔基]-2-氟-苯氧基]丙基]-2-[2-(2,2-二甲基-1,3-二氧戊环-4-基)乙基-[5-甲基-6-[(Z)-[3-(2-三甲基甲硅烷基乙氧基甲基)-1,3-苯并噻唑-2-亚基]氨基]哒嗪-3-基]氨基]噻唑-4-甲酸酯

[2801] 使用Buchwald一般程序III从350mg制备3h_01(0.57mmol,1当量)和235mg制备4a_01(0.57mmol,1当量)作为合适的卤化物开始,获得490mg(87%)所期望产物。^{1}H NMR(500MHz,DMSO-d_6)δppm 7.84(d,1H),7.68(s,1H),7.47(d,1H),7.44(td,1H),7.32(brd.,1H),7.25(td,1H),7.22(d,1H),7.16(t,1H),5.86(s,2H),4.49/4.33(m+m,2H),4.20(br.,2H),4.17(m,1H),4.15(t,2H),4.04/3.63(dd+dd,2H),3.77(s,3H),3.72(t,2H),3.27(t,2H),2.84(br.,3H),2.45(s,3H),2.13(m,2H),1.75(m,2H),1.40(s,9H),1.37/1.24(s+s,6H),0.92(t,2H),-0.11(s,9H);^{13}C NMR(125MHz,DMSO-d_6)δppm 129.1,127.2,123.5,123.2,119.3,117.5,115.5,112.0,108.6,73.7,72.8,68.9,68.4,66.7,51.9,44.4,38.5,33.8,30.9,28.5,27.3/26.0,23.3,23.1,17.9,17.8,-1.0;HRMS-ESI(m/z):$[M+H]^+$针对$C_{48}H_{63}FN_7O_8S_2Si$的计算值:976.3927,发现值976.3916.

[2802] 步骤B:2-[[6-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-5-甲基-哒嗪-3-基]-(3,4-二羟基丁基)氨基]-5-[3-[2-氟-4-[3-(甲基氨基)丙-1-炔基]苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸

[2803] 使用脱保护和水解一般程序从来自步骤A的产物作为合适的甲酯开始,获得所期望产物。HRMS-ESI(m/z):$[M+H]^+$针对$C_{33}H_{35}FN_7O_5S_2$的计算值:692.2120发现值692.2114.

[2804] P45的制备:2-[[6-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-5-甲基-哒嗪-3-基]-(3-羟基丙基)氨基]-5-[3-[2-氟-4-[3-(甲基氨基)丙-1-炔基]苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸

[2805] 

[2806] 步骤A:甲基5-[3-[4-[3-[叔丁氧基羰基(甲基)氨基]丙-1-炔基]-2-氟-苯氧基]丙基]-2-[3-[叔丁基(二甲4甲硅烷基]氧基丙基-[5-甲基-6-[(Z)-[3-(2-三甲基甲硅烷基乙氧基甲基)-1,3-苯并噻唑-2-亚基]氨基]哒嗪-3-基]氨基]噻唑-4-甲酸酯

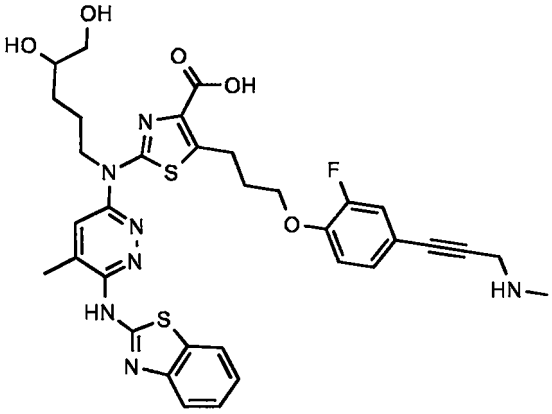
[2807] 使用Buchwald一般程序III从300mg制备3n_01(0.46mmol,1当量)和187mg制备4a_

01(0.46mmol,1当量)作为合适的卤化物开始,获得395mg(83%)所期望产物。^{1}H NMR(500MHz,DMSO-d_6)δppm 7.82(dd,1H),7.60(s,1H),7.44(m,1H),7.44(dd,1H),7.31(dd,1H),7.24(m,1H),7.20(m,1H),7.15(t,1H),5.84(s,2H),4.39(t,2H),4.20(s,2H),4.14(t,2H),3.76(s,3H),3.70(t,2H),3.70(t,2H),3.25(t,2H),2.84(s,3H),2.42(s,3H),2.11(m,2H),1.91(m,2H),1.40(s,9H),0.91(t,2H),0.85(s,9H),0.01(s,6H),-0.12(s,9H);^{13}C NMR(125MHz,DMSO-d_6)δppm 162.2,147.5,137.6,129.1,127.2,123.4,123.2,119.3,117.5,115.4,112.0,79.7,72.8,68.4,66.7,60.5,51.9,44.6,38.1,33.8,30.9,30.4,28.6,26.3,23.1,17.9,17.8,-0.9,-5.0;HRMS-ESI(m/z):[M+H]$^{+}$针对$C_{50}H_{71}FN_7O_7S_2Si_2$的计算值:1020.4373发现值1020.4365.

[2808] 步骤B:2-[[6-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-5-甲基-哒嗪-3-基]-(3-羟基丙基)氨基]-5-[3-[2-氢-4-[3-(甲基氨基)丙-1-炔基]苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸

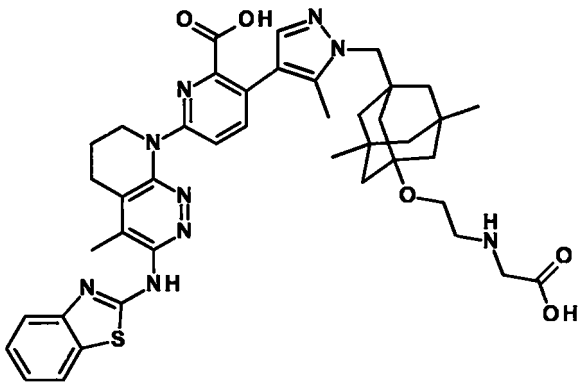
[2809] 使用脱保护和水解一般程序从来自步骤A的产物作为合适的甲酯开始,获得所期望产物。HRMS-ESI(m/z):[M+H]$^{+}$针对$C_{32}H_{33}FN_7O_4S_2$的计算值:662.2014发现值662.2016.

[2810] P46的制备:2-[[6-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-5-甲基-哒嗪-3-基]-(4,5-二羟基戊基)氨基]-5-[3-[2-氟-4-[3-(甲基氨基)丙-1-炔基]苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸

[2811] 

[2812] 使用脱保护和水解一般程序从来自制备5a_01步骤A的产物作为合适的甲酯开始,获得所期望产物。HRMS-ESI(m/z):[M+H]$^{+}$针对$C_{34}H_{37}FN_7O_5S_2$的计算值:706.2276发现值706.2274.

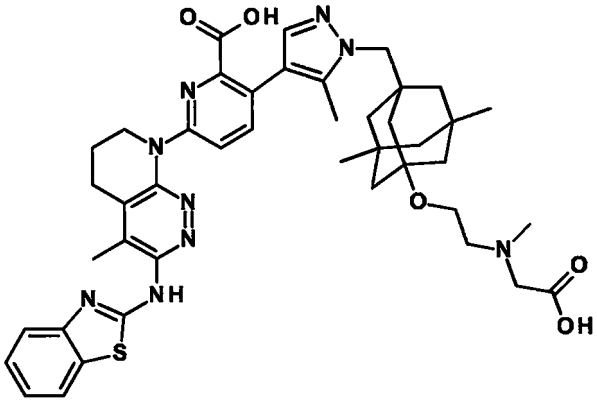
[2813] 制备P47:6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[3-[2-(羧基甲基氨基)乙氧基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸

[2814] 

[2815] 使用胺取代和水解一般程序III从制备16和甲基2-氨基乙酸酯、氯化氢(1:1)作为

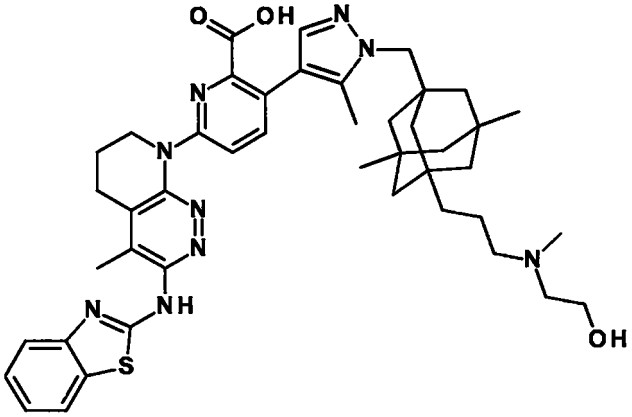
合适的胺开始，得到所期望产物。HRMS-ESI(m/z)：[M+H]+针对$C_{42}H_{50}N_9O_5S$的计算值：792.3656，发现值：792.3651.

[2816] 制备P48：6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[3-[2-[羧基甲基(甲基)氨基]乙氧基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸

[2817] 

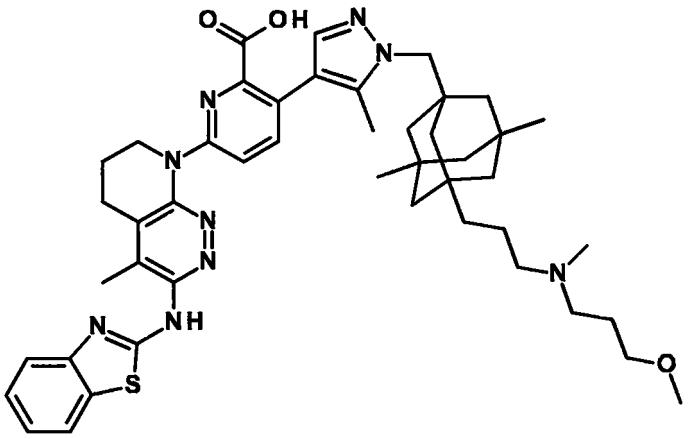
[2818] 使用胺取代和水解一般程序III从制备16和甲基2-(甲基氨基)乙酸酯、氯化氢(1:1)作为合适的胺开始，得到所期望产物。HRMS-ESI(m/z)：[M+H]+针对$C_{43}H_{52}N_9O_5S$的计算值：806.3812，发现值：806.3807.

[2819] 制备P49：6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[3-[3-[2-羟基乙基(甲基)氨基]丙基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸

[2820] 

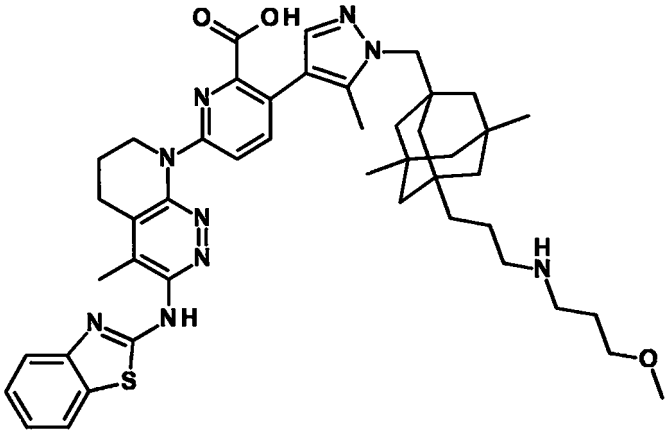
[2821] 使用胺取代和水解一般程序I从制备13和2-(甲基氨基)乙醇作为合适的胺开始，获得所期望产物。HRMS-ESI(m/z)：[M+H]+针对$C_{44}H_{56}N_9O_3S$的计算值：790.4227，发现值：790.4227.

[2822] 制备P50：6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[3-[3-[3-甲氧基丙基(甲基)氨基]丙基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸

[2823] 

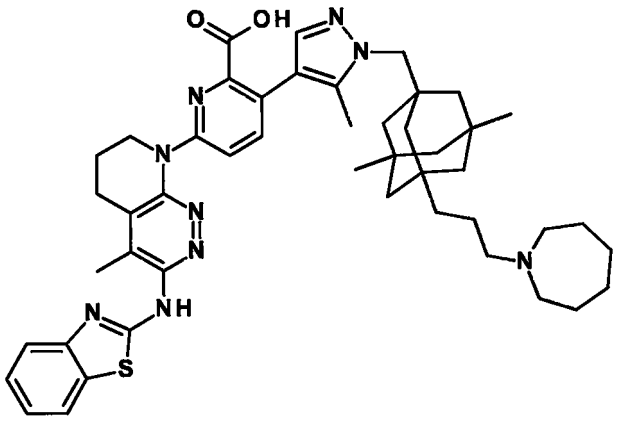
[2824] 使用胺取代和水解一般程序I从制备13和3-甲氧基-N-甲基-丙-1-胺作为合适的胺开始,获得了所期望的产物。HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{46}H_{60}N_9O_3S$的计算值:818.4540,发现值:818.4537.

[2825] 制备P51:6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[3-[3-(3-甲氧基丙基氨基)丙基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸

[2826] 

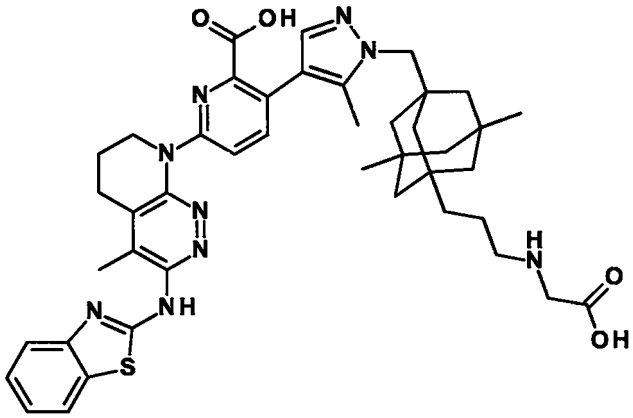
[2827] 使用胺取代和水解一般程序I从制备13和3-甲氧基丙-1-胺作为合适的胺开始,获得所期望产物。HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{45}H_{58}N_9O_3S$的计算值:804.4383,发现值:804.4380.

[2828] 制备P52:3-[1-[[3-[3-(氮杂环庚烷-1-基)丙基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]-6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]吡啶-2-甲酸

[2829] 

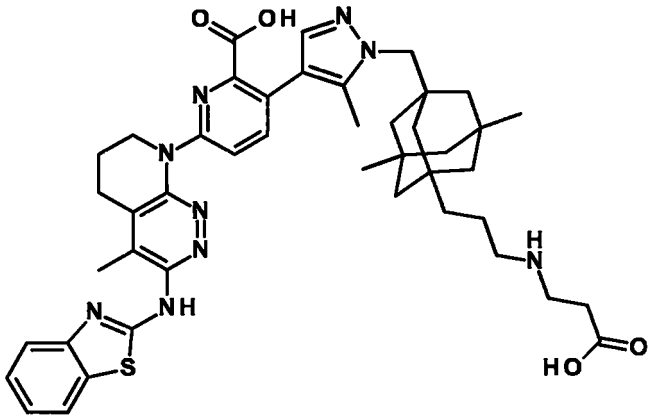
[2830] 使用胺取代和水解一般程序I从制备13和氮杂环庚烷作为合适的胺开始，获得所期望产物。HRMS-ESI(m/z)：[M+H]+针对$C_{47}H_{60}N_9O_2S$的计算值：814.4591，发现值：814.4588.

[2831] 制备P53：6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[3-[3-(羧基甲基氨基)丙基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸

[2832] 

[2833] 使用胺取代和水解一般程序III从制备13和甲基2-氨基乙酸酯、氯化氢(1:1)作为合适的胺开始，得到所期望产物。HRMS-ESI(m/z)：[M+H]+针对$C_{43}H_{52}N_9O_4S$的计算值：790.3863，发现值：790.3855.

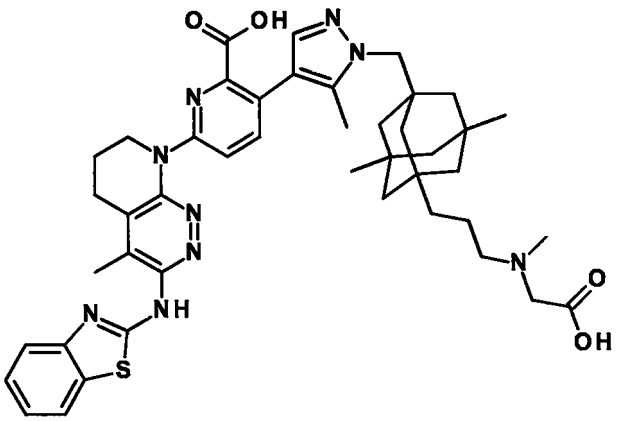
[2834] 制备P54：6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[3-[3-(2-羧基乙基氨基)丙基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸

[2835] 

[2836] 使用胺取代和水解一般程序III从制备13和3-氨基丙酸甲酯作为合适的胺开始，

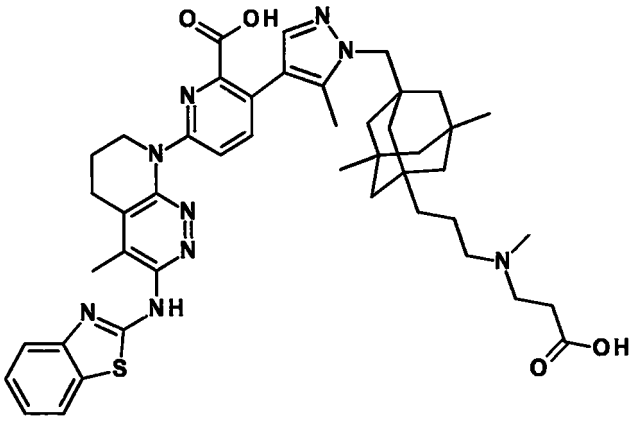
获得所期望产物。HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{44}H_{54}N_9O_4S$的计算值:804.4019,发现值:804.4015.

[2837] 制备P55:6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[3-[3-[羧基甲基(甲基)氨基]丙基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸

[2838] 

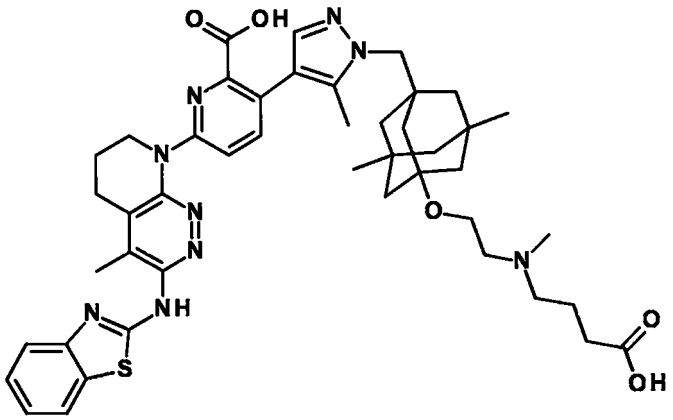
[2839] 使用胺取代和水解一般程序III从制备13和甲基2-(甲基氨基)乙酸酯、氯化氢(1:1)作为合适的胺开始,得到所期望产物。HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{44}H_{54}N_9O_4S$的计算值:804.4019,发现值:804.4014.

[2840] P56的制备:6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[3-[3-[2-羧基乙基(甲基)氨基]丙基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸

[2841] 

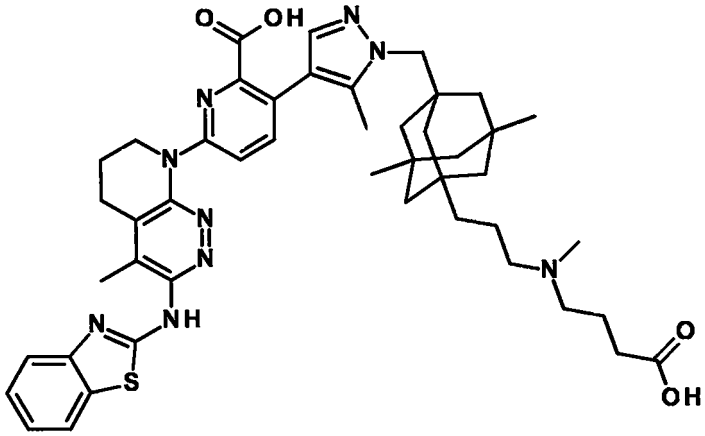
[2842] 使用胺取代和水解一般程序III从制备13和乙基3-(甲基氨基)丙酸酯、氯化氢(1:1)作为合适的胺开始,得到所期望产物。HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{45}H_{56}N_9O_4S$的计算值:818.4176,发现值:818.4167.

[2843] 制备P57:6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[3-[2-[3-羧基丙基(甲基)氨基]乙氧基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸

[2844] 

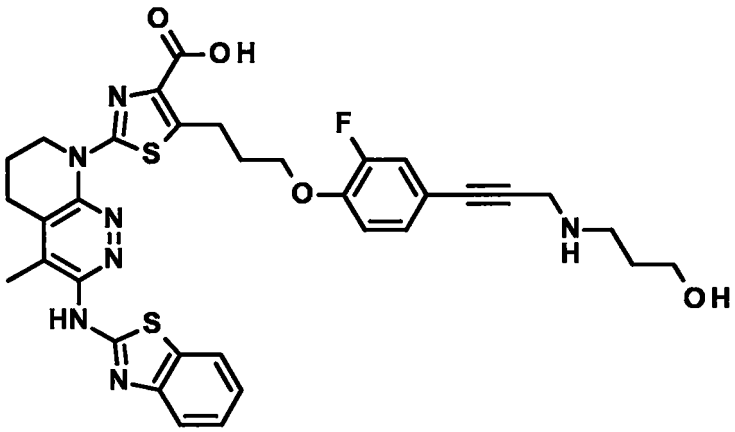
[2845] 使用胺取代和水解一般程序III从制备16和甲基4-(甲基氨基)丁酸酯、氯化氢(1:1)作为合适的胺开始,得到所期望产物。HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{45}H_{56}N_9O_5S$的计算值:834.4125,发现值:834.4115.

[2846] 制备P58:6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[3-[3-[3-羧基丙基(甲基)氨基]丙基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸

[2847] 

[2848] 使用胺取代和水解一般程序IH从制备13和甲基4-(甲基氨基)丁酸酯、氯化氢(1:1)作为合适的胺开始,得到所期望产物。HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{46}H_{58}N_9O_4S$的计算值:832.4332,发现值:832.4324.

[2849] 制备P59:2-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-5-[3-[2-氟-4-[3-(3-羟基丙基氨基)丙-1-炔基]苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸

[2850] 

[2851] 步骤A:3-[叔丁基(二甲基)甲硅烷基]氧基-N-丙-2-炔基-丙-1-胺

[2852] 在50℃将0.70mL(3.0mmol)的3-溴丙氧基-叔-丁基-二甲基-硅烷、1.9mL(10当量)的炔丙胺和1.6mL(3当量)的D[PEA在乙腈(15mL)中的混合物搅拌直到观察不到进一步的转化。将反应混合物浓缩,用DCM稀释,并用饱和$NaHCO_3$和盐水萃取。将合并的有机层干燥并浓缩以定量产率得到所期望产物。^{1}H NMR(500MHz,dmso-d6)δppm 3.62(t,2H),3.27(d,2H),3.02(t,1H),2.59(t,2H),2.19(brs,1H),1.57(m,2H),0.86(s,9H),0.02(s,6H);^{13}C NMR(500MHz,dmso-d6)δppm 73.9,61.5,45.2,37.9,32.7,26.3,-4.8;HRMS(EI)(m/z):[M-CH3]+针对$C_{11}H_{22}NOSi$的计算值:212.1471,发现值:212.1467.

[2853] 步骤B:乙基5-[3-[4-[3-[3-[叔丁基(二甲基)甲硅烷基]氧基丙基氨基]丙-1-炔基]-2-氟-苯氧基]丙基]-2-(3-氯-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基)噻唑-4-甲酸酯

[2854] 使用菌头一般程序从1.0g(1.64mmol)制备15的产物和737mg(2当量)来自步骤A的产物作为加入适当的乙炔,得到1.16g(96%)所期望产物。^{1}H NMR(500MHz,dmso-d6)δppm 45.2(t,2H),7.24(dd,1H),7.17(dd,1H),7.14(t,1H),4.27(br.,2H),4.25(q,2H),4.12(t,2H),3.65(t,2H),3.6(s,2H),3.25(t,2H),2.89(t,2H),2.32(s,3H),2.11(m,2H),2.04(m,2H),1.63(m,2H),1.28(t,3H),0.84(s,9H),0.02(s,6H);^{13}C NMR(500MHz,dmso-d6)δppm 128.8,119.1,115.4,68.3,61.3,60.7,46.3,45.2,38.4,32.4,30.8,26.3,24.2,23.1,19.7,15.7,14.6,-4.8;HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{35}H_{48}ClEN_5O_4SSi$的计算值:716.2869,发现值:716.2868.

[2855] 步骤C:乙基2-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-5-[3-[4-[3-[3-[叔丁基(二甲基)甲硅烷基]氧基丙基氨基]丙-1-炔基]-2-氟-苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸酯

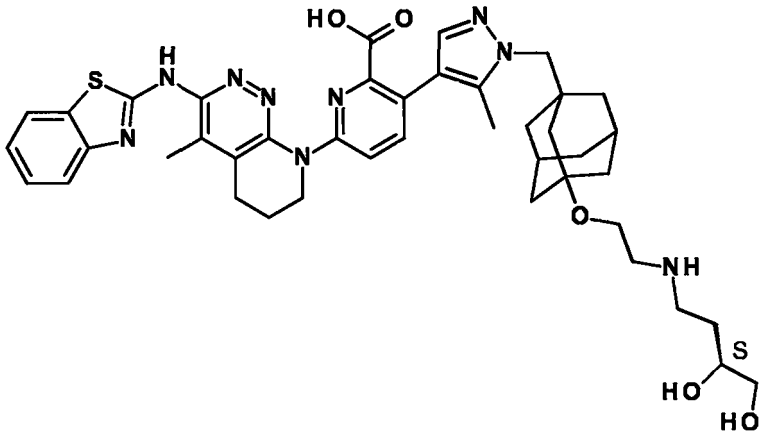
[2856] 使用Buchwald一般程序I从1.16g(1.57mmol)步骤B的产物和730mg(2当量)1,3-苯并噻唑-2-胺,得到598mg(45%)的所期望产物。^{1}H NMR(500MHz,dmso-d6)δppm 7.87(d,1H),7.49(d,1H),7.37(td,1H),7.25(dd,1H),7.19(t,1H),7.17(t,1H),7.17(m,1H),4.26(br.,2H),4.25(q,2H),4.14(t,2H),3.63(t,2H),3.57(s,2H),3.27(t,2H),2.87(t,2H),2.69(t,2H),2.34(s,3H),2.13(m,2H),2.04(m,2H),1.61(m,2H),1.28(t,3H),0.84(s,9H),0.02(s,6H);^{13}C NMR(500MHz,dmso-d6)δppm 128.9,126.5,122.5,122.3,119.1,116.3,115.5,68.4,61.3,60.6,46.3,45.2,38.4,32.4,31.1,26.3,23.9,23.2,20.3,14.6,12.9,-4.9;HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{42}H_{53}FN_7O_4S_2Si$的计算值:830.3354,发现值:830.3347.

[2857] 步骤D:2-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-5-[3-[2-氟-4-[3-(3-羟基丙基氨基)丙-1-炔基]苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸

[2858] 在60℃将590mg(0.71mmol)的来自步骤C的产物和298mg的$LiOHxH_2O$(10当量)在7mL的THF/水(1:1)中的混合物进行搅拌,直到观察不到进一步的转化。在0℃(pH=2-3)下用0.71mL(12当量)浓氯化氢处理反应混合物并搅拌直至观察不到进一步的转化。在将反应混合物浓缩以除去THF并冻干后,将固体溶解在6N NH_3的MeOH溶液中并通过反相色谱纯化(使用25mM NH_4HCO_3和MeCN作为洗脱液),得到100mg(21%)的所期望产物。HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{34}H_{35}FN_7O_4S_2$的计算值:688.2176,发现值:688.2179.

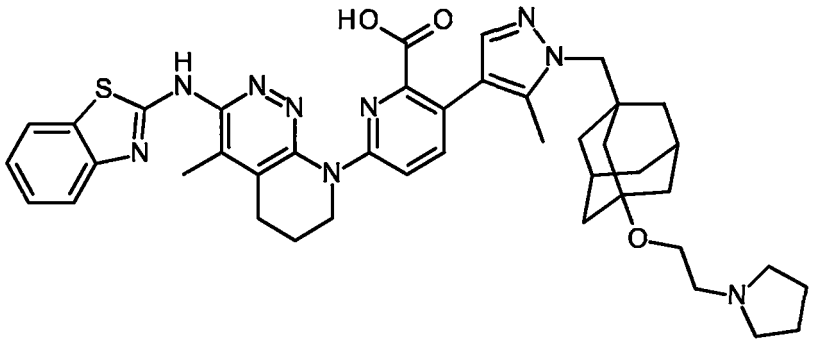
[2859] 制备P60:6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[3-[2-[[(3S)-3,4-二羟基丁基]氨基]乙氧基]-1-金刚烷基]甲基]-5-

甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸

[2860] 

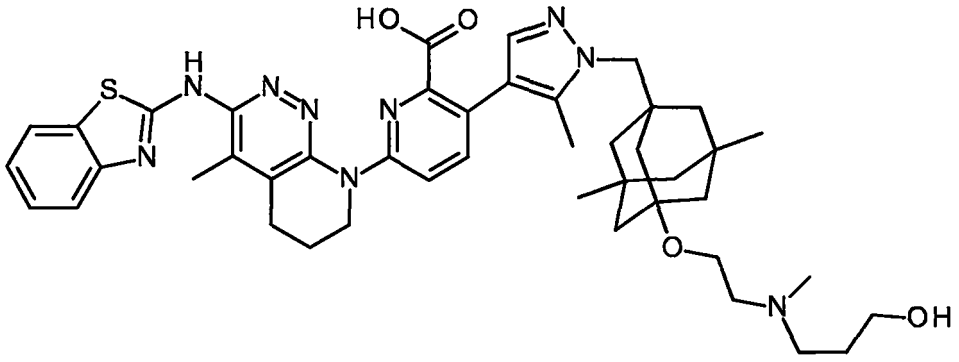
[2861] 向在乙腈(30ml/mmol)中的来自制备18的产物(0.066mmol)中添加2-[(4S)-2,2-二甲基-1,3-二氧戊环-4-基]乙胺、氯化氢(1:1)(3当量)并在60°C将该反应混合物搅拌48h。在添加KOH溶液(5当量)后,在60°C将该反应混合物搅拌1h。在添加HCl溶液(10当量)后,在60℃将该反应混合物搅拌1h。将产物通过制备型HPLC色谱法(使用乙腈和5mM NH_4HCO_3水溶液作为洗脱剂)纯化以得到期望的产物。HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{42}H_{52}N_9O_5S$的计算值:794.3812,发现值:794.3807.

[2862] 制备P61:6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[5-甲基-1-[[3-(2-吡咯烷-1-基乙氧基)-1-金刚烷基]甲基]吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸

[2863] 

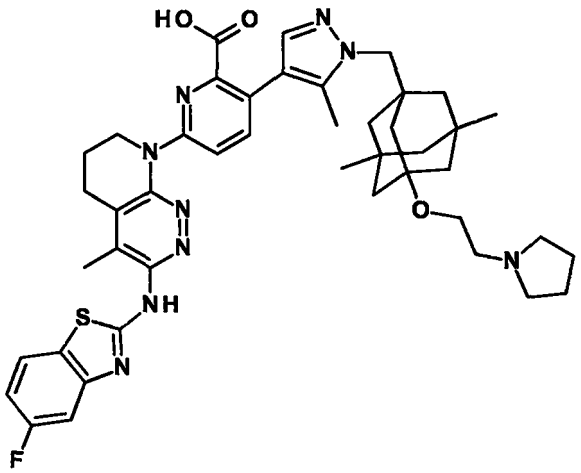
[2864] 使用胺取代和水解一般程序I从制备18和吡咯烷作为合适的胺开始,获得所期望产物。HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{42}H_{50}N_9O_3S$的计算值:760.3757,发现值:760.3753.

[2865] P62的制备:6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[3-[2-[3-羟基丙基(甲基)氨基]乙氧基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸

[2866] 

[2867] 使用胺取代和水解一般程序I从制备16和3-(甲基氨基)丙-1-醇作为合适的胺开始,获得了所期望的产物。HRMS-ESI(m/z):[M+2H]2+针对$C_{44}H_{56}N_9O_4S$的计算值:403.7127,发现值:403.7126.

[2868] 制备P63:3-[1-[[3,5-二甲基-7-(2-吡咯烷-1-基乙氧基)-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]-6-[3-[(5-氟-1,3-苯并噻唑-2-基)氨基]-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]吡啶-2-甲酸

[2869] 

[2870] 步骤A:(4-甲氧基苯基)甲基6-(3-氯-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基)-3-[1-[[3,5-二甲基-7-[2-(p-甲苯基磺酰基氧基)乙氧基]-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸酯

[2871] 向在2mL的二氯甲烷中的260mg(0.35mmol)的制备16步骤C的产物中添加0.5mL(10当量)的N,N-二乙基乙胺和457mg(4当量)的p-甲苯基磺酰基4-甲基苯磺酸酯,然后将该混合物搅拌0.5h。将该产物通过柱色谱法(硅胶,使用DCM和EtOAc作为洗脱剂)纯化以得到259mg(85%)的期望的产物。^{1}H NMR(500MHz,dmso-d6)δppm 7.85(d,1H),7.76(d,2H),7.71(d,1H),7.45(d,2H),7.40(s,1H),7.16(d,2H),6.89(d,2H),5.09(s,2H),4.05(t,2H),3.96(t,2H),3.81(s,2H),3.74(s,3H),3.46(t,2H),2.87(t,2H),2.40(s,3H),2.29(s,3H),2.08(s,3H),1.98(qn,2H),1.29(s,2H),1.13/1.11(d+d,4H),1.11/1.06(d+d,4H),0.98/0.90(d+d,2H),0.81(s,6H);^{13}C NMR(500MHz,dmso-d6)δppm 140.1,137.7,130.6,130.2,128.2,120.5,114.3,71.4,66.8,58.9,58.4,55.6,49.8,46.5,46.0,45.8,42.9,30.0,24.6,21.6,21.0,15.5,10.8;HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{48}H_{56}ClN_6O_7S$的计算值:895.3620,发现值:895.3619.

[2872] 步骤B:(4-甲氧基苯基)甲基6-(3-氯-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基)-3-[1-[[3,5-二甲基-7-(2-吡咯烷-1-基乙氧基)-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸酯

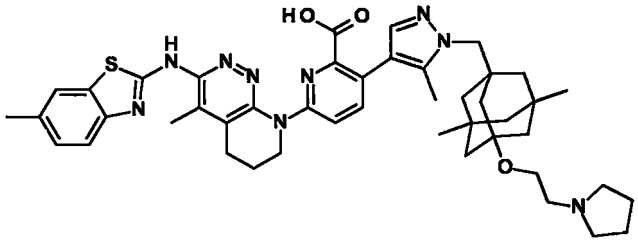
[2873] 向在3mL乙腈中的259mg(0.29mmol)的来自步骤A的产物中添加吡咯烷(3当量),并在55℃将该反应混合物搅拌18h。将产物通过柱色谱法(硅胶,使用DCM和MeOH作为洗脱剂)纯化以得到221mg(98%)的期望的产物。^{1}H NMR(500MHz,dmso-d6)δppm 7.85(d,1H),7.70(d,1H),7.40(s,1H),7.18(m,2H),6.91(m,2H),5.10(s,2H),3.96(m,2H),3.86(s,2H),3.75(s,3H),3.60-2.90(brs,6H),3.59(brt,2H),2.87(t,2H),2.29(s,3H),2.11(s,3H),2.10-1.70(brs,4H),1.98(m,2H),1.48-0.94(m,12H),0.86(s,6H);^{13}C NMR(500MHz,dmso-d6)δ

ppm 140.1,137.7,130.2,120.5,114.3,66.8,58.9,56.9,55.6,46.0,30.0,24.6,21.0,15.5,10.9;HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{45}H_{57}ClN_7O_4$的计算值:794.4161,发现值:794.4160.

[2874] 步骤C:3-[1-[[3,5-二甲基-7-(2-吡咯烷-1-基乙氧基)-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑4-基]-6-[3-[(5-氟-1,3-苯并噻唑-2-基)氨基]-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]吡啶-2-甲酸

[2875] 将0.22g(0.28mmol)的来自步骤B的产物、93.5mg(2当量)的5-氟代-1,3-苯并噻唑-2-胺、25mg(0.1当量)的$Pd_2(dba)_3$、32mg(0.2当量)的XantPhos和0.14mL(3当量)的DIPEA在2mL的丁-2-醇中的混合物保持在100℃在微波反应器1h。将该产物通过柱色谱法(使用DCM/MeOH作为洗脱剂)纯化以得到偶联产物,在50℃将偶联产物用在2mL的乙腈中的3当量的KOH处理18h。将该水解产物通过制备型HPLC色谱法(使用乙腈和5mM NH_4HCO_3水溶液作为洗脱剂)纯化以得到期望的产物。HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{44}H_{53}FN_9O_3S$的计算值:806.3976,发现值:806.3971.

[2876] 制备P64:3-[1-[[3,5-二甲基-7-(2-吡咯烷-1-基乙氧基)-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]-6-[4-甲基-3-[(6-甲基-1,3-苯并噻唑-2-基)氨基]-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]吡啶-2-甲酸

[2877] 

[2878] 步骤A:(4-甲氧基苯基)甲基3-[1-[[3-(2-羟基乙氧基)-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]-6-[4-甲基-3-[(6-甲基-1,3-苯并噻唑-2-基)氨基]-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]吡啶-2-甲酸酯

[2879] 将250mg(0.34mmol)的制备16步骤C、112mg(2当量)的6-甲基-1,3-苯并噻唑-2-胺、31mg(0.1当量)的$Pd_2(dba)_3$、39mg(0.2当量)的XantPhos和0.17mL(3当量)的DIPEA在2.5mL的环己醇中的混合物在130°C保持2h。将该产物通过柱色谱法(使用DCM/MeOH作为洗脱剂)纯化以得到206mg(71%)的期望的产物。^{1}H NMR(300MHz,dmso-d6)δppm 7.93(d,1H),7.69(d,1H),7.62(brs,1H),7.45(brs,1H),7.39(s,1H),7.19(m,2H),7.16(brd,1H),6.91(m,2H),5.10(s,2H),4.45(brs,1H),3.99(m,2H),3.85(s,2H),3.75(s,3H),3.40(t,2H),3.34(t,2H),2.85(t,2H),2.37(s,3H),2.31(s,3H),2.11(s,3H),1.98(m,2H),1.43-0.9(m,12H),0.84(s,6H);^{13}C NMR(300MHz,dmso-d6)δppm 140.0,137.6,130.2,127.5,121.7,118.9,114.3,66.7,62.1,61.5,59.0,55.6,45.4,30.1,24.2,21.7,21.4,12.6,10.9;HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{49}H_{57}N_8O_5S$的计算值:869.4173,发现值:869.4167.

[2880] 步骤B:(4-甲氧基苯基)甲基3-[1-[[3,5-二甲基-7-[2-(p-甲苯基磺酰基氧基)乙氧基]-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]-6-[4-甲基-3-[(6-甲基-1,3-苯并噻唑-2-基)氨基]-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]吡啶-2-甲酸酯

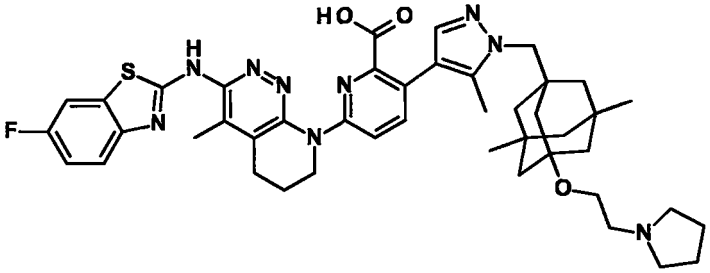
[2881] 向在2mL的二氯甲烷中的203mg(0.23mmol)的来自步骤A的产物中添加0.16mL(5当量)的N,N-二乙基乙胺和150mg(2当量)的p-甲苯基磺酰基4-甲基苯磺酸酯,然后将该混合

物搅拌18h。将该产物通过柱色谱法(硅胶,使用DCM和EtOAc作为洗脱剂)纯化以得到84mg(38%)的期望的产物。^{1}H NMR(500MHz,dmso-d6)δppm 10.74(br.,1H),7.94(d,1H),7.76(dm,2H),7.69(d,1H),7.61(br.,1H),7.45(dm,2H),7.44(br.,1H),7.40(s,1H),7.18(dm,2H),7.17(brd.,1H),6.90(dm,2H),5.09(s,2H),4.05(t,2H),3.99(t,2H),3.82(s,2H),3.74(s,3H),3.47(t,2H),2.84(t,2H),2.40(s,3H),2.37(brs.,3H),2.31(s,3H),2.10(s,3H),1.98(m,2H),1.35-0.87(m,12H),0.81(s,6H);^{13}C NMR(500MHz,dmso-d6)δppm 140.0,137.7,130.6,130.1,128.1,127.5,121.8,118.9,114.3,71.5,66.7,58.9,58.4,55.6,45.4,30.0,24.3,21.6,21.6,21.4,12.5,10.9;HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{56}H_{63}N_8O_7S_2$的计算值:1023.4261,发现值:1023.4265.

[2882] 步骤C:3-[1-[[3,5-二甲基-7-(2-吡咯烷-1-基乙氧基)-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]-6-[4-甲基-3-[(6-甲基-1,3-苯并噻唑-2-基)氨基]-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]吡啶-2-甲酸

[2883] 向在1mL乙腈中的84mg(0.082mmol)的来自步骤B的产物中添加吡咯烷(3当量)并在55℃将该反应混合物搅拌18h。用5当量的KOH处理后,在55℃将该混合物搅拌1h并将产物通过制备型HPLC色谱法(使用乙腈和5mM NH_4HCO_3水溶液作为洗脱剂)纯化以得到期望的产物。HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{45}H_{56}N_9O_3S$的计算值:802.4227,发现值:802.4227.

[2884] 制备P65:3-[1-[[3,5-二甲基-7-(2-吡咯烷-1-基乙氧基)-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]-6-[3-[(6-氟-1,3-苯并噻唑-2-基)-氨基]-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]吡啶-2-甲酸

[2885] 

[2886] 步骤A:(4-甲氧基苯基)甲基6-[3-[(6-氟-1,3-苯并噻唑-2-基)氨基]-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[3-(2-羟基乙氧基)-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶啶-2-甲酸酯

[2887] 将250mg(0.34mmol)的制备16步骤C、114mg(2当量)的6-氟-1,3-苯并噻唑-2-胺、31mg(0.1当量)的$Pd_2(dba)_3$、39mg(0.2当量)的XantPhos和0.17mL(3当量)的DIPEA在2.5mL的环己醇中的混合物在130°C保持2h。将该产物通过柱色谱法(使用DCM/MeOH作为洗脱剂)纯化以得到158mg(55%)的期望的产物。^{1}H NMR(500MHz,dmso-d6)δppm 10.87(brs,1H),7.94(d,1H),7.77(brd,1H),7.69(d,1H),7.57(brs,1H),7.39(s,1H),7.20(m,1H),7.19(m,2H),6.91(m,2H),5.10(s,2H),4.45(brs,1H),3.99(m,2H),3.85(s,2H),3.75(s,3H),3.40(t,2H),3.34(t,2H),2.85(t,2H),2.31(s,3H),2.11(s,3H),1.98(m,2H),1.43-0.91(m,12H),0.84(s,6H);^{13}C NMR(500MHz,dmso-d6)δppm 140.0,137.7,130.2,118.9,114.3,114.0,108.4,66.7,62.1,61.5,59.0,55.6,45.4,30.1,24.3,21.6,12.5,10.9;HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{48}H_{54}FN_8O_5S$的计算值:873.3922,发现值:873.3917.

[2888] 步骤B:(4-甲氧基苯基)甲基3-[1-[[3,5-二甲基-7-[2-(p-甲苯基磺酰基氧基)乙

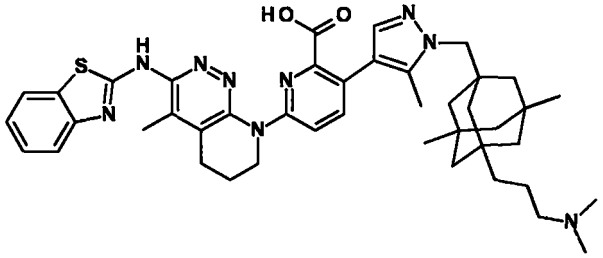
氧基]-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]-6[3-[(6-氟-1,3-苯并噻唑-2-基)氨基]-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]吡啶-2-甲酸酯

[2889] 向在2mL的二氯甲烷中的158mg(0.23mmol)的来自步骤A的产物中添加0.125mL(5当量)的N,N-二乙基乙胺和117mg(2当量)的p-甲苯基磺酰基4-甲基苯磺酸酯,然后将该混合物搅拌18h。将该产物通过柱色谱法(硅胶,使用DCM和EtOAc作为洗脱剂)纯化以得到71mg(41%)的期望的产物。^{1}H NMR(500MHz,dmso-d6)δppm 10.88(brs,1H),7.94(d,1H),7.77(br.,1H),7.76(dm,2H),7.69(d,1H),7.59(br.,1H),7.45(dm,2H),7.40(s,1H),7.21(t,1H),7.17(dm,2H),6.90(dm,2H),5.09(s,2H),4.05(t,2H),4.00(m,2H),3.82(s,2H),3.74(s,3H),3.47(t,2H),2.85(t,2H),2.40(s,3H),2.32(s,3H),2.10(s,3H),1.98(m,2H),1.35-0.87(m,12H),0.81(s,6H);^{13}C NMR(500MHz,dmso-d6)δppm 140.0,137.7,130.6,130.1,128.1,118.9,114.3,114.0,108.4,71.5,66.7,58.9,58.4,55.6,45.4,30.0,24.3,21.6,21.6,12.5,10.9;HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{55}H_{60}FN_8O_7S_2$的计算值:1027.4010,发现值:1027.4003.

[2890] 步骤C:3-[1-[[3,5-二甲基-7-(2-吡咯烷-1-基乙氧基)-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]-6-[3-[(6-氟-1,3-苯并噻唑-2-基)氨基]-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]吡啶-2-甲酸

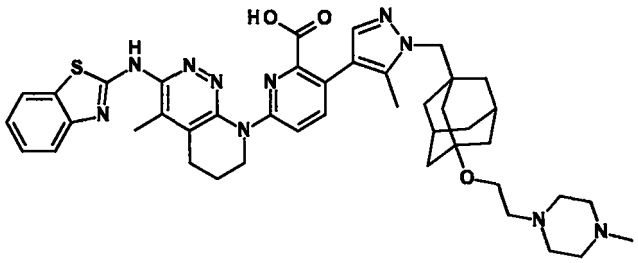
[2891] 向在1mL乙腈中的71mg(0.069mmol)的来自步骤B的产物中添加吡咯烷(3当量)并在55℃将该反应混合物搅拌18h。用5当量的KOH处理后,在55℃将该混合物搅拌1h并将产物通过制备型HPLC色谱法(使用乙腈和5mMNH_4HCO_3水溶液作为洗脱剂)纯化以得到期望的产物。HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{44}H_{53}FN_9O_3S$的计算值:806.3976,发现值:806.3969.

[2892] 制备P66:6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[3-[3-(二甲基氨基)丙基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸

[2893] 

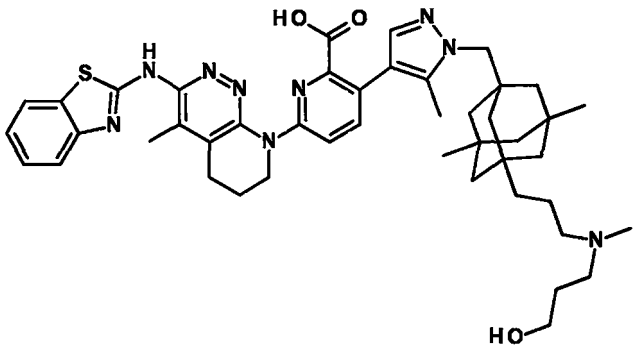
[2894] 使用胺取代和水解一般程序I从制备13和N-甲基甲胺作为合适的胺开始,获得所期望产物。HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{43}H_{54}N_9O_2S$的计算值:760.4121,发现值:760.4114.

[2895] 制备P67:6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[5-甲基-1-[[3-[2-(4-甲基哌嗪-1-基)乙氧基]-1-金刚烷基]甲基]吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸

[2896] 

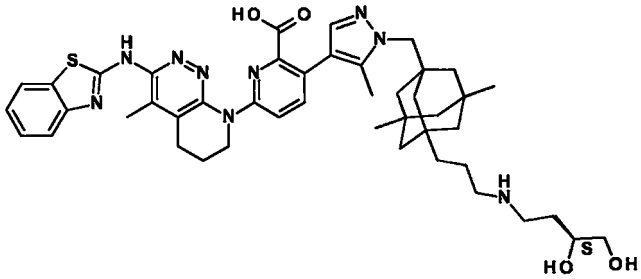
[2897] 使用胺取代和水解一般程序I从制备18和1-甲基哌嗪作为合适的胺开始,获得所期望产物。HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{43}H_{53}N_{10}O_3S$的计算值:789.4022,发现值:789.4014.

[2898] 制备P68:6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[3-[3-[3-羟基丙基(甲基)氨基]丙基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸

[2899] 

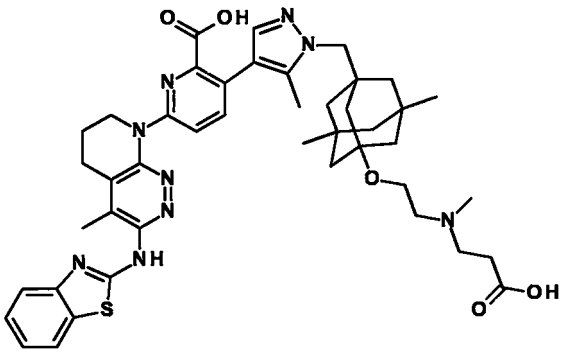
[2900] 使用胺取代和水解一般程序I从制备13和3-(甲基氨基)丙-1-醇作为合适的胺开始,获得了所期望的产物。HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{45}H_{58}N_9O_3S$的计算值:804.4383,发现值:804.4375.

[2901] 制备P69:6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[3-[3-[[(3S)-3,4-二羟基丁基]氨基]丙基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸

[2902] 

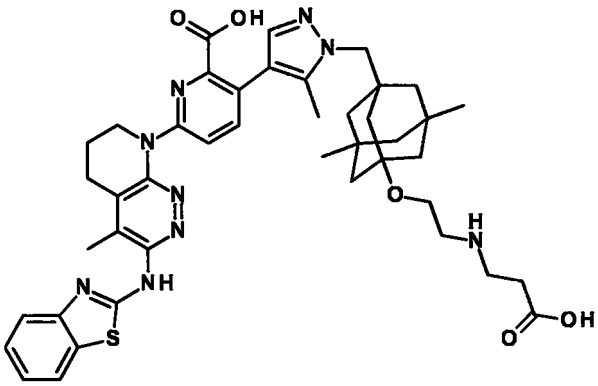
[2903] 向在2mL乙腈中的来自制备13的产物(0.074mmol)中添加2-[(4S)-2,2-二甲基-1,3-二氧戊环-4-基]乙胺、氯化氢(1:1)(4当量)并在60℃将该反应混合物搅拌18h。在添加KOH溶液(5当量)后,在60℃将该反应混合物搅拌0.5h。在添加HCl溶液(10当量)后,在60℃将该反应混合物搅拌1h。将产物通过制备HPLC色谱法(使用乙腈和5mM NH_4HCO_3水溶液作为洗脱剂)纯化以得到期望的产物。HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{45}H_{58}N_9O_4S$的计算值:820.4332,发现值:820.4323.

[2904] 制备P70:6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[3-[2-[2-羧基乙基(甲基)氨基]乙氧基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸

[2905] 

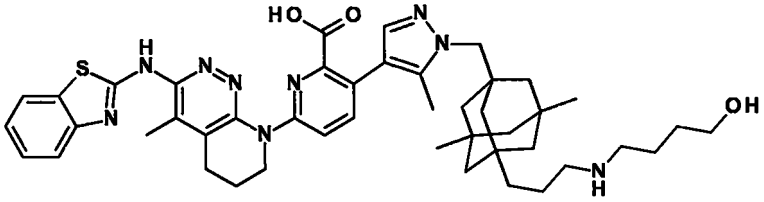
[2906] 使用胺取代和水解一般程序III从制备16和乙基3-(甲基氨基)丙酸酯、氯化氢(1:1)作为合适的胺开始,得到所期望产物。HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{44}H_{54}N_9O_5S$的计算值:820.3968,发现值:820.3962.

[2907] 制备P71:6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[3-[2-(2-羧基乙基氨基)乙氧基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸

[2908] 

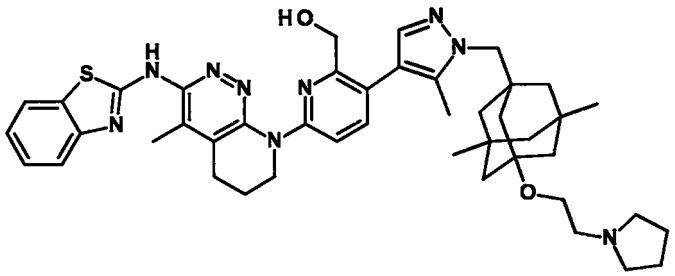
[2909] 使用胺取代和水解一般程序III从制备16和3-氨基丙酸甲酯作为合适的胺开始,获得所期望产物。HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{43}H_{52}N_9O_5S$的计算值:806.3812,发现值:806.3793.

[2910] 制备P72:6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[3-[3-(4-羟基丁基氨基)丙基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸

[2911] 

[2912] 使用胺取代和水解一般程序I从制备13和4-氨基丁-1-醇作为合适的胺开始,获得了所期望的产物。HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{45}H_{58}N_9O_3S$的计算值:804.4383,发现值:804.4383.

[2913] P73的制备:[6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[3,5-二甲基-7-(2-吡咯烷-1-基乙氧基)-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]-2-吡啶基]甲醇

[2914] 

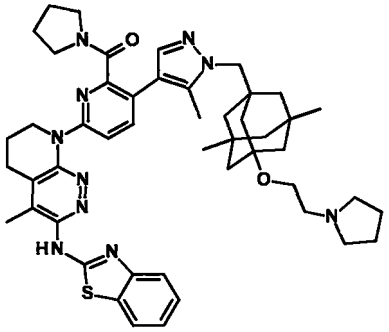
[2915] 步骤A:(4-甲氧基苯基)甲基6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[3,5-二甲基-7-(2-吡咯烷-1-基乙氧基)-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸酯

[2916] 使用胺取代和水解一般程序I没有水解步骤,从制备16和吡咯烷作为合适的胺开始,获得190mg的所期望产物。^{1}H NMR(500MHz,dmso-d6)δppm 7.95(d,1H),7.81(d,1H),7.68(d,1H),7.50(brd.,1H),7.39(s,1H),7.35(t,1H),7.19(dm,2H),7.16(t,1H),6.91(dm,2H),5.10(s,2H),3.99(t,2H),3.85(s,2H),3.74(s,3H),3.41(t,2H),2.85(t,2H),2.46(t,2H),2.41(br.,4H),2.32(s,3H),2.11(s,3H),1.98(m,2H),1.62(m,4H),1.40(s,2H),1.28/1.22(d+d,4H),1.19/1.13(d+d,4H),1.03/0.94(d+d,2H),0.84(s,6H);^{13}C NMR(500MHz,dmso-d6)δppm 140.0,137.7,130.2,126.4,122.4,122.1,118.9,114.3,66.7,59.5,59.0,56.6,55.6,54.5,50.0,46.9,46.0,45.4,43.2,30.1,24.3,23.6,21.7,12.6,10.9;HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{52}H_{62}N_9O_4S$的计算值:908.4645,发现值:908.4633.

[2917] 步骤B:[6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[3,5-二甲基-7-(2-吡咯烷-1-基乙氧基)-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]-2-吡啶基]甲醇

[2918] 向在4.2mL的四氢呋喃中的190mg(0.21mmol)的来自步骤A的产物中添加24mg(3当量)的$LiAlH_4$,并将该混合物搅拌40min。在用在MeOH中的0.1%TFA淬灭并过滤后,将该产物通过制备型HPLC(MeCN和0.1%TFA溶液作为洗脱剂)纯化以得到110mg(67%)的期望的产物。HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{44}H_{56}N_9O_2S$的计算值:774.4277,发现值:774.4269.

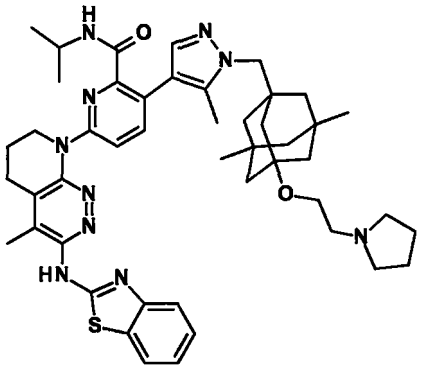
[2919] P74的制备:[6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[3,5-二甲基-7-(2-吡咯烷-1-基乙氧基)-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]-2-吡啶基]-吡咯烷-1-基-甲酮

[2920] 

[2921] 在0℃向在0.5mL的DMF中的50mg(0.063mmol)的P21、9.37mg(2.1当量)的吡咯烷和0.032mL(3当量)的DIPEA中添加36mg(1.5当量)的HATU,然后在室温将该混合物搅拌18h。将反应混合物倒入水中后,过滤出沉淀的固体,用水洗涤并干燥。通过柱色谱法(氨基柱,使用DCM和MeOH作为洗脱剂)纯化产物,得到29mg(65%)的所期望产物。HRMS-ESI(m/z):[M+H]+

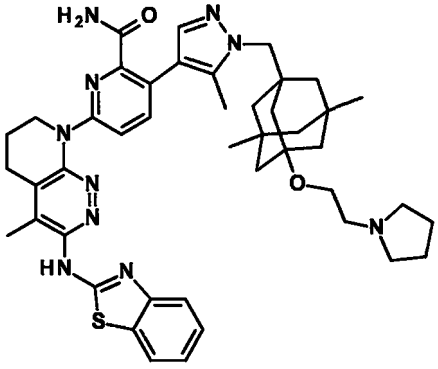
针对$C_{48}H_{61}N_{10}O_2S$的计算值:841.4699,发现值:841.4698.

[2922] 制备P75:6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[3,5-二甲基-7-(2-吡咯烷-1-基乙氧基)-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]-N-异丙基-吡啶-2-甲酰胺

[2923] 

[2924] 在0°C向在0.5mL的DMF中的50mg(0.063mmol)的P21、9.37mg(2当量)的丙-2-胺和0.032mL(3当量)的DIPEA中添加36mg(1.5当量)的HATU,然后在室温将该混合物搅拌18h。将反应混合物倒入水中后,过滤出沉淀的固体,用水洗涤并干燥。通过柱色谱法(氨基柱,使用DCM和MeOH作为洗脱剂)纯化产物,得到34mg(76%)的所期望产物。HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{47}H_{61}N_{10}O_2S$的计算值:829.4699,发现值:829.4694.

[2925] 制备P76:6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[3,5-二甲基-7-(2-吡咯烷-1-基乙氧基)-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酰胺

[2926] 

[2927] 向在0.5mL的二噁烷中的50mg(0.063mmol)的P21和18mg(1.3当量)的叔-丁氧基羰基叔-丁基碳酸酯中添加0.006mL的吡啶,然后将该混合物搅拌10min。在将该混合物用6.5mg(1.3当量)的NH_4HCO_3处理后,将该反应物搅拌5天。通过柱色谱法(氨基柱,使用DCM和MeOH作为洗脱剂)纯化产物,得到17mg(47%)的所期望产物。HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{44}H_{55}N_{10}O_2S$的计算值:787.4230,发现值:787.4226.

[2928] 实施例2.负载前体的合成与表征

[2929] 为了准备接头/负载,"PMB保护的负载"也称为所考虑负载的前体。

[2930] 用于以下前体的制备A:(4-甲氧基苯基)甲基6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[3,5-二甲基-7-[2-(p-甲苯基磺酰基氧基)乙氧基]-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸酯

[2931] 步骤A:(4-甲氧基苯基)甲基3-[1-[[3-[2-[叔丁基(二苯基)甲硅烷基]氧基乙氧

基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]-6-[3-(3,6-二氯-5-甲基-哒嗪-4-基)丙基氨基]吡啶-2-甲酸酯

[2932] 在80℃将来自制备11的产物(9.78g,18.1mmol)、来自制备7的产物(13.6g,1.1当量)、Pd(AtaPhos)$_2$Cl$_2$(801mg,0.1当量)和Cs$_2$CO$_3$(17.7g,3当量)在1,4-二噁烷(109mL)和H2O(18mL)中的混合物搅拌8h。用盐水淬灭冷却反应后,将混合物用EtOAc萃取,并将合并的有机层干燥并浓缩,得到期望的产物(21.9g,119%),其不经进一步纯化即用于下一步。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d$_6$):δppm 7.68-7.35(m,10H),7.31(d,1H),7.27(s,1H),7.11(dm,2H),6.98(t,1H),6.83(dm,2H),6.62(d,1H),4.99(s,2H),3.80(s,2H),3.70(s,3H),3.65(t,2H),3.44(t,2H),3.34(q,2H),2.84(m,2H),2.34(s,3H),2.01(s,3H),1.77(m,2H),1.38-0.89(m,12H),0.97(s,9H),0.82(s,6H);^{13}C NMR(500MHz,dmso-d6)δppm 140.4,137.6,130.1,114.2,110.3,66.3,64.4,61.7,59.0,55.5,40.9,30.1,28.1,27.3,27.1,16.4,10.8;HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对C$_{57}$H$_{69}$Cl$_2$N$_6$O$_5$Si的计算值:1015.4475发现值:1015.4474.

[2933] 步骤B:(4-甲氧基苯基)甲基3-[1-[[3-[2-[叔丁基(二苯基)甲硅烷基]氧基乙氧基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]-6-(3-氯-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基)吡啶-2-甲酸酯

[2934] 在110℃将来自步骤A的产物(21.9g,21.6mmol)、Cs$_2$CO$_3$(14g,2当量)、DIPEA(7.5mL,2当量)和Pd(Ataphos)$_2$Cl$_2$(954mg,0.1当量)在1,4-二噁烷(108mL)中的混合物搅拌18h。在用水淬灭并用EtOAc萃取后,将合并的有机相干燥、浓缩并通过柱色谱法(硅胶,DCM和EtOAc作为洗脱剂)纯化以得到期望的产物(8.4g,40%)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d$_6$):δppm 7.84(d,1H),7.67(d,1H),7.65(d,4H),7.44(t,2H),7.41(s,1H),7.40(t,4H),7.15(d,2H),6.87(d,2H),5.07(s,2H),3.96(t,2H),3.83(s,2H),3.71(s,3H),3.66(t,2H),3.45(t,2H),2.86(t,2H),2.29(s,3H),2.08(s,3H),1.97(qn,2H),1.38(s,2H),1.25/1.18(d+d,4H),1.18/1.12(d+d,4H),1.01/0.93(d+d,2H),0.97(s,9H),0.82(s,6H);^{13}C NMR(100MHz,DMSO-d$_6$)δppm 166.8,159.7,156.3,153.6,150.8,147.7,140.1,137.6,137.3,136.0,135.6,133.8,130.2,130.2,129.1,128.2,127.7,123.0,120.4,115.6,114.3,74.2,66.8,64.4,61.7,59.3,55.6,49.9,46.8,46.0,46.0,43.3,39.7,33.6,30.1,27.1,24.6,21.0,19.3,15.5,10.8;HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对C$_{57}$H$_{68}$ClN$_6$O$_5$Si的计算值:979.4709发现值:979.4710.

[2935] 步骤C:(4-甲氧基苯基)甲基6-(3-氯-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基)-3-[1-[[3-(2-羟基乙氧基)-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸酯

[2936] 在0℃向在THF(86mL)中的来自步骤B的产物(8.4g,8.6mmol)中添加TBAF在THF中的1M溶液(9.4mL,1.1当量)并在室温将该反应混合物搅拌1.5h。在用NH$_4$Cl饱和溶液淬灭并用EtOAc萃取后,将合并的有机相用盐水清洗、干燥、浓缩并通过柱色谱法(硅胶,DCM和MeOH作为洗脱剂)纯化以得到期望的产物(4.7g,74%)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d$_6$):δppm 7.85(d,1H),7.70(d,1H),7.39(s,1H),7.18(d,2H),6.90(d,2H),5.10(s,2H),4.45(t,1H),3.96(t,2H),3.84(s,2H),3.74(s,3H),3.40(q,2H),3.33(t,2H),2.86(t,2H),2.29(s,3H),2.09(s,3H),1.98(qn,2H),1.39(s,2H),1.27/1.21(d+d,4H),1.18/1.12(d+d,4H),1.03/0.94(d+d,2H),0.84(s,6H);^{13}C NMR(100MHz,DMSO-d$_6$)δppm 166.8,159.7,156.3,153.6,150.8,

147.8,140.2,137.6,137.3,136.0,130.2,129.1,127.7,123.0,120.4,115.6,114.3,74.0,66.8,62.2,61.5,59.0,55.6,50.0,46.9,46.0,46.0,43.3,39.7,33.5,30.1,24.6,21.0,15.5,10.9;HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{41}H_{50}ClN_6O_5$的计算值:741.3531发现值:741.3530.

[2937] 步骤D:(4-甲氧基苯基)甲基6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[3-(2-羟基乙氧基)-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸酯

[2938] 在130℃将来自步骤C的产物(4.7g,6.3mmol)、1,3-苯并噻唑-2-胺(1.9g,2当量)、Pd_2dba_3(580mg,0.1当量)、XantPhos(730mg,0.2当量)和DIPEA(3.3mL,3当量)在环己醇(38mL)中的混合物搅拌2h。通过柱色谱法(硅胶,庚烷、EtOAc和MeCN作为洗脱剂)纯化提供期望的产物((3.83g,71%)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δppm 7.95(d,1H),7.81(brd,1H),7.69(d,1H),7.49(brs,1H),7.39(s,1H),7.35(m,1H),7.19(m,2H),7.16(m,1H),6.91(m,2H),5.10(s,2H),4.46(t,1H),3.99(m,2H),3.85(s,2H),3.75(s,3H),3.40(m,2H),3.34(t,2H),2.85(t,2H),2.32(s,3H),2.11(s,3H),1.99(m,2H),1.45-0.9(m,12H),0.84(s,6H);HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{48}H_{55}N_8O_5S$的计算值:855.4016发现值:855.4011.

[2939] 步骤E:(4-甲氧基苯基)甲基6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[3,5-二甲基-7-[2-(p-甲苯基磺酰基氧基)乙氧基]-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸酯

[2940] 向在DCM(45mL)中的来自步骤D的产物(3.83g,4.48mmol)和三乙基胺(1.87mL,3当量)中添加p-甲苯基磺酰基4-甲基苯磺酸酯(2.19g,1.5当量)并将该反应混合物搅拌2h。通过柱色谱法(硅胶,庚烷和EtOAc作为洗脱剂)纯化提供2.5g(55%)期望的产物。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δppm 7.95(d,1H),7.81(brs,1H),7.76(m,2H),7.45(brs,1H),7.45(m,2H),7.40(s,1H),7.35(m,1H),7.18(m,2H),7.17(m,1H),6.97(d,1H),6.90(m,2H),5.10(s,2H),4.05(m,2H),4.00(m,2H),3.82(s,2H),3.74(s,3H),3.47(m,2H),2.85(m,2H),2.40(s,3H),2.32(s,3H),2.10(s,3H),1.98(m,2H),1.87-1.34(m,12H),0.81(s,6H);HRMS-ESI(m/z):[M+H]+针对$C_{55}H_{61}N_8O_7S_2$的计算值:1009.4104发现值:1009.4102.

[2941] 胺取代程序III

[2942] 向在1:1混合的乙腈和N-甲基-2-吡咯烷酮(10ml/mmol)中的来自前体制备A的产物中添加适当的胺(3-10当量)并在50℃将该反应混合物搅拌2-24h。将该产物通过制备反相色谱法纯化后,获得期望的产物。

[2943] P37的前体:(4-甲氧基苯基)甲基6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[3-[2-[4-羟基丁基(甲基)氨基]乙氧基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸酯

[2944] 使用胺取代程序IH和4-(甲基氨基)丁-1-醇作为合适的胺,获得了所期望的产物。HRMS-ESI(m/z):$[M+H]^+$针对$C_{53}H_{66}N_9O_5S$的计算值:940.4907发现值940.4906.

[2945] P36的前体:(4-甲氧基苯基)甲基6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,4-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[3-[2-[3-甲氧基丙基(甲基)氨基]乙氧基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸酯

[2946] 使用胺取代步骤III和3-甲氧基-N-甲基-丙-1-胺作为合适的胺,获得所期望产物。HRMS-ESI(m/z):$[M+H]^+$针对$C_{53}H_{66}N_9O_5S$的计算值:940.4907发现值940.4904.

[2947] P35的前体:(4-甲氧基苯基)甲基6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[3-[2-[2-羟基乙基(甲基)氨基]乙氧基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸酯

[2948] 使用胺取代程序III和2-(甲基氨基)乙醇作为合适的胺,获得了所期望的产物。HRMS-ESI(m/z):$[M+H]^+$针对$C_{51}H_{62}N_9O_5S$的计算值:912.4594发现值912.4592.

[2949] P27的前体:(4-甲氧基苯基)甲基6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[3-[2-(二甲基氨基)乙氧基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸酯

[2950] 使用胺取代程序III和二甲胺作为合适的胺,获得了所期望的产物。HRMS-ESI(m/z):$[M+H]^+$针对$C_{50}H_{60}N_9O_4S$的计算值:882.4489发现值882.4490.

[2951] P21的前体:(4-甲氧基苯基)甲基6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[3,5-二甲基-7-(2-吡咯烷-1-基乙氧基)-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸酯

[2952] 使用胺取代程序III和吡咯烷作为合适的胺,获得了所期望的产物。HRMS-ESI(m/z):[M+2H]2+针对$C_{52}H_{62}N_9O_4S$的计算值:454.7362发现值454.7365.

[2953] P25的前体:(4-甲氧基苯基)甲基6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[3-[2-(3-羟基丙基氨基)乙氧基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸酯

[2954] 使用胺取代程序III和3-氨基丙-1-醇作为合适的胺,获得了所期望的产物。HRMS-ESI(m/z):$[M+H]^+$针对$C_{51}H_{62}N_9O_5S$的计算值:912.4591,发现值912.4581.

[2955] P19的前体:(4-甲氧基苯基)甲基6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[3-[2-[2-[(4S)-2,2-二甲基-1,3-二氧戊环-4-基]乙基氨基]乙氧基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸酯

[2956] 使用胺取代程序III和2-[(4S)-2,2-二甲基-1,3-二氧戊环-4-基]乙胺作为合适的胺,获得所期望产物。HRMS-ESI(m/z):$[M+H]^+$针对$C_{55}H_{68}N_9O_6S$的计算值:982.5013,发现值982.5000.

[2957] 实施例3.接头、接头-负载及其前体的合成和表征

[2958] 使用本实施例中描述的示例性方法合成示例性接头、接头-负载及其前体。

[2959] 缩写:

[2960] CuI 碘化亚铜(I)

[2961] DCC 二环己基碳二亚胺

[2962] DCM 二氯甲烷

[2963] DEA N-乙基乙胺

[2964] DIPEA: N,N-二异丙基乙胺

[2965] DMF: 二甲基甲酰胺

[2966] DMSO: 二甲亚砜

[2967] EDC: N-乙基,N′-二甲基氨基丙基碳二亚胺

[2968] EEDQ 2-乙氧基-2H-喹啉-1-甲酸乙酯

[2969] Fmoc： 芴基甲基氧基羰基

[2970] Fmoc-Cit-OH (2S)-2-(9H-芴-9-基甲氧基羰基氨基)-5-脲基-戊酸

[2971] HBTU： (2-(1H-苯并三唑-1-基)-1,1,3,3-四甲基脲鎓六氟磷酸盐

[2972] HOAt： 1-羟基-7-氮杂苯并三唑

[2973] $MgSO_4$ 硫酸镁

[2974] MMAE： (2S)-N-[(1S)-1-[[(1S,2R)-4-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[[(1R,2S)-2-羟基-1-甲基-2-苯基-乙基]氨基]-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-丙基]吡咯烷-1-基]-2-甲氧基-1-[(1S)-1-甲基丙基]-4-氧代-丁基]-甲基-氨基甲酰基]-2-甲基-丙基]-3-甲基-2-(甲基氨基)丁酰胺(MMAE)

[2975] Na_2SO_4 硫酸钠

[2976] NH_4Cl 氯化铵

[2977] NMP N-甲基吡咯烷酮

[2978] $Pd(PPh_3)_2Cl_2$ 二氯-三(三苯基膦)钯

[2979] PBr_3 三溴磷烷

[2980] Pt/C 10% 铂碳10%

[2981] RT 室温

[2982] $SOCl_2$ 亚硫酰氯

[2983] THF 四氢呋喃

[2984] TBAF 四丁基铵,氟化物

[2985] TBAI 四丁基铵,碘化物

[2986] TFA 三氟乙酸

[2987] TSTU： [二甲基氨基-(2,5-二氧代吡咯烷-1-基)氧基-亚甲基]-二甲基-铵；

[2988] 四氟硼酸盐

[2989] 化学命名

[2990] IUPAC首选名称是使用Biovia®Draw 2018(版本18.1.NET)提供的化学命名功能生成的。

[2991] 材料、方法和一般程序

[2992] 所有从商业来源获得的试剂均无需进一步纯化即可使用。无水溶剂从商业来源获得并且无需进一步干燥即可使用。快速色谱法在CombiFlash Rf(Teledyne ISCO)上使用预装硅胶柱(Macherey-Nagel Chromabond Flash)进行。使用涂有Merck Type 60 F254硅胶的5x 10cm板进行薄层色谱分析。微波加热在CEMDiscover®仪器中进行。

[2993] ^{1}H-NMR测量在400MHz Bruker Avance或500MHz Avance Neo光谱仪上进行,使用DMSO-d6或$CDCl_3$作为溶剂。^{1}H NMR数据采用化学位移值的形式,以百万分率(ppm)为单位,使用溶剂的残留峰(对于DMSO-d6为2.50ppm,对于$CDCl_3$为7.26ppm)作为内标。分裂模式指定为:s(单峰)、d(双峰)、t(三重峰)、q(四重峰)、quint(五重峰)、m(多重峰)、br s(宽单峰)、br t(宽三重峰)、dd((双二重峰)、td(三二重峰)、dt(双三重峰)、ddd(双双二重峰)。IR测量是在配备ATR Golden Gate设备(SPECAC)的Bruker Tensor 27上进行的。HRMS测量在LTQ OrbiTrap Velos Pro质谱仪(ThermoFisher Scientific)上进行。将样品溶解在CH_3CN/H2O(2/1:v/v)中,浓度范围约为0.01至0.05mg/mL,并通过以0.1mL/min的流速注入2μL,将其引

入源中。ESI电离参数如下:3.5kV和350℃传输离子毛细管。所有光谱都是在正离子模式下使用锁定质量获得的,分辨率为30,000或60,000。

[2994] HRMS测量在LTQ OrbiTrap Velos Pro质谱仪(ThermoFisher Scientific GmbH,Bremen,德国)上进行。将样品溶解在CH_3CN/H_2O(2/1:v/v)中,浓度范围约为0.01至0.05mg/mL,并通过以0.1mL/min的流速注入2μL,将其引入源中。ESI电离参数如下:3.5kV和350℃传输离子毛细管。所有光谱都是在正离子模式下使用锁定质量获得的,分辨率为30 000或60 000。

[2995] **UPLC®-MS:**

[2996] UPLC®-MS数据是使用具有以下参数的仪器获取的(表10):

[2997] 表10.UPLC®-MS参数

仪器	配备二极管阵列 UV 检测器“PDA”和“ZQ检测器 2”质量装置和 MassLinks 软件的 Waters Aquity A-class。
ZQ 检测器 2	MS 扫描从 0.15 到 6 分钟，从 100 到 2372 Da
PDA 检测器	从 190 到 400 nm
柱	Aquity UPLC ®BEH 色谱柱 C18，1.7 μm，130 Å，2.1x50 mm 柱在 40° C 使用，流速为 0.6 mL/min
溶剂 A	水 +0.02% TFA
溶剂 B	乙腈 +0.02% TFA
梯度	在 5 分钟内从 2% B 到 100% B，然后用 100% B 洗涤 0.3 分钟，并在 2% B 下平衡 0.5 分钟以进行下一次注射(总梯度为 6 分钟)。

[2998]

[2999] 制备型HPLC:

[3000] 使用具有以下参数的仪器获取制备型HPLC(“Prep-HPLC”)数据(表11):

[3001] 表11.制备型HPLC参数

[3002]

仪器	柱 Waters X-Bridge 5 或 10 µm 尺寸（流速）为：19x50 mm (12 ml/min), 19x100 mm (12 ml/min), 30x100 mm (30-50 ml/min), 30x250 mm (30-50 ml/min), 50x250 mm (80-150 ml/min); Interchim Puriflash 4100，最大压力为 100 巴，最大流速为 250 ml/min，或 Interchim Puriflash 4250，最大压力为 250 巴，最大流速为 250 ml/min; 四元溶剂泵可以同时使用 4 种梯度溶剂
UV	200 到 400 nm 之间的 2 个波长用于收集

[3003]

柱	Waters XBridge 10µm
收集	8 ml 或 32 ml 试管

[3004] 使用了三种制备型HPLC方法：

[3005] a.TFA法:溶剂:A＝水+0.05％TFA,B＝乙腈+0.05％TFA,梯度从5到100％B,15到30个CV

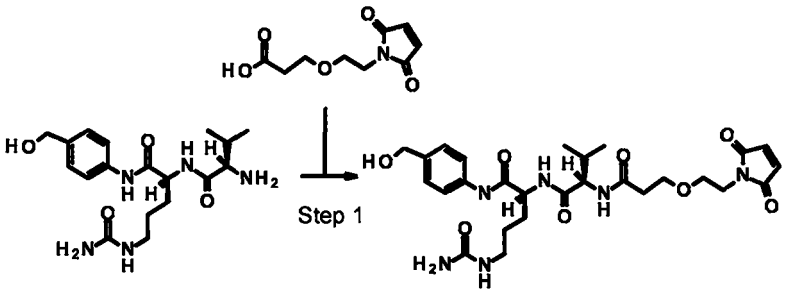
[3006] b.NH_4HCO_3方法:溶剂:A＝水+0.02M NH_4HCO_3,B＝乙腈/水80/20+0.02M NH_4HCO_3,梯度从5到100％B,15到30个CV

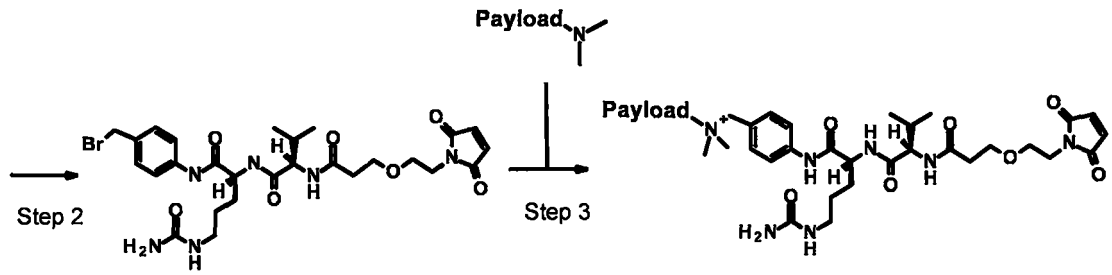
[3007] c.中性法:溶剂:A＝水,B＝乙腈,梯度从5到100％B,15到30个CV

[3008] 将含有纯化合物的所有级分合并并直接冷冻干燥以提供作为无定形粉末的化合物。

[3009] 方法A

[3010]





[3011] 步骤1:(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-N-[4-(羟基甲基)苯基]-5-脲基-戊酰胺

[3012] 向3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酸(855mg,4.01mmol)在THF(42mL)中的溶液中添加N,N′-二环己基甲烷二亚胺(1.05g,5.08mmol)和1-羟基吡咯烷-2,5-二酮(510mg,4.43mmol)。将反应混合物在室温搅拌20h。将沉淀过滤除去并将滤液添加至(2S)-2-[[(2S)-2-氨基-3-甲基-丁酰基]氨基]-N-[4-(羟基甲基)苯基]-5-脲基-戊酰胺(1.27g,3.35mmol)在DMF(42mL)的溶液中。将反应混合物在室温搅拌20小时,用乙醚(250mL)稀释。通过过滤回收固体以提供(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙醇基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-N-[4-(羟基甲基)苯基]-5-脲基-戊酰胺(1.81g)。^{1}H NMR(400MHz,dmso-d6):δ9.87(s,1H),8.05(d,1H),7.82(d,1H),7.53(d,2H),7.21(d,2H),7.00(s,2H),5.95(t,1H),5.39(s,2H),5.07(t,1H),4.41(d,2H),4.34-4.40(m,1H),4.18-4.22(m,1H),3.42-3.65(m,4H),2.88-3.02(m,2H),2.73(s,2H),2.28-2.45(m,2H),1.91-1.99(m,1H),1.53-1.75(m,2H),1.30-1.147(m,2H),0.85(d,3H),0.81(d,3H).^{13}C NMR(125MHz,dmso-d6):δ171.05,170.83,170.32,170.09,158.82,137.49,137.37,134.50,126.88,118.81,66.66,66.53,62.57,57.49,53.06,36.74,35.76,30.51,29.31,26.79,25.20,19.16,18.07.MS(ESI)m/z[M+H]$^{+}$=575.2。

[3013] 步骤2:(2S)-N-[4-(溴甲基)苯基]-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰胺

[3014] 在0℃在氩气下向(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙醇基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-N-[4-(羟基甲基)苯基]-5-脲基-戊酰胺(37.2mg,65μmol)在THF(1mL)中的溶液逐滴添加三溴化磷(45μL,97mmol)。将反应在0℃搅拌1小时并在室温搅拌2小时。UPLC-MS跟踪反应进程:在形成相应的吗啉加合物后,用大量过量的吗啉乙腈溶液处理等分试样。将反应用THF(3mL)稀释,通过加入2滴$NaHCO_3$饱和溶液淬灭,在室温搅拌5分钟,经硫酸镁干燥并过滤。将残余物,含有粗(2S)-N-[4-(溴甲基)苯基]-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙醇基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰胺(45mg)立即用于下一步。MS(ESI)m/z[M+H]$^{+}$=662.62(吗啉加合物)。

[3015] 步骤3:接头引入的一般程序

[3016] 向有效负载(19.6μmol)在DMF(30mL/mmol)中的悬浮液中添加步骤2的产物(1.2当量)在THF(50mL/mmol)和DIPEA(3当量)中的溶液。将反应在室温搅拌2小时。使用C18反相制备型HPLC通过将反应混合物直接沉积在Xbridge®柱上并使用TFA方法纯化粗产物,得到所期望化合物。

[3017] 制备L9A-P27:2-[[(5R,7S)-3-[[4-[6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-2-羧基-3-吡啶基]-5-甲基-吡唑-1-基]甲基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]氧基]乙基-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]苯基]甲基]-二甲基-铵;2,2,2-三氟乙酸酯

[3018] 使用方法A和P27作为适当的负载,获得了所期望的产物。HRMS(ESI)[M-CF_3CO_2]$^{+}$=1318.6557(δ=0.2ppm)

[3019] L9A-P30的制备:2-[[(5RS,7SR)-3-[[4-[6-[[6-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-5-甲基-哒嗪-3-基]-甲基-氨基]-2-羧基-3-吡啶基]-5-甲基-吡唑-1-基]甲基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]氧基]乙基-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]

丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]苯基]甲基]-二甲基-铵;2,2,2-三氟乙酸

[3020] 使用方法A和P30作为适当的负载,获得了所期望的产物。HRMS(ESI)$[M-CF_3CO_2]^+$=1292.6386(δ=-0.9ppm).

[3021] L9A-P33的制备:6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[(5RS,7SR)-3-[2-[1-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]苯基]甲基]氮杂环庚烷-1-鎓-1-基]乙氧基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸;2,2,2-三氟乙酸

[3022] 使用方法A和P33作为适当的负载,获得了所期望的产物。HRMS(ESI)$[M-CF_3CO_2]^+$发现值=1372.7019(δ=-0.3ppm).

[3023] L9A-P32的制备:6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[(5RS,7SR)-3-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]苯基]甲基]-4-异丙基-哌嗪-4鎓-1-基]乙氧基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸;2,2,2-三氟乙酸

[3024] 使用方法A和P32作为适当的负载,获得了所期望的产物。HRMS(ESI)$[M-CF_3CO_2]^+$=1401.7287(δ=-0.1ppm).

[3025] 制备L9A-P38:6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[(5RS,7SR)-3-[2-[1-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]苯基]甲基]哌啶-1-鎓-1-基]乙氧基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸;2,2,2-三氟乙酸

[3026] 使用方法A和P38作为适当的负载,获得了所期望的产物。HRMS(ESI)$[M-CF_3CO_2]^+$=1358.6803(δ=-4.7ppm).

[3027] 制备L9A-P39:6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[(5SR,7RS)-3-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]苯基]甲基]吗啉-4-鎓-4-基]乙氧基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸酯;2,2,2-三氟乙酸

[3028] 使用方法A和P39作为适当的负载,获得了所期望的产物。

[3029] HRMS(ESI)$[M+H]^+$发现值=1360.6634(δ=-1.9ppm).

[3030] L9A-P41的制备:6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[(5SR,7RS)-3-[3-[1-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]苯基]甲基]吡咯烷-1-鎓-1-基]丙基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸;2,2,2-三氟乙酸

[3031] 使用方法A和P41作为适当的负载,获得了所期望的产物。HRMS(ESI)$[M-CF_3CO_2]^+$发现值=1342.6844(δ=-5.5ppm).

[3032] 制备L9A-P42:3-[1-[[(5RS,7SR)-3-[2-[1-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]苯基]甲基]吡咯烷-1-鎓-1-基]乙氧基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]-6-[4-甲基-3-[(5-甲基-1,3-苯并噻唑-2-基)氨基]-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]吡啶-2-甲酸;2,2,2-三氟乙酸

[3033] 使用方法A和P42作为适当的负载,获得了所期望的产物。HRMS(ESI)$[M-CF_3CO_2]^+$发现值=1358.6807(δ=-4.4ppm).

[3034] 方法B

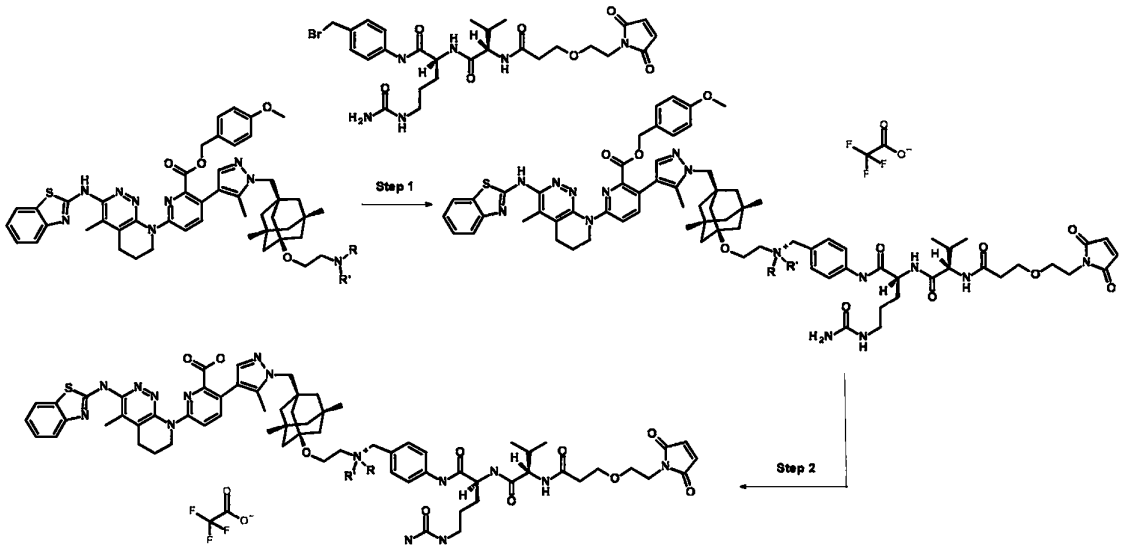
[3035] 步骤1:

[3036] 向对甲氧基苄基(PMB)保护的有效负载(11.3μmol)在DMF(0.4mL)中的悬浮液中添加(2S)-N-[4-(溴甲基)苯基]-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙醇基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰胺(12.4mg,13.6μmol)在THF(0.2mL)和DIPEA(9.8μL,56.7μmol)中的溶液。将反应在室温搅拌4小时。使用C18反相制备型HPLC通过将反应混合物直接沉积在Xbridge®柱上并使用TFA方法纯化粗产物,得到直接用于步骤2中的预期化合物。

[3037] 步骤2:

[3038] 向来自步骤1的产物在DCM(3.2mL)中的悬浮液中添加TFA(320μL,4.18mmol)。将反应在室温搅拌1小时。蒸发溶剂并将残余物溶解在DMF(500μL)中。使用C18反相制备型HPLC通过将反应混合物直接沉积在Xbridge®柱上并使用TFA方法纯化该粗溶液,得到所期望产物。

[3039] 制备L9A-P35:2-[[(5RS,7SR)-3-[[4-[6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-2-羧基-3-吡啶基]-5-甲基-吡唑-1-基]甲基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]氧基]乙基-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]苯基]甲基]-(2-羟基乙基)-甲基-铵;2,2,2-三氟乙酸

[3040] 

[3041] 使用方法B和P35的前体作为适当的PMB保护的负载,获得了所期望的产物。HRMS(ESI)$[M-CF_3CO_2]^+$发现值=1318.6531(δ=-1.7ppm).

[3042] 制备L9A-P36:2-[[(5RS,7SR)-3-[[4-[6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-2-羧基-3-吡啶基]-5-甲基-吡唑-1-基]甲基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]氧基]乙基-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]苯基]甲基]-(3-甲氧基丙基)-甲基-铵;2,2,2-三氟乙酸

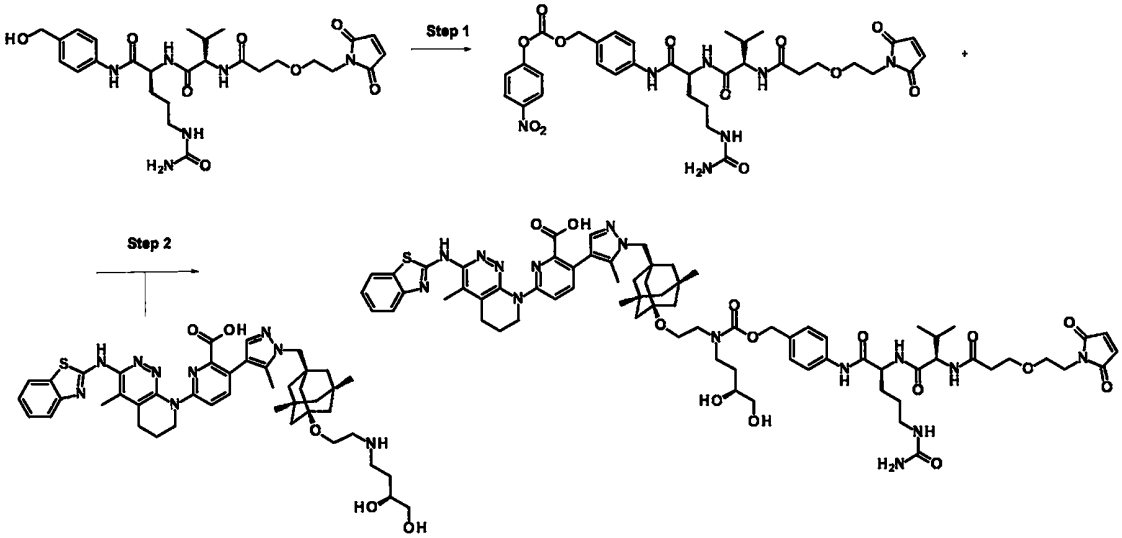
[3043] 使用方法B和P36的前体作为适当的PMB保护的负载,获得了所期望的产物。HRMS(ESI)$[M-CF_3CO_2]^+$发现值=1376.6930(δ=-3.1ppm).

[3044] 制备L9A-P37:2-[[(5SR,7RS)-3-[[4-[6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-2-羧基-3-吡啶基]-5-甲基-吡唑-1-基]甲基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]氧基]乙基-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]苯基]甲基]-(4-羟基丁基)-甲基-铵;2,2,2-三氟乙酸

[3045] 使用方法B和P37的前体作为适当的PMB保护的负载,获得了所期望的产物。HRMS(ESI)$[M-CF_3CO_2]^+$发现值=1376.6918(δ=-3.9ppm).

[3046] 方法C

[3047] 制备L9C-P19:6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[(5SR,7RS)-3-[2-[[(3S)-3,4-二羟基丁基]-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]苯基]甲氧基羰基]氨基]乙氧基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸

[3048] 

[3049] 步骤1:[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]苯基]甲基(4-硝基苯基)碳酸酯

[3050] 向(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙醇基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-N-[4-(羟基甲基)苯基]-5-脲基-戊酰胺(来自方法A,步骤1)(580mg;1.0mmol)在干DMF中的溶液中添加DIPEA(0.5mL;3.025mmol;3当量)和双(4-硝基苯基)碳酸酯(615mg;2.02mmol;2当量)。将反应混合物在室温搅拌68小时。将反应混合物用乙醚(15mL)稀释,过滤固体得到标题化合物(589mg;79%)。^1H NMR(dmso-d_6):0.82(d,3H,J=6.8Hz),0.85(d,3H,J=6.8Hz),1.47-1.33(m,2H),1.74-1.54(m,2H),1.92-2.00(m,1H),

2.32-2.45(m,2H),2.90-3.06(m,2H),3.49-3.46(m,2H),3.60-3.52(m,4H),4.21(dd,1H,J＝8.7and 6.8Hz),4.39(m,1H),5.24(s,2H),5.39(s,2H),5.96(t,1H,J＝5.6Hz),7.00(s,2H),7.41(d,2H,J＝8.8Hz),7.57(dd,2H,J＝6.8and 2.4Hz),7.65(d,2H,J＝8.4Hz),7.83(d,1H,J＝8.8Hz),8.10(d,1H,J＝7.6Hz),8.31(dd,2H,J＝6.8and 2.4Hz),10.03(s,1H).LCMS正离子模式检测到740.14($M+H^+$).

[3051] 步骤2:6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[(5SR,7RS)-3-[2-[[(3S)-3,4-二羟基丁基]-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]苯基]甲氧基羰基]氨基]乙氧基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸.

[3052] 向P19(15mg,0.016mmol)在DMF(0.5mL)中的悬浮液中添加DIPEA(14μL,0.0801mmol)和步骤1的碳酸酯(14.2mg,0.0192mmol),并在室温将该混合物搅拌18h。使用C18反相制备型HPLC通过将反应混合物直接沉积在Xbridge®柱上并使用TFA方法纯化粗产物,以提供标题化合物(6.9mg,产率30%)。^{1}H NMR(500MHz,dmso-d6)δppm(m,2H),(m,4H),(m,10H),(m,2H),9.98(s),8.08(d),7.9(d,1H),7.82(d),7.8(大,1H),7.79(大NC,1H),7.6(m,2H),7.49(大NC,1H),7.43(br s,1H),7.37(t,1H),7.28(d,2H),7.19(t,1H),7(s,2H),5.97(br s),5.42(大),4.99(s,2H),4.38(m,1H),4.22(t,1H),4.03(t,2H),3.86(m,2H),3.57/3.46/3.28/3.21(m,6H),3.53(m,2H),3.42(m,2H),3.38(m,1H),3.01/2.94(2m,2H),2.89(t,2H),2.43/2.32(2m,2H),2.37(s,3H),2.2(s,3H),2.03(m,2H),1.95(m,1H),1.7/1.38(2m,2H),0.84(m,6H),0.84(m,6H).^{13}C NMR(500MHz,dmso-d6)δppm 137.6,135.5,128.7,126.8,122.7,122.1,119.1,118.4,69.7,66.9,66.2,58.9,58.4,58.3,53.7,50.5/47.1/43.5,48.3/46,46,39,36.9,36.6,32.8,30.9,30.5,30,27.7,24.4,21.3,19.8,13.5,10.8.HRMS(ESI)$[M+H]^+$发现值＝1422.6688(δ＝1.6ppm).

[3053] 制备L9C-P22:6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[(5RS,7SR)-3-[2-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]苯基]甲氧基羰基-(4-羟基丁基)氨基]乙氧基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸;2,2,2-三氟乙酸

[3054] 使用方法C和P22作为适当的负载,获得了所期望的产物。HRMS(ESI)$[M+H]^+$发现值＝1406.6728(δ＝1.0ppm).

[3055] 制备L9C-P23:6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[(5SR,7RS)-3-[2-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]苯基]甲氧基羰基-[3-羟基-2-(羟基甲基)丙基]氨基]乙氧基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸;2,2,2-三氟乙酸

[3056] 使用方法C和P23作为适当的负载,获得了所期望的产物。HRMS(ESI)$[M+H]^+$发现值＝1422.6670(δ＝0.5ppm).

[3057] L9C-P24的制备:6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[(5RS,7SR)-3-[2-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧

代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]苯基]甲氧基羰基-[2-羟基-1-(羟基甲基)乙基]氨基]乙氧基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸;2,2,2-三氟乙酸

[3058] 使用方法C和P24作为适当的负载,获得了所期望的产物。HRMS(ESI)[M+H]$^+$发现值=1408.6518(δ=0.8ppm).

[3059] 制备L9C-P25:6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[(5SR,7RS)-3-[2-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]苯基]甲氧基羰基-(3-羟基丙基)氨基]乙氧基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸;2,2,2-三氟乙酸

[3060] 使用方法C和P25作为适当的负载,获得了所期望的产物。HRMS(ESI)[M+H]$^+$发现值=1366.6396(δ=-0.4ppm).

[3061] 制备L9C-P26:6-[[6-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-5-甲基-哒嗪-3-基]-甲基-氨基]-3-[1-[[(5SR,7RS)-3-[2-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]苯基]甲氧基羰基-(3-羟基丙基)氨基]乙氧基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸;2,2,2-三氟乙酸

[3062] 使用方法C和P26作为适当的负载,获得了所期望的产物。HRMS(ESI)[M+H]$^+$发现值=1366.6396(δ=-0.4ppm).

[3063] 制备L9C-P29:6-[[6-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-5-甲基-哒嗪-3-基]-甲基-氨基]-3-[1-[[(5RS,7SR)-3-[2-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]苯基]甲氧基羰基-(3-甲氧基丙基)氨基]乙氧基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸;2,2,2-三氟乙酸

[3064] 使用方法C和P29作为适当的负载,获得了所期望的产物。HRMS(ESI)[M+H]$^+$发现值=1380.6575(δ=1.2ppm).

[3065] 制备L9C-P31:6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[(5RS,7SR)-3-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]苯基]甲氧基羰基]哌嗪-1-基]乙氧基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸;2,2,2-三氟乙酸

[3066] 使用方法C和P31作为适当的负载,获得了所期望的产物。HRMS(ESI)[M+H]$^+$发现值=1403.6694(δ=1.7ppm).

[3067] 制备L9C-P40:6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[(5RS,7SR)-3-[3-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]苯基]甲氧基羰基-(3-羟基丙基)氨基]丙基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸;2,2,2-三氟乙酸

[3068] 使用方法C和P40作为适当的负载,获得了所期望的产物。HRMS(ESI)[M+H]$^+$发现值

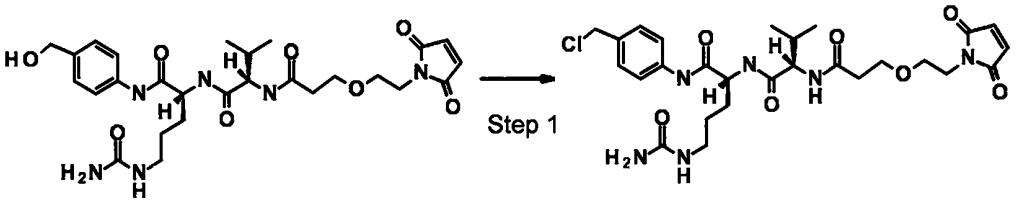
＝1390.6775(δ＝0.7ppm).

[3069] L9A-P43的制备:3-[1-[[(5RS,7SR)-3-[2-[1-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]苯基]甲基]吡咯烷-1-鎓-1-基]乙氧基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]-6-[3-[(5-甲氧基-1,3-苯并噻唑-2-基)氨基]-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]吡啶-2-甲酸;2,2,2-三氟乙酸

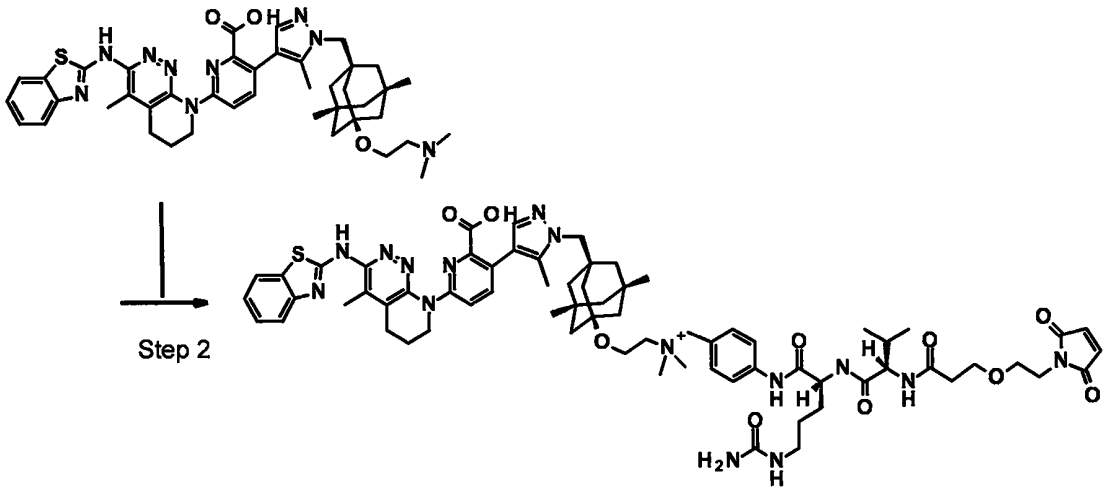
[3070] 使用方法A和P43作为适当的负载,获得了所期望的产物。HRMS(ESI)$[M-CF_3CO_2]^+$发现值＝1374.6754(δ＝-4.5ppm).

[3071] 方法D

[3072] L9A-P20的制备:6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[(5RS,7SR)-3-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]苯基]甲基]-4-甲基-哌嗪-4-鎓-1-基]乙氧基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸;2,2,2-三氟乙酸



[3073]



[3074] 步骤1:(2S)-N-[4-(氯甲基)苯基]-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰胺

[3075] 将$SOCl_2$(102μL,1.39mmol)在THF(8ml)中的溶液制备为溶液A。制备(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-N-[4-(羟基甲基)苯基]-5-脲基-戊酰胺(来自方法A,步骤1)(100mg,0.174mmol)在THF(4ml)中的溶液作为溶液B。然后每10分钟向溶液B中加入500μl溶液A。在样品中加入吗啉后,通过UPLC-MS跟踪反应。反应完成后,室温减压蒸发混合物,直接用于下一步(105mg,0.177mmol)。^1H NMR(400MHz,dmso-d6)δppm 10.00(s,1H),8.10(d,1H),7.85(d,1H),7.60(d,2H),7.35(d,2H),7.00(s,2H),6.05(m,1H),5.25(m,2H),4.70(s,2H),4.40(m,1H),4.20

(m,1H),3.65-3.40(m,6H),3.00(2m,2H),2.4/2.3(2m,2H),2.00(m,1H),1.7/1.6(2m,2H),1.40(2m,2H),0.80(2d,6H).IR:(v cm^{-1})3288,1703,1643.HR-ESI+:$[M+H]^+$=发现值593.2499(δ=2.4ppm).

[3076] 步骤2:6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[(5RS,7SR)-3-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]苯基]甲基]-4-甲基-哌嗪-4-鎓-1-基]乙氧基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸;2,2,2-三氟乙酸

[3077] 向P20(15mg,14.4μmol)在DMF(0.5mL)中的溶液中添加来自步骤1的产物(14.6mg,17.2μmol)和DIPEA(8μL,43.1μmol)的溶液。将反应在80℃搅拌18小时。通过将反应混合物直接沉积在柱上并使用TFA方法使用C18反相制备型HPLC纯化粗产物以提供标题化合物(19.0mg,产率96%)。HRMS(ESI)$[M]^+$发现值=1373.6974(δ=-0.1ppm).

[3078] L9A-P21的制备:6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[(5RS,7SR)-3-[2-[1-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]苯基]甲基]吡咯烷-1-鎓-1-基]乙氧基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸;2,2,2-三氟乙酸

[3079] 使用方法D和P21并作为适当的负载,获得了所期望的产物。HRMS(ESI)$[M]^+$发现值=1344.6688(δ=-1.7ppm).

[3080] 制备L9A-P2:2-[[6-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-5-甲基-哒嗪-3-基]-甲基-氨基]-5-[3-[4-[3-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]苯基]甲基-二甲基-氨]丙-1-炔基]-2-氟-苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸酯;2,2,2-三氟乙酸

[3081] 使用方法A和P2作为适当的负载,获得了所期望的产物。HRMS(ESI)$[M+H]^+$=1188.4561(δ=0.6ppm).

[3082] 制备L9A-P1:3-[4-[3-[2-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-4-羧基-噻唑-5-基]丙氧基]-3-氟-苯基]丙-2-炔基-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]苯基]甲基]-二甲基-铵;2,2,2-三氟乙酸

[3083] 使用方法A和P1作为适当的负载,获得了所期望的产物。HRMS(ESI)$[M+H]^+$=1232.4802(δ=-1.1ppm).

[3084] L9A-P10的制备:2-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c[哒嗪-8-基]-5-[3-[4-[3-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]苯基]甲基]-4-甲基-哌嗪-4-鎓-1-基]丙-1-炔基]-2-氟-苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸酯;2,2,2-三氟乙酸

[3085] 使用方法A和P10作为适当的负载,获得了所期望的产物。HRMS(ESI)$[M+H]^+$发现值=1269.5176(δ=3.4ppm).

[3086] L9A-P9的制备:2-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-5-[3-[4-[3-[1-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-

1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]苯基]甲基]吡咯烷-1-鎓-1-基]丙-1-炔基]-2-氟-苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸酯;2,2,2-三氟乙酸

[3087] 使用方法A和P9作为适当的负载,获得了所期望的产物。HRMS(ESI)$[M+H]^+$发现值=1240.4887(δ=1.6ppm).

[3088] L9A-P15的制备:2-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-5-[3-[4-[3-[1-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]苯基]甲基]-4,4-二氟-哌啶-1-鎓-1-基]丙-1-炔基]-2-氟-苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸酯;2,2,2-三氟乙酸

[3089] 使用方法A和P15作为适当的负载,获得了所期望的产物。HRMS(ESI)$[M+H]^+$发现值=1290.4831(δ=-0.3ppm).

[3090] L9A-P18的制备:2-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-5-[3-[4-[3-[1-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]苯基]甲基]哌啶-1-鎓-1-基]丙-1-炔基]-2-氟-苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸酯;2,2,2-三氟乙酸

[3091] 使用方法A和P18作为适当的负载,获得了所期望的产物。HRMS(ESI)$[M+H]^+$发现值=1254.4990(δ=-1.8ppm).

[3092] 制备L9A-P28:3-[4-[3-[2-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-4-羧基-噻唑-5-基]丙氧基]苯基]丙-2-炔基-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]苯基]甲基]-二甲基-铵;2,2,2-三氟乙酸

[3093] 使用方法A和P28作为适当的负载,获得了所期望的产物。HRMS(ESI)$[M-CF_3CO_2]^+$=1196.4827(δ=1.9ppm).

[3094] L9C-P16的制备:2-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-6-[2-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]苯基]甲氧基羰基-甲基-氨基]乙氧基]-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-5-[3-[4-[3-(二甲基氨基)丙-1-炔基]-2-氟-苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸

[3095] 使用方法C和P16作为适当的负载,获得了所期望的产物。HRMS(ESI)$[M+H]^+$发现值=1331.5131(δ=-0.4ppm).

[3096] L9C-P12的制备:2-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-5-[3-[4-[3-[2-(二甲基氨基)乙基-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]苯基]甲氧基羰基]氨基]丙-1-炔基]-2-氟-苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸

[3097] 使用方法C和P12作为适当的负载,获得了所期望的产物。HRMS(ESI)$[M+H]^+$发现值=1301.5034(δ=-0.3ppm).

[3098] 制备L9C-P44:2-[[6-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-5-甲基-哒嗪-3-基]-(3,4-二羟基丁基)氨基]-5-[3-[4-[3-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]苯基]甲氧基羰基-甲基-氨基]丙-1-炔基]-2-氟-苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸

[3099] 使用方法C和P44作为适当的负载，获得了所期望的产物。HRMS(ESI)[M+H]$^+$发现值＝1262.4527(δ＝-0.1ppm)。

[3100] L9C-P45的制备：2-[[6-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-5-甲基-哒嗪-3-基]-(3-羟基丙基)氨基]-5-[3-[4-[3-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]苯基]甲氧基羰基-甲基-氨基]丙-1-炔基]-2-氟-苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸

[3101] 使用方法C和P45作为适当的有效负载，在基于NH_4HCO_3的纯化步骤后获得所期望产物方法(制备型HPLC，一般程序)。HRMS(ESI)[M+H]$^+$发现值＝1262.4527(δ＝0.4ppm)。

[3102] L9C-P46的制备：2-[[6-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-5-甲基-哒嗪-3-基]-(4,5-二羟基戊基)氨基]-5-[3-[4-[3-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]苯基]甲氧基羰基-甲基-氨基]丙-1-炔基]-2-氟-苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸

[3103] 使用方法C和P46作为适当的有效负载，在基于NH_4HCO_3的纯化步骤后获得所期望产物方法(制备型HPLC，一般程序)。HRMS(ESI)[M+H]$^+$＝1324.4903(δ＝-1.7ppm)。

[3104] L9C-P17的制备：2-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-5-[3-[4-[3-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]苯基]甲氧基羰基]哌嗪-1-基]丙-1-炔基]-2-氟-苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸

[3105] 使用方法C和P17作为适当的负载，获得了所期望的产物。HRMS(ESI)[M+H]$^+$发现值＝1299.4880(δ＝0.5ppm)。

[3106] L9A-P11的制备：[3-[4-[3-[2-[[6-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-5-甲基-哒嗪-3-基]-甲基-氨基]-4-羧基-噻唑-5-基]丙氧基]-3-氟-苯基]-1-甲基-丙-2-炔基]-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]苯基]甲基]-二甲基-铵;2,2,2-三氟乙酸

[3107] 使用方法A和P11作为适当的负载，获得了所期望的产物。HRMS(ESI)[M+H]$^+$发现值＝1202.4722(δ＝0.5ppm)。

[3108] L9A-P8的制备：2-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-5-[3-[4-[3-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]苯基]甲基]-4-甲基-哌嗪-4-鎓-1-基]丁-1-炔基]-2-氟-苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸;2,2,2-三氟乙酸

[3109] 使用方法D和P8作为适当的负载，获得了所期望的产物。HRMS(ESI)[M+H]$^+$发现值＝1284.5343(δ＝-1.9ppm)。

[3110] L9A-P14的制备：2-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-5-[3-[4-[3-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]苯基]甲基-二乙基-氨]丙-1-炔基]-2-氟-苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸酯

[3111] 使用方法D和P14作为适当的有效负载，在基于NH_4HCO_3的纯化步骤后获得所期望产物方法(制备型HPLC，一般程序)。HRMS(ESI)[M+H]$^+$发现值＝1242.5021(δ＝-0.2ppm)。

[3112] 制备L9A-P13:2-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,

3-c]哒嗪-8-基]-5-[3-[4-[3-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]苯基]甲基-乙基-甲基-氨]丙-1-炔基]-2-氟-苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸酯

[3113] 使用方法D和P13作为适当的有效负载，在基于NH_4HCO_3的纯化步骤后获得所期望产物方法(制备型HPLC，一般程序)。HRMS(ESI)$[M+H]^+$发现值＝1228.4855(δ＝-1.0ppm)。

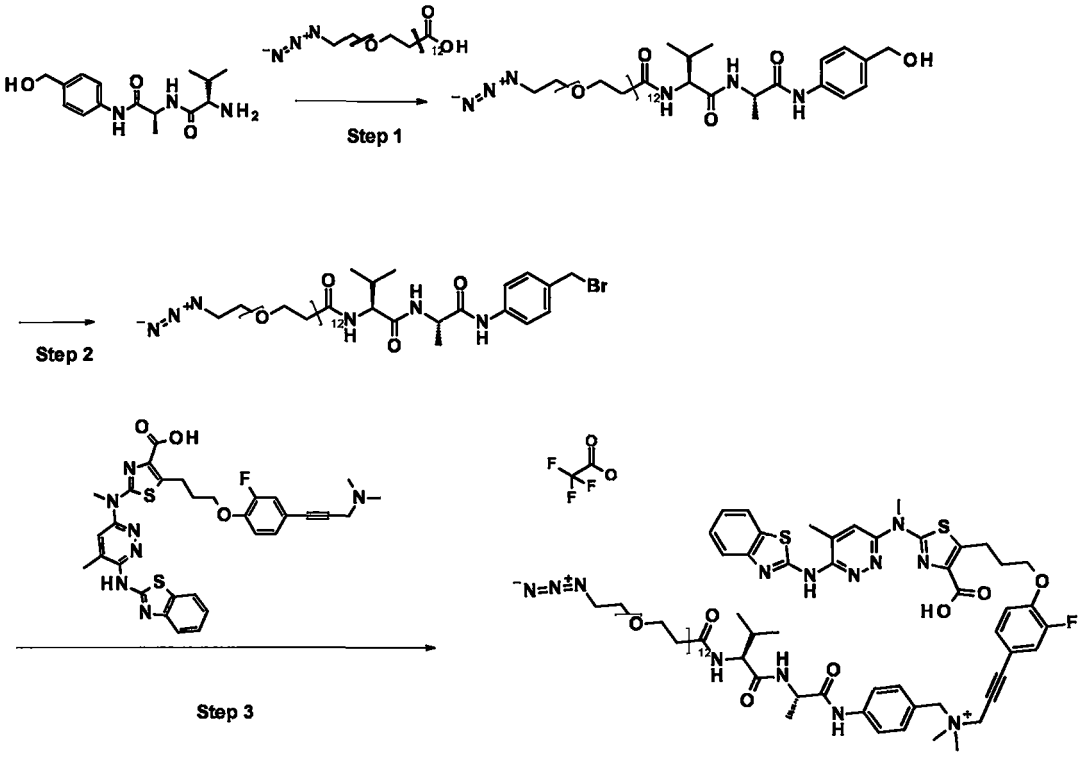
[3114] L9A-P34的制备：3-[4-[3-[2-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-4-羧基-噻唑-5-基]丙氧基]-3-氟-苯基]丙-2-炔基-[(3S)-3,4-二羟基丁基]-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]苯基]甲基]-甲基-铵;2,2,2-三氟乙酸

[3115] 使用方法D和P34作为适当的负载，获得了所期望的产物。HRMS(ESI)$[M-CF_3CO_2]^+$发现值＝1288.5086(δ＝0.6ppm)。

[3116] 方法F

[3117] L13A-P2的制备：[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(2-叠氮基乙氧基)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]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]丙酰基]氨基]苯基]甲基-[3-[4-[3-[2-[[6-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-5-甲基-哒嗪-3-基]-甲基-氨基]-4-羧基-噻唑-5-基]丙氧基]-3-氟-苯基]丙-2-炔基]-二甲基-铵;2,2,2-三氟乙酸酯

[3118]



[3119] 步骤1：(2S)-2-[3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(2-叠氮基乙氧基)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]丙酰基氨基]-N-[(1S)-2-[4-(羟基甲基)苯胺基]-1-甲基-2-氧代-乙基]-3-甲基-丁酰胺

[3120] 向(2S)-2-氨基-N-[(1S)-2-[4-(羟基甲基)苯胺基]-1-甲基-2-氧代-乙基]-3-甲基-丁酰胺(900mg,3.07μmol)在DMF(10mL)中的悬浮液中依次添加3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-

[2-[2-[2-[2-[2-(2-叠氮基乙氧基)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(2.00g,3.07mmol)在DMF(10mL)中的溶液、EDC(650mg,3.38mmol)(作为粉末)和DIPEA(1.00mL,6.14mmol)。将反应在室温搅拌16小时。通过将反应混合物直接沉积在Xbridge®柱上并使用NH_4HCO_3方法使用C18反相制备型HPLC纯化粗产物,得到所期望产物(1.64g,1.78mmol)。IR:(v cm^{-1})3600-3200,3287,2106,1668,1630,1100.^1H NMR(400MHz,dmso-d6)δppm 9.82(m,1H),8.14(d,1H),7.87(d,1H),7.54(d,2H),7.23(d,2H),5.08(t,1H),4.43(d,2H),4.39(m,1H),4.20(m,1H),3.65-3.44(m,48H),3.39(t,2H),2.5-2.3(m,2H),1.97(m,1H),1.31(d,3H),0.87/0.84(2d,6H).HRMS(ESI)$[M+H]^+$发现值:919.5234(δ=3.4ppm).

[3121] 步骤2:(2S)-2-[3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(2-叠氮基乙氧基)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]丙醇基氨基]-N-[(1S)-2-[4-(溴甲基)苯胺基]-1-甲基-2-氧代-乙基]-3-甲基-丁酰胺

[3122] 在0℃向来自步骤1的产物(72mg,7.83μmol)在THF(5mL)中的溶液添加PBr3在THF中的1M溶液(157μL,157μmol),并在0℃将该反应混合物搅拌1h且在室温搅拌1h。将反应混合物用AcOEt(5mL)稀释,用$NaHCO_3$饱和水溶液(0.5mL)处理,用$MgSO_4$干燥,无需进一步处理即可用于下一步。IR:(v cm^{-1})3700-3100,1658,2106.HRMS(ESI)$[M+H]^+$发现值:981.4390(δ=1.3ppm).

[3123] 步骤3:[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(2-叠氮基乙氧基)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]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]丙酰基]氨基]苯基]甲基-[3-[4-[3-[2-[[6-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-5-甲基-哒嗪-3-基]-甲基-氨基]-4-羧基-噻唑-5-基]丙氧基]-3-氟-苯基]丙-2-炔基]-二甲基-铵;2,2,2-三氟乙酸酯

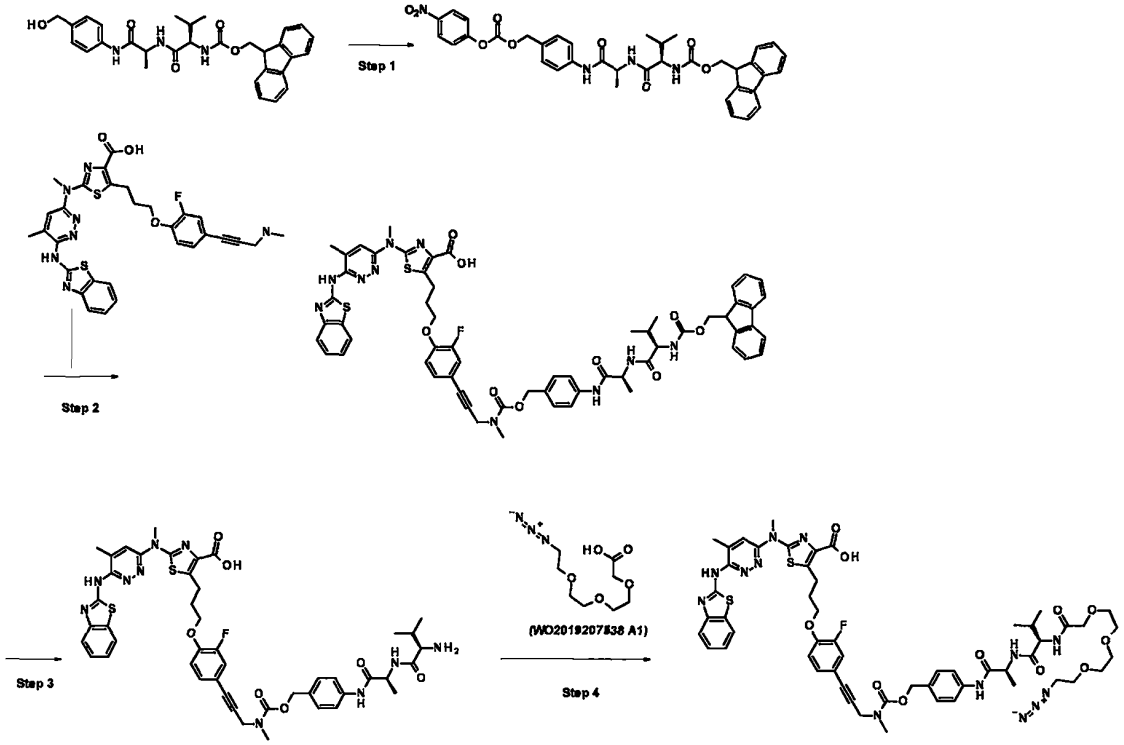
[3124] 向来自步骤2的产物((21mg,2.09μmol)在DMF(2mL)中的溶液中依次添加2-[[6-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-5-甲基-哒嗪-3-基]-甲基-氨基]-5-[3-[4-[3-(二甲基氨基)丙-1-炔基]-2-氟代-苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸(P2)(11.0mg,1.74μmol)(作为粉末)和DIPEA(8.6μL,5.22μmol)。将反应在室温搅拌8小时。通过将反应混合物直接沉积在Xbridge®柱上并使用TFA方法使用C18反相制备型HPLC纯化粗产物,得到所期望产物(15mg,0.91mmol)。IR:(v cm^{-1})3400-3150,2235,2105,1667.^1H NMR(500MHz,dmso-d6)δppm 7.90(dl,1H),7.76(d,2H),7.68(s,1H),7.58(dd,1H),7.51(m,1H),7.51(d,2H),7.41(m,1H),7.38(t,1H),7.25(m,1H),7.20(t,1H),4.55(s,2H),4.42(s,2H),4.39(m,1H),4.21(m,1H),4.19(t,2H),3.77(s,3H),3.60(m,4H),3.54/3.50(m+m,44H),3.38(t,2H),3.29(m,2H),3.05(s,6H),2.47(s,3H),2.46/2.38(m+m,1+1H),2.16(quint,2H),1.96(m,1H),1.32(d,3H),0.88/0.84(d+d,3+3H).^{13}C NMR(500MHz,dmso-d6)δppm 133.9,129.7,126.4,122.6,122.1,120.0,119.3,118.1,115.3,70.5/70.1,70.1/67.5,68.7,66.2,57.8,53.7,50.6,49.7,49.5,36.4,35.3,31.0,30.9,23.3,19.5/18.6,18.4,17.7.^{19}F NMR(500MHz,dmso-d6)δppm-133.8.HRMS(ESI)$[M+H]^+$发现值:1532.6964(δ=0.6ppm).

[3125] 方法G

[3126] L19C-P7的制备:5-[3-[4-[3-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[[2-[2-[2-(2-叠氮基乙氧基)乙氧基]乙酰基]氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]丙酰基]氨基]苯基]甲氧基羰

基-甲基-氨基]丙-1-炔基]-2-氟-苯氧基]丙基]-2-[[6-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-5-甲基-哒嗪-3-基]-甲基-氨基]噻唑-4-甲酸

[3127]



[3128] 步骤1:[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-(9H-芴-9-基甲氧基羰基氨基)-3-甲基-丁酰基]氨基]丙酰基]氨基]苯基]甲基(4-硝基苯基)碳酸酯

[3129] 向9H-芴-9-基甲基N-[(1S)-1-[[(1S)-2-[4-(羟基甲基)苯胺基]-1-甲基-2-氧代-乙基]氨基甲酰]-2-甲基-丙基]氨基甲酸酯(5.0g,9.7mmol)在THF(20mL)和DCM(10mL)中的溶液中依次添加对硝基苯基氯代碳酸酯(4.1g,20.1mmol)和吡啶(1.65mL,20.4mmol)。将反应在室温搅拌15小时。添加10%柠檬酸水溶液并将反应混合物用AcOEt萃取两次。有机层用盐水洗涤并经$MgSO_4$干燥。在真空下蒸发后,将固体溶解在最少量的AcOEt中并添加乙醚以沉淀所期望化合物(5.6g,8.22mmol)。IR:(v cm^{-1})3350-3200,1760;1690;1670;1630,1523;1290.^1H NMR(400MHz,dmso-d6)δppm 10.07(m,1H),8.31(d,2H),8.19(d,1H),7.89(d,2H),7.74(t,2H),7.64(d,2H),7.57(d,2H),7.41(m,2H),7.41(d,2H),7.4(m,1H),7.32(t,2H),5.24(s,2H),4.43(m,1H),4.36-4.19(m,3H),3.92(dd,1H),2(m,1H),1.32(d,3H),0.9/0.87(2d,6H).

[3130] 步骤2:2-[[6-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-5-甲基-哒嗪-3-基]-甲基-氨基]-5-[3-[4-[3-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-(9H-芴-9-基甲氧基羰基氨基)-3-甲基-丁酰基]氨基]丙酰基]氨基]苯基]甲氧基羰基-甲基-氨基]丙-1-炔基]-2-氟-苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸

[3131] 向2-[[6-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-5-甲基-哒嗪-3-基]-甲基-氨基]-5-[3-[2-氟代-4-[3-(甲基氨基)丙-1-炔基]苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸(P7)(366.0mg,559mmol)在DMF(10mL)中的溶液中依次添加来自步骤1的产物(378mg,556mmol)和DIPEA(368μL,2.22mmol)。将反应混合物在室温搅拌16小时,然后蒸发至干。粗产物通过硅胶色谱法(甲醇在DCM中的梯度)纯化,得到所期望化合物(15.6mg,9.64μmol)。

[3132] 步骤3:5-[-3[4-[3-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-氨基-3-甲基-丁酰基]氨基]丙酰

基]氨基]苯基]甲氧基羰基-甲基-氨基]丙-1-炔基]-2-氟-苯氧基]丙基]-2-[[6-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-5-甲基-哒嗪-3-基]-甲基-氨基]噻唑-4-甲酸

[3133] 向来自步骤2的产物(424mg,366mmol)在DMF(4mL)中的溶液中添加哌啶(90μL,914mmol)并在室温将该反应混合物搅拌1h。蒸发至干后,粗产物通过硅胶色谱法纯化(梯度为在DCM中含有2%NH_4OH的甲醇)以提供期望的化合物。IR:(v cm^{-1})3270,3100-2400,1680,1520.^1H NMR(400MHz,dmso-d6)δppm 10.58/10.2(2*s,1H),8.55/8.28(2*s,1H),7.9(d,1H),7.65(s,1H),7.62(d,2H),7.52(d,1H),7.39(m,1H),7.35-7(massif,3H),7.32(d,2H),7.2(m,1H),5.05(s,2H),4.48(m,1H),4.26(s,2H),4.15(t,2H),3.71(s,3H),3.3(t,2H),3.03(d,1H),2.9(s,3H),2.45(s,3H),2.11(quint,2H),1.91(m,1H),1.4-0.7(br s,2H),1.32(d,3H),0.88/0.78(2*d,6H).^{19}F NMR(400MHz,dmso-d6)δppm-134.

[3134] 步骤4:5-[3-[4-[3-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[[2-[2-[2-(2-叠氮基乙氧基)乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]丙酰基]氨基]苯基]甲氧基羰基-甲基-氨基]丙-1-炔基]-2-氟-苯氧基]丙基]-2-[[6-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-5-甲基-哒嗪-3-基]-甲基-氨基]噻唑-4-甲酸

[3135] 向2-[2-[2-(2-叠氮基乙氧基)乙氧基]乙氧基]乙酸(58mg,249μmol)在DMF(1mL)中的溶液中依次添加TSTU(77mg,255μmol)和DIPEA(190μL,1.12mmol),并在室温将该反应混合物搅拌2h。在添加在DMF(1.5mL)中的来自步骤3的产物(84mg,89.6mmol)后,在室温将该反应混合物搅拌2h。使用C18反相制备型HPLC通过将反应混合物直接沉积在Xbridge®柱上并使用NH_4HCO_3纯化粗产物,以提供期望的化合物(64mg,55.5mmol)。IR:(v cm^{-1})3700-2700,2104,1693/1656,1227/1127.^1H NMR(400MHz,dmso-d6)δppm 9.76(s,1H),8.16(dl,1H),7.83(d,1H),7.62(s,1H),7.56(d,2H),7.51(d,1H),7.36(d,1H),7.35(t,1H),7.29(d,2H),7.24-7.08(m,3H),7.18(t,1H),5.04(s,2H),4.44(hept,1H),4.28(dd,1H),4.26(s,2H),4.16(t,2H),3.94(s,2H),3.75(s,3H),3.58(m,10H),3.35(t,2H),3.27(t,2H),2.91(s,3H),2.45(s,3H),2.13(quint,2H),2.05(m,1H),1.32(d,3H),0.89/0.84(2d,6H).^{19}F NMR(400MHz,dmso-d6)δppm-133.9.HRMS ESI$[M+H]^+$发现值1152.4207(δ=1.5ppm).

[3136] L23C-P7的制备:5-[3-[4-[3-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[[2-[2-[2-(2-叠氮基乙氧基)乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]苯基]甲氧基羰基-甲基-氨基]丙-1-炔基]-2-氟-苯氧基]丙基]-2-[[6-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-5-甲基-哒嗪-3-基]-甲基-氨基]噻唑-4-甲酸

[3137] 产物根据方法G通过替换9H-芴-9-基甲基N-[(1S)-1-[[(1S)-2-[4-(羟基甲基)苯胺基]-1-甲基-2-氧代-乙基]氨基甲酰]-2-甲基-丙基]氨基甲酸酯用9H-芴-9-基甲基N-[(1S)-1-[[(1S)-1-[[4-(羟基甲基)苯基]氨基甲酰]-4-脲基-丁基]氨基甲酰]-2-甲基-丙基]氨基甲酸酯而获得。IR:(v cm^{-1})3687-3060,2104,非常广泛-1656,1606,1515,754and725.^1H NMR(400MHz,dmso-d6)δppm 7.90(d,1H),7.70(br s,1H),7.60(d,2H),7.50(m,2H),7.40(t,1H),7.30(d+m,3H),7.20(t,1H),7.15(dd,1H),5.45(m,2H),4.40(m,1H),4.30(m,1H),4.25(s,2H),4.15(t,2H),3.95(s,2H),3.80(s,3H),3.60/3.30(2m,12H),3.30(m,2H),3.00(2m,2H),2.90(s,3H),2.45(s,3H),2.15(quint,2H),2.00(m,1H),1.70/1.60(2m,2H),1.45/1.4(2m,2H),0.90/0.80(2d,6H).^{19}F NMR(400MHz,dmso-d6)δppm-134.2.HRMS ESI$[M+H]^+$发现值1238.4675(δ=0.4ppm).

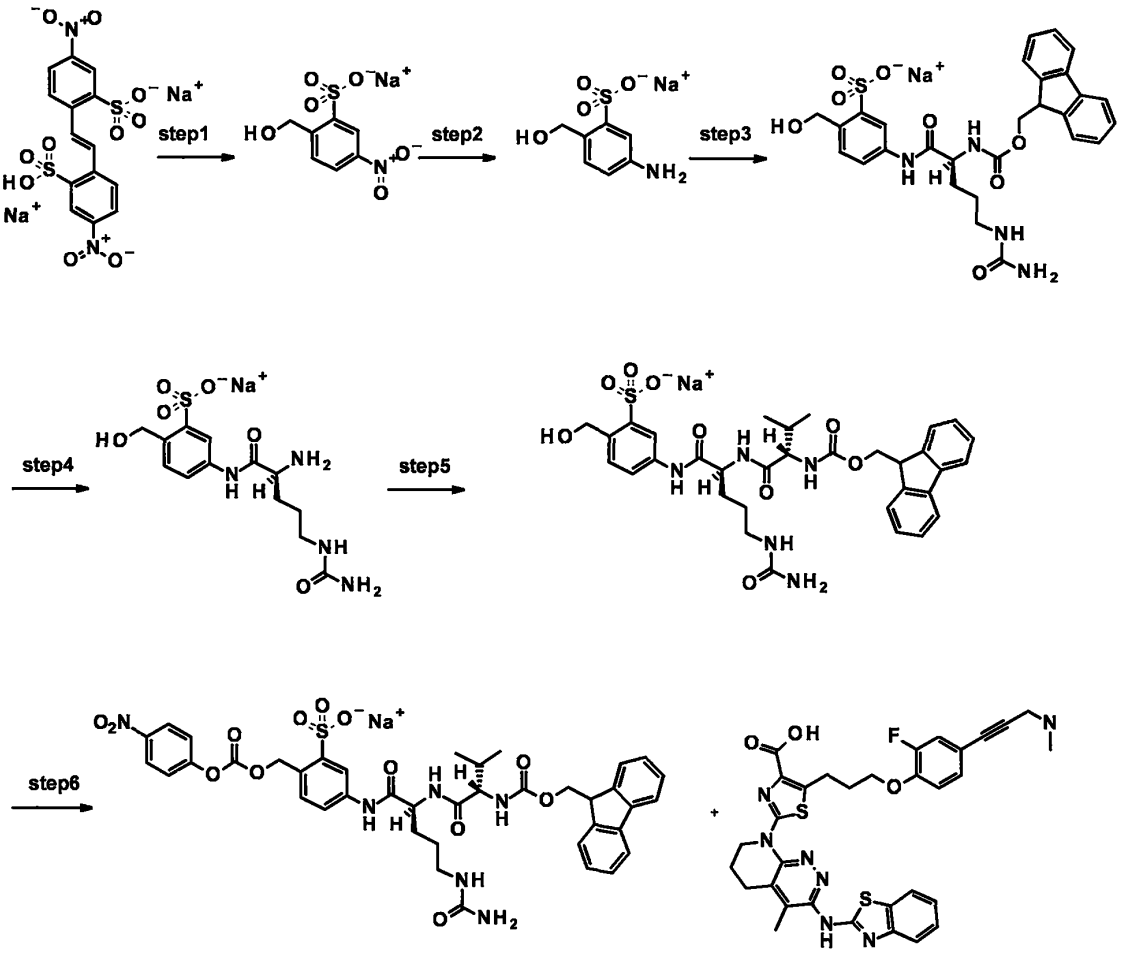
[3138] L110C-P7的制备:5-[3-[4-[3-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(2-叠氮基乙氧基)乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]苯基]甲氧基羰基-甲基-氨基]丙-1-炔基]-2-氟-苯氧基]丙基]-2-[[6-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-5-甲基-哒嗪-3-基]-甲基-氨基]噻唑-4-甲酸

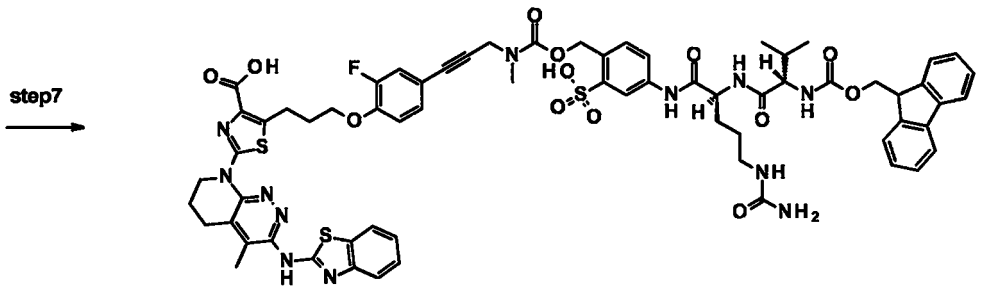
[3139] 产物根据方法G通过替换9H-芴-9-基甲基N-[(1S)-1-[[(1S)-2-[4-(羟基甲基)苯胺基]-1-甲基-2-氧代-乙基]氨基甲酰]-2-甲基-丙基]氨基甲酸酯用9H-芴-9-基甲基N-[(1S)-1-[[(1S)-1-[[4-(羟基甲基)苯基]氨基甲酰]-4-脲基-丁基]氨基甲酰]-2-甲基-丙基]氨基甲酸酯,及2-[2-[2-(2-叠氮基乙氧基)乙氧基]乙氧基]乙酸用3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(2-叠氮基乙氧基)乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]而获得。

[3140] 乙氧基]丙酸。IR:(v cm^{-1})3560-3063,2100,非常广泛-1651,1608,1514,756and 725.^{1}H NMR(400MHz,dmso-d6)δppm 7.9(d,1H),7.7(br s,1H),7.6(d,2H),7.5(m,1H),7.4(t,1H),7.4-7.1(m,3H),7.3(d,2H),7.2(t,1H),5.4(m,2H),4.4(m,1H),4.3(s,2H),4.25(m,1H),4.15(t,2H),3.8(s,3H),3.65-3.4(m,50H),3.3(m,2H),3(2m,2H),2.9(s,3H),2.45(s,3H),2.4(m,2H),2.1(quint,2H),2(m,1H),1.7/1.6(2m,2H),1.4(2m,2H),0.85(2d,6H).^{19}F NMR(400MHz,dmso-d6)δppm-134.4.HRMS(ESI)$[M+H]^{+}$发现值1648.7209(δ=1.4ppm).

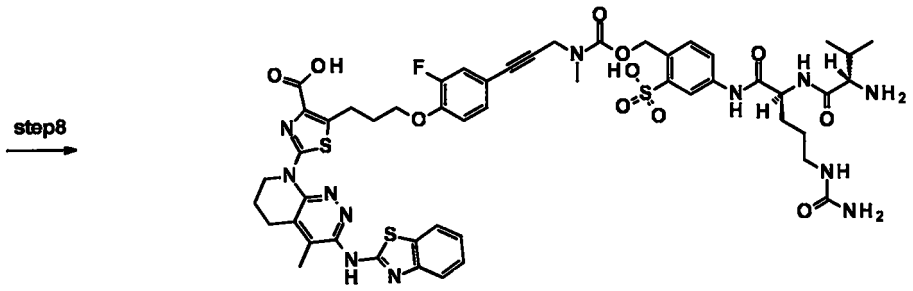
[3141] 方法H

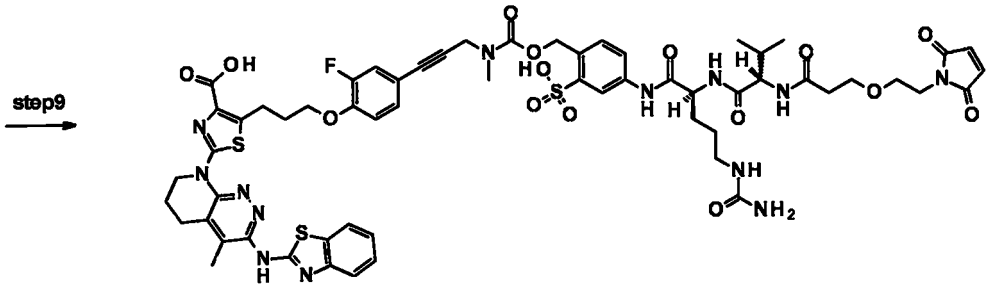
[3142] L27C-P3的制备:2-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-5-[3-[4-[3-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰亚胺基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]-2-磺基-苯基]甲氧基羰基-甲基-氨基]丙-1-炔基]-2-氟-苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸

[3143] 



[3144]





[3145] 步骤1:2-(羟基甲基)-5-硝基-苯磺酸钠

[3146] 向5-硝基-2-[(E)-2-(4-硝基-2-磺基-苯基)乙烯基]苯磺酸钠(25.0g;52.7mmol)在水(336mL)中的溶液中通入臭氧流1.5h。反应完成后,将混合物用氩气吹扫30分钟以除去过量的臭氧。然后,添加碳酸钠(39.1g;7当量)和硼氢化钠(3.99g;2当量)并在室温将该橙色溶液搅拌16h。将该反应混合物浓缩以得到期望的化合物(39.9g;sup 100%),呈固体(含有残留痕量的硼盐)。^{1}H NMR(dmso):δ4.99(d,2H,J=3.6Hz),5.36(t,1H,J=5.6Hz),7.83(d,1H,J=8.4Hz),8.21(d,1H,J=8.4Hz),8.45(s,1H).

[3147] 步骤2:5-氨基-2-(羟基甲基)苯磺酸钠

[3148] 将2-(羟基甲基)-5-硝基-苯磺酸钠(26.9g;105mmol)在水(403mL)中溶解。然后,反应混合物用氩气冲洗。添加10%碳钯(2.65g,10%wt.),然后将黑色悬浮液用氩气冲洗,然后用氢气冲洗。将反应混合物在氢气氛下于室温搅拌3.5天。在硅藻土®上过滤并用水和甲醇洗涤后,将滤液浓缩至干并与甲苯共蒸发3次。使用乙酸乙酯/甲醇(90/10至70/30)作为洗脱剂通过硅胶柱色谱纯化,得到所期望化合物(14.29g;60%)。^{1}H NMR(dmso):δ4.52(d,2H,J=5.2Hz),4.95(t,1H,J=5.2Hz),5.04(s,2H),6.42(d,1H,J=7.6Hz),6.93(d,1H,J=7.6Hz),7.03(s,1H).

[3149] 步骤3:5-[[(2S)-2-(9H-芴-9-基甲氧基羰基氨基)-5-脲基-戊酰基]氨基]-2-(羟基甲基)苯磺酸钠

[3150] 向Fmoc-L-Cit-OH(882mg;2.22mmol)在二甲基甲酰胺(32.5mL)中的溶液添加来自

步骤2的产物(500mg;2.22mmol)、HBTU(1.01g;2.66mmol)和DIPEA(917μL;5.55mmol)。将反应混合物在室温搅拌16小时,然后浓缩至干并与水(2x 100mL)共蒸发。使用乙腈/水2/8至8/2作为洗脱剂,通过C18柱色谱纯化粗品,得到所期望化合物(1.0g;63%)。^{1}H NMR(dmso):δ1.25-1.28(m,15H,DIPEA),1.36-1.72(m,4H),2.92-3.03(m,2H),3.11-3.18(m,2H,DIPEA),3.5-3.65(m,2H,DIPEA),4.30-4.12(m,4H),4.74(d,2H,J=4.4Hz),5.05(t,1H,J=5.6Hz),5.37(s,2H),5.97(t,1H,J=4.8Hz),7.34-7.42(m,4H),7.62-7.90(m,7H),8.15(s,1H),10.05(s,1H).

[3151] 步骤4:5-[[(2S)-2-氨基-5-脲基-戊酰基]氨基]-2-(羟基甲基)苯磺酸钠

[3152] 向来自步骤3的产物(11.2g;15.73mmol)在DMF(224mL)中的溶液中添加哌啶(3.1mL;2当量)。将反应混合物在室温搅拌3小时,然后添加水(400mL)。将水层用乙酸乙酯(2x 300mL)和二氯甲烷(300mL)萃取。将碳酸钠(5.01g;3当量)加入到水层中并将混合物在室温搅拌3h。将混合物冻干以得到所期望化合物(6.01g;估计为100%),呈被钠盐污染的固体。^{1}H NMR(dmso):δ1.55-1.64(m,4H),2.99-3.01(m,2H),3.58(m,1H),4.75(s,2H),5.06(s,1H),5.38(s,2H),5.98(t,1H,J=5.6Hz),7.38(d,1H,J=8.4Hz),7.72(dd,1H,J=8.4&2.4Hz),7.86(d,1H,J=2.4Hz,),10.17(s,1H).

[3153] 步骤5:5-[[(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]-2-(羟基甲基)苯磺酸钠

[3154] 向来自步骤4的产物(6.01g,15.73mmol)在二甲基甲酰胺(150mL)的溶液中添加中Fmoc-L-Val-OSu(6.85g,1当量)。将溶液在室温搅拌3小时,然后将反应混合物用饱和碳酸氢钠(100mL)和水(100mL)稀释并浓缩至干。使用乙酸乙酯/甲醇90/10至50/50作为洗脱剂在硅胶上纯化残余物以提供所期望化合物(4.44g,48%)。^{1}H NMR(dmso):0.85-0.90(m,6H),1.31-1.76(m,4H),1.95-2.06(m,1H),2.91-3.05(m,2H),3.95(t,1H,J=8.4Hz),4.24-4.35(m,3H),4.37-4.45(m,1H),4.76(d,2H,J=6Hz),5.07(t,1H,J=6.4Hz,),5.40(s,2H),6.03(t,1H,J=5.6Hz),7.32-7.46(m,6H),7.67(d,1H,J=8Hz),7.76(t,2H,J=7.2Hz),7.88-7.91(m,3H),8.12(d,1H,J=7.6Hz),10.08(s,1H).^{13}C NMR(dmso):18.25,19.24,26.70,29.56,30.45,39.50,46.67,53.17,60.01,60.96,65.66,117.85,119.15,120.05,125.36,127.06,127.62,128.09,134.39,136.79,140.67,143.89,145.34,156.08,158.82,170.37,171.16.LCMS(2-100ACN/H_2O+0.1%AF):93.85%保留时间=8.4分钟,正模式:检测到682.15(MH^+),负模式:检测到680.17(MH^-)。

[3155] 步骤6:5-[[(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]-2-[(4-硝基苯氧基)羰基氧基甲基]苯磺酸酯

[3156] 向来自步骤5的产物(450mg,0.64mmol)在DMF(6mL)中的溶液中添加DIPEA(1.34mL,7.67mmol)和二(4-硝基苯基)碳酸酯(778mg,2.56mmol)。将溶液在室温搅拌2小时并加入双(4-硝基苯基)碳酸酯(390mg,1.28mmol)。1小时后,减压浓缩溶液,残余物通过硅胶色谱法(甲醇和乙酸在二氯甲烷中的梯度)纯化,得到所期望化合物(523mg)。

[3157] 步骤7:2-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-5-[3-[4-[3-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-(9H-芴-9-基甲氧基羰基氨基)-3-甲基-丁酰亚胺基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]-2-磺基-苯基]甲氧基羰基-甲基-氨基]丙-1-炔基]-2-氟-苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸

[3158] 向2-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-5-[3-[2-氟代-4-[3-(甲基氨基)丙-1-炔基]苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸(P3)(70mg,109μmol)在DMF(550μL)中的溶液中依次添加DIPEA(0.19mL,1.39mmol)、步骤6的产物(111mg,131μmol)和DIEPA(95μL,544μmol)。将溶液在室温搅拌15小时并浓缩得到所期望化合物,其不经任何进一步处理即使用。

[3159] 步骤8:5-[3-[4-[3-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-氨基-3-甲基-丁酰亚胺基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]-2-磺基-苯基]甲氧基羰基-甲基-氨基]丙-1-炔基]-2-氟-苯氧基]丙基]-2-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]噻唑-4-甲酸

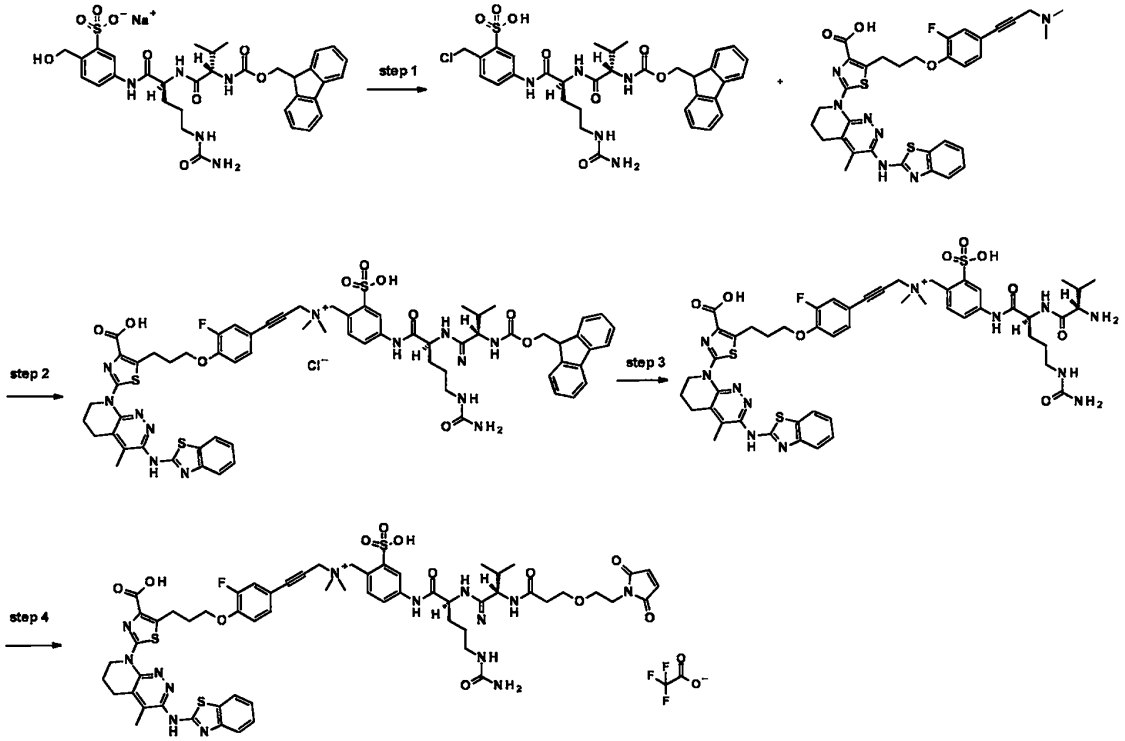
[3160] 向来自步骤7的产物(147mg,109μmol)在二噁烷(1.1mL)中的溶液中添加$LiOHxH_2$(13.7mg,326μmol)在水(1.1mL)中的溶液。将溶液在室温搅拌12小时。添加1M HCl水溶液直至pH 7。将反应混合物蒸发至干并将残余物在DCM中研磨。用水和EtOH洗涤沉淀,得到所期望化合物(120mg)。

[3161] 步骤9:2-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-5-[3-[4-[3-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰亚胺基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]-2-磺基-苯基]甲氧基羰基-甲基-氨基]丙-1-炔基]-2-氟-苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸

[3162] 向来自步骤8的产物(120mg,109μL)的溶液中依次添加(2,5-二氧代吡咯烷-1-基)3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酸酯(37.8mg,122μmol)和DIPEA(38.5μL,221μmol)。将溶液在室温搅拌1.5小时。通过将反应混合物直接沉积在Xbridge®柱上并使用TFA方法使用C18反相制备型HPLC纯化粗产物,得到所期望化合物(9mg)。HRMS(ESI)$[M+H]^+$ 1322.3831(δ=-3.3ppm).

[3163] 方法I

[3164] L27A-P1的制备:3-[4-[3-[2-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-4-羧基-噻唑-5-基]丙氧基]-3-氟-苯基]丙-2-炔基-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰亚胺基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]-2-磺基-苯基]甲基]-二甲基-铵;2,2,2-三氟乙酸酯

[3165] 

[3166] 步骤1:2-(氯甲基)-5-[[(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]苯磺酸

[3167] 向5-[[(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]-2-(羟基甲基)苯磺酸酯(300mg,426μmol)在NMP(6mL)中的溶液中经1h 7次添加$SOCl_2$(31μL,426μmol)在NMP(1mL)中的溶液。将反应混合物在室温搅拌1小时。通过将反应混合物直接沉积在Oasis柱上并使用TFA方法使用C18反相制备型HPLC纯化产物,得到所期望产物(225mg)。IR:(v cm^{-1})3600-2200,1657,1250-1100.^1H NMR(400MHz,dmso-d6)δppm 10.15/8.1/7.42/6(s+2d+m,4H),7.9(m,3H),7.75(m,3H),7.42/7.31(2m,5H),5.23(s,2H),4.4(m,1H),4.3-4.2(m,3H),3.95(dd,1H),3(m,2H),2(m,1H),1.7/1.6(2m,2H),1.48/1.37(2m,2H),0.88(2d,6H).HRMS(ESI)$[M+H]^+$700.2199(δ=-0.5ppm).

[3168] 步骤2:3-[4-[3-[2-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-4-羧基-噻唑-5-基]丙氧基]-3-氟-苯基]丙-2-炔基-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-(9H-芴-9-基甲氧基羰基氨基)-3-甲基-丁酰亚胺基氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]-2-磺基-苯基]甲基]-二甲基-铵;氯化物

[3169] 向来自步骤1的产物(55.7mg,68.4μmol)在NMP(0.9mL)中的溶液中依次添加2-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-5-[3-[4-[3-(二甲基氨基)丙-1-炔基]-2-氟代-苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸(P1)(30mg,45.6μmol)、DIEPA(63.6μL,365μmol)和TBAI(13mg,36.5μmol)。将反应混合物在60℃下搅拌6小时。所期望化合物直接用作步骤3中的溶液。

[3170] 步骤3:[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-氨基-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]-2-磺基-苯基]甲基-[3-[4-[3-[2-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-4-羧基-噻唑-5-基]丙氧基]-3-氟-苯基]丙-2-炔基]-二甲基-铵

[3171] 向来自步骤2的产物(26.5μmol)的NMP溶液中添加二乙基胺(21.9μL,212μmol)。将反应混合物在室温搅拌24小时。通过将反应混合物直接沉积在Oasis柱上并使用NH_4HCO_3方法,使用C18反相制备型HPLC纯化粗产物,得到所期望产物(18mg)。

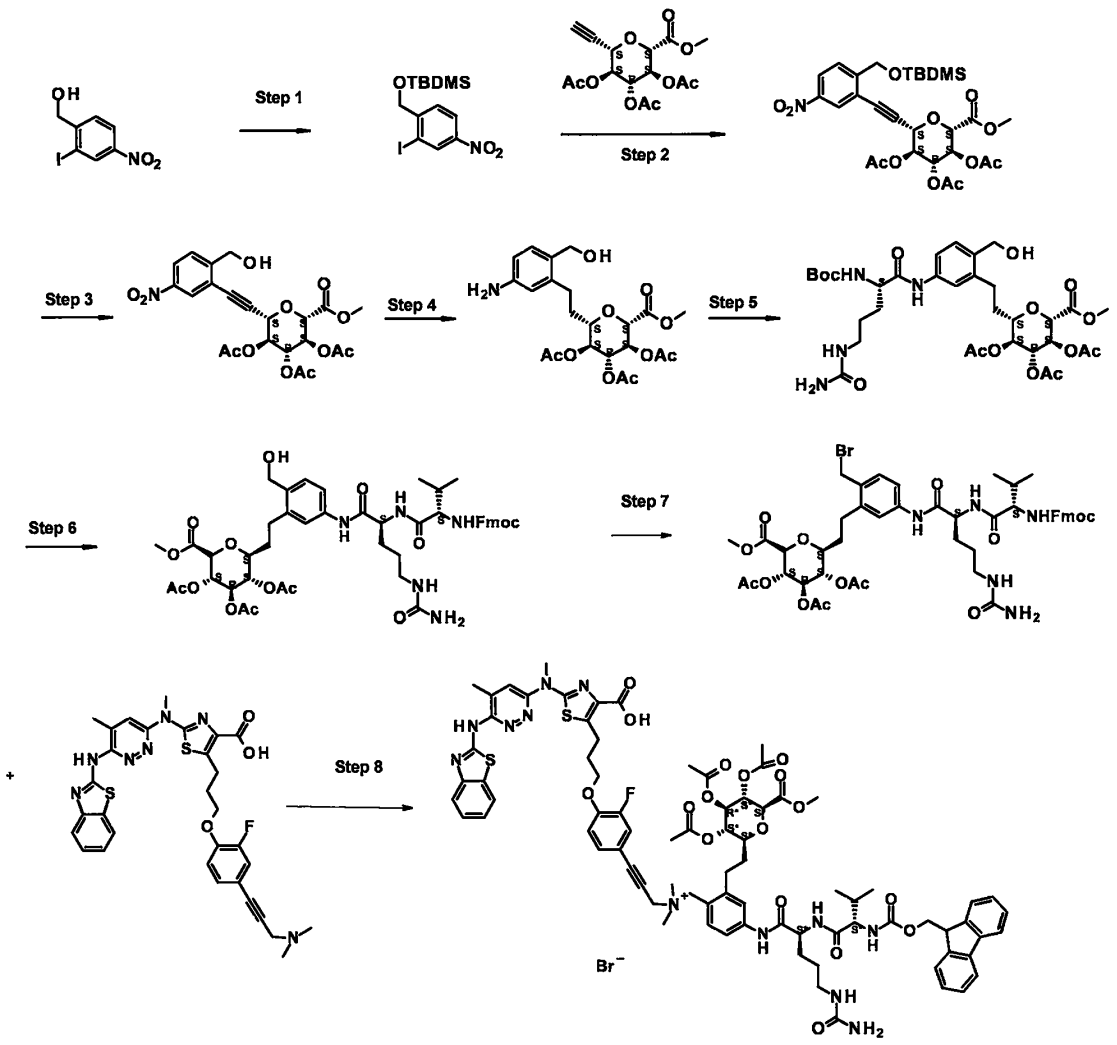
[3172] 步骤4:3-[4-[3-[2-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-4-羧基-噻唑-5-基]丙氧基]-3-氟-苯基]丙-2-炔基-[[4-[[(2S)-2-[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰亚胺基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]-2-磺基-苯基]甲基]-二甲基-铵;2,2,2-三氟乙酸酯

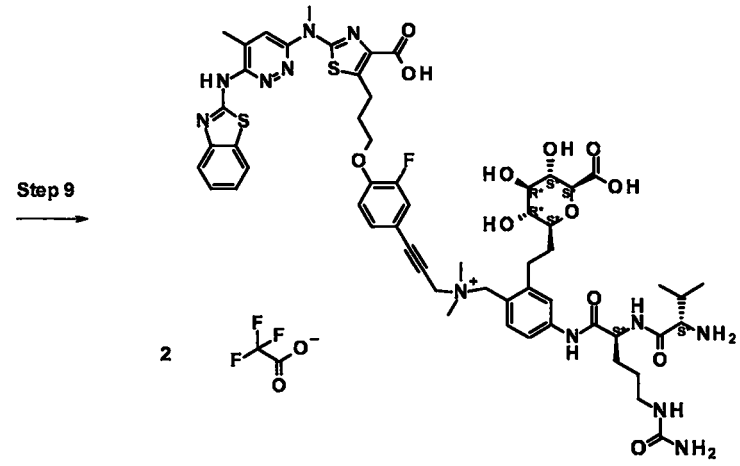
[3173] 向来自步骤3的产物(20mg,18.2μmol)在DMF(900μL)中的溶液依次添加(2,5-二氧代吡咯烷-1-基)3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酸酯(8.5mg,27.3μmol)和DIPEA(9.5μL,54.5μmol)。将溶液在室温搅拌1.5小时。使用C18反相制备型HPLC通过将反应混合物直接沉积在Xbridge®柱上并使用NH_4HCO_3方法纯化粗产物,得到标题化合物(15.7mg)。HRMS(ESI)$[M+H]^+$1294.4278δ=1ppm.

[3174] 方法J

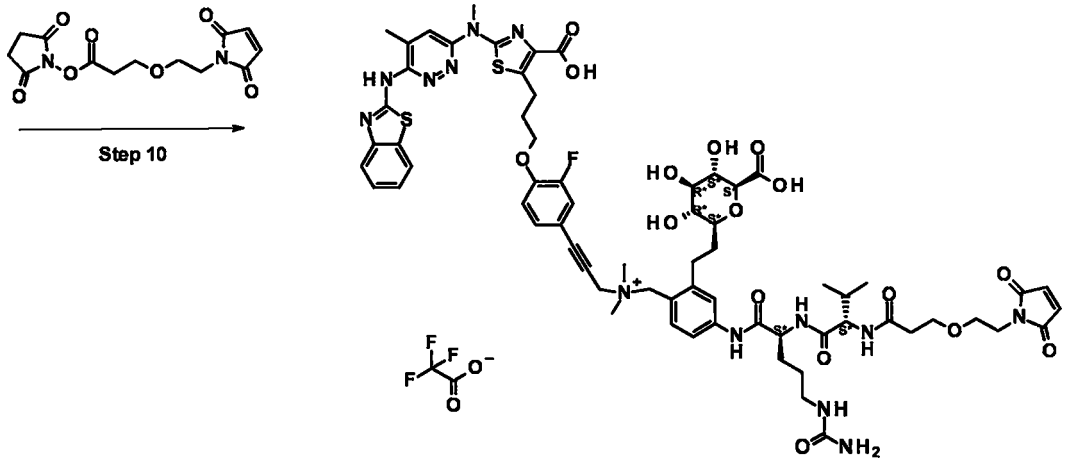
[3175] 制备L21A-P2:3-[4-[3-[2-[[6-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-5-甲基-哒嗪-3-基]-甲基-氨基]-4-羧基-噻唑-5-基]丙氧基]-3-氟-苯基]丙-2-炔基-[[2-[2-[(2S,3R,4R,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基-四氢吡喃-2-基]乙基]-4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]苯基]甲基]-二甲基-铵;2,2,2-三氟乙酸酯

[3176]


Step 1
Step 2
Step 3
Step 4
Step 5
Step 6
Step 7
Step 8
OTBDMS
NHFmoc
Br⁻



[3177]



[3178] 步骤1:叔丁基-[(2-碘-4-硝基-苯基)甲氧基]-二甲基-硅烷

[3179] 向(2-碘代-4-硝基-苯基)甲醇(172g,61.64mmol)在二氯甲烷(300mL)中的溶液添加咪唑(5.04g,73.97mmol)。将混合物冷却至0℃后,在15分钟内滴加叔-丁基-氯-二甲基-硅烷(TBDMSCl)(11.15g,73.97mmol)在二氯甲烷(300mL)中的溶液。在室温搅拌16小时后,将反应混合物用甲醇(20mL)淬灭并浓缩至干。将粗产物通过硅胶色谱法(乙酸乙酯在环己烷中的梯度)纯化,得到所期望产物(19.65g)。^{1}H NMR(400MHz,dmso-d6):δ8.57(s,1H),8.31(d,1H),7.66(d,1H),4.67(s,2H),0.92(s,9H),0.14(s,6H).

[3180] 步骤2:甲基(2S,3S,4R,5S,6S)-3,4,5-三乙酰氧基-6-[2-[2-[[叔丁基(二甲基)甲硅烷基]氧基甲基]-5-硝基-苯基]乙炔基]四氢吡喃-2-甲酸酯

[3181] 向来自步骤1的产物(3.0g,7.63mmol)在DMF(55mL)中的溶液中依次添加甲基(2S,3S,4R,5S,6S)-3,4,5-三乙酰氧基-6-乙炔基-四氢吡喃-2-甲酸酯(3.39g,9.92mmol)、DIPEA(5.80mL,35.09mmol)、碘化亚铜(145mg,0.763mmol)和二氯代-二-(三苯基膦)钯(II)(535mg,0.763mmol)。将溶液用氩气冲洗并在室温搅拌16小时。用水(300mL)稀释后,水层用乙酸乙酯(2x300mL)萃取。用水(2x300mL)洗涤合并的有机层,干燥,过滤并浓缩至干。将粗产物通过硅胶色谱法(乙酸乙酯在环己烷中的梯度)纯化,得到所期望产物(4.01g)。^{1}H NMR(400MHz,dmso-d6):δ8.32(dd,1H),8.19(d,1H),7.75(d,1H),5.45(t,1H),5.16(t,1H),5.02-5.07(m,2H),4.82(s,2H),4.55(d,1H),3.65(s,3H),1.98-2.07(m,9H),0.92(m,9H),0.14(s,6H).

[3182] 步骤3:甲基(2S,3S,4R,5S,6S)-3,4,5-三乙酰氧基-6-[2-[2-(羟基甲基)-5-硝基-苯基]乙炔基]四氢吡喃-2-甲酸酯

[3183] 向来自步骤2的产物(4.01g,6.60mmol)在THF(48mL)和水(48mL)中的溶液中添加乙酸(193mL,3.36mol)。将溶液在室温搅拌2天,然后用水(300mL)稀释。将水层用二氯甲烷(2x300mL)萃取。用水(2x300mL)和饱和碳酸氢钠水溶液(400mL)洗涤合并的有机层,干燥,过滤并浓缩至干。将粗产物通过硅胶色谱法(乙酸乙酯在环己烷中的梯度)纯化,得到所期望产物(2.67g)。^{1}H NMR(400MHz,dmso-d6):δ8.29(dd,1H),8.15(d,1H),7.79(d,1H),5.68(t,1H),5.45(t,1H),5.16(t,1H),5.02-5.07(m,2H),4.62(d,2H),4.55(d,1H),3.65(s,3H),1.98-2.07(m,9H).

[3184] 步骤4:甲基(2S,3S,4R,5S,6S)-3,4,5-三乙酰氧基-6-[2-[5-氨基-2-(羟基甲基)苯基]乙基]四氢吡喃-2-甲酸酯

[3185] 来自步骤3的产物(2.67g,5.41mmol)在THF(59mL)中的溶液用氩气冲洗。在添加铂碳5%干(1.34g,50%$^w/_w$)后,反应混合物依次用氩气和H_2冲洗,然后在室温在H_2气氛(1atm)下搅拌2天。将反应混合物通过Celite®垫过滤,用乙酸乙酯/甲醇9/1(500mL)的溶液洗涤,并浓缩至干。所有顺序(包括添加铂载碳5%干(1.34g,50%$^w/_w$),在H_2(1atm)下搅拌在室温16小时并通过Celite®垫过滤)重复进行以允许完全转化。将粗产物通过硅胶色谱法(乙酸乙酯在环己烷中的梯度)纯化,得到所期望产物(1.12g)。^{1}H NMR(400MHz,dmso-d6):δ6.93(d,1H).6.67-6.33(m,2H),5.30(t,1H),4.96(t,1H),4.88(s,2H),4.81(t,1H),4.61(t,1H),4.39(d,1H),4.29-4.24(m,2H),3.78-3.72(m,1H),3.65(s,3H),2.65-2.54(m,2H),2.07-1.98(m,9H),1.79-1.68(m,1H),1.63-1.52(m,1H).

[3186] 步骤5:甲基(2S,3S,4R,5S,6S)-3,4,5-三乙酰氧基-6-[2-[5-[[(2S)-2-(叔丁氧基羰基氨基)-5-脲基-戊酰基]氨基]-2-(羟基甲基)苯基]乙基]四氢吡喃-2-甲酸酯

[3187] 向来自步骤4的产物(1.00g,2.14mmol)在DMF(21mL)中的溶液中依次添加(2S)-2-(叔-丁氧基羰基氨基)-5-脲基-戊酸(Boc-Cit-OH)(589mg,2.14mmol)、DIPEA(707μl,4.28mmol)和HBTU(1.22g,3.21mmol)。将反应混合物在室温搅拌72小时。用水(100mL)稀释并浓缩后,粗产物通过硅胶色谱法(甲醇在二氯甲烷中的梯度)纯化,得到所期望产物(1.05g)。^{1}H NMR(400MHz,dmso-d6):δ9.82(s,1H),7.35-7.42(m,2H),7.24(d,1H),6.95(d,1H),5.94(t,1H),5.37(s,2H),5.30(t,1H),4.91-4.99(m,2H),4.79(t,1H),4.36-4.42(m,3H),4.01-4.08(m,1H),3.76(t,1H),3.65(s,3H),2.95-3.04(m,2H),2.54-2.65(m,2H),1.98-2.07(m,9H),1.68-1.79(m,1H),1.49-1.63(m,3H),1.30-1.42(m,11H).

[3188] 步骤6:甲基(2S,3S,4R,5S,6S)-3,4,5-三乙酰氧基-6-[2-[5-[[(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]-2-(羟基甲基)苯基]乙基]四氢吡喃-2-甲酸酯

[3189] 在0℃向来自步骤5的产物(950mg,1.31mmol)在二氯甲烷(7.5mL)中的溶液中添加三氟乙酸(1.9mL,25.6mmol)。在室温将该反应混合物搅拌3h。将反应混合物浓缩至干并与甲苯(2x50mL)共蒸发以提供粗化合物。向在DMF(13mL)中的该粗品溶液中依次添加(2S)-2-(9H-芴-9-基甲氧基羰基氨基)-3-甲基-丁酸(Fmoc-Val-OH)(467mg,1.38mmol)、DIPEA(867μl,5.24mmol)和HBTU(845mg,2.23mmol)。将反应混合物在室温搅拌16小时。添加饱和碳酸氢盐水溶液(20mL)并将混合物在室温搅拌1小时,用水(100mL)稀释并浓缩至干。将粗产物

通过硅胶色谱法(甲醇在二氯甲烷中的梯度)纯化,然后通过使用中性方法的反相C18色谱法纯化,得到所期望产物(680mg)。LC-MS:MS(ESI)m/z[M+H]$^+$=946.3.^{1}H NMR(400MHz,dmso-d6):δ9.90(s,1H).8.07(d,2H),7.89(d,2H),7.74(t,2H),7.44-7.38(m,3H),7.36-7.28(m,3H),7.24(d,1H),5.94(t,1H),5.37(s,2H),5.30(t,1H),4.99-4.92(m,2H),4.79(t,1H),4.42-4.36(m,4H),4.32-4.19(m,3H),3.94-3.90(m,1H),3.76(t,1H),3.65(s,3H),2.99-2.94(m,2H),2.65-2.54(m,2H),2.07-1.98(m,10H),1.70-1.55(m,4H),1.46-1.36(m,2H),0.89-0.84(m,6H).^{13}C NMR(100MHz,dmso-d6):δ171.19,170.33,169.58,169.45,169.27,167.77,158.81,156.12,143.89,143.76,140.69,139.48,137.54,134.88,128.44,127.62,127.06,125.35,120.08,119.42,116.65,75.78,74.61,72.65,71.20,69.49,65.68,60.49,60.10,53.14,52.40,46.68,32.32,30.43,29.54,27.19,26.77,20.39,20.34,20.24,19.22,18.25.

[3190] 步骤7:甲基(2S,3S,4R,5S,6S)-3,4,5-三乙酰氧基-6-[2-[2-(溴甲基)-5-[[(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]乙基]四氢吡喃-2-甲酸酯

[3191] 向来自步骤6的产物(154mg,0.163mmol)在THF(8.2mL)中的溶液中依次添加三苯基膦(85.4mg,0.326mmol)和1-溴吡咯烷-2,5-二酮(58.0mg,0.326mmol)。将反应混合物在室温搅拌2小时。5小时后,将三苯基膦(85.4mg,0.326mmol)和1-溴吡咯烷-2,5-二酮(58.0mg,0.326mmol)添加到混合物中,并将反应在室温搅拌15h。将由此获得的粗产物用于下一步骤。UPLC-MS:MS(ESI)m/z[M+OMe-Br+H]$^+$=960.7.

[3192] 步骤8:3-[4-[3-[2-[[6-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基]-甲基-氨基]-4-羧基-噻唑-5-基]丙氧基]-3-氟-苯基]丙-2-炔基-二甲基-[[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]-2-[2-[(2S,3S,4R,5S,6S)-3,4,5-三乙酰氧基-6-甲氧基羰基-四氢吡喃-2-基]乙基]苯基]甲基]铵;溴化物

[3193] 向来自步骤7的产物(207.63mg,206μmol)在DMF(5mL)中的溶液中依次添加2-[[6-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-5-甲基-哒嗪-3-基]-甲基-氨基]-5-[3-[4-[3-(二甲基氨基)丙-1-炔基]-2-氟代-苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸(P2)(100mg,158μmol)和DIPEA(135μL,792μmol)。将反应混合物在室温搅拌4小时。浓缩粗产物并在不进一步处理的情况下用于下一步骤(246mg)。

[3194] 步骤9:3-[4-[3-[2-[[6-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基]-甲基-氨基]-4-羧基-噻唑-5-基]丙氧基]-3-氟-苯基]丙-2-炔基-二甲基-[[2-2-[(2S,3R,4R,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基-四氢吡喃-2-基]乙基]-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]甲基]铵;2,2,2-三氟乙酸酯;2,2,2-三氟乙酸

[3195] 向来自步骤8的产物(246mg,158μmol)在二噁烷(2.0mL)中的溶液中添加氢氧化锂(39.7mg,946μmol)在水(2ml)中的溶液。反应完成后,添加1M HCl水溶液直至pH 6-7。使用C18反相制备型HPLC通过将反应混合物直接沉积在Xbridge®柱上并使用TFA方法纯化粗产物,得到预期化合物(68mg)。

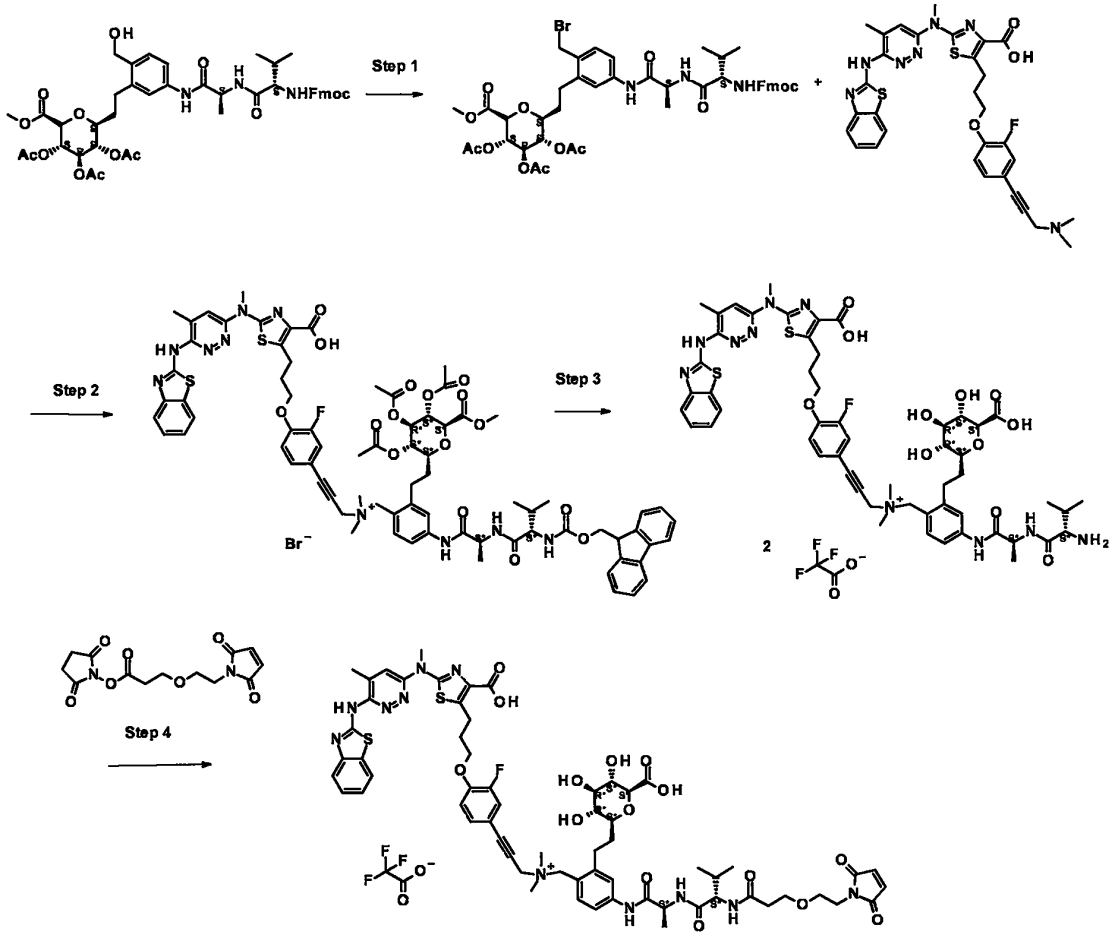
[3196] 步骤10:3-[4-[3-[2-[[6-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-5-甲基-哒嗪-3-基]-甲基-氨基]-4-羧基-噻唑-5-基]丙氧基]-3-氟-苯基]丙-2-炔基-二甲基-[[2-[2-[(2S,3R,4R,

5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基-四氢吡喃-2-基]乙基]-4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]苯基]甲基]铵;2,2,2-三氟乙酸酯

[3197] 向来自步骤9的产物(30mg,21.0μmol)在DMF(1.2mL)中的溶液中依次添加(2,5-二氧代吡咯烷-1-基)3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酸酯(12.8mg,41.3μmol)在DMF(500μL)和DIPEA(18.3μL,105μmol)中的溶液。将反应混合物在室温搅拌3小时。通过将反应混合物直接沉积在Xbridge®柱上并使用TFA方法使用C18反相制备型HPLC纯化粗产物,得到标题化合物(6.5mg)。HRMS(ESI)$[M-CF_3COO]^+$发现值=1392.5197(δ=0.7ppm).

[3198] 制备L106A-P2:3-[4-[3-[2-[[6-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-5-甲基-哒嗪-3-基]-甲基-氨基]-4-羧基-噻唑-5-基]丙氧基]-3-氟-苯基]丙-2-炔基-[[2-[2-[(2S,3R,4R,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基-四氢吡喃-2-基]乙基]-4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]丙酰基]氨基]苯基]甲基]]二甲基-铵;2,2,2-三氟乙酸酯

[3199]



[3200] 步骤1:甲基(3S,4R,5S,6S)-3,4,5-三乙酰氧基-6-[2-[2-(溴甲基)-5-[[(2S)-2-[[(2S)-2-(9H-芴-9-基甲氧基羰基氨基)-3-甲基-丁酰基]氨基]丙酰基]氨基]苯基]乙基]四氢吡喃-2-甲酸酯

[3201] 向甲基(3S,4R,5S,6S)-3,4,5-三乙酰氧基-6-[2-[5-[[(2S)-2-[[(2S)-2-(9H-芴-9-基甲氧基羰基氨基)-3-甲基-丁酰基]氨基]丙醇基]氨基]-2-(羟基甲基)苯基]乙基]四氢吡喃-2-甲酸酯(L106C-P7制备,步骤16)(255mg,297μmol)在THF(14mL)中的溶液中依

次添加三苯基膦(234mg,890μmol)和N-溴琥珀酰亚胺(158mg,890μmol)。将反应混合物在室温搅拌15小时。反应混合物不经任何处理用于下一步。

[3202] 步骤2:3-[4-[3-[2-[[6-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-5-甲基-哒嗪-3-基]-甲基-氨基]-4-羧基-噻唑-5-基]丙氧基]-3-氟-苯基]丙-2-炔基-二甲基-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-(9H-芴-9-基甲氧基羰基氨基)-3-甲基-丁酰基]氨基]丙酰基]氨基]-2-[2-[(2S,3S,4R,5S,6S)-3,4,5-三乙酰氧基-6-甲氧基羰基-四氢吡喃-2-基]乙基]苯基]甲基]铵;溴化物

[3203] 向来自步骤1的产物(297μmol)在THF的悬浮液中依次添加2-[[6-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-5-甲基-哒嗪-3-基]甲基-氨基]-5-[3-[4-[3-(二甲基氨基)丙-1-炔基]-2-氟代-苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸(P2)(140mg,222μmol)在DMF(3mL)和DIPEA(116μL,665μmol)中的溶液。将反应在室温搅拌60小时。将反应混合物蒸发至干,不经处理直接用于下一步骤。

[3204] 步骤3:3-[4-[3-[2-[[6-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-5-甲基-哒嗪-3-基]-甲基-氨基]-4-羧基-噻唑-5-基]丙氧基]-3-氟-苯基]丙-2-炔基-二甲基-[[2-[2-[(2S,3R,4R,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基-四氢吡喃-2-基]乙基]-4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-氨基-3-甲基-丁酰基]氨基]丙酰基]氨基]苯基]甲基]铵:2,2,2-三氟乙酸酯;2,2,2-三氟乙酸

[3205] 向来自步骤2的产物(222μmol)在二噁烷(2mL)中的溶液中添加LiOH.H_2O(218mg,5.20mmol)在水(2mL)中的溶液。将溶液在室温搅拌2小时。添加1M HCl水溶液直至pH 6-7。将反应混合物蒸发至干,并使用C18反相制备型HPLC通过将反应混合物直接沉积在Xbridge®柱上并使用TFA方法纯化粗产物,得到预期化合物(112mg)。IR:(v cm^{-1})3500-2500,2237,1667,1197/1180/1130.^1H NMR(400/500MHz,dmso-d6)δppm 12.55(m),10.35(s),8.65(d),8.1(大),7.89(d,1H),7.67(s,1H),7.66(dd,1H),7.53(df,1H),7.48(m,1H),7.4(m,1H),7.38(m,1H),7.27(m,1H),7.24(t,1H),7.2(dd,1H),7.19(m,1H),5.3-4.7(ml),4.64/4.54(2d,2H),4.51(br s,2H),4.5(m,1H),4.2(t,2H),3.78(s,3H),3.6(m,1H),3.5(d,1H),3.32(t,1H),3.28(t,1H),3.11(t,1H),3.1-2.9(m,4H),3.02(br s,6H),2.98(m,1H),2.48(s,3H),2.2-1.5(m,5H),1.38(d,3H),0.98(d,6H).

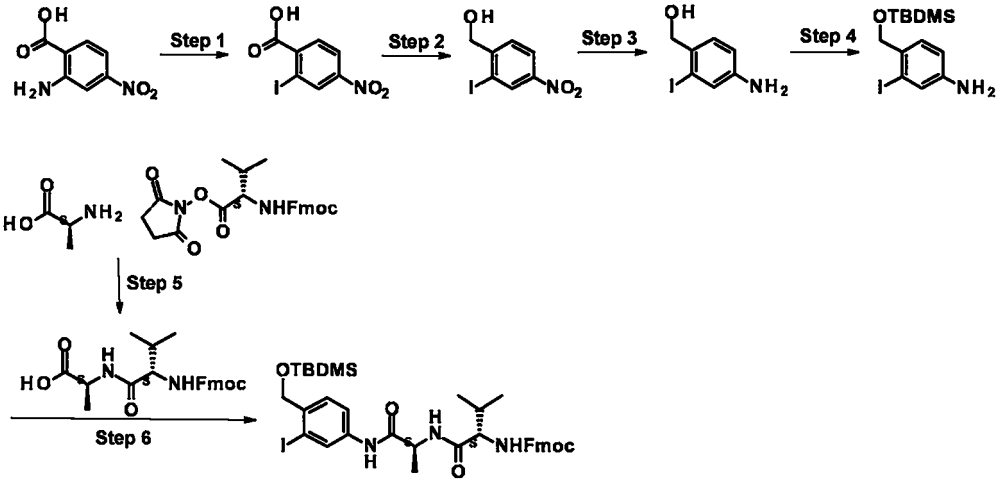
[3206] 步骤4:3-[4-[3-[2-[[6-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-5-甲基-哒嗪-3-基]-甲基-氨基]-4-羧基-噻唑-5-基]丙氧基]-3-氟-苯基]丙-2-炔基-二甲基-[[2-[2-[(2S,3R,4R,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基-四氢吡喃-2-基]乙基]-4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]丙酰基]氨基]苯基]甲基]铵;2,2,2-三氟乙酸酯

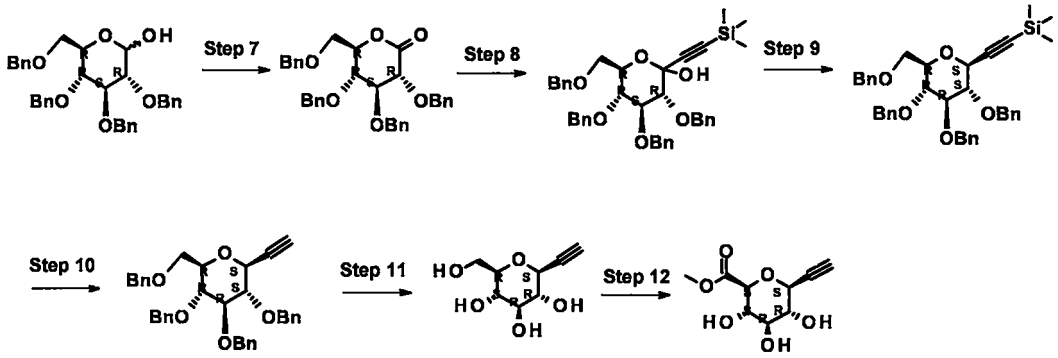
[3207] 向来自步骤3的产物(60mg,44.8μmol)在DMF(2.25mL)中的溶液中依次添加(2,5-二氧代吡咯烷-1-基)3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酸酯(20.9mg,67.2μmol)和DIPEA(23.4μL,134μmol)。将溶液在室温搅拌3小时。通过将反应混合物直接沉积在Xbridge®柱上并使用TFA方法使用C18反相制备型HPLC纯化粗产物,得到所期望产物(28.5mg)。IR:(v cm^{-1})3600-3100,2800-2200,2234,1705+1687+1614,1537.^1H NMR(400MHz,dmso-d6)δppm 12.5(m,2H),10.5/8.20/7.90(s+2d,3H),7.80(d,1H),7.68(2s,2H),7.60-7.40(m,4H),7.40(m,2H),7.20(2t,2H),7.00(s,2H),5.20-5.00(m,3H),4.62/4.53(2d,2H),4.50(s,2H),4.38(t,1H),4.20(t,4H),3.80(s,3H),3.60-3.00(m,10H),3.02(2s,6H),2.81(m,

2H),2.45(s,3H),2.42/2.30(2t,4H),2.15(m,2H),2.00(m,1H),1.95(m,2H),1.30(d,3H),0.89/0.82(2d,6H).HRMS(ESI)[M-CF_3CO_2]$^+$=1306.4715(δ=0.6ppm).

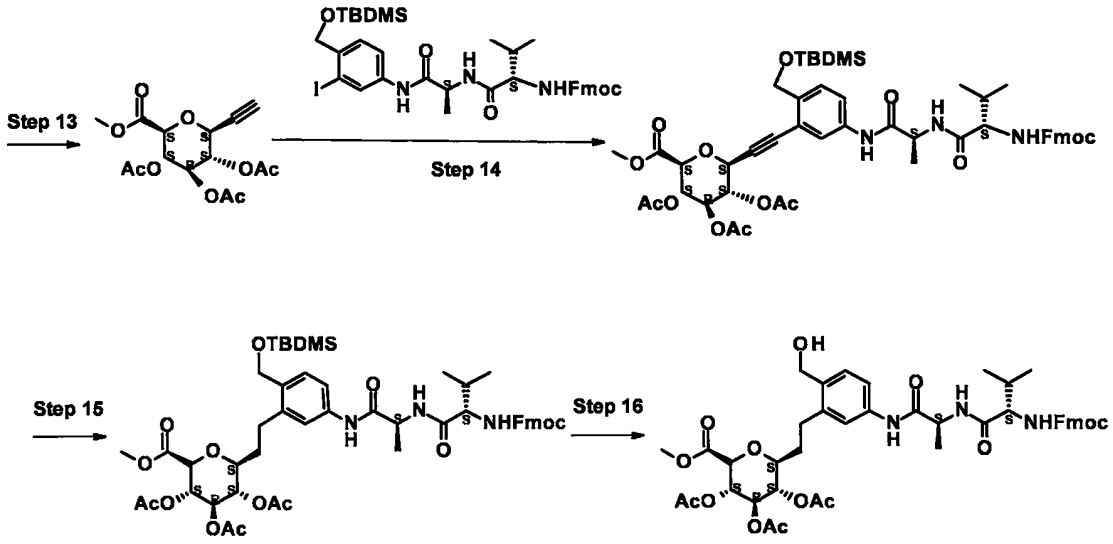
[3208] L106C-P7的制备:2-[[6-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基]-甲基-氨基]-5-[3-[4-[3-[[2-[2-[(2S,3R,4R,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基-四氢吡喃-2-基]乙基]-4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]丙酰基]氨基]苯基]甲氧基羰基-甲基-氨基]丙-1-炔基]-2-氟-苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸

[3209]

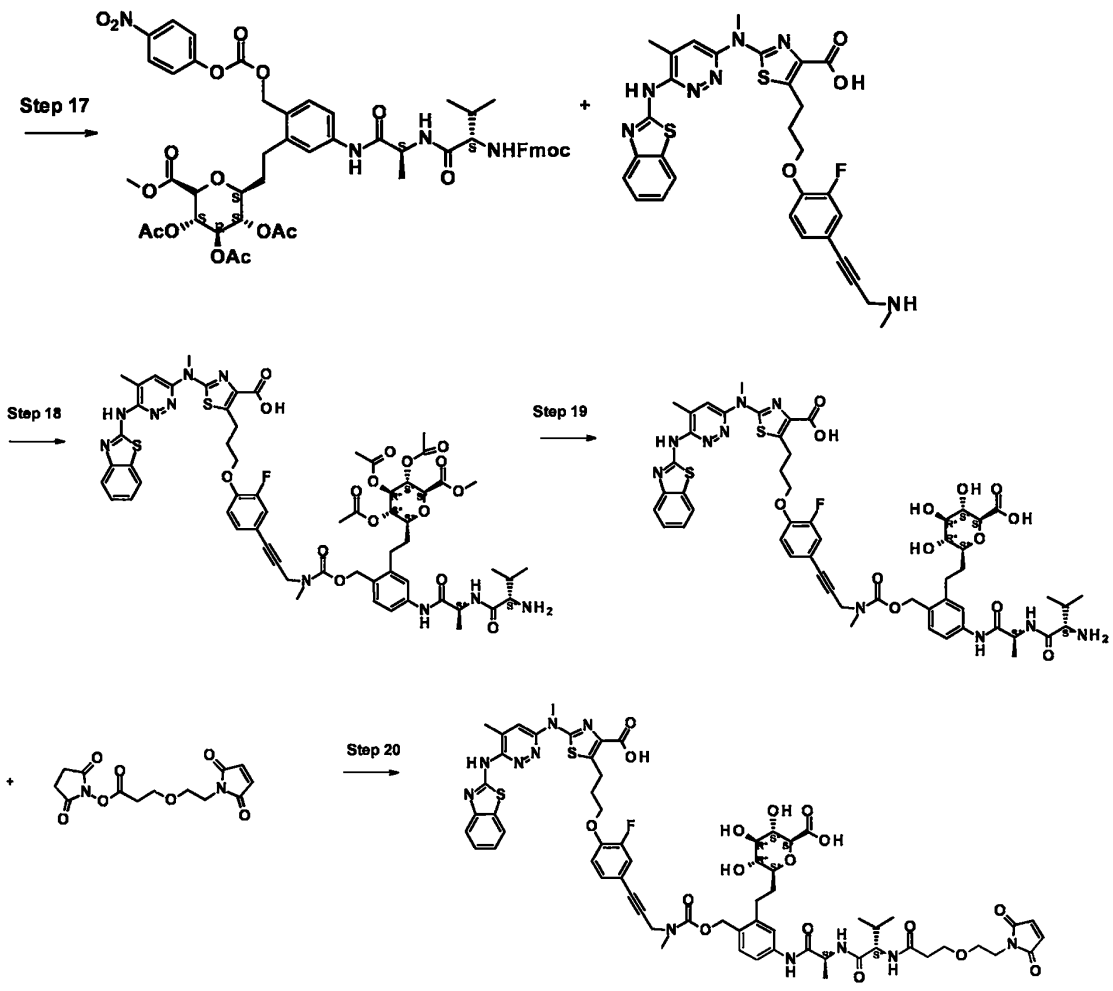




[3210]



[3211]



[3212] 步骤1:2-碘-4-硝基-苯甲酸

[3213] 向2-氨基-4-硝基-苯甲酸(10.0g,54.90mmol)在乙腈(280mL)中的溶液中添加p-甲苯磺酸一水合物(32.0g,168.2mmol)。将混合物在室温搅拌15分钟,然后在15分钟内滴加含有亚硝酸钠(8.00g,115.9mmol)和碘化钾(24.0g,144.6mmol)的水(140mL)溶液。将反应混合物搅拌19小时。反应完成后,将混合物用硫代硫酸钠(13.02g,82.36mmol)淬灭并用3M

氯化氢水溶液(25mL)酸化。将水层用乙酸乙酯(2x250mL)萃取,将合并的有机层用1M氯化氢水溶液(100mL)洗涤,经硫酸钠干燥,过滤并浓缩至干。将所得残余物吸收在二氯甲烷(1L)中并用1M Hcl水溶液(100mL)洗涤。将有机层经硫酸钠干燥,过滤并浓缩,得到所期望产物(15.0g)。^{1}H NMR(400MHz,dmso-d6):δ13.8(br s,1H),8.64(s,1H),8.27(d,1H),7.86(d,1H).

[3214] 步骤2:(2-碘-4-硝基-苯基)甲醇

[3215] 向来自步骤1的产物(5.0g,17.06mmol)在THF(70mL)中的溶液中添加硼烷在THF(85mL,85mmol)中的1M溶液。将反应混合物在65℃搅拌4小时。将反应混合物冷却至室温并通过加入甲醇(200mL)淬灭。将混合物在室温搅拌30分钟并浓缩至干。将粗产物通过硅胶色谱法(乙酸乙酯在环己烷中的梯度)纯化,得到所期望产物(3.38g)。^{1}H NMR(400MHz,dmso-d6):δ8.54(d,1H),8.29(dd,1H),7.70(d,1H),5.82(t,1H),4.47(d,2H).

[3216] 步骤3:(4-氨基-2-碘苯基)甲醇

[3217] 向来自步骤2的产物(3.70g,13.26mmol)在乙醇(100mL)和水(25mL)中的溶液中依次添加铁(3.70g,66.25mmol)和氯化铵(800mg,14.96mmol)。将反应混合物在80℃下搅拌3小时。将反应混合物用硅藻土过滤,用乙醇洗涤,并浓缩至干。将所得残余物溶解在乙酸乙酯(100mL)中并用饱和碳酸氢钠溶液(100mL)洗涤,用硫酸钠干燥,过滤并浓缩至干,得到所期望产物(2.48g)。^{1}H NMR(400MHz,dmso-d6):δ7.02-7.10(m,2H),6.57(d,1H),5.16(s,2H),4.97(t,1H),4.28(d,2H).

[3218] 步骤4:4-[[叔丁基(二甲基)甲硅烷基]氧基甲基]-3-碘-苯胺

[3219] 向来自步骤3的产物(3.51g,13.37mmol)在二氯甲烷(150mL)中的溶液中添加咪唑(0.95g,13.95mmol)。将混合物冷却至0℃并经15分钟滴加叔-丁基-氯-二甲基-硅烷(2.40mL,13.85mmol)在二氯甲烷(150mL)中的溶液。在室温搅拌16小时后,将反应混合物用甲醇(20mL)淬灭并浓缩。将粗产物通过硅胶色谱法纯化(梯度为乙酸乙酯的环己烷溶液),得到所期望产物(3.64g75%)。^{1}H NMR(400MHz,dmso-d6):δ7.05(s,1H),7.03(d,1H),6.55(d,1H),5.24(s,2H),4.46(s,2H),0.88(s,9H),0.06(s,6H).

[3220] 步骤5:(2S)-2-[[(2S)-2-(9H-芴-9-基甲氧基羰基氨基)-3-甲基-丁酰基]氨基]丙酸

[3221] 向(2S)-2-氨基丙酸(3.22g,36.09mmol)在水(90mL)中的溶液中依次添加碳酸钠(7.29g,68.74mmol)和(2,5-二氧代吡咯烷-1-基)(2S)-2-(9H-芴-9-基甲氧基羰基氨基)-3-甲基-丁酸甲酯(15.0g,34.37mmol)在二甲氧基乙烷(90mL)中的溶液。将反应混合物在室温搅拌16小时。用1M氯化氢水溶液将反应酸化至pH=1后,用乙酸乙酯(3x500mL)萃取水层。将合并的有机层干燥、浓缩并用二乙醚(50mL)研磨,得到所期望产物(11.25g)。^{1}H NMR(400MHz,dmso-d6)δ12.48(s,1H),8.21(d,1H),7.89(d,2H),7.72-7.79(m,2H),7.28-7.46(m,5H),4.15-4.32(m,4H),3.90(t,1H),1.90-2.02(m,1H),1.28(d,3H),0.86-0.90(m,6H).

[3222] 步骤6:9H-芴-9-基甲基N-[(1S)-1-[[(1S)-2-[4-[[叔丁基(二甲基)甲硅烷基]氧基甲基]-3-碘苯胺基]-1-甲基-2-氧代-乙基]氨基甲酰基]-2-甲基-丙基]氨基甲酸酯

[3223] 向来自步骤5的产物(1.50g,3.65mmol)在二氯甲烷(18mL)和甲醇(18mL)中的溶液中依次添加来自步骤4的产物(1.33g,3.65mmol)和乙基2-乙氧基-2H-喹啉-1-甲酸酯(EEDQ)(1.36g,5.48mmol)。悬浮液在室温搅拌16小时。浓缩后,将粗产物通过硅胶色谱(梯

度为乙酸乙酯/环己烷)然后通过C18色谱(梯度为甲醇/水)纯化,得到所期望产物(1.18g)。^{1}H NMR(400MHz,dmso-d6):δ10.05(s,1H).8.16-8.24(m,2H),7.88(d,2H),7.71-7.77(m,2H),7.55(d,1H),7.37-7.48(m,3H),7.27-7.37(m,3H),4.56(s,2H),4.38(t,1H),4.18-4.33(m,3H),3.91(t,1H),2.08-2.20(m,1H),1.30(d,3H),0.83-0.95(m,15H),0.06(s,6H).

[3224] 步骤7:(3R,4S,5R,6R)-3,4,5-三苄基氧基-6-(苄基氧基甲基)四氢吡喃-2-酮

[3225] 在室温将(3R,4S,5R,6R)-3,4,5-三苄基氧基-6-(苄基氧基甲基)四氢吡喃-2-醇(30.0g,55.49mmol)在DMSO(120mL)中的悬浮液搅拌30min并在室温逐滴用醋酸酐(90mL)经15min处理。将该溶液搅拌16h,冷却至0℃,并用氯化氢1M水溶液(100mL)处理。将反应混合物在室温搅拌20分钟并蒸发乙酸。将所得残余物用水(200mL)和乙酸乙酯(200mL)稀释。将水层用乙酸乙酯(2x200mL)萃取,将合并的有机层用水(2x500mL)和碳酸氢钠饱和溶液(2x500mL)洗涤,经硫酸钠干燥,过滤,浓缩,并通过硅胶色谱法(乙酸乙酯在环己烷中的梯度)纯化,得到所期望产物(25.05g)。^{1}H NMR(400MHz,dmso-d6):δ7.19-7.39(m,20H),4.85(d,1H),4.57-4.72(m,5H),4.46-4.56(m,3H),4.36(d,1H),3.98-4.05(m,1H),3.84-3.92(m,1H),3.65-3.76(m,2H).

[3226] 步骤8:(3R,4S,5R,6R)-3,4,5-三苄基氧基-6-(苄基氧基甲基)-2-(2-三甲基甲硅烷乙炔基)四氢吡喃-2-醇

[3227] 在-78℃在20min内向三甲基甲硅烷基乙炔(24mL,168.6mmol)在THF(325mL)中的溶液中添加丁基锂在己烷(59.41mL,148.5mmol)中的2.5M溶液。在-78℃将该溶液搅拌45min并在0℃搅拌45min。将该反应混合物冷却至-78℃并经45min逐滴添加来自步骤7的产物(25.0g,46.41mmol)在THF(325mL)中的溶液。在此温度将该反应混合物搅拌4h并用水淬灭(200mL)。水层用乙酸乙酯(2x200mL)萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥,过滤并浓缩至干至得到所期望产物(29.56g),为两种非对映异构体的混合物,比例为4/6。^{1}H NMR(400MHz,dmso-d6):δ7.13-7.43(m,20H),4.87-4.99(m,1H),4.65-4.83(m,4H),3.43-3.57(m,3H),3.70-3.85(m,2H),3.55-3.68(m,3H),3.43-3.53(m,2H),0.11-0.22(m,9H).

[3228] 步骤9:三甲基-[2-[(2S,3S,4R,5R,6R)-3,4,5-三苄基氧基-6-(苄基氧基甲基)四氢吡喃-2-基]乙炔基]硅烷

[3229] 在-15℃向来自步骤8的产物(29.56g,46.42mmol)在乙腈(83mL)和二氯甲烷(193mL)中的溶液在20min内添加三乙基硅烷(44.98mL,278.5mmol)在乙腈/二氯甲烷(37mL/18mL)混合物中的溶液及在30min内添加三氟化硼二乙醚(23.53mL,185.7mmol)在乙腈(37mL)中的溶液。在相同温度将该溶液搅拌5h并用水(500mL)稀释。水层用乙酸乙酯(2x500mL)萃取。合并的有机层经硫酸钠干燥,过滤并浓缩至干,得到所期望产物(28.82g)。^{1}H NMR(400MHz,dmso-d6):δ7.10-7.44(m,20H),4.93(d,1H),4.67-4.86(m,4H),4.43-4.57(m,3H),4.16-4.28(m,1H),3.42-3.68(m,6H),0.15(s,9H).

[3230] 步骤10:(2R,3R,4R,5S,6S)-3,4,5-三苄基氧基-2-(苄基氧基甲基)-6-乙炔基-四氢吡喃

[3231] 向来自步骤9的产物(28.80g,46.39mmol)在甲醇(1.12L)和二氯甲烷(240mL)中的溶液中添加氢氧化钠1M水溶液(80mL)。将溶液在室温搅拌1小时,用1M氯化氢水溶液酸化至pH=1,并用水(500mL)稀释。蒸发甲醇并用乙酸乙酯(2x1L)萃取水层。将合并的有机层经硫酸钠干燥,过滤,浓缩并通过硅胶色谱法(梯度为环己烷中的乙酸乙酯)纯化,得到所期望产

物(20.00g)。^{1}H NMR(400MHz,dmso-d6):δ3.42-3.67(m,7H),4.17(d,1H),4.44-4.56(m,3H),4.67-4.86(m,4H),4.90(d,1H),7.15-7.40(m,20H).

[3232] 步骤11:(2S,3R,4R,5S,6R)-2-乙炔基-6-(羟基甲基)四氢吡喃-3,4,5-triol

[3233] 在室温向来自步骤10的产物(20.00g,36.45mmol)在乙硫醇(400mL)中的溶液中经5min逐滴添加三氟化硼二乙醚(147.8mL,1166mmol)。在室温将该溶液搅拌16h,冷却至0℃,配备含饱和次氯酸钠水溶液的气阱,并在0℃用碳酸氢钠饱和水溶液(500mL)逐滴处理1h。浓缩至干后,粗产物通过硅胶色谱法纯化(梯度为甲醇的二氯甲烷溶液),以得到期望的产物(4.05g)。^{1}H NMR(400MHz,dmso-d6):δ5.28(d,1H),4.99(d,1H),4.91(d,1H),4.52(t,1H),3.77(d,1H),3.60-3.69(m,1H),3.35-3.43(m,1H),3.32(s,1H),2.97-3.13(m,4H).

[3234] 步骤12:甲基(2S,3S,4R,5R,6S)-6-乙炔基-3,4,5-三羟基四氢吡喃-2-甲酸酯

[3235] 向来自步骤11的产物(4.05g,21.52mmol)在碳酸氢钠(81mL)饱和水溶液和THF(81mL)中的溶液中添加(2,2,6,6-四甲基哌啶-1-基)氧基(TEMPO)(168mg,1.08mmol)。将悬浮液冷却至0℃,并在30分钟内分批加入1,3-二溴-5,5-二甲基-咪唑啉-2,4-二酮(12.31g,43.04mmol)。将反应混合物在0℃搅拌4小时并通过加入甲醇(40mL)淬灭。在此温度搅拌30分钟后,添加饱和碳酸钾水溶液(10mL)和二氯甲烷(100mL)。将有机层用水((2x200mL)萃取后,将合并的水层用3M氯化氢水溶液酸化至pH=1并浓缩至干。将残余物吸收在甲醇(100mL)和3M氯化氢水溶液(20mL)中。将混合物浓缩并与甲醇(4x100mL)共蒸发数次。将粗产物通过硅胶色谱法纯化(甲醇在二氯甲烷铈显色剂中的梯度)以得到所期望产物(3.00g)。^{1}H NMR(400MHz,dmso-d6):δ5.46(d,1H),5.32(d,1H),5.18(d,1H),3.93-4.00(m,1H),3.75(dd,1H),3.65(s,3H),3.40-3.44(m,1H),3.31(s,1H),3.09-3.19(m,2H).

[3236] 步骤13:甲基(2S,3S,4R,5S,6S)-3,4,5-三乙酰氧基-6-乙炔基-四氢吡喃-2-甲酸酯

[3237] 向来自步骤12的产物(3.00g,13.88mmol)在DMF(37.5mL)和吡啶(12.5mL)中的溶液中添加N,N-二甲基吡啶-4-胺(DMAP)(84.8mg,0.693mmol)。将反应混合物冷却至0℃并用乙酸酐(20.0mL,213mmol)在5分钟内逐滴处理。将溶液在室温搅拌3小时并用1M氯化氢水溶液(200mL)稀释。水层用乙酸乙酯(2x200mL)萃取。将合并的有机层用1M氯化氢水溶液(2x200mL)和饱和碳酸钾水溶液(200mL)洗涤,经硫酸钠干燥,过滤,浓缩并通过硅胶色谱法纯化(乙酸乙酯环己烷铈显色剂中的梯度)得到所期望产物(4.60g)。^{1}H NMR(400MHz,dmso-d6):δ5.33(t,1H),4.93-5.01(m,2H),4.70(d,1H),4.44(d,1H),3.67(s,1H),3.64(s,3H),2.02(s,3H),1.94-2.01(m,6H).

[3238] 步骤14:甲基(2S,3S,4R,5S,6S)-3,4,5-三乙酰氧基-6-[2-[2-[[叔丁基(二甲基)甲硅烷基]氧基甲基]-5-[[(2S)-2-[[(2S)-2-(9H-芴-9-基甲氧基羰基氨基)-3-甲基-丁酰基]氨基]丙酰基]氨基]苯基]乙炔基]四氢吡喃-2-甲酸酯

[3239] 向来自步骤13的产物(496mg,1.45mmol)在DMF(7.3mL)中的溶液中依次添加来自步骤6的产物(730mg,0.966mmol)、DIPEA(738μL,4.47mmol)、碘化亚铜(18.4mg,96.6mmol)和二氯代-双-(三苯基膦)钯(II)(67.8mg,96.6mmol)。将溶液用氩气冲洗并在室温搅拌16小时。用水(100mL)稀释后,水层用乙酸乙酯(2x100mL)萃取。将合并的有机层用水(2x200mL)和饱和氯化铵水溶液(2x200mL)洗涤,用硫酸钠干燥,过滤,浓缩,并通过硅胶色谱法(乙酸乙酯在环己烷中的梯度)得到所期望产物(782mg)。^{1}H NMR(400MHz,dmso-d6):δ

10.09(s,1H).8.20(d,1H),7.89(d,2H),7.70-7.78(m,3H),7.55(d,1H),7.32-7.46(m,4H),7.27-7.32(m,2H),5.41(t,1H),4.96-5.14(m,3H),4.67(s,2H),4.51(d,1H),4.36-4.44(m,1H),4.16-4.32(m,3H),3.88-3.95(m,1H),3.64(s,3H),1.94-2.07(m,10H),1.30(d,3H),0.84-0.93(m,15H),0.08(s,6H).

[3240] 步骤15:甲基(3S,4R,5S,6S)-3,4,5-三乙酰氧基-6-[2-[2-[[叔丁基(二甲基)甲硅烷基]氧基甲基]-5-[[(2S)-2-[[(2S)-2-(9H-芴-9-基甲氧基羰基氨基)-3-甲基-丁酰基]氨基]丙酰基]氨基]苯基]乙基]四氢吡喃-2-甲酸酯

[3241] 将来自步骤14的产物(750mg,0.773mmol)在THF(15mL)中的溶液用氩气冲洗,用干燥的5%碳载铂(75mg,50%$^{w}/_{w}$)处理,依次用氩气和H_2冲洗,并在室温在H_2气氛(1atm)下搅拌16h。将该反应混合物通过Celite®垫过滤,用THF清洗,并浓缩至干。完整顺序(包括添加干铂5%碳载(75mg,50%$^{w}/_{w}$),在H_2气氛(1atm)在室温处理16小时,并通过硅藻土垫过滤)再进行4次。将粗产物通过硅胶色谱法(乙酸乙酯在环己烷中的梯度)纯化,得到所期望产物(470mg)。^{1}H NMR(400MHz,dmso-d6):δ9.90(s,1H),8.16(d,1H),7.89(d,2H),7.70-7.78(m,2H),7.37-7.49(m,4H),7.27-7.32(m,3H),7.23(d,1H),5.29(t,1H),4.95(t,1H),4.78(t,1H),4.60(s,2H),4.34-4.44(m,2H),4.16-4.32(m,3H),3.88-3.95(m,1H),3.72-3.79(m,1H),3.64(s,3H),2.69-2.78(m,1H),2.50-2.60(m,1H),1.92-2.03(m,10H),1.55-1.75(m,2H),1.30(d,3H),0.84-0.93(m,15H),0.05(s,6H).

[3242] 步骤16:甲基(3S,4R,5S,6S)-3,4,5-三乙酰氧基-6-[2-[5-[[(2S)-2-[[(2S)-2-(9H-芴-9-基甲氧基羰基氨基)-3-甲基-丁酰基]氨基]丙酰基]氨基]-2-(羟基甲基)苯基]乙基]四氢吡喃-2-甲酸酯

[3243] 向来自步骤15的产物(470mg,0.483mmol)在THF(540μL)和水(540μL)中的溶液中添加乙酸(1.6mL,28.28mmol)。将溶液在室温搅拌16小时并用水(100mL)稀释。水层用乙酸乙酯(2x100mL)萃取。将合并的有机层用水(2x200mL)和饱和碳酸氢钠水溶液(200mL)洗涤,用硫酸钠干燥,过滤,浓缩,并通过硅胶色谱法(乙酸乙酯在环己烷中的梯度)得到所期望产物(354mg)。^{1}H NMR(400MHz,dmso-d6):δ9.87(s,1H),8.16(d,1H),7.89(d,2H),7.70-7.78(m,2H),7.37-7.50(m,4H),7.27-7.37(m,3H),7.25(d,1H),5.29(t,1H),4.91-4.98(m,2H),4.78(t,1H),4.34-4.44(m,4H),4.16-4.32(m,3H),3.88-3.95(m,1H),3.72-3.79(m,1H),3.64(s,3H),2.64-2.73(m,1H),2.50-2.60(m,1H),1.92-2.03(m,10H),1.69-1.79(m,1H),1.52-1.65(m,1H),1.30(d,3H),0.84-0.93(m,6H).

[3244] 步骤17:甲基(3S,4R,5S,6S)-3,4,5-三乙酰氧基-6-[2-[5-[[(2S)-2-[[(2S)-2-(9H-芴-9-基甲氧基羰基氨基)-3-甲基-丁酰基]氨基]丙酰基]氨基]-2-[(4-硝基苯氧基)羰基氧基甲基]苯基]乙基]四氢吡喃-2-甲酸酯

[3245] 向来自步骤16的产物(310mg,0.361mmol)在THF(7.75mL)中的溶液中依次添加吡啶(146μL,1.80mmol)和4-硝基苯基氯代碳酸酯(182mg,0.901mmol)。将悬浮液在室温搅拌16小时,浓缩,并通过硅胶色谱法(梯度为乙酸乙酯的二氯甲烷溶液)纯化,得到所期望产物(257mg)。^{1}H NMR(400MHz,dmso-d6):δ10.04(s,1H),8.31(d,2H),8.20(d,1H),7.89(d,2H),7.66-7.78(m,2H),7.56(d,2H),7.28-7.52(m,8H),5.31(t,1H),5.25(s,2H),4.96(t,1H),4.79(t,1H),4.40(d,2H),4.16-4.32(m,3H),3.88-3.95(m,1H),3.74-3.83(m,1H),3.61(s,3H),2.74-2.84(m,1H),2.60-2.71(m,1H),1.90-2.03(m,10H),1.72-1.83(m,1H),1.58-

1.71(m,1H),1.30(d,3H),0.82-0.94(m,6H).LC-MS:MS(ESI)m/z[M+Na]$^+$=1047.6.

[3246] 步骤18:2-[[6-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-5-甲基-哒嗪-3-基]-甲基-氨基]-5-[3-[2-氟-4-[3-[甲基-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-氨基-3-甲基-丁酰基]氨基]丙酰基]氨基]-2-[2-[(2S,3S,4R,5S,6S)-3,4,5-三乙酰氧基-6-甲氧基羰基-四氢吡喃-2-基]乙基]苯基]甲氧基羰基]氨基]丙-1-炔基]苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸

[3247] 向来自步骤17的产物(130mg,127μmol)在DMF(1.5mL)中的溶液中依次添加2-[[6-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-5-甲基-哒嗪-3-基]-甲基-氨基]-5-[3-[2-氟代-4-[3-(甲基氨基)丙-1-炔基]苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸(P7)(101mg,168μmol)在DMF(1.5mL)中的溶液和DIPEA(83μL,502μmol)。将反应混合物在室温下搅拌4小时。通过将反应混合物直接沉积在Xbridge®柱上并使用NH_4HCO_3方法使用C18反相制备型HPLC纯化粗产物,得到所期望产物(80mg)。

[3248] 步骤19:2-[[6-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-5-甲基-哒嗪-3-基]-甲基-氨基]-5-[3-[2-氟-4-[3-[甲基-[[2-[2-[(2S,3R,4R,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基-四氢吡喃-2-基]乙基]-4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-氨基-3-甲基-丁酰基]氨基]丙酰基]氨基]苯基]甲氧基羰基]氨基]丙-1-炔基]苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸

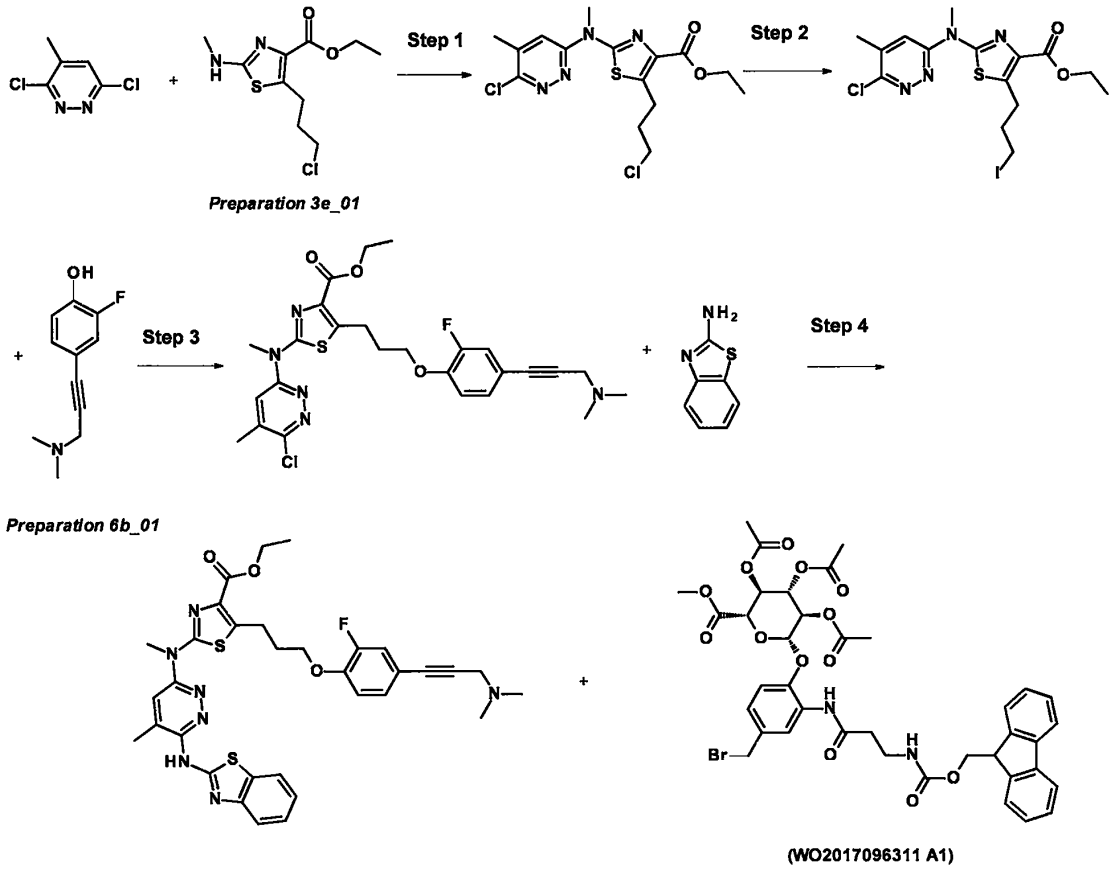
[3249] 向来自步骤18的产物(80mg,62.4μmol)在DMF(2.0mL)的溶液中添加在水(500μL)中的氢氧化锂一水合物(31.5mg,750μmol)。将反应混合物在室温搅拌2小时。通过将反应混合物直接沉积在Xbridge®柱上并使用NH_4HCO_3方法,使用C18反相制备型HPLC纯化粗产物,得到所期望产物(25mg)。

[3250] 步骤20:2-[[6-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-5-甲基-哒嗪-3-基]-甲基-氨基]-5-[3-[2-氟-4-[3-[甲基-[[2-[2-[(2S,3R,4R,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基-四氢吡喃-2-基]乙基]-4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]丙酰基]氨基]苯基]甲氧基羰基]氨基]丙-1-炔基]苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸

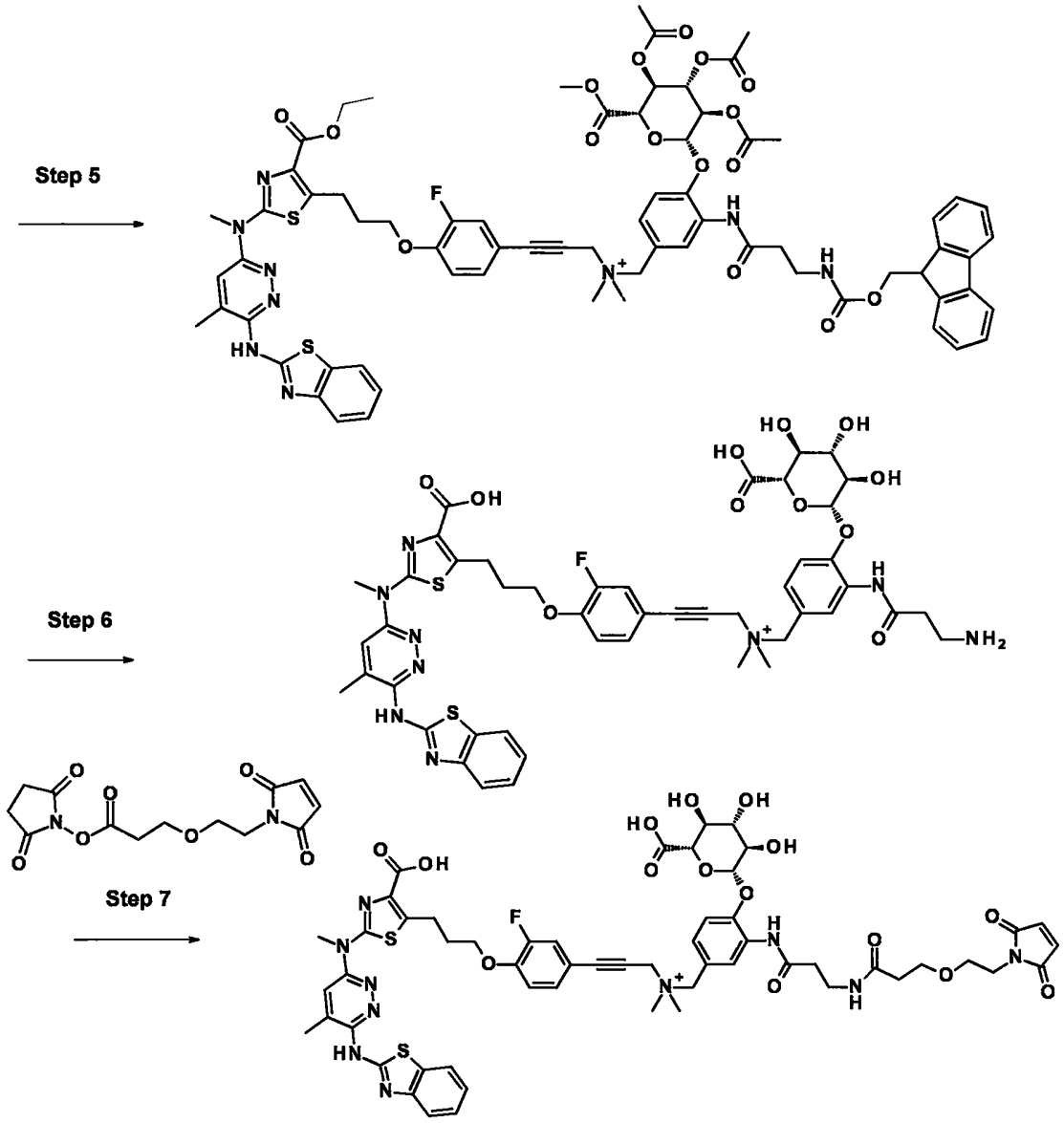
[3251] 向来自步骤19的产物(25mg,21.9μmol)在DMF(1mL)中的溶液中依次添加(2,5-二氧代吡咯烷-1-基)3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酸酯(11.1mg,32.9μmol)和DIPEA(5.4μL,32.9μmol)。将溶液在室温搅拌1小时。通过将反应混合物直接沉积在Xbridge®柱上并使用TFA方法使用C18反相制备型HPLC纯化粗产物,得到所期望产物(5mg)。HRMS(ESI)[M+H]$^+$发现值=1336.4453(δ=0.3ppm).

[3252] L108A-P2的制备:3-[4-[3-[2-[[6-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-5-甲基-哒嗪-3-基]-甲基-氨基]-4-羧基-噻唑-5-基]丙氧基]-3-氟-苯基]丙-2-炔基-[[4-[(2S3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基-四氢吡喃-2-基]氧基-3-[3-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]丙酰基氨基]苯基]甲基]-二甲基-铵;2,2,2-三氟乙酸酯

[3253]


Step 1
Step 2
Preparation 3e_01
Step 3
Step 4
Preparation 6b_01
(WO2017096311 A1)

[3254]



[3255] 步骤1:乙基2-[(6-氯-5-甲基-哒嗪-3-基)-甲基-氨基]-5-(3-氯丙基)噻唑-4-甲酸酯

[3256] 将乙基5-(3-氯代丙基)-2-(甲基氨基)噻唑-4-甲酸酯(来自制备3e_01,15.44g,58.5mmol)在THF(600mL)中的溶液冷却至0℃并在0℃经0.5h时间分批添加NaH(60%,在油中)(2.8g,70.6mmol)。将悬浮液在0℃下搅拌0.5小时。然后在0℃向该悬浮液滴加3,6-二氯-4-甲基-哒嗪(23.0g,141mmol)在THF(200mL)中的溶液。将反应混合物在室温搅拌15h,冷却至0℃,然后缓慢加入水(25mL)。将水层用AcOEt萃取3次,有机层经$MgSO_4$干燥。通过硅胶色谱法(AcOEt在石油醚中的梯度)纯化粗产物,得到所期望产物(7.0g,18.0μmol)。IR:(v cm^{-1})3450,1698,1203.^{1}H NMR(400MHz,dmso-d6)δppm 7.81(s,1H),4.3(quad,2H),3.78(s,3H),3.31(t,2H),3.2(m,2H),2.4(s,3H),2.12(quint,2H),1.31(t,3H).

[3257] 步骤2:乙基2-[(6-氯-5-甲基-哒嗪-3-基)-甲基-氨基]-5-(3-碘丙基)噻唑-4-甲酸酯

[3258] 向来自步骤1的产物(7.0g,18.0mmol)在丙酮(120mL)中的溶液中添加碘化钠(27g,178mmol)并将悬浮液加热回流(60℃)15h。在将反应混合物冷却至室温后,过滤沉淀

物，用丙酮清洗并将滤液蒸发至干。将所得黄色固体用乙醚研磨，过滤并在五氧化二磷(P_2O_5)上于35℃干燥48小时，得到所期望产物(7.6g,15.8mmol)，呈棕色固体。IR:(v cm^{-1})1703,1591.^{1}H NMR(400MHz,dmso-d6)δppm 7.82(df,1H),7.28(dd,1H),7.2(dd,1H),7.13(t,1H),4.26(q,2H),4.12(t,2H),3.77(s,3H),3.41(s,2H),3.26(t,2H),2.42(s,3H),2.22(s,6H),2.11(m,2H),1.29(t,3H).

[3259] 步骤3:乙基2-[(6-氯-5-甲基-哒嗪-3-基)-甲基-氨基]-5-[3-[4-[3-(二甲基氨基)丙-1-炔基]-2-氟-苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸酯

[3260] 向来自步骤2的产物(3.5g,7.28mmol)在THF(400mL)中的溶液中依次添加4-[3-(二甲基氨基)丙-1-炔基]-2-氟代-苯酚(来自制备6b_01,1.74g,8.74mmol)在THF(100mL)和碳酸铯(Cs_2CO_3)(4.73g,8.74mmol)中的溶液。将反应混合物在回流(70℃)下加热15小时。将反应混合物冷却至室温，倒入水(100mL)中并用AcOEt萃取3次。将有机层用盐水洗涤，经$MgSO_4$干燥并蒸发至干。将粗产物通过硅胶色谱法(甲醇在DCM中的梯度)纯化，得到所期望产物(2.40g,4.39mmol)。IR:(v cm^{-1})1698,^{1}H NMR(400/500MHz,dmso-d6)δppm 7.8(s,1H),4.3(quad,2H),3.8(s,3H),3.7(t,2H),3.2(m,2H),2.4(s,3H),2.1(quint,2H),1.3(t,3H).

[3261] 步骤4:乙基2-[[6-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-5-甲基-哒嗪-3-基]-甲基-氨基]-5-[3-[4-[3-(二甲基氨基)丙-1-炔基]-2-氟-苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸酯

[3262] 向来自步骤3的产物(961mg,1.76mmol)和1,3-苯并噻唑-2-胺(317mg,2.11mmol)在NMP(10mL)中的氩气饱和溶液中依次添加4,5-二(二苯基膦基)-9,9-二甲基氧杂蒽(Xantphos)(509mg,0.88mmol)和三(二苄基亚丙酮)二钯(0)($Pd_2(dba)_3$)(12.9mg,0.044mmol)。将反应混合物再次用氩气饱和15分钟，添加DIEPA(1mL,5.28mmol)并将反应混合物在150℃下搅拌15小时。将反应混合物冷却至室温，加入水，并将水相用DCM萃取数次。收集有机相，用盐水洗涤，用$MgSO_4$干燥并蒸发至干。将粗产物通过硅胶色谱法(甲醇在DCM中的梯度)纯化，得到所期望化合物(540mg,0.818mmol)。IR:(v cm^{-1})3700-2300,1706.^{1}H NMR(400MHz,dmso-d6)δppm 11.55(m,1H),7.91(d,1H),7.68(s,1H),7.53(d,1H),7.39(m,1H),7.3(dd,1H),7.26-7.13(m,3H),4.26(q,2H),4.15(t,2H),3.77(s,3H),3.4(s,2H),3.27(m,2H),2.46(s,3H),2.21(s,6H).

[3263] 步骤5:3-[4-[3-[2-[[6-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-5-甲基-哒嗪-3-基]-甲基-氨基]-4-羧基-噻唑-5-基]丙氧基]-3-氟-苯基]丙-2-炔基-[[3-[3-(9H-芴-9-基甲氧基羰基氨基)丙酰基氨基]-4-[(2S,3R,4S,5S,6S)-3,4,5-三乙酰氧基-6-甲氧基羰基-四氢吡喃-2-基]氧基-苯基]甲基]-二甲基-铵

[3264] 向来自步骤4的产物(75mg,0.119mmol)在DMF(2mL)中的溶液中添加DIPEA(40μL,0.237mmol)和甲基(2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-三乙酰氧基-6-[4-(溴甲基)-2-[3-(9H-芴-9-基甲氧基羰基氨基)丙醇基氨基]苯氧基]四氢吡喃-2-甲酸酯(WO2017096311A1,128mg,0.158mmol)，并在室温将该反应物搅拌2h。使用C18反相制备型HPLC通过将反应混合物直接沉积在Xbridge®柱上并使用TFA方法纯化粗产物以得到该期望的化合物(88mg,51％产率)。^{1}H NMR(400MHz,dmso-d6)δppm 8.9/8.2/7.35(2s+m,3H),7.9-7.2(m,11H),7.88(d,2H),7.68(d,2H),7.4/7.3(2t,4H),5.7(d,1H),5.52(t,1H),5.21(t,1H),5.1(t,1H),4.78(d,1H),4.52/4.4(2s,4H),4.3-4.15(m,7H),3.78(s,3H),3.62(s,3H),3.3(m,4H),3.08(s,6H),2.55(m,2H),2.48(s,3H),2.15(m,2H),2.01(3s,9H),1.3(t,3H).LCMS m/z＝660.

[3265] 步骤6:[3-(3-氨基丙酰基氨基)-4-[(2S,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基-四氢吡喃-2-基]氧基-苯基]甲基-[3-[4-[3-[2-[[6-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-5-甲基-哒嗪-3-基]-甲基-氨基]-4-羧基-噻唑-5-基]丙氧基]-3-氟-苯基]丙-2-炔基]-二甲基-铵

[3266] 向步骤5的产物(85mg,0.06mmol)在MeOH(4mL)中的溶液中添加LiOH二水合物(64mg,1.53mmol)并在室温将该反应物搅拌5h。将粗产物通过Porapack®使用NH_3/MeOH 7N作为洗脱剂纯化以得到期望的化合物(55mg,91%产率)。

[3267] 步骤7:3-[4-[3-[2-[[6-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-5-甲基-哒嗪-3-基]-甲基-氨基]-4-羧基-噻唑-5-基]丙氧基]-3-氟-苯基]丙-2-炔基-[[4-[(2S,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基-四氢吡喃-2-基]氧基-3-[3-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]丙酰基氨基]苯基]甲基]-二甲基-铵;2,2,2-三氟乙酸酯

[3268] 向步骤6的产物(50mg,0.05mmol)在DMF(6mL)中的溶液中依次添加DIPEA(30μL,0.179mmol)和(2,5-二氧代吡咯烷-1-基)3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酸酯(28mg,0.09mmol)。将溶液在室温搅拌1.5小时。通过将反应混合物直接沉积在Xbridge®柱上并使用TFA方法使用C18反相制备型HPLC纯化粗产物,得到所期望产物(15mg,20%产率)。^{1}H NMR(400MHz,dmso-d6)δppm 8.4(br s,1H),7.9(m,1H),7.7(br s,1H),7.6(dd,1H),7.5(dl,1H),7.45(dl,1H),7.4(td,1H),7.25(m,3H),7.2(t,1H),7(s,2H),5(d,1H),4.55/4.4(2br s,4H),4.2(t,2H),4(d,1H),3.8(s,3H),3.55(2t,4H),3.45(m,2H),3.45/3.4(2m,3H),3.35(m,2H),3.3(t,2H),3.1(br s,6H),2.6(t,2H),2.45(s,3H),2.15(t,2H),2.15(quint,2H).^{19}F NMR(400MHz,dmso-d6)δppm-133.8.HRMS(ESI)$[M-CF_3CO_2]^+$发现值=1195.3690(δ=2.5ppm)

[3269] 制备L107C-P7:2-[[6-(1,3-苯并噻唑-2基氨基)-5-甲基-哒嗪-3-基]-甲基-氨基]-5-[3-[4-[3-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-[3-(2,5-二氧代吡咯-1-基)丙酰基氨基]乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]丙酰基]氨基]苯基]甲氧基羰基-甲基-氨基]丙-1-炔基]-2-氟-苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸

[3270] 产物根据方法G通过替换2-[2-[2-(2-叠氮基乙氧基)乙氧基]乙氧基]乙酸用3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(2-叠氮基乙氧基)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]丙酸而合成。^{1}H NMR(400MHz,dmso-d6)δppm 12.55(br s,1H),11.5-10.8(diffus,1H),9.92(s,1H),8.16(d,1H),7.99(t,1H),7.9(diffus,1H),7.86(d,1H),7.67(br s,1H),7.64(diffus,1H),7.58(d,2H),7.38/7.2(2m,3H),7.35(m,1H),7.32(d,2H),7.15(t,1H),7(s,2H),5.03(s,2H),4.39(quint,1H),4.28(s,2H),4.2(dd,1H),4.15(t,2H),3.77(s,3H),3.59(t,4H),3.5(m,44H),3.36(t,2H),3.28(t,2H),3.14(quad,2H),2.9(s,3H),2.49(s,3H),2.45/2.33(2t,4H),2.13(quint,2H),1.96(oct,1H),1.3(d,3H),0.87/0.83(2d,6H).HRMS(ESI)$[M+H]^+$发现值=1687.7071(δ=0).

[3271] 制备L107A-P2:3-[4-[3-[2-[[6-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-5-甲基-哒嗪-3-基]-甲基-氨基]-4-羧基-噻唑-5-基]丙氧基]-3-氟-苯基]丙-2-炔基-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-[3-(2,5-二氧代吡咯-1-基)丙酰基氨基]乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]丙酰基]氨基]苯基]甲基]-二甲基-铵;2,2,2-三氟乙酸酯

[3272] 使用方法A获得期望的产物。(2S)-2-氨基-N-[(1S)-2-[4-(羟基甲基)苯胺基]-1-

甲基-2-氧代-乙基]-3-甲基-丁酰胺和(2,5-二氧代吡咯烷-1-基)3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[3-(2,5-二氧代吡咯-1-基)丙醇基氨基]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]丙酸酯被用于步骤1,P2在步骤3中用作合适的有效负载。^{1}H NMR(400MHz,dmso-d6)δppm 10.2(s),8.23(d),7.99(t),7.89(大,1H),7.85(d),7.76(d,2H),7.67(s,1H),7.56(d,1H),7.5(d,2H),7.4(t,1H),7.38(m,2H),7.24(t,1H),7.2(t,1H),6.99(s,2H),4.55(s,2H),4.41(s,2H),4.39(m,1H),4.2(m,1H),4.19(m,2H),3.77(s,3H),3.65-3.33(m,24H),3.59(m,2H),3.29(t,2H),3.14(quad,2H),3.05(s,6H),2.46(s,3H),2.39(m,2H),2.33(t,2H),2.15(m,2H),1.96(m,1H),1.32(d,3H),0.89/0.84(2d,6H).^{13}C NMR(400MHz,dmso-d6)δppm 134.7,134.2,126,122.9,122.2,119.8,119.7,119.4,118.3,115.5,70.4/69.2/67.2,69,66.8,58.1,53.9,49.9,49.9/40.4,39,36.4,35.4,34.6,34.6,31.1,31.1,23.6,20.1,18.2,18.1.HRMS(ESI)$[M+H]^+$发现值＝1657.7339(δ＝0.4).

[3273] 制备L9C-P59:2-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-5-[3-[4-[3-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]苯基]甲氧基羰基-(3-羟基丙基)氨基]丙-1-炔基]-2-氟-苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸

[3274] 使用方法C和P59作为适当的负载,获得了所期望的产物。HRMS(ESI)[M+H]+发现值＝1288.4656(δ＝-4.5ppm).

[3275] 制备L9C-P3:2-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-5-[3-[4-[3-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]苯基]甲氧基羰基-甲基-氨基]丙-1-炔基]-2-氟-苯氧基]丙基]噻唑-4-甲酸

[3276] 使用方法C和P3作为适当的负载,获得了所期望的产物。HRMS(ESI)[M+H]+发现值＝1244.4473(δ＝1.7ppm).

[3277] 制备L9C-P60:6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[(5SR,7RS)-3-[2-[[(3S)-3,4-二羟基丁基]-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]苯基]甲氧基羰基]氨基]乙氧基]-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸

[3278] 使用方法C和P60作为适当的负载,获得了所期望的产物。HRMS(ES)[M+H]+发现值＝1394.6300(δ＝-3.6ppm).

[3279] 制备L9A-P61:6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[(5RS,7SR)-3-[2-[1-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]苯基]甲基]吡咯烷-1-鎓-1-基]乙氧基]-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸;2,2,2-三氟乙酸酯

[3280] 使用方法A和P61作为适当的负载,获得了所期望的产物。HRMS(ESI)[M]+发现值＝1316.6347(δ＝-3.8ppm).

[3281] 制备L9A-P62:2-[[(5RS,7SR)-3-[[4-[6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-

6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-2-羧基-3-吡啶基]-5-甲基-吡唑-1-基]甲基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]氧基]乙基-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]苯基]甲基]-(3-羟基丙基)-甲基-铵;2,2,2-三氟乙酸酯

[3282] 使用方法B和P62作为适当的负载,获得了所期望的产物。HRMS(ESI)[M]+发现值＝1362.6748(δ＝-5.0ppm).

[3283] 制备L9A-P63:3-[1-[[(5SR,7RS)-3-[2-[1-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]苯基]甲基]吡咯烷-1-鎓-1-基]乙氧基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]-6-[3-[(5-氟-1,3-苯并噻唑-2-基)氨基]-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]吡啶-2-甲酸;2,2,2-三氟乙酸酯

[3284] 使用方法A和P63作为适当的负载,获得了所期望的产物。HRMS(ESI)[M]+发现值＝1362.6585(δ＝-2.3ppm).

[3285] 制备L9A-P64:3-[1-[[(5RS,7SR)-3-[2-[1-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]苯基]甲基]吡咯烷-1-鎓-1-基]乙氧基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]-6-[4-甲基-3-[(6-甲基-1,3-苯并噻唑-2-基)氨基]-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]吡啶-2-甲酸;2,2,2-三氟乙酸酯

[3286] 使用方法A和P64作为适当的负载,获得了所期望的产物。HRMS(ESI)[M]+发现值＝1358.6809(δ＝-4.3ppm).

[3287] 制备L9A-P65:3-[1-[[(5SR,7RS)-3-[2-[1-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]苯基]甲基]吡咯烷-1-鎓-1-基]乙氧基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]-6-[3-[(6-氟-1,3-苯并噻唑-2-基)氨基]-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]吡啶-2-甲酸;2,2,2-三氟乙酸酯

[3288] 使用方法A和P65作为适当的负载,获得了所期望的产物。HRMS(ESI)[M]+发现值＝1362.6557(δ＝-4.3ppm).

[3289] 制备L9A-P66:3-[(5RS,7SR)-3-[[4-[6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-2-羧基-3-吡啶基]-5-甲基-吡唑-1-基]甲基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]丙基-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]苯基]甲基]-二甲基-铵;2,2,2-三氟乙酸酯

[3290] 使用方法A和P66作为适当的负载,获得了所期望的产物。HRMS(ESI)[M]+发现值＝1316.6703(δ＝-4.4ppm).

[3291] 制备L9A-P67:6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[(5RS,7SR)-3-[2-[4-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]苯基]甲基]-4-甲基-哌嗪-4-鎓-1-基]乙氧基]-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸;2,2,2-三氟乙酸酯

[3292] 使用方法A和P67作为适当的负载,获得了所期望的产物。HRMS(ESI)[M]+发现值＝1345.6582(δ＝-6.0ppm).

[3293] 制备L9A-P68:3-[(5RS,7SR)-3-[[4-[6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-2-羧基-3-吡啶基]-5-甲基-吡唑-1-基]甲基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]丙基-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]苯基]甲基]-(3-羟基丙基)-甲基-铵;2,2,2-三氟乙酸酯

[3294] 使用方法A和P68作为适当的负载,获得了所期望的产物。HRMS(ESI)[M]+发现值＝1360.6941(δ＝-6.0ppm).

[3295] 制备L9C-P69:6-[3-(1,3苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[(5RS,7SR)-3-[3-[[(3S)-3,4-二羟基丁基]-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]苯基]甲氧基羰基]氨基]丙基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸

[3296] 使用方法C和P69作为适当的负载,获得了所期望的产物。HRMS(ESI)[M+H]+发现值＝1420.6913(δ＝3.0ppm).

[3297] 制备L9A-P48:2-[[(5SR,7RS)-3-[[4-[6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-2-羧基-3-吡啶基]-5-甲基-吡唑-1-基]甲基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]氧基]乙基-(羧基甲基)-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]苯基]甲基]-甲基-铵;2,2,2-三氟乙酸酯

[3298] 使用方法A和P48作为适当的负载,获得了所期望的产物。HRMS(ESI)[M]+发现值＝1362.6399(δ＝-3.9ppm).

[3299] 制备L9A-P70:2-[[(5RS,7SR)-3-[[4-[6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-2-羧基-3-吡啶基]-5-甲基-吡唑-1-基]甲基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]氧基]乙基-(2-羧基乙基)-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]苯基]甲基]-甲基-铵;2,2,2-三氟乙酸酯

[3300] 使用方法A和P70作为适当的负载,获得了所期望的产物。HRMS(ESI)[M]+发现值＝1376.6548(δ＝-4.4ppm).

[3301] 制备L9C-P71:6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[(5SR,7RS)-3-[2-[2-羧基乙基-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]苯基]甲氧基羰基]氨基]乙氧基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸

[3302] 使用方法C和P71作为适当的负载,获得了所期望的产物。HRMS(ESI)[M+H]+发现值＝1406.6280(δ＝-5.0ppm).

[3303] 制备L9C-P72:6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[(5RS,7SR)-3-[3-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代

吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]苯基]甲氧基羰基-(4-羟基丁基)氨基]丙基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸

[3304] 使用方法C和P72作为适当的负载,获得了所期望的产物。HRMS(ESI)[M+H]+计算值=1404.6927

[3305] 制备L9A-P49:3-[(5SR,7RS)-3-[[4-[6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-2-羧基-3-吡啶基]-5-甲基-吡唑-1-基]甲基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]丙基-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]苯基]甲基]-(2-羟基乙基)-甲基-铵;2,2,2-三氟乙酸酯

[3306] 使用方法A和P49作为适当的负载,获得了所期望的产物。HRMS(ESI)[M]+发现值=1346.6794(δ=-5.4ppm).

[3307] 制备L9C-P51:6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[(5SR,7RS)-3-[3-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]苯基]甲氧基羰基-(3-甲氧基丙基)氨基]丙基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸

[3308] 使用方法C和P51作为适当的负载,获得了所期望的产物。HRMS(ESI)[M+H]+发现值=1404.6889(δ=-2.3ppm).

[3309] 制备L9A-P50:3-[(5SR,7RS)-3-[[4-[6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-2-羧基-3-吡啶基]-5-甲基-吡唑-1-基]甲基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]丙基-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]苯基]甲基]-(3-甲氧基丙基)-甲基-铵;2,2,2-三氟乙酸酯

[3310] 使用方法A和P50作为适当的负载,获得了所期望的产物。HRMS(ESI)[M]+发现值=1374.7111(δ=-5.0ppm).

[3311] 制备L9A-P52:6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[(5RS,7SR)-3-[3-[1-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]苯基]甲基]氮杂环庚烷-1-鎓-1-基]丙基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸;2,2,2-三氟乙酸酯

[3312] 使用方法A和P52作为适当的负载,获得了所期望的产物。HRMS(ESI)[M]+发现值=1370.7281(δ=3.7ppm).

[3313] 制备L9C-P53:6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[(5SR,7RS)-3-[3-[羧基甲基-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]苯基]甲氧基羰基]氨基]丙基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸

[3314] 使用方法C和P53作为适当的负载,获得了所期望的产物。HRMS(ESI)[M+H]+发现值

＝1390.6301(δ＝-7.2ppm).

[3315] 制备L9A-P55:3-[(5RS,7SR)-3-[[4-[6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-2-羧基-3-吡啶基]-5-甲基-吡唑-1-基]甲基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]丙基-(羧基甲基)-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]苯基]甲基]-甲基-铵;2,2,2-三氟乙酸酯

[3316] 使用方法A和P55作为适当的负载,获得了所期望的产物。HRMS(ESI)[M]+发现值＝1360.6561(δ＝-7.2ppm).

[3317] 制备L9C-P54:6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[(5SR,7RS)-3-[3-[2-羧基乙基-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]苯基]甲氧基羰基]氨基]丙基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸

[3318] 使用方法C和P54作为适当的负载,获得了所期望的产物。HRMS(ES)[M+H]+发现值＝1404.6464(δ＝-6.7ppm).

[3319] 制备L9C-P47:6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[(5SR,7RS)-3-[2-[羧基甲基-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]苯基]甲氧基羰基]氨基]乙氧基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸

[3320] 使用方法C和P47作为适当的负载,获得了所期望的产物。HRMS(ESI)[M+H]+发现值＝1392.6186(δ＝-0.6ppm).

[3321] 制备L9A-P56:3-[(5RS,7SR)-3-[[4-[6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-2-羧基-3-吡啶基]-5-甲基-吡唑-1-基]甲基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]丙基-(2-羧基乙基)-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]苯基]甲基]-甲基-铵;2,2,2-三氟乙酸酯

[3322] 使用方法A和P56作为适当的负载,获得了所期望的产物。HRMS(ESI)[M]+发现值＝1374.6740(δ＝-5.5ppm).

[3323] 制备L9A-P58:3-[(5RS,7SR)-3-[[4-[6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-2-羧基-3-吡啶基]-5-甲基-吡唑-1-基]甲基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]丙基-(3-羧基丙基)-[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]苯基]甲基]-甲基-铵;2,2,2-三氟乙酸酯

[3324] 使用方法A和P58作为适当的负载,获得了所期望的产物。HRMS(ESI)[M]+发现值＝1388.6891(δ＝-5.9ppm).

[3325] 制备L9A-P57:2-[[(5SR,7RS)-3-[[4-[6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-2-羧基-3-吡啶基]-5-甲基-吡唑-1-基]甲基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]氧基]乙基-(3-羧基丙基)-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,

5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]苯基]甲基]-甲基-铵;2,2,2-三氟乙酸酯

[3326] 使用方法A和P57作为适当的负载,获得了所期望的产物。HRMS(ESI)[M]+发现值＝1390.6692(δ＝-5.3ppm).

[3327] L9A-P73的制备:(2S)-N-[4-[[1-[2-[[3-[[4-[6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-2-(羟基甲基)-3-吡啶基]-5-甲基-吡唑-1-基]甲基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]氧基]乙基]吡咯烷-1-鎓-1-基]甲基]苯基]-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰胺;2,2,2-三氟乙酸酯

[3328] 使用方法B和P73作为适当的负载,获得了所期望的产物。HRMS(ESI)[M]+发现值＝1330.6754(δ＝-12.3ppm).

[3329] L9A-P74的制备:(2S)-N-[4-[[1-[2-[[3-[[4-[6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-2-(吡咯烷-1-羰基)-3-吡啶基]-5-甲基-吡唑-1-基]甲基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]氧基]乙基]吡咯烷-1-鎓-1-基]甲基]苯基]-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰胺;2,2,2-三氟乙酸酯

[3330] 使用方法B和P74作为适当的负载,获得了所期望的产物。HRMS(ESI)[M]+发现值＝1397.7343(δ＝0.2ppm).

[3331] 制备L9A-P75:6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[3-[2-[1-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]苯基]甲基]吡咯烷-1-鎓-1-基]乙氧基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]-N-异丙基-吡啶-2-甲酰胺;2,2,2-三氟乙酸酯

[3332] 使用方法B和P75作为适当的负载,获得了所期望的产物。HRMS(ESI)[M]+发现值＝1385.7328(δ＝-0.8ppm).

[3333] 制备L9A-P76:6-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-3-[1-[[3-[2-[1-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]苯基]甲基]吡咯烷-1-鎓-1-基]乙氧基]-5,7-二甲基-1-金刚烷基]甲基]-5-甲基-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酰胺;2,2,2-三氟乙酸酯

[3334] 使用方法B和P76作为适当的负载,获得了所期望的产物。HRMS(ESI)[M]+发现值＝1343.6874(δ＝0.3ppm).

[3335] 制备L112A-P1:3-[4-[3-[2-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-4-羧基-噻唑-5-基]丙氧基]-3-氟-苯基]丙-2-炔基-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]-2-[3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(2-甲氧基乙氧基)乙氧基]丙基]苯基]甲基]二甲基铵;

2,2,2-三氟乙酸酯

[3336] 步骤A:9H-芴-9-基甲基N-[(1S)-1-[[(1S)-1-[[4-(羟基甲基)-3-[3-[2-[2-[2-[2-2-[2-2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(2-甲氧基乙氧基)乙氧基]丙基]苯基]氨基甲酰基]-4-脲基-丁基]氨基甲酰基]-2-甲基-丙基]氨基甲酸酯

[3337] 根据WO2020/236817A2中所述的实验程序合成标题化合物,使用2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(2-甲氧基乙氧基)乙氧基]乙醇作为起始物料制备L26-P1。^{1}H NMR(400MHz,dmso-d6):δ9.88(S,1H),8.07(d,1H),7.89(d,2H),7.72-7.76(m,2H),7.37-7.45(m,5H),7.30-7.34(m,2H),7.25(d,1H),5.95(t,1H),5.38(s,2H),4.95(t,1H),4.45(d,2H),4.38-4.42(m,1H),4.20-4.32(m,3H),3.90-3.94(m,1H),3.45-3.55(m,94H),3.38-3.43(m,4H),3.23(s,3H),2.89-3.03(m,2H),2.56-2.62(m,2H),1.94-2.04(m,1H),1.54-1.76(m,4H),1.29-1.49(m,2H),0.84-0.89(m,6H).UPLC-MS:MS(ESI)m/z[M/2+Na]+发现值=888.

[3338] 步骤B:9H-芴-9-基甲基N-[(1S)-1-[[(1S)-1-[[4-(氯甲基)-3-[3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(2-甲氧基乙氧基)乙氧基]丙基]苯基]氨基甲酰基]-4-脲基-丁基]氨基甲酰基]-2-甲基-丙基]氨基甲酸酯

[3339] 每10分钟向在THF(0.7ml)中的来自步骤A的产物(50mg,0.0288mmol)中添加当量的硫酰氯(0.35M溶液,在THF中),直到观察不到起始物料。浓缩混合物,粗产物不经进一步纯化用于下一步。

[3340] 步骤C:9H-芴-9-基甲基N-[(1S)-1-[[(1S)-1-[[4-(碘甲基)-3-[3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-12-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(2-甲氧基乙氧基)乙氧基]丙基]苯基]氨基甲酰基]-4-脲基-丁基]氨基甲酰基]-2-甲基-丙基]氨基甲酸酯

[3341] 步骤B的产物(44mg,0.025mmol)和碘化钠(2当量)在丁烷-2-酮(30mL/mmol)中的混合物搅拌5小时后,将反应浓缩并且粗产物不经进一步纯化用于下一步骤。

[3342] 步骤D:3-[4-[3-[2-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-4-羧基-噻唑-5-基]丙氧基]-3-氟-苯基]丙-2-炔基-[[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]-2-[3-[2-2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(2-甲氧基乙氧基)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]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]丙基]苯基]甲基]-二甲基-铵

[3343] 搅拌负载P1(15mg,0.023mmol)、步骤C的产物(46.18mg,0.025mmol)和DIPEA(5当

量)在DMF(0.7mL)的混合物44小时后,将粗产物浓缩并用于下一步而无需进一步纯化。

[3344] 步骤E:[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-氨基-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]-2-[3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(2-甲氧基乙氧基)乙氧基]丙基]苯基]甲基-[3-[4-[3-[2-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-4-羧基-噻唑-5-基]丙氧基]-3-氟-苯基]丙-2-炔基]-二甲基-铵

[3345] 步骤D的产物(54mg,0.023mmol)和N-乙基乙胺(10当量)在DMF(0.7mL)中的混合物搅拌1小时后,粗产物通过制备型HPLC纯化,得到所期望化合物(22mg)。UPLC-MS:MS(ESI)m/z[(M+2)/2]发现值=1075.

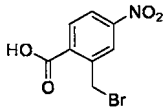
[3346] 步骤F:3-[4-[3-[2-[3-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢-5H-吡啶并[2,3-c]哒嗪-8-基]-4-羧基-噻唑-5-基]丙氧基]-3-氟-苯基]丙-2-炔基-[[4-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酰基氨基]-3-甲基-丁酰基]氨基]-5-脲基-戊酰基]氨基]-2-[3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(2-甲氧基乙氧基)乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]丙基]苯基]甲基]-二甲基-铵;2,2,2-三氟乙酸酯

[3347] 将来自步骤E的产物(22mg,0.0097mmol)、DIEA(2当量)和(2,5-二氧代吡咯烷-1-基)3-[2-(2,5-二氧代吡咯-1-基)乙氧基]丙酸酯(1.1当量)在DMF(0.3mL)的混合物搅拌15h后,将粗产物使用制备型HPLC及使用TFA方法纯化以得到L112A-P1(5.5mg)。HR-ESI+:m/z[M-CF3COO]+发现值=2344.

[3348] 实施例4.另外的接头、接头-负载及其前体的合成和表征。

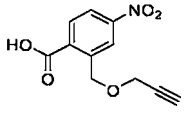
[3349] 使用本实施例中描述的示例性方法合成示例性接头、接头-负载及其前体。

[3350] 合成2-(溴甲基)-4-硝基苯甲酸

[3351] 

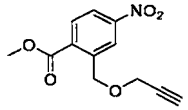
[3352] 在室温向2-甲基-4-硝基苯甲酸(300g,1.5371mol)在CCl_4(3000mL)中的搅拌溶液中添加NBS(300.93g,1.6908mol)和AIBN(37.86g,0.2305mol)。将反应混合物在80℃下搅拌16小时。通过TLC分析监测反应混合物。将反应混合物用饱和$NaHCO_3$溶液(2L)稀释并用乙酸乙酯(2x2L)萃取。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥并减压浓缩。将粗化合物通过硅胶柱色谱法使用在石油醚中的2-3%的乙酸乙酯作为洗脱剂纯化,并获得2-(溴甲基)-4-硝基苯甲酸。^1H NMR(400MHz,$CDCl_3$):δ8.35(d,J=2.0Hz,1H),8.20(q,J=8.8,2.4Hz,1H),8.12(d,J=8.8Hz,1H),4.97(s,2H),4.00(s,3H).

[3353] 合成4-硝基-2-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苯甲酸

[3354] 

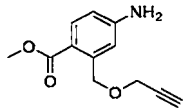
[3355] 在室温向2-(溴甲基)-4-硝基苯甲酸(250g,0.9122mol)在MeCN(5000mL)中的混合物中添加丙-2-炔-1-醇(255.68g,265.50mL,4.5609mol,d=0.963g/mL)和Cs_2CO_3(743.03g,2.2805mol)。将所得混合物加热至80℃16小时。通过用乙酸乙酯(2L)洗涤的硅藻土垫过滤反应混合物。将滤液在减压下浓缩。将获得的粗化合物添加饱和$NaHCO_3$溶液(1L)并且将水层通过使用2N HCl(2L)酸化至pH2。在过滤真空干燥后,得到4-硝基-2-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苯甲酸。^{1}H NMR(400MHz,DMSO):δ13.61(brs,1H),8.37(d,J=2.4Hz,1H),8.23(dd,J=2.4,8.4Hz,1H),8.10(d,J=8.8Hz,1H),4.95(s,2H),4.37(d,J=2.4Hz,2H),3.52(t,J=2.4Hz,1H)

[3356] 合成甲基4-硝基-2-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苯甲酸酯

[3357] 

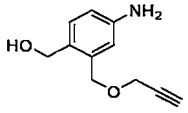
[3358] 在0℃向4-硝基-2-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苯甲酸(130g,0.5527mol)在MeOH(1300mL)中的搅拌溶液中缓慢添加$SOCl_2$(526.08g,320.78mL,4.4219mol,d=1.64g/mL)。在70℃将该反应物搅拌4h。在减压下蒸发反应溶剂。将获得的残余物溶解在乙酸乙酯(1000mL)中并用饱和$NaHCO_3$(600mL)、水(500mL)和盐水溶液(500mL)洗涤。将分离的有机层经硫酸钠干燥、过滤并减压蒸发,以出产甲基4-硝基-2-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苯甲酸酯。^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$):δ8.56(t,J=0.8Hz,1H),8.18-8.09(m,2H),5.03(s,2H),4.35(d,J=2.4Hz,2H),3.96(s,3H),2.49(t,J=2.4Hz,1H).

[3359] 合成甲基4-氨基-2-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苯甲酸酯

[3360] 

[3361] 在室温向甲基4-硝基-2-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苯甲酸酯(110g,0.4414mol)在EtOH(1100mL)和H_2O(550mL)混合物中的溶液中添加铁粉(197.21g,3.5310mol)和NH_4Cl(188.88g,3.5310mol)。将所得混合物在80℃加热16小时。将反应混合物冷却至室温并通过过滤并用乙酸乙酯(2L)洗涤。减压浓缩滤液至体积的一半。向残余物中添加乙酸乙酯(1.5L)并分离为两层,且用乙酸乙酯(2L)萃取水层。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥并减压浓缩以获得粗产物。通过纯化SiO_2柱色谱法(15-20%的乙酸乙酯,在石油醚中)产出甲基4-氨基-2-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苯甲酸酯。^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$):δ7.67(d,J=8.8Hz,1H),6.78(t,J=1.6Hz,1H),6.48(q,J=8.4,2.4Hz,1H),4.79(s,2H),4.25(d,J=2.4Hz,2H),3.70(d,J=4.0Hz,3H),3.42(t,J=2.4Hz,1H).

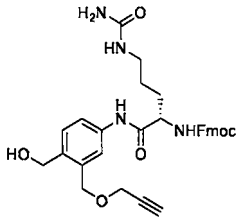
[3362] 合成(4-氨基-2-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苯基)甲醇

[3363] 

[3364] 在0℃向在THF(1000mL)中的搅拌溶液中缓慢添加LiAlH4(1M,在THF中)(21.23g,798.2mmol,798.2mL)。在0℃将甲基4-氨基-2-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苯甲酸酯(70g,319.3mmol)在THF(800mL)中的溶液缓慢添加。在室温将该反应物搅拌4h。将该反应混合物冷却至0℃,然后非常缓慢地添加水(22mL)然后是添加20%NaOH(22mL)和水(66mL)。将反应

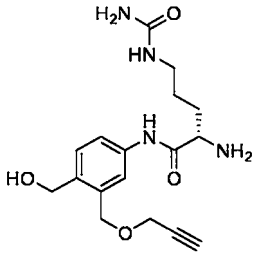
混合物在0℃下搅拌30分钟。加入无水硫酸钠以吸收过量的水。通过硅藻土过滤混合物。将滤饼用乙酸乙酯(1000mL)和10％MeOH/DCM(500mL)洗涤。将滤液在减压下浓缩。将所得粗化合物通过SiO_2柱色谱法(在石油醚中的35-40％的乙酸乙酯,作为洗脱剂)纯化以得到(4-氨基-2-(丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苯基)甲醇。^1H NMR(400MHz,$CDCl_3$):δ6.98(d,J＝8.0Hz,1H),6.56(d,J＝2.4Hz,1H),6.43(dd,J＝2.4,8.0Hz,1H),4.98(s,2H),4.64(t,J＝5.2Hz,1H),4.47(s,2H),4.34(d,J＝5.6Hz,2H),4.15(d,J＝2.4Hz,2H),3.46(t,J＝2.4Hz,1H).

[3365] 合成(9H-芴-9-基)甲基(S)-(1-((4-(羟基甲基)-3-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基甲酸酯

[3366] 

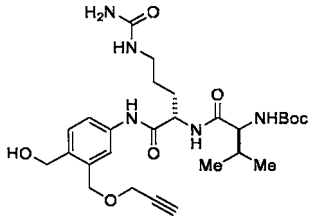
[3367] 向(4-氨基-2-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苯基)甲醇(1.92g,10.04mmol,1.0当量)、(9H-芴-9-基)甲基(S)-(1-氨基-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基甲酸酯(3.99g,10.04mmol,1.0当量)和(1-[二(二甲基氨基)亚甲基]-1H-1,2,3-三唑[4,5-b]吡啶3-氧化物六氟磷酸酯(4.20g,11.04mmol,1.1当量)在DMF(10mL)中的溶液中添加N,N二异丙基乙基胺(2.62mL,15.06mmol,1.5当量)。在环境温度搅拌1小时后,将混合物倒入水(200mL)中。将所得固体过滤,用水冲洗,并在真空下干燥,并获得(9H-芴-9-基)甲基(S)-(1-((4-(羟基甲基)-3-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基甲酸酯。LCMS:MH+＝571.5;Rt＝0.93min(2min酸性方法).

[3368] 合成(S)-2-氨基-N-(4-(羟基甲基)-3-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苯基)-5-脲基戊酰胺

[3369] 

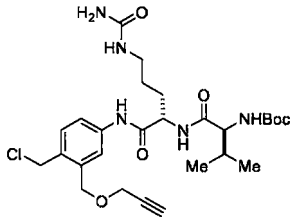
[3370] 向(9H-芴-9-基)甲基(S)-(1-((4-(羟基甲基)-3-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基甲酸酯(6.08g,10.65mmol,1.0当量)中添加二甲基胺(2M,在THF中,21.31mL,42.62mmol,4当量)。在环境温度搅拌1.5小时后,从已形成的胶状残留物中倾析出上清液。将残余物用乙醚(3x50mL)研磨,过滤所得固体,用乙醚洗涤,真空干燥。获得(S)-2-氨基-N-(4-(羟基甲基)-3-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苯基)-5-脲基戊酰胺。LCMS:MH+349.3;Rt＝0.42min(2min酸性方法).

[3371] 合成叔丁基((S)-1-(((S)-1-((4-(羟基甲基)-3-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯

[3372] 

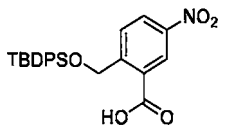
[3373] 向(S)-2-氨基-N-(4-(羟基甲基)-3-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苯基)-5-脲基戊酰胺(3.50g,10.04mmol,1.0当量)、(叔-丁氧基羰基)-L-缬氨酸(2.62g,12.05mmol,1.2当量)和(1-[二(二甲基氨基)亚甲基]-1H-1,2,3-三唑[4,5-b]吡啶3-氧化物六氟磷酸酯(4.58g,12.05mmol,1.2当量)在DMF(10mL)中的溶液中添加N,N-二异丙基乙基胺(3.50mL,20.08mmol,2.0当量)。在环境温度搅拌2小时后,将混合物倒入水(200mL)中,并将所得悬浮液用EtOAc(3x100mL)萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥并在真空下浓缩。通过ISCO SiO_2色谱法(0-20%甲醇/二氯甲烷)纯化后,获得叔-丁基((S)-1-(((S)-1-((4-(羟基甲基)-3-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁酰-2-基)氨基甲酸酯。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ10.00(s,1H),7.96(d,J=7.7Hz,1H),7.55(dq,J=4.9,2.2Hz,2H,aryl),7.32(d,J=8.9Hz,1H,aryl),6.76(d,J=8.9Hz,1H),5.95(t,J=5.8Hz,1H),5.38(s,2H),5.01(t,J=5.5Hz,1H),4.54(s,2H),4.45(dd,J=25.2,5.3Hz,3H),4.20(d,J=2.4Hz,2H),3.83(dd,J=8.9,6.7Hz,1H),3.49(t,J=2.4Hz,1H),2.97(dh,J=26.0,6.5Hz,2H),1.96(h,J=6.6Hz,1H),1.74-1.50(m,2H),1.39(m,11H),0.84(dd,J=16.2,6.7Hz,6H).LCMS:M+Na570.5;Rt=0.79min(2min酸性方法).

[3374] 合成叔丁基((S)-1-(((S)-1-((4-(氯甲基)-3-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯

[3375] 

[3376] 在0℃向叔-丁基((S)-1-(((S)-1-((4-(羟基甲基)-3-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁酰-2-基)氨基甲酸酯(2.00克,3.65mmol,1.0当量)在乙腈(13.3mL)中的溶液添加硫酰氯(0.53mL,7.30mmol,2.0当量)。在冰浴中搅拌一小时后,将溶液用水(40mL)稀释,通过过滤、风干和在高真空下干燥收集所得白色沉淀物,以出产叔-丁基((S)-1-(((S)-1-((4-(氯代甲基)-3-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁酰-2-基)氨基甲酸酯。LCMS:M+Na 588.5;Rt=2.17min(5min酸性方法).

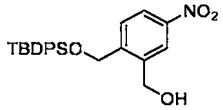
[3377] 合成2-(((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)-5-硝基苯甲酸

[3378] 

[3379] 向6-硝基异苯并呋喃-1(3H)-酮(90g,502.43mmol,1.00当量)在MeOH(1000mL)中的溶液中添加在H_2O(150mL)中的KOH(28.19g,502.43mmol,1.00当量)。将棕色混合物在25

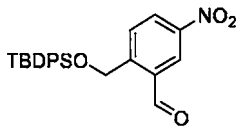
℃下搅拌1.5小时。在减压下浓缩棕色混合物得到残余物并溶解在DCM(2000mL)中。向该混合物中添加叔-丁基二苯基氯代硅烷(296.91g,1.08mol,277.49mL,2.15当量)和咪唑(171.03g,2.51mol,5.00当量)并在25℃搅拌12h。在减压下将混合物浓缩以得到残余物。将残余物通过硅胶色谱法(石油醚/乙酸乙酯=1/0,1/1)纯化,并获得2-(((叔-丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)-5-硝基苯甲酸,呈白色固体。^{1}H NMR(400MHz,甲醇-d4)δppm 1.13(s,9H)5.26(s,2H)7.34-7.48(m,6H)7.68(br d,J=8Hz,4H)8.24(br d,J=8Hz,1H)8.46(brd,J=8Hz,1H)8.74(s,1H).

[3380] 合成(2-(((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)-5-硝基苯基)甲醇

[3381] 

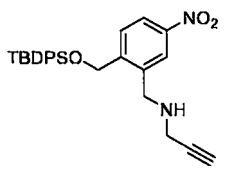
[3382] 向2-(((叔-丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)-5-硝基苯甲酸(41g,94.14mmol,1当量)在THF(205mL)的混合物中添加BH3。THF(1M,470.68mL,5当量)。将黄色混合物在60℃下搅拌2小时。向混合物中加入MeOH(400mL),减压浓缩得到残余物。然后加入H_2O(200mL)和DCM(300mL),DCM(3×200mL)萃取,盐水(300mL)洗涤,无水$MgSO_4$干燥,过滤,减压浓缩得到残余物。通过硅胶色谱法(石油醚/乙酸乙酯=1/0、1/1)纯化残余物。获得(2-(((叔-丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)-5-硝基苯基)甲醇,呈白色固体。^{1}H NMR(400MHz,甲醇-d4)δppm 1.10(s,9H)4.58(s,2H)4.89(s,2H)7.32-7.51(m,6H)7.68(dd,J=8,1.38Hz,4H)7.76(d,J=8Hz,1H)8.15(dd,J=82.26Hz,1H)8.30(d,J=2Hz,1H).

[3383] 合成2-(((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)-5-硝基苯甲醛

[3384] 

[3385] 向(2-(((叔-丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)-5-硝基苯基)甲醇(34g,80.65mmol,1当量)在DCM(450mL)中的溶液中添加MnO_2(56.09g,645.22mmol,8当量)。将黑色混合物在25℃搅拌36小时。向混合物中加入MeOH(400mL),减压浓缩得到残余物。然后加入H_2O(200mL)和DCM(300mL),DCM(3×200mL)萃取,盐水(300mL)洗涤,无水$MgSO_4$干燥,过滤,减压浓缩得到残余物。通过硅胶色谱法(CH_2Cl_2=100%)纯化残余物。获得2-(((叔-丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)-5-硝基苯甲醛,呈白色固体。^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δppm 1.14(s,9H)5.26(s,2H)7.34-7.53(m,6H)7.60-7.73(m,4H)8.13(d,J=8Hz,1H)8.48(dd,J=8,2.51Hz,1H)8.67(d,J=2Hz,1H)10.16(s,1H).

[3386] 合成N-(2-(((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)-5-硝基苄基)丙-2-炔-1-胺

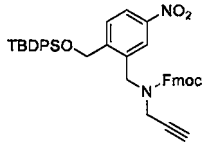
[3387] 

[3388] 向2-(((叔-丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)-5-硝基苯甲醛(12.6g,30.03mmol,1当量)在DCM(130mL)中的溶液中添加丙-2-炔-1-胺(4.14g,75.08mmol,4.81mL,2.5当量)和$MgSO_4$(36.15g,300.33mmol,10当量),然后在25℃将该悬浮混合物搅拌24小时取少量反应液,用$NaBH_4$处理,TLC显示有1个新斑点形成。将反应混合物过滤并且减压浓缩以给出残

余物。获得(E)-N-[[2-[[叔丁基(二苯基)甲硅烷基]氧基甲基]-5-硝基-苯基]甲基]丙-2-炔-1-亚胺,呈黄色固体。^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δppm1.11(s,9H)2.48(t,J=2.38Hz,1H)4.52(t,J=2.13Hz,2H)5.09(s,2H)7.35-7.49(m,6H)7.63-7.72(m,4H)7.79(d,J=8.53Hz,1H)8.25(dd,J=8.53,2.51Hz,1H)8.68(d,J=2.26Hz,1H)8.84(t,J=1.88Hz,1H).

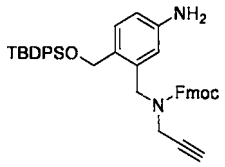
[3389] (E)-N-[[2-[[叔丁基(二苯基)甲硅烷基]氧基甲基]-5-硝基-苯基]甲基]丙-2-炔-1-亚胺(12g,26.28mmol,1当量)溶解在MeOH(100mL)和THF(50mL)中,然后添加在$NaBH_4$(1.49g,39.42mmol,1.5当量.)并在-20℃搅拌黄色混合物2小时。LCMS显示检测到所期望化合物。通过在-20℃下加入MeOH(200mL)来淬灭反应混合物,然后减压浓缩得到残余物。将残余物用EtOAc(500mL)溶解,用盐水(150mL)洗涤,经无水Na_2SO_4干燥,过滤并减压浓缩得到残余物。将残余物通过快速硅胶色谱法纯化(洗脱剂为0-10%乙酸乙酯/石油醚梯度)。获得N-(2-(((叔-丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)-5-硝基苄基)丙-2-炔-1-胺,呈淡黄色油状物。^{1}HNMR(400MHz,氯仿-d)δppm 1.12(s,9H)2.13(t,J=2.38Hz,1H)3.33(d,J=2.51Hz,2H)3.80(s,2H)4.93(s,2H)7.36-7.49(m,6H)7.69(dd,J=7.91,1.38Hz,4H)7.77(d,J=8.53Hz,1H)8.16(dd,J=8.41,2.38Hz,1H)8.24(d,J=2.26Hz,1H).

[3390] 合成(9H-芴-9-基)甲基(2-(((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)-5-硝基苄基)(丙-2-炔-1-基)氨基甲酸酯

[3391] 

[3392] 向N-(2-(((叔-丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)-5-硝基苄基)丙-2-炔-1-胺(9g,19.62mmol,1当量)和Fmoc-OSu(7.28g,21.59mmol,1.1当量)在二噁烷(90mL)中的溶液中添加饱和$NaHCO_3$(90mL),并在20℃将白色悬浮液搅拌12h。将该反应混合物用H2O(150mL)稀释并用EtOAc萃取(150mLx2)。将合并的有机层用盐水(200mL)洗涤,用无水Na_2SO_4干燥,过滤并减压浓缩得到残余物。将残余物通过快速硅胶色谱法纯化(洗脱剂为0-30%乙酸乙酯/石油醚)。获得(9H-芴-9-基)甲基(2-(((叔-丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)-5-硝基苄基)(丙-2-炔-1-基)氨基甲酸酯(7.7g,11.08mmol,56.48%产率,98%纯度),呈白色固体。^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δppm 1.12(s,9H)2.17(br d,J=14.31Hz,1H)3.87-4.97(m,9H)6.98-8.28(m,21H).

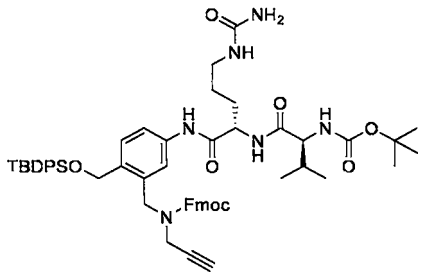
[3393] 合成(9H-芴-9-基)甲基(5-氨基-2-(((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)苄基)(丙-2-炔-1-基)氨基甲酸酯

[3394] 

[3395] 向(9H-芴-9-基)甲基(2-(((叔-丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)-5-硝基苄基)(丙-2-炔-1-基)氨基甲酸酯(5.0g,7.34mmol,1.0当量)在10%AcOH/CH_2Cl_2(100mL)的冰浴冷却溶液中添加Zn(7.20g,110mmol,15当量)。移除冰浴,并将所得混合物搅拌2小时,此时通过硅藻土垫过滤。在真空中将挥发物去除并将残余物溶解在EtOAc中,用$NaHCO_3$(饱和)、NaCl(饱和)清洗,经$MgSO_4$干燥、过滤、浓缩并在ISCO SiO_2色谱法(0-75%EtOAc/庚烷)后,获

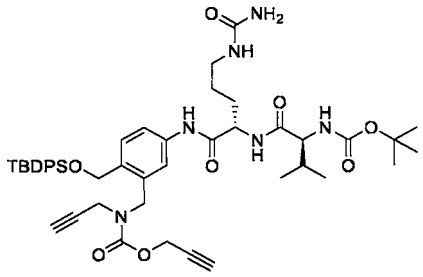
得(9H-芴-9-基)甲基(5-氨基-2-(((叔-丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)苄基)(丙-2-炔-1-基)氨基甲酸酯。LCMS:NMH+＝651.6;Rt＝3.77min(5min酸性方法).

[3396] 合成(9H-芴-9-基)甲基(5-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)苄基)(丙-2-炔-1-基)氨基甲酸酯

[3397] 

[3398] 向在CH_2Cl_2(40mL)中的(9H-芴-9-基)甲基(5-氨基-2-(((叔-丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)苄基)(丙-2-炔-1-基)氨基甲酸酯(2.99g,4.59mmol,1.0当量)和(S)-2-((S)-2-((叔-丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁氨基)-5-脲基戊酸(1.72g,4.59mmol,1.0当量)中添加乙基2-乙氧基喹啉-1(2H)-甲酸酯(2.27g,9.18mmol,2.0当量)。搅拌10分钟后,添加MeOH(1mL),溶液变得均匀。将该反应物搅拌16h,在真空中将挥发物去除并在通过ISCOSiO$_2$色谱法(0-15%MeOH/CH2Cl2)纯化后,获得(9H-芴-9-基)甲基(5-((S)-2-((S)-2-((叔-丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁氨基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(((叔-丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)苄基)(丙-2-炔-1-基)氨基甲酸酯。LCMS:MH+＝1008.8;Rt＝3.77min(5min酸性方法).

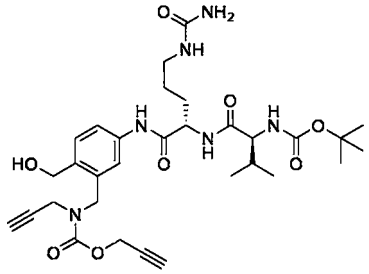
[3399] 合成丙-2-炔-1-基(5-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)苄基)(丙-2-炔-1-基)氨基甲酸酯

[3400] 

[3401] 向(9H-芴-9-基)甲基(5-((S)-2-((S)-2-((叔-丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁氨基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(((叔-丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)苄基)(丙-2-炔-1-基)氨基甲酸酯(1.60g,1.588mmol,1.0当量)中添加在MeOH(30mL,60mmol,37当量)和THF(10mL)中的2M二甲基胺。静置3小时后,真空除去挥发物,将残余物与Et_2O一起研磨以除去FMOC脱保护副产物。向所得固体中添加CH_2Cl_2(16mL)和吡啶(4mL)并向该非均相溶液中添加炔丙基氯甲酸酯(155uL,1.588mmol,1.0当量)。搅拌30分钟后,加入另外的氯甲酸炔丙酯(155uL,1.588mmol,1.0当量)。再搅拌20分钟后,添加MeOH(1mL)以淬灭剩余的氯甲酸酯,并真空除去挥发物。通过ISCO SiO_2色谱法(0-15%MeOH/CH_2Cl_2)纯化后,获得丙-2-炔-1-基(5-((S)-2-((S)-2-((叔-丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁氨基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(((叔-丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)苄基)(丙-2-炔-1-基)氨基甲酸酯。LCMS:MH+＝867.8;Rt

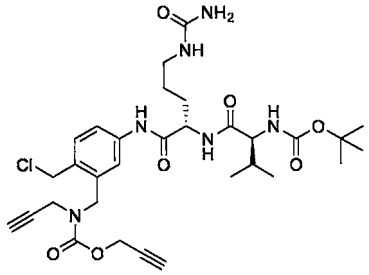
＝3.40min(5min酸性方法).

[3402] 合成丙-2-炔-1-基(5-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(羟基甲基)苄基)(丙-2-炔-1-基)氨基甲酸酯

[3403] 

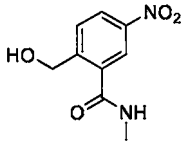
[3404] 向丙-2-炔-1-基(5-((S)-2-((S)-2-((叔-丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁氨基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(((叔-丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)苄基)(丙-2-炔-1-基)氨基甲酸酯(984mg,1.135mmol,1.0当量)在THF(7.5mL)中的溶液中添加1.0M在THF(2.27mL,2.27mmol,2.0当量)中的TBAF。在静置6h后,在真空中将挥发物去除,将残余物通过ISCO SiO_2色谱法(0-40%MeOH/CH2Cl2)纯化并获得丙-2-炔-1-基(5-((S)-2-((S)-2-((叔-丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁氨基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(羟基甲基)苄基)(丙-2-炔-1-基)氨基甲酸酯。LCMS:MH+＝629.6;Rt＝1.74min(5min酸性方法).

[3405] 合成丙-2-炔-1-基(5-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(氯甲基)苄基)(丙-2-炔-1-基)氨基甲酸酯

[3406] 

[3407] 向在CH_2Cl_2(10mL)中的丙-2-炔-1-基(5-((S)-2-((S)-2-((叔-丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁氨基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(羟基甲基)苄基)(丙-2-炔-1-基)氨基甲酸酯(205mg,0.326mmol,1.0当量)中添加吡啶(158uL,1.96mmol,5当量)。将异质混合物在0℃冰浴和亚硫酰氯(71uL,0.98mmol,3当量.)中冷却。在冰浴中搅拌3小时后,将该反应物通过ISCO SiO_2色谱法(0-30%MeOH/CH_2Cl_2)直接纯化并获得丙-2-炔-1-基(5-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁氨基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(氯代甲基)苄基)(丙-2-炔-1-基)氨基甲酸酯。LCMS:MH+＝647.6;Rt＝2.54min(5min酸性方法).

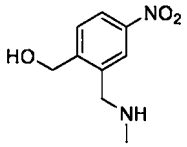
[3408] 合成2-(羟基甲基)-N-甲基-5-硝基苯甲酰胺

[3409] 

[3410] 在25℃向6-硝基异苯并呋喃-1(3H)-酮(500g,2.79mol)在MeOH(1500mL)中的搅拌悬浮液中添加$MeNH_2$(3.00kg,29.94mol,600mL,31.0%纯度)并搅拌1h。将固体过滤并用水清洗两次(600mL)并在高真空下干燥以获得残余物。获得产物2-(羟基甲基)-N-甲基-5-硝

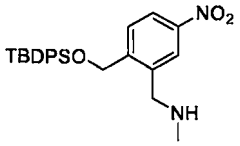
基苯甲酰胺,呈白色固体。LCMS:Rt＝0.537min,MS m/z＝193.2.1H NMR:400MHzDMSOδ8.57(br d,J＝4.4Hz,1H),8.31(dd,J＝2.4,8.6Hz,1H),8.21(d,J＝2.4Hz,1H),7.86(d,J＝8.8Hz,1H),5.54(t,J＝5.6Hz,1H),4.72(d,J＝5.5Hz,2H),2.78(d,J＝4.4Hz,3H).

[3411] 合成(2-((甲基氨基)甲基)-4-硝基苯基)甲醇

[3412] 

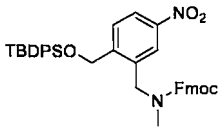
[3413] 将2-(羟基甲基)-N-甲基-5-硝基苯甲酰胺(560g,2.66mol)在THF(5000mL)中的溶液冷却至0℃,然后向其逐滴添加BH_3-Me_2S(506g,6.66mol)(2.0M,在THF中)60min并加热至70℃C5h。LCMS显示起始材料被消耗。完成后,将甲醇中的4M HCl(1200mL)在0℃添加到反应混合物中,并在65℃加热8小时。将反应混合物冷却至0℃,过滤固体并减压浓缩。获得产物(2-((甲基氨基)甲基)-4-硝基苯基)甲醇(520g),呈白色固体。LCMS:Rt＝0.742min,MS m/z＝197.1[M+H]+.^{1}H NMR:400MHzDMSOδ9.25(br s,2H),8.37(d,J＝2.4Hz,1H),8.14(dd,J＝2.4,8.5Hz,1H),7.63(d,J＝8.4Hz,1H),5.72(br s,1H),4.65(s,2H),4.15(br s,2H),2.55-2.45(m,3H)

[3414] 合成1-(2-(((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)-5-硝基苯基)-N-甲基甲胺

[3415] 

[3416] 将(2-((甲基氨基)甲基)-4-硝基苯基)甲醇(520g,2.65mol)和咪唑(721g,10.6mol)在DCM(2600mL)中的溶液冷却至0℃,向其逐滴添加TBDPS-CL(1.09kg,3.98mol,1.02L)并搅拌2h。将混合物倒入冰水中(1000mL)并用乙酸乙酯萃取。将合并的有机层用盐水洗涤,经Na_2SO_4干燥,过滤并真空蒸发得到粗产物。将粗产物通过硅胶色谱纯化,用乙酸乙酯:石油醚(从10/1到1)洗脱得到残余物。获得产物1-(2-(((叔-丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)-5-硝基苯基)-N-甲基甲胺,呈黄色液体。LCMS:产物:Rt＝0.910min,MS m/z＝435.2[M+H]+.^{1}H NMR:400MHz CDCl3δ8.23(d,J＝2.4Hz,1H),8.15(dd,J＝2.4,8.4Hz,1H),7.76(d,J＝8.4Hz,1H),7.71-7.66(m,4H),7.50-7.37(m,6H),4.88(s,2H),3.65(s,2H),2.39(s,3H),1.12(s,9H)

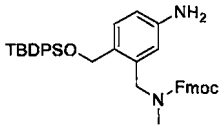
[3417] 合成(9H-芴-9-基)甲基(2-(((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)-5-硝基苄基)(甲基)氨基甲酸酯

[3418] 

[3419] 向1-(2-(((叔-丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)-5-硝基苯基)-N-甲基甲胺(400g,920.3mmol)在THF(4000mL)中的溶液中添加Fmoc-OSu(341.5g,1.01mol)和Et_3N(186.2g,1.84mol,256.2mL),在25℃将该混合物搅拌1h。将混合物倒入水(1600mL)中并用乙酸乙酯(1000mL x 2)萃取。将合并的有机层用盐水洗涤,经Na_2SO_4干燥,过滤并真空蒸发得到粗产物。将粗产物通过硅胶色谱纯化,用石油醚:乙酸乙酯(从1/0至1/1)洗脱以得到(9H-芴-9-基)甲基(2-(((叔-丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)-5-硝基苄基)(甲基)氨基

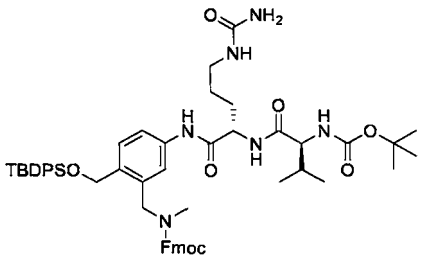
甲酸酯,呈白色固体。LCMS:Rt＝0.931min,MS m/z＝657.2[M+H]+.^{1}H NMR:EW16000-26-P1A,400MHz CDCl3δ8.21-7.96(m,1H),7.87-7.68(m,3H),7.68-7.62(m,4H),7.62-7.47(m,2H),7.47-7.28(m,9H),7.26-7.05(m,2H),4.81(br s,1H),4.62-4.37(m,4H),4.31-4.19(m,1H),4.08-3.95(m,1H),2.87(br d,J＝5.2Hz,3H),1.12(s,9H).

[3420] 合成(9H-芴-9-基)甲基(5-氨基-2-(((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)苄基)(甲基)氨基甲酸酯

[3421] 

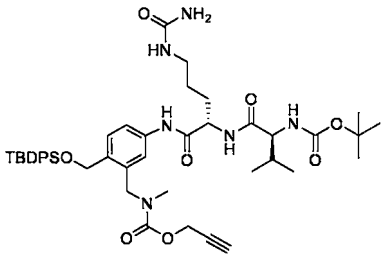
[3422] 将(9H-芴-9-基)甲基(2-(((叔-丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)-5-硝基苄基)(甲基)氨基甲酸酯(3.0g,4.57mmol,1.0当量)在MeOH(90mL)和EtOAc(30mL)中的溶液脱气并通过三通旋塞阀吹扫至N_2气囊。在重复脱气/N_2吹扫2x后,添加10％Pd/C deGussa类型(0.486g,0.457mmol,0.1当量.)。将所得混合物脱气并通过三通旋塞阀吹扫至2 H_2气囊。重复脱气/H_2吹扫2x后,将反应在H_2的气囊压力下搅拌4小时。将反应脱气并吹扫至N_2,通过硅藻土垫过滤,进一步用MeOH洗脱。在真空中将挥发物去除并在高真空下抽气后,获得(9H-芴-9-基)甲基(5-氨基-2-(((叔-丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)苄基)(甲基)氨基甲酸酯。LCMS:MH+＝627.7;Rt＝1.59min(2min酸性方法).

[3423] 合成(9H-芴-9-基)甲基(5-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)苄基)(甲基)氨基甲酸酯

[3424] 

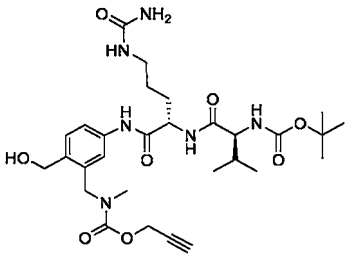
[3425] 向在2:1 CH_2Cl_2/MeOH(60mL)中的(9H-芴-9-基)甲基(5-氨基-2-(((叔-丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)苄基)(甲基)氨基甲酸酯(2.86g,4.56mmol,1.0当量)和(S)-2-((S)-2-((叔-丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁氨基)-5-脲基戊酸(1.71g,4.56mmol,1.0当量)中添加乙基2-乙氧基喹啉-1(2H)-甲酸酯(2.256g,9.12mmol,2.0当量)。将均相溶液搅拌16小时,在同时添加额外的(S)-2-((S)-2-((叔-丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁氨基)-5-脲基戊酸(0.340g,0.2当量)和乙基2-乙氧基喹啉-1(2H)-甲酸酯(0.452g,0.4当量)以驱动反应完成。在搅拌额外的5小时后,在真空中将挥发物去除,并通过ISCO SiO_2色谱法(0-5％MeOH/CH_2Cl_2)纯化后,获得(9H-芴-9-基)甲基(5-((S)-2-((S)-2-((叔-丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁氨基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(((叔-丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)苄基)(甲基)氨基甲酸酯。LCMS:MH+＝984.1;Rt＝1.54min(2min酸性方法).

[3426] 合成丙-2-炔-1-基(5-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)苄基)(甲基)氨基甲酸酯

[3427] 

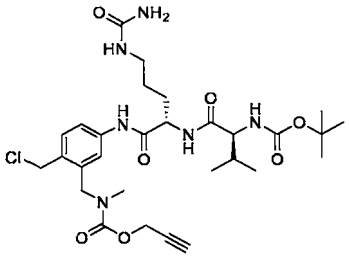
[3428] 向在THF(10mL)中的(9H-芴-9-基)甲基(5-((S)-2-((S)-2-((叔-丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁氨基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(((叔-丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)苄基)(甲基)氨基甲酸酯(2.05g,2.085mmol,1.0当量)中添加2.0M在MeOH(10.42mL,20.85mmol,10当量)中的二甲胺。搅拌16小时后,真空除去挥发物。将残余物溶解于CH_2Cl_2(20mL)和DIEA(0.533mL,4.17mmol,2当量.)并且添加氯甲酸炔丙酯(0.264mL,2.71mmol,1.3当量.)。在室温搅拌16小时后,将该反应物用CH_2Cl_2(20mL)稀释,用$NaHCO_3$(饱和)、NaCl(饱和)清洗,经$MgSO_4$干燥,过滤,浓缩并通过ISCO SiO_2色谱法(0-15%MeOH/CH_2Cl_2)纯化以产出丙-2-炔-1-基(5-((S)-2-((S)-2-((叔-丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁氨基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(((叔-丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)苄基)(甲基)氨基甲酸酯。LCMS:MH+=843.8;Rt=1.35min(2min酸性方法).

[3429] 合成丙-2-炔-1-基(5-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(羟基甲基)苄基)(甲基)氨基甲酸酯

[3430] 

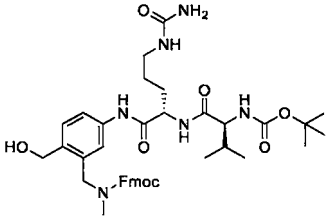
[3431] 向丙-2-炔-1-基(5-((S)-2-((S)-2-((叔-丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁氨基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(((叔-丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)苄基)(甲基)氨基甲酸酯(1.6g,1.90mmol,1.0当量)在THF(10.0mL)中的0℃溶液中添加在THF中的1.0M TBAF(3.80mL,3.80mmol,2.0当量)。在升温至室温并搅拌16h后,在真空中将挥发物去除,将残余物溶解在EtOAc中,用$NaHCO_3$(饱和)、用NaCl(饱和)清洗,经$MgSO_4$干燥,过滤,浓缩并将残余物通过ISCO SiO_2色谱法(0-30%MeOH/CH2Cl2)纯化以产出丙-2-炔-1-基(5-((S)-2-((S)-2-((叔-丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁氨基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(羟基甲基)苄基)(甲基)氨基甲酸酯。LCMS:MH+=605.7;Rt=0.81min(2min酸性方法).

[3432] 合成丙-2-炔-1-基(5-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(氯甲基)苄基)(甲基)氨基甲酸酯

[3433] 

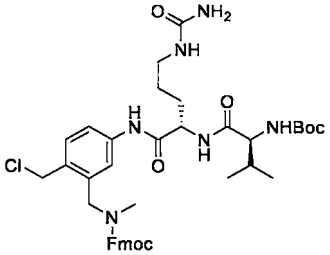
[3434] 向在CH_2Cl_2(10mL)中的丙-2-炔-1-基(5-((S)-2-((S)-2-((叔-丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁氨基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(羟基甲基)苄基)(甲基)氨基甲酸酯(350mg,0.579mmol,1.0当量)中添加吡啶(0.278mL,3.47mmol,6当量)。将异质混合物在0℃冰浴和亚硫酰氯(0.126mL,1.73mmol,3当量.)中冷却。在冰浴中搅拌3小时后,将该反应物通过ISCO SiO_2色谱法(0-30%MeOH/CH_2Cl_2)纯化并获得丙-2-炔-1-基(5-((S)-2-((S)-2-((叔-丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁氨基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(氯代甲基)苄基)(丙-2-炔-1-基)氨基甲酸酯。LCMS:MH+=623.7;Rt=2.19min(5min酸性方法).

[3435] 合成(9H-芴-9-基)甲基(5-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(羟基甲基)苄基)(甲基)氨基甲酸酯

[3436] 

[3437] 向溶解在THF(20mL)中的(9H-芴-9-基)甲基(5-((S)-2-((S)-2-((叔-丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁氨基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(((叔-丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)苄基)(甲基)氨基甲酸酯(2.6g,2.64mmol,1.0当量)中添加乙酸(0.757mL,13.22mmol,5.0当量)和在THF中的1.0M TBAF(2.91mL,2.91mmol,1.1当量)。将溶液搅拌72小时,此时在真空中除去挥发物。通过ISCO SiO_2色谱法(0-30%MeOH/CH_2Cl_2)纯化后,获得(9H-芴-9-基)甲基(5-((S)-2-((S)-2-((叔-丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁氨基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(羟基甲基)苄基)(甲基)氨基甲酸酯。LCMS:MH+=745.5;Rt=1.07min(2min酸性方法).

[3438] 合成(9H-芴-9-基)甲基(5-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(氯甲基)苄基)(甲基)氨基甲酸酯

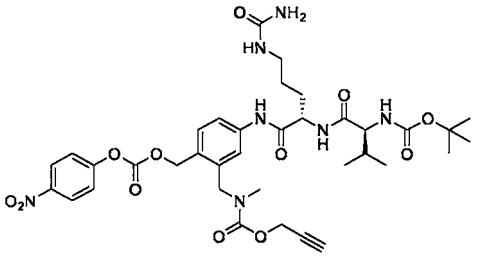
[3439] 

[3440] 向在THF(20mL)中的(9H-芴-9-基)甲基(5-((S)-2-((S)-2-((叔-丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁氨基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(羟基甲基)苄基)(甲基)氨基甲酸酯(1.0gram,1.342mmol)中添加$NaHCO_3$(677mg,8.05mmol)(6当量),然后在冰水浴中冷却至0℃,然后是缓慢添加硫酰氯(0.245mL,3.36mmol)(2.5当量)。将混合物在0℃下搅拌15分钟,然后在室温搅拌1小时。将反应在EtOAc和NaHCO3(饱和的)之间分配,分离,用NaCl(饱和的)洗涤,用MgSO4干燥并真空除去挥发物。将残余物通过ISCO SiO_2色谱法(0-30%iPrOH/CH_2Cl_2)纯化以产出(9H-芴-9-基)甲基(5-((S)-2-((S)-2-((叔-丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁氨基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(氯代甲基)苄基)(甲基)氨基甲酸酯。LCMS:MH+=763.2;Rt=1.18min(2min酸性方法).

[3441] 一般程序1

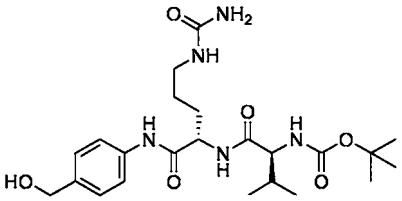
[3442] 合成丙-2-炔-1-基(5-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)

基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苄基)(甲基)氨基甲酸酯

[3443] 

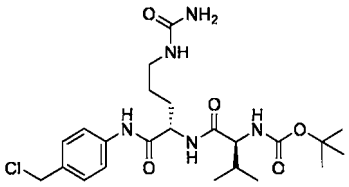
[3444] 将丙-2-炔-1-基(5-((S)-2-((S)-2-((叔-丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁氨基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(羟基甲基)苄基)(甲基)氨基甲酸酯(249mg,0.412mmol)和二(4-硝基苯基)碳酸酯(356mg,1.24mmol,3.0当量)在DMF(2mL)中的溶液旋转直至均匀并静置16小时。将溶液用DMSO(6mL)稀释并通过RP-HPLC ISCO金色谱(10-100%MeCN/H_2O,无改性剂)纯化。接着冻干,获得丙-2-炔-1-基(5-((S)-2-((S)-2-((叔-丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁氨基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苄基)(甲基)氨基甲酸酯。LC/MS MH+=770.7,Rt=2.45min(5min酸性方法).

[3445] 合成叔丁基((S)-1-(((S)-1-((4-(羟基甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯

[3446] 

[3447] 向(4-氨基苯基)甲醇(450.0mg,3.65mmol)和(S)-2-((S)-2-((叔-丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁氨基)-5-脲基戊酸(1368.0mg,3.65mmol,1.0当量)在DCM(4.0mL)中的悬浮液中添加EEDQ(2259.0mg,9.13mmol,2.5当量)。在室温将混合物搅拌16小时,之后将该反应物通过ISCO SiO_2色谱法(0-30%MeOH/CH_2Cl_2)纯化并获得叔-丁基((S)-1-(((S)-1-((4-(羟基甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁酰-2-基)氨基甲酸酯。LC/MS MH+=480.6,Rt=0.75min(2min酸性方法).^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ9.97(s,1H),7.96(d,J=7.7Hz,1H),7.60-7.48(m,2H),7.29-7.19(m,2H),6.76(d,J=8.9Hz,1H),5.96(t,J=5.8Hz,1H),5.40(s,2H),5.09(t,J=5.7Hz,1H),4.43(d,J=5.7Hz,3H),3.83(dd,J=8.9,6.7Hz,1H),2.98(dp,J=30.3,6.6Hz,2H),1.95(p,J=6.7Hz,1H),1.80-1.54(m,2H),1.38(s,11H),0.84(dd,J=15.9,6.8Hz,6H).

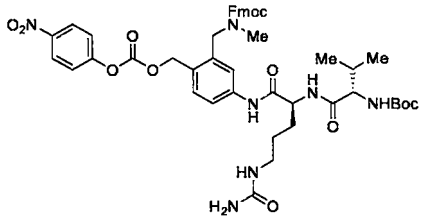
[3448] 合成叔丁基((S)-1-(((S)-1-((4-(氯甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯

[3449] 

[3450] 向在DCM(20.0mL)中的叔-丁基((S)-1-(((S)-1-((4-(羟基甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁酰-2-基)氨基甲酸酯(500.0mg,1.043mmol)中添加吡啶(0.506mL,6.26mmol,6.0当量)。将异质混合物在0℃冰浴中冷却并加入亚硫酰

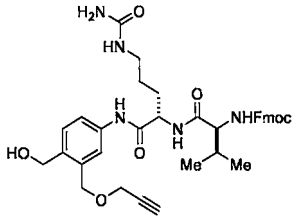
氯(0.228mL,3.13mmol,3当量)。在冰浴中搅拌4小时,将该混合物升温至室温15min。将该反应物通过ISCO SiO2色谱法(0-30%MeOH/CH2Cl2)纯化,获得叔-丁基((S)-1-(((S)-1-((4-(氯代甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁酰-2-基)氨基甲酸酯。LC/MS MH+=498.1,Rt=2.02min(5min酸性方法).

[3451] 合成(9H-芴-9-基)甲基(5-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苄基)(甲基)氨基甲酸酯

[3452] 

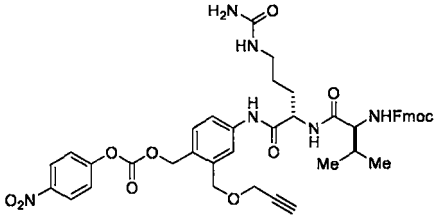
[3453] 根据一般程序1用(9H-芴-9-基)甲基(5-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(羟基甲基)苄基)(甲基)氨基甲酸酯(100.0mg,0.134mmol),获得(9H-芴-9-基)甲基(5-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苄基)(甲基)氨基甲酸酯。LC/MS MH+=910.5,Rt=1.24min(2min酸性方法).^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ10.19(s,1H),8.26(s,2H),8.00(d,J=7.7Hz,1H),7.93-7.58(m,4H),7.42(td,J=33.3,32.9,13.8Hz,9H),7.14(s,1H),6.72(d,J=9.0Hz,1H),6.01(s,1H),5.27(d,J=23.7Hz,2H),4.58(s,2H),4.48-4.13(m,4H),3.89-3.78(m,1H),2.92(t,J=35.0Hz,5H),2.00-1.86(m,1H),1.54(s,3H),1.37(m,11H,incl.Boc),0.82(dd,J=15.4,6.7Hz,6H).

[3454] 合成(9H-芴-9-基)甲基((S)-1-(((S)-1-((4-(羟基甲基)-3-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯

[3455] 

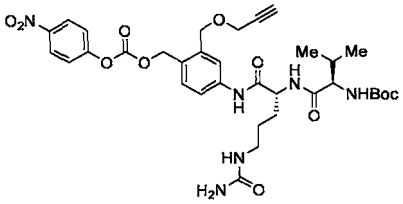
[3456] 向(S)-2-氨基-N-(4-(羟基甲基)-3-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苯基)-5-脲基戊酰胺(3.64g,10.45mmol)、(S)-2-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-3-甲基丁酸(3.55g,10.54mmol,1.0当量)和1-((二甲基氨基)(二甲基亚氨基)甲基)-1H-[1,2,3]三唑[4,5-b]吡啶3-氧化物六氟磷酸酯(V)(3.97g,10.54mmol,1.0当量)在DMF(10.0mL)中的溶液添加DIPEA(3.64mL,20.90mmol,2.0当量)。将混合物在室温搅拌45分钟。用100mL水稀释,搅拌5分钟。将沉淀物过滤并且减压干燥。干燥后,获得(9H-芴-9-基)甲基((S)-1-(((S)-1-((4-(羟基甲基)-3-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯。LC/MS MH+=670.3,Rt=0.96min(2min酸性方法).

[3457] 合成(9H-芴-9-基)甲基((S)-3-甲基-1-(((S)-1-((4-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)-3-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯

[3458] 

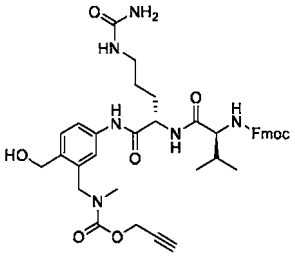
[3459] 根据一般程序1用(9H-芴-9-基)甲基((S)-1-(((S)-1-((4-(羟基甲基)-3-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯(200.0mg,0.299mmol),获得(9H-芴-9-基)甲基((S)-3-甲基-1-(((S)-1-((4-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)-3-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯。LC/MS MH+＝835.7,Rt＝1.19min(2min酸性方法).

[3460] 合成叔丁基((R)-3-甲基-1-(((R)-1-((4-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)-3-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯

[3461] 

[3462] 根据一般程序1用叔丁基((S)-1-(((S)-1-((4-(羟基甲基)-3-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯(200.0mg,0.365mmol),获得叔丁基((R)-3-甲基-1-(((R)-1-((4-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)-3-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯。LC/MS MH+＝713.6,Rt＝1.08min(2min酸性方法).

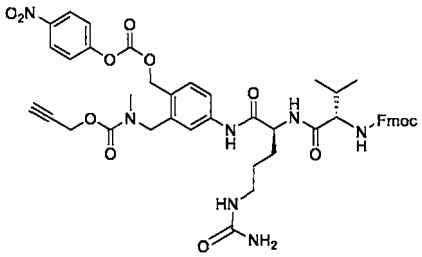
[3463] 合成丙-2-炔-1-基5-((S)-2-((S)-2-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(羟基甲基)苄基(甲基)氨基甲酸酯

[3464] 

[3465] 在0℃向丙-2-炔-1-基5-((S)-2-((S)-2-((叔-丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁氨基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(羟基甲基)苄基(甲基)氨基甲酸酯(48.0mg,0.079mmol)在DCM(1.0mL)中的溶液中添加TFA(0.2mL)。混合物在该温度搅拌1小时。然后在真空下除去溶剂。将残余物溶解在DMF(1.0mL)中,然后加入DIPEA(0.138mL,0.794mmol,10当量.)和(9H-芴-9-基)甲基(2,5-二氧代吡咯烷-1-基)碳酸酯(40.2mg,0.119mmol,1.5当量)。将混合物在室温搅拌18小时。通过RP-HPLC ISCO金色谱(0-100%MeCN/H2O,无改性剂)纯化反应。冻干后,获得丙-2-炔-1-基5-((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)-2-(羟基甲基)苄基(甲基)氨基甲酸酯。LC/MS MH+＝727.3,Rt＝

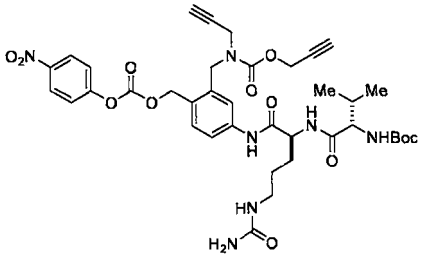
2.28min(5min酸性方法).1H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ10.01(s,1H),8.09(d,J＝7.6Hz,1H),7.89(d,2H),7.74(t,J＝8.2Hz,2H),7.62(s,1H),7.45-7.36(m,3H),7.35-7.15(m,4H),5.95(t,J＝5.9Hz,1H),5.36(s,2H),5.03(s,1H),4.70(d,J＝14.8Hz,2H),4.54-4.36(m,5H),4.35-4.19(m,3H),3.96-3.87(m,1H),3.50(d,J＝26.0Hz,1H),2.97(dp,J＝20.1,6.6Hz,2H),2.82(s,3H),1.98(q,J＝6.8Hz,1H),1.73-1.50(m,2H),1.51-1.30(m,2H),0.86(dd,J＝10.2,6.7Hz,6H).

[3466] 合成丙-2-炔-1-基5-((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)-2-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苄基(甲基)氨基甲酸酯

[3467] 

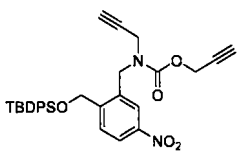
[3468] 根据一般程序1用丙-2-炔-1-基5-((S)-2-((S)-2-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(羟基甲基)苄基(甲基)氨基甲酸酯(77.6mg,0.107mmol),获得丙-2-炔-1-基5-((S)-2-((S)-2-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苄基(甲基)氨基甲酸酯。LC/MSMH+＝892.4,Rt＝1.14min(2min酸性方法).

[3469] 合成丙-2-炔-1-基5-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苄基(丙-2-炔-1-基)氨基甲酸酯

[3470] 

[3471] 根据一般程序1用丙-2-炔-1-基5-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(羟基甲基)苄基(丙-2-炔-1-基)氨基甲酸酯(250.0mg,0.398mmol),获得丙-2-炔-1-基5-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苄基(丙-2-炔-1-基)氨基甲酸酯。LC/MS MH+＝794.9,Rt＝1.07min(2min酸性方法).

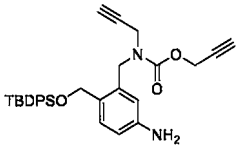
[3472] 合成丙-2-炔-1-基2-(((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)-5-硝基苄基(丙-2-炔-1-基)氨基甲酸酯

[3473] 

[3474] 向N-(2-(((叔-丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)-5-硝基苄基)丙-2-炔-1-胺

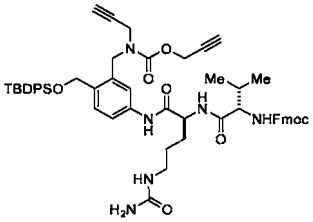
(1.348g,2.94mmol)在DCM(10.0mL)中的溶液中添加吡啶(2.0mL),然后是丙-2-炔-1-基氯甲酸酯(0.574mL,5.88mmol,2.0当量)。并将混合物在室温搅拌30分钟。将反应物用MeOH淬灭,用CH_2Cl_2(20mL)稀释,然后用水、NaCl(饱和)清洗,经Na_2SO_4干燥,过滤,浓缩并通过ISCO SiO_2色谱法(0-50%EtOAc/庚烷)纯化,获得丙-2-炔-1-基2-(((叔-丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)-5-硝基苄基(丙-2-炔-1-基)氨基甲酸酯。LC/MS MH+=541.6,Rt=1.47min(2min酸性方法).^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ8.18(dd,J=8.4,2.4Hz,1H,Ar),8.10(d,J=2.3Hz,1H,Ar),7.72-7.63(m,4H,Ph),7.54-7.35(m,7H,Ph+Ar),4.86(s,2H),4.80-4.53(m,4H),4.02(d,J=22.3Hz,2H),2.76(d,J=4.7Hz,1H),2.17(t,J=2.4Hz,1H),1.13(d,J=3.1Hz,9H).

[3475] 合成丙-2-炔-1-基5-氨基-2-(((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)苄基(丙-2-炔-1-基)氨基甲酸酯

[3476] 

[3477] 在0℃向丙-2-炔-1-基2-(((叔-丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)-5-硝基苄基(丙-2-炔-1-基)氨基甲酸酯(1.66g,2.07mmol)在DCM(9.0mL)和AcOH(1.0mL)中的溶液中添加锌(3.01g,46.1mmol,15.0当量)并在该温度将该混合物搅拌40min。通过硅藻土过滤反应并用DCM漂洗。滤液用$NaHCO_3$(饱和)、水和NaCl(饱和)清洗,经Na_2SO_4干燥,过滤,浓缩并通过ISCO SiO_2色谱法(0-100%EtOAc/庚烷)纯化,获得丙-2-炔-1-基5-氨基-2-(((叔-丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)苄基(丙-2-炔-1-基)氨基甲酸酯。LC/MS M+Na=533.2,Rt=1.35min(2min酸性方法).

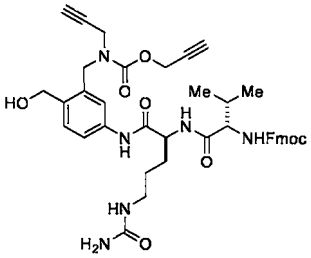
[3478] 合成丙-2-炔-1-基5-((S)-2-((S)-2-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)苄基(丙-2-炔-1-基)氨基甲酸酯

[3479] 

[3480] 悬浮在DCM(10.0mL)和MeOH(5.0mL)中的丙-2-炔-1-基5-氨基-2-(((叔-丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)苄基(丙-2-炔-1-基)氨基甲酸酯(1.19g,2.33mmol)和(S)-2-((S)-2-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-3-甲基丁氨基)-5-脲基戊酸(1.157g,2.33mmol,1.0当量),添加EEDQ(0.691g,2.80mmol,1.2当量)并在室温搅拌3小时。真空除去溶剂,将残余物溶解在DMSO(3.0mL)中并通过RP-HPLC ISCO金色谱(0-100%MeCN/H2O,0.05%TFA改性剂)纯化。冻干后,获得丙-2-炔-1-基5-((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)-2-(((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)苄基(丙-2-炔-1-基)氨基甲酸酯。LC/MS M+H=990.0,Rt=1.47min(2min酸性方法).

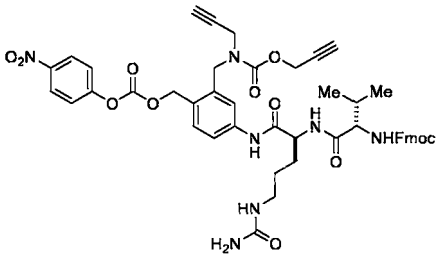
[3481] 合成丙-2-炔-1-基5-((S)-2-((S)-2-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-3-甲

基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(羟基甲基)苄基(丙-2-炔-1-基)氨基甲酸酯

[3482] 

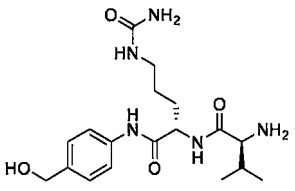
[3483] 向丙-2-炔-1-基5-((S)-2-((S)-2-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-3-甲基丁氨基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(((叔-丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)苄基(丙-2-炔-1-基)氨基甲酸酯(732.0mg,0.740mmol)在THF(5.0mL)中的溶液中添加乙酸(0.127mL,2.220mmol,3.0当量)和在THF中的1.0M TBAF(1.48mL,1.480mmol,2.0当量)。将混合物在室温搅拌20小时。LCMS指示剩余一些起始材料。添加在THF中的1.0M TBAF(0.75mL,0.750mmol,1.0当量)并在室温搅拌20小时。在真空中将溶剂去除,该材料通过ISCO SiO_2色谱法(0-50%MeOH/CH_2Cl_2)纯化,并获得丙-2-炔-1-基5-(,(S)-2-((S)-2-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-3-甲基丁氨基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(羟基甲基)苄基(丙-2-炔-1-基)氨基甲酸酯。LC/MS M+H＝751.6,Rt＝0.99min(2min酸性方法).

[3484] 合成丙-2-炔-1-基5-((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)-2-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苄基(丙-2-炔-1-基)氨基甲酸酯

[3485] 

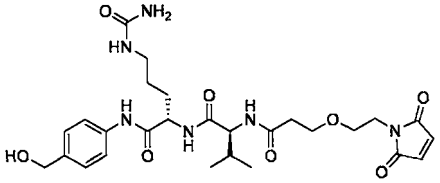
[3486] 根据一般程序1用丙-2-炔-1-基5-((S)-2-((S)-2-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(羟基甲基)苄基(丙-2-炔-1-基)氨基甲酸酯(556.0mg,0.740mmol),获得丙-2-炔-1-基5-((S)-2-((S)-2-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苄基(丙-2-炔-1-基)氨基甲酸酯。LC/MS M+H＝916.8,Rt＝1.16min(2min酸性方法).

[3487] 合成(S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-N-(4-(羟基甲基)苯基)-5-脲基戊酰胺

[3488] 

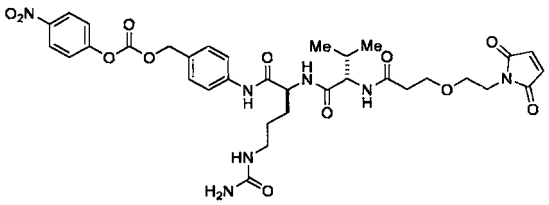
[3489] 根据以下一般程序4所述用叔丁基((S)-1-(((S)-1-((4-(羟基甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯(2.00g,4.17mmol),获得(S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-N-(4-(羟基甲基)苯基)-5-脲基戊酰胺。LC/MS M+H＝380.6,Rt＝0.40min(2min酸性方法).

[3490] 合成(S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-N-(4-(羟基甲基)苯基)-5-脲基戊酰胺

[3491] 

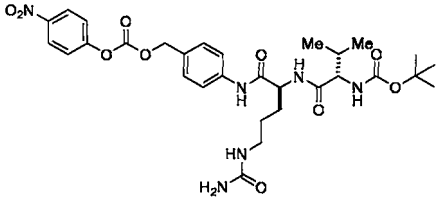
[3492] 根据以下一般程序5所述用2,5-二氧代吡咯烷-1-基3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酸酯(100.0mg,0.322mmol)和(S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-N-(4-(羟基甲基)苯基)-5-脲基戊酰胺(175.0mg,0.355mmol,1.1当量),获得(S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-N-(4-(羟基甲基)苯基)-5-脲基戊酰胺。LC/MS M+H＝575.4,Rt＝0.61min(2min碱性方法).

[3493] 合成4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(4-硝基苯基)碳酸酯

[3494] 

[3495] 根据一般程序1用(S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-N-(4-(羟基甲基)苯基)-5-脲基戊酰胺(126.0mg,0.219mmol),获得4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(4-硝基苯基)碳酸酯。LC/MS M+H＝575.4,Rt＝0.61min(2min碱性方法).

[3496] 合成叔丁基((S)-3-甲基-1-(((S)-1-((4-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯

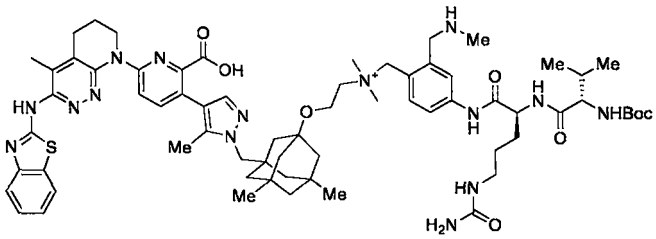
[3497] 

[3498] 根据一般程序1用叔丁基((S)-1-(((S)-1-((4-(羟基甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯(200.0mg,0.417mmol),获得叔丁基((S)-3-甲基-1-(((S)-1-((4-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯。LC/MS M+H＝645.5,Rt＝1.02min(2min酸性方法).

[3499] 一般程序2

[3500] 合成2-(((1s,3r,5R,7S)-3-((4-(6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)-N-(4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰

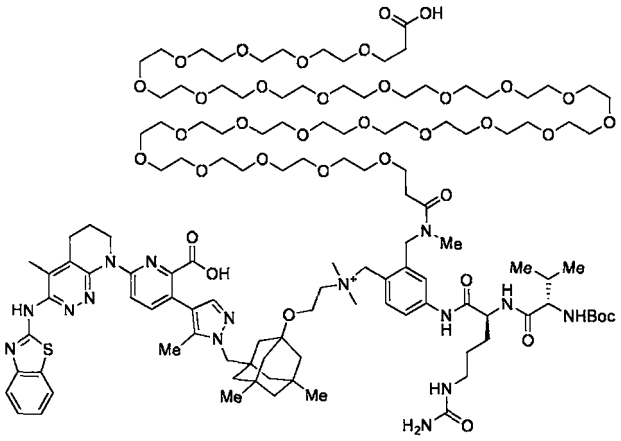
胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((甲基氨基)甲基)苄基)-N,N-二甲基乙-1-铵

[3501] 

[3502] 向6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-3-(1-(((1r,3s,5R,7S)-3-(2-(二甲基氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸(25mg,0.033mmol)、(9H-芴-9-基)甲基(5-((S)-2-((S)-2-((叔-丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁氨基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(氯代甲基)苄基)(甲基)氨基甲酸酯(25mg,0.033mmol,1.0当量)和TBAI(12mg,0.033mmol,1.0当量)在DMSO(1mL)中的悬浮液中添加DIPEA(0.03mL,0.164mmol,5.0当量),并在室温搅拌16小时。添加在THF中的2.0M二甲胺(0.164mL,0.328mmol,10当量)。静置1.5小时后,通过RP-HPLC ISCO金色谱(10-100%MeCN/H2O,0.1%TFA改性剂)纯化溶液。冻干后,获得2-(((1s,3r,5R,7S)-3-((4-(6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)-N-(4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((甲基氨基)甲基)苄基)-N,N-二甲基乙-1-铵。HRMS:M+=1266.3000;Rt=1.85min(5min酸性方法).

[3503] 一般程序3

[3504] 合成2-(((1s,3r,5R,7S)-3-((4-(6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)-N-(4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(80-羧基-2-甲基-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-氮杂八十烷基)苄基)-N,N-二甲基乙-1-铵

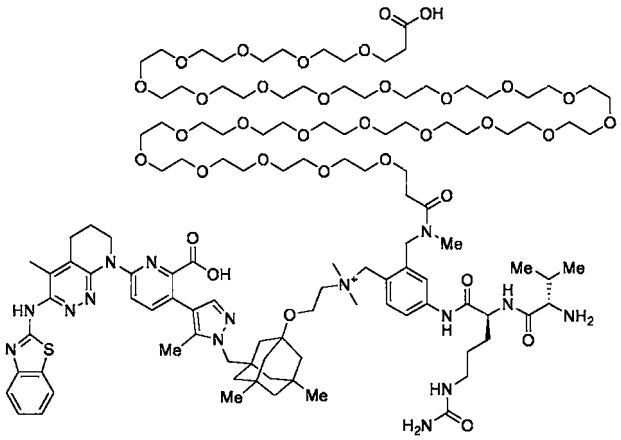
[3505] 

[3506] 向2-(((1s,3r,5R,7S)-3-((4-(6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)-N-(4-((S)-2-((S)-2-((叔-丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁氨

基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((甲基氨基)甲基)苄基)-N,N-二甲基乙-1-胺鎓(42mg,0.027mmol)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(42mg,0.032mmol,1.2当量)在DMF(0.5mL)中的溶液中添加DIPEA(0.023mL,0.133mmol,5.0当量)并在室温搅拌5小时。添加DMSO(2mL)并将溶液通过RP-HPLC ISCO金色谱法(10-100%MeCN/H2O,0.1%TFA改性剂)纯化。冻干后,获得2-(((1s,3r,5R,7S)-3-((4-(6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)-N-(4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(80-羧基-2-甲基-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-氮杂八十烷基)苄基)-N,N-二甲基乙-1-铵。HRMS:M+=2465.7800;Rt=2.15min(5min酸性方法).

[3507] 一般程序4

[3508] 合成N-(4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(80-羧基-2-甲基-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-氮杂八十烷基)苄基)2-(((1s,3r,5R,7S)-3-((4-(6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)-N,N-二甲基乙-1-铵

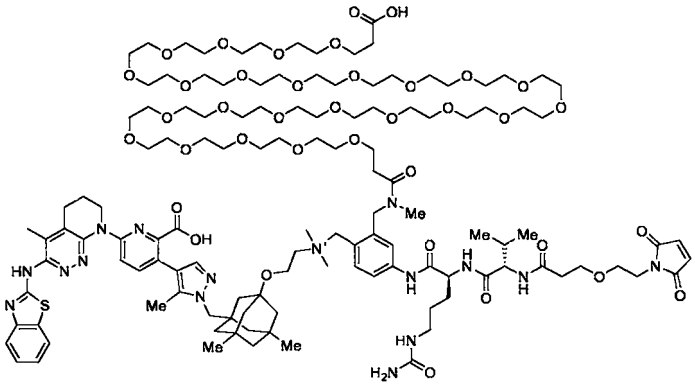
[3509] 

[3510] 在0℃在冰浴中向2-(((1s,3r,5R,7S)-3-((4-(6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)-N-(4-((S)-2-((S)-2-((叔-丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁氨基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(80-羧基-2-甲基-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-氮杂八十烷基)苄基)-N,N-二甲基乙-1-胺鎓(28mg,0.011mmol)在CH_2Cl_2(0.75mL)中的溶液中添加三氟乙酸(0.25mL)。将混合物在冰浴中搅拌1小时,此时真空除去挥发物。添加DMSO(1.5mL)并将溶液通过RP-HPLC ISCO金色谱法(10-100%MeCN/H2O,0.1%TFA改性剂)纯化。冻干后,获得N-(4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(80-羧基-2-甲基-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-氮杂八十烷基)苄基)-2-(((1s,3r,5R,7S)-3-((4-(6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-2-羧基吡啶-3-基)-5-

甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)-N,N-二甲基乙-1-铵。HRMS:M+=2367.3101;Rt=1.86min(5min酸性方法).对于这个一般程序,在某些情况下,胺在没有RP-HPLC纯化的情况下按原样使用。

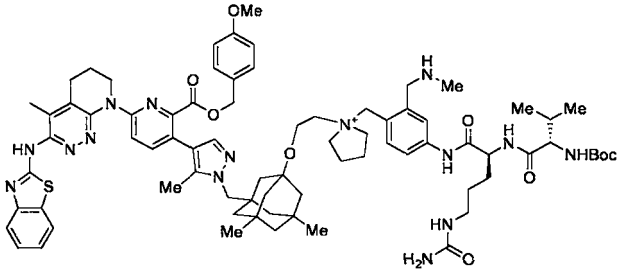
[3511] 一般程序5

[3512] 合成2-(((1s,3r,5R,7S)-3-((4-(6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)-N-(2-(80-羧基-2-甲基-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-氮杂八十烷基)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)-N N-二甲基乙-1-铵(L11A-P27)

[3513] 

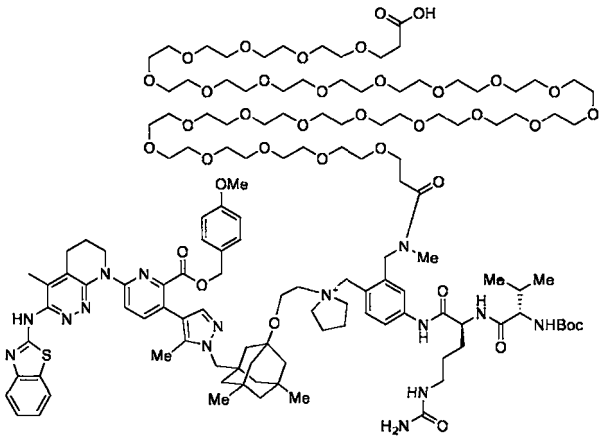
[3514] 向N-(4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁氨基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(80-羧基-2-甲基-3-氧代-6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36,39,42,45,48,51,54,57,60,63,66,69,72,75,78-二十五氧杂-2-氮杂八十烷基)苄基)-2-(((1s,3r,5R,7S)-3-((4-(6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)-N,N-二甲基乙-1-胺鎓(10.0mg,0.004mmol)和2,5-二氧代吡咯烷-1-基3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酸酯(1.4mg,0.005mmol,1.2当量)在DMF(0.5mL)中的溶液中添加DIPEA(6.7μL,0.039mmol,10.0当量)。将混合物在室温搅拌3.5小时。添加DMSO(1.5mL)并将溶液通过RP-HPLC ISCO金色谱法(10-100%MeCN/H2O,0.1%TFA改性剂)纯化。冻干后,获得2-(((1s,3r,5R,7S)-3-((4-(6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)-N-(2-(80-羧基-2-甲基-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-氮杂八十烷基)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)-N,N-二甲基乙-1-铵。HRMS:M+=2562.3401;Rt=2.04min(5min酸性方法).

[3515] 合成1-(2-(((1s,3r,5R,7S)-3-((4-(6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-2-(((4-甲氧基苄基)氧基)羰基)吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙基)-1-(4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((甲基氨基)甲基)苄基)吡咯烷-1-鎓

[3516] 

[3517] 根据一般程序2用4-甲氧基苄基6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-3-(1-(((1r,3R,5S,7s)-3,5-二甲基-7-(2-(吡咯烷-1-基)乙氧基)金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸酯(30.0mg,0.033mmol)和(9H-芴-9-基)甲基(5-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(氯甲基)苄基)(甲基)氨基甲酸酯(25.2mg,0.033mmol,1.0当量),获得1-(2-(((1s,3r,5R,7S)-3-((4-(6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-2-(((4-甲氧基苄基)氧基)羰基)吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙基)-1-(4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((甲基氨基)甲基)苄基)吡咯烷-1-鎓。HRMS:M+=1412.7600;Rt=2.22min(5min酸性方法).

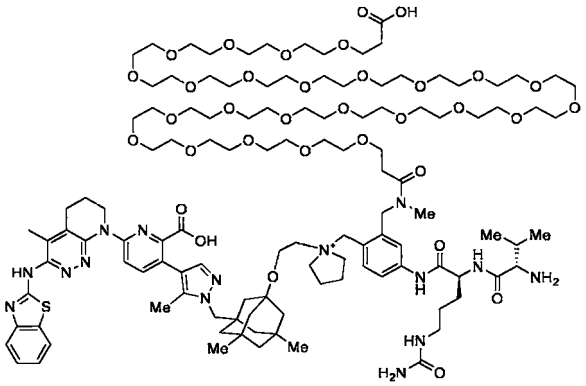
[3518] 合成1-(2-(((1s,3r,5R,7S)-3-((4-(6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-2-(((4-甲氧基苄基)氧基)羰基)吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙基)-1-(4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(80-羧基-2-甲基-3-氧代-6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36,39,42,45,48,51,54,57,60,63,66,69,72,75,78-二十五氧杂-2-氮杂八十烷基)苄基)吡咯烷-1-鎓

[3519] 

[3520] 根据一般程序3用1-(2-(((1s,3r,5R,7S)-3-((4-(6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-2-(((4-甲氧基苄基)氧基)羰基)吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙基)-1-(4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((甲基氨基)甲基)苄基)吡咯烷-1-鎓(42.0mg,0.026mmol)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(40.4mg,0.031mmol,1.2当量),获得1-(2-(((1s,3r,5R,7S)-3-((4-(6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8

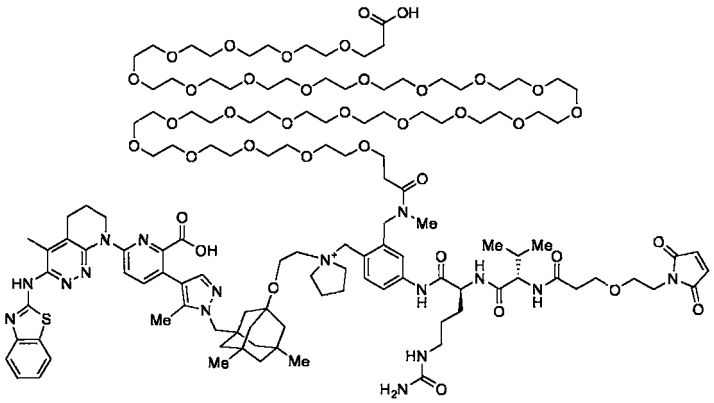
(5H)-基)-2-(((4-甲氧基苄基)氧基)羰基)吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙基)-1-(4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(80-羧基-2-甲基-3-氧代-6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36,39,42,45,48,51,54,57,60,63,66,69,72,75,78-二十五氧杂-2-氮杂八十烷基)苄基)吡咯烷-1-鎓。HRMS:M+=2613.4199;Rt=2.38min(5min酸性方法).

[3521] 合成1-(4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(80-羧基-2-甲基-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-氮杂八十烷基)苄基)-1-(2-(((1s,3r,5R,7S)-3-((4-(6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙基)吡咯烷-1-鎓

[3522] 

[3523] 根据一般程序4用1-(2-(((1s,3r,5R,7S)-3-((4-(6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-2-(((4-甲氧基苄基)氧基)羰基)吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙基)-1-(4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(80-羧基-2-甲基-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-氮杂八十烷基)苄基)吡咯烷-1-鎓(68.0mg,0.26mmol),获得1-(4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(80-羧基-2-甲基-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-氮杂八十烷基)苄基)-1-(2-(((1s,3r,5R,7S)-3-((4-(6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙基)吡咯烷-1-鎓。HRMS:M+=2393.3301;Rt=1.85min(5min酸性方法).

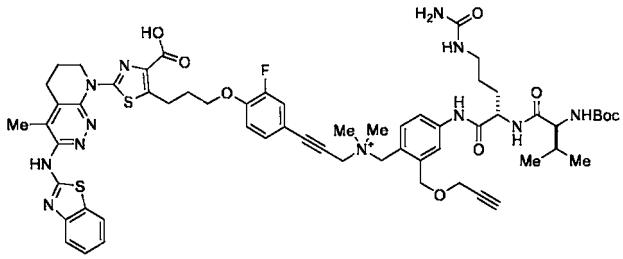
[3524] 合成1-(2-(((1s,3r,5R,7S)-3-((4-(6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙基)-1-(2-(80-羧基-2-甲基-3-氧代-6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36,39,42,45,48,51,54,57,60,63,66,69,72,75,78-二十五氧杂-2-氮杂八十烷基)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)吡咯烷-1-鎓(L11A-P21)

[3525] 

[3526] 根据一般程序5用1-(4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(80-羧基-2-甲基-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-氮杂八十烷基)苄基)-1-(2-(((1s,3r,5R,7S)-3-((4-(6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙基)吡咯烷-1-鎓(26.1mg,0.011mmol)和2,5-二氧代吡咯烷-1-基3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酸酯(5.1mg,0.016mmol,1.5当量),获得1-(2-(((1s,3r,5R,7S)-3-((4-(6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙基)-1-(2-(80-羧基-2-甲基-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-氮杂八十烷基)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)吡咯烷-1-鎓。HRMS:M+=2588.3899;Rt=2.05min(5min酸性方法).

[3527] 一般程序6

[3528] 合成3-(4-(3-(2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-4-羧基噻唑-5-基)丙氧基)-3-氟苯基)-N-(4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苄基)-N,N-二甲基丙-2-炔-1-铵

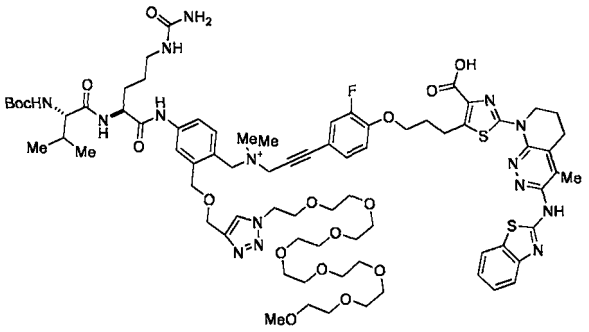
[3529] 

[3530] 向2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-5-(3-(4-(3-(二甲基氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟代苯氧基)丙基)噻唑-4-甲酸(75.0mg,0.114mmol)和叔-丁基((S)-1-(((S)-1-((4-(氯代甲基)-3-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁酰-2-基)氨基甲酸酯(103.0mg,0.182mmol,1.6当量)在DMSO(2.0ml)中的悬浮液中添加TBAI(67.4mg,0.182mmol,1.6当量)和DIPEA(0.16mL,0.912mmol,9.0当量)。混合物溶解成溶液并在室温

搅拌2小时。此后,通过RP-HPLC ISCO金色谱法(10-70%MeCN/H2O,0.1%TFA改性剂)纯化溶液。冻干后,获得3-(4-(3-(2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-4-羧基噻唑-5-基)丙氧基)-3-氟苯基)-N-(4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苄基)-N,N-二甲基丙-2-炔-1-铵。LCMS:M+=1187.6;Rt=0.93min(2min酸性方法).

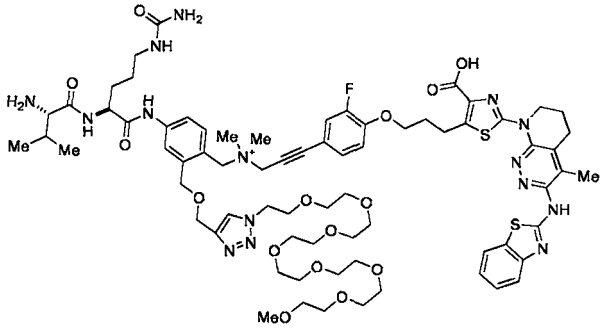
[3531] 一般程序7

[3532] 合成N-(2-(((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)甲基)-4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)-3-(4-(3-(2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-4-羧基噻唑-5-基)丙氧基)-3-氟苯基)-N,N-二甲基丙-2-炔-1-铵

[3533] 

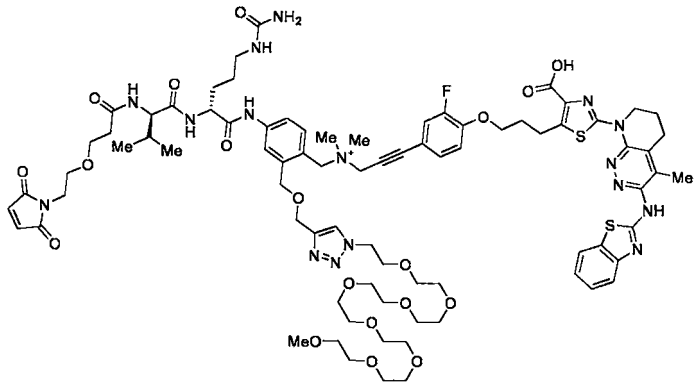
[3534] 将有3-(4-(3-(2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7--二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-4-羧基噻唑-5-基)丙氧基)-3-氟代苯基)-N-(4-((S)-2-((S)-2-((叔-丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁氨基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苄基)-N,N-二甲基丙-2-炔-1-胺鎓(50.0mg,0.042mmol)、25-叠氮基-2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷(34.5mg,0.084mmol,2.0当量)、(R)-2-((S)-1,2-二羟基乙基)-4-羟基-5-氧代-2,5-二氢呋喃-3-醇酸钠(12.5mg,0.63mmol,1.5当量)和五水合硫酸铜(II)(2.1mg,0.008mmol,0.2当量)的烧瓶密封并用$N_2$3x抽空/吹扫,通过注射器添加叔丁醇(5.0mL)和水(0.5mL)。将混合物在室温搅拌2小时。添加DMSO(1mL)并将溶液通过RP-HPLC ISCO金色谱法(0-100%MeCN/H2O,0.1%TFA改性剂)纯化。冻干后,获得N-(2-(((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)甲基)-4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)-3-(4-(3-(2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-4-羧基噻唑-5-基)丙氧基)-3-氟苯基)-N,N-二甲基丙-2-炔-1-铵。HRMS:M+=1596.7531;Rt=1.18min(2min酸性方法).对于这个一般程序,在某些情况下,使用DMF或DMSO代替叔丁醇。

[3535] 合成N-(2-(((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)甲基)-4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)-3-(4-(3-(2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-4-羧基噻唑-5-基)丙氧基)-3-氟苯基)-N,N-二甲基丙-2-炔-1-铵

[3536] 

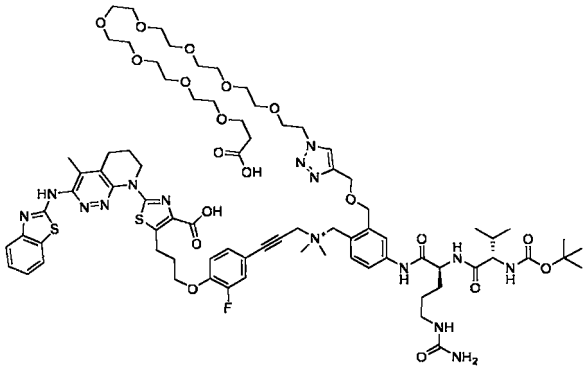
[3537] 根据一般程序4用N-(2-(((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)甲基)-4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)-3-(4-(3-(2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-4-羧基噻唑-5-基)丙氧基)-3-氟苯基)-N,N-二甲基丙-2-炔-1-铵(30.0mg,0.019mmol),获得N-(2-(((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)甲基)-4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)-3-(4-(3-(2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-4-羧基噻唑-5-基)丙氧基)-3-氟苯基)-N,N-二甲基丙-2-炔-1-铵。LCMS:M+=1497.2;Rt=1.94min(5min酸性方法).

[3538] 合成N-(2-(((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)甲基)-4-((R)-2-((R)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)-3-(4-(3-(2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-4-羧基噻唑-5-基)丙氧基)-3-氟苯基)-N,N-二甲基丙-2-炔-1-铵(L8A-P1)

[3539] 

[3540] 根据一般程序5用N-(2-(((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)甲基)-4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)-3-(4-(3-(2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-4-羧基噻唑-5-基)丙氧基)-3-氟苯基)-N,N-二甲基丙-2-炔-1-铵(24.0mg,0.016mmol),获得N-(2-(((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)甲基)-4-((R)-2-((R)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)-3-(4-(3-(2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-4-羧基噻唑-5-基)丙氧基)-3-氟苯基)-N,N-二甲基丙-2-炔-1-铵。HRMS:M+=1691.7500;Rt=4.35min(5min酸性方法).

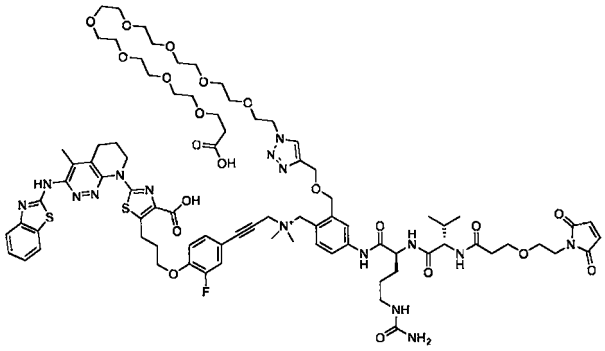
[3541] 合成3-(4-(3-(2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-4-羧基噻唑-5-基)丙氧基)-3-氟苯基)-N-(4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(((1-(26-羧基-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂二十六基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)甲基)苄基)-N,N-二甲基丙-2-炔-1-铵

[3542] 

[3543] 根据一般程序7用3-(4-(3-(2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)4-羧基噻唑-5-基)丙氧基)-3-氟苯基)-N-(4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苄基)-N,N-二甲基丙-2-炔-1-铵(50.0mg,0.042mmol)和1-叠氮基-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂二十七-27-烷酸(39.4mg,0.084mmol,2.0当量),获得3-(4-(3-(2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-4-羧基噻唑-5-基)丙氧基)-3-氟苯基)-N-(4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(((1-(26-羧基-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂二十六基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)甲基)苄基)-N,N-二甲基丙-2-炔-1-铵。LCMS:1/2M+=828.1;Rt=0.71min(2min酸性方法).

[3544] 一般程序8

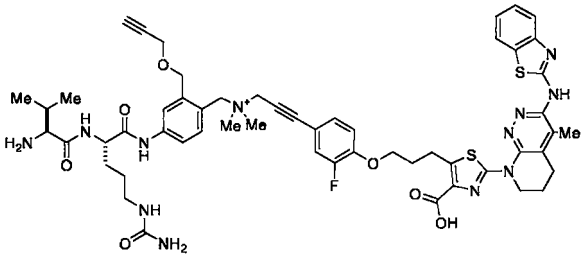
[3545] 合成3-(4-(3-(2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-4-羧基噻唑-5-基)丙氧基)-3-氟苯基)-N-(2-(((1-(26-羧基-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂二十六基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)甲基)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)-N,N-二甲基丙-2-炔-1-铵(L7A-P1)

[3546] 

[3547] 将3-(4-(3-(2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-4-羧基噻唑-5-基)丙氧基)-3-氟代苯基)-N-(4-((S)-2-((S)-2-((叔-丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁氨基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(((1-(26-羧基-3,6,9,12,15,18,21,

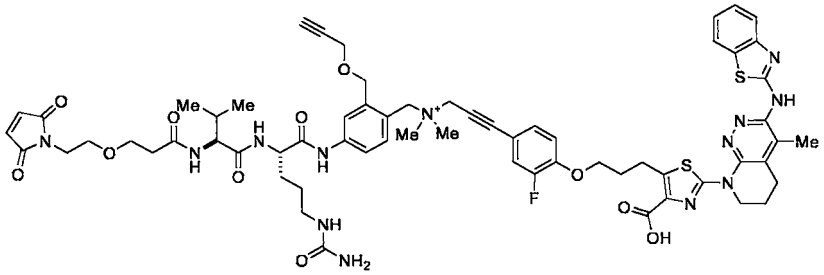
24-八氧杂六二十级基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)甲基)苄基)-N,N-二甲基丙-2-炔-1-胺鎓(32.2mg,0.019mmol)在DCM/TFA(3:1,2.6mL)中的溶液冷却至0℃并在此温度搅拌1小时。在减压下蒸发混合物以产生粗de-Boc中间体后,将粗产物溶解在DMF(0.5mL)中和接着添加2,5-二氧代吡咯烷-1-基3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酸酯(12.1mg,0.039mmol,2.0当量)和DIPEA(0.1mL,0.584mmol,30.0当量)。将混合物在室温搅拌30分钟。通过RP-HPLC ISCO金色谱法(0-100%MeCN/H2O,0.1%TFA改性剂)纯化溶液。冻干后,获得3-(4-(3-(2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-4-羧基噻唑-5-基)丙氧基)-3-氟苯基)-N-(2-(((1-(26-羧基-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂二十六基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)甲基)4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)-N,N-二甲基丙-2-炔-1-铵。HRMS:M+=1749.7400;Rt=2.51min(5min酸性方法).

[3548] 合成N-(4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苄基)-3-(4-(3-(2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-4-羧基噻唑-5-基)丙氧基)-3-氟苯基)-N,N-二甲基丙-2-炔-1-铵

[3549] 

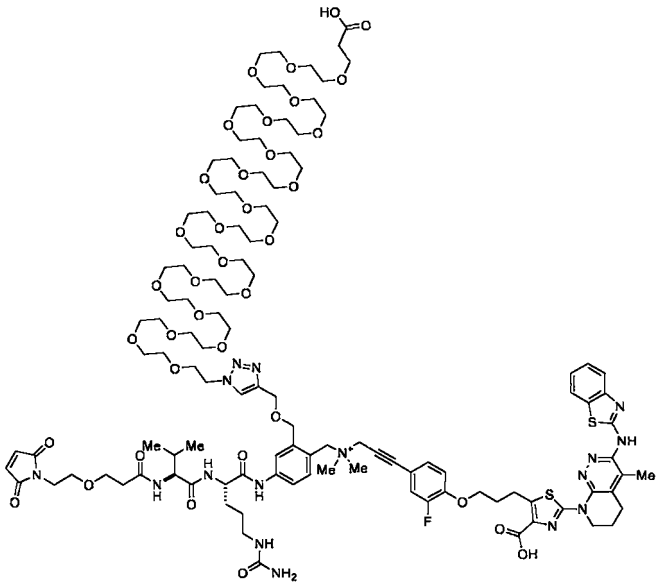
[3550] 根据一般程序4用3-(4-(3-(2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-4-羧基噻唑-5-基)丙氧基)-3-氟苯基)-N-(4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苄基)-N,N-二甲基丙-2-炔-1-铵(263.0mg,0.221mmol),获得N-(4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苄基)-3-(4-(3-(2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-4-羧基噻唑-5-基)丙氧基)-3-氟苯基)-N,N-二甲基丙-2-炔-1-铵。HRMS:M+=1087.2700;Rt=1.85min(5min酸性方法).

[3551] 合成3-(4-(3-(2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-4-羧基噻唑-5-基)丙氧基)-3-氟苯基)-N-(4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苄基)-N,N-二甲基丙-2-炔-1-铵

[3552] 

[3553] 根据一般程序5用N-(4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苄基)-3-(4-(3-(2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-4-羧基噻唑-5-基)丙氧基)-3-氟苯基)-N,N-二甲基丙-2-炔-1-铵(77.0mg,0.050mmol)和2,5-二氧代吡咯烷-1-基3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酸酯(23.2mg,0.075mmol,1.5当量),获得3-(4-(3-(2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-4-羧基噻唑-5-基)丙氧基)-3-氟苯基)-N-(4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苄基)-N,N-二甲基丙-2-炔-1-铵。HRMS:M+=1282.4800;Rt=2.15min(5min酸性方法).

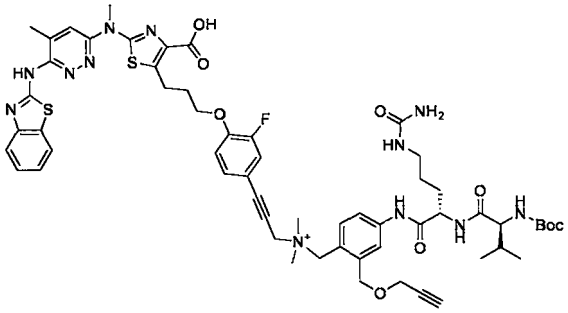
[3554] 合成3-(4-(3-(2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-4-羧基噻唑-5-基)丙氧基)-3-氟苯基)-N-(2-(((1-(74-羧基-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36,39,42,45,48,51,54,57,60,63,66,69,72-二十四氧杂七十四基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)甲基)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)-N,N-二甲基丙-2-炔-1-铵(L109A-P1)

[3555] 

[3556] 根据一般程序7用3-(4-(3-(2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-4-羧基噻唑-5-基)丙氧基)-3-氟苯基)-N-(4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苄基)-N,N-二甲基丙-2-炔-1-铵(51.8mg,0.037mmol)和1-叠氮基-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36,39,42,45,48,51,54,57,

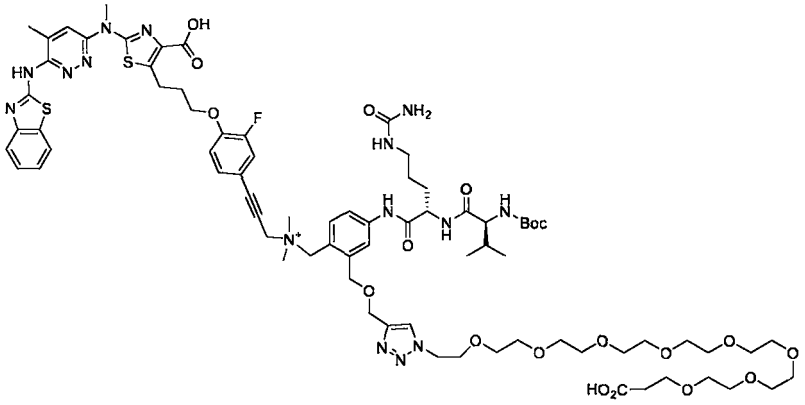
60,63,66,69,72-二十四氧杂七十五-75-烷酸(87.0mg,0.074mmol,2.0当量),获得3-(4-(3-(2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-4-羧基噻唑-5-基)丙氧基)-3-氟苯基)-N-(2-(((1-(74-羧基-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36,39,42,45,48,51,54,57,60,63,66,69,72-二十四氧杂七十四基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)甲基)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)-N,N-二甲基丙-2-炔-1-铵。HRMS:M+=2453.8899;Rt=2.17min(5min酸性方法).

[3557] 合成3-(4-(3-(2-((6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)(甲基)氨基)-4-羧基噻唑-5-基)丙氧基)-3-氟苯基)-N-(4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苄基)-N,N-二甲基丙-2-炔-1-铵

[3558] 

[3559] 根据一般程序6用2-((6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)(甲基)氨基)-5-(3-(4-(3-(二甲基氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)噻唑-4-甲酸(50.0mg,0.079mmol)和叔丁基((S)-1-(((S)-1-((4-(氯甲基)-3-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯(71.7mg,0.127mmol,1.6当量),获得3-(4-(3-(2-((6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)(甲基)氨基)-4-羧基噻唑-5-基)丙氧基)-3-氟苯基)-N-(4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苄基)-N,N-二甲基丙-2-炔-1-铵。LCMS:M+=1162.2;Rt=0.94分钟(2分钟碱性方法)。

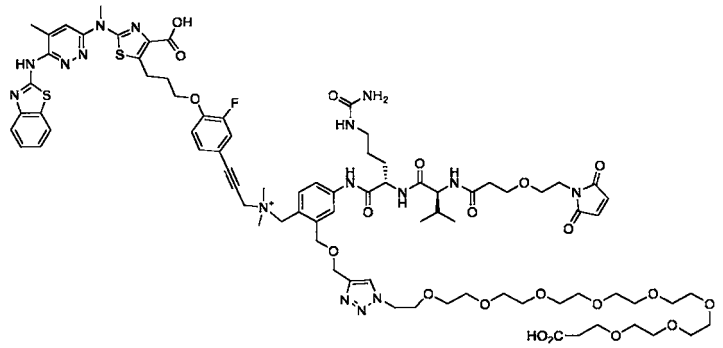
[3560] 合成3-(4-(3-(2-((6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)(甲基)氨基)-4-羧基噻唑-5-基)丙氧基)-3-氟苯基)-N-(4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(((1-(26-羧基-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂二十六基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)甲基)苄基)-N,N-二甲基丙-2-炔-1-铵

[3561] 

[3562] 根据一般程序7用3-(4-(3-(2-((6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)

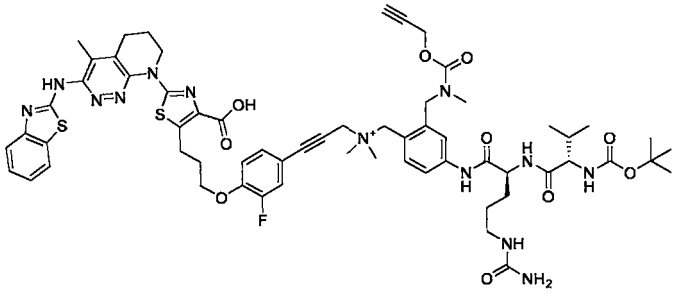
(甲基)氨基)-4-羧基噻唑-5-基)丙氧基)-3-氟苯基)-N-(4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苄基)-N,N-二甲基丙-2-炔-1-铵(40.0mg,0.034mmol)和1-叠氮基-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂二十七-27-烷酸(25.8mg,0.055mmol,1.6当量),获得3-(4-(3-(2-((6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)(甲基)氨基)-4-羧基噻唑-5-基)丙氧基)-3-氟苯基)-N-(4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(((1-(26-羧基-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂二十六基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)甲基)苄基)-N,N-二甲基丙-2-炔-1-铵。LCMS:M/2+=815.4;Rt=0.99min(2min酸性方法).

[3563] 合成3-(4-(3-(2-((6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)(甲基)氨基)-4-羧基噻唑-5-基)丙氧基)-3-氟苯基)-N-(2-(((1-(26-羧基-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂二十六基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)甲基)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)-N,N-二甲基丙-2-炔-1-铵(L7A-P2)

[3564] 

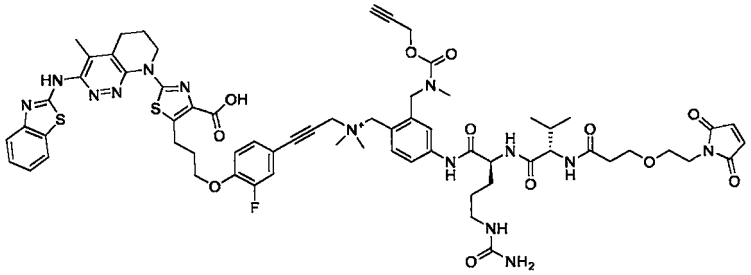
[3565] 根据一般程序8用3-(4-(3-(2-((6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)(甲基)氨基)-4-羧基噻唑-5-基)丙氧基)-3-氟苯基)-N-(4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(((1-(26-羧基-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂二十六基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)甲基)苄基)-N,N-二甲基丙-2-炔-1-铵(37.0mg,0.023mmol)和2,5-二氧代吡咯烷-1-基3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酸酯(10.6mg,0.034mmol,1.5当量),获得3-(4-(3-(2-((6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)(甲基)氨基)-4-羧基噻唑-5-基)丙氧基)-3-氟苯基)-N-(2-(((1-(26-羧基-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂二十六基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)甲基)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)-N,N-二甲基丙-2-炔-1-铵。LCMS:M-=1722.9;Rt=0.91min(2min酸性方法).

[3566] 合成3-(4-(3-(2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-4-羧基噻唑-5-基)丙氧基)-3-氟苯基)-N-(4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((甲基((丙-2-炔-1-基氧基)羰基)氨基)甲基)苄基)-N,N-二甲基丙-2-炔-1-铵

[3567] 

[3568] 根据一般程序6用2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-5-(3-(4-(3-(二甲基氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)噻唑-4-甲酸(118.0mg,0.170mmol)和丙-2-炔-1-基5-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(氯甲基)苄基(甲基)氨基甲酸酯(127.0mg,0.204mmol,1.2当量),获得3-(4-(3-(2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-4-羧基噻唑-5-基)丙氧基)-3-氟苯基)-N-(4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((甲基((丙-2-炔-1-基氧基)羰基)氨基)甲基)苄基)-N,N-二甲基丙-2-炔-1-铵。HRMS:M+＝1244.5100;Rt＝2.42min(5min酸性方法).

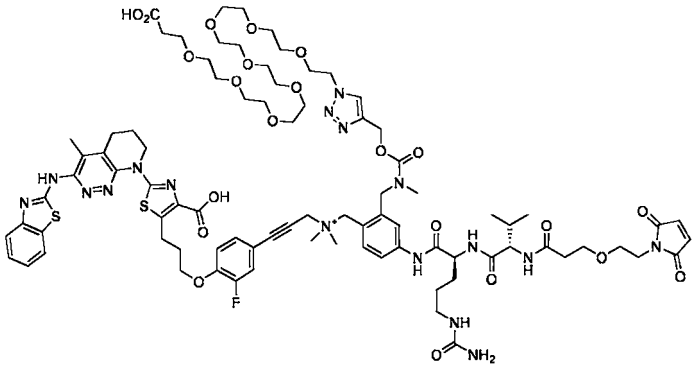
[3569] 合成3-(4-(3-(2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-4-羧基噻唑-5-基)丙氧基)-3-氟苯基)-N-(4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((甲基((丙-2-炔-1-基氧基)羰基)氨基)甲基)苄基)-N,N-二甲基丙-2-炔-1-铵

[3570] 

[3571] 根据一般程序8用3-(4-(3-(2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-4-羧基噻唑-5-基)丙氧基)-3-氟苯基)-N-(4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((甲基((丙-2-炔-1-基氧基)羰基)氨基)甲基)苄基)-N,N-二甲基丙-2-炔-1-铵(65.0mg,0.052mmol)和2,5-二氧代吡咯烷-1-基3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酸酯(32.4mg,0.104mmol,2.0当量),获得3-(4-(3-(2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-4-羧基噻唑-5-基)丙氧基)-3-氟苯基)-N-(4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((甲基((丙-2-炔-1-基氧基)羰基)氨基)甲基)苄基)-N,N-二甲基丙-2-炔-1-铵。LCMS:M+＝1341.1;Rt＝2.20min(5min酸性方法).

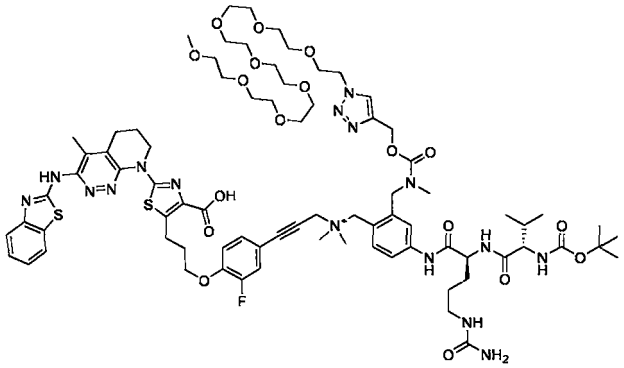
[3572] 合成3-(4-(3-(2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-4-羧基噻唑-5-基)丙氧基)-3-氟苯基)-N-(2-(((((1-(26-羧基-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂二十六基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)羰基)(甲基)氨基)甲基)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-

3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)-N,N-二甲基丙-2-炔-1-铵(L3A-P1)

[3573] 

[3574] 根据一般程序7用3-(4-(3-(2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-4-羧基噻唑-5-基)丙氧基)-3-氟苯基)-N-(4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((甲基((丙-2-炔-1-基氧基)羰基)氨基)甲基)苄基)-N,N-二甲基丙-2-炔-1-铵(65.0mg,0.049mmol)和1-叠氮基-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂二十七-27-烷酸(45.4mg,0.097mmol,2.0当量),获得3-(4-(3-(2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-4-羧基噻唑-5-基)丙氧基)-3-氟苯基)-N-(2-(((((1-(26-羧基-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂二十六基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)羰基)(甲基)氨基)甲基)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)-N,N-二甲基丙-2-炔-1-铵。HRMS:M+=1806.7700;Rt=2.05min(5min酸性方法).

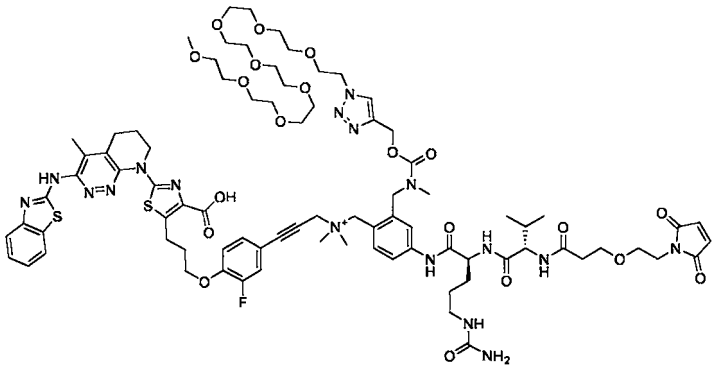
[3575] 合成N-(2-(((((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)羰基)(甲基)氨基)甲基)-4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)-3-(4-(3-(2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-4-羧基噻唑-5-基)丙氧基)-3-氟苯基)-N,N-二甲基丙-2-炔-1-铵

[3576] 

[3577] 根据一般程序7用3-(4-(3-(2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-4-羧基噻唑-5-基)丙氧基)-3-氟苯基)-N-(4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((甲基((丙-2-炔-1-基氧基)羰基)氨基)甲基)苄基)-N,N-二甲基丙-2-炔-1-铵(36.0mg,0.029mmol)和25-叠氮基-2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷(23.7mg,0.058mmol,2.0当量),获得N-(2-(((((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)

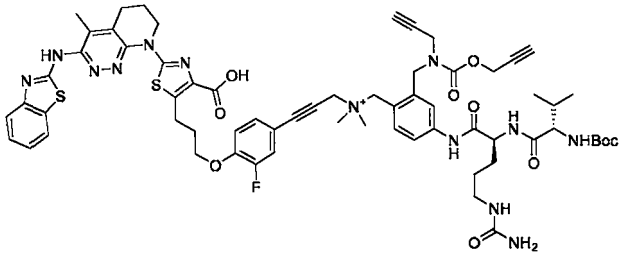
羰基)(甲基)氨基)甲基)-4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)-3-(4-(3-(2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)4-羧基噻唑-5-基)丙氧基)-3-氟苯基)-N,N-二甲基丙-2-炔-1-铵。HRMS:M+=1653.7500;Rt=2.29min(5min酸性方法).

[3578] 合成N-(2-(((((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)羰基)(甲基)氨基)甲基)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)-3-(4-(3-(2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-4-羧基噻唑-5-基)丙氧基)-3-氟苯基)-N,N-二甲基丙-2-炔-1-铵(L4A-P1)

[3579] 

[3580] 根据一般程序8用N-(2-(((((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)羰基)(甲基)氨基)甲基)-4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)-3-(4-(3-(2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-4-羧基噻唑-5-基)丙氧基)-3-氟苯基)-N,N-二甲基丙-2-炔-1-铵(19.6mg,0.012mmol)和2,5-二氧代吡咯烷-1-基3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酸酯(7.4mg,0.024mmol,2.0当量),获得N-(2-(((((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)羰基)(甲基)氨基)甲基)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)-3-(4-(3-(2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-4-羧基噻唑-5-基)丙氧基)-3-氟苯基)-N,N-二甲基丙-2-炔-1-铵。HRMS:M+=1748.7600;Rt=2.15min(5min酸性方法).

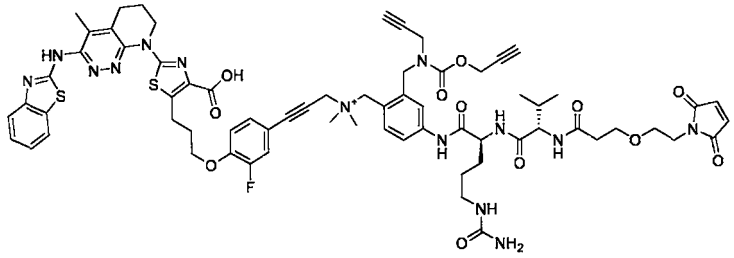
[3581] 合成3-(4-(3-(2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-4-羧基噻唑-5-基)丙氧基)-3-氟苯基)-N-(4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((丙-2-炔-1-基((丙-2-炔-1-基氧基)羰基)氨基)甲基)苄基)-N,N-二甲基丙-2-炔-1-铵

[3582] 

[3583] 根据一般程序6用2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-

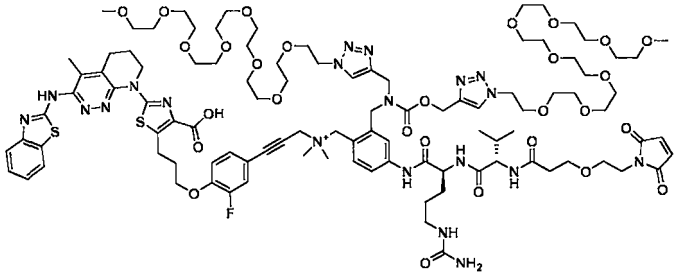
c]哒嗪-8(5H)-基)-5-(3-(4-(3-(二甲基氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)噻唑-4-甲酸(50.0mg,0.076mmol)和丙-2-炔-1-基5-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(氯甲基)苄基(丙-2-炔-1-基)氨基甲酸酯(73.8mg,0.114mmol,1.5当量),获得3-(4-(3-(2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-4-羧基噻唑-5-基)丙氧基)-3-氟苯基)-N-(4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((丙-2-炔-1-基((丙-2-炔-1-基氧基)羰基)氨基)甲基)苄基)-N,N-二甲基丙-2-炔-1-铵。LCMS:M+=1269.2;Rt=2.24分钟(5分钟碱性方法)。

[3584] 合成3-(4-(3-(2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-4-羧基噻唑-5-基)丙氧基)-3-氟苯基)-N-(4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((丙-2-炔-1-基((丙-2-炔-1-基氧基)羰基)氨基)甲基)苄基)-N,N-二甲基丙-2-炔-1-铵

[3585] 

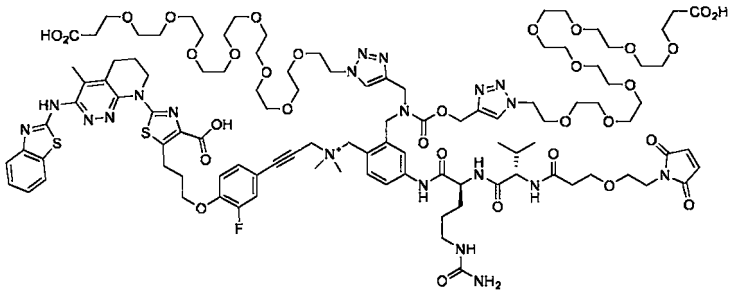
[3586] 根据一般程序8用3-(4-(3-(2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7--二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-4-羧基噻唑-5-基)丙氧基)-3-氟苯基)-N-(4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((丙-2-炔-1-基((丙-2-炔-1-基氧基)羰基)氨基)甲基)苄基)-N,N-二甲基丙-2-炔-1-铵(45-9mg,0.036mmol)和2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酸酯(22.3mg,0.072mmol,2.0当量),获得3-(4-(3-(2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-4-羧基噻唑-5-基)丙氧基)-3-氟苯基)-N-(4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((丙-2-炔-1-基((丙-2-炔-1-基氧基)羰基)氨基)甲基)苄基)-N,N-二甲基丙-2-炔-1-铵。HRMS:M+=1363.5100;Rt=2.26min(5min酸性方法).

[3587] 合成N-(2-(((((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)羰基)((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲基)氨基)甲基)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)-3-(4-(3-(2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-4-羧基噻唑-5-基)丙氧基)-3-氟苯基)-N N-二甲基丙-2-炔-1-铵(L1A-P1)

[3588] 

[3589] 根据一般程序7用3-(4-(3-(2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-4-羧基噻唑-5-基)丙氧基)-3-氟苯基)-N-(4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((丙-2-炔-1-基((丙-2-炔-1-基氧基)羰基)氨基)甲基)苄基)-N,N-二甲基丙-2-炔-1-铵(21.9mg,0.016mmol)和1-叠氮基-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂二十六烷(51.0mg,0.120mmol,7.5当量),获得N-(2-(((((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)羰基)((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲基)氨基)甲基)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)-3-(4-(3-(2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-4-羧基噻唑-5-基)丙氧基)-3-氟苯基)-N,N-二甲基丙-2-炔-1-铵。HRMS:M+=2181.9800;Rt=2.31min(5min酸性方法).

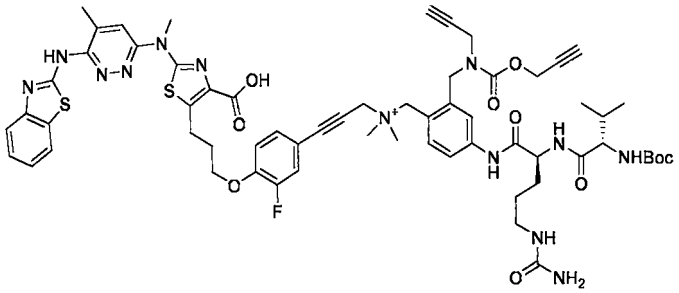
[3590] 合成3-(4-(3-(2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-4-羧基噻唑-5-基)丙氧基)-3-氟苯基)-N-(2-(((((1-(26-羧基-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂二十六基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)羰基)((1-(26-羧基-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂二十六基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲基)氨基)甲基)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)-N,N-二甲基丙-2-炔-1-铵(L10A-P1)

[3591] 

[3592] 根据一般程序7用3-(4-(3-(2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-4-羧基噻唑-5-基)丙氧基)-3-氟苯基)-N-(4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((丙-2-炔-1-基((丙-2-炔-1-基氧基)羰基)氨基)甲基)苄基)-N,N-二甲基丙-2-炔-1-铵(20.0mg,0.015mmol)和1-叠氮基-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂二十七-27-烷酸(51.4mg,0.110mmol,7.5当量),获得3-(4-(3-(2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-4-羧基噻唑-5-基)丙氧基)-3-氟苯基)-N-(2-(((((1-(26-羧基-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂二十六基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)羰基)((1-(26-羧基-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂二十六基)-1H-1,2,3-

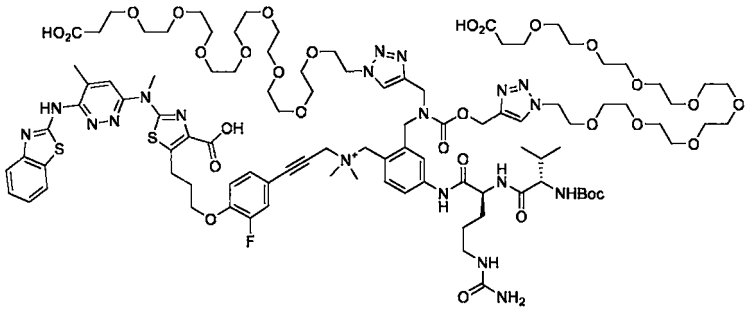
三唑-4-基)甲基)氨基)甲基)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)-N,N-二甲基丙-2-炔-1-铵。HRMS:M+=2298.0100;Rt=2.44min(5min酸性方法).

[3593] 合成2-((6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)(甲基)氨基)-5-(3-(4-(3-((4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((丙-2-炔-1-基((丙-2-炔-1-基氧基)羰基)氨基)甲基)苄基)二甲基氨)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)噻唑-4-甲酸酯

[3594] 

[3595] 根据一般程序6用2-((6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)(甲基)氨基)-5-(3-(4-(3-(二甲基氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)噻唑-4-甲酸(50.0mg,0.079mmol)和丙-2-炔-1-基5-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(氯甲基)苄基(丙-2-炔-1-基)氨基甲酸酯(61.5mg,0.095mmol,1.2当量),获得2-((6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)(甲基)氨基)-5-(3-(4-(3-((4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((丙-2-炔-1-基((丙-2-炔-1-基氧基)羰基)氨基)甲基)苄基)二甲基氨)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)噻唑-4-甲酸酯。LCMS:M+=1243.2;Rt=2.27min(5min酸性方法).

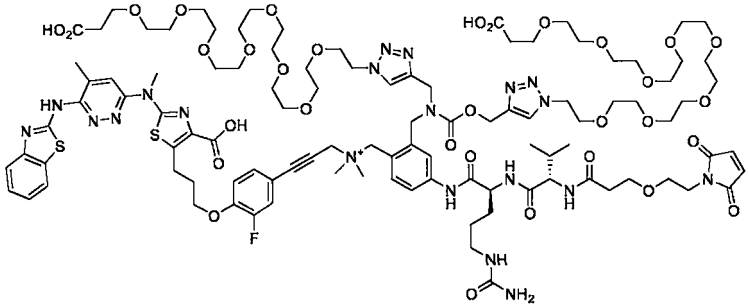
[3596] 合成3-(4-(3-(2-((6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)(甲基)氨基)-4-羧基噻唑-5-基)丙氧基)-3-氟苯基)-N-(4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(((((1-(26-羧基-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂二十六基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)羰基)((1-(26-羧基-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂二十六基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲基)氨基)甲基)苄基)-N,N-二甲基丙-2-炔-1-铵

[3597] 

[3598] 根据一般程序7用3-(4-(3-(2-((6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)(甲基)氨基)-4-羧基噻唑-5-基)丙氧基)-3-氟苯基)-N-(4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((丙-2-炔-1-基((丙-2-炔-1-基氧基)羰基)氨基)甲基)苄基)-N,N-二甲基丙-2-炔-1-铵(21.8mg,0.018mmol)和1-叠氮基-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂二十七-27-烷酸(32.8mg,0.070mmol,4.0当量),获得3-(4-(3-

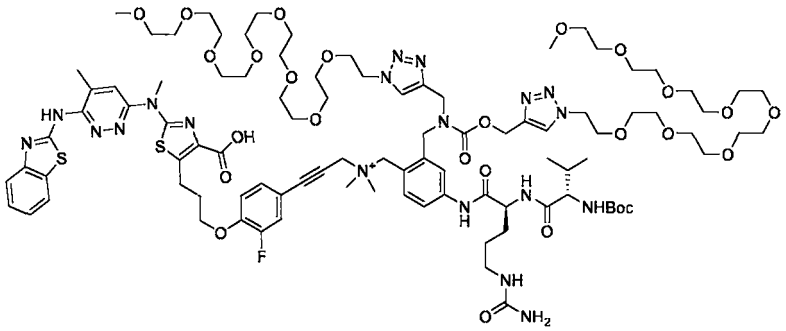
(2-((6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)(甲基)氨基)-4-羧基噻唑-5-基)丙氧基)-3-氟苯基)-N-(4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(((((1-(26-羧基-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂二十六基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)羰基)((1-(26-羧基-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂二十六基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲基)氨基)甲基)苄基)-N,N-二甲基丙-2-炔-1-铵。HRMS:M+=2176.8301;Rt=2.25min(5min酸性方法).

[3599] 合成3-(4-(3-(2-((6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)(甲基)氨基)-4-羧基噻唑-5-基)丙氧基)-3-氟苯基)-N-(2-(((((1-(26-羧基-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂二十六基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)羰基)((1-(26-羧基-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂二十六基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲基)氨基)甲基)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)-N,N-二甲基丙-2-炔-1-铵(L10A-P2)

[3600] 

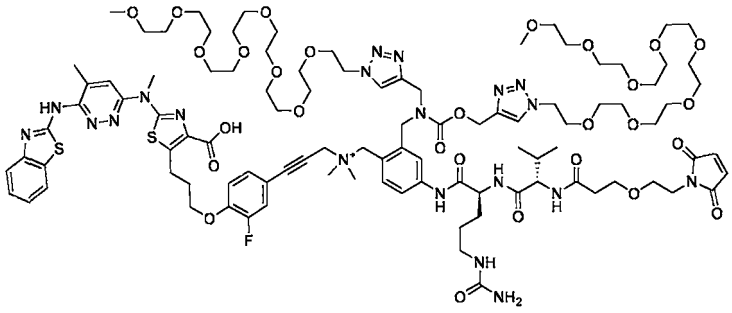
[3601] 根据一般程序8用3-(4-(3-(2-((6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)(甲基)氨基)-4-羧基噻唑-5-基)丙氧基)-3-氟苯基)-N-(4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(((((1-(26-羧基-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂二十六基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)羰基)((1-(26-羧基-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂二十六基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲基)氨基)甲基)苄基)-N,N-二甲基丙-2-炔-1-铵(17.8mg,0.008mmol)和2,5-二氧代吡咯烷-1-基3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酸酯(10.2mg,0.033mmol,4.0当量),获得3-(4-(3-(2-((6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)(甲基)氨基)-4-羧基噻唑-5-基)丙氧基)-3-氟苯基)-N-(2-(((((1-(26-羧基-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂二十六基)-1H-1,2,3-三唑4-基)甲氧基)羰基)((1-(26-羧基-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂二十六基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲基)氨基)甲基)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)-N,N-二甲基丙-2-炔-1-铵。HRMS:M+=2271.8186;Rt=2.12min(5min酸性方法).

[3602] 合成N-(2-(((((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)羰基)((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲基)氨基)甲基)-4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)-3-(4-(3-(2-((6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)(甲基)氨基)-4-羧基噻唑-5-基)丙氧基)-3-氟苯基)-N,N-二甲基丙-2-炔-1-铵

[3603] 

[3604] 根据一般程序7用3-(4-(3-(2-((6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)(甲基)氨基)-4-羧基噻唑-5-基)丙氧基)-3-氟苯基)-N-(4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((丙-2-炔-1-基((丙-2-炔-1-基氧基)羰基)氨基)甲基)苄基)-N,N-二甲基丙-2-炔-1-铵(22.6mg,0.018mmol)和25-叠氮基-2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷(29.8mg,0.073mmol,4.0当量),获得N-(2-(((((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)羰基)((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲基)氨基)甲基)-4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)-3-(4-(3-(2-((6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)(甲基)氨基)-4-羧基噻唑-5-基)丙氧基)-3-氟苯基)-N,N-二甲基丙-2-炔-1-铵。LCMS:M/2+=1032.3;Rt=2.25min(5min酸性方法).

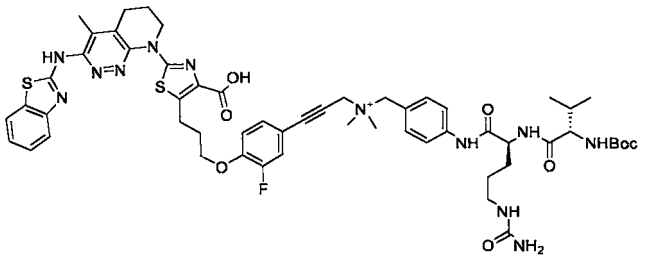
[3605] 合成N-(2-(((((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)羰基)((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲基)氨基)甲基)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)-3-(4-(3-(2-((6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)(甲基)氨基)-4-羧基噻唑-5-基)丙氧基)-3-氟苯基)-N,N-二甲基丙-2-炔-1-铵(L1A-P2)

[3606] 

[3607] 根据一般程序8用N-(2-(((((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)羰基)((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲基)氨基)甲基)-4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)-3-(4-(3-(2-((6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)(甲基)氨基)-4-羧基噻唑-5-基)丙氧基)-3-氟苯基)-N,N-二甲基丙-2-炔-1-铵(23.0mg,0.011mmol)和2,5-二氧代吡咯烷-1-基3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酸酯(10.4mg,0.033mmol,3.0当量),获得N-(2-(((((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)羰基)((1-(2,

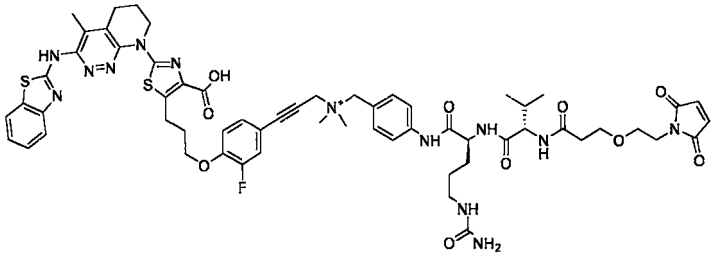
5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲基)氨基)甲基)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)-3-(4-(3-(2-((6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)(甲基)氨基)-4-羧基噻唑-5-基)丙氧基)-3-氟苯基)-N,N-二甲基丙-2-炔-1-铵。HRMS:M+=2155.8176;Rt=2.23min(5min酸性方法).

[3608] 合成3-(4-(3-(2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-4-羧基噻唑-5-基)丙氧基)-3-氟苯基)-N-(4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)-N,N-二甲基丙-2-炔-1-铵

[3609] 

[3610] 根据一般程序6用2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-5-(3-(4-(3-(二甲基氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)噻唑-4-甲酸(21.5mg,0.033mmol)和叔丁基((S)-1-(((S)-1-((4-(氯甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯(21.2mg,0.042mmol,1.3当量),获得3-(4-(3-(2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-4-羧基噻唑-5-基)丙氧基)-3-氟苯基)-N-(4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)-N,N-二甲基丙-2-炔-1-铵。LCMS:M+=1119.3;Rt=2.15min(5min酸性方法).

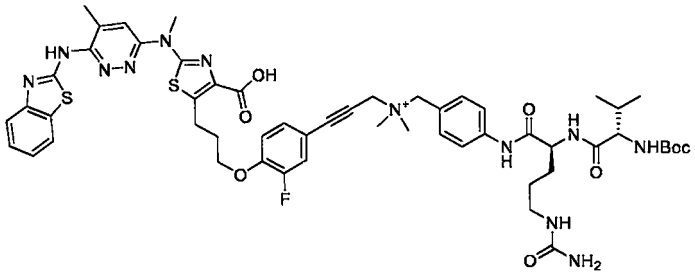
[3611] 合成3-(4-(3-(2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-4-羧基噻唑-5-基)丙氧基)-3-氟苯基)-N-(4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)-N,N-二甲基丙-2-炔-1-铵(L9A-P1)

[3612] 

[3613] 根据一般程序8用3-(4-(3-(2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-4-羧基噻唑-5-基)丙氧基)-3-氟苯基)-N-(4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)-N,N-二甲基丙-2-炔-1-铵(36.6mg,0.033mmol)和2,5-二氧代吡咯烷-1-基3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酸酯(20.3mg,0.065mmol,2.0当量),获得3-(4-(3-(2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-4-羧基噻唑-5-基)丙氧基)-3-氟苯基)-N-(4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)-N,N-二甲基丙-2-炔-1-铵。

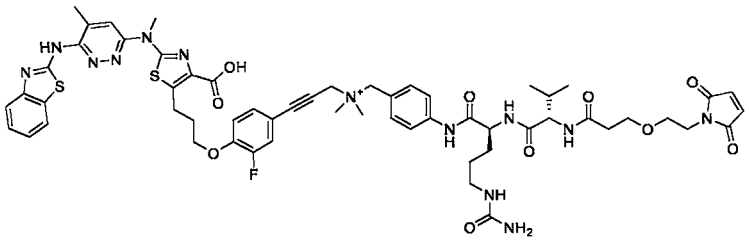
HRMS:M+＝1214.4700;Rt＝2.10min(5min酸性方法).

[3614] 合成3-(4-(3-(2-((6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)(甲基)氨基)-4-羧基噻唑-5-基)丙氧基)-3-氟苯基)-N-(4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)-N,N-二甲基丙-2-炔-1-铵

[3615] 

[3616] 根据一般程序6用2-((6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)(甲基)氨基)-5-(3-(4-(3-(二甲基氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)噻唑-4-甲酸(25.0mg,0.040mmol)和叔丁基((S)-1-((S)-1-((4-(氯甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯(25.6mg,0.051mmol,1.3当量),获得3-(4-(3-(2-((6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)(甲基)氨基)-4-羧基噻唑-5-基)丙氧基)-3-氟苯基)-N-(4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)-N,N-二甲基丙-2-炔-1-铵。LCMS:M+＝1094.1;Rt＝2.14min(5min酸性方法).

[3617] 合成3-(4-(3-(2-((6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)(甲基)氨基)-4-羧基噻唑-5-基)丙氧基)-3-氟苯基)-N-(4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)-N,N-二甲基丙-2-炔-1-铵(L9A-P2)

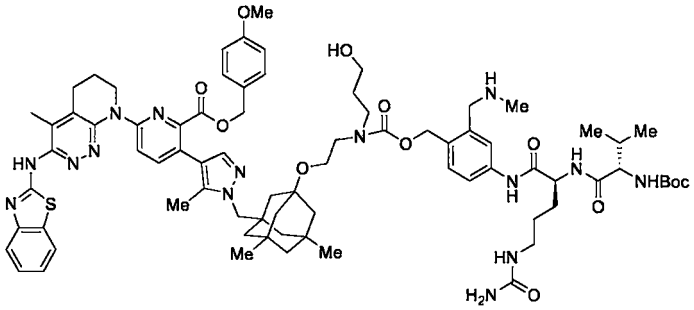
[3618] 

[3619] 根据一般程序8用3-(4-(3-(2-((6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)(甲基)氨基)-4-羧基噻唑-5-基)丙氧基)-3-氟苯基)-N-(4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)-N,N-二甲基丙-2-炔-1-铵(31.6mg,0.029mmol)和2,5-二氧代吡咯烷-1-基3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酸酯(26.9mg,0.087mmol,3.0当量),获得3-(4-(3-(2-((6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)(甲基)氨基)-4-羧基噻唑-5-基)丙氧基)-3-氟苯基)-N-(4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)-N,N-二甲基丙-2-炔-1-铵。HRMS:M+＝1188.4500;Rt＝2.07min(5min酸性方法).

[3620] 一般程序9

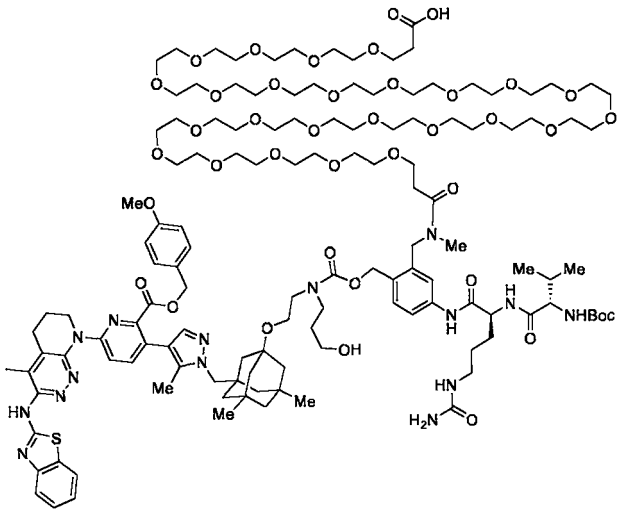
[3621] 合成4-甲氧基苄基6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-3-(1-(((1r,3s,5R,7S)-3-(2-((((4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰

基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((甲基氨基)甲基)苄基)氧基)羰基)(3-羟基丙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸酯

[3622] 

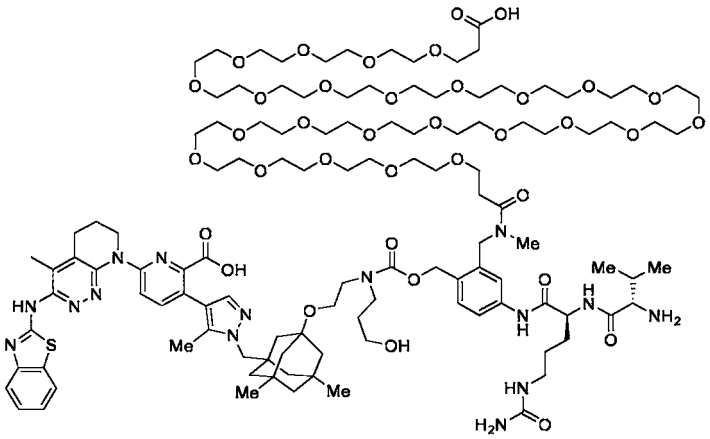
[3623] 向4-甲氧基苄基6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-3-(1-(((1r,3s,5R,7S)-3-(2-((3-羟基丙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸酯(30.0mg,0.033mmol)和(9H-芴-9-基)甲基(5-((S)-2-((S)-2-((叔-丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁氨基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苄基)(甲基)氨基甲酸酯(35.9mg,0.039mmol,1.2当量)在DMF(1.0mL)中的溶液中添加DIPEA(0.03mL,0.164mmol,5.0当量),并在室温将该混合物搅拌16小时。氨基甲酸酯形成后,添加THF中的2M二甲胺(0.164mL,0.329mmol,1.0当量)并搅拌混合物1.5小时。添加DMSO(2.0mL)并将溶液通过RP-HPLC ISCO金色谱法(10-100%MeCN/H2O,0.1%TFA改性剂)纯化。冻干后,获得4-甲氧基苄基6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-3-(1-(((1r,3s,5R,7S)-3-(2-((((4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((甲基氨基)甲基)苄基)氧基)羰基)(3-羟基丙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸酯。HRMS:M+=1460.7500;Rt=2.31min(5min酸性方法).

[3624] 合成1-(2-((((2-(((1s,3r,5R,7S)-3-((4-(6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-2-(((4-甲氧基苄基)氧基)羰基)吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙基)(3-羟基丙基)氨基甲酰基)氧基)甲基)-5-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苯基)-2-甲基-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-氮杂八十一-81-烷酸

[3625] 

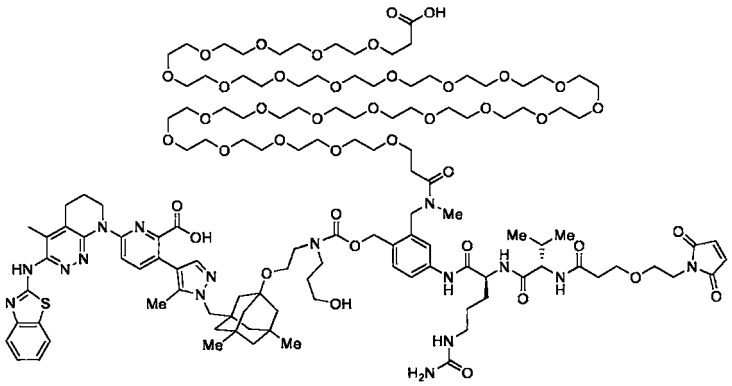
[3626] 根据一般程序3用4-甲氧基苄基6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-3-(1-(((1r,3s,5R,7S)-3-(2-((((4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((甲基氨基)甲基)苄基)氧基)羰基)(3-羟基丙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸酯(32.0mg,0.022mmol)和79-((2,5-二氧代吡咯烷-1-基)氧基)-79-氧代-4,7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43,46,49,52,55,58,61,64,67,70,73,76-二十五氧杂七十九烷酸(43.3mg,0.033mmol,1.5当量),获得1-(2-((((2-(((1s,3r,5R,7S)-3-((4-(6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-2-(((4-甲氧基苄基)氧基)羰基)吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙基)(3-羟基丙基)氨基甲酰基)氧基)甲基)-5-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苯基)-2-甲基-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-氮杂八十一-81-烷酸。HRMS:M-H+2Na＝2705.3601;Rt＝2.63min(5min酸性方法).

[3627] 合成3-(1-(((1r,3s,5R,7S)-3-(2-((((4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(80-羧基-2-甲基-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-氮杂八十烷基)苄基)氧基)羰基)(3-羟基丙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)吡啶甲酸

[3628] 

[3629] 根据一般程序4用1-(2-((((2-(((1s,3r,5R,7S)-3-((4-(6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-2-(((4-甲氧基苄基)氧基)羰基)吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙基)(3-羟基丙基)氨基甲酰基)氧基)甲基)-5-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苯基)-2-甲基-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-氮杂八十一-81-烷酸(35.1mg,0.013mmol),获得3-(1-(((1r,3s,5R,7S)-3-(2-((((4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(80-羧基-2-甲基-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-氮杂八十烷基)苄基)氧基)羰基)(3-羟基丙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)吡啶甲酸。HRMS:M-H+2Na＝2485.2700;Rt＝2.02min(5min酸性方法).

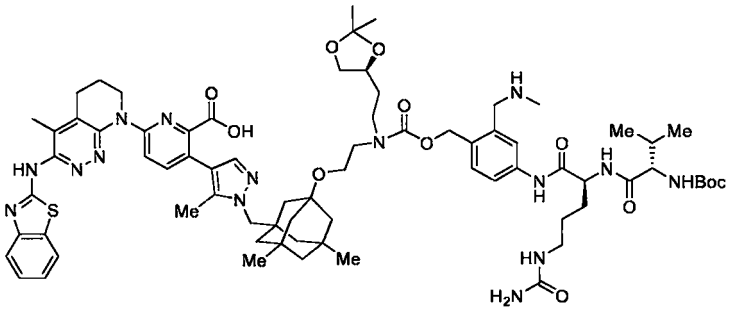
[3630] 合成6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-3-(1-(((1r,3s,5R,7S)-3-(2-((((2-(80-羧基-2-甲基-3-氧代-6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36,39,42,45,48,51,54,57,60,63,66,69,72,75,78-二十五氧杂-2-氮杂八十烷基)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)氧基)羰基)(3-羟基丙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸(L11C-P25)

[3631] 

[3632] 根据一般程序5用3-(1-(((1r,3s,5R,7S)-3-(2-((((4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(80-羧基-2-甲基-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-氮杂八十烷基)

苄基)氧基)羰基)(3-羟基丙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)吡啶甲酸(17.3mg,0.007mmol)和2,5-二氧代吡咯烷-1-基3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酸酯(2.6mg,0.009mmol,1.2当量),获得6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-3-(1-(((1r,3s,5R,7S)-3-(2-((((2-(80-羧基-2-甲基-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-氮杂八十烷基)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)氧基)羰基)(3-羟基丙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸。HRMS:M+H＝2636.3701;Rt＝1.73min(5min酸性方法).

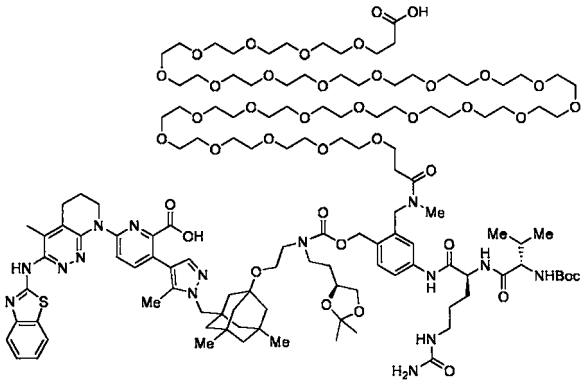
[3633] 合成6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-3-(1-(((1S,3s,5R,7S)-3-(2-((((4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((甲基氨基)甲基)苄基)氧基)羰基)(2-((S)-2,2-二甲基-1,3-二氧戊环-4-基)乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸

[3634] 

[3635] 根据一般程序9用6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-3-(1-(((1S,3s,5R,7S)-3-(2-((2-((S)-2,2-二甲基-1,3-二氧戊环-4-基)乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸(24.0mg,0.028mmol)和(9H-芴-9-基)甲基(5-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苄基)(甲基)氨基甲酸酯(27.9mg,0.031mmol,1.1当量),获得6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-3-(1-(((1S,3s,5R,7S)-3-(2-((((4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((甲基氨基)甲基)苄基)氧基)羰基)(2-((S)-2,2-二甲基-1,3-二氧戊环-4-基)乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸。HRMS:M+H＝1410.7300;Rt＝2.24min(5min酸性方法).

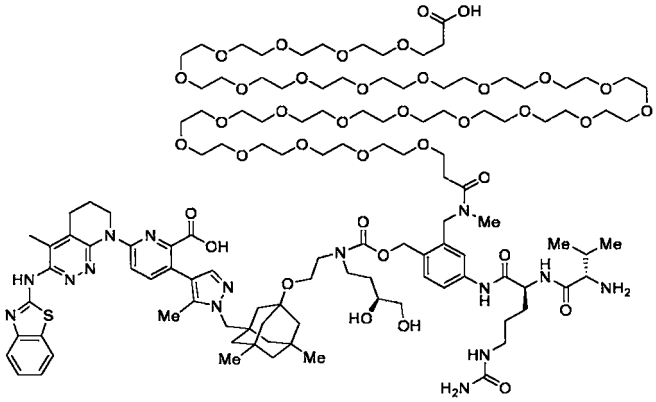
[3636] 合成6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-3-(1-(((1S,3s,5R,7S)-3-(2-((((4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(80-羧基-2-甲基-3-氧代-6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36,39,42,45,48,51,54,57,60,63,66,69,72,75,78-二十五氧杂-2-氮杂八十烷基)苄基)氧基)羰基)(2-((S)-2,2-二甲基-1,3-二氧戊环-4-基)乙基)氨基)乙氧基)-5,7-

二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸

[3637] 

[3638] 根据一般程序3用6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-3-(1-(((1S,3s,5R,7S)-3-(2-((((4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((甲基氨基)甲基)苄基)氧基)羰基)(2-((S)-2,2-二甲基-1,3-二氧戊环-4-基)乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸(19.0mg,0.012mmol)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(24.6mg,0.019mmol,1.5当量),获得6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-3-(1-(((1S,3s,5R,7S)-3-(2-((((4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(80-羧基-2-甲基-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-氮杂八十烷基)苄基)氧基)羰基)(2-((S)-2,2-二甲基-1,3-二氧戊环-4-基)乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸。HRMS:M-H+2Na＝2655.3701;Rt＝2.59min(5min酸性方法).

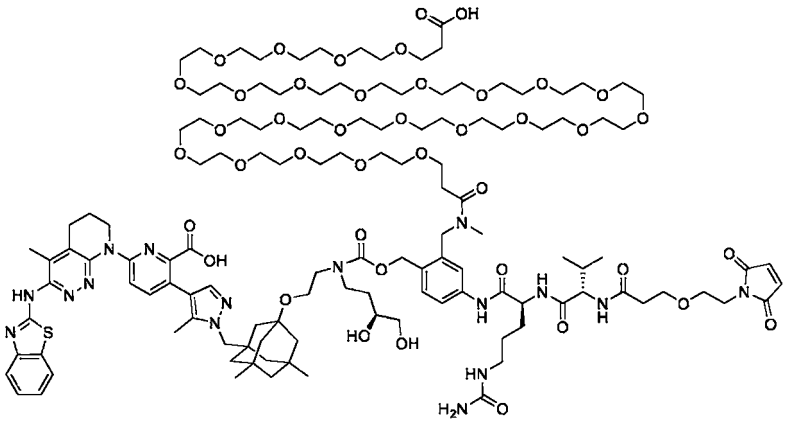
[3639] 合成3-(1-(((1S,3s,5R,7S)-3-(2-((((4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(80-羧基-2-甲基-3-氧代-6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36,39,42,45,48,51,54,57,60,63,66,69,72,75,78-二十五氧杂-2-氮杂八十烷基)苄基)氧基)羰基)((S)-3,4-二羟基丁基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)吡啶甲酸

[3640] 

[3641] 根据一般程序4用6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-

c]哒嗪-8(5H)-基)-3-(1-(((1S,3s,5R,7S)-3-(2-((((4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(80-羧基-2-甲基-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-氮杂八十烷基)苄基)氧基)羰基)(2-((S)-2,2-二甲基-1,3-二氧戊环-4-基)乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸(28.4mg,0.011mmol),获得3-(1-(((1S,3s,5R,7S)-3-(2-((((4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(80-羧基-2-甲基-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-氮杂八十烷基)苄基)氧基)羰基)((S)-3,4-二羟基丁基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)吡啶甲酸。HRMS:M+H＝2471.3301;Rt＝1.97min(5min酸性方法).

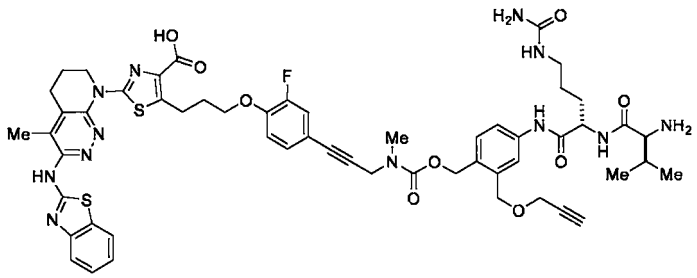
[3642] 合成6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-3-(1-(((1S,3s,5R,7S)-3-(2-((((2-(80-羧基-2-甲基-3-氧代-6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36,39,42,45,48,51,54,57,60,63,66,69,72,75,78-二十五氧杂-2-氮杂八十烷基)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)氧基)羰基)((S)-3,4-二羟基丁基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸(L11C-P19)

[3643] 

[3644] 根据一般程序5用3-(1-(((1S,3s,5R,7S)-3-(2-((((4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(80-羧基-2-甲基-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-氮杂八十烷基)苄基)氧基)羰基)((S)-3,4-二羟基丁基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)吡啶甲酸(35.6mg,0.014mmol)和2,5-二氧代吡咯烷-1-基3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酸酯(10.7mg,0.034mmol,2.5当量),获得6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-3-(1-(((1S,3s,5R,7S)-3-(2-((((2-(80-羧基-2-甲基-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-氮杂八十烷基)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)氧基)羰基)((S)-3,4-二羟基丁基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸。HRMS:M+H＝2666.3701;Rt＝

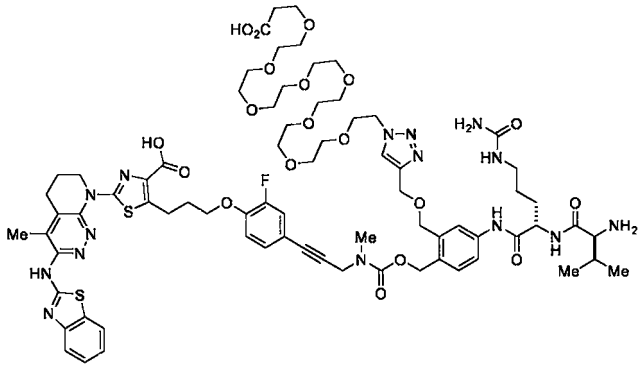
2.19min(5min酸性方法).

[3645] 合成5-(3-(4-(3-((((4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)-2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)噻唑-4-甲酸

[3646] 

[3647] 根据一般程序9用2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-5-(3-(2-氟-4-(3-(甲基氨基)丙-1-炔-1-基)苯氧基)丙基)噻唑-4-甲酸(40.0mg,0.062mmol)和(9H-芴-9-基)甲基((S)-3-甲基-1-(((S)-1-((4-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)-3-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯(57.1mg,0.068mmol,1.1当量),获得5-(3-(4-(3-((((4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)-2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)噻唑-4-甲酸。LCMS:M+H=1117.8;Rt=0.84min(2min酸性方法).

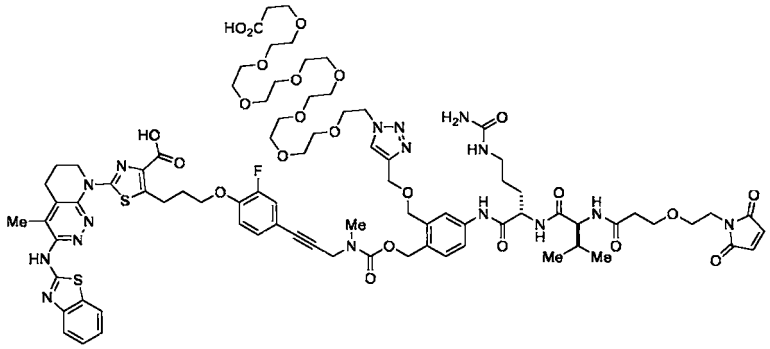
[3648] 合成5-(3-(4-(3-((((4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(((1-(26-羧基-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂二十六基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)甲基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)-2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)噻唑-4-甲酸

[3649] 

[3650] 根据一般程序7用5-(3-(4-(3-((((4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)-2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)噻唑-4-甲酸(18.2mg,0.016mmol)和1-叠氮基-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂二十七-27-烷酸(9.1mg,0.020mmol,1.2当量),获得5-(3-(4-(3-((((4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(((1-(26-羧基-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂二十六基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)甲基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-

1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)-2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)噻唑-4-甲酸。LCMS:M/2+H＝793.1;Rt＝1.17min(2min酸性方法).

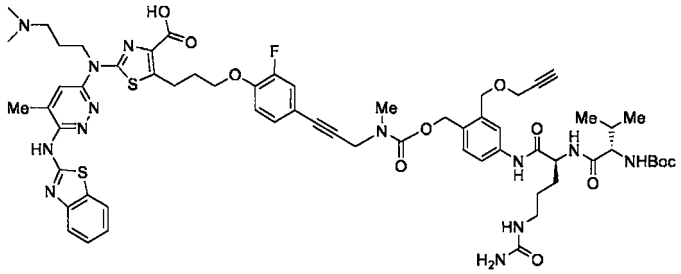
[3651] 合成2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-5-(3-(4-(3-((((2-(((1-(26-羧基-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂二十六基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)甲基)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)噻唑-4-甲酸(L7C-P3)

[3652] 

[3653] 根据一般程序5用5-(3-(4-(3-((((4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(((1-(26-羧基-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂二十六基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)甲基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)-2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)噻唑-4-甲酸(10.5mg,0.007mmol)和2,5-二氧代吡咯烷-1-基3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酸酯(2.5mg,0.08mmol,1.2当量),获得2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-5-(3-(4-(3-((((2-(((1-(26-羧基-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂二十六基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)甲基)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)噻唑-4-甲酸。LCMS:M/2+H＝891.2;Rt＝2.56min(5min酸性方法).

[3654] 一般程序10

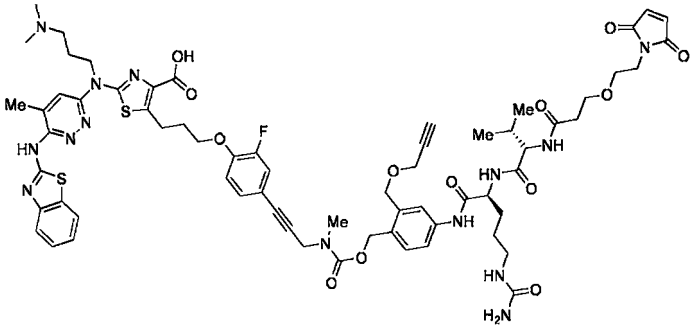
[3655] 合成2-((6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)(3-(二甲基氨基)丙基)氨基)-5-(3-(4-(3-((((4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)噻唑-4-甲酸

[3656] 

[3657] 向2-((6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)(3-(二甲基氨基)丙基)氨基)-5-(3-(2-氟代-4-(3-(甲基氨基)丙-1-炔-1-基)苯氧基)丙基)噻唑-4-甲酸(30.0mg,0.039mmol)和叔-丁基((R)-3-甲基-1-(((R)-1-((4-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲

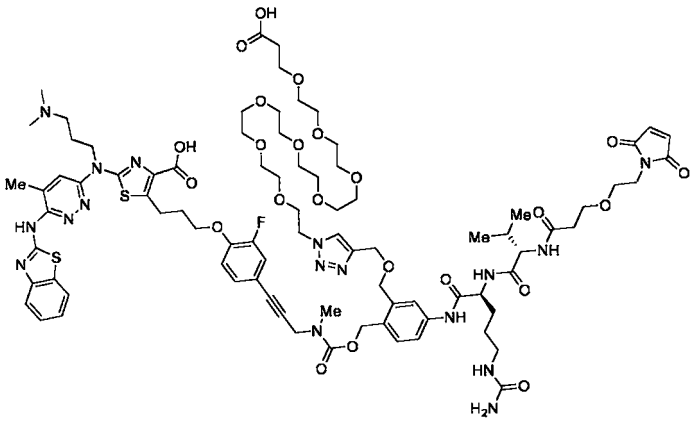
基)-3-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-1-氧代丁酰-2-基)氨基甲酸酯(36.5mg,0.051mmol,1.3当量)在DMF(1.0mL)中的溶液中添加DIPEA(0.034mL,0.197mmol,5.0当量)。将混合物在室温搅拌2小时。添加DMSO(1.0mL)并将溶液通过RP-HPLC ISCO金色谱法(0-100%MeCN/H2O,0.1%TFA改性剂)纯化。冻干后,获得2-((6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)(3-(二甲基氨基)丙基)氨基)-5-(3-(4-(3-((((4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)噻唑-4-甲酸。HRMS:M+H=1262.5100;Rt=2.47min(5min酸性方法).

[3658] 合成2-((6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)(3-(二甲基氨基)丙基)氨基)-5-(3-(4-(3-((((4-((S)-2-((R)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)噻唑-4-甲酸

[3659] 

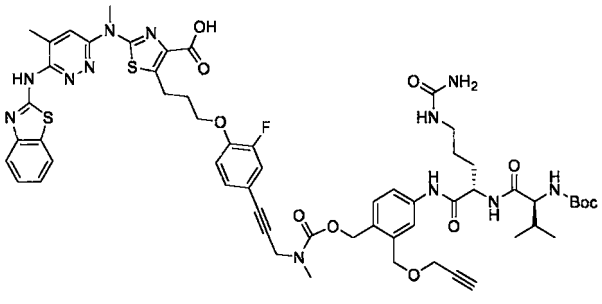
[3660] 根据一般程序8用2-((6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)(3-(二甲基氨基)丙基)氨基)-5-(3-(4-(3-((((4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)噻唑-4-甲酸(40.0mg,0.032mmol)和2,5-二氧代吡咯烷-1-基3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酸酯(11.8mg,0.038mmol,1.2当量),获得2-((6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)(3-(二甲基氨基)丙基)氨基)-5-(3-(4-(3-((((4-((S)-2-((R)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)噻唑-4-甲酸。HRMS:M+H=1357.5262;Rt=1.16min(2min酸性方法).

[3661] 合成2-((6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)(3-(二甲基氨基)丙基)氨基)-5-(3-(4-(3-((((2-(((1-(26-羧基-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂二十六基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)甲基)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)噻唑-4-甲酸(L7C-P6)

[3662] 

[3663] 根据一般程序7用2-((6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)(3-(二甲基氨基)丙基)氨基)-5-(3-(4-(3-((((4-((S)-2-((R)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)噻唑-4-甲酸(10.0mg,0.008mmol)和1-叠氮基-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂二十七-27-烷酸(6.9mg,0.015mmol,2.0当量),获得2-((6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)(3-(二甲基氨基)丙基)氨基)-5-(3-(4-(3-((((2-(((1-(26-羧基-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂二十六基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)甲基)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)噻唑-4-甲酸。HRMS:M+H=1824.7700;Rt=2.19min(5min酸性方法).

[3664] 合成2-((6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)(甲基)氨基)-5-(3-(4-(3-((((4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)噻唑-4-甲酸

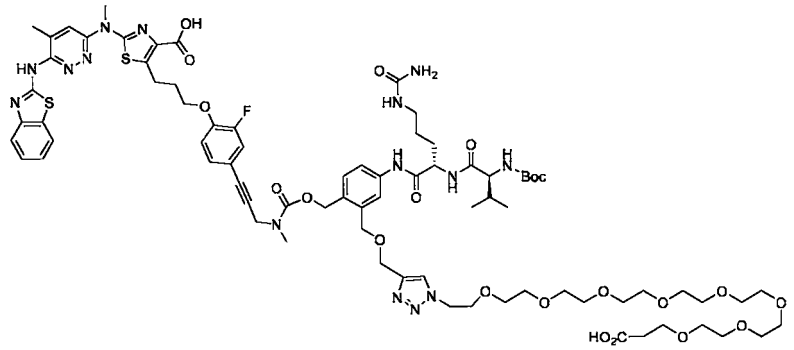
[3665] 

761

[3666] 根据一般程序10用2-((6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)(甲基)氨基)-5-(3-(2-氟-4-(3-(甲基氨基)丙-1-炔-1-基)苯氧基)丙基)噻唑-4-甲酸(50.0mg,0.081mmol)和叔丁基((S)-3-甲基-1-(((S)-1-((4-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)-3-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯(57.7mg,0.081mmol,1.0当量),获得2-((6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)(甲基)氨基)-5-(3-(4-(3-((((4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)噻唑-4-甲酸。LCMS:M+H=1192.2;Rt=0.88分

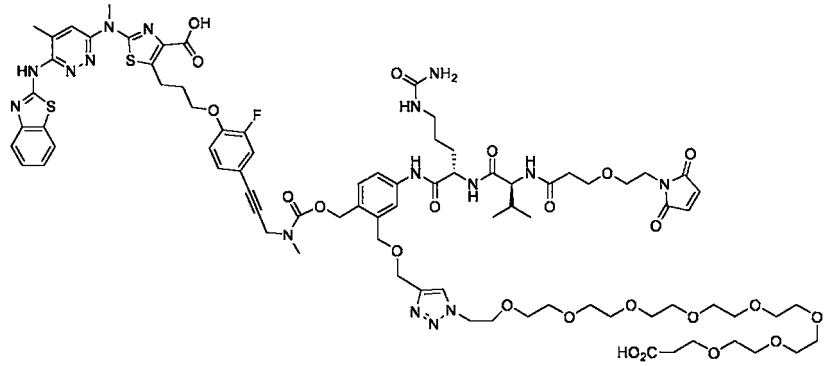
钟(2分钟碱性方法)。

[3667] 合成2-((6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)(甲基)氨基)-5-(3-(4-(3-((((4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(((1-(26-羧基-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂二十六基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)甲基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)噻唑-4-甲酸

[3668] 

[3669] 根据一般程序7用2-((6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)(甲基)氨基)-5-(3-(4-(3-((((4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)噻唑-4-甲酸(38.0mg,0.032mmol)和1-叠氮基-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂二十七-27-烷酸(23.9mg,0.051mmol,1.6当量),获得2-((6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)(甲基)氨基)-5-(3-(4-(3-((((4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(((1-(26-羧基-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂二十六基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)甲基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)噻唑-4-甲酸。LCMS:M/2+H=830.6;Rt=0.73分钟(2分钟碱性方法)。

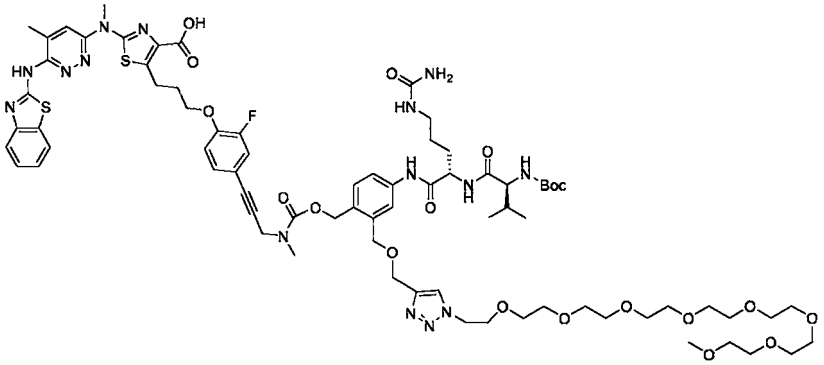
[3670] 合成2-((6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)(甲基)氨基)-5-(3-(4-(3-((((2-(((1-(26-羧基-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂二十六基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)甲基)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)噻唑-4-甲酸(L7C-P7)

[3671] 

[3672] 根据一般程序8用2-((6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)(甲基)氨基)-5-(3-(4-(3-((((4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(((1-(26-羧基-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂二十六基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)甲基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)

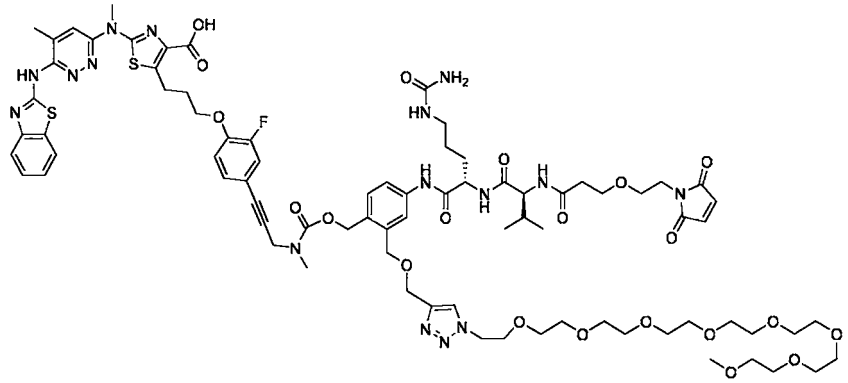
噻唑-4-甲酸(25.0mg,0.015mmol)和2,5-二氧代吡咯烷-1-基3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酸酯(7.0mg,0.023mmol,1.5当量),获得2-((6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)(甲基)氨基)-5-(3-(4-(3-((((2-(((1-(26-羧基-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂二十六基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)甲基)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)噻唑-4-甲酸。LCMS:M/2+H=877.9;Rt=1.07min(2min酸性方法).

[3673] 合成5-(3-(4-(3-((((2-(((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)甲基)-4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)-2-((6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)(甲基)氨基)噻唑-4-甲酸

[3674] 

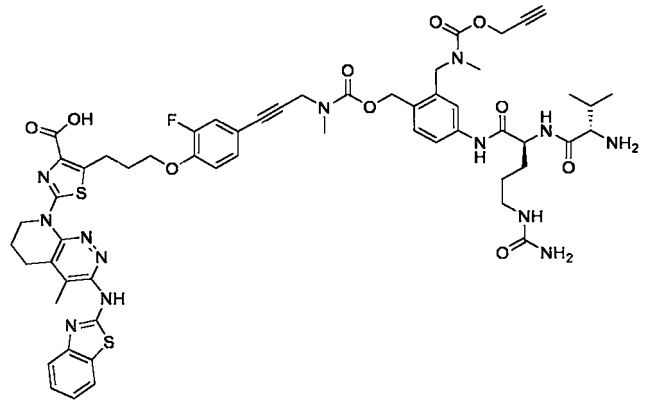
[3675] 根据一般程序7用2-((6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)(甲基)氨基)-5-(3-(4-(3-((((4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)噻唑-4-甲酸(45.0mg,0.038mmol)和25-叠氮基-2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷(21.7mg,0.053mmol,1.4当量),获得5-(3-(4-(3-((((2-(((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)甲基)-4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)-2-((6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)(甲基)氨基)噻唑-4-甲酸。LCMS:M/2+H=800.9;Rt=1.14min(2min酸性方法).

[3676] 合成5-(3-(4-(3-((((2-(((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)甲基)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)-2-((6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)(甲基)氨基)噻唑-4-甲酸(L8C-P7)

[3677] 

[3678] 根据一般程序8用5-(3-(4-(3-((((2-(((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)甲基)-4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)-2-((6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)(甲基)氨基)噻唑-4-甲酸(49.0mg,0.031mmol)和2,5-二氧代吡咯烷-1-基3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酸酯(14.3mg,0.046mmol,1.5当量),获得5-(3-(4-(3-((((2-(((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)甲基)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)-2-((6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)(甲基)氨基)噻唑-4-甲酸。LCMS:M/2+H=848.6;Rt=1.08min(2min酸性方法).

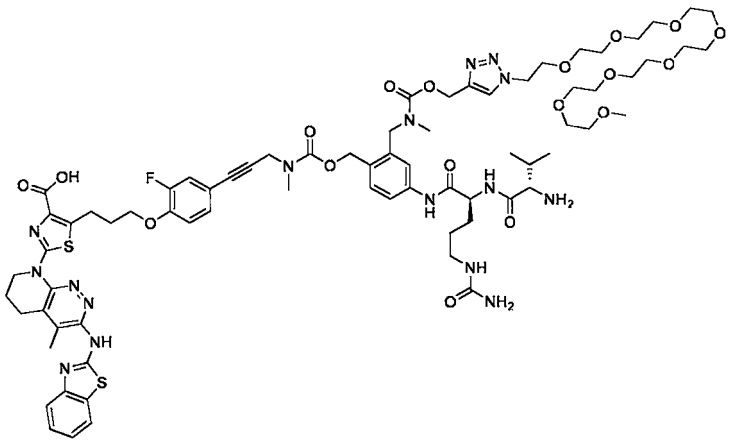
[3679] 合成5-(3-(4-(3-((((4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((甲基((丙-2-炔-1-基氧基)羰基)氨基)甲基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)-2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)噻唑-4-甲酸

[3680] 

[3681] 根据一般程序9用丙-2-炔-1-基5-((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)-2-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苄基(甲基)氨基甲酸酯(72.0mg,0.081mmol)和2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-5-(3-(2-氟-4-(3-(甲基氨基)丙-1-炔-1-基)苯氧基)丙基)噻唑-4-甲酸(52.0mg,0.081mmol,1.0当量),获得5-(3-(4-(3-((((4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((甲基((丙-2-炔-1-基氧基)羰基)氨基)甲基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)-2-(3-(苯并

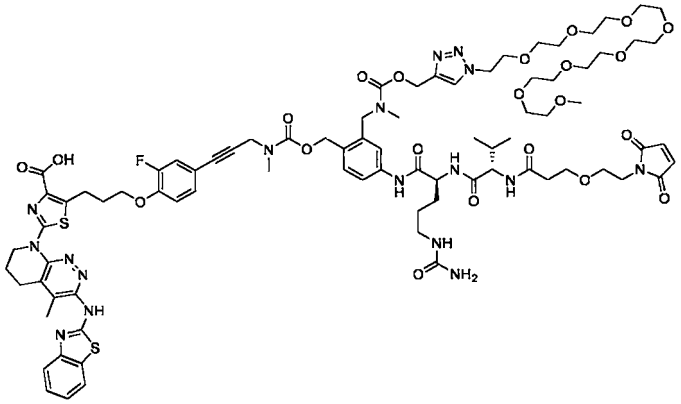
[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)噻唑-4-甲酸。LCMS:M+H＝1174.3;Rt＝1.12min(2min酸性方法).

[3682] 合成5-(3-(4-(3-((((2-(((((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)羰基)(甲基)氨基)甲基)-4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)-2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)噻唑-4-甲酸

[3683] 

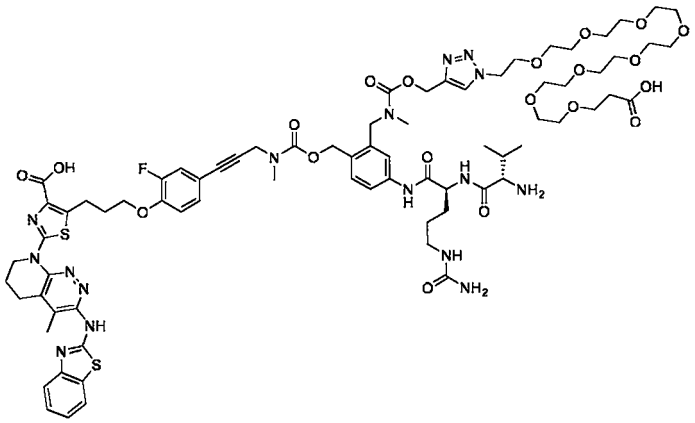
[3684] 根据一般程序7用5-(3-(4-(3-((((4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((甲基((丙-2-炔-1-基氧基)羰基)氨基)甲基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)-2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)噻唑-4-甲酸(22.0mg,0.019mmol)和25-叠氮基-2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷(23.0mg,0.056mmol,3.0当量),获得5-(3-(4-(3-((((2-(((((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)羰基)(甲基)氨基)甲基)-4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)-2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)噻唑-4-甲酸。HRMS:M+H＝1583.8199;Rt＝2.30min(5min酸性方法).

[3685] 合成5-(3-(4-(3-((((2-(((((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)羰基)(甲基)氨基)甲基)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)-2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)噻唑-4-甲酸(L8C-P3)

[3686] 

[3687] 根据一般程序5用5-(3-(4-(3-((((2-(((((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)羰基)(甲基)氨基)甲基)-4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)-2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)噻唑-4-甲酸(12.3mg,0.008mmol)和2,5-二氧代吡咯烷-1-基3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酸酯(4.8mg,0.016mmol,2.0当量),获得5-(3-(4-(3-((((2-(((((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)羰基)(甲基)氨基)甲基)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)-2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)噻唑-4-甲酸。HRMS:M+H＝1778.6500;Rt＝2.67min(5min酸性方法).

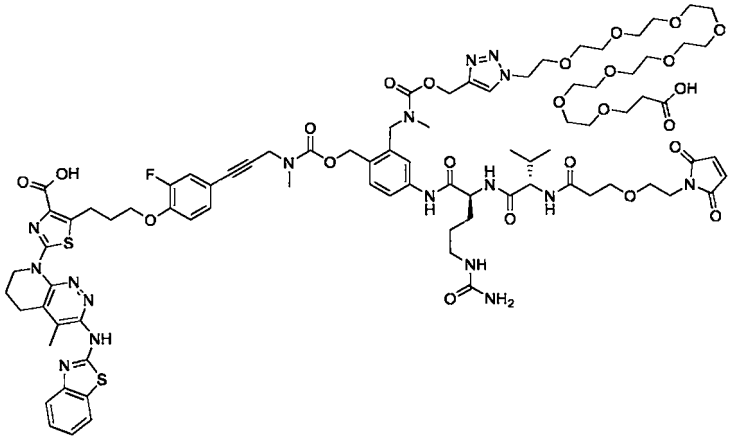
[3688] 合成5-(3-(4-(3-((((4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(((((1-(26-羧基-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂二十六基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)羰基)(甲基)氨基)甲基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)-2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)噻唑-4-甲酸

[3689] 

[3690] 根据一般程序7用5-(3-(4-(3-((((4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((甲基((丙-2-炔-1-基氧基)羰基)氨基)甲基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)-2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)噻唑-4-甲酸(20.0mg,0.017mmol)和1-叠氮基-3,6,9,

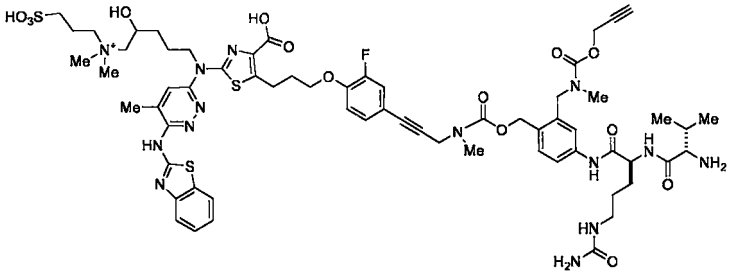
12,15,18,21,24-八氧杂二十七-27-烷酸(23.9mg,0.051mmol,3.0当量),获得5-(3-(4-(3-((((4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(((((1-(26-羧基-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂二十六基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)羰基)(甲基)氨基)甲基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)-2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)噻唑-4-甲酸。HRMS:M+H=1641.8900;Rt=2.24min(5min酸性方法).

[3691] 合成2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-5-(3-(4-(3-((((2-(((((1-(26-羧基-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂二十六基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)羰基)(甲基)氨基)甲基)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)噻唑-4-甲酸(L3C-P3)

[3692] 

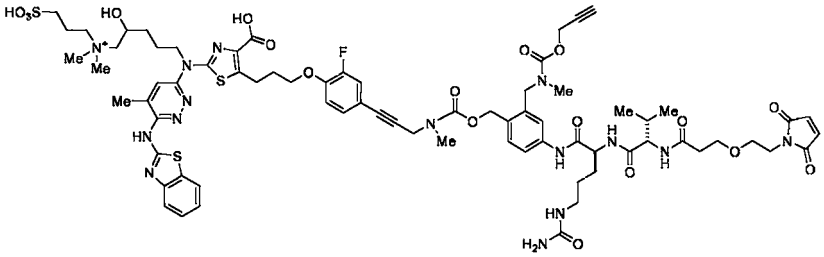
[3693] 根据一般程序5用5-(3-(4-(3-((((4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(((((1-(26-羧基-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂二十六基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)羰基)(甲基)氨基)甲基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)-2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)噻唑-4-甲酸(5.5mg,0.003mmol)和2,5-二氧代吡咯烷-1-基3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酸酯(2.1mg,0.007mmol,2.0当量),获得2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-5-(3-(4-(3-((((2-(((((1-(26-羧基-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂二十六基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)羰基)(甲基)氨基)甲基)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)噻唑-4-甲酸。HRMS:M+H=1837.6300;Rt=2.61min(5min酸性方法).

[3694] 合成5-((5-(3-(4-(3-((((4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((甲基((丙-2-炔-1-基氧基)羰基)氨基)甲基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)-4-羧基噻唑-2-基)(6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)氨基)-2-羟基-N,N-二甲基-N-(3-磺丙基)戊-1-铵

[3695] 

[3696] 根据一般程序9用丙-2-炔-1-基(5-((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)-2-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苄基)(甲基)氨基甲酸酯(30.0mg,0.034mmol)和5-((6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)(4-羧基-5-(3-(2-氟-4-(3-(甲基氨基)丙-1-炔-1-基)苯氧基)丙基)噻唑-2-基)氨基)-2-羟基-N,N-二甲基-N-(3-磺丙基)戊-1-铵(28.8mg,0.034mmol,1.0当量),获得5-((5-(3-(4-(3-((((4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((甲基((丙-2-炔-1-基氧基)羰基)氨基)甲基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)-4-羧基噻唑-2-基)(6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)氨基)-2-羟基-N,N-二甲基-N-(3-磺丙基)戊-1-铵。LCMS:M+H＝1387.1;Rt＝0.98min(2min酸性方法).

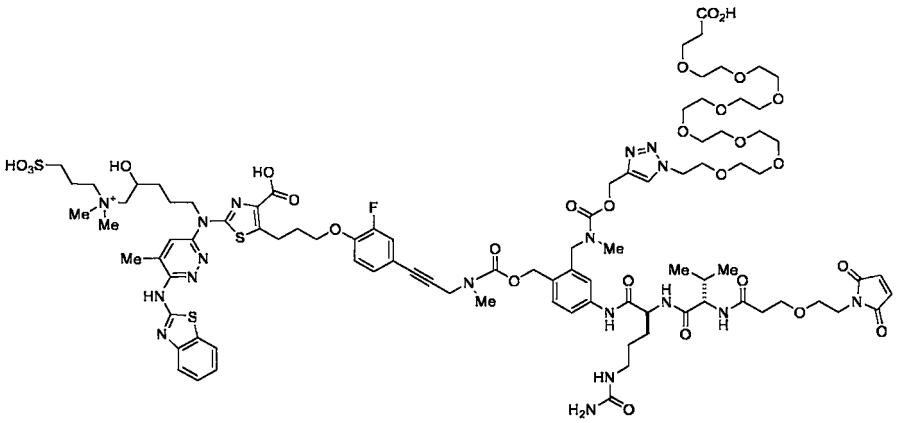
[3697] 合成5-((6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)(4-羧基-5-(3-(4-(3-((((4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((甲基((丙-2-炔-1-基氧基)羰基)氨基)甲基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)噻唑-2-基)氨基)-2-羟基-N,N-二甲基-N-(3-磺丙基)戊-1-铵

[3698] 

[3699] 根据一般程序5用5-((5-(3-(4-(3-((((4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((甲基((丙-2-炔-1-基氧基)羰基)氨基)甲基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)-4-羧基噻唑-2-基)(6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)氨基)-2-羟基-N,N-二甲基-N-(3-磺丙基)戊-1-铵(35.6mg,0.026mmol)和2,5-二氧代吡咯烷-1-基3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酸酯(12.0mg,0.039mmol,1.5当量),获得5-((6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)(4-羧基-5-(3-(4-(3-((((4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((甲基((丙-2-炔-1-基氧基)羰基)氨基)甲基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)噻唑-2-基)氨基)-2-羟基-N,N-二甲基-N-(3-磺丙基)戊-1-铵。LCMS:M/2+H＝791.2;Rt＝1.01min(2min酸性方法).

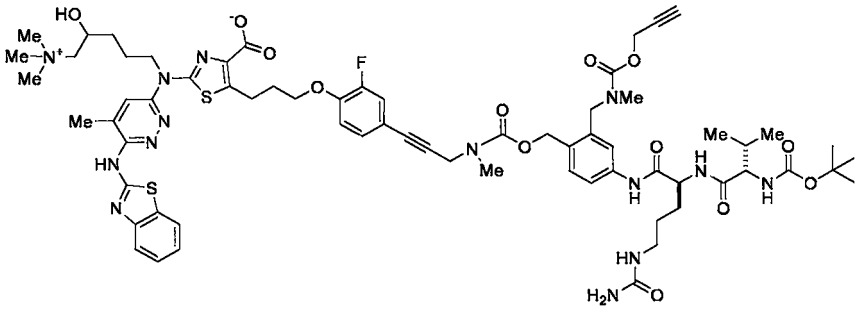
[3700] 合成5-((6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)(4-羧基-5-(3-(4-(3-((((2-(((((1-(26-羧基-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂二十六基)-1H-1,2,3-三唑-4-

基)甲氧基)羰基)(甲基)氨基)甲基)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)噻唑-2-基)氨基)-2-羟基-N,N-二甲基-N-(3-磺丙基)戊-1-铵(L3C-P4)

[3701] 

[3702] 根据一般程序7用5-((6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)(4-羧基-5-(3-(4-(3-((((4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((甲基((丙-2-炔-1-基氧基)羰基)氨基)甲基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)噻唑-2-基)氨基)-2-羟基-N,N-二甲基-N-(3-磺丙基)戊-1-铵(23.0mg,0.015mmol)和1-叠氮基-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂二十七-27-烷酸(20.4mg,0.044mmol,3.0当量),获得5-((6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)(4-羧基-5-(3-(4-(3-((((2-(((((1-(26-羧基-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂二十六基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)羰基)(甲基)氨基)甲基)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)噻唑-2-基)氨基)-2-羟基-N,N-二甲基-N-(3-磺丙基)戊-1-铵。HRMS:M+H=2047.8101;Rt=2.24min(5min酸性方法).

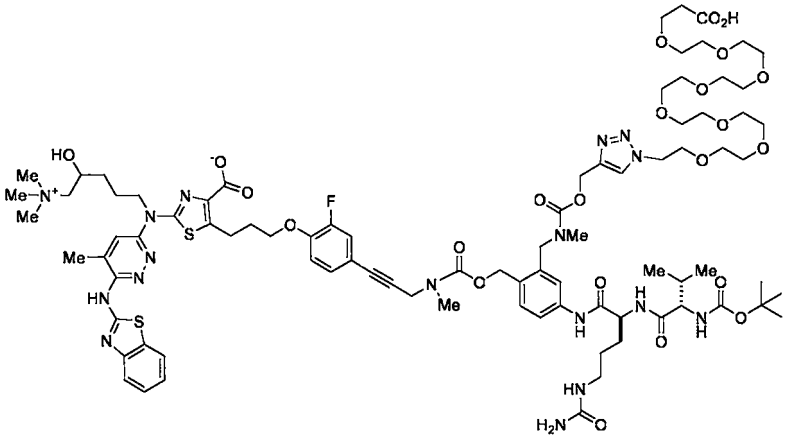
[3703] 合成2-((6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)(4-羟基-5-(三甲基氨)戊基)氨基)-5-(3-(4-(3-((((4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((甲基((丙-2-炔-1-基氧基)羰基)氨基)甲基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)噻唑-4-甲酸酯

[3704] 

[3705] 根据一般程序10用2-((6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)(4-羟基-5-(三甲基氨)戊基)氨基)-5-(3-(2-氟-4-(3-(甲基氨基)丙-1-炔-1-基)苯氧基)丙基)噻唑-4-甲酸酯(40.0mg,0.054mmol)和丙-2-炔-1-基5-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨

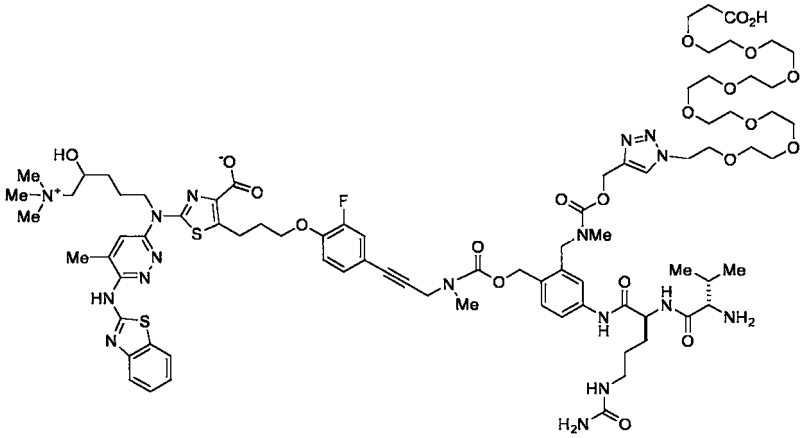
基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苄基(甲基)氨基甲酸酯(41.2mg,0.054mmol,1.0当量),获得2-((6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)(4-羟基-5-(三甲基氨)戊基)氨基)-5-(3-(4-(3-((((4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((甲基((丙-2-炔-1-基氧基)羰基)氨基)甲基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)噻唑-4-甲酸酯。LCMS:M+H=1378.1;Rt=1.11min(2min酸性方法).

[3706] 合成2-((6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)(4-羟基-5-(三甲基氨)戊基)氨基)-5-(3-(4-(3-((((4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(((((1-(26-羧基-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂二十六基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)羰基)(甲基)氨基)甲基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)噻唑-4-甲酸酯

[3707] 

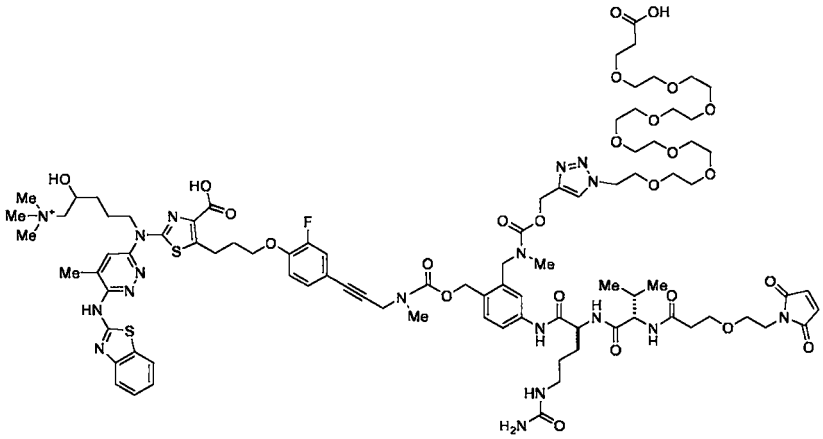
[3708] 根据一般程序7用2-((6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)(4-羟基-5-(三甲基氨)戊基)氨基)-5-(3-(4-(3-((((4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((甲基((丙-2-炔-1-基氧基)羰基)氨基)甲基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)噻唑-4-甲酸酯(67.0mg,0.049mmol)和1-叠氮基-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂二十七-27-烷酸(34.1mg,0.073mmol,1.5当量),获得2-((6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)(4-羟基-5-(三甲基氨)戊基)氨基)-5-(3-(4-(3-((((4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(((((1-(26-羧基-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂二十六基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)羰基)(甲基)氨基)甲基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)噻唑-4-甲酸酯。LCMS:M/2+H=923.6;Rt=1.06min(2min酸性方法).

[3709] 合成5-(3-(4-(3-((((4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(((((1-(26-羧基-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂二十六基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)羰基)(甲基)氨基)甲基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)-2-((6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)(4-羟基-5-(三甲基氨)戊基)氨基)噻唑-4-甲酸酯

[3710] 

[3711] 根据一般程序4用2-((6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)(4-羟基-5-(三甲基氨)戊基)氨基)-5-(3-(4-(3-((((4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(((((1-(26-羧基-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂二十六基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)羰基)(甲基)氨基)甲基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)噻唑-4-甲酸酯(53.7mg,0.029mmol),获得5-(3-(4-(3-((((4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(((((1-(26-羧基-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂二十六基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)羰基)(甲基)氨基)甲基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)-2-((6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)(4-羟基-5-(三甲基氨)戊基)氨基)噻唑-4-甲酸酯。LCMS:M/2+H＝873.5;Rt＝1.03min(2min酸性方法).

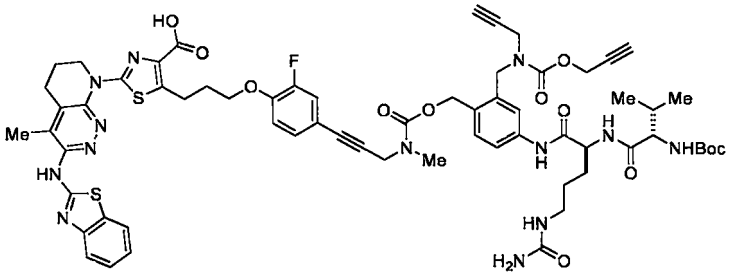
[3712] 合成5-((6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)(4-羧基-5-(3-(4-(3-((((2-(((((1-(26-羧基-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂二十六基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)羰基)(甲基)氨基)甲基)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)噻唑-2-基)氨基)-2-羟基-N,N,N-三甲基戊-1-铵(L3C-P5)

[3713] 

[3714] 根据一般程序5用5-(3-(4-(3-((((4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(((((1-(26-羧基-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂二十六基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)羰基)(甲基)氨基)甲基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)-2-((6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)(4-羟基-5-

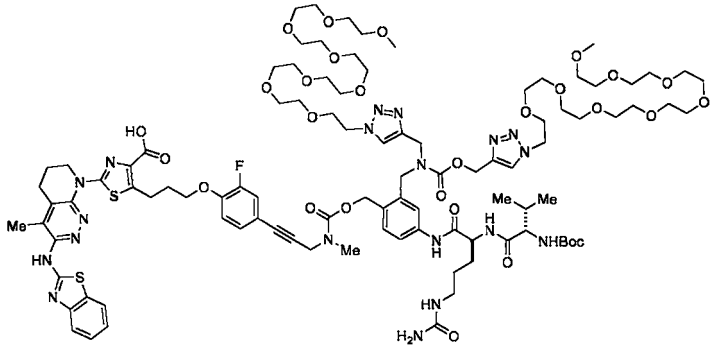
(三甲基氨)戊基)氨基)噻唑-4-甲酸酯(50.8mg,0.029mmol)和2,5-二氧代吡咯烷-1-基3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酸酯(13.6mg,0.044mmol,1.5当量),获得5-((6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)(4-羧基-5-(3-(4-(3-((((2-(((((1-(26-羧基-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂二十六基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)羰基)(甲基)氨基)甲基)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)噻唑-2-基)氨基)-2-羟基-N,N,N-三甲基戊-1-铵。HRMS:M+H=1939.8199;Rt=2.17min(5min酸性方法).

[3715] 合成2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-5-(3-(4-(3-((((4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((丙-2-炔-1-基((丙-2-炔-1-基氧基)羰基)氨基)甲基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)噻唑-4-甲酸

[3716] 

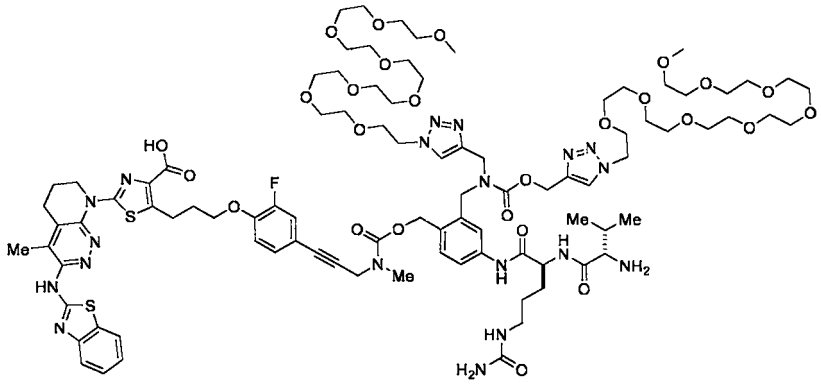
[3717] 根据一般程序10用丙-2-炔-1-基5-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苄基(丙-2-炔-1-基)氨基甲酸酯(49.3mg,0.062mmol)和2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-5-(3-(2-氟-4-(3-(甲基氨基)丙-1-炔-1-基)苯氧基)丙基)噻唑-4-甲酸(40.0mg,0.062mmol,1.0当量),获得2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-5-(3-(4-(3-((((4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((丙-2-炔-1-基((丙-2-炔-1-基氧基)羰基)氨基)甲基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)噻唑-4-甲酸。LCMS:M+H=1297.0;Rt=1.28min(2min酸性方法).

[3718] 合成5-(3-(4-(3-((((2-(((((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)羰基)((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲基)氨基)甲基)-4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)-2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)噻唑-4-甲酸

[3719] 

[3720] 根据一般程序7用2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-5-(3-(4-(3-((((4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((丙-2-炔-1-基((丙-2-炔-1-基氧基)羰基)氨基)甲基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)噻唑-4-甲酸(49.0mg,0.038mmol)和25-叠氮基-2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷(34.0mg,0.083mmol,2.2当量),获得5-(3-(4-(3-((((2-(((((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)羰基)((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲基)氨基)甲基)-4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)-2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)噻唑-4-甲酸。LCMS:M/2+H＝1059.4;Rt＝1.16min(2min酸性方法).

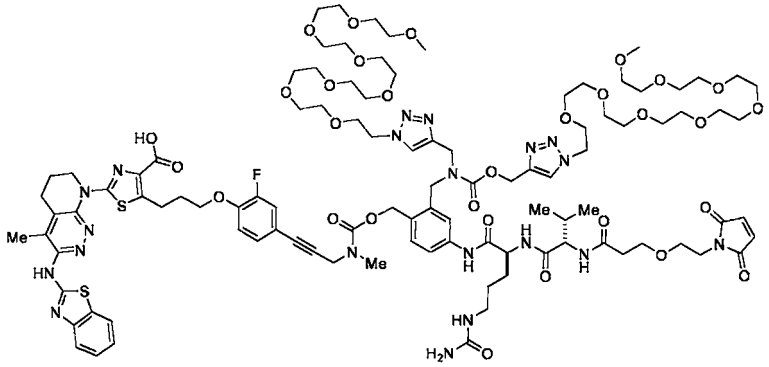
[3721] 合成5-(3-(4-(3-((((2-(((((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)羰基)((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲基)氨基)甲基)-4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)-2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)噻唑-4-甲酸

[3722] 

[3723] 根据一般程序4用5-(3-(4-(3-((((2-(((((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)羰基)((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲基)氨基)甲基)-4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)-2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)噻唑-4-甲酸(80.0mg,0.038mmol),获得5-(3-(4-(3-((((2-(((((1-(2,

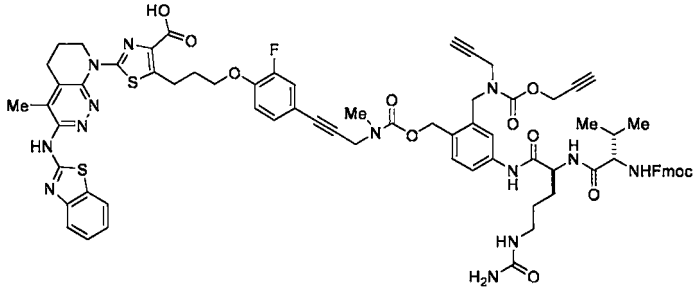
5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)羰基)((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲基)氨基)甲基)-4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)-2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)噻唑-4-甲酸。LCMS:M/2+H＝1009.2;Rt＝1.14min(2min酸性方法).

[3724] 合成5-(3-(4-(3-((((2-(((((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)羰基)((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲基)氨基)甲基)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)-2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)噻唑-4-甲酸(L1C-P3)

[3725] 

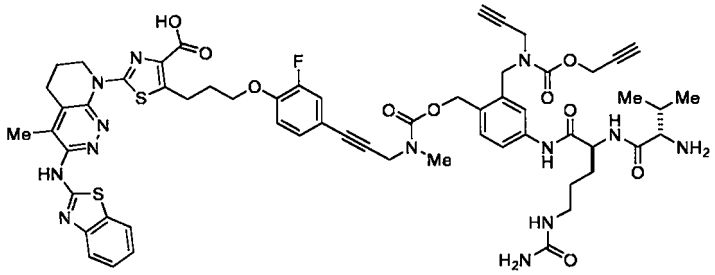
[3726] 根据一般程序5用5-(3-(4-(3-((((2-(((((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)羰基)((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲基)氨基)甲基)-4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)-2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)噻唑-4-甲酸(76.0mg,0.038mmol)和2,5-二氧代吡咯烷-1-基3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酸酯(23.4mg,0.075mmol,2.0当量),获得5-(3-(4-(3-((((2-(((((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)羰基)((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲基)氨基)甲基)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)-2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)噻唑-4-甲酸。HRMS:M+H＝2211.9700;Rt＝2.56min(5min酸性方法).

[3727] 合成5-(3-(4-(3-((((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)-2-((丙-2-炔-1-基((丙-2-炔-1-基氧基)羰基)氨基)甲基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)-2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)噻唑-4-甲酸

[3728] 

[3729] 根据一般程序10用丙-2-炔-1-基5-((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)-2-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苄基(丙-2-炔-1-基)氨基甲酸酯(56.9mg,0.062mmol)和2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-5-(3-(2-氟-4-(3-(甲基氨基)丙-1-炔-1-基)苯氧基)丙基)噻唑-4-甲酸(40.0mg,0.062mmol,1.0当量),获得5-(3-(4-(3-((((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)-2-((丙-2-炔-1-基((丙-2-炔-1-基氧基)羰基)氨基)甲基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)-2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)噻唑-4-甲酸。LCMS:M+H=1422.6;Rt=1.33min(2min酸性方法).

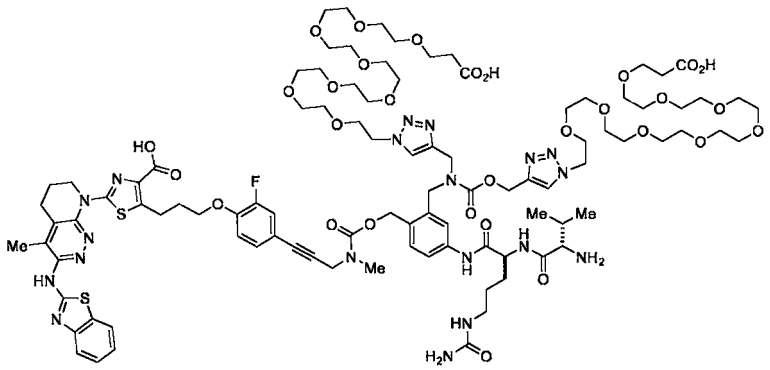
[3730] 合成5-(3-(4-(3-((((4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((丙-2-炔-1-基((丙-2-炔-1-基氧基)羰基)氨基)甲基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)-2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)噻唑-4-甲酸

[3731] 

[3732] 在室温将5-(3-(4-(3-((((4-((S)-2-((S)-2-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-3-甲基丁氨基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((丙-2-炔-1-基((丙-2-炔-1-基氧基)羰基)氨基)甲基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟代苯氧基)丙基)-2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)噻唑-4-甲酸(88.0mg,0.062mmol)在2.0M在THF(3.1mL,6.20mmol,100.0当量)中的二甲基胺中的溶液搅拌80min。真空除去溶剂,在DMSO(1.0mL)中稀释残余物并通过RP-HPLC ISCO金色谱法(0-100%MeCN/H2O,0.05%TFA改性剂)纯化。冻干后,获得5-(3-(4-(3-((((4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((丙-2-炔-1-基((丙-2-炔-1-基氧基)羰基)氨基)甲基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)-2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)噻唑-4-甲酸。LCMS:M+H=1199.2;Rt=1.06min(2min酸性方法).

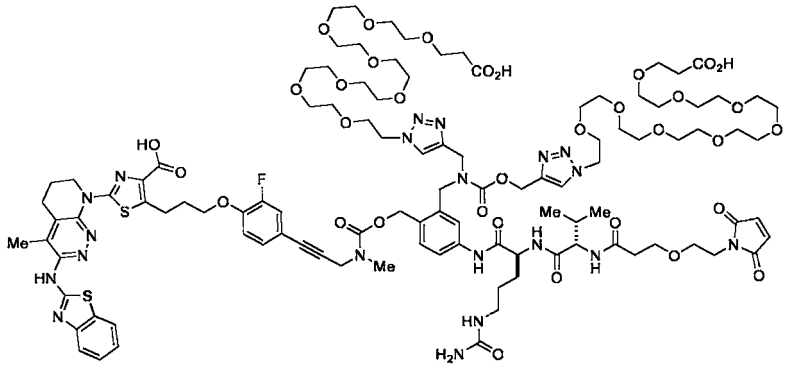
[3733] 合成5-(3-(4-(3-((((4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(((((1-(26-羧基-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂二十六基)-1H-1,2,3-三唑-4-

基)甲氧基)羰基)((1-(26-羧基-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂二十六基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲基)氨基)甲基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)-2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)噻唑-4-甲酸

[3734] 

[3735] 根据一般程序7用5-(3-(4-(3-((((4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((丙-2-炔-1-基((丙-2-炔-1-基氧基)羰基)氨基)甲基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)-2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)噻唑-4-甲酸(20.8mg,0.017mmol)和1-叠氮基-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂二十七-27-烷酸(17.9mg,0.038mmol,2.2当量),获得5-(3-(4-(3-((((4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(((((1-(26-羧基-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂二十六基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)羰基)((1-(26-羧基-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂二十六基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲基)氨基)甲基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)-2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)噻唑-4-甲酸。LCMS:M/2+H=1068.2;Rt=0.99min(2min酸性方法).

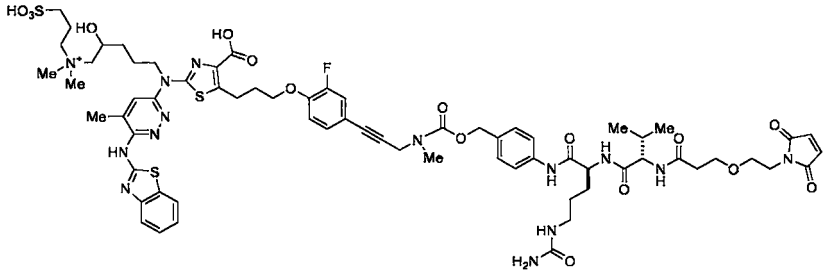
[3736] 合成2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-5-(3-(4-(3-((((2-(((((1-(26-羧基-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂二十六基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)羰基)((1-(26-羧基-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂二十六基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲基)氨基)甲基)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)噻唑-4-甲酸(L10C-P3)

[3737] 

[3738] 根据一般程序5用5-(3-(4-(3-((((4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(((((1-(26-羧基-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂二十六基)-1H-1,2,

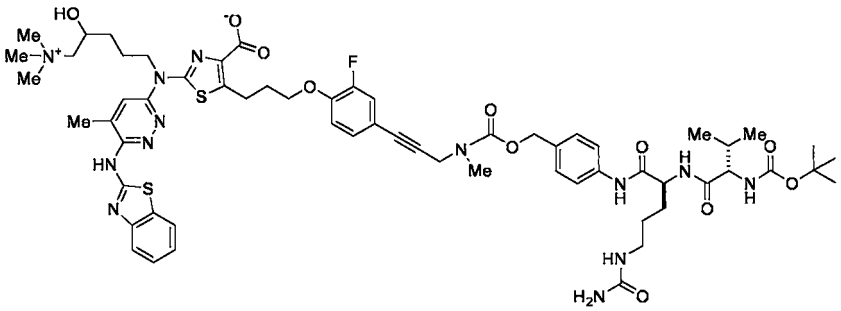
3-三唑-4-基)甲氧基)羰基)((1-(26-羧基-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂二十六基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲基)氨基)甲基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)-2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)噻唑-4-甲酸(36.3mg,0.017mmol)和2,5-二氧代吡咯烷-1-基3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酸酯(5.3mg,0.017mmol,1.0当量),获得2-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-5-(3-(4-(3-((((2-(((((1-(26-羧基-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂二十六基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)羰基)((1-(26-羧基-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂二十六基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲基)氨基)甲基)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)噻唑-4-甲酸。HRMS:M+H＝2327.9800;Rt＝2.45min(5min酸性方法).

[3739] 合成5-((6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)(4-羧基-5-(3-(4-(3-((((4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)噻唑-2-基)氨基)-2-羟基-N,N-二甲基-N-(3-磺丙基)戊-1-铵(L9C-P4)

[3740] 

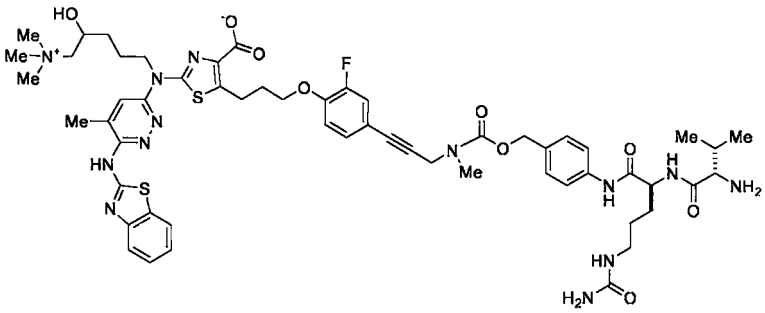
[3741] 根据一般程序10用4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(4-硝基苯基)碳酸酯(20.0mg,0.027mmol)和5-((6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)(4-羧基-5-(3-(2-氟-4-(3-(甲基氨基)丙-1-炔-1-基)苯氧基)丙基)噻唑-2-基)氨基)-2-羟基-N,N-二甲基-N-(3-磺丙基)戊-1-铵(23.1mg,0.027mmol,1.0当量),获得5-((6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)(4-羧基-5-(3-(4-(3-((((4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)噻唑-2-基)氨基)-2-羟基-N,N-二甲基-N-(3-磺丙基)戊-1-铵。HRMS:M+H＝1455.5300;Rt＝2.31min(5min酸性方法).

[3742] 合成2-((6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)(4-羟基-5-(三甲基氨基)戊基)氨基)-5-(3-(4-(3-((((4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)噻唑-4-甲酸酯

[3743] 

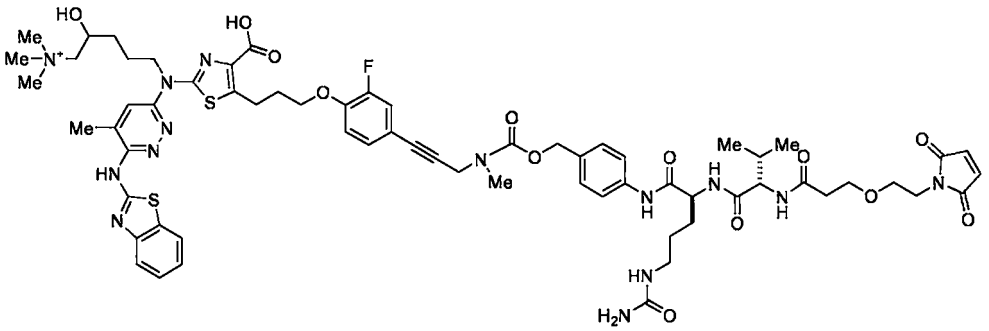
[3744] 根据一般程序10用2-((6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)(4-羟基-5-(三甲基氨)戊基)氨基)-5-(3-(2-氟-4-(3-(甲基氨基)丙-1-炔-1-基)苯氧基)丙基)噻唑-4-甲酸酯(40.0mg,0.054mmol)和叔丁基((S)-3-甲基-1-(((S)-1-((4-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯(34.5mg,0.054mmol,1.0当量),获得2-((6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)(4-羟基-5-(三甲基氨)戊基)氨基)-5-(3-(4-(3-((((4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)噻唑-4-甲酸酯。LCMS:M+H=1253.8;Rt=1.11min(2min酸性方法).

[3745] 合成5-(3-(4-(3-((((4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)-2-((6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)(4-羟基-5-(三甲基氨)戊基)氨基)噻唑-4-甲酸酯

[3746] 

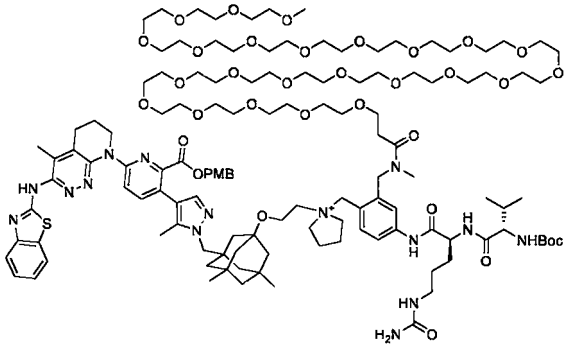
[3747] 根据一般程序4用2-((6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)(4-羟基-5-(三甲基氨)戊基)氨基)-5-(3-(4-(3-((((4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)噻唑-4-甲酸酯(64.8mg,0.052mmol),获得5-(3-(4-(3-((((4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)-2-((6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)(4-羟基-5-(三甲基氨)戊基)氨基)噻唑-4-甲酸酯。LCMS:M/2+H=576.6;Rt=0.99min(2min酸性方法).

[3748] 合成5-((6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)(4-羧基-5-(3-(4-(3-((((4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)噻唑-2-基)氨基)-2-羟基-N,N,N-三甲基戊-1-铵(L9C-P5)

[3749] 

[3750] 根据一般程序5用5-(3-(4-(3-((((4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)-2-((6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)(4-羟基-5-(三甲基氨)戊基)氨基)噻唑-4-甲酸酯(59.0mg,0.051mmol)和2,5-二氧代吡咯烷-1-基3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酸酯(19.1mg,0.061mmol,1.2当量),获得5-((6-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-5-甲基哒嗪-3-基)(4-羧基-5-(3-(4-(3-((((4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-氟苯氧基)丙基)噻唑-2-基)氨基)-2-羟基-N,N,N-三甲基戊-1-铵。HRMS:M+H＝1347.5300;Rt＝2.23min(5min酸性方法).

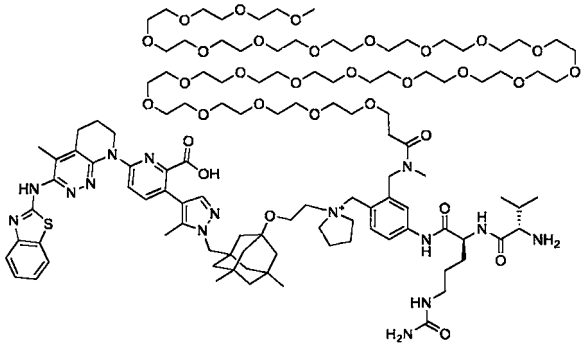
[3751] 合成1-(2-(((1s,3r,5R,7S)-3-((4-(6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-2-(((4-甲氧基苄基)氧基)羰基)吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙基)-1-(4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(75-甲基-74-氧代-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71-二十四氧杂-75-氮杂七十六烷-76-基)苄基)吡咯烷-1-鎓

[3752] 

[3753] 根据一般程序3用1-(2-(((1s,3r,5R,7S)-3-((4-(6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-2-(((4-甲氧基苄基)氧基)羰基)吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙基)-1-(4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((甲基氨基)甲基)苄基)吡咯烷-1-鎓(40mg,0.028mmol)和2,5-二氧代吡咯烷-1-基2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71-二十四氧杂tetraheptacontan-74-oate(51.5mg,0.042mmol,1.5当量),获得1-(2-(((1s,3r,5R,7S)-3-((4-(6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-2-(((4-甲氧基苄基)氧基)羰基)吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲

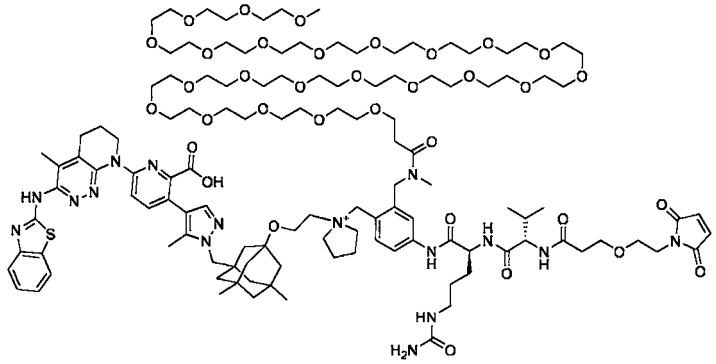
基金刚烷-1-基)氧基)乙基)-1-(4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(75-甲基-74-氧代-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71-二十四氧杂-75-氮杂七十六烷-76-基)苄基)吡咯烷-1-鎓。HRMS:M+＝2511.4099;Rt＝2.44min(5min酸性方法).

[3754] 合成1-(4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(75-甲基-74-氧代-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71-二十四氧杂-75-氮杂七十六烷-76-基)苄基)-1-(2-(((1s,3r,5R,7S)-3-((4-(6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5R)-基)-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙基)吡咯烷-1-鎓

[3755] 

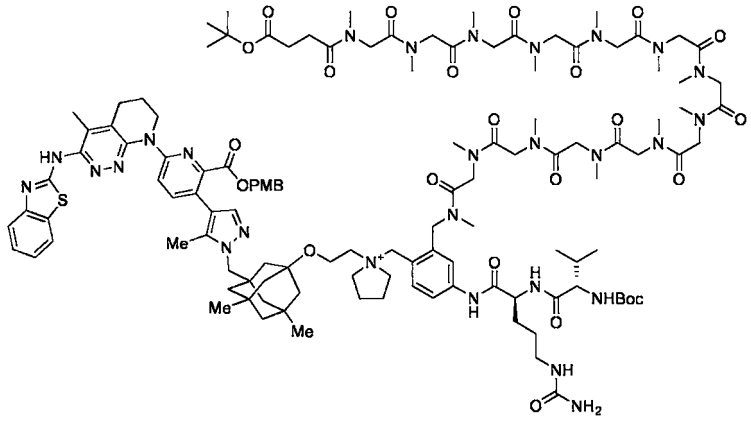
[3756] 根据一般程序4用1-(2-(((1s,3r,5R,7S)-3-((4-(6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-2-(((4-甲氧基苄基)氧基)羰基)吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙基)-1-(4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(75-甲基-74-氧代-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71-二十四氧杂-75-氮杂七十六烷-76-基)苄基)吡咯烷-1-鎓(50mg,0.0199mmol),获得1-(4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(75-甲基-74-氧代-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71-二十四氧杂-75-氮杂七十六烷-76-基)苄基)-1-(2-(((1s,3r,5R,7S)-3-((4-(6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙基)吡咯烷-1-鎓。HRMS:M+＝2291.3101;Rt＝1.93min(5min酸性方法).

[3757] 合成1-(2-(((1s,3r,5R,7S)-3-((4-(6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙基)-1-(4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(75-甲基-74-氧代-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71-二十四氧杂-75-氮杂七十六烷-76-基)苄基)吡咯烷-1-鎓(L30A-P21)

[3758] 

[3759] 根据一般程序5用1-(4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(75-甲基-74-氧代-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71-二十四氧杂-75-氮杂七十六烷-76-基)苄基)-1-(2-(((1s,3r,5R,7S)-3-((4-(6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙基)吡咯烷-1-鎓(37mg,0.015mmol)和2,5-二氧代吡咯烷-1-基3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酸酯(11.4mg,0.0367mmol,2.5当量),获得1-(2-(((1s,3r,5R,7S)-3-((4-(6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙基)-1-(4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(75-甲基-74-氧代-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71-二十四氧杂-75-氮杂七十六烷-76-基)苄基)吡咯烷-1-鎓。HRMS:M+=2486.3301;Rt=2.14min(5min酸性方法).

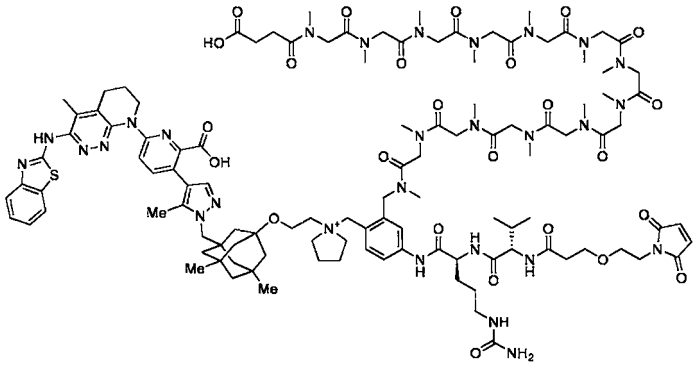
[3760] 合成1-(2-(((1s,3r,5R,7S)-3-((4-(6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-2-(((4-甲氧基苄基)氧基)羰基)吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙基)-1-(4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,44,44-十五甲基-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36,39,42-十四氧代-43-氧杂-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38-十三氮杂四十五基)苄基)吡咯烷-1-鎓

[3761] 

[3762] 根据一般程序3用1-(2-(((1s,3r,5R,7S)-3-((4-(6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-2-(((4-甲氧基苄基)氧基)羰基)吡

啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙基)-1-(4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((甲基氨基)甲基)苄基)吡咯烷-1-鎓(35mg,0.021mmol)和3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36,42,42-十四甲基-4,7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40-十三氧代-41-氧杂-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36-十二氮杂四十三烷酸(21.9mg,0.021mmol,1.0当量),获得1-(2-(((1s,3r,5R,7S)-3-((4-(6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-2-(((4-甲氧基苄基)氧基)羰基)吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙基)-1-(4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,44,44-十五甲基-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36,39,42-十四氧代-43-氧杂-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38-十三氮杂五十四基)苄基)吡咯烷-1-鎓。HRMS:[(M+)+H+]$^{+2}$/2=1211.6500;Rt=2.31min(5min酸性方法).

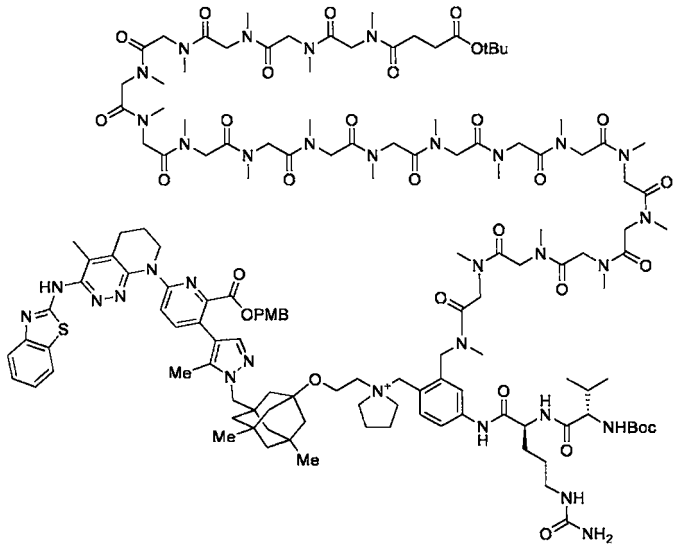
[3763] 合成1-(2-(((1s,3r,5R,7S)-3-((4-(6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙基)-1-(2-(41-羧基-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38-十三甲基-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36,39-十三氧代-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38-十三氮杂四十一基)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)吡咯烷-1-鎓(L35A-P21)

[3764] 

[3765] 根据一般程序4用1-(2-(((1s,3r,5R,7S)-3-((4-(6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-2-(((4-甲氧基苄基)氧基)羰基)吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙基)-1-(4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,44,44-十五甲基-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36,39,42-十四氧代-43-氧杂-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38-十三氮杂四十五基)苄基)吡咯烷-1-鎓(24mg,0.0095mmol)和然后利用粗产物继续并且根据一般程序5用2,5-二氧代吡咯烷-1-基3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酸酯(5.9mg,0.019mmol,2当量),获得1-(2-(((1s,3r,5R,7S)-3-((4-(6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙基)-1-(2-(41-羧基-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38-十三甲基-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36,39-十三

氧代-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38-十三氮杂四十一基)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)吡咯烷-1-鎓。HRMS:M+=2340.1699;Rt=1.87min(5min酸性方法).

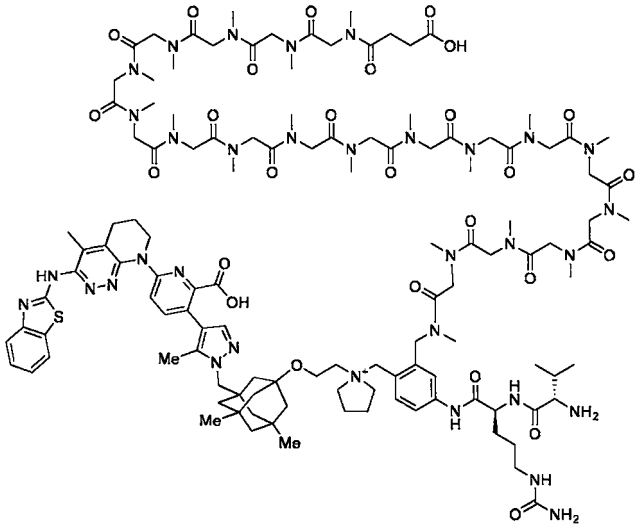
[3766] 合成1-(2-(((1s,3r,5R,7S)-3-((4-(6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-2-(((4-甲氧基苄基)氧基)羰基)吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙基)-1-(4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,62,62-二十一甲基-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36,39,42,45,48,51,54,57,60-二十氧代-61-氧杂-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56-十九氮杂六十三基)苄基)吡咯烷-1-鎓

[3767] 

[3768] 根据一般程序3用1-(2-(((1s,3r,5R,7S)-3-((4-(6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-2-(((4-甲氧基苄基)氧基)羰基)吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙基)-1-(4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((甲基氨基)甲基)苄基)吡咯烷-1-鎓(47mg,0.0286mmol)和3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36,39,42,45,48,51,54,60,60-二十甲基-4,7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43,46,49,52,55,58-十九氧代-59-氧杂-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36,39,42,45,48,51,54-十八氮杂六十烷酸(41.6mg,0.0286mmol,1.0当量),获得1-(2-(((1s,3r,5R,7S)-3-((4-(6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-2-(((4-甲氧基苄基)氧基)羰基)吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙基)-1-(4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,62,62-二十一甲基-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36,39,42,45,48,51,54,57,60-二十氧代-61-氧杂-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56-十九氮杂六十三基)苄基)吡咯烷-1-鎓。HRMS:M+=2487.5400;Rt=2.26min(5min酸性方法).

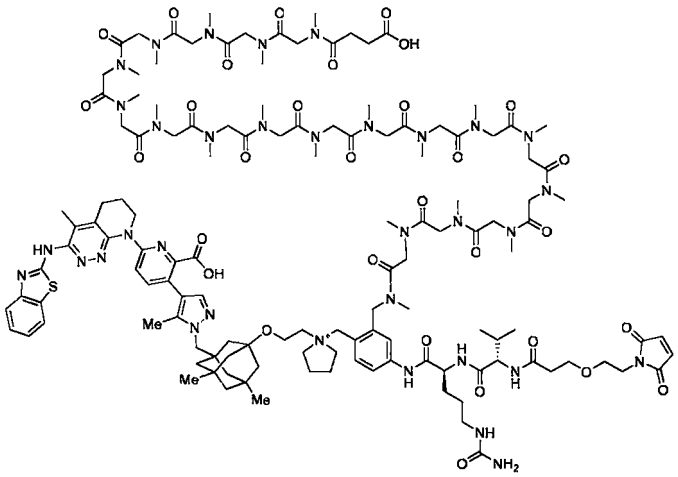
[3769] 合成1-(4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(59-羧基-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56-十九甲基-3,6,9,12,

15,18,21,24,27,30,33,36,39,42,45,48,51,54,57-十九氧代-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56-十九氮杂五十九基)苄基)-1-(2-(((1s,3r,5R,7S)-3-((4-(6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙基)吡咯烷-1-鎓

[3770] 

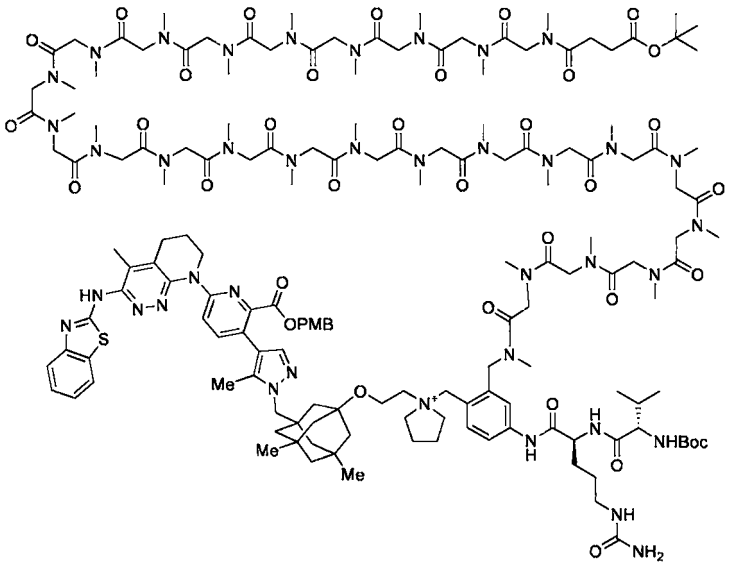
[3771] 根据一般程序4用1-(2-(((1s,3r,5R,7S)-3-((4-(6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-2-(((4-甲氧基苄基)氧基)羰基)吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙基)-1-(4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,62,62-二十一甲基-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36,39,42,45,48,51,54,57,60-二十氧代-61-氧杂-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56-十九氮杂六十三基)苄基)吡咯烷-1-鎓(46mg,0.0155mmol),获得1-(4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(59-羧基-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56-十九甲基-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36,39,42,45,48,51,54,57-十九氧代-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56-十九氮杂五十九基)苄基)-1-(2-(((1s,3r,5R,7S)-3-((4-(6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙基)吡咯烷-1-鎓。HRMS:M+=2571.3401;Rt=1.60min(5min酸性方法).

[3772] 合成1-(2-(((1s,3r,5R,7S)-3-((4-(6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙基)-1-(2-(59-羧基-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56-十九甲基-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36,39,42,45,48,51,54,57-十九氧代-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56-十九氮杂五十九基)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)吡咯烷-1-鎓(L36A-P21)

[3773] 

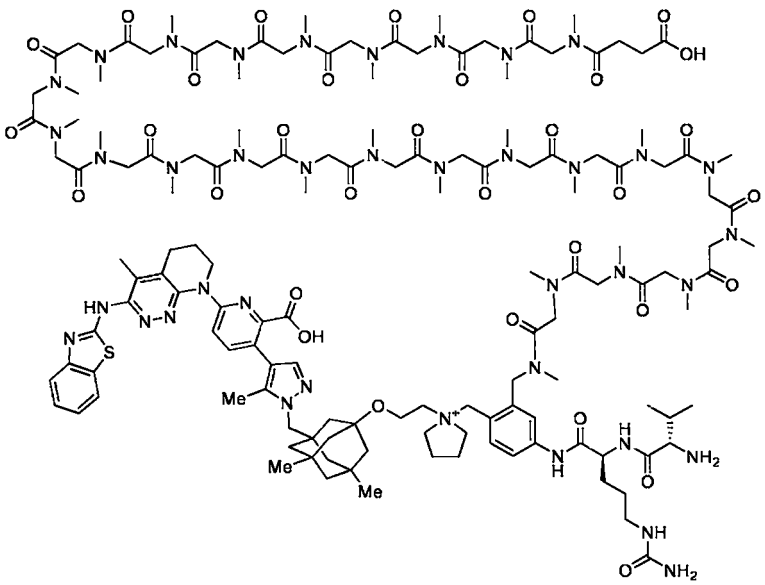
[3774] 根据一般程序5用1-(4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(59-羧基-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56-十九甲基-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36,39,42,45,48,51,54,57-十九氧代-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56-十九氮杂五十九基)苄基)-1-(2-(((1s,3r,5R,7S)-3-((4-(6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙基)吡咯烷-1-鎓(17.0mg,0.0055mmol)和2,5-二氧代吡咯烷-1-基3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酸酯(2.4mg,0.0076mmol,1.4当量),获得1-(2-(((1s,3r,5R,7S)-3-((4-(6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙基)-1-(2-(59-羧基-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56-十九甲基-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36,39,42,45,48,51,54,57-十九氧代-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56-十九氮杂五十九基)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)吡咯烷-1-鎓。HRMS:M+＝2766.3899;Rt＝1.82min(5min酸性方法).

[3775] 合成1-(2-(((1s,3r,5R,7S)-3-((4-(6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-2-(((4-甲氧基苄基)氧基)羰基)吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙基)-1-(4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71,74,80,80-二十七甲基-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36,39,42,45,48,51,54,57,60,63,66,69,72,75,78-二十六氧代-79-氧杂-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氮杂八十一基)苄基)吡咯烷-1-鎓

[3776] 

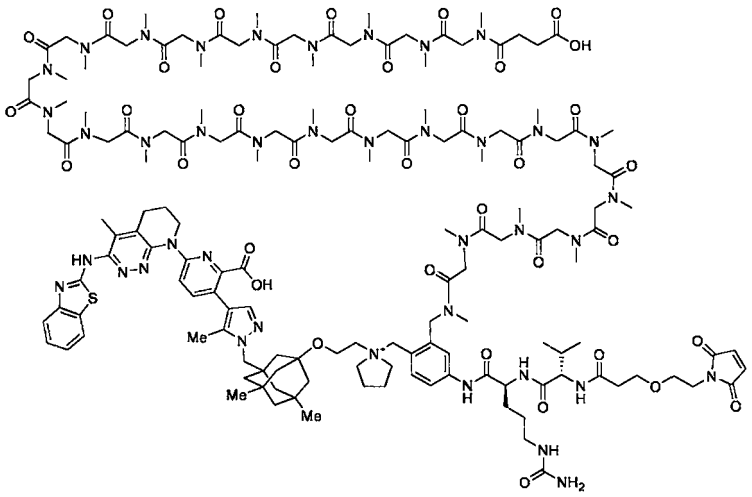
[3777] 根据一般程序3用1-(2-(((1s,3r,5R,7S)-3-((4-(6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-2-(((4-甲氧基苄基)氧基)羰基)吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙基)-1-(4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((甲基氨基)甲基)苄基)吡咯烷-1-鎓(40mg,0.028mmol)和3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36,39,42,45,48,51,54,57,60,63,66,69,72,78,78-二十六甲基-4,7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43,46,49,52,55,58,61,64,67,70,73,76-二十五氧代-77-氧杂-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氮杂七十九烷酸(58.5mg,0.031mmol,1.1当量),获得1-(2-(((1s,3r,5R,7S)-3-((4-(6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-2-(((4-甲氧基苄基)氧基)羰基)吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙基)-1-(4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71,74,80,80-二十七甲基-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36,39,42,45,48,51,54,57,60,63,66,69,72,75,78-二十六氧代-79-氧杂-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氮杂八十一基)苄基)吡咯烷-1-鎓。HRMS:M+=3273.7500;Rt=2.24min(5min酸性方法).

[3778] 合成1-(4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(77-羧基-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甲基-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36,39,42,45,48,51,54,57,60,63,66,69,72,75-二十五氧代-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氮杂七十七基)苄基)-1-(2-(((1s,3r,5R,7S)-3-((4-(6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-2=基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙基)吡咯烷-1-鎓

[3779] 

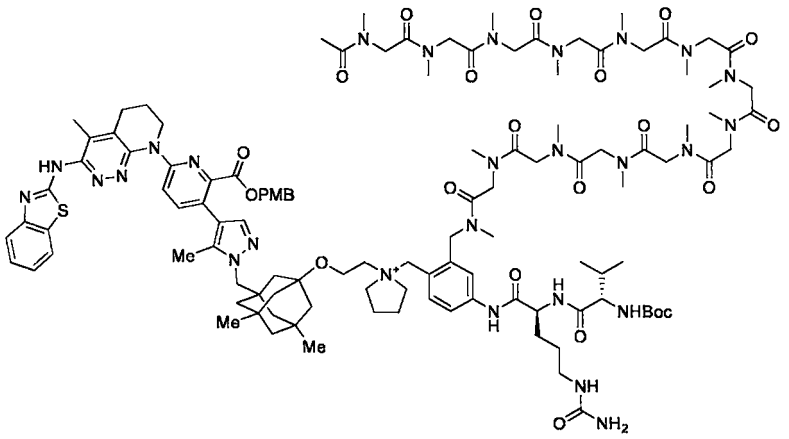
[3780] 根据一般程序4用1-(2-(((1s,3r,5R,7S)-3-((4-(6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-2-(((4-甲氧基苄基)氧基)羰基)吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙基)-1-(4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71,74,80,80-二十七甲基-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36,39,42,45,48,51,54,57,60,63,66,69,72,75,78-二十六氧代-79-氧杂-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氮杂八十一基)苄基)吡咯烷-1-鎓(20mg,0.0063mmol),获得1-(4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(77-羧基-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甲基-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36,39,42,45,48,51,54,57,60,63,66,69,72,75-二十五氧代-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氮杂七十七基)苄基)-1-(2-(((1s,3r,5R,7S)-3-((4-(6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙基)吡咯烷-1-鎓。HRMS:M+=2997.6001;Rt=1.65min(5min酸性方法).

[3781] 合成1-(2-(((1s,3r,5R,7S)-3-((4-(6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙基)-1-(2-(77-羧基-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甲基-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36,39,42,45,48,51,54,57,60,63,66,69,72,75-二十五氧代-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氮杂七十七基)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)吡咯烷-1-鎓(L37A-P21)

[3782] 

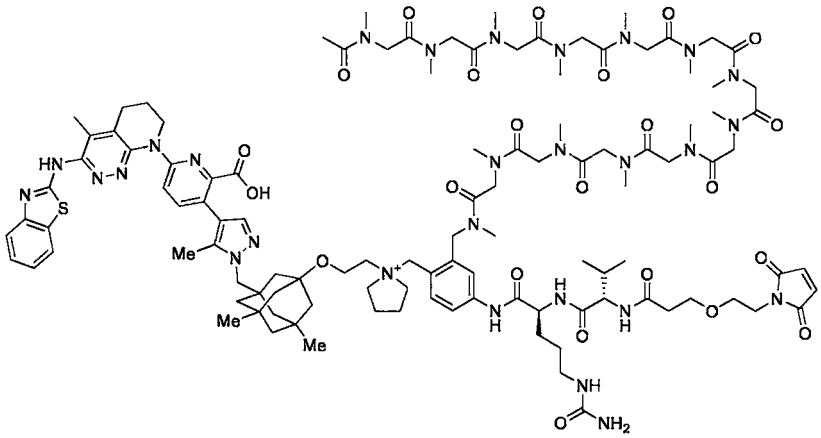
[3783] 根据一般程序5用1-(4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(77-羧基-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71,74-二十五甲基-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36,39,42,45,48,51,54,57,60,63,66,69,72,75-二十五氧代-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71,74-二十五氮杂七十七基)苄基)-1-(2-(((1s,3r,5R,7S)-3-((4-(6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙基)吡咯烷-1-鎓(35mg,0.011mmol)和2,5-二氧代吡咯烷-1-基3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酸酯(4.7mg,0.015mmol,1.4当量),获得1-(2-(((1s,3r,5R,7S)-3-((4-(6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙基)-1-(2-(77-羧基-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甲基-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36,39,42,45,48,51,54,57,60,63,66,69,72,75-二十五氧代-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氮杂七十七基)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)吡咯烷-1-鎓。HRMS:M+=3192.6399;Rt=1.86min(5min酸性方法).

[3784] 合成1-(2-(((1s,3r,5R,7S)-3-((4-(6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-2-(((4-甲氧基苄基)氧基)羰基)吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙基)-1-(4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38-十三甲基-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36,39-十三氧代-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38-十三氮杂四十基)苄基)吡咯烷-1-鎓

[3785] 

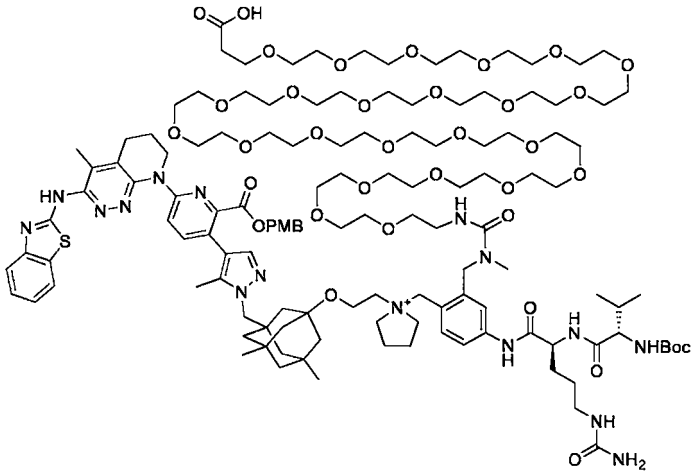
[3786] 根据一般程序3用1-(2-(((1s,3r,5R,7S)-3-((4-(6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-2-(((4-甲氧基苄基)氧基)羰基)吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙基)-1-(4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((甲基氨基)甲基)苄基)吡咯烷-1-鎓(70mg,0.043mmol)和3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36-十二甲基-4,7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37-十二氧代-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36-十二氮杂三十八烷酸(38.9mg,0.043mmol,1.0当量),获得1-(2-(((1s,3r,5R,7S)-3-((4-(6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-2-(((4-甲氧基苄基)氧基)羰基)吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙基)-1-(4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38-十三甲基-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36,39-十三氧代-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38-十三氮杂四十基)苄基)吡咯烷-1-鎓。HRMS:M+=2307.2300;Rt=2.20min(5min酸性方法).

[3787] 合成1-(2-(((1s,3r,5R,7S)-3-((4-(6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙基)-1-(4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38-十三甲基-3,6,9,12,15,18,21,24,27,3033,36,39-十三氧代-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38-十三氮杂四十基)苄基)吡咯烷-1-鎓(L38A-P21)

[3788] 

[3789] 根据一般程序4用1-(2-(((1s,3r,5R,7S)-3-((4-(6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-2-(((4-甲氧基苄基)氧基)羰基)吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙基)-1-(4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38-十三甲基-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36,39-十三氧代-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38-十三氮杂四十基)苄基)吡咯烷-1-鎓(67mg,0.029mmol)和然后使用粗反应产物和根据一般程序5用2,5-二氧代吡咯烷-1-基3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酸酯(13.5mg,0.044mmol,1.5当量),获得1-(2-(((1s,3r,5R,7S)-3-((4-(6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙基)-1-(4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38-十三甲基-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36,39-十三氧代-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38-十三氮杂四十基)苄基)吡咯烷-1-鎓。HRMS:M+=2282.2500;Rt=1.89min(5min酸性方法).

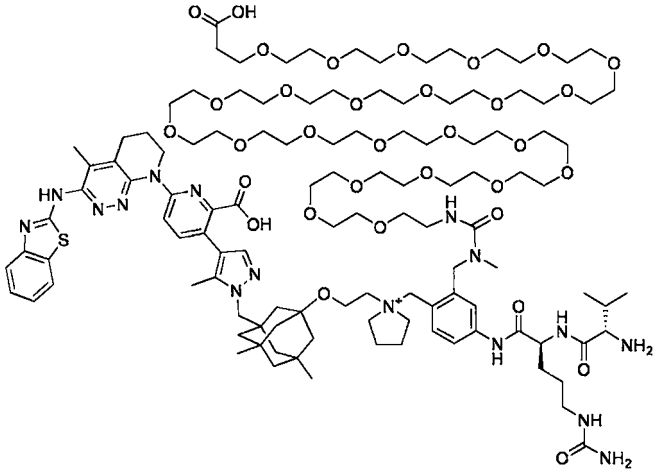
[3790] 合成1-(2-(((1s,3r,5R,7S)-3-((4-(6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-2-(((4-甲氧基苄基)氧基)羰基)吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙基)-1-(4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(78-羧基-2-甲基-3-氧代-7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43,46,49,52,55,58,61,64,67,70,73,76-二十四氧杂-2,4-二氮杂七十八基)苄基)吡咯烷-1-鎓

[3791] 

[3792] 在室温将1-氨基-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七十五-75-烷酸(67mg,0.059mmol,1.28当量)、二(4-硝基苯基)碳酸酯(17mg,0.057mmol,1.25当量)和DIPEA(48μL,0.28mmol,6.0当量)在DMF(1mL)中的混合物搅拌1h,同时添加1-(2-(((1s,3r,5R,7S)-3-((4-(6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-2-(((4-甲氧基苄基)氧基)羰基)吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙基)-1-(4-((S)-2-((S)-2-((叔-丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁氨基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((甲基氨基)甲基)苄基)吡咯烷-1-鎓(65mg,0.046mmol,1.0当量)和额外的DIEA(80uL,0.46mmol,10

当量)。搅拌1小时后,将溶液用DMSO(2.5mL)稀释并通过RP-HPLC纯化。冻干后,1-(2-(((1s,3r,5R,7S)-3-((4-(6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-2-(((4-甲氧基苄基)氧基)羰基)吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙基)-1-(4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(78-羧基-2-甲基-3-氧代-7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43,46,49,52,55,58,61,64,67,70,73,76-二十四氧杂-2,4-二氮杂七十八基)苄基)吡咯烷-1-鎓。HRMS:M+=2584.4399;Rt=2.39min(5min酸性方法).

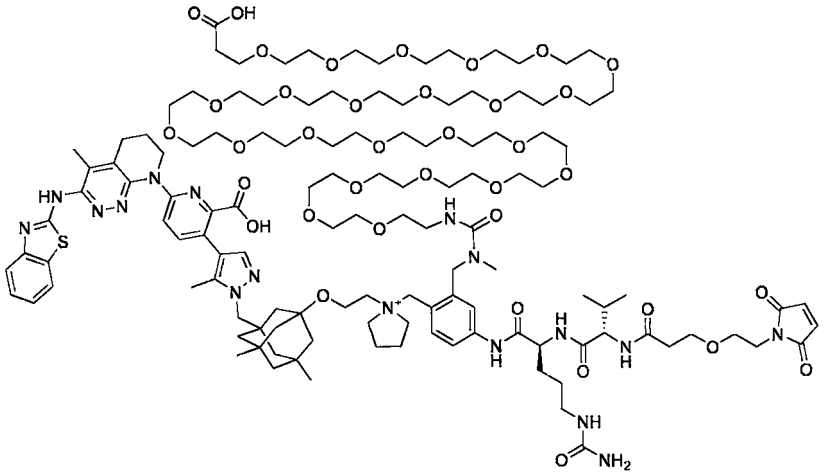
[3793] 合成1-(4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(78-羧基-2-甲基-3-氧代-7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43,46,49,52,55,58,61,64,67,70,73,76-二十四氧杂-2,4-二氮杂七十八基)苄基)-1-(2-(((1s,3r,5R,7S)-3-((4-(6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙基)吡咯烷-1-鎓

[3794] 

[3795] 根据一般程序4用1-(2-(((1s,3r,5R,7S)-3-((4-(6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-2-(((4-甲氧基苄基)氧基)羰基)吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙基)-1-(4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(78-羧基-2-甲基-3-氧代-7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43,46,49,52,55,58,61,64,67,70,73,76-二十四氧杂-2,4-二氮杂七十八基)苄基)吡咯烷-1-鎓(58mg,0.021mmol),获得1-(4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(78-羧基-2-甲基-3-氧代-7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43,46,49,52,55,58,61,64,67,70,73,76-二十四氧杂-2,4-二氮杂七十八基)苄基)-1-(2-(((1s,3r,5R,7S)-3-((4-(6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙基)吡咯烷-1-鎓。HRMS:$[(M+)+H+)]^{+2}/2$=1183.1700;Rt=1.88min(5min酸性方法).

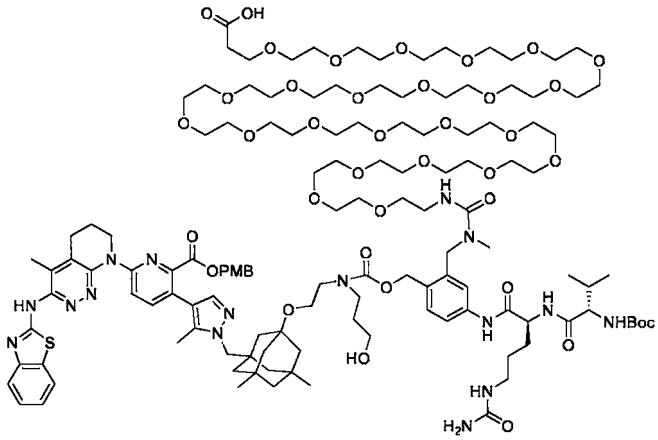
[3796] 合成1-(2-(((1s,3r,5R,7S)-3-((4-(6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙基)-1-(2-(78-羧基-2-甲基-3-氧代-7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43,46,49,52,55,58,61,64,67,70,73,76-二十四氧杂-2,4-二氮

杂七十八基)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)吡咯烷-1-鎓(L42A-P21)

[3797] 

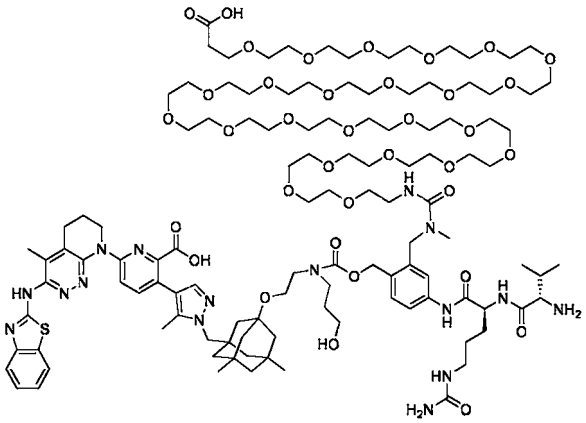
[3798] 根据一般程序5用1-(4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(78-羧基-2-甲基-3-氧代-7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43,46,49,52,55,58,61,64,67,70,73,76-二十四氧杂-2,4-二氮杂七十八基)苄基)-1-(2-(((1s,3r,5R,7S)-3-((4-(6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙基)吡咯烷-1-鎓(61mg,0.024mmol)和2,5-二氧代吡咯烷-1-基3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酸酯(10.2mg,0.033mmol,1.4当量),获得1-(2-(((1s,3r,5R,7S)-3-((4-(6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙基)-1-(2-(78-羧基-2-甲基-3-氧代-7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43,46,49,52,55,58,61,64,67,70,73,76-二十四氧杂-2,4-二氮杂七十八基)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)吡咯烷-1-鎓。HRMS:M+=2559.3701;Rt=2.07min(5min酸性方法).

[3799] 合成1-(2-((((2-(((1s,3r,5R,7S)-3-((4-(6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-2-(((4-甲氧基苄基)氧基)羰基)吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙基)(3-羟基丙基)氨基甲酰基)氧基)甲基)-5-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苯基)-2-甲基-3-氧代-7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43,46,49,52,55,58,61,64,67,70,73,76-二十四氧杂-2,4-二氮杂七十九-79-烷酸

[3800] 

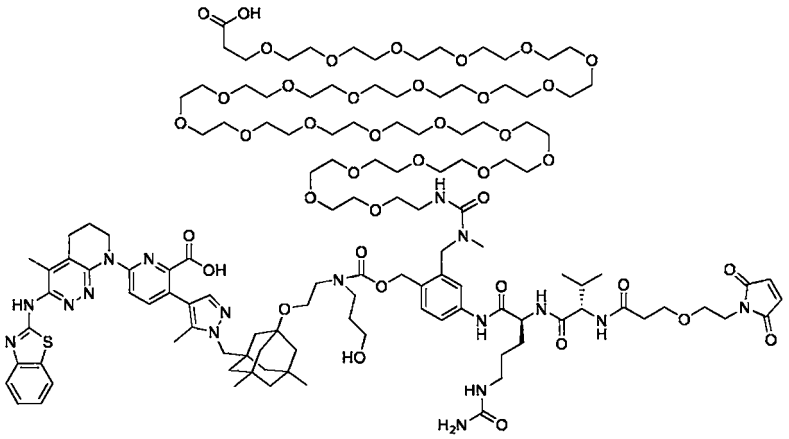
[3801] 在室温将1-氨基-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36,39,42,45,48,51,54,57,60,63,66,69,72-二十四氧杂七十五-75-烷酸(45.9mg,0.040mmol,1.3当量)、二(4-硝基苯基)碳酸酯(12mg,0.0394mmol,1.28当量)和DIPEA(32μL,0.184mmol,6.0当量)在DMF(1mL)中的混合物搅拌1h,同时添加1-(2-(((1s,3r,5R,7S)-3-((4-(6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-2-(((4-甲氧基苄基)氧基)羰基)吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙基)-1-(4-((S)-2-((S)-2-((叔-丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁氨基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((甲基氨基)甲基)苄基)吡咯烷-1-鎓(50mg,0.0308mmol,1.0当量)和额外的DIEA(53.7uL,0.308mmol,10当量)。搅拌1小时后,将溶液用DMSO(2.5mL)稀释并通过RP-HPLC纯化。冻干后,1-(2-((((2-(((1s,3r,5R,7S)-3-((4-(6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-2-(((4-甲氧基苄基)氧基)羰基)吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙基)(3-羟基丙基)氨基甲酰基)氧基)甲基)-5-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苯基)-2-甲基-3-氧代-7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43,46,49,52,55,58,61,64,67,70,73,76-二十四氧杂-2,4-二氮杂七十九-79-烷酸。HRMS:(M+2H+)+2/2=1316.7200;Rt=2.64min(5min酸性方法).

[3802] 合成3-(1-(((1r,3s,5R,7S)-3-(2-((((4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(78-羧基-2-甲基-3-氧代-7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43,46,49,52,55,58,61,64,67,70,73,76-二十四氧杂-2,4-二氮杂七十八基)苄基)氧基)羰基)(3-羟基丙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)吡啶甲酸

[3803] 

[3804] 根据一般程序4用1-(2-((((2-(((1s,3r,5R,7S)-3-((4-(6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-2-(((4-甲氧基苄基)氧基)羰基)吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙基)(3-羟基丙基)氨基甲酰基)氧基)甲基)-5-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苯基)-2-甲基-3-氧代-7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43,46,49,52,55,58,61,64,67,70,73,76-二十四氧杂-2,4-二氮杂七十九-79-烷酸(39mg,0.014mmol),获得3-(1-(((1r,3s,5R,7S)-3-(2-((((4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(78-羧基-2-甲基-3-氧代-7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43,46,49,52,55,58,61,64,67,70,73,76-二十四氧杂-2,4-二氮杂七十八基)苄基)氧基)羰基)(3-羟基丙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)吡啶甲酸。修改一般程序4以截去在伯羟基上形成的少量TFA酯。在浓缩TFA/CH2Cl2后,将残余物溶解于DMSO(1mL)中,添加DIEA(125uL,50当量),然后添加MeOH(1mL)。静置1小时后,截去酯并纯化溶液。HRMS:MH+=2412.3101;Rt=2.03min(5min酸性方法).

[3805] 合成6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-3-(1-(((1r,3s,5R,7S)-3-(2-((((2-(78-羧基-2-甲基-3-氧代-7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43,46,49,52,55,58,61,64,67,70,73,76-二十四氧杂-2,4-二氮杂七十八基)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)氧基)羰基)(3-羟基丙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸(L42C-P25)

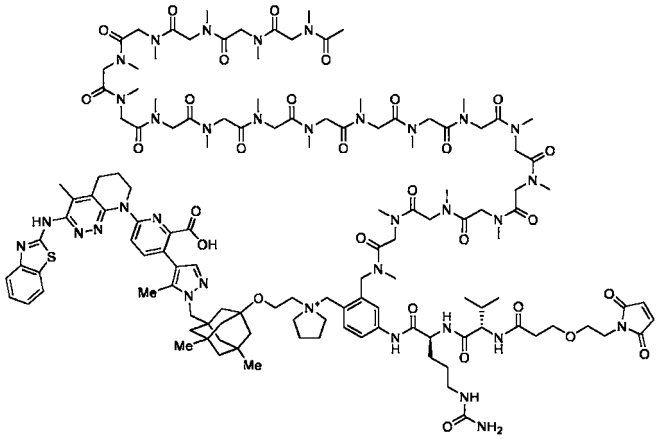
[3806] 

[3807] 根据一般程序5用3-(1-(((1r,3s,5R,7S)-3-(2-((((4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-

甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(78-羧基-2-甲基-3-氧代-7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43,46,49,52,55,58,61,64,67,70,73,76-二十四氧杂-2,4-二氮杂七十八基)苄基)氧基)羰基)(3-羟基丙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)吡啶甲酸(26mg,0.010mmol)和2,5-二氧代吡咯烷-1-基3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酸酯(4.0mg,0.013mmol,1.25当量),获得6-(3-(苯并[d]噻唑-2-基氨基)-4-甲基-6,7-二氢吡啶并[2,3-c]哒嗪-8(5H)-基)-3-(1-(((1r,3s,5R,7S)-3-(2-((((2-(78-羧基-2-甲基-3-氧代-7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43,46,49,52,55,58,61,64,67,70,73,76-二十四氧杂-2,4-二氮杂七十八基)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)氧基)羰基)(3-羟基丙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸。HRMS:MH+=2607.3601;Rt=2.27min(5min酸性方法).

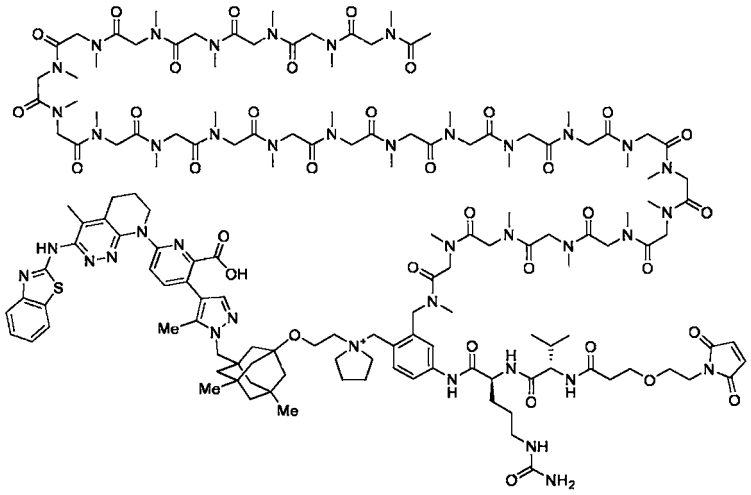
[3808] 使用与L38A-P21所述类似的程序制备以下化合物:

[3809] L39A-P21

[3810] 

[3811] HRMS:M+=2708.3999;Rt=1.85min(5min酸性方法).

[3812] L40A-P21

[3813] 

[3814] HRMS:M+=3134.6201;Rt=1.81min(5min酸性方法).

[3815] 可以使用与上述类似的程序来制备以下化合物:

[3816] L11A-P1、L11A-P21、L11A-P27、L11C-P19、L11C-P25、L30A-P1、L30C-P19、L30A-P21、L30C-P25、L30A-P27、L35A-P1、L35C-P19、L35A-P21、L35C-P25、L35A-P27、L36A-P1、L36C-P19、L36A-P21、L36C-P25、L36A-P27、L37A-P1、L37C-P19、L37A-P21、L37C-P25、L37A-P27、L38A-P1、L38C-P19、L38A-P21、L38C-P25、L38A-P27、L39A-P1、L39C-P19、L39A-P21、L39C-P25、L39A-P27、L40A-P1、L40C-P19、L40A-P21、L40C-P25、L40A-P27、L42A-P1、L42C-P19、L42A-P21、L42C-P25、L42A-P27、L67A-P1、L67C-P19、L67A-P21、L67C-P25、L67A-P27、L100A-P1、L100C-P19、L100A-P21、L100C-P25、L100A-P27、L103A-P1、L103C-P19、L103A-P21、L103C-P25、L103A-P27、L111A-P1、L111C-P19、L111A-P21、L111C-P25和L111A-P2.化合物的结构如表B所示。

[3817] 实施例5.Bcl-xL抑制剂ADC的合成和表征

[3818] 使用下述示例性方法合成示例性抗体-药物缀合物(ADC)。

[3819] 缩写：

[3820] Ab 抗体

[3821] ADC 抗体-药物缀合物

[3822] BCN (N-[(1R,8S,9S)-双环[6.1.0]壬-4-炔-9-基甲氧基羰基]-1,8-二氨基-3,6-二氧杂辛烷)

[3823] BTG 细菌转谷氨酰胺酶

[3824] CV 柱体积

[3825] DAR 药物比抗体的比率

[3826] DBCO 二苯并环辛炔

[3827] DFA 二氟乙酸

[3828] DMA 二甲基乙酰胺

[3829] DMF 二甲基甲酰胺

[3830] DMSO 二甲基亚砜

[3831] DTT 二硫苏糖醇

[3832] FA 甲酸

[3833] HIC 疏水相互作用色谱

[3834] LC-MS 液相色谱质谱法

[3835] L/P 接头-负载

[3836] mAb 单克隆抗体

[3837] PBS 磷酸盐缓冲盐水

[3838] PES 聚醚砜

[3839] PG 丙二醇

[3840] PLRP-s 聚合物反相柱

[3841] rmp 还原可修饰蛋白

[3842] SEC 尺寸排阻色谱

[3843] TFA 三氟乙酸

[3844] Tris 三(羟基甲基)氨基甲烷

[3845] 材料和方法:ADC BCL-xL的结合和分析表征

[3846] 抗体规格

[3847] 使用下述示例性方法合成示例性抗体-药物缀合物(ADC)。用于制备示例性ADC的抗体西妥昔单抗(抗EGFR)、抗CD7、抗CD7DANAPA、抗鸡溶菌酶DANAPA、米拉妥珠单抗(抗CD74)、抗CD38、抗CD48DANAPA和曲妥珠单抗(抗Her2)分别由缩写Ab C、Ab D、Ab E、Ab F、Ab G、Ab H、Ab I和Ab T定义(表12)。表12中的抗体序列公开于互联网go.drugbank.com/drugs/DB00002、国际申请公布WO2018/098306和美国专利号US6870034B2中,其通过引用以其整体并入。

[3848] 表12:用于合成示例性ADC的抗体

[3849]

抗体缩写	抗体	突变	序列(VL/VH)	同种异型
Ab C	西妥昔单抗 抗 EGFR	E163C S386C (E152C S375C)	C225	G1m3-1
Ab D	抗 CD7	E152C S375C	TH69	G1m3-1
Ab E (Ab D DANAPA)	抗 CD7 DANAPA	E152C S375C	TH69	G1m3-1
Ab F	抗鸡溶菌酶 DANAPA	E163C S386C (或 E152C S375C)	3207	G1m3-1
Ab G	米拉妥珠单抗 (Milatuzumab)	E152C S375C		

[3850]

	抗 CD74			
Ab H	抗 CD38	E152C S375C		
Ab I	抗 CD48 DANAPA	E152C S375C	SGN-CD48A	
Ab T	曲妥珠单抗	N297Q	SEQ 1 / 2	G1m3-1

[3851] 利用两个位点特异性生物缀合来合成示例性ADC。抗体C、D、E、F、G、H和I被赋予重链内掺入的半胱氨酸突变,并用于通过方法M1、M2、M3和M4通过马来酰亚胺基团缀合接头负载(图1)。

[3852] 抗体T(具有细菌转谷氨酰胺酶(BTG)-反应性谷氨酰胺)按照Innate Pharma 2013(2013年10月15日加利福尼亚州旧金山ADC峰会上的演示)、WO2017059160A1和WO2016144608A1所述,用含有胺的环辛炔BCN进行特异性官能化。这些修饰允许使用以下方法M5(图2)来缀合所描述的含叠氮化物的前体。

[3853] 缀合

[3854] 用于位点特异性半胱氨酸缀合的通用抗体制备：

[3855] 缀合在5mg抗体范围内进行。通过在Biorad尺寸的一次性柱中混合30分钟，以PBS中10mg Ab比1ml树脂的比例将mAb结合在rmp蛋白A树脂(GE Healthcare)上。为了解封反应性半胱氨酸，添加半胱氨酸盐酸盐一水合物至终浓度为20mM。将混合物在室温搅拌30分钟，然后在真空歧管上用5x50 CV的PBS洗涤树脂。然后将树脂重悬于等体积的含有250nM $CuCl_2$的PBS中，并孵育1.5小时。然后使用缀合方法M1、2、3和4来附接接头-负载。

[3856] 缀合方法M1：

[3857] 在真空歧管上用5x50 CV PBS清洗附接于蛋白A的再氧化抗体，并重悬于等树脂体积的PBS中。向混合物中添加10倍摩尔过量的20mM接头-负载溶液和等体积的DMSO。反应在室温孵育2小时。为了监测缀合，取出20μl树脂浆液，离心，除去上清液后，用40μl抗体洗脱缓冲液(Thermo Fisher Scientific)洗脱树脂，并通过PRLP-s进行分析。通过在真空歧管上清洗树脂5x50CV的PBS来消除过量的接头-负载后，用抗体洗脱缓冲液从蛋白A中洗脱ADC，并用0.1CV的1M Tris缓冲溶液(pH 9.0)中和。采用方法M1的示例ADC通过SEC柱HiLoad®26/600Superdex®200制备级(含20％DMA的PBS)进行纯化。

[3858] 缀合方法M2：

[3859] 在真空歧管上用5x50CVPBS清洗附接于蛋白A的再氧化抗体，并重悬于等树脂体积的PBS中。向混合物中添加10倍摩尔过量的20mM接头-负载溶液和等体积的DMSO。反应在室温孵育2小时。为了监测缀合，取出20μl树脂浆液，离心，除去上清液后，用40μl抗体洗脱缓冲液(Thermo Fisher Scientific)洗脱树脂，并通过PRLP-s进行分析。通过在真空歧管上清洗树脂5x50 CV的PBS来消除过量的接头-负载后，用抗体洗脱缓冲液从蛋白A中洗脱ADC，并用0.1CV的1M Tris缓冲溶液(pH 9.0)中和。

[3860] 缀合方法M3：

[3861] 用5x50 CV的PBS洗涤再氧化的抗体，并用4 CV的抗体洗脱缓冲液(Thermo Fisher Scientific)从蛋白A上洗脱。使用Vivaspin 20、50KD在PBS中进行缓冲液交换后，将PES(Sartorius Stedim,VS2031)、DMF和10倍摩尔过量的20mM接头-负载溶液添加到mAb中，导致介质中的最终溶剂百分比为20％。将反应混合物在室温搅拌18小时。将混合物离心(14000G,+4℃)20分钟，并通过SEC柱HiLoad®26/600Superdex®200制备级(含20％DMA的PBS)进行纯化。

[3862] 缀合方法M4：

[3863] 用5x50 CV的PBS洗涤再氧化的抗体，并用4 CV的抗体洗脱缓冲液(Thermo Fisher Scientific)从蛋白A上洗脱。使用Vivaspin 20、50KD在PBS中进行缓冲液交换后，将PES(Sartorius Stedim,VS2031)、DMF和10倍摩尔过量的20mM接头-负载溶液添加到mAb中，导致介质中的最终溶剂百分比为20％。将反应混合物在室温搅拌18小时。为了去除过量的L/P，将缀合物以PBS中5mg Ab比500μl树脂的比例与rmp蛋白A树脂(GE Healthcare)结合，浆液中最终溶剂百分比不超过5％。使用5％DMF的PBS溶液(5x50CV)洗涤步骤然后进行第二次PBS(5x50 CV)洗涤步骤后，用抗体洗脱缓冲液从蛋白A上洗脱缀合物，并用0.1 CV的1M Tris缓冲溶液中和，pH为9.0。

[3864] 使用M1、M2、M3和M4方法合成的所有示例ADC均通过在PBS 1X pH 7.4(Sigma Life

Science,P3813,10PAK)中透析(Thermo Fisher,88254)进行缓冲液交换,使用Vivaspin 20、50KD、PES(Sartorius Stedim,VS2031)浓缩,通过0.2μm无菌PES过滤器,25mm(Whatmann,G896-2502)无菌过滤,并保存在4℃。通过分析尺寸排阻色谱Superdex 200 Increase 5/150 GL(GE Healthcare,28990945)对它们进行表征,以确定单体百分比,并通过LC-MS确定药物比抗体的比率(DAR)。为了监测缀合,使用反相色谱,其使用Agilent PLRP-S色谱柱4000A 5um,4.6 x 50mm柱(缓冲液A水,0.1%TFA,缓冲液B乙腈,0.1%TFA,柱保持在80℃,流速1.5ml/min)。

[3865] 位点特异性转谷氨酰胺酶缀合的一般程序:

[3866] 在抗体曲妥珠单抗上进行位点特异性转谷氨酰胺酶缀合,其中抗体Fc区中存在的谷氨酰胺被如上所述的具有4个BCN接头的细菌转谷氨酰胺酶官能化。

[3867] 缀合方法M5:

[3868] 缀合在5mg抗体范围内进行。向Ab溶液中添加DMA,然后添加10倍摩尔过量的接头-弹头负载溶液(PG/DMA中的5mM),导致介质中的最终溶剂百分比为20%。将反应混合物在室温以64rpm搅拌18小时。然后,将该溶液与10倍摩尔过量的含DBCO的Tentagel树脂(0.1-0.2mmol/g,Iris Biotech,CS-0477.0500)一起孵育6小时,以除去过量的接头-负载。将溶液离心(14000G,4℃)20分钟,并将上清液加载到HiLoad 26/600 Superdex 200pg(GE Healthcare,28989336)SEC色谱柱上。使用含20%DMA的PBS(Sigma Life Science,P3813,10PAK)纯化ADC,然后在PBS1X pH 7.4(Sigma Life Science,P3813,10PAK)中进行2个周期的透析(16小时和4小时)。使用Vivaspin 20、50KD、PES(Sartorius Stedim,VS2031)浓缩缀合物,通过0.2μm无菌PES过滤器,25mm(Whatmann,G896-2502)进行无菌过滤,并保存在4℃。

[3869] 使用方法M5合成的所有示例ADC通过分析尺寸排阻色谱Superdex 200 Increase 5/150 GL(GE Healthcare,28990945)进行表征,以确定单体百分比,并通过LC-MS进行DAR测定。

[3870] 为了监测缀合,使用HIC色谱,其具有TOSOH Tskgel Butyl-NPR柱2,5μm 4,6 x 35mm(缓冲液A 1.5M$(NH_4)_2SO_4^{2-}$/25mM KH_2PO_4 pH7.0;缓冲液B 25mM KH_2PO_4/20%iPrOH pH至7.0,柱保持在21℃,流速0.6ml/min)。

[3871] 表征

[3872] LC-MS通用方法

[3873] 示例性ADC的药物比抗体比率(DAR)通过液相色谱联用质谱法(LC-MS)用以下方法之一测定(即,LC-I、LC-II、LC-III、LC-IV和LC-V)。对于LC-I、LC-II、LC-III和LC-IV方法,流动相A是MS级纯化水(Biosolve,Dieuze,France,00232141B1BS),流动相B是MS级乙腈(Biosolve,Dieuze,France,0001204101BS)和流动相D是补充有1%FA的纯化MS级水(Honeywell/Fluka,Bucharest,Romania,56302)。流动相D固定为10%,以保持0.1%FA流动相组成。可替代地,对于LC-IV方法,流动相A是用Milli-Q®系统获得的超纯水,流动相B是MS级乙腈(Biosolve,Dieuze,France,0001204101Bs)补充有0.1%FA(Fisher Chemical:A117-50-50ML)。对于LC-V方法,流动相A是用Milli-Q®系统获得的超纯水,流动相B是补充有0.1%DFA(Waters,186009201)的MS级乙腈(Biosolve,Dieuze,France,0001204101BS)。柱温设定为80℃。针对所有合成的ADC对通用MS方法进行了优化,以确定平均DAR(表13)。

[3874] LC-I:将ADC加载到MassPREPMicro脱盐柱(2.1 x 5.0mm,Waters,Saint-Quentin-

en-Yvelines,France,186004032)上。对于完整质量分析,以5%流动相B、流速0.5mL/min进行脱盐步骤0.5分钟。洗脱步骤的梯度从0.5分钟5%B到2.0分钟85%B,流速为0.2mL/min。两个洗涤步骤设置为2.1分钟至2.7分钟和2.8分钟至3.4分钟,浓度为5%B至85%B,流速为0.5mL/min。最后,在5%B(0.5mL/min)下进行3.5分钟的调节步骤0.5分钟。对于还原条件下的ADC分析,脱盐步骤在5%B下进行0.5分钟,流速为0.2mL/min。然后,洗脱步骤从0.51分钟10%B的梯度开始到7.61分钟50%B,流速为0.2mL/min。8.0分钟时,B相达到90%,流速为0.5mL/min。两个洗涤步骤设置为8.1分钟至8.6分钟和8.7分钟至9.2分钟从5%B到90%B(0.5mL/min)。最后,在9.3分钟进行调节步骤在5%B下以0.5mL/min的流速0.5分钟。

[3875] LC-II:将ADC装载到MabPac RP柱(2.1 x 100mm,4μm,Thermo Scientific,Rockford,IL,088647)上。为了在完整和还原条件下进行分析,脱盐步骤以20%B进行1.4分钟,流速为0.4mL/min。然后,以1.5分钟20%B至11.5分钟70%B的梯度进行洗脱步骤,流速为0.3mL/min。洗涤步骤设置为90%B下的11.75分钟至13.75分钟,流速为0.5mL/min。最后,在20%B、流速为0.4mL/min的情况下,在14.0分钟处使用调节步骤1.0分钟。

[3876] LC-III:将ADC上样到Bioresolve RP mAb聚苯,柱450A,2.7μm,2.1*150mm(Waters,Saint-Quentin-en-Yvelines,France,186008946)。为了在完整和还原条件下进行分析,脱盐步骤以20%B进行1.5分钟,流速为0.6mL/min。洗脱步骤的梯度从1.55分钟20%B到16.5分钟50%B,流速为0.6mL/min。洗涤步骤设置为90%B下的16.8分钟至18.8分钟,流速为0.6mL/min。最后,在20%B、流速为0.6mL/min的情况下,在19.1分钟处使用调节步骤1.0分钟(总运行时间=21分钟)。

[3877] LC-IV(80%A相(水/0.1%AF),20%B相(乙腈/0.1%AF)):将ADC上样到Bioresolve RP mAb聚苯,柱450A,2.7μm,2.1*150mm(Waters,Saint-Quentin-en-Yvelines,France,186008946)。为了在完整和还原条件下进行分析,脱盐步骤以20%B进行1.5分钟,流速为0.6mL/min。洗脱步骤的梯度从1.55分钟20%B到16.5分钟50%B,流速为0.6mL/min。洗涤步骤设置为100%B下的16.8分钟至18.8分钟,流速为0.6mL/min。最后,在20%B、流速为0.6mL/min的情况下,在19.2分钟处使用调节步骤1.8分钟(总运行时间=21分钟)。

[3878] LC-V(80%A相(水/0.1%DFA),20%B相(乙腈/0.1%DFA)):将ADC上样到Bioresolve RP mAb聚苯,柱450A,2.7μm,2.1*150mm(Waters,Saint-Quentin-en-Yvelines,France,186008946)。为了在完整和还原条件下进行分析,脱盐步骤以20%B进行1.5分钟,流速为0.6mL/min。洗脱步骤的梯度从1.55分钟20%B到16.5分钟50%B,流速为0.6mL/min。洗涤步骤设置为100%B下的16.8分钟至18.8分钟,流速为0.6mL/min。最后,在20%B、流速为0.6mL/min的情况下,在19.2分钟处使用调节步骤1.8分钟(总运行时间=21分钟)。

[3879] 使用与Xevo G2 XS Q-TOF ESI质谱仪(Waters,Manchester,UK)联用的Waters UPLC H-Class Bio色谱系统进行LC-MS分析。ADC在完整状态下进行分析(无初步处理),或使用PNGase F酶(New EnglandBiolabs®,P0705L)进行去糖基化步骤或用5mM(最终浓度)二硫苏糖醇DTT(Thermo Scientific,Rockford,IL,20291)还原后进行分析。随后,使用上述LC-I、LC-II、LC-III、LC-IV或LC-V之一分析经处理的ADC(表13)。使用MassLynx™采集软件(Waters,Manchester,UK)获得分析物的电喷雾电离飞行时间质谱。然后,使用MassLynx™软

件的最大熵(MaxEnt1)方法对提取的强度相比m/z谱进行解卷积,以便根据处理确定每个完整抗体种类或每个还原抗体片段的质量。最后,通过对未缀合和缀合给定物质(mAb或相关片段)的积分MS(总离子电流)或UV(280nm)峰面积求和,从解卷积光谱或UV色谱图中确定DAR。对于通过UV色谱图测定DAR,将每种物质的相对面积百分比乘以所附接的药物数量。将每种物质的加权面积总和除以总相对面积百分比之和,结果得出完整ADC的最终平均DAR值的估计值。对于通过解卷积光谱测定DAR,通过解卷积光谱的强度峰值计算所鉴定的每种物质的百分比。获得的百分比乘以所附接的药物的数量。汇总结果产生了完整ADC的最终平均DAR值的估计。

[3880] 尺寸排阻色谱法:通过测量缀合物的单体百分比,对每个ADC进行尺寸排阻色谱(SEC)质量控制。在分析柱Superdex 200 Increase 5/150GL(GE Healthcare,28990945)上在等度条件下进行分析,100%PBS pH7.4(Sigma Life Science,P3813,10PAK),流速0.45ml/min,持续12分钟。根据280nm处的峰面积吸光度对缀合物样品的聚集分数百分比进行定量。其计算基于280nm处高分子量洗脱液之间的比率除以高分子量和单体洗脱液在相同波长处的峰面积吸光度之和乘以100。

[3881] 结果

[3882] 示例性ADC的表征总结于表13中(偶联、LC-MS方法、DAR、聚集状态、ADC稳定性和产率)。使用上述LC-MS方法测定平均DAR值,并在ADC质量控制期间和稳定性研究(37℃孵育168小时)后通过尺寸排阻色谱(SEC)测量聚集体百分比。

[3883] 表13:ADC分析型表征和偶联方法

[3884]

ADC	偶联方法	LC-MS方法	DAR(根据LC-MS)	聚集体百分比(根据SEC)	Stab w1 +37° C % Agg(根据SEC)	% 产率
Ab C - L9A-P8	M3	LC-III	3.8	7	7	23

[3885]

Ab C - L9A-P9	M3	LC-III	3.8	3.3	ND	23
Ab C - L9A-P10	M3	LC-III	2.7	4.2	ND	13
Ab C - L9A-P11	M3	LC-III	4.2	2.3	2.4	67
Ab C - L9C-P12	M3	LC-III	3.3	2.5	4	23
Ab C - L9A-P13	M3	LC-III	3.4	2.5	0.2	21
Ab C - L9A-P14	M3	LC-III	3.5	2	7	15
Ab C - L9A-P15	M3	LC-III	3.2	2.9	3	19
Ab C - L9C-P16	M3	LC-III	3.8	1.3	2.4	47
Ab C - L9A-P1	M3	LC-III	4.1	3.4	6	28
Ab C - L9C-P17	M3	LC-III	3.1	22	22	15
Ab C - L9A-P18	M3	LC-III	3.4	2	3	23
Ab C - L9C-P19	M3	LC-III	3.6	2	2	85
Ab C - L9A-P20	M3	LC-III	3.8	2	4	46
Ab C - L9A-P21	M3	LC-III	3.6	2	4	50
Ab C - L9C-P22	M3	LC-III	4.1	2	2	59
Ab C - L9C-P23	M3	LC-III	3.3	3	5	27
Ab C - L9C-P24	M3	LC-III	3.2	2	2	61
Ab C - L9A-P2	M1	LC-III	3.5	3.5	ND	10
Ab C - L9C-P25	M2	LC-III	3	4	4	78
Ab C - L9C-P26	M2	LC-III	3.2	2	3	50
Ab C - L9A-P27	M3	LC-IV	4	16	16	32
Ab C - L9A-P28	M3	LC-IV	4.9	11	15	11

[3886]

Ab C - L9C-P29	M3	LC-IV	3.5	3	16	18
Ab C - L9A-P30	M3	LC-IV	3.5	1	5	55
Ab C - L9C-P31	M3	LC-IV	3.9	4	6	32
Ab C - L9A-P32	M3	LC-IV	2.8	2	2	57
Ab C - L9A-P33	M3	LC-IV	3.9	4	4	52
Ab C - L9A-P34	M4	LC-IV	3.9	6	6	31
Ab C - L9A-P35	M4	LC-IV	3.8	4	6	38
Ab C - L9A-P36	M4	LC-IV	4.2	10	7	35
Ab C - L9A-P37	M4	LC-IV	4	9	9	53
Ab C - L9A-P38	M4	LC-IV	4	4	6	38
Ab C - L9A-P39	M4	LC-IV	3.8	6	ND	32
Ab C - L9C-P40	M4	LC-IV	5.2	30	27	45
Ab C - L9A-P41	M2	LC-IV	2.3	7	9	80
Ab C - L9A-P42	M4	LC-IV	4.1	9	9	47
Ab C - L9A-P43	M4	LC-IV	3.8	4	6	44
Ab C - L21A-P2	M1	LC-II	3.6	4	4	73
Ab C - L27C-P3	M1	LC-III	3.7	6	17	23
Ab C -L106A-P2	M1	LC-III	3.3	7	ND	10
Ab C -L106C-P7	M1	LC-II	3	10	29	60
Ab C -L107C-P7	M1	LC-II	2.9	8	9	56
Ab C -L107A-P2	M1	LC-II	3.7	3	5	60

[3887]

Ab C -L108A-P2	M1	LC-II	4.1	4	5	70
Ab D - L27A-P1	M3	LC-III	3.9	4	9	45
Ab D - L9A-P1	M3	LC-III	4.4	8	8	44
Ab D - L9A-P9	M3	LC-III	3.9	8	10	33
Ab D - L9A-P13	M3	LC-III	4.7	10	10	44
Ab D - L9A-P8	M3	LC-III	3.4	12	12	54
Ab D - L9A-P10	M3	LC-III	3.2	9	12	54
Ab D - L9C-P44	M3	LC-III	3.4	6	4	70
Ab D - L9C-P45	M3	LC-III	4.3	5	2	38
Ab D - L9C-P46	M3	LC-III	4.2	4	6	66
Ab D - L9A-P20	M3	LC-III	3.9	3	4	46
Ab D - L9C-P19	M3	LC-III	3.6	3	3	26
Ab D - L9A-P21	M3	LC-III	3.5	4	4	66
Ab D - L9C-P22	M3	LC-III	3.8	2	2	72
Ab D - L9C-P17	M3	LC-III	2	4	6	88
Ab T - L13A-P2	M5	LC-I	4	2	3	62
Ab T - L19C-P7	M5	LC-I	4	4	7	72
Ab T - L23C-P7	M5	LC-II	4	4	4	51
Ab T - L110C-P7	M5	LC-II	4	3	4	48
Ab C - L9C-P3	M4	LC-V	0.5	4	6	72
Ab C - L9A-P61	M4	LC-IV	4.8	5	7	46
Ab C - L9C-P60	M4	LC-IV	2.3	3	4	75

[3888]

Ab C - L9A-P64	M4	LC-IV	4.2	10	7	73
Ab C - L9A-P67	M4	LC-IV	3.3	2	2	67
Ab C - L9A-P65	M4	LC-IV	4.0	10	6	51
Ab C - L9A-P63	M4	LC-IV	4.1	5	6	54
Ab C - L9A-P66	M4	LC-IV	3.6	5	7	50
Ab C - L9A-P68	M4	LC-IV	4.1	10	10	46
Ab C - L9A-P62	M4	LC-IV	4.0	6	6	49
Ab C - L9C-P69	M3	LC-IV	4.3	4	6	58
Ab C - L9A-P70	M4	LC-IV	3.6	1	2	49
Ab C - L9A-P48	M4	LC-IV	3.4	2	2	54
Ab C - L112A-P1	M4	LC-IV	4.0	5	7	99
Ab C - L9C-P71	M4	LC-IV	1.7	6	8	53
Ab C - L9C-P72	M4	LC-IV	3.8	12	5	51
Ab C - L9A-P50	M4	LC-IV	3.5	10	10	57
Ab C - L9A-P52	M4	LC-IV	3.5	12	27	45
Ab C - L9C-P53	M4	LC-IV	3.7	4	3	21
Ab C - L9C-P51	M4	LC-IV	4.3	29	ND	50
Ab C - L9A-P49	M4	LC-IV	3.8	2	3	39
Ab C - L9A-P55	M4	LC-IV	3.8	4	3	40
Ab C - L9C-P54	M4	LC-IV	3.6	4	2	20
Ab C - L9C-P47	M4	LC-IV	3.5	2	2	34

[3889]

Ab C - L9A-P56	M4	LC-IV	3.4	3	3	53
Ab C - L9A-P57	M4	LC-IV	3.6	2	2	44
Ab C - L9A-P58	M4	LC-IV	3.4	2	2	44
Ab C - L9A-P74	M3	LC-IV	3.8	11	24	27
Ab C - L9A-P75	M3	LC-IV	3.7	10	16	29
Ab C - L9A-P76	M3	LC-IV	4.0	13	15	19
Ab C - L9A-P73	M3	LC-IV	3.7	8	18	21
Ab G - L9C-P25	M2	LC-IV	3.2	5	14	99
Ab G - L11C-P25	M1	LC-IV	3.3	3	ND	60
Ab H - L9C-P25	M1	LC-IV	3.2	4	ND	77
Ab H - L11C-P25	M1	LC-IV	3.2	4	ND	74
Ab I - L9C-P25	M1	LC-IV	3.2	2	3	40
Ab I - L11C-P25	M2	LC-IV	3.1	11	8	66
Ab D - L9C-P25	M2	LC-IV	3.3	4	4	73
Ab D - L11C-P25	M2	LC-IV	3.2	3	4	75
Ab F - L9A-P21	M3	LC-IV	3.0	2	8	36
Ab E - L9A-P21	M3	LC-IV	2.7	2	10	25
Ab E - L9C-P25	M4	LC-IV	3.8	5	10	47
Ab E - L9A-P1	M3	LC-IV	4.0	1	1	27
Ab E - L9C-P40	M3	LC-IV	4.0	9	16	26
Ab E - L9A-P33	M4	LC-IV	4.0	3	3	55
Ab F - L9C-P25	M1	LC-IV	3.5	4	4	38

[3890]

[3891] 实施例6.EGFR1 CysMab ADC的合成和表征

[3892] 原料药中间体(DSi)制剂(Re-ox材料)

[3893] 将200mg 10mg/ml的EGFR1 CysMab(1.36μM)与20ml沉降的RMP蛋白A树脂(GE Lifesciences,17513803)一起孵育并搅拌15分钟。添加半胱氨酸盐酸盐一水合物至终浓度为20mM,并在室温搅拌孵育30分钟,以使反应性半胱氨酸解封闭。在真空歧管上用50倍柱体积的PBS快速清洗树脂。然后将树脂重悬于含有250nM $CuCl_2$的等体积PBS中。通过时间点监测抗体链间二硫键的重组。在每个时间点,除去25μL树脂浆料,添加1μL 20mM MC-valcit-MMAE,并将试管轻弹几次。将树脂离心,除去上清液,然后用50μL抗体洗脱缓冲液(Thermo)洗脱。将树脂沉淀,并使用Agilent PLRP-S 4000A 5um、4.6x50mm柱通过反相色谱分析上清液(缓冲液A为水,0.1%TFA,缓冲液B乙腈,0.1%TFA,柱保持在80C,流速1.5ml/min;梯度0分钟-30%B、5分钟-45%B、6.5分钟-100%B、8分钟-100%B、10分钟-30%)。添加$CuCl_2$后60分钟,在真空歧管上用50倍柱体积的PBS洗涤除去$CuCl_2$,然后添加20ml PBS重悬并通过重力沥干。用100ml抗体洗脱缓冲液(Thermo Scientific,21004)洗脱抗体,然后将缓冲液更换为1X PBS pH 7.2。然后使用离心浓缩器使用Amicon Ultra-15、50KDa、再生纤维素(Millipore,UFC0905024)将材料浓缩至6.6mg/ml,分成5mg等份,并在液氮中快速冷冻并储存在-80℃直到使用。

[3894] 使用原料药中间体(DSi)(Re-ox材料)的缀合方法

[3895] EGFR-L11C-P19的制备

[3896] 向EGFR(也标记为EGFR1 CysMab)DSi抗体溶液(2.0mg,274μl 1X PBS缓冲溶液中的7.3mg/ml溶液,0.013μmol,1.0当量)添加DMSO(20uL)和L11C-P19(5.28μl的20mM DMSO溶液,0.106μmol,8.0当量)。DMSO总量为＜/＝10%。将所得混合物在环境温度下以400rpm振荡2小时,此时通过超速离心纯化混合物(4ml Amicon 30kD截止滤膜,用1X PBS缓冲液将样品稀释至4ml总体积,然后离心10分钟,7500 x g,重复6次)。用1X PBS缓冲液稀释至5.0mg/ml后,获得EGFR-L11C-P19(1.9mg,0.012μmoles,90%)。进行了以下分析:分析型尺寸排阻色谱(SEC)确定单体百分比,减少等分试样(MS)的质谱分析确定DAR,以及通过A280利用消光系数和抗体分子量确定蛋白质浓度。HRMS数据(蛋白质方法)表明所附接的HC+2接头负载的质量为58050,DAR为4.0。SEC显示1.0%聚集,如通过比较280nm处的高分子量峰吸光度面积与单体ADC的峰吸光度面积来确定。注释:在某些情况下,缀合反应通过蛋白A方法纯化,然后使用超速离心进行1X PBS缓冲液交换。

[3897] 按照上述使用DSi(Re-ox材料)的缀合方法,制备了以下缀合物:

[3898]

ADC	产率	DAR4 M+ 或 (HC+2LP)+	DAR	%Agg
EGFR-L1A-P1	95%	157294（degly）	3.8	1.6
EGFR-L1A-P2	95%	160074	4.0	2.1
EGFR-L1C-P3	89%	160307	4.0	2.0
EGFR-L3A-P1	42%	1586411 HC+2LP=55916	3.9	5.0
EGFR-L3C-P3	82%	159415	3.7	12.0
EGFR-L3C-P4	94%	159649	3.6	1.0
EGFR-L3C-P5	95%	159200	3.6	2.0
EGFR-L4A-P1	95%	158443	4.0	1.6
EGFR-L7A-P1	95%	158448	4.0	2.0
EGFR-L7A-P2	43%	158342	4.2	2.5
EGFR-L7C-P3	50%	158567	3.9	9.0
EGFR-L7C-P6	47%	158728	3.7	3.0
EGFR-L7C-P7	76%	158782	3.8	8.0
EGFR-L8A-P1	95%	158218	3.9	2.0
EGFR-L8C-P7	39%	158250	3.6	2.0
EGFR-L9A-P1	49%	54731 (HC+2LP)	4.0	1.0
EGFR-L9A-P2	53%	54678 (HC+2LP)	4.0	4.1
EGFR-L9C-P4	40%	157276	3.6	4.5
EGFR-L9C-P5	95%	156834	3.6	1.0

[3899]

EGFR-L109A-P1	93%	161262	3.5	4.5
EGFR-L10A-P1	95%	160640	4.0	1.0
EGFR-L10A-P2	95%	160548	4.0	2.0
EGFR-L10C-P3	95%	160763	3.8	1.0
EGFR-L11A-P21	87%	57891 (HC+2LP)	3.8	3.0
EGFR-L11A-P27	87%	57839 (HC+2LP)	3.8	3.0
EGFR-L11C-P19	90%	58050 (HC+2L)	4.0	1.0
EGFR-L11C-P25	84%	57988 (HC+2LP)	3.8	1.0
EGFR-L30A-P21	66%	57688 (HC+2LP)	4.0	2.0
EGFR-L35A-P21	64%	57360 (HC+2LP)	4.0	2.0
EGFR-L36A-P21	63%	58248 (HC+2LP)	4.0	2.0
EGFR-L37A-P21	67%	59102 (HC+2LP)	4.0	2.0
EGFR-L38A-P21	60%	57280 (HC+2LP)	4.0	2.0
EGFR-L39A-P21	69%	58132 (HC+2LP)	4.0	2.0
EGFR-L40A-P21	70%	58948 (HC+2LP)	4.0	2.0
EGFR-L42A-P21	54%	57836 (HC+2LP)	4.0	1.0
EGFR-L42C-P25	57%	57930 (HC+2LP)	4.0	1.0

[3900] 实施例7.用于多靶标体外测定的BCL-xL抑制剂ADC的合成

[3901] 抗体的表达和纯化

[3902] 表14列出了用于合成本文公开的抗体药物缀合物的抗体。抗体重链序列被修饰以包括E152和S375位置处的半胱氨酸突变(根据EU编号)以促进与本文公开的接头-负载的缀

合。表14中的某些示例性抗体序列公开于国际申请出版物中，例如WO2016/179257、WO2011/097627、WO2017/214282、WO2017/214301、WO2017/214233、WO2013/126810、WO2008/056833、WO2020/236817和WO2017/214335，其通过引用以其整体并入。

[3903] 表14：抗体序列

[3904]

抗体靶标/代码	抗体名称	重链（CysMab）序列	轻链（CysMab）序列

[3905]

EGFR1	西妥昔单抗	QVQLKQSGPGLV QPSQSLSITCTVS GFSLTNYGVHWV RQSPGKGLEWLG VIWSGGNTDYNT PFTSRLSINKDNS KSQVFFKMNSLQ SNDTAIYYCARA LTYYDYEFAYWG QGTLVTVSAAST KGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCL VKDYFPCPVTVS WNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSL SSVVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPS NTKVDKRVEPKS CDKTHTCPPCPAP ELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPS REEMTKNQVSLT CLVKGFYPCDIAV EWESNGQPENNY KTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQ KSLSLSPGK (SEQ ID NO:92)	DILLTQSPVILS VSPGERVSFSC RASQSIGTNIH WYQQRTNGSP RLLIKYASESIS GIPSRFSGSGS GTDFTLSINSV ESEDIADYYC QQNNNWPTTF GAGTKLELKR TVAAPSVFIFP PSDEQLKSGT ASVVCLLNNF YPREAKVQW KVDNALQSG NSQESVTEQD SKDSTYSLSST LTLSKADYEK HKVYACEVTH QGLSSPVTKSF NRGEC (SEQ ID NO:93)
TFRC	CD71 (CX-2029)	QVQLVQSGAEVK KPGASVKMSCK ASGYTFTSYWM HWVRQAPGQGL EWIGAIYPGNSET	DIVLTQSPLSL AVSLGQPAIIS CKASQSVSFA GTSLMHWYH QKPGQQPRLL

[3906]

		GYAQKFQGRATL TADTSTSTAYME LSSLRSEDTAVYY CTRENWDPGFAF WGQGTLITVSSA STKGPSVFPLAPS SKSTSGGTAALG CLVKDYFPCPVT VSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHK PSNTKVDKRVEP KSCDKTHTCPPC PAPELLGGPSVFL FPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVY TLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFY PCDIAVEWESNG QPENNYKTTPPV LDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSP GK (SEQ ID NO:94)	IYRASNLEAG VPDRFSGSGS KTDFTLTISPV EAEDAATYYC QQSREYPYTF GGGTKLEIKR TVAAPSVFIFP PSDEQLKSGT ASVVCLLNNF YPREAKVQW KVDNALQSG NSQESVTEQD SKDSTYSLSST LTLSKADYEK HKVYACEVTH QGLSSPVTKSF NRGEC (SEQ ID NO:95)

[3907]

EPCAM	奥波尔珠单抗* *莫奥珠单抗（oportuzumab monatox）的可变重链和可变轻链序列与人重链恒定区和轻链恒定区组合，产生完整的IgG抗体序列	EVQLVQSGPGLV QPGGSVRISCAAS GYTFTNYGMNW VKQAPGKGLEW MGWINTYTGEST YADSFKGRFTFSL DTSASAAYLQINS LRAEDTAVYYCA RFAIKGDYWGQG TLLTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTS GGTAALGCLVKD YFPCPVTVSWNS GALTSGVHTFPAV LQSSGLYSLSSVV TVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKV DKRVEPKSCDKT HTCPPCPAPELLG GPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREP QVYTLPPSREEM TKNQVSLTCLVK GFYPCDIAVEWE SNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSL SPGK (SEQ ID NO:96)	DIQMTQSPSSL SASVGDRVTIT CRSTKSLLHS NGITYLYWYQ QKPGKAPKLL IYQMSNLASG VPSRFSSSGSG TDFTLTISSLQ PEDFATYYCA QNLEIPRTFGQ GTKVELKRTV AAPSVFIFPPS DEQLKSGTAS VVCLLNNFYP REAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSTLTL SKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFNR GEC (SEQ ID NO:97)

[3908]

FOLR1	米维妥昔单抗（Mirvetuximab）	QVQLVQSGAEVVKPGASVKISCKASGYTFTGYFMNWVKQSPGQSLEWIGRIHPYDGDTFYNQKFQGKATLTVDKSSNTAHMELLSLTSEDFAVYYCTRYDGSRAMDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPCPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPCDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:98)	DIVLTQSPLSLAVSLGQPAIISCKASQSVSFAGTSLMHWYHQKPGQQPRLLIYRASNLEAGVPDRFSGSGSKTDFTLTISPVEAEDAATYYCQQSREYPYTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:99)
ENPP3	ENPP3 (AGS16-7.8)	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQHPGKGLE	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGISLHWYQQKPDQ

[3909]

		WIGIIYYSGSTYY NPSLKSRVTISVD TSKNQFSLKLNS VTAADTAVFYCA RVAIVTTIPGGMD VWGQGTTVTVSS ASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPCPV TVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSS LGTQTYICNVNH KPSNTKVDKRVE PKSCDKTHTCPP CPAPELLGGPSVF LFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVY TLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFY PCDIAVEWESNG QPENNYKTTPPV LDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSP GK (SEQ ID NO:100)	SPKLLIKYASQ SFSGVPSRFSG SGSGTDFTLTI NSLEAEDAAT YYCHQSRSFP WTFGQGTKV EIKRTVAAPSV FIFPPSDEQLK SGTASVVCLL NNFYPREAKV QWKVDNALQ SGNSQESVTE QDSKDSTYSL SSTLTLSKAD YEKHKVYACE VTHQGLSSPV TKSFNRGEC (SEQ ID NO:101)
MET	特利索珠单抗（Telisotuzumab）	QVQLVQSGAEVK KPGASVKVSCKA SGYIFTAYTMHW VRQAPGQGLEW MGWIKPNNGLA NYAQKFQGRVT MTRDTSISTAYM ELSRLRSDDTAV	DIVMTQSPDS LAVSLGERATI NCKSSESVDS YANSFLHWYQ QKPGQPPKLLI YRASTRESGV PDRFSGSGSG TDFTLTISSLQ

[3910]

		YYCARSEITTEFD YWGQGTLVTVSS ASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPCPV TVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSS LGTQTYICNVNH KPSNTKVDKRVE PKSCDKTHTCPP CPAPELLGGPSVF LFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVY TLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFY PCDIAVEWESNG QPENNYKTTPPV LDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSP GK (SEQ ID NO:102)	AEDVAVYYCQ QSKEDPLTFG GGTKVEIKRT VAAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWK VDNALQSGNS QESVTEQDSK DSTYSLSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFNR GEC (SEQ ID NO:103)

[3911]

AXL	依那泊他单抗（Enapotamab）	EVQLLESGGGLV QPGGSLRLSCAA SGFTFSSYAMNW VRQAPGKGLEW VSTTSGSGASTY YADSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYC AKIWIAFDIWGQ GTMVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLV KDYFPCPVTVSW NSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLS SVVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSN TKVDKRVEPKSC DKTHTCPPCPAPE LLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSR EEMTKNQVSLTC LVKGFYPCDIAVE WESNGQPENNY KTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQ KSLSLSPGK (SEQ ID NO:104)	EIVLTQSPGTL SLSPGERATLS CRASQSVSSS YLAWYQQKP GQAPRLLIYG ASSRATGIPDR FSGSGSGTDFT LTISRLEPEDF AVYYCQQYGS SPYTFGQGTK LEIKRTVAAPS VFIFPPSDEQL KSGTASVVCL LNNFYPREAK VQWKVDNAL QSGNSQESVT EQDSKDSTYS LSSTLTLSKAD YEKHKVYACE VTHQGLSSPV TKSFNRGEC (SEQ ID NO:105)
SLC34A2	利法妥珠单抗（Lifastuzumab）	EVQLVESGGGLV QPGGSLRLSCAA SGFSFSDFAMSW VRQAPGKGLEW VATIGRVAFHTYY	DIQMTQSPSSL SASVGDRVTIT CRSSETLVHSS GNTYLEWYQ QKPGKAPKLL

[3912]

		PDSMKGRFTISR DNSKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYC ARHRGFDVGHFD FWGQGTLVTVSS ASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPCPV TVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSS LGTQTYICNVNH KPSNTKVDKRVE PKSCDKTHTCPP CPAPELLGGPSVF LFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVY TLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFY PCDIAVEWESNG QPENNYKTTPPV LDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSP GK (SEQ ID NO:106)	IYRVSNRFSGV PSRFSGSGSGT DFTLTISSLQP EDFATYYCFQ GSFNPLTFGQ GTKVEIKRTV AAPSVFIFPPS DEQLKSGTAS VVCLLNNFYP REAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSTLTL SKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFNR GEC (SEQ ID NO:107)
NECTIN 4	恩福单抗（Enfortumab）	EVQLVESGGGLV QPGGSLRLSCAA SGFTFSSYNMNW VRQAPGKGLEW VSYISSSSSTIYYA DSVKGRFTISRD NAKNSLSLQMNS LRDEDTAVYYCA RAYYYGMDVWG	DIQMTQSPSS VSASVGDRVT ITCRASQGISG WLAWYQQKP GKAPKFLIYA ASTLQSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQPE DFATYYCQQA

[3913]

		QGTTVTVSSAST KGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCL VKDYFPCPVTVS WNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSL SSVVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPS NTKVDKRVEPKS CDKTHTCPPCPAP ELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPS REEMTKNQVSLT CLVKGFYPCDIAV EWESNGQPENNY KTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQ KSLSLSPGK (SEQ ID NO:108)	NSFPPTFGGGT KVEIKRTVAA PSVFIFPPSDE QLKSGTASVV CLLNNFYPRE AKVQWKVDN ALQSGNSQES VTEQDSKDST YSLSSTLTLSK ADYEKHKVY ACEVTHQGLS SPVTKSFNRG EC (SEQ ID NO:109)

[3914]

TACSTD2	沙珠单抗（Sacituzumab）	QVQLQQSGSELK KPGASVKVSCKA SGYTFTNYGMN WVKQAPGQGLK WMGWINTYTGE PTYTDDFKGRFA FSLDTSVSTAYLQ ISSLKADDTAVYF CARGGFGSSYW YFDVWGQGSLVT VSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPC PVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPS SSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKR VEPKSCDKTHTC PPCPAPELLGGPS VFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQ VYTLPPSREEMT KNQVSLTCLVKG FYPCDIAVEWES NGQPENNYKTTP PVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSL SPGK (SEQ ID NO:110)	DIQLTQSPSSL SASVGDRVSIT CKASQDVSIA VAWYQQKPG KAPKLLIYSAS YRYTGVPDRF SGSGSGTDFT LTISSLQPEDF AVYYCQQHYI TPLTFGAGTK VEIKRTVAAPS VFIFPPSDEQL KSGTASVVCL LNNFYPREAK VQWKVDNAL QSGNSQESVT EQDSKDSTYS LSSTLTLSKAD YEKHKVYACE VTHQGLSSPV TKSFNRGEC (SEQ ID NO:111)
SLC39A6	拉迪拉珠单抗（Ladiratuzumab）	QVQLVQSGAEVK KPGASVKVSCKA SGLTIEDYYMHW VRQAPGQGLEW	DVVMTQSPLS LPVTLGQPASI SCRSSQSLLHS SGNTYLEWY

[3915]

		MGWIDPENGDTE YGPKFQGRVTMT RDTSINTAYMELS RLRSDDTAVYYC AVHNAHYGTWF AYWGQGTLVTVS SASTKGPSVFPLA PSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPCPV TVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSS LGTQTYICNVNH KPSNTKVDKRVE PKSCDKTHTCPP CPAPELLGGPSVF LFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVY TLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFY PCDIAVEWESNG QPENNYKTTPPV LDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSP GK (SEQ ID NO:112)	QQRPGQSPRP LIYKISTRFSG VPDRFSGSGS GTDFTLKISRV EAEDVGVYY CFQGSHVPYT FGGGTKVEIK RTVAAPSVFIF PPSDEQLKSG TASVVCLLNN FYPREAKVQ WKVDNALQS GNSQESVTEQ DSKDSTYSLSS TLTLSKADYE KHKVYACEVT HQGLSSPVTK SFNRGEC (SEQ ID NO:113)

[3916]

GPNMB	格伦巴妥单抗（Glembatumumab）	QVQLQESGPGLV KPSQTLSLTCTVS GGSISSFNYYWS WIRHHPGKGLE WIGYIYYSGSTYS NPSLKSRVTISVD TSKNQFSLTLSSV TAADTAVYYCAR GYNWNYFDYWG QGTLVTVSSAST KGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCL VKDYFPCPVTVS WNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSL SSVVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPS NTKVDKRVEPKS CDKTHTCPPCPAP ELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPS REEMTKNQVSLT CLVKGFYPCDIAV EWESNGQPENNY KTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQ KSLSLSPGK (SEQ ID NO:114)	EIVMTQSPATL SVSPGERATLS CRASQSVDNN LVWYQQKPG QAPRLLIYGA STRATGIPARF SGSGSGTEFTL TISSLQSEDFA VYYCQQYNN WPPWTFGQG TKVEIKRTVA APSVFIFPPSD EQLKSGTASV VCLLNNFYPR EAKVQWKVD NALQSGNSQE SVTEQDSKDS TYSLSSTLTLS KADYEKHKV YACEVTHQGL SSPVTKSFNR GEC (SEQ ID NO:115)
MSLN	阿奈单抗（Anetumab）	QVELVQSGAEVK KPGESLKISCKGS GYSFTSYWIGWV RQAPGKGLEWM GIIDPGDSRTRYS	DIALTQPASVS GSPGQSITISC TGTSSDIGGY NSVSWYQQH PGKAPKLMIY

[3917]

		PSFQGQVTISADK SISTAYLQWSSLK ASDTAMYYCAR GQLYGGTYMDG WGQGTLVTVSSA STKGPSVFPLAPS SKSTSGGTAALG CLVKDYFPCPVT VSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHK PSNTKVDKRVEP KSCDKTHTCPPC PAPELLGGPSVFL FPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVY TLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFY PCDIAVEWESNG QPENNYKTTPPV LDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSP GK (SEQ ID NO:116)	GVNNRPSGVS NRFSGSKSGN TASLTISGLQA EDEADYYCSS YDIESATPVFG GGTKLTVLGQ PKAAPSVTLFP PSSEELQANK ATLVCLISDFY PGAVTVAWKA DSSPVKAGVE TTTPSKQSNN KYAASSYLSL TPEQWKSHRS YSCQVTHEGS TVEKTVAPTE CS (SEQ ID NO:117)

[3918]

	CD74	米拉妥珠单抗（Milatuzumab）	QVQLQQSGSELK KPGASVKVSCKA SGYTFTNYGVN WIKQAPGQGLQ WMGWINPNTGE PTFDDDFKGRFA FSLDTSVSTAYLQ ISSLKADDTAVYF CSRSRGKNEAWF AYWGQGTLVTVS SASTKGPSVFPLA PSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPCPV TVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSS LGTQTYICNVNH KPSNTKVDKRVE PKSCDKTHTCPP CPAPELLGGPSVF LFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVY TLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFY PCDIAVEWESNG QPENNYKTTPPV LDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSP GK (SEQ ID NO:118)	DIQLTQSPLSL PVTLGQPASIS CRSSQSLVHR NGNTYLHWF QQRPGQSPRL LIYTVSNRFSG VPDRFSGSGS GTDFTLKISRV EAEDVGVYFC SQSSHVPPTFG AGTRLEIKRT VAAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWK VDNALQSGNS QESVTEQDSK DSTYSLSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFNR GEC (SEQ ID NO:119)

[3919]

F3	替索单抗（Tisotumab）	EVQLLESGGGLV QPGGSLRLSCAA SGFTFSNYAMSW VRQAPGKGLEW VSSISGSGDYTYY TDSVKGRFTISRD NSKNTLYLQMNS LRAEDTAVYYCA RSPWGYYLDSW GQGTLVTVSSAS TKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGC LVKDYFPCPVTV SWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLG TQTYICNVNHKP SNTKVDKRVEPK SCDKTHTCPPCPA PELLGGPSVFLFP PKPKDTLMISRTP EVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNK ALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTL PPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPCD IAVEWESNGQPE NNYKTTPPVLDS DGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHY TQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:120)	DIQMTQSPPSL SASAGDRVTIT CRASQGISSRL AWYQQKPEK APKSLIYAASS LQSGVPSRFS GSGSGTDFTL TISSLQPEDFA TYYCQQYNSY PYTFGQGTKL EIKRTVAAPSV FIFPPSDEQLK SGTASVVCLL NNFYPREAKV QWKVDNALQ SGNSQESVTE QDSKDSTYSL SSTLTLSKAD YEKHKVYACE VTHQGLSSPV TKSFNRGEC (SEQ ID NO:121)
MUC16	索菲珠单抗（Sofituzumab）	EVQLVESGGGLV QPGGSLRLSCAA SGYSITNDYAWN WVRQAPGKGLE WVGYISYSGYTT	DIQMTQSPSSL SASVGDRVTIT CKASDLIHNW LAWYQQKPG KAPKLLIYGA

[3920]

		YNPSLKSRFTISR DTSKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYC ARWTSGLDYWG QGTLVTVSSAST KGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCL VKDYFPCPVTVS WNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSL SSVVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPS NTKVDKRVEPKS CDKTHTCPPCPAP ELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPS REEMTKNQVSLT CLVKGFYPCDIAV EWESNGQPENNY KTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQ KSLSLSPGK (SEQ ID NO:122)	TSLETGVPSRF SGSGSGTDFT LTISSLQPEDF ATYYCQQYW TTPFTFGQGT KVEIKRTVAA PSVFIFPPSDE QLKSGTASVV CLLNNFYPRE AKVQWKVDN ALQSGNSQES VTEQDSKDST YSLSSTLTLSK ADYEKHKVY ACEVTHQGLS SPVTKSFNRG EC (SEQ ID NO:123)
EGFR2	Aba	EVQLQESGPGLV KPSQTLSLTCTVS GYSISRDFAWNW IRQPPGKGLEWM GYISYNGNTRYQ PSLKSRITISRDTS KNQFFLKLNSVT AADTATYYCVTA SRGFPYWGQGTL VTVSSASTKGPS	DIQMTQSPSS MSVSVGDRVT ITCHSSQDINS NIGWLQQKPG KSFKGLIYHG TNLDDGVPSR FSGSGSGTDY TLTISSLQPED FATYYCVQYA QFPWTFGGGT

[3921]

		VFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDY FPCPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVD KRVEPKSCDKTH TCPPCPAPELLGG PSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQ VYTLPPSREEMT KNQVSLTCLVKG FYPCDIAVEWES NGQPENNYKTTP PVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSL SPGK (SEQ ID NO:124)	KLEIKRTVAAP SVFIFPPSDEQ LKSGTASVVC LLNNFYPREA KVQWKVDNA LQSGNSQESV TEQDSKDSTY SLSSTLTLSKA DYEKHKVYA CEVTHQGLSS PVTKSFNRGE C (SEQ ID NO:125)
CD7	Ab D	EVQLVESGGGLV KPGGSLKLSCAA SGLTFSSYAMSW VRQTPEKRLEWV ASISSGGFTYYPD SVKGRFTISRDN ARNILYLQMSSL RSEDTAMYYCAR DEVRGYLDVWG AGTTVTVSSAST KGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCL VKDYFPCPVTVS WNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSL	DIQMTQTTSS LSASLGDRVTI SCSASQGISNY LNWYQQKPD GTVKLLIYYT SSLHSGVPSRF SGSGSGTDYS LTISNLEPEDI ATYYCQQYSK LPYTFGGGTK LEIKRTVAAPS VFIFPPSDEQL KSGTASVVCL LNNFYPREAK VQWKVDNAL

[3922]

		SSVVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPS NTKVDKRVEPKS CDKTHTCPPCPAP ELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPS REEMTKNQVSLT CLVKGFYPCDIAV EWESNGQPENNY KTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQ KSLSLSPGK (SEQ ID NO:143)	QSGNSQESVT EQDSKDSTYS LSSTLTLSKAD YEKHKVYACE VTHQGLSSPV TKSFNRGEC (SEQ ID NO:144)
SEZ6	SC17.46	QVQLVQSGAEVK KPGASVKVSCKA SGYTFTSYWINW VRQAPGQGLEWI GNIFPDTTTNYN EKFKGRVTLTRD TSISTAYMELSRL RSDDTAVYYCAR EYYDGTYDAMD YWGQGTLVTVSS ASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPCPV TVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSS LGTQTYICNVNH KPSNTKVDKRVE PKSCDKTHTCPP CPAPELLGGPSVF	AIQMTQSPSSL SASVGDRVTIT CKASQSVNND VAWYQQKPG KAPKLLIYYAS NRYTGVPSRF SGSGSGTDFT LTISSLQPEDF ATYFCQQDYS SPRTFGQGTK LEIKRTVAAPS VFIFPPSDEQL KSGTASVVCL LNNFYPREAK VQWKVDNAL QSGNSQESVT EQDSKDSTYS LSSTLTLSKAD YEKHKVYACE VTHQGLSSPV

			LFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVY TLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFY PCDIAVEWESNG QPENNYKTTPPV LDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSP GK (SEQ ID NO: 217)	TKSFNRGEC (SEQ ID NO: 218)
[3923]	CD56	洛罗夫妥珠单抗（Lorovtuzumab）	QVQLVESGGGVV QPGRSLRLSCAA SGFTFSSFGMHW VRQAPGKGLEW VAYISSGSFTIYYA DSVKGRFTISRD NSKNTLYLQMNS LRAEDTAVYYCA RMRKGYAMDY WGQGTLVTVSSA STKGPSVFPLAPS SKSTSGGTAALG CLVKDYFPCPVT VSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHK PSNTKVDKRVEP KSCDKTHTCPPC PAPELLGGPSVFL FPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKT	DVVMTQSPLS LPVTLGQPASI SCRSSQIIIHSD GNTYLEWFQ QRPGQSPRRLI YKVSNRFSGV PDRFSGSGSG TDFTLKISRVE AEDVGVYYCF QGSHVPHTFG QGTKVEIKRT VAAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWK VDNALQSGNS QESVTEQDSK DSTYSLSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFNR GEC (SEQ ID NO: 220)

			KPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVY TLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFY PCDIAVEWESNG QPENNYKTTPPV LDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSP GK (SEQ ID NO: 219)	
[3924]	DLL3	罗伐匹珠单抗（Rovalpituzumab）	QVQLVQSGAEVK KPGASVKVSCKA SGYTFTNYGMN WVRQAPGQGLE WMGWINTYTGE PTYADDFKGRVT MTTDTSTSTAYM ELRSLRSDDTAV YYCARIGDSSPSD YWGQGTLVTVSS ASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPCPV TVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSS LGTQTYICNVNH KPSNTKVDKRVE PKSCDKTHTCPP CPAPELLGGPSVF LFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTIS	EIVMTQSPATL SVSPGERATLS CKASQSVSND VVWYQQKPG QAPRLLIYYAS NRYTGIPARFS GSGSGTEFTLT ISSLQSEDFAV YYCQQDYTSP WTFGQGTKLE IKRTVAAPSVF IFPPSDEQLKS GTASVVCLLN NFYPREAKVQ WKVDNALQS GNSQESVTEQ DSKDSTYSLSS TLTLSKADYE KHKVYACEVT HQGLSSPVTK SFNRGEC (SEQ ID NO: 222)

			KAKGQPREPQVY TLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFY PCDIAVEWESNG QPENNYKTTPPV LDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSP GK (SEQ ID NO: 221)	
[3925]	DLK1	DI-2-14	EVQLQQSGAELV KPGASVKLSCTA SGFNIRDTYIHW VKQRPEQGLEWI GRIDPPNGNLKY DPKFQGKATITAD TSSNTAYLQFSSL TSEDTAVYYCAR SDGYSFAYWGQG TLVTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTS GGTAALGCLVKD YFPCPVTVSWNS GALTSGVHTFPAV LQSSGLYSLSSVV TVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKV DKRVEPKSCDKT HTCPPCPAPELLG GPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREP QVYTLPPSREEM TKNQVSLTCLVK GFYPCDIAVEWE SNGQPENNYKTT	DIVMTQAAPS VPVTPGESVSI SCRSSKSLLHS NGNTYLYWFL QRPGQSPQLLI YRMSNLASGV PDRFSGSGSG TAFTLRISRVE AEDVGVYYC MQHVEYPFTF GSGTKLEIKRT VAAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWK VDNALQSGNS QESVTEQDSK DSTYSLSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFNR GEC (SEQ ID NO: 224)

[3926]

		PPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSL SPGK (SEQ ID NO: 223)	
B7-H3	ABBV-155	EVQLVQSGAEVK KPGSSVKVSCKA SGYTFSSYWMH WVRQAPGQGLE WIGLIHPESGSTN YNEMFKNRATLT VDRSTSTAYMEL SSLRSEDTAVYYC AGGGRLYFDYW GQGTTVTVSSAS TKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGC LVKDYFPCPVTV SWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLG TQTYICNVNHKP SNTKVDKRVEPK SCDKTHTCPPCPA PELLGGPSVFLFP PKPKDTLMISRTP EVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNK ALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTL PPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPCD IAVEWESNGQPE NNYKTTPPVLDS DGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSC	DIVMTQSPLSL PVTPGEPASIS CRSSQSLVHS NRDTYLRWY LQKPGQSPQL LIYKVSNRFSG VPDRFSGSGS GTDFTLKISRV EAEDVGVYY CSQSTHVPYT FGGGTKVEIK RTVAAPSVFIF PPSDEQLKSG TASVVCLLNN FYPREAKVQ WKVDNALQS GNSQESVTEQ DSKDSTYSLSS TLTLSKADYE KHKVYACEVT HQGLSSPVTK SFNRGEC (SEQ ID NO: 226)

[3927]

		SVMHEALHNHY TQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 225)	

[3928] 使用聚乙烯亚胺将编码表14中列出的抗体的重链和轻链的表达载体转染至悬浮HEK293细胞中并且通常培养5天。通过离心收获培养物上清液、过滤并通过蛋白A亲和色谱纯化抗体。如果需要,通过尺寸排阻色谱法去除聚集体。亲和色谱后的抗体纯度通过分析尺寸排阻色谱测定,并且是>98%单体。抗体在磷酸盐缓冲盐水pH 7.2中缓冲。

[3929] 缀合物生产(L109A-P1):将12.5mg每种抗体(0.085μmol,1.0当量)与1.25ml沉降的RMP蛋白A树脂(GE Lifesciences,17513803)一起孵育并搅拌15分钟。添加半胱氨酸盐酸盐一水合物至终浓度为20mM,并在室温搅拌孵育30分钟,以使反应性半胱氨酸解封闭。在真空歧管上用50倍柱体积的PBS快速清洗树脂。然后将树脂重悬于含有250nM $CuCl_2$的等体积PBS中。通过时间点监测抗体链间二硫键的重组。在每个时间点,除去25μL树脂浆料,添加1μL 20mM MC-valcit-PAB-MMAE,并将试管轻弹几次。将树脂离心,除去上清液,然后用50μL抗体洗脱缓冲液(Thermo Scientific,21004)洗脱。将树脂沉淀,并使用Agilent PLRP-S 4000A 5um、4.6x50mm柱通过反相色谱分析上清液(缓冲液A为水,0.1%TFA,缓冲液B乙腈,0.1%TFA,柱保持在80C,流速1.5ml/min;梯度0分钟-30%B、5分钟-45%B、6.5分钟-100%B、8分钟—100%B、10分钟-30%)。添加$CuCl_2$后90分钟,在真空歧管上用50倍柱体积的PBS洗涤除去$CuCl_2$,然后添加1.25ml PBS重悬。向树脂和抗体的浆液中添加各自的接头-负载(42μl 20mM DMSO溶液,1.63μmol,10当量)。然后将所得混合物在环境温度下孵育3小时。然后用50倍柱体积的PBS洗涤树脂。使用抗体洗脱缓冲液(Thermo Scientific,21004)从树脂上洗脱ADC。然后通过在Dulbecco的PBS pH 7.2(Hyclone SH30028.03)中进行透析,将ADC缓冲液更换为1X PBS(20X PBS,TeknovaP0191)。然后使用Amicon Ultra-15、50KDa、再生纤维素(Millipore,UFC0905024)使用离心浓缩器将材料浓缩至>3mg/ml,并通过0.22μm无菌PVDF过滤器,25mm(Millapore,SLGV013SL)进行无菌过滤并储存在4℃。进行了以下分析:分析型尺寸排阻色谱(SEC)确定单体百分比,质谱(MS)确定DAR,LAL测试确定内毒素负载,并通过A280利用消光系数和抗体分子量确定蛋白质浓度。HRMS数据(蛋白质方法)表明重链+2物质的主要质量,通过比较DAR1、DAR2和DAR3物质的峰的MS强度计算出约4.0的DAR。SEC显示1.8%聚集,如通过比较210和280nm处的高分子量峰吸光度面积与单体ADC的峰吸光度面积来确定。

[3930] 一般方法:根据以下方法通过液相色谱-质谱法(LC/MS)测定示例性ADC的药物比抗体比率(DAR)。对于所有LC方法,流动相A为MS级纯化水(Honeywell,LC015-1),流动相B为MS级80%异丙醇(Honeywell LC323-1):20%乙腈(Honeywell,LC015-1),LC323-1),补充有1%的甲酸(FA)(Thermo Scientific,85178)。柱温设定为80℃。针对所有合成的ADC优化了通用MS方法。分析所用柱为Agilent PLRP-S 4000 A;2.1x150mm,8um(Agilent,PL1912-3803)。使用的流速为0.3ml/min。使用的梯度为在Acuity Bio H-Class四元UPLC(Waters)

上0-0.75分钟95％A、0.76-1.9分钟75％A、1.91-11.0分钟50％A、11.01-11.5010％A、11.51-13.50分钟95％A、13.51-18分钟95％A。MS系统是Xevo G2-XS QToF ESI质谱仪(Waters)，在1.5-11分钟内获得数据，并在15000-80000道尔顿之间分析质量。通过对未缀合和缀合给定物质(mAb或相关片段)的积分MS(总离子电流)或UV(280nm)峰面积求和，通过将每个面积乘以附接的药物数量来加权，从解卷积光谱或UV色谱图中确定DAR。将求和的加权面积除以总面积之和，结果得出完整ADC的最终平均DAR值。

[3931] 进行尺寸排阻色谱(SEC)以确定ADC的质量和纯化后的聚集百分比(％)。在分析柱Superdex 200 Increase 5/150 GL(GE Healthcare,28990945)上，在等度条件100％PBS pH 7.2((Hyclone SH30028.03))下进行分析，流速0.45ml/min，持续8分钟。根据280nm处的峰面积吸光度对ADC样品的聚集分数百分比进行定量。其计算基于280nm处高分子量洗脱液之间的比率除以高分子量和单体洗脱液在相同波长处的峰面积吸光度之和乘以100％。数据通过配备Wyatt miniDAWN光散射和Treos折射率检测器(Wyatt Technologies,Santa Barbara,CA)的Agilent Bio-Inert 1260 HPLC采集。

[3932] 所有示例ADC通过分析尺寸排阻色谱Superdex 200 Increase 5/150GL(GE Healthcare,28990945)进行表征，以确定单体百分比，并通过LC-MS进行DAR测定。使用上述LC/MS方法测定平均DAR值，并使用上述SEC方法测定聚集百分比(表15)。

[3933] 表15:体外筛选中使用的ADC的药物-抗体比率

[3934]

ADC	DAR
EGFR1 CysMab-L109-P1	3.8
TFRC CysMab-L109-P1	3.8
EPCAM CysMab-L109-P1	4.3
FOLR1 CysMab-L109-P1	3.5
ENPP3 CysMab-L109-P1	3.4
MET CysMab-L109-P1	4
AXL CysMab-L109-P1	3.8
SLC34A2 CysMab-L109-P1	4
NECTIN4 CysMab-L109-P1	4
TACSTD2 CysMab-L109-P1	4
SLC39A6 CysMab-L109-P1	3.6
GPNMB CysMab-L109-P1	4.1
MSLN CysMab-L109-P1	3.8
CD74 CysMab-L109-P1	4
F3 CysMab-L109-P1	3.6
MUC16 CysMab-L109-P1	4
IgG CysMab-L109-P1	4
EGFR2 CysMab-L109-P1	4

[3935] 抗CD74 BCLxL L11C-P25缀合物的制备

[3936] 为了制备抗CD74BCLxL L11C-P25缀合物，将5mg 10mg/ml的抗CD74抗体VHmil x VK1aNQ(34nmol)与0.5ml沉淀的RM蛋白A树脂(GE Lifesciences,17513803)一起孵育并搅拌15分钟。添加半胱氨酸盐酸盐一水合物至终浓度为20mM，并在室温搅拌孵育30分钟，以使反应性半胱氨酸解封闭。在真空歧管上用20倍柱体积的PBS快速清洗树脂。然后将树脂重悬

于含有250nM $CuCl_2$的等体积PBS中。通过时间点监测抗体链间二硫键的重组。在每个时间点,除去25μL树脂浆料,添加1μL 20mM MC-valcit-MMAE,并将试管轻弹几次。将树脂离心,除去上清液,然后用50μL抗体洗脱缓冲液(ThermoFisher 21004)洗脱。将树脂沉淀,并使用Agilent PLRP-S 4000A 5um、4.6x50mm柱通过反相色谱分析上清液(缓冲液A为水,0.1%TFA,缓冲液B乙腈,0.1%TFA,柱保持在80C,流速1.5ml/min;梯度0分钟-30%B、5分钟-45%B、6.5分钟-100%B、8分钟-100%B、10分钟-30%)。在将$CuCl_2$添加到Ab/树脂浆液中后65分钟,通过在真空歧管上用20倍柱体积的PBS洗涤将其除去,然后添加1ml PBS以重悬。添加DMSO至最终浓度为10%(v/v),然后添加10当量的L11C-P25(20mM,在DMSO中)。添加DMSO至终浓度为10%(v/v)。接头-负载在室温孵育至少90分钟。通过用20倍柱体积的PBS pH 7.2洗涤树脂,洗掉多余的接头-负载。用5ml抗体洗脱缓冲液洗脱抗体,然后通过透析将缓冲液更换为1X PBS pH 7.2。然后使用Amicon Ultra-15、50KDa、再生纤维素(Millipore,UFC0905024)使用离心浓缩器将材料浓缩至1ml,至3.8mg/ml,并在液氮中快速冷冻并储存在-80℃直到使用。

[3937] 进行了以下分析:分析型尺寸排阻色谱(SEC)确定单体百分比,质谱(MS)确定DAR,LAL测试确定内毒素负载,并通过A280利用消光系数和抗体分子量确定蛋白质浓度。HRMS数据(蛋白质方法)表明重链55898da的主要质量,通过比较DAR1、DAR2和DAR3物质的峰的MS强度计算出约4.0的DAR。SEC显示＜/＝2%聚集,如通过比较210和280nm处的高分子量峰吸光度面积与单体ADC的峰吸光度面积来确定。

[3938] 抗CD74 BCLxL L11A-P21缀合物的制备.

[3939] 为了制备抗CD74BCLxL L11A-P21缀合物,将5mg 10mg/ml的抗CD74抗体VHmil x VK1aNQ(34nmol)与0.5ml沉淀的RM蛋白A树脂(GE Lifesciences,17513803)一起孵育并搅拌15分钟。添加半胱氨酸盐酸盐一水合物至终浓度为20mM,并在室温搅拌孵育30分钟,以使反应性半胱氨酸解封闭。在真空歧管上用20倍柱体积的PBS快速清洗树脂。然后将树脂重悬于含有250nM $CuCl_2$的等体积PBS中。通过时间点监测抗体链间二硫键的重组。在每个时间点,除去25μL树脂浆料,添加1μL 20mM MC-valcit-MMAE,并将试管轻弹几次。将树脂离心,除去上清液,然后用50μL抗体洗脱缓冲液(ThermoFisher 21004)洗脱。将树脂沉淀,并使用Agilent PLRP-S 4000A 5um、4.6x50mm柱通过反相色谱分析上清液(缓冲液A为水,0.1%TFA,缓冲液B乙腈,0.1%TFA,柱保持在80C,流速1.5ml/min;梯度0分钟-30%B、5分钟-45%B、6.5分钟-100%B、8分钟-100%B、10分钟-30%)。在将$CuCl_2$添加到Ab/树脂浆液中后65分钟,通过在真空歧管上用20倍柱体积的PBS洗涤将其除去,然后添加1ml PBS以重悬。添加DMSO至最终浓度为10%(v/v),然后添加10当量的L11A-P21(20mM,在DMSO中)。添加DMSO至终浓度为10%(v/v)。接头-负载在室温孵育至少90分钟。通过用20倍柱体积的PBS pH 7.2洗涤树脂,洗掉多余的接头-负载。用5ml抗体洗脱缓冲液洗脱抗体,然后通过透析将缓冲液更换为1X PBS pH 7.2。然后使用Amicon Ultra-15、50KDa、再生纤维素(Millipore,UFC0905024)使用离心浓缩器将材料浓缩至1ml,至3.5mg/ml,并在液氮中快速冷冻并储存在-80℃直到使用。

[3940] 进行了以下分析:分析型尺寸排阻色谱(SEC)确定单体百分比,质谱(MS)确定DAR,LAL测试确定内毒素负载,并通过A280利用消光系数和抗体分子量确定蛋白质浓度。HRMS数据(蛋白质方法)表明重链55802da的主要质量,通过比较DAR1、DAR2和DAR3物质的峰的MS强

度计算出约4.0的DAR。SEC显示＜/＝2.9％聚集，如通过比较210和280nm处的高分子量峰吸光度面积与单体ADC的峰吸光度面积来确定。

[3941] 实施例8.体外抗CD7、抗EGFR和抗HER2-BCL-xLiADC的评估

[3942] ALL-SIL细胞系中抗CD7-BCL-xLiADC和负载的体外活性(CTG 72h)：

[3943] 如图3和表16所示，负载和抗CD7-BCL-xLi ADC在CTG测定中诱导ALL-SIL细胞的活力的剂量依赖性降低。

[3944] DND-41细胞系中抗CD7-BCLxLiADC和负载的体外活性(CTG 72h)：

[3945] ALL-SIL细胞在补充有20％热灭活胎牛血清、青霉素(100IU/ml)、链霉素(100μg/ml)和L-谷氨酰胺(2mM)的RPMI中培养。细胞系在37℃、含有5％CO2的潮湿气氛中培养。将细胞接种在96孔透明底板(96孔透明底，白色，Corning参考号3903)中，并暴露于负载或ADC 72小时(连续稀释；每者9个浓度，一式三份)。在37℃/5％CO2下孵育3天后，使用CellTiterGlo以75μL试剂/孔定量细胞ATP水平，评估负载或ADC对细胞活力的影响。所有条件均一式三份进行测试。在多功能读板器上对发光进行定量。使用标准四参数曲线拟合计算IC50。IC50定义为CTG信号降低至对照测量值的50％时的化合物浓度。每个实验至少进行两次，结果是可重复的。

[3946] DND-41细胞在补充有10％热灭活胎牛血清、青霉素(100IU/ml)、链霉素(100μg/ml)和L-谷氨酰胺(2mM)的RPMI中培养。细胞系在37℃、含有5％CO_2的潮湿气氛中培养.将细胞接种在96孔透明底板(96孔透明底，白色，Corning参考号3903)中，并暴露于负载或ADC 72小时(连续稀释；每者9个浓度，一式三份)。在37℃/5％CO_2下孵育3天后，使用CellTiterGlo以75μL试剂/孔定量细胞ATP水平，评估负载或ADC对细胞活力的影响。所有条件均一式三份进行测试。在多功能读板器上对发光进行定量。使用标准四参数曲线拟合计算IC_{50}。IC_{50}定义为CTG信号降低至对照测量值的50％时的化合物浓度。每个实验至少进行两次，结果是可重复的。

[3947] 如图4和表16所示，负载和抗CD7-BCLxLiADC在CTG测定中诱导DND-41细胞的活力的剂量依赖性降低。

[3948] 表16

[3949]

	ALLSIL CTG 72h IC50 nM n1	ALLSIL CTG 72h IC50 nM n2	ALLSIL CTG 72h IC50 nM n1和n2的平均值	DND41 CTG 72h IC50 nM n1	DND41 CTG 72h IC50 nM n2	DND41 CTG 72h IC50 nM n1和n2的平均值
Ab D –	0.028	0.018	**0.023**	0.21	0.28	**0.245**

[3950]

L27A -P1						
Ab D – L9A-P1	0,025	0,037	**0,031**	0,160	0,140	**0,150**
Ab D – L9A-P9	0,036	0,044	**0,040**	0,190	0,160	**0,175**
Ab D – L9A-P13	0,041	0,051	**0,046**	0,210	0,130	**0,170**
Ab D – L9A-P8	0,020	0,014	**0,017**	0,090	0,066	**0,078**
Ab D – L9A-P10	0,018	0,018	**0,018**	0,089	0,065	**0,077**
Ab D – L9C-P44	0,039	0,027	**0,033**	0,740	0,660	**0,700**
Ab D - L9C-P45	0,360	0,380	**0,370**	>100	>100	**>100**
Ab D – L9C-P46	0,180	0,200	**0,190**	>100	>100	**>100**
Ab D – L9A-P20	0,003	0,009	**0,006**	0,070	0,070	**0,070**
Ab D – L9C-P19	0,003	0,008	**0,006**	0,060	0,050	**0,055**
Ab D - L9A-P21	0,005	0,012	**0,009**	0,100	0,060	**0,080**
Ab D – L9C-P22	0,005	0,004	**0,005**	0,080	0,070	**0,075**
Ab D – L9C-P17	0.006	0.010	**0.008**	2.100	0.380	**1.240**
裸抗 CD7 抗体	>30	>30	**>30**	>100	>100	**>100**
P1	0.38	0.14	**0.26**	1.3	0.26	**0.78**
P9	3,31	1,10	**2,21**	21,80	19,30	**20,55**
P13	2,60	1,44	**2,02**	11,80	12,10	**11,95**
P8	0,02	0,03	**0,02**	0,69	0,41	**0,55**
P10	<Cmin	0,01	**0,01**	0,20	0,29	**0,25**
P44	4,64	3,14	**3,89**	36,00	33,60	**34,80**

[3951]

P45	3,11	4,01	**3,56**	17,00	16,80	**16,90**
P46	62,20	50,00	**56,10**	211,70	220,00	**215,85**
P20	0,02	0,08	**0,05**	0,38	0,24	**0,31**
P19	4,02	3,50	**3,76**	10,80	7,20	**9,00**
P21	0,02	0,05	**0,04**	0,31	0,20	**0,26**
P22	0,26	0,50	**0,38**	0,45	0,26	**0,36**
P17	0,13	0,26	**0,20**	0,40	0,70	**0,55**

[3952] H1650细胞系中抗EGFR-BCL-xLiADC和负载的体外活性(3D,CTG120h):

[3953] H1650细胞在补充有10%热灭活胎牛血清、青霉素(100IU/ml)、链霉素(100μg/ml)和L-谷氨酰胺(2mM)的RPMI中培养。细胞系在37℃、含有5%CO_2的潮湿气氛中培养.将细胞接种在96微孔圆底板(96微孔低附着板,Costar参考号7007)中,并暴露于负载或ADC中120小时(连续稀释;每者9个浓度,一式两份)。在37℃/5%CO_2下孵育5天后,使用CellTiterGlo以75μL试剂/孔定量细胞ATP水平,评估负载或ADC对细胞活力的影响。所有条件均一式两份进行测试。在多功能读板器上对发光进行定量。使用标准四参数曲线拟合计算IC_{50}。IC50定义为CTG信号降低至对照测量值的50%时的化合物浓度。每个实验至少进行两次,结果是可重复的。

[3954] 如图5A和5B以及表17所示,负载和抗EGFR-BCLxLi ADC在CTG测定中诱导H1650细胞的活力的剂量依赖性降低。

[3955] 表17

[3956]

	H1650 3D CTG IC50 nM (120h)		
	n1	**n2**	**n1 和 n2 的平均值**
Ab C – L9A-P8	0,14	0,30	**0,22**
Ab C – L9A-P9	0,22	0,30	**0,26**
Ab C – L9A-P10	0,30	0,50	**0,40**
Ab C – L9A-P11	0,50	0,50	**0,50**
Ab C - L9C-P12	0,60	0,90	**0,75**

[3957]

Ab C – L9A-P13	0,90	0,70	**0,80**
Ab C – L106A-P2	1,00	0,70	**0,85**
Ab C – L9A-P14	1,30	0,40	**0,85**
Ab C – L21A-P2	1,60	1,10	**1,35**
Ab C – L107C-P7	1,60	1,60	**1,60**
Ab C – L106C-P7	1,80	1,50	**1,65**
Ab C – L9A-P15	1,50	1,80	**1,65**
Ab C – L9C-P16	3,90	4,20	**4,05**
Ab C – L107A-P2	3,50	2,40	**2,95**
Ab C – L108A-P2	2,10	0,97	**1,54**
Ab C – L27C-P3	1,40	2,60	**2,00**
Ab C – L9A-P1	0,49	0,33	**0,41**
Ab C – L9C-P17	2,85	2,51	**2,68**
Ab C – L9A-P18	1,20	1,25	**1,23**
Ab C – L9C-P19	0,11	0,13	**0,12**
Ab C – L9A-P20	0,03	0,03	**0,03**
Ab C - L9A-P21	0,09	0,09	**0,09**
Ab C – L9C-P22	0,04	0,05	**0,05**
Ab C – L9C-P23	0,23	0,17	**0,20**
Ab C – L9C-P24	0,17	0,16	**0,17**
Ab C – L9A-P2	4,20	7,00	**5,60**
Ab C - L9C-P25	0,08	0,07	**0,08**
Ab C – L9C-P26	0,12	0,11	**0,12**
Ab C – L9A-P27	0,30	0,22	**0,26**
Ab C – L9A-P28	0,21	0,20	**0,21**
Ab C – L9C-P29	0,13	0,09	**0,11**
Ab C - L9A-P30	0,80	0,52	**0,66**
Ab C – L9C-P31	0,07	0,10	**0,09**
Ab C – L9A-P32	0,04	0,06	**0,05**

[3958]

Ab C – L9A-P33	0,02	0,03	**0,03**
Ab C – L9A-P34	0,37	0,75	**0,56**
Ab C - L9A-P35	0,02	0,04	**0,03**
Ab C - L9A-P36	0,03	0,03	**0,03**
Ab C - L9A-P37	0,04	0,05	**0,05**
Ab C - L9A-P38	0,03	0,03	**0,03**
Ab C - L9A-P39	0,04	0,05	**0,05**
Ab C - L9C-P40	0,04	0,06	**0,05**
Ab C - L9A-P41	0,81	0,74	**0,78**
Ab C - L9A-P42	0,08	0,11	**0,09**
Ab C - L9A-P43	0,08	0,12	**0,10**
Ab C - L112A-P1	0.3500	0.4200	0.3850
Ab C - L9A-P48	0.2100	0.1900	0.2000
Ab C - L9A-P49	0.0880	0.0810	0.0845
Ab C - L9A-P50	0.0760	0.0900	0.0830
Ab C - L9A-P52	0.0580	0.0850	0.0715
Ab C - L9A-P55	0.2500	0.2900	0.2700
Ab C - L9A-P56	0.1100	0.1600	0.1350
Ab C - L9A-P57	0.0970	0.3500	0.2235
Ab C - L9A-P58	0.2400	0.4900	0.3650
Ab C - L9A-P62	0.0660	0.0600	0.0630
Ab C - L9A-P63	0.1500	0.0700	0.1100
Ab C - L9A-P64	0.5100	0.8700	0.6900
Ab C - L9A-P65	0.1700	0.2200	0.1950
Ab C - L9A-P66	0.5200	0.2400	0.3800
Ab C - L9A-P68	0.0480	0.0750	0.0615
Ab C - L9A-P70	0.1600	0.1800	0.1700
Ab C - L9A-P73	6.4800	5.4800	5.9800
Ab C - L9A-P74	0.3400	0.5600	0.4500
Ab C - L9A-P75	0.4900	0.3500	0.4200
Ab C - L9A-P76	1.0700	1.4800	1.2750
Ab C - L9C-P3	4.4000	11.3000	7.8500
Ab C - L9C-P47	0.2200	0.2100	0.2150
Ab C - L9C-P51	0.0590	0.0460	0.0525
Ab C - L9C-P53	0.3800	0.1600	0.2700
Ab C - L9C-P54	0.3700	0.4100	0.3900
Ab C - L9C-P69	0.0790	0.1800	0.1295
Ab C - L9C-P71	0.9300	0.7700	0.8500
Ab C - L9C-P72	0.0430	0.0920	0.0675
抗 EGFR 裸 mAb	>100	>100	**>100**

[3959]

P2	1,06	1,90	**1,48**
P11	0,70	1,20	**0,95**
P1	0,51	1,28	**0,90**
P8	0,70	1,80	**1,25**
P9	0,70	1,40	**1,05**
P18	1,80	3,50	**2,65**
P10	0,30	0,80	**0,55**
P15	0,98	1,20	**1,09**
P12	0,95	2,00	**1,48**
P17	3,15	5,30	**4,23**
P14	1,90	5,40	**3,65**
P13	1,80	3,00	**2,40**
P27	0,22	0,30	**0,26**
P21	0,31	0,37	**0,34**
P30	ND	ND	**ND**
P20	0,36	0,50	**0,43**
P19	2,89	1,43	**2,16**
P22	0,77	0,79	**0,78**
P23	4,00	2,80	**3,40**
P24	2,10	1,80	**1,95**
P25	2,80	3,00	**2,90**
P26	0,68	0,69	**0,69**
P28	0,39	0,18	**0,29**
P29	0,57	0,47	**0,52**
P39	0,21	0,34	**0,28**
P38	0,19	0,33	**0,26**
P31	0,57	1,40	**0,99**
P33	0,89	0,57	**0,73**
P32	0,24	0,22	**0,23**
P34	0,65	0,87	**0,76**
P35	0,23	0,27	**0,25**
P36	0,26	0,31	**0,29**
P37	0,40	1,20	**0,80**
P41	3,30	2,10	**2,70**
P42	9,40	12,90	**11,15**
P43	0,53	0,50	**0,52**
P40	ND	ND	**ND**
P7	7,50	4,70	**6,10**
P3	4,00	28,00	**16,00**
P16	6,10	6,20	**6,15**
P47	6.540	7.350	6.945

[3960]

P48	2.270	2.790	2.530
P49	1.300	1.120	1.210
P50	0.550	0.210	0.380
P51	1.970	2.830	2.400
P52	0.730	0.380	0.555
P53	37.700	35.000	36.350
P54	10.700	11.800	11.250
P55	6.150	6.880	6.515
P56	13.900	2.950	8.425
P57	6.750	14.300	10.525
P58	5.730	9.080	7.405
P62	0.520	ND	0.520
P63	3.730	2.030	2.880
P64	1.600	2.900	2.250
P65	1.000	1.200	1.100
P66	0.490	0.220	0.355
P68	0.840	0.680	0.760
P69	3.780	5.560	4.670
P70	9.650	9.490	9.570
P71	16.300	13.400	14.850
P72	5.070	5.570	5.320
P73	8.600	9.410	9.005
P74	2.000	1.860	1.930
P75	2.300	3.030	2.665
P76	2.000	3.870	2.935

[3961] ND＝未测试

[3962] 使用CTG测定，抗HER2-Bclxli ADC单药以及与紫杉醇联合使用对HCC1569细胞活力的影响

[3963] HCC1569细胞在补充有10％热灭活胎牛血清、青霉素(100IU/ml)、链霉素(100μg/ml)和L-谷氨酰胺(2mM)的RPMI中培养。细胞系在37℃、含有5％CO_2的潮湿气氛中培养.将HCC1569细胞接种在96微孔(透明底，白色，Corning参考号3903)中，并在不存在或存在10nM紫杉醇的情况下暴露于ADC或相应的负载120小时(5倍连续稀释；每者9个浓度，一式三份)。在37℃/5％CO_2下孵育5天后，使用CellTiterGlo以75μL试剂/孔定量细胞ATP水平，评估ADC对细胞活力的影响。所有条件均一式三份进行测试。在多功能读板器上对发光进行定量。使用标准四参数曲线拟合计算IC_{50}。IC50定义为CTG信号降低至对照测量值的50％时的化合物浓度。每个实验至少进行两次，结果是可重复的。

[3964] 如图6和表18所示，在CTG测定中，所有负载和抗HER2-BclxliADC均诱导HCC1569细胞的活力的剂量依赖性降低。有意义的是，当与10nM紫杉醇组合时，负载和ADC的活性显著提高，而用相应的裸抗体单药或与紫杉醇组合处理这些细胞后，没有观察到显著效果。

[3965] 表18

[3966]

	HCC1569 CTG 120h IC50 nM N1	HCC1569 CTG 120h IC50 nM N2	HCC1569 CTG 120h IC50 nM 平均 N1 和 N2	HCC1569 CTG 120h IC50 nM +紫杉醇 10nM N1	HCC1569 CTG 120h IC50 nM +紫杉醇 10nM N2	HCC1569 CTG 120h IC50 nM +紫杉醇 10nM 平均 N1 和 N2
Ab T – L13A-P2	>300	>300	**>300**	0.239	0.084	**0.162**
Ab T – L19C-P7	>300	>300	**>300**	0.208	0.124	**0.166**
Ab T – L23C-P7	>300	>300	**>300**	0.287	0.139	**0.213**
Ab T – L110C-P7	>300	>300	**>300**	0.197	0.164	**0.181**
HER2 裸抗体	>300	>300	**>300**	>300	>300	**>300**
负载 P2	13.10	11.70	**12.40**	0.126	0.096	**0.111**
负载 P7	40.30	25.60	**32.95**	0.443	0.429	**0.436**

[3967] 实施例9.血液恶性肿瘤细胞系中Bcl-xLi负载和抗CD7、抗CD74、抗CD38和抗CD48Bcl-xLi ADC的体外评估

[3968] 细胞系在上述培养基中于37℃、含有5%CO_2的潮湿气氛中培养.将细胞接种在96孔透明底板(96孔透明底,白色,Corning参考号3903)中,并暴露于单一药剂或与长春新碱、ABT-199或化合物A2的1/1组合的负载或ADC中72小时(连续稀释;每者9个浓度,一式三份)。在37℃/5%CO_2下孵育3天后,使用CellTiter-Glo试剂(Promega参考号:G7571)以75μL试剂/孔定量细胞ATP水平,评估负载或ADC对细胞活力的影响。所有条件均一式三份进行测试。在多功能读板器上对发光进行定量。使用标准四参数曲线拟合计算IC_{50}。IC50定义为CTG信号降低至对照测量值的50%时的化合物浓度。每个实验至少进行两次,结果是可重复的。

[3969] 培养基:

[3970] ●MM1S和LOUCY:RPMI 1640+Glutamax培养基(Gibco#61870)、10%FBS(Dutscher#500105Y1批次S18367S1810)、1%青霉素-链霉素(Gibco#15140)、1%Hepes(Gibco#15630)

[3971] ●HPB-ALL和ALL-SIL:RPMI 1640+Glutamax培养基(Gibco#61870)、20%FBS(Dutscher#500105Y1批次S18367S1810)、1%青霉素-链霉素(Gibco#15140)、1%Hepes(Gibco#15630)

[3972] ●SUDHL8:RPMI 1640+Glutamax培养基(Gibco#61870)、20%FBS(Pan Biotech#P30-1302)、1%青霉素-链霉素(Gibco#15140)、1%Hepes(Gibco#15630)

[3973] 铺板条件:

[3974] ●SUDHL8:75μL/孔,375000个细胞/mL,在96孔板中持续72小时

[3975] ●MM1S:75μL/孔,300000个细胞/mL,在96孔板中持续72小时

[3976] ●ALL-SILL:75μL/孔,375000个细胞/mL,在96孔板中持续72小时

[3977] ●LOUCY:75μL/孔,375000个细胞/mL,在96孔板中持续72小时

[3978] ●HPB-ALL:75μL/孔,300000个细胞/mL,在96孔板中持续72小时

[3979] 如图7A、7B、7C和7D以及表19和20所示,负载和ADC诱导所测试的细胞系的活力的剂量依赖性降低。有意义的是,当与长春新碱、ABT-199或化合物A2组合时,负载或ADC的活性经常得到改善。

[3980] 表19

[3981]

化合物	SUDHL8 (DLBCL) IC50 (nM)	MM1S (MM) IC50 (nM)	HPB-ALL (T-ALL) IC50 (nM)	ALL-SILL (T-ALL) IC50 (nM)	LOUCY (T-ALL) IC50 (nM)
P25 n1	5.920	56.700	4.200	2.100	0.800
P25 n2	9.640	92.900	5.000	1.390	1.260
P25 平均值	**7.780**	**74.800**	**4.600**	**1.745**	**1.030**
P21 n1	0.340	10.400	1.330	0.400	0.730
P21 n2	0.140	24.300	0.690	0.860	ND
P21 平均值	**0.240**	**17.350**	**1.010**	**0.630**	**0.730**
ABT-199 n1	4820.000	4470.000	8920.000	234.000	19.000
ABT-199 n2	7460.000	4600.000	9210.000	213.000	30.000
ABT-199 平均值	**6140.000**	**4535.000**	**9065.000**	**223.500**	**24.500**
化合物 A2 n1	6670.000	7360.000	5850.000	128.000	30.000
化合物 A2 n2	4820.000	7360.000	6300.000	121.000	41.000
化合物 A2 平均值	**5745.000**	**7360.000**	**6075.000**	**124.500**	**35.500**
P25 + ABT-199 n1	4.690	16.600	2.230	0.140	0.460
P25 + ABT-199 n2	9.960	16.500	2.330	1.240	0.350
P25 + ABT-199 平均值	**7.325**	**16.550**	**2.280**	**0.690**	**0.405**
P25 + 化合物 A2 n1	6.050	14.300	2.690	0.180	0.350
P25 + 化合物 A2 n2	8.550	11.000	2.180	1.160	0.260
P25 + 化合物 A2 平均值	**7.300**	**12.650**	**2.435**	**0.670**	**0.305**
P21 + ABT-199 n1	0.400	6.440	0.870	0.140	0.250
P21 + ABT-199 n2	0.170	6.260	0.670	0.320	ND
P21 + ABT-199 平均值	**0.285**	**6.350**	**0.770**	**0.230**	**0.250**
P21 + 化合物 A2 n1	0.370	6.090	0.320	0.300	0.360
P21 + 化合物 A2 n2	0.150	6.370	0.590	0.450	ND
P21 + 化合物 A2 平均值	**0.260**	**6.230**	**0.455**	**0.375**	**0.360**
长春新碱 n1	ND	ND	0.680	0.094	0.960
长春新碱 n2	ND	ND	0.730	0.083	0.500
长春新碱平均值	ND	ND	**0.705**	**0.089**	**0.730**
P25 + 长春新碱 n1	ND	ND	0.330	0.097	0.230
P25 + 长春新碱 n2	ND	ND	0.320	0.074	0.150
P25 + 长春新碱 平均值	ND	ND	**0.325**	**0.086**	**0.190**
P21 + 长春新碱 n1	ND	ND	0.320	0.081	0.130
P21 + 长春新碱 n2	ND	ND	0.170	0.033	ND
P21 + 长春新碱 平均值	ND	ND	**0.245**	**0.057**	**0.130**

[3982]

Ab F - L9A-P21 n1	ND	ND	ND	23.900	ND
Ab F - L9A-P21 n2	ND	ND	ND	32.000	ND
Ab F - L9A-P21 平均值	ND	ND	ND	**27.950**	ND
Ab E - L9A-P21 n1	ND	ND	ND	0.017	ND
Ab E - L9A-P21 n2	ND	ND	ND	0.022	ND
Ab E - L9A-P21 平均值	ND	ND	ND	**0.020**	ND
Ab E - L9C-P25 n1	ND	ND	ND	0.006	ND
Ab E - L9C-P25 n2	ND	ND	ND	0.009	ND
Ab E - L9C-P25 平均值	ND	ND	ND	**0.007**	ND
Ab E - L9A-P1 n1	ND	ND	ND	0.027	ND
Ab E - L9A-P1 n2	ND	ND	ND	0.036	ND
Ab E - L9A-P1 平均值	ND	ND	ND	**0.032**	ND
Ab E - L9C-P40 n1	ND	ND	ND	0.008	ND
Ab E - L9C-P40 n2	ND	ND	ND	0.012	ND
Ab E - L9C-P40 平均值	ND	ND	ND	**0.010**	ND
Ab E - L9A-P33 n1	ND	ND	ND	0.011	ND
Ab E - L9A-P33 n2	ND	ND	ND	0.018	ND
Ab E - L9A-P33 平均值	ND	ND	ND	**0.015**	ND
P40 n1	ND	ND	ND	1.060	ND
P40 n2	ND	ND	ND	1.260	ND
P40 平均值	ND	ND	ND	**1.160**	ND
P33 n1	ND	ND	ND	0.100	ND
P33 n2	ND	ND	ND	0.190	ND
P33 平均值	ND	ND	ND	**0.145**	ND
Ab H - L9C-P25 n1	0.910	> 300	> 300	127.000	110.000
Ab H - L9C-P25 n2	6.180	> 300	>300	73.700	113.000
Ab H - L9C-P25 平均值	**3.545**	**> 300**	**>300**	**100.350**	**111.500**
Ab H - L9C-P25 + ABT-199 n1	0.750	> 300	110.000	13.500	0.930
Ab H - L9C-P25 + ABT-199 n2	4.910	199.000	110.000	11.400	1.170
Ab H - L9C-P25 + ABT-199 平均值	**2.830**	**199.000**	**110.000**	**12.450**	**1.050**
Ab H - L9C-P25 + 化合物 A2 n1	1.150	> 300	61.800	15.300	0.960
Ab H - L9C-P25 + 化合物 A2 n2	4.840	> 300	109.000	7.580	1.490
Ab H - L9C-P25 + 化合物 A2 平均值	**2.995**	> 300	**85.400**	**11.440**	**1.225**
Ab H - L9C-P25 + 长春新碱 n1	ND	ND	0.350	0.069	0.130
Ab H - L9C-P25 + 长春新碱 n2	ND	ND	0.390	0.040	0.220
Ab H - L9C-P25 + 长春新碱平均值	ND	ND	**0.370**	**0.055**	**0.175**

[3983]

Ab H - L11C-P25 n1	0.900	> 300	159.000	50.000	37.900
Ab H - L11C-P25 n2	2.450	> 300	174.000	31.900	64.500
Ab H - L11C-P25 平均值	**1.675**	**> 300**	**166.500**	**40.950**	**51.200**
Ab H - L11C-P25 + ABT-199 n1	0.480	257.000	27.700	9.830	0.970
Ab H - L11C-P25 + ABT-199 n2	2.590	229.000	32.200	5.900	1.240
Ab H - L11C-P25 + ABT-199 平均值	**1.535**	**243.000**	**29.950**	**7.865**	**1.105**
Ab H - L11C-P25 + 化合物 A2 n1	0.370	221.000	31.000	10.700	1.310
Ab H - L11C-P25 + 化合物 A2 n2	2.860	211.000	39.200	7.320	2.300
Ab H - L11C-P25 + 化合物 A2 平均值	**1.615**	**216.000**	**35.100**	**9.010**	**1.805**
Ab H - L11C-P25 + 长春新碱 n1	ND	ND	0.280	0.057	0.120
Ab H - L11C-P25 + 长春新碱 n2	ND	ND	0.180	0.027	0.190
Ab H - L11C-P25 + 长春新碱 平均值	ND	ND	**0.230**	**0.042**	**0.155**
Ab I - L9C-P25 n1	> 300	25.40	99.80	72.60	68.40
Ab I - L9C-P25 n2	241.00	>300	ND	52.60	ND
Ab I - L9C-P25 平均值	**241.00**	**25.40**	**99.80**	**62.60**	**68.40**
Ab I - L9C-P25 + ABT-199 n1	202.00	3.83	17.50	28.70	4.57
Ab I - L9C-P25 + ABT-199 n2	148.00	5.57	ND	15.80	ND
Ab I - L9C-P25 + ABT-199 平均值	**175.00**	**4.70**	**17.50**	**22.25**	4.57
Ab I - L9C-P25 + 化合物 A2 n1	267.00	4.68	21.20	24.50	7.34
Ab I - L9C-P25 + 化合物 A2 n2	155.00	17.50	ND	15.90	ND
Ab I - L9C-P25 + 化合物 A2 平均值	**211.00**	**11.09**	**21.20**	**20.20**	**7.34**
Ab I - L9C-P25 + 长春新碱 n1	ND	ND	0.49	0.08	0.19
Ab I - L9C-P25 + 长春新碱 n2	ND	ND	ND	0.06	ND
Ab I - L9C-P25 + 长春新碱 平均值	ND	ND	**0.49**	**0.07**	**0.19**
Ab I - L11C-P25 n1	54.10	11.00	32.80	73.90	74.60
Ab I - L11C-P25 n2	39.10	>300	18.90	44.70	89.40
Ab I - L11C-P25 平均值	**46.60**	**11.00**	**25.85**	**59.30**	**82.00**

	Ab I - L11C-P25 + ABT-199 n1	36.50	3.50	3.74	18.80	4.19
	Ab I - L11C-P25 + ABT-199 n2	19.20	6.50	3.06	12.00	4.17
	Ab I - L11C-P25 + ABT-199 平均值	**27.85**	**5.00**	**3.40**	**15.40**	**4.18**
	Ab I - L11C-P25 + 化合物 A2 n1	62.10	3.03	3.96	17.80	6.79
	Ab I - L11C-P25 + 化合物 A2 n2	25.60	5.40	3.45	12.00	6.36
	Ab I - L11C-P25 + 化合物 A2 平均值	**43.85**	**4.22**	**3.71**	**14.90**	**6.58**
	Ab I - L11C-P25+ 长春新碱 n1	ND	ND	0.25	0.07	0.31
	Ab I - L11C-P25+ 长春新碱 n2	ND	ND	0.19	0.03	0.36
	Ab I - L11C-P25 + 长春新碱 平均值	ND	ND	**0.22**	**0.05**	**0.34**
	Ab F - L9C-P25 n1	296.00	>300	186.00	171.00	122.00
[3984]	**Ab F - L9C-P25 n2**	>300	>300	>300	175.00	118.00
	Ab F - L9C-P25 平均值	**>300**	**>300**	**>300**	**173.00**	**120.00**
	Ab F - L9C-P25 + ABT-199 n1	226.00	>300	143.00	53.70	9.20
	Ab F - L9C-P25 + ABT-199 n2	244.00	>300	166.00	55.80	13.10
	Ab F - L9C-P25 + ABT-199 平均值	**235.00**	**>300**	**154.50**	**54.75**	**11.15**
	Ab F - L9C-P25+ 化合物 A2 n1	234.00	>300	137.00	56.40	13.40
	Ab F - L9C-P25 + 化合物 A2 n2	117.00	>300	157.00	60.40	15.40
	Ab F - L9C-P25 + 化合物 A2 平均值	**175.50**	**>300**	**147.00**	**58.40**	**14.40**
	Ab F - L9C-P25 + 长春新碱 n1	ND	ND	1.00	0.08	0.37
	Ab F - L9C-P25 + 长春新碱 n2	ND	ND	0.12	0.07	0.51
	Ab F - L9C-P25 + 长春新碱 平均值	ND	ND	**0.56**	**0.08**	**0.44**

[3985] 表20

[3986]

化合物	**HPB-ALL (T-ALL) IC50 (nM)**	**ALL-SILL (T-ALL) IC50 (nM)**	**LOUCY (T-ALL) IC50 (nM)**
Ab D - L9C-P25 n1	0.03000	0.01200	0.01700
Ab D - L9C-P25 n1	0.04400	0.01600	0.01700

[3987]

Ab D - L9C-P25 平均值	**0.03700**	**0.01400**	**0.01700**
Ab D - L9C-P25 + ABT-199 n1	0.02400	0.01100	0.01400
Ab D - L9C-P25 + ABT-199 n2	0.04400	0.01400	0.01800
Ab D - L9C-P25 + ABT-199 平均值	**0.03400**	**0.01250**	**0.01600**
Ab D - L9C-P25 + 化合物 A2 n1	0.03200	0.01200	0.01500
Ab D - L9C-P25+ 化合物 A2 n2	0.05400	0.00920	0.01800
Ab D - L9C-P25 + 化合物 A2 平均值	**0.04300**	**0.01060**	**0.01650**
Ab D - L9C-P25 + 长春新碱 n1	0.04500	0.01200	0.01600
Ab D - L9C-P25 + 长春新碱 n2	0.05400	0.01000	0.01200
Ab D - L9C-P25 + 长春新碱平均值	**0.04950**	**0.01100**	**0.01400**
Ab D - L11C-P25 n1	0.02600	0.01200	0.01000
Ab D - L11C-P25 n2	0.03000	0.00790	0.01000
Ab D - L11C-P25 平均值	**0.02800**	**0.00995**	**0.01000**
Ab D - L11C-P25 + ABT-199 n1	0.02600	0.00700	0.01300
Ab D - L11C-P25 + ABT-199 n2	0.04600	0.00910	0.01400
Ab D - L11C-P25 + ABT-199 平均值	**0.03600**	**0.00805**	**0.01350**
Ab D - L11C-P25 + 化合物 A2 n1	0.02800	0.01100	0.01000
Ab D - L11C-P25 + 化合物 A2 n2	0.04100	0.00980	0.01000
Ab D - L11C-P25 + 化合物 A2 平均值	**0.03450**	**0.01040**	**0.01000**
Ab D - L11C-P25 + 长春新碱 n1	0.02200	0.01000	0.01200
Ab D - L11C-P25 + 长春新碱 n2	0.02100	0.00610	0.00970
Ab D - L11C-P25 + 长春新碱平均值	**0.02150**	**0.00805**	**0.01085**
化合物	**SUDHL8 (DLBCL) IC50 (nM)**	**MM1S (MM) IC50 (nM)**	**ALL-SILL (T-ALL) IC50 (nM)**
VHmil x VK1aNQ-L11C-P25 n1	0.05	7.84	109.00
VHmil x VK1aNQ-L11C-P25 n2	0.06	31.00	97.80

[3988]

VHmil x VK1aNQ-L11C-P25 平均值	**0.06**	**19.42**	**103.40**
VHmil x VK1aNQ-L11C-P25 + ABT-199 n1	0.05	2.56	ND
VHmil x VK1aNQ-L11C-P25 + ABT-199 n2	0.06	3.15	ND
VHmil x VK1aNQ-L11C-P25 + ABT-199 平均值	**0.06**	2.86	ND
VHmil x VK1aNQ-L11C-P25 + 化合物 A2 n1	0.06	3.11	ND
VHmil x VK1aNQ-L11C-P25 + 化合物 A2 n2	0.08	3.96	ND
VHmil x VK1aNQ-L11C-P25 + 化合物 A2 平均值	**0.07**	3.54	ND
VHmil x VK1aNQ-L11C-P21 n1	0.14	24.90	162.00
VHmil x VK1aNQ-L11C-P21 n2	0.19	>300	132.00
VHmil x VK1aNQ-L11C-P21 平均值	**0.17**	**24.90**	**147.00**
VHmil x VK1aNQ-L11C-P21 + ABT-199 n1	0.16	3.69	ND
VHmil x VK1aNQ-L11C-P21 + ABT-199 n2	0.15	5.19	ND
VHmil x VK1aNQ-L11C-P21 + ABT-199 平均值	**0.16**	**4.44**	ND
VHmil x VK1aNQ-L11C-P21 + 化合物 A2 n1	0.12	5.02	ND
VHmil x VK1aNQ-L11C-P21 + 化合物 A2 n2	0.14	5.75	ND
VHmil x VK1aNQ-L11C-P21 + 化合物 A2 平均值	**0.13**	**5.39**	ND
Ab G - L9C-P25 n1	0.06	4.36	175.00
Ab G - L9C-P25 n2	0.08	3.99	133.00
Ab G - L9C-P25 平均值	**0.07**	**4.18**	**154.00**
Ab G - L11C-P25 n1	0.10	7.00	147.00
Ab G - L11C-P25 n2	0.13	9.81	111.00
Ab G - L11C-P25 平均值	**0.12**	**8.41**	**129.00**

[3989] 实施例10.BCL-xL抗体药物缀合物在NCI-H1650细胞系中的体外评估

[3990] BCL-xL抗体药物缀合物针对NCI-H1650:(ATCC编号CRL-5883,在RPMI-1640+10%FBS中培养)中的内源癌细胞系进行了测试。评估了一个目标:EGFR.

[3991] 抑制细胞增殖和存活

[3992] 使用Promega**CellTiter-Glo®**增殖测定评估BCL-xL抗体药物缀合物抑制细胞增殖和存活的能力。

[3993] 在组织培养箱中，在5％CO_2、37℃的条件下，在最适合其生长的培养基中培养细胞系。在接种进行增殖测定之前，在测定前至少2天将细胞拆分，以确保最佳的生长密度。接种当天，使用0.25％胰蛋白酶将贴壁细胞从组织培养瓶中剥离。使用细胞计数器(Vi-Cell XR细胞活力分析仪，Beckman Coulter)测定细胞活力和细胞密度。接种活力高于85％的细胞进行测定。

[3994] 将NCI-H1650细胞系接种于黑色透明圆底384孔超低附着球体微孔板(Coming目录号3830)中。将细胞以每孔3,000个细胞的密度接种在45uL标准生长培养基中。将板在离心机中以1,000RPM的速度旋转5分钟。将板在组织培养箱中在5％CO_2、37℃孵育72小时。给药当天，在标准生长培养基中以10X制备靶向EGFR的BCL-xL ADC。然后将准备好的药物处理添加到细胞中，最终浓度为0.0005-500nM，每孔最终体积为50μL。每个药物浓度均以一式四份进行测试。将板在组织培养箱中于5％CO_2、37℃孵育5天。

[3995] 通过添加40μL CellTiter**Glo®**3D细胞活力测定底物(Promega，目录号G9681)来评估细胞活力，该底物是一种裂解细胞并测量总三磷酸腺苷(ATP)含量的试剂。将孔彻底混合，并将板在室温孵育30分钟以稳定发光信号，然后使用发光读数器(EnVision Multilabel Plate Reader，PerkinElmer)进行读数。

[3996] 为了评估药物治疗的效果，使用含有未处理细胞(100％活力)的孔中的发光计数来归一化处理的样品。应用可变斜率模型将非线性回归曲线拟合到GraphPad PRISM 7.02版软件中的数据。IC 50和A max值是从所得曲线外推的。用表21中总结的测试细胞系的代表性IC50值计算抑制50％细胞生长或存活所需的处理浓度(IC50)。

[3997] 代表性癌细胞系对靶向EGFR的BCL-xL ADC敏感，IC50值范围为0.055-100+nM活性。L11A-P21、L11A-P27、L11C-P19和L11C-P25是在NCI-H1650细胞系上测试的最有效的BCL-xLADC。这些研究表明BCL-xLADC能够抑制表达EGFR的癌细胞系的细胞增殖。

[3998] 表21:EGFR1 BCL-xL ADCs(IC50s)

[3999]

缀合物	NCI-H1650	
	IC50 (nM)	Amax（跨度）
EGFR1-L1A-P1	<0.686	--
EGFR1-L1A-P2	<6.17	--
EGFR1-L1C-P3	<6.17	97.8
EGFR1-L3A-P1	<0.686	--
EGFR1-L3A-P1	0.6517	> 100
EGFR1-L3C-P3	1.162	100.6
EGFR1-L3C-P4	>500	--
EGFR1-L3C-P5	>500	--
EGFR1-L4A-P1	<0.686	--
EGFR1-L7A-P1	<0.686	--
EGFR1-L7A-P2		
EGFR1-L7C-P3	<6.17	--
EGFR1-L7C-P6	>500	--
EGFR1-L7C-P7	<55.56	--
EGFR1-L8A-P1	<2.06	--
EGFR1-L8C-P7		
EGFR1-L9A-P1		
EGFR1-L9A-P2	2.457	93.77
EGFR1-L9C-P4	>500	--
EGFR1-L9C-P5	>500	--
EGFR1-L109A-P1	<6.17	--
EGFR1-L10A-P1	0.276	86.4
EGFR1-L10A-P2	<6.17	--
EGFR1-L10C-P3	<18.52	--
EGFR1-L11A-P21	0.079	88.68
EGFR1-L11A-P27	0.055	97.5
EGFR1-L11C-P19	0.209	93.57
EGFR1-L11C-P25	0.084	93.28

[4000] 实施例11.癌细胞系中EGFR BCLxL ADC的体外评估

[4001] BCL-xL抗体药物缀合物针对NCI-H1650(ATCC No.CRL-5883,在RPMI-1640+10％胎牛血清中培养)中的一种内源性癌细胞系进行测试。评估了一个目标:EGFR.

[4002] 抑制细胞增殖和存活

[4003] 使用Promega**CellTiter-Glo®**增殖测定评估BCL-xL抗体药物缀合物抑制细胞增殖和存活的能力。

[4004] 在组织培养箱中,在5％CO_2、37℃的条件下,在最适合其生长的培养基中培养细胞系。在接种进行增殖测定之前,在测定前至少2天将细胞拆分,以确保最佳的生长密度。接种当天,使用0.25％胰蛋白酶将贴壁细胞从组织培养瓶中剥离。使用细胞计数器(Vi-Cell XR细胞活力分析仪,Beckman Coulter)测定细胞活力和细胞密度。接种活力高于85％的细胞进行测定。

[4005] 将NCI-H1650细胞系接种于黑色透明圆底384孔超低附着球体微孔板(Corning目录号3830)中。将细胞以每孔3,000个细胞的密度接种在45μL标准生长培养基中。将板在离心机中以1,000RPM的速度旋转5分钟。将板在组织培养箱中在5%CO_2、37℃孵育72小时。给药当天,在标准生长培养基中以10X制备靶向EGFR的BCL-xL ADC。然后将准备好的药物处理添加到细胞中,最终浓度为0.0025-50nM,每孔最终体积为50μL。每个药物浓度均以一式四份进行测试。将板在组织培养箱中于5%CO_2、37℃孵育5天。

[4006] 通过添加40μL CellTiterGlo®3D细胞活力测定底物(Promega,目录号G9681)来评估细胞活力,该底物是一种裂解细胞并测量总三磷酸腺苷(ATP)含量的试剂。将孔彻底混合,并将板在室温孵育30分钟以稳定发光信号,然后使用发光读数器(EnVision Multilabel Plate Reader,PerkinElmer)进行读数。

[4007] 为了评估药物治疗的效果,使用含有未处理细胞(100%活力)的孔中的发光计数来归一化处理的样品。应用可变斜率模型将非线性回归曲线拟合到GraphPad PRISM 7.02版软件中的数据。IC 50和A max值是从所得曲线外推的。用表22中总结的测试细胞系的代表性IC50值计算抑制50%细胞生长或存活所需的处理浓度(IC50)。

[4008] 代表性癌细胞系对靶向EGFR的BCL-xL抑制剂ADC敏感,IC50值范围为0.042-0.069nM活性。测试的所有九种ADC在NCI-H1650细胞系模型上均表现出同等效力。这些研究表明BCL-xL ADC能够抑制表达EGFR的癌细胞系的细胞增殖。

[4009] 表22:EGFR1BCL-xL抑制剂ADC体外活性

[4010]

缀合物	NCI-H1650	
	IC50 (nM)	跨度(Amax)
EGFR1-L30A-P21	0.043	92.1
EGFR1-L35A-P21	0.060	94.8
EGFR1-L36A-P21	0.052	91.7
EGFR1-L37A-P21	0.052	87.9
EGFR1-L38A-P21	0.042	89.6
EGFR1-L39A-P21	0.045	92.6
EGFR1-L40A-P21	0.053	101.8
EGFR1-L42A-P21	0.042	95.3
EGFR1-L42C-P25	0.069	97.7

[4011] 实施例12.一组癌细胞系中ADC活性的体外评估

[4012] 抗体药物缀合物针对从ATCC(美国典型培养物保藏中心)获得的癌细胞系或源自患者异种移植模型的细胞系进行了测试。细胞在组织培养箱中、5%CO2、37℃的最适合生长的培养基中培养。在接种进行增殖测定之前,在测定前至少2天将细胞拆分,以确保最佳的生长密度。接种当天,使用0.25%胰蛋白酶将细胞从组织培养瓶中剥离。使用细胞计数器(Vi-Cell XR细胞活力分析仪,Beckman Coulter)测定细胞活力和细胞密度。将活力高于85%的细胞以每孔1000个细胞的密度接种在白色透明底384孔板(Greiner目录号781098)中的50μL标准生长培养基中。将板在组织培养箱中于37℃孵育过夜。

[4013] 将ADC在标准磷酸盐缓冲溶液中制备至所需浓度。每个ADC进行一系列10个稀释。

然后将准备好的药物处理添加到细胞中，最终浓度为0.000005-300nM。使用声学传输装置(Echo555，Beckman Coulter)将ADC添加到细胞中。每种处理均在一式三份测定板中进行测试。将板在37℃孵育过夜或在组织培养箱中孵育5天。使用Promega CellTiter-Glo®增殖测定评估ADC抑制细胞增殖和存活的能力。在使用多模式读板器(Pherastar，BMG)读取之前，将板在室温孵育20分钟以稳定发光信号。接种后第二天(第0天读数)和处理5天后(第5天读数)对未处理细胞进行发光计数。将未处理细胞的第5天读数与第0天读数进行比较。在孵育期间至少有一个细胞倍增的测定被认为是有效的。为了评估药物治疗的效果，使用含有未处理细胞(100％活力)的孔中的发光计数来归一化处理的样品。使用四参数逻辑回归方程计算抑制50％细胞生长或存活(GI50)所需的处理浓度。测试结果示于下表23、24和25中。

[4014]

表 23

抗体靶标	IgG		AXL		CD74		EGFR-A		EGFR-C		ENPP3	
接头负载	L109A-P1		L109A-P1		L109A-P1		L109A-P1		L109A-P1		L109A-P1	
细胞系名称	GI50（uM）	Amax	GI50 (uM)	Amax	GI50 (uM)	Amax	GI50 (uM)	Amax	GI50 (uM)	Amax	GI50 (uM)	Amax
ags	0.086	40.74	0.103	34.54	0.101	37.92	0.098	45.15	0.153	47.34	0.031	26.55
aspc1	>0.3	95.97	>0.3	96.72	>0.3	104.88	>0.3	94.78	>0.3	85.16	>0.3	59.63
bicr22	>0.3	59.79	>0.3	52.24	>0.3	62.34	>0.3	91.68	0.084	36.17	0.218	41.46
bicr56	>0.3	50.76	>0.3	90.82	>0.3	100.24	>0.3	58.11	0.002	30.17	>0.3	94
c2bbe1	>0.3	100.44	>0.3	100.84	>0.3	115.64	>0.3	95.25	0.138	44.83	>0.3	111.98
c32	>0.3	95.83	>0.3	95.99	>0.3	98.46	>0.3	103.44	>0.3	97.63	>0.3	60.98
caki2	0.223	39.62	>0.3	91.73	>0.3	52.5	0.067	26.16	0.006	35.25	0.179	41.46
cal120	>0.3	97.32	>0.3	63.02	>0.3	102.04	>0.3	67.15	0.293	48.67	>0.3	96.96
calu3	0.091	-5.72	0.216	17.64	0.012	-46.22	0.092	-61.65	0.006	-60.45	0.168	12.49
calu6	>0.3	102.3	>0.3	101.4	>0.3	97.72	>0.3	102.5	>0.3	101.5	>0.3	100.3

[4015]

		31		43		1		48		13		19
capan2	0.287	48.41	>0.3	94.56	0.086	38.71	0.209	41.32	0.065	22.24	>0.3	59.57
cjm	>0.3	65.39	>0.3	99.91	>0.3	67.83	>0.3	78.46	>0.3	63.84	>0.3	96.4
cl40	>0.3	108.1	>0.3	84.98	>0.3	75.09	>0.3	100.28	>0.3	89.31	>0.3	76.75
colo201	>0.3	116.32	>0.3	85.83	>0.3	86.1	>0.3	87.12	>0.3	104.22	>0.3	104.91
colo741	>0.3	109.21	>0.3	74.24	>0.3	101.28	>0.3	103.44	>0.3	99.35	0.218	38.65
colo783	>0.3	99.51	>0.3	62.21	>0.3	64.86	>0.3	64.02	>0.3	57.96	0.268	43.63
colo792	>0.3	56.97	0.207	42.98	>0.3	83.87	>0.3	54.48	0.256	41.19	0.154	10.15
corl105	0.203	35.14	>0.3	64.37	0.006	22.24	0.178	18.27	0.008	-37.83	0.269	44.17
du4475	>0.3	102.46	>0.3	100.69	>0.3	111.16	>0.3	107.29	>0.3	103.62	>0.3	111.26
dv90	>0.3	76.92	>0.3	108.79	>0.3	105.55	>0.3	96.41	>0.3	79.07	>0.3	98.27
ebc1	>0.3	65.02	>0.3	89.81	>0.3	74.58	>0.3	86.76	>0.3	59.11	>0.3	66.71
ecc10	>0.3	90.2	>0.3	102.1	>0.3	94.0	>0.3	103.6	>0.3	93.1	>0.3	83.9

[4016]

			3		22		5		09		4		8	
g361	>0.3		100.99	>0.3	100.83	>0.3	95.27	>0.3	105.04	>0.3	97.76	>0.3	69.44	
g402	>0.3		96.95	>0.3	101.02	>0.3	101.15	>0.3	100.69	>0.3	98.93	>0.3	94.45	
gss	0.106		- 76.31	>0.1	68.38	>0.3	92.45	0.053	- 83.73	0.072	- 86.96	0.138	- 85.26	
hcc1143	>0.3		62.31	>0.3	98.63	>0.3	77.11	>0.3	52.97	>0.3	54.27	>0.3	62.29	
hcc15	>0.3		100.83	>0.3	89.55	>0.3	101.16	>0.3	97.43	>0.3	98.21	>0.3	99.65	
hcc1569	0.138		26.3	0.206	36.24	0.191	32.91	0.075	12.09	0.089	9.47	0.146	28.58	
hcc1937	0.272		47.89	0.219	43.05	0.258	47.4	0.226	44.05	0.180	38.98	0.178	38.02	
hcc2279	0.101		26.72	0.001	8.19	0.084	25.83	0.039	3.99	0.003	22.06	0.134	21.66	
hcc2935	0.109		30.05	0.214	41.69	>0.3	58.84	0.181	34.81	0.006	21.58	>0.3	52.31	
hcc38	0.067		11.78	0.088	23.75	0.119	23.07	0.079	-5.03	0.029	- 21.41	0.119	5.18	
hcc4006	>0.3		96.89	>0.3	100.71	>0.3	111.86	>0.3	99.85	>0.3	79.53	>0.3	96.82	

[4017]

hdqp1	0.269	46.27	>0.3	104.94	>0.3	107.3	0.283	45.96	0.001	36.04	>0.3	97.67
hec108	0.197	34.66	0.193	38.97	0.248	37.95	0.011	17.3	0.001	34.58	0.113	27.71
hec251	>0.3	96.97	>0.3	98.47	>0.3	103.09	>0.3	94.91	>0.3	92.8	>0.3	57.49
hpafii	>0.3	85.51	>0.3	106.47	>0.3	108.31	>0.3	102.84	0.238	47.31	>0.3	104.66
ht55	>0.3	103.54	>0.3	101.61	>0.3	96.63	>0.3	108.83	>0.3	97.2	>0.3	98.67
hucct1	>0.3	94.97	>0.3	95.41	>0.3	100.56	>0.3	98.51	>0.3	88.16	>0.3	98.64
ialm	>0.3	96.02	>0.3	110.94	>0.3	97.67	>0.3	93.64	>0.3	91.85	>0.3	95.52
jhoc5	>0.3	56.97	>0.3	65.36	>0.3	55.19	0.040	46.16	>0.3	52.96	>0.3	61.33
jhom2b	0.014	-2.34	>0.3	64.66	0.087	-9.61	>0.3	86.17	0.002	-48.22	>0.3	95.15
jhuem3	0.206	39.5	0.197	36.03	>0.3	55.33	0.111	28.08	0.093	4.84	0.050	49.07
jhuem7	0.057	25.04	0.096	23.04	0.222	45.78	0.060	21.43	0.034	21.52	0.089	23.67
ke39	>0.3	106.37	>0.3	92.29	>0.3	89.03	>0.3	97.58	>0.3	59.15	>0.3	101.24

[4018]

lclc103h	>0.3	102.69	>0.3	90.63	>0.3	99.23	>0.3	103.08	>0.3	100.77	>0.3	67.16
lounh91	0.229	46.61	0.277	48.18	>0.3	54.67	0.207	42.61	0.223	45.39	0.241	43.45
ls123	0.068	4.51	0.084	34.01	0.146	17.49	0.067	-8.5	0.008	-33.61	0.120	15.77
ls513	>0.3	77.57	>0.3	87.01	>0.3	88.61	>0.3	72.45	>0.3	68.37	>0.3	80.81
melho	>0.3	97.13	>0.3	96.04	>0.3	101.96	>0.3	98.16	>0.3	98.44	>0.3	93.05
nccstck140	0.079	-45.72	0.065	21.38	0.188	21.77	0.032	24.75	0.000	-26.98	0.182	11.26
ncih1435	0.210	41.27	>0.3	90.43	>0.3	101.44	0.171	26.25	0.035	10.66	>0.3	94.38
ncih146	>0.3	71.51	>0.3	63.97	>0.3	76.34	>0.3	76.22	>0.3	59.69	>0.3	71.72
ncih1792	>0.3	102.01	>0.3	100.76	>0.3	103.83	>0.3	101.07	>0.3	95.88	>0.3	102.26
ncih1838	>0.3	96.77	>0.3	94.44	>0.3	98.78	>0.3	73.31	>0.3	56.68	>0.3	64.74
ncih2122	>0.3	101.63	>0.3	96.94	>0.3	104.63	>0.3	99.13	>0.3	100.02	>0.3	99.22
ncih2170	>0.3	56.3	>0.3	71.4	>0.3	66.3	0.214	36.5	0.179	39.4	>0.3	58.8

[4019]

		3		4		1		5		4		3
								-		-		-
								65.0		64.3		11.9
ncih2171	0.082	6.3	0.125	6.02	0.124	3.49	0.062	3	0.053	4	0.115	8
		65.6		67.6		61.3		-		-		95.8
								15.8		80.3		
ncih3255	>0.1	5	>0.3	5	>0.3	6	0.025	8	0.000	5	>0.3	5
				87.9		96.6		88.5		69.5		90.3
ncih596	>0.3	86.2	>0.3	3	>0.3	8	>0.3	4	>0.3	6	>0.3	8
		43.1		54.0		68.2		27.7		40.0		68.1
ncin87	0.135	4	>0.3	1	>0.3	8	0.151	2	0.122	3	>0.3	9
nvx000313292dpla		91.5		91.4		89.5		65.4		84.3		
stic	>0.3	5	>0.3	5	>0.3	3	>0.3	3	>0.3	3	>0.3	64.5
nvx000920942dpla		84.3		99.8				46.9				88.3
stic	>0.3	7	>0.3	4	>0.3	99.2	0.230	9	0.002	1.51	>0.3	4
nvx002248492dpla		95.6		103.		95.4		98.0		97.2		67.6
stic	>0.3	2	>0.3	57	>0.3	8	>0.3	8	>0.3	9	>0.3	1
nvx005112702dcol		97.1		103.				85.6				
lagen	>0.3	8	>0.3	64	>0.3	94.2	>0.3	4	0.003	8.92	>0.3	101
nvx005846762dpla		95.8				99.0		102.		96.6		96.8
stic	>0.3	8	>0.3	94.1	>0.3	8	>0.3	4	>0.3	1	>0.3	3
nvx006229972dcol				99.4		76.7		42.3		22.3		62.9
lagen	>0.3	58.9	>0.3	5	>0.3	5	0.225	1	0.024	4	>0.3	7
				84.7		98.2				16.9		91.8
ocum1	0.274	47.2	>0.3	2	>0.3	4	0.204	12.9	0.174	4	>0.3	6

[4020]

ovise	0.130	20.45	>0.3	57.59	0.282	43.27	0.057	-8.68	0.029	-8.95	>0.3		103.77
panc0327	>0.3	50.91	>0.3	88.95	>0.3	63.54	0.198	38.04	0.051	21.19	>0.3		56.95
pdxcnvx1004	>0.3	66.14	>0.3	71.6	>0.3	105.17	>0.3	58.63	>0.3	57.35	>0.3		63.76
pdxcnvx1015	>0.3	101.18	>0.3	96.52	>0.3	105.36	>0.3	101.51	>0.3	97.25	>0.3		95.39
pdxcnvx1016	>0.3	101.19	>0.3	99.58	>0.3	100.45	>0.3	101.51	>0.3	98.67	>0.3		100.66
pdxcnvx1017	>0.3	97.73	>0.3	96.43	>0.3	99.86	>0.3	98.68	>0.3	97.57	>0.3		96.89
pdxcnvx1019	>0.3	99.07	>0.3	102.77	>0.3	99.14	>0.3	99.28	>0.3	92.91	>0.3		101.52
rcm1	>0.3	97.38	>0.3	96.94	>0.3	97.67	>0.3	61.45	0.294	49.76	>0.3		96.49
rerfgc1b	0.074	23.67	>0.3	98.86	>0.3	70.36	0.220	45.34	0.013	15.35	>0.3		96.7
rerflckj	>0.3	93.02	>0.3	99.21	>0.3	98.93	>0.3	103.36	0.013	23.27	>0.3		100.45
scc15	0.012	-26.32	0.009	19.07	0.036	15.16	0.000	-24.18	0.000	-11.3	0.003	1.49	
skco1	0.165	21.85	0.231	34.1	0.227	32.87	0.136	9.95	0.039	-20.3	>0.3	98.53	

[4021]

														8			
skhep1	>0.3	55.53	0.161	43.82	>0.3	54.13	>0.3	51.38	0.206	46.11	>0.3	57.74
skmel1	>0.3	99.67	>0.3	107.08	>0.3	104.28	>0.3	107.42	>0.3	98.91	>0.3	98.74
skmel3	0.000	-83.09	0.003	-65.34	0.002	-61.4	0.002	-46.75	0.000	-54.76	0.001	-71
skmel31	0.181	46.31	0.016	36.09	0.048	36.51	0.165	37.42	0.165	32.87	>0.3	79.06
skmel5	>0.3	102.15	>0.3	95.39	>0.3	97.86	>0.3	96.85	>0.3	99.83	>0.3	95.77
sngm	0.123	38.05	>0.3	100.18	>0.3	63.54	>0.3	57.94	0.005	24.23	>0.3	68.89
snu1033	>0.3	95.42	>0.3	101.55	>0.3	104.88	>0.3	99.63	>0.3	62.07	>0.3	97.16
snu119	0.200	31.61	>0.3	87.88	>0.3	59.28	>0.3	78.56	0.083	22.58	>0.3	88.91
snu16	>0.3	109.49	>0.3	91.21	>0.3	65.83	>0.3	105.66	>0.3	91.14	>0.3	93.61
snu182	>0.3	89.01	>0.3	106.67	>0.3	78	>0.3	60.07	0.259	48.61	>0.3	52.4
snu216	>0.3	93.94	>0.3	105.22	>0.3	102.98	>0.3	98.74	>0.3	86.97	>0.3	97.75
snu283	0.002	-	0.161	4.42	0.132	6.97	0.009	-	0.000	-	0.140	19.5

[4022]

		86.13			93.58			99.62			91.72			97.32			4	
snu5	>0.3	105.89	>0.3	>0.3	93.58	>0.3	>0.3	99.62	>0.3	>0.3	100.78	>0.3	>0.3	94.98	>0.3	>0.3	98.82	
snu601	>0.3	98.39	>0.3	>0.3	103.01	>0.3	>0.3	101.85	>0.3	>0.3	68.73	>0.3	>0.3	65.52	>0.3	>0.3	102.56	
snu620	>0.3	100.68	>0.3	>0.3	99.88	>0.3	>0.3	97.12	>0.3	>0.3	102.46	>0.3	>0.3	101.02	>0.3	>0.3	106.64	
snu719	0.175	28.22	>0.3	>0.3	55.47	>0.3	>0.3	60.21	>0.3	0.157	18.89	0.029	>0.3	-30.14	0.283	>0.3	48.65	
snu81	>0.3	102.26	>0.3	>0.3	90.49	>0.3	>0.3	97.46	>0.3	>0.3	97.15	>0.3	>0.3	94.66	>0.3	>0.3	99.51	
snu878	0.079	23.97	0.173	0.173	41.31	0.172	0.172	34.66	0.004	0.004	27.82	0.025	0.025	22.28	0.123	0.123	32.22	
sw1116	>0.3	80.33	>0.3	>0.3	76.87	>0.3	>0.3	98.43	>0.3	>0.3	84.78	0.014	0.014	20.05	>0.3	>0.3	107.68	
sw1463	>0.3	93.14	>0.3	>0.3	99.47	>0.3	>0.3	96.38	>0.3	>0.3	98.81	>0.3	>0.3	97.07	>0.3	>0.3	96.32	
sw403	>0.3	86.99	>0.3	>0.3	94.06	>0.3	>0.3	102.51	>0.3	>0.3	61.64	0.039	0.039	29.88	>0.3	>0.3	97.44	
t3m10	0.050	-48.54	0.078	0.078	-3.696	0.073	0.073	-29.75	0.052	0.052	-58.97	0.021	0.021	-61.56	0.078	0.078	5.766	

[4023]

表 24

抗体靶标	EPCAM		F3		FOLR1		GPNMB		MET		MSLN	
接头负载	L109A-P1		L109A-P1		L109A-P1		L109A-P1		L109A-P1		L109A-P1	
细胞系名称	GI50（uM）	Amax	GI50 (uM)	Amax	GI50 (uM)	Amax	GI50 (uM)	Amax	GI50 (uM)	Amax	GI50 (uM)	Amax
ags	0.000	36.39	0.161	45.23	0.153	41.44	0.129	37.94	0.051	28.67	0.116	35.5
aspc1	>0.3	53.02	>0.3	104.07	>0.3	52.03	>0.3	92.61	>0.3	93.03	>0.3	108.67
bicr22	0.077	34.73	>0.3	59.18	>0.3	53.57	0.222	45.93	0.046	28.54	>0.3	100.1
bicr56	>0.3	62.63	>0.3	82.23	>0.3	94.35	>0.3	94.09	>0.3	87.26	>0.3	103.56
c2bbe1	>0.3	55.48	>0.3	112.67	>0.3	55.35	>0.3	91.08	>0.3	97.12	>0.3	110.23
c32	>0.3	67.59	>0.3	100.97	>0.3	60.58	>0.3	72.8	>0.3	71.92	>0.3	102.06
caki2	0.075	-11.37	0.221	34.72	>0.3	61.3	0.288	47.04	0.176	23.39	>0.3	52.99
cal120	>0.3	100.54	>0.3	52.02	>0.3	96.58	>0.3	94.5	0.192	45.11	>0.3	100.79
calu3	0.000	-77.03	0.001	-69.75	0.106	-3.64	0.144	33.45	0.068	-66.58	0.186	27.14
calu6	>0.3	94.47	>0.3	102.05	>0.3	97.58	>0.3	96.66	>0.3	98.13	>0.3	95.2
capan2	0.001	23.73	0.142	47.27	>0.3	56.44	>0.3	53.75	>0.3	50.94	>0.3	61.98
cjm	>0.3	59.23	>0.3	65.44	>0.3	66.11	>0.3	63.03	>0.3	101.88	>0.3	97.95
cl40	0.001	15.9	>0.3	79.1	>0.3	73.7	>0.3	132.	>0.3	104.	>0.3	80.1

[4024]

		3		2				3		78		1
colo201	>0.3	78.78	>0.3	120.64	>0.3	95.28	>0.3	111.56	>0.3	78	>0.3	91.43
colo741	0.129	29.27	>0.3	110.63	0.107	33.69	>0.3	61.4	>0.3	70.23	>0.3	94.46
colo783	0.082	19.45	>0.3	54.96	0.141	43	0.116	42.45	0.239	45.85	>0.3	61.47
colo792	0.043	18	0.261	47.07	0.084	29.72	0.223	46.71	0.059	18.44	>0.3	53.27
corl105	0.068	-1.4	0.168	34.61	0.257	45.34	>0.3	55.01	0.209	29.24	>0.3	73.12
du4475	>0.3	99.38	>0.3	109.42	>0.3	106.77	>0.3	73.9	>0.3	100.82	>0.3	110.07
dv90	0.201	39.67	>0.3	89.21	>0.3	96.09	>0.3	100.27	>0.3	95.73	>0.3	93.58
ebc1	0.148	30.14	>0.3	61.83	>0.3	96.39	>0.3	69.76	0.299	49.96	>0.3	73.7
ecc10	>0.3	98.6	>0.3	86.46	>0.3	93.48	>0.3	113.33	>0.3	90.9	>0.3	102.67
g361	>0.3	63.55	>0.3	107.24	>0.3	64.27	>0.3	98.26	>0.3	94.18	>0.3	96.3
g402	>0.3	94.51	>0.3	105.68	>0.3	96.19	>0.3	101.19	>0.3	97.93	>0.3	98.25
gss	0.000	-95.33	0.086	-88.29	>0.3	89.98	>0.1	59.1	0.060	-90.99	0.140	-71.06
hcc1143	0.287	49.73	>0.3	68.82	0.229	46.39	>0.3	58.03	>0.3	64.58	>0.3	75.85
hcc15	>0.3	65.11	>0.3	100.22	>0.3	99.23	>0.3	98.77	>0.3	94.4	>0.3	99.55
hcc1569	0.000	-1.59	0.144	15.85	0.162	29.11	0.167	25.07	0.097	10.96	0.214	43.24
hcc1937	0.008	11.7	0.000	28.6	0.210	44.5	>0.3	51.9	0.117	26.4	0.238	40.9

[4025]

		1			2			2			9			4			3
hcc2279	0.050	-0.52	0.000	24.45	0.188		36.21	0.204		38.41	0.057		0.03	0.254		48.25
hcc2935	0.016	27.24	>0.3	50.26	0.101		34.78	0.094		38.14	0.073		28.18	>0.3		54.99
hcc38	0.003	-33.19	0.094	-0.42	0.051		-8.79	0.087		13.97	0.036		-8.63	0.177		25.98
hcc4006	>0.3	108.23	>0.3	95.5	>0.3		100.49	>0.3		90.52	>0.3		100.85	>0.3		110.04
hdqp1	>0.3	78.39	>0.3	88.97	>0.3		95.31	>0.3		93.74	>0.3		94.25	>0.3		108.45
hec108	0.000	15.11	0.186	30.46	0.188		28.86	0.168		24.52	0.087		19.37	0.265		47.17
hec251	>0.3	65.81	>0.3	96.85	>0.3		65.64	>0.3		94.34	>0.3		79.66	>0.3		101.88
hpafii	0.005	27.63	0.001	47.08	>0.3		102.99	>0.3		96.91	>0.3		74.12	>0.3		108.97
ht55	>0.3	60.65	>0.3	103.37	>0.3		97.68	>0.3		71.63	>0.3		92.01	>0.3		88.84
huccl1	>0.3	99.41	>0.3	98.01	>0.3		98.22	>0.3		92.52	>0.3		98.37	>0.3		105.07
ialm	>0.3	89.45	>0.3	95.62	>0.3		94.77	>0.3		89.59	>0.3		96.72	>0.3		92.7
jhoc5	0.034	-49.14	0.211	27.77	0.256		40.71	>0.3		95.78	0.031		38.52	>0.3		56.1
jhom2b	0.000	-48.31	0.134	2.43	0.047		7.1	0.100		0.64	0.088		-22.65	>0.3		88.51
jhuem3	0.001	5.43	0.175	21.76	0.079		30.67	0.116		21.65	0.053		12.04	>0.3		103.44
jhuem7	0.011	23.6	0.011	33.5	0.058		20.2	0.082		26.5	0.107		19.8	0.235		46.1

[4026]

		8		9		9		2		7		4
ke39	>0.3	81.97	>0.3	103.28	>0.3	96.91	>0.3	98.71	>0.3	89.51	>0.3	87.37
lclc103h	>0.3	66.86	>0.3	94.62	>0.3	102.07	>0.3	95.91	>0.3	66.89	>0.3	98.11
lounh91	0.085	19.36	>0.3	53.77	0.175	39.06	>0.3	56.02	0.117	30.51	>0.3	57.26
ls123	0.001	-49.16	0.017	-11.04	0.099	19.08	0.122	24.77	0.067	-2.53	>0.3	54.87
ls513	0.026	15.84	>0.3	86.76	>0.3	98.62	>0.3	77.47	>0.3	89.15	>0.3	74.71
melho	>0.3	88.64	>0.3	104.56	>0.3	89.86	>0.3	88.44	>0.3	87.08	>0.3	95.99
necstck140	0.008	-8.09	0.205	30.87	0.056	27.25	0.095	12.32	0.021	6.79	>0.3	51.71
ncih1435	0.262	48.17	>0.3	100.61	>0.3	56.02	>0.3	62.73	>0.3	91.17	>0.3	103.14
ncih146	0.013	-51.16	>0.3	67.32	>0.3	77.44	>0.3	86.34	0.093	-5.14	>0.3	79.09
ncih1792	>0.3	102.23	>0.3	102.94	>0.3	99.58	>0.3	98.33	>0.3	100.46	>0.3	102.14
ncih1838	>0.3	51.75	>0.3	66.62	>0.3	68.27	>0.3	69.33	>0.3	62.28	>0.3	100.95
ncih2122	>0.3	79.59	>0.3	96.01	>0.3	99.82	>0.3	97.88	>0.3	95.21	>0.3	106.88
ncih2170	0.028	32.46	0.273	46.71	>0.3	63.8	>0.3	60.02	0.290	48.47	>0.3	111.16
ncih2171	0.002	-92.38	0.043	-57.52	0.098	-9.72	0.074	-59.36	0.048	-83	0.119	2.83
ncih3255	0.036	27.7	>0.3	60.3	>0.3	54.2	>0.3	55.6	>0.3	74.9	>0.3	59.1

[4027]

		7		8		7		6		3		9
ncih596	>0.3	97.81	>0.3	81.85	>0.3	88.02	>0.3	80.23	>0.3	83.25	>0.3	103.09
ncin87	0.007	28.93	>0.3	82.47	>0.3	50.67	>0.3	57.35	>0.3	63.66	>0.3	96.87
nvx000313292dplastic	0.291	49.89	>0.3	99.52	>0.3	66.58	>0.3	55.26	>0.3	92.16	>0.3	68.02
nvx000920942dplastic	>0.3	54.64	0.094	44.35	>0.3	93.41	>0.3	105.63	0.041	12.82	>0.3	101.33
nvx002248492dplastic	>0.3	90.69	>0.3	108.04	>0.3	62.28	>0.3	95.35	>0.3	79.57	>0.3	88.8
nvx005112702dcollagen	0.022	30.94	>0.3	94.54	>0.3	76.96	>0.3	98.8	>0.3	94.33	>0.3	101.67
nvx005846762dplastic	>0.3	96.22	>0.3	100.35	>0.3	96.02	>0.3	96.02	>0.3	92.45	>0.3	97.79
nvx006229972dcollagen	>0.3	50.65	>0.3	57.57	>0.3	63.31	>0.3	71.28	>0.3	92.17	>0.3	93.1
ocum1	0.001	-33.39	0.179	21.54	>0.3	104.61	>0.3	109.51	0.159	10.74	>0.3	100.06
ovise	0.000	0.79	0.002	35.65	0.106	10.19	>0.3	82.25	0.110	1.49	>0.3	57.52
panc0327	0.018	30.91	0.000	40.28	>0.3	53.38	>0.3	54.77	>0.3	54.47	>0.3	70.23
pdxcnvx1004	0.137	32.02	>0.3	63.99	>0.3	54.44	>0.3	55.69	>0.3	51.55	>0.3	70.67
pdxcnvx1015	>0.3	102.05	>0.3	106.49	>0.3	90.92	>0.3	93.53	>0.3	95.82	>0.3	104.23
pdxcnvx1016	>0.3	98.41	>0.3	102.48	>0.3	104.45	>0.3	99.7	>0.3	96.45	>0.3	96.57
pdxcnvx1017	>0.3	98	>0.3	101.12	>0.3	94.93	>0.3	97.85	>0.3	95.65	>0.3	100.33
pdxcnvx1019	>0.3	98.8	>0.3	106.	>0.3	100.	>0.3	102.	>0.3	95.1	>0.3	105.

[4028]

		9		71		92		34		8		4
rcm1	0.072	38.61	>0.3	91.48	>0.3	96.17	>0.3	97.7	>0.3	102.09	>0.3	98.85
rerfgc1b	0.015	37.21	>0.3	56.24	>0.3	90.8	>0.3	73.29	>0.3	95.22	>0.3	97.01
rerflckj	>0.3	95.23	>0.3	93.16	>0.3	64.7	>0.3	87.2	>0.3	113.6	>0.3	106.61
scc15	0.000	2.57	0.000	-11.57	0.052	7.88	0.021	-15.61	0.002	-3.93	0.034	16.82
skco1	0.000	-53.34	0.147	3.03	0.225	36.47	0.236	36.65	0.113	6.94	0.193	24.2
skhep1	0.101	35.13	>0.3	57.79	>0.3	55.23	0.160	-1.34	0.138	46.82	>0.3	82.36
skmel1	>0.3	100.75	>0.3	103.55	>0.3	101.53	>0.3	98.96	>0.3	104.66	>0.3	103.84
skmel3	0.000	-61.74	0.001	-61.21	0.004	-63.56	0.001	-56.21	0.025	-19.9	0.000	-51.31
skmel31	>0.3	54.55	0.153	37.85	0.171	40.66	0.014	42.22	0.024	44.77	>0.3	96.3
skmel5	>0.3	91.09	>0.3	100.77	>0.3	90.59	>0.3	96.34	>0.3	94.63	>0.3	90.7
sngm	>0.3	61.72	>0.3	67.67	>0.3	56.79	>0.3	97.5	>0.3	67.51	>0.3	67.28
snu1033	>0.3	72.05	>0.3	93.77	>0.3	65.36	>0.3	91.38	>0.3	71.96	>0.3	106.76
snu119	0.028	6.09	>0.3	78.3	0.103	40.68	>0.3	51.25	>0.3	77.19	>0.3	105.04
snu16	>0.3	62.49	>0.3	97.24	>0.3	78.62	>0.3	108.53	>0.3	64.49	>0.3	72.26
snu182	0.137	37.3	>0.3	53.7	>0.3	52.1	>0.3	51.5	0.186	37.2	>0.3	81.8

[4029]

		5		3		6		3		9		6
snu216	>0.3	101.97	>0.3	94.1	>0.3	96.81	>0.3	93.86	>0.3	97.82	>0.3	103.51
snu283	0.000	-86.69	0.070	-67.03	0.053	-12.02	0.053	18.24	0.032	-44.95	>0.3	88.7
snu5	>0.3	97.56	>0.3	102.28	>0.3	96.78	>0.3	98	0.000	46.07	>0.3	103.63
snu601	>0.3	60.49	>0.3	101.04	>0.3	101.88	>0.3	97.53	>0.3	98.8	>0.3	100.87
snu620	>0.3	65.2	>0.3	107.02	>0.3	78.47	>0.3	98.74	>0.3	76.96	>0.3	102.68
snu719	0.002	15.05	0.251	41.76	0.253	45.96	0.226	41.48	0.157	40.99	>0.3	58.67
snu81	>0.3	86.3	>0.3	98.47	>0.3	99.47	>0.3	97.08	>0.3	91.55	>0.3	92.57
snu878	0.032	15.28	0.115	27.89	0.125	34	0.189	38.59	0.117	33.12	>0.3	51.59
sw1116	>0.3	74.89	>0.3	58.08	>0.3	103.44	>0.3	82.77	>0.3	94.28	>0.3	92.91
sw1463	>0.3	51.27	>0.3	97.22	>0.3	99.35	>0.3	89.53	>0.3	103.05	>0.3	92.47
sw403	>0.3	55.66	>0.3	89.54	>0.3	99.84	>0.3	92.07	>0.3	105.76	>0.3	97.15
t3m10	0.005	-69.52	0.001	-51.13	0.069	-27.15	0.057	-18.16	0.047	-29.2	0.102	-11.76

表 25

抗体靶标	MUC16	NECTIN4	SLC34A2	SLC39A6	TACSTD2	TFRC
接头负载	L109A-P1	L109A-P1	L109A-P1	L109A-P1	L109A-P1	L109A-P1

[4030]

细胞系名称	GI50 (uM)	Amax	GI50 (uM)	Amax	GI50 (uM)	Amax	GI50 (uM)	Amax	GI50 (uM)	Amax
ags	0.062	39.79	0.091	45.22	0.099	36.79	0.086	37.8	0.000	36.27	0.002	44.13
aspc1	>0.3	100.94	>0.1	96.28	>0.3	93.33	>0.3	100.64	>0.3	99.67	0.004	27.24
bicr22	>0.3	60.91	>0.1	91.66	0.214	37.72	0.202	37.25	0.121	43.55	0.002	-7.45
bicr56	>0.3	96.86	>0.1	96.4	>0.3	94.82	>0.3	93.1	>0.3	86.08	0.004	14.05
c2bbe1	>0.3	109.73	>0.1	96.06	>0.3	103.64	>0.3	103.47	>0.3	74.94	0.026	6.29
c32	>0.3	99.83	>0.1	94.18	>0.3	75.21	>0.3	72.94	>0.3	65.91	0.010	4.24
caki2	0.211	32.63	>0.1	96.71	>0.3	58.38	0.271	44.18	0.263	41.72	0.001	-81.37
cal120	>0.3	55.25	>0.1	97.53	>0.3	92.78	>0.3	96.45	>0.3	89.52	0.004	-61.17
calu3	0.095	-66.04	>0.1	86.18	0.113	28.08	0.112	-26.77	0.005	-52.14	0.002	-80.7
calu6	>0.3	100.88	>0.1	101.65	>0.3	100.33	>0.3	101.47	>0.3	98.25	0.019	29.36
capan2	0.271	45.88	>0.1	95.3	>0.3	64.63	>0.3	53.43	0.030	36.49	0.006	-40.52
cjm	>0.3	93.67	>0.1	98.53	>0.3	68.56	>0.3	63.13	>0.3	62.19	>0.3	68.61
cl40	>0.3	96.56	>0.1	103.67	>0.3	109.81	>0.3	143.49	>0.3	123.84	>0.3	67.07
colo201	>0.3	95.0	>0.1	104.0	>0.3	91.9	>0.3	107.0	>0.3	93.0	0.013	-

[4031]

		6		47		2		31		7		48.03
colo741	>0.3	99.72	>0.1	100.59	>0.3	66.07	>0.3	101.14	>0.3	99.73	0.002	-66.74
colo783	>0.3	52.81	>0.1	63.35	0.185	40.69	0.241	44.04	0.109	32.37	0.002	-74.69
colo792	>0.3	52.46	0.085	45.35	0.215	33.98	0.149	33.21	0.134	41.67	0.001	-71.34
corl105	0.224	28.68	>0.1	93.08	>0.3	52.4	0.283	46.56	0.225	44.5	0.013	-51.59
du4475	>0.3	106.39	>0.1	102.71	>0.3	98.86	>0.3	100.82	>0.3	101.02	0.018	-66.13
dv90	>0.3	98.92	>0.1	84.13	>0.3	88.74	>0.3	116.27	>0.3	105.7	0.001	-86.75
ebc1	>0.3	72.6	>0.1	95.18	>0.3	63.91	>0.3	63.5	>0.3	66.18	0.004	-73.07
ecc10	>0.3	115.83	>0.1	101.08	>0.3	118.08	>0.3	129.04	>0.3	126.69	>0.3	77.05
g361	>0.3	101.98	>0.1	96.24	>0.3	71.61	>0.3	100.85	>0.3	101.86	0.002	2.71
g402	>0.3	102.87	>0.1	93.57	>0.3	94	>0.3	98.57	>0.3	100.88	0.002	-1.25
gss	0.083	-83.54	0.085	34.67	>0.1	69.06	0.088	-89.17	0.076	-73.75	0.001	-96.49
hcc1143	>0.3	69.3	>0.1	95.2	>0.3	61.2	>0.3	61.7	>0.3	62.0	0.010	14.8

[4032]

		6		7			6		2		9		5
hcc15	>0.3	99.96	>0.1	101.48	>0.3	>0.3	97.89	>0.3	100.31	>0.3	97.45	0.010	-72.58
hcc1569	0.099	15.96	>0.1	58	0.162	0.110	26.04	0.223	10.96	0.112	18.32	0.000	-67.74
hcc1937	0.144	30.24	>0.1	65.93	0.042	0.223	45.18	0.122	37.87	0.024	38.82	0.003	-39.03
hcc2279	0.136	17.35	>0.1	61.13	0.157	0.122	30.56	0.150	20.26	0.150	32.73	0.001	-64.98
hcc2935	>0.3	56	>0.1	65.72	>0.3	0.220	55.11	0.020	39.43	0.020	37.93	0.005	-16.86
hcc38	0.094	4.03	0.073	43.76	0.090	0.090	22.25	0.001	8.9	0.001	18.68	0.001	-78.64
hcc4006	>0.3	105.96	>0.1	95.64	>0.3	>0.3	94.32	>0.3	103.2	>0.3	99.42	0.005	26.67
hdqp1	>0.3	104.34	>0.1	97.86	>0.3	>0.3	95.49	>0.3	104.49	>0.3	100.26	0.005	17.87
hec108	0.130	29.05	>0.1	70.18	0.172	0.153	32.77	0.118	24.58	0.118	23.14	0.001	-93.53
hec251	>0.3	98.57	>0.1	99.16	>0.3	>0.3	89.43	>0.3	98.33	>0.3	80.62	0.004	-21.21
hpafii	>0.3	99.36	>0.1	89.61	>0.3	>0.3	86.06	>0.3	103.42	>0.3	69.17	0.022	4.01
ht55	>0.3	88.42	>0.1	104.45	>0.3	>0.3	91.59	>0.3	101.32	>0.3	83.54	0.016	-58.52

[4033]

hucct	>0.3	97.64	>0.1	94.91	>0.3	94.7	>0.3	99.9	>0.3	95.8	0.012	11.21
ialm	>0.3	98.15	>0.1	95.14	>0.3	91.87	>0.3	95.9	>0.3	95.62	0.053	45.85
jhoc5	0.156	25.82	>0.1	93.68	0.244	41.06	0.179	16.06	0.152	21.98	0.015	12.12
jhom2b	0.053	2.3	>0.1	79.33	0.143	-4.69	0.067	-2.03	>0.3	57.06	0.011	-80.11
jhuem3	0.123	46.93	>0.1	90.42	0.130	38.28	0.261	42.87	0.000	24.73	0.009	-10.96
jhuem7	0.087	30.38	0.057	38.38	0.004	22.52	0.074	21.19	0.027	16.07	0.006	-6.33
ke39	>0.3	79.32	>0.1	105.35	>0.3	96.36	>0.3	82.52	>0.3	77.83	0.006	19.79
lclc103h	>0.3	100.34	>0.1	102.82	>0.3	98.78	>0.3	103.77	>0.3	97.65	0.007	11.44
lounh91	>0.3	51.71	>0.1	58.49	>0.3	53.88	0.241	48	0.192	40.45	0.015	-17.22
ls123	0.066	18.65	>0.1	52.92	0.097	4.2	0.050	22.78	0.012	-6.93	0.001	-92.11
ls513	>0.3	84.45	>0.1	93.1	>0.3	80.48	>0.3	94.9	>0.3	82.67	0.001	-83.61
melho	>0.3	92.93	>0.1	95.68	>0.3	90.52	>0.3	95.21	>0.3	90.8	0.002	-77.13
nccstck140	0.038	24.1	0.021	16.41	0.055	10.82	0.115	22.63	0.001	-7.11	0.002	-11.84

[4034]

ncih1435	>0.3	53.3	>0.1	88.17	>0.3	91.13	>0.3	62.69	>0.3	58.42	0.004	-	36.52
ncih146	>0.3	52.95	>0.1	86.96	>0.3	60.21	>0.3	91.94	0.162	-13.45	0.002	-	93.92
ncih1792	>0.3	99.91	>0.1	103.49	>0.3	101.79	>0.3	102.28	>0.3	99.48	0.002		16.27
ncih1838	>0.3	101.31	>0.1	96.86	>0.3	71.15	>0.3	97.06	>0.3	94.12	0.081		26.15
ncih2122	>0.3	101.91	>0.1	95.34	>0.3	97.61	>0.3	99.75	>0.3	85.38	0.003	-	25.88
ncih2170	>0.3	50.6	>0.1	95.22	>0.3	91.32	>0.3	55.59	0.274	48.45	0.002	-	54.05
ncih2171	0.049	-65.28	0.080	28.76	0.087	-21.66	0.058	-79.86	0.050	-69.36	0.003	-	97.28
ncih3255	>0.3	55.93	>0.1	88.87	>0.3	55.9	>0.3	57.48	0.038	35.37	0.002	-	32.44
ncih596	>0.3	95.85	>0.1	84.76	>0.3	85.44	>0.3	89.37	>0.3	86.59	0.009		43.87
ncin87	>0.3	54.41	>0.1	96.18	>0.3	79.1	0.295	49.35	0.031	36.97	0.002	-	79.37
nvx000313292dplastic	>0.3	97.58	>0.1	89.1	>0.3	59	>0.3	56.29	>0.3	61.15	0.004		15.69
nvx000920942dplastic	>0.3	76.71	>0.1	73.24	>0.3	76.52	>0.3	79.68	>0.3	71.07	0.005	-	3.13
nvx002248492dplastic	>0.3	102.16	>0.1	95.91	>0.3	89.19	>0.3	72.25	>0.3	98.66	>0.3		51.38
nvx005112702dcol	>0.3	92.7	>0.1	95.7	0.046	38.1	>0.3	108.	>0.3	100.	>0.3		77.3

[4035]

lagen		4		3				7		99		5
nvx005846762dplastic	>0.3	98.74	>0.1	95.08	>0.3	92.41	>0.3	97.66	>0.3	95.8	>0.3	54.28
nvx006229972dcollagen	>0.3	66.34	>0.1	88.81	>0.3	66.91	>0.3	64.96	>0.3	65.26	0.018	10.97
ocum1	0.151	16.43	>0.1	98.17	>0.3	79.63	0.271	44.19	0.108	27.03	0.017	-84.91
ovise	0.148	9.67	>0.1	100.44	0.027	12.89	0.152	9.09	>0.3	99.9	0.004	-68.81
panc0327	>0.3	53.17	>0.1	91.94	>0.3	60.94	0.298	49.68	0.131	44.08	0.002	-62.22
pdxcnvx1004	>0.3	63.12	>0.1	66.52	>0.3	55.54	>0.3	51.75	0.294	49.21	0.069	25.39
pdxcnvx1015	>0.3	102.62	>0.1	96.42	>0.3	91.33	>0.3	95.4	>0.3	90.25	0.028	44.58
pdxcnvx1016	>0.3	91.67	>0.1	98.53	>0.3	97	>0.3	94.46	>0.3	91.82	>0.3	57.55
pdxcnvx1017	>0.3	102.38	>0.1	96.14	>0.3	95.33	>0.3	100.02	>0.3	99.24	0.061	46.69
pdxcnvx1019	>0.3	96.03	>0.1	103.81	>0.3	95.86	>0.3	99.63	>0.3	101.21	0.020	45.23
rcm1	>0.3	98.42	>0.1	98.89	>0.3	98.06	>0.3	98.13	>0.3	72.41	0.071	6.18
rerfgc1b	>0.3	51.28	>0.1	93.51	0.249	40.95	0.271	47.91	0.037	46.51	0.005	-38.31
rerflckj	>0.3	103.02	>0.1	97.46	>0.3	98.34	>0.3	103.12	>0.3	74.24	0.008	34.63
scc15	0.013	-6.21	0.039	23.91	0.016	-3.53	0.031	-4.68	0.000	-24.6	0.000	-36.7

[4036]

																			3
skco1	0.138	3.74	>0.1		91.54	0.209		24.37	0.211		23.61	0.006		2.79	0.000			- 70.72
skhep1	0.223	42.39	>0.1		92.39	>0.3		61.59	>0.3		59.22	>0.3		58.86	>0.3			53.56
skmel1	>0.3	102.83	>0.1		96.43	>0.3		95.4	>0.3		97.12	>0.3		97.73	0.003			- 43.98
skmel3	0.005	- 42.26	0.004		- 56.83	0.001		- 66.29	0.048		- 39.94	0.004		- 64.87	0.000			- 74.1
skmel31	>0.3	56.21	>0.1		78.72	0.130		39.63	0.043		39.43	0.133		38.12	0.011			- 4.49
skmel5	>0.3	93.53	>0.1		99.45	>0.3		96.46	>0.3		96.83	>0.3		91.98	0.006			8.12
sngm	>0.3	65.52	>0.1		77.42	0.003		- 30.54	>0.3		63.67	>0.3		97.81	>0.3			62.32
snu1033	>0.3	103.91	>0.1		94.26	>0.3		92.17	>0.3		104.11	>0.3		92.37	0.004			- 11.73
snu119	>0.3	105.49	>0.1		76.77	>0.3		62.39	>0.3		61.52	0.104		42.2	0.002			- 41.17
snu16	>0.3	98.85	>0.1		96.95	>0.3		83.56	>0.3		102.82	>0.3		84.94	0.002			- 78.46
snu182	>0.3	51.42	>0.1		92.25	>0.3		57.57	>0.3		62.15	>0.3		59.15	0.015			8.82
snu216	>0.3	100.56	>0.1		97.5	>0.3		95.59	>0.3		99.25	>0.3		97.81	0.003			18
snu283	0.029	-	>0.1		76.3	0.112		-9.37	0.081		-3.9	0.016		-	0.000			-

[4037]

																			98.84
snu5	>0.3	56.13	>0.1	98.9	>0.3	94.34	>0.3	101	>0.3	24.36	100.93	0.006	8.93						
		103.27																	
snu601	>0.3	100.31	>0.1	98.42	>0.3	95.59	>0.3	104.95	>0.3	93.34	93.34	0.002	-72.62						
snu620	>0.3	100.07	>0.1	100.94	>0.3	75.3	>0.3	72.46	>0.3	68.49	68.49	0.003	-36.62						
snu719	0.236	37.72	>0.1	64.98	0.249	41.63	0.178	31.44	0.206	43.1	43.1	0.001	0.37						
snu81	>0.3	90.57	>0.1	97.18	>0.3	93.45	>0.3	90.53	>0.3	88.38	88.38	0.035	-6.02						
snu878	0.130	31.61	0.084	47.55	0.161	25.45	0.142	30.17	0.146	32.69	32.69	0.001	-17.23						
sw1116	>0.3	96.49	>0.1	87.87	>0.3	83.41	>0.3	89.76	>0.3	83.38	83.38	>0.3	91.78						
sw1463	>0.3	71.51	>0.1	98	>0.3	98.82	>0.3	101.31	>0.3	89.06	89.06	0.019	3.11						
sw403	>0.3	96.75	>0.1	94.52	>0.3	91.36	>0.3	100.97	>0.3	96.68	96.68	0.008	-68.6						
t3m10	0.049	-48.78	0.036	28.93	0.069	-24.29	0.053	-39.48	0.056	-32.09	-32.09	0.003	-83.42						

[4038] 实施例13.在一组癌细胞系中评估与伴侣组合的体外ADC活性

[4039] 针对从ATCC(美国典型培养物保藏中心)或其他商业细胞系供应商(cor1279、ncih1436、ncih146、ncih211、ncih524)获得的癌细胞系,测试靶向IgG、B7H3、CD56、DLK1、DLL3、EpCAM和SEZ6的抗体药物缀合物(cADC)。细胞在组织培养箱中、5%CO_2、37℃的最适合生长的培养基中培养。在接种进行增殖测定之前,在测定前至少2天将细胞拆分,以确保最

佳的生长密度。接种当天,使用0.25%胰蛋白酶将细胞从组织培养瓶中剥离。使用细胞计数器(Vi-Cell XR细胞活力分析仪,Beckman Coulter)测定细胞活力和细胞密度。将活力高于85%的细胞以每孔1000个细胞的密度接种在白色透明底384孔板(Greiner目录号781098)中的50μL标准生长培养基中。将板在组织培养箱中于37℃孵育过夜。

[4040] 将ADC在标准磷酸盐缓冲溶液中制备至所需浓度。每个ADC进行一系列10个稀释。然后将准备好的药物处理添加到细胞中,最终浓度为300-0.015nM。以固定浓度添加组合伴侣(维奈托克和拓扑替康)。使用声学传输装置(Echo525、Echo550、Beckman Coulter)将ADC或组合伴侣添加到细胞中。每种处理均在一式三份测定板中进行测试。将板在37℃孵育过夜或在组织培养箱中孵育5天。使用Promega**CellTiter-Glo®**增殖测定评估ADC抑制细胞增殖和存活的能力。在使用多模式读板器(Pherastar,BMG)读取之前,将板在室温孵育20分钟以稳定发光信号。接种后第二天(第0天读数)和处理5天后(第5天读数)对未处理细胞进行发光计数。将未处理细胞的第5天读数与第0天读数进行比较。在孵育期间至少有一个细胞倍增的测定被认为是有效的。为了评估药物治疗的效果,使用含有未处理细胞(100%活力)的孔中的发光计数来归一化处理的样品。使用四参数逻辑回归方程计算抑制50%细胞生长或存活(GI50)所需的处理浓度。测试结果如表26-29所示。

[4041]

表 26

抗体靶标	抗体名称	接头负载	组合伴侣	GI50（uM）				GI Amax			
				corl279	ncih1436	ncih116	ncih211	ncih524	corl279	ncih146	ncih211	ncih524
IgG	3207	L11A-P21	单一药剂	0.221566	>0.3	0.031147	>0.3	0.010396	45.59	18.66	61.27	-0.05
B7H3	ABBV-155	L11A-P21	单一药剂	>0.3	0.103742	0.001524	>0.3	0.000699	60.43	11.53	67.23	16.67
B7H3	DS-5573a	L11A-P21	单一药剂	>0.3	>0.3	0.008362	>0.3	0.000334	53.79	-8.74	50.14	-10.7
CD56	洛罗夫妥珠单抗（Lorovtuzumab）	L11A-P21	单一药剂	>0.3	>0.3	0.000386	>0.3	0.000244	54.31	-8.6	57.13	11.79
DLK1	DI-2-14	L11A-P21	单一药剂	0.065217	0.195712	0.006328	>0.3	0.00092	49.73	7.44	72.45	13.06
DLL3	罗伐匹珠单抗（Rovalpituzumab）	L11A-P21	单一药剂	>0.3	>0.3	0.010364	>0.3	0.000152	56.41	-7.61	57.05	18.71
EpCAM	奥波尔珠单抗	L11A-P21	单一药剂	>0.3	0.168594	0.000296	>0.3	0.004453	61.57	10.91	62.07	0.34
SEZ6	SC17.46	L11A-P21	单一药剂	0.241342	0.225471	0.010653	>0.3	0.004634	49.68	-43.86	59.98	-18.88

表 27

[4042]

抗体靶标	抗体名称	接头负载	组合伴侣	GI50（uM）				GI Amax				
				corl279	ncih1436	ncih146	ncih211	ncih524	corl279	ncih1436	ncih146	ncih211	ncih524
IgG	3207	L11A-P21	10nM_拓扑替康	0.052182	ND	ND	0.105416	0.008347	22.52	ND	ND	40.52	-3.81
IgG	3207	L11A-P21	50nM_拓扑替康	0.000015	0.000015	0.000019	0.000015	0.000015	-92.14	24.23	-93.92	-94.95	-94.05
B7H3	ABBV-155	L11A-P21	10nM_拓扑替康	0.029417	ND	ND	0.218435	0.000961	41.21	ND	ND	48.75	4.6
B7H3	ABBV-155	L11A-P21	50nM_拓扑替康	0.000015	0.000015	0.000686	0.000015	0.000015	-90.17	35.68	-88.36	-93.94	-92.29
B7H3	DS-5573a	L11A-P21	10nM_拓扑替康	0.015731	ND	ND	0.031265	0.000419	23.22	ND	ND	33.23	-9.57
B7H3	DS-5573a	L11A-P21	50nM_拓扑替康	0.000015	0.000015	0.000015	0.000015	0.000015	-93.08	41.8	-88.12	-95.82	-94.48
CD56	洛罗夫珠单抗（Lorovtuzumab）	L11A-P21	10nM_拓扑替康	0.006884	ND	ND	0.038088	0.000021	32.75	ND	ND	38.96	-1.83
CD56	洛罗夫珠单抗（Lorovtuzumab）	L11A-P21	50nM_拓扑替康	0.000015	0.019917	0.000015	0.000015	0.000015	-91.72	35.32	-91.39	-97.41	-97.1
DLK1	DI-2-14	L11A-P21	10nM_拓扑替康	0.000907	ND	ND	>0.3	0.000846	27.15	ND	ND	56.54	12.49
DLK1	DI-2-14	L11A-P21	50nM_拓扑替康	0.000015	0.000135	0.000015	0.000015	0.000015	-93.9	11.59	-90.6	-93.6	-94.9

[4043]

DLL3	罗伐匹珠单抗（Rovalpituzumab）	L11A-P21	10nM_拓扑替康	0.007625	ND			0.115026	0.000376	32.04	ND			42.65	10.54
DLL3	罗伐匹珠单抗（Rovalpituzumab）	L11A-P21	50nM_拓扑替康	0.000015	0.006516			0.000015	0.000015	-91.39	27.35	-92.61		-97.39	-93.96
EpCAM	奥波尔珠单抗	L11A-P21	10nM_拓扑替康	0.008611	ND			0.001667	0.000937	22.61	ND		ND	44.68	19.04
EpCAM	奥波尔珠单抗	L11A-P21	50nM_拓扑替康	0.000015	0.001371			0.000015	0.000015	-93.04	19.68	-93.52		-96.46	-93.59
SEZ6	SC17.46	L11A-P21	10nM_拓扑替康	0.015224	ND			0.222093	0.001945	33.23	ND		ND	45.55	33.78
SEZ6	SC17.46	L11A-P21	50nM_拓扑替康	0.000015	0.010207			0.000015	0.000015	-91	38.84	-92.54		-96.76	-92.64

表 28

抗体靶标	抗体名称	接头负载	组合伴侣	GI50（uM）					GI Amax				
				corl279	ncih1436	ncih146	ncih2211	ncih5524	corl279	ncih1436	ncih146	ncih211	ncih524
IgG	3207	L11A-P21	300nM_维奈托克	0.121352	0.001641	0.001089	0.016593	0.011373	44.24	-91.08	-99.04	-69	-2.62
B7H3	ABBV-155	L11A-P21	300nM_维奈托克	>0.3	0.000274	0.000162	0.001649	0.000716	67.5	-75.67	-98.2	78.19	22.07

[4044]

B7H3	DS-5573a	L11A-P21	300nM_维奈托克	0.124116	0.000103	0.000015	0.001046	0.000155	41.98	-89.58	-98.07	-91.47	-48.83
CD56	洛罗夫妥珠单抗（Lorovtuzumab）	L11A-P21	300nM_维奈托克	>0.3	0.000071	0.000034	0.000111	0.000204	59.87	-82.19	-98.48	-84.96	-15.81
DLK1	DI-2-14	L11A-P21	300nM_维奈托克	0.003568	0.000167	0.000273	0.024861	0.000709	47.13	-89.16	-97.51	-61.36	-57.98
DLL3	罗伐匹珠单抗（Rovalpituzumab）	L11A-P21	300nM_维奈托克	>0.3	0.000066	0.00014	0.00302	0.000278	55.64	-87.2	-97.42	-80.84	-50.27
EpCAM	奥波尔珠单抗	L11A-P21	300nM_维奈托克	>0.3	0.000174	0.00015	0.000287	0.002017	60.8	-81.12	-97.37	-86.33	-12.12
SEZ6	SC17.46	L11A-P21	300nM_维奈托克	>0.3	0.001719	0.000067	0.023578	0.001772	56.08	-88.4	-98.23	-67.26	-4.53

表 29

	GI50（uM）						GI Amax					
代码或名称	corl279	ncih1436	ncih146	ncih211	ncih524	corl279	ncih1436	ncih146	ncih211	ncih524
P21	0.002416	0.000508	0.000508	0.000508	0.000508	-88.27	-94.5	-98.38	-97.26	-97.52
拓扑替康	0.015236	0.515484	0.003042	0.012528	0.008272	-95.95	-23.22	-91.77	-89.36	-83.85
维奈托克	>10	4.919975	0.7886	3.920985	>10	98.71	13	-16.83	30.85	105.21

[4045] 实施例14.EGFR-AbA-L109A-P1与MAP激酶途径抑制剂在癌细胞系中的体外组合活性评估

[4046] EGFR-AbA-L109A-P1抗体药物缀合物针对从ATCC(美国典型培养物保藏中心)或替代细胞系供应商(KCLB,Korea.)获得的癌细胞系进行了测试。细胞在组织培养箱中、5％CO2、37℃的最适合生长的培养基中培养。在接种进行增殖测定之前,在测定前至少2天将细

胞拆分,以确保最佳的生长密度。接种当天,使用0.25%胰蛋白酶将细胞从组织培养瓶中剥离。使用细胞计数器(Vi-Cell XR细胞活力分析仪,Beckman Coulter)测定细胞活力和细胞密度。将活力高于85%的细胞以每孔1000个细胞的密度接种在白色透明底384孔板(Greiner目录号781098)中的50μL标准生长培养基中。将板在组织培养箱中于37℃孵育过夜。

[4047] EGFR-AbA-L109A-P1(KJ32-26EA)和组合伴侣化合物在各自的稀释剂中以1000X制备。组合伴侣包括LTT462、Trametinib和LXH254。以先前确定的细胞增殖IC50为中心,对每种化合物进行一系列7至10个稀释。通过将连续稀释的EGFR-Aba-L109A-P1与连续稀释的每种比率化合物相组合来创建剂量矩阵。使用声学转移装置(Echo555,Beckman Coulter)将50nL的每种稀释液添加到细胞中,最终浓度范围为0-10M。为了归一化的目的,每种化合物也作为单一药剂或混合物进行测试。每种处理均在一式两份测定板中进行测试。

[4048] 将板在37℃孵育过夜或在组织培养箱中孵育5天。使用Promega CellTiter-Glo®增殖测定评估ADC和伴侣化合物抑制细胞增殖和存活的能力。在使用多模式读板器(Pherastar,BMG)读取之前,将板在室温孵育20分钟以稳定发光信号。接种后第二天(第0天读数)和处理5天后(第5天读数)对未处理细胞进行发光计数。将未处理细胞的第5天读数与第0天读数进行比较。在孵育期间至少有一个细胞倍增的测定被认为是有效的。为了评估药物治疗的效果,使用含有未处理细胞(100%活力)的孔中的发光计数来归一化处理的样品。抑制百分比和生长抑制计算为生长5天后对未处理细胞的相对应答。两个归一化数据集均使用S形应答模型进行拟合,并且组合效应(SS)被测量为Loewe剂量加和模型的活性总和,如Lehar等人Nature Biotechnology(2009),27(7),659-666所述。结果示于图8A和图8B中。如图8A和8B所示,EGFR-AbA-L109A-P1Bcl-xli ADC诱导HPAF-II、Panc 03.27和SNU-601细胞中活力的剂量依赖性降低。与曲美替尼和其他MAP激酶途径抑制剂组合使用时,EGFR-AbA-L109A-P1ADC的活性显著提高。

[4049] 实施例15.EGFR2-Bcl-xL抑制剂-ADC与多西他赛组合对小鼠H1650人非小细胞肺癌(NSCLC)模型的体内功效

[4050] 在与多西他赛组合治疗后,在H1650非小细胞肺癌(NSCLC)模型中体内评估EGFR2-L109A-P1ADC的功效。

[4051] 方法

[4052] 抗EGFR2 CysMab DANAPA-L11A-P27和抗EGFR2 CysMab DANAPA-L109A-P1 ADC的合成

[4053] 将25mg抗体(0.17μmol,1.0当量)与2.5ml沉降的RMP蛋白A树脂(GE Lifesciences,17513803)一起孵育并搅拌15分钟。添加半胱氨酸盐酸盐一水合物至终浓度为20mM,并在室温搅拌孵育30分钟,以使反应性半胱氨酸解封闭。在真空歧管上用50倍柱体积的PBS快速清洗树脂。然后将树脂重悬于含有250nM $CuCl_2$的等体积PBS中。通过时间点监测抗体链间二硫键的重组。在每个时间点,除去25μL树脂浆料,添加1μL 20mM MC-valcit-PAB-MMAE,并将试管轻弹几次。将树脂离心,除去上清液,然后用50μL抗体洗脱缓冲液(Thermo Scientific,21004)洗脱。将树脂沉淀,并使用Agilent PLRP-S4000A 5um、4.6x50mm柱通过反相色谱分析上清液(缓冲液A为水,0.1%TFA,缓冲液B乙腈,0.1%TFA,柱保持在80C,流速1.5ml/min;梯度0分钟-30%B、5分钟-45%B、6.5分钟-100%B、8分钟-

100％B、10分钟-30％)。添加$CuCl_2$后90分钟,在真空歧管上用50倍柱体积的PBS洗涤除去$CuCl_2$,然后添加2.5ml PBS重悬。向该树脂和抗体的浆液中添加各自的接头-负载(102μl 20mM DMSO溶液,1.63μmoles,12当量)。然后将所得混合物在环境温度下孵育3小时。然后用50倍柱体积的PBS洗涤树脂。使用抗体洗脱缓冲液(Thermo Scientific,21004)从树脂上洗脱ADC。然后通过透析将ADC缓冲液更换为1XPBS(20X PBS,TeknovaP0191),并使用HiLoad 16/600 Superdex 200pg(GE Healthcare,28989335)在Dulbecco的PBS pH 7.2(Hyclone SH30028.03)中洗脱制备型尺寸排阻色谱以去除聚集物。然后使用Amicon Ultra-15、50KDa、再生纤维素(Millipore,UFC0905024)使用离心浓缩器将材料浓缩至4.5mg/ml,并通过0.22μm无菌PVDF过滤器,25mm(Millapore,SLGV013SL)进行无菌过滤并储存在4℃下。最终产率为17.1mg(0.114μmol)。进行了以下分析:分析型尺寸排阻色谱(SEC)确定单体百分比,质谱(MS)确定DAR,LAL测试确定内毒素负载,并通过A280利用消光系数和抗体分子量确定蛋白质浓度。HRMS数据(蛋白质方法)表明重链+2物质的主要质量,通过比较DAR1、DAR2和DAR3物质的峰的MS强度计算出约4.0的DAR。SEC显示1.8％聚集,如通过比较210和280nm处的高分子量峰吸光度面积与单体ADC的峰吸光度面积来确定。

[4054] 一般方法(1):根据以下方法通过液相色谱-质谱法(LC/MS)测定示例性ADC的药物比抗体比率(DAR)。对于所有LC方法,流动相A为MS级纯化水(Honeywell,LC015-1),流动相B为MS级80％异丙醇(Honeywell LC323-1):20％乙腈(Honeywell,LC015-1),LC323-1),补充有1％的甲酸(FA)(Thermo Scientific,85178)。柱温设定为80℃。针对所有合成的ADC优化了通用MS方法。分析所用柱为Agilent PLRP-S 4000A;2.1x150mm,8um(Agilent,PL1912-3803)。使用的流速为0.3ml/min。使用的梯度为在Acuity BioH-Class四元UPLC(Waters)上0-0.75分钟95％A、0.76-1.9分钟75％A、1.91-11.0分钟50％A、11.01-11.50 10％A、11.51-13.50分钟95％A、13.51-18分钟95％A。MS系统是Xevo G2-XS QToF ESI质谱仪(Waters),在1.5-11分钟内获得数据,并在15000-80000道尔顿之间分析质量。通过对未缀合和缀合给定物质(mAb或相关片段)的积分MS(总离子电流)或UV(280nm)峰面积求和,通过将每个面积乘以附接的药物数量来加权,从解卷积光谱或UV色谱图中确定DAR。将求和的加权面积除以总面积之和,结果得出完整ADC的最终平均DAR值。

[4055] 进行尺寸排阻色谱(SEC)(1)以确定ADC的质量和纯化后的聚集百分比(％)。在分析柱Superdex 200Increase 5/150GL(GE Healthcare,28990945)上,在等度条件100％PBS pH 7.2((Hyclone SH30028.03))下进行分析,流速0.45ml/min,持续8分钟。根据280nm处的峰面积吸光度对ADC样品的聚集分数百分比进行定量。其计算基于280nm处高分子量洗脱液之间的比率除以高分子量和单体洗脱液在相同波长处的峰面积吸光度之和乘以100％。数据通过配备Wyatt miniDAWN光散射和Treos折射率检测器(Wyatt Technologies,Santa Barbara,CA)的Agilent Bio-Inert 1260HPLC采集。

[4056] 所有示例ADC通过分析尺寸排阻色谱Superdex 200Increase 5/150GL(GE Healthcare,28990945)进行表征,以确定单体百分比,并通过LC-MS进行DAR测定。使用上述LC/MS方法(LC/MS I)测定平均DAR值,并使用上述SEC方法(SEC I)测定聚集百分比。

[4057] 体内测试

[4058] H1650细胞在37℃、空气中含有5％CO_2的环境中,在补充有10％FCS(BioConcept Ltd.Amimed,#2-01F30-I)、2mM L-谷氨酰胺(BioConcept Ltd.Amimed,#5-10K00-H)和1mM

丙酮酸钠(BioConcept Ltd.Amimed,#5-60F00-H)、10mM HEPES(Gibco#11560496)和D-葡萄糖1.25g/500mL培养基(Gibco,#A24940-01)的RPMI1640(BioConceptLtd.Amimed,#1-41F01-I)中培养。为了建立H1650异种移植物,在雌性SCID小鼠(Taconic,欧洲)的胁腹皮下注射100μL含有5×10^6个细胞之前,收获细胞并重新悬浮于HBSS(Gibco,#14175)/Matrigel(Corning#354234)(1∶1v/v)中。细胞接种后定期监测肿瘤生长,并将动物随机分为治疗组(n=6),平均肿瘤体积约为150mm^3。对照组和EGFR2 CysMab DANAPA-L109A-P1-ADC如图9所示进行给药。在治疗开始时以30mg/kg静脉内(i.v.)施用ADC一次,与7.5mg/kg多西他赛(Zentiva:1ml/20mg)组合,7.5mg/kg多西他赛在ADC后24小时静脉内施用一次。将剂量针对个体小鼠体重进行调整。静脉内剂量体积为10ml/kg,将每个ADC溶于0.9%(w/v)NaCl水溶液中,在施用前用5%(w/v)无菌葡萄糖溶液将多西他赛储备液稀释至合适的浓度。

[4059] 使用单向ANOVA事后Tukey多重比较测试(Indigo软件),分析治疗开始后第21天和28天的肿瘤体积数据相对于媒剂对照组和EGFR-Bcl-xLi(L109A-P1)ADC的统计差异。结果以平均值±SEM表示。

[4060] 作为功效的衡量标准,根据以下式在第21天计算%T/C值:

[4061] (Δ治疗的肿瘤体积/Δ肿瘤体积控制)*100

[4062] 肿瘤消退根据以下式计算:

[4063] -(Δ治疗的肿瘤体积/开始时治疗的肿瘤体积)*100

[4064] 其中Δ肿瘤体积代表评估日的平均肿瘤体积减去实验开始时的平均肿瘤体积。

[4065] 结果:功效和耐受性

[4066] 与媒剂对照组相比,第21天,7.5mg/kg的EGFR2 CysMab DANAPA-L109A-P1ADC与多西他赛(7.5mg/kg)组合显著(p<0.05)减少H1650肿瘤的生长(图9和表30)。在治疗开始后第28天,EGFR2 CysMab DANAPA-L109A-P1-ADC比同种型IgG CysMab DANAPA-L109A-P1 ADC与多西他赛组合诱导显著(p<0.05)更强的肿瘤生长抑制(图9和表30)。根据体重变化,所有治疗方案均具有良好的耐受性(图10)。

[4067]

表 30 EGFR2-CysMab DANAPA-L109A-P1-ADC 与多西他赛组合的抗肿瘤效果的总结。在第 21 天计算 Δ 肿瘤体积和 T/C% 值并以平均值表示。使用单向 ANOVA 事后 Tukey 多重比较测试（Indigo InLife，在 TIBCO Spotfire 中进行结果分析）对第 21 天（相比于媒剂对照组）以及第 21 天和 28 天（相比于 IgG CysMab DANAPA-L109A-P1 ADC + 多西他赛）进行统计分析。

测试药剂、剂量方案和途径	Δ 肿瘤体积（mm^3）D21	第 21 天的应答		最大消退（天）	显著性		
		T/C（%）	消退		D21 vs 媒剂组	D21 vs Isotype-DANAPA-L109A-P1-ADC 组	D28 vs Isotype-DANAPA-L109A-P1-ADC 组
媒剂 i.v.+ 媒剂 i.v.	782.02 ± 158.78	100	-	N/A	N/A	P<0.05（生长）	N/A
裸 EGFR2 CysMab DANAPA 30 mg/kg iv qdx1 +媒剂 iv 24 小时后	884.59 ± 119.38	113	-	N/A	NS	P<0.05（生长）	N/A
媒剂 iv + 多西他赛 7.5 mg/kg qdx1 iv 24 小时后	396.59 ± 32.96	51	-	-1(D7)	NS	P<0.05（生长）	N/A
IgG CysMab DANAPA L109A-P1 ADC 30 mg/kg iv qdx1 +媒剂 iv 24 小时后	437.20 ± 48.62	56	-	N/A	NS	P<0.05（生长）	N/A
EGFR2 CysMab DANAPA-L109A-P1 ADC 30 mg/kg iv qdx1 +媒剂 iv 24 小时后	410.52 ± 93.18	52	-	N/A	NS	P<0.05（生长）	N/A

[4068]

IgG CysMab DANAPA L109A-P1 ADC 30 mg/kg iv qdx1 + 多西他赛 7.5 mg/kg iv 24 小时后	88.62 ± 14.42	11	-	-42 (D7)	P<0.05	N/A	N/A
EGFR2 CysMab DANAPA L109A-P1 ADC 30 mg/kg iv qdx1 + 多西他赛 7.5 mg/kg iv 24 小时后	-96.95 ± 14.07	-	-68	-83 (D14)	P<0.05	NS	P<0.05(减少)

N/A，不适用

[4069] 实施例16:具有不同接头负载的EGFR1-Bcl-xL抑制剂-ADC对小鼠H1650人非小细胞肺癌(NSCLC)模型的体内功效

[4070] 在H1650非小细胞肺癌(NSCLC)模型中,通过与多西他赛组合治疗,体内评估了具有不同接头负载(L11A-P21、L11A-P27、L11C-P19、L11C-P25和L109A-P1)的五(5)种EGFR-Bcl-xL抑制剂(Bcl-xLi)ADC的功效。EGFR抗体也被标记为EGFR1 CysMab(参见实施例6)方法

[4071] H1650细胞在37℃、空气中含有5％CO_2的环境中，在补充有10％FCS(BioConcept Ltd.Amimed,#2-01F30-I)、2mM L-谷氨酰胺(BioConcept Ltd.Amimed,#5-10K00-H)和1mM丙酮酸钠(BioConcept Ltd.Amimed,#5-60F00-H)、10mM HEPES(Gibco#11560496)和D-葡萄糖1.25g/500mL培养基(Gibco,#A24940-01)的RPMI1640(BioConcept Ltd.Amimed)中培养。为了建立H1650异种移植物，在雌性SCID小鼠(Taconic,欧洲)的胁腹皮下注射100μL含有5×10^6个细胞之前，收获细胞并重新悬浮于HBSS(Gibco,#14175)/Matrigel(Corning#354234)中。细胞接种后定期监测肿瘤生长，并将动物随机分为治疗组(n＝7)，平均肿瘤体积约为150mm^3。对照组和具有不同接头负载(L11A-P21、L11A-P27、L11C-P19、L11C-P25和L109A-P1)的各种EGFR-Bcl-xLiADC如图11所示进行给药。在治疗开始时以7.5mg/kg静脉内(i.v.)施用ADC一次，与7.5mg/kg多西他赛(Zentiva:1ml/20mg)组合，7.5mg/kg多西他赛在ADC后24小时静脉内施用一次。将剂量针对个体小鼠体重进行调整。静脉内剂量体积为10ml/kg，将每个ADC溶于PBS(BioConcept Ltd.Amimed,#3-05F29-I)中，在施用前用5％(w/v)无菌葡萄糖溶液(Braun,#19029)将多西他赛储备液稀释至合适的浓度。

[4072] 使用单向ANOVA事后Tukey多重比较测试(Indigo软件)，分析治疗开始后第21天和46天的肿瘤体积数据相对于媒剂对照组和EGFR-Bcl-xLi(L109A-P1)ADC的统计差异。结果在图11和表31中表示为平均值±SEM。

[4073] 作为功效的衡量标准，根据以下式在第21天计算％T/C值：

[4074] (Δ治疗的肿瘤体积/Δ肿瘤体积控制)*100

[4075] 肿瘤消退根据以下式计算：

[4076] -(Δ治疗的肿瘤体积/开始时治疗的肿瘤体积)*100

[4077] 其中Δ肿瘤体积代表评估日的平均肿瘤体积减去实验开始时的平均肿瘤体积。

[4078] 结果:功效和耐受性

[4079] 与媒剂对照组相比，第21天，7.5mg/kg的所有ADC与多西他赛(7.5mg/kg)组合显著(p＜0.05)减少H1650肿瘤的生长(图11和表31)。在开始用EGFR-L11A-P21、EGFR-L11C-P19和EGFR-L11C-P25治疗后第21天和46天，相对于用EGFR-L109A-P1与多西他赛组合的治疗，肿瘤生长显著减少(图11和表31)。根据体重变化，所有治疗方案均具有良好的耐受性(图12)。

[4080] 表31:具有不同接头负载的EGFR-Bcl-xLi-ADC与多西紫杉醇组合的抗肿瘤效果的总结。在第21天计算Δ肿瘤体积和T/C％值并以平均值表示。使用单向ANOVA事后Tukey多重比较检验对第21天(相比于媒剂对照组)以及第21天和第46天(相比于EGFR-L109A-P1)进行统计分析;TIBCO Spotfire中的Indigo InLife结果分析。

[4081]

测试药剂、剂量方案和途径	Δ 肿瘤体积（mm^3）D21	T/C（%）D21	消退（%）	统计		
				D21 vs 媒剂 GP	21 vs EGFR-L109A-P1	D46 vs EGFR-L109A-P1
媒剂 i.v.+ 媒剂 i.v.	499 ± 74	100	N/A	N/A	P<0.05	N/A
EGFR 裸 Ab 7.5 mg/kg i.v.+ 多西他赛 7.5 mg/kg iv 24 小时后	295 ± 29	59	N/A	NS	P<0.05	N/A
同种型 -L11A-P21 i.v.+多西他赛 7.5 mg/kg iv 24 小时后	300 ± 33	60	N/A	NS	P<0.05	N/A
同种型 -L11C-P25 i.v.+多西他赛 7.5 mg/kg iv 24 小时后	203 ± 18	41	N/A	P<0.05	NS	N/A
EGFR-L11A-P21 i.v.+多西他赛 7.5 mg/kg iv 24 小时后	-16 ± 20	N/A	-8	P<0.05	NS	P<0.05
EGFR-L11A-P27 i.v.+多西他赛 7.5 mg/kg iv 24 小时后	14 ± 18	3	N/A	P<0.05	NS	NS
EGFR-L11C-P19 i.v.+多西他赛 7.5 mg/kg iv 24 小时后	-52 ± 21	N/A	-35	P<0.05	P<0.05	P<0.05
EGFR-L11C-P25 i.v.+多西他赛 7.5 mg/kg iv 24 小时后	-76 ± 17	N/A	-50	P<0.05	P<0.05	P<0.05
EGFR-L109A-P1 i.v.+多西他赛 7.5 mg/kg iv 24 小时后	73 ± 17	15	N/A	P<0.05	N/A	N/A

[4082]

[4083] 实施例17. EBC-1细胞中EpCAM ADC的体内测试

[4084] EBC-1细胞在补充有10%FBS(HI-FBS#134K19,不含Tet)的DMEM(Gibco 11965-

084)中于37℃(5%CO_2气氛)下培养。使用0.25%胰蛋白酶(Gibco 25200-056)处理进行传代培养。为了建立EBC-1异种移植物,收获细胞并重悬于磷酸盐缓冲盐水和Matrigel的1:1v/v混合物中。将体积为150μL的总共5x10^6个细胞皮下注射到雌性裸鼠(Charles River,USA)的胁腹中。细胞接种后定期监测肿瘤生长,并将动物随机分为治疗组(n=8),平均肿瘤体积约为210mm^3。EpCAM-DANAPA-L11C-P25ADC、3207-DANAPA-L11C-P25同种型对照ADC和EpCAM-DANAPA CysMab对照抗体均与紫杉醇(LCLaboratories,Woburn,MA,Cat#:P-9600)组合给药,如下所示如图13所示。ADC和CysMab抗体在治疗开始时以30mg/kg静脉注射(i.v.)一次。在ADC或CysMab剂量后24小时以12.5mg/kg静脉注射紫杉醇一次。根据小鼠个体体重,所有试剂的剂量为10mL/kg。在治疗当天,将ADC和CysMab在PBS中配制为3mg/mL。将紫杉醇在50%乙醇+50%Cremophor EL(Kolliphor EL)中复溶,浓度为6mg/mL,然后用无菌盐水进一步稀释至1.25mg/mL,然后在治疗当天施用。

[4085] 分析肿瘤体积数据相对于EpCAM-DANAPA-L11C-P25ADC+紫杉醇组合组的统计差异。使用不配对的双尾T检验进行组间比较。

[4086] 作为功效的衡量标准,根据以下式计算%T/C值:

[4087] (Δ治疗的肿瘤体积/Δ肿瘤体积控制)*100。

[4088] 根据以下式计算肿瘤消退:

[4089] -(Δ治疗的肿瘤体积/开始时治疗的肿瘤体积)*100。

[4090] Δ肿瘤体积代表测量日的平均肿瘤体积减去治疗开始时的平均肿瘤体积。上述Δ肿瘤体积对照值是指媒剂组中的平均肿瘤体积变化。结果以平均值±SEM的形式呈现在表32中。

[4091] 结果:功效和耐受性

[4092] 与单独使用媒剂和多西他赛组相比,EpCAM-DANAPA-L11C-P25ADC 30mg/kg的剂量与紫杉醇12.5mg/kg的组合显著(p<0.05)减少了EBC-1肿瘤的生长。当与紫杉醇组合时,该ADC的抗肿瘤活性也显著高于3207-DANAPA-L11C-P25同种型对照ADC和EpCAM-DANAPA CysMab对照抗体。EpCAM-DANAPA-L11C-P25与紫杉醇组合诱导肿瘤消退,导致4/8动物在首次给药后第32天完全缓解。然而,单独的EpCAM-DANAPA-L11C-P25ADC也能够诱导肿瘤消退。应答深度略小于与紫杉醇组合使用所达到的应答深度,但差异不具有统计学显著性(p=0.168)。根据第一次给药后计算的体重变化百分比,所有治疗均具有良好的耐受性(图14)。

[4093]

表 32. EpCAM-DANAPA-L11C-P25 ADC 与紫杉醇组合使用的抗肿瘤活性总结。所有Δ肿瘤体积、%T/C 和%消退值均以平均值形式呈现，基于在下面指定的治疗后天数收集的肿瘤测量值。使用方法中指定的式计算 T/C 和消退值。完全缓解者被确定为肿瘤在指定日期前已消退至 0 mm^3 的动物。通过使用不配对双尾 T 检验将每个治疗组与 EpCAM-DANAPA-L11C-P25 ADC +紫杉醇组合组进行比较来进行统计分析。

测试药剂（剂量、方案和途径）	**Δ 肿瘤体积（ mm^3 ± SEM）（评估日）**	**%T/C（评估日）**	**%消退（评估日）**	**完整缓解者（评估日）**	**第 9 天相比于 EpCAM-DANAPA-L11C-P25 ADC 的显著性（评估日）**
未处理的	1501.1 ± 174.1（第 9 天）	100%（第 9 天）	N/A	0/8（第 32 天）	P=2.7e-7（第 9 天）
单独紫杉醇	510.8 ± 158.5（第 10 天）	34%（第 10 天）	N/A	0/8（第 32 天）	P=0.0014（第 10 天）
3207-DANAPA-L11C-P25 同种型对照 ADC（30 mg/kg，SD，iv）+紫杉醇（12.5 mg/kg，SD，iv）	238.0 ± 55.9（第 10 天）	16%（第 10 天）	N/A	0/8（第 32 天）	P=0.0001（第 10 天）
EpCAM-DANAPA CysMab（30 mg/kg，SD，iv）+紫杉醇（12.5 mg/kg，SD，iv）	96.7 ± 24.4（第 9 天）	6%（第 9 天）	N/A	0/8（第 32 天）	P=0.0002（第 9 天）

[4094]

EpCAM-DANAPA-L11C-P25 ADC（30 mg/kg，SD，iv）	-42.9 ± 45.6（第 9 天）	N/A	20%（第 9 天）	2/8（第 32 天）	P=0.168（第 9 天）
EpCAM-DANAPA-L11C-P25 ADC（30 mg/kg，SD，iv）+ 紫杉醇（12.5 mg/kg，SD，iv）	-126.1 ± 34.3（第 9 天）	N/A	59%（第 9 天）	4/8（第 32 天）	N/A

N/A，不适用

[4095] 实施例18.静脉内(IV)施用后,几种靶向CD7的ADC在ALL-SIL T细胞急性淋巴细胞白血病异种移植物中的体内治疗效果

[4096] 在静脉内(IV)施用后,在ALL-SIL T细胞急性淋巴细胞白血病异种移植物中测定了在磷酸盐缓冲盐水(PBS)中配制的几种靶向CD7的ADC的体内治疗效果。

[4097] 材料和方法

[4098] 从DSMZ获得的ALL-SIL细胞在补充有20％FBS的RPMI中培养。将细胞重悬于100％matrigel(BD Biosciences)中，并将含有5x10 6个细胞的0.1ml皮下接种到由Jax提供的雌性NSG小鼠的右胁腹中。当肿瘤达到适当的体积时，使用Easy stat软件对小鼠进行随机分组，每组6只动物。IV注射一次PBS中的IgG1 DANAPA-L9A-P21、Ab D DANAPA_L9A-P1、Ab DDANAPA_L9A-P21、Ab D DANAPA_L9C-P25、Ab D DANAPA_L9A-P33和Ab D DANAPA_L9C-P40(2.5和/或7.5mg/kg)司。每周监测小鼠体重三次，并使用电子卡尺测量肿瘤大小。通过使用以下式测量最小和最大肿瘤直径来估计肿瘤体积：(最小直径)2(最大直径)/2。使用以下式计算第17天的肿瘤生长抑制：

[4099] $$\left(1-\frac{\text{中位数(治疗组的在Dx的DTV)}}{\text{中位数(对照组的在Dx的DTV)}}\right)\times 100$$

[4100] 当DTV(Δ肿瘤体积)在Dx时，计算在Dx时的TV-随机化时的TV。

[4101] 在第一次测量肿瘤体积超过2000mm^{3}时或在动物健康恶化的第一个迹象时处死小鼠。所有实验均经施维雅研究院(Servier Research Institute,IdRS)伦理委员会批准后，按照2018年生效的法国法规进行。NSG小鼠根据机构指南进行饲养。

[4102] 结果

[4103] 图15说明了几种抗CD7ADC对ALL-SIL异种移植物的功效。肿瘤细胞接种后7天开始治疗(中位大小：240mm^3)。IgG1 DANAPA-L9A-P21(非靶向ADC Fc沉默)、Ab DDANAPA_L9A-P1、AbD DANAPA_L9A-P21、Ab DDANAPA_L9C-P25、Ab D DANAPA_L9A-P33和Ab D DANAPA_L9C-P40(靶向CD7的ADC Fc沉默)以2.5和/或7.5mg/kg IV施用一次。

[4104] 非靶向ADC Fc沉默对肿瘤生长没有影响，第17天的肿瘤生长抑制(％TGI)为-101.72％，如图15和表33所示。相反，所有靶向CD7的ADC均诱导完全且持久的肿瘤消退，第17天的％TGI范围为108.59至124.37％(与未治疗对照组相比，p≤0.001)。没有观察到由于治疗引起的临床相关的体重减轻或其他临床体征(图16)。

[4105] 表33：用IgG1 DANAPA-L9A-P21、Ab D DANAPA_L9A-P1、Ab DDANAPA_L9A-P21、Ab D DANAPA_L9C-P25、Ab D DANAPA_L9A-P33和Ab D DANAPA_L9C-P40治疗后ALL-SIL肿瘤生长抑制(2.5和/或7.5mg/kg，IV注射一次，n=6

[4106]

治疗	剂量/方案	%TGI (d17)
IgG1 DANAPA-L9A-P21	7.5 MK QD, IV	-101.72
Ab D DANAPA_L9A-P1	7.5 MK QD, IV	108.59
Ab D DANAPA_L9A-P21	2.5 MK QD, IV	116.54
Ab D DANAPA_L9A-P21	7.5 MK QD, IV	111.07
Ab D DANAPA_L9C-P25	2.5 MK QD, IV	116.6
Ab D DANAPA_L9C-P25	7.5 MK QD, IV	124.37
Ab D DANAPA_L9A-P33	2.5 MK QD, IV	124.07
Ab D DANAPA_L9A-P33	7.5 MK QD, IV	123.33
Ab D DANAPA_L9C-P40	2.5 MK QD, IV	122.43
Ab D DANAPA_L9C-P40	7.5 MK QD, IV	125.52

序列表

<110> 诺华股份有限公司
LES LABORATOIRES SERVIER

<120> BCL-XL 抑制剂抗体药物缀合物及其使用方法

<130> 132043-00420

<140>
<141>

<150> 63/117,763
<151> 2020-11-24

<160> 234

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 121
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

[0001]
<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 1

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	Asn	Tyr
			20					25					30		
Trp	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met
		35					40					45			
Gly	Ala	Thr	Tyr	Arg	Gly	His	Ser	Asp	Thr	Tyr	Tyr	Asn	Gln	Lys	Phe
	50					55					60				
Lys	Gly	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Ala	Asp	Lys	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	Ala	Ile	Tyr	Asn	Gly	Tyr	Asp	Val	Leu	Asp	Asn	Trp	Gly
			100					105					110		

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 2
<211> 107
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 2
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 Ser 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 Tyr Thr Ser Asn Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

[0002]

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 Arg Lys Leu Pro Trp
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 3
<211> 118
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 3
Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Val Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

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

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

Gly Val Ile Tyr Pro Gly Asn Asp Asp Ile Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Glu Val Arg Leu Arg Tyr Phe Asp Val Trp Gly Ala Gly Thr
100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 4
<211> 112
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
[0003] <221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 4
Asn Ile Met Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala Val Ser Ala Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Phe Phe Ser
20 25 30

Ser Ser Gln Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Ile Pro Gly Gln
35 40 45

Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Ile
65 70 75 80

Ile Ser Ser Val Gln Ser Glu Asp Leu Ala Ile Tyr Tyr Cys His Gln
85 90 95

Tyr Leu Ser Ser Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 5
<211> 116
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 5
Glu 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 Ile Thr Asp Ser
20 25 30

Asn Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Tyr Ile Tyr Pro Tyr Asn Gly Gly Thr Asp Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Asn Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Asn Pro Thr Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

[0004]

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

Val Asn Gly Asn Pro Trp Leu Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 6
<211> 111
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 6
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Ser Leu Asp Asn Tyr
20 25 30

Gly Ile Arg Phe Leu Thr Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
35 40 45

Lys Leu Leu Met Tyr Ala Ala Ser Asn Gln Gly Ser Gly Val Pro Ser
50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser
65 70 75 80

Ser Leu Gln Pro Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Thr Lys
85 90 95

Glu Val Pro Trp Ser Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Val Lys
100 105 110

<210> 7
<211> 123
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

[0005]

<400> 7
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Ile Ser Gly Asp Ser Val Ser Ser Gln
20 25 30

Ser Ala Ala Trp Asn Trp Ile Arg Gln Ser Pro Ser Arg Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Leu Gly Arg Ile Tyr Tyr Arg Ser Lys Trp Tyr Asn Asp Tyr Ala
50 55 60

Leu Ser Val Lys Ser Arg Ile Thr Ile Asn Pro Asp Thr Ser Lys Asn
65 70 75 80

Gln Phe Ser Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val
85 90 95

Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Glu Gly Tyr Gly Arg Glu Gly Phe Ala Ile
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 8
<211> 106
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 8
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 Thr
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

[0006]

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Leu Ser Trp Phe Thr
85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 9
<211> 120
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 9
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 Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg 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

Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 10
<211> 109
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

[0007]

<400> 10
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Asn Thr Ala
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 Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Arg 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 His Tyr Thr Thr Pro Pro
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105

<210> 11
<211> 122
<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 11
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Phe Thr Phe Asn Ser Phe
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Gly Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
[0008] 85 90 95

Ala Lys Asp Lys Ile Leu Trp Phe Gly Glu Pro Val Phe Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 12
<211> 106
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 12
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Pro
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105

<210> 13
<211> 119
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 13
[0009] Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

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

Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

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

Lys Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser Val Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Arg His Gly Asn Gly Asn Val Phe Asp Ser Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 14
<211> 107

<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 14
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Phe Gln Ser Val Thr Pro Lys
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Ser Asn
20 25 30

Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Lys Tyr Thr Ser Glu Ser Ile Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu Ala
65 70 75 80

Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn Ser Trp Pro Leu
[0010] 85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 15
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 15
Gly Gly Thr Phe Ser Asn Tyr Trp Met His
1 5 10

<210> 16
<211> 17
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 16
Ala Thr Tyr Arg Gly His Ser Asp Thr Tyr Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 17
<211> 12
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 17
Gly Ala Ile Tyr Asn Gly Tyr Asp Val Leu Asp Asn
1 5 10

<210> 18
[0011] <211> 11
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 18
Ser Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn
1 5 10

<210> 19
<211> 7
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 19
Tyr Thr Ser Asn Leu His Ser
1 5

<210> 20
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 20
Gln Gln Tyr Arg Lys Leu Pro Trp Thr
1 5

<210> 21
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

[0012]

<400> 21
Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Tyr Ile His
1 5 10

<210> 22
<211> 17
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 22
Val Ile Tyr Pro Gly Asn Asp Asp Ile Ser Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 23
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 23
Glu Val Arg Leu Arg Tyr Phe Asp Val
1 5

<210> 24
<211> 17
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 24
Lys Ser Ser Gln Ser Val Phe Phe Ser Ser Ser Gln Lys Asn Tyr Leu
1 5 10 15

Ala

[0013]

<210> 25
<211> 7
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 25
Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
1 5

<210> 26
<211> 8
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 26
His Gln Tyr Leu Ser Ser Arg Thr
1 5

<210> 27
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 27
Gly Tyr Thr Ile Thr Asp Ser Asn Ile His
1 5 10

<210> 28
<211> 17
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
[0014] <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 28
Tyr Ile Tyr Pro Tyr Asn Gly Gly Thr Asp Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
1 5 10 15

Asn

<210> 29
<211> 7
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 29
Gly Asn Pro Trp Leu Ala Tyr
1 5

<210> 30
<211> 15

<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 30
Arg Ala Ser Glu Ser Leu Asp Asn Tyr Gly Ile Arg Phe Leu Thr
1 5 10 15

<210> 31
<211> 7
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 31
Ala Ala Ser Asn Gln Gly Ser
1 5

[0015]

<210> 32
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 32
Gln Gln Thr Lys Glu Val Pro Trp Ser
1 5

<210> 33
<211> 17
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 33

Thr Cys Ala Ile Ser Gly Asp Ser Val Ser Ser Gln Ser Ala Ala Trp
1 5 10 15

Asn

<210> 34
<211> 18
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 34
Arg Ile Tyr Tyr Arg Ser Lys Trp Tyr Asn Asp Tyr Ala Leu Ser Val
1 5 10 15

Lys Ser

[0016]

<210> 35
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 35
Gly Glu Gly Tyr Gly Arg Glu Gly Phe Ala Ile
1 5 10

<210> 36
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 36
Arg Ala Ser Gln Thr Ile Ser Asn Thr Leu Ala
1 5 10

<210> 37
<211> 7
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 37
Ala Ala Ser Asn Leu Gln Ser
1 5

<210> 38
<211> 8
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 38
[0017] Gln Gln Tyr Leu Ser Trp Phe Thr
1 5

<210> 39
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 39
Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr Tyr Ile His
1 5 10

<210> 40
<211> 17
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 40
Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 41
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 41
Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Val
1 5 10

<210> 42
<211> 12
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

[0018]

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 42
Arg Ala Ser Gln Asp Val Asn Thr Ala Val Ala Trp
1 5 10

<210> 43
<211> 7
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 43
Ser Ala Ser Phe Leu Glu Ser
1 5

<210> 44

<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 44
Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro Thr
1 5

<210> 45
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 45
Gly Phe Thr Phe Asn Ser Phe Ala Met Ser
[0019] 1 5 10

<210> 46
<211> 17
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 46
Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Gly Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 47
<211> 13
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 47
Asp Lys Ile Leu Trp Phe Gly Glu Pro Val Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 48
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 48
Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 49
<211> 7
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

[0020]

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 49
Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr
1 5

<210> 50
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 50
Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Pro Thr
1 5

<210> 51
<211> 10

<210> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 51
Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Phe Gly Met Asn
1 5 10

<210> 52
<211> 17
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 52
Trp Ile Asn Thr Phe Thr Gly Glu Pro Ser Tyr Gly Asn Val Phe Lys
1 5 10 15

[0021]

Gly

<210> 53
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 53
Arg His Gly Asn Gly Asn Val Phe Asp Ser
1 5 10

<210> 54
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 54
Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Ser Asn Ile His
1 5 10

<210> 55
<211> 7
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 55
Tyr Thr Ser Glu Ser Ile Ser
1 5

<210> 56
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

[0022]

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 56
Gln Gln Ser Asn Ser Trp Pro Leu Thr
1 5

<210> 57
<211> 451
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 57
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 Asn Tyr
20 25 30

Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Ala Thr Tyr Arg Gly His Ser Asp Thr Tyr Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys 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 Ala Ile Tyr Asn Gly Tyr Asp Val Leu Asp Asn Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Cys Pro Val Thr Val
145 150 155 160

[0023] Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
225 230 235 240

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
340 345 350

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
355 360 365

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Cys Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
[0024] 435 440 445

Pro Gly Lys
450

<210> 58
<211> 214
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 58
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 Ser 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 Tyr Thr 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 Tyr Arg Lys Leu Pro Trp
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
[0025] 180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 59
<211> 448
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 59
Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Val Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

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

Tyr Ile His Trp Ile Lys Gln Thr Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Gly Val Ile Tyr Pro Gly Asn Asp Asp Ile Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Glu Val Arg Leu Arg Tyr Phe Asp Val Trp Gly Ala Gly Thr
100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
115 120 125

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Cys Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
145 150 155 160

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
165 170 175

[0026]

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
180 185 190

Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
195 200 205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
210 215 220

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser
225 230 235 240

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
245 250 255

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
260 265 270

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
275 280 285

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
290 295 300

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
305 310 315 320

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
325 330 335

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
340 345 350

Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
355 360 365

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Cys Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
370 375 380

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
385 390 395 400

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
405 410 415

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
420 425 430

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
[0027] 435 440 445

<210> 60
<211> 219
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 60
Asn Ile Met Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala Val Ser Ala Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Phe Phe Ser
20 25 30

Ser Ser Gln Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Ile Pro Gly Gln
35 40 45

Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Ile

65 70 75 80

Ile Ser Ser Val Gln Ser Glu Asp Leu Ala Ile Tyr Tyr Cys His Gln
85 90 95

Tyr Leu Ser Ser Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
165 170 175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
180 185 190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
195 200 205

[0028]

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 61
<211> 446
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 61
Glu 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 Ile Thr Asp Ser
20 25 30

Asn Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Tyr Ile Tyr Pro Tyr Asn Gly Gly Thr Asp Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Asn Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Asn Pro Thr Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Val Asn Gly Asn Pro Trp Leu Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
115 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Cys Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
180 185 190

[0029] Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
195 200 205

Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Cys Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 62
<211> 218
<212> PRT
[0030] <213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 62
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Ser Leu Asp Asn Tyr
20 25 30

Gly Ile Arg Phe Leu Thr Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
35 40 45

Lys Leu Leu Met Tyr Ala Ala Ser Asn Gln Gly Ser Gly Val Pro Ser
50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser
65 70 75 80

Ser Leu Gln Pro Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Thr Lys
85 90 95

Glu Val Pro Trp Ser Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Val Lys Arg
100 105 110

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
115 120 125

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
130 135 140

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
145 150 155 160

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
165 170 175

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
180 185 190

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
195 200 205

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

[0031]

<210> 63
<211> 453
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 63
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Ile Ser Gly Asp Ser Val Ser Ser Gln
20 25 30

Ser Ala Ala Trp Asn Trp Ile Arg Gln Ser Pro Ser Arg Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Leu Gly Arg Ile Tyr Tyr Arg Ser Lys Trp Tyr Asn Asp Tyr Ala
50 55 60

Leu Ser Val Lys Ser Arg Ile Thr Ile Asn Pro Asp Thr Ser Lys Asn
65 70 75 80

Gln Phe Ser Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val
85 90 95

Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Glu Gly Tyr Gly Arg Glu Gly Phe Ala Ile
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
115 120 125

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly
130 135 140

Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Cys Pro Val
145 150 155 160

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
165 170 175

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
180 185 190

Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val
195 200 205

Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys
[0032] 210 215 220

Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu
225 230 235 240

Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
245 250 255

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
260 265 270

Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
275 280 285

Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser
290 295 300

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
305 310 315 320

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala
325 330 335

Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
340 345 350

Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
355 360 365

Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Cys Asp Ile Ala
370 375 380

Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
385 390 395 400

Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu
405 410 415

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
420 425 430

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
435 440 445

Leu Ser Pro Gly Lys
450

<210> 64
<211> 213
<212> PRT
[0033] <213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 64
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 Thr
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 Leu Ser Trp Phe Thr
85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
100 105 110

Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
115 120 125

Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
130 135 140

Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
145 150 155 160

Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
165 170 175

Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
180 185 190

Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
195 200 205

Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 65
[0034] <211> 451
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 65
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 Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg 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

Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Pro Lys Ser Cys
210 215 220

[0035]

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
225 230 235 240

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
340 345 350

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser

355 360 365

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435 440 445

Pro Gly Lys
450

<210> 66
<211> 214
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

[0036] <220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 66
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Asn Thr Ala
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 Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Arg 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 His Tyr Thr Thr Pro Pro
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

[0037]

<210> 67
<211> 452
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 67
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Phe Thr Phe Asn Ser Phe
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Gly Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Lys Asp Lys Ile Leu Trp Phe Gly Glu Pro Val Phe Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Cys Pro Val Thr
145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser
210 215 220

[0038]

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
225 230 235 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
260 265 270

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
275 280 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
325 330 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
340 345 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val

355 360 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Cys Asp Ile Ala Val
370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385 390 395 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
435 440 445

Ser Pro Gly Lys
450

<210> 68
<211> 214
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

[0039] <220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 68
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
20 25 30

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

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Pro
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 69
<211> 449
<212> PRT
[0040] <213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 69
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

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

Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

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

Lys Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser Val Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Arg His Gly Asn Gly Asn Val Phe Asp Ser Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Cys Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

[0041] Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Cys Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

Lys

<210> 70
<211> 214
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
[0042] <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 70
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Phe Gln Ser Val Thr Pro Lys
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Ser Asn
20 25 30

Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Lys Tyr Thr Ser Glu Ser Ile Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu Ala
65 70 75 80

Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn Ser Trp Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

[0043]

<210> 71
<211> 233
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 71
Met Ser Gln Ser Asn Arg Glu Leu Val Val Asp Phe Leu Ser Tyr Lys
1 5 10 15

Leu Ser Gln Lys Gly Tyr Ser Trp Ser Gln Phe Ser Asp Val Glu Glu
20 25 30

Asn Arg Thr Glu Ala Pro Glu Gly Thr Glu Ser Glu Met Glu Thr Pro
35 40 45

Ser Ala Ile Asn Gly Asn Pro Ser Trp His Leu Ala Asp Ser Pro Ala
50 55 60

Val Asn Gly Ala Thr Gly His Ser Ser Ser Leu Asp Ala Arg Glu Val
65 70 75 80

Ile Pro Met Ala Ala Val Lys Gln Ala Leu Arg Glu Ala Gly Asp Glu
85 90 95

Phe Glu Leu Arg Tyr Arg Arg Ala Phe Ser Asp Leu Thr Ser Gln Leu
100 105 110

His Ile Thr Pro Gly Thr Ala Tyr Gln Ser Phe Glu Gln Val Val Asn
115 120 125

Glu Leu Phe Arg Asp Gly Val Asn Trp Gly Arg Ile Val Ala Phe Phe
130 135 140

Ser Phe Gly Gly Ala Leu Cys Val Glu Ser Val Asp Lys Glu Met Gln
145 150 155 160

Val Leu Val Ser Arg Ile Ala Ala Trp Met Ala Thr Tyr Leu Asn Asp
165 170 175

His Leu Glu Pro Trp Ile Gln Glu Asn Gly Gly Trp Asp Thr Phe Val
180 185 190

Glu Leu Tyr Gly Asn Asn Ala Ala Ala Glu Ser Arg Lys Gly Gln Glu
195 200 205

Arg Phe Asn Arg Trp Phe Leu Thr Gly Met Thr Val Ala Gly Val Val
210 215 220

Leu Leu Gly Ser Leu Phe Ser Arg Lys
225 230

<210> 72
<211> 184
<212> PRT
[0044] <213> Homo sapiens

<400> 72
Met Leu Gln Met Ala Gly Gln Cys Ser Gln Asn Glu Tyr Phe Asp Ser
1 5 10 15

Leu Leu His Ala Cys Ile Pro Cys Gln Leu Arg Cys Ser Ser Asn Thr
20 25 30

Pro Pro Leu Thr Cys Gln Arg Tyr Cys Asn Ala Ser Val Thr Asn Ser
35 40 45

Val Lys Gly Thr Asn Ala Ile Leu Trp Thr Cys Leu Gly Leu Ser Leu
50 55 60

Ile Ile Ser Leu Ala Val Phe Val Leu Met Phe Leu Leu Arg Lys Ile
65 70 75 80

Asn Ser Glu Pro Leu Lys Asp Glu Phe Lys Asn Thr Gly Ser Gly Leu
85 90 95

Leu Gly Met Ala Asn Ile Asp Leu Glu Lys Ser Arg Thr Gly Asp Glu
100 105 110

Ile Ile Leu Pro Arg Gly Leu Glu Tyr Thr Val Glu Glu Cys Thr Cys
115 120 125

Glu Asp Cys Ile Lys Ser Lys Pro Lys Val Asp Ser Asp His Cys Phe
130 135 140

Pro Leu Pro Ala Met Glu Glu Gly Ala Thr Ile Leu Val Thr Thr Lys
145 150 155 160

Thr Asn Asp Tyr Cys Lys Ser Leu Pro Ala Ala Leu Ser Ala Thr Glu
165 170 175

Ile Glu Lys Ser Ile Ser Ala Arg
180

<210> 73
<211> 364
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 73
Met Pro Leu Leu Leu Leu Leu Pro Leu Leu Trp Ala Gly Ala Leu Ala
1 5 10 15

Met Asp Pro Asn Phe Trp Leu Gln Val Gln Glu Ser Val Thr Val Gln
20 25 30

[0045]
Glu Gly Leu Cys Val Leu Val Pro Cys Thr Phe Phe His Pro Ile Pro
35 40 45

Tyr Tyr Asp Lys Asn Ser Pro Val His Gly Tyr Trp Phe Arg Glu Gly
50 55 60

Ala Ile Ile Ser Arg Asp Ser Pro Val Ala Thr Asn Lys Leu Asp Gln
65 70 75 80

Glu Val Gln Glu Glu Thr Gln Gly Arg Phe Arg Leu Leu Gly Asp Pro
85 90 95

Ser Arg Asn Asn Cys Ser Leu Ser Ile Val Asp Ala Arg Arg Arg Asp
100 105 110

Asn Gly Ser Tyr Phe Phe Arg Met Glu Arg Gly Ser Thr Lys Tyr Ser
115 120 125

Tyr Lys Ser Pro Gln Leu Ser Val His Val Thr Asp Leu Thr His Arg
130 135 140

Pro Lys Ile Leu Ile Pro Gly Thr Leu Glu Pro Gly His Ser Lys Asn
145 150 155 160

Leu Thr Cys Ser Val Ser Trp Ala Cys Glu Gln Gly Thr Pro Pro Ile
165 170 175

Phe Ser Trp Leu Ser Ala Ala Pro Thr Ser Leu Gly Pro Arg Thr Thr
180 185 190

His Ser Ser Val Leu Ile Ile Thr Pro Arg Pro Gln Asp His Gly Thr
195 200 205

Asn Leu Thr Cys Gln Val Lys Phe Ala Gly Ala Gly Val Thr Thr Glu
210 215 220

Arg Thr Ile Gln Leu Asn Val Thr Tyr Val Pro Gln Asn Pro Thr Thr
225 230 235 240

Gly Ile Phe Pro Gly Asp Gly Ser Gly Lys Gln Glu Thr Arg Ala Gly
245 250 255

Val Val His Gly Ala Ile Gly Gly Ala Gly Val Thr Ala Leu Leu Ala
260 265 270

Leu Cys Leu Cys Leu Ile Phe Phe Ile Val Lys Thr His Arg Arg Lys
275 280 285

Ala Ala Arg Thr Ala Val Gly Arg Asn Asp Thr His Pro Thr Thr Gly
290 295 300

[0046] Ser Ala Ser Pro Lys His Gln Lys Lys Ser Lys Leu His Gly Pro Thr
305 310 315 320

Glu Thr Ser Ser Cys Ser Gly Ala Ala Pro Thr Val Glu Met Asp Glu
325 330 335

Glu Leu His Tyr Ala Ser Leu Asn Phe His Gly Met Asn Pro Ser Lys
340 345 350

Asp Thr Ser Thr Glu Tyr Ser Glu Val Arg Thr Gln
355 360

<210> 74
<211> 829
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 74
Met Gly Leu Pro Arg Gly Pro Leu Ala Ser Leu Leu Leu Leu Gln Val
1 5 10 15

Cys Trp Leu Gln Cys Ala Ala Ser Glu Pro Cys Arg Ala Val Phe Arg
20 25 30

Glu Ala Glu Val Thr Leu Glu Ala Gly Gly Ala Glu Gln Glu Pro Gly
35 40 45

Gln Ala Leu Gly Lys Val Phe Met Gly Cys Pro Gly Gln Glu Pro Ala
50 55 60

Leu Phe Ser Thr Asp Asn Asp Asp Phe Thr Val Arg Asn Gly Glu Thr
65 70 75 80

Val Gln Glu Arg Arg Ser Leu Lys Glu Arg Asn Pro Leu Lys Ile Phe
85 90 95

Pro Ser Lys Arg Ile Leu Arg Arg His Lys Arg Asp Trp Val Val Ala
100 105 110

Pro Ile Ser Val Pro Glu Asn Gly Lys Gly Pro Phe Pro Gln Arg Leu
115 120 125

Asn Gln Leu Lys Ser Asn Lys Asp Arg Asp Thr Lys Ile Phe Tyr Ser
130 135 140

Ile Thr Gly Pro Gly Ala Asp Ser Pro Pro Glu Gly Val Phe Ala Val
145 150 155 160

Glu Lys Glu Thr Gly Trp Leu Leu Leu Asn Lys Pro Leu Asp Arg Glu
165 170 175

[0047]

Glu Ile Ala Lys Tyr Glu Leu Phe Gly His Ala Val Ser Glu Asn Gly
180 185 190

Ala Ser Val Glu Asp Pro Met Asn Ile Ser Ile Ile Val Thr Asp Gln
195 200 205

Asn Asp His Lys Pro Lys Phe Thr Gln Asp Thr Phe Arg Gly Ser Val
210 215 220

Leu Glu Gly Val Leu Pro Gly Thr Ser Val Met Gln Val Thr Ala Thr
225 230 235 240

Asp Glu Asp Asp Ala Ile Tyr Thr Tyr Asn Gly Val Val Ala Tyr Ser
245 250 255

Ile His Ser Gln Glu Pro Lys Asp Pro His Asp Leu Met Phe Thr Ile
260 265 270

His Arg Ser Thr Gly Thr Ile Ser Val Ile Ser Ser Gly Leu Asp Arg
275 280 285

Glu Lys Val Pro Glu Tyr Thr Leu Thr Ile Gln Ala Thr Asp Met Asp
290 295 300

Gly Asp Gly Ser Thr Thr Thr Ala Val Ala Val Val Glu Ile Leu Asp
305 310 315 320

Ala Asn Asp Asn Ala Pro Met Phe Asp Pro Gln Lys Tyr Glu Ala His
325 330 335

Val Pro Glu Asn Ala Val Gly His Glu Val Gln Arg Leu Thr Val Thr
340 345 350

Asp Leu Asp Ala Pro Asn Ser Pro Ala Trp Arg Ala Thr Tyr Leu Ile
355 360 365

Met Gly Gly Asp Asp Gly Asp His Phe Thr Ile Thr Thr His Pro Glu
370 375 380

Ser Asn Gln Gly Ile Leu Thr Thr Arg Lys Gly Leu Asp Phe Glu Ala
385 390 395 400

Lys Asn Gln His Thr Leu Tyr Val Glu Val Thr Asn Glu Ala Pro Phe
405 410 415

Val Leu Lys Leu Pro Thr Ser Thr Ala Thr Ile Val Val His Val Glu
420 425 430

Asp Val Asn Glu Ala Pro Val Phe Val Pro Pro Ser Lys Val Val Glu
435 440 445

[0048]

Val Gln Glu Gly Ile Pro Thr Gly Glu Pro Val Cys Val Tyr Thr Ala
450 455 460

Glu Asp Pro Asp Lys Glu Asn Gln Lys Ile Ser Tyr Arg Ile Leu Arg
465 470 475 480

Asp Pro Ala Gly Trp Leu Ala Met Asp Pro Asp Ser Gly Gln Val Thr
485 490 495

Ala Val Gly Thr Leu Asp Arg Glu Asp Glu Gln Phe Val Arg Asn Asn
500 505 510

Ile Tyr Glu Val Met Val Leu Ala Met Asp Asn Gly Ser Pro Pro Thr
515 520 525

Thr Gly Thr Gly Thr Leu Leu Leu Thr Leu Ile Asp Val Asn Asp His
530 535 540

Gly Pro Val Pro Glu Pro Arg Gln Ile Thr Ile Cys Asn Gln Ser Pro
545 550 555 560

Val Arg Gln Val Leu Asn Ile Thr Asp Lys Asp Leu Ser Pro His Thr
565 570 575

Ser Pro Phe Gln Ala Gln Leu Thr Asp Asp Ser Asp Ile Tyr Trp Thr

580 585 590

Ala Glu Val Asn Glu Glu Gly Asp Thr Val Val Leu Ser Leu Lys Lys
595 600 605

Phe Leu Lys Gln Asp Thr Tyr Asp Val His Leu Ser Leu Ser Asp His
610 615 620

Gly Asn Lys Glu Gln Leu Thr Val Ile Arg Ala Thr Val Cys Asp Cys
625 630 635 640

His Gly His Val Glu Thr Cys Pro Gly Pro Trp Lys Gly Gly Phe Ile
645 650 655

Leu Pro Val Leu Gly Ala Val Leu Ala Leu Leu Phe Leu Leu Leu Val
660 665 670

Leu Leu Leu Leu Val Arg Lys Lys Arg Lys Ile Lys Glu Pro Leu Leu
675 680 685

Leu Pro Glu Asp Asp Thr Arg Asp Asn Val Phe Tyr Tyr Gly Glu Glu
690 695 700

Gly Gly Gly Glu Glu Asp Gln Asp Tyr Asp Ile Thr Gln Leu His Arg
705 710 715 720

[0049]

Gly Leu Glu Ala Arg Pro Glu Val Val Leu Arg Asn Asp Val Ala Pro
725 730 735

Thr Ile Ile Pro Thr Pro Met Tyr Arg Pro Arg Pro Ala Asn Pro Asp
740 745 750

Glu Ile Gly Asn Phe Ile Ile Glu Asn Leu Lys Ala Ala Asn Thr Asp
755 760 765

Pro Thr Ala Pro Pro Tyr Asp Thr Leu Leu Val Phe Asp Tyr Glu Gly
770 775 780

Ser Gly Ser Asp Ala Ala Ser Leu Ser Ser Leu Thr Ser Ser Ala Ser
785 790 795 800

Asp Gln Asp Gln Asp Tyr Asp Tyr Leu Asn Glu Trp Gly Ser Arg Phe
805 810 815

Lys Lys Leu Ala Asp Met Tyr Gly Gly Gly Glu Asp Asp
820 825

<210> 75
<211> 1255
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 75

Met Glu Leu Ala Ala Leu Cys Arg Trp Gly Leu Leu Leu Ala Leu Leu
1 5 10 15

Pro Pro Gly Ala Ala Ser Thr Gln Val Cys Thr Gly Thr Asp Met Lys
20 25 30

Leu Arg Leu Pro Ala Ser Pro Glu Thr His Leu Asp Met Leu Arg His
35 40 45

Leu Tyr Gln Gly Cys Gln Val Val Gln Gly Asn Leu Glu Leu Thr Tyr
50 55 60

Leu Pro Thr Asn Ala Ser Leu Ser Phe Leu Gln Asp Ile Gln Glu Val
65 70 75 80

Gln Gly Tyr Val Leu Ile Ala His Asn Gln Val Arg Gln Val Pro Leu
85 90 95

Gln Arg Leu Arg Ile Val Arg Gly Thr Gln Leu Phe Glu Asp Asn Tyr
100 105 110

Ala Leu Ala Val Leu Asp Asn Gly Asp Pro Leu Asn Asn Thr Thr Pro
115 120 125

[0050]

Val Thr Gly Ala Ser Pro Gly Gly Leu Arg Glu Leu Gln Leu Arg Ser
130 135 140

Leu Thr Glu Ile Leu Lys Gly Gly Val Leu Ile Gln Arg Asn Pro Gln
145 150 155 160

Leu Cys Tyr Gln Asp Thr Ile Leu Trp Lys Asp Ile Phe His Lys Asn
165 170 175

Asn Gln Leu Ala Leu Thr Leu Ile Asp Thr Asn Arg Ser Arg Ala Cys
180 185 190

His Pro Cys Ser Pro Met Cys Lys Gly Ser Arg Cys Trp Gly Glu Ser
195 200 205

Ser Glu Asp Cys Gln Ser Leu Thr Arg Thr Val Cys Ala Gly Gly Cys
210 215 220

Ala Arg Cys Lys Gly Pro Leu Pro Thr Asp Cys Cys His Glu Gln Cys
225 230 235 240

Ala Ala Gly Cys Thr Gly Pro Lys His Ser Asp Cys Leu Ala Cys Leu
245 250 255

His Phe Asn His Ser Gly Ile Cys Glu Leu His Cys Pro Ala Leu Val

260 265 270

Thr Tyr Asn Thr Asp Thr Phe Glu Ser Met Pro Asn Pro Glu Gly Arg
275 280 285

Tyr Thr Phe Gly Ala Ser Cys Val Thr Ala Cys Pro Tyr Asn Tyr Leu
290 295 300

Ser Thr Asp Val Gly Ser Cys Thr Leu Val Cys Pro Leu His Asn Gln
305 310 315 320

Glu Val Thr Ala Glu Asp Gly Thr Gln Arg Cys Glu Lys Cys Ser Lys
325 330 335

Pro Cys Ala Arg Val Cys Tyr Gly Leu Gly Met Glu His Leu Arg Glu
340 345 350

Val Arg Ala Val Thr Ser Ala Asn Ile Gln Glu Phe Ala Gly Cys Lys
355 360 365

Lys Ile Phe Gly Ser Leu Ala Phe Leu Pro Glu Ser Phe Asp Gly Asp
370 375 380

Pro Ala Ser Asn Thr Ala Pro Leu Gln Pro Glu Gln Leu Gln Val Phe
385 390 395 400

[0051]

Glu Thr Leu Glu Glu Ile Thr Gly Tyr Leu Tyr Ile Ser Ala Trp Pro
405 410 415

Asp Ser Leu Pro Asp Leu Ser Val Phe Gln Asn Leu Gln Val Ile Arg
420 425 430

Gly Arg Ile Leu His Asn Gly Ala Tyr Ser Leu Thr Leu Gln Gly Leu
435 440 445

Gly Ile Ser Trp Leu Gly Leu Arg Ser Leu Arg Glu Leu Gly Ser Gly
450 455 460

Leu Ala Leu Ile His His Asn Thr His Leu Cys Phe Val His Thr Val
465 470 475 480

Pro Trp Asp Gln Leu Phe Arg Asn Pro His Gln Ala Leu Leu His Thr
485 490 495

Ala Asn Arg Pro Glu Asp Glu Cys Val Gly Glu Gly Leu Ala Cys His
500 505 510

Gln Leu Cys Ala Arg Gly His Cys Trp Gly Pro Gly Pro Thr Gln Cys
515 520 525

Val Asn Cys Ser Gln Phe Leu Arg Gly Gln Glu Cys Val Glu Glu Cys

530 535 540

Arg Val Leu Gln Gly Leu Pro Arg Glu Tyr Val Asn Ala Arg His Cys
545 550 555 560

Leu Pro Cys His Pro Glu Cys Gln Pro Gln Asn Gly Ser Val Thr Cys
565 570 575

Phe Gly Pro Glu Ala Asp Gln Cys Val Ala Cys Ala His Tyr Lys Asp
580 585 590

Pro Pro Phe Cys Val Ala Arg Cys Pro Ser Gly Val Lys Pro Asp Leu
595 600 605

Ser Tyr Met Pro Ile Trp Lys Phe Pro Asp Glu Glu Gly Ala Cys Gln
610 615 620

Pro Cys Pro Ile Asn Cys Thr His Ser Cys Val Asp Leu Asp Asp Lys
625 630 635 640

Gly Cys Pro Ala Glu Gln Arg Ala Ser Pro Leu Thr Ser Ile Ile Ser
645 650 655

Ala Val Val Gly Ile Leu Leu Val Val Val Leu Gly Val Val Phe Gly
660 665 670

[0052]

Ile Leu Ile Lys Arg Arg Gln Gln Lys Ile Arg Lys Tyr Thr Met Arg
675 680 685

Arg Leu Leu Gln Glu Thr Glu Leu Val Glu Pro Leu Thr Pro Ser Gly
690 695 700

Ala Met Pro Asn Gln Ala Gln Met Arg Ile Leu Lys Glu Thr Glu Leu
705 710 715 720

Arg Lys Val Lys Val Leu Gly Ser Gly Ala Phe Gly Thr Val Tyr Lys
725 730 735

Gly Ile Trp Ile Pro Asp Gly Glu Asn Val Lys Ile Pro Val Ala Ile
740 745 750

Lys Val Leu Arg Glu Asn Thr Ser Pro Lys Ala Asn Lys Glu Ile Leu
755 760 765

Asp Glu Ala Tyr Val Met Ala Gly Val Gly Ser Pro Tyr Val Ser Arg
770 775 780

Leu Leu Gly Ile Cys Leu Thr Ser Thr Val Gln Leu Val Thr Gln Leu
785 790 795 800

Met Pro Tyr Gly Cys Leu Leu Asp His Val Arg Glu Asn Arg Gly Arg

805 810 815

Leu Gly Ser Gln Asp Leu Leu Asn Trp Cys Met Gln Ile Ala Lys Gly
820 825 830

Met Ser Tyr Leu Glu Asp Val Arg Leu Val His Arg Asp Leu Ala Ala
835 840 845

Arg Asn Val Leu Val Lys Ser Pro Asn His Val Lys Ile Thr Asp Phe
850 855 860

Gly Leu Ala Arg Leu Leu Asp Ile Asp Glu Thr Glu Tyr His Ala Asp
865 870 875 880

Gly Gly Lys Val Pro Ile Lys Trp Met Ala Leu Glu Ser Ile Leu Arg
885 890 895

Arg Arg Phe Thr His Gln Ser Asp Val Trp Ser Tyr Gly Val Thr Val
900 905 910

Trp Glu Leu Met Thr Phe Gly Ala Lys Pro Tyr Asp Gly Ile Pro Ala
915 920 925

Arg Glu Ile Pro Asp Leu Leu Glu Lys Gly Glu Arg Leu Pro Gln Pro
930 935 940

[0053]

Pro Ile Cys Thr Ile Asp Val Tyr Met Ile Met Val Lys Cys Trp Met
945 950 955 960

Ile Asp Ser Glu Cys Arg Pro Arg Phe Arg Glu Leu Val Ser Glu Phe
965 970 975

Ser Arg Met Ala Arg Asp Pro Gln Arg Phe Val Val Ile Gln Asn Glu
980 985 990

Asp Leu Gly Pro Ala Ser Pro Leu Asp Ser Thr Phe Tyr Arg Ser Leu
995 1000 1005

Leu Glu Asp Asp Asp Met Gly Asp Leu Val Asp Ala Glu Glu Tyr
1010 1015 1020

Leu Val Pro Gln Gln Gly Phe Phe Cys Pro Asp Pro Ala Pro Gly
1025 1030 1035

Ala Gly Gly Met Val His His Arg His Arg Ser Ser Ser Thr Arg
1040 1045 1050

Ser Gly Gly Gly Asp Leu Thr Leu Gly Leu Glu Pro Ser Glu Glu
1055 1060 1065

Glu Ala Pro Arg Ser Pro Leu Ala Pro Ser Glu Gly Ala Gly Ser

1070 1075 1080

Asp Val Phe Asp Gly Asp Leu Gly Met Gly Ala Ala Lys Gly Leu
1085 1090 1095

Gln Ser Leu Pro Thr His Asp Pro Ser Pro Leu Gln Arg Tyr Ser
1100 1105 1110

Glu Asp Pro Thr Val Pro Leu Pro Ser Glu Thr Asp Gly Tyr Val
1115 1120 1125

Ala Pro Leu Thr Cys Ser Pro Gln Pro Glu Tyr Val Asn Gln Pro
1130 1135 1140

Asp Val Arg Pro Gln Pro Pro Ser Pro Arg Glu Gly Pro Leu Pro
1145 1150 1155

Ala Ala Arg Pro Ala Gly Ala Thr Leu Glu Arg Pro Lys Thr Leu
1160 1165 1170

Ser Pro Gly Lys Asn Gly Val Val Lys Asp Val Phe Ala Phe Gly
1175 1180 1185

Gly Ala Val Glu Asn Pro Glu Tyr Leu Thr Pro Gln Gly Gly Ala
1190 1195 1200

[0054]

Ala Pro Gln Pro His Pro Pro Pro Ala Phe Ser Pro Ala Phe Asp
1205 1210 1215

Asn Leu Tyr Tyr Trp Asp Gln Asp Pro Pro Glu Arg Gly Ala Pro
1220 1225 1230

Pro Ser Thr Phe Lys Gly Thr Pro Thr Ala Glu Asn Pro Glu Tyr
1235 1240 1245

Leu Gly Leu Asp Val Pro Val
1250 1255

<210> 76
<211> 300
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 76
Met Ala Asn Cys Glu Phe Ser Pro Val Ser Gly Asp Lys Pro Cys Cys
1 5 10 15

Arg Leu Ser Arg Arg Ala Gln Leu Cys Leu Gly Val Ser Ile Leu Val
20 25 30

Leu Ile Leu Val Val Val Leu Ala Val Val Val Pro Arg Trp Arg Gln

35 40 45

Gln Trp Ser Gly Pro Gly Thr Thr Lys Arg Phe Pro Glu Thr Val Leu
50 55 60

Ala Arg Cys Val Lys Tyr Thr Glu Ile His Pro Glu Met Arg His Val
65 70 75 80

Asp Cys Gln Ser Val Trp Asp Ala Phe Lys Gly Ala Phe Ile Ser Lys
85 90 95

His Pro Cys Asn Ile Thr Glu Glu Asp Tyr Gln Pro Leu Met Lys Leu
100 105 110

Gly Thr Gln Thr Val Pro Cys Asn Lys Ile Leu Leu Trp Ser Arg Ile
115 120 125

Lys Asp Leu Ala His Gln Phe Thr Gln Val Gln Arg Asp Met Phe Thr
130 135 140

Leu Glu Asp Thr Leu Leu Gly Tyr Leu Ala Asp Asp Leu Thr Trp Cys
145 150 155 160

Gly Glu Phe Asn Thr Ser Lys Ile Asn Tyr Gln Ser Cys Pro Asp Trp
165 170 175

[0055]

Arg Lys Asp Cys Ser Asn Asn Pro Val Ser Val Phe Trp Lys Thr Val
180 185 190

Ser Arg Arg Phe Ala Glu Ala Ala Cys Asp Val Val His Val Met Leu
195 200 205

Asn Gly Ser Arg Ser Lys Ile Phe Asp Lys Asn Ser Thr Phe Gly Ser
210 215 220

Val Glu Val His Asn Leu Gln Pro Glu Lys Val Gln Thr Leu Glu Ala
225 230 235 240

Trp Val Ile His Gly Gly Arg Glu Asp Ser Arg Asp Leu Cys Gln Asp
245 250 255

Pro Thr Ile Lys Glu Leu Glu Ser Ile Ile Ser Lys Arg Asn Ile Gln
260 265 270

Phe Ser Cys Lys Asn Ile Tyr Arg Pro Asp Lys Phe Leu Gln Cys Val
275 280 285

Lys Asn Pro Glu Asp Ser Ser Cys Thr Ser Glu Ile
290 295 300

<210> 77

<211> 243
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 77
Met Cys Ser Arg Gly Trp Asp Ser Cys Leu Ala Leu Glu Leu Leu Leu
1 5 10 15

Leu Pro Leu Ser Leu Leu Val Thr Ser Ile Gln Gly His Leu Val His
20 25 30

Met Thr Val Val Ser Gly Ser Asn Val Thr Leu Asn Ile Ser Glu Ser
35 40 45

Leu Pro Glu Asn Tyr Lys Gln Leu Thr Trp Phe Tyr Thr Phe Asp Gln
50 55 60

Lys Ile Val Glu Trp Asp Ser Arg Lys Ser Lys Tyr Phe Glu Ser Lys
65 70 75 80

Phe Lys Gly Arg Val Arg Leu Asp Pro Gln Ser Gly Ala Leu Tyr Ile
85 90 95

Ser Lys Val Gln Lys Glu Asp Asn Ser Thr Tyr Ile Met Arg Val Leu
100 105 110

[0056]

Lys Lys Thr Gly Asn Glu Gln Glu Trp Lys Ile Lys Leu Gln Val Leu
115 120 125

Asp Pro Val Pro Lys Pro Val Ile Lys Ile Glu Lys Ile Glu Asp Met
130 135 140

Asp Asp Asn Cys Tyr Leu Lys Leu Ser Cys Val Ile Pro Gly Glu Ser
145 150 155 160

Val Asn Tyr Thr Trp Tyr Gly Asp Lys Arg Pro Phe Pro Lys Glu Leu
165 170 175

Gln Asn Ser Val Leu Glu Thr Thr Leu Met Pro His Asn Tyr Ser Arg
180 185 190

Cys Tyr Thr Cys Gln Val Ser Asn Ser Val Ser Ser Lys Asn Gly Thr
195 200 205

Val Cys Leu Ser Pro Pro Cys Thr Leu Ala Arg Ser Phe Gly Val Glu
210 215 220

Trp Ile Ala Ser Trp Leu Val Val Thr Val Pro Thr Ile Leu Gly Leu
225 230 235 240

Leu Leu Thr

<210> 78
<211> 229
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 78

```
Met Ala Arg Leu Ala Leu Ser Pro Val Pro Ser His Trp Met Val Ala
1               5                  10                  15

Leu Leu Leu Leu Leu Ser Ala Glu Pro Val Pro Ala Ala Arg Ser Glu
            20                  25                  30

Asp Arg Tyr Arg Asn Pro Lys Gly Ser Ala Cys Ser Arg Ile Trp Gln
        35                  40                  45

Ser Pro Arg Phe Ile Ala Arg Lys Arg Gly Phe Thr Val Lys Met His
    50                  55                  60

Cys Tyr Met Asn Ser Ala Ser Gly Asn Val Ser Trp Leu Trp Lys Gln
65                  70                  75                  80

Glu Met Asp Glu Asn Pro Gln Gln Leu Lys Leu Glu Lys Gly Arg Met
                85                  90                  95

Glu Glu Ser Gln Asn Glu Ser Leu Ala Thr Leu Thr Ile Gln Gly Ile
            100                 105                 110

Arg Phe Glu Asp Asn Gly Ile Tyr Phe Cys Gln Gln Lys Cys Asn Asn
        115                 120                 125

Thr Ser Glu Val Tyr Gln Gly Cys Gly Thr Glu Leu Arg Val Met Gly
    130                 135                 140

Phe Ser Thr Leu Ala Gln Leu Lys Gln Arg Asn Thr Leu Lys Asp Gly
145                 150                 155                 160

Ile Ile Met Ile Gln Thr Leu Leu Ile Ile Leu Phe Ile Ile Val Pro
                165                 170                 175

Ile Phe Leu Leu Leu Asp Lys Asp Asp Ser Lys Ala Gly Met Glu Glu
            180                 185                 190

Asp His Thr Tyr Glu Gly Leu Asp Ile Asp Gln Thr Ala Thr Tyr Glu
        195                 200                 205

Asp Ile Val Thr Leu Arg Thr Gly Glu Val Lys Trp Ser Val Gly Glu
    210                 215                 220

His Pro Gly Gln Glu
```

[0057]

225

<210> 79
<211> 534
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 79
Met Leu Arg Arg Arg Gly Ser Pro Gly Met Gly Val His Val Gly Ala
1 5 10 15

Ala Leu Gly Ala Leu Trp Phe Cys Leu Thr Gly Ala Leu Glu Val Gln
20 25 30

Val Pro Glu Asp Pro Val Val Ala Leu Val Gly Thr Asp Ala Thr Leu
35 40 45

Cys Cys Ser Phe Ser Pro Glu Pro Gly Phe Ser Leu Ala Gln Leu Asn
50 55 60

Leu Ile Trp Gln Leu Thr Asp Thr Lys Gln Leu Val His Ser Phe Ala
65 70 75 80

Glu Gly Gln Asp Gln Gly Ser Ala Tyr Ala Asn Arg Thr Ala Leu Phe
85 90 95

[0058]

Pro Asp Leu Leu Ala Gln Gly Asn Ala Ser Leu Arg Leu Gln Arg Val
100 105 110

Arg Val Ala Asp Glu Gly Ser Phe Thr Cys Phe Val Ser Ile Arg Asp
115 120 125

Phe Gly Ser Ala Ala Val Ser Leu Gln Val Ala Ala Pro Tyr Ser Lys
130 135 140

Pro Ser Met Thr Leu Glu Pro Asn Lys Asp Leu Arg Pro Gly Asp Thr
145 150 155 160

Val Thr Ile Thr Cys Ser Ser Tyr Gln Gly Tyr Pro Glu Ala Glu Val
165 170 175

Phe Trp Gln Asp Gly Gln Gly Val Pro Leu Thr Gly Asn Val Thr Thr
180 185 190

Ser Gln Met Ala Asn Glu Gln Gly Leu Phe Asp Val His Ser Ile Leu
195 200 205

Arg Val Val Leu Gly Ala Asn Gly Thr Tyr Ser Cys Leu Val Arg Asn
210 215 220

Pro Val Leu Gln Gln Asp Ala His Ser Ser Val Thr Ile Thr Pro Gln

225 230 235 240

Arg Ser Pro Thr Gly Ala Val Glu Val Gln Val Pro Glu Asp Pro Val
245 250 255

Val Ala Leu Val Gly Thr Asp Ala Thr Leu Arg Cys Ser Phe Ser Pro
260 265 270

Glu Pro Gly Phe Ser Leu Ala Gln Leu Asn Leu Ile Trp Gln Leu Thr
275 280 285

Asp Thr Lys Gln Leu Val His Ser Phe Thr Glu Gly Arg Asp Gln Gly
290 295 300

Ser Ala Tyr Ala Asn Arg Thr Ala Leu Phe Pro Asp Leu Leu Ala Gln
305 310 315 320

Gly Asn Ala Ser Leu Arg Leu Gln Arg Val Arg Val Ala Asp Glu Gly
325 330 335

Ser Phe Thr Cys Phe Val Ser Ile Arg Asp Phe Gly Ser Ala Ala Val
340 345 350

Ser Leu Gln Val Ala Ala Pro Tyr Ser Lys Pro Ser Met Thr Leu Glu
355 360 365

[0059]

Pro Asn Lys Asp Leu Arg Pro Gly Asp Thr Val Thr Ile Thr Cys Ser
370 375 380

Ser Tyr Arg Gly Tyr Pro Glu Ala Glu Val Phe Trp Gln Asp Gly Gln
385 390 395 400

Gly Val Pro Leu Thr Gly Asn Val Thr Thr Ser Gln Met Ala Asn Glu
405 410 415

Gln Gly Leu Phe Asp Val His Ser Val Leu Arg Val Val Leu Gly Ala
420 425 430

Asn Gly Thr Tyr Ser Cys Leu Val Arg Asn Pro Val Leu Gln Gln Asp
435 440 445

Ala His Gly Ser Val Thr Ile Thr Gly Gln Pro Met Thr Phe Pro Pro
450 455 460

Glu Ala Leu Trp Val Thr Val Gly Leu Ser Val Cys Leu Ile Ala Leu
465 470 475 480

Leu Val Ala Leu Ala Phe Val Cys Trp Arg Lys Ile Lys Gln Ser Cys
485 490 495

Glu Glu Glu Asn Ala Gly Ala Glu Asp Gln Asp Gly Glu Gly Glu Gly

500 505 510

Ser Lys Thr Ala Leu Gln Pro Leu Lys His Ser Asp Ser Lys Glu Asp
515 520 525

Asp Gly Gln Glu Ile Ala
530

<210> 80
<211> 117
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 80
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 Tyr Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

[0060] Trp Ile Glu Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Leu Pro Gly Gly Gly Asp Thr Asn Tyr Asn Glu Ile Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Ala Thr Phe 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

Thr Arg Arg Val Pro Ile Arg Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 81
<211> 111
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"

<400> 81
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 Ser Val Asp Tyr Glu
20 25 30

Gly Asp Ser Phe Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
35 40 45

Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser
50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly 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 Ser Asn
85 90 95

Glu Asp Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 82
[0061] <211> 10
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 82
Gly Tyr Thr Phe Ser Ser Tyr Trp Ile Glu
1 5 10

<210> 83
<211> 17
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 83
Glu Ile Leu Pro Gly Gly Gly Asp Thr Asn Tyr Asn Glu Ile Phe Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 84
<211> 8
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 84
Arg Val Pro Ile Arg Leu Asp Tyr
1 5

<210> 85
<211> 18
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
[0062] <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 85
Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Glu Gly Asp Ser Phe
1 5 10 15

Leu Asn

<210> 86
<211> 7
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 86
Ala Ala Ser Asn Leu Glu Ser
1 5

<210> 87
<211> 9

<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 87
Gln Gln Ser Asn Glu Asp Pro Leu Thr
1 5

<210> 88
<211> 447
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 88
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

[0063]

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

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

Gly Glu Ile Leu Pro Gly Gly Gly Asp Thr Asn Tyr Asn Glu Ile Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Ala Thr Phe 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

Thr Arg Arg Val Pro Ile Arg Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Cys Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser

145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
210 215 220

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
260 265 270

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
275 280 285

[0064]

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
340 345 350

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Cys Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu

420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 89
<211> 218
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 89
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 Ser Val Asp Tyr Glu
20 25 30

Gly Asp Ser Phe Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
35 40 45

[0065] Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser
50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly 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 Ser Asn
85 90 95

Glu Asp Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105 110

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
115 120 125

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
130 135 140

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
145 150 155 160

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
165 170 175

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
180 185 190

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
195 200 205

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 90
<211> 116
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 90
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ala Cys Ala Ala Ser Gly Leu Thr Val Asn Asn Tyr
20 25 30

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

[0066]

Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Asn Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu 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 Lys Gly Gly Gly Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 91
<211> 109
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 91
Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly
20 25 30

Tyr Asp Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu
35 40 45

Leu Ile Tyr Gly Asn Asn Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu
65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Ser Gly
85 90 95

Thr Trp Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

[0067]

<210> 92
<211> 449
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 92
Gln Val Gln Leu Lys Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Gln Pro Ser Gln
1 5 10 15

Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Asn Tyr
20 25 30

Gly Val His Trp Val Arg Gln Ser Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
35 40 45

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

Ser Arg Leu Ser Ile Asn Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Phe
65 70 75 80

Lys Met Asn Ser Leu Gln Ser Asn Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Ala Leu Thr Tyr Tyr Asp Tyr Glu Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ala Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Cys Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

[0068]
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr

355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Cys Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

Lys

<210> 93
<211> 214
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

[0069] <220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 93
Asp Ile Leu Leu Thr Gln Ser Pro Val Ile Leu Ser Val Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Val Ser Phe Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Asn
20 25 30

Ile His Trp Tyr Gln Gln Arg Thr Asn Gly Ser Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Lys Tyr Ala Ser Glu Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Ser Ile Asn Ser Val Glu Ser
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Asn Asn Trp Pro Thr
85 90 95

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 94
<211> 448
<212> PRT
[0070] <213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 94
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

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

Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Ala Ile Tyr Pro Gly Asn Ser Glu Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr 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

Thr Arg Glu Asn Trp Asp Pro Gly Phe Ala Phe Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Ile Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
115 120 125

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Cys Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
145 150 155 160

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
165 170 175

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
180 185 190

Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
195 200 205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
210 215 220

[0071] His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser
225 230 235 240

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
245 250 255

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
260 265 270

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
275 280 285

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
290 295 300

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
305 310 315 320

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
325 330 335

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
340 345 350

Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
355 360 365

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Cys Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
370 375 380

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
385 390 395 400

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
405 410 415

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
420 425 430

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 95
<211> 218
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

[0072]

<400> 95
Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Gln Pro Ala Ile Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Ser Phe Ala
20 25 30

Gly Thr Ser Leu Met His Trp Tyr His Gln Lys Pro Gly Gln Gln Pro
35 40 45

Arg Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ala Gly Val Pro Asp
50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Lys Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
65 70 75 80

Pro Val Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Arg
85 90 95

Glu Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
100 105 110

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
115 120 125

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
130 135 140

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
145 150 155 160

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
165 170 175

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
180 185 190

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
195 200 205

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 96
<211> 446
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
[0073] <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 96
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Val Arg Ile Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
20 25 30

Gly Met Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

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

Lys Gly Arg Phe Thr Phe Ser Leu Asp Thr Ser Ala Ser Ala Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Ile Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Phe Ala Ile Lys Gly Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Leu
100 105 110

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
115 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Cys Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
195 200 205

Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240

[0074] Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Cys Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 97
<211> 219
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 97
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

[0075]

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ser Thr Lys Ser Leu Leu His Ser
20 25 30

Asn Gly Ile Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala
35 40 45

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Gln Met Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro
50 55 60

Ser Arg Phe Ser Ser Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
65 70 75 80

Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Gln Asn
85 90 95

Leu Glu Ile Pro Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Leu Lys
100 105 110

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln

145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
165 170 175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
180 185 190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 98
<211> 448
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 98
[0076] Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

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

Phe Met Asn Trp Val Lys Gln Ser Pro Gly Gln Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Arg Ile His Pro Tyr Asp Gly Asp Thr Phe Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Asn Thr Ala His
65 70 75 80

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

Thr Arg Tyr Asp Gly Ser Arg Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
115 120 125

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Cys Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
145 150 155 160

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
165 170 175

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
180 185 190

Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
195 200 205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
210 215 220

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser
225 230 235 240

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
245 250 255

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
260 265 270

[0077] Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
275 280 285

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
290 295 300

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
305 310 315 320

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
325 330 335

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
340 345 350

Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
355 360 365

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Cys Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
370 375 380

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
385 390 395 400

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
405 410 415

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
420 425 430

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 99
<211> 218
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 99
Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Gln Pro Ala Ile Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Ser Phe Ala
20 25 30

Gly Thr Ser Leu Met His Trp Tyr His Gln Lys Pro Gly Gln Gln Pro
35 40 45

[0078]

Arg Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ala Gly Val Pro Asp
50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Lys Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
65 70 75 80

Pro Val Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Arg
85 90 95

Glu Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
100 105 110

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
115 120 125

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
130 135 140

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
145 150 155 160

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
165 170 175

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
180 185 190

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
195 200 205

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 100
<211> 453
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 100
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Gly
20 25 30

[0079]

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

Trp Ile Gly Ile Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Asn Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Phe Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg Val Ala Ile Val Thr Thr Ile Pro Gly Gly Met Asp Val
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
115 120 125

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly
130 135 140

Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Cys Pro Val
145 150 155 160

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
165 170 175

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
180 185 190

Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val
195 200 205

Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys
210 215 220

Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu
225 230 235 240

Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
245 250 255

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
260 265 270

Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
275 280 285

[0080] Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser
290 295 300

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
305 310 315 320

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala
325 330 335

Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
340 345 350

Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
355 360 365

Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Cys Asp Ile Ala
370 375 380

Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
385 390 395 400

Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu
405 410 415

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
420 425 430

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
435 440 445

Leu Ser Pro Gly Lys
450

<210> 101
<211> 214
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 101
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Phe Gln Ser Val Thr Pro Lys
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Ile Ser
20 25 30

Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
[0081] 35 40 45

Lys Tyr Ala Ser Gln Ser Phe Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu Ala
65 70 75 80

Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys His Gln Ser Arg Ser Phe Pro Trp
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 102
<211> 448
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 102
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 Ile Phe Thr Ala Tyr
20 25 30

[0082]

Thr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Lys Pro Asn Asn Gly Leu Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Ser Glu Ile Thr Thr Glu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
115 120 125

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Cys Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
145 150 155 160

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln

165 170 175

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
180 185 190

Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
195 200 205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
210 215 220

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser
225 230 235 240

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
245 250 255

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
260 265 270

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
275 280 285

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
290 295 300

[0083]

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
305 310 315 320

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
325 330 335

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
340 345 350

Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
355 360 365

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Cys Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
370 375 380

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
385 390 395 400

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
405 410 415

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
420 425 430

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 103
<211> 218
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 103
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Glu Ser Val Asp Ser Tyr
20 25 30

Ala Asn Ser Phe Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

[0084]

Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val Pro Asp
50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
65 70 75 80

Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Lys
85 90 95

Glu Asp Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105 110

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
115 120 125

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
130 135 140

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
145 150 155 160

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
165 170 175

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
180 185 190

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
195 200 205

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 104
<211> 446
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 104
Glu Val Gln Leu Leu 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 Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

[0085]

Ser Thr Thr Ser Gly Ser Gly Ala Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu 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 Lys Ile Trp Ile Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
115 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Cys Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
195 200 205

Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300

[0086] Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Cys Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 105
<211> 215
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 105

```
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1               5                  10                  15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val 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 Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
    50                  55                  60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65                  70                  75                  80
```

[0087]

```
Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro
                85                  90                  95

Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
            100                 105                 110

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
        115                 120                 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
    130                 135                 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
145                 150                 155                 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
                165                 170                 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
            180                 185                 190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
        195                 200                 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
```

210 215

<210> 106
<211> 450
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 106
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 Ser Phe Ser Asp Phe
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Thr Ile Gly Arg Val Ala Phe His Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Met
50 55 60

[0088]

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu 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 Arg His Arg Gly Phe Asp Val Gly His Phe Asp Phe Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Cys Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

[0089] Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Cys Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly Lys
450

<210> 107
<211> 219
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 107

[0090]

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 Glu Thr Leu Val His Ser
20 25 30

Ser Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala
35 40 45

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
65 70 75 80

Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly
85 90 95

Ser Phe Asn Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
165 170 175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
180 185 190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 108
<211> 447
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 108
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 Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Asn Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Ser Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

[0091]

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Ser
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Asp Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ala Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Cys Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn

195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
210 215 220

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
260 265 270

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
325 330 335

[0092]

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
340 345 350

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Cys Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 109
<211> 214
<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 109
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Gly Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Phe 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 Ala Asn Ser Phe Pro Pro
85 90 95

[0093]

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 110

<211> 451
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 110
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ser Glu Leu 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

Gly Met Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Lys Trp Met
35 40 45

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

Lys Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Asp Thr Ser Val Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

[0094] Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Asp Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Gly Phe Gly Ser Ser Tyr Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Ser Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Cys Pro Val Thr Val
145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
225 230 235 240

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
340 345 350

[0095] Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
355 360 365

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Cys Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435 440 445

Pro Gly Lys
450

<210> 111
<211> 214
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 111
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser Ile Ala
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 Tyr Thr Gly Val Pro Asp 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 Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Ile Thr Pro Leu
85 90 95

[0096]
Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 112

<211> 450
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 112
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 Leu Thr Ile Glu 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 Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asp Thr Glu Tyr Gly Pro Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

[0097] Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Val His Asn Ala His Tyr Gly Thr Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Cys Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp

210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

[0098]

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Cys Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly Lys
450

<210> 113
<211> 219
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 113

```
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly
1               5                  10                  15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
            20                  25                  30

Ser Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser
        35                  40                  45

Pro Arg Pro Leu Ile Tyr Lys Ile Ser Thr Arg Phe Ser Gly Val Pro
    50                  55                  60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65                  70                  75                  80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly
                85                  90                  95
```

[0099]

```
Ser His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105                 110

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
        115                 120                 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
    130                 135                 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
145                 150                 155                 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
                165                 170                 175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
            180                 185                 190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
        195                 200                 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
    210                 215
```

<210> 114

<211> 449
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 114
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Phe
20 25 30

Asn Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile Arg His His Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Ser Asn Pro Ser
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
65 70 75 80

[0100] Ser Leu Thr Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg Gly Tyr Asn Trp Asn Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Cys Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

[0101] Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Cys Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

Lys

<210> 115
<211> 215
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 115
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 Asn Asn
20 25 30

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

Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Asn Trp Pro Pro
85 90 95

[0102]
Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
100 105 110

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
115 120 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
130 135 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
165 170 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
180 185 190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 116

<211> 450
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 116
Gln Val Glu Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

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

Gly Ile Ile Asp Pro Gly Asp Ser Arg Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe
50 55 60

Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

[0103] Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Gln Leu Tyr Gly Gly Thr Tyr Met Asp Gly Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Cys Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

[0104] Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Cys Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly Lys
450

<210> 117
<211> 217
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 117

```
Asp Ile Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
1               5                  10                  15

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Ile Gly Gly Tyr
            20                  25                  30

Asn Ser Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
        35                  40                  45

Met Ile Tyr Gly Val Asn Asn Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe
    50                  55                  60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
65                  70                  75                  80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Asp Ile Glu
                85                  90                  95

Ser Ala Thr Pro Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
            100                 105                 110

Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu
        115                 120                 125

Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe
    130                 135                 140

Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val
145                 150                 155                 160

Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys
                165                 170                 175

Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser
            180                 185                 190

His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu
        195                 200                 205

Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
    210                 215
```

[0105]

<210> 118
<211> 450

<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 118
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ser Glu Leu 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

Gly Val Asn Trp Ile Lys Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Gln Trp Met
35 40 45

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

Lys Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Asp Thr Ser Val Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Asp Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
[0106] 85 90 95

Ser Arg Ser Arg Gly Lys Asn Glu Ala Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Cys Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

[0107] Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Cys Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly Lys
450

<210> 119
<211> 219
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 119
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly
1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Arg
20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Phe Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Thr Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Phe Cys Ser Gln Ser
85 90 95

[0108] Ser His Val Pro Pro Thr Phe Gly Ala Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
100 105 110

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
165 170 175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
180 185 190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 120
<211> 448

<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 120

[0109]

Glu Val Gln Leu Leu 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 Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Asp Tyr Thr Tyr Tyr Thr Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu 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 Arg Ser Pro Trp Gly Tyr Tyr Leu Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
115 120 125

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Cys Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
145 150 155 160

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
165 170 175

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
180 185 190

Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
195 200 205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
210 215 220

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser
225 230 235 240

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
245 250 255

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
260 265 270

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
275 280 285

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
290 295 300

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
305 310 315 320

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
325 330 335

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
340 345 350

[0110] Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
355 360 365

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Cys Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
370 375 380

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
385 390 395 400

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
405 410 415

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
420 425 430

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 121
<211> 214
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"

<400> 121

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Pro Ser Leu Ser Ala Ser Ala Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Arg
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Lys Ala Pro Lys Ser 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 Tyr Asn Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
[0111] 115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 122
<211> 446
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>

<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 122

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 Tyr Ser Ile Thr Asn Asp
20 25 30

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

Val Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Tyr Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

[0112]

Ala Arg Trp Thr Ser Gly Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
115 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Cys Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
195 200 205

Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Cys Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
[0113] 370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 123
<211> 214
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 123
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 Asp Leu Ile His 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 Ala Thr Ser 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 Tyr Trp Thr Thr Pro Phe
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

[0114]

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 124
<211> 446
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 124

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Arg Asp
20 25 30

Phe Ala Trp Asn Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Met Gly Tyr Ile Ser Tyr Asn Gly Asn Thr Arg Tyr Gln Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Ile Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Phe
65 70 75 80

Leu Lys Leu Asn Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys
85 90 95

Val Thr Ala Ser Arg Gly Phe Pro Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
115 120 125

[0115] Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Cys Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
195 200 205

Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Cys Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400

[0116] Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 125
<211> 214
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 125
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Met Ser Val Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ser Ser Gln Asp Ile Asn Ser Asn
20 25 30

Ile Gly Trp Leu Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Phe Lys Gly Leu Ile
35 40 45

Tyr His Gly Thr Asn Leu Asp Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Val Gln Tyr Ala Gln Phe Pro Trp
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
[0117] 165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 126
<211> 1210
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 126
Met Arg Pro Ser Gly Thr Ala Gly Ala Ala Leu Leu Ala Leu Leu Ala
1 5 10 15

Ala Leu Cys Pro Ala Ser Arg Ala Leu Glu Glu Lys Lys Val Cys Gln
20 25 30

Gly Thr Ser Asn Lys Leu Thr Gln Leu Gly Thr Phe Glu Asp His Phe
35 40 45

Leu Ser Leu Gln Arg Met Phe Asn Asn Cys Glu Val Val Leu Gly Asn
50 55 60

Leu Glu Ile Thr Tyr Val Gln Arg Asn Tyr Asp Leu Ser Phe Leu Lys
65 70 75 80

Thr Ile Gln Glu Val Ala Gly Tyr Val Leu Ile Ala Leu Asn Thr Val
85 90 95

Glu Arg Ile Pro Leu Glu Asn Leu Gln Ile Ile Arg Gly Asn Met Tyr
100 105 110

Tyr Glu Asn Ser Tyr Ala Leu Ala Val Leu Ser Asn Tyr Asp Ala Asn
115 120 125

Lys Thr Gly Leu Lys Glu Leu Pro Met Arg Asn Leu Gln Glu Ile Leu
130 135 140

His Gly Ala Val Arg Phe Ser Asn Asn Pro Ala Leu Cys Asn Val Glu
145 150 155 160

Ser Ile Gln Trp Arg Asp Ile Val Ser Ser Asp Phe Leu Ser Asn Met
165 170 175

[0118] Ser Met Asp Phe Gln Asn His Leu Gly Ser Cys Gln Lys Cys Asp Pro
180 185 190

Ser Cys Pro Asn Gly Ser Cys Trp Gly Ala Gly Glu Glu Asn Cys Gln
195 200 205

Lys Leu Thr Lys Ile Ile Cys Ala Gln Gln Cys Ser Gly Arg Cys Arg
210 215 220

Gly Lys Ser Pro Ser Asp Cys Cys His Asn Gln Cys Ala Ala Gly Cys
225 230 235 240

Thr Gly Pro Arg Glu Ser Asp Cys Leu Val Cys Arg Lys Phe Arg Asp
245 250 255

Glu Ala Thr Cys Lys Asp Thr Cys Pro Pro Leu Met Leu Tyr Asn Pro
260 265 270

Thr Thr Tyr Gln Met Asp Val Asn Pro Glu Gly Lys Tyr Ser Phe Gly
275 280 285

Ala Thr Cys Val Lys Lys Cys Pro Arg Asn Tyr Val Val Thr Asp His
290 295 300

Gly Ser Cys Val Arg Ala Cys Gly Ala Asp Ser Tyr Glu Met Glu Glu
305 310 315 320

Asp Gly Val Arg Lys Cys Lys Lys Cys Glu Gly Pro Cys Arg Lys Val
325 330 335

Cys Asn Gly Ile Gly Ile Gly Glu Phe Lys Asp Ser Leu Ser Ile Asn
340 345 350

Ala Thr Asn Ile Lys His Phe Lys Asn Cys Thr Ser Ile Ser Gly Asp
355 360 365

Leu His Ile Leu Pro Val Ala Phe Arg Gly Asp Ser Phe Thr His Thr
370 375 380

Pro Pro Leu Asp Pro Gln Glu Leu Asp Ile Leu Lys Thr Val Lys Glu
385 390 395 400

Ile Thr Gly Phe Leu Leu Ile Gln Ala Trp Pro Glu Asn Arg Thr Asp
405 410 415

Leu His Ala Phe Glu Asn Leu Glu Ile Ile Arg Gly Arg Thr Lys Gln
420 425 430

His Gly Gln Phe Ser Leu Ala Val Val Ser Leu Asn Ile Thr Ser Leu
435 440 445

[0119] Gly Leu Arg Ser Leu Lys Glu Ile Ser Asp Gly Asp Val Ile Ile Ser
450 455 460

Gly Asn Lys Asn Leu Cys Tyr Ala Asn Thr Ile Asn Trp Lys Lys Leu
465 470 475 480

Phe Gly Thr Ser Gly Gln Lys Thr Lys Ile Ile Ser Asn Arg Gly Glu
485 490 495

Asn Ser Cys Lys Ala Thr Gly Gln Val Cys His Ala Leu Cys Ser Pro
500 505 510

Glu Gly Cys Trp Gly Pro Glu Pro Arg Asp Cys Val Ser Cys Arg Asn
515 520 525

Val Ser Arg Gly Arg Glu Cys Val Asp Lys Cys Asn Leu Leu Glu Gly
530 535 540

Glu Pro Arg Glu Phe Val Glu Asn Ser Glu Cys Ile Gln Cys His Pro
545 550 555 560

Glu Cys Leu Pro Gln Ala Met Asn Ile Thr Cys Thr Gly Arg Gly Pro
565 570 575

Asp Asn Cys Ile Gln Cys Ala His Tyr Ile Asp Gly Pro His Cys Val
580 585 590

Lys Thr Cys Pro Ala Gly Val Met Gly Glu Asn Asn Thr Leu Val Trp
595 600 605

Lys Tyr Ala Asp Ala Gly His Val Cys His Leu Cys His Pro Asn Cys
610 615 620

Thr Tyr Gly Cys Thr Gly Pro Gly Leu Glu Gly Cys Pro Thr Asn Gly
625 630 635 640

Pro Lys Ile Pro Ser Ile Ala Thr Gly Met Val Gly Ala Leu Leu Leu
645 650 655

Leu Leu Val Val Ala Leu Gly Ile Gly Leu Phe Met Arg Arg Arg His
660 665 670

Ile Val Arg Lys Arg Thr Leu Arg Arg Leu Leu Gln Glu Arg Glu Leu
675 680 685

Val Glu Pro Leu Thr Pro Ser Gly Glu Ala Pro Asn Gln Ala Leu Leu
690 695 700

Arg Ile Leu Lys Glu Thr Glu Phe Lys Lys Ile Lys Val Leu Gly Ser
705 710 715 720

[0120] Gly Ala Phe Gly Thr Val Tyr Lys Gly Leu Trp Ile Pro Glu Gly Glu
725 730 735

Lys Val Lys Ile Pro Val Ala Ile Lys Glu Leu Arg Glu Ala Thr Ser
740 745 750

Pro Lys Ala Asn Lys Glu Ile Leu Asp Glu Ala Tyr Val Met Ala Ser
755 760 765

Val Asp Asn Pro His Val Cys Arg Leu Leu Gly Ile Cys Leu Thr Ser
770 775 780

Thr Val Gln Leu Ile Thr Gln Leu Met Pro Phe Gly Cys Leu Leu Asp
785 790 795 800

Tyr Val Arg Glu His Lys Asp Asn Ile Gly Ser Gln Tyr Leu Leu Asn
805 810 815

Trp Cys Val Gln Ile Ala Lys Gly Met Asn Tyr Leu Glu Asp Arg Arg
820 825 830

Leu Val His Arg Asp Leu Ala Ala Arg Asn Val Leu Val Lys Thr Pro
835 840 845

Gln His Val Lys Ile Thr Asp Phe Gly Leu Ala Lys Leu Leu Gly Ala
850 855 860

```
Glu Glu Lys Glu Tyr His Ala Glu Gly Gly Lys Val Pro Ile Lys Trp
865                 870                 875                 880

Met Ala Leu Glu Ser Ile Leu His Arg Ile Tyr Thr His Gln Ser Asp
                885                 890                 895

Val Trp Ser Tyr Gly Val Thr Val Trp Glu Leu Met Thr Phe Gly Ser
            900                 905                 910

Lys Pro Tyr Asp Gly Ile Pro Ala Ser Glu Ile Ser Ser Ile Leu Glu
        915                 920                 925

Lys Gly Glu Arg Leu Pro Gln Pro Pro Ile Cys Thr Ile Asp Val Tyr
    930                 935                 940

Met Ile Met Val Lys Cys Trp Met Ile Asp Ala Asp Ser Arg Pro Lys
945                 950                 955                 960

Phe Arg Glu Leu Ile Ile Glu Phe Ser Lys Met Ala Arg Asp Pro Gln
                965                 970                 975

Arg Tyr Leu Val Ile Gln Gly Asp Glu Arg Met His Leu Pro Ser Pro
            980                 985                 990
```

[0121]

```
Thr Asp Ser Asn Phe Tyr Arg Ala  Leu Met Asp Glu Glu  Asp Met Asp
        995                 1000                1005

Asp Val  Val Asp Ala Asp Glu  Tyr Leu Ile Pro Gln  Gln Gly Phe
    1010                1015                1020

Phe Ser  Ser Pro Ser Thr Ser  Arg Thr Pro Leu Leu  Ser Ser Leu
    1025                1030                1035

Ser Ala  Thr Ser Asn Asn Ser  Thr Val Ala Cys Ile  Asp Arg Asn
    1040                1045                1050

Gly Leu  Gln Ser Cys Pro Ile  Lys Glu Asp Ser Phe  Leu Gln Arg
    1055                1060                1065

Tyr Ser  Ser Asp Pro Thr Gly  Ala Leu Thr Glu Asp  Ser Ile Asp
    1070                1075                1080

Asp Thr  Phe Leu Pro Val Pro  Glu Tyr Ile Asn Gln  Ser Val Pro
    1085                1090                1095

Lys Arg  Pro Ala Gly Ser Val  Gln Asn Pro Val Tyr  His Asn Gln
    1100                1105                1110

Pro Leu  Asn Pro Ala Pro Ser  Arg Asp Pro His Tyr  Gln Asp Pro
    1115                1120                1125
```

His Ser Thr Ala Val Gly Asn Pro Glu Tyr Leu Asn Thr Val Gln
1130 1135 1140

Pro Thr Cys Val Asn Ser Thr Phe Asp Ser Pro Ala His Trp Ala
1145 1150 1155

Gln Lys Gly Ser His Gln Ile Ser Leu Asp Asn Pro Asp Tyr Gln
1160 1165 1170

Gln Asp Phe Phe Pro Lys Glu Ala Lys Pro Asn Gly Ile Phe Lys
1175 1180 1185

Gly Ser Thr Ala Glu Asn Ala Glu Tyr Leu Arg Val Ala Pro Gln
1190 1195 1200

Ser Ser Glu Phe Ile Gly Ala
1205 1210

<210> 127
<211> 240
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 127
[0122]
Met Ala Gly Pro Pro Arg Leu Leu Leu Leu Pro Leu Leu Leu Ala Leu
1 5 10 15

Ala Arg Gly Leu Pro Gly Ala Leu Ala Ala Gln Glu Val Gln Gln Ser
20 25 30

Pro His Cys Thr Thr Val Pro Val Gly Ala Ser Val Asn Ile Thr Cys
35 40 45

Ser Thr Ser Gly Gly Leu Arg Gly Ile Tyr Leu Arg Gln Leu Gly Pro
50 55 60

Gln Pro Gln Asp Ile Ile Tyr Tyr Glu Asp Gly Val Val Pro Thr Thr
65 70 75 80

Asp Arg Arg Phe Arg Gly Arg Ile Asp Phe Ser Gly Ser Gln Asp Asn
85 90 95

Leu Thr Ile Thr Met His Arg Leu Gln Leu Ser Asp Thr Gly Thr Tyr
100 105 110

Thr Cys Gln Ala Ile Thr Glu Val Asn Val Tyr Gly Ser Gly Thr Leu
115 120 125

Val Leu Val Thr Glu Glu Gln Ser Gln Gly Trp His Arg Cys Ser Asp
130 135 140

Ala Pro Pro Arg Ala Ser Ala Leu Pro Ala Pro Pro Thr Gly Ser Ala
145 150 155 160

Leu Pro Asp Pro Gln Thr Ala Ser Ala Leu Pro Asp Pro Pro Ala Ala
165 170 175

Ser Ala Leu Pro Ala Ala Leu Ala Val Ile Ser Phe Leu Leu Gly Leu
180 185 190

Gly Leu Gly Val Ala Cys Val Leu Ala Arg Thr Gln Ile Lys Lys Leu
195 200 205

Cys Ser Trp Arg Asp Lys Asn Ser Ala Ala Cys Val Val Tyr Glu Asp
210 215 220

Met Ser His Ser Arg Cys Asn Thr Leu Ser Ser Pro Asn Gln Tyr Gln
225 230 235 240

<210> 128
<211> 760
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 128

[0123]

Met Met Asp Gln Ala Arg Ser Ala Phe Ser Asn Leu Phe Gly Gly Glu
1 5 10 15

Pro Leu Ser Tyr Thr Arg Phe Ser Leu Ala Arg Gln Val Asp Gly Asp
20 25 30

Asn Ser His Val Glu Met Lys Leu Ala Val Asp Glu Glu Glu Asn Ala
35 40 45

Asp Asn Asn Thr Lys Ala Asn Val Thr Lys Pro Lys Arg Cys Ser Gly
50 55 60

Ser Ile Cys Tyr Gly Thr Ile Ala Val Ile Val Phe Phe Leu Ile Gly
65 70 75 80

Phe Met Ile Gly Tyr Leu Gly Tyr Cys Lys Gly Val Glu Pro Lys Thr
85 90 95

Glu Cys Glu Arg Leu Ala Gly Thr Glu Ser Pro Val Arg Glu Glu Pro
100 105 110

Gly Glu Asp Phe Pro Ala Ala Arg Arg Leu Tyr Trp Asp Asp Leu Lys
115 120 125

Arg Lys Leu Ser Glu Lys Leu Asp Ser Thr Asp Phe Thr Gly Thr Ile
130 135 140

Lys Leu Leu Asn Glu Asn Ser Tyr Val Pro Arg Glu Ala Gly Ser Gln
145 150 155 160

Lys Asp Glu Asn Leu Ala Leu Tyr Val Glu Asn Gln Phe Arg Glu Phe
165 170 175

Lys Leu Ser Lys Val Trp Arg Asp Gln His Phe Val Lys Ile Gln Val
180 185 190

Lys Asp Ser Ala Gln Asn Ser Val Ile Ile Val Asp Lys Asn Gly Arg
195 200 205

Leu Val Tyr Leu Val Glu Asn Pro Gly Gly Tyr Val Ala Tyr Ser Lys
210 215 220

Ala Ala Thr Val Thr Gly Lys Leu Val His Ala Asn Phe Gly Thr Lys
225 230 235 240

Lys Asp Phe Glu Asp Leu Tyr Thr Pro Val Asn Gly Ser Ile Val Ile
245 250 255

Val Arg Ala Gly Lys Ile Thr Phe Ala Glu Lys Val Ala Asn Ala Glu
260 265 270

[0124] Ser Leu Asn Ala Ile Gly Val Leu Ile Tyr Met Asp Gln Thr Lys Phe
275 280 285

Pro Ile Val Asn Ala Glu Leu Ser Phe Phe Gly His Ala His Leu Gly
290 295 300

Thr Gly Asp Pro Tyr Thr Pro Gly Phe Pro Ser Phe Asn His Thr Gln
305 310 315 320

Phe Pro Pro Ser Arg Ser Ser Gly Leu Pro Asn Ile Pro Val Gln Thr
325 330 335

Ile Ser Arg Ala Ala Ala Glu Lys Leu Phe Gly Asn Met Glu Gly Asp
340 345 350

Cys Pro Ser Asp Trp Lys Thr Asp Ser Thr Cys Arg Met Val Thr Ser
355 360 365

Glu Ser Lys Asn Val Lys Leu Thr Val Ser Asn Val Leu Lys Glu Ile
370 375 380

Lys Ile Leu Asn Ile Phe Gly Val Ile Lys Gly Phe Val Glu Pro Asp
385 390 395 400

His Tyr Val Val Val Gly Ala Gln Arg Asp Ala Trp Gly Pro Gly Ala
405 410 415

Ala Lys Ser Gly Val Gly Thr Ala Leu Leu Leu Lys Leu Ala Gln Met
420 425 430

Phe Ser Asp Met Val Leu Lys Asp Gly Phe Gln Pro Ser Arg Ser Ile
435 440 445

Ile Phe Ala Ser Trp Ser Ala Gly Asp Phe Gly Ser Val Gly Ala Thr
450 455 460

Glu Trp Leu Glu Gly Tyr Leu Ser Ser Leu His Leu Lys Ala Phe Thr
465 470 475 480

Tyr Ile Asn Leu Asp Lys Ala Val Leu Gly Thr Ser Asn Phe Lys Val
485 490 495

Ser Ala Ser Pro Leu Leu Tyr Thr Leu Ile Glu Lys Thr Met Gln Asn
500 505 510

Val Lys His Pro Val Thr Gly Gln Phe Leu Tyr Gln Asp Ser Asn Trp
515 520 525

Ala Ser Lys Val Glu Lys Leu Thr Leu Asp Asn Ala Ala Phe Pro Phe
530 535 540

[0125] Leu Ala Tyr Ser Gly Ile Pro Ala Val Ser Phe Cys Phe Cys Glu Asp
545 550 555 560

Thr Asp Tyr Pro Tyr Leu Gly Thr Thr Met Asp Thr Tyr Lys Glu Leu
565 570 575

Ile Glu Arg Ile Pro Glu Leu Asn Lys Val Ala Arg Ala Ala Ala Glu
580 585 590

Val Ala Gly Gln Phe Val Ile Lys Leu Thr His Asp Val Glu Leu Asn
595 600 605

Leu Asp Tyr Glu Arg Tyr Asn Ser Gln Leu Leu Ser Phe Val Arg Asp
610 615 620

Leu Asn Gln Tyr Arg Ala Asp Ile Lys Glu Met Gly Leu Ser Leu Gln
625 630 635 640

Trp Leu Tyr Ser Ala Arg Gly Asp Phe Phe Arg Ala Thr Ser Arg Leu
645 650 655

Thr Thr Asp Phe Gly Asn Ala Glu Lys Thr Asp Arg Phe Val Met Lys
660 665 670

Lys Leu Asn Asp Arg Val Met Arg Val Glu Tyr His Phe Leu Ser Pro
675 680 685

Tyr Val Ser Pro Lys Glu Ser Pro Phe Arg His Val Phe Trp Gly Ser
690 695 700

Gly Ser His Thr Leu Pro Ala Leu Leu Glu Asn Leu Lys Leu Arg Lys
705 710 715 720

Gln Asn Asn Gly Ala Phe Asn Glu Thr Leu Phe Arg Asn Gln Leu Ala
725 730 735

Leu Ala Thr Trp Thr Ile Gln Gly Ala Ala Asn Ala Leu Ser Gly Asp
740 745 750

Val Trp Asp Ile Asp Asn Glu Phe
755 760

<210> 129
<211> 314
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 129
Met Ala Pro Pro Gln Val Leu Ala Phe Gly Leu Leu Leu Ala Ala Ala
1 5 10 15

[0126] Thr Ala Thr Phe Ala Ala Ala Gln Glu Glu Cys Val Cys Glu Asn Tyr
20 25 30

Lys Leu Ala Val Asn Cys Phe Val Asn Asn Asn Arg Gln Cys Gln Cys
35 40 45

Thr Ser Val Gly Ala Gln Asn Thr Val Ile Cys Ser Lys Leu Ala Ala
50 55 60

Lys Cys Leu Val Met Lys Ala Glu Met Asn Gly Ser Lys Leu Gly Arg
65 70 75 80

Arg Ala Lys Pro Glu Gly Ala Leu Gln Asn Asn Asp Gly Leu Tyr Asp
85 90 95

Pro Asp Cys Asp Glu Ser Gly Leu Phe Lys Ala Lys Gln Cys Asn Gly
100 105 110

Thr Ser Met Cys Trp Cys Val Asn Thr Ala Gly Val Arg Arg Thr Asp
115 120 125

Lys Asp Thr Glu Ile Thr Cys Ser Glu Arg Val Arg Thr Tyr Trp Ile
130 135 140

Ile Ile Glu Leu Lys His Lys Ala Arg Glu Lys Pro Tyr Asp Ser Lys
145 150 155 160

Ser Leu Arg Thr Ala Leu Gln Lys Glu Ile Thr Thr Arg Tyr Gln Leu
165 170 175

Asp Pro Lys Phe Ile Thr Ser Ile Leu Tyr Glu Asn Asn Val Ile Thr
180 185 190

Ile Asp Leu Val Gln Asn Ser Ser Gln Lys Thr Gln Asn Asp Val Asp
195 200 205

Ile Ala Asp Val Ala Tyr Tyr Phe Glu Lys Asp Val Lys Gly Glu Ser
210 215 220

Leu Phe His Ser Lys Lys Met Asp Leu Thr Val Asn Gly Glu Gln Leu
225 230 235 240

Asp Leu Asp Pro Gly Gln Thr Leu Ile Tyr Tyr Val Asp Glu Lys Ala
245 250 255

Pro Glu Phe Ser Met Gln Gly Leu Lys Ala Gly Val Ile Ala Val Ile
260 265 270

Val Val Val Val Ile Ala Val Val Ala Gly Ile Val Val Leu Val Ile
275 280 285

[0127] Ser Arg Lys Lys Arg Met Ala Lys Tyr Glu Lys Ala Glu Ile Lys Glu
290 295 300

Met Gly Glu Met His Arg Glu Leu Asn Ala
305 310

<210> 130
<211> 257
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 130
Met Ala Gln Arg Met Thr Thr Gln Leu Leu Leu Leu Leu Val Trp Val
1 5 10 15

Ala Val Val Gly Glu Ala Gln Thr Arg Ile Ala Trp Ala Arg Thr Glu
20 25 30

Leu Leu Asn Val Cys Met Asn Ala Lys His His Lys Glu Lys Pro Gly
35 40 45

Pro Glu Asp Lys Leu His Glu Gln Cys Arg Pro Trp Arg Lys Asn Ala
50 55 60

Cys Cys Ser Thr Asn Thr Ser Gln Glu Ala His Lys Asp Val Ser Tyr
65 70 75 80

Leu Tyr Arg Phe Asn Trp Asn His Cys Gly Glu Met Ala Pro Ala Cys
85 90 95

Lys Arg His Phe Ile Gln Asp Thr Cys Leu Tyr Glu Cys Ser Pro Asn
100 105 110

Leu Gly Pro Trp Ile Gln Gln Val Asp Gln Ser Trp Arg Lys Glu Arg
115 120 125

Val Leu Asn Val Pro Leu Cys Lys Glu Asp Cys Glu Gln Trp Trp Glu
130 135 140

Asp Cys Arg Thr Ser Tyr Thr Cys Lys Ser Asn Trp His Lys Gly Trp
145 150 155 160

Asn Trp Thr Ser Gly Phe Asn Lys Cys Ala Val Gly Ala Ala Cys Gln
165 170 175

Pro Phe His Phe Tyr Phe Pro Thr Pro Thr Val Leu Cys Asn Glu Ile
180 185 190

Trp Thr His Ser Tyr Lys Val Ser Asn Tyr Ser Arg Gly Ser Gly Arg
195 200 205

[0128] Cys Ile Gln Met Trp Phe Asp Pro Ala Gln Gly Asn Pro Asn Glu Glu
210 215 220

Val Ala Arg Phe Tyr Ala Ala Ala Met Ser Gly Ala Gly Pro Trp Ala
225 230 235 240

Ala Trp Pro Phe Leu Leu Ser Leu Ala Leu Met Leu Leu Trp Leu Leu
245 250 255

Ser

<210> 131
<211> 875
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 131
Met Glu Ser Thr Leu Thr Leu Ala Thr Glu Gln Pro Val Lys Lys Asn
1 5 10 15

Thr Leu Lys Lys Tyr Lys Ile Ala Cys Ile Val Leu Leu Ala Leu Leu
20 25 30

Val Ile Met Ser Leu Gly Leu Gly Leu Gly Leu Gly Leu Arg Lys Leu
35 40 45

Glu Lys Gln Gly Ser Cys Arg Lys Lys Cys Phe Asp Ala Ser Phe Arg
50 55 60

Gly Leu Glu Asn Cys Arg Cys Asp Val Ala Cys Lys Asp Arg Gly Asp
65 70 75 80

Cys Cys Trp Asp Phe Glu Asp Thr Cys Val Glu Ser Thr Arg Ile Trp
85 90 95

Met Cys Asn Lys Phe Arg Cys Gly Glu Thr Arg Leu Glu Ala Ser Leu
100 105 110

Cys Ser Cys Ser Asp Asp Cys Leu Gln Arg Lys Asp Cys Cys Ala Asp
115 120 125

Tyr Lys Ser Val Cys Gln Gly Glu Thr Ser Trp Leu Glu Glu Asn Cys
130 135 140

Asp Thr Ala Gln Gln Ser Gln Cys Pro Glu Gly Phe Asp Leu Pro Pro
145 150 155 160

Val Ile Leu Phe Ser Met Asp Gly Phe Arg Ala Glu Tyr Leu Tyr Thr
165 170 175

[0129] Trp Asp Thr Leu Met Pro Asn Ile Asn Lys Leu Lys Thr Cys Gly Ile
180 185 190

His Ser Lys Tyr Met Arg Ala Met Tyr Pro Thr Lys Thr Phe Pro Asn
195 200 205

His Tyr Thr Ile Val Thr Gly Leu Tyr Pro Glu Ser His Gly Ile Ile
210 215 220

Asp Asn Asn Met Tyr Asp Val Asn Leu Asn Lys Asn Phe Ser Leu Ser
225 230 235 240

Ser Lys Glu Gln Asn Asn Pro Ala Trp Trp His Gly Gln Pro Met Trp
245 250 255

Leu Thr Ala Met Tyr Gln Gly Leu Lys Ala Ala Thr Tyr Phe Trp Pro
260 265 270

Gly Ser Glu Val Ala Ile Asn Gly Ser Phe Pro Ser Ile Tyr Met Pro
275 280 285

Tyr Asn Gly Ser Val Pro Phe Glu Glu Arg Ile Ser Thr Leu Leu Lys
290 295 300

Trp Leu Asp Leu Pro Lys Ala Glu Arg Pro Arg Phe Tyr Thr Met Tyr
305 310 315 320

Phe Glu Glu Pro Asp Ser Ser Gly His Ala Gly Gly Pro Val Ser Ala
325 330 335

Arg Val Ile Lys Ala Leu Gln Val Val Asp His Ala Phe Gly Met Leu
340 345 350

Met Glu Gly Leu Lys Gln Arg Asn Leu His Asn Cys Val Asn Ile Ile
355 360 365

Leu Leu Ala Asp His Gly Met Asp Gln Thr Tyr Cys Asn Lys Met Glu
370 375 380

Tyr Met Thr Asp Tyr Phe Pro Arg Ile Asn Phe Phe Tyr Met Tyr Glu
385 390 395 400

Gly Pro Ala Pro Arg Ile Arg Ala His Asn Ile Pro His Asp Phe Phe
405 410 415

Ser Phe Asn Ser Glu Glu Ile Val Arg Asn Leu Ser Cys Arg Lys Pro
420 425 430

Asp Gln His Phe Lys Pro Tyr Leu Thr Pro Asp Leu Pro Lys Arg Leu
435 440 445

[0130] His Tyr Ala Lys Asn Val Arg Ile Asp Lys Val His Leu Phe Val Asp
450 455 460

Gln Gln Trp Leu Ala Val Arg Ser Lys Ser Asn Thr Asn Cys Gly Gly
465 470 475 480

Gly Asn His Gly Tyr Asn Asn Glu Phe Arg Ser Met Glu Ala Ile Phe
485 490 495

Leu Ala His Gly Pro Ser Phe Lys Glu Lys Thr Glu Val Glu Pro Phe
500 505 510

Glu Asn Ile Glu Val Tyr Asn Leu Met Cys Asp Leu Leu Arg Ile Gln
515 520 525

Pro Ala Pro Asn Asn Gly Thr His Gly Ser Leu Asn His Leu Leu Lys
530 535 540

Val Pro Phe Tyr Glu Pro Ser His Ala Glu Glu Val Ser Lys Phe Ser
545 550 555 560

Val Cys Gly Phe Ala Asn Pro Leu Pro Thr Glu Ser Leu Asp Cys Phe
565 570 575

Cys Pro His Leu Gln Asn Ser Thr Gln Leu Glu Gln Val Asn Gln Met
580 585 590

Leu Asn Leu Thr Gln Glu Glu Ile Thr Ala Thr Val Lys Val Asn Leu
595 600 605

Pro Phe Gly Arg Pro Arg Val Leu Gln Lys Asn Val Asp His Cys Leu
610 615 620

Leu Tyr His Arg Glu Tyr Val Ser Gly Phe Gly Lys Ala Met Arg Met
625 630 635 640

Pro Met Trp Ser Ser Tyr Thr Val Pro Gln Leu Gly Asp Thr Ser Pro
645 650 655

Leu Pro Pro Thr Val Pro Asp Cys Leu Arg Ala Asp Val Arg Val Pro
660 665 670

Pro Ser Glu Ser Gln Lys Cys Ser Phe Tyr Leu Ala Asp Lys Asn Ile
675 680 685

Thr His Gly Phe Leu Tyr Pro Pro Ala Ser Asn Arg Thr Ser Asp Ser
690 695 700

Gln Tyr Asp Ala Leu Ile Thr Ser Asn Leu Val Pro Met Tyr Glu Glu
705 710 715 720

[0131] Phe Arg Lys Met Trp Asp Tyr Phe His Ser Val Leu Leu Ile Lys His
725 730 735

Ala Thr Glu Arg Asn Gly Val Asn Val Val Ser Gly Pro Ile Phe Asp
740 745 750

Tyr Asn Tyr Asp Gly His Phe Asp Ala Pro Asp Glu Ile Thr Lys His
755 760 765

Leu Ala Asn Thr Asp Val Pro Ile Pro Thr His Tyr Phe Val Val Leu
770 775 780

Thr Ser Cys Lys Asn Lys Ser His Thr Pro Glu Asn Cys Pro Gly Trp
785 790 795 800

Leu Asp Val Leu Pro Phe Ile Ile Pro His Arg Pro Thr Asn Val Glu
805 810 815

Ser Cys Pro Glu Gly Lys Pro Glu Ala Leu Trp Val Glu Glu Arg Phe
820 825 830

Thr Ala His Ile Ala Arg Val Arg Asp Val Glu Leu Leu Thr Gly Leu
835 840 845

Asp Phe Tyr Gln Asp Lys Val Gln Pro Val Ser Glu Ile Leu Gln Leu
850 855 860

Lys Thr Tyr Leu Pro Thr Phe Glu Thr Thr Ile
865 870 875

<210> 132
<211> 1408
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 132
Met Lys Ala Pro Ala Val Leu Ala Pro Gly Ile Leu Val Leu Leu Phe
1 5 10 15

Thr Leu Val Gln Arg Ser Asn Gly Glu Cys Lys Glu Ala Leu Ala Lys
20 25 30

Ser Glu Met Asn Val Asn Met Lys Tyr Gln Leu Pro Asn Phe Thr Ala
35 40 45

Glu Thr Pro Ile Gln Asn Val Ile Leu His Glu His His Ile Phe Leu
50 55 60

Gly Ala Thr Asn Tyr Ile Tyr Val Leu Asn Glu Glu Asp Leu Gln Lys
65 70 75 80

[0132]

Val Ala Glu Tyr Lys Thr Gly Pro Val Leu Glu His Pro Asp Cys Phe
85 90 95

Pro Cys Gln Asp Cys Ser Ser Lys Ala Asn Leu Ser Gly Gly Val Trp
100 105 110

Lys Asp Asn Ile Asn Met Ala Leu Val Val Asp Thr Tyr Tyr Asp Asp
115 120 125

Gln Leu Ile Ser Cys Gly Ser Val Asn Arg Gly Thr Cys Gln Arg His
130 135 140

Val Phe Pro His Asn His Thr Ala Asp Ile Gln Ser Glu Val His Cys
145 150 155 160

Ile Phe Ser Pro Gln Ile Glu Glu Pro Ser Gln Cys Pro Asp Cys Val
165 170 175

Val Ser Ala Leu Gly Ala Lys Val Leu Ser Ser Val Lys Asp Arg Phe
180 185 190

Ile Asn Phe Phe Val Gly Asn Thr Ile Asn Ser Ser Tyr Phe Pro Asp
195 200 205

His Pro Leu His Ser Ile Ser Val Arg Arg Leu Lys Glu Thr Lys Asp

210 215 220

Gly Phe Met Phe Leu Thr Asp Gln Ser Tyr Ile Asp Val Leu Pro Glu
225 230 235 240

Phe Arg Asp Ser Tyr Pro Ile Lys Tyr Val His Ala Phe Glu Ser Asn
245 250 255

Asn Phe Ile Tyr Phe Leu Thr Val Gln Arg Glu Thr Leu Asp Ala Gln
260 265 270

Thr Phe His Thr Arg Ile Ile Arg Phe Cys Ser Ile Asn Ser Gly Leu
275 280 285

His Ser Tyr Met Glu Met Pro Leu Glu Cys Ile Leu Thr Glu Lys Arg
290 295 300

Lys Lys Arg Ser Thr Lys Lys Glu Val Phe Asn Ile Leu Gln Ala Ala
305 310 315 320

Tyr Val Ser Lys Pro Gly Ala Gln Leu Ala Arg Gln Ile Gly Ala Ser
325 330 335

Leu Asn Asp Asp Ile Leu Phe Gly Val Phe Ala Gln Ser Lys Pro Asp
340 345 350

[0133]

Ser Ala Glu Pro Met Asp Arg Ser Ala Met Cys Ala Phe Pro Ile Lys
355 360 365

Tyr Val Asn Asp Phe Phe Asn Lys Ile Val Asn Lys Asn Asn Val Arg
370 375 380

Cys Leu Gln His Phe Tyr Gly Pro Asn His Glu His Cys Phe Asn Arg
385 390 395 400

Thr Leu Leu Arg Asn Ser Ser Gly Cys Glu Ala Arg Arg Asp Glu Tyr
405 410 415

Arg Thr Glu Phe Thr Thr Ala Leu Gln Arg Val Asp Leu Phe Met Gly
420 425 430

Gln Phe Ser Glu Val Leu Leu Thr Ser Ile Ser Thr Phe Ile Lys Gly
435 440 445

Asp Leu Thr Ile Ala Asn Leu Gly Thr Ser Glu Gly Arg Phe Met Gln
450 455 460

Val Val Val Ser Arg Ser Gly Pro Ser Thr Pro His Val Asn Phe Leu
465 470 475 480

Leu Asp Ser His Pro Val Ser Pro Glu Val Ile Val Glu His Thr Leu

485 490 495

Asn Gln Asn Gly Tyr Thr Leu Val Ile Thr Gly Lys Lys Ile Thr Lys
500 505 510

Ile Pro Leu Asn Gly Leu Gly Cys Arg His Phe Gln Ser Cys Ser Gln
515 520 525

Cys Leu Ser Ala Pro Pro Phe Val Gln Cys Gly Trp Cys His Asp Lys
530 535 540

Cys Val Arg Ser Glu Glu Cys Leu Ser Gly Thr Trp Thr Gln Gln Ile
545 550 555 560

Cys Leu Pro Ala Ile Tyr Lys Val Phe Pro Asn Ser Ala Pro Leu Glu
565 570 575

Gly Gly Thr Arg Leu Thr Ile Cys Gly Trp Asp Phe Gly Phe Arg Arg
580 585 590

Asn Asn Lys Phe Asp Leu Lys Lys Thr Arg Val Leu Leu Gly Asn Glu
595 600 605

[0134] Ser Cys Thr Leu Thr Leu Ser Glu Ser Thr Met Asn Thr Leu Lys Cys
610 615 620

Thr Val Gly Pro Ala Met Asn Lys His Phe Asn Met Ser Ile Ile Ile
625 630 635 640

Ser Asn Gly His Gly Thr Thr Gln Tyr Ser Thr Phe Ser Tyr Val Asp
645 650 655

Pro Val Ile Thr Ser Ile Ser Pro Lys Tyr Gly Pro Met Ala Gly Gly
660 665 670

Thr Leu Leu Thr Leu Thr Gly Asn Tyr Leu Asn Ser Gly Asn Ser Arg
675 680 685

His Ile Ser Ile Gly Gly Lys Thr Cys Thr Leu Lys Ser Val Ser Asn
690 695 700

Ser Ile Leu Glu Cys Tyr Thr Pro Ala Gln Thr Ile Ser Thr Glu Phe
705 710 715 720

Ala Val Lys Leu Lys Ile Asp Leu Ala Asn Arg Glu Thr Ser Ile Phe
725 730 735

Ser Tyr Arg Glu Asp Pro Ile Val Tyr Glu Ile His Pro Thr Lys Ser
740 745 750

Phe Ile Ser Thr Trp Trp Lys Glu Pro Leu Asn Ile Val Ser Phe Leu
755 760 765

Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gly Ser Thr Ile Thr Gly Val Gly Lys Asn
770 775 780

Leu Asn Ser Val Ser Val Pro Arg Met Val Ile Asn Val His Glu Ala
785 790 795 800

Gly Arg Asn Phe Thr Val Ala Cys Gln His Arg Ser Asn Ser Glu Ile
805 810 815

Ile Cys Cys Thr Thr Pro Ser Leu Gln Gln Leu Asn Leu Gln Leu Pro
820 825 830

Leu Lys Thr Lys Ala Phe Phe Met Leu Asp Gly Ile Leu Ser Lys Tyr
835 840 845

Phe Asp Leu Ile Tyr Val His Asn Pro Val Phe Lys Pro Phe Glu Lys
850 855 860

Pro Val Met Ile Ser Met Gly Asn Glu Asn Val Leu Glu Ile Lys Gly
865 870 875 880

[0135] Asn Asp Ile Asp Pro Glu Ala Val Lys Gly Glu Val Leu Lys Val Gly
885 890 895

Asn Lys Ser Cys Glu Asn Ile His Leu His Ser Glu Ala Val Leu Cys
900 905 910

Thr Val Pro Asn Asp Leu Leu Lys Leu Asn Ser Glu Leu Asn Ile Glu
915 920 925

Trp Lys Gln Ala Ile Ser Ser Thr Val Leu Gly Lys Val Ile Val Gln
930 935 940

Pro Asp Gln Asn Phe Thr Gly Leu Ile Ala Gly Val Val Ser Ile Ser
945 950 955 960

Thr Ala Leu Leu Leu Leu Leu Gly Phe Phe Leu Trp Leu Lys Lys Arg
965 970 975

Lys Gln Ile Lys Asp Leu Gly Ser Glu Leu Val Arg Tyr Asp Ala Arg
980 985 990

Val His Thr Pro His Leu Asp Arg Leu Val Ser Ala Arg Ser Val Ser
995 1000 1005

Pro Thr Thr Glu Met Val Ser Asn Glu Ser Val Asp Tyr Arg Ala
1010 1015 1020

Thr Phe Pro Glu Asp Gln Phe Pro Asn Ser Ser Gln Asn Gly Ser
1025 1030 1035

Cys Arg Gln Val Gln Tyr Pro Leu Thr Asp Met Ser Pro Ile Leu
1040 1045 1050

Thr Ser Gly Asp Ser Asp Ile Ser Ser Pro Leu Leu Gln Asn Thr
1055 1060 1065

Val His Ile Asp Leu Ser Ala Leu Asn Pro Glu Leu Val Gln Ala
1070 1075 1080

Val Gln His Val Val Ile Gly Pro Ser Ser Leu Ile Val His Phe
1085 1090 1095

Asn Glu Val Ile Gly Arg Gly His Phe Gly Cys Val Tyr His Gly
1100 1105 1110

Thr Leu Leu Asp Asn Asp Gly Lys Lys Ile His Cys Ala Val Lys
1115 1120 1125

Ser Leu Asn Arg Ile Thr Asp Ile Gly Glu Val Ser Gln Phe Leu
1130 1135 1140

[0136] Thr Glu Gly Ile Ile Met Lys Asp Phe Ser His Pro Asn Val Leu
1145 1150 1155

Ser Leu Leu Gly Ile Cys Leu Arg Ser Glu Gly Ser Pro Leu Val
1160 1165 1170

Val Leu Pro Tyr Met Lys His Gly Asp Leu Arg Asn Phe Ile Arg
1175 1180 1185

Asn Glu Thr His Asn Pro Thr Val Lys Asp Leu Ile Gly Phe Gly
1190 1195 1200

Leu Gln Val Ala Lys Gly Met Lys Tyr Leu Ala Ser Lys Lys Phe
1205 1210 1215

Val His Arg Asp Leu Ala Ala Arg Asn Cys Met Leu Asp Glu Lys
1220 1225 1230

Phe Thr Val Lys Val Ala Asp Phe Gly Leu Ala Arg Asp Met Tyr
1235 1240 1245

Asp Lys Glu Tyr Tyr Ser Val His Asn Lys Thr Gly Ala Lys Leu
1250 1255 1260

Pro Val Lys Trp Met Ala Leu Glu Ser Leu Gln Thr Gln Lys Phe
1265 1270 1275

Thr Thr Lys Ser Asp Val Trp Ser Phe Gly Val Leu Leu Trp Glu
1280 1285 1290

Leu Met Thr Arg Gly Ala Pro Pro Tyr Pro Asp Val Asn Thr Phe
1295 1300 1305

Asp Ile Thr Val Tyr Leu Leu Gln Gly Arg Arg Leu Leu Gln Pro
1310 1315 1320

Glu Tyr Cys Pro Asp Pro Leu Tyr Glu Val Met Leu Lys Cys Trp
1325 1330 1335

His Pro Lys Ala Glu Met Arg Pro Ser Phe Ser Glu Leu Val Ser
1340 1345 1350

Arg Ile Ser Ala Ile Phe Ser Thr Phe Ile Gly Glu His Tyr Val
1355 1360 1365

His Val Asn Ala Thr Tyr Val Asn Val Lys Cys Val Ala Pro Tyr
1370 1375 1380

Pro Ser Leu Leu Ser Ser Glu Asp Asn Ala Asp Asp Glu Val Asp
1385 1390 1395

[0137] Thr Arg Pro Ala Ser Phe Trp Glu Thr Ser
1400 1405

<210> 133
<211> 894
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 133
Met Ala Trp Arg Cys Pro Arg Met Gly Arg Val Pro Leu Ala Trp Cys
1 5 10 15

Leu Ala Leu Cys Gly Trp Ala Cys Met Ala Pro Arg Gly Thr Gln Ala
20 25 30

Glu Glu Ser Pro Phe Val Gly Asn Pro Gly Asn Ile Thr Gly Ala Arg
35 40 45

Gly Leu Thr Gly Thr Leu Arg Cys Gln Leu Gln Val Gln Gly Glu Pro
50 55 60

Pro Glu Val His Trp Leu Arg Asp Gly Gln Ile Leu Glu Leu Ala Asp
65 70 75 80

Ser Thr Gln Thr Gln Val Pro Leu Gly Glu Asp Glu Gln Asp Asp Trp
85 90 95

Ile Val Val Ser Gln Leu Arg Ile Thr Ser Leu Gln Leu Ser Asp Thr
100 105 110

Gly Gln Tyr Gln Cys Leu Val Phe Leu Gly His Gln Thr Phe Val Ser
115 120 125

Gln Pro Gly Tyr Val Gly Leu Glu Gly Leu Pro Tyr Phe Leu Glu Glu
130 135 140

Pro Glu Asp Arg Thr Val Ala Ala Asn Thr Pro Phe Asn Leu Ser Cys
145 150 155 160

Gln Ala Gln Gly Pro Pro Glu Pro Val Asp Leu Leu Trp Leu Gln Asp
165 170 175

Ala Val Pro Leu Ala Thr Ala Pro Gly His Gly Pro Gln Arg Ser Leu
180 185 190

His Val Pro Gly Leu Asn Lys Thr Ser Ser Phe Ser Cys Glu Ala His
195 200 205

Asn Ala Lys Gly Val Thr Thr Ser Arg Thr Ala Thr Ile Thr Val Leu
210 215 220

[0138] Pro Gln Gln Pro Arg Asn Leu His Leu Val Ser Arg Gln Pro Thr Glu
225 230 235 240

Leu Glu Val Ala Trp Thr Pro Gly Leu Ser Gly Ile Tyr Pro Leu Thr
245 250 255

His Cys Thr Leu Gln Ala Val Leu Ser Asp Asp Gly Met Gly Ile Gln
260 265 270

Ala Gly Glu Pro Asp Pro Pro Glu Glu Pro Leu Thr Ser Gln Ala Ser
275 280 285

Val Pro Pro His Gln Leu Arg Leu Gly Ser Leu His Pro His Thr Pro
290 295 300

Tyr His Ile Arg Val Ala Cys Thr Ser Ser Gln Gly Pro Ser Ser Trp
305 310 315 320

Thr His Trp Leu Pro Val Glu Thr Pro Glu Gly Val Pro Leu Gly Pro
325 330 335

Pro Glu Asn Ile Ser Ala Thr Arg Asn Gly Ser Gln Ala Phe Val His
340 345 350

Trp Gln Glu Pro Arg Ala Pro Leu Gln Gly Thr Leu Leu Gly Tyr Arg
355 360 365

Leu Ala Tyr Gln Gly Gln Asp Thr Pro Glu Val Leu Met Asp Ile Gly
370 375 380

Leu Arg Gln Glu Val Thr Leu Glu Leu Gln Gly Asp Gly Ser Val Ser
385 390 395 400

Asn Leu Thr Val Cys Val Ala Ala Tyr Thr Ala Ala Gly Asp Gly Pro
405 410 415

Trp Ser Leu Pro Val Pro Leu Glu Ala Trp Arg Pro Gly Gln Ala Gln
420 425 430

Pro Val His Gln Leu Val Lys Glu Pro Ser Thr Pro Ala Phe Ser Trp
435 440 445

Pro Trp Trp Tyr Val Leu Leu Gly Ala Val Val Ala Ala Ala Cys Val
450 455 460

Leu Ile Leu Ala Leu Phe Leu Val His Arg Arg Lys Lys Glu Thr Arg
465 470 475 480

Tyr Gly Glu Val Phe Glu Pro Thr Val Glu Arg Gly Glu Leu Val Val
485 490 495

[0139] Arg Tyr Arg Val Arg Lys Ser Tyr Ser Arg Arg Thr Thr Glu Ala Thr
500 505 510

Leu Asn Ser Leu Gly Ile Ser Glu Glu Leu Lys Glu Lys Leu Arg Asp
515 520 525

Val Met Val Asp Arg His Lys Val Ala Leu Gly Lys Thr Leu Gly Glu
530 535 540

Gly Glu Phe Gly Ala Val Met Glu Gly Gln Leu Asn Gln Asp Asp Ser
545 550 555 560

Ile Leu Lys Val Ala Val Lys Thr Met Lys Ile Ala Ile Cys Thr Arg
565 570 575

Ser Glu Leu Glu Asp Phe Leu Ser Glu Ala Val Cys Met Lys Glu Phe
580 585 590

Asp His Pro Asn Val Met Arg Leu Ile Gly Val Cys Phe Gln Gly Ser
595 600 605

Glu Arg Glu Ser Phe Pro Ala Pro Val Val Ile Leu Pro Phe Met Lys
610 615 620

His Gly Asp Leu His Ser Phe Leu Leu Tyr Ser Arg Leu Gly Asp Gln
625 630 635 640

Pro Val Tyr Leu Pro Thr Gln Met Leu Val Lys Phe Met Ala Asp Ile
645 650 655

Ala Ser Gly Met Glu Tyr Leu Ser Thr Lys Arg Phe Ile His Arg Asp
660 665 670

Leu Ala Ala Arg Asn Cys Met Leu Asn Glu Asn Met Ser Val Cys Val
675 680 685

Ala Asp Phe Gly Leu Ser Lys Lys Ile Tyr Asn Gly Asp Tyr Tyr Arg
690 695 700

Gln Gly Arg Ile Ala Lys Met Pro Val Lys Trp Ile Ala Ile Glu Ser
705 710 715 720

Leu Ala Asp Arg Val Tyr Thr Ser Lys Ser Asp Val Trp Ser Phe Gly
725 730 735

Val Thr Met Trp Glu Ile Ala Thr Arg Gly Gln Thr Pro Tyr Pro Gly
740 745 750

Val Glu Asn Ser Glu Ile Tyr Asp Tyr Leu Arg Gln Gly Asn Arg Leu
755 760 765

Lys Gln Pro Ala Asp Cys Leu Asp Gly Leu Tyr Ala Leu Met Ser Arg
[0140] 770 775 780

Cys Trp Glu Leu Asn Pro Gln Asp Arg Pro Ser Phe Thr Glu Leu Arg
785 790 795 800

Glu Asp Leu Glu Asn Thr Leu Lys Ala Leu Pro Pro Ala Gln Glu Pro
805 810 815

Asp Glu Ile Leu Tyr Val Asn Met Asp Glu Gly Gly Gly Tyr Pro Glu
820 825 830

Pro Pro Gly Ala Ala Gly Gly Ala Asp Pro Pro Thr Gln Pro Asp Pro
835 840 845

Lys Asp Ser Cys Ser Cys Leu Thr Ala Ala Glu Val His Pro Ala Gly
850 855 860

Arg Tyr Val Leu Cys Pro Ser Thr Thr Pro Ser Pro Ala Gln Pro Ala
865 870 875 880

Asp Arg Gly Ser Pro Ala Ala Pro Gly Gln Glu Asp Gly Ala
885 890

<210> 134
<211> 690
<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 134

Met Ala Pro Trp Pro Glu Leu Gly Asp Ala Gln Pro Asn Pro Asp Lys
1 5 10 15

Tyr Leu Glu Gly Ala Ala Gly Gln Gln Pro Thr Ala Pro Asp Lys Ser
20 25 30

Lys Glu Thr Asn Lys Thr Asp Asn Thr Glu Ala Pro Val Thr Lys Ile
35 40 45

Glu Leu Leu Pro Ser Tyr Ser Thr Ala Thr Leu Ile Asp Glu Pro Thr
50 55 60

Glu Val Asp Asp Pro Trp Asn Leu Pro Thr Leu Gln Asp Ser Gly Ile
65 70 75 80

Lys Trp Ser Glu Arg Asp Thr Lys Gly Lys Ile Leu Cys Phe Phe Gln
85 90 95

Gly Ile Gly Arg Leu Ile Leu Leu Leu Gly Phe Leu Tyr Phe Phe Val
100 105 110

[0141] Cys Ser Leu Asp Ile Leu Ser Ser Ala Phe Gln Leu Val Gly Gly Lys
115 120 125

Met Ala Gly Gln Phe Phe Ser Asn Ser Ser Ile Met Ser Asn Pro Leu
130 135 140

Leu Gly Leu Val Ile Gly Val Leu Val Thr Val Leu Val Gln Ser Ser
145 150 155 160

Ser Thr Ser Thr Ser Ile Val Val Ser Met Val Ser Ser Ser Leu Leu
165 170 175

Thr Val Arg Ala Ala Ile Pro Ile Ile Met Gly Ala Asn Ile Gly Thr
180 185 190

Ser Ile Thr Asn Thr Ile Val Ala Leu Met Gln Val Gly Asp Arg Ser
195 200 205

Glu Phe Arg Arg Ala Phe Ala Gly Ala Thr Val His Asp Phe Phe Asn
210 215 220

Trp Leu Ser Val Leu Val Leu Leu Pro Val Glu Val Ala Thr His Tyr
225 230 235 240

Leu Glu Ile Ile Thr Gln Leu Ile Val Glu Ser Phe His Phe Lys Asn
245 250 255

Gly Glu Asp Ala Pro Asp Leu Leu Lys Val Ile Thr Lys Pro Phe Thr
260 265 270

Lys Leu Ile Val Gln Leu Asp Lys Lys Val Ile Ser Gln Ile Ala Met
275 280 285

Asn Asp Glu Lys Ala Lys Asn Lys Ser Leu Val Lys Ile Trp Cys Lys
290 295 300

Thr Phe Thr Asn Lys Thr Gln Ile Asn Val Thr Val Pro Ser Thr Ala
305 310 315 320

Asn Cys Thr Ser Pro Ser Leu Cys Trp Thr Asp Gly Ile Gln Asn Trp
325 330 335

Thr Met Lys Asn Val Thr Tyr Lys Glu Asn Ile Ala Lys Cys Gln His
340 345 350

Ile Phe Val Asn Phe His Leu Pro Asp Leu Ala Val Gly Thr Ile Leu
355 360 365

Leu Ile Leu Ser Leu Leu Val Leu Cys Gly Cys Leu Ile Met Ile Val
370 375 380

Lys Ile Leu Gly Ser Val Leu Lys Gly Gln Val Ala Thr Val Ile Lys
[0142] 385 390 395 400

Lys Thr Ile Asn Thr Asp Phe Pro Phe Pro Phe Ala Trp Leu Thr Gly
405 410 415

Tyr Leu Ala Ile Leu Val Gly Ala Gly Met Thr Phe Ile Val Gln Ser
420 425 430

Ser Ser Val Phe Thr Ser Ala Leu Thr Pro Leu Ile Gly Ile Gly Val
435 440 445

Ile Thr Ile Glu Arg Ala Tyr Pro Leu Thr Leu Gly Ser Asn Ile Gly
450 455 460

Thr Thr Thr Thr Ala Ile Leu Ala Ala Leu Ala Ser Pro Gly Asn Ala
465 470 475 480

Leu Arg Ser Ser Leu Gln Ile Ala Leu Cys His Phe Phe Phe Asn Ile
485 490 495

Ser Gly Ile Leu Leu Trp Tyr Pro Ile Pro Phe Thr Arg Leu Pro Ile
500 505 510

Arg Met Ala Lys Gly Leu Gly Asn Ile Ser Ala Lys Tyr Arg Trp Phe
515 520 525

Ala Val Phe Tyr Leu Ile Ile Phe Phe Phe Leu Ile Pro Leu Thr Val
530 535 540

Phe Gly Leu Ser Leu Ala Gly Trp Arg Val Leu Val Gly Val Gly Val
545 550 555 560

Pro Val Val Phe Ile Ile Ile Leu Val Leu Cys Leu Arg Leu Leu Gln
565 570 575

Ser Arg Cys Pro Arg Val Leu Pro Lys Lys Leu Gln Asn Trp Asn Phe
580 585 590

Leu Pro Leu Trp Met Arg Ser Leu Lys Pro Trp Asp Ala Val Val Ser
595 600 605

Lys Phe Thr Gly Cys Phe Gln Met Arg Cys Cys Cys Cys Cys Arg Val
610 615 620

Cys Cys Arg Ala Cys Cys Leu Leu Cys Asp Cys Pro Lys Cys Cys Arg
625 630 635 640

Cys Ser Lys Cys Cys Glu Asp Leu Glu Glu Ala Gln Glu Gly Gln Asp
645 650 655

[0143] Val Pro Val Lys Ala Pro Glu Thr Phe Asp Asn Ile Thr Ile Ser Arg
660 665 670

Glu Ala Gln Gly Glu Val Pro Ala Ser Asp Ser Lys Thr Glu Cys Thr
675 680 685

Ala Leu
690

<210> 135
<211> 510
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 135
Met Pro Leu Ser Leu Gly Ala Glu Met Trp Gly Pro Glu Ala Trp Leu
1 5 10 15

Leu Leu Leu Leu Leu Leu Ala Ser Phe Thr Gly Arg Cys Pro Ala Gly
20 25 30

Glu Leu Glu Thr Ser Asp Val Val Thr Val Val Leu Gly Gln Asp Ala
35 40 45

Lys Leu Pro Cys Phe Tyr Arg Gly Asp Ser Gly Glu Gln Val Gly Gln

50 55 60

Val Ala Trp Ala Arg Val Asp Ala Gly Glu Gly Ala Gln Glu Leu Ala
65 70 75 80

Leu Leu His Ser Lys Tyr Gly Leu His Val Ser Pro Ala Tyr Glu Gly
85 90 95

Arg Val Glu Gln Pro Pro Pro Pro Arg Asn Pro Leu Asp Gly Ser Val
100 105 110

Leu Leu Arg Asn Ala Val Gln Ala Asp Glu Gly Glu Tyr Glu Cys Arg
115 120 125

Val Ser Thr Phe Pro Ala Gly Ser Phe Gln Ala Arg Leu Arg Leu Arg
130 135 140

Val Leu Val Pro Pro Leu Pro Ser Leu Asn Pro Gly Pro Ala Leu Glu
145 150 155 160

Glu Gly Gln Gly Leu Thr Leu Ala Ala Ser Cys Thr Ala Glu Gly Ser
165 170 175

Pro Ala Pro Ser Val Thr Trp Asp Thr Glu Val Lys Gly Thr Thr Ser
180 185 190

[0144]

Ser Arg Ser Phe Lys His Ser Arg Ser Ala Ala Val Thr Ser Glu Phe
195 200 205

His Leu Val Pro Ser Arg Ser Met Asn Gly Gln Pro Leu Thr Cys Val
210 215 220

Val Ser His Pro Gly Leu Leu Gln Asp Gln Arg Ile Thr His Ile Leu
225 230 235 240

His Val Ser Phe Leu Ala Glu Ala Ser Val Arg Gly Leu Glu Asp Gln
245 250 255

Asn Leu Trp His Ile Gly Arg Glu Gly Ala Met Leu Lys Cys Leu Ser
260 265 270

Glu Gly Gln Pro Pro Pro Ser Tyr Asn Trp Thr Arg Leu Asp Gly Pro
275 280 285

Leu Pro Ser Gly Val Arg Val Asp Gly Asp Thr Leu Gly Phe Pro Pro
290 295 300

Leu Thr Thr Glu His Ser Gly Ile Tyr Val Cys His Val Ser Asn Glu
305 310 315 320

Phe Ser Ser Arg Asp Ser Gln Val Thr Val Asp Val Leu Asp Pro Gln

325 330 335

Glu Asp Ser Gly Lys Gln Val Asp Leu Val Ser Ala Ser Val Val Val
340 345 350

Val Gly Val Ile Ala Ala Leu Leu Phe Cys Leu Leu Val Val Val Val
355 360 365

Val Leu Met Ser Arg Tyr His Arg Arg Lys Ala Gln Gln Met Thr Gln
370 375 380

Lys Tyr Glu Glu Glu Leu Thr Leu Thr Arg Glu Asn Ser Ile Arg Arg
385 390 395 400

Leu His Ser His His Thr Asp Pro Arg Ser Gln Pro Glu Glu Ser Val
405 410 415

Gly Leu Arg Ala Glu Gly His Pro Asp Ser Leu Lys Asp Asn Ser Ser
420 425 430

Cys Ser Val Met Ser Glu Glu Pro Glu Gly Arg Ser Tyr Ser Thr Leu
435 440 445

[0145] Thr Thr Val Arg Glu Ile Glu Thr Gln Thr Glu Leu Leu Ser Pro Gly
450 455 460

Ser Gly Arg Ala Glu Glu Glu Glu Asp Gln Asp Glu Gly Ile Lys Gln
465 470 475 480

Ala Met Asn His Phe Val Gln Glu Asn Gly Thr Leu Arg Ala Lys Pro
485 490 495

Thr Gly Asn Gly Ile Tyr Ile Asn Gly Arg Gly His Leu Val
500 505 510

<210> 136
<211> 323
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 136
Met Ala Arg Gly Pro Gly Leu Ala Pro Pro Pro Leu Arg Leu Pro Leu
1 5 10 15

Leu Leu Leu Val Leu Ala Ala Val Thr Gly His Thr Ala Ala Gln Asp
20 25 30

Asn Cys Thr Cys Pro Thr Asn Lys Met Thr Val Cys Ser Pro Asp Gly
35 40 45

Pro Gly Gly Arg Cys Gln Cys Arg Ala Leu Gly Ser Gly Met Ala Val
50 55 60

Asp Cys Ser Thr Leu Thr Ser Lys Cys Leu Leu Leu Lys Ala Arg Met
65 70 75 80

Ser Ala Pro Lys Asn Ala Arg Thr Leu Val Arg Pro Ser Glu His Ala
85 90 95

Leu Val Asp Asn Asp Gly Leu Tyr Asp Pro Asp Cys Asp Pro Glu Gly
100 105 110

Arg Phe Lys Ala Arg Gln Cys Asn Gln Thr Ser Val Cys Trp Cys Val
115 120 125

Asn Ser Val Gly Val Arg Arg Thr Asp Lys Gly Asp Leu Ser Leu Arg
130 135 140

Cys Asp Glu Leu Val Arg Thr His His Ile Leu Ile Asp Leu Arg His
145 150 155 160

Arg Pro Thr Ala Gly Ala Phe Asn His Ser Asp Leu Asp Ala Glu Leu
165 170 175

[0146] Arg Arg Leu Phe Arg Glu Arg Tyr Arg Leu His Pro Lys Phe Val Ala
180 185 190

Ala Val His Tyr Glu Gln Pro Thr Ile Gln Ile Glu Leu Arg Gln Asn
195 200 205

Thr Ser Gln Lys Ala Ala Gly Asp Val Asp Ile Gly Asp Ala Ala Tyr
210 215 220

Tyr Phe Glu Arg Asp Ile Lys Gly Glu Ser Leu Phe Gln Gly Arg Gly
225 230 235 240

Gly Leu Asp Leu Arg Val Arg Gly Glu Pro Leu Gln Val Glu Arg Thr
245 250 255

Leu Ile Tyr Tyr Leu Asp Glu Ile Pro Pro Lys Phe Ser Met Lys Arg
260 265 270

Leu Thr Ala Gly Leu Ile Ala Val Ile Val Val Val Val Val Ala Leu
275 280 285

Val Ala Gly Met Ala Val Leu Val Ile Thr Asn Arg Arg Lys Ser Gly
290 295 300

Lys Tyr Lys Lys Val Glu Ile Lys Glu Leu Gly Glu Leu Arg Lys Glu
305 310 315 320

Pro Ser Leu

<210> 137
<211> 755
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 137
Met Ala Arg Lys Leu Ser Val Ile Leu Ile Leu Thr Phe Ala Leu Ser
1 5 10 15

Val Thr Asn Pro Leu His Glu Leu Lys Ala Ala Ala Phe Pro Gln Thr
20 25 30

Thr Glu Lys Ile Ser Pro Asn Trp Glu Ser Gly Ile Asn Val Asp Leu
35 40 45

Ala Ile Ser Thr Arg Gln Tyr His Leu Gln Gln Leu Phe Tyr Arg Tyr
50 55 60

Gly Glu Asn Asn Ser Leu Ser Val Glu Gly Phe Arg Lys Leu Leu Gln
65 70 75 80

[0147] Asn Ile Gly Ile Asp Lys Ile Lys Arg Ile His Ile His His Asp His
85 90 95

Asp His His Ser Asp His Glu His His Ser Asp His Glu Arg His Ser
100 105 110

Asp His Glu His His Ser Glu His Glu His His Ser Asp His Asp His
115 120 125

His Ser His His Asn His Ala Ala Ser Gly Lys Asn Lys Arg Lys Ala
130 135 140

Leu Cys Pro Asp His Asp Ser Asp Ser Ser Gly Lys Asp Pro Arg Asn
145 150 155 160

Ser Gln Gly Lys Gly Ala His Arg Pro Glu His Ala Ser Gly Arg Arg
165 170 175

Asn Val Lys Asp Ser Val Ser Ala Ser Glu Val Thr Ser Thr Val Tyr
180 185 190

Asn Thr Val Ser Glu Gly Thr His Phe Leu Glu Thr Ile Glu Thr Pro
195 200 205

Arg Pro Gly Lys Leu Phe Pro Lys Asp Val Ser Ser Ser Thr Pro Pro
210 215 220

Ser Val Thr Ser Lys Ser Arg Val Ser Arg Leu Ala Gly Arg Lys Thr
225 230 235 240

Asn Glu Ser Val Ser Glu Pro Arg Lys Gly Phe Met Tyr Ser Arg Asn
245 250 255

Thr Asn Glu Asn Pro Gln Glu Cys Phe Asn Ala Ser Lys Leu Leu Thr
260 265 270

Ser His Gly Met Gly Ile Gln Val Pro Leu Asn Ala Thr Glu Phe Asn
275 280 285

Tyr Leu Cys Pro Ala Ile Ile Asn Gln Ile Asp Ala Arg Ser Cys Leu
290 295 300

Ile His Thr Ser Glu Lys Lys Ala Glu Ile Pro Pro Lys Thr Tyr Ser
305 310 315 320

Leu Gln Ile Ala Trp Val Gly Gly Phe Ile Ala Ile Ser Ile Ile Ser
325 330 335

Phe Leu Ser Leu Leu Gly Val Ile Leu Val Pro Leu Met Asn Arg Val
340 345 350

[0148] Phe Phe Lys Phe Leu Leu Ser Phe Leu Val Ala Leu Ala Val Gly Thr
355 360 365

Leu Ser Gly Asp Ala Phe Leu His Leu Leu Pro His Ser His Ala Ser
370 375 380

His His His Ser His Ser His Glu Glu Pro Ala Met Glu Met Lys Arg
385 390 395 400

Gly Pro Leu Phe Ser His Leu Ser Ser Gln Asn Ile Glu Glu Ser Ala
405 410 415

Tyr Phe Asp Ser Thr Trp Lys Gly Leu Thr Ala Leu Gly Gly Leu Tyr
420 425 430

Phe Met Phe Leu Val Glu His Val Leu Thr Leu Ile Lys Gln Phe Lys
435 440 445

Asp Lys Lys Lys Lys Asn Gln Lys Lys Pro Glu Asn Asp Asp Asp Val
450 455 460

Glu Ile Lys Lys Gln Leu Ser Lys Tyr Glu Ser Gln Leu Ser Thr Asn
465 470 475 480

Glu Glu Lys Val Asp Thr Asp Asp Arg Thr Glu Gly Tyr Leu Arg Ala
485 490 495

Asp Ser Gln Glu Pro Ser His Phe Asp Ser Gln Gln Pro Ala Val Leu
500 505 510

Glu Glu Glu Glu Val Met Ile Ala His Ala His Pro Gln Glu Val Tyr
515 520 525

Asn Glu Tyr Val Pro Arg Gly Cys Lys Asn Lys Cys His Ser His Phe
530 535 540

His Asp Thr Leu Gly Gln Ser Asp Asp Leu Ile His His His His Asp
545 550 555 560

Tyr His His Ile Leu His His His His His Gln Asn His His Pro His
565 570 575

Ser His Ser Gln Arg Tyr Ser Arg Glu Glu Leu Lys Asp Ala Gly Val
580 585 590

Ala Thr Leu Ala Trp Met Val Ile Met Gly Asp Gly Leu His Asn Phe
595 600 605

Ser Asp Gly Leu Ala Ile Gly Ala Ala Phe Thr Glu Gly Leu Ser Ser
610 615 620

[0149] Gly Leu Ser Thr Ser Val Ala Val Phe Cys His Glu Leu Pro His Glu
625 630 635 640

Leu Gly Asp Phe Ala Val Leu Leu Lys Ala Gly Met Thr Val Lys Gln
645 650 655

Ala Val Leu Tyr Asn Ala Leu Ser Ala Met Leu Ala Tyr Leu Gly Met
660 665 670

Ala Thr Gly Ile Phe Ile Gly His Tyr Ala Glu Asn Val Ser Met Trp
675 680 685

Ile Phe Ala Leu Thr Ala Gly Leu Phe Met Tyr Val Ala Leu Val Asp
690 695 700

Met Val Pro Glu Met Leu His Asn Asp Ala Ser Asp His Gly Cys Ser
705 710 715 720

Arg Trp Gly Tyr Phe Phe Leu Gln Asn Ala Gly Met Leu Leu Gly Phe
725 730 735

Gly Ile Met Leu Leu Ile Ser Ile Phe Glu His Lys Ile Val Phe Arg
740 745 750

Ile Asn Phe
755

<210> 138
<211> 572
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 138
Met Glu Cys Leu Tyr Tyr Phe Leu Gly Phe Leu Leu Leu Ala Ala Arg
1 5 10 15

Leu Pro Leu Asp Ala Ala Lys Arg Phe His Asp Val Leu Gly Asn Glu
20 25 30

Arg Pro Ser Ala Tyr Met Arg Glu His Asn Gln Leu Asn Gly Trp Ser
35 40 45

Ser Asp Glu Asn Asp Trp Asn Glu Lys Leu Tyr Pro Val Trp Lys Arg
50 55 60

Gly Asp Met Arg Trp Lys Asn Ser Trp Lys Gly Gly Arg Val Gln Ala
65 70 75 80

Val Leu Thr Ser Asp Ser Pro Ala Leu Val Gly Ser Asn Ile Thr Phe
85 90 95

[0150] Ala Val Asn Leu Ile Phe Pro Arg Cys Gln Lys Glu Asp Ala Asn Gly
100 105 110

Asn Ile Val Tyr Glu Lys Asn Cys Arg Asn Glu Ala Gly Leu Ser Ala
115 120 125

Asp Pro Tyr Val Tyr Asn Trp Thr Ala Trp Ser Glu Asp Ser Asp Gly
130 135 140

Glu Asn Gly Thr Gly Gln Ser His His Asn Val Phe Pro Asp Gly Lys
145 150 155 160

Pro Phe Pro His His Pro Gly Trp Arg Arg Trp Asn Phe Ile Tyr Val
165 170 175

Phe His Thr Leu Gly Gln Tyr Phe Gln Lys Leu Gly Arg Cys Ser Val
180 185 190

Arg Val Ser Val Asn Thr Ala Asn Val Thr Leu Gly Pro Gln Leu Met
195 200 205

Glu Val Thr Val Tyr Arg Arg His Gly Arg Ala Tyr Val Pro Ile Ala
210 215 220

Gln Val Lys Asp Val Tyr Val Val Thr Asp Gln Ile Pro Val Phe Val
225 230 235 240

Thr Met Phe Gln Lys Asn Asp Arg Asn Ser Ser Asp Glu Thr Phe Leu
245 250 255

Lys Asp Leu Pro Ile Met Phe Asp Val Leu Ile His Asp Pro Ser His
260 265 270

Phe Leu Asn Tyr Ser Thr Ile Asn Tyr Lys Trp Ser Phe Gly Asp Asn
275 280 285

Thr Gly Leu Phe Val Ser Thr Asn His Thr Val Asn His Thr Tyr Val
290 295 300

Leu Asn Gly Thr Phe Ser Leu Asn Leu Thr Val Lys Ala Ala Ala Pro
305 310 315 320

Gly Pro Cys Pro Pro Pro Pro Pro Pro Pro Arg Pro Ser Lys Pro Thr
325 330 335

Pro Ser Leu Ala Thr Thr Leu Lys Ser Tyr Asp Ser Asn Thr Pro Gly
340 345 350

Pro Ala Gly Asp Asn Pro Leu Glu Leu Ser Arg Ile Pro Asp Glu Asn
355 360 365

[0151] Cys Gln Ile Asn Arg Tyr Gly His Phe Gln Ala Thr Ile Thr Ile Val
370 375 380

Glu Gly Ile Leu Glu Val Asn Ile Ile Gln Met Thr Asp Val Leu Met
385 390 395 400

Pro Val Pro Trp Pro Glu Ser Ser Leu Ile Asp Phe Val Val Thr Cys
405 410 415

Gln Gly Ser Ile Pro Thr Glu Val Cys Thr Ile Ile Ser Asp Pro Thr
420 425 430

Cys Glu Ile Thr Gln Asn Thr Val Cys Ser Pro Val Asp Val Asp Glu
435 440 445

Met Cys Leu Leu Thr Val Arg Arg Thr Phe Asn Gly Ser Gly Thr Tyr
450 455 460

Cys Val Asn Leu Thr Leu Gly Asp Asp Thr Ser Leu Ala Leu Thr Ser
465 470 475 480

Thr Leu Ile Ser Val Pro Asp Arg Asp Pro Ala Ser Pro Leu Arg Met
485 490 495

Ala Asn Ser Ala Leu Ile Ser Val Gly Cys Leu Ala Ile Phe Val Thr
500 505 510

Val Ile Ser Leu Leu Val Tyr Lys Lys His Lys Glu Tyr Asn Pro Ile
515 520 525

Glu Asn Ser Pro Gly Asn Val Val Arg Ser Lys Gly Leu Ser Val Phe
530 535 540

Leu Asn Arg Ala Lys Ala Val Phe Phe Pro Gly Asn Gln Glu Lys Asp
545 550 555 560

Pro Leu Leu Lys Asn Gln Glu Phe Lys Gly Val Ser
565 570

<210> 139
<211> 622
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 139
Met Ala Leu Pro Thr Ala Arg Pro Leu Leu Gly Ser Cys Gly Thr Pro
1 5 10 15

Ala Leu Gly Ser Leu Leu Phe Leu Leu Phe Ser Leu Gly Trp Val Gln
20 25 30

[0152] Pro Ser Arg Thr Leu Ala Gly Glu Thr Gly Gln Glu Ala Ala Pro Leu
35 40 45

Asp Gly Val Leu Ala Asn Pro Pro Asn Ile Ser Ser Leu Ser Pro Arg
50 55 60

Gln Leu Leu Gly Phe Pro Cys Ala Glu Val Ser Gly Leu Ser Thr Glu
65 70 75 80

Arg Val Arg Glu Leu Ala Val Ala Leu Ala Gln Lys Asn Val Lys Leu
85 90 95

Ser Thr Glu Gln Leu Arg Cys Leu Ala His Arg Leu Ser Glu Pro Pro
100 105 110

Glu Asp Leu Asp Ala Leu Pro Leu Asp Leu Leu Leu Phe Leu Asn Pro
115 120 125

Asp Ala Phe Ser Gly Pro Gln Ala Cys Thr Arg Phe Phe Ser Arg Ile
130 135 140

Thr Lys Ala Asn Val Asp Leu Leu Pro Arg Gly Ala Pro Glu Arg Gln
145 150 155 160

Arg Leu Leu Pro Ala Ala Leu Ala Cys Trp Gly Val Arg Gly Ser Leu
165 170 175

Leu Ser Glu Ala Asp Val Arg Ala Leu Gly Gly Leu Ala Cys Asp Leu
180 185 190

Pro Gly Arg Phe Val Ala Glu Ser Ala Glu Val Leu Leu Pro Arg Leu
195 200 205

Val Ser Cys Pro Gly Pro Leu Asp Gln Asp Gln Gln Glu Ala Ala Arg
210 215 220

Ala Ala Leu Gln Gly Gly Gly Pro Pro Tyr Gly Pro Pro Ser Thr Trp
225 230 235 240

Ser Val Ser Thr Met Asp Ala Leu Arg Gly Leu Leu Pro Val Leu Gly
245 250 255

Gln Pro Ile Ile Arg Ser Ile Pro Gln Gly Ile Val Ala Ala Trp Arg
260 265 270

Gln Arg Ser Ser Arg Asp Pro Ser Trp Arg Gln Pro Glu Arg Thr Ile
275 280 285

Leu Arg Pro Arg Phe Arg Arg Glu Val Glu Lys Thr Ala Cys Pro Ser
290 295 300

[0153] Gly Lys Lys Ala Arg Glu Ile Asp Glu Ser Leu Ile Phe Tyr Lys Lys
305 310 315 320

Trp Glu Leu Glu Ala Cys Val Asp Ala Ala Leu Leu Ala Thr Gln Met
325 330 335

Asp Arg Val Asn Ala Ile Pro Phe Thr Tyr Glu Gln Leu Asp Val Leu
340 345 350

Lys His Lys Leu Asp Glu Leu Tyr Pro Gln Gly Tyr Pro Glu Ser Val
355 360 365

Ile Gln His Leu Gly Tyr Leu Phe Leu Lys Met Ser Pro Glu Asp Ile
370 375 380

Arg Lys Trp Asn Val Thr Ser Leu Glu Thr Leu Lys Ala Leu Leu Glu
385 390 395 400

Val Asn Lys Gly His Glu Met Ser Pro Gln Val Ala Thr Leu Ile Asp
405 410 415

Arg Phe Val Lys Gly Arg Gly Gln Leu Asp Lys Asp Thr Leu Asp Thr
420 425 430

Leu Thr Ala Phe Tyr Pro Gly Tyr Leu Cys Ser Leu Ser Pro Glu Glu
435 440 445

Leu Ser Ser Val Pro Pro Ser Ser Ile Trp Ala Val Arg Pro Gln Asp
450 455 460

Leu Asp Thr Cys Asp Pro Arg Gln Leu Asp Val Leu Tyr Pro Lys Ala
465 470 475 480

Arg Leu Ala Phe Gln Asn Met Asn Gly Ser Glu Tyr Phe Val Lys Ile
485 490 495

Gln Ser Phe Leu Gly Gly Ala Pro Thr Glu Asp Leu Lys Ala Leu Ser
500 505 510

Gln Gln Asn Val Ser Met Asp Leu Ala Thr Phe Met Lys Leu Arg Thr
515 520 525

Asp Ala Val Leu Pro Leu Thr Val Ala Glu Val Gln Lys Leu Leu Gly
530 535 540

Pro His Val Glu Gly Leu Lys Ala Glu Glu Arg His Arg Pro Val Arg
545 550 555 560

Asp Trp Ile Leu Arg Gln Arg Gln Asp Asp Leu Asp Thr Leu Gly Leu
565 570 575

[0154]

Gly Leu Gln Gly Gly Ile Pro Asn Gly Tyr Leu Val Leu Asp Leu Ser
580 585 590

Met Gln Glu Ala Leu Ser Gly Thr Pro Cys Leu Leu Gly Pro Gly Pro
595 600 605

Val Leu Thr Val Leu Ala Leu Leu Leu Ala Ser Thr Leu Ala
610 615 620

<210> 140
<211> 296
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 140
Met His Arg Arg Arg Ser Arg Ser Cys Arg Glu Asp Gln Lys Pro Val
1 5 10 15

Met Asp Asp Gln Arg Asp Leu Ile Ser Asn Asn Glu Gln Leu Pro Met
20 25 30

Leu Gly Arg Arg Pro Gly Ala Pro Glu Ser Lys Cys Ser Arg Gly Ala
35 40 45

Leu Tyr Thr Gly Phe Ser Ile Leu Val Thr Leu Leu Leu Ala Gly Gln

50 55 60

Ala Thr Thr Ala Tyr Phe Leu Tyr Gln Gln Gln Gly Arg Leu Asp Lys
65 70 75 80

Leu Thr Val Thr Ser Gln Asn Leu Gln Leu Glu Asn Leu Arg Met Lys
85 90 95

Leu Pro Lys Pro Pro Lys Pro Val Ser Lys Met Arg Met Ala Thr Pro
100 105 110

Leu Leu Met Gln Ala Leu Pro Met Gly Ala Leu Pro Gln Gly Pro Met
115 120 125

Gln Asn Ala Thr Lys Tyr Gly Asn Met Thr Glu Asp His Val Met His
130 135 140

Leu Leu Gln Asn Ala Asp Pro Leu Lys Val Tyr Pro Pro Leu Lys Gly
145 150 155 160

Ser Phe Pro Glu Asn Leu Arg His Leu Lys Asn Thr Met Glu Thr Ile
165 170 175

Asp Trp Lys Val Phe Glu Ser Trp Met His His Trp Leu Leu Phe Glu
180 185 190

[0155]

Met Ser Arg His Ser Leu Glu Gln Lys Pro Thr Asp Ala Pro Pro Lys
195 200 205

Val Leu Thr Lys Cys Gln Glu Glu Val Ser His Ile Pro Ala Val His
210 215 220

Pro Gly Ser Phe Arg Pro Lys Cys Asp Glu Asn Gly Asn Tyr Leu Pro
225 230 235 240

Leu Gln Cys Tyr Gly Ser Ile Gly Tyr Cys Trp Cys Val Phe Pro Asn
245 250 255

Gly Thr Glu Val Pro Asn Thr Arg Ser Arg Gly His His Asn Cys Ser
260 265 270

Glu Ser Leu Glu Leu Glu Asp Pro Ser Ser Gly Leu Gly Val Thr Lys
275 280 285

Gln Asp Leu Gly Pro Val Pro Met
290 295

<210> 141
<211> 295
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 141

Met Glu Thr Pro Ala Trp Pro Arg Val Pro Arg Pro Glu Thr Ala Val
1 5 10 15

Ala Arg Thr Leu Leu Leu Gly Trp Val Phe Ala Gln Val Ala Gly Ala
20 25 30

Ser Gly Thr Thr Asn Thr Val Ala Ala Tyr Asn Leu Thr Trp Lys Ser
35 40 45

Thr Asn Phe Lys Thr Ile Leu Glu Trp Glu Pro Lys Pro Val Asn Gln
50 55 60

Val Tyr Thr Val Gln Ile Ser Thr Lys Ser Gly Asp Trp Lys Ser Lys
65 70 75 80

Cys Phe Tyr Thr Thr Asp Thr Glu Cys Asp Leu Thr Asp Glu Ile Val
85 90 95

Lys Asp Val Lys Gln Thr Tyr Leu Ala Arg Val Phe Ser Tyr Pro Ala
100 105 110

Gly Asn Val Glu Ser Thr Gly Ser Ala Gly Glu Pro Leu Tyr Glu Asn
115 120 125

[0156]

Ser Pro Glu Phe Thr Pro Tyr Leu Glu Thr Asn Leu Gly Gln Pro Thr
130 135 140

Ile Gln Ser Phe Glu Gln Val Gly Thr Lys Val Asn Val Thr Val Glu
145 150 155 160

Asp Glu Arg Thr Leu Val Arg Arg Asn Asn Thr Phe Leu Ser Leu Arg
165 170 175

Asp Val Phe Gly Lys Asp Leu Ile Tyr Thr Leu Tyr Tyr Trp Lys Ser
180 185 190

Ser Ser Ser Gly Lys Lys Thr Ala Lys Thr Asn Thr Asn Glu Phe Leu
195 200 205

Ile Asp Val Asp Lys Gly Glu Asn Tyr Cys Phe Ser Val Gln Ala Val
210 215 220

Ile Pro Ser Arg Thr Val Asn Arg Lys Ser Thr Asp Ser Pro Val Glu
225 230 235 240

Cys Met Gly Gln Glu Lys Gly Glu Phe Arg Glu Ile Phe Tyr Ile Ile
245 250 255

Gly Ala Val Val Phe Val Val Ile Ile Leu Val Ile Ile Leu Ala Ile

260 265 270

Ser Leu His Lys Cys Arg Lys Ala Gly Val Gly Gln Ser Trp Lys Glu
275 280 285

Asn Ser Pro Leu Asn Val Ser
290 295

<210> 142
<211> 14507
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 142
Met Leu Lys Pro Ser Gly Leu Pro Gly Ser Ser Ser Pro Thr Arg Ser
1 5 10 15

Leu Met Thr Gly Ser Arg Ser Thr Lys Ala Thr Pro Glu Met Asp Ser
20 25 30

Gly Leu Thr Gly Ala Thr Leu Ser Pro Lys Thr Ser Thr Gly Ala Ile
35 40 45

Val Val Thr Glu His Thr Leu Pro Phe Thr Ser Pro Asp Lys Thr Leu
50 55 60

[0157]

Ala Ser Pro Thr Ser Ser Val Val Gly Arg Thr Thr Gln Ser Leu Gly
65 70 75 80

Val Met Ser Ser Ala Leu Pro Glu Ser Thr Ser Arg Gly Met Thr His
85 90 95

Ser Glu Gln Arg Thr Ser Pro Ser Leu Ser Pro Gln Val Asn Gly Thr
100 105 110

Pro Ser Arg Asn Tyr Pro Ala Thr Ser Met Val Ser Gly Leu Ser Ser
115 120 125

Pro Arg Thr Arg Thr Ser Ser Thr Glu Gly Asn Phe Thr Lys Glu Ala
130 135 140

Ser Thr Tyr Thr Leu Thr Val Glu Thr Thr Ser Gly Pro Val Thr Glu
145 150 155 160

Lys Tyr Thr Val Pro Thr Glu Thr Ser Thr Thr Glu Gly Asp Ser Thr
165 170 175

Glu Thr Pro Trp Asp Thr Arg Tyr Ile Pro Val Lys Ile Thr Ser Pro
180 185 190

Met Lys Thr Phe Ala Asp Ser Thr Ala Ser Lys Glu Asn Ala Pro Val
195 200 205

Ser Met Thr Pro Ala Glu Thr Thr Val Thr Asp Ser His Thr Pro Gly
210 215 220

Arg Thr Asn Pro Ser Phe Gly Thr Leu Tyr Ser Ser Phe Leu Asp Leu
225 230 235 240

Ser Pro Lys Gly Thr Pro Asn Ser Arg Gly Glu Thr Ser Leu Glu Leu
245 250 255

Ile Leu Ser Thr Thr Gly Tyr Pro Phe Ser Ser Pro Glu Pro Gly Ser
260 265 270

Ala Gly His Ser Arg Ile Ser Thr Ser Ala Pro Leu Ser Ser Ser Ala
275 280 285

Ser Val Leu Asp Asn Lys Ile Ser Glu Thr Ser Ile Phe Ser Gly Gln
290 295 300

Ser Leu Thr Ser Pro Leu Ser Pro Gly Val Pro Glu Ala Arg Ala Ser
305 310 315 320

[0158] Thr Met Pro Asn Ser Ala Ile Pro Phe Ser Met Thr Leu Ser Asn Ala
325 330 335

Glu Thr Ser Ala Glu Arg Val Arg Ser Thr Ile Ser Ser Leu Gly Thr
340 345 350

Pro Ser Ile Ser Thr Lys Gln Thr Ala Glu Thr Ile Leu Thr Phe His
355 360 365

Ala Phe Ala Glu Thr Met Asp Ile Pro Ser Thr His Ile Ala Lys Thr
370 375 380

Leu Ala Ser Glu Trp Leu Gly Ser Pro Gly Thr Leu Gly Gly Thr Ser
385 390 395 400

Thr Ser Ala Leu Thr Thr Thr Ser Pro Ser Thr Thr Leu Val Ser Glu
405 410 415

Glu Thr Asn Thr His His Ser Thr Ser Gly Lys Glu Thr Glu Gly Thr
420 425 430

Leu Asn Thr Ser Met Thr Pro Leu Glu Thr Ser Ala Pro Gly Glu Glu
435 440 445

Ser Glu Met Thr Ala Thr Leu Val Pro Thr Leu Gly Phe Thr Thr Leu
450 455 460

Asp Ser Lys Ile Arg Ser Pro Ser Gln Val Ser Ser Ser His Pro Thr
465 470 475 480

Arg Glu Leu Arg Thr Thr Gly Ser Thr Ser Gly Arg Gln Ser Ser Ser
485 490 495

Thr Ala Ala His Gly Ser Ser Asp Ile Leu Arg Ala Thr Thr Ser Ser
500 505 510

Thr Ser Lys Ala Ser Ser Trp Thr Ser Glu Ser Thr Ala Gln Gln Phe
515 520 525

Ser Glu Pro Gln His Thr Gln Trp Val Glu Thr Ser Pro Ser Met Lys
530 535 540

Thr Glu Arg Pro Pro Ala Ser Thr Ser Val Ala Ala Pro Ile Thr Thr
545 550 555 560

Ser Val Pro Ser Val Val Ser Gly Phe Thr Thr Leu Lys Thr Ser Ser
565 570 575

Thr Lys Gly Ile Trp Leu Glu Glu Thr Ser Ala Asp Thr Leu Ile Gly
580 585 590

[0159] Glu Ser Thr Ala Gly Pro Thr Thr His Gln Phe Ala Val Pro Thr Gly
595 600 605

Ile Ser Met Thr Gly Gly Ser Ser Thr Arg Gly Ser Gln Gly Thr Thr
610 615 620

His Leu Leu Thr Arg Ala Thr Ala Ser Ser Glu Thr Ser Ala Asp Leu
625 630 635 640

Thr Leu Ala Thr Asn Gly Val Pro Val Ser Val Ser Pro Ala Val Ser
645 650 655

Lys Thr Ala Ala Gly Ser Ser Pro Pro Gly Gly Thr Lys Pro Ser Tyr
660 665 670

Thr Met Val Ser Ser Val Ile Pro Glu Thr Ser Ser Leu Gln Ser Ser
675 680 685

Ala Phe Arg Glu Gly Thr Ser Leu Gly Leu Thr Pro Leu Asn Thr Arg
690 695 700

His Pro Phe Ser Ser Pro Glu Pro Asp Ser Ala Gly His Thr Lys Ile
705 710 715 720

Ser Thr Ser Ile Pro Leu Leu Ser Ser Ala Ser Val Leu Glu Asp Lys
725 730 735

Val Ser Ala Thr Ser Thr Phe Ser His His Lys Ala Thr Ser Ser Ile
740 745 750

Thr Thr Gly Thr Pro Glu Ile Ser Thr Lys Thr Lys Pro Ser Ser Ala
755 760 765

Val Leu Ser Ser Met Thr Leu Ser Asn Ala Ala Thr Ser Pro Glu Arg
770 775 780

Val Arg Asn Ala Thr Ser Pro Leu Thr His Pro Ser Pro Ser Gly Glu
785 790 795 800

Glu Thr Ala Gly Ser Val Leu Thr Leu Ser Thr Ser Ala Glu Thr Thr
805 810 815

Asp Ser Pro Asn Ile His Pro Thr Gly Thr Leu Thr Ser Glu Ser Ser
820 825 830

Glu Ser Pro Ser Thr Leu Ser Leu Pro Ser Val Ser Gly Val Lys Thr
835 840 845

Thr Phe Ser Ser Ser Thr Pro Ser Thr His Leu Phe Thr Ser Gly Glu
850 855 860

[0160] Glu Thr Glu Glu Thr Ser Asn Pro Ser Val Ser Gln Pro Glu Thr Ser
865 870 875 880

Val Ser Arg Val Arg Thr Thr Leu Ala Ser Thr Ser Val Pro Thr Pro
885 890 895

Val Phe Pro Thr Met Asp Thr Trp Pro Thr Arg Ser Ala Gln Phe Ser
900 905 910

Ser Ser His Leu Val Ser Glu Leu Arg Ala Thr Ser Ser Thr Ser Val
915 920 925

Thr Asn Ser Thr Gly Ser Ala Leu Pro Lys Ile Ser His Leu Thr Gly
930 935 940

Thr Ala Thr Met Ser Gln Thr Asn Arg Asp Thr Phe Asn Asp Ser Ala
945 950 955 960

Ala Pro Gln Ser Thr Thr Trp Pro Glu Thr Ser Pro Arg Phe Lys Thr
965 970 975

Gly Leu Pro Ser Ala Thr Thr Thr Val Ser Thr Ser Ala Thr Ser Leu
980 985 990

Ser Ala Thr Val Met Val Ser Lys Phe Thr Ser Pro Ala Thr Ser Ser
995 1000 1005

Met Glu Ala Thr Ser Ile Arg Glu Pro Ser Thr Thr Ile Leu Thr
1010 1015 1020

Thr Glu Thr Thr Asn Gly Pro Gly Ser Met Ala Val Ala Ser Thr
1025 1030 1035

Asn Ile Pro Ile Gly Lys Gly Tyr Ile Thr Glu Gly Arg Leu Asp
1040 1045 1050

Thr Ser His Leu Pro Ile Gly Thr Thr Ala Ser Ser Glu Thr Ser
1055 1060 1065

Met Asp Phe Thr Met Ala Lys Glu Ser Val Ser Met Ser Val Ser
1070 1075 1080

Pro Ser Gln Ser Met Asp Ala Ala Gly Ser Ser Thr Pro Gly Arg
1085 1090 1095

Thr Ser Gln Phe Val Asp Thr Phe Ser Asp Asp Val Tyr His Leu
1100 1105 1110

Thr Ser Arg Glu Ile Thr Ile Pro Arg Asp Gly Thr Ser Ser Ala
1115 1120 1125

[0161] Leu Thr Pro Gln Met Thr Ala Thr His Pro Pro Ser Pro Asp Pro
1130 1135 1140

Gly Ser Ala Arg Ser Thr Trp Leu Gly Ile Leu Ser Ser Ser Pro
1145 1150 1155

Ser Ser Pro Thr Pro Lys Val Thr Met Ser Ser Thr Phe Ser Thr
1160 1165 1170

Gln Arg Val Thr Thr Ser Met Ile Met Asp Thr Val Glu Thr Ser
1175 1180 1185

Arg Trp Asn Met Pro Asn Leu Pro Ser Thr Thr Ser Leu Thr Pro
1190 1195 1200

Ser Asn Ile Pro Thr Ser Gly Ala Ile Gly Lys Ser Thr Leu Val
1205 1210 1215

Pro Leu Asp Thr Pro Ser Pro Ala Thr Ser Leu Glu Ala Ser Glu
1220 1225 1230

Gly Gly Leu Pro Thr Leu Ser Thr Tyr Pro Glu Ser Thr Asn Thr
1235 1240 1245

Pro Ser Ile His Leu Gly Ala His Ala Ser Ser Glu Ser Pro Ser
1250 1255 1260

Thr Ile Lys Leu Thr Met Ala Ser Val Val Lys Pro Gly Ser Tyr
1265 1270 1275

Thr Pro Leu Thr Phe Pro Ser Ile Glu Thr His Ile His Val Ser
1280 1285 1290

Thr Ala Arg Met Ala Tyr Ser Ser Gly Ser Ser Pro Glu Met Thr
1295 1300 1305

Ala Pro Gly Glu Thr Asn Thr Gly Ser Thr Trp Asp Pro Thr Thr
1310 1315 1320

Tyr Ile Thr Thr Thr Asp Pro Lys Asp Thr Ser Ser Ala Gln Val
1325 1330 1335

Ser Thr Pro His Ser Val Arg Thr Leu Arg Thr Thr Glu Asn His
1340 1345 1350

Pro Lys Thr Glu Ser Ala Thr Pro Ala Ala Tyr Ser Gly Ser Pro
1355 1360 1365

Lys Ile Ser Ser Ser Pro Asn Leu Thr Ser Pro Ala Thr Lys Ala
1370 1375 1380

[0162] Trp Thr Ile Thr Asp Thr Thr Glu His Ser Thr Gln Leu His Tyr
1385 1390 1395

Thr Lys Leu Ala Glu Lys Ser Ser Gly Phe Glu Thr Gln Ser Ala
1400 1405 1410

Pro Gly Pro Val Ser Val Val Ile Pro Thr Ser Pro Thr Ile Gly
1415 1420 1425

Ser Ser Thr Leu Glu Leu Thr Ser Asp Val Pro Gly Glu Pro Leu
1430 1435 1440

Val Leu Ala Pro Ser Glu Gln Thr Thr Ile Thr Leu Pro Met Ala
1445 1450 1455

Thr Trp Leu Ser Thr Ser Leu Thr Glu Glu Met Ala Ser Thr Asp
1460 1465 1470

Leu Asp Ile Ser Ser Pro Ser Ser Pro Met Ser Thr Phe Ala Ile
1475 1480 1485

Phe Pro Pro Met Ser Thr Pro Ser His Glu Leu Ser Lys Ser Glu
1490 1495 1500

Ala Asp Thr Ser Ala Ile Arg Asn Thr Asp Ser Thr Thr Leu Asp
1505 1510 1515

Gln His Leu Gly Ile Arg Ser Leu Gly Arg Thr Gly Asp Leu Thr
1520 1525 1530

Thr Val Pro Ile Thr Pro Leu Thr Thr Thr Trp Thr Ser Val Ile
1535 1540 1545

Glu His Ser Thr Gln Ala Gln Asp Thr Leu Ser Ala Thr Met Ser
1550 1555 1560

Pro Thr His Val Thr Gln Ser Leu Lys Asp Gln Thr Ser Ile Pro
1565 1570 1575

Ala Ser Ala Ser Pro Ser His Leu Thr Glu Val Tyr Pro Glu Leu
1580 1585 1590

Gly Thr Gln Gly Arg Ser Ser Ser Glu Ala Thr Thr Phe Trp Lys
1595 1600 1605

Pro Ser Thr Asp Thr Leu Ser Arg Glu Ile Glu Thr Gly Pro Thr
1610 1615 1620

Asn Ile Gln Ser Thr Pro Pro Met Asp Asn Thr Thr Thr Gly Ser
1625 1630 1635

[0163] Ser Ser Ser Gly Val Thr Leu Gly Ile Ala His Leu Pro Ile Gly
1640 1645 1650

Thr Ser Ser Pro Ala Glu Thr Ser Thr Asn Met Ala Leu Glu Arg
1655 1660 1665

Arg Ser Ser Thr Ala Thr Val Ser Met Ala Gly Thr Met Gly Leu
1670 1675 1680

Leu Val Thr Ser Ala Pro Gly Arg Ser Ile Ser Gln Ser Leu Gly
1685 1690 1695

Arg Val Ser Ser Val Leu Ser Glu Ser Thr Thr Glu Gly Val Thr
1700 1705 1710

Asp Ser Ser Lys Gly Ser Ser Pro Arg Leu Asn Thr Gln Gly Asn
1715 1720 1725

Thr Ala Leu Ser Ser Ser Leu Glu Pro Ser Tyr Ala Glu Gly Ser
1730 1735 1740

Gln Met Ser Thr Ser Ile Pro Leu Thr Ser Ser Pro Thr Thr Pro
1745 1750 1755

Asp Val Glu Phe Ile Gly Gly Ser Thr Phe Trp Thr Lys Glu Val
1760 1765 1770

Thr Thr Val Met Thr Ser Asp Ile Ser Lys Ser Ser Ala Arg Thr
1775 1780 1785

Glu Ser Ser Ser Ala Thr Leu Met Ser Thr Ala Leu Gly Ser Thr
1790 1795 1800

Glu Asn Thr Gly Lys Glu Lys Leu Arg Thr Ala Ser Met Asp Leu
1805 1810 1815

Pro Ser Pro Thr Pro Ser Met Glu Val Thr Pro Trp Ile Ser Leu
1820 1825 1830

Thr Leu Ser Asn Ala Pro Asn Thr Thr Asp Ser Leu Asp Leu Ser
1835 1840 1845

His Gly Val His Thr Ser Ser Ala Gly Thr Leu Ala Thr Asp Arg
1850 1855 1860

Ser Leu Asn Thr Gly Val Thr Arg Ala Ser Arg Leu Glu Asn Gly
1865 1870 1875

Ser Asp Thr Ser Ser Lys Ser Leu Ser Met Gly Asn Ser Thr His
1880 1885 1890

[0164]

Thr Ser Met Thr Tyr Thr Glu Lys Ser Glu Val Ser Ser Ser Ile
1895 1900 1905

His Pro Arg Pro Glu Thr Ser Ala Pro Gly Ala Glu Thr Thr Leu
1910 1915 1920

Thr Ser Thr Pro Gly Asn Arg Ala Ile Ser Leu Thr Leu Pro Phe
1925 1930 1935

Ser Ser Ile Pro Val Glu Glu Val Ile Ser Thr Gly Ile Thr Ser
1940 1945 1950

Gly Pro Asp Ile Asn Ser Ala Pro Met Thr His Ser Pro Ile Thr
1955 1960 1965

Pro Pro Thr Ile Val Trp Thr Ser Thr Gly Thr Ile Glu Gln Ser
1970 1975 1980

Thr Gln Pro Leu His Ala Val Ser Ser Glu Lys Val Ser Val Gln
1985 1990 1995

Thr Gln Ser Thr Pro Tyr Val Asn Ser Val Ala Val Ser Ala Ser
2000 2005 2010

Pro Thr His Glu Asn Ser Val Ser Ser Gly Ser Ser Thr Ser Ser

2015 2020 2025

Pro Tyr Ser Ser Ala Ser Leu Glu Ser Leu Asp Ser Thr Ile Ser
2030 2035 2040

Arg Arg Asn Ala Ile Thr Ser Trp Leu Trp Asp Leu Thr Thr Ser
2045 2050 2055

Leu Pro Thr Thr Thr Trp Pro Ser Thr Ser Leu Ser Glu Ala Leu
2060 2065 2070

Ser Ser Gly His Ser Gly Val Ser Asn Pro Ser Ser Thr Thr Thr
2075 2080 2085

Glu Phe Pro Leu Phe Ser Ala Ala Ser Thr Ser Ala Ala Lys Gln
2090 2095 2100

Arg Asn Pro Glu Thr Glu Thr His Gly Pro Gln Asn Thr Ala Ala
2105 2110 2115

Ser Thr Leu Asn Thr Asp Ala Ser Ser Val Thr Gly Leu Ser Glu
2120 2125 2130

Thr Pro Val Gly Ala Ser Ile Ser Ser Glu Val Pro Leu Pro Met
2135 2140 2145

[0165]

Ala Ile Thr Ser Arg Ser Asp Val Ser Gly Leu Thr Ser Glu Ser
2150 2155 2160

Thr Ala Asn Pro Ser Leu Gly Thr Ala Ser Ser Ala Gly Thr Lys
2165 2170 2175

Leu Thr Arg Thr Ile Ser Leu Pro Thr Ser Glu Ser Leu Val Ser
2180 2185 2190

Phe Arg Met Asn Lys Asp Pro Trp Thr Val Ser Ile Pro Leu Gly
2195 2200 2205

Ser His Pro Thr Thr Asn Thr Glu Thr Ser Ile Pro Val Asn Ser
2210 2215 2220

Ala Gly Pro Pro Gly Leu Ser Thr Val Ala Ser Asp Val Ile Asp
2225 2230 2235

Thr Pro Ser Asp Gly Ala Glu Ser Ile Pro Thr Val Ser Phe Ser
2240 2245 2250

Pro Ser Pro Asp Thr Glu Val Thr Thr Ile Ser His Phe Pro Glu
2255 2260 2265

Lys Thr Thr His Ser Phe Arg Thr Ile Ser Ser Leu Thr His Glu
2270 2275 2280

Leu Thr Ser Arg Val Thr Pro Ile Pro Gly Asp Trp Met Ser Ser
2285 2290 2295

Ala Met Ser Thr Lys Pro Thr Gly Ala Ser Pro Ser Ile Thr Leu
2300 2305 2310

Gly Glu Arg Arg Thr Ile Thr Ser Ala Ala Pro Thr Thr Ser Pro
2315 2320 2325

Ile Val Leu Thr Ala Ser Phe Thr Glu Thr Ser Thr Val Ser Leu
2330 2335 2340

Asp Asn Glu Thr Thr Val Lys Thr Ser Asp Ile Leu Asp Ala Arg
2345 2350 2355

Lys Thr Asn Glu Leu Pro Ser Asp Ser Ser Ser Ser Ser Asp Leu
2360 2365 2370

Ile Asn Thr Ser Ile Ala Ser Ser Thr Met Asp Val Thr Lys Thr
2375 2380 2385

[0166] Ala Ser Ile Ser Pro Thr Ser Ile Ser Gly Met Thr Ala Ser Ser
2390 2395 2400

Ser Pro Ser Leu Phe Ser Ser Asp Arg Pro Gln Val Pro Thr Ser
2405 2410 2415

Thr Thr Glu Thr Asn Thr Ala Thr Ser Pro Ser Val Ser Ser Asn
2420 2425 2430

Thr Tyr Ser Leu Asp Gly Gly Ser Asn Val Gly Gly Thr Pro Ser
2435 2440 2445

Thr Leu Pro Pro Phe Thr Ile Thr His Pro Val Glu Thr Ser Ser
2450 2455 2460

Ala Leu Leu Ala Trp Ser Arg Pro Val Arg Thr Phe Ser Thr Met
2465 2470 2475

Val Ser Thr Asp Thr Ala Ser Gly Glu Asn Pro Thr Ser Ser Asn
2480 2485 2490

Ser Val Val Thr Ser Val Pro Ala Pro Gly Thr Trp Thr Ser Val
2495 2500 2505

Gly Ser Thr Thr Asp Leu Pro Ala Met Gly Phe Leu Lys Thr Ser
2510 2515 2520

Pro Ala Gly Glu Ala His Ser Leu Leu Ala Ser Thr Ile Glu Pro
2525 2530 2535

Ala Thr Ala Phe Thr Pro His Leu Ser Ala Ala Val Val Thr Gly
2540 2545 2550

Ser Ser Ala Thr Ser Glu Ala Ser Leu Leu Thr Thr Ser Glu Ser
2555 2560 2565

Lys Ala Ile His Ser Ser Pro Gln Thr Pro Thr Thr Pro Thr Ser
2570 2575 2580

Gly Ala Asn Trp Glu Thr Ser Ala Thr Pro Glu Ser Leu Leu Val
2585 2590 2595

Val Thr Glu Thr Ser Asp Thr Thr Leu Thr Ser Lys Ile Leu Val
2600 2605 2610

Thr Asp Thr Ile Leu Phe Ser Thr Val Ser Thr Pro Pro Ser Lys
2615 2620 2625

Phe Pro Ser Thr Gly Thr Leu Ser Gly Ala Ser Phe Pro Thr Leu
2630 2635 2640

[0167] Leu Pro Asp Thr Pro Ala Ile Pro Leu Thr Ala Thr Glu Pro Thr
2645 2650 2655

Ser Ser Leu Ala Thr Ser Phe Asp Ser Thr Pro Leu Val Thr Ile
2660 2665 2670

Ala Ser Asp Ser Leu Gly Thr Val Pro Glu Thr Thr Leu Thr Met
2675 2680 2685

Ser Glu Thr Ser Asn Gly Asp Ala Leu Val Leu Lys Thr Val Ser
2690 2695 2700

Asn Pro Asp Arg Ser Ile Pro Gly Ile Thr Ile Gln Gly Val Thr
2705 2710 2715

Glu Ser Pro Leu His Pro Ser Ser Thr Ser Pro Ser Lys Ile Val
2720 2725 2730

Ala Pro Arg Asn Thr Thr Tyr Glu Gly Ser Ile Thr Val Ala Leu
2735 2740 2745

Ser Thr Leu Pro Ala Gly Thr Thr Gly Ser Leu Val Phe Ser Gln
2750 2755 2760

Ser Ser Glu Asn Ser Glu Thr Thr Ala Leu Val Asp Ser Ser Ala
2765 2770 2775

Gly Leu Glu Arg Ala Ser Val Met Pro Leu Thr Thr Gly Ser Gln
2780 2785 2790

Gly Met Ala Ser Ser Gly Gly Ile Arg Ser Gly Ser Thr His Ser
2795 2800 2805

Thr Gly Thr Lys Thr Phe Ser Ser Leu Pro Leu Thr Met Asn Pro
2810 2815 2820

Gly Glu Val Thr Ala Met Ser Glu Ile Thr Thr Asn Arg Leu Thr
2825 2830 2835

Ala Thr Gln Ser Thr Ala Pro Lys Gly Ile Pro Val Lys Pro Thr
2840 2845 2850

Ser Ala Glu Ser Gly Leu Leu Thr Pro Val Ser Ala Ser Ser Ser
2855 2860 2865

Pro Ser Lys Ala Phe Ala Ser Leu Thr Thr Ala Pro Pro Thr Trp
2870 2875 2880

Gly Ile Pro Gln Ser Thr Leu Thr Phe Glu Phe Ser Glu Val Pro
2885 2890 2895

[0168]
Ser Leu Asp Thr Lys Ser Ala Ser Leu Pro Thr Pro Gly Gln Ser
2900 2905 2910

Leu Asn Thr Ile Pro Asp Ser Asp Ala Ser Thr Ala Ser Ser Ser
2915 2920 2925

Leu Ser Lys Ser Pro Glu Lys Asn Pro Arg Ala Arg Met Met Thr
2930 2935 2940

Ser Thr Lys Ala Ile Ser Ala Ser Ser Phe Gln Ser Thr Gly Phe
2945 2950 2955

Thr Glu Thr Pro Glu Gly Ser Ala Ser Pro Ser Met Ala Gly His
2960 2965 2970

Glu Pro Arg Val Pro Thr Ser Gly Thr Gly Asp Pro Arg Tyr Ala
2975 2980 2985

Ser Glu Ser Met Ser Tyr Pro Asp Pro Ser Lys Ala Ser Ser Ala
2990 2995 3000

Met Thr Ser Thr Ser Leu Ala Ser Lys Leu Thr Thr Leu Phe Ser
3005 3010 3015

Thr Gly Gln Ala Ala Arg Ser Gly Ser Ser Ser Ser Pro Ile Ser
3020 3025 3030

Leu Ser Thr Glu Lys Glu Thr Ser Phe Leu Ser Pro Thr Ala Ser
3035 3040 3045

Thr Ser Arg Lys Thr Ser Leu Phe Leu Gly Pro Ser Met Ala Arg
3050 3055 3060

Gln Pro Asn Ile Leu Val His Leu Gln Thr Ser Ala Leu Thr Leu
3065 3070 3075

Ser Pro Thr Ser Thr Leu Asn Met Ser Gln Glu Glu Pro Pro Glu
3080 3085 3090

Leu Thr Ser Ser Gln Thr Ile Ala Glu Glu Glu Gly Thr Thr Ala
3095 3100 3105

Glu Thr Gln Thr Leu Thr Phe Thr Pro Ser Glu Thr Pro Thr Ser
3110 3115 3120

Leu Leu Pro Val Ser Ser Pro Thr Glu Pro Thr Ala Arg Arg Lys
3125 3130 3135

Ser Ser Pro Glu Thr Trp Ala Ser Ser Ile Ser Val Pro Ala Lys
3140 3145 3150

[0169] Thr Ser Leu Val Glu Thr Thr Asp Gly Thr Leu Val Thr Thr Ile
3155 3160 3165

Lys Met Ser Ser Gln Ala Ala Gln Gly Asn Ser Thr Trp Pro Ala
3170 3175 3180

Pro Ala Glu Glu Thr Gly Ser Ser Pro Ala Gly Thr Ser Pro Gly
3185 3190 3195

Ser Pro Glu Met Ser Thr Thr Leu Lys Ile Met Ser Ser Lys Glu
3200 3205 3210

Pro Ser Ile Ser Pro Glu Ile Arg Ser Thr Val Arg Asn Ser Pro
3215 3220 3225

Trp Lys Thr Pro Glu Thr Thr Val Pro Met Glu Thr Thr Val Glu
3230 3235 3240

Pro Val Thr Leu Gln Ser Thr Ala Leu Gly Ser Gly Ser Thr Ser
3245 3250 3255

Ile Ser His Leu Pro Thr Gly Thr Thr Ser Pro Thr Lys Ser Pro
3260 3265 3270

Thr Glu Asn Met Leu Ala Thr Glu Arg Val Ser Leu Ser Pro Ser
3275 3280 3285

Pro Pro Glu Ala Trp Thr Asn Leu Tyr Ser Gly Thr Pro Gly Gly
3290 3295 3300

Thr Arg Gln Ser Leu Ala Thr Met Ser Ser Val Ser Leu Glu Ser
3305 3310 3315

Pro Thr Ala Arg Ser Ile Thr Gly Thr Gly Gln Gln Ser Ser Pro
3320 3325 3330

Glu Leu Val Ser Lys Thr Thr Gly Met Glu Phe Ser Met Trp His
3335 3340 3345

Gly Ser Thr Gly Gly Thr Thr Gly Asp Thr His Val Ser Leu Ser
3350 3355 3360

Thr Ser Ser Asn Ile Leu Glu Asp Pro Val Thr Ser Pro Asn Ser
3365 3370 3375

Val Ser Ser Leu Thr Asp Lys Ser Lys His Lys Thr Glu Thr Trp
3380 3385 3390

Val Ser Thr Thr Ala Ile Pro Ser Thr Val Leu Asn Asn Lys Ile
3395 3400 3405

[0170] Met Ala Ala Glu Gln Gln Thr Ser Arg Ser Val Asp Glu Ala Tyr
3410 3415 3420

Ser Ser Thr Ser Ser Trp Ser Asp Gln Thr Ser Gly Ser Asp Ile
3425 3430 3435

Thr Leu Gly Ala Ser Pro Asp Val Thr Asn Thr Leu Tyr Ile Thr
3440 3445 3450

Ser Thr Ala Gln Thr Thr Ser Leu Val Ser Leu Pro Ser Gly Asp
3455 3460 3465

Gln Gly Ile Thr Ser Leu Thr Asn Pro Ser Gly Gly Lys Thr Ser
3470 3475 3480

Ser Ala Ser Ser Val Thr Ser Pro Ser Ile Gly Leu Glu Thr Leu
3485 3490 3495

Arg Ala Asn Val Ser Ala Val Lys Ser Asp Ile Ala Pro Thr Ala
3500 3505 3510

Gly His Leu Ser Gln Thr Ser Ser Pro Ala Glu Val Ser Ile Leu
3515 3520 3525

Asp Val Thr Thr Ala Pro Thr Pro Gly Ile Ser Thr Thr Ile Thr
3530 3535 3540

Thr Met Gly Thr Asn Ser Ile Ser Thr Thr Thr Pro Asn Pro Glu
3545 3550 3555

Val Gly Met Ser Thr Met Asp Ser Thr Pro Ala Thr Glu Arg Arg
3560 3565 3570

Thr Thr Ser Thr Glu His Pro Ser Thr Trp Ser Ser Thr Ala Ala
3575 3580 3585

Ser Asp Ser Trp Thr Val Thr Asp Met Thr Ser Asn Leu Lys Val
3590 3595 3600

Ala Arg Ser Pro Gly Thr Ile Ser Thr Met His Thr Thr Ser Phe
3605 3610 3615

Leu Ala Ser Ser Thr Glu Leu Asp Ser Met Ser Thr Pro His Gly
3620 3625 3630

Arg Ile Thr Val Ile Gly Thr Ser Leu Val Thr Pro Ser Ser Asp
3635 3640 3645

Ala Ser Ala Val Lys Thr Glu Thr Ser Thr Ser Glu Arg Thr Leu
3650 3655 3660

[0171] Ser Pro Ser Asp Thr Thr Ala Ser Thr Pro Ile Ser Thr Phe Ser
3665 3670 3675

Arg Val Gln Arg Met Ser Ile Ser Val Pro Asp Ile Leu Ser Thr
3680 3685 3690

Ser Trp Thr Pro Ser Ser Thr Glu Ala Glu Asp Val Pro Val Ser
3695 3700 3705

Met Val Ser Thr Asp His Ala Ser Thr Lys Thr Asp Pro Asn Thr
3710 3715 3720

Pro Leu Ser Thr Phe Leu Phe Asp Ser Leu Ser Thr Leu Asp Trp
3725 3730 3735

Asp Thr Gly Arg Ser Leu Ser Ser Ala Thr Ala Thr Thr Ser Ala
3740 3745 3750

Pro Gln Gly Ala Thr Thr Pro Gln Glu Leu Thr Leu Glu Thr Met
3755 3760 3765

Ile Ser Pro Ala Thr Ser Gln Leu Pro Phe Ser Ile Gly His Ile
3770 3775 3780

Thr Ser Ala Val Thr Pro Ala Ala Met Ala Arg Ser Ser Gly Val
3785 3790 3795

Thr Phe Ser Arg Pro Asp Pro Thr Ser Lys Lys Ala Glu Gln Thr
3800 3805 3810

Ser Thr Gln Leu Pro Thr Thr Thr Ser Ala His Pro Gly Gln Val
3815 3820 3825

Pro Arg Ser Ala Ala Thr Thr Leu Asp Val Ile Pro His Thr Ala
3830 3835 3840

Lys Thr Pro Asp Ala Thr Phe Gln Arg Gln Gly Gln Thr Ala Leu
3845 3850 3855

Thr Thr Glu Ala Arg Ala Thr Ser Asp Ser Trp Asn Glu Lys Glu
3860 3865 3870

Lys Ser Thr Pro Ser Ala Pro Trp Ile Thr Glu Met Met Asn Ser
3875 3880 3885

Val Ser Glu Asp Thr Ile Lys Glu Val Thr Ser Ser Ser Ser Val
3890 3895 3900

Leu Arg Thr Leu Asn Thr Leu Asp Ile Asn Leu Glu Ser Gly Thr
3905 3910 3915

[0172] Thr Ser Ser Pro Ser Trp Lys Ser Ser Pro Tyr Glu Arg Ile Ala
3920 3925 3930

Pro Ser Glu Ser Thr Thr Asp Lys Glu Ala Ile His Pro Ser Thr
3935 3940 3945

Asn Thr Val Glu Thr Thr Gly Trp Val Thr Ser Ser Glu His Ala
3950 3955 3960

Ser His Ser Thr Ile Pro Ala His Ser Ala Ser Ser Lys Leu Thr
3965 3970 3975

Ser Pro Val Val Thr Thr Ser Thr Arg Glu Gln Ala Ile Val Ser
3980 3985 3990

Met Ser Thr Thr Thr Trp Pro Glu Ser Thr Arg Ala Arg Thr Glu
3995 4000 4005

Pro Asn Ser Phe Leu Thr Ile Glu Leu Arg Asp Val Ser Pro Tyr
4010 4015 4020

Met Asp Thr Ser Ser Thr Thr Gln Thr Ser Ile Ile Ser Ser Pro
4025 4030 4035

Gly Ser Thr Ala Ile Thr Lys Gly Pro Arg Thr Glu Ile Thr Ser
4040 4045 4050

Ser Lys Arg Ile Ser Ser Ser Phe Leu Ala Gln Ser Met Arg Ser
4055 4060 4065

Ser Asp Ser Pro Ser Glu Ala Ile Thr Arg Leu Ser Asn Phe Pro
4070 4075 4080

Ala Met Thr Glu Ser Gly Gly Met Ile Leu Ala Met Gln Thr Ser
4085 4090 4095

Pro Pro Gly Ala Thr Ser Leu Ser Ala Pro Thr Leu Asp Thr Ser
4100 4105 4110

Ala Thr Ala Ser Trp Thr Gly Thr Pro Leu Ala Thr Thr Gln Arg
4115 4120 4125

Phe Thr Tyr Ser Glu Lys Thr Thr Leu Phe Ser Lys Gly Pro Glu
4130 4135 4140

Asp Thr Ser Gln Pro Ser Pro Pro Ser Val Glu Glu Thr Ser Ser
4145 4150 4155

Ser Ser Ser Leu Val Pro Ile His Ala Thr Thr Ser Pro Ser Asn
4160 4165 4170

[0173]

Ile Leu Leu Thr Ser Gln Gly His Ser Pro Ser Ser Thr Pro Pro
4175 4180 4185

Val Thr Ser Val Phe Leu Ser Glu Thr Ser Gly Leu Gly Lys Thr
4190 4195 4200

Thr Asp Met Ser Arg Ile Ser Leu Glu Pro Gly Thr Ser Leu Pro
4205 4210 4215

Pro Asn Leu Ser Ser Thr Ala Gly Glu Ala Leu Ser Thr Tyr Glu
4220 4225 4230

Ala Ser Arg Asp Thr Lys Ala Ile His His Ser Ala Asp Thr Ala
4235 4240 4245

Val Thr Asn Met Glu Ala Thr Ser Ser Glu Tyr Ser Pro Ile Pro
4250 4255 4260

Gly His Thr Lys Pro Ser Lys Ala Thr Ser Pro Leu Val Thr Ser
4265 4270 4275

His Ile Met Gly Asp Ile Thr Ser Ser Thr Ser Val Phe Gly Ser
4280 4285 4290

Ser Glu Thr Thr Glu Ile Glu Thr Val Ser Ser Val Asn Gln Gly

4295 4300 4305

Leu Gln Glu Arg Ser Thr Ser Gln Val Ala Ser Ser Ala Thr Glu
4310 4315 4320

Thr Ser Thr Val Ile Thr His Val Ser Ser Gly Asp Ala Thr Thr
4325 4330 4335

His Val Thr Lys Thr Gln Ala Thr Phe Ser Ser Gly Thr Ser Ile
4340 4345 4350

Ser Ser Pro His Gln Phe Ile Thr Ser Thr Asn Thr Phe Thr Asp
4355 4360 4365

Val Ser Thr Asn Pro Ser Thr Ser Leu Ile Met Thr Glu Ser Ser
4370 4375 4380

Gly Val Thr Ile Thr Thr Gln Thr Gly Pro Thr Gly Ala Ala Thr
4385 4390 4395

Gln Gly Pro Tyr Leu Leu Asp Thr Ser Thr Met Pro Tyr Leu Thr
4400 4405 4410

Glu Thr Pro Leu Ala Val Thr Pro Asp Phe Met Gln Ser Glu Lys
4415 4420 4425

[0174]

Thr Thr Leu Ile Ser Lys Gly Pro Lys Asp Val Ser Trp Thr Ser
4430 4435 4440

Pro Pro Ser Val Ala Glu Thr Ser Tyr Pro Ser Ser Leu Thr Pro
4445 4450 4455

Phe Leu Val Thr Thr Ile Pro Pro Ala Thr Ser Thr Leu Gln Gly
4460 4465 4470

Gln His Thr Ser Ser Pro Val Ser Ala Thr Ser Val Leu Thr Ser
4475 4480 4485

Gly Leu Val Lys Thr Thr Asp Met Leu Asn Thr Ser Met Glu Pro
4490 4495 4500

Val Thr Asn Ser Pro Gln Asn Leu Asn Asn Pro Ser Asn Glu Ile
4505 4510 4515

Leu Ala Thr Leu Ala Ala Thr Thr Asp Ile Glu Thr Ile His Pro
4520 4525 4530

Ser Ile Asn Lys Ala Val Thr Asn Met Gly Thr Ala Ser Ser Ala
4535 4540 4545

His Val Leu His Ser Thr Leu Pro Val Ser Ser Glu Pro Ser Thr

4550 4555 4560

Ala Thr Ser Pro Met Val Pro Ala Ser Ser Met Gly Asp Ala Leu
4565 4570 4575

Ala Ser Ile Ser Ile Pro Gly Ser Glu Thr Thr Asp Ile Glu Gly
4580 4585 4590

Glu Pro Thr Ser Ser Leu Thr Ala Gly Arg Lys Glu Asn Ser Thr
4595 4600 4605

Leu Gln Glu Met Asn Ser Thr Thr Glu Ser Asn Ile Ile Leu Ser
4610 4615 4620

Asn Val Ser Val Gly Ala Ile Thr Glu Ala Thr Lys Met Glu Val
4625 4630 4635

Pro Ser Phe Asp Ala Thr Phe Ile Pro Thr Pro Ala Gln Ser Thr
4640 4645 4650

Lys Phe Pro Asp Ile Phe Ser Val Ala Ser Ser Arg Leu Ser Asn
4655 4660 4665

Ser Pro Pro Met Thr Ile Ser Thr His Met Thr Thr Thr Gln Thr
4670 4675 4680

[0175]

Gly Ser Ser Gly Ala Thr Ser Lys Ile Pro Leu Ala Leu Asp Thr
4685 4690 4695

Ser Thr Leu Glu Thr Ser Ala Gly Thr Pro Ser Val Val Thr Glu
4700 4705 4710

Gly Phe Ala His Ser Lys Ile Thr Thr Ala Met Asn Asn Asp Val
4715 4720 4725

Lys Asp Val Ser Gln Thr Asn Pro Pro Phe Gln Asp Glu Ala Ser
4730 4735 4740

Ser Pro Ser Ser Gln Ala Pro Val Leu Val Thr Thr Leu Pro Ser
4745 4750 4755

Ser Val Ala Phe Thr Pro Gln Trp His Ser Thr Ser Ser Pro Val
4760 4765 4770

Ser Met Ser Ser Val Leu Thr Ser Ser Leu Val Lys Thr Ala Gly
4775 4780 4785

Lys Val Asp Thr Ser Leu Glu Thr Val Thr Ser Ser Pro Gln Ser
4790 4795 4800

Met Ser Asn Thr Leu Asp Asp Ile Ser Val Thr Ser Ala Ala Thr

4805 4810 4815

Thr Asp Ile Glu Thr Thr His Pro Ser Ile Asn Thr Val Val Thr
4820 4825 4830

Asn Val Gly Thr Thr Gly Ser Ala Phe Glu Ser His Ser Thr Val
4835 4840 4845

Ser Ala Tyr Pro Glu Pro Ser Lys Val Thr Ser Pro Asn Val Thr
4850 4855 4860

Thr Ser Thr Met Glu Asp Thr Thr Ile Ser Arg Ser Ile Pro Lys
4865 4870 4875

Ser Ser Lys Thr Thr Arg Thr Glu Thr Glu Thr Thr Ser Ser Leu
4880 4885 4890

Thr Pro Lys Leu Arg Glu Thr Ser Ile Ser Gln Glu Ile Thr Ser
4895 4900 4905

Ser Thr Glu Thr Ser Thr Val Pro Tyr Lys Glu Leu Thr Gly Ala
4910 4915 4920

Thr Thr Glu Val Ser Arg Thr Asp Val Thr Ser Ser Ser Ser Thr
4925 4930 4935

[0176]

Ser Phe Pro Gly Pro Asp Gln Ser Thr Val Ser Leu Asp Ile Ser
4940 4945 4950

Thr Glu Thr Asn Thr Arg Leu Ser Thr Ser Pro Ile Met Thr Glu
4955 4960 4965

Ser Ala Glu Ile Thr Ile Thr Thr Gln Thr Gly Pro His Gly Ala
4970 4975 4980

Thr Ser Gln Asp Thr Phe Thr Met Asp Pro Ser Asn Thr Thr Pro
4985 4990 4995

Gln Ala Gly Ile His Ser Ala Met Thr His Gly Phe Ser Gln Leu
5000 5005 5010

Asp Val Thr Thr Leu Met Ser Arg Ile Pro Gln Asp Val Ser Trp
5015 5020 5025

Thr Ser Pro Pro Ser Val Asp Lys Thr Ser Ser Pro Ser Ser Phe
5030 5035 5040

Leu Ser Ser Pro Ala Met Thr Thr Pro Ser Leu Ile Ser Ser Thr
5045 5050 5055

Leu Pro Glu Asp Lys Leu Ser Ser Pro Met Thr Ser Leu Leu Thr

5060 5065 5070

Ser Gly Leu Val Lys Ile Thr Asp Ile Leu Arg Thr Arg Leu Glu
5075 5080 5085

Pro Val Thr Ser Ser Leu Pro Asn Phe Ser Ser Thr Ser Asp Lys
5090 5095 5100

Ile Leu Ala Thr Ser Lys Asp Ser Lys Asp Thr Lys Glu Ile Phe
5105 5110 5115

Pro Ser Ile Asn Thr Glu Glu Thr Asn Val Lys Ala Asn Asn Ser
5120 5125 5130

Gly His Glu Ser His Ser Pro Ala Leu Ala Asp Ser Glu Thr Pro
5135 5140 5145

Lys Ala Thr Thr Gln Met Val Ile Thr Thr Thr Val Gly Asp Pro
5150 5155 5160

Ala Pro Ser Thr Ser Met Pro Val His Gly Ser Ser Glu Thr Thr
5165 5170 5175

Asn Ile Lys Arg Glu Pro Thr Tyr Phe Leu Thr Pro Arg Leu Arg
5180 5185 5190

[0177]

Glu Thr Ser Thr Ser Gln Glu Ser Ser Phe Pro Thr Asp Thr Ser
5195 5200 5205

Phe Leu Leu Ser Lys Val Pro Thr Gly Thr Ile Thr Glu Val Ser
5210 5215 5220

Ser Thr Gly Val Asn Ser Ser Ser Lys Ile Ser Thr Pro Asp His
5225 5230 5235

Asp Lys Ser Thr Val Pro Pro Asp Thr Phe Thr Gly Glu Ile Pro
5240 5245 5250

Arg Val Phe Thr Ser Ser Ile Lys Thr Lys Ser Ala Glu Met Thr
5255 5260 5265

Ile Thr Thr Gln Ala Ser Pro Pro Glu Ser Ala Ser His Ser Thr
5270 5275 5280

Leu Pro Leu Asp Thr Ser Thr Thr Leu Ser Gln Gly Gly Thr His
5285 5290 5295

Ser Thr Val Thr Gln Gly Phe Pro Tyr Ser Glu Val Thr Thr Leu
5300 5305 5310

Met Gly Met Gly Pro Gly Asn Val Ser Trp Met Thr Thr Pro Pro

5315 5320 5325

Val Glu Glu Thr Ser Ser Val Ser Ser Leu Met Ser Ser Pro Ala
5330 5335 5340

Met Thr Ser Pro Ser Pro Val Ser Ser Thr Ser Pro Gln Ser Ile
5345 5350 5355

Pro Ser Ser Pro Leu Pro Val Thr Ala Leu Pro Thr Ser Val Leu
5360 5365 5370

Val Thr Thr Thr Asp Val Leu Gly Thr Thr Ser Pro Glu Ser Val
5375 5380 5385

Thr Ser Ser Pro Pro Asn Leu Ser Ser Ile Thr His Glu Arg Pro
5390 5395 5400

Ala Thr Tyr Lys Asp Thr Ala His Thr Glu Ala Ala Met His His
5405 5410 5415

Ser Thr Asn Thr Ala Val Thr Asn Val Gly Thr Ser Gly Ser Gly
5420 5425 5430

His Lys Ser Gln Ser Ser Val Leu Ala Asp Ser Glu Thr Ser Lys
5435 5440 5445

[0178]

Ala Thr Pro Leu Met Ser Thr Thr Ser Thr Leu Gly Asp Thr Ser
5450 5455 5460

Val Ser Thr Ser Thr Pro Asn Ile Ser Gln Thr Asn Gln Ile Gln
5465 5470 5475

Thr Glu Pro Thr Ala Ser Leu Ser Pro Arg Leu Arg Glu Ser Ser
5480 5485 5490

Thr Ser Glu Lys Thr Ser Ser Thr Thr Glu Thr Asn Thr Ala Phe
5495 5500 5505

Ser Tyr Val Pro Thr Gly Ala Ile Thr Gln Ala Ser Arg Thr Glu
5510 5515 5520

Ile Ser Ser Ser Arg Thr Ser Ile Ser Asp Leu Asp Arg Pro Thr
5525 5530 5535

Ile Ala Pro Asp Ile Ser Thr Gly Met Ile Thr Arg Leu Phe Thr
5540 5545 5550

Ser Pro Ile Met Thr Lys Ser Ala Glu Met Thr Val Thr Thr Gln
5555 5560 5565

Thr Thr Thr Pro Gly Ala Thr Ser Gln Gly Ile Leu Pro Trp Asp

5570 5575 5580

Thr Ser Thr Thr Leu Phe Gln Gly Gly Thr His Ser Thr Val Ser
5585 5590 5595

Gln Gly Phe Pro His Ser Glu Ile Thr Thr Leu Arg Ser Arg Thr
5600 5605 5610

Pro Gly Asp Val Ser Trp Met Thr Thr Pro Pro Val Glu Glu Thr
5615 5620 5625

Ser Ser Gly Phe Ser Leu Met Ser Pro Ser Met Thr Ser Pro Ser
5630 5635 5640

Pro Val Ser Ser Thr Ser Pro Glu Ser Ile Pro Ser Ser Pro Leu
5645 5650 5655

Pro Val Thr Ala Leu Leu Thr Ser Val Leu Val Thr Thr Thr Asn
5660 5665 5670

Val Leu Gly Thr Thr Ser Pro Glu Pro Val Thr Ser Ser Pro Pro
5675 5680 5685

Asn Leu Ser Ser Pro Thr Gln Glu Arg Leu Thr Thr Tyr Lys Asp
5690 5695 5700

[0179]

Thr Ala His Thr Glu Ala Met His Ala Ser Met His Thr Asn Thr
5705 5710 5715

Ala Val Ala Asn Val Gly Thr Ser Ile Ser Gly His Glu Ser Gln
5720 5725 5730

Ser Ser Val Pro Ala Asp Ser His Thr Ser Lys Ala Thr Ser Pro
5735 5740 5745

Met Gly Ile Thr Phe Ala Met Gly Asp Thr Ser Val Ser Thr Ser
5750 5755 5760

Thr Pro Ala Phe Phe Glu Thr Arg Ile Gln Thr Glu Ser Thr Ser
5765 5770 5775

Ser Leu Ile Pro Gly Leu Arg Asp Thr Arg Thr Ser Glu Glu Ile
5780 5785 5790

Asn Thr Val Thr Glu Thr Ser Thr Val Leu Ser Glu Val Pro Thr
5795 5800 5805

Thr Thr Thr Thr Glu Val Ser Arg Thr Glu Val Ile Thr Ser Ser
5810 5815 5820

Arg Thr Thr Ile Ser Gly Pro Asp His Ser Lys Met Ser Pro Tyr
5825 5830 5835

Ile Ser Thr Glu Thr Ile Thr Arg Leu Ser Thr Phe Pro Phe Val
5840 5845 5850

Thr Gly Ser Thr Glu Met Ala Ile Thr Asn Gln Thr Gly Pro Ile
5855 5860 5865

Gly Thr Ile Ser Gln Ala Thr Leu Thr Leu Asp Thr Ser Ser Thr
5870 5875 5880

Ala Ser Trp Glu Gly Thr His Ser Pro Val Thr Gln Arg Phe Pro
5885 5890 5895

His Ser Glu Glu Thr Thr Thr Met Ser Arg Ser Thr Lys Gly Val
5900 5905 5910

Ser Trp Gln Ser Pro Pro Ser Val Glu Glu Thr Ser Ser Pro Ser
5915 5920 5925

Ser Pro Val Pro Leu Pro Ala Ile Thr Ser His Ser Ser Leu Tyr
5930 5935 5940

Ser Ala Val Ser Gly Ser Ser Pro Thr Ser Ala Leu Pro Val Thr
[0180] 5945 5950 5955

Ser Leu Leu Thr Ser Gly Arg Arg Lys Thr Ile Asp Met Leu Asp
5960 5965 5970

Thr His Ser Glu Leu Val Thr Ser Ser Leu Pro Ser Ala Ser Ser
5975 5980 5985

Phe Ser Gly Glu Ile Leu Thr Ser Glu Ala Ser Thr Asn Thr Glu
5990 5995 6000

Thr Ile His Phe Ser Glu Asn Thr Ala Glu Thr Asn Met Gly Thr
6005 6010 6015

Thr Asn Ser Met His Lys Leu His Ser Ser Val Ser Ile His Ser
6020 6025 6030

Gln Pro Ser Gly His Thr Pro Pro Lys Val Thr Gly Ser Met Met
6035 6040 6045

Glu Asp Ala Ile Val Ser Thr Ser Thr Pro Gly Ser Pro Glu Thr
6050 6055 6060

Lys Asn Val Asp Arg Asp Ser Thr Ser Pro Leu Thr Pro Glu Leu
6065 6070 6075

Lys Glu Asp Ser Thr Ala Leu Val Met Asn Ser Thr Thr Glu Ser
6080 6085 6090

Asn Thr Val Phe Ser Ser Val Ser Leu Asp Ala Ala Thr Glu Val
6095 6100 6105

Ser Arg Ala Glu Val Thr Tyr Tyr Asp Pro Thr Phe Met Pro Ala
6110 6115 6120

Ser Ala Gln Ser Thr Lys Ser Pro Asp Ile Ser Pro Glu Ala Ser
6125 6130 6135

Ser Ser His Ser Asn Ser Pro Pro Leu Thr Ile Ser Thr His Lys
6140 6145 6150

Thr Ile Ala Thr Gln Thr Gly Pro Ser Gly Val Thr Ser Leu Gly
6155 6160 6165

Gln Leu Thr Leu Asp Thr Ser Thr Ile Ala Thr Ser Ala Gly Thr
6170 6175 6180

Pro Ser Ala Arg Thr Gln Asp Phe Val Asp Ser Glu Thr Thr Ser
6185 6190 6195

[0181] Val Met Asn Asn Asp Leu Asn Asp Val Leu Lys Thr Ser Pro Phe
6200 6205 6210

Ser Ala Glu Glu Ala Asn Ser Leu Ser Ser Gln Ala Pro Leu Leu
6215 6220 6225

Val Thr Thr Ser Pro Ser Pro Val Thr Ser Thr Leu Gln Glu His
6230 6235 6240

Ser Thr Ser Ser Leu Val Ser Val Thr Ser Val Pro Thr Pro Thr
6245 6250 6255

Leu Ala Lys Ile Thr Asp Met Asp Thr Asn Leu Glu Pro Val Thr
6260 6265 6270

Arg Ser Pro Gln Asn Leu Arg Asn Thr Leu Ala Thr Ser Glu Ala
6275 6280 6285

Thr Thr Asp Thr His Thr Met His Pro Ser Ile Asn Thr Ala Val
6290 6295 6300

Ala Asn Val Gly Thr Thr Ser Ser Pro Asn Glu Phe Tyr Phe Thr
6305 6310 6315

Val Ser Pro Asp Ser Asp Pro Tyr Lys Ala Thr Ser Ala Val Val
6320 6325 6330

Ile Thr Ser Thr Ser Gly Asp Ser Ile Val Ser Thr Ser Met Pro
6335 6340 6345

Arg Ser Ser Ala Met Lys Lys Ile Glu Ser Glu Thr Thr Phe Ser
6350 6355 6360

Leu Ile Phe Arg Leu Arg Glu Thr Ser Thr Ser Gln Lys Ile Gly
6365 6370 6375

Ser Ser Ser Asp Thr Ser Thr Val Phe Asp Lys Ala Phe Thr Ala
6380 6385 6390

Ala Thr Thr Glu Val Ser Arg Thr Glu Leu Thr Ser Ser Ser Arg
6395 6400 6405

Thr Ser Ile Gln Gly Thr Glu Lys Pro Thr Met Ser Pro Asp Thr
6410 6415 6420

Ser Thr Arg Ser Val Thr Met Leu Ser Thr Phe Ala Gly Leu Thr
6425 6430 6435

Lys Ser Glu Glu Arg Thr Ile Ala Thr Gln Thr Gly Pro His Arg
6440 6445 6450

[0182] Ala Thr Ser Gln Gly Thr Leu Thr Trp Asp Thr Ser Ile Thr Thr
6455 6460 6465

Ser Gln Ala Gly Thr His Ser Ala Met Thr His Gly Phe Ser Gln
6470 6475 6480

Leu Asp Leu Ser Thr Leu Thr Ser Arg Val Pro Glu Tyr Ile Ser
6485 6490 6495

Gly Thr Ser Pro Pro Ser Val Glu Lys Thr Ser Ser Ser Ser Ser
6500 6505 6510

Leu Leu Ser Leu Pro Ala Ile Thr Ser Pro Ser Pro Val Pro Thr
6515 6520 6525

Thr Leu Pro Glu Ser Arg Pro Ser Ser Pro Val His Leu Thr Ser
6530 6535 6540

Leu Pro Thr Ser Gly Leu Val Lys Thr Thr Asp Met Leu Ala Ser
6545 6550 6555

Val Ala Ser Leu Pro Pro Asn Leu Gly Ser Thr Ser His Lys Ile
6560 6565 6570

Pro Thr Thr Ser Glu Asp Ile Lys Asp Thr Glu Lys Met Tyr Pro
6575 6580 6585

Ser Thr Asn Ile Ala Val Thr Asn Val Gly Thr Thr Thr Ser Glu
6590 6595 6600

Lys Glu Ser Tyr Ser Ser Val Pro Ala Tyr Ser Glu Pro Pro Lys
6605 6610 6615

Val Thr Ser Pro Met Val Thr Ser Phe Asn Ile Arg Asp Thr Ile
6620 6625 6630

Val Ser Thr Ser Met Pro Gly Ser Ser Glu Ile Thr Arg Ile Glu
6635 6640 6645

Met Glu Ser Thr Phe Ser Leu Ala His Gly Leu Lys Gly Thr Ser
6650 6655 6660

Thr Ser Gln Asp Pro Ile Val Ser Thr Glu Lys Ser Ala Val Leu
6665 6670 6675

His Lys Leu Thr Thr Gly Ala Thr Glu Thr Ser Arg Thr Glu Val
6680 6685 6690

Ala Ser Ser Arg Arg Thr Ser Ile Pro Gly Pro Asp His Ser Thr
6695 6700 6705

[0183] Glu Ser Pro Asp Ile Ser Thr Glu Val Ile Pro Ser Leu Pro Ile
6710 6715 6720

Ser Leu Gly Ile Thr Glu Ser Ser Asn Met Thr Ile Ile Thr Arg
6725 6730 6735

Thr Gly Pro Pro Leu Gly Ser Thr Ser Gln Gly Thr Phe Thr Leu
6740 6745 6750

Asp Thr Pro Thr Thr Ser Ser Arg Ala Gly Thr His Ser Met Ala
6755 6760 6765

Thr Gln Glu Phe Pro His Ser Glu Met Thr Thr Val Met Asn Lys
6770 6775 6780

Asp Pro Glu Ile Leu Ser Trp Thr Ile Pro Pro Ser Ile Glu Lys
6785 6790 6795

Thr Ser Phe Ser Ser Ser Leu Met Pro Ser Pro Ala Met Thr Ser
6800 6805 6810

Pro Pro Val Ser Ser Thr Leu Pro Lys Thr Ile His Thr Thr Pro
6815 6820 6825

Ser Pro Met Thr Ser Leu Leu Thr Pro Ser Leu Val Met Thr Thr
6830 6835 6840

Asp Thr Leu Gly Thr Ser Pro Glu Pro Thr Thr Ser Ser Pro Pro
6845 6850 6855

Asn Leu Ser Ser Thr Ser His Glu Ile Leu Thr Thr Asp Glu Asp
6860 6865 6870

Thr Thr Ala Ile Glu Ala Met His Pro Ser Thr Ser Thr Ala Ala
6875 6880 6885

Thr Asn Val Glu Thr Thr Ser Ser Gly His Gly Ser Gln Ser Ser
6890 6895 6900

Val Leu Ala Asp Ser Glu Lys Thr Lys Ala Thr Ala Pro Met Asp
6905 6910 6915

Thr Thr Ser Thr Met Gly His Thr Thr Val Ser Thr Ser Met Ser
6920 6925 6930

Val Ser Ser Glu Thr Thr Lys Ile Lys Arg Glu Ser Thr Tyr Ser
6935 6940 6945

Leu Thr Pro Gly Leu Arg Glu Thr Ser Ile Ser Gln Asn Ala Ser
6950 6955 6960

[0184]

Phe Ser Thr Asp Thr Ser Ile Val Leu Ser Glu Val Pro Thr Gly
6965 6970 6975

Thr Thr Ala Glu Val Ser Arg Thr Glu Val Thr Ser Ser Gly Arg
6980 6985 6990

Thr Ser Ile Pro Gly Pro Ser Gln Ser Thr Val Leu Pro Glu Ile
6995 7000 7005

Ser Thr Arg Thr Met Thr Arg Leu Phe Ala Ser Pro Thr Met Thr
7010 7015 7020

Glu Ser Ala Glu Met Thr Ile Pro Thr Gln Thr Gly Pro Ser Gly
7025 7030 7035

Ser Thr Ser Gln Asp Thr Leu Thr Leu Asp Thr Ser Thr Thr Lys
7040 7045 7050

Ser Gln Ala Lys Thr His Ser Thr Leu Thr Gln Arg Phe Pro His
7055 7060 7065

Ser Glu Met Thr Thr Leu Met Ser Arg Gly Pro Gly Asp Met Ser
7070 7075 7080

Trp Gln Ser Ser Pro Ser Leu Glu Asn Pro Ser Ser Leu Pro Ser
7085 7090 7095

Leu Leu Ser Leu Pro Ala Thr Thr Ser Pro Pro Pro Ile Ser Ser
7100 7105 7110

Thr Leu Pro Val Thr Ile Ser Ser Ser Pro Leu Pro Val Thr Ser
7115 7120 7125

Leu Leu Thr Ser Ser Pro Val Thr Thr Thr Asp Met Leu His Thr
7130 7135 7140

Ser Pro Glu Leu Val Thr Ser Ser Pro Pro Lys Leu Ser His Thr
7145 7150 7155

Ser Asp Glu Arg Leu Thr Thr Gly Lys Asp Thr Thr Asn Thr Glu
7160 7165 7170

Ala Val His Pro Ser Thr Asn Thr Ala Ala Ser Asn Val Glu Ile
7175 7180 7185

Pro Ser Ser Gly His Glu Ser Pro Ser Ser Ala Leu Ala Asp Ser
7190 7195 7200

Glu Thr Ser Lys Ala Thr Ser Pro Met Phe Ile Thr Ser Thr Gln
7205 7210 7215

[0185]

Glu Asp Thr Thr Val Ala Ile Ser Thr Pro His Phe Leu Glu Thr
7220 7225 7230

Ser Arg Ile Gln Lys Glu Ser Ile Ser Ser Leu Ser Pro Lys Leu
7235 7240 7245

Arg Glu Thr Gly Ser Ser Val Glu Thr Ser Ser Ala Ile Glu Thr
7250 7255 7260

Ser Ala Val Leu Ser Glu Val Ser Ile Gly Ala Thr Thr Glu Ile
7265 7270 7275

Ser Arg Thr Glu Val Thr Ser Ser Ser Arg Thr Ser Ile Ser Gly
7280 7285 7290

Ser Ala Glu Ser Thr Met Leu Pro Glu Ile Ser Thr Thr Arg Lys
7295 7300 7305

Ile Ile Lys Phe Pro Thr Ser Pro Ile Leu Ala Glu Ser Ser Glu
7310 7315 7320

Met Thr Ile Lys Thr Gln Thr Ser Pro Pro Gly Ser Thr Ser Glu
7325 7330 7335

Ser Thr Phe Thr Leu Asp Thr Ser Thr Thr Pro Ser Leu Val Ile
7340 7345 7350

Thr His Ser Thr Met Thr Gln Arg Leu Pro His Ser Glu Ile Thr
7355 7360 7365

Thr Leu Val Ser Arg Gly Ala Gly Asp Val Pro Arg Pro Ser Ser
7370 7375 7380

Leu Pro Val Glu Glu Thr Ser Pro Pro Ser Ser Gln Leu Ser Leu
7385 7390 7395

Ser Ala Met Ile Ser Pro Ser Pro Val Ser Ser Thr Leu Pro Ala
7400 7405 7410

Ser Ser His Ser Ser Ser Ala Ser Val Thr Ser Leu Leu Thr Pro
7415 7420 7425

Gly Gln Val Lys Thr Thr Glu Val Leu Asp Ala Ser Ala Glu Pro
7430 7435 7440

Glu Thr Ser Ser Pro Pro Ser Leu Ser Ser Thr Ser Val Glu Ile
7445 7450 7455

Leu Ala Thr Ser Glu Val Thr Thr Asp Thr Glu Lys Ile His Pro
7460 7465 7470

[0186] Phe Ser Asn Thr Ala Val Thr Lys Val Gly Thr Ser Ser Ser Gly
7475 7480 7485

His Glu Ser Pro Ser Ser Val Leu Pro Asp Ser Glu Thr Thr Lys
7490 7495 7500

Ala Thr Ser Ala Met Gly Thr Ile Ser Ile Met Gly Asp Thr Ser
7505 7510 7515

Val Ser Thr Leu Thr Pro Ala Leu Ser Asn Thr Arg Lys Ile Gln
7520 7525 7530

Ser Glu Pro Ala Ser Ser Leu Thr Thr Arg Leu Arg Glu Thr Ser
7535 7540 7545

Thr Ser Glu Glu Thr Ser Leu Ala Thr Glu Ala Asn Thr Val Leu
7550 7555 7560

Ser Lys Val Ser Thr Gly Ala Thr Thr Glu Val Ser Arg Thr Glu
7565 7570 7575

Ala Ile Ser Phe Ser Arg Thr Ser Met Ser Gly Pro Glu Gln Ser
7580 7585 7590

Thr Met Ser Gln Asp Ile Ser Ile Gly Thr Ile Pro Arg Ile Ser
7595 7600 7605

Ala Ser Ser Val Leu Thr Glu Ser Ala Lys Met Thr Ile Thr Thr
7610 7615 7620

Gln Thr Gly Pro Ser Glu Ser Thr Leu Glu Ser Thr Leu Asn Leu
7625 7630 7635

Asn Thr Ala Thr Thr Pro Ser Trp Val Glu Thr His Ser Ile Val
7640 7645 7650

Ile Gln Gly Phe Pro His Pro Glu Met Thr Thr Ser Met Gly Arg
7655 7660 7665

Gly Pro Gly Gly Val Ser Trp Pro Ser Pro Pro Phe Val Lys Glu
7670 7675 7680

Thr Ser Pro Pro Ser Ser Pro Leu Ser Leu Pro Ala Val Thr Ser
7685 7690 7695

Pro His Pro Val Ser Thr Thr Phe Leu Ala His Ile Pro Pro Ser
7700 7705 7710

Pro Leu Pro Val Thr Ser Leu Leu Thr Ser Gly Pro Ala Thr Thr
7715 7720 7725

[0187]

Thr Asp Ile Leu Gly Thr Ser Thr Glu Pro Gly Thr Ser Ser Ser
7730 7735 7740

Ser Ser Leu Ser Thr Thr Ser His Glu Arg Leu Thr Thr Tyr Lys
7745 7750 7755

Asp Thr Ala His Thr Glu Ala Val His Pro Ser Thr Asn Thr Gly
7760 7765 7770

Gly Thr Asn Val Ala Thr Thr Ser Ser Gly Tyr Lys Ser Gln Ser
7775 7780 7785

Ser Val Leu Ala Asp Ser Ser Pro Met Cys Thr Thr Ser Thr Met
7790 7795 7800

Gly Asp Thr Ser Val Leu Thr Ser Thr Pro Ala Phe Leu Glu Thr
7805 7810 7815

Arg Arg Ile Gln Thr Glu Leu Ala Ser Ser Leu Thr Pro Gly Leu
7820 7825 7830

Arg Glu Ser Ser Gly Ser Glu Gly Thr Ser Ser Gly Thr Lys Met
7835 7840 7845

Ser Thr Val Leu Ser Lys Val Pro Thr Gly Ala Thr Thr Glu Ile

7850 7855 7860

Ser Lys Glu Asp Val Thr Ser Ile Pro Gly Pro Ala Gln Ser Thr
7865 7870 7875

Ile Ser Pro Asp Ile Ser Thr Arg Thr Val Ser Trp Phe Ser Thr
7880 7885 7890

Ser Pro Val Met Thr Glu Ser Ala Glu Ile Thr Met Asn Thr His
7895 7900 7905

Thr Ser Pro Leu Gly Ala Thr Thr Gln Gly Thr Ser Thr Leu Asp
7910 7915 7920

Thr Ser Ser Thr Thr Ser Leu Thr Met Thr His Ser Thr Ile Ser
7925 7930 7935

Gln Gly Phe Ser His Ser Gln Met Ser Thr Leu Met Arg Arg Gly
7940 7945 7950

Pro Glu Asp Val Ser Trp Met Ser Pro Pro Leu Leu Glu Lys Thr
7955 7960 7965

[0188]

Arg Pro Ser Phe Ser Leu Met Ser Ser Pro Ala Thr Thr Ser Pro
7970 7975 7980

Ser Pro Val Ser Ser Thr Leu Pro Glu Ser Ile Ser Ser Ser Pro
7985 7990 7995

Leu Pro Val Thr Ser Leu Leu Thr Ser Gly Leu Ala Lys Thr Thr
8000 8005 8010

Asp Met Leu His Lys Ser Ser Glu Pro Val Thr Asn Ser Pro Ala
8015 8020 8025

Asn Leu Ser Ser Thr Ser Val Glu Ile Leu Ala Thr Ser Glu Val
8030 8035 8040

Thr Thr Asp Thr Glu Lys Thr His Pro Ser Ser Asn Arg Thr Val
8045 8050 8055

Thr Asp Val Gly Thr Ser Ser Ser Gly His Glu Ser Thr Ser Phe
8060 8065 8070

Val Leu Ala Asp Ser Gln Thr Ser Lys Val Thr Ser Pro Met Val
8075 8080 8085

Ile Thr Ser Thr Met Glu Asp Thr Ser Val Ser Thr Ser Thr Pro
8090 8095 8100

Gly Phe Phe Glu Thr Ser Arg Ile Gln Thr Glu Pro Thr Ser Ser
8105 8110 8115

Leu Thr Leu Gly Leu Arg Lys Thr Ser Ser Ser Glu Gly Thr Ser
8120 8125 8130

Leu Ala Thr Glu Met Ser Thr Val Leu Ser Gly Val Pro Thr Gly
8135 8140 8145

Ala Thr Ala Glu Val Ser Arg Thr Glu Val Thr Ser Ser Ser Arg
8150 8155 8160

Thr Ser Ile Ser Gly Phe Ala Gln Leu Thr Val Ser Pro Glu Thr
8165 8170 8175

Ser Thr Glu Thr Ile Thr Arg Leu Pro Thr Ser Ser Ile Met Thr
8180 8185 8190

Glu Ser Ala Glu Met Met Ile Lys Thr Gln Thr Asp Pro Pro Gly
8195 8200 8205

Ser Thr Pro Glu Ser Thr His Thr Val Asp Ile Ser Thr Thr Pro
8210 8215 8220

[0189] Asn Trp Val Glu Thr His Ser Thr Val Thr Gln Arg Phe Ser His
8225 8230 8235

Ser Glu Met Thr Thr Leu Val Ser Arg Ser Pro Gly Asp Met Leu
8240 8245 8250

Trp Pro Ser Gln Ser Ser Val Glu Glu Thr Ser Ser Ala Ser Ser
8255 8260 8265

Leu Leu Ser Leu Pro Ala Thr Thr Ser Pro Ser Pro Val Ser Ser
8270 8275 8280

Thr Leu Val Glu Asp Phe Pro Ser Ala Ser Leu Pro Val Thr Ser
8285 8290 8295

Leu Leu Asn Pro Gly Leu Val Ile Thr Thr Asp Arg Met Gly Ile
8300 8305 8310

Ser Arg Glu Pro Gly Thr Ser Ser Thr Ser Asn Leu Ser Ser Thr
8315 8320 8325

Ser His Glu Arg Leu Thr Thr Leu Glu Asp Thr Val Asp Thr Glu
8330 8335 8340

Asp Met Gln Pro Ser Thr His Thr Ala Val Thr Asn Val Arg Thr
8345 8350 8355

Ser Ile Ser Gly His Glu Ser Gln Ser Ser Val Leu Ser Asp Ser
8360 8365 8370

Glu Thr Pro Lys Ala Thr Ser Pro Met Gly Thr Thr Tyr Thr Met
8375 8380 8385

Gly Glu Thr Ser Val Ser Ile Ser Thr Ser Asp Phe Phe Glu Thr
8390 8395 8400

Ser Arg Ile Gln Ile Glu Pro Thr Ser Ser Leu Thr Ser Gly Leu
8405 8410 8415

Arg Glu Thr Ser Ser Ser Glu Arg Ile Ser Ser Ala Thr Glu Gly
8420 8425 8430

Ser Thr Val Leu Ser Glu Val Pro Ser Gly Ala Thr Thr Glu Val
8435 8440 8445

Ser Arg Thr Glu Val Ile Ser Ser Arg Gly Thr Ser Met Ser Gly
8450 8455 8460

Pro Asp Gln Phe Thr Ile Ser Pro Asp Ile Ser Thr Glu Ala Ile
8465 8470 8475

[0190] Thr Arg Leu Ser Thr Ser Pro Ile Met Thr Glu Ser Ala Glu Ser
8480 8485 8490

Ala Ile Thr Ile Glu Thr Gly Ser Pro Gly Ala Thr Ser Glu Gly
8495 8500 8505

Thr Leu Thr Leu Asp Thr Ser Thr Thr Thr Phe Trp Ser Gly Thr
8510 8515 8520

His Ser Thr Ala Ser Pro Gly Phe Ser His Ser Glu Met Thr Thr
8525 8530 8535

Leu Met Ser Arg Thr Pro Gly Asp Val Pro Trp Pro Ser Leu Pro
8540 8545 8550

Ser Val Glu Glu Ala Ser Ser Val Ser Ser Ser Leu Ser Ser Pro
8555 8560 8565

Ala Met Thr Ser Thr Ser Phe Phe Ser Thr Leu Pro Glu Ser Ile
8570 8575 8580

Ser Ser Ser Pro His Pro Val Thr Ala Leu Leu Thr Leu Gly Pro
8585 8590 8595

Val Lys Thr Thr Asp Met Leu Arg Thr Ser Ser Glu Pro Glu Thr
8600 8605 8610

Ser Ser Pro Pro Asn Leu Ser Ser Thr Ser Ala Glu Ile Leu Ala
8615 8620 8625

Thr Ser Glu Val Thr Lys Asp Arg Glu Lys Ile His Pro Ser Ser
8630 8635 8640

Asn Thr Pro Val Val Asn Val Gly Thr Val Ile Tyr Lys His Leu
8645 8650 8655

Ser Pro Ser Ser Val Leu Ala Asp Leu Val Thr Thr Lys Pro Thr
8660 8665 8670

Ser Pro Met Ala Thr Thr Ser Thr Leu Gly Asn Thr Ser Val Ser
8675 8680 8685

Thr Ser Thr Pro Ala Phe Pro Glu Thr Met Met Thr Gln Pro Thr
8690 8695 8700

Ser Ser Leu Thr Ser Gly Leu Arg Glu Ile Ser Thr Ser Gln Glu
8705 8710 8715

Thr Ser Ser Ala Thr Glu Arg Ser Ala Ser Leu Ser Gly Met Pro
8720 8725 8730

[0191] Thr Gly Ala Thr Thr Lys Val Ser Arg Thr Glu Ala Leu Ser Leu
8735 8740 8745

Gly Arg Thr Ser Thr Pro Gly Pro Ala Gln Ser Thr Ile Ser Pro
8750 8755 8760

Glu Ile Ser Thr Glu Thr Ile Thr Arg Ile Ser Thr Pro Leu Thr
8765 8770 8775

Thr Thr Gly Ser Ala Glu Met Thr Ile Thr Pro Lys Thr Gly His
8780 8785 8790

Ser Gly Ala Ser Ser Gln Gly Thr Phe Thr Leu Asp Thr Ser Ser
8795 8800 8805

Arg Ala Ser Trp Pro Gly Thr His Ser Ala Ala Thr His Arg Ser
8810 8815 8820

Pro His Ser Gly Met Thr Thr Pro Met Ser Arg Gly Pro Glu Asp
8825 8830 8835

Val Ser Trp Pro Ser Arg Pro Ser Val Glu Lys Thr Ser Pro Pro
8840 8845 8850

Ser Ser Leu Val Ser Leu Ser Ala Val Thr Ser Pro Ser Pro Leu
8855 8860 8865

Tyr Ser Thr Pro Ser Glu Ser Ser His Ser Ser Pro Leu Arg Val
8870 8875 8880

Thr Ser Leu Phe Thr Pro Val Met Met Lys Thr Thr Asp Met Leu
8885 8890 8895

Asp Thr Ser Leu Glu Pro Val Thr Thr Ser Pro Pro Ser Met Asn
8900 8905 8910

Ile Thr Ser Asp Glu Ser Leu Ala Thr Ser Lys Ala Thr Met Glu
8915 8920 8925

Thr Glu Ala Ile Gln Leu Ser Glu Asn Thr Ala Val Thr Gln Met
8930 8935 8940

Gly Thr Ile Ser Ala Arg Gln Glu Phe Tyr Ser Ser Tyr Pro Gly
8945 8950 8955

Leu Pro Glu Pro Ser Lys Val Thr Ser Pro Val Val Thr Ser Ser
8960 8965 8970

Thr Ile Lys Asp Ile Val Ser Thr Thr Ile Pro Ala Ser Ser Glu
8975 8980 8985

[0192] Ile Thr Arg Ile Glu Met Glu Ser Thr Ser Thr Leu Thr Pro Thr
8990 8995 9000

Pro Arg Glu Thr Ser Thr Ser Gln Glu Ile His Ser Ala Thr Lys
9005 9010 9015

Pro Ser Thr Val Pro Tyr Lys Ala Leu Thr Ser Ala Thr Ile Glu
9020 9025 9030

Asp Ser Met Thr Gln Val Met Ser Ser Ser Arg Gly Pro Ser Pro
9035 9040 9045

Asp Gln Ser Thr Met Ser Gln Asp Ile Ser Thr Glu Val Ile Thr
9050 9055 9060

Arg Leu Ser Thr Ser Pro Ile Lys Thr Glu Ser Thr Glu Met Thr
9065 9070 9075

Ile Thr Thr Gln Thr Gly Ser Pro Gly Ala Thr Ser Arg Gly Thr
9080 9085 9090

Leu Thr Leu Asp Thr Ser Thr Thr Phe Met Ser Gly Thr His Ser
9095 9100 9105

Thr Ala Ser Gln Gly Phe Ser His Ser Gln Met Thr Ala Leu Met
9110 9115 9120

Ser Arg Thr Pro Gly Asp Val Pro Trp Leu Ser His Pro Ser Val
9125 9130 9135

Glu Glu Ala Ser Ser Ala Ser Phe Ser Leu Ser Ser Pro Val Met
9140 9145 9150

Thr Ser Ser Ser Pro Val Ser Ser Thr Leu Pro Asp Ser Ile His
9155 9160 9165

Ser Ser Ser Leu Pro Val Thr Ser Leu Leu Thr Ser Gly Leu Val
9170 9175 9180

Lys Thr Thr Glu Leu Leu Gly Thr Ser Ser Glu Pro Glu Thr Ser
9185 9190 9195

Ser Pro Pro Asn Leu Ser Ser Thr Ser Ala Glu Ile Leu Ala Ile
9200 9205 9210

Thr Glu Val Thr Thr Asp Thr Glu Lys Leu Glu Met Thr Asn Val
9215 9220 9225

Val Thr Ser Gly Tyr Thr His Glu Ser Pro Ser Ser Val Leu Ala
9230 9235 9240

[0193] Asp Ser Val Thr Thr Lys Ala Thr Ser Ser Met Gly Ile Thr Tyr
9245 9250 9255

Pro Thr Gly Asp Thr Asn Val Leu Thr Ser Thr Pro Ala Phe Ser
9260 9265 9270

Asp Thr Ser Arg Ile Gln Thr Lys Ser Lys Leu Ser Leu Thr Pro
9275 9280 9285

Gly Leu Met Glu Thr Ser Ile Ser Glu Glu Thr Ser Ser Ala Thr
9290 9295 9300

Glu Lys Ser Thr Val Leu Ser Ser Val Pro Thr Gly Ala Thr Thr
9305 9310 9315

Glu Val Ser Arg Thr Glu Ala Ile Ser Ser Ser Arg Thr Ser Ile
9320 9325 9330

Pro Gly Pro Ala Gln Ser Thr Met Ser Ser Asp Thr Ser Met Glu
9335 9340 9345

Thr Ile Thr Arg Ile Ser Thr Pro Leu Thr Arg Lys Glu Ser Thr
9350 9355 9360

Asp Met Ala Ile Thr Pro Lys Thr Gly Pro Ser Gly Ala Thr Ser
9365 9370 9375

Gln Gly Thr Phe Thr Leu Asp Ser Ser Ser Thr Ala Ser Trp Pro
9380 9385 9390

Gly Thr His Ser Ala Thr Thr Gln Arg Phe Pro Gln Ser Val Val
9395 9400 9405

Thr Thr Pro Met Ser Arg Gly Pro Glu Asp Val Ser Trp Pro Ser
9410 9415 9420

Pro Leu Ser Val Glu Lys Asn Ser Pro Pro Ser Ser Leu Val Ser
9425 9430 9435

Ser Ser Ser Val Thr Ser Pro Ser Pro Leu Tyr Ser Thr Pro Ser
9440 9445 9450

Gly Ser Ser His Ser Ser Pro Val Pro Val Thr Ser Leu Phe Thr
9455 9460 9465

Ser Ile Met Met Lys Ala Thr Asp Met Leu Asp Ala Ser Leu Glu
9470 9475 9480

Pro Glu Thr Thr Ser Ala Pro Asn Met Asn Ile Thr Ser Asp Glu
9485 9490 9495

Ser Leu Ala Ala Ser Lys Ala Thr Thr Glu Thr Glu Ala Ile His
[0194] 9500 9505 9510

Val Phe Glu Asn Thr Ala Ala Ser His Val Glu Thr Thr Ser Ala
9515 9520 9525

Thr Glu Glu Leu Tyr Ser Ser Ser Pro Gly Phe Ser Glu Pro Thr
9530 9535 9540

Lys Val Ile Ser Pro Val Val Thr Ser Ser Ser Ile Arg Asp Asn
9545 9550 9555

Met Val Ser Thr Thr Met Pro Gly Ser Ser Gly Ile Thr Arg Ile
9560 9565 9570

Glu Ile Glu Ser Met Ser Ser Leu Thr Pro Gly Leu Arg Glu Thr
9575 9580 9585

Arg Thr Ser Gln Asp Ile Thr Ser Ser Thr Glu Thr Ser Thr Val
9590 9595 9600

Leu Tyr Lys Met Pro Ser Gly Ala Thr Pro Glu Val Ser Arg Thr
9605 9610 9615

Glu Val Met Pro Ser Ser Arg Thr Ser Ile Pro Gly Pro Ala Gln
9620 9625 9630

Ser Thr Met Ser Leu Asp Ile Ser Asp Glu Val Val Thr Arg Leu
9635 9640 9645

Ser Thr Ser Pro Ile Met Thr Glu Ser Ala Glu Ile Thr Ile Thr
9650 9655 9660

Thr Gln Thr Gly Tyr Ser Leu Ala Thr Ser Gln Val Thr Leu Pro
9665 9670 9675

Leu Gly Thr Ser Met Thr Phe Leu Ser Gly Thr His Ser Thr Met
9680 9685 9690

Ser Gln Gly Leu Ser His Ser Glu Met Thr Asn Leu Met Ser Arg
9695 9700 9705

Gly Pro Glu Ser Leu Ser Trp Thr Ser Pro Arg Phe Val Glu Thr
9710 9715 9720

Thr Arg Ser Ser Ser Ser Leu Thr Ser Leu Pro Leu Thr Thr Ser
9725 9730 9735

Leu Ser Pro Val Ser Ser Thr Leu Leu Asp Ser Ser Pro Ser Ser
9740 9745 9750

[0195]

Pro Leu Pro Val Thr Ser Leu Ile Leu Pro Gly Leu Val Lys Thr
9755 9760 9765

Thr Glu Val Leu Asp Thr Ser Ser Glu Pro Lys Thr Ser Ser Ser
9770 9775 9780

Pro Asn Leu Ser Ser Thr Ser Val Glu Ile Pro Ala Thr Ser Glu
9785 9790 9795

Ile Met Thr Asp Thr Glu Lys Ile His Pro Ser Ser Asn Thr Ala
9800 9805 9810

Val Ala Lys Val Arg Thr Ser Ser Ser Val His Glu Ser His Ser
9815 9820 9825

Ser Val Leu Ala Asp Ser Glu Thr Thr Ile Thr Ile Pro Ser Met
9830 9835 9840

Gly Ile Thr Ser Ala Val Asp Asp Thr Thr Val Phe Thr Ser Asn
9845 9850 9855

Pro Ala Phe Ser Glu Thr Arg Arg Ile Pro Thr Glu Pro Thr Phe
9860 9865 9870

Ser Leu Thr Pro Gly Phe Arg Glu Thr Ser Thr Ser Glu Glu Thr

9875 9880 9885

Thr Ser Ile Thr Glu Thr Ser Ala Val Leu Tyr Gly Val Pro Thr
9890 9895 9900

Ser Ala Thr Thr Glu Val Ser Met Thr Glu Ile Met Ser Ser Asn
9905 9910 9915

Arg Ile His Ile Pro Asp Ser Asp Gln Ser Thr Met Ser Pro Asp
9920 9925 9930

Ile Ile Thr Glu Val Ile Thr Arg Leu Ser Ser Ser Ser Met Met
9935 9940 9945

Ser Glu Ser Thr Gln Met Thr Ile Thr Thr Gln Lys Ser Ser Pro
9950 9955 9960

Gly Ala Thr Ala Gln Ser Thr Leu Thr Leu Ala Thr Thr Thr Ala
9965 9970 9975

Pro Leu Ala Arg Thr His Ser Thr Val Pro Pro Arg Phe Leu His
9980 9985 9990

Ser Glu Met Thr Thr Leu Met Ser Arg Ser Pro Glu Asn Pro Ser
9995 10000 10005

[0196]

Trp Lys Ser Ser Leu Phe Val Glu Lys Thr Ser Ser Ser Ser Ser
10010 10015 10020

Leu Leu Ser Leu Pro Val Thr Thr Ser Pro Ser Val Ser Ser Thr
10025 10030 10035

Leu Pro Gln Ser Ile Pro Ser Ser Ser Phe Ser Val Thr Ser Leu
10040 10045 10050

Leu Thr Pro Gly Met Val Lys Thr Thr Asp Thr Ser Thr Glu Pro
10055 10060 10065

Gly Thr Ser Leu Ser Pro Asn Leu Ser Gly Thr Ser Val Glu Ile
10070 10075 10080

Leu Ala Ala Ser Glu Val Thr Thr Asp Thr Glu Lys Ile His Pro
10085 10090 10095

Ser Ser Ser Met Ala Val Thr Asn Val Gly Thr Thr Ser Ser Gly
10100 10105 10110

His Glu Leu Tyr Ser Ser Val Ser Ile His Ser Glu Pro Ser Lys
10115 10120 10125

Ala Thr Tyr Pro Val Gly Thr Pro Ser Ser Met Ala Glu Thr Ser
10130 10135 10140

Ile Ser Thr Ser Met Pro Ala Asn Phe Glu Thr Thr Gly Phe Glu
10145 10150 10155

Ala Glu Pro Phe Ser His Leu Thr Ser Gly Phe Arg Lys Thr Asn
10160 10165 10170

Met Ser Leu Asp Thr Ser Ser Val Thr Pro Thr Asn Thr Pro Ser
10175 10180 10185

Ser Pro Gly Ser Thr His Leu Leu Gln Ser Ser Lys Thr Asp Phe
10190 10195 10200

Thr Ser Ser Ala Lys Thr Ser Ser Pro Asp Trp Pro Pro Ala Ser
10205 10210 10215

Gln Tyr Thr Glu Ile Pro Val Asp Ile Ile Thr Pro Phe Asn Ala
10220 10225 10230

Ser Pro Ser Ile Thr Glu Ser Thr Gly Ile Thr Ser Phe Pro Glu
10235 10240 10245

[0197]

Ser Arg Phe Thr Met Ser Val Thr Glu Ser Thr His His Leu Ser
10250 10255 10260

Thr Asp Leu Leu Pro Ser Ala Glu Thr Ile Ser Thr Gly Thr Val
10265 10270 10275

Met Pro Ser Leu Ser Glu Ala Met Thr Ser Phe Ala Thr Thr Gly
10280 10285 10290

Val Pro Arg Ala Ile Ser Gly Ser Gly Ser Pro Phe Ser Arg Thr
10295 10300 10305

Glu Ser Gly Pro Gly Asp Ala Thr Leu Ser Thr Ile Ala Glu Ser
10310 10315 10320

Leu Pro Ser Ser Thr Pro Val Pro Phe Ser Ser Ser Thr Phe Thr
10325 10330 10335

Thr Thr Asp Ser Ser Thr Ile Pro Ala Leu His Glu Ile Thr Ser
10340 10345 10350

Ser Ser Ala Thr Pro Tyr Arg Val Asp Thr Ser Leu Gly Thr Glu
10355 10360 10365

Ser Ser Thr Thr Glu Gly Arg Leu Val Met Val Ser Thr Leu Asp
10370 10375 10380

Thr Ser Ser Gln Pro Gly Arg Thr Ser Ser Ser Pro Ile Leu Asp
10385 10390 10395

Thr Arg Met Thr Glu Ser Val Glu Leu Gly Thr Val Thr Ser Ala
10400 10405 10410

Tyr Gln Val Pro Ser Leu Ser Thr Arg Leu Thr Arg Thr Asp Gly
10415 10420 10425

Ile Met Glu His Ile Thr Lys Ile Pro Asn Glu Ala Ala His Arg
10430 10435 10440

Gly Thr Ile Arg Pro Val Lys Gly Pro Gln Thr Ser Thr Ser Pro
10445 10450 10455

Ala Ser Pro Lys Gly Leu His Thr Gly Gly Thr Lys Arg Met Glu
10460 10465 10470

Thr Thr Thr Thr Ala Leu Lys Thr Thr Thr Thr Ala Leu Lys Thr
10475 10480 10485

Thr Ser Arg Ala Thr Leu Thr Thr Ser Val Tyr Thr Pro Thr Leu
10490 10495 10500

[0198] Gly Thr Leu Thr Pro Leu Asn Ala Ser Met Gln Met Ala Ser Thr
10505 10510 10515

Ile Pro Thr Glu Met Met Ile Thr Thr Pro Tyr Val Phe Pro Asp
10520 10525 10530

Val Pro Glu Thr Thr Ser Ser Leu Ala Thr Ser Leu Gly Ala Glu
10535 10540 10545

Thr Ser Thr Ala Leu Pro Arg Thr Thr Pro Ser Val Phe Asn Arg
10550 10555 10560

Glu Ser Glu Thr Thr Ala Ser Leu Val Ser Arg Ser Gly Ala Glu
10565 10570 10575

Arg Ser Pro Val Ile Gln Thr Leu Asp Val Ser Ser Ser Glu Pro
10580 10585 10590

Asp Thr Thr Ala Ser Trp Val Ile His Pro Ala Glu Thr Ile Pro
10595 10600 10605

Thr Val Ser Lys Thr Thr Pro Asn Phe Phe His Ser Glu Leu Asp
10610 10615 10620

Thr Val Ser Ser Thr Ala Thr Ser His Gly Ala Asp Val Ser Ser
10625 10630 10635

Ala Ile Pro Thr Asn Ile Ser Pro Ser Glu Leu Asp Ala Leu Thr
10640 10645 10650

Pro Leu Val Thr Ile Ser Gly Thr Asp Thr Ser Thr Thr Phe Pro
10655 10660 10665

Thr Leu Thr Lys Ser Pro His Glu Thr Glu Thr Arg Thr Thr Trp
10670 10675 10680

Leu Thr His Pro Ala Glu Thr Ser Ser Thr Ile Pro Arg Thr Ile
10685 10690 10695

Pro Asn Phe Ser His His Glu Ser Asp Ala Thr Pro Ser Ile Ala
10700 10705 10710

Thr Ser Pro Gly Ala Glu Thr Ser Ser Ala Ile Pro Ile Met Thr
10715 10720 10725

Val Ser Pro Gly Ala Glu Asp Leu Val Thr Ser Gln Val Thr Ser
10730 10735 10740

Ser Gly Thr Asp Arg Asn Met Thr Ile Pro Thr Leu Thr Leu Ser
10745 10750 10755

[0199]

Pro Gly Glu Pro Lys Thr Ile Ala Ser Leu Val Thr His Pro Glu
10760 10765 10770

Ala Gln Thr Ser Ser Ala Ile Pro Thr Ser Thr Ile Ser Pro Ala
10775 10780 10785

Val Ser Arg Leu Val Thr Ser Met Val Thr Ser Leu Ala Ala Lys
10790 10795 10800

Thr Ser Thr Thr Asn Arg Ala Leu Thr Asn Ser Pro Gly Glu Pro
10805 10810 10815

Ala Thr Thr Val Ser Leu Val Thr His Pro Ala Gln Thr Ser Pro
10820 10825 10830

Thr Val Pro Trp Thr Thr Ser Ile Phe Phe His Ser Lys Ser Asp
10835 10840 10845

Thr Thr Pro Ser Met Thr Thr Ser His Gly Ala Glu Ser Ser Ser
10850 10855 10860

Ala Val Pro Thr Pro Thr Val Ser Thr Glu Val Pro Gly Val Val
10865 10870 10875

Thr Pro Leu Val Thr Ser Ser Arg Ala Val Ile Ser Thr Thr Ile
10880 10885 10890

Pro Ile Leu Thr Leu Ser Pro Gly Glu Pro Glu Thr Thr Pro Ser
10895 10900 10905

Met Ala Thr Ser His Gly Glu Glu Ala Ser Ser Ala Ile Pro Thr
10910 10915 10920

Pro Thr Val Ser Pro Gly Val Pro Gly Val Val Thr Ser Leu Val
10925 10930 10935

Thr Ser Ser Arg Ala Val Thr Ser Thr Thr Ile Pro Ile Leu Thr
10940 10945 10950

Phe Ser Leu Gly Glu Pro Glu Thr Thr Pro Ser Met Ala Thr Ser
10955 10960 10965

His Gly Thr Glu Ala Gly Ser Ala Val Pro Thr Val Leu Pro Glu
10970 10975 10980

Val Pro Gly Met Val Thr Ser Leu Val Ala Ser Ser Arg Ala Val
10985 10990 10995

Thr Ser Thr Thr Leu Pro Thr Leu Thr Leu Ser Pro Gly Glu Pro
11000 11005 11010

Glu Thr Thr Pro Ser Met Ala Thr Ser His Gly Ala Glu Ala Ser
[0200] 11015 11020 11025

Ser Thr Val Pro Thr Val Ser Pro Glu Val Pro Gly Val Val Thr
11030 11035 11040

Ser Leu Val Thr Ser Ser Ser Gly Val Asn Ser Thr Ser Ile Pro
11045 11050 11055

Thr Leu Ile Leu Ser Pro Gly Glu Leu Glu Thr Thr Pro Ser Met
11060 11065 11070

Ala Thr Ser His Gly Ala Glu Ala Ser Ser Ala Val Pro Thr Pro
11075 11080 11085

Thr Val Ser Pro Gly Val Ser Gly Val Val Thr Pro Leu Val Thr
11090 11095 11100

Ser Ser Arg Ala Val Thr Ser Thr Thr Ile Pro Ile Leu Thr Leu
11105 11110 11115

Ser Ser Ser Glu Pro Glu Thr Thr Pro Ser Met Ala Thr Ser His
11120 11125 11130

Gly Val Glu Ala Ser Ser Ala Val Leu Thr Val Ser Pro Glu Val
11135 11140 11145

Pro Gly Met Val Thr Ser Leu Val Thr Ser Ser Arg Ala Val Thr
11150 11155 11160

Ser Thr Thr Ile Pro Thr Leu Thr Ile Ser Ser Asp Glu Pro Glu
11165 11170 11175

Thr Thr Thr Ser Leu Val Thr His Ser Glu Ala Lys Met Ile Ser
11180 11185 11190

Ala Ile Pro Thr Leu Ala Val Ser Pro Thr Val Gln Gly Leu Val
11195 11200 11205

Thr Ser Leu Val Thr Ser Ser Gly Ser Glu Thr Ser Ala Phe Ser
11210 11215 11220

Asn Leu Thr Val Ala Ser Ser Gln Pro Glu Thr Ile Asp Ser Trp
11225 11230 11235

Val Ala His Pro Gly Thr Glu Ala Ser Ser Val Val Pro Thr Leu
11240 11245 11250

Thr Val Ser Thr Gly Glu Pro Phe Thr Asn Ile Ser Leu Val Thr
11255 11260 11265

[0201] His Pro Ala Glu Ser Ser Ser Thr Leu Pro Arg Thr Thr Ser Arg
11270 11275 11280

Phe Ser His Ser Glu Leu Asp Thr Met Pro Ser Thr Val Thr Ser
11285 11290 11295

Pro Glu Ala Glu Ser Ser Ser Ala Ile Ser Thr Thr Ile Ser Pro
11300 11305 11310

Gly Ile Pro Gly Val Leu Thr Ser Leu Val Thr Ser Ser Gly Arg
11315 11320 11325

Asp Ile Ser Ala Thr Phe Pro Thr Val Pro Glu Ser Pro His Glu
11330 11335 11340

Ser Glu Ala Thr Ala Ser Trp Val Thr His Pro Ala Val Thr Ser
11345 11350 11355

Thr Thr Val Pro Arg Thr Thr Pro Asn Tyr Ser His Ser Glu Pro
11360 11365 11370

Asp Thr Thr Pro Ser Ile Ala Thr Ser Pro Gly Ala Glu Ala Thr
11375 11380 11385

Ser Asp Phe Pro Thr Ile Thr Val Ser Pro Asp Val Pro Asp Met
11390 11395 11400

Val Thr Ser Gln Val Thr Ser Ser Gly Thr Asp Thr Ser Ile Thr
11405 11410 11415

Ile Pro Thr Leu Thr Leu Ser Ser Gly Glu Pro Glu Thr Thr Thr
11420 11425 11430

Ser Phe Ile Thr Tyr Ser Glu Thr His Thr Ser Ser Ala Ile Pro
11435 11440 11445

Thr Leu Pro Val Ser Pro Gly Ala Ser Lys Met Leu Thr Ser Leu
11450 11455 11460

Val Ile Ser Ser Gly Thr Asp Ser Thr Thr Thr Phe Pro Thr Leu
11465 11470 11475

Thr Glu Thr Pro Tyr Glu Pro Glu Thr Thr Ala Ile Gln Leu Ile
11480 11485 11490

His Pro Ala Glu Thr Asn Thr Met Val Pro Arg Thr Thr Pro Lys
11495 11500 11505

Phe Ser His Ser Lys Ser Asp Thr Thr Leu Pro Val Ala Ile Thr
11510 11515 11520

[0202] Ser Pro Gly Pro Glu Ala Ser Ser Ala Val Ser Thr Thr Thr Ile
11525 11530 11535

Ser Pro Asp Met Ser Asp Leu Val Thr Ser Leu Val Pro Ser Ser
11540 11545 11550

Gly Thr Asp Thr Ser Thr Thr Phe Pro Thr Leu Ser Glu Thr Pro
11555 11560 11565

Tyr Glu Pro Glu Thr Thr Ala Thr Trp Leu Thr His Pro Ala Glu
11570 11575 11580

Thr Ser Thr Thr Val Ser Gly Thr Ile Pro Asn Phe Ser His Arg
11585 11590 11595

Gly Ser Asp Thr Ala Pro Ser Met Val Thr Ser Pro Gly Val Asp
11600 11605 11610

Thr Arg Ser Gly Val Pro Thr Thr Thr Ile Pro Pro Ser Ile Pro
11615 11620 11625

Gly Val Val Thr Ser Gln Val Thr Ser Ser Ala Thr Asp Thr Ser
11630 11635 11640

Thr Ala Ile Pro Thr Leu Thr Pro Ser Pro Gly Glu Pro Glu Thr
11645 11650 11655

Thr Ala Ser Ser Ala Thr His Pro Gly Thr Gln Thr Gly Phe Thr
11660 11665 11670

Val Pro Ile Arg Thr Val Pro Ser Ser Glu Pro Asp Thr Met Ala
11675 11680 11685

Ser Trp Val Thr His Pro Pro Gln Thr Ser Thr Pro Val Ser Arg
11690 11695 11700

Thr Thr Ser Ser Phe Ser His Ser Ser Pro Asp Ala Thr Pro Val
11705 11710 11715

Met Ala Thr Ser Pro Arg Thr Glu Ala Ser Ser Ala Val Leu Thr
11720 11725 11730

Thr Ile Ser Pro Gly Ala Pro Glu Met Val Thr Ser Gln Ile Thr
11735 11740 11745

Ser Ser Gly Ala Ala Thr Ser Thr Thr Val Pro Thr Leu Thr His
11750 11755 11760

Ser Pro Gly Met Pro Glu Thr Thr Ala Leu Leu Ser Thr His Pro
11765 11770 11775

[0203] Arg Thr Glu Thr Ser Lys Thr Phe Pro Ala Ser Thr Val Phe Pro
11780 11785 11790

Gln Val Ser Glu Thr Thr Ala Ser Leu Thr Ile Arg Pro Gly Ala
11795 11800 11805

Glu Thr Ser Thr Ala Leu Pro Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Phe
11810 11815 11820

Thr Leu Leu Val Thr Gly Thr Ser Arg Val Asp Leu Ser Pro Thr
11825 11830 11835

Ala Ser Pro Gly Val Ser Ala Lys Thr Ala Pro Leu Ser Thr His
11840 11845 11850

Pro Gly Thr Glu Thr Ser Thr Met Ile Pro Thr Ser Thr Leu Ser
11855 11860 11865

Leu Gly Leu Leu Glu Thr Thr Gly Leu Leu Ala Thr Ser Ser Ser
11870 11875 11880

Ala Glu Thr Ser Thr Ser Thr Leu Thr Leu Thr Val Ser Pro Ala
11885 11890 11895

Val Ser Gly Leu Ser Ser Ala Ser Ile Thr Thr Asp Lys Pro Gln
11900 11905 11910

Thr Val Thr Ser Trp Asn Thr Glu Thr Ser Pro Ser Val Thr Ser
11915 11920 11925

Val Gly Pro Pro Glu Phe Ser Arg Thr Val Thr Gly Thr Thr Met
11930 11935 11940

Thr Leu Ile Pro Ser Glu Met Pro Thr Pro Pro Lys Thr Ser His
11945 11950 11955

Gly Glu Gly Val Ser Pro Thr Thr Ile Leu Arg Thr Thr Met Val
11960 11965 11970

Glu Ala Thr Asn Leu Ala Thr Thr Gly Ser Ser Pro Thr Val Ala
11975 11980 11985

Lys Thr Thr Thr Thr Phe Asn Thr Leu Ala Gly Ser Leu Phe Thr
11990 11995 12000

Pro Leu Thr Thr Pro Gly Met Ser Thr Leu Ala Ser Glu Ser Val
12005 12010 12015

Thr Ser Arg Thr Ser Tyr Asn His Arg Ser Trp Ile Ser Thr Thr
12020 12025 12030

[0204]

Ser Ser Tyr Asn Arg Arg Tyr Trp Thr Pro Ala Thr Ser Thr Pro
12035 12040 12045

Val Thr Ser Thr Phe Ser Pro Gly Ile Ser Thr Ser Ser Ile Pro
12050 12055 12060

Ser Ser Thr Ala Ala Thr Val Pro Phe Met Val Pro Phe Thr Leu
12065 12070 12075

Asn Phe Thr Ile Thr Asn Leu Gln Tyr Glu Glu Asp Met Arg His
12080 12085 12090

Pro Gly Ser Arg Lys Phe Asn Ala Thr Glu Arg Glu Leu Gln Gly
12095 12100 12105

Leu Leu Lys Pro Leu Phe Arg Asn Ser Ser Leu Glu Tyr Leu Tyr
12110 12115 12120

Ser Gly Cys Arg Leu Ala Ser Leu Arg Pro Glu Lys Asp Ser Ser
12125 12130 12135

Ala Thr Ala Val Asp Ala Ile Cys Thr His Arg Pro Asp Pro Glu
12140 12145 12150

Asp Leu Gly Leu Asp Arg Glu Arg Leu Tyr Trp Glu Leu Ser Asn

12155 12160 12165

Leu Thr Asn Gly Ile Gln Glu Leu Gly Pro Tyr Thr Leu Asp Arg
12170 12175 12180

Asn Ser Leu Tyr Val Asn Gly Phe Thr His Arg Ser Ser Met Pro
12185 12190 12195

Thr Thr Ser Thr Pro Gly Thr Ser Thr Val Asp Val Gly Thr Ser
12200 12205 12210

Gly Thr Pro Ser Ser Ser Pro Ser Pro Thr Thr Ala Gly Pro Leu
12215 12220 12225

Leu Met Pro Phe Thr Leu Asn Phe Thr Ile Thr Asn Leu Gln Tyr
12230 12235 12240

Glu Glu Asp Met Arg Arg Thr Gly Ser Arg Lys Phe Asn Thr Met
12245 12250 12255

Glu Ser Val Leu Gln Gly Leu Leu Lys Pro Leu Phe Lys Asn Thr
12260 12265 12270

Ser Val Gly Pro Leu Tyr Ser Gly Cys Arg Leu Thr Leu Leu Arg
12275 12280 12285

[0205]

Pro Glu Lys Asp Gly Ala Ala Thr Gly Val Asp Ala Ile Cys Thr
12290 12295 12300

His Arg Leu Asp Pro Lys Ser Pro Gly Leu Asn Arg Glu Gln Leu
12305 12310 12315

Tyr Trp Glu Leu Ser Lys Leu Thr Asn Asp Ile Glu Glu Leu Gly
12320 12325 12330

Pro Tyr Thr Leu Asp Arg Asn Ser Leu Tyr Val Asn Gly Phe Thr
12335 12340 12345

His Gln Ser Ser Val Ser Thr Thr Ser Thr Pro Gly Thr Ser Thr
12350 12355 12360

Val Asp Leu Arg Thr Ser Gly Thr Pro Ser Ser Leu Ser Ser Pro
12365 12370 12375

Thr Ile Met Ala Ala Gly Pro Leu Leu Val Pro Phe Thr Leu Asn
12380 12385 12390

Phe Thr Ile Thr Asn Leu Gln Tyr Gly Glu Asp Met Gly His Pro
12395 12400 12405

Gly Ser Arg Lys Phe Asn Thr Thr Glu Arg Val Leu Gln Gly Leu

12410 12415 12420

Leu Gly Pro Ile Phe Lys Asn Thr Ser Val Gly Pro Leu Tyr Ser
12425 12430 12435

Gly Cys Arg Leu Thr Ser Leu Arg Ser Glu Lys Asp Gly Ala Ala
12440 12445 12450

Thr Gly Val Asp Ala Ile Cys Ile His His Leu Asp Pro Lys Ser
12455 12460 12465

Pro Gly Leu Asn Arg Glu Arg Leu Tyr Trp Glu Leu Ser Gln Leu
12470 12475 12480

Thr Asn Gly Ile Lys Glu Leu Gly Pro Tyr Thr Leu Asp Arg Asn
12485 12490 12495

Ser Leu Tyr Val Asn Gly Phe Thr His Arg Thr Ser Val Pro Thr
12500 12505 12510

Ser Ser Thr Pro Gly Thr Ser Thr Val Asp Leu Gly Thr Ser Gly
12515 12520 12525

Thr Pro Phe Ser Leu Pro Ser Pro Ala Thr Ala Gly Pro Leu Leu
12530 12535 12540

[0206]

Val Leu Phe Thr Leu Asn Phe Thr Ile Thr Asn Leu Lys Tyr Glu
12545 12550 12555

Glu Asp Met His Arg Pro Gly Ser Arg Lys Phe Asn Thr Thr Glu
12560 12565 12570

Arg Val Leu Gln Thr Leu Leu Gly Pro Met Phe Lys Asn Thr Ser
12575 12580 12585

Val Gly Leu Leu Tyr Ser Gly Cys Arg Leu Thr Leu Leu Arg Ser
12590 12595 12600

Glu Lys Asp Gly Ala Ala Thr Gly Val Asp Ala Ile Cys Thr His
12605 12610 12615

Arg Leu Asp Pro Lys Ser Pro Gly Val Asp Arg Glu Gln Leu Tyr
12620 12625 12630

Trp Glu Leu Ser Gln Leu Thr Asn Gly Ile Lys Glu Leu Gly Pro
12635 12640 12645

Tyr Thr Leu Asp Arg Asn Ser Leu Tyr Val Asn Gly Phe Thr His
12650 12655 12660

Trp Ile Pro Val Pro Thr Ser Ser Thr Pro Gly Thr Ser Thr Val

12665 12670 12675

Asp Leu Gly Ser Gly Thr Pro Ser Ser Leu Pro Ser Pro Thr Thr
12680 12685 12690

Ala Gly Pro Leu Leu Val Pro Phe Thr Leu Asn Phe Thr Ile Thr
12695 12700 12705

Asn Leu Lys Tyr Glu Glu Asp Met His Cys Pro Gly Ser Arg Lys
12710 12715 12720

Phe Asn Thr Thr Glu Arg Val Leu Gln Ser Leu Leu Gly Pro Met
12725 12730 12735

Phe Lys Asn Thr Ser Val Gly Pro Leu Tyr Ser Gly Cys Arg Leu
12740 12745 12750

Thr Leu Leu Arg Ser Glu Lys Asp Gly Ala Ala Thr Gly Val Asp
12755 12760 12765

Ala Ile Cys Thr His Arg Leu Asp Pro Lys Ser Pro Gly Val Asp
12770 12775 12780

Arg Glu Gln Leu Tyr Trp Glu Leu Ser Gln Leu Thr Asn Gly Ile
12785 12790 12795

[0207]

Lys Glu Leu Gly Pro Tyr Thr Leu Asp Arg Asn Ser Leu Tyr Val
12800 12805 12810

Asn Gly Phe Thr His Gln Thr Ser Ala Pro Asn Thr Ser Thr Pro
12815 12820 12825

Gly Thr Ser Thr Val Asp Leu Gly Thr Ser Gly Thr Pro Ser Ser
12830 12835 12840

Leu Pro Ser Pro Thr Ser Ala Gly Pro Leu Leu Val Pro Phe Thr
12845 12850 12855

Leu Asn Phe Thr Ile Thr Asn Leu Gln Tyr Glu Glu Asp Met His
12860 12865 12870

His Pro Gly Ser Arg Lys Phe Asn Thr Thr Glu Arg Val Leu Gln
12875 12880 12885

Gly Leu Leu Gly Pro Met Phe Lys Asn Thr Ser Val Gly Leu Leu
12890 12895 12900

Tyr Ser Gly Cys Arg Leu Thr Leu Leu Arg Pro Glu Lys Asn Gly
12905 12910 12915

Ala Ala Thr Gly Met Asp Ala Ile Cys Ser His Arg Leu Asp Pro

12920 12925 12930

Lys Ser Pro Gly Leu Asn Arg Glu Gln Leu Tyr Trp Glu Leu Ser
12935 12940 12945

Gln Leu Thr His Gly Ile Lys Glu Leu Gly Pro Tyr Thr Leu Asp
12950 12955 12960

Arg Asn Ser Leu Tyr Val Asn Gly Phe Thr His Arg Ser Ser Val
12965 12970 12975

Ala Pro Thr Ser Thr Pro Gly Thr Ser Thr Val Asp Leu Gly Thr
12980 12985 12990

Ser Gly Thr Pro Ser Ser Leu Pro Ser Pro Thr Thr Ala Val Pro
12995 13000 13005

Leu Leu Val Pro Phe Thr Leu Asn Phe Thr Ile Thr Asn Leu Gln
13010 13015 13020

Tyr Gly Glu Asp Met Arg His Pro Gly Ser Arg Lys Phe Asn Thr
13025 13030 13035

[0208] Thr Glu Arg Val Leu Gln Gly Leu Leu Gly Pro Leu Phe Lys Asn
13040 13045 13050

Ser Ser Val Gly Pro Leu Tyr Ser Gly Cys Arg Leu Ile Ser Leu
13055 13060 13065

Arg Ser Glu Lys Asp Gly Ala Ala Thr Gly Val Asp Ala Ile Cys
13070 13075 13080

Thr His His Leu Asn Pro Gln Ser Pro Gly Leu Asp Arg Glu Gln
13085 13090 13095

Leu Tyr Trp Gln Leu Ser Gln Met Thr Asn Gly Ile Lys Glu Leu
13100 13105 13110

Gly Pro Tyr Thr Leu Asp Arg Asn Ser Leu Tyr Val Asn Gly Phe
13115 13120 13125

Thr His Arg Ser Ser Gly Leu Thr Thr Ser Thr Pro Trp Thr Ser
13130 13135 13140

Thr Val Asp Leu Gly Thr Ser Gly Thr Pro Ser Pro Val Pro Ser
13145 13150 13155

Pro Thr Thr Thr Gly Pro Leu Leu Val Pro Phe Thr Leu Asn Phe
13160 13165 13170

Thr Ile Thr Asn Leu Gln Tyr Glu Glu Asn Met Gly His Pro Gly
13175 13180 13185

Ser Arg Lys Phe Asn Ile Thr Glu Ser Val Leu Gln Gly Leu Leu
13190 13195 13200

Lys Pro Leu Phe Lys Ser Thr Ser Val Gly Pro Leu Tyr Ser Gly
13205 13210 13215

Cys Arg Leu Thr Leu Leu Arg Pro Glu Lys Asp Gly Val Ala Thr
13220 13225 13230

Arg Val Asp Ala Ile Cys Thr His Arg Pro Asp Pro Lys Ile Pro
13235 13240 13245

Gly Leu Asp Arg Gln Gln Leu Tyr Trp Glu Leu Ser Gln Leu Thr
13250 13255 13260

His Ser Ile Thr Glu Leu Gly Pro Tyr Thr Leu Asp Arg Asp Ser
13265 13270 13275

Leu Tyr Val Asn Gly Phe Thr Gln Arg Ser Ser Val Pro Thr Thr
13280 13285 13290

[0209] Ser Thr Pro Gly Thr Phe Thr Val Gln Pro Glu Thr Ser Glu Thr
13295 13300 13305

Pro Ser Ser Leu Pro Gly Pro Thr Ala Thr Gly Pro Val Leu Leu
13310 13315 13320

Pro Phe Thr Leu Asn Phe Thr Ile Thr Asn Leu Gln Tyr Glu Glu
13325 13330 13335

Asp Met Arg Arg Pro Gly Ser Arg Lys Phe Asn Thr Thr Glu Arg
13340 13345 13350

Val Leu Gln Gly Leu Leu Met Pro Leu Phe Lys Asn Thr Ser Val
13355 13360 13365

Ser Ser Leu Tyr Ser Gly Cys Arg Leu Thr Leu Leu Arg Pro Glu
13370 13375 13380

Lys Asp Gly Ala Ala Thr Arg Val Asp Ala Val Cys Thr His Arg
13385 13390 13395

Pro Asp Pro Lys Ser Pro Gly Leu Asp Arg Glu Arg Leu Tyr Trp
13400 13405 13410

Lys Leu Ser Gln Leu Thr His Gly Ile Thr Glu Leu Gly Pro Tyr
13415 13420 13425

Thr Leu Asp Arg His Ser Leu Tyr Val Asn Gly Phe Thr His Gln
13430 13435 13440

Ser Ser Met Thr Thr Thr Arg Thr Pro Asp Thr Ser Thr Met His
13445 13450 13455

Leu Ala Thr Ser Arg Thr Pro Ala Ser Leu Ser Gly Pro Met Thr
13460 13465 13470

Ala Ser Pro Leu Leu Val Leu Phe Thr Ile Asn Phe Thr Ile Thr
13475 13480 13485

Asn Leu Arg Tyr Glu Glu Asn Met His His Pro Gly Ser Arg Lys
13490 13495 13500

Phe Asn Thr Thr Glu Arg Val Leu Gln Gly Leu Leu Arg Pro Val
13505 13510 13515

Phe Lys Asn Thr Ser Val Gly Pro Leu Tyr Ser Gly Cys Arg Leu
13520 13525 13530

Thr Leu Leu Arg Pro Lys Lys Asp Gly Ala Ala Thr Lys Val Asp
13535 13540 13545

[0210] Ala Ile Cys Thr Tyr Arg Pro Asp Pro Lys Ser Pro Gly Leu Asp
13550 13555 13560

Arg Glu Gln Leu Tyr Trp Glu Leu Ser Gln Leu Thr His Ser Ile
13565 13570 13575

Thr Glu Leu Gly Pro Tyr Thr Leu Asp Arg Asp Ser Leu Tyr Val
13580 13585 13590

Asn Gly Phe Thr Gln Arg Ser Ser Val Pro Thr Thr Ser Ile Pro
13595 13600 13605

Gly Thr Pro Thr Val Asp Leu Gly Thr Ser Gly Thr Pro Val Ser
13610 13615 13620

Lys Pro Gly Pro Ser Ala Ala Ser Pro Leu Leu Val Leu Phe Thr
13625 13630 13635

Leu Asn Phe Thr Ile Thr Asn Leu Arg Tyr Glu Glu Asn Met Gln
13640 13645 13650

His Pro Gly Ser Arg Lys Phe Asn Thr Thr Glu Arg Val Leu Gln
13655 13660 13665

Gly Leu Leu Arg Ser Leu Phe Lys Ser Thr Ser Val Gly Pro Leu
13670 13675 13680

Tyr Ser Gly Cys Arg Leu Thr Leu Leu Arg Pro Glu Lys Asp Gly
13685 13690 13695

Thr Ala Thr Gly Val Asp Ala Ile Cys Thr His His Pro Asp Pro
13700 13705 13710

Lys Ser Pro Arg Leu Asp Arg Glu Gln Leu Tyr Trp Glu Leu Ser
13715 13720 13725

Gln Leu Thr His Asn Ile Thr Glu Leu Gly Pro Tyr Ala Leu Asp
13730 13735 13740

Asn Asp Ser Leu Phe Val Asn Gly Phe Thr His Arg Ser Ser Val
13745 13750 13755

Ser Thr Thr Ser Thr Pro Gly Thr Pro Thr Val Tyr Leu Gly Ala
13760 13765 13770

Ser Lys Thr Pro Ala Ser Ile Phe Gly Pro Ser Ala Ala Ser His
13775 13780 13785

Leu Leu Ile Leu Phe Thr Leu Asn Phe Thr Ile Thr Asn Leu Arg
13790 13795 13800

[0211]

Tyr Glu Glu Asn Met Trp Pro Gly Ser Arg Lys Phe Asn Thr Thr
13805 13810 13815

Glu Arg Val Leu Gln Gly Leu Leu Arg Pro Leu Phe Lys Asn Thr
13820 13825 13830

Ser Val Gly Pro Leu Tyr Ser Gly Cys Arg Leu Thr Leu Leu Arg
13835 13840 13845

Pro Glu Lys Asp Gly Glu Ala Thr Gly Val Asp Ala Ile Cys Thr
13850 13855 13860

His Arg Pro Asp Pro Thr Gly Pro Gly Leu Asp Arg Glu Gln Leu
13865 13870 13875

Tyr Leu Glu Leu Ser Gln Leu Thr His Ser Ile Thr Glu Leu Gly
13880 13885 13890

Pro Tyr Thr Leu Asp Arg Asp Ser Leu Tyr Val Asn Gly Phe Thr
13895 13900 13905

His Arg Ser Ser Val Pro Thr Thr Ser Thr Gly Val Val Ser Glu
13910 13915 13920

Glu Pro Phe Thr Leu Asn Phe Thr Ile Asn Asn Leu Arg Tyr Met
13925 13930 13935

Ala Asp Met Gly Gln Pro Gly Ser Leu Lys Phe Asn Ile Thr Asp
13940 13945 13950

Asn Val Met Gln His Leu Leu Ser Pro Leu Phe Gln Arg Ser Ser
13955 13960 13965

Leu Gly Ala Arg Tyr Thr Gly Cys Arg Val Ile Ala Leu Arg Ser
13970 13975 13980

Val Lys Asn Gly Ala Glu Thr Arg Val Asp Leu Leu Cys Thr Tyr
13985 13990 13995

Leu Gln Pro Leu Ser Gly Pro Gly Leu Pro Ile Lys Gln Val Phe
14000 14005 14010

His Glu Leu Ser Gln Gln Thr His Gly Ile Thr Arg Leu Gly Pro
14015 14020 14025

Tyr Ser Leu Asp Lys Asp Ser Leu Tyr Leu Asn Gly Tyr Asn Glu
14030 14035 14040

Pro Gly Pro Asp Glu Pro Pro Thr Thr Pro Lys Pro Ala Thr Thr
14045 14050 14055

[0212] Phe Leu Pro Pro Leu Ser Glu Ala Thr Thr Ala Met Gly Tyr His
14060 14065 14070

Leu Lys Thr Leu Thr Leu Asn Phe Thr Ile Ser Asn Leu Gln Tyr
14075 14080 14085

Ser Pro Asp Met Gly Lys Gly Ser Ala Thr Phe Asn Ser Thr Glu
14090 14095 14100

Gly Val Leu Gln His Leu Leu Arg Pro Leu Phe Gln Lys Ser Ser
14105 14110 14115

Met Gly Pro Phe Tyr Leu Gly Cys Gln Leu Ile Ser Leu Arg Pro
14120 14125 14130

Glu Lys Asp Gly Ala Ala Thr Gly Val Asp Thr Thr Cys Thr Tyr
14135 14140 14145

His Pro Asp Pro Val Gly Pro Gly Leu Asp Ile Gln Gln Leu Tyr
14150 14155 14160

Trp Glu Leu Ser Gln Leu Thr His Gly Val Thr Gln Leu Gly Phe
14165 14170 14175

Tyr Val Leu Asp Arg Asp Ser Leu Phe Ile Asn Gly Tyr Ala Pro
14180 14185 14190

Gln Asn Leu Ser Ile Arg Gly Glu Tyr Gln Ile Asn Phe His Ile
14195 14200 14205

Val Asn Trp Asn Leu Ser Asn Pro Asp Pro Thr Ser Ser Glu Tyr
14210 14215 14220

Ile Thr Leu Leu Arg Asp Ile Gln Asp Lys Val Thr Thr Leu Tyr
14225 14230 14235

Lys Gly Ser Gln Leu His Asp Thr Phe Arg Phe Cys Leu Val Thr
14240 14245 14250

Asn Leu Thr Met Asp Ser Val Leu Val Thr Val Lys Ala Leu Phe
14255 14260 14265

Ser Ser Asn Leu Asp Pro Ser Leu Val Glu Gln Val Phe Leu Asp
14270 14275 14280

Lys Thr Leu Asn Ala Ser Phe His Trp Leu Gly Ser Thr Tyr Gln
14285 14290 14295

Leu Val Asp Ile His Val Thr Glu Met Glu Ser Ser Val Tyr Gln
14300 14305 14310

[0213] Pro Thr Ser Ser Ser Ser Thr Gln His Phe Tyr Leu Asn Phe Thr
14315 14320 14325

Ile Thr Asn Leu Pro Tyr Ser Gln Asp Lys Ala Gln Pro Gly Thr
14330 14335 14340

Thr Asn Tyr Gln Arg Asn Lys Arg Asn Ile Glu Asp Ala Leu Asn
14345 14350 14355

Gln Leu Phe Arg Asn Ser Ser Ile Lys Ser Tyr Phe Ser Asp Cys
14360 14365 14370

Gln Val Ser Thr Phe Arg Ser Val Pro Asn Arg His His Thr Gly
14375 14380 14385

Val Asp Ser Leu Cys Asn Phe Ser Pro Leu Ala Arg Arg Val Asp
14390 14395 14400

Arg Val Ala Ile Tyr Glu Glu Phe Leu Arg Met Thr Arg Asn Gly
14405 14410 14415

Thr Gln Leu Gln Asn Phe Thr Leu Asp Arg Ser Ser Val Leu Val
14420 14425 14430

Asp Gly Tyr Ser Pro Asn Arg Asn Glu Pro Leu Thr Gly Asn Ser
14435 14440 14445

Asp Leu Pro Phe Trp Ala Val Ile Leu Ile Gly Leu Ala Gly Leu
14450 14455 14460

Leu Gly Val Ile Thr Cys Leu Ile Cys Gly Val Leu Val Thr Thr
14465 14470 14475

Arg Arg Arg Lys Lys Glu Gly Glu Tyr Asn Val Gln Gln Gln Cys
14480 14485 14490

Pro Gly Tyr Tyr Gln Ser His Leu Asp Leu Glu Asp Leu Gln
14495 14500 14505

<210> 143
<211> 447
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 143
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
[0214] 1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Leu Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Ser Ile Ser Ser Gly Gly Phe Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Arg Asn Ile Leu Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Met Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Asp Glu Val Arg Gly Tyr Leu Asp Val Trp Gly Ala Gly Thr Thr
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Cys Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
210 215 220

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
260 265 270

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
[0215] 275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
340 345 350

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Cys Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 144
<211> 214
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 144
Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile
[0216] 35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Ser Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Lys Leu Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 145
<211> 4
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 145
Gly Phe Leu Gly
1

[0217]

<210> 146
<211> 4
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 146
Gly Leu Phe Gly
1

<210> 147
<211> 4
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 147
Ala Leu Ala Leu
1

<210> 148
<211> 4
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 148
Gly Gly Gly Gly
1

<210> 149
<211> 4
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 149
[0218] Gly Phe Val Gly
1

<210> 150
<211> 4
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 150
Gly Val Phe Gly
1

<210> 151
<211> 116
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 151
Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Arg Asp
20 25 30

Phe Ala Trp Asn Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Met Gly Tyr Ile Ser Tyr Asn Gly Asn Thr Arg Tyr Gln Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Ile Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Phe
65 70 75 80

Leu Lys Leu Asn Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys
85 90 95

Val Thr Ala Ser Arg Gly Phe Pro Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

[0219]

<210> 152
<211> 107
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 152
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Met Ser Val Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ser Ser Gln Asp Ile Asn Ser Asn
20 25 30

Ile Gly Trp Leu Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Phe Lys Gly Leu Ile
35 40 45

Tyr His Gly Thr Asn Leu Asp Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Val Gln Tyr Ala Gln Phe Pro Trp
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 153
<211> 120
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 153
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ser Glu Leu 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

Gly Val Asn Trp Ile Lys Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Gln Trp Met
35 40 45

[0220]

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

Lys Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Asp Thr Ser Val Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Asp Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95

Ser Arg Ser Arg Gly Lys Asn Glu Ala Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 154
<211> 112
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 154
Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Arg
20 25 30

Asn Gln Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Thr Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Phe Cys Ser Gln Ser
85 90 95

Ser His Val Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

[0221]

<210> 155
<211> 121
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 155
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

Trp Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

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

Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Glu Tyr Tyr Asp Gly Thr Tyr Asp Ala Met Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 156
<211> 107
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 156
Ala 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 Gln Ser Val Asn Asn Asp
20 25 30

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

[0222]

Tyr Tyr Ala Ser Asn Arg Tyr 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 Phe Cys Gln Gln Asp Tyr Ser Ser Pro Arg
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 157
<211> 118
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 157
Gln 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 Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe
20 25 30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Tyr Ile Ser Ser Gly Ser Phe Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu 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 Arg Met Arg Lys Gly Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 158
<211> 112
[0223] <212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 158
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly
1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ile Ile Ile His Ser
20 25 30

Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Phe Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly
85 90 95

Ser His Val Pro His Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 159
<211> 118
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 159
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

Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

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

[0224]

Lys Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

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

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 160
<211> 107
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 160
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 Lys Ala Ser Gln Ser Val Ser Asn Asp
20 25 30

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

Tyr Tyr Ala Ser Asn Arg Tyr Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Asp Tyr Thr Ser Pro Trp
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 161
<211> 117
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

[0225] <220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 161
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Asn Ile Arg Asp Thr
20 25 30

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

Gly Arg Ile Asp Pro Pro Asn Gly Asn Leu Lys Tyr Asp Pro Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Lys Ala Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Ser Asp Gly Tyr Ser Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 162
<211> 112
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 162
Asp Ile Val Met Thr Gln Ala Ala Pro Ser Val Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Ser Val Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser
20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr Trp Phe Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Arg Met Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro
50 55 60

[0226]

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ala Phe Thr Leu Arg Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln His
85 90 95

Val Glu Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 163
<211> 117
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 163
Glu 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 Ser Ser Tyr

20 25 30

Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Leu Ile His Pro Glu Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Glu Met Phe
50 55 60

Lys Asn Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Arg 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 Gly Gly Gly Arg Leu Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 164
<211> 112
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

[0227] <220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 164
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asp Thr Tyr Leu Arg Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ser Gln Ser
85 90 95

Thr His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 165
<211> 122
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 165
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 Asn Tyr
20 25 30

Val Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Asp Val Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

[0228]

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

Ala Arg Trp Gly Tyr Tyr Gly Ser Pro Leu Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 166
<211> 106
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 166
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Ser Arg Leu Ile Tyr Met

20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Pro Leu Ile Tyr
35 40 45

Ala Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu
65 70 75 80

Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Asn Ser Asn Pro Pro Thr
85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 167
<211> 128
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
[0229] polypeptide"

<400> 167
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Ile Ser Gly Asp Ser Val Ser Ser Asn
20 25 30

Ser Ala Ala Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Gly Arg Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Leu Gly Arg Ile Tyr Tyr Arg Ser Lys Trp Tyr Asn Asp Tyr Ala
50 55 60

Val Ser Val Lys Ser Arg Ile Thr Ile Asn Pro Asp Thr Ser Lys Asn
65 70 75 80

Gln Phe Ser Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val
85 90 95

Tyr Tyr Cys Ala Arg Leu Asp His Arg Tyr His Glu Asp Thr Val Tyr
100 105 110

Pro Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 168
<211> 107
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 168
Asp Ile Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15

Thr Ala Arg Ile Ser Cys Ser Gly Asp Asn Leu Pro Ala Tyr Thr Val
20 25 30

Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr
35 40 45

Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Glu
65 70 75 80

[0230]

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ser Trp Asp Pro Ser Ser Gly Val
85 90 95

Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 169
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 169
Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Gly Val Asn
1 5 10

<210> 170
<211> 17
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 170
Trp Ile Asn Pro Asn Thr Gly Glu Pro Thr Phe Asp Asp Asp Phe Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 171
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 171
Ser Arg Gly Lys Asn Glu Ala Trp Phe Ala Tyr
[0231] 1 5 10

<210> 172
<211> 16
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 172
Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Arg Asn Gln Asn Thr Tyr Leu His
1 5 10 15

<210> 173
<211> 7
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 173
Thr Val Ser Asn Arg Phe Ser
1 5

<210> 174
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 174
Ser Gln Ser Ser His Val Pro Pro Thr
1 5

<210> 175
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
[0232] <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 175
Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Trp Ile Asn
1 5 10

<210> 176
<211> 17
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 176
Asn Ile Phe Pro Asp Thr Thr Thr Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 177
<211> 12

<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 177
Glu Tyr Tyr Asp Gly Thr Tyr Asp Ala Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 178
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 178
Lys Ala Ser Gln Ser Val Asn Asn Asp Val Ala
1 5 10

[0233]

<210> 179
<211> 7
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 179
Tyr Ala Ser Asn Arg Tyr Thr
1 5

<210> 180
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 180

Gln Gln Asp Tyr Ser Ser Pro Arg Thr
1 5

<210> 181
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 181
Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met His
1 5 10

<210> 182
<211> 17
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

[0234]

<400> 182
Tyr Ile Ser Ser Gly Ser Phe Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 183
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 183
Met Arg Lys Gly Tyr Ala Met Asp Tyr
1 5

<210> 184
<211> 16
<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 184
Arg Ser Ser Gln Ile Ile Ile His Ser Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Glu
1 5 10 15

<210> 185
<211> 7
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 185
Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser
1 5

[0235] <210> 186
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 186
Phe Gln Gly Ser His Val Pro His Thr
1 5

<210> 187
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 187
Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Gly Met Asn

1 5 10

<210> 188
<211> 17
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 188
Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Asp Asp Phe Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 189
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

[0236] <220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 189
Ile Gly Asp Ser Ser Pro Ser Asp Tyr
1 5

<210> 190
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 190
Lys Ala Ser Gln Ser Val Ser Asn Asp Val Val
1 5 10

<210> 191
<211> 9
<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 191
Gln Gln Asp Tyr Thr Ser Pro Trp Thr
1 5

<210> 192
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 192
Gly Phe Asn Ile Arg Asp Thr Tyr Ile His
1 5 10

[0237] <210> 193
<211> 17
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 193
Arg Ile Asp Pro Pro Asn Gly Asn Leu Lys Tyr Asp Pro Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 194
<211> 8
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 194
Ser Asp Gly Tyr Ser Phe Ala Tyr
1 5

<210> 195
<211> 16
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 195
Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr
1 5 10 15

<210> 196
<211> 7
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

[0238]

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 196
Arg Met Ser Asn Leu Ala Ser
1 5

<210> 197
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 197
Met Gln His Val Glu Tyr Pro Phe Thr
1 5

<210> 198
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 198
Gly Tyr Thr Phe Ser Ser Tyr Trp Met His
1 5 10

<210> 199
<211> 17
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 199
Leu Ile His Pro Glu Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Glu Met Phe Lys
1 5 10 15

Asn

[0239]

<210> 200
<211> 8
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 200
Gly Gly Arg Leu Tyr Phe Asp Tyr
1 5

<210> 201
<211> 16
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 201
Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser Asn Arg Asp Thr Tyr Leu Arg
1 5 10 15

<210> 202
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 202
Ser Gln Ser Thr His Val Pro Tyr Thr
1 5

<210> 203
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
[0240] <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 203
Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Val Met His
1 5 10

<210> 204
<211> 17
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 204
Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Asp Val Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 205
<211> 13

<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 205
Trp Gly Tyr Tyr Gly Ser Pro Leu Tyr Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 206
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 206
Arg Ala Ser Ser Arg Leu Ile Tyr Met His
1 5 10

[0241]

<210> 207
<211> 7
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 207
Ala Thr Ser Asn Leu Ala Ser
1 5

<210> 208
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 208

Gln Gln Trp Asn Ser Asn Pro Pro Thr
1 5

<210> 209
<211> 12
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 209
Gly Asp Ser Val Ser Ser Asn Ser Ala Ala Trp Ser
1 5 10

<210> 210
<211> 18
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

[0242]

<400> 210
Arg Ile Tyr Tyr Arg Ser Lys Trp Tyr Asn Asp Tyr Ala Val Ser Val
1 5 10 15

Lys Ser

<210> 211
<211> 16
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 211
Leu Asp His Arg Tyr His Glu Asp Thr Val Tyr Pro Gly Met Asp Val
1 5 10 15

<210> 212
<211> 11
<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 212
Ser Gly Asp Asn Leu Pro Ala Tyr Thr Val Thr
1 5 10

<210> 213
<211> 7
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 213
Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser
1 5

[0243] <210> 214
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 214
Ala Ser Trp Asp Pro Ser Ser Gly Val Val
1 5 10

<210> 215
<211> 450
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 215
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ser Glu Leu 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

Gly Val Asn Trp Ile Lys Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Gln Trp Met
35 40 45

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

Lys Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Asp Thr Ser Val Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Asp Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95

Ser Arg Ser Arg Gly Lys Asn Glu Ala Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

[0244]

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Cys Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His

275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Cys Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415

[0245]

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly Lys
450

<210> 216
<211> 219
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 216
Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Arg
20 25 30

Asn Gln Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Thr Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Phe Cys Ser Gln Ser
85 90 95

Ser His Val Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
145 150 155 160

[0246] Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
165 170 175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
180 185 190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 217
<211> 451
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 217
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

Trp Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

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

Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Glu Tyr Tyr Asp Gly Thr Tyr Asp Ala Met Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140

[0247]
Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Cys Pro Val Thr Val
145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
225 230 235 240

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
340 345 350

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
355 360 365

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Cys Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
[0248] 420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435 440 445

Pro Gly Lys
450

<210> 218
<211> 214
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 218
Ala 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 Gln Ser Val Asn Asn Asp
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Tyr Ala Ser Asn Arg Tyr 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 Phe Cys Gln Gln Asp Tyr Ser Ser Pro Arg
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

[0249]

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 219
<211> 448
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 219
Gln 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 Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe
20 25 30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Tyr Ile Ser Ser Gly Ser Phe Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu 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 Arg Met Arg Lys Gly Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
115 120 125

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Cys Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
145 150 155 160

[0250] Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
165 170 175

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
180 185 190

Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
195 200 205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
210 215 220

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser
225 230 235 240

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
245 250 255

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
260 265 270

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
275 280 285

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
290 295 300

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
305 310 315 320

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
325 330 335

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
340 345 350

Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
355 360 365

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Cys Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
370 375 380

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
385 390 395 400

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
405 410 415

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
420 425 430

[0251] Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 220
<211> 219
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 220
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly
1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ile Ile Ile His Ser
20 25 30

Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Phe Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly
85 90 95

Ser His Val Pro His Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
165 170 175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
180 185 190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
[0252] 195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 221
<211> 448
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 221
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

Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Asp Asp Phe

50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

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

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
115 120 125

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Cys Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
145 150 155 160

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
165 170 175

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
180 185 190

[0253]

Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
195 200 205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
210 215 220

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser
225 230 235 240

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
245 250 255

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
260 265 270

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
275 280 285

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
290 295 300

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
305 310 315 320

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr

325 330 335

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
340 345 350

Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
355 360 365

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Cys Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
370 375 380

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
385 390 395 400

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
405 410 415

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
420 425 430

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 222
<211> 214
[0254] <212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 222
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 Lys Ala Ser Gln Ser Val Ser Asn Asp
20 25 30

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

Tyr Tyr Ala Ser Asn Arg Tyr Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Asp Tyr Thr Ser Pro Trp
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

[0255] <210> 223
<211> 447
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 223
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Asn Ile Arg Asp Thr
20 25 30

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

Gly Arg Ile Asp Pro Pro Asn Gly Asn Leu Lys Tyr Asp Pro Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Lys Ala Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Ser Asp Gly Tyr Ser Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Cys Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
195 200 205

[0256] Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
210 215 220

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
260 265 270

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
340 345 350

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Cys Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 224
<211> 219
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
[0257] <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 224
Asp Ile Val Met Thr Gln Ala Ala Pro Ser Val Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Ser Val Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser
20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr Trp Phe Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Arg Met Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ala Phe Thr Leu Arg Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln His
85 90 95

Val Glu Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu

115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
165 170 175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
180 185 190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 225
<211> 447
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

[0258] <220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 225
Glu 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 Ser Ser Tyr
20 25 30

Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Leu Ile His Pro Glu Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Glu Met Phe
50 55 60

Lys Asn Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Arg 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 Gly Gly Gly Arg Leu Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Cys Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
210 215 220

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
225 230 235 240

[0259] Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
260 265 270

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
340 345 350

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Cys Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 226
<211> 219
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 226
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
[0260] 1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asp Thr Tyr Leu Arg Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ser Gln Ser
85 90 95

Thr His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
165 170 175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
180 185 190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 227
<211> 452
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

[0261] <400> 227
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 Asn Tyr
20 25 30

Val Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Asp Val Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys 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 Trp Gly Tyr Tyr Gly Ser Pro Leu Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr

130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Cys Pro Val Thr
145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser
210 215 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
225 230 235 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
260 265 270

[0262]

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
275 280 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
325 330 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
340 345 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
355 360 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Cys Asp Ile Ala Val
370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385 390 395 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr

405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
435 440 445

Ser Pro Gly Lys
450

<210> 228
<211> 213
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 228
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

[0263] Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Ser Arg Leu Ile Tyr Met
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Pro Leu Ile Tyr
35 40 45

Ala Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu
65 70 75 80

Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Asn Ser Asn Pro Pro Thr
85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
100 105 110

Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
115 120 125

Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
130 135 140

Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
145 150 155 160

Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
165 170 175

Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
180 185 190

Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
195 200 205

Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 229
<211> 457
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 229
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
[0264] 1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Ile Ser Gly Asp Ser Val Ser Ser Asn
20 25 30

Ser Ala Ala Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Gly Arg Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Leu Gly Arg Ile Tyr Tyr Arg Ser Lys Trp Tyr Asn Asp Tyr Ala
50 55 60

Val Ser Val Lys Ser Arg Ile Thr Ile Asn Pro Asp Thr Ser Lys Asn
65 70 75 80

Gln Phe Ser Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val
85 90 95

Tyr Tyr Cys Ala Arg Leu Asp His Arg Tyr His Glu Asp Thr Val Tyr
100 105 110

Pro Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
130 135 140

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
145 150 155 160

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
165 170 175

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
180 185 190

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
195 200 205

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
210 215 220

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
225 230 235 240

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
245 250 255

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
260 265 270

[0265] Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
275 280 285

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
290 295 300

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
305 310 315 320

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
325 330 335

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
340 345 350

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
355 360 365

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
370 375 380

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
385 390 395 400

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
405 410 415

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
420 425 430

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
435 440 445

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
450 455

<210> 230
<211> 213
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 230
Asp Ile Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15

Thr Ala Arg Ile Ser Cys Ser Gly Asp Asn Leu Pro Ala Tyr Thr Val
20 25 30

[0266]

Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr
35 40 45

Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Glu
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ser Trp Asp Pro Ser Ser Gly Val
85 90 95

Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys Ala
100 105 110

Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala
115 120 125

Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala
130 135 140

Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly Val
145 150 155 160

Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser

165 170 175

Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser Tyr
180 185 190

Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val Ala
195 200 205

Pro Thr Glu Cys Ser
210

<210> 231
<211> 994
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 231
Met Arg Pro Val Ala Leu Leu Leu Leu Pro Ser Leu Leu Ala Leu Leu
1 5 10 15

Ala His Gly Leu Ser Leu Glu Ala Pro Thr Val Gly Lys Gly Gln Ala
20 25 30

Pro Gly Ile Glu Glu Thr Asp Gly Glu Leu Thr Ala Ala Pro Thr Pro
35 40 45

[0267]

Glu Gln Pro Glu Arg Gly Val His Phe Val Thr Thr Ala Pro Thr Leu
50 55 60

Lys Leu Leu Asn His His Pro Leu Leu Glu Glu Phe Leu Gln Glu Gly
65 70 75 80

Leu Glu Lys Gly Asp Glu Glu Leu Arg Pro Ala Leu Pro Phe Gln Pro
85 90 95

Asp Pro Pro Ala Pro Phe Thr Pro Ser Pro Leu Pro Arg Leu Ala Asn
100 105 110

Gln Asp Ser Arg Pro Val Phe Thr Ser Pro Thr Pro Ala Met Ala Ala
115 120 125

Val Pro Thr Gln Pro Gln Ser Lys Glu Gly Pro Trp Ser Pro Glu Ser
130 135 140

Glu Ser Pro Met Leu Arg Ile Thr Ala Pro Leu Pro Pro Gly Pro Ser
145 150 155 160

Met Ala Val Pro Thr Leu Gly Pro Gly Glu Ile Ala Ser Thr Thr Pro
165 170 175

Pro Ser Arg Ala Trp Thr Pro Thr Gln Glu Gly Pro Gly Asp Met Gly

180 185 190

Arg Pro Trp Val Ala Glu Val Val Ser Gln Gly Ala Gly Ile Gly Ile
195 200 205

Gln Gly Thr Ile Thr Ser Ser Thr Ala Ser Gly Asp Asp Glu Glu Thr
210 215 220

Thr Thr Thr Thr Thr Ile Ile Thr Thr Thr Ile Thr Thr Val Gln Thr
225 230 235 240

Pro Gly Pro Cys Ser Trp Asn Phe Ser Gly Pro Glu Gly Ser Leu Asp
245 250 255

Ser Pro Thr Asp Leu Ser Ser Pro Thr Asp Val Gly Leu Asp Cys Phe
260 265 270

Phe Tyr Ile Ser Val Tyr Pro Gly Tyr Gly Val Glu Ile Lys Val Gln
275 280 285

Asn Ile Ser Leu Arg Glu Gly Glu Thr Val Thr Val Glu Gly Leu Gly
290 295 300

Gly Pro Asp Pro Leu Pro Leu Ala Asn Gln Ser Phe Leu Leu Arg Gly
305 310 315 320

[0268]

Gln Val Ile Arg Ser Pro Thr His Gln Ala Ala Leu Arg Phe Gln Ser
325 330 335

Leu Pro Pro Pro Ala Gly Pro Gly Thr Phe His Phe His Tyr Gln Ala
340 345 350

Tyr Leu Leu Ser Cys His Phe Pro Arg Arg Pro Ala Tyr Gly Asp Val
355 360 365

Thr Val Thr Ser Leu His Pro Gly Gly Ser Ala Arg Phe His Cys Ala
370 375 380

Thr Gly Tyr Gln Leu Lys Gly Ala Arg His Leu Thr Cys Leu Asn Ala
385 390 395 400

Thr Gln Pro Phe Trp Asp Ser Lys Glu Pro Val Cys Ile Ala Ala Cys
405 410 415

Gly Gly Val Ile Arg Asn Ala Thr Thr Gly Arg Ile Val Ser Pro Gly
420 425 430

Phe Pro Gly Asn Tyr Ser Asn Asn Leu Thr Cys His Trp Leu Leu Glu
435 440 445

Ala Pro Glu Gly Gln Arg Leu His Leu His Phe Glu Lys Val Ser Leu

450 455 460

Ala Glu Asp Asp Asp Arg Leu Ile Ile Arg Asn Gly Asp Asn Val Glu
465 470 475 480

Ala Pro Pro Val Tyr Asp Ser Tyr Glu Val Glu Tyr Leu Pro Ile Glu
485 490 495

Gly Leu Leu Ser Ser Gly Lys His Phe Phe Val Glu Leu Ser Thr Asp
500 505 510

Ser Ser Gly Ala Ala Ala Gly Met Ala Leu Arg Tyr Glu Ala Phe Gln
515 520 525

Gln Gly His Cys Tyr Glu Pro Phe Val Lys Tyr Gly Asn Phe Ser Ser
530 535 540

Ser Thr Pro Thr Tyr Pro Val Gly Thr Thr Val Glu Phe Ser Cys Asp
545 550 555 560

Pro Gly Tyr Thr Leu Glu Gln Gly Ser Ile Ile Ile Glu Cys Val Asp
565 570 575

Pro His Asp Pro Gln Trp Asn Glu Thr Glu Pro Ala Cys Arg Ala Val
580 585 590

[0269]

Cys Ser Gly Glu Ile Thr Asp Ser Ala Gly Val Val Leu Ser Pro Asn
595 600 605

Trp Pro Glu Pro Tyr Gly Arg Gly Gln Asp Cys Ile Trp Gly Val His
610 615 620

Val Glu Glu Asp Lys Arg Ile Met Leu Asp Ile Arg Val Leu Arg Ile
625 630 635 640

Gly Pro Gly Asp Val Leu Thr Phe Tyr Asp Gly Asp Asp Leu Thr Ala
645 650 655

Arg Val Leu Gly Gln Tyr Ser Gly Pro Arg Ser His Phe Lys Leu Phe
660 665 670

Thr Ser Met Ala Asp Val Thr Ile Gln Phe Gln Ser Asp Pro Gly Thr
675 680 685

Ser Val Leu Gly Tyr Gln Gln Gly Phe Val Ile His Phe Phe Glu Val
690 695 700

Pro Arg Asn Asp Thr Cys Pro Glu Leu Pro Glu Ile Pro Asn Gly Trp
705 710 715 720

Lys Ser Pro Ser Gln Pro Glu Leu Val His Gly Thr Val Val Thr Tyr

725 730 735

Gln Cys Tyr Pro Gly Tyr Gln Val Val Gly Ser Ser Val Leu Met Cys
740 745 750

Gln Trp Asp Leu Thr Trp Ser Glu Asp Leu Pro Ser Cys Gln Arg Val
755 760 765

Thr Ser Cys His Asp Pro Gly Asp Val Glu His Ser Arg Arg Leu Ile
770 775 780

Ser Ser Pro Lys Phe Pro Val Gly Ala Thr Val Gln Tyr Ile Cys Asp
785 790 795 800

Gln Gly Phe Val Leu Met Gly Ser Ser Ile Leu Thr Cys His Asp Arg
805 810 815

Gln Ala Gly Ser Pro Lys Trp Ser Asp Arg Ala Pro Lys Cys Leu Leu
820 825 830

Glu Gln Leu Lys Pro Cys His Gly Leu Ser Ala Pro Glu Asn Gly Ala
835 840 845

Arg Ser Pro Glu Lys Gln Leu His Pro Ala Gly Ala Thr Ile His Phe
850 855 860

[0270]

Ser Cys Ala Pro Gly Tyr Val Leu Lys Gly Gln Ala Ser Ile Lys Cys
865 870 875 880

Val Pro Gly His Pro Ser His Trp Ser Asp Pro Pro Pro Ile Cys Arg
885 890 895

Ala Ala Ser Leu Asp Gly Phe Tyr Asn Ser Arg Ser Leu Asp Val Ala
900 905 910

Lys Ala Pro Ala Ala Ser Ser Thr Leu Asp Ala Ala His Ile Ala Ala
915 920 925

Ala Ile Phe Leu Pro Leu Val Ala Met Val Leu Leu Val Gly Gly Val
930 935 940

Tyr Phe Tyr Phe Ser Arg Leu Gln Gly Lys Ser Ser Leu Gln Leu Pro
945 950 955 960

Arg Pro Arg Pro Arg Pro Tyr Asn Arg Ile Thr Ile Glu Ser Ala Phe
965 970 975

Asp Asn Pro Thr Tyr Glu Thr Gly Ser Leu Ser Phe Ala Gly Asp Glu
980 985 990

Arg Ile

<210> 232
<211> 858
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 232
Met Leu Gln Thr Lys Asp Leu Ile Trp Thr Leu Phe Phe Leu Gly Thr
1 5 10 15

Ala Val Ser Leu Gln Val Asp Ile Val Pro Ser Gln Gly Glu Ile Ser
20 25 30

Val Gly Glu Ser Lys Phe Phe Leu Cys Gln Val Ala Gly Asp Ala Lys
35 40 45

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

Asn Gln Gln Arg Ile Ser Val Val Trp Asn Asp Asp Ser Ser Ser Thr
65 70 75 80

Leu Thr Ile Tyr Asn Ala Asn Ile Asp Asp Ala Gly Ile Tyr Lys Cys
85 90 95

[0271] Val Val Thr Gly Glu Asp Gly Ser Glu Ser Glu Ala Thr Val Asn Val
100 105 110

Lys Ile Phe Gln Lys Leu Met Phe Lys Asn Ala Pro Thr Pro Gln Glu
115 120 125

Phe Arg Glu Gly Glu Asp Ala Val Ile Val Cys Asp Val Val Ser Ser
130 135 140

Leu Pro Pro Thr Ile Ile Trp Lys His Lys Gly Arg Asp Val Ile Leu
145 150 155 160

Lys Lys Asp Val Arg Phe Ile Val Leu Ser Asn Asn Tyr Leu Gln Ile
165 170 175

Arg Gly Ile Lys Lys Thr Asp Glu Gly Thr Tyr Arg Cys Glu Gly Arg
180 185 190

Ile Leu Ala Arg Gly Glu Ile Asn Phe Lys Asp Ile Gln Val Ile Val
195 200 205

Asn Val Pro Pro Thr Ile Gln Ala Arg Gln Asn Ile Val Asn Ala Thr
210 215 220

Ala Asn Leu Gly Gln Ser Val Thr Leu Val Cys Asp Ala Glu Gly Phe

225 230 235 240

Pro Glu Pro Thr Met Ser Trp Thr Lys Asp Gly Glu Gln Ile Glu Gln
245 250 255

Glu Glu Asp Asp Glu Lys Tyr Ile Phe Ser Asp Asp Ser Ser Gln Leu
260 265 270

Thr Ile Lys Lys Val Asp Lys Asn Asp Glu Ala Glu Tyr Ile Cys Ile
275 280 285

Ala Glu Asn Lys Ala Gly Glu Gln Asp Ala Thr Ile His Leu Lys Val
290 295 300

Phe Ala Lys Pro Lys Ile Thr Tyr Val Glu Asn Gln Thr Ala Met Glu
305 310 315 320

Leu Glu Glu Gln Val Thr Leu Thr Cys Glu Ala Ser Gly Asp Pro Ile
325 330 335

Pro Ser Ile Thr Trp Arg Thr Ser Thr Arg Asn Ile Ser Ser Glu Glu
340 345 350

Lys Ala Ser Trp Thr Arg Pro Glu Lys Gln Glu Thr Leu Asp Gly His
355 360 365

[0272]

Met Val Val Arg Ser His Ala Arg Val Ser Ser Leu Thr Leu Lys Ser
370 375 380

Ile Gln Tyr Thr Asp Ala Gly Glu Tyr Ile Cys Thr Ala Ser Asn Thr
385 390 395 400

Ile Gly Gln Asp Ser Gln Ser Met Tyr Leu Glu Val Gln Tyr Ala Pro
405 410 415

Lys Leu Gln Gly Pro Val Ala Val Tyr Thr Trp Glu Gly Asn Gln Val
420 425 430

Asn Ile Thr Cys Glu Val Phe Ala Tyr Pro Ser Ala Thr Ile Ser Trp
435 440 445

Phe Arg Asp Gly Gln Leu Leu Pro Ser Ser Asn Tyr Ser Asn Ile Lys
450 455 460

Ile Tyr Asn Thr Pro Ser Ala Ser Tyr Leu Glu Val Thr Pro Asp Ser
465 470 475 480

Glu Asn Asp Phe Gly Asn Tyr Asn Cys Thr Ala Val Asn Arg Ile Gly
485 490 495

Gln Glu Ser Leu Glu Phe Ile Leu Val Gln Ala Asp Thr Pro Ser Ser

500 505 510

Pro Ser Ile Asp Gln Val Glu Pro Tyr Ser Ser Thr Ala Gln Val Gln
515 520 525

Phe Asp Glu Pro Glu Ala Thr Gly Gly Val Pro Ile Leu Lys Tyr Lys
530 535 540

Ala Glu Trp Arg Ala Val Gly Glu Glu Val Trp His Ser Lys Trp Tyr
545 550 555 560

Asp Ala Lys Glu Ala Ser Met Glu Gly Ile Val Thr Ile Val Gly Leu
565 570 575

Lys Pro Glu Thr Thr Tyr Ala Val Arg Leu Ala Ala Leu Asn Gly Lys
580 585 590

Gly Leu Gly Glu Ile Ser Ala Ala Ser Glu Phe Lys Thr Gln Pro Val
595 600 605

Gln Gly Glu Pro Ser Ala Pro Lys Leu Glu Gly Gln Met Gly Glu Asp
610 615 620

Gly Asn Ser Ile Lys Val Asn Leu Ile Lys Gln Asp Asp Gly Gly Ser
625 630 635 640

[0273]

Pro Ile Arg His Tyr Leu Val Arg Tyr Arg Ala Leu Ser Ser Glu Trp
645 650 655

Lys Pro Glu Ile Arg Leu Pro Ser Gly Ser Asp His Val Met Leu Lys
660 665 670

Ser Leu Asp Trp Asn Ala Glu Tyr Glu Val Tyr Val Val Ala Glu Asn
675 680 685

Gln Gln Gly Lys Ser Lys Ala Ala His Phe Val Phe Arg Thr Ser Ala
690 695 700

Gln Pro Thr Ala Ile Pro Ala Asn Gly Ser Pro Thr Ser Gly Leu Ser
705 710 715 720

Thr Gly Ala Ile Val Gly Ile Leu Ile Val Ile Phe Val Leu Leu Leu
725 730 735

Val Val Val Asp Ile Thr Cys Tyr Phe Leu Asn Lys Cys Gly Leu Phe
740 745 750

Met Cys Ile Ala Val Asn Leu Cys Gly Lys Ala Gly Pro Gly Ala Lys
755 760 765

Gly Lys Asp Met Glu Glu Gly Lys Ala Ala Phe Ser Lys Asp Glu Ser

770 775 780

Lys Glu Pro Ile Val Glu Val Arg Thr Glu Glu Glu Arg Thr Pro Asn
785 790 795 800

His Asp Gly Gly Lys His Thr Glu Pro Asn Glu Thr Thr Pro Leu Thr
805 810 815

Glu Pro Glu Lys Gly Pro Val Glu Ala Lys Pro Glu Cys Gln Glu Thr
820 825 830

Glu Thr Lys Pro Ala Pro Ala Glu Val Lys Thr Val Pro Asn Asp Ala
835 840 845

Thr Gln Thr Lys Glu Asn Glu Ser Lys Ala
850 855

<210> 233
<211> 618
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 233
Met Val Ser Pro Arg Met Ser Gly Leu Leu Ser Gln Thr Val Ile Leu
1 5 10 15

[0274]

Ala Leu Ile Phe Leu Pro Gln Thr Arg Pro Ala Gly Val Phe Glu Leu
20 25 30

Gln Ile His Ser Phe Gly Pro Gly Pro Gly Pro Gly Ala Pro Arg Ser
35 40 45

Pro Cys Ser Ala Arg Leu Pro Cys Arg Leu Phe Phe Arg Val Cys Leu
50 55 60

Lys Pro Gly Leu Ser Glu Glu Ala Ala Glu Ser Pro Cys Ala Leu Gly
65 70 75 80

Ala Ala Leu Ser Ala Arg Gly Pro Val Tyr Thr Glu Gln Pro Gly Ala
85 90 95

Pro Ala Pro Asp Leu Pro Leu Pro Asp Gly Leu Leu Gln Val Pro Phe
100 105 110

Arg Asp Ala Trp Pro Gly Thr Phe Ser Phe Ile Ile Glu Thr Trp Arg
115 120 125

Glu Glu Leu Gly Asp Gln Ile Gly Gly Pro Ala Trp Ser Leu Leu Ala
130 135 140

Arg Val Ala Gly Arg Arg Arg Leu Ala Ala Gly Gly Pro Trp Ala Arg

145 150 155 160

Asp Ile Gln Arg Ala Gly Ala Trp Glu Leu Arg Phe Ser Tyr Arg Ala
165 170 175

Arg Cys Glu Pro Pro Ala Val Gly Thr Ala Cys Thr Arg Leu Cys Arg
180 185 190

Pro Arg Ser Ala Pro Ser Arg Cys Gly Pro Gly Leu Arg Pro Cys Ala
195 200 205

Pro Leu Glu Asp Glu Cys Glu Ala Pro Leu Val Cys Arg Ala Gly Cys
210 215 220

Ser Pro Glu His Gly Phe Cys Glu Gln Pro Gly Glu Cys Arg Cys Leu
225 230 235 240

Glu Gly Trp Thr Gly Pro Leu Cys Thr Val Pro Val Ser Thr Ser Ser
245 250 255

Cys Leu Ser Pro Arg Gly Pro Ser Ser Ala Thr Thr Gly Cys Leu Val
260 265 270

Pro Gly Pro Gly Pro Cys Asp Gly Asn Pro Cys Ala Asn Gly Gly Ser
275 280 285

[0275]

Cys Ser Glu Thr Pro Arg Ser Phe Glu Cys Thr Cys Pro Arg Gly Phe
290 295 300

Tyr Gly Leu Arg Cys Glu Val Ser Gly Val Thr Cys Ala Asp Gly Pro
305 310 315 320

Cys Phe Asn Gly Gly Leu Cys Val Gly Gly Ala Asp Pro Asp Ser Ala
325 330 335

Tyr Ile Cys His Cys Pro Pro Gly Phe Gln Gly Ser Asn Cys Glu Lys
340 345 350

Arg Val Asp Arg Cys Ser Leu Gln Pro Cys Arg Asn Gly Gly Leu Cys
355 360 365

Leu Asp Leu Gly His Ala Leu Arg Cys Arg Cys Arg Ala Gly Phe Ala
370 375 380

Gly Pro Arg Cys Glu His Asp Leu Asp Asp Cys Ala Gly Arg Ala Cys
385 390 395 400

Ala Asn Gly Gly Thr Cys Val Glu Gly Gly Gly Ala His Arg Cys Ser
405 410 415

Cys Ala Leu Gly Phe Gly Gly Arg Asp Cys Arg Glu Arg Ala Asp Pro

420 425 430

Cys Ala Ala Arg Pro Cys Ala His Gly Gly Arg Cys Tyr Ala His Phe
435 440 445

Ser Gly Leu Val Cys Ala Cys Ala Pro Gly Tyr Met Gly Ala Arg Cys
450 455 460

Glu Phe Pro Val His Pro Asp Gly Ala Ser Ala Leu Pro Ala Ala Pro
465 470 475 480

Pro Gly Leu Arg Pro Gly Asp Pro Gln Arg Tyr Leu Leu Pro Pro Ala
485 490 495

Leu Gly Leu Leu Val Ala Ala Gly Val Ala Gly Ala Ala Leu Leu Leu
500 505 510

Val His Val Arg Arg Arg Gly His Ser Gln Asp Ala Gly Ser Arg Leu
515 520 525

Leu Ala Gly Thr Pro Glu Pro Ser Val His Ala Leu Pro Asp Ala Leu
530 535 540

Asn Asn Leu Arg Thr Gln Glu Gly Ser Gly Asp Gly Pro Ser Ser Ser
545 550 555 560

[0276]

Val Asp Trp Asn Arg Pro Glu Asp Val Asp Pro Gln Gly Ile Tyr Val
565 570 575

Ile Ser Ala Pro Ser Ile Tyr Ala Arg Glu Val Ala Thr Pro Leu Phe
580 585 590

Pro Pro Leu His Thr Gly Arg Ala Gly Gln Arg Gln His Leu Leu Phe
595 600 605

Pro Tyr Pro Ser Ser Ile Leu Ser Val Lys
610 615

<210> 234
<211> 383
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 234
Met Thr Ala Thr Glu Ala Leu Leu Arg Val Leu Leu Leu Leu Leu Ala
1 5 10 15

Phe Gly His Ser Thr Tyr Gly Ala Glu Cys Phe Pro Ala Cys Asn Pro
20 25 30

Gln Asn Gly Phe Cys Glu Asp Asp Asn Val Cys Arg Cys Gln Pro Gly

35 40 45

Trp Gln Gly Pro Leu Cys Asp Gln Cys Val Thr Ser Pro Gly Cys Leu
50 55 60

His Gly Leu Cys Gly Glu Pro Gly Gln Cys Ile Cys Thr Asp Gly Trp
65 70 75 80

Asp Gly Glu Leu Cys Asp Arg Asp Val Arg Ala Cys Ser Ser Ala Pro
85 90 95

Cys Ala Asn Asn Arg Thr Cys Val Ser Leu Asp Asp Gly Leu Tyr Glu
100 105 110

Cys Ser Cys Ala Pro Gly Tyr Ser Gly Lys Asp Cys Gln Lys Lys Asp
115 120 125

Gly Pro Cys Val Ile Asn Gly Ser Pro Cys Gln His Gly Gly Thr Cys
130 135 140

Val Asp Asp Glu Gly Arg Ala Ser His Ala Ser Cys Leu Cys Pro Pro
145 150 155 160

Gly Phe Ser Gly Asn Phe Cys Glu Ile Val Ala Asn Ser Cys Thr Pro
165 170 175

[0277]

Asn Pro Cys Glu Asn Asp Gly Val Cys Thr Asp Ile Gly Gly Asp Phe
180 185 190

Arg Cys Arg Cys Pro Ala Gly Phe Ile Asp Lys Thr Cys Ser Arg Pro
195 200 205

Val Thr Asn Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Thr Cys Leu
210 215 220

Gln His Thr Gln Val Ser Tyr Glu Cys Leu Cys Lys Pro Glu Phe Thr
225 230 235 240

Gly Leu Thr Cys Val Lys Lys Arg Ala Leu Ser Pro Gln Gln Val Thr
245 250 255

Arg Leu Pro Ser Gly Tyr Gly Leu Ala Tyr Arg Leu Thr Pro Gly Val
260 265 270

His Glu Leu Pro Val Gln Gln Pro Glu His Arg Ile Leu Lys Val Ser
275 280 285

Met Lys Glu Leu Asn Lys Lys Thr Pro Leu Leu Thr Glu Gly Gln Ala
290 295 300

Ile Cys Phe Thr Ile Leu Gly Val Leu Thr Ser Leu Val Val Leu Gly

305 310 315 320

Thr Val Gly Ile Val Phe Leu Asn Lys Cys Glu Thr Trp Val Ser Asn
325 330 335

Leu Arg Tyr Asn His Met Leu Arg Lys Lys Lys Asn Leu Leu Leu Gln
[0278] 340 345 350

Tyr Asn Ser Gly Glu Asp Leu Ala Val Asn Ile Ile Phe Pro Glu Lys
355 360 365

Ile Asp Met Thr Thr Phe Ser Lys Glu Ala Gly Asp Glu Glu Ile
370 375 380

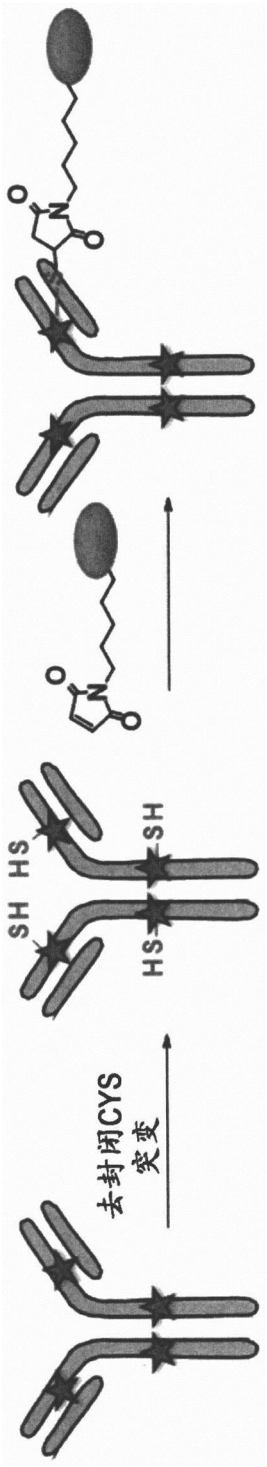


图1

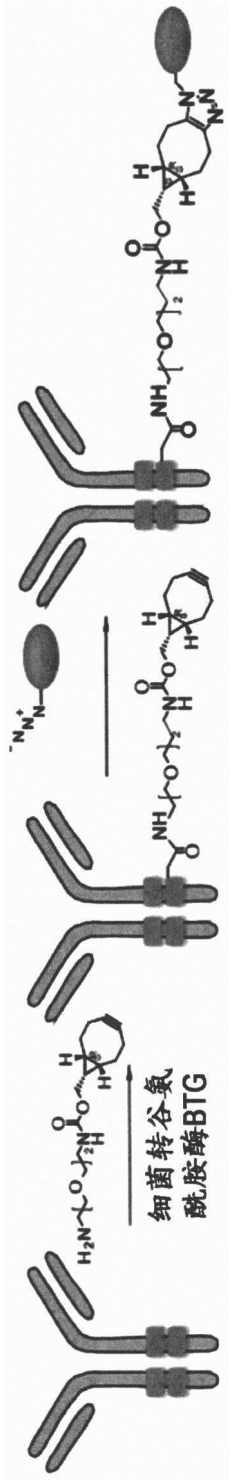


图2

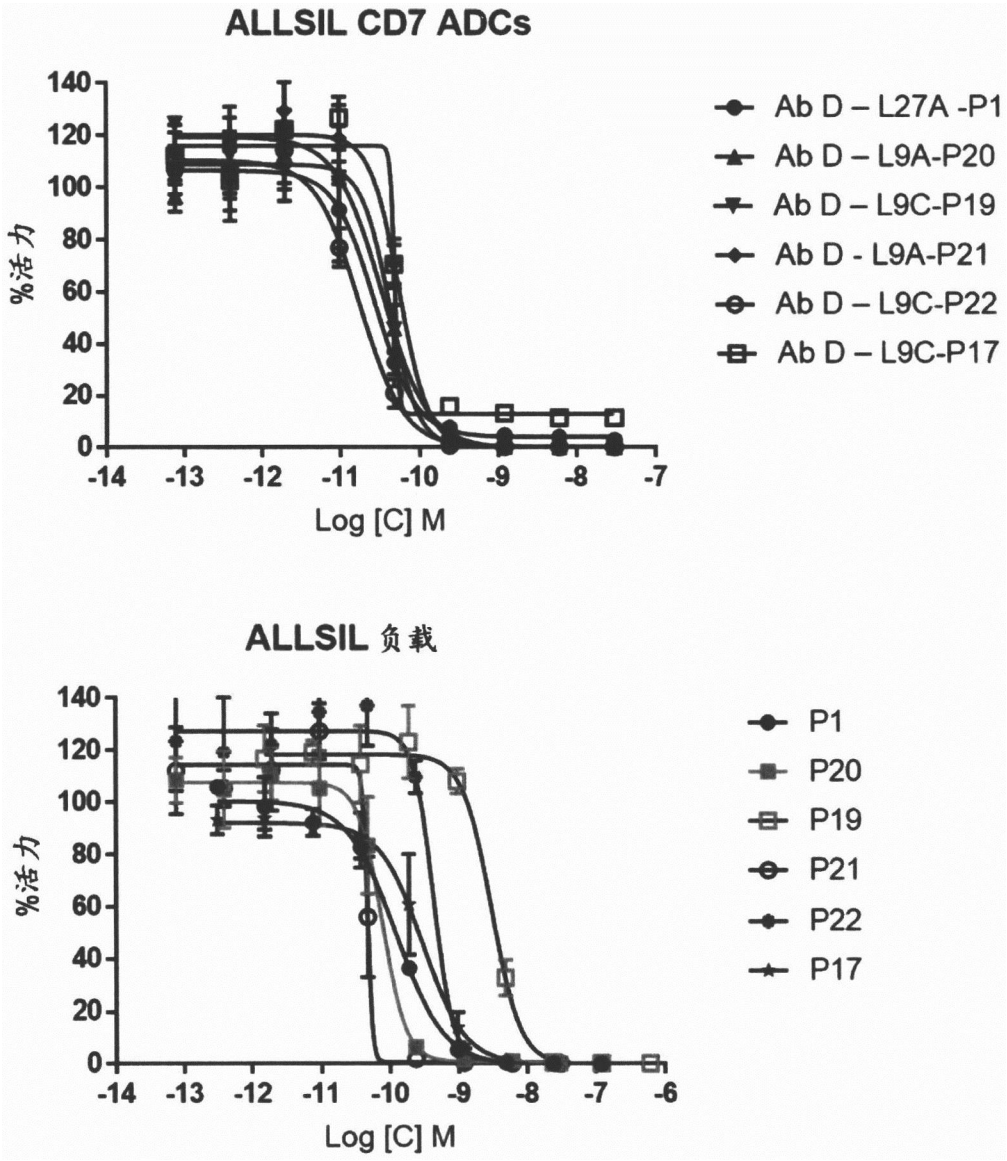

ALLSIL CD7 ADCs
%活力
Log [C] M
Ab D – L27A -P1
Ab D – L9A-P20
Ab D – L9C-P19
Ab D - L9A-P21
Ab D – L9C-P22
Ab D – L9C-P17
ALLSIL 负载
%活力
Log [C] M
P1
P20
P19
P21
P22
P17

图3

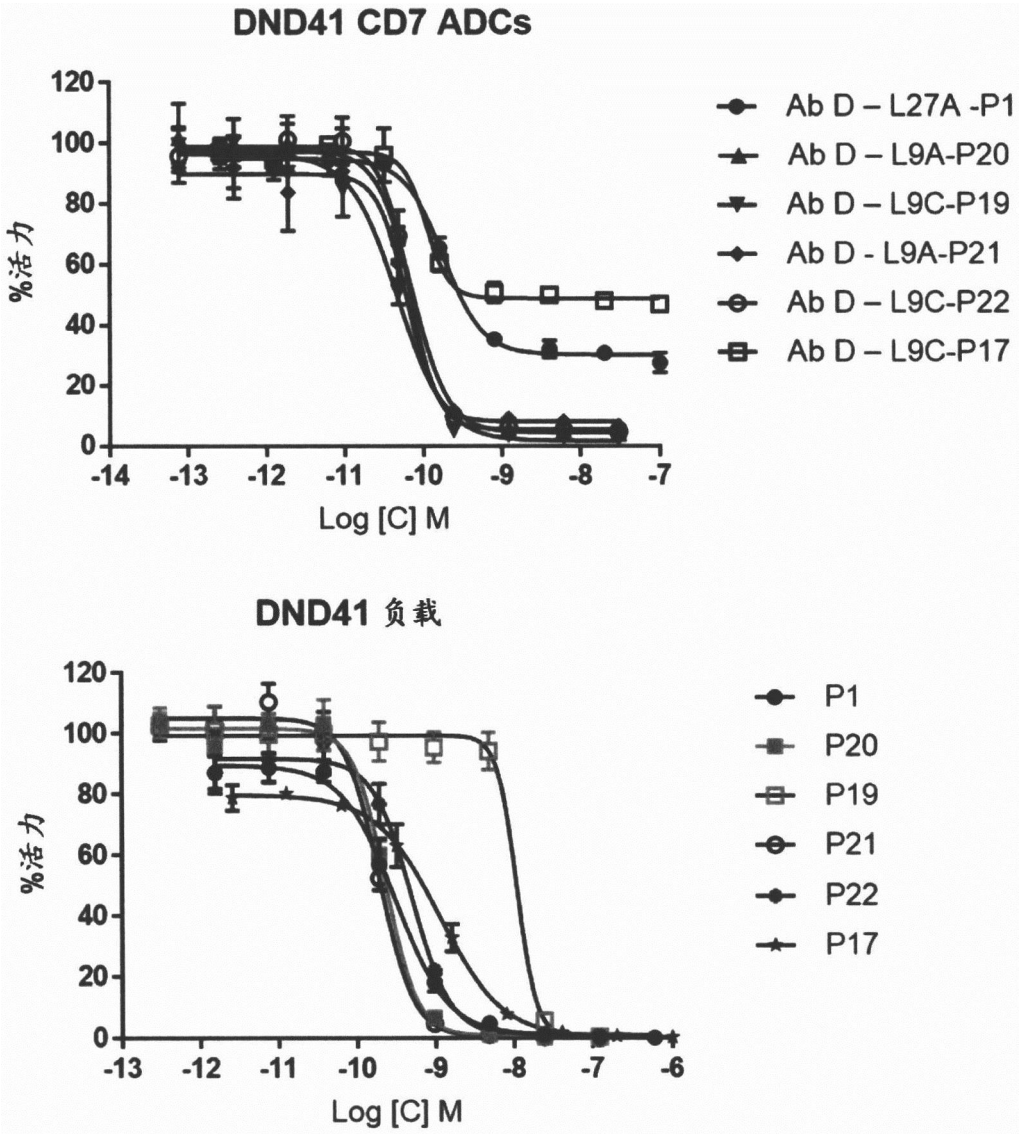

DND41 CD7 ADCs
%活力
120
100
80
60
40
20
0
-14
-13
-12
-11
-10
-9
-8
-7
Log [C] M
Ab D – L27A -P1
Ab D – L9A-P20
Ab D – L9C-P19
Ab D - L9A-P21
Ab D – L9C-P22
Ab D – L9C-P17
DND41 负载
%活力
120
100
80
60
40
20
0
-13
-12
-11
-10
-9
-8
-7
-6
Log [C] M
P1
P20
P19
P21
P22
P17

图4

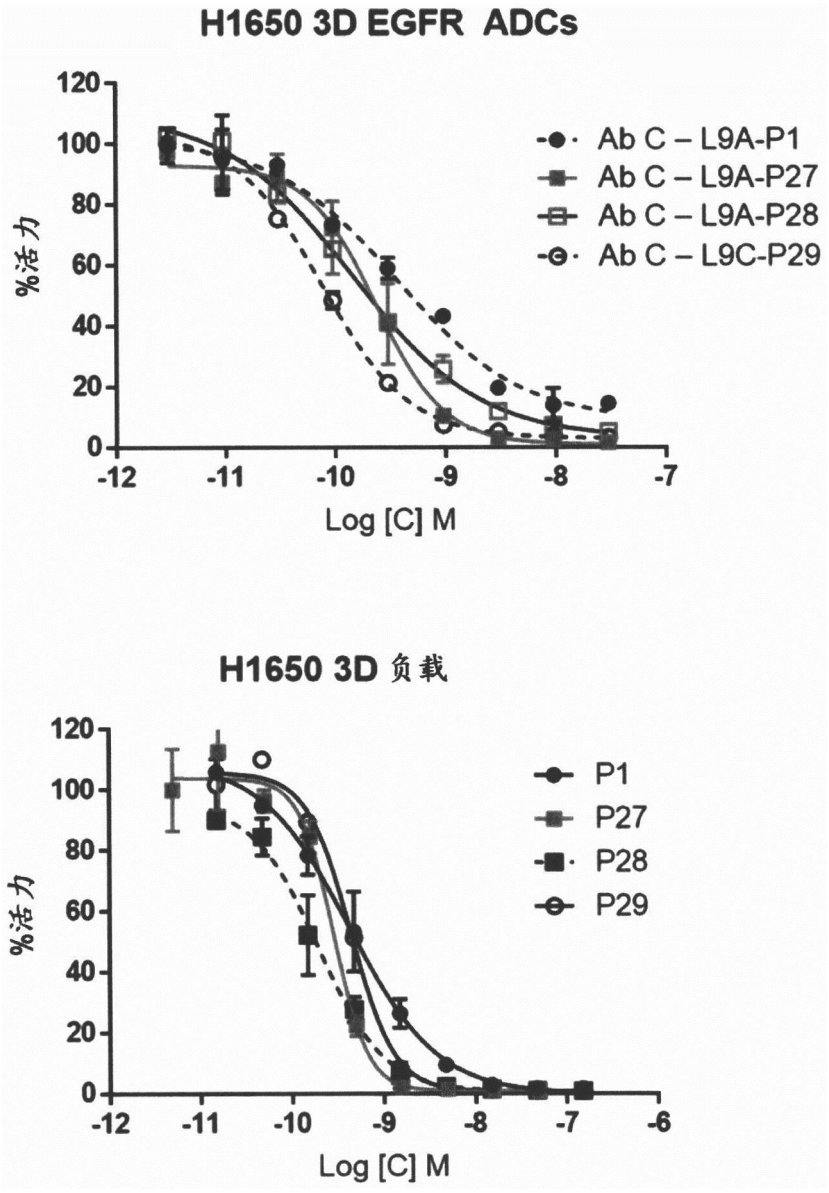

H1650 3D EGFR ADCs
%活力
120
100
80
60
40
20
0
-12
-11
-10
-9
-8
-7
Log [C] M
Ab C – L9A-P1
Ab C – L9A-P27
Ab C – L9A-P28
Ab C – L9C-P29
H1650 3D 负载
%活力
120
100
80
60
40
20
0
-12
-11
-10
-9
-8
-7
-6
Log [C] M
P1
P27
P28
P29

图5A

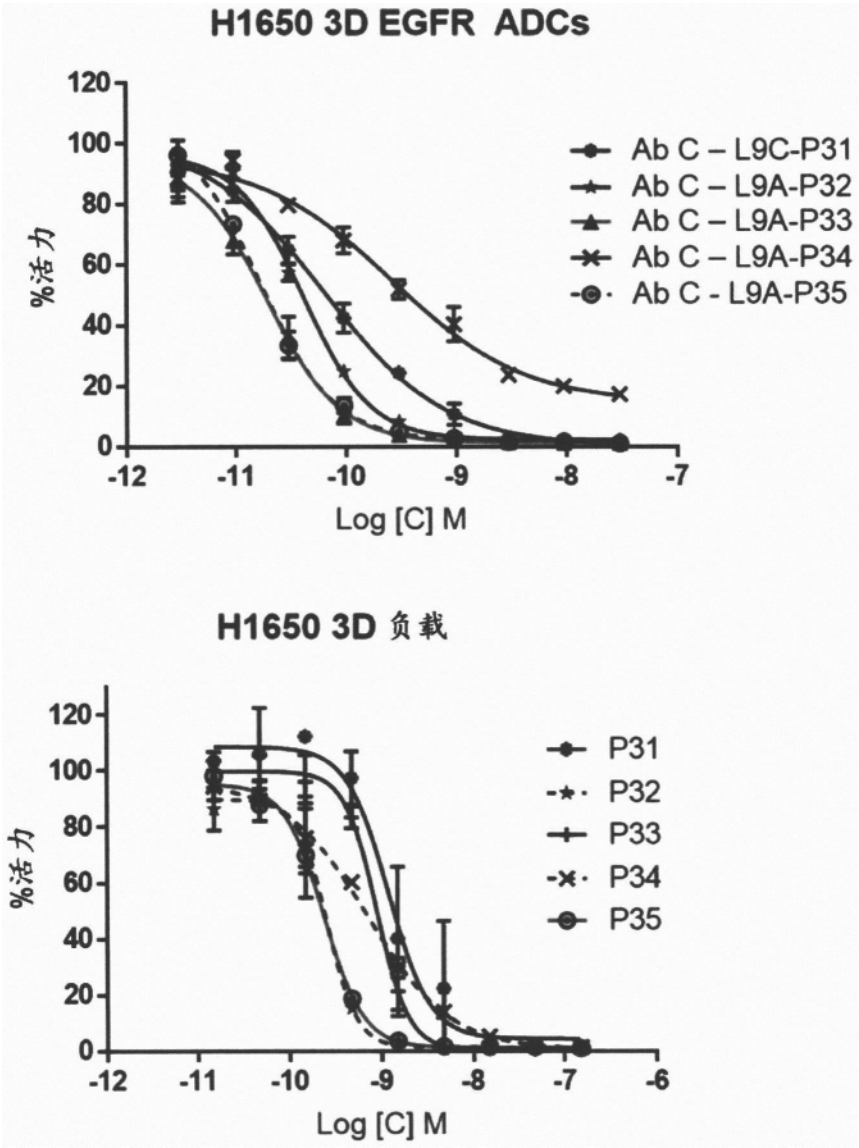

H1650 3D EGFR ADCs
%活力
120
100
80
60
40
20
0
-12
-11
-10
-9
-8
-7
Log [C] M
Ab C – L9C-P31
Ab C – L9A-P32
Ab C – L9A-P33
Ab C – L9A-P34
Ab C - L9A-P35
H1650 3D 负载
%活力
120
100
80
60
40
20
0
-12
-11
-10
-9
-8
-7
-6
Log [C] M
P31
P32
P33
P34
P35

图5B

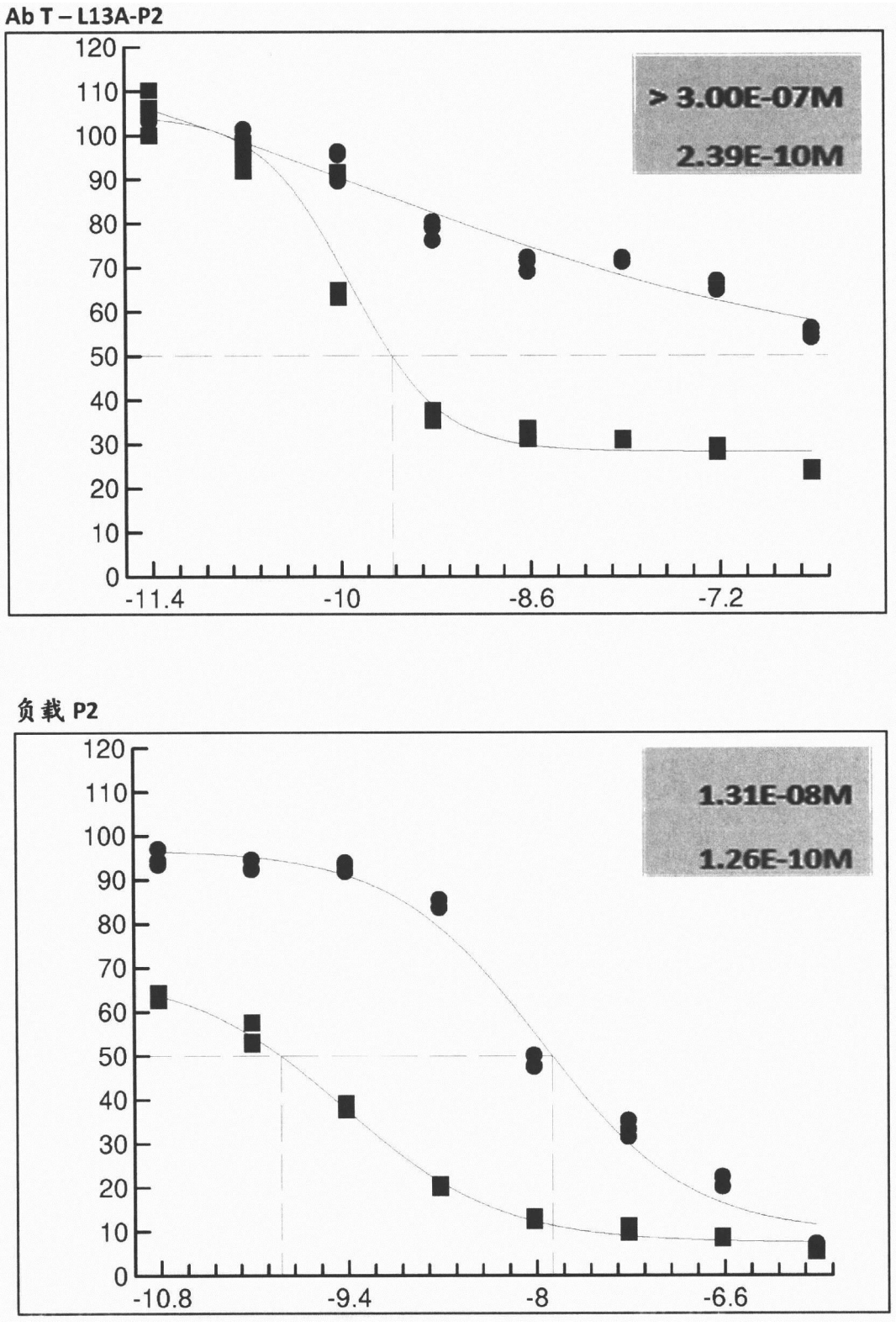

Ab T – L13A-P2
> 3.00E-07M
2.39E-10M
120
110
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
-11.4
-10
-8.6
-7.2
负载 P2
1.31E-08M
1.26E-10M
120
110
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
-10.8
-9.4
-8
-6.6

图6

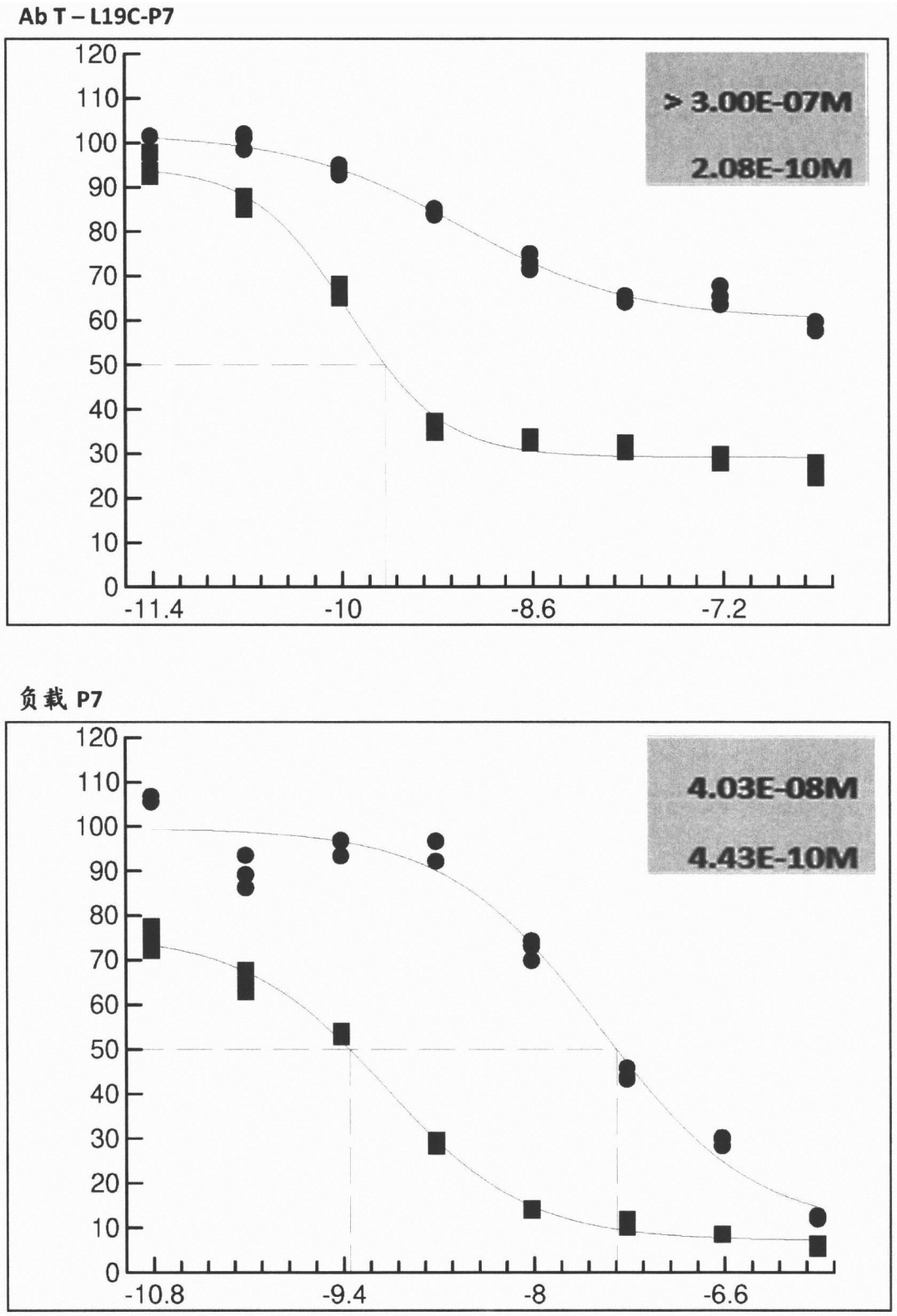

Ab T – L19C-P7
> 3.00E-07M
2.08E-10M
120
110
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
-11.4
-10
-8.6
-7.2
负载 P7
4.03E-08M
4.43E-10M
120
110
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
-10.8
-9.4
-8
-6.6

图6

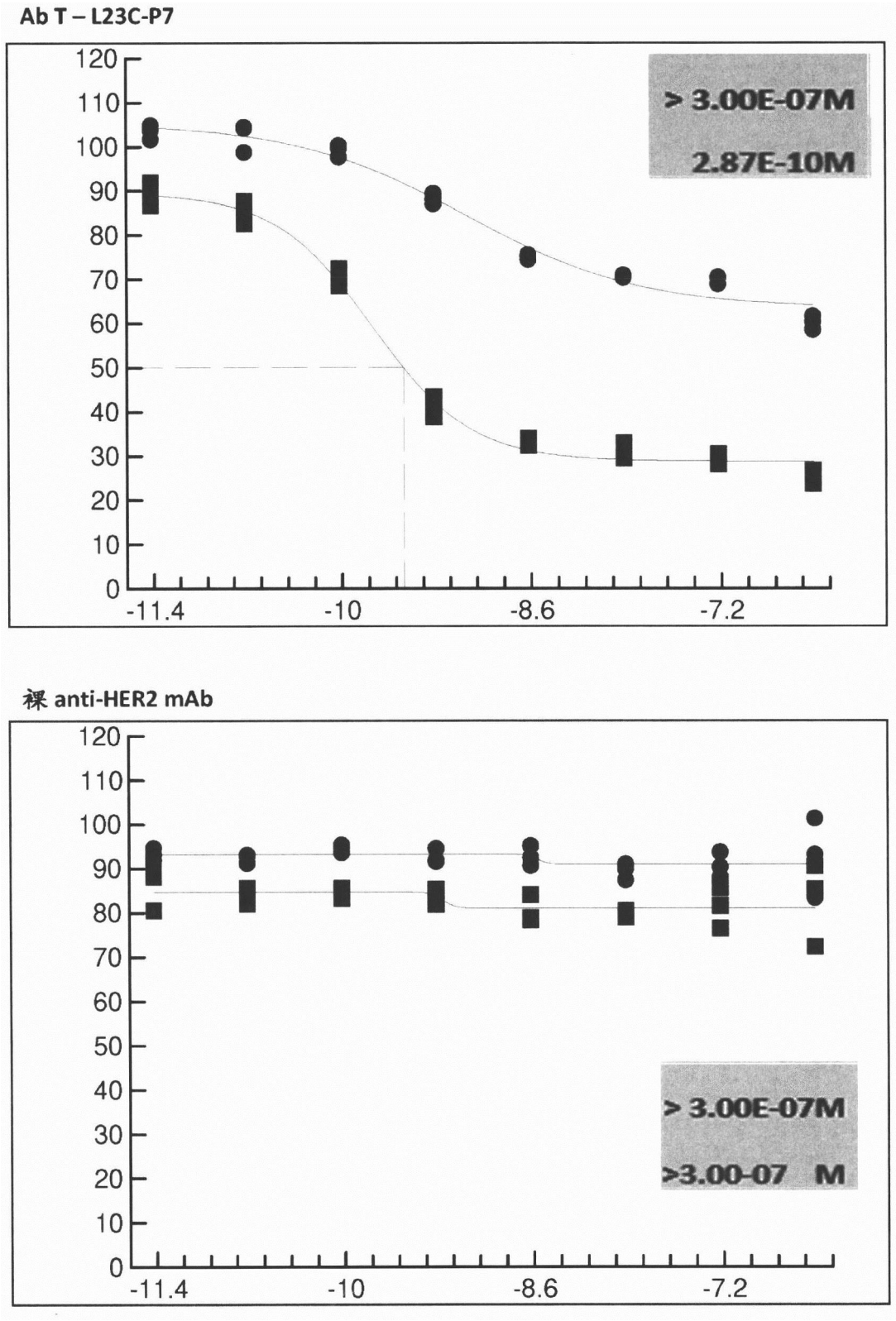

Ab T – L23C-P7
120
110
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
-11.4
-10
-8.6
-7.2
> 3.00E-07M
2.87E-10M
裸 anti-HER2 mAb
120
110
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
-11.4
-10
-8.6
-7.2
> 3.00E-07M
>3.00-07 M

图6

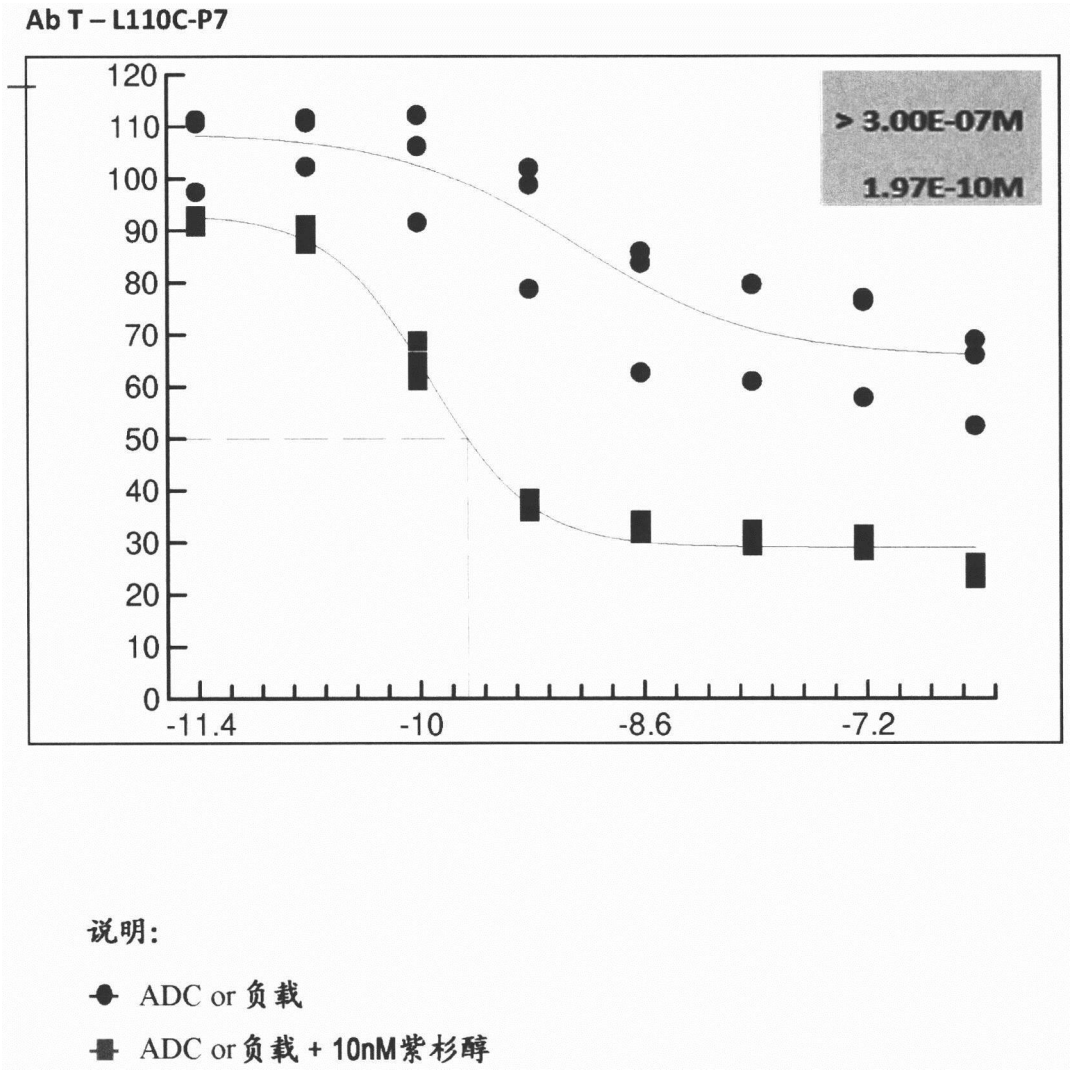

Ab T – L110C-P7
120
110
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
-11.4
-10
-8.6
-7.2
> 3.00E-07M
1.97E-10M
说明:
ADC or 负载
ADC or 负载 + 10nM紫杉醇

图6

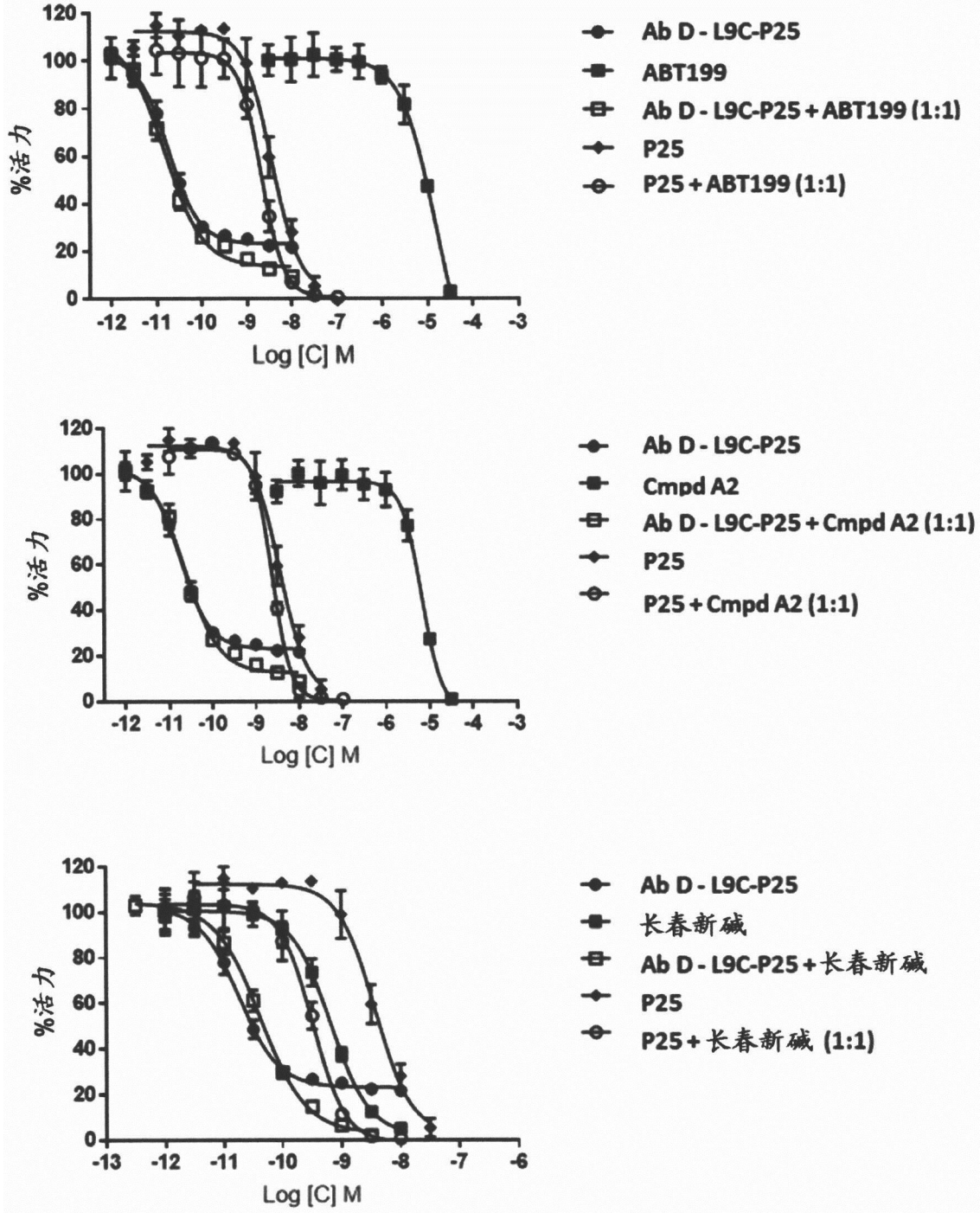

%活力
Log [C] M
Ab D - L9C-P25
ABT199
Ab D - L9C-P25 + ABT199 (1:1)
P25
P25 + ABT199 (1:1)
%活力
Log [C] M
Ab D - L9C-P25
Cmpd A2
Ab D - L9C-P25 + Cmpd A2 (1:1)
P25
P25 + Cmpd A2 (1:1)
%活力
Log [C] M
Ab D - L9C-P25
长春新碱
Ab D - L9C-P25 + 长春新碱
P25
P25 + 长春新碱 (1:1)

图7A

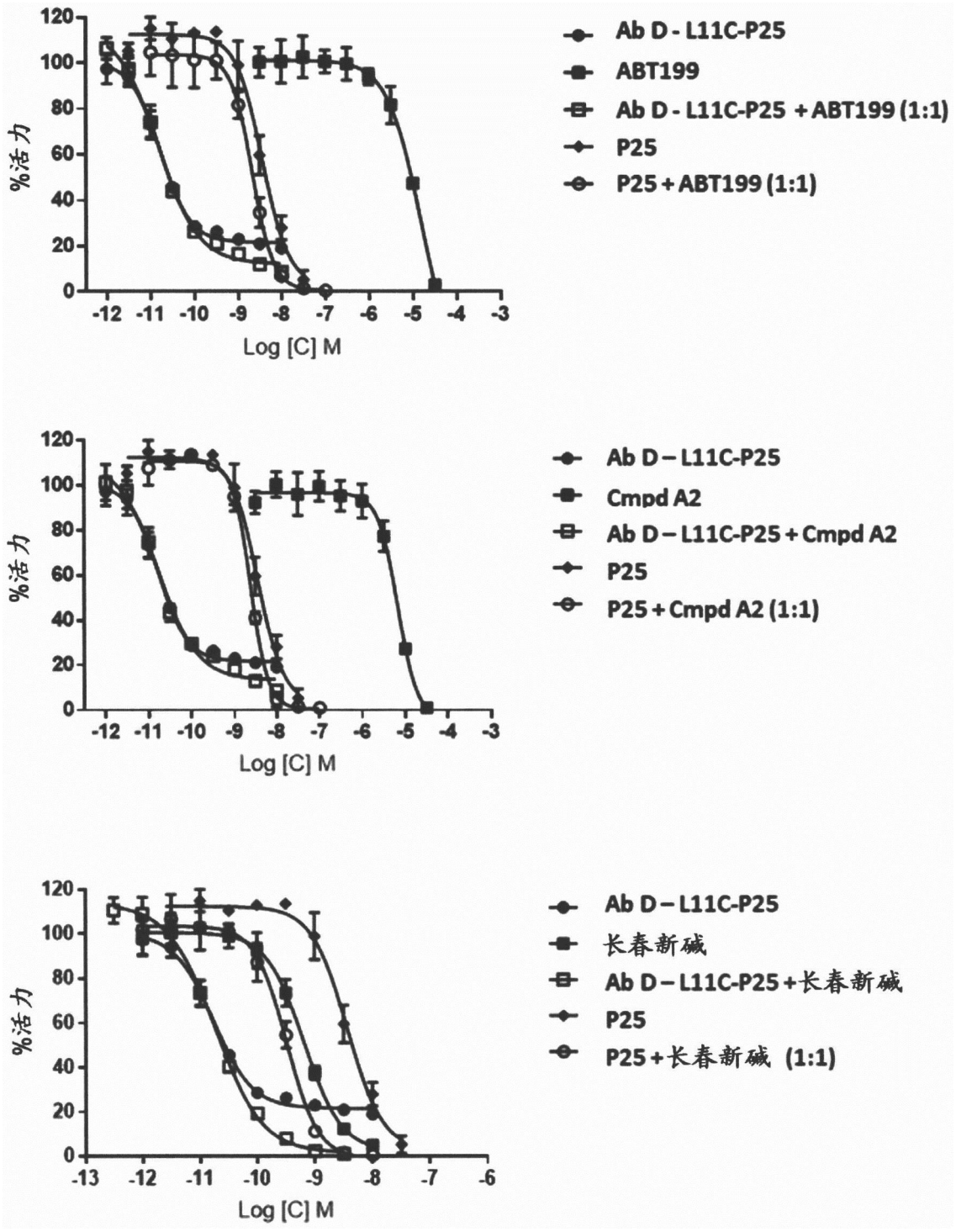

%活力
Log [C] M
Ab D - L11C-P25
ABT199
Ab D - L11C-P25 + ABT199 (1:1)
P25
P25 + ABT199 (1:1)
%活力
Log [C] M
Ab D – L11C-P25
Cmpd A2
Ab D – L11C-P25 + Cmpd A2
P25
P25 + Cmpd A2 (1:1)
%活力
Log [C] M
Ab D – L11C-P25
长春新碱
Ab D – L11C-P25 + 长春新碱
P25
P25 + 长春新碱 (1:1)

图7A

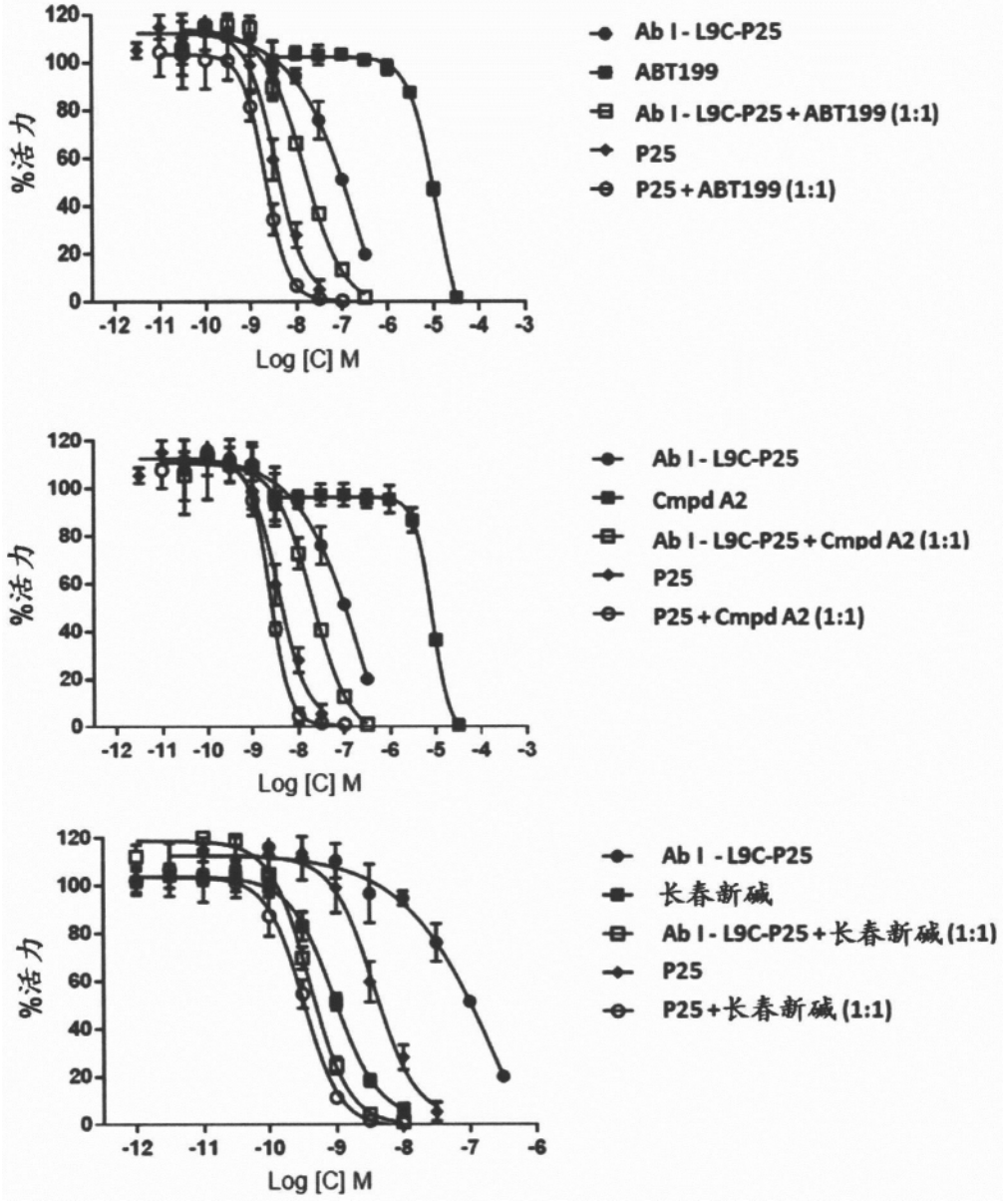

%活力
Log [C] M
Ab I - L9C-P25
ABT199
Ab I - L9C-P25 + ABT199 (1:1)
P25
P25 + ABT199 (1:1)
%活力
Log [C] M
Ab I - L9C-P25
Cmpd A2
Ab I - L9C-P25 + Cmpd A2 (1:1)
P25
P25 + Cmpd A2 (1:1)
%活力
Log [C] M
Ab I - L9C-P25
长春新碱
Ab I - L9C-P25 + 长春新碱 (1:1)
P25
P25 + 长春新碱 (1:1)

图7B

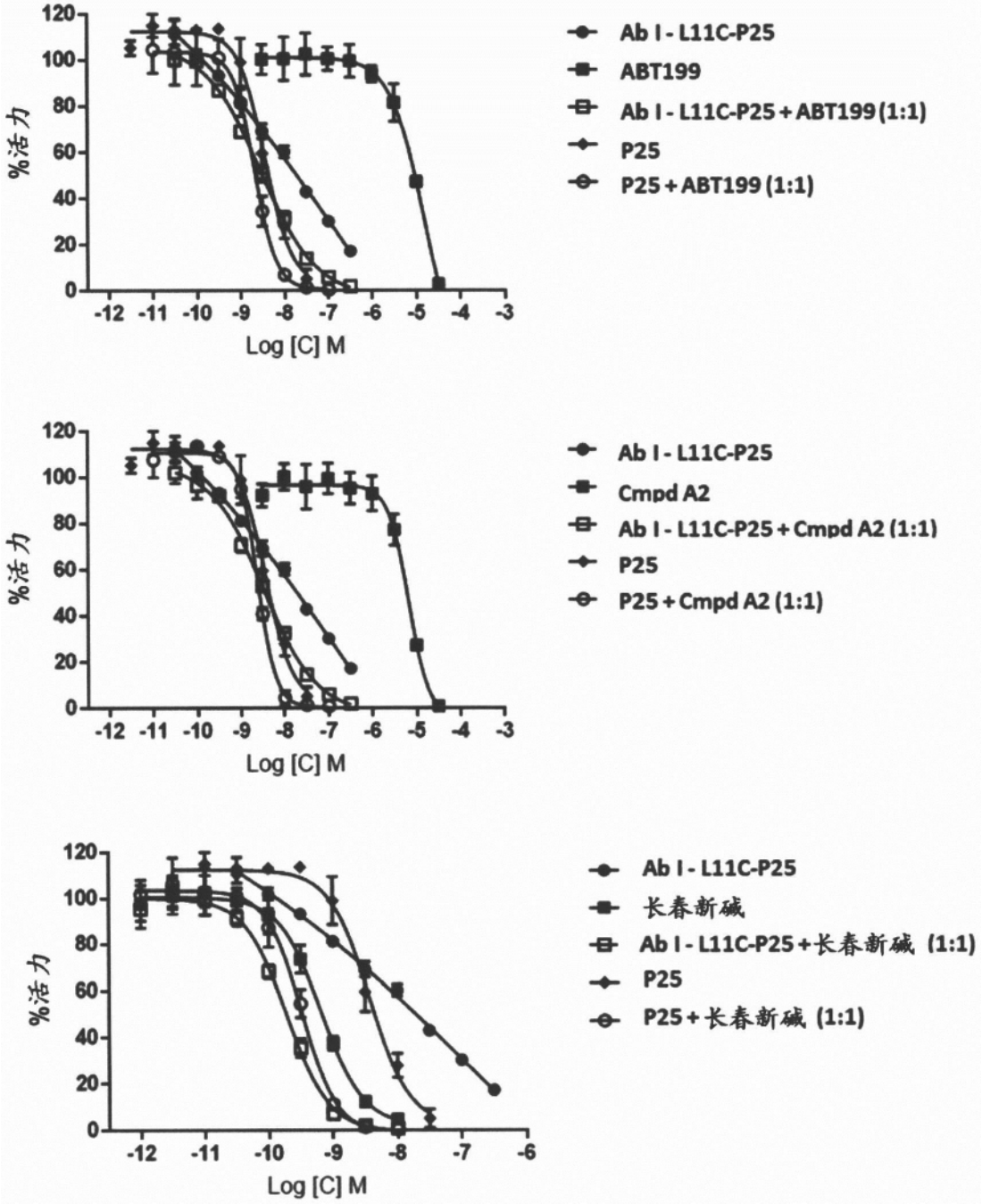

%活力
Log [C] M
Ab I - L11C-P25
ABT199
Ab I - L11C-P25 + ABT199 (1:1)
P25
P25 + ABT199 (1:1)
%活力
Log [C] M
Ab I - L11C-P25
Cmpd A2
Ab I - L11C-P25 + Cmpd A2 (1:1)
P25
P25 + Cmpd A2 (1:1)
%活力
Log [C] M
Ab I - L11C-P25
长春新碱
Ab I - L11C-P25 + 长春新碱 (1:1)
P25
P25 + 长春新碱 (1:1)

图7B

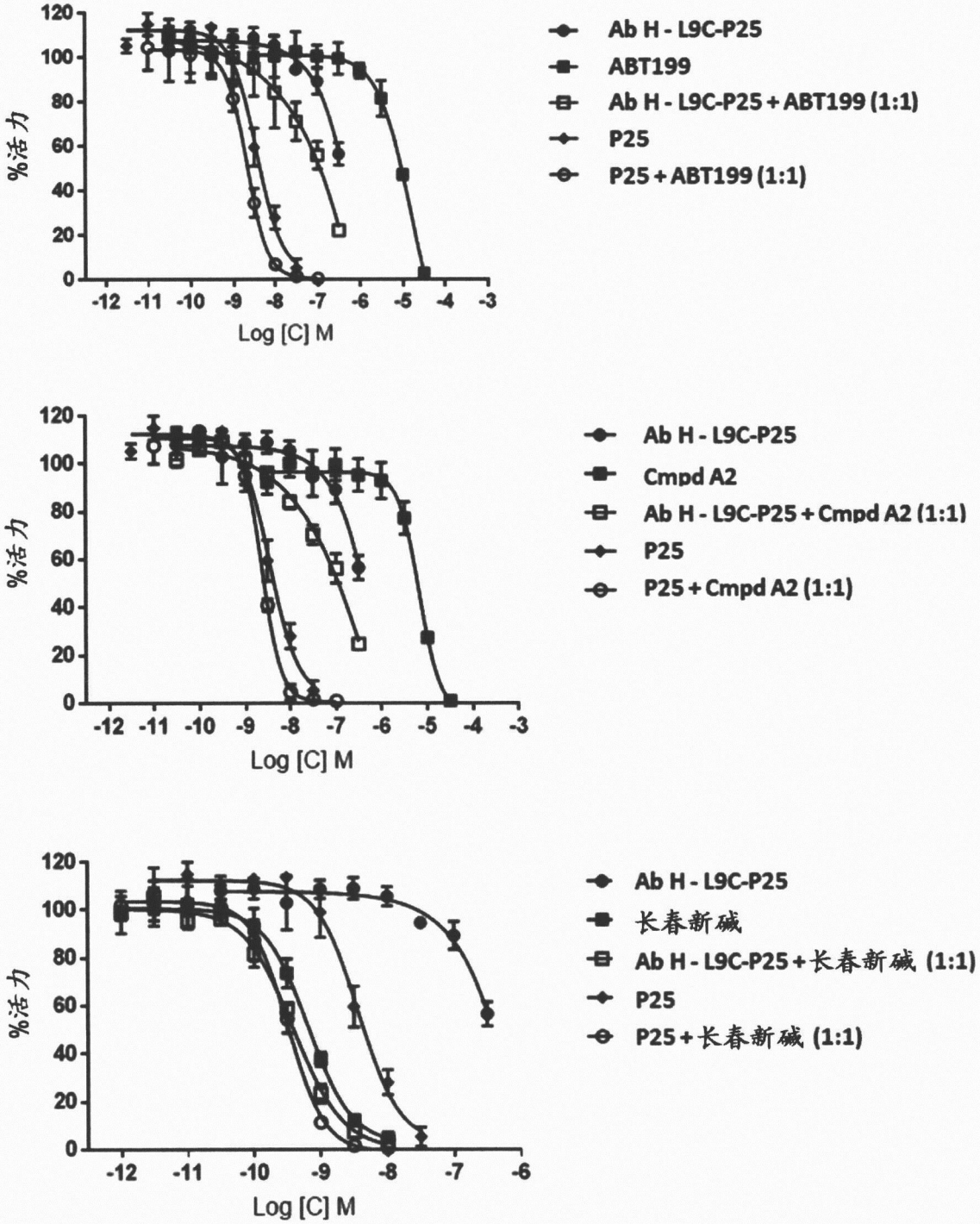

%活力
Log [C] M
Ab H - L9C-P25
ABT199
Ab H - L9C-P25 + ABT199 (1:1)
P25
P25 + ABT199 (1:1)
%活力
Log [C] M
Ab H - L9C-P25
Cmpd A2
Ab H - L9C-P25 + Cmpd A2 (1:1)
P25
P25 + Cmpd A2 (1:1)
%活力
Log [C] M
Ab H - L9C-P25
长春新碱
Ab H - L9C-P25 + 长春新碱 (1:1)
P25
P25 + 长春新碱 (1:1)

图7C

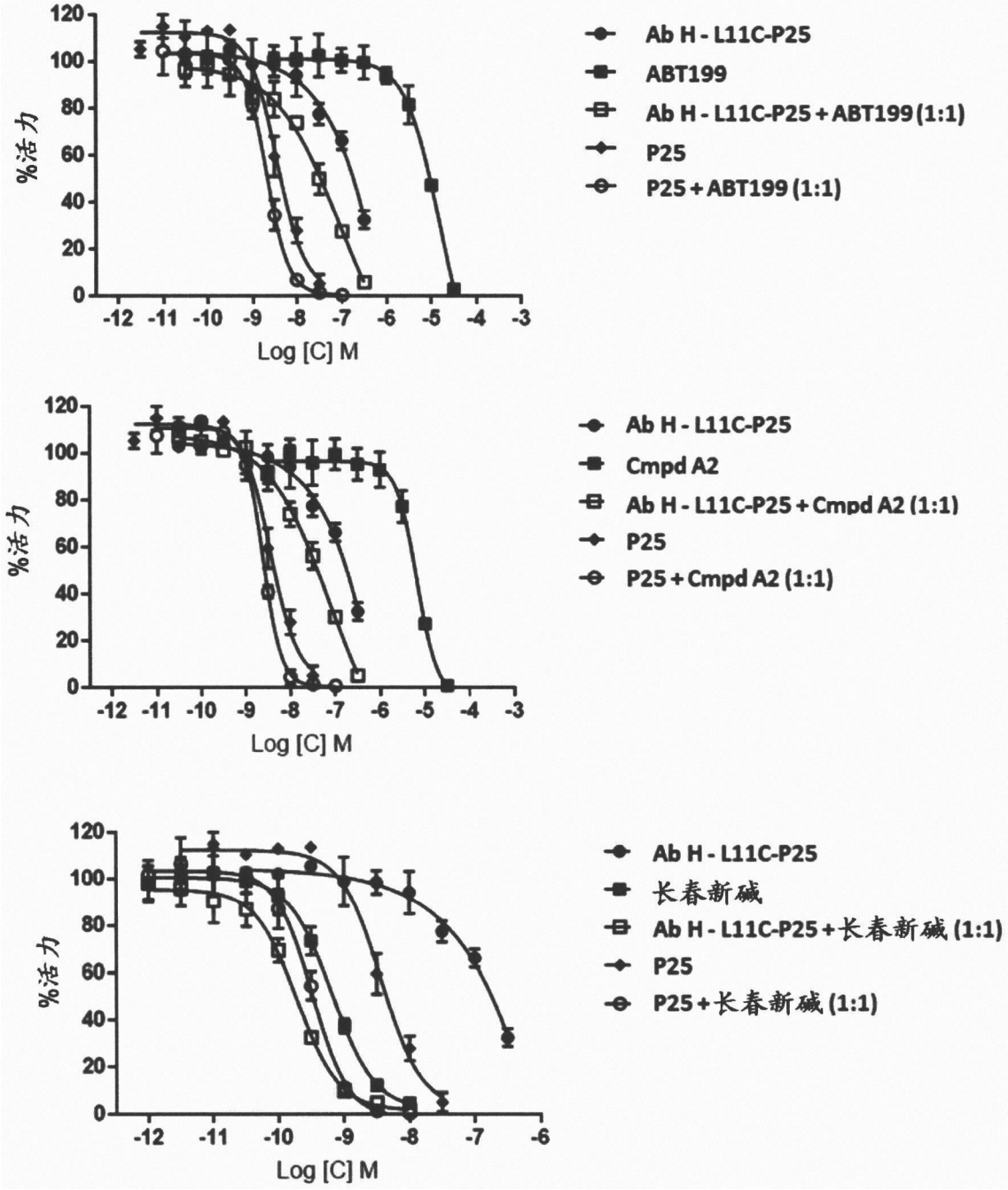

%活力
Log [C] M
Ab H - L11C-P25
ABT199
Ab H - L11C-P25 + ABT199 (1:1)
P25
P25 + ABT199 (1:1)
%活力
Log [C] M
Ab H - L11C-P25
Cmpd A2
Ab H - L11C-P25 + Cmpd A2 (1:1)
P25
P25 + Cmpd A2 (1:1)
%活力
Log [C] M
Ab H - L11C-P25
长春新碱
Ab H - L11C-P25 + 长春新碱 (1:1)
P25
P25 + 长春新碱 (1:1)

图7C

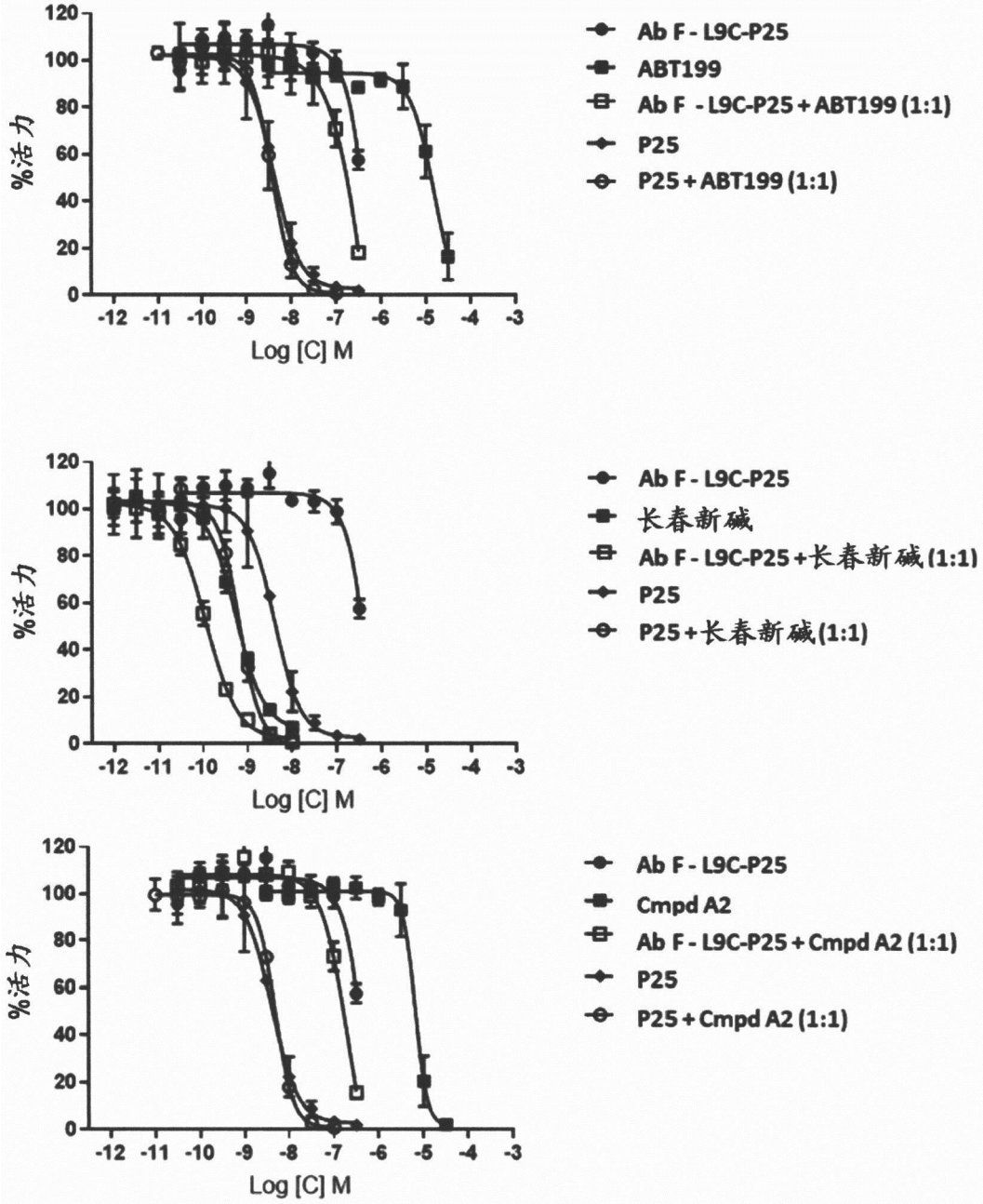

%活力
Log [C] M
Ab F - L9C-P25
ABT199
Ab F - L9C-P25 + ABT199 (1:1)
P25
P25 + ABT199 (1:1)
%活力
Log [C] M
Ab F - L9C-P25
长春新碱
Ab F - L9C-P25 + 长春新碱 (1:1)
P25
P25 + 长春新碱 (1:1)
%活力
Log [C] M
Ab F - L9C-P25
Cmpd A2
Ab F - L9C-P25 + Cmpd A2 (1:1)
P25
P25 + Cmpd A2 (1:1)

图7D

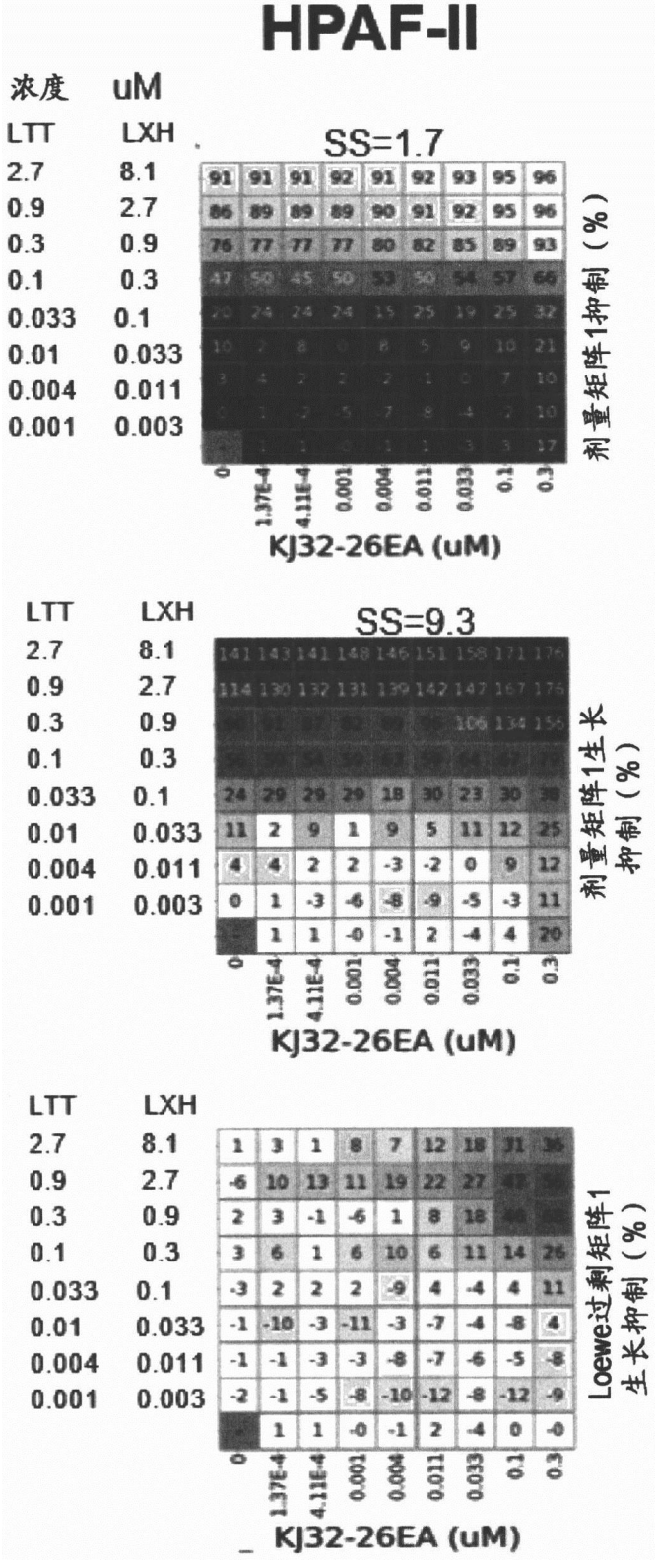

HPAF-II
浓度 uM
LTT LXH
2.7 8.1
0.9 2.7
0.3 0.9
0.1 0.3
0.033 0.1
0.01 0.033
0.004 0.011
0.001 0.003
SS=1.7
剂量矩阵1抑制（%）
KJ32-26EA (uM)
SS=9.3
剂量矩阵1生长抑制（%）
KJ32-26EA (uM)
Loewe过剩矩阵1生长抑制（%）
KJ32-26EA (uM)

图8A

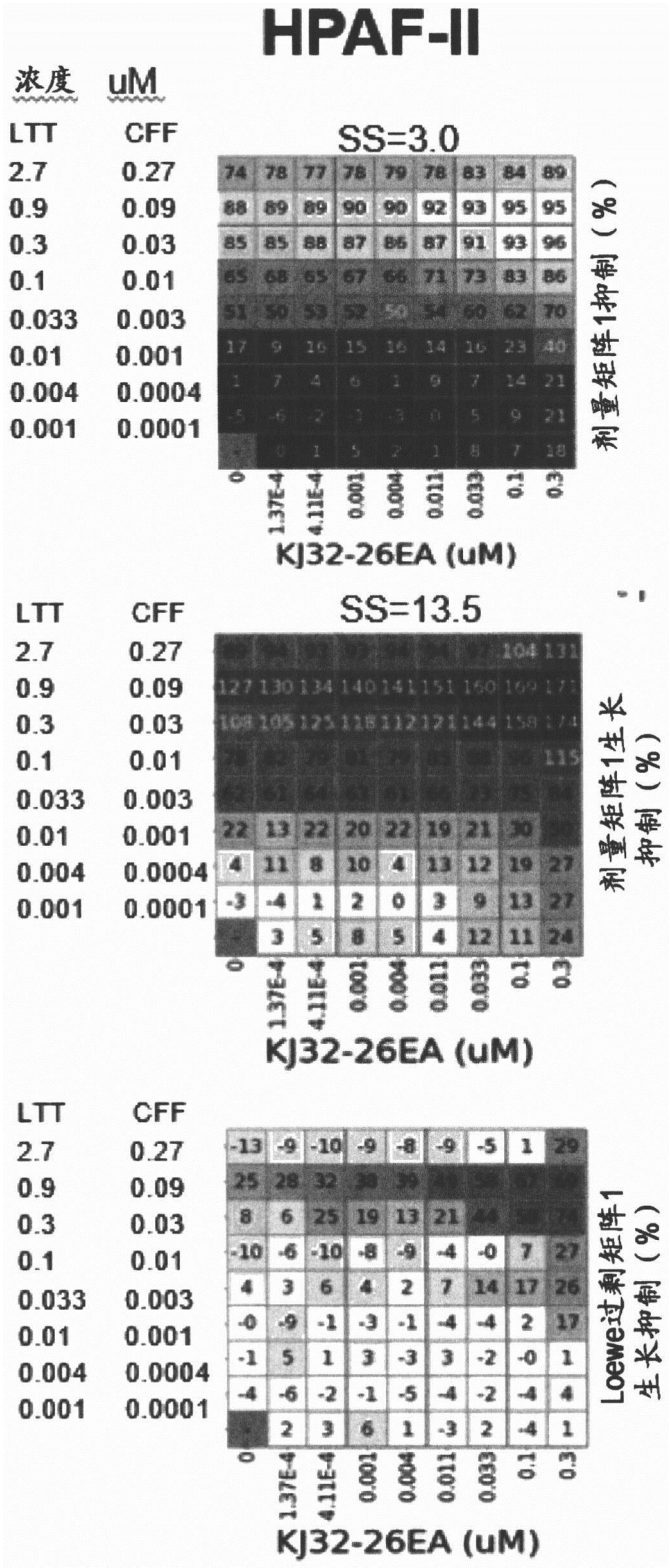

HPAF-II
浓度 uM
LTT CFF
2.7 0.27
0.9 0.09
0.3 0.03
0.1 0.01
0.033 0.003
0.01 0.001
0.004 0.0004
0.001 0.0001
SS=3.0
74 78 77 78 79 78 83 84 89
88 89 89 90 90 92 93 95 95
85 85 88 87 86 87 91 93 96
65 68 65 67 66 71 73 83 86
51 50 53 52 50 54 60 62 70
17 9 16 15 16 14 16 23 40
1 7 4 6 1 9 7 14 21
-5 -6 2 -1 -3 0 5 9 21
0 1 5 2 1 8 7 18
0 1.37E-4 4.11E-4 0.001 0.004 0.011 0.033 0.1 0.3
KJ32-26EA (uM)
剂量矩阵1抑制（%）
SS=13.5
104 131
127 130 134 140 141 151 160 169
108 105 125 118 112 121 144 158
115
22 13 22 20 22 19 21 30
4 11 8 10 4 13 12 19 27
-3 -4 1 2 0 3 9 13 27
3 5 8 5 4 12 11 24
0 1.37E-4 4.11E-4 0.001 0.004 0.011 0.033 0.1 0.3
KJ32-26EA (uM)
剂量矩阵1生长抑制（%）
-13 -9 -10 -9 -8 -9 -5 1 29
25 28 32
8 6 25 19 13 21
-10 -6 -10 -8 -9 -4 -0 7 27
4 3 6 4 2 7 14 17 26
-0 -9 -1 -3 -1 -4 -4 2 17
-1 5 1 3 -3 3 -2 -0 1
-4 -6 -2 -1 -5 -4 -2 -4 4
2 3 6 1 -3 2 -4 1
0 1.37E-4 4.11E-4 0.001 0.004 0.011 0.033 0.1 0.3
KJ32-26EA (uM)
Loewe过剩矩阵1生长抑制（%）

图8A

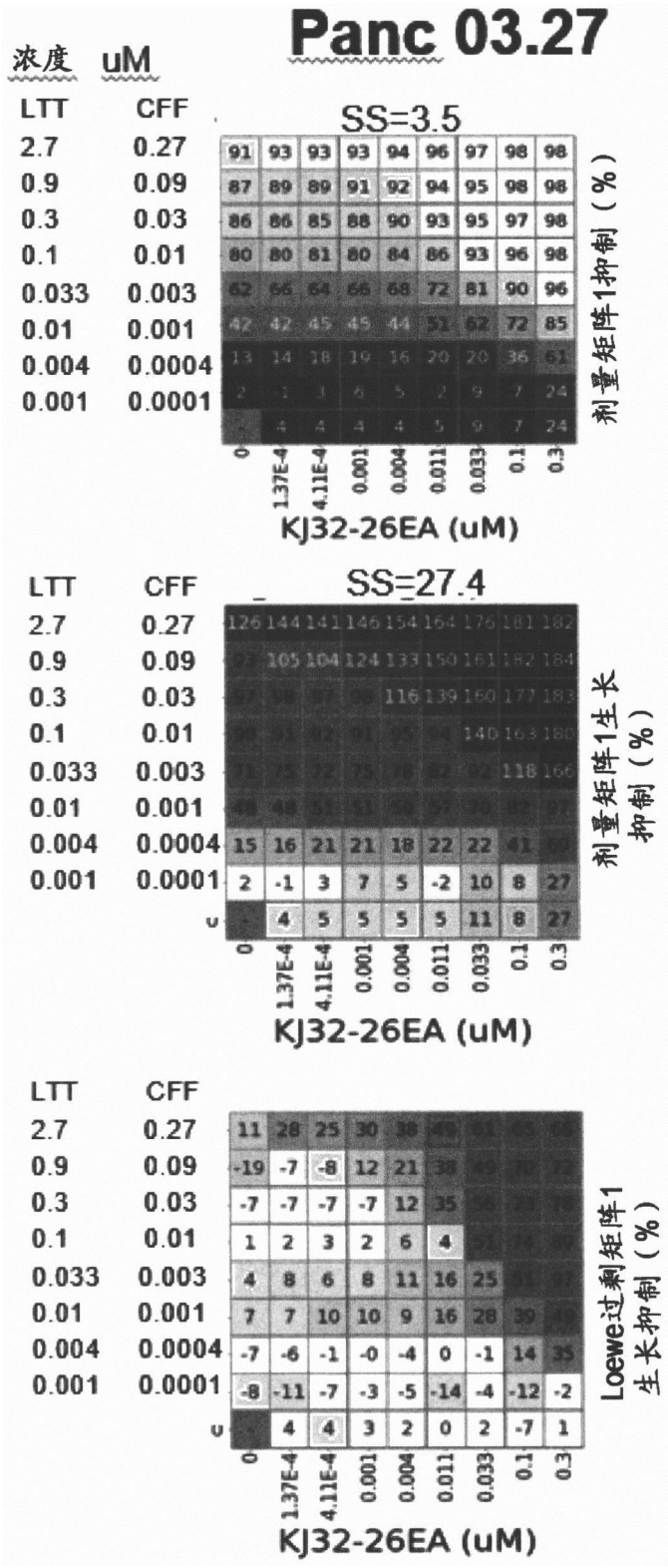

Panc 03.27
浓度 uM
LTT CFF
2.7 0.27
0.9 0.09
0.3 0.03
0.1 0.01
0.033 0.003
0.01 0.001
0.004 0.0004
0.001 0.0001
SS=3.5
91 93 93 93 94 96 97 98 98
87 89 89 91 92 94 95 98 98
86 86 85 88 90 93 95 97 98
80 80 81 80 84 86 93 96 98
62 66 64 66 68 72 81 90 96
42 42 45 45 44 51 62 72 85
13 14 18 19 16 20 20 36 61
2 1 3 6 5 2 9 7 24
4 4 4 4 5 9 7 24
0 1.37E-4 4.11E-4 0.001 0.004 0.011 0.033 0.1 0.3
KJ32-26EA (uM)
剂量矩阵1抑制（%）
SS=27.4
126 144 141 146 154 164 176 181 182
105 104 124 133 150 161 182 184
116 139 160 177 183
140 163 180
118 166
15 16 21 21 18 22 22 41
2 -1 3 7 5 -2 10 8 27
4 5 5 5 5 11 8 27
0 1.37E-4 4.11E-4 0.001 0.004 0.011 0.033 0.1 0.3
KJ32-26EA (uM)
剂量矩阵1生长抑制（%）
LTT CFF
2.7 0.27
0.9 0.09
0.3 0.03
0.1 0.01
0.033 0.003
0.01 0.001
0.004 0.0004
0.001 0.0001
11 28 25 30
-19 -7 -8 12 21
-7 -7 -7 -7 12 35
1 2 3 2 6 4
4 8 6 8 11 16 25
7 7 10 10 9 16 28
-7 -6 -1 -0 -4 0 -1 14 35
-8 -11 -7 -3 -5 -14 -4 -12 -2
4 4 3 2 0 2 -7 1
0 1.37E-4 4.11E-4 0.001 0.004 0.011 0.033 0.1 0.3
KJ32-26EA (uM)
Loewe过剩矩阵1生长抑制（%）

图8B

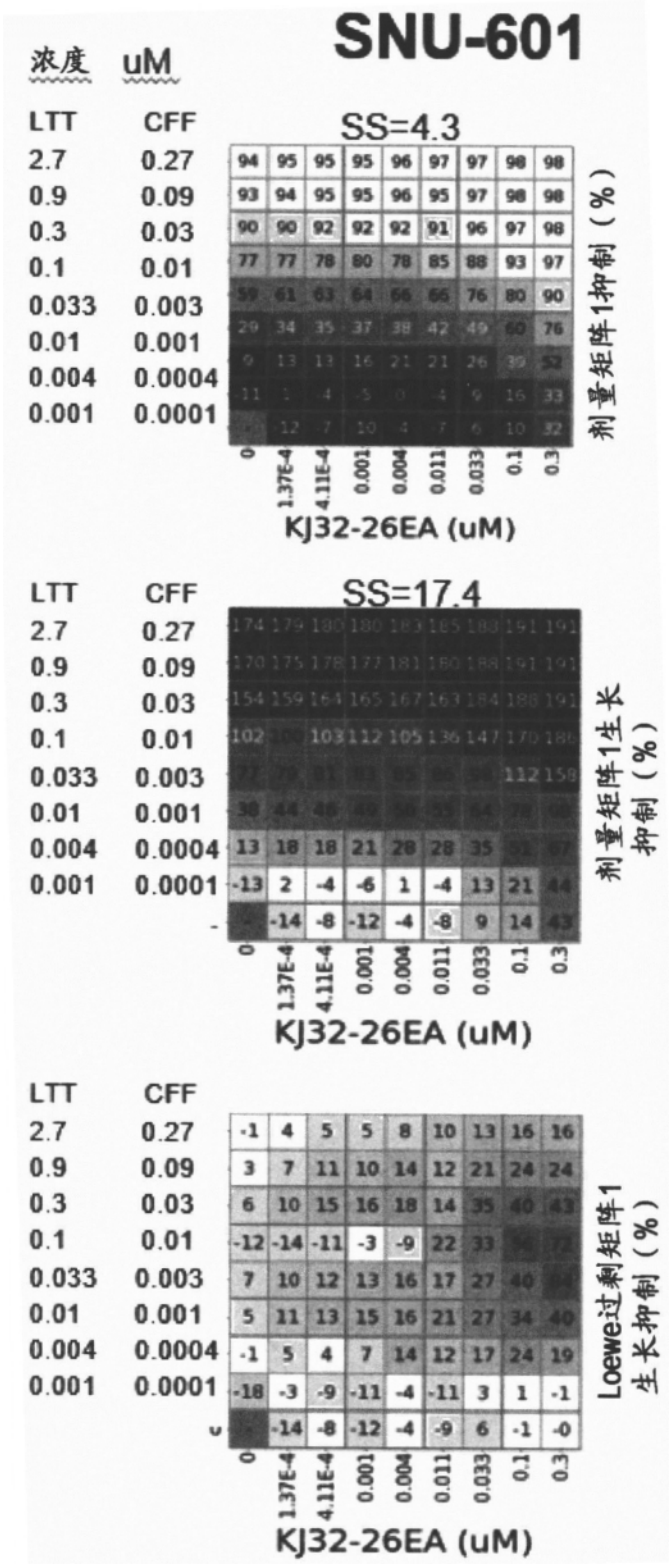

SNU-601
浓度 uM
LTT CFF
2.7 0.27
0.9 0.09
0.3 0.03
0.1 0.01
0.033 0.003
0.01 0.001
0.004 0.0004
0.001 0.0001
SS=4.3
剂量矩阵1抑制（%）
KJ32-26EA (uM)
SS=17.4
剂量矩阵1生长抑制（%）
KJ32-26EA (uM)
Loewe过剩矩阵1生长抑制（%）
KJ32-26EA (uM)

图8B

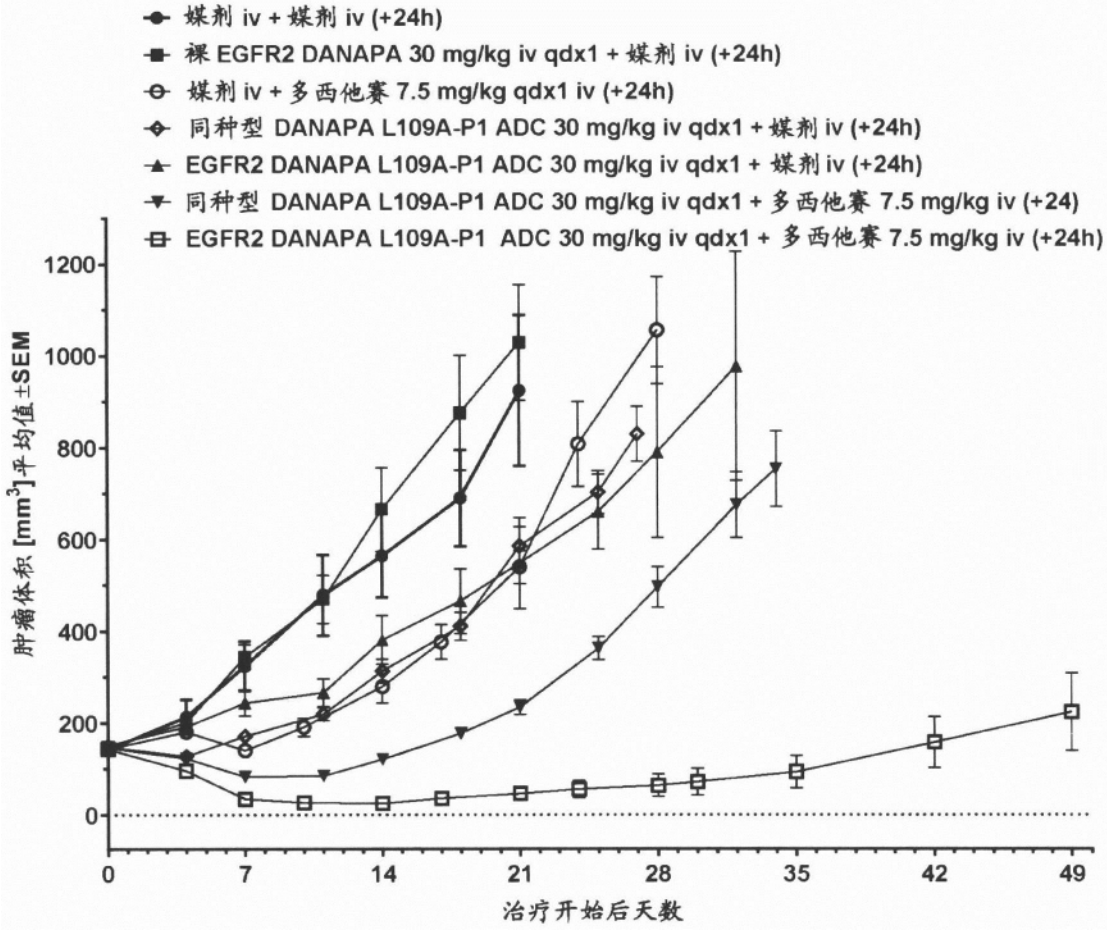

媒剂 iv + 媒剂 iv (+24h)
裸 EGFR2 DANAPA 30 mg/kg iv qdx1 + 媒剂 iv (+24h)
媒剂 iv + 多西他赛 7.5 mg/kg qdx1 iv (+24h)
同种型 DANAPA L109A-P1 ADC 30 mg/kg iv qdx1 + 媒剂 iv (+24h)
EGFR2 DANAPA L109A-P1 ADC 30 mg/kg iv qdx1 + 媒剂 iv (+24h)
同种型 DANAPA L109A-P1 ADC 30 mg/kg iv qdx1 + 多西他赛 7.5 mg/kg iv (+24)
EGFR2 DANAPA L109A-P1 ADC 30 mg/kg iv qdx1 + 多西他赛 7.5 mg/kg iv (+24h)
肿瘤体积 [mm3]平均值±SEM
1200
1000
800
600
400
200
0
0
7
14
21
28
35
42
49
治疗开始后天数

图9

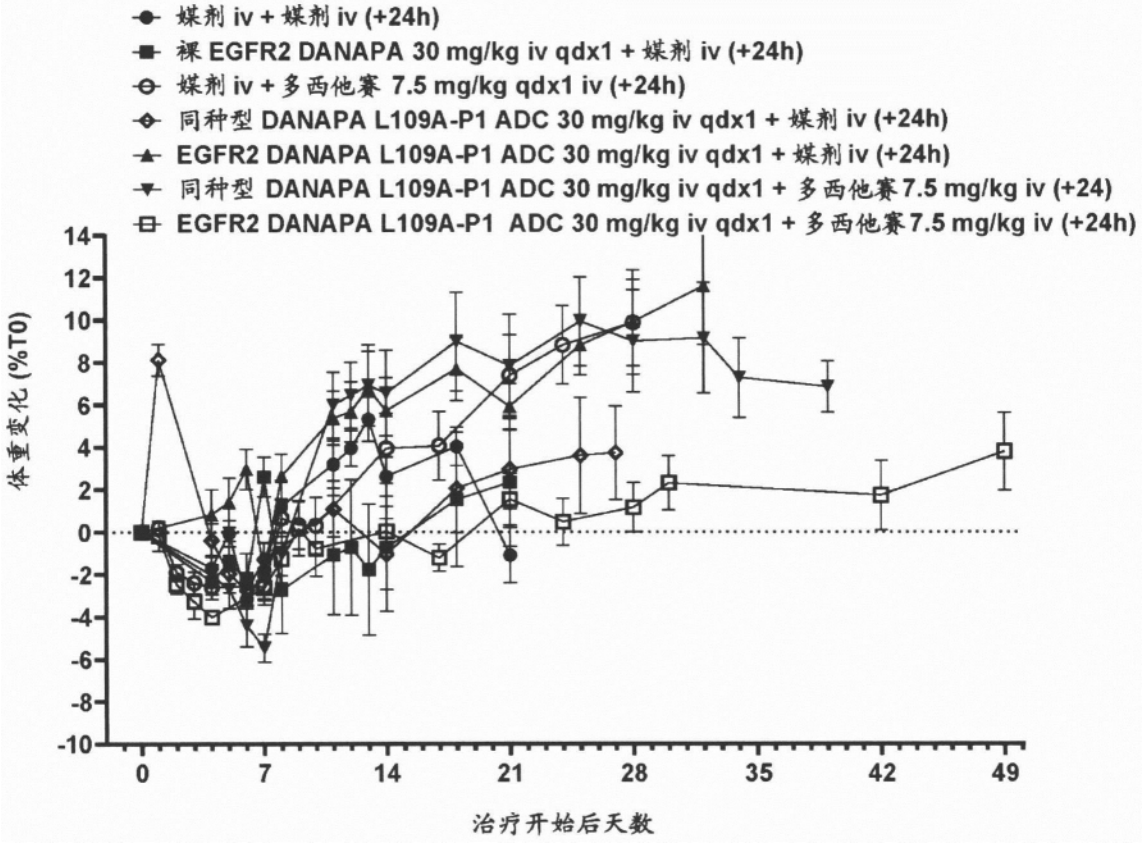

媒剂 iv + 媒剂 iv (+24h)
裸 EGFR2 DANAPA 30 mg/kg iv qdx1 + 媒剂 iv (+24h)
媒剂 iv + 多西他赛 7.5 mg/kg qdx1 iv (+24h)
同种型 DANAPA L109A-P1 ADC 30 mg/kg iv qdx1 + 媒剂 iv (+24h)
EGFR2 DANAPA L109A-P1 ADC 30 mg/kg iv qdx1 + 媒剂 iv (+24h)
同种型 DANAPA L109A-P1 ADC 30 mg/kg iv qdx1 + 多西他赛7.5 mg/kg iv (+24)
EGFR2 DANAPA L109A-P1 ADC 30 mg/kg iv qdx1 + 多西他赛7.5 mg/kg iv (+24h)
体重变化 (%T0)
14
12
10
8
6
4
2
0
-2
-4
-6
-8
-10
0
7
14
21
28
35
42
49
治疗开始后天数

图10

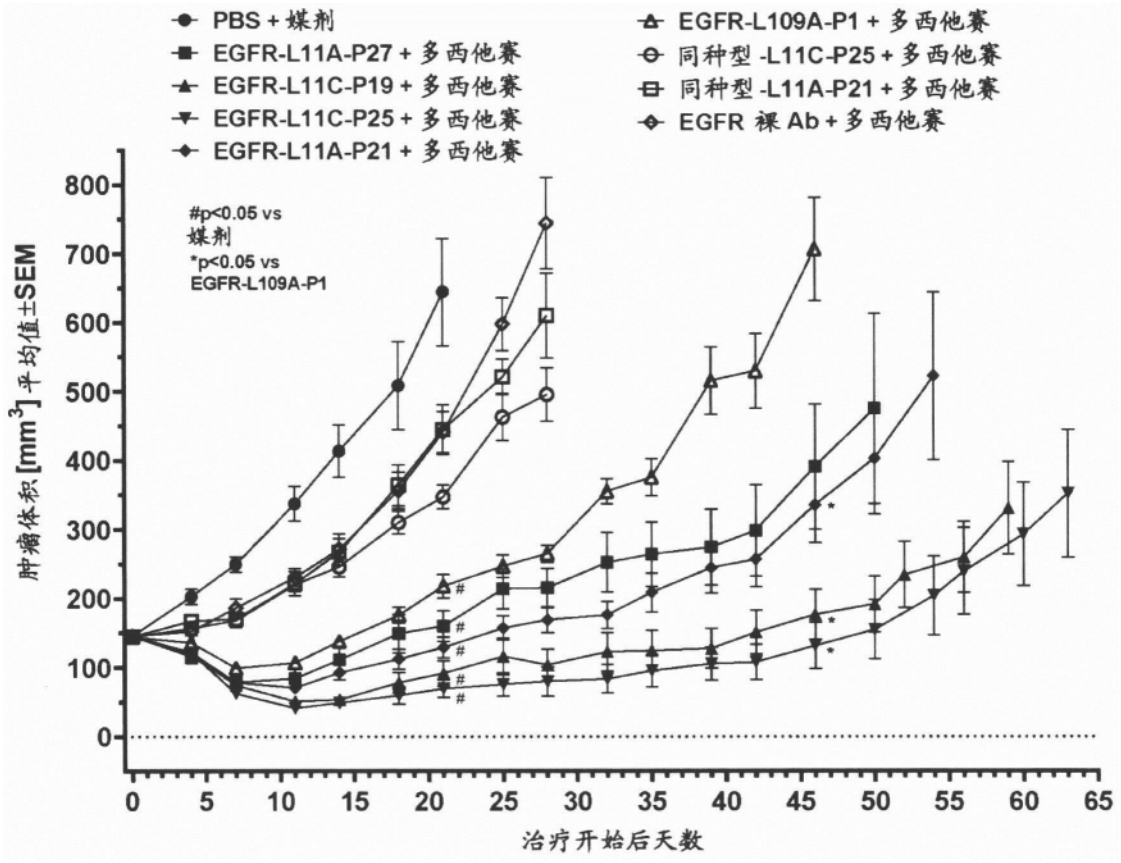

PBS + 媒剂
EGFR-L11A-P27 + 多西他赛
EGFR-L11C-P19 + 多西他赛
EGFR-L11C-P25 + 多西他赛
EGFR-L11A-P21 + 多西他赛
EGFR-L109A-P1 + 多西他赛
同种型 -L11C-P25 + 多西他赛
同种型 -L11A-P21 + 多西他赛
EGFR 裸 Ab + 多西他赛
#p<0.05 vs 媒剂
*p<0.05 vs EGFR-L109A-P1
肿瘤体积 [mm3] 平均值±SEM
治疗开始后天数
0
100
200
300
400
500
600
700
800
0
5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65

图11

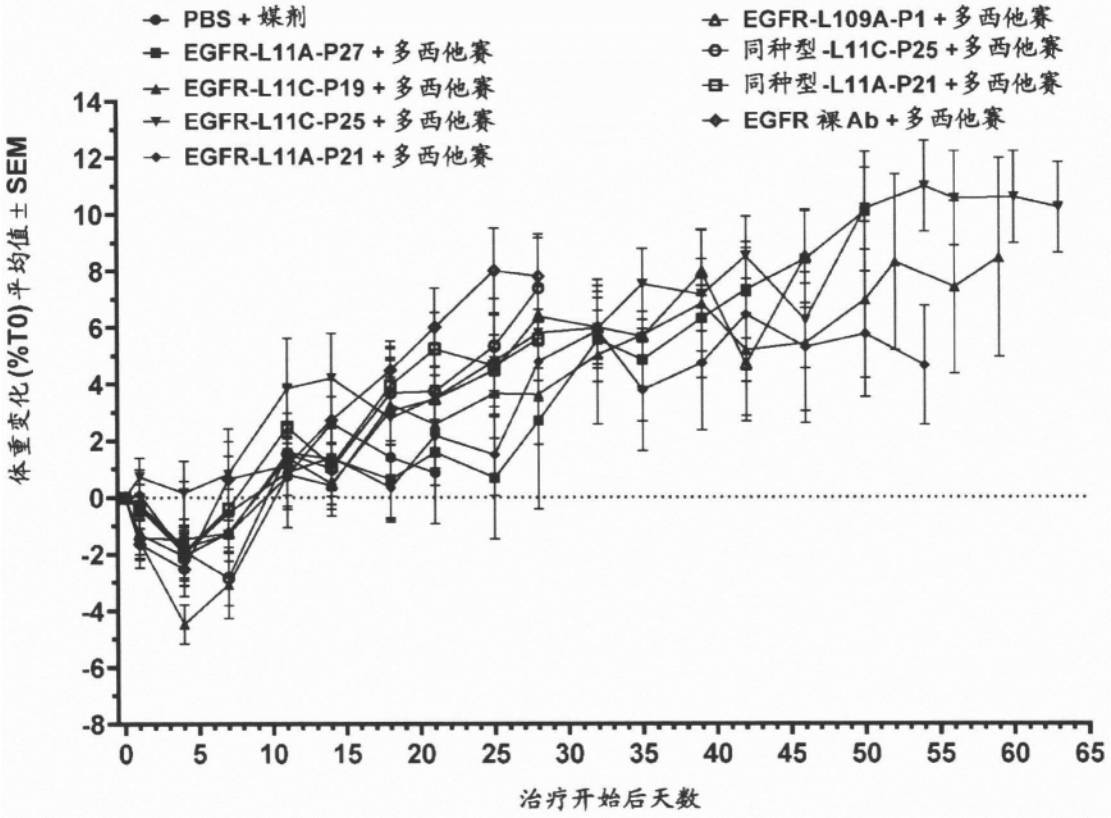

PBS + 媒剂
EGFR-L11A-P27 + 多西他赛
EGFR-L11C-P19 + 多西他赛
EGFR-L11C-P25 + 多西他赛
EGFR-L11A-P21 + 多西他赛
EGFR-L109A-P1 + 多西他赛
同种型-L11C-P25 + 多西他赛
同种型-L11A-P21 + 多西他赛
EGFR 裸Ab + 多西他赛
体重变化(%T0)平均值 ± SEM
治疗开始后天数
14
12
10
8
6
4
2
0
-2
-4
-6
-8
0
5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65

图12

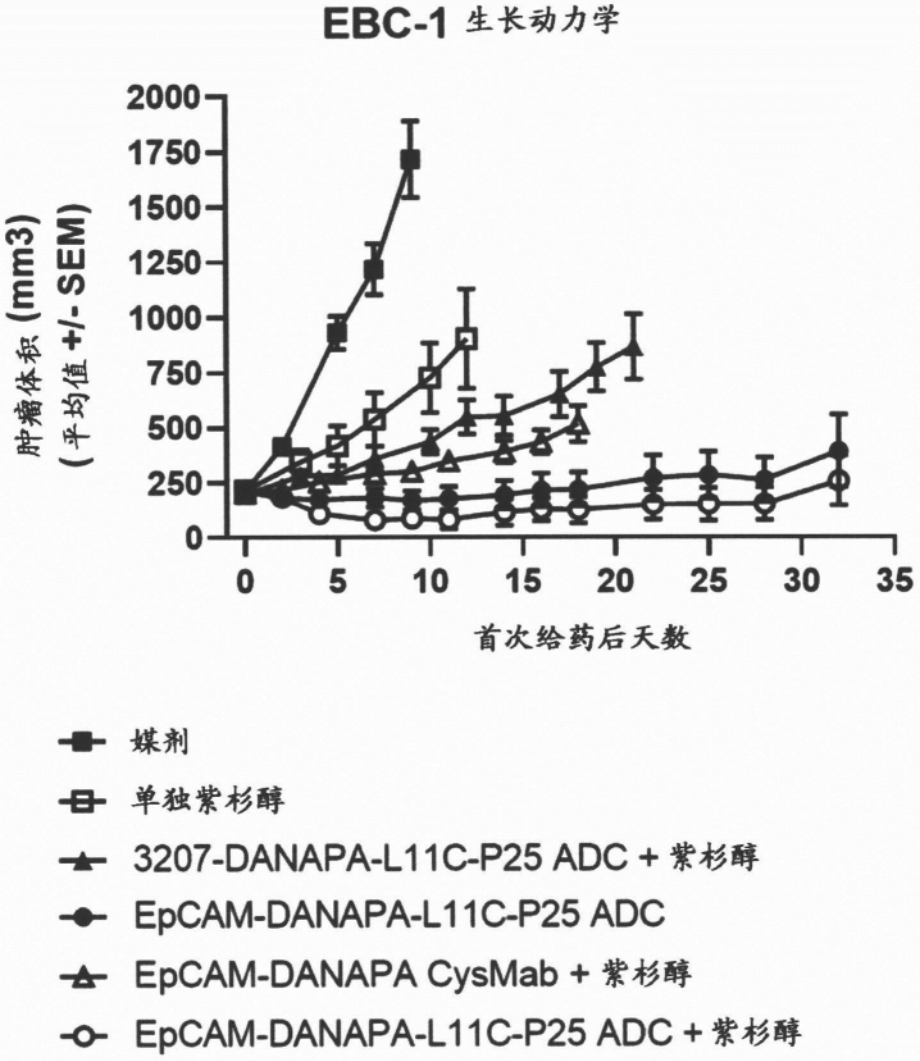

EBC-1 生长动力学
肿瘤体积 (mm3)
(平均值 +/- SEM)
2000
1750
1500
1250
1000
750
500
250
0
0
5
10
15
20
25
30
35
首次给药后天数
媒剂
单独紫杉醇
3207-DANAPA-L11C-P25 ADC + 紫杉醇
EpCAM-DANAPA-L11C-P25 ADC
EpCAM-DANAPA CysMab + 紫杉醇
EpCAM-DANAPA-L11C-P25 ADC + 紫杉醇

图13

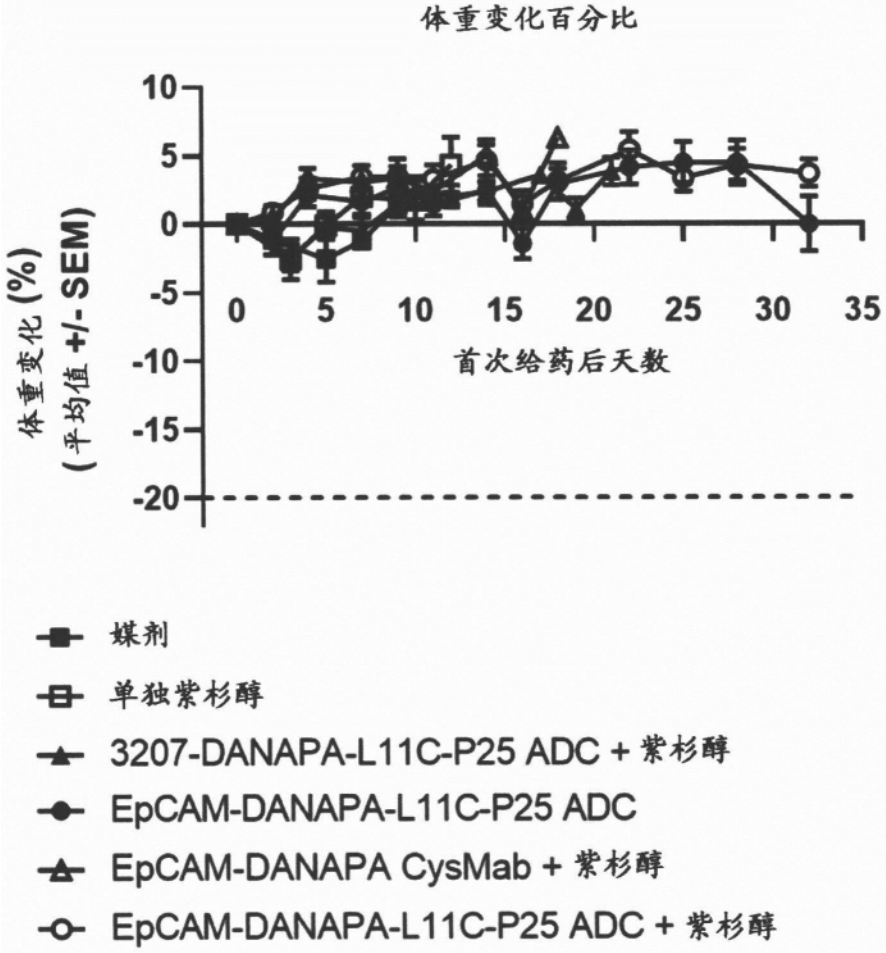

体重变化百分比
体重变化 (%)
(平均值 +/- SEM)
10
5
0
-5
-10
-15
-20
0
5
10
15
20
25
30
35
首次给药后天数
媒剂
单独紫杉醇
3207-DANAPA-L11C-P25 ADC + 紫杉醇
EpCAM-DANAPA-L11C-P25 ADC
EpCAM-DANAPA CysMab + 紫杉醇
EpCAM-DANAPA-L11C-P25 ADC + 紫杉醇

图14

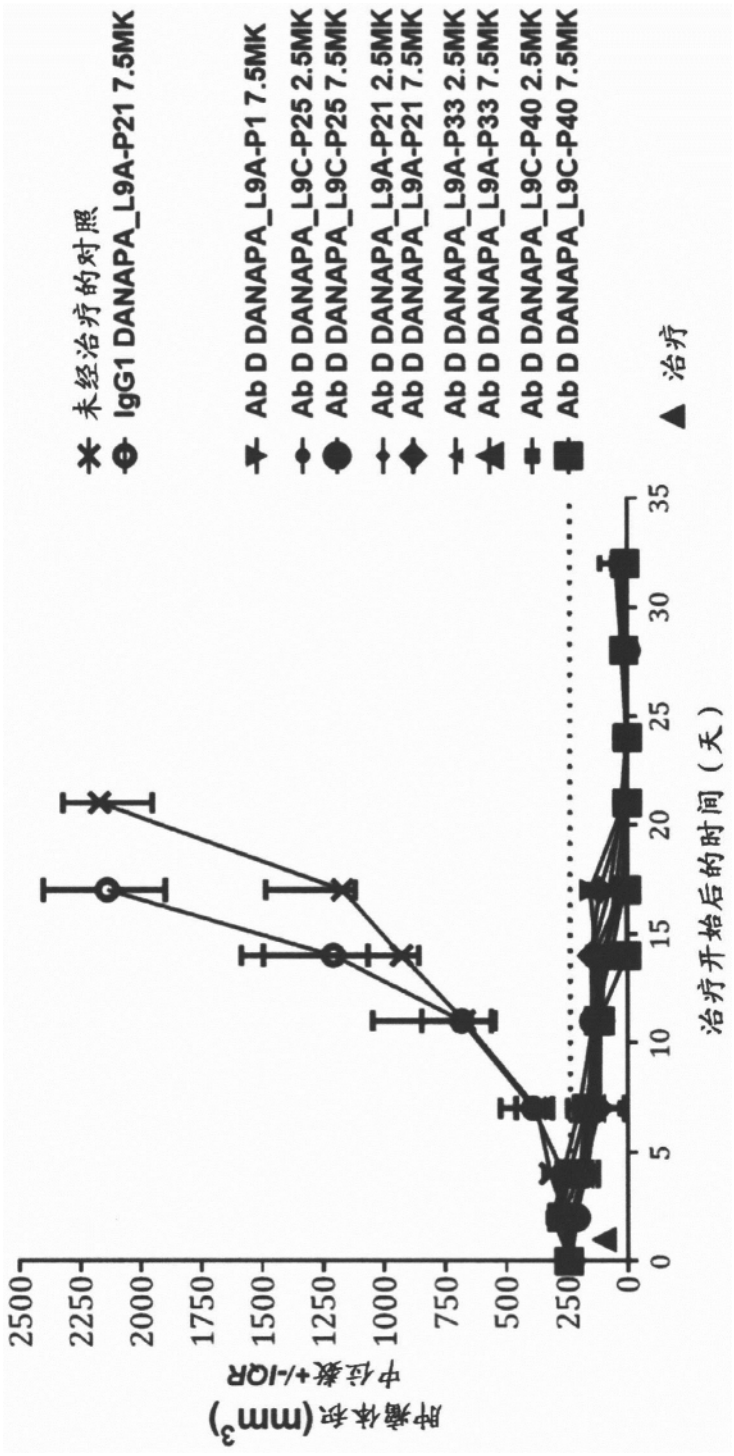

未经治疗的对照
IgG1 DANAPA_L9A-P21 7.5MK
Ab D DANAPA_L9A-P1 7.5MK
Ab D DANAPA_L9C-P25 2.5MK
Ab D DANAPA_L9C-P25 7.5MK
Ab D DANAPA_L9A-P21 2.5MK
Ab D DANAPA_L9A-P21 7.5MK
Ab D DANAPA_L9A-P33 2.5MK
Ab D DANAPA_L9A-P33 7.5MK
Ab D DANAPA_L9C-P40 2.5MK
Ab D DANAPA_L9C-P40 7.5MK
治疗
肿瘤体积 (mm³) 中位数+/-IQR
治疗开始后的时间（天）
2500
2250
2000
1750
1500
1250
1000
750
500
250
0
0
5
10
15
20
25
30
35

图15

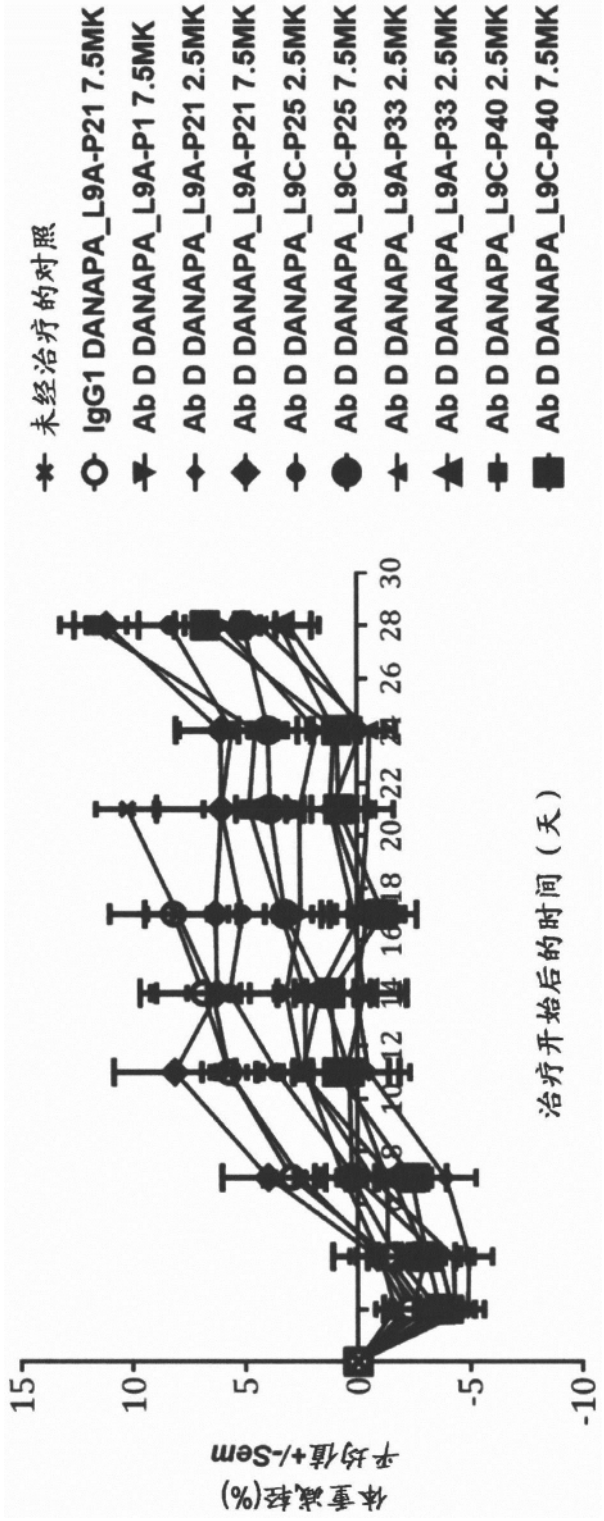

未经治疗的对照
IgG1 DANAPA_L9A-P21 7.5MK
Ab D DANAPA_L9A-P1 7.5MK
Ab D DANAPA_L9A-P21 2.5MK
Ab D DANAPA_L9A-P21 7.5MK
Ab D DANAPA_L9C-P25 2.5MK
Ab D DANAPA_L9C-P25 7.5MK
Ab D DANAPA_L9A-P33 2.5MK
Ab D DANAPA_L9A-P33 2.5MK
Ab D DANAPA_L9C-P40 2.5MK
Ab D DANAPA_L9C-P40 7.5MK
体重减轻(%)
平均值+/-Sem
治疗开始后的时间（天）
15
10
5
0
-5
-10
2
4
6
8
10
12
14
16
18
20
22
24
26
28
30

图16