202504635

(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本 (11)公開編號：TW 202504635 A

(43)公開日： 中華民國 114 (2025) 年 02 月 01 日

(21)申請案號：113107255 (22)申請日： 中華民國 113 (2024) 年 02 月 29 日

(51)Int. Cl.： *A61K39/395 (2006.01)* *C07K16/18 (2006.01)*
A61K47/68 (2017.01) *A61P35/00 (2006.01)*
A61K31/34 (2006.01) *A61K31/41 (2006.01)*
A61K31/495 (2006.01) *A61K31/40 (2006.01)*
A61K31/16 (2006.01)

(30)優先權：2023/02/28 美國 63/487,553
2024/02/23 美國 63/557,342

(71)申請人：日商衛材Ｒ&Ｄ企管股份有限公司 (日本) EISAI R&D MANAGEMENT CO., LTD. (JP)
日本

(72)發明人：史彼戴爾　傑瑞德 SPIDEL, JARED (US)；金　大式 KIM, DAE-SHIK (US)；荒井謙三 ARAI, KENZO (JP)；古內惠司 FURUUCHI, KEIJI (JP)；鄭　新 CHENG, XIN (US)；鮑幸峰 BAO, XINGFENG (CN)；山根義伸 YAMANE, YOSHINOBU (JP)；鏑木洋介 KABURAGI, YOSUKE (JP)；黃　冠群 HUANG, KUAN-CHUN (US)；艾爾本　厄爾　Ｆ ALBONE, EARL F. (US)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無　申請專利範圍項數：180 項　圖式數：47　　共 788 頁

(54)名稱

抗ＰＳＭＡ抗體、軛合物及使用方法

(57)摘要

揭露了結合 PSMA 的抗體、抗原結合片段及其軛合物（例如，抗體-藥物軛合物），以及 STING 促效劑連接子-藥物軛合物及其製備。本揭露進一步關於用於藉由投與本文提供的組成物來治療例如癌症之方法和組成物。

Antibodies, antigen-binding fragments, and conjugates (e.g., antibody-drug conjugates) thereof that bind PSMA, as well as STING agonist linker-drug conjugates and preparation thereof, are disclosed. The disclosure further relates to methods and compositions for use in the treatment of, e.g., cancer by administering the compositions provided herein.

20250703
專利案號：113107255
202504699

【發明摘要】

【中文發明名稱】　抗PSMA抗體、軛合物及使用方法

【英文發明名稱】　ANTI-PSMA ANTIBODIES, CONJUGATES, AND METHODS OF USE

【中文】

揭露了結合PSMA的抗體、抗原結合片段及其軛合物（例如，抗體-藥物軛合物），以及STING促效劑連接子-藥物軛合物及其製備。本揭露進一步關於用於藉由投與本文提供的組成物來治療例如癌症之方法和組成物。

【英文】

Antibodies, antigen-binding fragments, and conjugates (*e.g.*, antibody-drug conjugates) thereof that bind PSMA, as well as STING agonist linker-drug conjugates and preparation thereof, are disclosed. The disclosure further relates to methods and compositions for use in the treatment of, *e.g.*, cancer by administering the compositions provided herein.

【指定代表圖】　無

【代表圖之符號簡單說明】無

【特徵化學式】無

【發明說明書】

【中文發明名稱】　抗PSMA抗體、軛合物及使用方法

【英文發明名稱】　ANTI-PSMA ANTIBODIES, CONJUGATES, AND METHODS OF USE

【技術領域】

【0001】 本揭露關於抗PSMA抗體及其抗原結合片段，以及軛合物（如抗體藥物軛合物（ADC）、例如包含STING促效劑的那些軛合物），以及它們用於治療和診斷表現PSMA和/或適合於藉由調節STING通路活性或藉由投與本文揭露的組成物進行治療的癌症之用途。

【先前技術】

【0002】 前列腺癌係第二常見的癌症類型，也是男性癌症死亡的第二大原因。目前轉移性前列腺癌的治療選擇有限且此類病例的預後較差，需要開發更有效的治療方法。

【0003】 前列腺特異性膜抗原（PSMA）係一種在前列腺癌中高表現的細胞表面抗原。PSMA的表現水平隨著前列腺癌的進展而增加，並且在轉移部位維持PSMA的高表現。先前已經產生了抗PSMA抗體，包括在人類中具有減少的免疫原性的經修飾的抗體。參見，例如美國專利案號7,045,605和美國專利案號11,059,903。結合PSMA的抗體的實例係J591和去免疫J591（deJ591）。deJ591抗體的重鏈可變結構域的胺基酸序列在本文中給出為SEQ ID NO: 40，並且相應的輕鏈可變結構域在本文中給出為SEQ ID NO: 41。然而，使用這種抗體

的臨床試驗已顯示出免疫原性的不良影響，包括骨髓抑制和肝酶異常。參見，例如de Bono等人 (2021) Clin Cancer Res [臨床癌症研究] 27 (13): 3602-3609。仍然需要改進的PSMA抗體，例如完全人源化以最大限度地減少免疫原性同時保留所需特性（如良好的靶標結合親和力、低脫靶結合和良好的穩定性）的那些抗體。

【0004】 鑒於PSMA在前列腺癌中的高表現，它可以用作腫瘤抗原特異性藥物遞送方法（例如，抗體介導之方法）的靶標。還探索了與細胞毒性化合物（如化療藥）軛合的抗體，以增強基於抗體的藥物遞送至腫瘤細胞的細胞殺傷活性。然而，仍然需要提供合適的抗體和/或ADC，例如提供有效的前列腺腫瘤靶向、中靶效應和/或減少的脫靶效應的組合的那些。

【0005】 STING（干擾素基因刺激因子）係一種模式識別受體，可感知胞質溶膠中的環狀二核苷酸並誘導I型干擾素和其他炎性細胞介素（例如，干擾素-β（IFN-β）、腫瘤壞死因子α（TNFα）、C-X-C模體趨化因子配體10（CXCL10）、白細胞介素-6（IL-6））的表現，進而介導對感染或疾病（例如癌症）的先天免疫反應。STING傳訊已被證明具有抗腫瘤作用，例如調節脈管系統和增強適應性免疫。第一代STING促效劑（例如環狀二核苷酸）通常需要腫瘤內注射並且僅顯示出適度的全身功效。該等STING促效劑的膜滲透性也很差，這可能會限制它們在細胞內部接合STING的能力。

【0006】 儘管本領域已經報導了STING促效劑用於治療感染或疾病之用途，但是對於允許全身投與特異性靶向腫瘤位點的STING促效劑的遞送系統的需求仍然未得到滿足。同樣，本領域仍然需要改進的結合PSMA的抗體，其具

有優異的特性，例如在抗原結合和/或將有效載荷（如STING促效劑）有效遞送至表現PSMA的靶細胞或組織的能力方面。

【發明內容】

【0007】 在各個實施方式中，本揭露部分地提供了能夠特異性結合PSMA並且可以單獨使用或與一種或多種額外的藥劑（例如，作為ADC）連接並作為藥物組成物的一部分投與的新型抗體和抗原結合片段。在一些實施方式中，本揭露的抗體、抗原結合片段和/或ADC可用於減緩、抑制和/或逆轉哺乳動物中的腫瘤生長，並且可用於治療人類癌症患者。

【0008】 在各個實施方式中，本揭露更具體地關於能夠結合和/或殺傷表現PSMA的細胞的抗體和抗體-藥物軛合物化合物。在各個實施方式中，該等化合物在結合後還能夠內化到表現PSMA的靶細胞中。揭露了包含如下連接子（linker）的抗PSMA-ADC化合物，該連接子將STING促效劑部分（例如式(III)、式 (IV)、或表14的化合物、例如化合物1）與抗PSMA抗體部分附接。抗PSMA抗體部分可以是全長抗體或抗原結合片段。

【0009】 在各個實施方式中，本揭露提供了人源化抗前列腺特異性膜抗原（PSMA）抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或抗原結合片段特異性結合人PSMA，並且其中該抗體或抗原結合片段包含 (i) 三個HCDR，其包含以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 21（HCDR1）、SEQ ID NO: 22（HCDR2）和SEQ ID NO: 27（HCDR3）；以及三個LCDR，其包含SEQ ID NO: 32（LCDR1）、SEQ ID NO: 35（LCDR2）和SEQ ID NO: 37（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的；或 (ii) 三個HCDR，其包含以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 21（HCDR1）、SEQ ID NO: 22（HCDR2）和SEQ ID NO: 27（HCDR3）；以及三個LCDR，其

包含SEQ ID NO: 33（LCDR1）、SEQ ID NO: 36（LCDR2）和SEQ ID NO: 37（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的；或 (iii) 三個HCDR，其包含以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 28（HCDR1）、SEQ ID NO: 29（HCDR2）和SEQ ID NO: 30（HCDR3）；以及三個LCDR，其包含SEQ ID NO: 38（LCDR1）、SEQ ID NO: 39（LCDR2）和SEQ ID NO: 37（LCDR3），如由IMGT編號系統所定義的。

【0010】 在一些實施方式中，抗PSMA抗體或抗原結合片段包含三個HCDR，其包含以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 21（HCDR1）、SEQ ID NO: 22（HCDR2）和SEQ ID NO: 27（HCDR3）；以及三個LCDR，其包含SEQ ID NO: 32（LCDR1）、SEQ ID NO: 35（LCDR2）和SEQ ID NO: 37（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的；或三個HCDR，其包含以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 28（HCDR1）、SEQ ID NO: 29（HCDR2）和SEQ ID NO: 30（HCDR3）；以及三個LCDR，其包含SEQ ID NO: 38（LCDR1）、SEQ ID NO: 39（LCDR2）和SEQ ID NO: 37（LCDR3），如由IMGT編號系統所定義的。

【0011】 在一些實施方式中，抗PSMA抗體或抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 1的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 15的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，抗PSMA抗體或抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 2的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 15的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，抗PSMA抗體或抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 3的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 15的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，抗PSMA抗體或抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 14的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 15的胺基酸序列的輕鏈可變區。

在一些實施方式中，抗PSMA抗體或抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 14的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 19的胺基酸序列的輕鏈可變區。

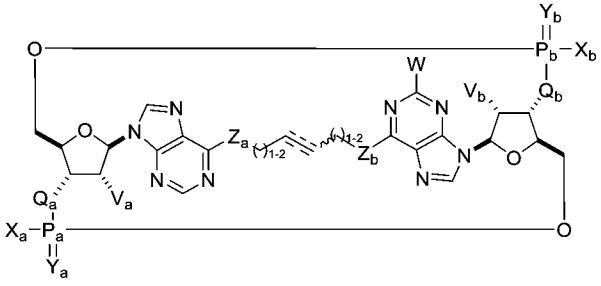
【0012】 在一些實施方式中，抗PSMA抗體或抗原結合片段包含人IgG1重鏈恒定區。在一些實施方式中，抗PSMA抗體或抗原結合片段包含人Igκ輕鏈恒定區。

【0013】 在一些實施方式中，抗PSMA抗原結合片段具有> 80°C的解鏈溫度（Tm）。在一些實施方式中，抗原結合片段係Fab。

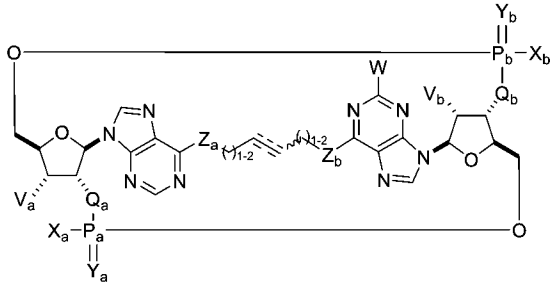
【0014】 在一些實施方式中，抗PSMA抗體或抗原結合片段與至少一個連接子附接。在一些實施方式中，至少一個連接子係可切割的。在一些實施方式中，至少一個連接子與細胞毒性劑或可檢測試劑軛合。

【0015】 在各個實施方式中，本揭露還部分地提供了新型連接子-有效載荷軛合物。在各個實施方式中，本揭露更具體地關於包含如下連接子的連接子-有效載荷軛合物，該連接子將STING促效劑部分（例如式 (III)、式 (IV)、或表14的化合物、例如化合物1）與抗PSMA抗體部分附接。

【0016】 在各個實施方式中，本揭露提供了一種包含L-D的連接子-有效載荷軛合物，其中L係與D共價附接的連接子，其中D包含根據下式之一的化合物：



式 (III)，



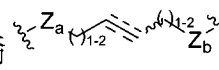
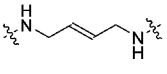
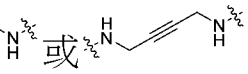
式 (IV)，

其異構物、該化合物或異構物的氘代衍生物；或者該化合物、異構物或氘代衍生物的鹽；

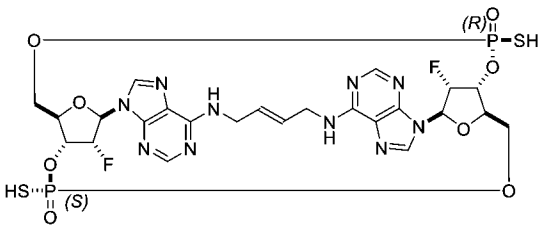
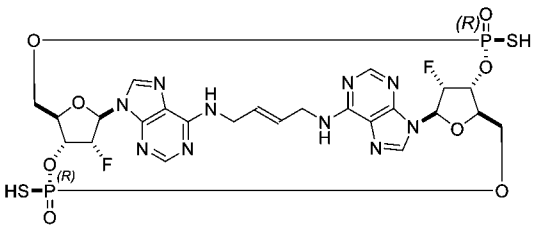
其中，對於每次出現獨立地是：

- P_a和P_b中的每個，當不是外消旋時，獨立地選自(*R*)-立體化學和(*S*)-立體化學；
- Q_a和Q_b中的每個獨立地選自NH和O；
- V_a和V_b中的每個獨立地選自F和OH；
- W選自H和NH_2；
- X_a和X_b中的每個獨立地選自OH和SH；
- Y_a和Y_b中的每個獨立地選自O和S；
- Z_a和Z_b各自獨立地選自CH_2、O和NH；以及
- ≒意味著鍵選自單鍵（－）、(*E*)-或(*Z*)-組態的雙鍵（＝）、或三鍵（≡）；

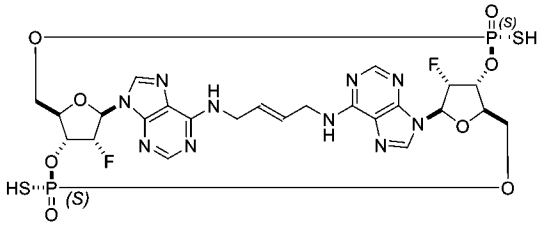
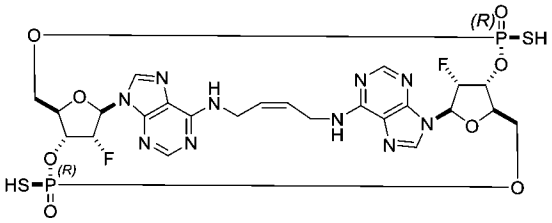
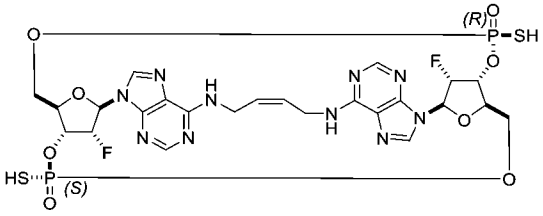
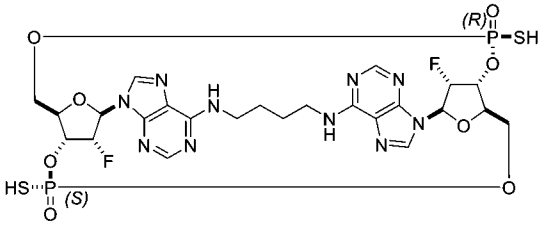
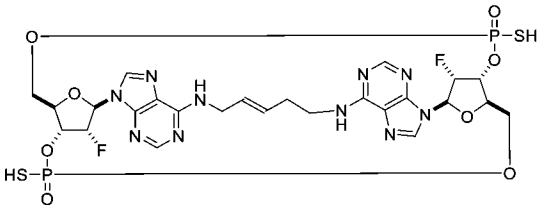
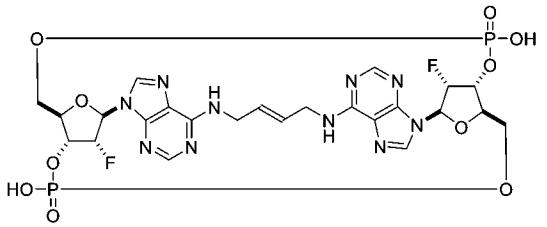
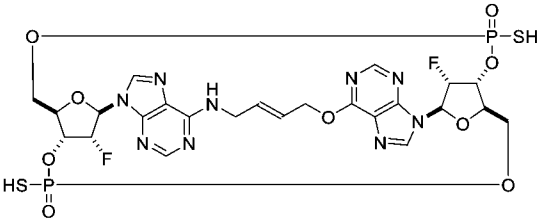
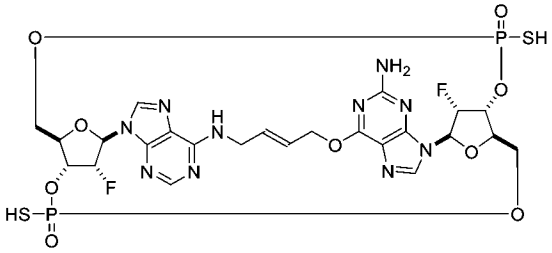
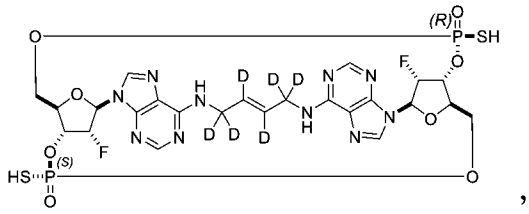
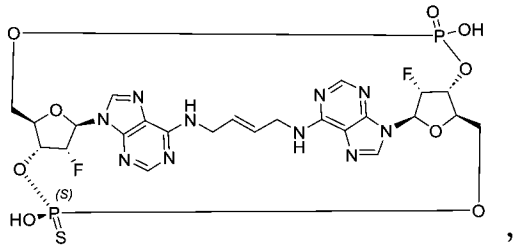
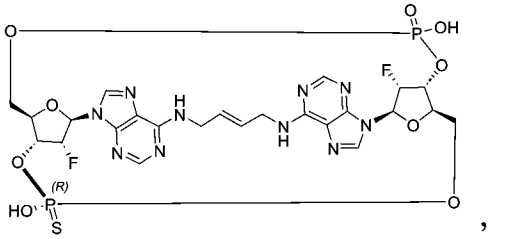
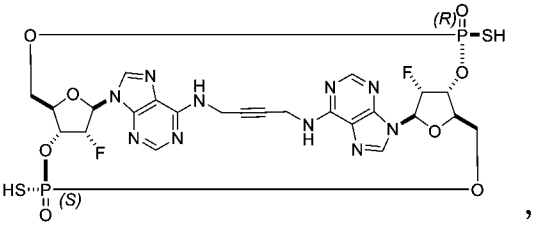
條件係Z_a和Z_b中的至少一個係NH或X_a和X_b中的至少一個係SH。

【0017】 在一些實施方式中，P_a係(*S*)-組態且P_b係(*R*)-組態。在一些實施方式中，P_a係(*R*)-組態且P_b係(*R*)-組態。在一些實施方式中，Q_a和Q_b係O。在一些實施方式中，V_a和V_b係OH。在一些實施方式中，V_a和V_b係F。在一些實施方式中，W係H。在一些實施方式中，Z_a和Z_b中的至少一個係NH。在一些實施方式中，Z_a和Z_b係NH。在一些實施方式中，≒包含(*E*)-或(*Z*)-組態的雙鍵（＝）。在一些實施方式中，橋  具有結構  或  。在一些實施方式中，Y_a和Y_b中的至少一個係O。在一些實施方式中，Y_a和Y_b係O。在一些實施方式中，X_a和X_b中的至少一個係SH。在一些實施方式中，X_a和X_b係SH。在一些實施方式中，D包含具有式 (III) 的化合物。

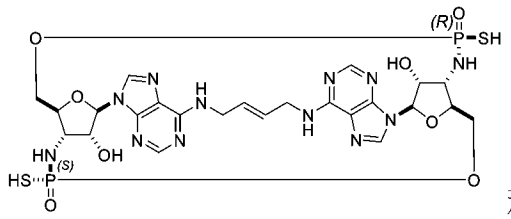
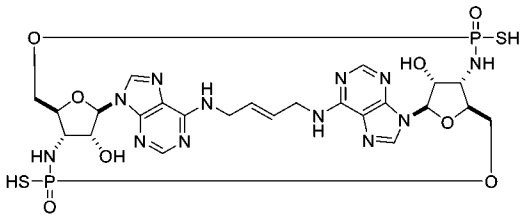
【0018】 在一些實施方式中，D包含選自以下的具有式 (III) 的化合物：


,

,

化合物1

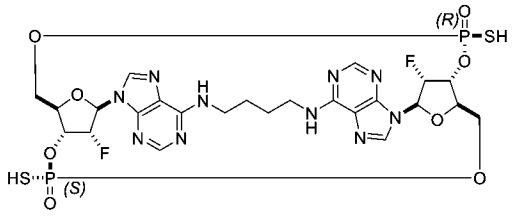
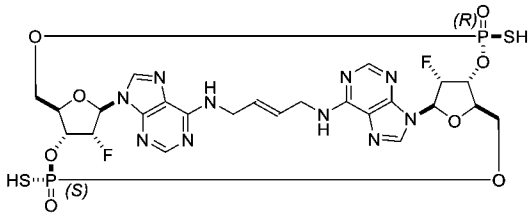

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

化合物2

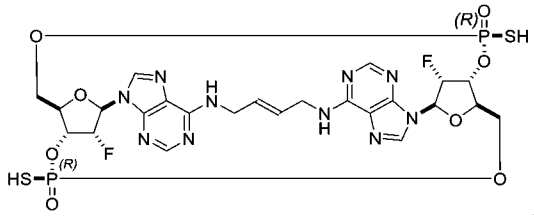
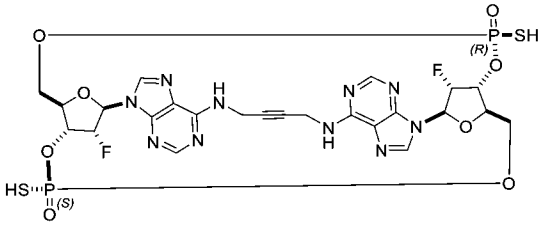

和

，

及其鹽。

【0019】 在一些實施方式中，D包含選自以下的具有式 (III) 的化合物：


，

，

化合物1


和

，

化合物2

及其鹽。

【0020】 在一些實施方式中，D包含化合物1。

【0021】 在一些實施方式中，D包含化合物2。

【0022】 在一些實施方式中，X_a和X_b中的至少一個係SH並且L藉由S-2硫或S-14硫處的硫原子與D附接。在一些實施方式中，X_b係SH並且L在S-2硫處與D附接。在一些實施方式中，X_a係SH並且L在S-14硫處與D附接。

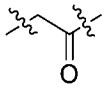
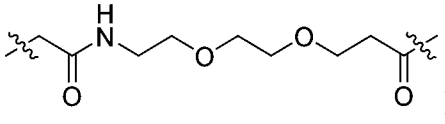
【0023】 在一些實施方式中，Z_a和Z_b中的至少一個係NH並且L藉由N-34氮或N-39氮處的氮原子與D附接。在一些實施方式中，Z_b係NH並且L在N-34氮處與D附接。在一些實施方式中，Z_a係NH並且L在N-39氮處與D附接。

【0024】 在一些實施方式中，L係可切割連接子。在一些實施方式中，可切割連接子包含可切割肽部分。在一些實施方式中，可切割肽部分可被蛋白酶

切割，視需要其中該蛋白酶係組織蛋白酶或半胱胺酸蛋白酶（legumain）。在一些實施方式中，可切割肽部分包含胺基酸單元。在一些實施方式中，胺基酸單元包含Val-Ala、Val-Cit、Val-Lys、Ala-Ala-Asn、Ala-(NMe)Ala-Asn、Asn、Gly-Gly-Phe-Gly、Glu-Val-Ala、或Gly-Val-Ala。在一些實施方式中，可切割連接子包含Val-Cit。在一些實施方式中，可切割連接子包含Val-Ala。

【0025】在一些實施方式中，連接子包含馬來醯亞胺（Mal）部分。在一些實施方式中，Mal部分包含馬來醯亞胺基己醯基（MC）。在一些實施方式中，Mal部分藉由抗體或抗原結合片段上的半胱胺酸殘基與該抗體或抗原結合片段接合。

【0026】在一些實施方式中，連接子進一步包含至少一個間隔子單元。在一些實施方式中，至少一個間隔子單元包含至少一個聚乙二醇（PEG）部分。在一些實施方式中，至少一個PEG部分包含-$(PEG)_m$-並且*m*係1至10的整數。在一些實施方式中，*m*係2至8的整數。在一些實施方式中，m係2至5的整數。在一些實施方式中，*m*係2。在一些實施方式中，至少一個間隔子單元包含PEG_2-Lys(ε-PEG_8-OMe)-PEG_2。

【0027】在一些實施方式中，至少一個間隔子單元包含  。在一些實施方式中，至少一個間隔子單元包含  式(II)。

【0028】在一些實施方式中，連接子進一步包含至少一個自消解單元（self-immolative unit）。在一些實施方式中，連接子包含第一自消解單元。在一些實施方式中，在藉由第一自消解單元的自消解切割連接子後，該連接子能夠從D中除去。在一些實施方式中，第一自消解單元包含視需要被選自甲基、氟、氯、三氟甲基、芳基和雜芳基的1-3個取代基取代的對胺基苄基（pAB）。

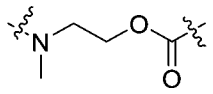
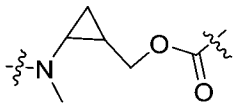
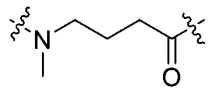
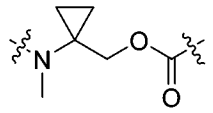
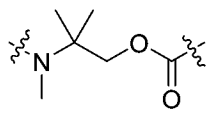
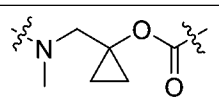
在一些實施方式中，第一自消解單元包含對胺基苄基（pAB）。在一些實施方式中，連接子包含MC-Val-Ala-pAB。

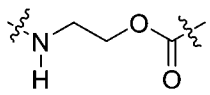
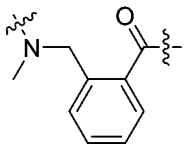
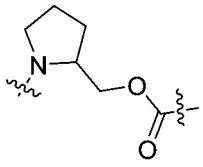
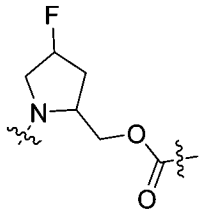
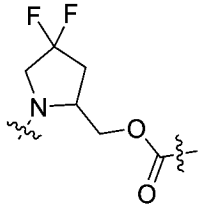
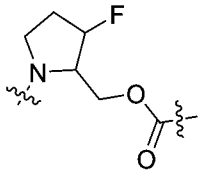
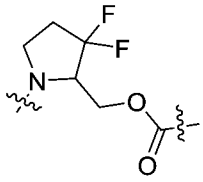
【0029】在一些實施方式中，第一自消解單元包含對胺基苄氧基羰基（pABC）。

【0030】在一些實施方式中，連接子進一步包含第二自消解單元。在一些實施方式中，在藉由第一自消解單元的自消解和/或第二自消解單元的自消解切割連接子後，該連接子能夠從D中除去。在一些實施方式中，在藉由第一自消解單元的自消解、然後是第二自消解單元的自消解以逐步方式切割連接子後，該連接子從D中除去。

【0031】在一些實施方式中，連接子包含可切割連接子、第一自消解單元、和第二自消解單元。在一些實施方式中，可切割連接子包含Val-Ala。在一些實施方式中，可切割連接子包含Val-Cit。在一些實施方式中，可切割連接子包含式 (II)。

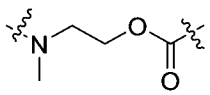
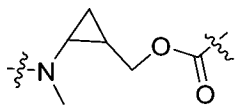
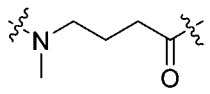
【0032】在一些實施方式中，第二自消解單元包含以下部分之一：

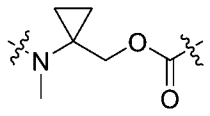
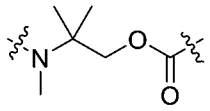
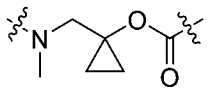
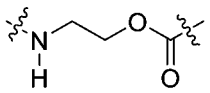
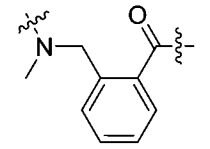
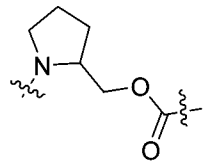
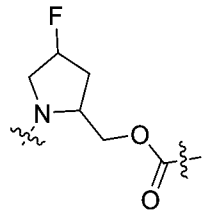
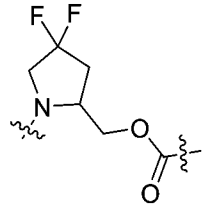
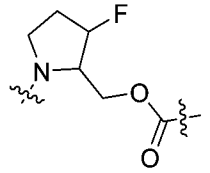
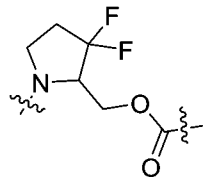
第二自消解單元	化學結構
單元1（MEC）	
單元2	
單元3	
單元4	
單元5	
單元6	

單元7	
單元8	
單元9	
單元10	
單元11	
單元12	
單元13	

或其異構物。

【0033】在一些實施方式中，可切割連接子包含Val-Ala，並且其中第二自消解單元包含以下部部分之一：

第二自消解單元	化學結構
單元1（MEC）	
單元2	
單元3	

單元4	
單元5	
單元6	
單元7	
單元8	
單元9	
單元10	
單元11	
單元12	
單元13	

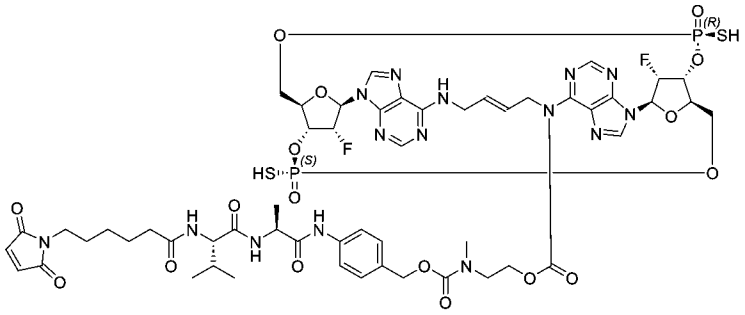
或其異構物。

【0034】在一些實施方式中，第二自消解單元包含單元1（MEC）部分。在一些實施方式中，第二自消解單元包含單元8部分。在一些實施方式中，第

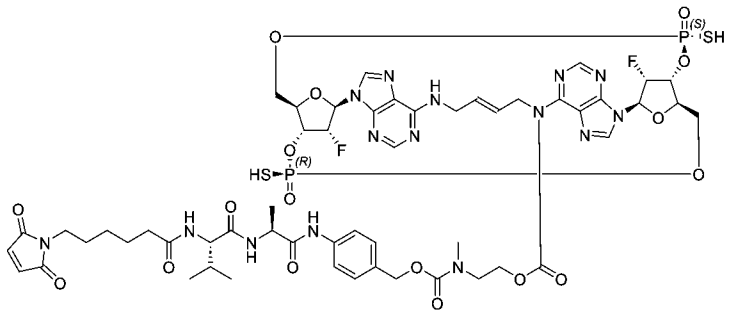
二自消解單元包含單元11部分。在一些實施方式中，第二自消解單元包含單元9部分。

【0035】在一些實施方式中，連接子包含Val-Ala-pABC-MEC部分。在一些實施方式中，連接子包含MC-Val-Ala-pABC-MEC部分。

【0036】在一些實施方式中，L-D包含LP1：



、或LP2：

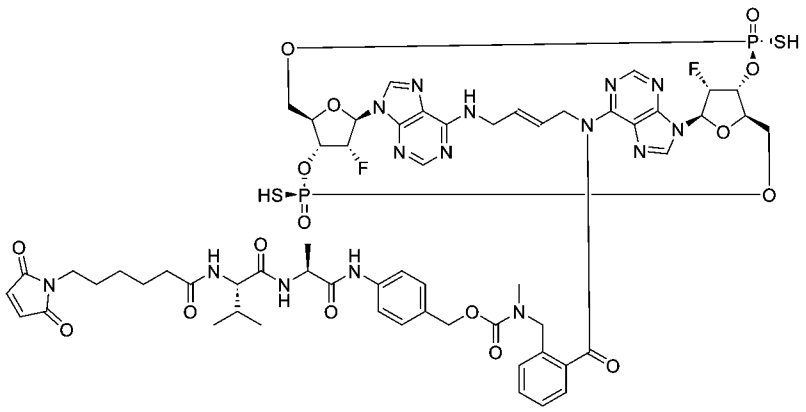


。

【0037】在一些實施方式中，連接子包含Val-Cit-pABC-MEC部分。在一些實施方式中，連接子包含MC-Val-Cit-pABC-MEC部分。在一些實施方式中，MC-Val-Cit-pABC-MEC-化合物1。

【0038】在一些實施方式中，連接子包含Val-Ala-pABC-單元8部分。在一些實施方式中，連接子包含MC-Val-Ala-pABC-單元8部分。

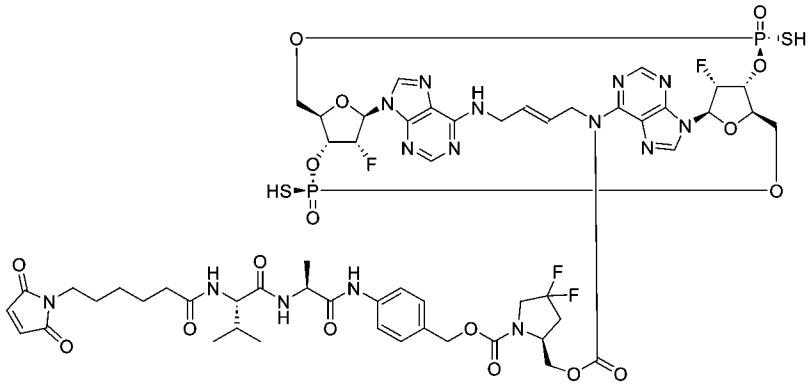
【0039】在一些實施方式中，L-D包含LP16：



【0040】在一些實施方式中，連接子包含Val-Cit-pABC-單元8部分。在一些實施方式中，連接子包含MC-Val-Cit-pABC-單元8部分。在一些實施方式中，L-D包含MC-Val-Cit-pABC-單元8-化合物1。

【0041】在一些實施方式中，連接子包含Val-Ala-pABC-單元11部分。在一些實施方式中，連接子包含MC-Val-Ala-pABC-單元11部分。

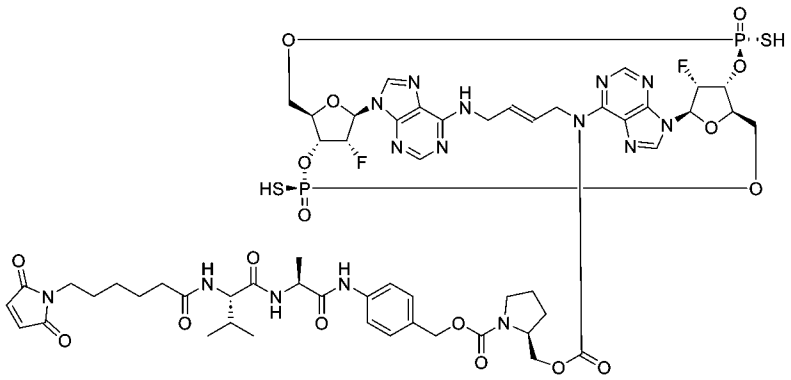
【0042】在一些實施方式中，L-D包含LP28：



【0043】在一些實施方式中，連接子包含Val-Cit-pABC-單元11部分。在一些實施方式中，連接子包含MC-Val-Cit-pABC-單元11部分。在一些實施方式中，L-D包含MC-Val-Cit-pABC-單元11-化合物1。

【0044】在一些實施方式中，連接子包含Val-Ala-pABC-單元9部分。在一些實施方式中，連接子包含MC-Val-Ala-pABC-單元9部分。

【0045】在一些實施方式中，L-D包含LP20：



【0046】在一些實施方式中，連接子包含Val-Cit-pABC-單元9部分。在一些實施方式中，連接子包含MC-Val-Cit-pABC-單元9部分。在一些實施方式中，L-D包含MC-Val-Cit-pABC-單元9-化合物1。

【0047】在一些實施方式中，連接子包含式 (II)-Val-Cit-pABC。在一些實施方式中，連接子包含式 (II)-Val-Cit-pABC-MEC部分。在一些實施方式中，連接子包含Mal-式 (II)-Val-Cit-pABC-MEC部分。在一些實施方式中，L-D包含Mal-式 (II)-Val-Cit-pABC-MEC-化合物1。在一些實施方式中，連接子包含式 (II)-Val-Cit-pABC-單元8部分。在一些實施方式中，連接子包含Mal-式 (II)-Val-Cit-pABC-單元8部分。在一些實施方式中，L-D包含Mal-式 (II)-Val-Cit-pABC-單元8-化合物1。在一些實施方式中，連接子包含式 (II)-Val-Cit-pABC-單元11部分。在一些實施方式中，連接子包含Mal-式 (II)-Val-Cit-pABC-單元11部分。在一些實施方式中，L-D包含Mal-式 (II)-Val-Cit-pABC-單元11-化合物1。在一些實施方式中，連接子包含式 (II)-Val-Cit-pABC-單元9部分。在一些實施方式中，連接子包含Mal-式 (II)-Val-Cit-pABC-單元9部分。在一些實施方式中，L-D包含Mal-式 (II)-Val-Cit-pABC-單元9-化合物1。

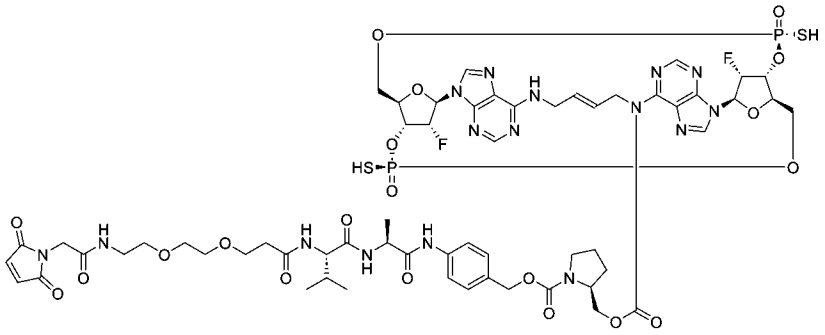
【0048】在一些實施方式中，連接子包含式 (II)-Val-Ala-pABC。在一些實施方式中，連接子包含式 (II)-Val-Ala-pABC-MEC部分。在一些實施方式中，連接子包含Mal-式 (II)-Val-Ala-pABC-MEC部分。在一些實施方式中，L-D包含Mal-式 (II)-Val-Ala-pABC-MEC-化合物1。在一些實施方式中，連接子包含

式 (II)-Val-Ala-pABC-單元8部分。在一些實施方式中，連接子包含Mal-式 (II)-Val-Ala-pABC-單元8部分。在一些實施方式中，L-D包含Mal-式 (II)-Val-Ala-pABC-單元8-化合物1。在一些實施方式中，連接子包含式 (II)-Val-Ala-pABC-單元11部分。在一些實施方式中，連接子包含Mal-式 (II)-Val-Ala-pABC-單元11部分。在一些實施方式中，L-D包含Mal-式 (II)-Val-Ala-pABC-單元11-化合物1。在一些實施方式中，連接子包含式 (II)-Val-Ala-pABC-單元9部分。在一些實施方式中，連接子包含Mal-式 (II)-Val-Ala-pABC-單元9部分。在一些實施方式中，L-D包含Mal-式 (II)-Val-Ala-pABC-單元9-化合物1。

【0049】 在一些實施方式中，連接子包含式 (II)-Val-Cit-pAB。在一些實施方式中，連接子包含式 (II)-Val-Cit-pAB-單元9部分。在一些實施方式中，連接子包含Mal-式 (II)-Val-Cit-pAB。在一些實施方式中，連接子包含Mal-式 (II)-Val-Cit-pAB-單元9部分。在一些實施方式中，L-D包含Mal-式 (II)-Val-Cit-pAB-單元9-化合物1。

【0050】 在一些實施方式中，連接子包含式 (II)-Val-Ala-pAB。在一些實施方式中，連接子包含式 (II)-Val-Ala-pAB-單元9部分。在一些實施方式中，連接子包含Mal-式 (II)-Val-Ala-pAB。在一些實施方式中，連接子包含Mal-式 (II)-Val-Ala-pAB-單元9部分。

【0051】 在一些實施方式中，L-D包含LP25：

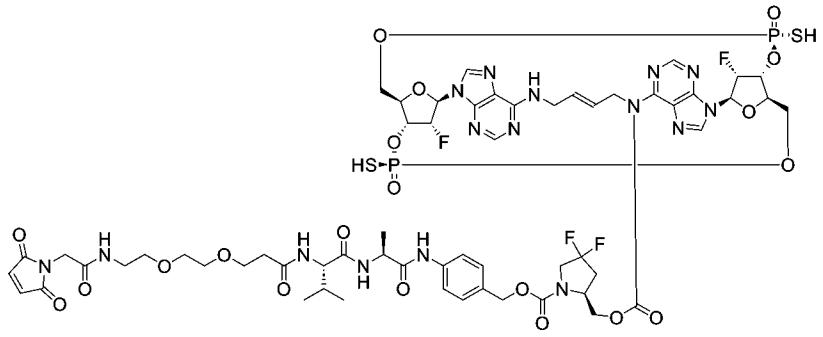


。

【0052】 在一些實施方式中，連接子包含式 (II)-Val-Cit-pAB-單元11部分。在一些實施方式中，連接子包含Mal-式 (II)-Val-Cit-pAB-單元11部分。在一些實施方式中，L-D包含Mal-式 (II)-Val-Cit-pAB-單元11-化合物1。

【0053】 在一些實施方式中，連接子包含式 (II)-Val-Ala-pAB-單元11部分。在一些實施方式中，連接子包含Mal-式 (II)-Val-Ala-pAB-單元11部分。

【0054】 在一些實施方式中，L-D包含LP26：



。

【0055】 在各個實施方式中，本揭露提供了一種具有式 (I) 的抗體-藥物軛合物：

$Ab\text{-}(L\text{-}D)_p$ (I)

其中Ab係本文揭露的抗PSMA抗體或其抗原結合片段；L-D係本文揭露的連接子-有效載荷軛合物；並且*p*係1至20的整數。

【0056】 在一些實施方式中，*p*係1至12的整數。在一些實施方式中，*p*係2至8的整數。在一些實施方式中，*p*係2至4的整數。在一些實施方式中，*p*係2。在一些實施方式中，*p*係4。

【0057】 在一些實施方式中，可切割連接子包含可切割部分，該可切割部分的位置使得在切割時連接子或者抗體或抗原結合片段的任何部分不與D保持結合。

【0058】 在一些實施方式中，連接子-有效載荷軛合物藉由Mal部分與抗體或抗原結合片段附接。在一些實施方式中，Mal部分藉由抗體或抗原結合片

段上的半胱胺酸殘基與該抗體或抗原結合片段接合。在一些實施方式中，半胱胺酸殘基位於抗體或抗原結合片段的輕鏈上。在一些實施方式中，半胱胺酸殘基位於抗體或抗原結合片段的重鏈上。

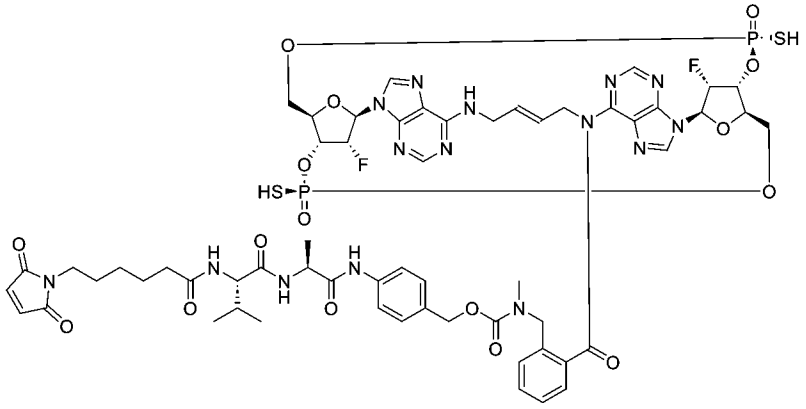
【0059】 在一些實施方式中，抗體或抗原結合片段包含三個HCDR，其包含以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 21（HCDR1）、SEQ ID NO: 22（HCDR2）和SEQ ID NO: 27（HCDR3）；以及三個LCDR，其包含以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 32（LCDR1）、SEQ ID NO: 34（LCDR2）和SEQ ID NO: 36（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的。

【0060】 在一些實施方式中，抗體或抗原結合片段包含三個HCDR，其包含以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 28（HCDR1）、SEQ ID NO: 29（HCDR2）和SEQ ID NO: 30（HCDR3）；以及三個LCDR，其包含以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 37（LCDR1）、SEQ ID NO: 38（LCDR2）和SEQ ID NO: 36（LCDR3），如由IMGT編號系統所定義的。

【0061】 在一些實施方式中，抗體或抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 14的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 19的胺基酸序列的輕鏈可變區。

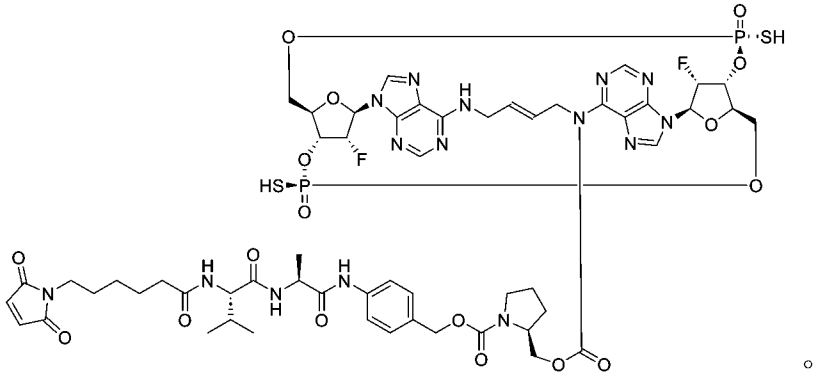
【0062】 在一些實施方式中，L-D包含LP16、LP20、LP26或LP28。

【0063】 在一些實施方式中，L-D包含LP16：

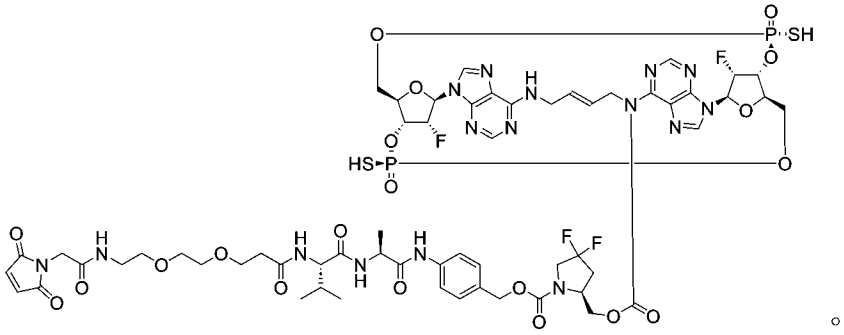


。

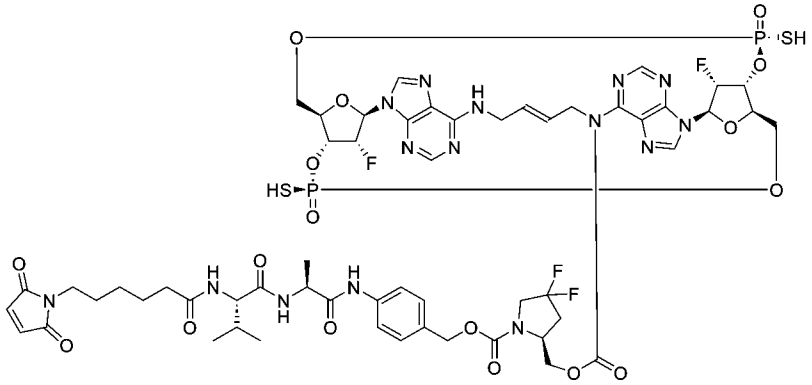
【0064】 在一些實施方式中，L-D包含LP20：



【0065】 在一些實施方式中，L-D包含LP26：



【0066】 在一些實施方式中，L-D包含LP28：



【0067】 在各個實施方式中，本揭露提供了一種藥物配製物，其包含如本文所揭露的抗PSMA ADC、抗體、其抗原結合片段、或連接子-有效載荷軛合物，以及藥學上可接受的載劑。

【0068】 在各個實施方式中，本揭露提供了一種組成物，其包含多個拷貝的具有式 (I) 的抗體-藥物軛合物：

$Ab\text{-}(L\text{-}D)_p$ (I)

其中

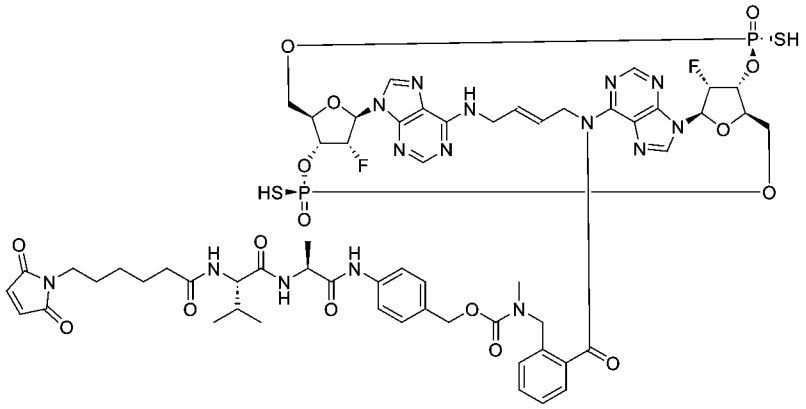
Ab係如本文所揭露的抗PSMA抗體或抗原結合片段；

L-D係如本文所揭露的連接子-有效載荷軛合物；並且

*p*係每個Ab的L-D部分的平均數量，其中該組成物中該等抗體-藥物軛合物的平均p係約2至約8。

【0069】 在一些實施方式中，抗體或抗原結合片段包含三個HCDR，其包含以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 21（HCDR1）、SEQ ID NO: 22（HCDR2）和SEQ ID NO: 27（HCDR3）；以及三個LCDR，其包含SEQ ID NO: 32（LCDR1）、SEQ ID NO: 35（LCDR2）和SEQ ID NO: 37（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的；或三個HCDR，其包含以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 28（HCDR1）、SEQ ID NO: 29（HCDR2）和SEQ ID NO: 30（HCDR3）；以及三個LCDR，其包含SEQ ID NO: 38（LCDR1）、SEQ ID NO: 39（LCDR2）和SEQ ID NO: 37（LCDR3），如由IMGT編號系統所定義的；並且

該L-D包含LP16：

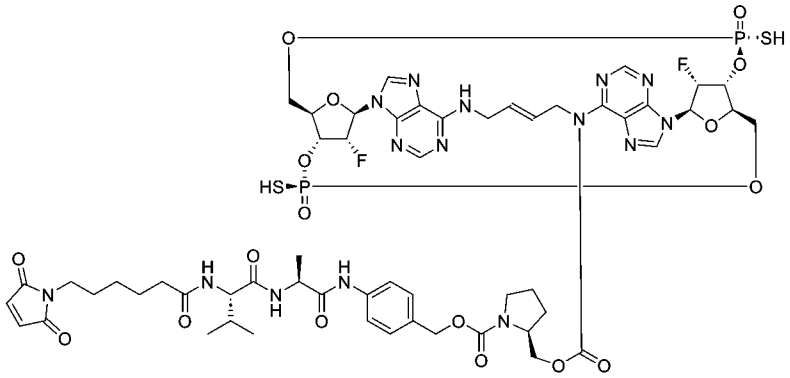


。

【0070】 在一些實施方式中，抗體或抗原結合片段包含三個HCDR，其包含以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 21（HCDR1）、SEQ ID NO: 22（HCDR2）和SEQ ID NO: 27（HCDR3）；以及三個LCDR，其包含SEQ ID NO: 32（LCDR1）、SEQ ID NO: 35（LCDR2）和SEQ ID NO: 37（LCDR3），如由

Kabat編號系統所定義的；或三個HCDR，其包含以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 28（HCDR1）、SEQ ID NO: 29（HCDR2）和SEQ ID NO: 30（HCDR3）；以及三個LCDR，其包含SEQ ID NO: 38（LCDR1）、SEQ ID NO: 39（LCDR2）和SEQ ID NO: 37（LCDR3），如由IMGT編號系統所定義的；並且

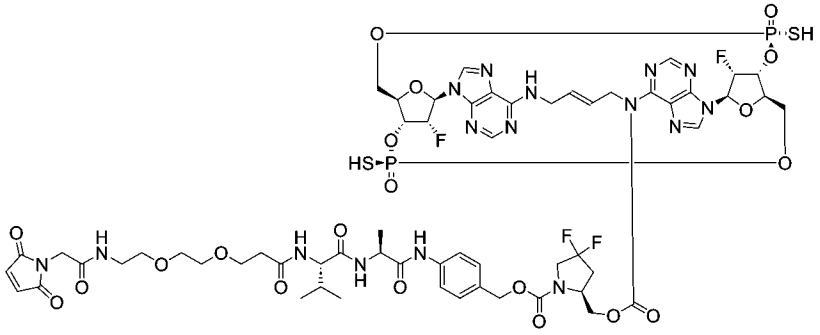
該L-D包含LP20：



。

【0071】在一些實施方式中，抗體或抗原結合片段包含三個HCDR，其包含以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 21（HCDR1）、SEQ ID NO: 22（HCDR2）和SEQ ID NO: 27（HCDR3）；以及三個LCDR，其包含SEQ ID NO: 32（LCDR1）、SEQ ID NO: 35（LCDR2）和SEQ ID NO: 37（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的；或三個HCDR，其包含以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 28（HCDR1）、SEQ ID NO: 29（HCDR2）和SEQ ID NO: 30（HCDR3）；以及三個LCDR，其包含SEQ ID NO: 38（LCDR1）、SEQ ID NO: 39（LCDR2）和SEQ ID NO: 37（LCDR3），如由IMGT編號系統所定義的；並且

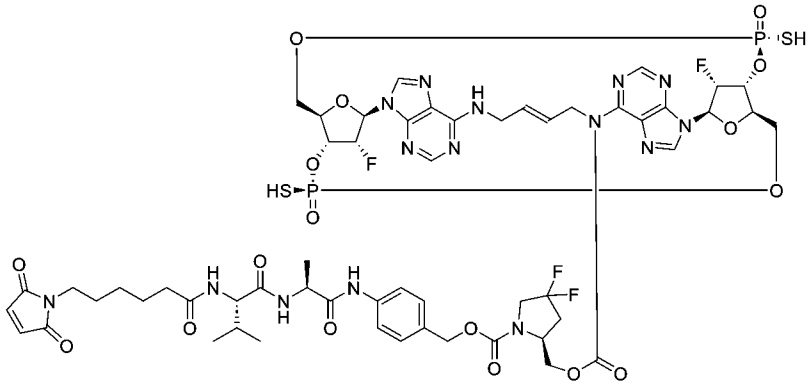
該L-D包含LP26：



。

【0072】在一些實施方式中，抗體或抗原結合片段包含三個HCDR，其包含以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 21（HCDR1）、SEQ ID NO: 22（HCDR2）和SEQ ID NO: 27（HCDR3）；以及三個LCDR，其包含SEQ ID NO: 32（LCDR1）、SEQ ID NO: 35（LCDR2）和SEQ ID NO: 37（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的；或三個HCDR，其包含以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 28（HCDR1）、SEQ ID NO: 29（HCDR2）和SEQ ID NO: 30（HCDR3）；以及三個LCDR，其包含SEQ ID NO: 38（LCDR1）、SEQ ID NO: 39（LCDR2）和SEQ ID NO: 37（LCDR3），如由IMGT編號系統所定義的；並且

該L-D包含LP28：



。

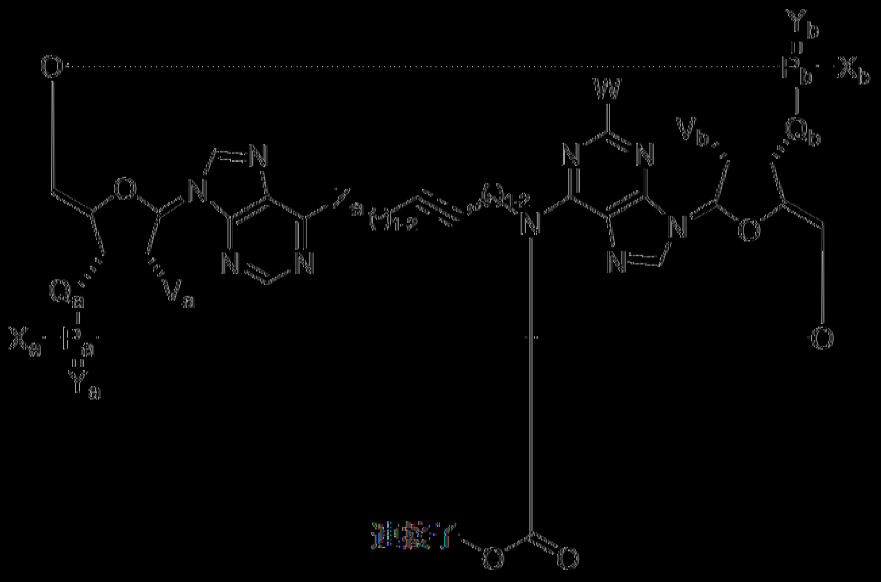
【0073】在一些實施方式中，抗體或抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 14的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 19的胺基酸序列的輕鏈可變區。

【0074】在各個實施方式中，本揭露提供了治療患有癌症或有患癌症風險的患者之方法，該等方法包括向該患者投與治療有效量的如本文所揭露的抗PSMA ADC、抗體、其抗原結合片段、或連接子-有效載荷軛合物。在各個實施方式中，本揭露提供了減少或抑制癌症生長之方法，該等方法包括投與治療有效量的如本文所揭露的抗PSMA ADC、抗體、其抗原結合片段、或連接子-有效載荷軛合物。在一些實施方式中，癌症表現PSMA。在一些實施方式中，癌症係前列腺癌。

[0075] 在各個實施方式中，本揭露提供了如本文所揭露的抗PSMA ADC、抗體、其抗原結合片段、或連接子-有效載荷靶合物在治療癌症中之用途。在一些實施方式中，癌症表現PSMA。在一些實施方式中，癌症係前列腺癌。

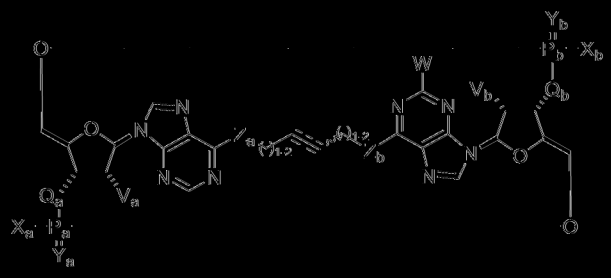
[0076] 在各個實施方式中，本揭露提供了產生抗PSMA ADC之方法，該等方法包括使如本文所揭露的抗體或其抗原結合片段與如本文所揭露的連接子-有效載荷靶合物反應。在各個實施方式中，本揭露提供了產生抗體-藥物靶合物之方法，其中該方法包括在適合附接的條件下將如本文所揭露的抗體或抗原結合片段與如本文所揭露的連接子-有效載荷靶合物靶合。

[0077] 在各個實施方式中，本揭露提供了產生L-D靶合物 (V) 之方法：

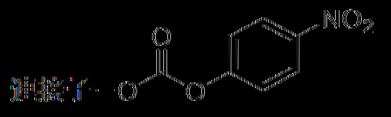


，

該方法包括使如本文所揭露的具有式 (III) 的化合物：



或其鹽與汙化連接子反應，該汙化連接子包含具有以下結構的合適連接子：



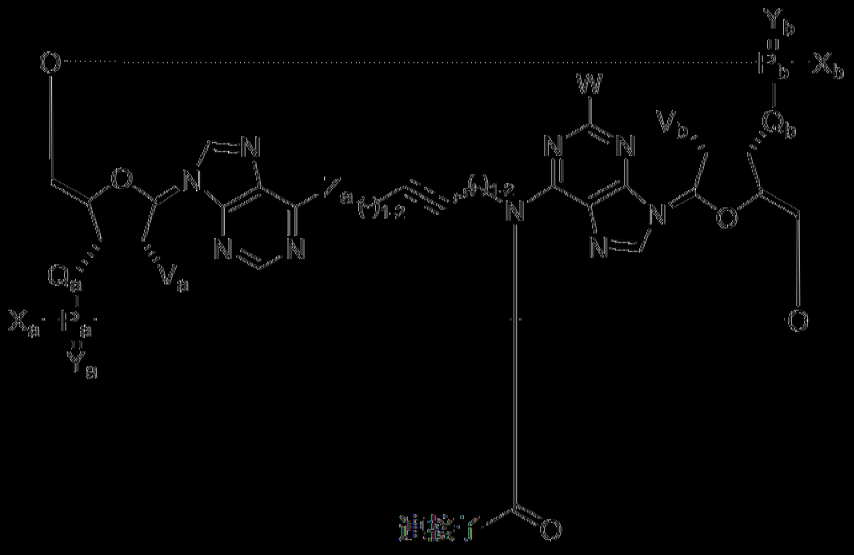
，

以產生該LAD軛合物(V)，

其中Y_b係NH。

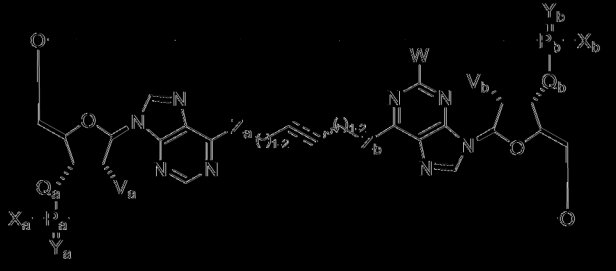
[0078] 在一典實施方式中，P_b具有(S)組態，並且汙化連接子優先與Y_b反應。在一典實施方式中，具有式(III)的化合物係化合物1。

[0079] 在各個實施方式中，本揭露提供了產生LAD軛合物(VI)之方法：

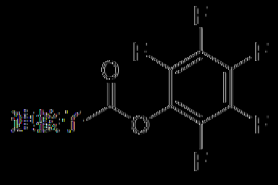


，

該方法包括使如本文所揭露的具有式(III)的化合物：



或其鹽與汙化連接子反應，該汙化連接子包含具有以下結構的合適連接子：



，

以產生該L-D軛合物 (VI)，

其中Z_b係NH。

【0080】 在一些實施方式中，P_b具有 (*S*)-組態，並且活化連接子優先與Z_b反應。在一些實施方式中，具有式 (III) 的化合物係化合物1。

【0081】 在各個實施方式中，本揭露提供了組成物，其包含如本文所揭露的連接子-有效載荷軛合物。在一些實施方式中，本揭露提供了組成物，其包含根據本文揭露之方法產生的連接子-有效載荷軛合物。

【圖式簡單說明】

【0082】 【圖1】顯示了J591 VH和VL與人種系序列之比對。帶底線的殘基係人特異性殘基，小寫的殘基係小鼠特異性殘基。

【0083】 【圖2】顯示了使用BioLuminate軟體生成的J591 Fv之電腦模型。CDR殘基顯示為空間填充的（space-fill）、小鼠和HCzu1-Lczu1之間不同的框架殘基，它們與顯示為球棒（ball-stick）的CDR相鄰。殘基編號根據Kabat進行。

【0084】 【圖3】顯示了與Lczu1配對的人源化重鏈（HC）變體1-10之類似PSMA結合。Hczu1-10與LCzu1配對，並藉由ELISA分析了與PSMA的結合。

【0085】 【圖4】顯示了J591之超人源化。所得PSMA抗體具有很強的結合親和力。藉由ELISA分析了人源化J591變體與PSMA的結合。

【0086】 【圖5A】顯示了deJ591之熱穩定性。圖5B顯示了與deJ591相比，人源化J591變體HC1-LC1、HC2-LC1、HC3-LC1、HC14-LC1和HC14-LC5之熱穩定性。圖5C顯示了與deJ591和J591相比，修飾為包括位點特異性軛合殘基的HC14-LC5（H14L5）IgG1抗體之熱穩定性。

【0087】【圖6A】顯示了J591重鏈可變結構域上的9mer肽序列之免疫原性預測評分。圖6B顯示了deJ591重鏈可變結構域上的9mer肽序列之免疫原性預測評分。圖6C顯示了zuJ591-H14重鏈可變結構域上的9mer肽序列之免疫原性預測評分。

【0088】【圖7A】顯示了J591輕鏈可變結構域上的9mer肽序列之免疫原性預測評分。圖7B顯示了deJ591輕鏈可變結構域上的9mer肽序列之免疫原性預測評分。圖7C顯示了zuJ591-L5輕鏈可變結構域上的9mer肽序列之免疫原性預測評分。

【0089】【圖8】顯示了抗PSMA與表現PSMA的LNCaP細胞之特異性結合。

【0090】【圖9】顯示了如藉由流動式細胞測量術評估的PSMA依賴性ADCP活性。顯示了攝取至少一種靶細胞的巨噬細胞的百分比。

【0091】【圖10】顯示了如藉由流動式細胞測量術測量的抗PSMA ADC內化之靶細胞依賴性。

【0092】【圖11】顯示了抗PSMA ADC處理導致的ADCP依賴性IFNβ生產。

【0093】【圖12】顯示了抗PSMA ADC處理導致的ADCP依賴性骨髓細胞活化。

【0094】【圖13】顯示了PSMA陽性LNCaP異種移植模型中抗PSMA ADC之體內抗腫瘤活性。

【0095】【圖14A】顯示了在用抗PSMA抗體（PSMA對照）、抗PSMA-LP3 ADC、或陰性對照（抗SEB-LP3）處理的LNCaP異種移植模型中如藉由RNA-seq評估的1型干擾素基因表現之熱圖。圖14B顯示了抗PSMA-LP3 ADC處

理調節對STING通路具有特異性之細胞介素。圖14C顯示了當用抗PSMA-LP3 ADC處理時，腫瘤微環境中巨噬細胞極化從M2轉變為M1。

【0096】【圖15A】顯示了用抗PSMA抗體或抗PSMA ADC處理時人前列腺癌22RV1異種移植小鼠（去勢）中之腫瘤體積（左）和體重變化百分比（右）。圖15B顯示了用抗PSMA抗體或抗PSMA ADC處理時人前列腺癌22RV1異種移植小鼠（未去勢）中之腫瘤體積（左）和體重變化百分比（右）。Sp = 化合物1上的*S*硫代磷酸酯連接子附接點；Rp = 化合物1上的*R*硫代磷酸酯連接子附接點。

【0097】【圖16A】顯示了22RV1異種移植模型中抗PSMA ADC的體內功效之模型。圖16B顯示了注射抗PSMA ADC後6 h血漿中小鼠TNFα（左）或IFNβ（右）之濃度。

【0098】【圖17】顯示了抗PSMA ADC的DAR之變化百分比。

【0099】【圖18A】、18B和18C顯示了S附接的連接子隨時間之DAR變化。

【0100】【圖19A】、19B和19C顯示了S附接的連接子隨時間之游離化合物1。

【0101】【圖20A】、20B和20C顯示了S附接的連接子隨時間之單體百分比。

【0102】【圖21A】、21B、21C、21D、21E、21F和21G顯示了N附接的連接子隨時間之DAR變化。

【0103】【圖22A】、22B、22C、22D、22E、22F和22G顯示了N附接的連接子隨時間之游離化合物1。

【0104】【圖23A】、23B、23C、23D、23E、23F和23G顯示了N附接的連接子隨時間之單體百分比。

【0105】【圖24A】顯示了化合物1從小鼠血漿中的抗PSMA ADC釋放隨時間之百分比。圖24B顯示了小鼠血漿中抗PSMA ADC隨時間之平均DAR。圖24C顯示了小鼠血漿中抗PSMA ADC相對於起始DAR之變化百分比。圖24D顯示了小鼠血漿中隨時間之游離化合物1。

【0106】【圖25】顯示了S連接的抗PSMA化合物1 ADC之小鼠血漿穩定性。

【0107】【圖26】顯示了化合物1和化合物1的單磷酸鹽形式之結構。

【0108】【圖27A】顯示了抗PSMA ADC LP3之平均DAR（隨機DAR4和RESPECT-L DAR4）。圖27B顯示了抗PSMA ADC LP3隨機DAR4之代謝。圖27C顯示了抗PSMA ADC LP3 RESPECT-L DAR4之代謝。

【0109】【圖28A】顯示了在10天處理內小鼠血漿中N連接的抗PSMA ADC之穩定性。圖28B顯示了第7天小鼠血漿中N連接的抗PSMA ADC之穩定性。

【0110】【圖29】顯示了第7/10天小鼠血漿中N連接的抗PSMA化合物1 ADC之DAR。

【0111】【圖30】顯示了用抗PSMA ADC處理時C4-2/THP1共培養物中之hIFN-β產生。

【0112】【圖31】顯示了用抗PSMA ADC處理的異種移植腫瘤中之平均腫瘤體積和體重減輕百分比。

【0113】【圖32】顯示了抗PSMA-LP ADC在22Rv1異種移植模型中之抗腫瘤活性（群組1）。顯示了平均腫瘤生長和平均體重變化。

【0114】【圖33】顯示了22Rv1異種移植模型中PSMA-LP ADC之血清細胞介素分析（群組1）。n = 3；每個點代表一個單獨的值。數據表示為平均值 ± SEM。

【0115】【圖34】顯示了抗PSMA-LP ADC在22Rv1異種移植模型中之抗腫瘤活性（群組2）。顯示了平均腫瘤生長和平均體重變化。

【0116】【圖35】顯示了22Rv1異種移植模型中PSMA-LP ADC之血清細胞介素分析（群組2）。n = 3；每個點代表一個單獨的值。數據表示為平均值 ± SEM。

【0117】【圖36】顯示了抗PSMA-LP ADC在22Rv1異種移植模型中之抗腫瘤活性（群組3）。顯示了平均腫瘤生長和平均體重變化。

【0118】【圖37】顯示了22Rv1異種移植模型中PSMA-LP ADC之血清細胞介素分析（群組3）。n = 3；每個點代表一個單獨的值。數據表示為平均值 ± SEM。

【0119】【圖38】顯示了抗PSMA-LP ADC在C4-2異種移植模型中之抗腫瘤活性。顯示了平均腫瘤生長和平均體重變化。

【0120】【圖39】顯示了22Rv1異種移植模型中PSMA-LP ADC之血清細胞介素分析（群組3）。n = 3；每個點代表一個單獨的值。數據表示為平均值 ± SEM。

【0121】【圖40】顯示了1 mpk IV劑量的抗PSMA LP3 ADC（隨機DAR4）在正常小鼠中之藥物動力學。

【0122】【圖41】顯示了3和9 mg/kg IV劑量的抗PSMA LP3 ADC（RESPECT-L DAR2）在C4-2荷瘤小鼠中之藥物動力學。

【0123】【圖42】顯示了來自給予了抗PSMA LP3 ADC（RESPECT-L DAR2）或抗PSMA LP1 ADC（RESPECT-L DAR4）的C4-2荷瘤小鼠的血漿中化合物1之水平。

【0124】【圖43】顯示了給予了抗PSMA LP3 ADC（RESPECT-L DAR2）或抗PSMA LP1 ADC（RESPECT-L DAR4）的C4-2荷瘤小鼠中化合物1之腫瘤內水平。

【0125】【圖44】顯示了來自給予了抗PSMA LP3 ADC（RESPECT-L DAR2）和抗PSMA LP1 ADC（RESPECT-L DAR4）的C4-2荷瘤小鼠之腫瘤PK參數。

【0126】【圖45】顯示了兩步有效載荷釋放測定之方案。以LP2為例。

【0127】【圖46】顯示了用抗PSMA S附接ADC處理後之體外IFN-β釋放。標記為A的分圖（左欄）顯示了THP-1單一培養物中的IFN-β釋放，而標記為B的分圖（右欄）顯示了C4-2和THP-1共培養物中的IFN-β釋放。

【0128】【圖47】顯示了用抗PSMA N附接ADC治療後之體外IFN-β釋放。標記為A的分圖（左欄）顯示了THP-1單一培養物中的IFN-β釋放，而標記為B的分圖（右欄）顯示了C4-2和THP-1共培養物中的IFN-β釋放。

【實施方式】

相關申請之交叉引用

【0129】本申請要求 2023 年 2 月 28 日提交的美國臨時申請案號 63/487,553 和 2024 年 2 月 23 日提交的美國臨時申請案號 63/557,342 之權益，將這兩個申請案的內容均藉由引用以其全文併入。

【0130】藉由結合附圖，參考以下詳細描述可更容易地理解所揭露的組成物和方法，該等附圖形成本揭露的一部分。

【0131】在整個本文中，該等描述關於組成物和使用所述組成物之方法。當本揭露描述或聲明與組成物相關的特徵或實施方式時，這樣的特徵或實

施方式同等地適用於使用所述組成物之方法。同樣，當本揭露描述或聲明與使用組成物之方法相關的特徵或實施方式時，這樣的特徵或實施方式同等地適用於該組成物。

【0132】 當表示值的範圍時，它包括使用該範圍內的任何特定值的實施方式。此外，對按範圍陳述的值的提及包括該範圍內的每一值。所有範圍均包括其端點且可組合。當藉由在前面使用「約」以近似值表示值時，應理解該特定值形成另一實施方式。除非上下文另外明確地指示，否則對特定數值的提及至少包括該特定值。

【0133】 本文引用的所有參考文獻均出於任何目的藉由引用併入。在參考文獻與本說明書矛盾的情況下，以本說明書為准。

【0134】 應理解，出於清楚起見本文在單獨實施方式的上下文中描述的所揭露的組成物和方法的某些特徵也可以在單個實施方式中組合提供。相反地，出於簡便起見在單個實施方式的上下文中描述的所揭露的組成物和方法的各種特徵也可以單獨地或以任何子組合的形式提供。

定義

【0135】 整個說明書和請求項中使用了與本說明書的各方面相關的各種術語。除非另外指示，否則該等術語應具有其在本領域中的普通含義。其他具體定義的術語將以與本文提供的定義一致的方式解釋。

【0136】 如本文所用，單數形式「一個/種（a/an）」和「該（the）」包括複數形式，除非上下文另外明確地指示。

【0137】 在數值和範圍的上下文中，術語「約」或「大約」係指近似或接近所述值或範圍以使得本實施方式可以如預期進行的值或範圍，例如在反應混合物中具有所需量的核酸或多肽，這對技術人員來說從本文所包含的教導中是顯而易見的。在一些實施方式中，「約」意指數值量± 10%。

【0138】術語「藥劑」在本文中用於指化合物、化合物的混合物、生物大分子或由生物材料製成的提取物。術語「治療劑」、「藥物」或「藥物部分」係指能夠調節生物過程和/或具有生物活性的藥劑。

【0139】如本文所用，術語「脂肪族」或「脂肪族基團」意指完全飽和的或者含有一個或多個不飽和單元的直鏈的（即無支鏈的）或支鏈的、經取代的或未取代的烴鏈。在一些實施方式中，脂肪族基團含有1-8個脂肪族碳原子。在一些實施方式中，脂肪族基團含有1-6個脂肪族碳原子。在一些實施方式中，脂肪族基團含有1-4個脂肪族碳原子。在一些實施方式中，脂肪族基團含有4個脂肪族碳原子。

【0140】如本文所用，術語「環境條件」意指室溫、露天條件和不受控制的濕度條件。術語「室溫」和「環境溫度」意指15°C至30°C。

【0141】術語「抗體-藥物軛合物」、「抗體軛合物」、「軛合物」、「免疫軛合物」和「ADC」可互換使用，並且是指與抗體（例如抗PSMA抗體）連接且可由以下通式定義的化合物或其衍生物：Ab-(L-D)*p*（式I），其中Ab = 抗體部分（即抗體或抗原結合片段），L = 連接子部分，D = 藥物部分，並且*p* =藥物部分的數目/抗體部分。在一些實施方式中，連接子L可以包括在抗體或抗原結合片段與治療性化合物之間的可切割部分。在一些實施方式中，連接子L可以包括可例如藉由間隔子單元與抗體或抗原結合片段和治療性化合物中的任一者或兩者附接的可切割部分。本文描述並舉例說明了示例性可切割連接子。

【0142】術語「抗體」在最廣泛意義上用於指藉由免疫球蛋白分子的可變區內的至少一個抗原識別位點識別且特異性結合靶標（如蛋白質、多肽、碳水化合物、多核苷酸、脂質或前述物質的組合）的免疫球蛋白分子。抗體的重鏈（HC）由重鏈可變結構域（VH）和重鏈恒定區（CH）構成。輕鏈（LC）

由輕鏈可變結構域（VL）和輕鏈恒定結構域（CL）構成。如本文所用，術語「結構域」和「區域」可互換使用（例如，術語「可變結構域」可與術語「可變區」互換使用，並且被理解為係指抗體的同一部分）。出於本申請的目的，成熟的重鏈和輕鏈可變結構域各自包含從N末端至C末端排列的四個框架區（FR1、FR2、FR3和FR4）內的三個互補決定區（CDR1、CDR2和CDR3；也稱為「高可變區」）：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3和FR4。CDR可以根據Kabat和/或IMGT編號系統進行鑒定（Kabat, Sequences of Proteins of Immunological Interest [具有免疫學意義的蛋白質序列]（National Institutes of Health [國立衛生研究院], 貝塞斯達, 馬里蘭州 (1987和1991)；國際免疫遺傳學資訊系統（International ImMunoGeneTics Information System）（IMGT®））。「抗體」可以是天然存在的或人造的，例如藉由常規雜交瘤技術產生的單株抗體。術語「抗體」包括全長單株抗體和全長多株抗體，以及例如Fab、Fab'、F(ab')2、Fv的抗體片段，以及單鏈抗體。抗體可以是免疫球蛋白的五種主要類別中的任一種：IgA、IgD、IgE、IgG和IgM，或其亞類（例如，同種型IgG1、IgG2、IgG3、IgG4）。任一上述類別或亞類的抗體還可以包含兩個功能相似類別的輕鏈之一：Igκ（本文中也稱為「Ig kappa」或「kappa」）和Igλ（本文中也稱為「Ig lambda」或「lambda」）。術語「抗體」涵蓋人抗體、嵌合抗體、人源化抗體及含有抗原識別位點的任何經修飾的免疫球蛋白分子，只要其表現出所需生物活性即可。

【0143】 如本文所用的術語「嵌合抗體」係指其中免疫球蛋白分子的胺基酸序列來源於兩個或更多個物種的抗體。在一些情況下，重鏈和輕鏈兩者的可變區對應於來源於具有所需特異性、親和力和活性特性的一個物種的抗體的可變區，而恒定區與來源於另一物種（例如人）的抗體同源以使後一物種中的免疫反應減至最少。

【0144】 如本文所用的術語「人抗體」係指由人產生的抗體或具有由人產生的抗體的胺基酸序列的抗體。

【0145】 如本文所用，術語「人源化抗體」係指含有來自非人（例如鼠）抗體以及人抗體的序列的抗體形式。這樣的抗體係含有來源於非人免疫球蛋白的最小序列的嵌合抗體。通常，人源化抗體將包含至少一個且通常兩個可變結構域的實質上全部，其中所有或實質上所有的高可變區對應於非人免疫球蛋白的那些高可變區且所有或實質上所有的框架（FR）區係人免疫球蛋白序列的那些框架區。人源化抗體視需要還將包含免疫球蛋白恒定區（Fc）的至少一部分，通常是人免疫球蛋白的恒定區的至少一部分。人源化抗體可以藉由Fv框架區中和/或所替代的非人殘基內殘基的取代而進一步修飾，以改進並優化抗體特異性、親和力和/或活性。人源化抗體還可以藉由Fc結構域中殘基的取代而進一步修飾，以減少其與各種細胞受體（如Fcγ受體（FcγR）和其他免疫分子）的結合。

【0146】 如本文所用的術語「單株抗體」係指從實質上均質的抗體群體獲得的抗體，即，除了可能少量存在的可能的天然存在的突變之外，構成該群體的各個抗體係相同的。單株抗體針對單一抗原性表位具有高度特異性。相反，常規的（多株）抗體製劑通常包括針對不同表位或對其具有特異性的多種抗體。修飾語「單株」表示從實質上均質的抗體群體獲得的抗體的特徵，而不應解釋為要求藉由任何特定方法生產抗體。例如，根據本揭露使用的單株抗體可藉由首先由Kohler等人 (1975) Nature [自然] 256:495描述的雜交瘤方法來製造，或可藉由重組DNA方法來製造。參見，例如美國專利案號4,816,567。還可以使用例如Clackson等人 (1991) Nature [自然] 352:624-8以及Marks等人 (1991) J. Mol. Biol.[分子生物學雜誌] 222:581-97中描述的技術從噬菌體抗體文庫分離單株抗體。

【0147】本文所述之單株抗體具體地包括「嵌合」抗體，其中重鏈和/或輕鏈的一部分與來源於特定物種或屬於特定抗體類別或亞類的抗體中的對應序列相同或同源，而該鏈的其餘部分與來源於另一物種或屬於另一抗體類別或亞類的抗體、以及這樣的抗體的片段中的對應序列相同或同源，只要它們特異性結合靶抗原和/或展現出所需生物活性即可。

【0148】如本文所用的術語抗體的「抗原結合片段」或「抗原結合部分」係指抗體中保留特異性結合抗原（例如PSMA）的能力的一個或多個片段。抗原結合片段較佳的是還保留了內化到表現抗原的細胞中的能力。在一些實施方式中，抗原結合片段還保留了免疫效應子活性。已證明全長抗體的片段可執行全長抗體的抗原結合功能。術語抗體的「抗原結合片段」或「抗原結合部分」內所涵蓋的結合片段的實例包括 (i) Fab片段，一種由VL、VH、CL和CH1結構域組成的單價片段；(ii) F（ab'）2片段，一種包含藉由鉸鏈區處的二硫橋連接的兩個Fab片段的二價片段；(iii) 由VH和CH1結構域組成的Fd片段；(iv) 由抗體的單臂的VL和VH結構域組成的Fv片段；(v) dAb片段，其包含單一可變結構域，例如VH結構域（參見，例如Ward等人 (1989) Nature [自然] 341:544-6；和Winter等人, WO 90/05144）；以及 (vi) 分離的互補決定區（CDR）。此外，儘管Fv片段的兩個結構域VL和VH由單獨的基因編碼，但它們可以使用重組方法藉由能夠使其製成單條蛋白質鏈的合成連接子來接合，在該單條蛋白質鏈中，VL和VH區配對以形成單價分子（稱為單鏈Fv（scFv））。參見，例如Bird等人 (1988) Science [科學] 242:423-6；和Huston等人 (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA [美國國家科學院院刊] 85:5879-83。這樣的單鏈抗體也意圖涵蓋在術語抗體的「抗原結合片段」或「抗原結合部分」內，並且在本領域中已知為能在結合時內化到細胞中的示例性結合片段類型。參見，例如Zhu等人 (2010) 9:2131-41；He等人 (2010) J Nucl.Med.[核醫學雜誌]

51:427-32；和Fitting等人 (2015) MAbs [單株抗體] 7:390-402。在某些實施方式中，scFv分子可摻入融合蛋白中。還涵蓋了單鏈抗體（例如雙抗體）的其他形式。雙抗體係二價雙特異性抗體，其中VH和VL結構域在單條多肽鏈上表現，但使用太短而不允許同一鏈上的兩個結構域之間進行配對的連接子，由此迫使該等結構域與另一鏈的互補結構域配對且產生兩個抗原結合位點。參見，例如Holliger等人 (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA [美國國家科學院院刊] 90:6444-8；和Poljak等人 (1994) Structure [結構] 2:1121-3）。抗原結合片段使用熟悉該項技術者已知的常規技術獲得，並且該等結合片段以與完整抗體相同的方式進行效用（例如，結合親和力、內化）篩選。抗原結合片段可例如藉由切割完整蛋白，例如藉由蛋白酶或化學切割來製備。

【0149】 術語「抗PSMA抗體」或「特異性結合PSMA的抗體」係指特異性結合PSMA的抗體或其片段的任何形式，並且涵蓋單株抗體（包括全長單株抗體）、多株抗體和具有生物學功能的抗體片段，只要它們特異性結合PSMA即可。較佳的是，本文揭露的ADC中使用的抗PSMA抗體係內化抗體或內化抗體片段。如本文所用，術語「特異性」、「特異性結合（specifically binds和binds specifically）」係指抗體與靶抗原或表位相對於替代抗原或表位的選擇性結合。可藉由在一組給定條件下將與適當抗原的結合同與不相關抗原或抗原混合物的結合進行比較來測試抗體的結合特異性。如果抗體與適當抗原的結合親和力比與不相關抗原或抗原混合物的結合親和力高至少2倍，或較佳的是至少50倍、至少100倍、或至少1000倍，則它被認為係特異性的，例如，如藉由表面電漿共振所測量的，例如BIAcore®分析。在一個實施方式中，特異性抗體係結合PSMA抗原但不結合其他抗原（或展現出與其他抗原的最小結合）的抗體。

【0150】術語「芳基」係指來源於芳族環的基團或取代基，並且涵蓋單環芳族環以及二環、三環和稠環系統（總共具有六至十四個環成員），其中該系統中的至少一個環係芳族的。芳基基團可以視需要被一個或多個取代基取代。

【0151】術語「雜芳基」係指包含至少一個為雜原子（例如O、N或S）的環原子的環狀基團。雜芳基基團涵蓋總共具有五至十四個環成員的單環、二環和三環系統，其中該系統中的至少一個環係芳族的，該系統中的至少一個環含有一個或多個雜原子，並且其中該系統中的每個環含有三至七個環成員。

【0152】術語「至少一個」係指一個或多個。

【0153】術語「橋」係指本揭露的大環橋接的STING促效劑化合物中的一組原子，其從該大環橋接的STING促效劑化合物中的第一核酸鹼基延伸至該大環橋接的STING促效劑化合物中的第二核酸鹼基。

【0154】術語「癌症」係指哺乳動物中的生理病況，其中細胞群的特徵為不受調控的細胞生長。癌症的實例包括但不限於癌、淋巴瘤、胚細胞瘤、肉瘤和白血病。這樣的癌症的更特定的實例包括鱗狀細胞癌、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、肺腺癌、肺鱗癌、膽道癌（例如膽管癌）、食道癌、鼻咽癌、腹膜癌、肝細胞癌（hepatocellular cancer）（例如肝細胞癌（hepatocellular carcinoma））、胃腸癌、胰臟癌、膠質母細胞瘤、宮頸癌、卵巢癌、肝癌（liver cancer）、膀胱癌、肝細胞瘤、乳腺癌、骨肉瘤、皮膚癌（例如黑色素瘤）、大腸癌、大腸直腸癌、子宮內膜癌或子宮癌、卵巢癌、唾液腺癌、腎癌、肝癌、前列腺癌（例如晚期前列腺癌、轉移性去勢抵抗性前列腺癌）、外陰癌、甲狀腺癌、肝癌（hepatic carcinoma）、骨癌和各種類型的頭頸癌。

【0155】術語「癌細胞」和「腫瘤細胞」係指來源於腫瘤的單個細胞或總細胞群，包括非致瘤細胞和癌症幹細胞。當僅提及缺乏更新和分化能力的那

些腫瘤細胞時，如本文所用的術語「腫瘤細胞」將由術語「非致瘤」修飾以將那些腫瘤細胞與癌症幹細胞進行區分。

【0156】術語「腫瘤」和「贅瘤」係指由過量細胞生長或增殖造成的良性或惡性的任何組織腫塊，包括癌前病變。

【0157】術語「化療劑」或「抗癌劑」在本文中用於指不管作用機制如何，均有效治療癌症的化合物。抑制轉移或血管生成通常是化療劑的特性。刺激抗腫瘤免疫反應也可能是化療劑的特性。化療劑的非限制性實例包括刺激劑，例如STING促效劑。此外，化療劑包括抗體、生物分子和小分子。化療劑可以是細胞毒性劑或細胞生長抑制劑。

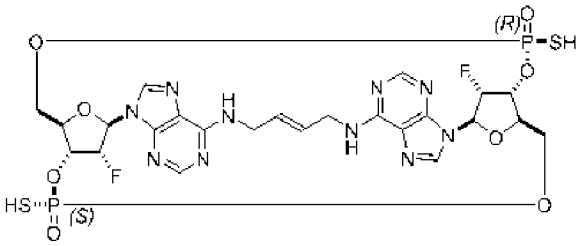
【0158】術語「細胞毒性劑」係指藉由干擾細胞的表現活性和/或功能或者藉由刺激導致細胞死亡的反應（例如免疫反應）而導致細胞死亡的物質。細胞毒性劑的實例包括但不限於STING促效劑，例如化合物1。

【0159】如本文所揭露的ADC的「有效量」係足以進行具體陳述的目的（例如，在投與後產生治療性效果，例如減小腫瘤生長速率或腫瘤體積、減少癌症症狀或治療功效的一些其他指標）的量。有效量可以以與所陳述目的相關的常規方式來測定。術語「治療有效量」係指有效治療受試者的疾病或病症的ADC的量。在癌症的情況下，治療有效量的ADC可減少癌細胞的數目、減小腫瘤尺寸、抑制（例如減緩或停止）腫瘤轉移、抑制（例如減緩或停止）腫瘤生長和/或緩解一種或多種症狀。「預防有效量」係指在必要的劑量下和時間段內有效實現所需預防結果的量。典型地，因為預防劑量在疾病之前或在疾病早期階段時用於受試者中，所以預防有效量將小於治療有效量。

【0160】術語「表位」係指能夠由抗體識別且特異性結合的抗原部分。當抗原係多肽時，表位可以由連續胺基酸或藉由多肽的三級折疊並置的非連續胺基酸形成。抗體所結合的表位可使用本領域中已知的任何表位作圖技術來鑒

定，該表位作圖技術包括用於表位鑒定的X射線結晶學（其藉由直接目測抗原-抗體複合物進行），以及監測抗體與抗原的片段或突變型變體的結合，或監測抗體和抗原的不同部分的溶劑可及性。用於給抗體表位作圖的示例性策略包括但不限於基於陣列的寡肽掃描、限制性蛋白水解、定點誘變、高通量誘變作圖、氫-氘交換和質譜法。參見，例如Gershoni等人 (2007) 21:145-56；以及Hager-Braun和Tomer (2005) Expert Rev. Proteomics [蛋白質組學專家評論] 2:745-56）。

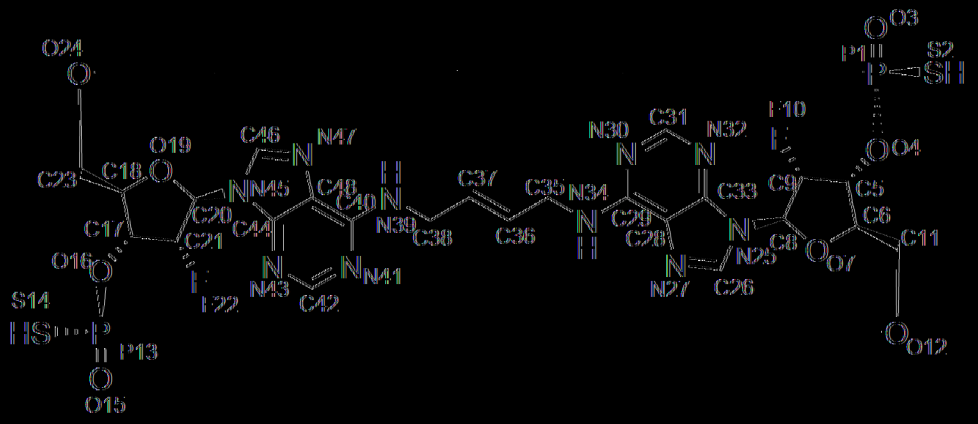
【0161】 如本文所用的術語「化合物1」係指如下所示的化合物1或其鹽的結構：



化合物1。

【0162】 化合物1係一種大環橋接的STING促效劑（MBSA），具有鎖定的環狀二核苷酸的生物活性U形構象，在核酸鹼基之間包含跨環大環橋。如本文所用，「化合物1」可以包括化合物1的鹽，例如化合物1的二銨鹽和/或鈉鹽。術語「化合物1部分」、「E7766」、「E7766促效劑部分」或「E7766部分」係指ADC的組分，其具有化合物1的結構，並且例如藉由化合物1部分的N-34氮、N-39氮、S-2硫或S-14硫與ADC的連接子附接。WO 2018/152450揭露了包括投與化合物1的抑制患者腫瘤生長的組成物和方法，將該專利的所有化合物1結構和合成該等結構之方法藉由引用以其全文併入本文。

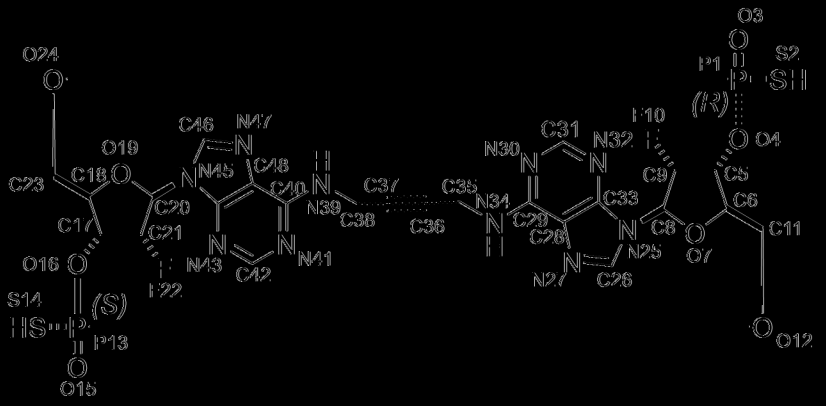
【0163】 如本文所提及的，化合物1中的原子可以如下所示進行編號：



[0164] 如本文所用的術語「化合物2」係指如下所示的化合物2或其鹽的結構：

化合物2。

[0165] 如本文所提及的，化合物2中的原子可以如下所示進行編號：



[0166] 在本揭露的各個實施方式中，「N-34氮」、「N-39氮」、「S-2硫」或「S-14硫」可用於指其他STING促效劑中的氮或硫原子，該等氮或硫原子對應於化合物1或化合物2中經編號的氮或硫原子，無論該等原子是否根據命名規則以其他方式進行編號。在一些情況下，對於具有式(III)、式(IV)的化合物或表14的化合物、例如化合物1或化合物2，在N-34氮處附接的LID部分可

稱為「R_N」或「RN」，而在N-39氮處附接的L-D軛合物可被稱為「S_N」或「SN」。

【0167】「Fcγ受體」、「Fc-gamma受體」或「FcγR」係指通常在各種類型的免疫細胞（例如中性粒細胞）上發現的細胞表面蛋白。抗體的Fc區與Fcγ受體的結合可以誘導不同的效應子功能，例如抗體依賴性細胞毒性（ADCC）或抗體依賴性細胞吞噬作用（ADCP）。

【0168】如本文所用，術語「鹵素」或「鹵代」意指F、Cl、Br或I。

【0169】術語「同源物」係指藉由例如在對應位置處具有相同或類似的化學殘基的序列而展現與另一分子的同源性的分子。

【0170】如本文所用的術語「IgG1 Fc」、「IgG1 Fc結構域」或「含有IgG1 Fc的抗體」係指至少具有IgG1 CH2和CH3結構域的抗體，如分別由SEQ ID NO: 70和SEQ ID NO: 71所鑒定的。

【0171】「野生型IgG1 Fc結構域」係指包含SEQ ID NO: 69的胺基酸序列或其片段的人IgG1 Fc結構域。

【0172】如本文所用的術語「抑制（inhibit或inhibition of）」意指減少可測量的量，並且可包括但不需要完全預防或抑制。

【0173】如本文關於抗體或抗原結合片段所用的「內化」係指抗體或抗原結合片段在與細胞結合時能夠穿過細胞的脂質雙層膜進入內部隔室（即，「內化」），較佳的是進入細胞中的降解隔室中。例如，內化抗PSMA抗體係一種在與細胞膜上的PSMA結合後能夠進入細胞中的抗體。

【0174】術語「KD」係指特定抗體-抗原相互作用的平衡解離常數。KD藉由k_a/k_d來計算。該速率可以使用標準測定（如BIAcore®或ELISA測定）來測定。

【0175】術語「k_{on}」或「k_a」係指抗體與抗原締合以形成抗體/抗原複合物的締合速率常數。該速率可以使用標準測定（如BIAcore®或ELISA測定）來測定。

【0176】術語「k_{off}」或「k_d」係指抗體自抗體/抗原複合物解離的解離速率常數。該速率可以使用標準測定（如BIAcore®或ELISA測定）來測定。

【0177】「連接子」或「連接子部分」指能夠將化合物、通常是藥物部分（如化療劑）與另一部分（如抗體部分）共價接合的任何化學部分。連接子可以在化合物或抗體仍保持活性的條件下易於以下切割或對以下切割有實質性抗性：酸誘導的切割、肽酶誘導的切割、基於光的切割、酯酶誘導的切割和/或二硫鍵切割。「可切割連接子」係包含可切割部分並且可因此易於切割的任何連接子。可切割部分可以是可切割肽部分。術語「可切割肽部分」係指可被細胞內環境中存在的藥劑切割的任何化學鍵連接的胺基酸（天然或合成胺基酸衍生物）。

【0178】除非另外指示其具體使用情形，否則「或」的使用意指「和/或」。

【0179】術語「*p*」或「抗體:藥物比率」或「藥物與抗體比率」或「DAR」係指藥物部分的數目/抗體部分，即載藥量，或具有式I的ADC中L-D部分的數目/抗體或抗原結合片段（Ab）。在包括具有式I的ADC的多個拷貝的組成物中，「*p*」係指L-D部分的平均數目/抗體或抗原結合片段，也被稱為平均載藥量。

【0180】「藥物組成物」係指呈准許投與活性成分且隨後提供活性成分的預期生物活性和/或實現治療性效果的形式，且不含對應投與配製物的受試者具有不可接受毒性的額外組分的製劑。藥物組成物可以是無菌的。

【0181】「藥物賦形劑」包含例如輔助劑、載劑、pH調節劑和緩衝劑、張力調節劑、潤濕劑、防腐劑等的材料。

【0182】「藥學上可接受的」意指美國聯邦管理機構或州政府審批藉由或可由其審批藉由，或美國藥典（U.S.Pharmacopeia）或其他普遍公認藥典中列出可用於動物且更特別地用於人。

【0183】如本文所用，術語「π鍵」意指由相鄰原子的p軌道形成的共價鍵。當兩個原子之間存在多重鍵（即雙鍵或三鍵）時，就存在π鍵。例如，碳-碳雙鍵由一個π鍵組成，而碳-碳三鍵由兩個π鍵組成。

【0184】如本文所用的術語「前列腺特異性膜抗原」或「PSMA」係指人PSMA的任何天然形式。該術語涵蓋全長PSMA（例如，NCBI參考序列：NP_004467.1；SEQ ID NO: 67），以及由細胞加工產生的任何形式的人PSMA。該術語還可涵蓋天然存在的PSMA的變體，包括但不限於剪接變體、等位基因變體和異形體。結合PSMA的抗體可能不結合所有變體，這對於熟悉該項技術者來說係顯而易見的。PSMA可以從人中分離，或者可以以重組方式或藉由合成方法產生。術語「PSMA」和「前列腺特異性膜抗原」可與「麩胺酸羧肽酶II（GCPII）」、「葉酸水解酶1」、「N-乙醯化-α-連接的酸性二肽酶I（NAALAD酶I）」和本領域已知的由*FOLH1*編碼的蛋白質的任何其他名稱互換。

【0185】如本文所用的術語「保護基團」係指藉由官能基的化學修飾引入分子中以獲得後續化學反應中的化學選擇性的任何化學基團。

【0186】添加（通常稱為「保護」之方法）和去除（通常稱為「去保護」之方法）保護基團之方法係本領域熟知的並且可見於例如：P. J. Kocienski, Protecting Groups [保護基團], 第3版 (Thieme [德國蒂墨出版集團], 2005) 以及Greene和Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis [有機合成中的保護基團],

第4版 (John Wiley & Sons [約翰威利父子公司], 紐約, 2007)，將這兩者藉由引用以其全文特此併入。

【0187】 可用於本揭露的胺的有用保護基團的非限制性實例包括單價保護基團，例如三級丁氧基羰基（Boc）、苄基（Bn）、9-芴基甲氧基羰基（Fmoc）、苄氧基羰基（Cbz）、甲醯基、乙醯基（Ac）、三氟乙醯基（TFA）和對甲苯磺醯基（Ts）；以及二價保護基團，例如亞苄基、N-鄰苯二甲醯亞胺、N-二硫雜琥珀醯亞胺、N-2,3-二苯基馬來醯亞胺、N-2,3-二甲基馬來醯亞胺和N-2,5-二甲基吡咯。

【0188】 可用於本揭露的醇的有用保護基團的非限制性實例包括例如，乙醯基（Ac）、苯甲醯基（Bz）、苄基（Bn）、β-甲氧基乙氧基甲基（MEM）、二甲氧基三苯甲基（DMT）、甲氧基甲基（MOM）、甲氧基三苯甲基（MMT）、對甲氧基苄基（PMB）、新戊醯基（Piv）、四氫哌喃基（THP）、三苯甲基（Tr）、4-硝基苯基碳酸酯、三甲基矽基（TMS）、三乙基矽基（TES）、三異丙基矽基（TIPS）、三級丁基二甲基矽基（TBS）和三級丁基二苯基矽基（TBDPS）。

【0189】 可用於本揭露的羧酸的有用保護基團的非限制性實例包括例如，甲基酯或乙基酯、經取代的烷基酯如9-芴基甲基、甲氧基甲基（MOM）、四氫哌喃基（THP）、四氫呋喃基、β-甲氧基乙氧基甲基（MEM）、2-(三甲基矽基)乙氧基甲基（SEM）、苄氧基甲基（BOM）、乙醯基（Ac）、苯甲醯甲基、經取代的苯甲醯甲基酯、三級丁基、烯丙基、苯基（Ph）、矽基酯、苄基和經取代的苄基酯、2,6-二烷基苯基和五氟苯基（PFP）。

【0190】 可用於本揭露的胺鹼的非限制性實例包括例如，1,8-二氮雜雙環[5.4.0]十一碳-7-烯（DBU）、N-甲基啉（NMM）、三乙胺（Et_3N；TEA）、二異丙基乙胺（*i*-Pr_2EtN；DIPEA）、吡啶、2,2,6,6-四甲基哌啶、1,5,7- 三氮雜雙

環[4.4.0]癸-5-烯（TBD）、7-甲基-1,5,7-三氮雜雙環[4.4.0]癸-5-烯（MTBD）、t-Bu-四甲基胍、1,5-二氮雜雙環[4.3.0]壬-5-烯（DBN）、雙(三甲基矽基)醯胺鋰（LiHMDS）和雙(三甲基矽基)醯胺鉀（KHMDS）。

【0191】 可用於本揭露的鹼性碳酸鹽的非限制性實例包括例如，碳酸鈉（Na_2CO_3）、碳酸鉀（K_2CO_3）、碳酸銫（Cs_2CO_3）、碳酸鋰（Li_2CO_3）、碳酸氫鈉（$NaHCO_3$）和碳酸氫鉀（$KHCO_3$）。

【0192】 可用於本揭露的鹼性磷酸鹽的非限制性實例包括例如，磷酸三鈉（Na_3PO_4）、磷酸三鉀（K_3PO_4）、磷酸氫二鉀（K_2HPO_4）和磷酸二氫鉀（KH_2PO_4）。

【0193】 可用於本揭露的酸的非限制性實例包括例如，乙酸（AcOH）、三氟乙酸（TFA）、鹽酸（HCl）、樟腦磺酸（CSA）、甲磺酸（MsOH）、甲酸（FA）、磷酸（H_3PO_4）和硫酸（H_2SO_4）。

【0194】 肽偶聯試劑的非限制性實例包括例如，*N*,*N*'-二環己基碳二亞胺（DCC）、1-乙基-3-[3-(二甲基胺基)丙基]碳二亞胺（EDCI）、4-(4,6-二甲氧基-1,3,5-三-2-基)-4-甲基啉-4-鎓氯化物（DMT-MM）、1-乙氧基羰基-2-乙氧基-1,2-二氫喹啉（EEDQ）、1-[雙(二甲基胺基)亞甲基]-1H-1,2,3-三唑并[4,5-b]吡啶鎓 3-氧化物六氟磷酸鹽（HATU）、1-羥基苯并三唑（HOBT）和*N*,*N*,*N*,*N*'-四甲基-*O*- (*N*-琥珀醯亞胺基)脲四氟硼酸鹽（TSTU）。

【0195】 對於胺基酸序列，可以藉由使用本領域已知的標準技術、或藉由檢查來測定序列同一性和/或相似性，該等技術包括但不限於以下：Smith和Waterman, (1981), Adv. Appl. Math.[應用數學進展] 2:482的局部序列同一性演算法、Needleman和Wunsch (1970) J. Mol. Biol.[分子生物學雜誌] 48:443的序列同一性比對演算法、Pearson和Lipman (1988) Proc. Nat. Acad. Sci. USA [美國國家科學院院刊] 85:2444的相似性搜索方法、該等演算法的電腦化實現（威斯康辛

遺傳學套裝軟體中的GAP、BESTFIT、FASTA和TFASTA，遺傳學電腦組（Genetics Computer Group）, 科學路575號, 麥迪森, 威斯康辛州）、Devereux等人 (1984) Nucl. Acid Res.[核酸研究] 12:387-95描述的最佳擬合序列程式（較佳的是使用預設設置）。較佳的是，同一性百分比藉由FastDB基於以下參數來計算：錯配罰分1；空位罰分1；空位尺寸罰分0.33；以及接合罰分30。參見「Current Methods in Sequence Comparison and Analysis [當前序列比較和分析方法]」, Macromolecule Sequencing and Synthesis, Selected Methods and Applications [大分子定序與合成、所選方法與應用], 第127-149頁 (1988), Alan R. Liss, Inc.[艾倫利斯出版公司]。

【0196】 有用演算法的一個實例係PILEUP。PILEUP使用漸進性成對比對由一組相關序列產生多序列比對。它還可以繪製顯示用於產生該比對的聚類關係的樹狀圖。PILEUP使用Feng和Doolittle (1987) J. Mol. Evol.[分子進化雜誌] 35:351-60的漸進性比對方法的簡化形式；該方法類似於Higgins和Sharp (1989) CABIOS [電腦在生物學中的應用] 5:151-3所述之方法。有用的PILEUP參數包括預設空位權重3.00、預設空位長度權重0.10、以及加權的末端空位。

【0197】 有用演算法的另一實例係BLAST演算法。參見，例如Altschul等人 (1990) J. Mol. Biol.[分子生物學雜誌] 215:403-10；Altschul等人 (1997) Nucleic Acids Res.[核酸研究] 25:3389-402；和Karin等人 (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA [美國國家科學院院刊] 90:5873-87。特別有用的BLAST程式係從Altschul等人 (1996) Methods in Enzymology [酶學方法] 266:460-80獲得的WU-BLAST-2程式。WU-BLAST-2使用幾個搜索參數，其中大部分設置為預設值。可調參數按以下值設置：重疊跨度=1、重疊分數=0.125、字串閾值（T）=II。HSP S和HSP S2參數係動態值，並且藉由程式本身根據特定序列的組成和檢索目的序列的特定數據庫的組成而確立；然而，可以調整該等值以增加靈敏度。

【0198】 額外的有用演算法係Altschul等人 (1993) Nucl. Acids Res.[核酸研究] 25:3389-402所報告的帶空位的BLAST。帶空位的BLAST使用BLOSUM-62取代評分；閾值T參數設置為9；兩次命中方法（two-hit method）用於觸發無空位的延伸，電荷空位長度為k，代價為10+k；Xu設置為16，而Xg在數據庫檢索階段設置為40且在演算法輸出階段設置為67。帶空位的比對藉由對應於約22比特的評分觸發。

【0199】 通常，本文揭露的蛋白質及其變體（例如，保留原始蛋白質功能的變體），包括PSMA的變體和抗體可變結構域的變體（包括個別變體CDR），具有至少80%的胺基酸同源性、相似性或同一性，且更典型地至少85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%和幾乎100%或100%的同源性或同一性。

【0200】 以類似方式，關於本文鑒定的抗體和其他蛋白質的核酸序列的「核酸序列同一性百分比（%）」被定義為候選序列中與抗原結合蛋白編碼序列中的核苷酸殘基相同的核苷酸殘基的百分比。具體之方法使用設置為預設參數的WU-BLAST-2的BLASTN模組，其中重疊跨度和重疊分數分別設置為1和0.125。

【0201】 如本文所用的術語「穩定的」係指如下化合物，在出於本文揭露的一個或多個目的而經受其產生、檢測和較佳的是其回收、純化和使用的條件時，它們基本上不發生改變。

【0202】 術語「受試者」與「患者」在本文中可互換用於指任何動物，如任何哺乳動物，包括但不限於人、非人靈長類動物、齧齒動物等。在一些實施方式中，哺乳動物係小鼠。在一些實施方式中，哺乳動物係人。

【0203】 術語「靶標陰性」或「靶抗原陰性」係指細胞或組織不存在靶抗原表現。術語「靶標陽性」或「靶抗原陽性」係指存在靶抗原表現。例如，

不表現靶抗原的細胞或細胞系可描述為靶標陰性的，而表現靶抗原的細胞或細胞系可描述為靶標陽性的。

【0204】 如本文所用，術語「溶劑」係指產物至少部分可溶於其中（產物的溶解度>1 g/L）的任何液體。

【0205】 如本文所用，術語「異構物」係指具有相同分子式但原子或鍵的空間排列不同的化合物。異構物包括立體異構物、順反異構物、阻轉異構物和互變異構物。

【0206】 如本文所用，術語「立體異構物」係指鏡像異構物和非鏡像異構物兩者。

【0207】 應當理解，本發明之某些化合物可以作為單獨的立體異構物或鏡像異構物和/或那些立體異構物或鏡像異構物的混合物存在。如本文揭露的化學結構中所用，立構原子的「楔形（wedge）」（）或「散形（hash）」（ ）鍵表示已知絕對立體化學的手性中心（即，一種立體異構物）。如本文所用，用(*R*)或(*S*)表示的立構原子表示根據Cahn-Ingold-Prelog慣例該立構原子的立體化學名稱。如本文揭露的化學結構中所用，立構原子的／（「直形」）鍵表示存在混合物（例如外消旋物或富集物）。如本文所用，雙鍵碳的兩個／（「直形」）鍵表示雙鍵具有如圖所示的*E*/*Z*立體化學。

【0208】 本文揭露的某些化合物可以作為互變異構物存在，並且兩種互變異構形式都是預期的，即使僅描述了單個互變異構結構。

【0209】 本揭露還提供了用於製備本揭露化合物的鹽之方法。

【0210】 本揭露的化合物的鹽係在酸和化合物的鹼性基團（如胺基官能基）之間，或鹼和化合物的酸性基團（如羧基官能基）之間形成的。根據化合物中的鹼性或酸性基團與酸或鹼的化合價的比率，一種化合物可以與酸/鹼的一個或多個分子單元形成鹽，或者多個單元的化合物可以與一個單元的酸/鹼形成

鹽。在一些實施方式中，鹽係鈉鹽。在一些實施方式中，鹽係二銨鹽。在一些實施方式中，鹽係二烷基銨鹽。在一些實施方式中，鹽係雙(三乙銨)鹽。

【0211】 如本文所用的術語「干擾素基因刺激因子」或「STING」係指人STING的任何天然形式。該術語涵蓋全長STING（例如，NCBI參考序列：NP_938023.1；SEQ ID NO: 68），以及由細胞加工產生的任何形式的人STING。該術語還涵蓋天然存在的STING的變體，包括但不限於剪接變體、等位基因變體和異形體。STING可以從人中分離，或者可以以重組方式或藉由合成方法產生。

【0212】 如本文所用，「治療」或「治療性」和語法上相關的術語係指疾病的任何後果的任何改善，如延長的存活期、較低的發病率和/或減輕的由替代治療性模式引起的副作用。如本領域容易理解的，完全根除疾病係治療行為較佳的，但不是必需的。如本文所用的「治療（treatment或treat）」係指將所述ADC或抗體投與至受試者、例如患者。治療可以是治癒、癒合、減輕、緩解、改變、補救、改善、緩和、改良或影響病症（例如癌症）、病症的症狀或患病症的傾向性。

【0213】 如本文所用，術語「不飽和」意指部分具有一個或多個不飽和單元。

抗PSMA抗體和抗原結合片段

【0214】 本揭露提供了特異性結合PSMA並且可以單獨使用的抗體，例如配製為治療性或診斷性抗體組成物，例如用於在治療或檢測表現PSMA的癌症中使用。可以將該等抗體包裝或製備用於治療性用途，作為抗體、其抗原結合片段或作為ADC的部分。

【0215】 本文揭露的抗體可以以≤ 1 mM、≤ 100 nM、或≤ 10 nM或其間的任何量的解離常數（KD）結合PSMA，如藉由例如BIAcore®分析所測量的。在

一些實施方式中，KD係500 pM至1 nM或1 nM至10 nM。在一些實施方式中，KD係≤ 10 nM、≤ 5 nM、≤ 1 nM、或≤ 0.5 nM。

【0216】 在一些實施方式中，抗體係包含兩條重鏈和兩條輕鏈的四鏈抗體（也稱為免疫球蛋白）。在一些實施方式中，抗體係雙鏈半抗體（一條輕鏈和一條重鏈）或免疫球蛋白的抗原結合片段。

【0217】 在一些實施方式中，抗體係內化抗體或其內化抗原結合片段。在一些實施方式中，內化抗體結合細胞表面表現的PSMA並在結合時或結合後進入細胞。在一些實施方式中，ADC的藥物部分在ADC進入之後從ADC的抗體部分釋放且存在於表現PSMA的細胞中（即在ADC已內化之後）。在一些實施方式中，內化抗體結合細胞的細胞表面表現的PSMA，並且該細胞隨後被吞噬（例如，發生抗體依賴性細胞吞噬作用）。在一些實施方式中，ADC的藥物部分在ADC進入之後從ADC的抗體部分釋放且存在於吞噬細胞（例如巨噬細胞、樹突狀細胞）中。

【0218】 本文揭露的特異性結合PSMA蛋白的抗體可以包含三個重鏈CDR（HCDR1、HCDR2和HCDR3），其具有選自下文表1和/或3中列出的HC CDR的胺基酸序列，如由Kabat編號系統所定義的，和三個輕鏈CDR（LCDR1、LCDR2和LCDR3），其具有選自下文表1和/或3中列出的LC CDR的胺基酸序列，如由Kabat編號系統所定義的。在一些實施方式中，抗體包含三個重鏈CDR（HCDR1、HCDR2和HCDR3），其具有選自下文表5中列出的HC CDR的胺基酸序列，如由IMGT編號系統所定義的，和三個輕鏈CDR（LCDR1、LCDR2和LCDR3），其具有選自下文表5中列出的LC CDR的胺基酸序列，如由IMGT編號系統所定義的。

【0219】 在一些實施方式中，本文揭露的抗體包含VH結構域，其具有選自下文表2和/或7中列出的SEQ ID NO: 1-14的胺基酸序列。在一些實施方式

中，抗體包含VL結構域，其具有選自下文表2和/或7中列出的SEQ ID NO: 15-20的胺基酸序列。

【0220】在一些實施方式中，本文揭露的抗原結合片段保留PSMA結合。在一些實施方式中，抗原結合片段藉由包含以下而保留PSMA結合：三個重鏈CDR（HCDR1、HCDR2和HCDR3），其包含選自下文表1和/或3中列出的HC CDR的胺基酸序列，如由Kabat編號系統所定義的，和三個輕鏈CDR（LCDR1、LCDR2和LCDR3），其包含選自下文表1和/或3中列出的LC CDR的胺基酸序列，如由Kabat編號系統所定義的。在一些實施方式中，抗原結合片段包含三個重鏈CDR（HCDR1、HCDR2和HCDR3），其包含選自下文表5中列出的HC CDR的胺基酸序列，如由IMGT編號系統所定義的，和三個輕鏈CDR（LCDR1、LCDR2和LCDR3），其包含選自下文表5中列出的LC CDR的胺基酸序列，如由IMGT編號系統所定義的。在一些實施方式中，本文揭露的抗原結合片段可藉由包含以下而保留PSMA結合：VH結構域，其包含選自下文表2和/或7中列出的SEQ ID NO: 1-14的胺基酸序列，和VL結構域，其包含選自下文表2和/或7中列出的SEQ ID NO: 15-20的胺基酸序列。

【0221】在一些實施方式中，抗PSMA抗體或抗原結合片段包含三個HCDR，其包含以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 21（HCDR1）、SEQ ID NO: 44（HCDR2）和SEQ ID NO: 27（HCDR3）；以及三個LCDR，其包含SEQ ID NO: 45（LCDR1）、SEQ ID NO: 46（LCDR2）和SEQ ID NO: 37（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的。在一些實施方式中，抗體或抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 42的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 43的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，抗體或抗原結合片段包含IgG1結構域。

【0222】在一些實施方式中，抗PSMA抗體或抗原結合片段包含三個HCDR，其包含以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 21（HCDR1）、SEQ ID NO: 22

（HCDR2）和SEQ ID NO: 27（HCDR3）；以及三個LCDR，其包含SEQ ID NO: 32（LCDR1）、SEQ ID NO: 35（LCDR2）和SEQ ID NO: 37（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的；或三個HCDR，其包含以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 28（HCDR1）、SEQ ID NO: 29（HCDR2）和SEQ ID NO: 30（HCDR3）；以及三個LCDR，其包含SEQ ID NO: 38（LCDR1）、SEQ ID NO: 39（LCDR2）和SEQ ID NO: 37（LCDR3），如由IMGT編號系統所定義的。在一些實施方式中，抗體或抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 14的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 19的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，抗體或抗原結合片段包含IgG1結構域。

【0223】 在一些實施方式中，本文揭露的抗PSMA抗體和抗原結合片段具有有利的熱穩定性。在一些實施方式中，本文揭露的抗PSMA抗體或抗原結合片段具有> 70°C、> 75°C、或> 80°C的解鏈溫度（Tm）。在一些實施方式中，本文揭露的抗PSMA抗體或抗原結合片段具有> 80°C的解鏈溫度（Tm）。在一些實施方式中，本文揭露的抗PSMA抗體或抗原結合片段具有比替代抗PSMA抗體（例如J591和deJ591）更高的解鏈溫度（Tm）。參見美國專利案號11,059,903和美國專利案號7,045,605。

【0224】 可選擇抗PSMA抗體或抗原結合片段以改進或保留多種因素，包括保留靶標結合親和力、增強熱穩定性和/或最大限度地減少免疫原性。在一些實施方式中，選擇在多於一種類別中展現出優異性的抗PSMA抗體。在一些實施方式中，選擇在多於一種類別中展現出改進的抗PSMA抗體，即使不一定係任何一種類別中最好的抗體。

【0225】 在一些實施方式中，選擇如下抗PSMA抗體或抗原結合片段，該抗PSMA抗體或抗原結合片段包含三個HCDR，其包含以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 21（HCDR1）、SEQ ID NO: 22（HCDR2）和SEQ ID NO: 27

（HCDR3）；以及三個LCDR，其包含SEQ ID NO: 32（LCDR1）、SEQ ID NO: 35（LCDR2）和SEQ ID NO: 37（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的；或三個HCDR，其包含以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 28（HCDR1）、SEQ ID NO: 29（HCDR2）和SEQ ID NO: 30（HCDR3）；以及三個LCDR，其包含SEQ ID NO: 38（LCDR1）、SEQ ID NO: 39（LCDR2）和SEQ ID NO: 37（LCDR3），如由IMGT編號系統所定義的，與其他抗PSMA抗體（例如J591和/或deJ591）相比，該抗PSMA抗體或抗原結合片段展現出保留的靶標結合親和力、增強的熱穩定性和最大限度減少的免疫原性。在一些實施方式中，選擇如下抗PSMA抗體或抗原結合片段，該抗PSMA抗體或抗原結合片段包含三個HCDR，其包含以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 21（HCDR1）、SEQ ID NO: 22（HCDR2）和SEQ ID NO: 27（HCDR3）；以及三個LCDR，其包含SEQ ID NO: 32（LCDR1）、SEQ ID NO: 35（LCDR2）和SEQ ID NO: 37（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的；或三個HCDR，其包含以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 28（HCDR1）、SEQ ID NO: 29（HCDR2）和SEQ ID NO: 30（HCDR3）；以及三個LCDR，其包含SEQ ID NO: 38（LCDR1）、SEQ ID NO: 39（LCDR2）和SEQ ID NO: 37（LCDR3），如由IMGT編號系統所定義的，與其他抗PSMA抗體（例如J591、deJ591和/或本文揭露的抗PSMA抗體）相比，該抗PSMA抗體或抗原結合片段展現出保留的靶標結合親和力和最大限度減少的免疫原性。

【0226】在一些實施方式中，選擇如下抗PSMA抗體或抗原結合片段，該抗PSMA抗體或抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 14的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 19的胺基酸序列的輕鏈可變區，與其他抗PSMA抗體（例如J591和/或deJ591）相比，該抗PSMA抗體或抗原結合片段展現出保留的靶標結合親和力、增強的熱穩定性和最大限度減少的免疫原性。在一些實施方式

中，選擇如下抗PSMA抗體或抗原結合片段，該抗PSMA抗體或抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 14的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 19的胺基酸序列的輕鏈可變區，與其他抗PSMA抗體（例如J591、deJ591和/或本文揭露的抗PSMA抗體）相比，該抗PSMA抗體或抗原結合片段展現出保留的靶標結合親和力和最大限度減少的免疫原性。

【0227】 在一些實施方式中，本文揭露的抗體可以包含IgG恒定結構域，例如IgG1結構域或與含野生型恒定結構域（例如，含野生型IgG1）的抗體相比已被修飾以減少與Fc受體、例如Fcγ受體（FcγR）的結合的IgG1結構域。與Fc受體、例如FcγR的結合的減少可以藉由與不含修飾的抗體與同一受體的結合進行比較來測量。與含有未修飾的恒定結構域的抗體相比，結合的減少可以是至少約10倍，並且較佳的是至少約100倍。結合的減少可以使用本領域已知的任何測定來測量。例如，結合的減少可以使用螢光共振能量轉移（FRET）測定來測量。

【0228】 在一些實施方式中，本文揭露的抗體可以包含IgG恒定結構域，例如IgG1結構域或與含野生型恒定結構域（例如，含野生型IgG1）的抗體相比已被修飾以增加與Fc受體、例如Fcγ受體（FcγR）的結合的IgG1結構域。與Fc受體、例如FcγR的結合增加可以藉由與不含修飾的抗體與同一受體的結合進行比較來測量。與含有未修飾的恒定結構域的抗體相比，結合增加可以是至少約5倍，並且較佳的是至少約10倍。結合增加可以使用螢光共振能量轉移（FRET）測定來測量。在一些實施方式中，經修飾的IgG恒定結構域藉由Fc工程改造和/或聚糖修飾（例如無岩藻糖基化）進行修飾。

【0229】 在一些實施方式中，本文揭露的抗體可以包含IgG1結構域，其包含根據Kabat的EU編號的突變L234A、L235A、P238S、H268Q和/或K274Q（例如，包含所有該等突變）。參見，例如Wang等人 (2017) Protein Cell [蛋白

質與細胞] 9(1):63-73；Vafa等人 (2014) Methods [方法] 1；65(1):114-26；和Tam等人 (2017) Antibodies [抗體] 1 6(3):12。不受理論的束縛，該等突變可以減少抗體與Fcγ受體（FcγR）的結合，這可以減少免疫細胞（如中性粒細胞）對抗體或ADC的非抗原介導的攝取，從而減少中性粒細胞減少症。中性粒細胞減少症的減少可以使用本領域已知的任何測定來測量。例如，中性粒細胞減少症的減少可以使用流動式細胞測量術測定來測量。

【0230】 在一些實施方式中，特異性結合PSMA蛋白的抗體包含如下重鏈，其具有選自下文表8中列出的SEQ ID NO: 47-60的胺基酸序列和/或包含來自表8中的胺基酸序列的一組CDR和/或可變結構域。在一些實施方式中，特異性結合PSMA蛋白的抗體包含如下輕鏈，其具有選自下文表8中列出的SEQ ID NO: 61-66的胺基酸序列和/或包含來自表8中的胺基酸序列的一組CDR和/或可變結構域。

【0231】 表1-9中列出了本揭露的示例性抗體的胺基酸和核酸序列。單株抗體Kabat CDR和可變區共有序列（分別為表1和2）反映了由SEQ ID NO: 1-20表示的重鏈和輕鏈可變區序列的比對（圖1）。殖株之間不同的殘基由SEQ ID NO: 42-46中的「X」表示。如本文所述之抗PSMA抗體或抗原結合片段可以藉由表1的共有CDR序列與表3的CDR序列組合來定義，例如，藉由選擇表1的HC CDR2、LC CDR1和/或LCDR2序列以及表3的HC CDR1、HC CDR2、HC CDR3、LC CDR1、LC CDR2和/或LC CDR3來藉由其三個重鏈和三個輕鏈CDR序列來描述抗體。

【表1】.共有mAb Kabat CDR的胺基酸序列

IgG鏈	**SEQ ID NO**	**胺基酸序列**
重鏈CDR		
HC CDR2	44	NINPNNGGTTYX^{1}X^{2}KFX^{3}X^{4}
輕鏈CDR		

LC CDR1	45	X^5ASQDVGTAX^6X^7
LC CDR2	46	WASTRHX^8

X^1 = A或N；X^2 = E或Q；X^3 = Q或E；X^4 = G或D；X^5 = R或K；X^6 = V或L；X^7 = D或N；並且X^8 = S或T

【表2】.共有mAb可變區的胺基酸序列

IgG鏈	**SEQ ID NO**	**可變區的胺基酸序列**
重鏈	42	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKX^9SGYTFTEYTIH WVQQAPGKGLEWX^{10}GNINPNNGGTTY$X^{11}X^{12}$KFX^{13} X^{14}RVTITX^{15}DX^{16}STX^{17}TAYMELSSLRSEDTAVYYC AX^{18}GWNFDYWGQGTLLTVSS
輕鏈	43	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCX^{19}ASQDVGTA$X^{20}X$ ^{21}WYQQKPGKAPKLLIYWASTRHX^{22}GVPSRFSGSGS GTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYNSYPLTFGQGTK LEIK

X^9 = V或T；X^{10} = M或I；X^{11} = A或N；X^{12} = E或Q；X^{13} = Q或E；X^{14} = G或D；X^{15} = A或V；X^{16} = T或K；X^{17} = D或S；X^{18} = T或A；X^{19} = R或K；X^{20} = L或V；X^{21} = N或D；並且X^{22} = S或T

【表3】.mAb Kabat CDR的胺基酸序列

IgG鏈	**SEQ ID NO**	**胺基酸序列**
重鏈CDR		
HC CDR1	21	EYTIH
HC CDR2	22	NINPNNGGTTYAEKFQG
	23	NINPNNGGTTYNEKFQG
	24	NINPNNGGTTYNQKFQG
	25	NINPNNGGTTYNQKFEG
	26	NINPNNGGTTYNQKFED
HC CDR3	27	GWNFDY
輕鏈CDR		
LC CDR1	32	RASQDVGTAVD
	33	KASQDVGTAVD
	34	RASQDVGTALN
LC CDR2	35	WASTRHS

	36	WASTRHT
LC CDR3	37	QQYNSYPLT

【表4】.編碼mAb Kabat CDR的核酸序列

IgG鏈	**SEQ ID NO**	核酸序列
重鏈CDR		
HC CDR1	74	GAGTACACCATTCAC
HC CDR2	75	AACATCAACCCCAACAACGGCGGCACCACCTACGCCGAAAAATTCCAGGGC
	76	AACATCAACCCCAACAACGGCGGCACCACCTACAACGAAAAATTCCAGGGC
	77	AACATCAACCCCAACAACGGCGGCACCACCTACAACCAGAAATTCCAGGGC
	78	AACATCAACCCCAACAACGGCGGCACCACCTACAACCAGAAATTCGAGGGC
	79	AACATCAACCCCAACAACGGCGGCACCACCTACAACCAGAAATTCGAGGAC
HC CDR3	80	GGCTGGAACTTCGACTAC
輕鏈CDR		
LC CDR1	81	AGAGCCAGCCAGGATGTGGGCACCGCTGTTGAC
	82	AAGGCCAGCCAGGATGTGGGCACCGCTGTTGAC
	83	AGAGCCAGCCAGGATGTGGGCACCGCTCTGAAC
LC CDR2	84	TGGGCCAGCACAAGACACAGC
	85	TGGGCCAGCACAAGACACACA
LC CDR3	86	CAGCAGTACAACAGCTACCCTCTGACC

【表5】.mAb IMGT CDR的胺基酸序列

IgG鏈	**SEQ ID NO**	**胺基酸序列**
重鏈CDR		
HC CDR1	28	GYTFTEYT
HC CDR2	29	INPNNGGT
HC CDR3	30	ATGWNFDY

	31	AAGWNFDY
輕鏈CDR		
LC CDR1	38	QDVGTA
LC CDR2	39	WAS
LC CDR3	37	QQYNSYPLT

【表6】.編碼mAb IMGT CDR的核酸序列

IgG鏈	**SEQ ID NO**	**核酸序列**
重鏈CDR		
HC CDR1	87	GGCTACACCTTCACCGAGTACACC
HC CDR2	88	ATCAACCCCAACAACGGCGGCACC
HC CDR3	89	GCCACCGGCTGGAACTTCGACTAC
	90	GCCGCCGGCTGGAACTTCGACTAC
輕鏈CDR		
LC CDR1	91	CAGGATGTGGGCACCGCT
LC CDR2	92	TGGGCCAGC
LC CDR3	86	CAGCAGTACAACAGCTACCCTCTGACC

【表7】.mAb可變區的胺基酸序列

SEQ ID NO	名稱	靶標	**Fv**	可變區的胺基酸序列
1	VhZu1	人 PSMA	Vh	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSG YTFT**EYTIH**WVQQAPGKGLEWMGN**IN PNNGGT**TYNQKFEDRVTITADTSTDT AYMELSSLRSEDTAVYYCAT**GWNFDY** WGQGTLVTVSS
2	VhZu2	人 PSMA	Vh	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKTSGY TFT**EYTIH**WVQQAPGKGLEWMGN**INP NNGGT**TYNQKFEDRVTITADTSTDTA YMELSSLRSEDTAVYYCAT**GWNFDY** WGQGTLVTVSS
3	VhZu3	人 PSMA	Vh	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSG YTFT**EYTIH**WVQQAPGKGLEWIGN**IN PNNGGT**TYNQKFEDRVTITADTSTDT AYMELSSLRSEDTAVYYCAT**GWNFDY** WGQGTLVTVSS

SEQ ID NO	名稱	靶標	Fv	可變區的胺基酸序列
4	VhZu4	人 PSMA	Vh	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSG YTFT**EYTIH**WVQQAPGKGLEWMGN**IN PNNGGT**TYNQKFEDRVTITVDTSTDT AYMELSSLRSEDTAVYYCAT**GWNFDY** WGQGTLVTVSS
5	VhZu5	人 PSMA	Vh	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSG YTFT**EYTIH**WVQQAPGKGLEWMGN**IN PNNGGT**TYNQKFEDRVTITADKSTDT AYMELSSLRSEDTAVYYCAT**GWNFDY** WGQGTLVTVSS
6	VhZu6	人 PSMA	Vh	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSG YTFT**EYTIH**WVQQAPGKGLEWMGN**IN PNNGGT**TYNQKFEDRVTITADTSTST AYMELSSLRSEDTAVYYCAT**GWNFDY** WGQGTLVTVSS
7	VhZu7	人 PSMA	Vh	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSG YTFT**EYTIH**WVQQAPGKGLEWMGN**IN PNNGGT**TYNQKFEDRVTITADTSTDT AYMELSSLRSEDTAVYYCAA**GWNFD Y**WGQGTLVTVSS
8	VhZu8	人 PSMA	Vh	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSG YTFT**EYTIH**WVQQAPGKGLEWIGN**IN PNNGGT**TYNQKFEDRVTITADTSTDT AYMELSSLRSEDTAVYYCAA**GWNFD Y**WGQGTLVTVSS
9	VhZu9	人 PSMA	Vh	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKTSGY TFT**EYTIH**WVQQAPGKGLEWIGN**INP NNGGT**TYNQKFEDRVTITADKSTSTA YMELSSLRSEDTAVYYCAA**GWNFDY** WGQGTLVTVSS
10	VhZu10	人 PSMA	Vh	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKTSGY TFT**EYTIH**WVQQAPGKGLEWIGN**INP NNGGT**TYNQKFEDRVTITADTSTDTA YMELSSLRSEDTAVYYCAA**GWNFDY** WGQGTLVTVSS
11	VhZu11	人 PSMA	Vh	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSG YTFT**EYTIH**WVQQAPGKGLEWMGN**IN PNNGGT**TYNQKFEGRVTITADTSTDT AYMELSSLRSEDTAVYYCAT**GWNFDY** WGQGTLVTVSS

SEQ ID NO	名稱	靶標	Fv	可變區的胺基酸序列
12	VhZu12	人 PSMA	Vh	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSG YTFT**EYTIH**WVQQAPGKGLEWMGN**IN PNNGGT**TYNQKFQGRVTITADTSTDT AYMELSSLRSEDTAVYYCAT**GWNFDY** WGQGTLVTVSS
13	VhZu13	人 PSMA	Vh	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSG YTFT**EYTIH**WVQQAPGKGLEWMGN**IN PNNGGT**TYNEKFQGRVTITADTSTDT AYMELSSLRSEDTAVYYCAT**GWNFDY** WGQGTLVTVSS
14	VhZu14	人 PSMA	Vh	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSG YTFT**EYTIH**WVQQAPGKGLEWMGN**IN PNNGGT**TYAEKFQGRVTITADTSTDT AYMELSSLRSEDTAVYYCAT**GWNFDY** WGQGTLVTVSS
15	VkZu1	人 PSMA	Vk	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**KASQ DVGTAVD**WYQQKPGKAPKLLIY**WAS TRHT**GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQP EDFATYYC**QQYNSYPLT**FGQGTKLEIK
16	VkZu2	人 PSMA	Vk	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQ DVGTAVD**WYQQKPGKAPKLLIY**WAS TRHT**GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQP EDFATYYC**QQYNSYPLT**FGQGTKLEIK
17	VkZu3	人 PSMA	Vk	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQ DVGTALN**WYQQKPGKAPKLLIY**WAS TRHT**GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQP EDFATYYC**QQYNSYPLT**FGQGTKLEIK
18	VkZu4	人 PSMA	Vk	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**KASQ DVGTAVD**WYQQKPGKAPKLLIY**WAS TRHS**GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQP EDFATYYC**QQYNSYPLT**FGQGTKLEIK
19	VkZu5	人 PSMA	Vk	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQ DVGTAVD**WYQQKPGKAPKLLIY**WAS TRHS**GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQP EDFATYYC**QQYNSYPLT**FGQGTKLEIK
20	VkZu6	人 PSMA	Vk	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQ DVGTALN**WYQQKPGKAPKLLIY**WAS TRHS**GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQP EDFATYYC**QQYNSYPLT**FGQGTKLEIK

SEQ ID NO	名稱	靶標	Fv	可變區的胺基酸序列
40	deJ591Vh	人PSMA	Vh	EVQLVQSGPEVKKPGATVKISCKTSGYTFT**EYTIH**WVKQAPGKGLEWIG**NINPNNGGTTYNQKFED**KATLTVDKSTDTAYMELSSLRSEDTAVYYC**AAGWNFDY**WGQGTLLTVSS
41	deJ591Vk	人PSMA	DIQMTQSPSSLSTSVGDRVTLTC**KASQDVGTAVD**WYQQKPGPSPKLLIY**WASTRHT**GIPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFADYYC**QQYNSYPLT**FGPGTKVDIK
72	J591 Vh	人PSMA	EVQLQQSGPELKKPGTSVRISCKTSGYTFTEYTIHWVKQSHGKSLEWIGNINPNNGGTTYNQKFEDKATLTVDKSSSTAYMELRSLTSEDSAVYYCAAGWNFDYWGQGTTLTVSS
73	J591 Vk	人PSMA	Vk	DIVMTQSHKFMSTSVGDRVSIICKASQDVGTAVDWYQQKPGQSPKLLIYWASTRHTGVPDRFTGSGSGTDFTLTTTNVQSEDLADYFCQQYNSYPLTFGAGTMLDLK

加粗的文本表示根據Kabat系統對應於CDR序列的胺基酸位置；帶底線的文本表示根據IMGT系統對應於CDR序列的胺基酸位置。既不加粗也不帶底線的文本對應於框架區。

【表8】.編碼mAb可變區的核酸序列

SEQ ID NO	名稱	靶標	Fv	可變區的核酸序列
93	VhZu1	人PSMA	Vh	GAAGTTCAACTTGTTCAGAGCGGAGCCGAAGTGAAGAAACCCGGCGCTACAGTGAAGATCAGCTGCAAGGTGTCCGGCTACACCTTCACCGAGTACACCATTCACTGGGTGCAGCAGGCCCCTGGCAAAGGACTGGAATGGATGGGCAACATCAACCCCAACAACGGCGGCACCACCTACAACCAGAAATTCGAGGACAGAGTGACCATCACCGCCGACACCAGCACCGATACAGCCTACATGGAACTGAGCAGCCTGAGAAGCGAGGACACCGCCGTGTATTATTGTGCCACCGGCTGGAACTTCGACTACTGGG

SEQ ID NO	名稱	靶標	Fv	可變區的核酸序列
				GACAGGGCACACTGGTCACCGTTAGCTCT
94	VhZu2	人PSMA	Vh	GAAGTTCAACTTGTTCAGAGCGGAGCCGAAGTGAAGAAACCCGGCGCTACAGTGAAGATCAGCTGCAAGACCTCCGGCTACACCTTCACCGAGTACACCATTCACTGGGTGCAGCAGGCCCCTGGCAAAGGACTGGAATGGATGGGCAACATCAACCCCAACAACGGCGGCACCACCTACAACCAGAAATTCGAGGACAGAGTGACCATCACCGCCGACACCAGCACCGATACAGCCTACATGGAACTGAGCAGCCTGAGAAGCGAGGACACCGCCGTGTATTATTGTGCCACCGGCTGGAACTTCGACTACTGGGGACAGGGCACACTGGTCACCGTTAGCTCT
95	VhZu3	人PSMA	Vh	GAAGTTCAACTTGTTCAGAGCGGAGCCGAAGTGAAGAAACCCGGCGCTACAGTGAAGATCAGCTGCAAGGTGTCCGGCTACACCTTCACCGAGTACACCATTCACTGGGTGCAGCAGGCCCCTGGCAAAGGACTGGAATGGATCGGCAACATCAACCCCAACAACGGCGGCACCACCTACAACCAGAAATTCGAGGACAGAGTGACCATCACCGCCGACACCAGCACCGATACAGCCTACATGGAACTGAGCAGCCTGAGAAGCGAGGACACCGCCGTGTATTATTGTGCCACCGGCTGGAACTTCGACTACTGGGGACAGGGCACACTGGTCACCGTTAGCTCT
96	VhZu4	人PSMA	Vh	GAAGTTCAACTTGTTCAGAGCGGAGCCGAAGTGAAGAAACCCGGCGCTACAGTGAAGATCAGCTGCAAGGTGTCCGGCTACACCTTCACCGAGTACACCATTCACTGGGTGCAGCAGGCCCCTGGCAAAGGACTGGAATGGATGGGCAACATCAACCCCAACAACGGCGGCACCACCTACAACCAGAAATTCGAGGACAGAGTGACCATCACCGTGGACACCAGCACCGATACAGCCTACATGGAACTGAGCAGCCTGAGAAGCGAGGACACCGCCGTGTATTATTGTG

SEQ ID NO	名稱	靶標	Fv	可變區的核酸序列
				CCACCGGCTGGAACTTCGACTACTGGG GACAGGGCACACTGGTCACCGTTAGCT CT
97	VhZu5	人 PSM A	Vh	GAAGTTCAACTTGTTCAGAGCGGAGCC GAAGTGAAGAAACCCGGCGCTACAGT GAAGATCAGCTGCAAGGTGTCCGGCT ACACCTTCACCGAGTACACCATTCACT GGGTGCAGCAGGCCCCTGGCAAAGGA CTGGAATGGATGGGCAACATCAACCC CAACAACGGCGGCACCACCTACAACC AGAAATTCGAGGACAGAGTGACCATC ACCGCCGACAAGAGCACCGATACAGC CTACATGGAACTGAGCAGCCTGAGAA GCGAGGACACCGCCGTGTATTATTGTG CCACCGGCTGGAACTTCGACTACTGGG GACAGGGCACACTGGTCACCGTTAGCT CT
98	VhZu6	人 PSM A	Vh	GAAGTTCAACTTGTTCAGAGCGGAGCC GAAGTGAAGAAACCCGGCGCTACAGT GAAGATCAGCTGCAAGGTGTCCGGCT ACACCTTCACCGAGTACACCATTCACT GGGTGCAGCAGGCCCCTGGCAAAGGA CTGGAATGGATGGGCAACATCAACCC CAACAACGGCGGCACCACCTACAACC AGAAATTCGAGGACAGAGTGACCATC ACCGCCGACACCAGCACCAGCACAGC CTACATGGAACTGAGCAGCCTGAGAA GCGAGGACACCGCCGTGTATTATTGTG CCACCGGCTGGAACTTCGACTACTGGG GACAGGGCACACTGGTCACCGTTAGCT CT
99	VhZu7	人 PSM A	Vh	GAAGTTCAACTTGTTCAGAGCGGAGCC GAAGTGAAGAAACCCGGCGCTACAGT GAAGATCAGCTGCAAGGTGTCCGGCT ACACCTTCACCGAGTACACCATTCACT GGGTGCAGCAGGCCCCTGGCAAAGGA CTGGAATGGATGGGCAACATCAACCC CAACAACGGCGGCACCACCTACAACC AGAAATTCGAGGACAGAGTGACCATC ACCGCCGACACCAGCACCGATACAGC CTACATGGAACTGAGCAGCCTGAGAA

SEQ ID NO	名稱	靶標	Fv	可變區的核酸序列
				GCGAGGACACCGCCGTGTATTATTGTG CCGCCGGCTGGAACTTCGACTACTGGG GACAGGGCACACTGGTCACCGTTAGCT CT
100	VhZu8	人 PSM A	Vh	GAAGTTCAACTTGTTCAGAGCGGAGCC GAAGTGAAGAAACCCGGCGCTACAGT GAAGATCAGCTGCAAGGTGTCCGGCT ACACCTTCACCGAGTACACCATTCACT GGGTGCAGCAGGCCCCTGGCAAAGGA CTGGAATGGATCGGCAACATCAACCC CAACAACGGCGGCACCACCTACAACC AGAAATTCGAGGACAGAGTGACCATC ACCGCCGACACCAGCACCGATACAGC CTACATGGAACTGAGCAGCCTGAGAA GCGAGGACACCGCCGTGTATTATTGTG CCGCCGGCTGGAACTTCGACTACTGGG GACAGGGCACACTGGTCACCGTTAGCT CT
101	VhZu9	人 PSM A	Vh	GAAGTTCAACTTGTTCAGAGCGGAGCC GAAGTGAAGAAACCCGGCGCTACAGT GAAGATCAGCTGCAAGACCTCCGGCT ACACCTTCACCGAGTACACCATTCACT GGGTGCAGCAGGCCCCTGGCAAAGGA CTGGAATGGATCGGCAACATCAACCC CAACAACGGCGGCACCACCTACAACC AGAAATTCGAGGACAGAGTGACCATC ACCGCCGACAAGAGCACCAGCACAGC CTACATGGAACTGAGCAGCCTGAGAA GCGAGGACACCGCCGTGTATTATTGTG CCGCCGGCTGGAACTTCGACTACTGGG GACAGGGCACACTGGTCACCGTTAGCT CT
102	VhZu10	人 PSM A	Vh	GAAGTTCAACTTGTTCAGAGCGGAGCC GAAGTGAAGAAACCCGGCGCTACAGT GAAGATCAGCTGCAAGACCTCCGGCT ACACCTTCACCGAGTACACCATTCACT GGGTGCAGCAGGCCCCTGGCAAAGGA CTGGAATGGATCGGCAACATCAACCC CAACAACGGCGGCACCACCTACAACC AGAAATTCGAGGACAGAGTGACCATC ACCGCCGACACCAGCACCGATACAGC

SEQ ID NO	名稱	靶標	Fv	可變區的核酸序列
				CTACATGGAACTGAGCAGCCTGAGAA GCGAGGACACCGCCGTGTATTATTGTG CCGCCGGCTGGAACTTCGACTACTGGG GACAGGGCACACTGGTCACCGTTAGCT CT
103	VhZu11	人 PSM A	Vh	GAAGTTCAACTTGTTCAGAGCGGAGCC GAAGTGAAGAAACCCGGCGCTACAGT GAAGATCAGCTGCAAGGTGTCCGGCT ACACCTTCACCGAGTACACCATTCACT GGGTGCAGCAGGCCCCTGGCAAAGGA CTGGAATGGATGGGCAACATCAACCC CAACAACGGCGGCACCACCTACAACC AGAAATTCGAGGGCAGAGTGACCATC ACCGCCGACACCAGCACCGATACAGC CTACATGGAACTGAGCAGCCTGAGAA GCGAGGACACCGCCGTGTATTATTGTG CCACCGGCTGGAACTTCGACTACTGGG GACAGGGCACACTGGTCACCGTTAGCT CT
104	VhZu12	人 PSM A	Vh	GAAGTTCAACTTGTTCAGAGCGGAGCC GAAGTGAAGAAACCCGGCGCTACAGT GAAGATCAGCTGCAAGGTGTCCGGCT ACACCTTCACCGAGTACACCATTCACT GGGTGCAGCAGGCCCCTGGCAAAGGA CTGGAATGGATGGGCAACATCAACCC CAACAACGGCGGCACCACCTACAACC AGAAATTCCAGGGCAGAGTGACCATC ACCGCCGACACCAGCACCGATACAGC CTACATGGAACTGAGCAGCCTGAGAA GCGAGGACACCGCCGTGTATTATTGTG CCACCGGCTGGAACTTCGACTACTGGG GACAGGGCACACTGGTCACCGTTAGCT CT
105	VhZu13	人 PSM A	Vh	GAAGTTCAACTTGTTCAGAGCGGAGCC GAAGTGAAGAAACCCGGCGCTACAGT GAAGATCAGCTGCAAGGTGTCCGGCT ACACCTTCACCGAGTACACCATTCACT GGGTGCAGCAGGCCCCTGGCAAAGGA CTGGAATGGATGGGCAACATCAACCC CAACAACGGCGGCACCACCTACAACG AAAAATTCCAGGGCAGAGTGACCATC

SEQ ID NO	名稱	靶標	Fv	可變區的核酸序列
				ACCGCCGACACCAGCACCGATACAGC CTACATGGAACTGAGCAGCCTGAGAA GCGAGGACACCGCCGTGTATTATTGTG CCACCGGCTGGAACTTCGACTACTGGG GACAGGGCACACTGGTCACCGTTAGCT CT
106	VhZu14	人 PSM A	Vh	GAAGTTCAACTTGTTCAGAGCGGAGCC GAAGTGAAGAAACCCGGCGCTACAGT GAAGATCAGCTGCAAGGTGTCCGGCT ACACCTTCACCGAGTACACCATTCACT GGGTGCAGCAGGCCCCTGGCAAAGGA CTGGAATGGATGGGCAACATCAACCC CAACAACGGCGGCACCACCTACGCCG AAAAATTCCAGGGCAGAGTGACCATC ACCGCCGACACCAGCACCGATACAGC CTACATGGAACTGAGCAGCCTGAGAA GCGAGGACACCGCCGTGTATTATTGTG CCACCGGCTGGAACTTCGACTACTGGG GACAGGGCACACTGGTCACCGTTAGCT CT
107	VkZu1	人 PSM A	Vk	GATATTCAGATGACACAGAGCCCTAG CAGCCTGAGCGCCTCTGTGGGCGATAG AGTGACAATCACATGCAAGGCCAGCC AGGATGTGGGCACCGCTGTTGACTGGT ATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGCCCCT AAGCTGCTGATCTACTGGGCCAGCACA AGACACACAGGCGTGCCAAGCAGATT TTCTGGCAGCGGCTCTGGCACCGACTT CACCCTGACCATTTCTAGCCTCCAGCC TGAGGACTTCGCCACCTACTACTGTCA GCAGTACAACAGCTACCCTCTGACCTT TGGCCAGGGCACCAAGCTGGAAATCA AA
108	VkZu2	人 PSM A	Vk	GATATTCAGATGACACAGAGCCCTAG CAGCCTGAGCGCCTCTGTGGGCGATAG AGTGACAATCACATGCAGAGCCAGCC AGGATGTGGGCACCGCTGTTGACTGGT ATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGCCCCT AAGCTGCTGATCTACTGGGCCAGCACA AGACACACAGGCGTGCCAAGCAGATT TTCTGGCAGCGGCTCTGGCACCGACTT

SEQ ID NO	名稱	靶標	Fv	可變區的核酸序列
				CACCCTGACCATTTCTAGCCTCCAGCC TGAGGACTTCGCCACCTACTACTGTCA GCAGTACAACAGCTACCCTCTGACCTT TGGCCAGGGCACCAAGCTGGAAATCA AA
109	VkZu3	人 PSM A	Vk	GATATTCAGATGACACAGAGCCCTAG CAGCCTGAGCGCCTCTGTGGGCGATAG AGTGACAATCACATGCAGAGCCAGCC AGGATGTGGGCACCGCTCTGAACTGGT ATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGCCCCT AAGCTGCTGATCTACTGGGCCAGCACA AGACACACAGGCGTGCCAAGCAGATT TTCTGGCAGCGGCTCTGGCACCGACTT CACCCTGACCATTTCTAGCCTCCAGCC TGAGGACTTCGCCACCTACTACTGTCA GCAGTACAACAGCTACCCTCTGACCTT TGGCCAGGGCACCAAGCTGGAAATCA AA
110	VkZu4	人 PSM A	Vk	GATATTCAGATGACACAGAGCCCTAG CAGCCTGAGCGCCTCTGTGGGCGATAG AGTGACAATCACATGCAAGGCCAGCC AGGATGTGGGCACCGCTGTTGACTGGT ATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGCCCCT AAGCTGCTGATCTACTGGGCCAGCACA AGACACAGCGGCGTGCCAAGCAGATT TTCTGGCAGCGGCTCTGGCACCGACTT CACCCTGACCATTTCTAGCCTCCAGCC TGAGGACTTCGCCACCTACTACTGTCA GCAGTACAACAGCTACCCTCTGACCTT TGGCCAGGGCACCAAGCTGGAAATCA AA
111	VkZu5	人 PSM A	Vk	GATATTCAGATGACACAGAGCCCTAG CAGCCTGAGCGCCTCTGTGGGCGATAG AGTGACAATCACATGCAGAGCCAGCC AGGATGTGGGCACCGCTGTTGACTGGT ATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGCCCCT AAGCTGCTGATCTACTGGGCCAGCACA AGACACAGCGGCGTGCCAAGCAGATT TTCTGGCAGCGGCTCTGGCACCGACTT CACCCTGACCATTTCTAGCCTCCAGCC TGAGGACTTCGCCACCTACTACTGTCA

SEQ ID NO	名稱	靶標	Fv	可變區的核酸序列
				GCAGTACAACAGCTACCCTCTGACCTTTGGCCAGGGCACCAAGCTGGAAATCAAA
112	VkZu6	人PSMA	Vk	GATATTCAGATGACACAGAGCCCTAGCAGCCTGAGCGCCTCTGTGGGCGATAGAGTGACAATCACATGCAGAGCCAGCCAGGATGTGGGCACCGCTCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGCCCCTAAGCTGCTGATCTACTGGGCCAGCACAAGACACAGCGGCGTGCCAAGCAGATTTTCTGGCAGCGGCTCTGGCACCGACTTCACCCTGACCATTTCTAGCCTCCAGCCTGAGGACTTCGCCACCTACTACTGTCAGCAGTACAACAGCTACCCTCTGACCTTTGGCCAGGGCACCAAGCTGGAAATCAAA
113	deJ591Vh	人PSMA	Vh	GAAGTTCAACTTGTGCAGAGCGGCCCTGAAGTGAAGAAACCTGGCGCTACCGTGAAGATCAGCTGCAAGACCAGCGGCTACACCTTCACCGAGTACACCATCCACTGGGTTAAGCAGGCCCCTGGCAAAGGCCTGGAATGGATCGGCAACATCAACCCCAACAACGGCGGCACCACCTACAACCAGAAGTTCGAGGATAAGGCCACACTGACCGTGGACAAGAGCACCGACACAGCCTACATGGAACTGAGCAGCCTGAGAAGCGAGGACACCGCCGTGTATTATTGTGCCGCCGGATGGAACTTCGACTACTGGGGACAGGGCACCCTGCTGACAGTCTCTTCT
114	deJ591Vk	人PSMA	Vk	GATATTCAGATGACACAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCACATCTGTGGGAGATAGAGTGACCCTGACCTGCAAGGCCTCTCAGGATGTGGGAACCGCCGTGGACTGGTATCAGCAGAAACCCGGACCTTCTCCAAAGCTGCTGATCTACTGGGCCAGCACCAGACACACAGGCATCCCTAGCAGATTTTCTGGCAGCGGCTCTGGCACCGACTTCACCCTGACCATTTCTAGCCTCCAGCCTGAGGACTTCGCCGACTACTACTGCCAGCAGTACAACAGCTACCCTCTGACATTC

SEQ ID NO	名稱	靶標	Fv	可變區的核酸序列
				GGCCCTGGCACCAAGGTGGACATCAAA
139	J591 Vh	人PSMA	Vh	GAAGTTCAACTTCAGCAGTCTGGCCCCGAGCTGAAGAAACCTGGAACAAGCGTGCGGATCAGCTGCAAGACCAGCGGCTACACCTTCACCGAGTACACCATCCACTGGGTCAAGCAGAGCCACGGCAAGTCTCTGGAATGGATCGGCAACATCAACCCCAACAACGGCGGCACCACCTACAACCAGAAGTTCGAGGATAAGGCCACACTGACCGTGGACAAGAGCAGCAGCACAGCCTACATGGAACTGAGAAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCGTGTATTATTGTGCCGCCGGATGGAACTTCGACTACTGGGGACAGGGCACAACCCTGACCGTTAGCTCT
140	J591 Vk	人PSMA	Vk	GATATTGTGATGACCCAGAGCCACAAGTTCATGAGCACCAGCGTGGGCGACAGAGTGTCCATCATCTGCAAGGCCTCTCAGGATGTGGGCACCGCCGTTGACTGGTATCAGCAGAAACCTGGACAGAGCCCCAAGCTGCTGATCTACTGGGCCTCTACAAGACACACAGGCGTGCCCGATAGATTCACAGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTTACCCTGACCATCACAAACGTGCAGAGCGAGGACCTGGCCGACTACTTCTGCCAGCAGTACAACAGCTACCCTCTGACCTTTGGAGCCGGCACCATGCTGGATCTTAAA

【表9】.全長mAb Ig鏈的胺基酸序列

SEQ ID NO	名稱	靶標	Ig鏈	全長mAb Ig鏈的胺基酸序列
47	zuJ591-H1	人PSMA	人IgG1	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGYTFT**EYTIH**WVQQAPGKGLEWMGN**INPNNGGTTYNQKFED**RVTITADTSTDTAYMELSSLRSEDTAVYYCAT**GWNFDY**WGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS

SEQ ID NO	名稱	靶標	Ig鏈	全長mAb Ig鏈的胺基酸序列
				GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKK VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
48	zuJ591-H2	人PSMA	人IgG1	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKTSGY TFT**EYTIH**WVQQAPGKGLEWMGN**INP** **NNGGT****TYNQKFED**RVTITADTSTDTA YMELSSLRSEDTAVYYCAT**GWNFDY** WGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKK VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
49	zuJ591-H3	人PSMA	人IgG1	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSG YTFT**EYTIH**WVQQAPGKGLEWIGN**IN** **PNNGGT****TYNQKFED**RVTITADTSTDT AYMELSSLRSEDTAVYYCAT**GWNFDY** WGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKK VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV

SEQ ID NO	名稱	靶標	Ig鏈	全長mAb Ig鏈的胺基酸序列
				YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
50	zuJ591-H4	人PSMA	人IgG1	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSG YTFT**EYTIH**WVQQAPGKGLEWMGN**IN** **PNNGGTTYNQKFED**RVTITVDTSTDT AYMELSSLRSEDTAVYYCAT**GWNFDY** WGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKK VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
51	zuJ591-H5	人PSMA	人IgG1	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSG YTFT**EYTIH**WVQQAPGKGLEWMGN**IN** **PNNGGTTYNQKFED**RVTITADKSTDT AYMELSSLRSEDTAVYYCAT**GWNFDY** WGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKK VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
52	zuJ591-H6	人PSMA	人IgG1	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSG YTFT**EYTIH**WVQQAPGKGLEWMGN**IN** **PNNGGTTYNQKFED**RVTITADTSTST

SEQ ID NO	名稱	靶標	Ig鏈	全長mAb Ig鏈的胺基酸序列
				AYMELSSLRSEDTAVYYCAT**GWNFDY** WGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKK VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
53	zuJ591-H7	人PSMA	人IgG1	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSG YTFT**EYTIH**WVQQAPGKGLEWMGN**IN** **PNNGGTTYNQKFED**RVTITADTSTDT AYMELSSLRSEDTAVYYCAA**GWNFD** **Y**WGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
54	zuJ591-H8	人PSMA	人IgG1	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSG YTFT**EYTIH**WVQQAPGKGLEWIGN**IN** **PNNGGTTYNQKFED**RVTITADTSTDT AYMELSSLRSEDTAVYYCAA**GWNFD** **Y**WGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS

SEQ ID NO	名稱	靶標	Ig鏈	全長mAb Ig鏈的胺基酸序列
				HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
55	zuJ591-H9	人PSMA	人IgG1	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKTSGY TFT**EYTIH**WVQQAPGKGLEWIGN**INP NNGGTTYNQKFED**RVTITADKSTSTA YMELSSLRSEDTAVYYCAA**GWNFDY** WGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKK VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
56	zuJ591-H10	人PSMA	人IgG1	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKTSGY TFT**EYTIH**WVQQAPGKGLEWIGN**INP NNGGTTYNQKFED**RVTITADTSTDTA YMELSSLRSEDTAVYYCAA**GWNFDY** WGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKK VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO	名稱	靶標	Ig鏈	全長mAb Ig鏈的胺基酸序列
57	zuJ591-H11	人PSMA	人IgG1	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSG YTFT**EYTIH**WVQQAPGKGLEWMGN**IN** **PNNGGTTYNQKFEG**RVTITADTSTDT AYMELSSLRSEDTAVYYCAT**GWNFDY** WGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKK VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
58	zuJ591-H12	人PSMA	人IgG1	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSG YTFT**EYTIH**WVQQAPGKGLEWMGN**IN** **PNNGGTTYNQKFQG**RVTITADTSTDT AYMELSSLRSEDTAVYYCAT**GWNFDY** WGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKK VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
59	zuJ591-H13	人PSMA	人IgG1	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSG YTFT**EYTIH**WVQQAPGKGLEWMGN**IN** **PNNGGTTYNEKFQG**RVTITADTSTDT AYMELSSLRSEDTAVYYCAT**GWNFDY** WGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT

SEQ ID NO	名稱	靶標	Ig鏈	全長mAb Ig鏈的胺基酸序列
				VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKK VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
60	zuJ591-H14	人PSMA	人IgG1	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSG YTFT**EYTIH**WVQQAPGKGLEWMGN**IN PNNGGT**TYAEKFQGRVTITADTSTDT AYMELSSLRSEDTAVYYCA**TGWNFDY** WGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKK VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
61	zuJ591-L1	人PSMA	人Igκ	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**KASQ DVGTAVD**WYQQKPGKAPKLLIY**WAS TRHT**GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQP EDFATYYC**QQYNSYPLT**FGQGTKLEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCL LNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE SVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
62	zuJ591-L2	人PSMA	人Igκ	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQ DVGTAVD**WYQQKPGKAPKLLIY**WAS TRHT**GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQP EDFATYYC**QQYNSYPLT**FGQGTKLEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCL LNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE

SEQ ID NO	名稱	靶標	Ig鏈	全長mAb Ig鏈的胺基酸序列
				SVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
63	zuJ591-L3	人PSMA	人Igκ	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQ DVGTALN**WYQQKPGKAPKLLIY**WAS TRHT**GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQP EDFATYYC**QQYNSYPLT**FGQGTKLEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCL LNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE SVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
64	zuJ591-L4	人PSMA	人Igκ	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**KASQ DVGTAVD**WYQQKPGKAPKLLIY**WAS TRHS**GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQP EDFATYYC**QQYNSYPLT**FGQGTKLEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCL LNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE SVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
65	zuJ591-L5	人PSMA	人Igκ	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQ DVGTAVD**WYQQKPGKAPKLLIY**WAS TRHS**GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQP EDFATYYC**QQYNSYPLT**FGQGTKLEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCL LNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE SVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
66	zuJ591-L6	人PSMA	人Igκ	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQ DVGTALN**WYQQKPGKAPKLLIY**WAS TRHS**GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQP EDFATYYC**QQYNSYPLT**FGQGTKLEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCL LNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE SVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO	名稱	靶標	Ig鏈	全長mAb Ig鏈的胺基酸序列
115	deJ591-HC	人PSMA	人IgG1	EVQLVQSGPEVKKPGATVKISCKTSGY TFT**EYTIH**WVKQAPGKGLEWIG**NINP NNGGTTYNQKFED**KATLTVDKSTDT AYMELSSLRSEDTAVYYC**AAGWNFD Y**WGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
116	deJ591-LC	人PSMA	人Igκ	DIQMTQSPSSLSTSVGDRVTLTC**KASQ DVGTAVD**WYQQKPGPSPKLLIY**WAST RHT**GIPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED FADYYC**QQYNSYPLT**FGPGTKVDIKR TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKH KVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

加粗的文本表示根據Kabat系統對應於CDR序列的胺基酸位置；帶底線的文本表示根據IMGT系統對應於CDR序列的胺基酸位置。既不加粗也不帶底線的文本對應於框架區。

【表10】.全長mAb Ig鏈的核酸序列

SEQ ID NO	名稱	靶標	Ig鏈	全長mAb Ig鏈的胺基酸序列
117	zuJ591-H1	人PSMA	人IgG1	GAAGTTCAACTTGTTCAGAGCGGAGC CGAAGTGAAGAAACCCGGCGCTACA GTGAAGATCAGCTGCAAGGTGTCCG GCTACACCTTCACCGAGTACACCATT CACTGGGTGCAGCAGGCCCCTGGCA AAGGACTGGAATGGATGGGCAACAT CAACCCCAACAACGGCGGCACCACC

SEQ ID NO	名稱	靶標	Ig鏈	全長mAb Ig鏈的胺基酸序列
				TACAACCAGAAATTCGAGGACAGAG TGACCATCACCGCCGACACCAGCACC GATACAGCCTACATGGAACTGAGCA GCCTGAGAAGCGAGGACACCGCCGT GTATTATTGTGCCACCGGCTGGAACT TCGACTACTGGGGACAGGGCACACT GGTCACCGTTAGCTCTGCATCCACCA AGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCA CCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGG CACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCA AGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACG GTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGAC CAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTG TCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCC CTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTC CAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACA TCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGC AACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTG AGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCAC ACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGA ACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCC TCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACC CTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGT CACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCC ACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTG CATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGG AGGAGCAGTACAACAGCACGTACCG TGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGC ACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGA GTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAA GCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAAC CATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCC CGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCC CCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAG AACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGT CAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCG CCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCA GCCGGAGAACAACTACAAGACCACG CCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTC CTTCTTCTTATATTCAAAGCTCACCGT GGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGG

SEQ ID NO	名稱	靶標	Ig鏈	全長mAb Ig鏈的胺基酸序列
				AACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCA TGAGGCTCTGCACAACCACTACACGC AGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCCGGG AAATGA
118	zuJ591-H2	人PSMA	人IgG1	GAAGTTCAACTTGTTCAGAGCGGAGC CGAAGTGAAGAAACCCGGCGCTACA GTGAAGATCAGCTGCAAGACCTCCG GCTACACCTTCACCGAGTACACCATT CACTGGGTGCAGCAGGCCCCTGGCA AAGGACTGGAATGGATGGGCAACAT CAACCCCAACAACGGCGGCACCACC TACAACCAGAAATTCGAGGACAGAG TGACCATCACCGCCGACACCAGCACC GATACAGCCTACATGGAACTGAGCA GCCTGAGAAGCGAGGACACCGCCGT GTATTATTGTGCCACCGGCTGGAACT TCGACTACTGGGGACAGGGCACACT GGTCACCGTTAGCTCTGCATCCACCA AGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCA CCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGG CACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCA AGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACG GTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGAC CAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTG TCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCC CTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTC CAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACA TCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGC AACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTG AGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCAC ACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGA ACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCC TCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACC CTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGT CACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCC ACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTG CATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGG AGGAGCAGTACAACAGCACGTACCG TGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGC ACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGA GTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAA

SEQ ID NO	名稱	靶標	Ig鏈	全長mAb Ig鏈的胺基酸序列
				GCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAAC CATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCC CGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCC CCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAG AACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGT CAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCG CCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCA GCCGGAGAACAACTACAAGACCACG CCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTC CTTCTTCTTATATTCAAAGCTCACCGT GGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGG AACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCA TGAGGCTCTGCACAACCACTACACGC AGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCCGGG AAATGA
119	zuJ591-H3	人PSMA	人IgG1	GAAGTTCAACTTGTTCAGAGCGGAGC CGAAGTGAAGAAACCCGGCGCTACA GTGAAGATCAGCTGCAAGGTGTCCG GCTACACCTTCACCGAGTACACCATT CACTGGGTGCAGCAGGCCCCTGGCA AAGGACTGGAATGGATCGGCAACAT CAACCCCAACAACGGCGGCACCACC TACAACCAGAAATTCGAGGACAGAG TGACCATCACCGCCGACACCAGCACC GATACAGCCTACATGGAACTGAGCA GCCTGAGAAGCGAGGACACCGCCGT GTATTATTGTGCCACCGGCTGGAACT TCGACTACTGGGGACAGGGCACACT GGTCACCGTTAGCTCTGCATCCACCA AGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCA CCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGG CACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCA AGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACG GTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGAC CAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTG TCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCC CTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTC CAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACA TCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGC AACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTG AGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCAC ACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGA

SEQ ID NO	名稱	靶標	Ig鏈	全長mAb Ig鏈的胺基酸序列
				ACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCC TCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACC CTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGT CACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCC ACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTG CATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGG AGGAGCAGTACAACAGCACGTACCG TGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGC ACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGA GTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAA GCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAAC CATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCC CGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCC CCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAG AACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGT CAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCG CCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCA GCCGGAGAACAACTACAAGACCACG CCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTC CTTCTTCTTATATTCAAAGCTCACCGT GGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGG AACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCA TGAGGCTCTGCACAACCACTACACGC AGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCCGGG AAATGA
120	zuJ591-H4	人PSMA	人IgG1	GAAGTTCAACTTGTTCAGAGCGGAGC CGAAGTGAAGAAACCCGGCGCTACA GTGAAGATCAGCTGCAAGGTGTCCG GCTACACCTTCACCGAGTACACCATT CACTGGGTGCAGCAGGCCCCTGGCA AAGGACTGGAATGGATGGGCAACAT CAACCCCAACAACGGCGGCACCACC TACAACCAGAAATTCGAGGACAGAG TGACCATCACCGTGGACACCAGCACC GATACAGCCTACATGGAACTGAGCA GCCTGAGAAGCGAGGACACCGCCGT GTATTATTGTGCCACCGGCTGGAACT TCGACTACTGGGGACAGGGCACACT GGTCACCGTTAGCTCTGCATCCACCA AGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCA CCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGG

SEQ ID NO	名稱	靶標	Ig鏈	全長mAb Ig鏈的胺基酸序列
				CACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCA AGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACG GTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGAC CAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTG TCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCC CTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTC CAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACA TCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGC AACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTG AGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCAC ACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGA ACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCC TCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACC CTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGT CACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCC ACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTG CATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGG AGGAGCAGTACAACAGCACGTACCG TGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGC ACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGA GTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAA GCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAAC CATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCC CGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCC CCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAG AACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGT CAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCG CCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCA GCCGGAGAACAACTACAAGACCACG CCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTC CTTCTTCTTATATTCAAAGCTCACCGT GGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGG AACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCA TGAGGCTCTGCACAACCACTACACGC AGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCCGGG AAATGA
121	zuJ591-H5	人PSMA	人IgG1	GAAGTTCAACTTGTTCAGAGCGGAGC CGAAGTGAAGAAACCCGGCGCTACA GTGAAGATCAGCTGCAAGGTGTCCG GCTACACCTTCACCGAGTACACCATT CACTGGGTGCAGCAGGCCCCTGGCA

SEQ ID NO	名稱	靶標	Ig鏈	全長mAb Ig鏈的胺基酸序列
				AAGGACTGGAATGGATGGGCAACAT CAACCCCAACAACGGCGGCACCACC TACAACCAGAAATTCGAGGACAGAG TGACCATCACCGCCGACAAGAGCAC CGATACAGCCTACATGGAACTGAGC AGCCTGAGAAGCGAGGACACCGCCG TGTATTATTGTGCCACCGGCTGGAAC TTCGACTACTGGGGACAGGGCACACT GGTCACCGTTAGCTCTGCATCCACCA AGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCA CCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGG CACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCA AGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACG GTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGAC CAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTG TCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCC CTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTC CAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACA TCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGC AACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTG AGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCAC ACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGA ACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCC TCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACC CTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGT CACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCC ACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTG CATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGG AGGAGCAGTACAACAGCACGTACCG TGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGC ACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGA GTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAA GCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAAC CATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCC CGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCC CCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAG AACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGT CAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCG CCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCA GCCGGAGAACAACTACAAGACCACG CCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTC

SEQ ID NO	名稱	靶標	Ig鏈	全長mAb Ig鏈的胺基酸序列
				CTTCTTCTTATATTCAAAGCTCACCGT GGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGG AACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCA TGAGGCTCTGCACAACCACTACACGC AGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCCGGG AAATGA
122	zuJ591-H6	人PSMA	人IgG1	GAAGTTCAACTTGTTCAGAGCGGAGC CGAAGTGAAGAAACCCGGCGCTACA GTGAAGATCAGCTGCAAGGTGTCCG GCTACACCTTCACCGAGTACACCATT CACTGGGTGCAGCAGGCCCCTGGCA AAGGACTGGAATGGATGGGCAACAT CAACCCCAACAACGGCGGCACCACC TACAACCAGAAATTCGAGGACAGAG TGACCATCACCGCCGACACCAGCACC AGCACAGCCTACATGGAACTGAGCA GCCTGAGAAGCGAGGACACCGCCGT GTATTATTGTGCCACCGGCTGGAACT TCGACTACTGGGGACAGGGCACACT GGTCACCGTTAGCTCTGCATCCACCA AGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCA CCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGG CACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCA AGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACG GTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGAC CAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTG TCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCC CTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTC CAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACA TCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGC AACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTG AGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCAC ACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGA ACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCC TCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACC CTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGT CACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCC ACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTG CATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGG AGGAGCAGTACAACAGCACGTACCG TGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGC

SEQ ID NO	名稱	靶標	Ig鏈	全長mAb Ig鏈的胺基酸序列
				ACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGA GTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAA GCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAAC CATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCC CGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCC CCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAG AACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGT CAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCG CCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCA GCCGGAGAACAACTACAAGACCACG CCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTC CTTCTTCTTATATTCAAAGCTCACCGT GGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGG AACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCA TGAGGCTCTGCACAACCACTACACGC AGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCCGGG AAATGA
123	zuJ591-H7	人PSMA	人IgG1	GAAGTTCAACTTGTTCAGAGCGGAGC CGAAGTGAAGAAACCCGGCGCTACA GTGAAGATCAGCTGCAAGGTGTCCG GCTACACCTTCACCGAGTACACCATT CACTGGGTGCAGCAGGCCCCTGGCA AAGGACTGGAATGGATGGGCAACAT CAACCCCAACAACGGCGGCACCACC TACAACCAGAAATTCGAGGACAGAG TGACCATCACCGCCGACACCAGCACC GATACAGCCTACATGGAACTGAGCA GCCTGAGAAGCGAGGACACCGCCGT GTATTATTGTGCCGCCGGCTGGAACT TCGACTACTGGGGACAGGGCACACT GGTCACCGTTAGCTCTGCATCCACCA AGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCA CCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGG CACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCA AGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACG GTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGAC CAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTG TCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCC CTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTC CAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACA TCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGC AACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTG

SEQ ID NO	名稱	靶標	Ig鏈	全長mAb Ig鏈的胺基酸序列
				AGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCAC ACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGA ACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCC TCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACC CTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGT CACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCC ACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTG CATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGG AGGAGCAGTACAACAGCACGTACCG TGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGC ACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGA GTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAA GCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAAC CATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCC CGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCC CCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAG AACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGT CAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCG CCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCA GCCGGAGAACAACTACAAGACCACG CCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTC CTTCTTCTTATATTCAAAGCTCACCGT GGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGG AACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCA TGAGGCTCTGCACAACCACTACACGC AGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCCGGG AAATGA
124	zuJ591-H8	人PSMA	人IgG1	GAAGTTCAACTTGTTCAGAGCGGAGC CGAAGTGAAGAAACCCGGCGCTACA GTGAAGATCAGCTGCAAGGTGTCCG GCTACACCTTCACCGAGTACACCATT CACTGGGTGCAGCAGGCCCCTGGCA AAGGACTGGAATGGATCGGCAACAT CAACCCCAACAACGGCGGCACCACC TACAACCAGAAATTCGAGGACAGAG TGACCATCACCGCCGACACCAGCACC GATACAGCCTACATGGAACTGAGCA GCCTGAGAAGCGAGGACACCGCCGT GTATTATTGTGCCGCCGGCTGGAACT TCGACTACTGGGGACAGGGCACACT GGTCACCGTTAGCTCTGCATCCACCA

SEQ ID NO	名稱	靶標	Ig鏈	全長mAb Ig鏈的胺基酸序列
				AGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCA CCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGG CACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCA AGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACG GTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGAC CAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTG TCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCC CTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTC CAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACA TCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGC AACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTG AGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCAC ACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGA ACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCC TCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACC CTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGT CACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCC ACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTG CATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGG AGGAGCAGTACAACAGCACGTACCG TGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGC ACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGA GTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAA GCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAAC CATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCC CGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCC CCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAG AACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGT CAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCG CCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCA GCCGGAGAACAACTACAAGACCACG CCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTC CTTCTTCTTATATTCAAAGCTCACCGT GGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGG AACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCA TGAGGCTCTGCACAACCACTACACGC AGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCCGGG AAATGA

SEQ ID NO	名稱	靶標	Ig鏈	全長mAb Ig鏈的胺基酸序列
125	zuJ591-H9	人PSMA	人IgG1	GAAGTTCAACTTGTTCAGAGCGGAGC CGAAGTGAAGAAACCCGGCGCTACA GTGAAGATCAGCTGCAAGACCTCCG GCTACACCTTCACCGAGTACACCATT CACTGGGTGCAGCAGGCCCCTGGCA AAGGACTGGAATGGATCGGCAACAT CAACCCCAACAACGGCGGCACCACC TACAACCAGAAATTCGAGGACAGAG TGACCATCACCGCCGACAAGAGCAC CAGCACAGCCTACATGGAACTGAGC AGCCTGAGAAGCGAGGACACCGCCG TGTATTATTGTGCCGCCGGCTGGAAC TTCGACTACTGGGGACAGGGCACACT GGTCACCGTTAGCTCTGCATCCACCA AGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCA CCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGG CACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCA AGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACG GTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGAC CAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTG TCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCC CTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTC CAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACA TCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGC AACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTG AGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCAC ACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGA ACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCC TCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACC CTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGT CACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCC ACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTG CATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGG AGGAGCAGTACAACAGCACGTACCG TGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGC ACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGA GTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAA GCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAAC CATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCC CGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCC CCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAG

SEQ ID NO	名稱	靶標	Ig鏈	全長mAb Ig鏈的胺基酸序列
				AACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGT CAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCG CCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCA GCCGGAGAACAACTACAAGACCACG CCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTC CTTCTTCTTATATTCAAAGCTCACCGT GGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGG AACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCA TGAGGCTCTGCACAACCACTACACGC AGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCCGGG AAATGA
126	zuJ591-H10	人PSMA	人IgG1	GAAGTTCAACTTGTTCAGAGCGGAGC CGAAGTGAAGAAACCCGGCGCTACA GTGAAGATCAGCTGCAAGACCTCCG GCTACACCTTCACCGAGTACACCATT CACTGGGTGCAGCAGGCCCCTGGCA AAGGACTGGAATGGATCGGCAACAT CAACCCCAACAACGGCGGCACCACC TACAACCAGAAATTCGAGGACAGAG TGACCATCACCGCCGACACCAGCACC GATACAGCCTACATGGAACTGAGCA GCCTGAGAAGCGAGGACACCGCCGT GTATTATTGTGCCGCCGGCTGGAACT TCGACTACTGGGGACAGGGCACACT GGTCACCGTTAGCTCTGCATCCACCA AGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCA CCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGG CACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCA AGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACG GTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGAC CAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTG TCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCC CTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTC CAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACA TCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGC AACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTG AGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCAC ACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGA ACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCC TCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACC CTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGT CACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCC

SEQ ID NO	名稱	靶標	Ig鏈	全長mAb Ig鏈的胺基酸序列
				ACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTG CATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGG AGGAGCAGTACAACAGCACGTACCG TGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGC ACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGA GTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAA GCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAAC CATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCC CGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCC CCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAG AACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGT CAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCG CCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCA GCCGGAGAACAACTACAAGACCACG CCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTC CTTCTTCTTATATTCAAAGCTCACCGT GGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGG AACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCA TGAGGCTCTGCACAACCACTACACGC AGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCCGGG AAATGA
127	zuJ591-H11	人PSMA	人IgG1	GAAGTTCAACTTGTTCAGAGCGGAGC CGAAGTGAAGAAACCCGGCGCTACA GTGAAGATCAGCTGCAAGGTGTCCG GCTACACCTTCACCGAGTACACCATT CACTGGGTGCAGCAGGCCCCTGGCA AAGGACTGGAATGGATGGGCAACAT CAACCCCAACAACGGCGGCACCACC TACAACCAGAAATTCGAGGGCAGAG TGACCATCACCGCCGACACCAGCACC GATACAGCCTACATGGAACTGAGCA GCCTGAGAAGCGAGGACACCGCCGT GTATTATTGTGCCACCGGCTGGAACT TCGACTACTGGGGACAGGGCACACT GGTCACCGTTAGCTCTGCATCCACCA AGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCA CCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGG CACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCA AGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACG GTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGAC CAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTG

SEQ ID NO	名稱	靶標	Ig鏈	全長mAb Ig鏈的胺基酸序列
				TCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCC CTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTC CAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACA TCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGC AACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTG AGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCAC ACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGA ACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCC TCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACC CTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGT CACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCC ACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTG CATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGG AGGAGCAGTACAACAGCACGTACCG TGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGC ACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGA GTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAA GCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAAC CATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCC CGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCC CCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAG AACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGT CAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCG CCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCA GCCGGAGAACAACTACAAGACCACG CCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTC CTTCTTCTTATATTCAAAGCTCACCGT GGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGG AACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCA TGAGGCTCTGCACAACCACTACACGC AGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCCGGG AAATGA
128	zuJ591-H12	人PSMA	人IgG1	GAAGTTCAACTTGTTCAGAGCGGAGC CGAAGTGAAGAAACCCGGCGCTACA GTGAAGATCAGCTGCAAGGTGTCCG GCTACACCTTCACCGAGTACACCATT CACTGGGTGCAGCAGGCCCCTGGCA AAGGACTGGAATGGATGGGCAACAT CAACCCCAACAACGGCGGCACCACC TACAACCAGAAATTCCAGGGCAGAG TGACCATCACCGCCGACACCAGCACC

SEQ ID NO	名稱	靶標	Ig鏈	全長mAb Ig鏈的胺基酸序列
				GATACAGCCTACATGGAACTGAGCA GCCTGAGAAGCGAGGACACCGCCGT GTATTATTGTGCCACCGGCTGGAACT TCGACTACTGGGGACAGGGCACACT GGTCACCGTTAGCTCTGCATCCACCA AGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCA CCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGG CACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCA AGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACG GTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGAC CAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTG TCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCC CTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTC CAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACA TCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGC AACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTG AGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCAC ACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGA ACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCC TCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACC CTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGT CACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCC ACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTG CATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGG AGGAGCAGTACAACAGCACGTACCG TGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGC ACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGA GTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAA GCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAAC CATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCC CGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCC CCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAG AACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGT CAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCG CCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCA GCCGGAGAACAACTACAAGACCACG CCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTC CTTCTTCTTATATTCAAAGCTCACCGT GGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGG AACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCA TGAGGCTCTGCACAACCACTACACGC

SEQ ID NO	名稱	靶標	Ig鏈	全長mAb Ig鏈的胺基酸序列
				AGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCCGGG AAATGA
129	zuJ591-H13	人PSMA	人IgG1	GAAGTTCAACTTGTTCAGAGCGGAGC CGAAGTGAAGAAACCCGGCGCTACA GTGAAGATCAGCTGCAAGGTGTCCG GCTACACCTTCACCGAGTACACCATT CACTGGGTGCAGCAGGCCCCTGGCA AAGGACTGGAATGGATGGGCAACAT CAACCCCAACAACGGCGGCACCACC TACAACGAAAAATTCCAGGGCAGAG TGACCATCACCGCCGACACCAGCACC GATACAGCCTACATGGAACTGAGCA GCCTGAGAAGCGAGGACACCGCCGT GTATTATTGTGCCACCGGCTGGAACT TCGACTACTGGGGACAGGGCACACT GGTCACCGTTAGCTCTGCATCCACCA AGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCA CCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGG CACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCA AGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACG GTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGAC CAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTG TCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCC CTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTC CAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACA TCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGC AACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTG AGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCAC ACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGA ACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCC TCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACC CTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGT CACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCC ACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTG CATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGG AGGAGCAGTACAACAGCACGTACCG TGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGC ACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGA GTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAA GCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAAC CATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCC

SEQ ID NO	名稱	靶標	Ig鏈	全長mAb Ig鏈的胺基酸序列
				CGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCC CCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAG AACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGT CAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCG CCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCA GCCGGAGAACAACTACAAGACCACG CCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTC CTTCTTCTTATATTCAAAGCTCACCGT GGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGG AACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCA TGAGGCTCTGCACAACCACTACACGC AGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCCGGG AAATGA
130	zuJ591-H14	人PSMA	人IgG1	GAAGTTCAACTTGTTCAGAGCGGAGC CGAAGTGAAGAAACCCGGCGCTACA GTGAAGATCAGCTGCAAGGTGTCCG GCTACACCTTCACCGAGTACACCATT CACTGGGTGCAGCAGGCCCCTGGCA AAGGACTGGAATGGATGGGCAACAT CAACCCCAACAACGGCGGCACCACC TACGCCGAAAAATTCCAGGGCAGAG TGACCATCACCGCCGACACCAGCACC GATACAGCCTACATGGAACTGAGCA GCCTGAGAAGCGAGGACACCGCCGT GTATTATTGTGCCACCGGCTGGAACT TCGACTACTGGGGACAGGGCACACT GGTCACCGTTAGCTCTGCATCCACCA AGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCA CCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGG CACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCA AGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACG GTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGAC CAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTG TCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCC CTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTC CAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACA TCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGC AACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTG AGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCAC ACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGA ACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCC TCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACC

SEQ ID NO	名稱	靶標	Ig鏈	全長mAb Ig鏈的胺基酸序列
				CTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGT CACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCC ACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTG CATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGG AGGAGCAGTACAACAGCACGTACCG TGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGC ACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGA GTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAA GCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAAC CATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCC CGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCC CCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAG AACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGT CAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCG CCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCA GCCGGAGAACAACTACAAGACCACG CCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTC CTTCTTCTTATATTCAAAGCTCACCGT GGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGG AACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCA TGAGGCTCTGCACAACCACTACACGC AGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCCGGG AAATGA
131	zuJ591-L1	人PSMA	人Igκ	GATATTCAGATGACACAGAGCCCTAG CAGCCTGAGCGCCTCTGTGGGCGATA GAGTGACAATCACATGCAAGGCCAG CCAGGATGTGGGCACCGCTGTTGACT GGTATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGC CCCTAAGCTGCTGATCTACTGGGCCA GCACAAGACACACAGGCGTGCCAAG CAGATTTTCTGGCAGCGGCTCTGGCA CCGACTTCACCCTGACCATTTCTAGC CTCCAGCCTGAGGACTTCGCCACCTA CTACTGTCAGCAGTACAACAGCTACC CTCTGACCTTTGGCCAGGGCACCAAG CTGGAAATCAAACGAACTGTGGCTGC ACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATC TGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTG CCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAAC TTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACA GTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAAT

SEQ ID NO	名稱	靶標	Ig鏈	全長mAb Ig鏈的胺基酸序列
				CGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCAC AGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACC TACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGCT GAGCAAAGCAGACTACGAGAAACAC AAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCA TCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAA AGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTG A
132	zuJ591-L2	人PSMA	人Igκ	GATATTCAGATGACACAGAGCCCTAG CAGCCTGAGCGCCTCTGTGGGCGATA GAGTGACAATCACATGCAGAGCCAG CCAGGATGTGGGCACCGCTGTTGACT GGTATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGC CCCTAAGCTGCTGATCTACTGGGCCA GCACAAGACACACAGGCGTGCCAAG CAGATTTTCTGGCAGCGGCTCTGGCA CCGACTTCACCCTGACCATTTCTAGC CTCCAGCCTGAGGACTTCGCCACCTA CTACTGTCAGCAGTACAACAGCTACC CTCTGACCTTTGGCCAGGGCACCAAG CTGGAAATCAAACGAACTGTGGCTGC ACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATC TGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTG CCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAAC TTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACA GTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAAT CGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCAC AGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACC TACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGCT GAGCAAAGCAGACTACGAGAAACAC AAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCA TCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAA AGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTG A
133	zuJ591-L3	人PSMA	人Igκ	GATATTCAGATGACACAGAGCCCTAG CAGCCTGAGCGCCTCTGTGGGCGATA GAGTGACAATCACATGCAGAGCCAG CCAGGATGTGGGCACCGCTCTGAACT GGTATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGC CCCTAAGCTGCTGATCTACTGGGCCA GCACAAGACACACAGGCGTGCCAAG

SEQ ID NO	名稱	靶標	Ig鏈	全長mAb Ig鏈的胺基酸序列
				CAGATTTTCTGGCAGCGGCTCTGGCA CCGACTTCACCCTGACCATTTCTAGC CTCCAGCCTGAGGACTTCGCCACCTA CTACTGTCAGCAGTACAACAGCTACC CTCTGACCTTTGGCCAGGGCACCAAG CTGGAAATCAAACGAACTGTGGCTGC ACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATC TGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTG CCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAAC TTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACA GTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAAT CGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCAC AGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACC TACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGCT GAGCAAAGCAGACTACGAGAAACAC AAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCA TCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAA AGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTG A
134	zuJ591-L4	人PSMA	人Igκ	GATATTCAGATGACACAGAGCCCTAG CAGCCTGAGCGCCTCTGTGGGCGATA GAGTGACAATCACATGCAAGGCCAG CCAGGATGTGGGCACCGCTGTTGACT GGTATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGC CCCTAAGCTGCTGATCTACTGGGCCA GCACAAGACACAGCGGCGTGCCAAG CAGATTTTCTGGCAGCGGCTCTGGCA CCGACTTCACCCTGACCATTTCTAGC CTCCAGCCTGAGGACTTCGCCACCTA CTACTGTCAGCAGTACAACAGCTACC CTCTGACCTTTGGCCAGGGCACCAAG CTGGAAATCAAACGAACTGTGGCTGC ACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATC TGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTG CCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAAC TTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACA GTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAAT CGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCAC AGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACC TACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGCT GAGCAAAGCAGACTACGAGAAACAC AAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCA

SEQ ID NO	名稱	靶標	Ig鏈	全長mAb Ig鏈的胺基酸序列
				TCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTGA
135	zuJ591-L5	人PSMA	人Igκ	GATATTCAGATGACACAGAGCCCTAGCAGCCTGAGCGCCTCTGTGGGCGATAGAGTGACAATCACATGCAGAGCCAGCCAGGATGTGGGCACCGCTGTTGACTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGCCCCTAAGCTGCTGATCTACTGGGCCAGCACAAGACACAGCGGCGTGCCAAGCAGATTTTCTGGCAGCGGCTCTGGCACCGACTTCACCCTGACCATTTCTAGCCTCCAGCCTGAGGACTTCGCCACCTACTACTGTCAGCAGTACAACAGCTACCCTCTGACCTTTGGCCAGGGCACCAAGCTGGAAATCAAACGAACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTGA
136	zuJ591-L6	人PSMA	人Igκ	GATATTCAGATGACACAGAGCCCTAGCAGCCTGAGCGCCTCTGTGGGCGATAGAGTGACAATCACATGCAGAGCCAGCCAGGATGTGGGCACCGCTCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGCCCCTAAGCTGCTGATCTACTGGGCCAGCACAAGACACAGCGGCGTGCCAAGCAGATTTTCTGGCAGCGGCTCTGGCACCGACTTCACCCTGACCATTTCTAGCCTCCAGCCTGAGGACTTCGCCACCTACTACTGTCAGCAGTACAACAGCTACCCTCTGACCTTTGGCCAGGGCACCAAG

SEQ ID NO	名稱	靶標	Ig鏈	全長mAb Ig鏈的胺基酸序列
				CTGGAAATCAAACGAACTGTGGCTGC ACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATC TGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTG CCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAAC TTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACA GTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAAT CGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCAC AGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACC TACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGCT GAGCAAAGCAGACTACGAGAAACAC AAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCA TCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAA AGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTG A
137	deJ591-HC	人PSMA	人IgG1	GAAGTTCAACTTGTGCAGAGCGGCCC TGAAGTGAAGAAACCTGGCGCTACC GTGAAGATCAGCTGCAAGACCAGCG GCTACACCTTCACCGAGTACACCATC CACTGGGTTAAGCAGGCCCCTGGCAA AGGCCTGGAATGGATCGGCAACATC AACCCCAACAACGGCGGCACCACCT ACAACCAGAAGTTCGAGGATAAGGC CACACTGACCGTGGACAAGAGCACC GACACAGCCTACATGGAACTGAGCA GCCTGAGAAGCGAGGACACCGCCGT GTATTATTGTGCCGCCGGATGGAACT TCGACTACTGGGGACAGGGCACCCTG CTGACAGTCTCTTCTGCATCCACCAA GGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCAC CCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGC ACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAA GGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGG TGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACC AGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGT CCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCC TCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCC AGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACAT CTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGC AACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTG AGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCAC ACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGA ACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCC

SEQ ID NO	名稱	靶標	Ig鏈	全長mAb Ig鏈的胺基酸序列
				TCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACC CTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGT CACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCC ACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTG CATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGG AGGAGCAGTACAACAGCACGTACCG TGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGC ACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGA GTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAA GCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAAC CATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCC CGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCC CCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAG AACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGT CAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCG CCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCA GCCGGAGAACAACTACAAGACCACG CCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTC CTTCTTCTTATATTCAAAGCTCACCGT GGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGG AACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCA TGAGGCTCTGCACAACCACTACACGC AGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCCGGG AAATGA
138	deJ591-LC	人PSMA	人Igκ	GATATTCAGATGACACAGAGCCCCA GCAGCCTGAGCACATCTGTGGGAGAT AGAGTGACCCTGACCTGCAAGGCCTC TCAGGATGTGGGAACCGCCGTGGACT GGTATCAGCAGAAACCCGGACCTTCT CCAAAGCTGCTGATCTACTGGGCCAG CACCAGACACACAGGCATCCCTAGC AGATTTTCTGGCAGCGGCTCTGGCAC CGACTTCACCCTGACCATTTCTAGCC TCCAGCCTGAGGACTTCGCCGACTAC TACTGCCAGCAGTACAACAGCTACCC TCTGACATTCGGCCCTGGCACCAAGG TGGACATCAAACGAACTGTGGCTGCA CCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCT GATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTGC CTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACT TCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACA

SEQ ID NO	名稱	靶標	Ig鏈	全長mAb Ig鏈的胺基酸序列
				GTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTGA

【0232】 與其他抗PSMA抗體（例如J591和/或deJ591）相比，由SEQ ID NO: 1-39和42-46提供的抗PSMA抗體或抗原結合片段可以提供改進的特性。在一些實施方式中，與其他抗PSMA抗體（例如J591和/或deJ591）相比，本文揭露的抗PSMA抗體或抗原結合片段具有優異的穩定性。在一些實施方式中，與其他抗PSMA抗體（例如J591和/或deJ591）相比，本文揭露的抗PSMA抗體或抗原結合片段具有更低的免疫原性。

【0233】 在一些實施方式中，重鏈可變結構域、輕鏈可變結構域、全長重鏈和全長輕鏈的序列可以「混合並匹配」以產生抗PSMA抗體的變體。可以使用本領域已知的結合測定（例如，ELISA和實例中描述的其他測定）來測試這樣的「混合並匹配的」抗PSMA抗體。在各個實施方式中，本文揭露的抗體可以包含上表中列出的任何重鏈和輕鏈可變結構域組，或來自重鏈和輕鏈組的六個CDR序列組。在一些實施方式中，抗體進一步包含人重鏈和輕鏈恒定結構域或其片段。在各個實施方式中，抗體可以包含上表中列出的任何全長重鏈和全長輕鏈序列組。在一些實施方式中，抗體可以包含人IgG重鏈恒定結構域和人κ輕鏈恒定結構域。在一些實施方式中，抗體可以包含人IgG1、IgG2、IgG3或IgG4重鏈恒定結構域。在各個實施方式中，本發明之抗體包含人免疫球蛋白

G亞型1（IgG1）重鏈恒定結構域和人Igκ輕鏈恒定結構域。在一些實施方式中，恒定結構域係人恒定結構域的經修飾的形式，例如，包含人IgG1重鏈恒定結構域的L234A、L235A、P238S、H268Q和/或K274Q修飾中的一個或多個。

【0234】在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 44的重鏈CDR2（HCDR2），其中SEQ ID NO: 44包含NINPNNGGTTYX^{1}X^{2}KFX^{3}X^4，如由Kabat編號系統所定義的。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 44中，X^{1}係A或N，X^{2}係E或Q，X^{3}係Q或E，且X^{4}係G或D。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 44中，X^{1}係A，X^{2}係E，X^{3}係Q，和/或X^{4}係G。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 44中，X^{1}係N，X^{2}係E，X^{3}係Q，和/或X^{4}係G。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 44中，X^{1}係N，X^{2}係Q，X^{3}係Q，和/或X^{4}係G。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 44中，X^{1}係N，X^{2}係Q，X^{3}係E，和/或X^{4}係G。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 44中，X^{1}係N，X^{2}係Q，X^{3}係E，和/或X^{4}係D。

【0235】在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 45的輕鏈CDR1（LCDR1），其中SEQ ID NO: 45包含X^{5}ASQDVGTAX^{6}X^7，如由Kabat編號系統所定義的。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 45中，X^{5}係R或K，X^{6}係V或L，X^{7}係D或N。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 45中，X^{5}係R，X^{6}係V，和/或X^{7}係D。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 45中，X^{5}係K，X^{6}係V，和/或X^{7}係D。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 45中，X^{5}係R，X^{6}係L，和/或X^{7}係N。

【0236】在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 46的輕鏈CDR2（LCDR2），其中SEQ ID NO: 46包含WASTRHX^8，如由Kabat編號系統所定義的。在一些實施方式中，在SEQ ID

NO: 46中，X^8係S或T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 46中，X^8係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 46中，X^8係T。

【0237】在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含如下的三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 21的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 44的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 27的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 45的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 46的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 44中，X^1係A，X^2係E，X^3係Q，和/或X^4係G。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 44中，X^1係N，X^2係E，X^3係Q，和/或X^4係G。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 44中，X^1係N，X^2係Q，X^3係Q，和/或X^4係G。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 44中，X^1係N，X^2係Q，X^3係E，和/或X^4係G。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 44中，X^1係N，X^2係Q，X^3係E，和/或X^4係D。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 45中，X^5係R，X^6係V，和/或X^7係D。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 45中，X^5係K，X^6係V，和/或X^7係D。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 45中，X^5係R，X^6係L，和/或X^7係N。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 46中，X^8係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 46中，X^8係T。

【0238】在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 44中，X^1係A，X^2係E，X^3係Q，且X^4係G；在SEQ ID NO: 45中，X^5係R，X^6係V，且X^7係D；並且在SEQ ID NO: 46中，X^8係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 44中，X^1係A，X^2係E，X^3係Q，且X^4係G；在SEQ ID NO: 45中，X^5係R，X^6係V，且X^7係D；並且在SEQ ID NO: 46中，X^8係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 44中，X^1係A，X^2係E，X^3係Q，且X^4係G；在SEQ ID NO: 45中，X^5係K，X^6係V，且X^7係D；

並且在SEQ ID NO: 46中，X^8係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 44中，X^1係A，X^2係E，X^3係Q，且X^4係G；在SEQ ID NO: 45中，X^5係K，X^6係V，且X^7係D；並且在SEQ ID NO: 46中，X^8係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 44中，X^1係A，X^2係E，X^3係Q，且X^4係G；在SEQ ID NO: 45中，X^5係R，X^6係L，且X^7係N；並且在SEQ ID NO: 46中，X^8係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 44中，X^1係A，X^2係E，X^3係Q，且X^4係G；在SEQ ID NO: 45中，X^5係R，X^6係L，且X^7係N；並且在SEQ ID NO: 46中，X^8係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 44中，X^1係N，X^2係E，X^3係Q，且X^4係G；在SEQ ID NO: 45中，X^5係R，X^6係V，且X^7係D；並且在SEQ ID NO: 46中，X^8係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 44中，X^1係N，X^2係E，X^3係Q，且X^4係G；在SEQ ID NO: 45中，X^5係R，X^6係V，且X^7係D；並且在SEQ ID NO: 46中，X^8係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 44中，X^1係N，X^2係E，X^3係Q，且X^4係G；在SEQ ID NO: 45中，X^5係K，X^6係V，且X^7係D；並且在SEQ ID NO: 46中，X^8係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 44中，X^1係N，X^2係E，X^3係Q，且X^4係G；在SEQ ID NO: 45中，X^5係K，X^6係V，且X^7係D；並且在SEQ ID NO: 46中，X^8係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 44中，X^1係N，X^2係E，X^3係Q，且X^4係G；在SEQ ID NO: 45中，X^5係R，X^6係L，且X^7係N；並且在SEQ ID NO: 46中，X^8係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 44中，X^1係N，X^2係E，X^3係Q，且X^4係G；在SEQ ID NO: 45中，X^5係R，X^6係L，且X^7係N；並且在SEQ ID NO: 46中，X^8係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 44中，X^1係N，X^2係Q，X^3係Q，且X^4係G；在SEQ ID NO: 45中，X^5係R，X^6係V，且X^7係D；並且在SEQ ID NO: 46中，X^8係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 44中，X^1係N，X^2係Q，X^3係Q，且X^4係G；在SEQ ID NO: 45中，X^5係R，X^6係V，且X^7係D；並且在SEQ ID NO: 46中，X^8係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO:

44中，X^1係N，X^2係Q，X^3係Q，且X^4係G；在SEQ ID NO: 45中，X^5係K，X^6係V，且X^7係D；並且在SEQ ID NO: 46中，X^8係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 44中，X^1係N，X^2係Q，X^3係Q，且X^4係G；在SEQ ID NO: 45中，X^5係K，X^6係V，且X^7係D；並且在SEQ ID NO: 46中，X^8係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 44中，X^1係N，X^2係Q，X^3係Q，且X^4係G；在SEQ ID NO: 45中，X^5係R，X^6係L，且X^7係N；並且在SEQ ID NO: 46中，X^8係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 44中，X^1係N，X^2係Q，X^3係Q，且X^4係G；在SEQ ID NO: 45中，X^5係R，X^6係L，且X^7係N；並且在SEQ ID NO: 46中，X^8係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 44中，X^1係N，X^2係Q，X^3係E，且X^4係G；在SEQ ID NO: 45中，X^5係R，X^6係V，且X^7係D；並且在SEQ ID NO: 46中，X^8係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 44中，X^1係N，X^2係Q，X^3係E，且X^4係G；在SEQ ID NO: 45中，X^5係R，X^6係V，且X^7係D；並且在SEQ ID NO: 46中，X^8係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 44中，X^1係N，X^2係Q，X^3係E，且X^4係G；在SEQ ID NO: 45中，X^5係K，X^6係V，且X^7係D；並且在SEQ ID NO: 46中，X^8係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 44中，X^1係N，X^2係Q，X^3係E，且X^4係G；在SEQ ID NO: 45中，X^5係K，X^6係V，且X^7係D；並且在SEQ ID NO: 46中，X^8係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 44中，X^1係N，X^2係Q，X^3係E，且X^4係G；在SEQ ID NO: 45中，X^5係R，X^6係L，且X^7係N；並且在SEQ ID NO: 46中，X^8係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 44中，X^1係N，X^2係Q，X^3係E，且X^4係G；在SEQ ID NO: 45中，X^5係R，X^6係L，且X^7係N；並且在SEQ ID NO: 46中，X^8係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 44中，X^1係N，X^2係Q，X^3係E，且X^4係D；在SEQ ID NO: 45中，X^5係R，X^6係V，且X^7係D；並且在SEQ ID NO: 46中，X^8係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 44中，X^1係N，X^2係Q，X^3係E，且X^4係D；在SEQ ID NO: 45

中，X^5係R，X^6係V，且X^7係D；並且在SEQ ID NO: 46中，X^8係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 44中，X^1係N，X^2係Q，X^3係E，且X^4係D；在SEQ ID NO: 45中，X^5係K，X^6係V，且X^7係D；並且在SEQ ID NO: 46中，X^8係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 44中，X^1係N，X^2係Q，X^3係E，且X^4係D；在SEQ ID NO: 45中，X^5係R，X^6係L，且X^7係N；並且在SEQ ID NO: 46中，X^8係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 44中，X^1係N，X^2係Q，X^3係E，且X^4係D；在SEQ ID NO: 45中，X^5係R，X^6係L，且X^7係N；並且在SEQ ID NO: 46中，X^8係T。

【0239】 在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含如下的三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 21的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 22的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 27的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 34的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 35的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的。

【0240】 在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含如下的三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 21的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 23的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 27的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 34的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 35的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的。

【0241】 在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含如下的三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 21的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 24的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 27的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 34的輕鏈CDR1（LCDR1）、包

含SEQ ID NO: 35的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的。

【0242】在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含如下的三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 21的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 25的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 27的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 34的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 35的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的。

【0243】在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含如下的三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 21的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 26的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 27的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 34的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 35的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的。

【0244】在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含如下的三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 21的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 22的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 27的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 32的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 35的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的。

【0245】在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含如下的三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 21的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 23的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 27的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 32的輕鏈CDR1（LCDR1）、包

含SEQ ID NO: 35的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的。

【0246】在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含如下的三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 21的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 24的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 27的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 32的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 35的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的。

【0247】在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含如下的三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 21的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 25的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 27的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 32的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 35的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的。

【0248】在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含如下的三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 21的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 26的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 27的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 32的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 35的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的。

【0249】在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含如下的三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 21的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 22的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 27的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 33的輕鏈CDR1（LCDR1）、包

含SEQ ID NO: 35的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的。

【0250】在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含如下的三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 21的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 23的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 27的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 33的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 35的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的。

【0251】在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含如下的三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 21的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 24的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 27的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 33的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 35的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的。

【0252】在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含如下的三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 21的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 25的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 27的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 33的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 35的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的。

【0253】在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含如下的三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 21的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 26的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 27的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 33的輕鏈CDR1（LCDR1）、包

含SEQ ID NO: 35的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的。

【0254】在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含如下的三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 21的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 22的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 27的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 34的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 36的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的。

【0255】在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含如下的三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 21的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 23的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 27的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 34的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 36的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的。

【0256】在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含如下的三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 21的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 24的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 27的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 34的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 36的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的。

【0257】在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含如下的三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 21的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 25的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 27的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 34的輕鏈CDR1（LCDR1）、包

含SEQ ID NO: 36的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的。

【0258】在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含如下的三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 21的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 26的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 27的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 34的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 36的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的。

【0259】在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含如下的三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 21的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 22的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 27的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 32的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 36的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的。

【0260】在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含如下的三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 21的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 23的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 27的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 32的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 36的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的。

【0261】在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含如下的三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 21的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 24的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 27的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 32的輕鏈CDR1（LCDR1）、包

含SEQ ID NO: 36的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的。

【0262】在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含如下的三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 21的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 25的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 27的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 32的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 36的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的。

【0263】在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含如下的三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 21的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 26的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 27的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 32的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 36的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的。

【0264】在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含如下的三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 21的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 22的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 27的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 33的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 36的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的。

【0265】在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含如下的三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 21的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 23的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 27的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 33的輕鏈CDR1（LCDR1）、包

含SEQ ID NO: 36的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的。

【0266】在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含如下的三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 21的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 24的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 27的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 33的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 36的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的。

【0267】在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含如下的三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 21的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 25的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 27的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 33的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 36的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的。

【0268】在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含如下的三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 28的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 29的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 30的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 38的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 39的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由IMGT編號系統所定義的（國際免疫遺傳學資訊系統（IMGT®））。

【0269】在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含如下的三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 28的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 29的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO:

31的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 38的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 39的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由IMGT編號系統所定義的。

【0270】在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含SEQ ID NO: 42的重鏈可變區，其中SEQ ID NO: 42包含胺基酸序列：

EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKX^{9}SGYTFTEYTIHWVQQAPGKGLEW X^{10}GNINPNNGGTTYX^{11}X^{12}KFX^{13}X^{14}RVTITX^{15}DX^{16}STX^{17}TAYMELSSLRSEDT AVYYCAX^{18}GWNFDYWGQGTLLTVSS

其中X^{9}係V或T，X^{10}係M或I，X^{11}係A或N，X^{12}係E或Q，X^{13}係Q或E，X^{14}係G或D，X^{15}係A或V，X^{16}係T或K，X^{17}係D或S，且X^{18}係T或A。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含SEQ ID NO: 43的輕鏈可變區，其中SEQ ID NO: 43包含胺基酸序列：

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCX^{19}ASQDVGTAX^{20}X^{21}WYQQKPGKAPK LLIYWASTRHX^{22}GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYNSYPLTF GQGTKLEIK

其中X^{19}係R或K，X^{20}係L或V，X^{21}係N或D，且X^{22}係S或T。在一些實施方式中，抗體或抗原結合片段包含SEQ ID NO: 42的重鏈可變區和SEQ ID NO: 43的輕鏈可變區，其中X^{9}係V或T，X^{10}係M或I，X^{11}係A或N，X^{12}係E或Q，X^{13}係Q或E，X^{14}係G或D，X^{15}係A或V，X^{16}係T或K，X^{17}係D或S，X^{18}係T或A，X^{19}係R或K，X^{20}係L或V，X^{21}係N或D，且X^{22}係S或T。

【0271】在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係V，X^{10}係M，X^{11}係A，X^{12}係E，X^{13}係Q，X^{14}係G，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，和/或X^{18}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係E，X^{13}係Q，X^{14}係G，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，和/或X^{18}係T。在一些實施方式

中，在SEQ ID NO: 42中，X^9係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係Q，X^{14}係G，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，和/或X^{18}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^9係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係G，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，和/或X^{18}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^9係T，X^{10}係I，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，和/或X^{18}係A。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^9係T，X^{10}係I，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係K，X^{17}係S，和/或X^{18}係A。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^9係V，X^{10}係I，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係K，X^{17}係D，和/或X^{18}係A。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^9係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係K，X^{17}係D，和/或X^{18}係A。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^9係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係S，和/或X^{18}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^9係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係K，X^{17}係D，和/或X^{18}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^9係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係V，X^{16}係T，X^{17}係D，和/或X^{18}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^9係V，X^{10}係I，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，和/或X^{18}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^9係T，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，和/或X^{18}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^9係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，和/或X^{18}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係K，X^{20}係V，X^{21}係D，和/或X^{22}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係V，X^{21}係D，和/或X^{22}係T。在一些實施方式中，在

SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係L，X^{21}係N，和/或X^{22}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係K，X^{20}係V，X^{21}係D，和/或X^{22}係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係V，X^{21}係D，和/或X^{22}係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係L，X^{21}係N，和/或X^{22}係S。

【0272】在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係V，X^{10}係M，X^{11}係A，X^{12}係E，X^{13}係Q，X^{14}係G，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係K，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係V，X^{10}係M，X^{11}係A，X^{12}係E，X^{13}係Q，X^{14}係G，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係V，X^{10}係M，X^{11}係A，X^{12}係E，X^{13}係Q，X^{14}係G，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係L，X^{21}係N，且X^{22}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係V，X^{10}係M，X^{11}係A，X^{12}係E，X^{13}係Q，X^{14}係G，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係K，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係V，X^{10}係M，X^{11}係A，X^{12}係E，X^{13}係Q，X^{14}係G，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係V，X^{10}係M，X^{11}係A，X^{12}係E，X^{13}係Q，X^{14}係G，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係L，X^{21}係N，且X^{22}係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係E，X^{13}係Q，X^{14}係G，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係K，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42

中，X^9係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係E，X^{13}係Q，X^{14}係G，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^9係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係E，X^{13}係Q，X^{14}係G，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係L，X^{21}係N，且X^{22}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^9係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係E，X^{13}係Q，X^{14}係G，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係K，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^9係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係E，X^{13}係Q，X^{14}係G，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^9係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係E，X^{13}係Q，X^{14}係G，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係L，X^{21}係N，且X^{22}係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^9係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係Q，X^{14}係G，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係K，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^9係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係Q，X^{14}係G，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^9係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係Q，X^{14}係G，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係L，X^{21}係N，且X^{22}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^9係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係Q，X^{14}係G，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係K，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^9係V，X^{10}係M，X^{11}係

N，X^{12}係Q，X^{13}係Q，X^{14}係G，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係Q，X^{14}係G，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係L，X^{21}係N，且X^{22}係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係G，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係K，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係G，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係G，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係L，X^{21}係N，且X^{22}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係G，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係K，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係G，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係G，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係L，X^{21}係N，且X^{22}係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係T，X^{10}係I，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係A，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係K，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係T，X^{10}係I，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係

A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係A，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係T，X^{10}係I，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係A，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係L，X^{21}係N，且X^{22}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係T，X^{10}係I，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係A，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係K，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係T，X^{10}係I，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係A，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係T，X^{10}係I，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係A，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係L，X^{21}係N，且X^{22}係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係T，X^{10}係I，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係K，X^{17}係S，且X^{18}係A，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係K，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係T，X^{10}係I，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係K，X^{17}係S，且X^{18}係A，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係T，X^{10}係I，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係K，X^{17}係S，且X^{18}係A，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係L，X^{21}係N，且X^{22}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係T，X^{10}係I，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係K，X^{17}係S，且X^{18}係A，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係K，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係T，X^{10}係I，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係K，X^{17}係S，且X^{18}係A，並且在SEQ ID NO:

43中，X^{19}係R，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係T，X^{10}係I，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係K，X^{17}係S，且X^{18}係A，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係L，X^{21}係N，且X^{22}係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係V，X^{10}係I，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係K，X^{17}係D，且X^{18}係A，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係K，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係V，X^{10}係I，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係K，X^{17}係D，且X^{18}係A，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係V，X^{10}係I，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係K，X^{17}係D，且X^{18}係A，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係L，X^{21}係N，且X^{22}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係V，X^{10}係I，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係K，X^{17}係D，且X^{18}係A，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係K，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係V，X^{10}係I，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係K，X^{17}係D，且X^{18}係A，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係V，X^{10}係I，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係K，X^{17}係D，且X^{18}係A，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係L，X^{21}係N，且X^{22}係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係K，X^{17}係D，且X^{18}係A，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係K，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係K，X^{17}係D，且X^{18}係A，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}

係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^9係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係K，X^{17}係D，且X^{18}係A，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係L，X^{21}係N，且X^{22}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^9係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係K，X^{17}係D，且X^{18}係A，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係K，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^9係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係K，X^{17}係D，且X^{18}係A，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^9係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係K，X^{17}係D，且X^{18}係A，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係L，X^{21}係N，且X^{22}係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^9係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係S，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係K，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^9係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係S，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^9係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係S，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係L，X^{21}係N，且X^{22}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^9係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係S，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係K，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^9係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係S，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係S。在一些實施方式中，在SEQ

ID NO: 42中，X^9係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係S，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係L，X^{21}係N，且X^{22}係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^9係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係K，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係K，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^9係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係K，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^9係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係K，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係L，X^{21}係N，且X^{22}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^9係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係K，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係K，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^9係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係K，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^9係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係K，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係L，X^{21}係N，且X^{22}係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^9係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係V，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係K，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^9係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係V，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^9係V，X^{10}係

M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係V，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係L，X^{21}係N，且X^{22}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係V，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係K，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係V，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係V，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係L，X^{21}係N，且X^{22}係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係V，X^{10}係I，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係K，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係V，X^{10}係I，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係V，X^{10}係I，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係L，X^{21}係N，且X^{22}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係V，X^{10}係I，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係K，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係V，X^{10}係I，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係V，X^{10}係I，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係

D，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係L，X^{21}係N，且X^{22}係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係T，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係K，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係T，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係T，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係L，X^{21}係N，且X^{22}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係T，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係K，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係T，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係T，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係L，X^{21}係N，且X^{22}係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係K，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，

且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係L，X^{21}係N，且X^{22}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係K，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係L，X^{21}係N，且X^{22}係S。

【0273】在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 1的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 15的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 1的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 16的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 1的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 17的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 1的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 18的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 1的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 19的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 1的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 20的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 2的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 15的胺基酸序列的輕鏈可變

區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 2的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 16的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 2的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 17的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 2的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 18的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 2的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 19的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 2的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 20的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 3的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 15的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 3的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 16的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 3的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 17的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 3的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 18的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 3的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 19的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 3的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 20的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體

或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 4的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 15的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 4的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 16的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 4的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 17的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 4的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 18的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 4的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 19的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 4的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 20的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 5的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 15的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 5的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 16的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 5的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 17的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 5的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 18的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 5的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 19的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 5的胺基

酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 20的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 6的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 15的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 6的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 16的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 6的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 17的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 6的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 18的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 6的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 19的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 6的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 20的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 7的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 15的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 7的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 16的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 7的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 17的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 7的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 18的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 7的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 19的胺基

酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 7的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 20的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 8的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 15的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 8的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 16的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 8的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 17的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 8的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 18的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 8的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 19的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 8的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 20的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 9的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 15的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 9的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 16的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 9的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 17的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 9的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 18的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文

提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 9的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 19的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 9的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 20的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 10的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 15的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 10的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 16的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 10的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 17的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 10的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 18的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 10的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 19的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 10的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 20的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 11的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 15的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 11的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 16的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 11的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 17的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片

段包含含有SEQ ID NO: 11的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 18的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 11的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 19的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 11的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 20的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 12的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 15的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 12的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 16的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 12的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 17的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 12的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 18的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 12的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 19的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 12的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 20的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 13的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 15的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 13的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 16的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 13的胺基

酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 17的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 13的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 18的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 13的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 19的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 13的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 20的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 14的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 15的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 14的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 16的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 14的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 17的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 14的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 18的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 14的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 19的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 14的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 20的胺基酸序列的輕鏈可變區。

【0274】在一些實施方式中，抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 7的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 15的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有

SEQ ID NO: 8的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 15的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 9的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 15的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 10的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 15的胺基酸序列的輕鏈可變區。

【0275】 在一些實施方式中，抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 1的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 15的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 2的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 15的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 3的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 15的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 14的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 15的胺基酸序列的輕鏈可變區。

【0276】 在一些實施方式中，抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 14的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 19的胺基酸序列的輕鏈可變區。

【0277】 在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含重鏈可變區，其與SEQ ID NO: 1具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、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%、或至少99%同一性。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含重鏈可變區，其與SEQ ID NO: 2具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、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%、或至少99%同一性。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含重鏈可變區，其與SEQ ID NO: 3具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、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%、或至少99%同一性。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含重鏈可變區，其與SEQ ID NO: 14具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、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%、或至少99%同一性。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含輕鏈可變區，其與SEQ ID NO: 15具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、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%、或至少99%同一性。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含輕鏈可變區，其與SEQ ID NO: 19具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、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%、或至少99%同一性。

【0278】 在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含重鏈可變區，其與SEQ ID NO: 40具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、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%、或至少99%同一性（即，與SEQ ID NO: 40不具有100%同一性），其中與其他抗PSMA抗體（例如J591和/或deJ591）相比，該抗PSMA抗體或抗原結合片段提供了改進的特性。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含輕鏈可變區，其與SEQ ID NO: 41具有至少至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少

89%、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%、或至少99%同一性（即，與SEQ ID NO: 41不具有100%同一性），其中與其他抗PSMA抗體（例如J591和/或deJ591）相比，該抗PSMA抗體或抗原結合片段提供了改進的特性。在一些實施方式中，抗PSMA抗體或抗原結合片段包含與SEQ ID NO: 40具有至少86%同一性的重鏈可變區以及與SEQ ID NO: 41具有至少87%同一性的輕鏈可變區（但與任一可變區不具有100%同一性），其中與其他抗PSMA抗體（例如J591和/或deJ591）相比，該抗PSMA抗體或抗原結合片段提供了改進的特性。改進的特性可包括優異的穩定性和/或更低的免疫原性。

【0279】在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含重鏈可變區，其與SEQ ID NO: 40具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、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%、或至少99%同一性，其中該抗PSMA抗體或抗原結合片段至少包含以下不同於SEQ ID NO: 40的胺基酸：

相對於SEQ ID NO: 40的位置	**胺基酸**
9	A
38	Q
67	R
68	V
70	I
111	V

其中與其他抗PSMA抗體（例如J591和/或deJ591）相比，該抗PSMA抗體或抗原結合片段提供了改進的特性。改進的特性可包括優異的穩定性和/或更低的免疫原性。相對於SEQ ID NO: 40的位置藉由將抗PSMA抗體或抗原結合片段

的重鏈可變區與SEQ ID NO: 40進行比對，視需要使用BLAST演算法，然後從經比對的序列的N末端開始計數胺基酸位置來確定。

【0280】 在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含輕鏈可變區，其與SEQ ID NO: 41具有至少至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、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%、或至少99%同一性，其中該抗PSMA抗體或抗原結合片段至少包含以下不同於SEQ ID NO: 41的胺基酸：

相對於SEQ ID NO: 41的位置	**胺基酸**
13	A
21	I
42	K
43	A
58	V
85	T
100	Q
104	L
105	E

其中與其他抗PSMA抗體（例如J591和/或deJ591）相比，該抗PSMA抗體或抗原結合片段提供了改進的特性。改進的特性可包括優異的穩定性和/或更低的免疫原性。相對於SEQ ID NO: 41的位置藉由將抗PSMA抗體或抗原結合片段的重鏈可變區與SEQ ID NO: 41進行比對，視需要使用BLAST演算法，然後從經比對的序列的N末端開始計數胺基酸位置來確定。

【0281】 在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含重鏈可變區，其與SEQ ID NO: 42具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、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%、或至少99%同一性，其中與其他抗

PSMA抗體（例如J591和/或deJ591）相比，該抗PSMA抗體或抗原結合片段提供了改進的特性。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含輕鏈可變區，其與SEQ ID NO: 43具有至少至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、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%、或至少99%同一性，其中與其他抗PSMA抗體（例如J591和/或deJ591）相比，該抗PSMA抗體或抗原結合片段提供了改進的特性。抗PSMA抗體或抗原結合片段不包含與SEQ ID NO: 40具有100%同一性的重鏈可變區以及與SEQ ID NO: 41具有100%同一性的輕鏈可變區。改進的特性可包括優異的穩定性和/或更低的免疫原性。

【0282】 在各個實施方式中，本文揭露的任一抗PSMA抗體可以包含人IgG1 Fc結構域。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含人IgG1 Fc結構域，與具有野生型IgG1 Fc結構域的含IgG1 Fc的抗體相比，該人IgG1 Fc結構域被修飾以減少與FcγR的結合。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含突變的人IgG1 Fc結構域，其包含對人IgG1重鏈恒定結構域的L234A、L235A、P238S、H268Q和K274Q修飾中的一個或多個（例如全部）。

【0283】 在各個實施方式中，抗PSMA抗體包含人Igκ輕鏈恒定區。在各個實施方式中，抗PSMA抗體包含人Igλ輕鏈恒定區。

【0284】 在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體包含含有選自SEQ ID NO: 47-60的胺基酸序列的重鏈和含有選自SEQ ID NO: 61-66的胺基酸序列的輕鏈。

【0285】 在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 47的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 61的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 47的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 62的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 47的重鏈胺基酸序列和SEQ

ID NO: 63的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 47的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 64的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 47的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 65的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 47的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 66的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 48的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 61的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 48的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 62的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 48的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 63的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 48的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 64的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 48的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 65的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 48的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 66的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 49的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 61的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 49的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 62的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 49的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 63的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 49的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 64的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 49的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 65的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 49的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 66的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 50的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 61的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 50的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 62的輕

鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 50的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 63的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 50的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 64的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 50的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 65的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 50的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 66的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 51的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 61的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 51的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 62的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 51的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 63的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 51的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 64的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 51的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 65的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 51的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 66的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 52的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 61的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 52的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 62的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 52的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 63的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 52的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 64的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 52的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 65的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 52的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 66的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 53的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 61的輕鏈胺基酸序列。

在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 53的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 62的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 53的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 63的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 53的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 64的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 53的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 65的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 53的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 66的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 54的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 61的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 54的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 62的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 54的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 63的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 54的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 64的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 54的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 65的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 54的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 66的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 55的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 61的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 55的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 62的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 55的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 63的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 55的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 64的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 55的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 65的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 55的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 66的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式

中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 56的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 61的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 56的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 62的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 56的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 63的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 56的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 64的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 56的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 65的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 56的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 66的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 57的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 61的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 57的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 62的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 57的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 63的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 57的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 64的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 57的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 65的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 57的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 66的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 58的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 61的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 58的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 62的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 58的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 63的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 58的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 64的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 58的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 65的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗

體包含SEQ ID NO: 58的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 66的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 59的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 61的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 59的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 62的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 59的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 63的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 59的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 64的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 59的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 65的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 59的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 66的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 60的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 61的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 60的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 62的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 60的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 63的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 60的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 64的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 60的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 65的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 60的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 66的輕鏈胺基酸序列。

【0286】 在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 47的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 61的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 48的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 61的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 49的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 61的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 60的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 61的輕鏈胺基酸序列。

【0287】 在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 60的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 65的輕鏈胺基酸序列。

【0288】 在上文討論的任一抗體中，重鏈胺基酸序列可能缺少C末端離胺酸。

【0289】 在各個實施方式中，可以進行胺基酸取代，同時保留本文揭露的抗體的結合親和力和/或特異性和/或提供一種或多種額外的有益特性，例如藉由在框架、恒定結構域和/或CDR序列中進行一種或多種變化。在一些實施方式中，取代係單個殘基的取代。例如，在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含人IgG1 Fc結構域，與具有野生型IgG1 Fc結構域的含IgG1 Fc的抗體相比，該人IgG1 Fc結構域包含胺基酸取代以減少與FcγR的結合。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含突變的人IgG1 Fc結構域，其包含取代L234A、L235A、P238S、H268Q和K274Q。插入的數量級通常為約1至約20個胺基酸殘基，但只要保留生物功能（例如，與PSMA的結合），就可以容許顯著更大的插入。缺失通常在約1至約20個胺基酸殘基的範圍內，但在一些情況下，缺失可能要大得多。取代、缺失、插入或其任何組合可用於獲得最終衍生物或變體。通常，該等變化係在幾個胺基酸上進行的，以最大限度地減少分子的改變，特別是抗原結合蛋白的免疫原性和特異性。然而，在某些情況下，可以容許更大的變化。保守取代通常根據以下表11中描繪的圖表進行。

【表**11**】.

原始殘基	**示例性取代**
Ala	Ser
Arg	Lys
Asn	Gln、His
Asp	Glu
Cys	Ser
Gln	Asn

原始殘基	示例性取代
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

【0290】 在其中變體抗體序列用於ADC中的各個實施方式中，變體可以展現出相同的定性生物活性並且引發相同的免疫反應，儘管也可以根據需要選擇變體來修飾抗原結合蛋白的特徵。例如，本文提供的抗PSMA抗體可以包含人IgG1 Fc結構域，與具有野生型IgG1 Fc結構域的含IgG1 Fc的抗體相比，該人IgG1 Fc結構域經突變以減少與FcγR的結合。可替代地，變體可設計成使得抗原結合蛋白的生物活性被改變。

【0291】 本文揭露的任一抗PSMA抗體和抗原結合片段可以用作例如與可檢測劑和/或另一治療劑的軛合物。在一些實施方式中，抗PSMA抗體或抗原結合片段可以用於抗體-藥物軛合物（ADC）中，例如本文揭露的任一ADC中，較佳的是以將ADC中的藥物靶向癌細胞。如下所示，出人意料地，本文揭露的ADC中的連接子-毒素與也在本文揭露的抗PSMA抗體一起係有效的。該等抗體可以與本文揭露的連接子和毒素（例如化合物1）一起使用。

連接子

【0292】 在各個實施方式中，本文揭露的抗PSMA抗體和抗原結合片段可以藉由連接子與藥物部分（例如，細胞毒性有效載荷，例如化合物1）接合以產生抗體-藥物軛合物（ADC）。

【0293】 在一些實施方式中，ADC中的連接子以足以具有治療有效性的方式具有細胞外穩定性。在一些實施方式中，連接子在細胞外部係穩定的，使得ADC在存在於細胞外條件（例如，在轉運或遞送至細胞中之前）中時保持完整。在ADC的上下文中使用的術語「完整」意指抗體部分保持與藥物部分（例如化合物1）附接。如本文所用，在連接子或包含連接子的ADC的上下文中，「穩定」意指在設置的時間段內進行評估時，在ADC存在於細胞外條件中時，ADC樣本中的不超過約20%、不超過約15%、不超過約10%、不超過約5%、不超過約3%、或不超過約1%（或其間的任何百分比）的連接子被切割（或在總體ADC在其他方面不完整的情況下）。在一些實施方式中，選擇本文揭露的ADC中的連接子以保持穩定超過約48小時、超過約60小時、超過約72小時、超過約84小時或超過約96小時。

【0294】 可以例如藉由在血漿中包括ADC持續預先確定的時間段（例如，2、4、6、8、16或24小時）、然後定量血漿中存在的游離藥物部分的量來確定連接子是否具有細胞外穩定性。穩定性可允許ADC有時間定位至靶標腫瘤細胞並防止藥物過早釋放，這可能會因無差別地損害正常組織和腫瘤組織兩者而降低ADC的治療指數。在一些實施方式中，連接子在靶細胞外部係穩定的，並且一旦處於細胞內部就會從ADC釋放藥物部分，使得藥物部分可結合其靶標（例如，結合STING）。因此，有效連接子將：(i) 維持抗體部分的特異性結合特性；(ii) 允許藉由與抗體部分的穩定附接而遞送（例如，細胞內遞送）藥物部分；(iii) 保持穩定和完整直到ADC已經轉運或遞送至其靶位點；以及 (iv) 允許切割後藥物部分的治療性效果，例如細胞毒性作用。

【0295】 連接子可能影響ADC的物理-化學特性。由於許多細胞毒性劑本質上具有疏水性，因此將它們與具有額外疏水性部分的抗體連接可能會引起聚集。ADC聚集物不可溶且通常限制抗體上可實現的載藥量，這可能不利地影響ADC的效力。通常，生物製品的蛋白質聚集物還與免疫原性增加相關。如下所示，本文揭露的連接子使ADC具有低聚集水平以及所需載藥量水平。在各個實施方式中，連接子藉由半胱胺酸與抗體或抗原結合片段軛合。在各個實施方式中，連接子藉由離胺酸與抗體或抗原結合片段軛合。用於將本揭露的連接子與抗體軛合的合適之方法包括用於與抗體重鏈上的離胺酸、抗體重鏈上的半胱胺酸和抗體輕鏈上的半胱胺酸直接附接的技術，例如，如以下所揭露的：PCT申請WO 2017/213267、WO 2017/106643和WO 2016/205618，以及Junutula等人(2008) Journal of Immunological Methods [免疫學方法雜誌] 332:41–52，將所有該等藉由引用以其全文併入本文。在一些實施方式中，連接子與輕鏈上的抗體或抗原結合片段軛合，例如在輕鏈上的半胱胺酸處，例如在輕鏈上的半胱胺酸80處。在一些實施方式中，連接子與重鏈上的抗體或抗原結合片段軛合，例如在重鏈上的半胱胺酸處，例如在重鏈上的半胱胺酸118處。

【0296】 本文所用的連接子可以是「可切割的」或「不可切割的」（Ducry和Stump, Bioconjugate Chem.[生物軛合化學] (2010) 21:5-13）。可切割連接子被設計成當經受某些環境因素（例如，當內化到靶細胞中）時釋放藥物，而不可切割連接子通常依賴抗體部分本身的降解。

【0297】 在一些實施方式中，連接子係不可切割連接子。在一些實施方式中，ADC的藥物部分藉由抗體部分的降解而釋放。

【0298】 在一些實施方式中，連接子係可切割的。可切割連接子被設計成當經受某些環境因素（例如，當內化到靶細胞中）時釋放藥物。可切割連接子係指包含可切割部分的任何連接子。如本文所用，術語「可切割部分」係指

可被切割的任何化學鍵。合適的可切割化學鍵係本領域中已知的，並且包括但不限於酸不穩定性鍵、蛋白酶/肽酶不穩定性鍵、光不穩定性鍵、二硫鍵和酯酶不穩定性鍵。包含可切割部分的連接子可以藉由在連接子中的特定位點處進行切割而允許藥物部分從ADC釋放。

【0299】 在一些實施方式中，連接子可在細胞內條件下切割，使得連接子的切割在細胞內環境中充分地從抗體部分釋放藥物部分以活化藥物和/或使藥物在治療上有效。在一些實施方式中，在ADC進入表現對ADC的抗體部分具有特異性的抗原的細胞之前，藥物部分不會從抗體部分切割，而是在進入細胞時，藥物部分從抗體部分切割。在一些實施方式中，連接子包含可切割部分，該可切割部分的位置使得在切割時連接子或抗體部分的任何部分不與藥物部分保持結合。示例性可切割連接子包括酸不穩定性連接子、蛋白酶/肽酶敏感性連接子、光不穩定性連接子、含二甲基連接子、含二硫化物連接子或含磺醯胺連接子。

【0300】 在一些實施方式中，連接子可被細胞內環境中（例如，溶酶體、胞內體或小凹內）存在的切割劑（例如，酶）切割。連接子可以是例如被細胞內肽酶或蛋白酶（包括但不限於溶酶體或胞內體蛋白酶）切割的肽連接子。在一些實施方式中，連接子係可切割肽連接子。如本文所用，可切割肽連接子係指包含可切割肽部分的任何連接子。術語「可切割肽部分」係指可被細胞內環境中存在的藥劑切割的任何化學鍵連接的胺基酸（天然或合成胺基酸衍生物）。在一些實施方式中，與酸不穩定性連接子相比，可切割肽連接子更穩定地與本文揭露的抗體軛合。

【0301】 在一些實施方式中，連接子係酶可切割連接子，並且連接子中的可切割肽部分可被酶切割。在一些實施方式中，可切割肽部分可被溶酶體酶，例如組織蛋白酶或半胱胺酸蛋白酶（也稱為天冬醯胺醯內肽酶或液泡加工

酶）切割。在一些實施方式中，連接子係組織蛋白酶可切割連接子。在一些實施方式中，連接子係半胱胺酸蛋白酶可切割連接子。在一些實施方式中，連接子中的可切割肽部分可被溶酶體半胱胺酸組織蛋白酶（如組織蛋白酶B、C、F、H、K、L、O、S、V、X或W）切割。在一些實施方式中，可切割肽部分可被組織蛋白酶B切割。可被組織蛋白酶B切割的示例性二肽係纈胺酸-瓜胺酸（Val-Cit）。參見，例如Dubowchik等人 (2002) Bioconjugate Chem.[生物軛合化學] 13:855-69。可被組織蛋白酶B切割的另一示例性二肽係纈胺酸-丙胺酸（Val-Ala）。參見，例如Fu和Ho (2002) Antib.Ther.[抗體治療]1(2):33-43。

【0302】 在一些實施方式中，連接子中的可切割肽部分可被溶酶體半胱胺酸內肽酶（如半胱胺酸蛋白酶）切割。可被半胱胺酸蛋白酶切割的示例性單肽係天冬醯胺（Asn）。可被半胱胺酸蛋白酶切割的另一示例性單肽係天冬胺酸（Asp）。

【0303】 在一些實施方式中，連接子或連接子中的可切割肽部分包含胺基酸單元。在一些實施方式中，胺基酸單元允許蛋白酶切割連接子，從而在暴露於一種或多種細胞內蛋白酶（如一種或多種溶酶體酶）時促進藥物部分從ADC釋放。參見，例如Doronina等人 (2003) Nat. Biotechnol.[自然生物技術] 21:778-84；以及Dubowchik和Walker (1999) Pharm.Therapeutics [藥理學與治療學] 83:67-123。示例性胺基酸單元包括但不限於單肽、二肽、三肽、四肽和五肽。示例性單肽包括但不限於天冬醯胺（Asn）和天冬胺酸（Asp）。示例性二肽包括但不限於纈胺酸-瓜胺酸（Val-Cit）、丙胺酸-天冬醯胺（Ala-Asn）、丙胺酸-苯丙胺酸（Ala-Phe）、苯丙胺酸-離胺酸（Phe-Lys）、丙胺酸-離胺酸（Ala-Lys）、丙胺酸-纈胺酸（Ala-Val）、纈胺酸-丙胺酸（Val-Ala）、纈胺酸-離胺酸（Val-Lys）、離胺酸-離胺酸（Lys-Lys）、苯丙胺酸-瓜胺酸（Phe-Cit）、白胺酸-瓜胺酸（Leu-Cit）、異白胺酸-瓜胺酸（Ile-Cit）、色胺酸-瓜胺

酸（Trp-Cit）、和苯丙胺酸-丙胺酸（Phe-Ala）。示例性三肽包括但不限於丙胺酸-丙胺酸-天冬醯胺（Ala-Ala-Asn）、甘胺酸-纈胺酸-瓜胺酸（Gly-Val-Cit）、麩胺酸-纈胺酸-瓜胺酸、甘胺酸-甘胺酸-甘胺酸（Gly-Gly-Gly）、苯丙胺酸-苯丙胺酸-離胺酸（Phe-Phe-Lys）、丙胺酸-苯丙胺酸-離胺酸（Ala-Phe-Lys）、甘胺酸-纈胺酸-丙胺酸（Gly-Val-Ala）、和甘胺酸-苯丙胺酸-離胺酸（Gly-Phe-Lys）。示例性四肽包括但不限於甘胺酸-甘胺酸-苯丙胺酸-甘胺酸（Gly-Gly-Phe-Gly）。其他示例性胺基酸單元包括但不限於Gly-Phe-Leu-Gly、Ala-Leu-Ala-Leu、Phe-N9-甲苯磺醯基-Arg、和Phe-N9-硝基-Arg，如在例如美國專利案號6,214,345中所描述的。在一些實施方式中，胺基酸單元可以包含含有至少一個甲基基團，例如一甲基或二甲基基團的胺基酸殘基。包含含有至少一個甲基基團的胺基酸殘基的示例性胺基酸單元包括但不限於N-甲基化丙胺酸（(NMe)Ala）、甲基化天冬胺酸（Asp(OMe)）和二甲基化離胺酸（Val-Lys(Me)$_2$）。在一些實施方式中，連接子中的胺基酸單元包含Val-Ala。在一些實施方式中，連接子中的胺基酸單元包含Val-Cit。胺基酸單元可以包含天然存在的胺基酸殘基和/或次級胺基酸和/或非天然存在的胺基酸類似物（如瓜胺酸）。可以設計和優化胺基酸單元以進行特定酶，例如腫瘤相關蛋白酶、溶酶體蛋白酶（如半胱胺酸蛋白酶或組織蛋白酶B、C、D或S）的酶促切割。

【0304】在一些實施方式中，本文揭露的ADC中的連接子可以包含抗體附接部分。抗體附接部分可用於例如將抗體部分與連接子連接，而連接子又可以例如藉由可切割部分（例如可切割肽）與藥物部分間接連接。

【0305】在一些實施方式中，連接子包含含有馬來醯亞胺部分（Mal）的抗體附接部分。如本文所用的術語「馬來醯亞胺部分」意指含有馬來醯亞胺基團且可與硫氫基基團（例如抗體部分上的半胱胺酸殘基的硫氫基基團）反應的化合物。可與硫氫基基團（硫醇）反應並因此可用來代替Mal的其他官能基包

括但不限於碘乙醯胺、溴乙醯胺、乙烯基吡啶、二硫化物、吡啶基二硫化物、異氰酸酯和異硫氰酸酯。

【0306】在一些實施方式中，連接子藉由Mal部分與抗體或抗原結合片段附接。在一些實施方式中，Mal部分可與抗體或抗原結合片段上的半胱胺酸殘基反應。在一些實施方式中，Mal部分藉由半胱胺酸殘基與抗體或抗原結合片段接合。

【0307】在一些實施方式中，Mal部分係馬來醯亞胺基己醯基（MC）部分。在一些實施方式中，連接子藉由MC部分與抗體或抗原結合片段附接。在一些實施方式中，MC部分可與抗體或抗原結合片段上的半胱胺酸殘基反應。在一些實施方式中，MC部分藉由半胱胺酸殘基與抗體或抗原結合片段接合。

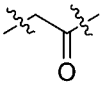
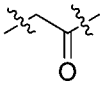
【0308】在一些實施方式中，連接子包含Mal部分和可切割肽部分。在一些實施方式中，可切割肽部分包含胺基酸單元。在一些實施方式中，胺基酸單元包含Val-Cit。在一些實施方式中，胺基酸單元包含Val-Ala。在一些實施方式中，Mal部分將抗體部分與連接子中的可切割肽部分附接。在一些實施方式中，可切割肽部分包含胺基酸單元。在一些實施方式中，胺基酸單元包含Val-Cit。在一些實施方式中，胺基酸單元包含Val-Ala。在一些實施方式中，連接子包含Mal-Val-Cit。在一些實施方式中，連接子包含Mal-Val-Ala。

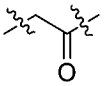
【0309】在一些實施方式中，連接子包含MC部分和可切割肽部分。在一些實施方式中，可切割肽部分包含胺基酸單元。在一些實施方式中，胺基酸單元包含Val-Cit。在一些實施方式中，胺基酸單元包含Val-Ala。在一些實施方式中，MC部分將抗體部分與連接子中的可切割肽部分附接。在一些實施方式中，可切割肽部分包含胺基酸單元。在一些實施方式中，胺基酸單元包含Val-Cit。在一些實施方式中，胺基酸單元包含Val-Ala。在一些實施方式中，連接子包含MC-Val-Cit。在一些實施方式中，連接子包含MC-Val-Ala。

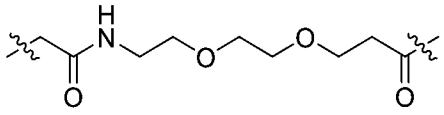
【0310】在一些實施方式中，本文揭露的ADC中的任一連接子可以包含至少一個將抗體部分與藥物部分接合的間隔子單元。在一些實施方式中，間隔子單元將連接子中的切割位點（例如可切割肽部分）與抗體部分接合。在一些實施方式中，間隔子單元將連接子中的切割位點（例如可切割肽部分）與藥物部分接合。在一些實施方式中，連接子和/或連接子中的間隔子單元實質上具有親水性。在一些實施方式中，連接子包括一個或多個聚乙二醇（PEG）部分，例如1、2、3或4個PEG部分。在一些實施方式中，連接子包括一個或多個烷基部分，例如1、2、3、4或5個烷基部分。

【0311】在一些實施方式中，連接子中的間隔子單元包含一個或多個PEG部分。在一些實施方式中，間隔子單元包含-$(PEG)_m$-且m係1至10的整數。在一些實施方式中，m在1至4範圍內；或在2至4範圍內。在一些實施方式中，m係2。在一些實施方式中，m係3。在一些實施方式中，m係4。在一些實施方式中，間隔子單元包含$(PEG)_2$、$(PEG)_3$或$(PEG)_4$。在一些實施方式中，間隔子單元包含PEG_2-Lys(ε-PEG_8-OMe)-PEG_2。

【0312】在一些實施方式中，連接子中的間隔子單元包含烷基部分。在一些實施方式中，間隔子單元包含-$(CH_2)_n$-且n係1至10的整數（即n可以是1、2、3、4、5、6、7、8、9或10）。在一些實施方式中，n係3、4或5。在一些實施方式中，間隔子單元包含$(CH_2)_3$或$(CH_2)_4$或$(CH_2)_5$。在一些實施方式中，間隔子單元包含CH_2-CH_2。

【0313】在一些實施方式中，間隔子單元包含  。在一些實施方式中，間隔子單元包含  和$(PEG)_2$。在一些實施方式中，間隔子單元包含與

(PEG)$_2$軛合的  。在一些實施方式中，間隔子單元包含

 式 (II)。

【0314】 在一些實施方式中，本文揭露的連接子可用於具有其他D部分的L-D構建體中。在一些實施方式中，使用包含含有式 (II) 的間隔子單元的連接子可以為各種D部分提供益處，包括例如與包含替代間隔子單元的其他連接子相比改進的軛合穩定性、改進的血漿穩定性和/或體內抗腫瘤活性。在一些實施方式中，不受理論的束縛，使用包含式 (II) 的連接子與本文揭露的STING促效劑，例如具有式 (III)、式 (IV) 的化合物或表14的化合物、例如化合物1的益處可以包括改進的軛合穩定性、改進的血漿穩定性和/或體內抗腫瘤活性。在一些實施方式中，包含式 (II) 的連接子和包含本文揭露的STING促效劑，例如具有式 (III)、式 (IV) 的化合物或表14的化合物的有效載荷當與本文揭露的抗PSMA抗體軛合時表現出優異的特性。這樣的L-D和抗體-藥物軛合物的優異益處的示例性證據顯示在實例4、9、12和15中。

【0315】 例如，可使用間隔子單元以將抗體部分與藥物部分直接或間接連接。在一些實施方式中，間隔子單元將抗體部分與藥物部分直接連接。在一些實施方式中，抗體部分和藥物部分藉由包含一個或多個烷基部分（例如$(CH_2)_3$或$(CH_2)_4$或$(CH_2)_5$）的間隔子單元附接。在一些實施方式中，抗體部分和藥物部分藉由包含一個或多個PEG部分（例如$(PEG)_2$或$(PEG)_3$或$(PEG)_4$）的間隔子單元附接。在一些實施方式中，抗體部分和藥物部分藉由包含式 (II) 的間隔子單元附接。在一些實施方式中，間隔子單元將抗體部分與藥物部分間接連接。在一些實施方式中，間隔子單元藉由可切割部分（例如可切割肽）和/或用於將間隔子單元與抗體部分接合的抗體附接部分（例如馬來醯亞胺部分或苄氧羰基-L-麩醯胺酸醯-甘胺酸部分）將抗體部分與藥物部分間接連接。

【0316】在一些實施方式中，間隔子單元藉由馬來醯亞胺部分（Mal）與抗體部分（即抗體或抗原結合片段）附接。藉由Mal與抗體或抗原結合片段附接的間隔子單元在本文中稱為「Mal-間隔子單元」。在一些實施方式中，Mal-間隔子單元可與抗體或抗原結合片段上的半胱胺酸殘基反應。在一些實施方式中，Mal-間隔子單元藉由半胱胺酸殘基與抗體或抗原結合片段接合。在一些實施方式中，Mal-間隔子單元包含PEG部分。在一些實施方式中，Mal-間隔子單元包含烷基部分。在一些實施方式中，Mal-間隔子單元包含式 (II)。在一些實施方式中，間隔子單元藉由馬來醯亞胺基己醯基部分（MC）與抗體部分（即抗體或抗原結合片段）附接。藉由MC與抗體或抗原結合片段附接的間隔子單元在本文中稱為「MC-間隔子單元」。在一些實施方式中，MC-間隔子單元可與抗體或抗原結合片段上的半胱胺酸殘基反應。在一些實施方式中，MC-間隔子單元藉由半胱胺酸殘基與抗體或抗原結合片段接合。在一些實施方式中，MC-間隔子單元包含PEG部分。在一些實施方式中，MC-間隔子單元包含烷基部分。在一些實施方式中，MC-間隔子單元包含式 (II)。

【0317】在一些實施方式中，連接子包含Mal-間隔子單元或MC-間隔子單元和可切割肽部分。在一些實施方式中，可切割肽部分包含胺基酸單元。在一些實施方式中，胺基酸單元包含Val-Cit。在一些實施方式中，胺基酸單元包含Val-Ala。在一些實施方式中，連接子包含Mal-間隔子單元或MC-間隔子單元和胺基酸單元。在一些實施方式中，連接子包含Mal-$(CH_2)_n$和胺基酸單元，其中n係3至5，或3、4或5。在一些實施方式中，連接子包含MC-$(CH_2)_n$和胺基酸單元，其中n係3至5，或3、4或5。

【0318】在一些實施方式中，連接子包含Mal-$(PEG)_m$和胺基酸單元，其中m係2至4，或2、3或4。在一些實施方式中，連接子包含MC-$(PEG)_m$和胺基酸單元，其中m係2至4，或2、3或4。在一些實施方式中，連接子進一步包含可切

割二肽，例如Val-Cit或Val-Ala。在一些實施方式中，連接子包含Mal-$(PEG)_n$-Val-Cit，其中n係1到10之間的任何數字。在一些實施方式中，連接子包含Mal-$(PEG)_n$-Val-Ala，其中n係1到10之間的任何數字。在一些實施方式中，連接子包含MC-$(PEG)_n$-Val-Cit，其中n係1到10之間的任何數字。在一些實施方式中，連接子包含MC-$(PEG)_n$-Val-Ala，其中n係1到10之間的任何數字。

【0319】 在一些實施方式中，連接子包含Mal-式 (II)和胺基酸單元。在一些實施方式中，連接子包含可切割二肽，例如Val-Cit或Val-Ala。在一些實施方式中，連接子包含Mal-式 (II)-Val-Cit。在一些實施方式中，連接子包含Mal-式 (II)-Val-Ala。

【0320】 在一些實施方式中，Mal-間隔子單元或MC-間隔子單元將抗體部分（即抗體或抗原結合片段）與連接子中的可切割部分附接。在一些實施方式中，Mal-間隔子單元或MC-間隔子單元將抗體或抗原結合片段與可切割肽部分附接。在一些實施方式中，可切割肽部分包含胺基酸單元。在一些實施方式中，連接子包含Mal-間隔子單元-胺基酸單元。在一些實施方式中，Mal-間隔子單元包含PEG部分。在一些實施方式中，Mal-間隔子單元包含烷基部分。在一些實施方式中，Mal-間隔子單元包含式 (II)。在一些實施方式中，連接子包含MC-間隔子單元-胺基酸單元。在一些實施方式中，MC-間隔子單元包含PEG部分。在一些實施方式中，MC-間隔子單元包含烷基部分。

【0321】 在各個實施方式中，連接子中的可切割部分與藥物部分和/或抗體部分直接接合。在其他實施方式中，間隔子單元用於將連接子中的可切割部分與藥物部分和/或抗體部分附接。在各個實施方式中，藥物部分可以是本文揭露的任何STING促效劑藥物部分，例如具有式 (III)、式 (IV) 的化合物、或下文表14中揭露的化合物。在各個實施方式中，藥物部分藉由間隔子單元與連接子中的可切割部分附接。在各個實施方式中，藥物部分係化合物1。在各個實施

方式中，化合物1部分藉由間隔子單元與連接子中的可切割部分附接。在一些實施方式中，藥物部分、例如化合物1藉由自消解單元與連接子中的可切割部分附接。在一些實施方式中，藥物部分、例如化合物1藉由自消解單元與連接子中的可切割部分附接，可切割部分包含胺基酸單元，並且另外的間隔子單元（例如，包含一個或多個烷基或PEG部分或式 (II)）將可切割部分與抗體部分接合。在一些實施方式中，藥物部分、例如化合物1藉由連接子中的Mal-間隔子單元與抗PSMA抗體接合，該連接子中的Mal-間隔子單元與可切割肽部分和pAB或pABC自消解單元接合。在一些實施方式中，藥物部分、例如化合物1藉由連接子中的MC-間隔子單元與抗PSMA抗體接合，該連接子中的MC-間隔子單元與可切割肽部分和pAB或pABC自消解單元接合。

【0322】 間隔子單元可以是「自消解的」或「非自消解的」。「非自消解」間隔子單元係在連接子切割時間隔子單元的一部分或全部仍結合藥物部分的間隔子單元。非自消解單元的實例包括但不限於甘胺酸間隔子單元和甘胺酸-甘胺酸間隔子單元。非自消解單元最終可隨時間而降解，但在細胞條件下不會容易地完全釋放所連接的天然藥物。「自消解」單元包含允許在投與至受試者後，例如在細胞內條件下釋放天然藥物部分的任何結構。「天然藥物」係在間隔子單元切割/降解後不保留間隔子單元的部分或其他化學修飾的天然藥物。

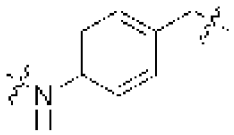
【0323】 自消解化學係本領域中已知的，並且可針對所揭露的ADC容易地選擇。在各個實施方式中，將連接子中的可切割部分與藥物部分（例如化合物1）附接的間隔子單元係自消解的，並且在細胞內條件下可切割部分切割的同時或之前/之後不久經歷自消解。

【0324】 在各個實施方式中，本文揭露的連接子可以包含至少一個自消解單元。本文揭露的任一連接子可以包含第一自消解單元。短語「第一自消解單元」可以表示包含一個自消解單元的連接子或包含一個或多個自消解單元的

連接子。在一些實施方式中，本文揭露的連接子包含第一自消解單元和第二自消解單元。

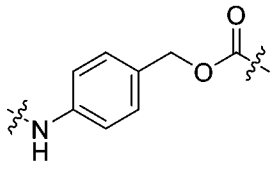
【0325】 在某些實施方式中，連接子中的至少一個自消解單元包含對胺基苄基單元。在一些實施方式中，對胺基苄醇（pABOH）藉由醯胺鍵與連接子中的胺基酸單元或其他可切割部分附接，並且在pABOH和藥物部分之間形成胺基甲酸酯、胺基甲酸甲酯或碳酸酯。參見，例如Hamann等人 (2005) Expert Opin. Ther.Patents [治療劑專利專家評論] 15:1087-103。在一些實施方式中，至少一個自消解單元係或包含對胺基苄基（pAB）。在一些實施方式中，至少一個自消解單元係或包含對胺基苄氧基羰基（pABC）。不受理論的束縛，認為pAB或pABC的自消解涉及自發的1,6-消除反應。參見，例如Jain等人 (2015) Pharm Res [藥物研究] 32:3526-40。

【0326】 在各個實施方式中，所揭露的ADC中使用的對胺基苄基（pAB）的結構如下所示：



。

【0327】 在各個實施方式中，所揭露的ADC中使用的對胺基苄氧基羰基（pABC）的結構如下所示：



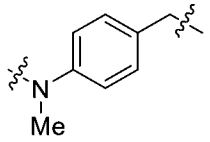
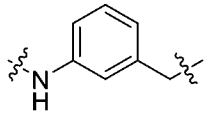
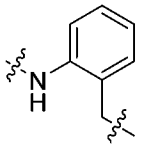
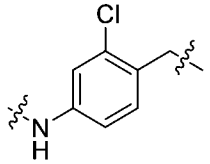
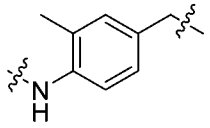
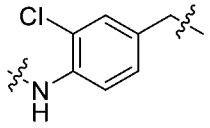
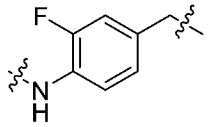
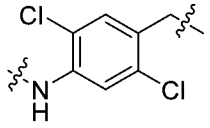
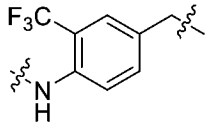
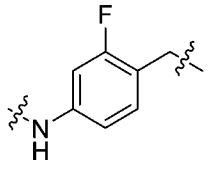
。

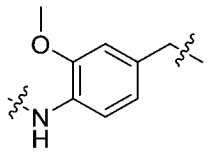
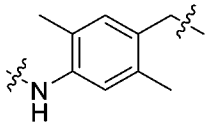
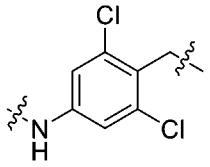
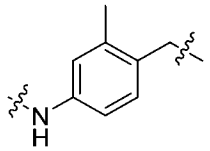
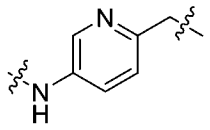
【0328】 自消解單元中的pAB或pABC的結構可以被取代。

【0329】 在一些實施方式中，pAB被選自甲基、氟、氯、三氟甲基、C_6-C_{10}芳基和C_5-C_{12}雜芳基的1-3個取代基取代。示例性經取代的pAB單元揭露於表

12中。在一些實施方式中，本文揭露的連接子可以包含選自下文表12中揭露的自消解單元的自消解單元。

【表12】.示例性經取代的pAB部分

經取代的pAB部分	經取代的pAB部分	結構
(N-Me)pAB	N-甲基-對胺基苄基	
MAB	間胺基苄基	
OAB	鄰胺基苄基	
(2-Cl)pAB	2-氯-4-胺基苄基	
(3-Me)pAB	3-甲基-4-胺基苄基	
(3-Cl)pAB	3-氯-4-胺基苄基	
(3-F)pAB	3-氟-4-胺基苄基	
(2,5-Cl2)pAB	2,5-二氯-4-胺基苄基	
(3-CF_3)pAB	3-三氟甲基-4-胺基苄基	
(2-F)pAB	2-氟-4-胺基苄基	

經取代的pAB部分	經取代的pAB部分	結構
(3-MeO)pAB	3-甲氧基-4-胺基苄基	
(2,5-Me2)pAB	2,5-二甲基-4-胺基苄基	
(2,6-Cl2)pAB	2,6-二氯-4-胺基苄基	
(2-Me)pAB	2-甲基-4-胺基苄基	
(2Py)pAB	(5-胺基吡啶-2-基)甲基	

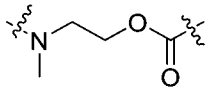
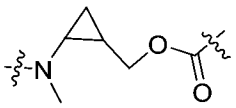
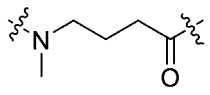
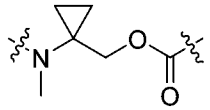
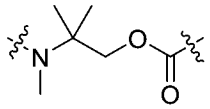
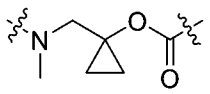
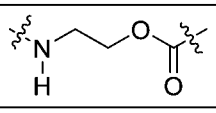
【0330】 可以修飾連接子部分以實現ADC的所需特性，例如穩定性、耐受性和/或功效。例如，與包含pAB或pABC的連接子相比，包含經修飾的pAB或pABC部分的連接子可以增加ADC穩定性和/或體內ADC耐受性（如藉由例如體重減輕百分比所確定的），同時最大限度地減少ADC功效降低。可能需要對連接子-藥物結構，例如間隔子單元或經修飾的藥物部分附接點進行某些額外修飾，以獲得一種或多種（例如，所有該等）特性。例如，可能需要進行某些修飾或修飾的組合以增強ADC穩定性，同時避免功效損失。例如，在一些實施方式中，與其他抗PSMA ADC相比，包含LP1、LP2、LP16、LP20、LP26或LP28的ADC可以實現ADC的所需特性，例如穩定性、耐受性和/或功效。

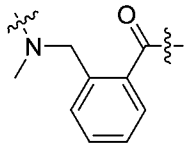
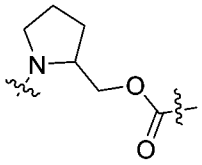
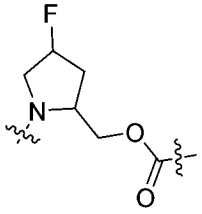
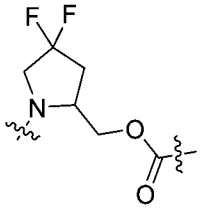
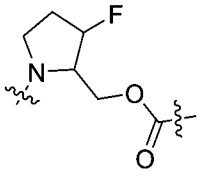
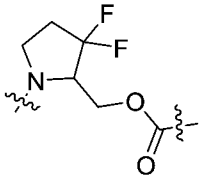
【0331】 在一些實施方式中，本文揭露的任一連接子可以包含另外的自消解單元。在一些實施方式中，另外的自消解單元將第一自消解單元與藥物部

分（例如化合物1）附接。與包含本文揭露的任一有效載荷化合物的其他連接子-有效載荷軛合物相比，將一個或多個另外的自消解單元添加至如本文所揭露的連接子-有效載荷軛合物中可以提供優異的技術益處，例如優異的穩定性和/或改進的活性。本文揭露的任一連接子可以包含第二自消解單元。

【0332】 示例性額外的自消解單元揭露於表13中。在一些實施方式中，連接子-有效載荷軛合物包含下文表13中列出的第二自消解單元。在一些實施方式中，連接子-有效載荷軛合物包含Val-Ala-pAB和選自表13的第二自消解單元。在一些實施方式中，連接子-有效載荷軛合物包含Val-Ala-pABC和選自表13的第二自消解單元。在一些實施方式中，連接子-有效載荷軛合物包含Val-Cit-pAB和選自表13的第二自消解單元。在一些實施方式中，連接子-有效載荷軛合物包含Val-Cit-pABC和選自表13的第二自消解單元。

【表13】.示例性自消解單元

第二自消解單元	化學名稱	化學結構
單元1（MEC）	(*N*-甲基胺基)乙氧基羰基	
單元2	(*N*-甲基胺基)-2-環丙基]甲氧基羰基	
單元3	3-(*N*-甲基胺基)丁醯基	
單元4	*N*-甲基胺基-(環丙基)-1-甲氧基羰基	
單元5	(*N*-甲基胺基)-1,1-二甲基-乙氧基羰基	
單元6	*N*-甲基胺基-(環丙基)-2-甲氧基羰基	
單元7	(*N*-H)乙氧基羰基	

第二自消解單元	化學名稱	化學結構
單元8	2-(*N*-甲基)胺基甲基苯甲酸酯	
單元9	脯胺醇羰基	
單元10	4-一氟-脯胺醇羰基	
單元11	4,4-二氟脯胺醇羰基	
單元12	3-一氟-脯胺醇羰基	
單元13	3,3-二氟脯胺醇羰基	

【0333】 單元2和9-13包括所有立體異構物。

【0334】 在一些實施方式中，另外的自消解單元包含單元1（MEC）部分。在一些實施方式中，MEC部分將第一自消解單元與藥物部分（例如化合物1）附接（「自消解單元-MEC部分」）。在一些實施方式中，另外的自消解單元包含單元2部分。在一些實施方式中，單元2部分將第一自消解單元與藥物部分（例如化合物1）附接（「自消解單元-單元2部分」）。在一些實施方式中，另外的自消解單元包含單元3部分。在一些實施方式中，單元3部分將第一自消

解單元與藥物部分（例如化合物1）附接（「自消解單元-單元3部分」）。在一些實施方式中，另外的自消解單元包含單元4部分。在一些實施方式中，單元4部分將第一自消解單元與藥物部分（例如化合物1）附接（「自消解單元-單元4部分」）。在一些實施方式中，另外的自消解單元包含單元5部分。在一些實施方式中，單元5部分將第一自消解單元與藥物部分（例如化合物1）附接（「自消解單元-單元5部分」）。在一些實施方式中，另外的自消解單元包含單元6部分。在一些實施方式中，單元6部分將第一自消解單元與藥物部分（例如化合物1）附接（「自消解單元-單元6部分」）。在一些實施方式中，另外的自消解單元包含單元7部分。在一些實施方式中，單元7部分將第一自消解單元與藥物部分（例如化合物1）附接（「自消解單元-單元7部分」）。在一些實施方式中，另外的自消解單元包含單元8部分。在一些實施方式中，單元8部分將第一自消解單元與藥物部分（例如化合物1）附接（「自消解單元-單元8部分」）。在一些實施方式中，另外的自消解單元包含單元9部分。在一些實施方式中，單元9部分將第一自消解單元與藥物部分（例如化合物1）附接（「自消解單元-單元9部分」）。在一些實施方式中，另外的自消解單元包含單元10部分。在一些實施方式中，單元10部分將第一自消解單元與藥物部分（例如化合物1）附接（「自消解單元-單元10部分」）。在一些實施方式中，另外的自消解單元包含單元11部分。在一些實施方式中，單元11部分將第一自消解單元與藥物部分（例如化合物1）附接（「自消解單元-單元11部分」）。在一些實施方式中，另外的自消解單元包含單元12部分。在一些實施方式中，單元12部分將第一自消解單元與藥物部分（例如化合物1）附接（「自消解單元-單元12部分」）。在一些實施方式中，另外的自消解單元包含單元13部分。在一些實施方式中，單元13部分將第一自消解單元與藥物部分（例如化合物1）附接（「自消解單元-單元13部分」）。

【0335】在各個實施方式中，連接子中的可切割部分與藥物部分中的硫直接或間接附接。藥物部分可以是本文揭露的任何合適的藥物部分，例如具有式 (III)、式 (IV) 的化合物、或下文表14中揭露的化合物。在一些實施方式中，藥物部分係或包含化合物1。在一些實施方式中，連接子中的可切割部分與本文揭露的STING促效劑藥物部分（例如化合物1）中的S-14硫直接或間接附接。在一些實施方式中，一個或多個自消解單元包含pAB。在一些實施方式中，pAB將連接子中的可切割部分與本文揭露的STING促效劑藥物部分（例如化合物1）中的S-14硫附接。在一些實施方式中，pAB在可切割部分切割時經歷自消解，並且STING促效劑藥物部分（例如化合物1）以其天然活性形式從ADC釋放。在一些實施方式中，可切割部分包含胺基酸單元。在一些實施方式中，連接子包含胺基酸單元-pAB。在一些實施方式中，胺基酸單元係Val-Cit。在一些實施方式中，連接子包含Val-Cit-pAB。在一些實施方式中，胺基酸單元係Val-Ala。在一些實施方式中，連接子包含Val-Ala-pAB。

【0336】在各個實施方式中，連接子中的可切割部分與藥物部分中的氮直接或間接附接。藥物部分可以是本文揭露的STING促效劑藥物部分，例如具有式 (III)、式 (IV) 的化合物、或下文表14中揭露的化合物。在一些實施方式中，藥物部分係或包含化合物1。在一些實施方式中，STING促效劑藥物部分（例如化合物1）中的氮係N-34氮。在一些實施方式中，STING促效劑藥物部分（例如化合物1）中的氮係N-39氮。在一些實施方式中，一個或多個自消解單元包含pAB。在一些實施方式中，一個或多個自消解單元包含pABC。在一些實施方式中，一個或多個自消解單元包含MEC部分。在一些實施方式中，一個或多個自消解單元包含pABC-MEC部分。在一些實施方式中，pABC的羧酸酯部分與MEC的n-甲基部分結合以形成N-甲基胺基甲酸酯部分。在一些實施方式中，一個或多個自消解單元包含單元8部分。在一些實施方式中，一個或多

個自消解單元包含pABC-單元8部分。在一些實施方式中，一個或多個自消解單元包含單元9部分。在一些實施方式中，一個或多個自消解單元包含pABC-單元9部分。在一些實施方式中，一個或多個自消解單元包含單元11部分。在一些實施方式中，一個或多個自消解單元包含pABC-單元11部分。

【0337】在一些實施方式中，連接子包含第一間隔子單元和第二間隔子單元之間的第三間隔子單元。在一些實施方式中，第二和/或第三間隔子單元選自上文表13的部分。在一些實施方式中，連接子包含pABC間隔子單元和MEC間隔子單元之間的第三間隔子單元。在一些實施方式中，連接子包含pABC間隔子單元和單元8間隔子單元之間的第三間隔子單元。在一些實施方式中，連接子包含pABC間隔子單元和單元9間隔子單元之間的第三間隔子單元。在一些實施方式中，連接子包含pABC間隔子單元和單元11間隔子單元之間的第三間隔子單元。在一些實施方式中，pABC將連接子中的可切割部分與化合物1中的N-34氮附接。在一些實施方式中，pABC將連接子中的可切割部分與化合物1中的N-39氮附接。

【0338】在一些實施方式中，pABC-MEC部分將連接子中的可切割部分與化合物1中的N-34氮附接。在一些實施方式中，pABC-MEC部分將連接子中的可切割部分與化合物1中的N-39氮附接。在一些實施方式中，pABC或pABC-MEC部分在可切割部分切割時經歷自消解，並且化合物1以其天然活性形式從ADC釋放。在一些實施方式中，化合物1從抗體和連接子的釋放以逐步方式發生，其中首先切割連接子中的可切割部分、然後pABC部分經歷自消解、然後MEC部分經歷自消解。在一些實施方式中，可切割部分包含胺基酸單元。在一些實施方式中，連接子包含胺基酸單元-pABC。在一些實施方式中，連接子包含胺基酸單元-pABC-MEC部分。在一些實施方式中，胺基酸單元係Val-Cit。在一些實施方式中，連接子包含Val-Cit-pABC。在一些實施方式中，連接子包含

Val-Cit-pABC-MEC部分。在一些實施方式中，胺基酸單元係Val-Ala。在一些實施方式中，連接子包含Val-Ala-pABC。在一些實施方式中，連接子包含Val-Ala-pABC-MEC部分。

【0339】在一些實施方式中，pABC-單元8部分將連接子中的可切割部分與化合物1中的N-34氮附接。在一些實施方式中，pABC-單元8部分將連接子中的可切割部分與化合物1中的N-39氮附接。在一些實施方式中，pABC或pABC-單元8部分在可切割部分切割時經歷自消解，並且化合物1以其天然活性形式從ADC釋放。在一些實施方式中，化合物1從抗體和連接子的釋放以逐步方式發生，其中首先切割連接子中的可切割部分、然後pABC部分經歷自消解、然後單元8部分經歷自消解。在一些實施方式中，可切割部分包含胺基酸單元。在一些實施方式中，連接子包含胺基酸單元-pABC。在一些實施方式中，連接子包含胺基酸單元-pABC-單元8部分。在一些實施方式中，胺基酸單元係Val-Cit。在一些實施方式中，連接子包含Val-Cit-pABC。在一些實施方式中，連接子包含Val-Cit-pABC-單元8部分。在一些實施方式中，胺基酸單元係Val-Ala。在一些實施方式中，連接子包含Val-Ala-pABC。在一些實施方式中，連接子包含Val-Ala-pABC-單元8部分。

【0340】在一些實施方式中，pABC-單元9部分將連接子中的可切割部分與化合物1中的N-34氮附接。在一些實施方式中，pABC-單元9部分將連接子中的可切割部分與化合物1中的N-39氮附接。在一些實施方式中，pABC或pABC-單元9部分在可切割部分切割時經歷自消解，並且化合物1以其天然活性形式從ADC釋放。在一些實施方式中，化合物1從抗體和連接子的釋放以逐步方式發生，其中首先切割連接子中的可切割部分、然後pABC部分經歷自消解、然後單元9部分經歷自消解。在一些實施方式中，可切割部分包含胺基酸單元。在一些實施方式中，連接子包含胺基酸單元-pABC。在一些實施方式中，連接子

包含胺基酸單元-pABC-單元9部分。在一些實施方式中，胺基酸單元係Val-Cit。在一些實施方式中，連接子包含Val-Cit-pABC。在一些實施方式中，連接子包含Val-Cit-pABC-單元9部分。在一些實施方式中，胺基酸單元係Val-Ala。在一些實施方式中，連接子包含Val-Ala-pABC。在一些實施方式中，連接子包含Val-Ala-pABC-單元9部分。

【0341】在一些實施方式中，pABC-單元11部分將連接子中的可切割部分與化合物1中的N-34氮附接。在一些實施方式中，pABC-單元11部分將連接子中的可切割部分與化合物1中的N-39氮附接。在一些實施方式中，pABC或pABC-單元11部分在可切割部分切割時經歷自消解，並且化合物1以其天然活性形式從ADC釋放。在一些實施方式中，化合物1從抗體和連接子的釋放以逐步方式發生，其中首先切割連接子中的可切割部分、然後pABC部分經歷自消解、然後單元11部分經歷自消解。在一些實施方式中，可切割部分包含胺基酸單元。在一些實施方式中，連接子包含胺基酸單元-pABC。在一些實施方式中，連接子包含胺基酸單元-pABC-單元11部分。在一些實施方式中，胺基酸單元係Val-Cit。在一些實施方式中，連接子包含Val-Cit-pABC。在一些實施方式中，連接子包含Val-Cit-pABC-單元11部分。在一些實施方式中，胺基酸單元係Val-Ala。在一些實施方式中，連接子包含Val-Ala-pABC。在一些實施方式中，連接子包含Val-Ala-pABC-單元11部分。

【0342】在一些實施方式中，至少一個自消解單元（例如pAB、pABC、pABC-MEC部分、pABC-單元8部分、pABC-單元9部分或pABC-單元11部分）在連接子中的可切割肽部分切割時經歷自消解。在一些實施方式中，至少一個自消解單元（例如pAB、pABC、pABC-MEC部分、pABC-單元8部分、pABC-單元9部分或pABC-單元11部分）的自消解在連接子中的可切割肽部分切割後以逐步方式發生，從最靠近可切割肽部分的自消解部分開始。在一些實施方式

中，至少一個自消解單元（例如pAB、pABC、pABC-MEC部分、pABC-單元8部分、pABC-單元9部分或pABC-單元11部分）在連接子中的可切割肽部分切割後以逐步方式經歷自消解，其中第一自消解單元（例如pABC或pAB）在第二自消解單元（例如MEC部分、單元8部分、單元9部分、單元11部分）的自消解之前經歷自消解。在一些實施方式中，可切割肽部分包含胺基酸單元。在一些實施方式中，連接子包含胺基酸單元-pAB。在一些實施方式中，連接子包含胺基酸單元-pABC。在一些實施方式中，連接子包含胺基酸單元-pABC-MEC部分。在一些實施方式中，連接子包含胺基酸單元-pABC-單元8部分。在一些實施方式中，連接子包含胺基酸單元-pABC-單元9部分。在一些實施方式中，連接子包含胺基酸單元-pABC-單元11部分。在一些實施方式中，胺基酸單元係Val-Cit。在一些實施方式中，連接子包含Val-Cit-pAB。在一些實施方式中，連接子包含Val-Cit-pABC。在一些實施方式中，連接子包含Val-Cit-pABC-MEC部分。在一些實施方式中，連接子包含Val-Cit-pABC-單元8部分。在一些實施方式中，連接子包含Val-Cit-pABC-單元9部分。在一些實施方式中，連接子包含Val-Cit-pABC-單元11部分。在一些實施方式中，胺基酸單元係Val-Ala。在一些實施方式中，連接子包含Val-Ala-pAB。在一些實施方式中，連接子包含Val-Ala-pABC。在一些實施方式中，連接子包含Val-Ala-pABC-MEC部分。在一些實施方式中，連接子包含Val-Ala-pABC-單元8部分。在一些實施方式中，連接子包含Val-Ala-pABC-單元9部分。在一些實施方式中，連接子包含Val-Ala-pABC-單元11部分。

【0343】在各個方面，ADC的抗體部分藉由連接子與藥物部分軛合，其中該連接子包含MC-間隔子單元、可切割胺基酸單元和pAB。在一些實施方式中，連接子包含MC-Val-Cit-pAB。在一些實施方式中，連接子包含MC-Val-Ala-pAB。

【0344】 在各個方面，ADC的抗體部分藉由連接子與藥物部分軛合，其中該連接子包含MC-間隔子單元、可切割胺基酸單元和pABC。在一些實施方式中，連接子包含MC-Val-Cit-pABC。在一些實施方式中，連接子包含MC-Val-Ala-pABC。

【0345】 在各個方面，ADC的抗體部分藉由連接子與藥物部分軛合，其中該連接子包含MC單元、可切割胺基酸單元、pABC和MEC部分。在一些實施方式中，連接子包含MC-Val-Cit-pABC-MEC部分。在一些實施方式中，連接子包含MC-Val-Ala-pABC-MEC部分。

【0346】 在各個方面，ADC的抗體部分藉由連接子與藥物部分軛合，其中該連接子包含MC單元、可切割胺基酸單元、pABC和單元8部分。在一些實施方式中，連接子包含MC-Val-Cit-pABC-單元8部分。在一些實施方式中，連接子包含MC-Val-Ala-pABC-單元8部分。

【0347】 在各個方面，ADC的抗體部分藉由連接子與藥物部分軛合，其中該連接子包含MC單元、可切割胺基酸單元、pABC和單元9部分。在一些實施方式中，連接子包含MC-Val-Cit-pABC-單元9部分。在一些實施方式中，連接子包含MC-Val-Ala-pABC-單元9部分。

【0348】 在各個方面，ADC的抗體部分藉由連接子與藥物部分軛合，其中該連接子包含MC單元、可切割胺基酸單元、pABC和單元11部分。在一些實施方式中，連接子包含MC-Val-Cit-pABC-單元11部分。在一些實施方式中，連接子包含MC-Val-Ala-pABC-單元11部分。

【0349】 在一些實施方式中，抗體部分藉由包含馬來醯亞胺基己醯基部分（MC）和胺基酸的連接子與藥物部分軛合。在一些實施方式中，抗體部分藉由包含馬來醯亞胺基己醯基部分（MC）、胺基酸和pAB的連接子與藥物部分軛合。在一些實施方式中，抗體部分藉由包含馬來醯亞胺基己醯基部分

（MC）、胺基酸和pABC的連接子與藥物部分軛合。在一些實施方式中，抗體部分藉由包含馬來醯亞胺基己醯基部分（MC）、胺基酸、pABC和MEC部分的連接子與藥物部分軛合。在一些實施方式中，抗體部分藉由包含馬來醯亞胺基己醯基部分（MC）、胺基酸、pABC和單元8部分的連接子與藥物部分軛合。在一些實施方式中，抗體部分藉由包含馬來醯亞胺基己醯基部分（MC）、胺基酸、pABC和單元9部分的連接子與藥物部分軛合。在一些實施方式中，抗體部分藉由包含馬來醯亞胺基己醯基部分（MC）、胺基酸、pABC和單元11部分的連接子與藥物部分軛合。

【0350】 在各個方面，ADC的抗體部分藉由連接子與藥物部分軛合，其中該連接子包含Mal-間隔子單元、可切割胺基酸單元和pAB。在一些實施方式中，連接子包含Mal-式 (II)-Val-Cit-pAB。在一些實施方式中，連接子包含Mal-式 (II)-Val-Ala-pAB。在各個方面，ADC的抗體部分藉由連接子與藥物部分軛合，其中該連接子包含Mal-間隔子單元、可切割胺基酸單元和pABC。在一些實施方式中，連接子包含Mal-式 (II)-Val-Cit-pABC。在一些實施方式中，連接子包含Mal-式 (II)-Val-Ala-pABC。

【0351】 在各個方面，ADC的抗體部分藉由連接子與藥物部分軛合，其中該連接子包含Mal單元、可切割胺基酸單元、pABC和MEC部分。在一些實施方式中，連接子包含Mal-式 (II)-Val-Cit-pABC-MEC部分。在一些實施方式中，連接子包含Mal-式 (II)-Val-Ala-pABC-MEC部分。

【0352】 在各個方面，ADC的抗體部分藉由連接子與藥物部分軛合，其中該連接子包含Mal單元、可切割胺基酸單元、pABC和單元8部分。在一些實施方式中，連接子包含Mal-式 (II)-Val-Cit-pABC-單元8部分。在一些實施方式中，連接子包含Mal-式 (II)-Val-Ala-pABC-單元8部分。

【0353】 在各個方面，ADC的抗體部分藉由連接子與藥物部分軛合，其中該連接子包含Mal單元、可切割胺基酸單元、pABC和單元9部分。在一些實施方式中，連接子包含Mal-式 (II)-Val-Cit-pABC-單元9部分。在一些實施方式中，連接子包含Mal-式 (II)-Val-Ala-pABC-單元9部分。

【0354】 在各個方面，ADC的抗體部分藉由連接子與藥物部分軛合，其中該連接子包含Mal單元、可切割胺基酸單元、pABC和單元11部分。在一些實施方式中，連接子包含Mal-式 (II)-Val-Cit-pABC-單元11部分。在一些實施方式中，連接子包含Mal-式 (II)-Val-Ala-pABC-單元11部分。

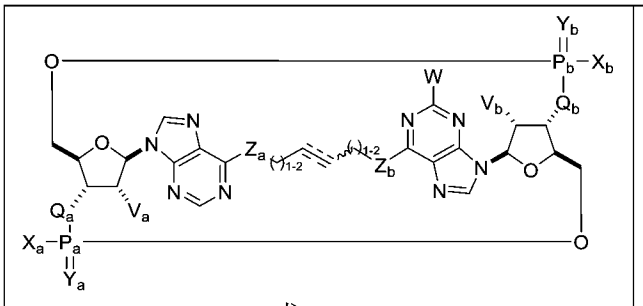
【0355】 在一些實施方式中，藥物部分係化合物1。

【0356】 在一些實施方式中，藥物部分係化合物2。

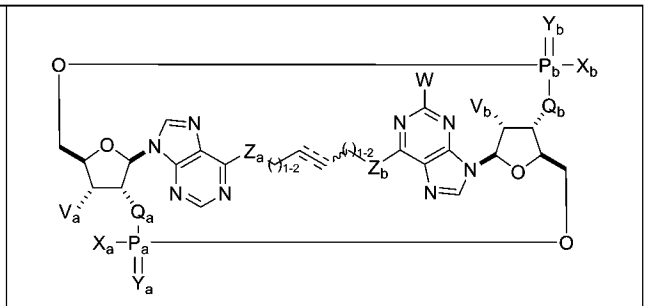
藥物部分

【0357】 本文揭露的連接子-藥物軛合物和ADC的藥物部分（D）可以是任何化療劑。在一些實施方式中，藥物部分係STING促效劑。示例性STING促效劑係本領域中已知的，並且包括環狀二核苷酸、例如大環橋接的STING促效劑，非環狀二核苷酸。在一些實施方式中，藥物部分係非環狀二核苷酸。在一些實施方式中，藥物部分係大環橋接的STING促效劑。

【0358】 本文揭露的連接子-藥物軛合物和ADC的藥物部分包含根據下式之一的化合物：



式 (III)



式 (IV)，

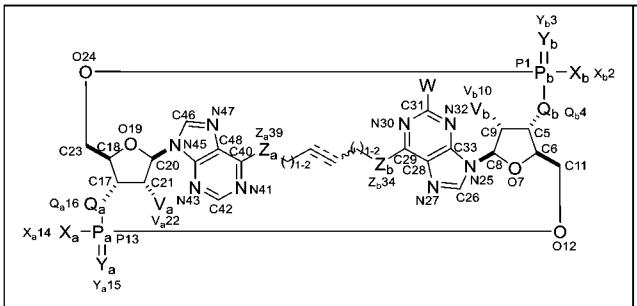
其異構物、該化合物或異構物的氘代衍生物；或者該化合物、異構物或氘代衍生物的鹽；

其中，對於每次出現獨立地是：

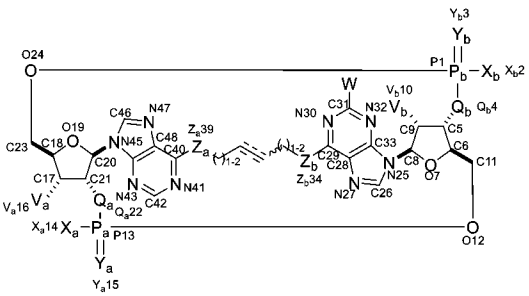
- P_a和P_b中的每個，當不是外消旋時，獨立地選自(*R*)-組態和(*S*)-組態；
- Q_a和Q_b中的每個獨立地選自NH和O；
- V_a和V_b中的每個獨立地選自F和OH；
- W選自H和NH_2；
- X_a和X_b中的每個獨立地選自OH和SH；
- Y_a和Y_b中的每個獨立地選自O和S；
- Z_a和Z_b各自獨立地選自CH_2、O和NH；以及
- ⎓意味著鍵選自單鍵（－）、(*E*)-或(*Z*)-組態的雙鍵（＝）、或三鍵（≡）；

條件係Z_a和Z_b中的至少一個係NH或X_a和X_b中的至少一個係SH。

【0359】 如本文所提及的，式 (III) 和 (IV) 中的原子可以如下所示進行編號：



式 (III)



式 (IV)

。

【0360】 在一些實施方式中，P_a和P_b中的每個係外消旋的。在一些實施方式中，P_a係外消旋的且P_b選自(*R*)-組態和(*S*)-組態。在一些實施方式中，P_a選自

(*R*)-組態和(*S*)-組態且P_b係外消旋的。在一些實施方式中，P_a和P_b中的每個選自(*R*)-組態和(*S*)-組態。

【0361】在一些實施方式中，P_a係(*R*)-組態且P_b係(*R*)-組態。在一些實施方式中，P_a係(*R*)-組態且P_b係(*S*)-組態。在一些實施方式中，P_a係(*S*)-組態且P_b係(*R*)-組態。在一些實施方式中，P_a係(*S*)-組態且P_b係(*S*)-組態。

【0362】在一些實施方式中，Q_a係O且Q_b係O。在一些實施方式中，Q_a係NH且Q_b係O。在一些實施方式中，Q_a係O且Q_b係NH。在一些實施方式中，Q_a係NH且Q_b係NH。

【0363】在一些實施方式中，V_a係OH且V_b係OH。在一些實施方式中，V_a係F且V_b係OH。在一些實施方式中，V_a係OH且V_b係F。在一些實施方式中，V_a係F且V_b係F。

【0364】在一些實施方式中，W係H。在一些實施方式中，W係NH_2。

【0365】在一些實施方式中，X_a係OH且X_b係OH。在一些實施方式中，X_a係SH且X_b係OH。在一些實施方式中，X_a係OH且X_b係SH。在一些實施方式中，X_a係SH且X_b係SH。

【0366】在一些實施方式中，Y_a係O且Y_b係O。在一些實施方式中，Y_a係S且Y_b係O。在一些實施方式中，Y_a係O且Y_b係S。在一些實施方式中，Y_a係S且Y_b係S。

【0367】在一些實施方式中，Z_a係NH且Z_b選自CH_2、O和NH。在一些實施方式中，Z_a係NH且Z_b係CH_2。在一些實施方式中，Z_a係NH且Z_b係O。在一些實施方式中，Z_a係NH且Z_b係NH。

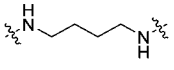
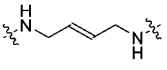
【0368】在一些實施方式中，Z_a係O且Z_b選自CH_2、O和NH。在一些實施方式中，Z_a係O且Z_b係CH_2。在一些實施方式中，Z_a係O且Z_b係O。在一些實施方式中，Z_a係O且Z_b係NH。

【0369】在一些實施方式中，Z_a係CH_2且Z_b選自CH_2、O和NH。在一些實施方式中，Z_a係CH_2且Z_b係CH_2。在一些實施方式中，Z_a係CH_2且Z_b係O。在一些實施方式中，Z_a係CH_2且Z_b係NH。

【0370】在一些實施方式中，═係單鍵。在一些實施方式中，═係(*E*)-組態的雙鍵。在一些實施方式中，═係(*Z*)-組態的雙鍵。在一些實施方式中，═係三鍵。

【0371】在一些實施方式中，X_a和X_b中的至少一個係SH且Z_a和Z_b中的每個獨立地選自CH_2、O和NH。在一些實施方式中，X_a係SH且Z_a和Z_b中的每個獨立地選自CH_2、O和NH。在一些實施方式中，X_b係SH且Z_a和Z_b中的每個獨立地選自CH_2、O和NH。在一些實施方式中，X_a和X_b中的每個係SH且Z_a和Z_b中的每個獨立地選自CH_2、O和NH。

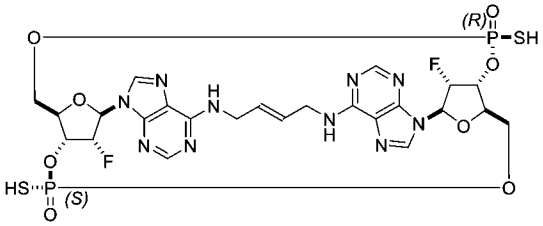
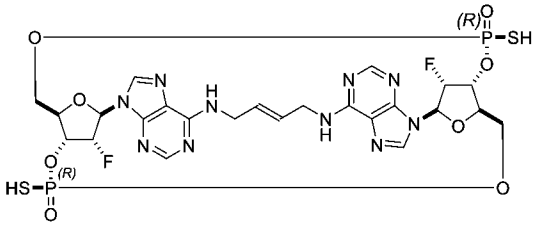
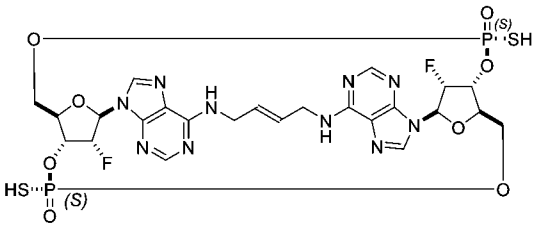
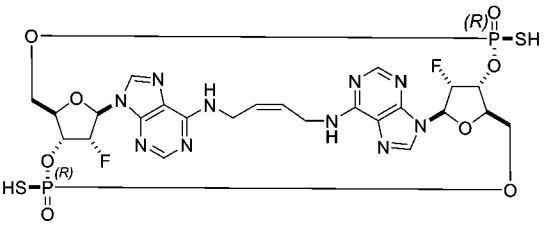
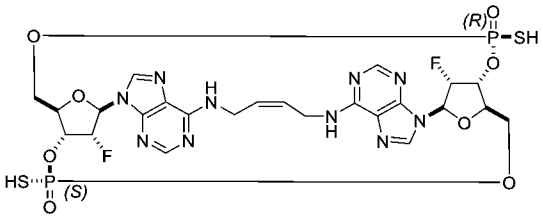
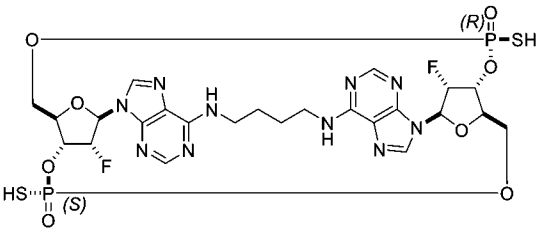
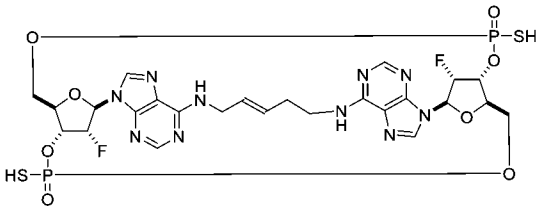
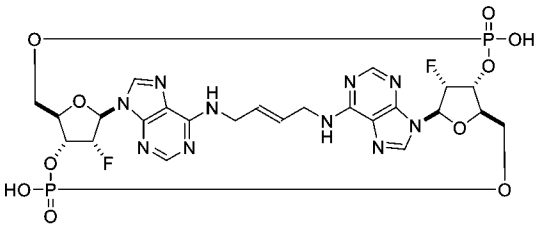
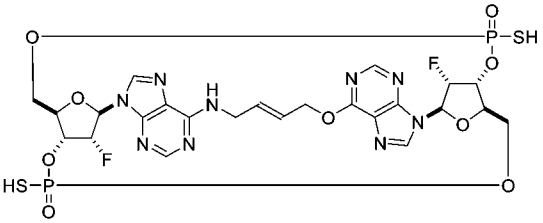
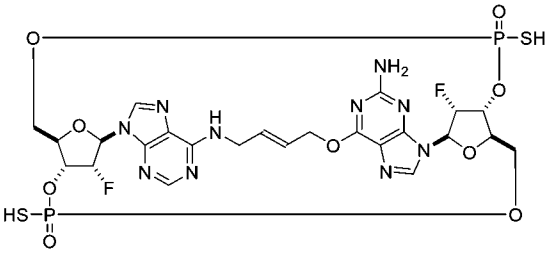
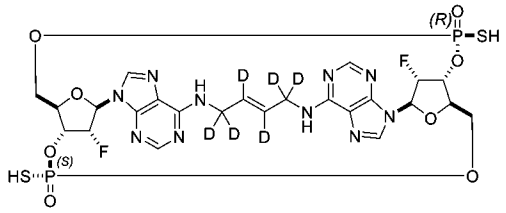
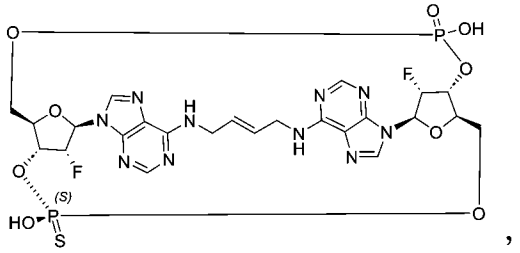
【0372】在一些實施方式中，Z_a和Z_b中的至少一個係NH且X_a和X_b選自OH和SH。在一些實施方式中，Z_a係NH且X_a和X_b選自OH和SH。在一些實施方式中，Z_b係NH且X_a和X_b選自OH和SH。在一些實施方式中，Z_a和Z_b中的每個係NH且X_a和X_b選自OH和SH。

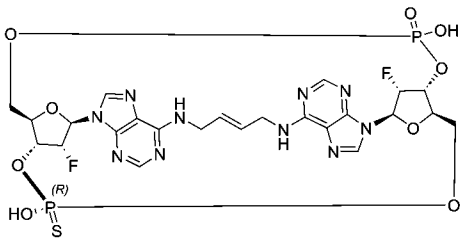
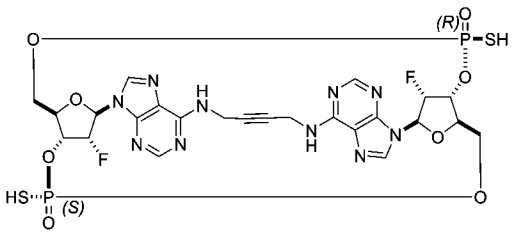
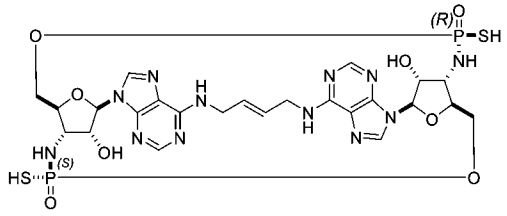
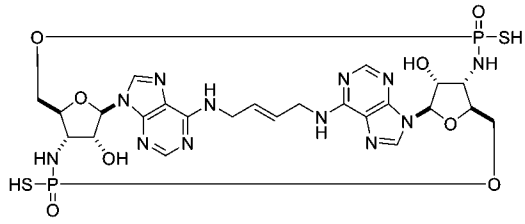
【0373】在一些實施方式中，藥物部分的橋係脂肪族基團，其中至少一個CH_2單元被NH基團替代。在一些實施方式中，脂肪族基團係完全飽和的。在一些實施方式中，脂肪族基團含有至少一個不飽和單元。在一些實施方式中，橋係脂肪族基團，其中一個CH_2單元被NH基團替代。在一些實施方式中，橋係脂肪族基團，其中兩個CH_2單元被NH基團替代。在一些實施方式中，橋原子包含  。在一些實施方式中，橋原子包含  。在一些實施方式中，橋原子包含 。

【0374】在一些實施方式中，D包含具有式 (III) 的化合物且X_a係SH。在一些實施方式中，D包含具有式 (III) 的化合物且X_b係SH。在一些實施方式中，

D包含具有式 (IV) 的化合物且X_a係SH。在一些實施方式中，D包含具有式 (IV) 的化合物且X_b係SH。

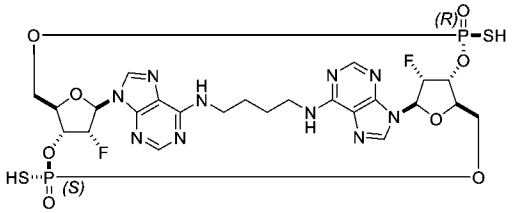
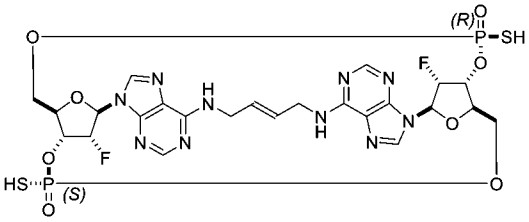
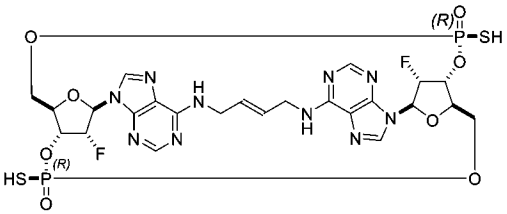
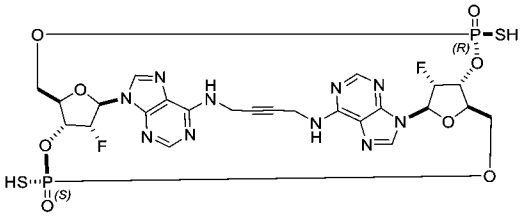
【0375】 在一些實施方式中，D包含選自以下的具有式 (III) 的化合物：


,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,


，

，

和

，

及其鹽。

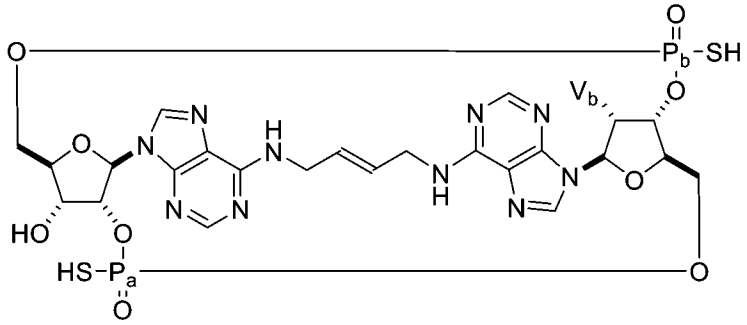
【0376】在一些實施方式中，具有式 (III) 的化合物選自：


，

，

和

，

及其鹽。

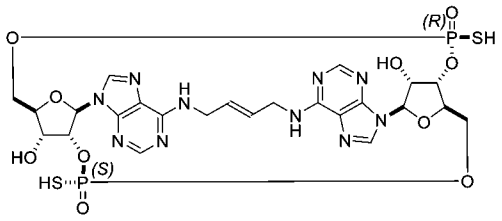
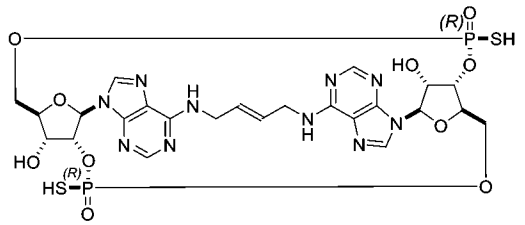
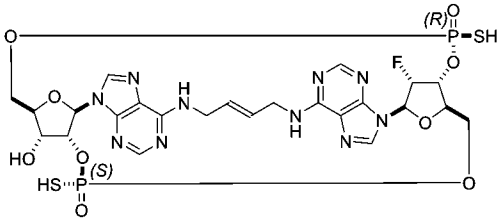
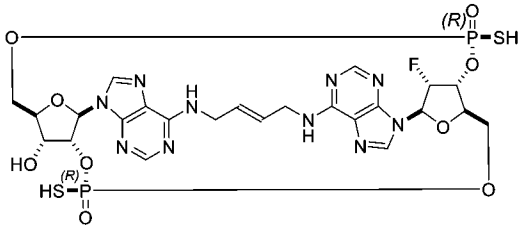
【0377】在一些實施方式中，D包含化合物1。在一些實施方式中，D包含化合物2。

【0378】在一些實施方式中，D包含選自以下的具有式 (IV) 的化合物：


（式 (VII)）

及其鹽。

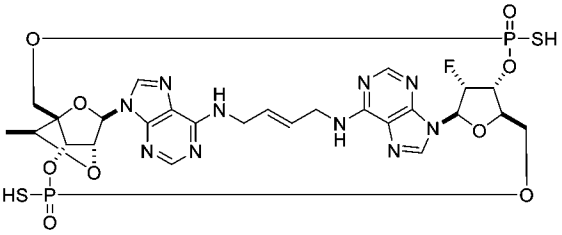
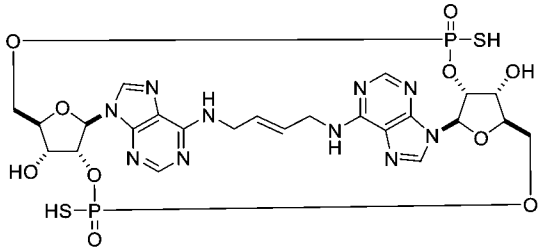
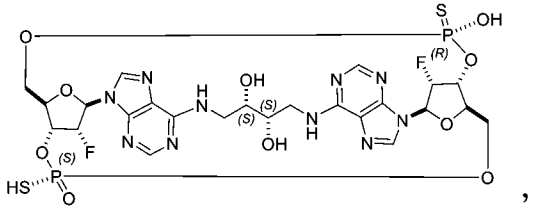
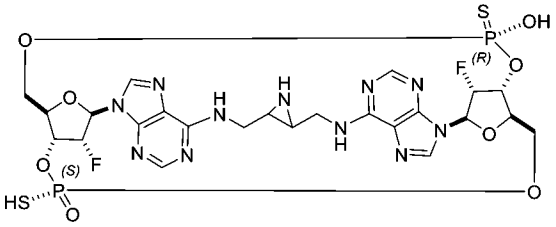
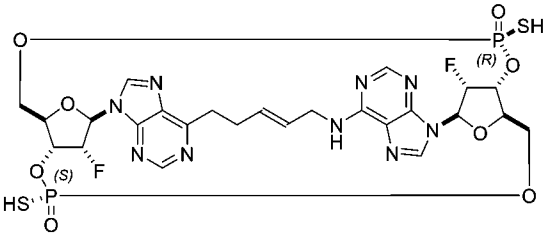
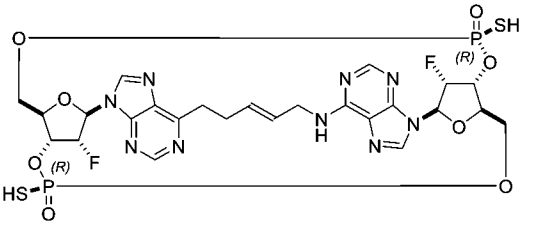
【0379】 在一些實施方式中，D包含選自以下的具有式 (IV) 的化合物：


，

，

和

，

及其鹽。

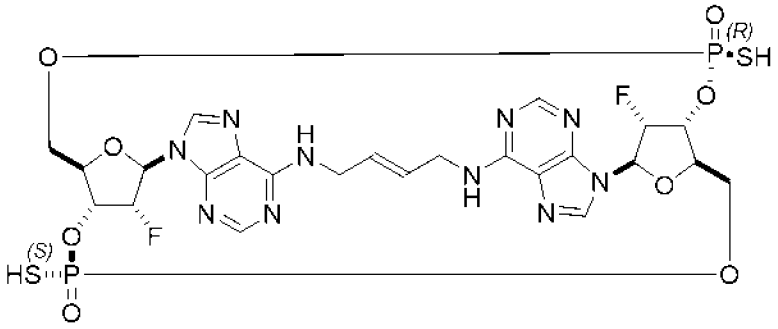
【0380】 在一些實施方式中，D包含化合物1。在一些實施方式中，D包含化合物2。

【0381】 在一些實施方式中，D包含選自以下的化合物：


，

，

，

，

，

，

及其鹽。

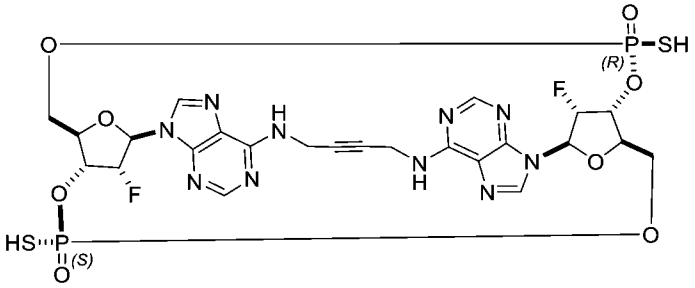
【0382】 在一些實施方式中，STING促效劑係化合物1。化合物1的結構如下所示：



化合物1。

【0383】 如上所述，除非上下文另外說明，否則術語化合物1還涵蓋如上所示結構的鹽。在一些實施方式中，藥物部分係化合物1。在一些實施方式中，連接子、例如ADC的連接子，藉由化合物1上的S-14硫與化合物1附接。在一些實施方式中，連接子、例如ADC的連接子，藉由化合物1上的N-34氮與化合物1附接。在一些實施方式中，連接子、例如ADC的連接子，藉由化合物1上的N-39氮與化合物1附接。在一些實施方式中，ADC的連接子藉由pAB與化合物1上的S-14硫共價附接。在一些實施方式中，pAB係如上所揭露的pAB的類似物。在一些實施方式中，ADC的連接子藉由pABC與化合物1上的N-34氮共價附接。在一些實施方式中，ADC的連接子藉由pABC與化合物1上的N-39氮共價附接。在一些實施方式中，ADC的連接子藉由如下所揭露的第二自消解單元與化合物1上的N-34氮共價附接。在一些實施方式中，ADC的連接子藉由如下所揭露的第二自消解單元與化合物1上的N-39氮共價附接。

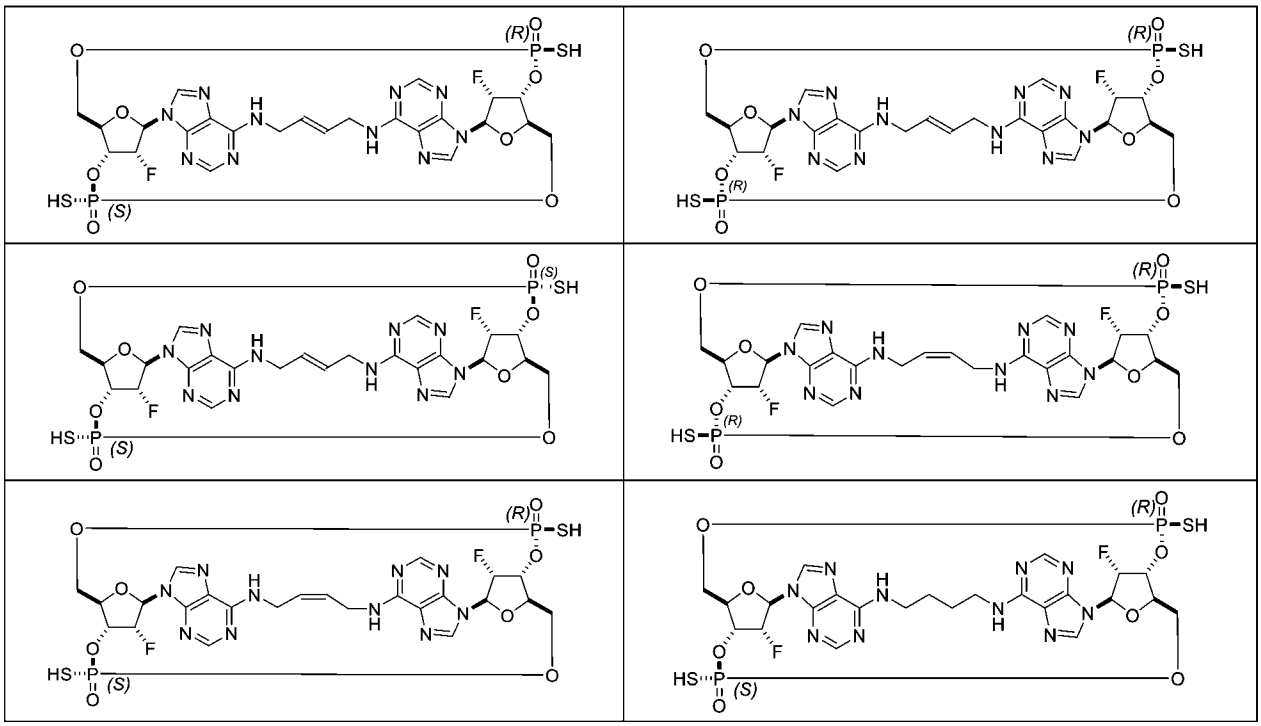
【0384】 在一些實施方式中，STING促效劑係化合物2。化合物2的結構如下所示：

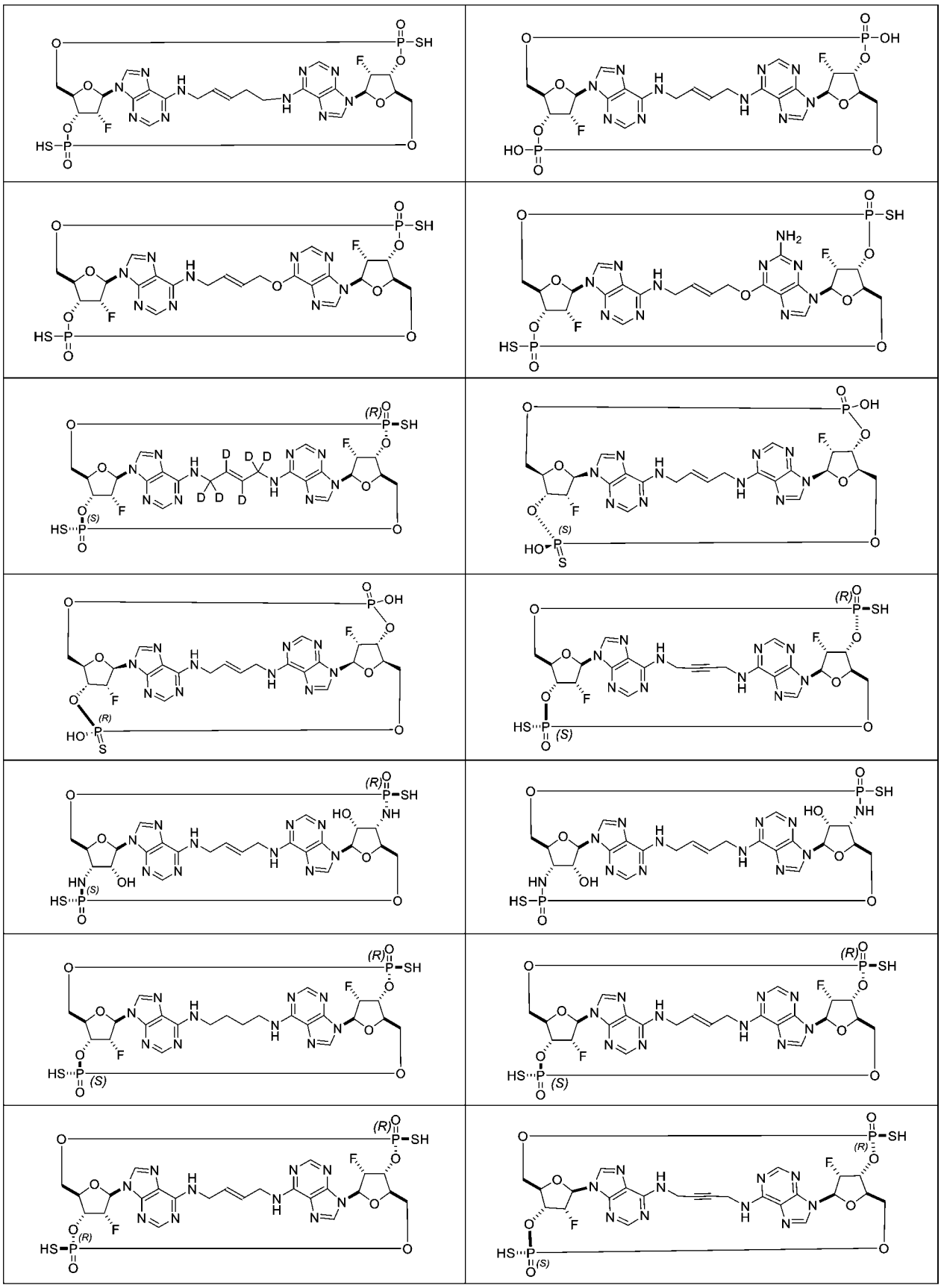


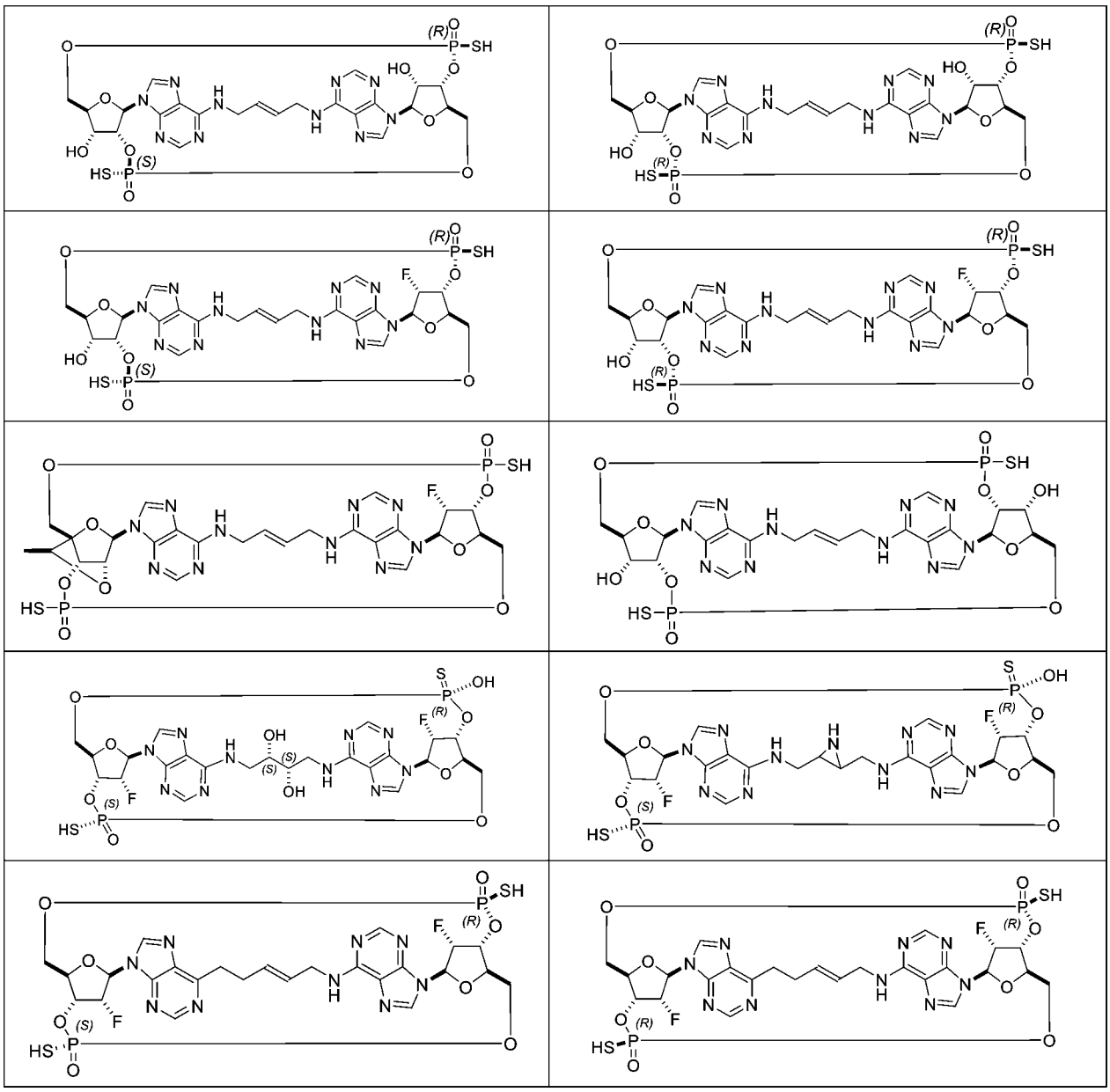
化合物2。

【0385】 除非上下文另外說明，否則術語化合物2還涵蓋如上所示結構的鹽。在一些實施方式中，藥物部分係化合物2。在一些實施方式中，連接子、例如ADC的連接子，藉由化合物2上的S-14硫與化合物1附接。在一些實施方式中，連接子、例如ADC的連接子，藉由化合物2上的N-34氮與化合物1附接。在一些實施方式中，連接子、例如ADC的連接子，藉由化合物2上的N-39氮與化合物1附接。在一些實施方式中，ADC的連接子藉由pAB與化合物2上的S-14硫共價附接。在一些實施方式中，pAB係如上所揭露的pAB的類似物。在一些實施方式中，ADC的連接子藉由pABC與化合物2上的N-34氮共價附接。在一些實施方式中，ADC的連接子藉由pABC與化合物2上的N-39氮共價附接。在一些實施方式中，ADC的連接子藉由如下所揭露的第二自消解單元與化合物2上的N-34氮共價附接。在一些實施方式中，ADC的連接子藉由如下所揭露的第二自消解單元與化合物2上的N-39氮共價附接。在一些實施方式中，STING促效劑選自下文表14的化合物。

【表14】.示例性STING促效劑化合物







【0386】進一步揭露了表14的化合物的異構物，該等化合物和異構物的氘代衍生物；以及該等化合物、異構物和氘代衍生物的鹽。

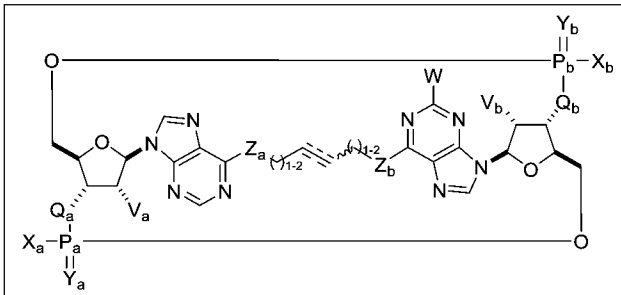
【0387】在某些實施方式中，中間體、例如上文揭露的連接子的前驅體，在適當的條件下與藥物部分反應。在某些實施方式中，在藥物和/或中間體或連接子上使用反應性基團。藥物與中間體或衍生藥物之間的反應產物隨後在適當的條件下與抗體或抗原結合片段反應，例如根據下文討論之方法。可替代

地，連接子或中間體可以首先與抗體或衍生抗體反應，然後與藥物或衍生藥物反應。

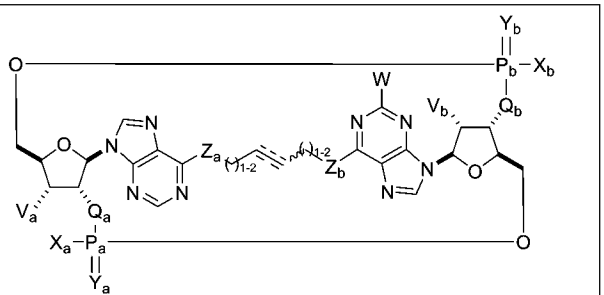
【0388】 許多不同的反應可用於藥物和/或連接子與抗體部分的共價附接。這通常藉由抗體分子的一個或多個胺基酸殘基的反應來完成，包括離胺酸的胺基、麩胺酸和天冬胺酸的游離羧酸基團、半胱胺酸的硫氫基基團以及芳族胺基酸的各個部分。例如，非特異性共價附接可以使用碳二亞胺反應進行，以將化合物上的羧基（或胺基）基團與抗體部分上的胺基（或羧基）基團連接。另外，還可以使用雙官能試劑（如二醛或亞胺酸酯）將化合物上的胺基基團與抗體部分上的胺基基團連接。希夫鹼（Schiff base）反應還可用於將藥物與結合劑附接。此方法涉及過碘酸鹽氧化含有二醇或羥基基團的藥物，由此形成醛，然後使該醛與結合劑反應。藉由與結合劑的胺基基團形成希夫鹼而發生附接。也可以使用異硫氰酸酯作為偶聯劑以用於將藥物與結合劑共價附接。其他技術係技術人員已知的並且處於本揭露的範圍內。

連接子-藥物軛合物

【0389】 本揭露提供了包含L-D的連接子-藥物軛合物，其中L係與D共價附接的可切割連接子。術語「連接子-藥物軛合物」和「連接子-有效載荷軛合物」在本文中可互換使用。本文揭露的連接子-藥物軛合物適合軛合至多種抗體，包括本文揭露的抗PSMA抗體。在L-D的上下文中，D係與L形成共價鍵的化合物，其導致至少一個氫自由基的損失。在L-D的上下文中，D可以是任何能從所揭露的連接子中受益的合適的化合物。在一些實施方式中，D選自本文揭露的任一化合物。在L-D的上下文中，L可以選自本文揭露的任何連接子。D包含根據下式之一的化合物：



式 (III)



式 (IV)，

其異構物、該化合物或異構物的氘代衍生物；或者該化合物、異構物或氘代衍生物的鹽；

其中，對於每次出現獨立地是：

- P_a和P_b中的每個，當不是外消旋時，獨立地選自(*R*)-組態和(*S*)-組態；
- Q_a和Q_b中的每個獨立地選自NH和O；
- V_a和V_b中的每個獨立地選自F和OH；
- W選自H和NH_2；
- X_a和X_b中的每個獨立地選自OH和SH；
- Y_a和Y_b中的每個獨立地選自O和S；
- Z_a和Z_b各自獨立地選自CH_2、O和NH；以及
- ≡意味著鍵選自單鍵（—）、(*E*)-或(*Z*)-組態的雙鍵（＝）、或三鍵（≡）；

條件係Z_a和Z_b中的至少一個係NH或X_a和X_b中的至少一個係SH。

【0390】 在一些實施方式中，P_a和P_b中的每個係外消旋的。在一些實施方式中，P_a係外消旋的且P_b選自(*R*)-組態和(*S*)-組態。在一些實施方式中，P_a選自(*R*)-組態和(*S*)-組態且P_b係外消旋的。在一些實施方式中，P_a和P_b中的每個選自(*R*)-組態和(*S*)-組態。

【0391】在一些實施方式中，P_a係(*R*)-組態且P_b係(*R*)-組態。在一些實施方式中，P_a係(*R*)-組態且P_b係(*S*)-組態。在一些實施方式中，P_a係(*S*)-組態且P_b係(*R*)-組態。在一些實施方式中，P_a係(*S*)-組態且P_b係(*S*)-組態。

【0392】在一些實施方式中，Q_a係O且Q_b係O。在一些實施方式中，Q_a係NH且Q_b係O。在一些實施方式中，Q_a係O且Q_b係NH。在一些實施方式中，Q_a係NH且Q_b係NH。

【0393】在一些實施方式中，V_a係OH且V_b係OH。在一些實施方式中，V_a係F且V_b係OH。在一些實施方式中，V_a係OH且V_b係F。在一些實施方式中，V_a係F且V_b係F。

【0394】在一些實施方式中，W係H。在一些實施方式中，W係NH_2。

【0395】在一些實施方式中，X_a係OH且X_b係OH。在一些實施方式中，X_a係SH且X_b係OH。在一些實施方式中，X_a係OH且X_b係SH。在一些實施方式中，X_a係SH且X_b係SH。

【0396】在一些實施方式中，Y_a係O且Y_b係O。在一些實施方式中，Y_a係S且Y_b係O。在一些實施方式中，Y_a係O且Y_b係S。在一些實施方式中，Y_a係S且Y_b係S。

【0397】在一些實施方式中，Z_a係NH且Z_b選自CH_2、O和NH。在一些實施方式中，Z_a係NH且Z_b係CH_2。在一些實施方式中，Z_a係NH且Z_b係O。在一些實施方式中，Z_a係NH且Z_b係NH。

【0398】在一些實施方式中，Z_a係O且Z_b選自CH_2、O和NH。在一些實施方式中，Z_a係O且Z_b係CH_2。在一些實施方式中，Z_a係O且Z_b係O。在一些實施方式中，Z_a係O且Z_b係NH。

【0399】在一些實施方式中，Z_a係CH_2且Z_b選自CH_2、O和NH。在一些實施方式中，Z_a係CH_2且Z_b係CH_2。在一些實施方式中，Z_a係CH_2且Z_b係O。在一些實施方式中，Z_a係CH_2且Z_b係NH。

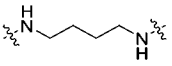
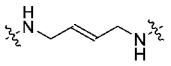
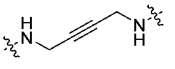
【0400】在一些實施方式中，═係單鍵。在一些實施方式中，═係(*E*)-組態的雙鍵。在一些實施方式中，═係(*Z*)-組態的雙鍵。在一些實施方式中，═係三鍵。

【0401】在一些實施方式中，X_a和X_b中的至少一個係SH且Z_a和Z_b中的每個獨立地選自CH_2、O和NH。在一些實施方式中，X_a係SH且Z_a和Z_b中的每個獨立地選自CH_2、O和NH。在一些實施方式中，X_b係SH且Z_a和Z_b中的每個獨立地選自CH_2、O和NH。在一些實施方式中，X_a和X_b中的每個係SH且Z_a和Z_b中的每個獨立地選自CH_2、O和NH。

【0402】在一些實施方式中，Z_a和Z_b中的至少一個係NH且X_a和X_b選自OH和SH。在一些實施方式中，Z_a係NH且X_a和X_b選自OH和SH。在一些實施方式中，Z_b係NH且X_a和X_b選自OH和SH。在一些實施方式中，Z_a和Z_b中的每個係NH且X_a和X_b選自OH和SH。

【0403】在一些實施方式中，D包含具有式 (III) 的化合物且X_a係SH。在一些實施方式中，D包含具有式 (III) 的化合物且X_b係SH。在一些實施方式中，D包含具有式 (IV) 的化合物且X_a係SH。在一些實施方式中，D包含具有式 (IV) 的化合物且X_b係SH。

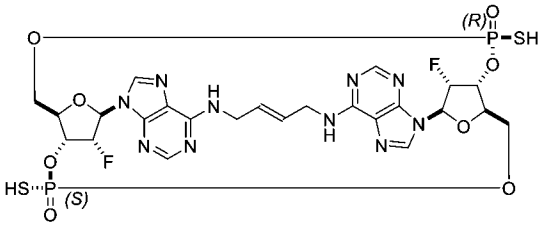
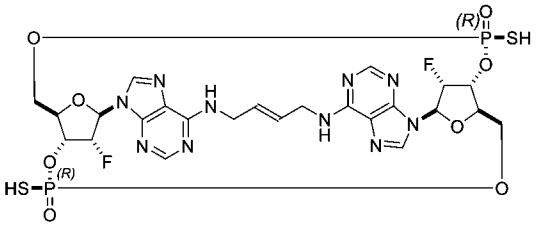
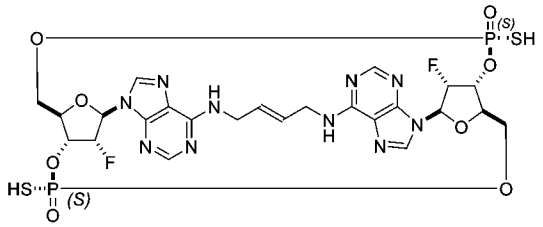
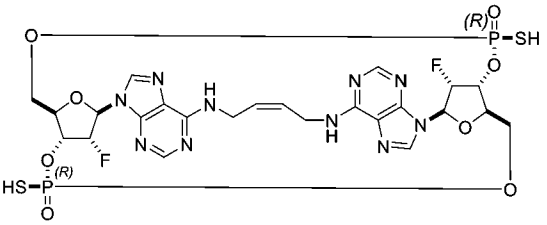
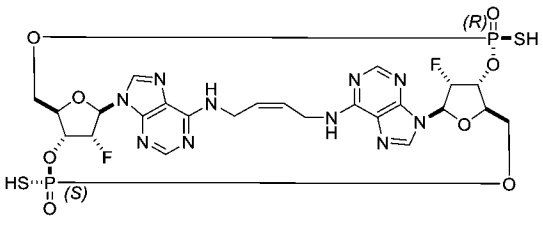
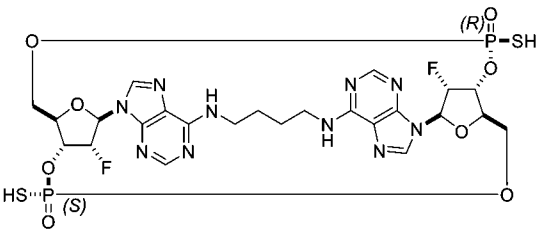
【0404】在一些實施方式中，連接子-藥物軛合物的橋係脂肪族基團，其中至少一個CH_2單元被NH基團替代。在一些實施方式中，脂肪族基團係完全飽和的。在一些實施方式中，脂肪族基團含有至少一個不飽和單元。在一些實施方式中，橋係脂肪族基團，其中一個CH_2單元被NH基團替代。在一些實施方式中，橋係脂肪族基團，其中兩個CH_2單元被NH基團替代。在一些實施方式中，

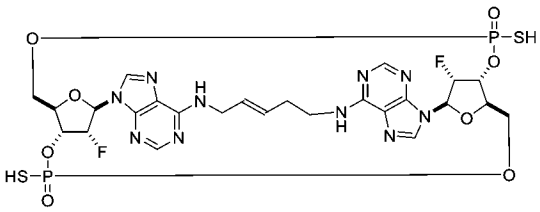
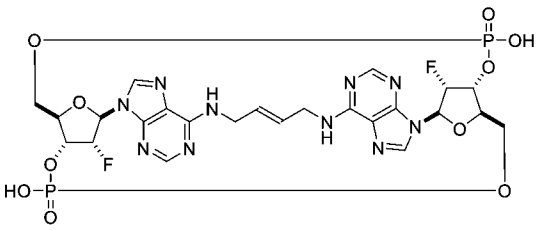
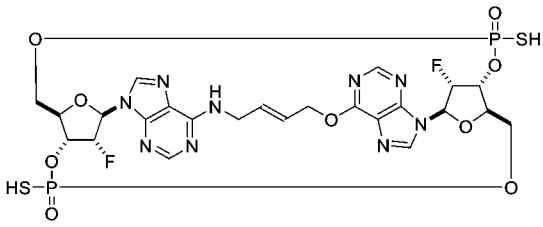
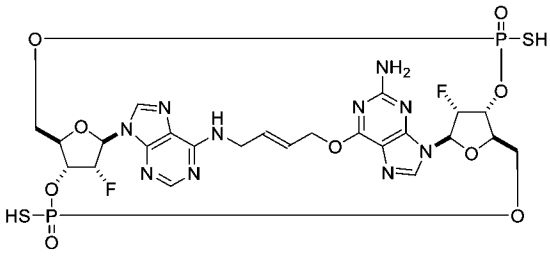
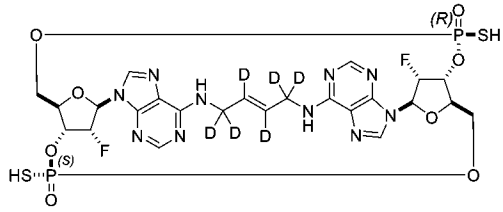
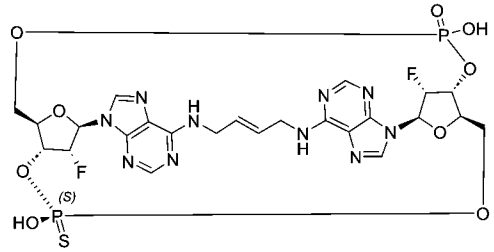
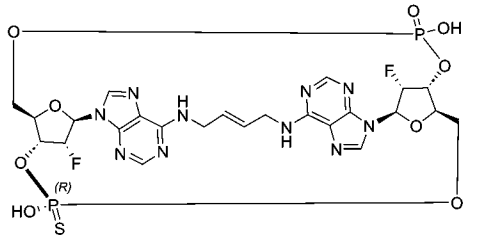
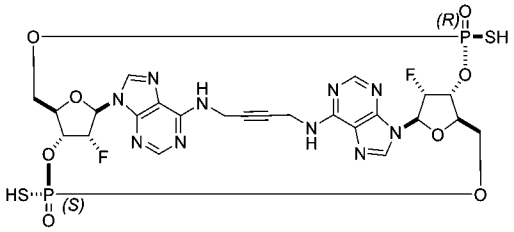
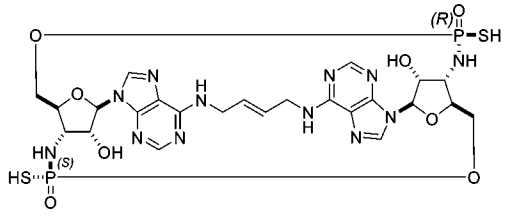
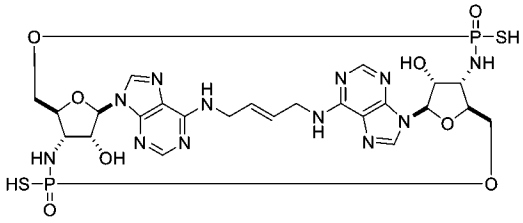
橋原子包含  。在一些實施方式中，橋原子包含  。在一些實施方式中，橋原子包含  。在一些實施方式中，L藉由硫原子與D附接。在一些實施方式中，L在S-2硫或S-14硫處與D附接。在一些實施方式中，L在S-2硫處與D附接。在一些實施方式中，L在S-14硫處與D附接。

【0405】 在一些實施方式中，D包含具有式 (III) 的化合物且Z_a係NH。在一些實施方式中，D包含具有式 (III) 的化合物且Z_b係NH。在一些實施方式中，D包含具有式 (IV) 的化合物且Z_a係NH。在一些實施方式中，D包含具有式 (IV) 的化合物且Z_b係NH。

【0406】 在一些實施方式中，L藉由橋氮原子與D附接。在一些實施方式中，L在N-34氮或N-39氮處與D附接。在一些實施方式中，L在N-34氮處與D附接。在一些實施方式中，L在N-39氮處與D附接。

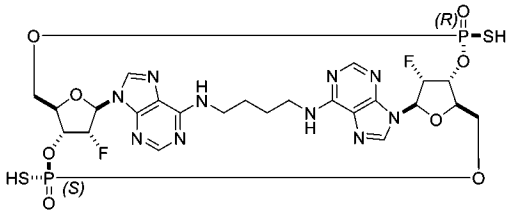
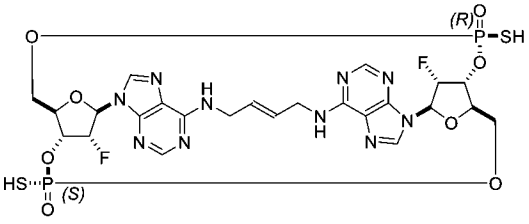
【0407】 在一些實施方式中，D包含具有式 (III) 的化合物。示例性具有式 (III) 的化合物如下所示。在一些實施方式中，D包含選自以下的具有式 (III) 的化合物：

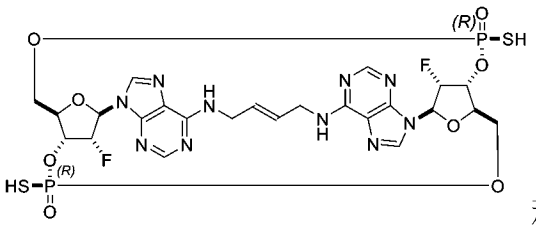
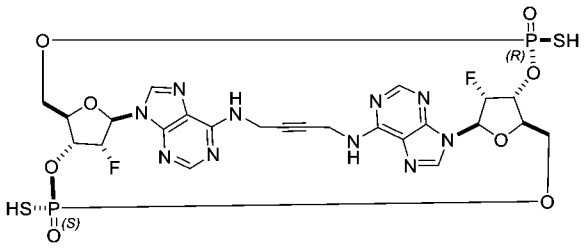

,

,

,

,

,

,


,

,

,

,

,

,

,

,

和

,

及其鹽。

【0408】在一些實施方式中，具有式 (III) 的化合物選自：

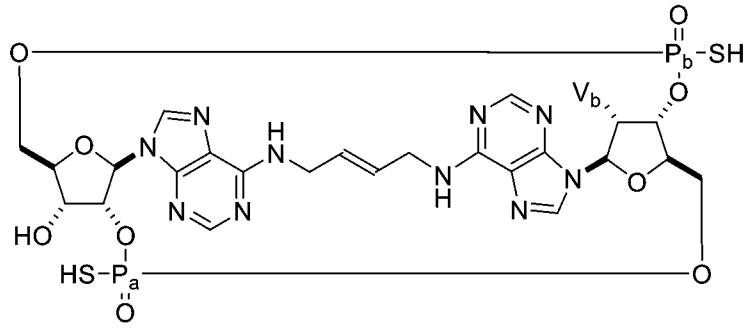

,

,


和

，

及其鹽。

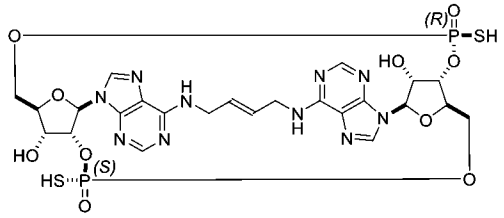
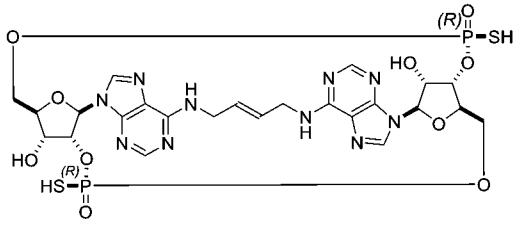
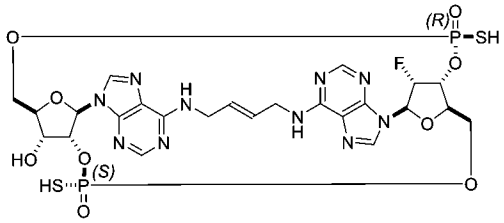
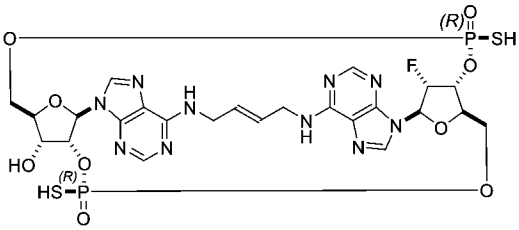
【0409】在一些實施方式中，D包含化合物1。在一些實施方式中，D包含化合物2。

【0410】在一些實施方式中，D包含選自以下的具有式 (IV) 的化合物：


（式 (VII)）

及其鹽。

【0411】在一些實施方式中，D包含選自以下的具有式 (IV) 的化合物：


，

，

和

，

及其鹽。

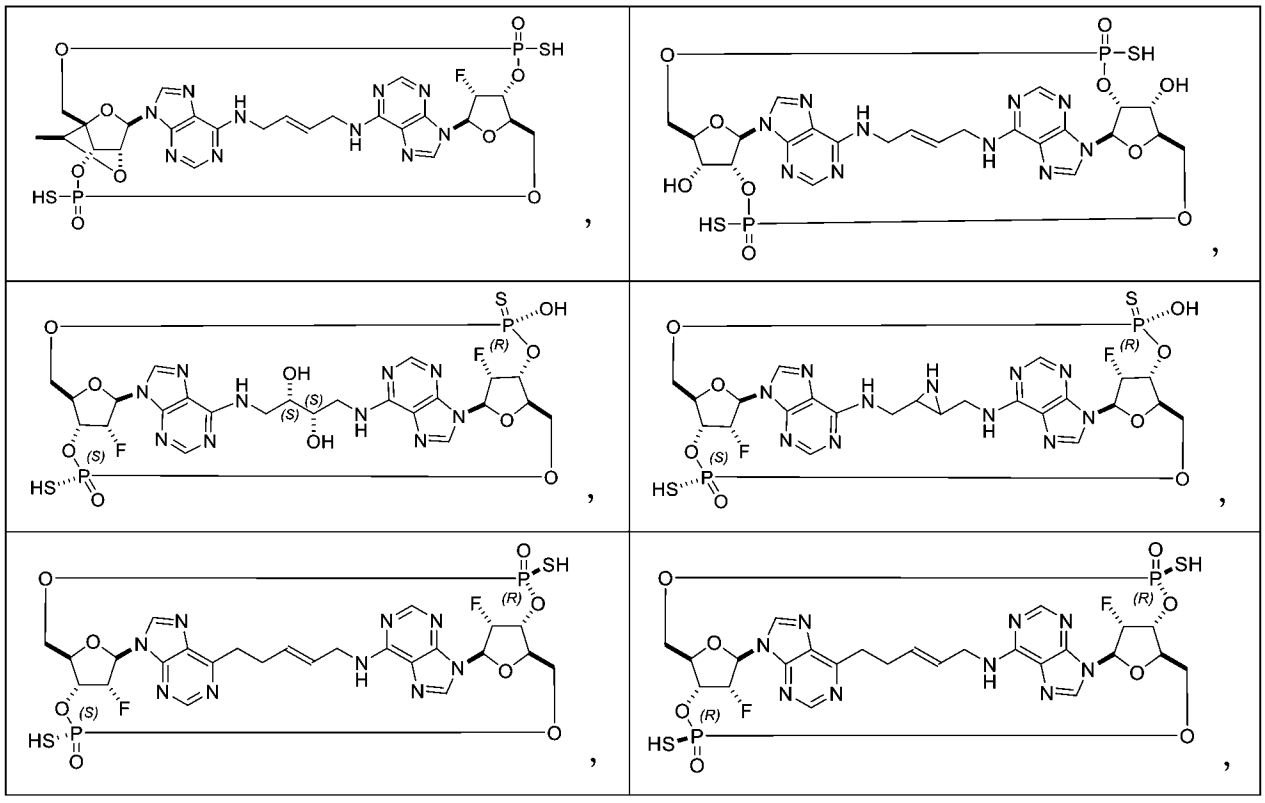
【0412】在一些實施方式中，X_a或X_b係SH並且L藉由S-2硫或S-14硫處的硫原子與D附接。在一些實施方式中，Z_a或Z_b係NH並且L藉由N-34氮或N-39氮處的氮原子與D附接。

【0413】 在一些實施方式中，D包含具有式 (III) 的化合物，X_a係SH並且L在S-2硫處與D附接。在一些實施方式中，D包含具有式 (III) 的化合物，X_b係SH並且L在S-14硫處與D附接。在一些實施方式中，D包含具有式 (III) 的化合物，Z_a係NH並且L在N-34氮處與D附接。在一些實施方式中，D包含具有式 (III) 的化合物，Z_b係NH並且L在N-39氮處與D附接。

【0414】 在一些實施方式中，D包含具有式 (IV) 的化合物並且L在S-2硫處與D附接。在一些實施方式中，D包含具有式 (IV) 的化合物並且L在S-14硫處與D附接。在一些實施方式中，D包含具有式 (IV) 的化合物並且L在N-34氮處與D附接。在一些實施方式中，D包含具有式 (IV) 的化合物並且L在N-39氮處與D附接。

【0415】 在一些實施方式中，D包含化合物1。在一些實施方式中，D包含化合物2。

【0416】 本揭露提供了包含L-D的連接子-有效載荷軛合物，其中L係與D共價附接的可切割連接子，其中D包含選自以下的化合物：



及其鹽。

【0417】 在一些實施方式中，L藉由S-2硫或S-14硫處的硫原子與D附接。在一些實施方式中，L在S-2硫處與D附接。在一些實施方式中，L在S-14硫處與D附接。

【0418】 在一些實施方式中，L藉由N-34氮或N-39氮處的氮原子與D附接。在一些實施方式中，L在N-34氮處與D附接。在一些實施方式中，L在N-39氮處與D附接。

【0419】 在包含L-D的連接子-有效載荷靶合物的一些實施方式中，L係本文揭露的任何連接子。在包含L-D的連接子-有效載荷靶合物的一些實施方式中，D係本文揭露的任何藥物部分。

【0420】 在包含L-D的連接子-有效載荷靶合物的一些實施方式中，其中L係與D共價附接的可切割連接子，該可切割連接子包含可切割肽部分。在一些實施方式中，可切割肽部分可被蛋白酶切割。在一些實施方式中，蛋白酶係半胱胺酸蛋白酶或組織蛋白酶。在一些實施方式中，可切割肽部分包含胺基酸單元。在一些實施方式中，胺基酸單元包含Val-Ala、Val-Cit、Val-Lys、Ala-Ala-Asn、Ala-(NMe)Ala-Asn、Asn、Gly-Gly-Phe-Gly、或Gly-Val-Ala。在一些實施方式中，胺基酸單元包含Val-Ala。在一些實施方式中，胺基酸單元包含Val-Cit。

【0421】 在一些實施方式中，連接子-有效載荷靶合物包含Val-Ala，並且D選自表14的化合物。在一些實施方式中，連接子-有效載荷靶合物包含Val-Cit，並且D選自表14的化合物。

【0422】 在一些實施方式中，連接子-有效載荷靶合物包含式 (II)，並且D選自表14的化合物。

【0423】在一些實施方式中，連接子-有效載荷軛合物包含式 (II)-Val-Ala，並且D選自表14的化合物。在一些實施方式中，連接子-有效載荷軛合物包含式 (II)-Val-Cit，並且D選自表14的化合物。

【0424】在一些實施方式中，連接子-藥物軛合物包含MC-Val-Cit-pABC-MEC-化合物1。在一些實施方式中，連接子-藥物軛合物包含MC-Val-Ala-pABC-MEC-化合物1（例如LP1或LP2）。在一些實施方式中，連接子-藥物軛合物包含MC-Val-Cit-pABC-單元8-化合物1。在一些實施方式中，連接子-藥物軛合物包含MC-Val-Ala-pABC-單元8-化合物1（例如LP16）。在一些實施方式中，連接子-藥物軛合物包含MC-Val-Cit-pABC-單元9-化合物1。在一些實施方式中，連接子-藥物軛合物包含MC-Val-Ala-pABC-單元9-化合物1（例如LP20）。在一些實施方式中，連接子-藥物軛合物包含MC-Val-Cit-pABC-單元11-化合物1。在一些實施方式中，連接子-藥物軛合物包含MC-Val-Ala-pABC-單元11-化合物1（例如LP28）。

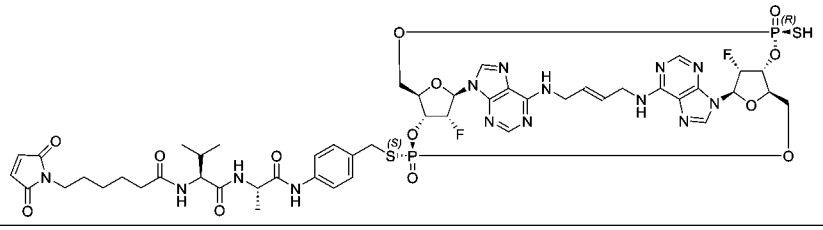
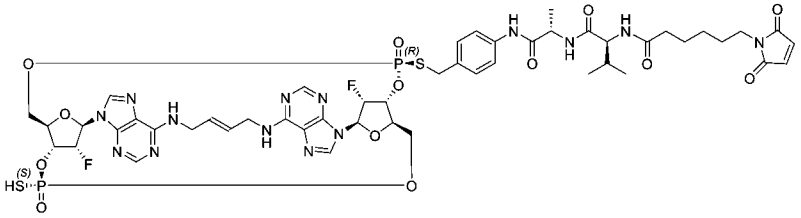
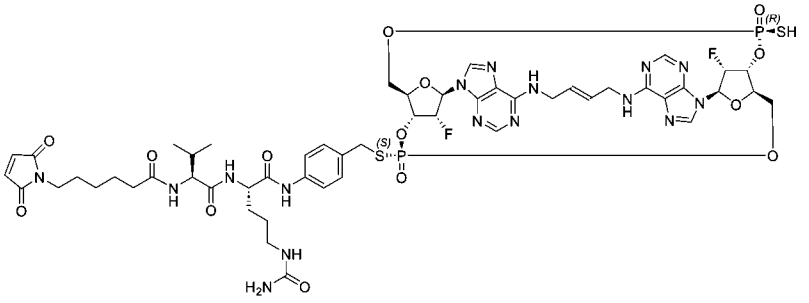
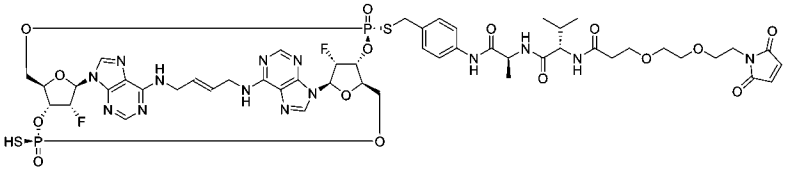
【0425】在一些實施方式中，連接子-藥物軛合物包含Mal-式 (II)-Val-Cit-pABC-MEC-化合物1。在一些實施方式中，連接子-藥物軛合物包含Mal-式 (II)-Val-Cit-pABC-單元8-化合物1。在一些實施方式中，連接子-藥物軛合物包含Mal-式 (II)-Val-Cit-pABC-單元9-化合物1。在一些實施方式中，連接子-藥物軛合物包含Mal-式 (II)-Val-Cit-pABC-單元11-化合物1。在一些實施方式中，連接子-藥物軛合物包含Mal-式 (II)-Val-Ala-pABC-MEC-化合物1。在一些實施方式中，連接子-藥物軛合物包含Mal-式 (II)-Val-Ala-pABC-單元8-化合物1。在一些實施方式中，連接子-藥物軛合物包含Mal-式 (II)-Val-Ala-pABC-單元9-化合物1。在一些實施方式中，連接子-藥物軛合物包含Mal-式 (II)-Val-Ala-pABC-單元11-化合物1。

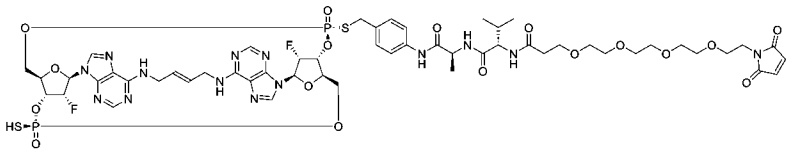
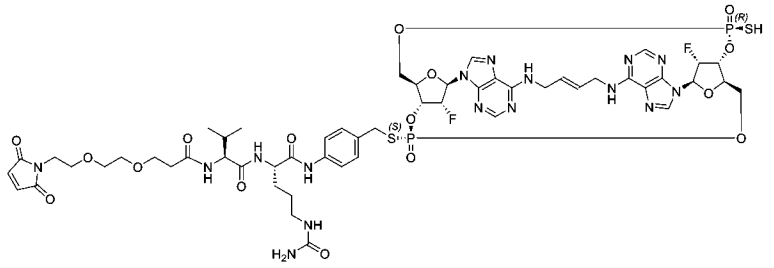
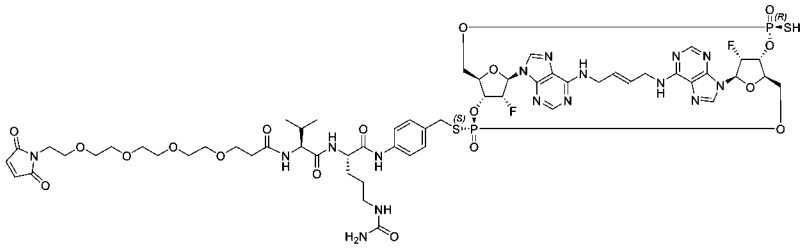
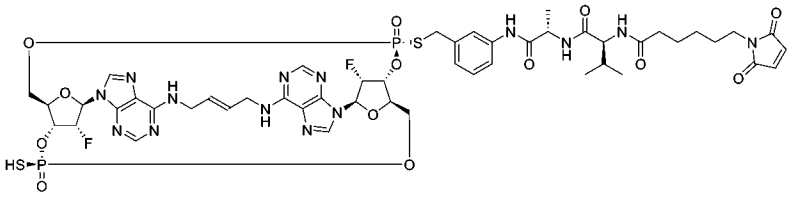
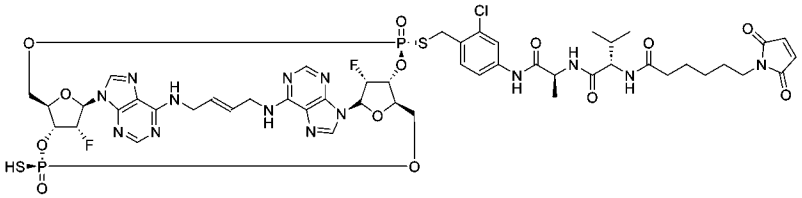
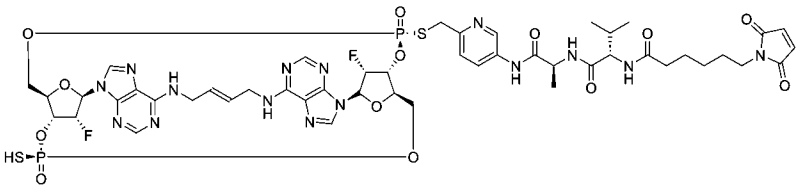
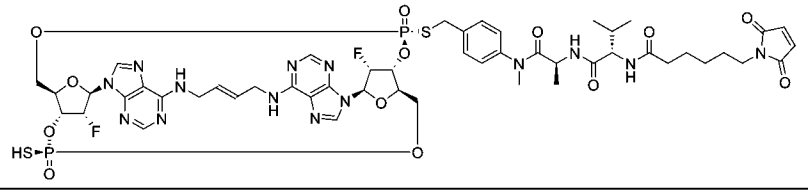
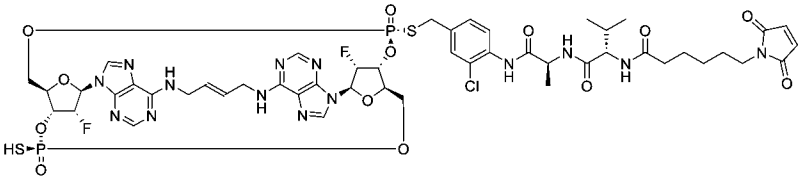
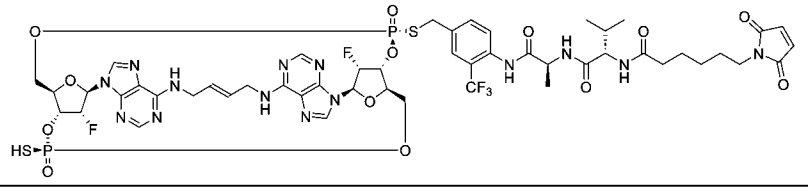
【0426】 在一些實施方式中，連接子-藥物軛合物包含Mal-式 (II)-Val-Cit-pAB-單元9-化合物1。在一些實施方式中，連接子-藥物軛合物包含Mal-式 (II)-Val-Ala-pAB-單元9-化合物1。在一些實施方式中，連接子-藥物軛合物包含LP25。

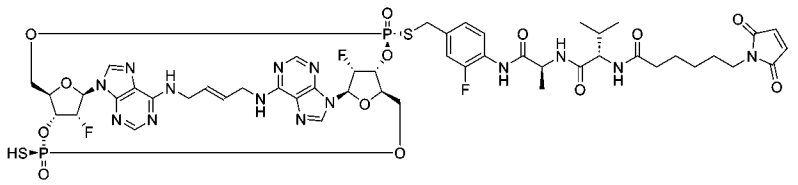
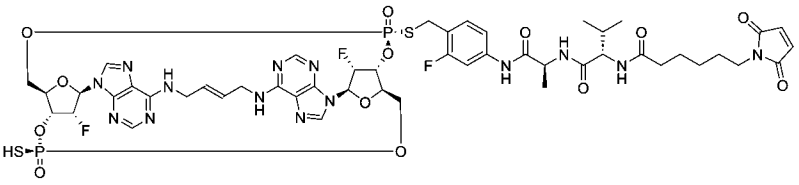
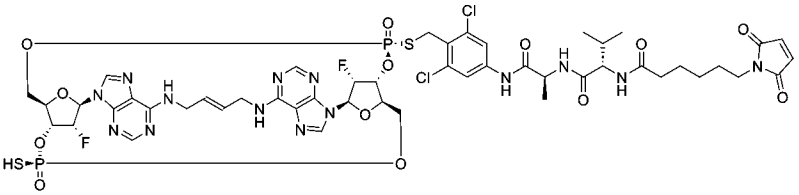
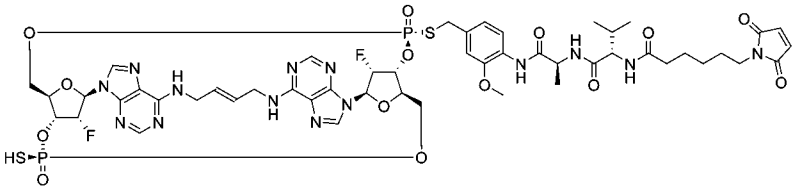
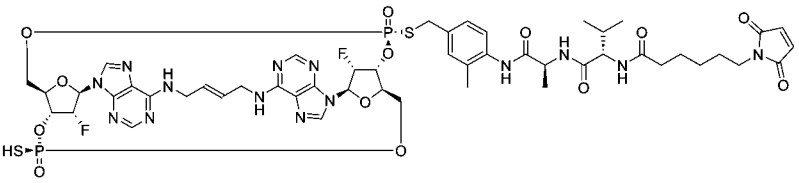
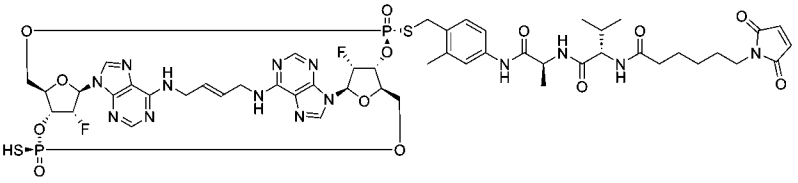
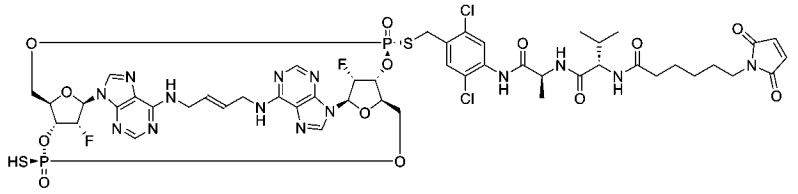
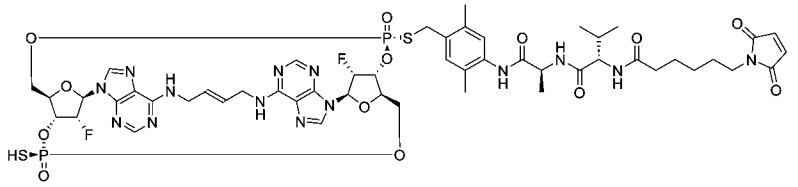
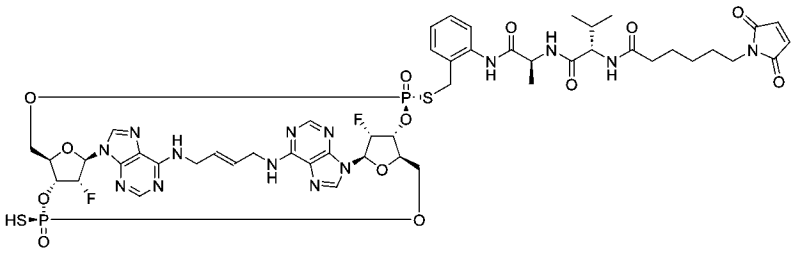
【0427】 在一些實施方式中，連接子-藥物軛合物包含Mal-式 (II)-Val-Cit-pAB-單元11-化合物1。在一些實施方式中，連接子-藥物軛合物包含Mal-式 (II)-Val-Ala-pAB-單元11-化合物1。在一些實施方式中，連接子-藥物軛合物包含LP26。

【0428】 本發明之示例性連接子-藥物軛合物揭露於下文表15和16中。在各個實施方式中，連接子-藥物軛合物選自表15和16中所示的連接子-藥物軛合物。

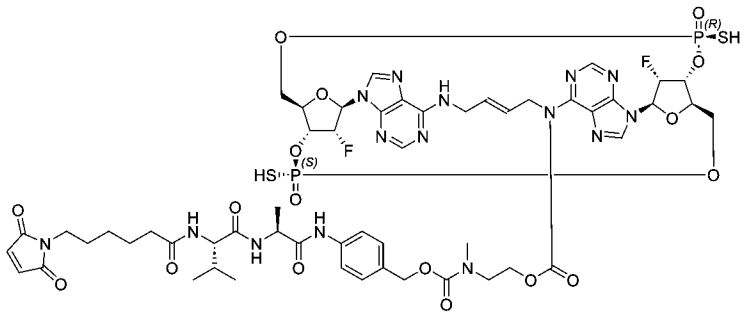
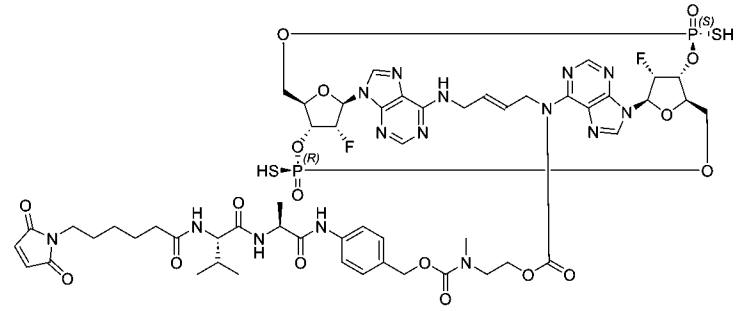
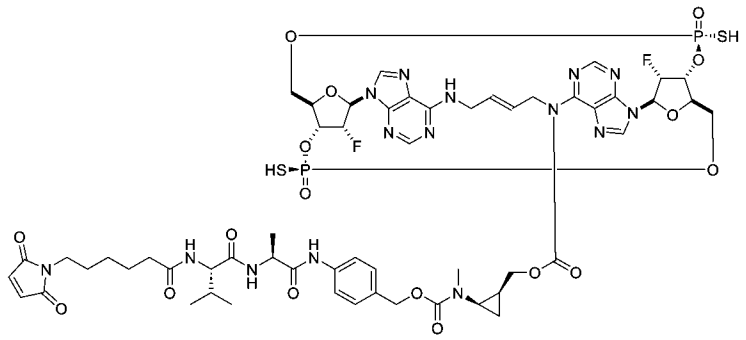
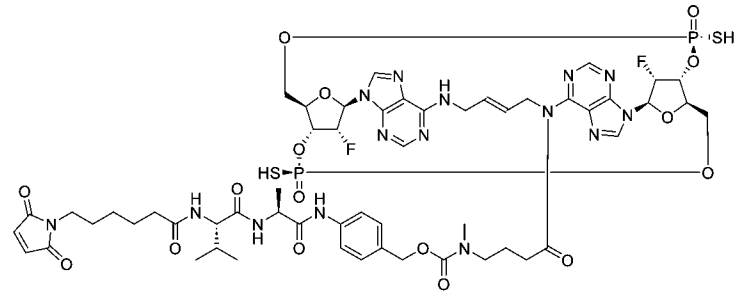
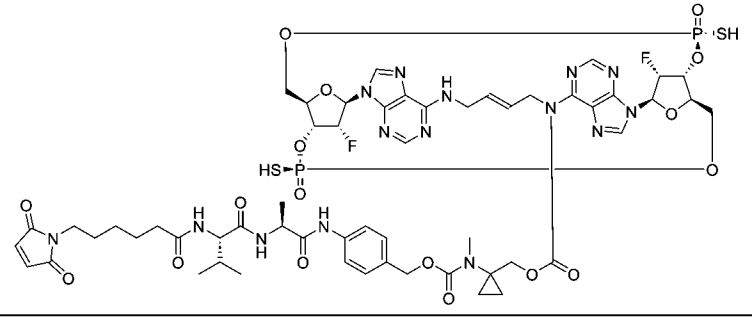
【表**15**】.示例性S附接的連接子-藥物軛合物

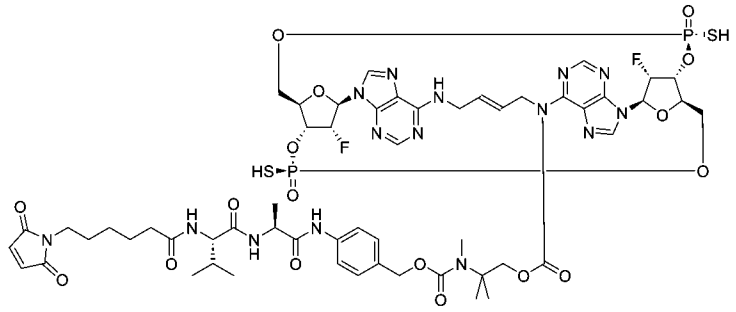
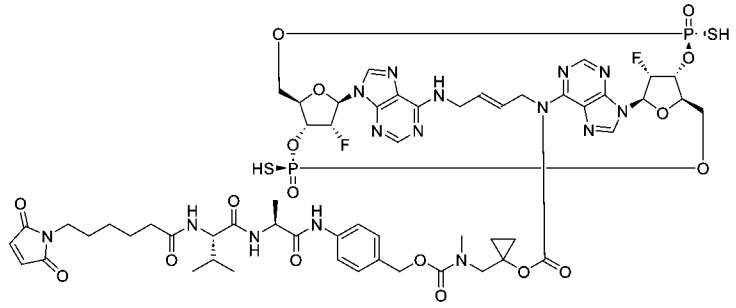
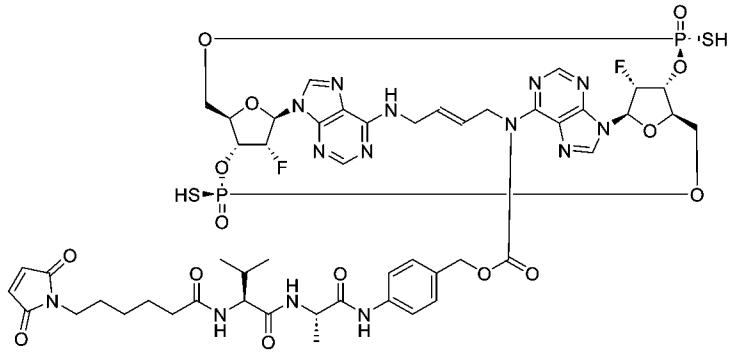
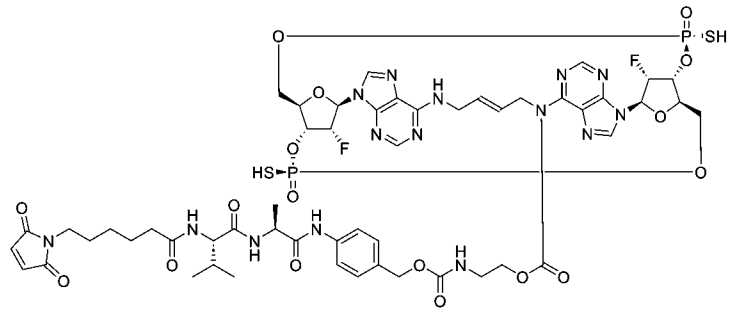
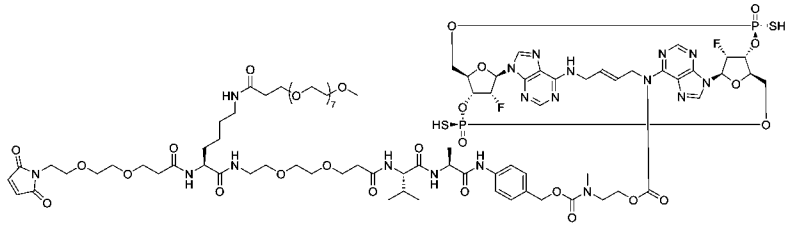
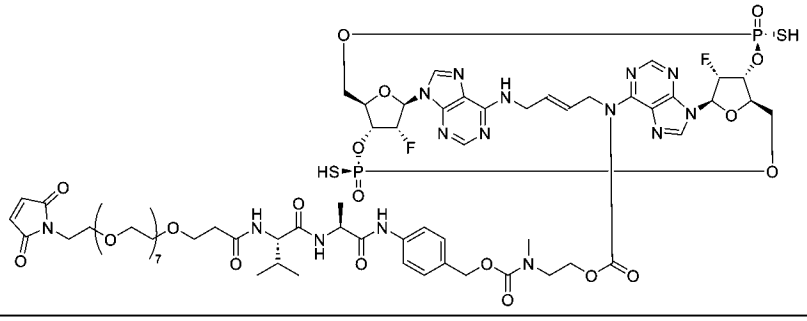
LP3	
LP33	
LP34	
LP35	

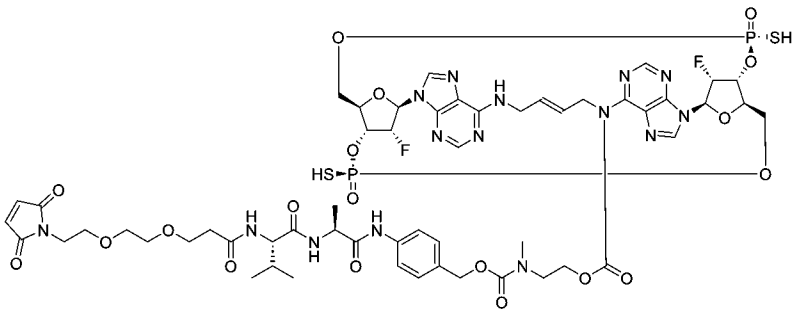
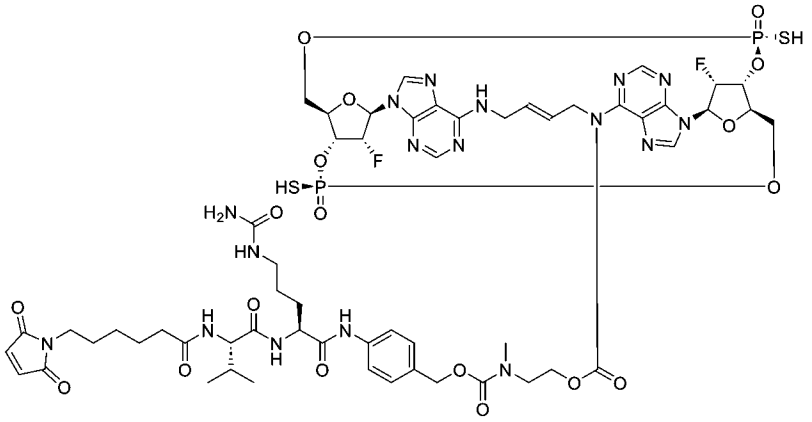
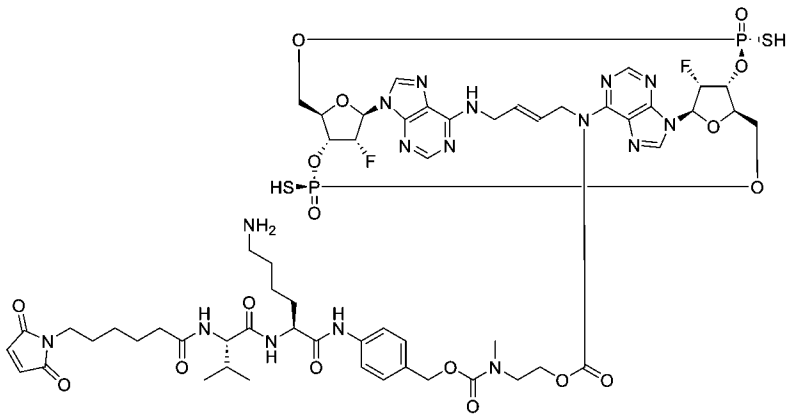
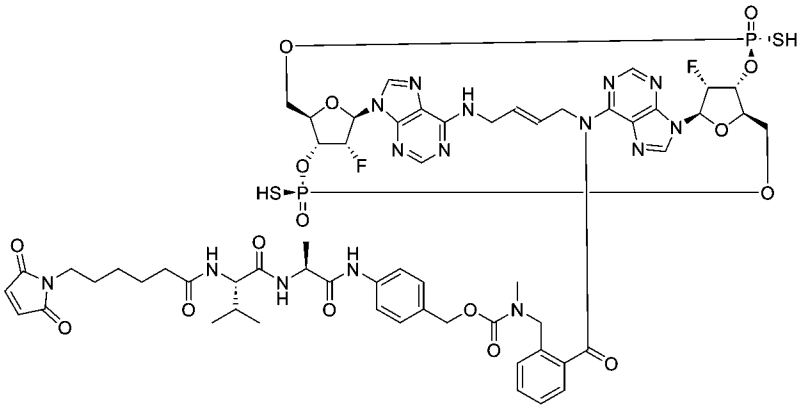
LP36	
LP37	
LP38	
LP39	
LP40	
LP41	
LP42	
LP43	
LP44	

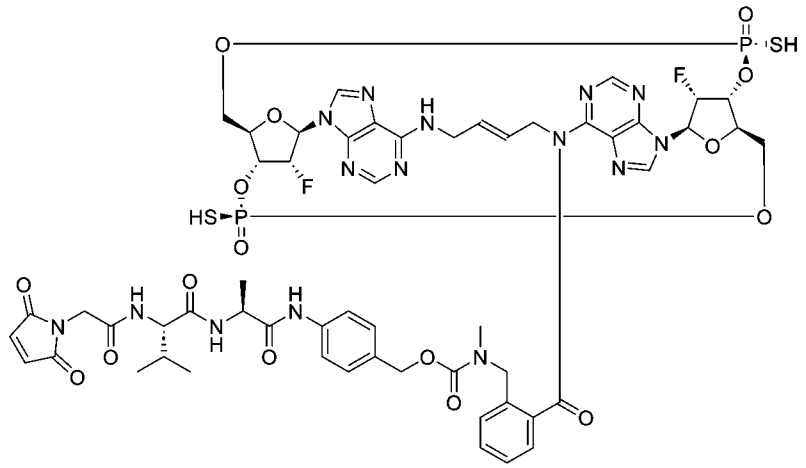
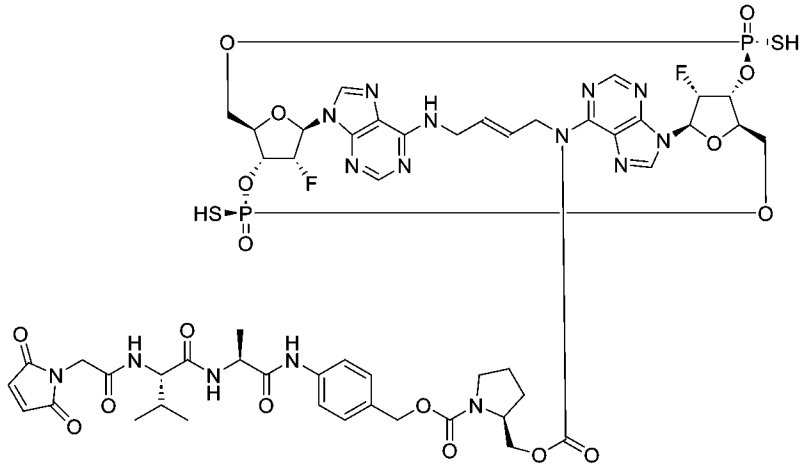
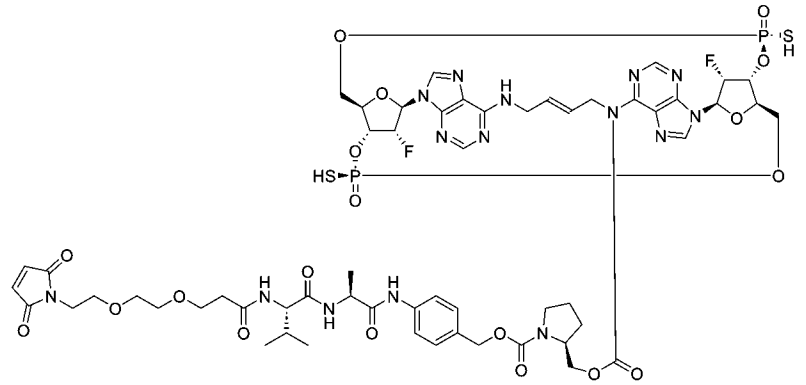
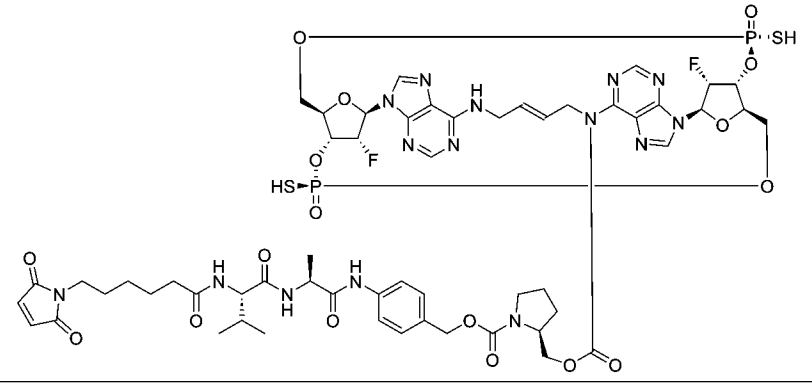
LP45	
LP46	
LP47	
LP48	
LP49	
LP50	
LP51	
LP52	
LP53	

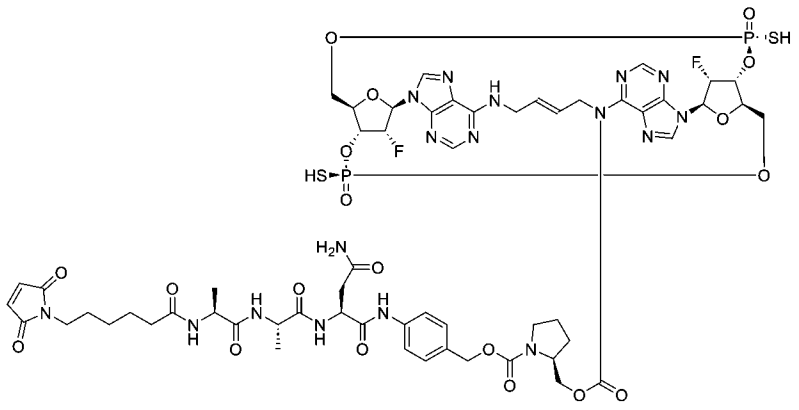
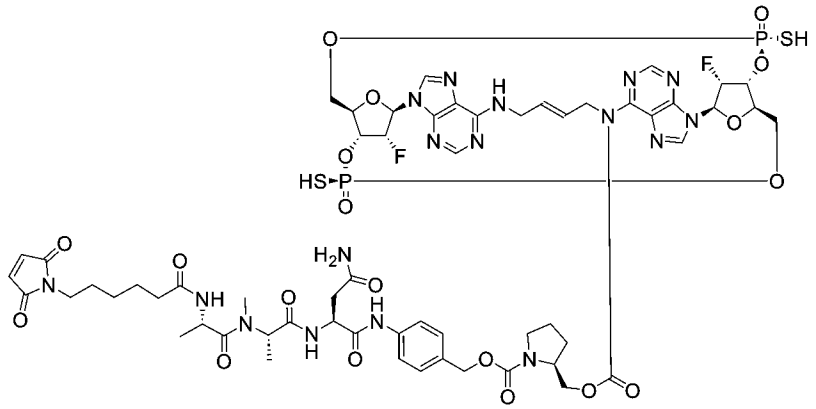
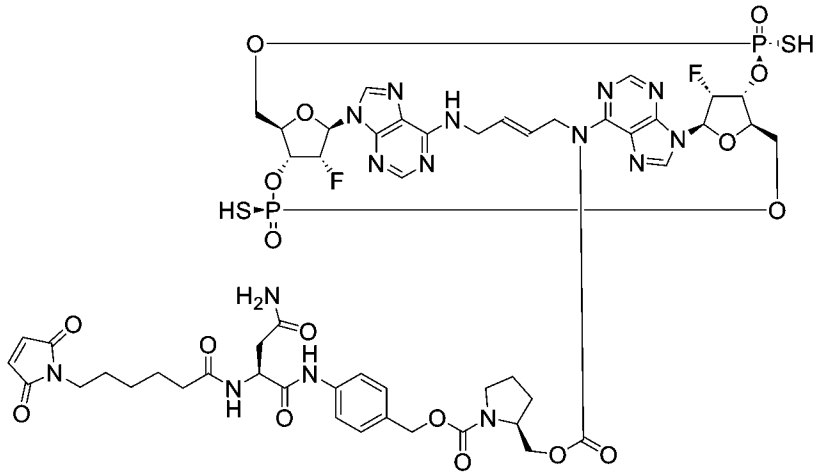
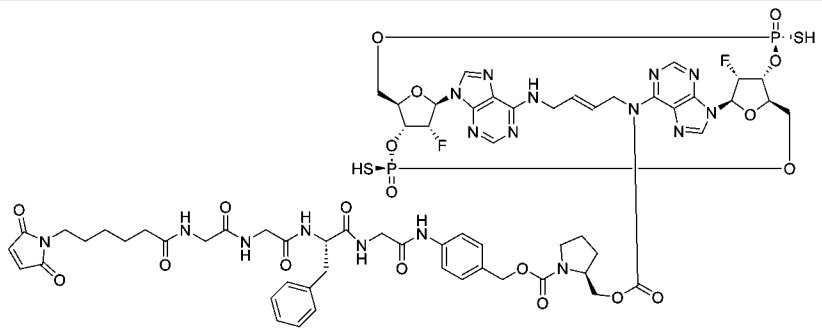
【表16】.示例性N附接的連接子-藥物軛合物

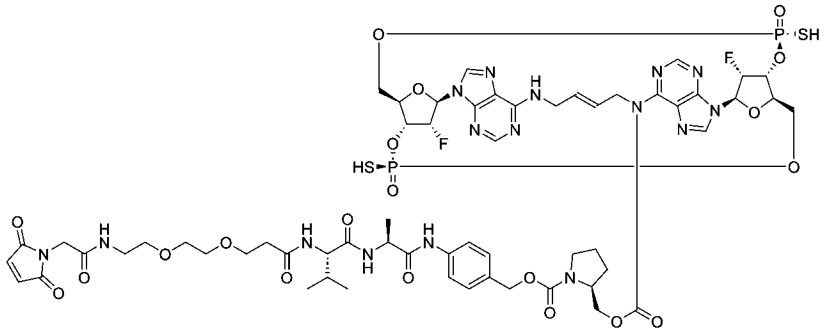
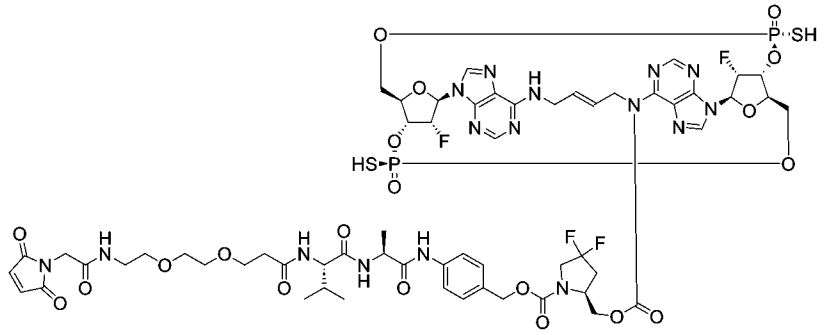
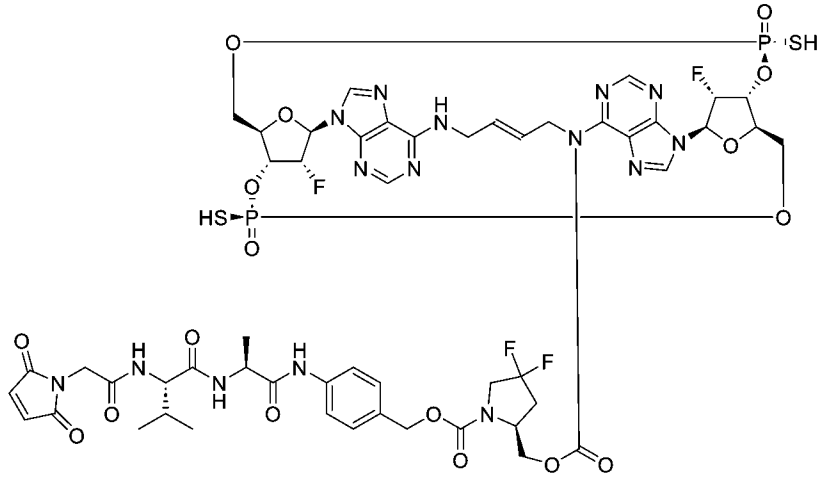
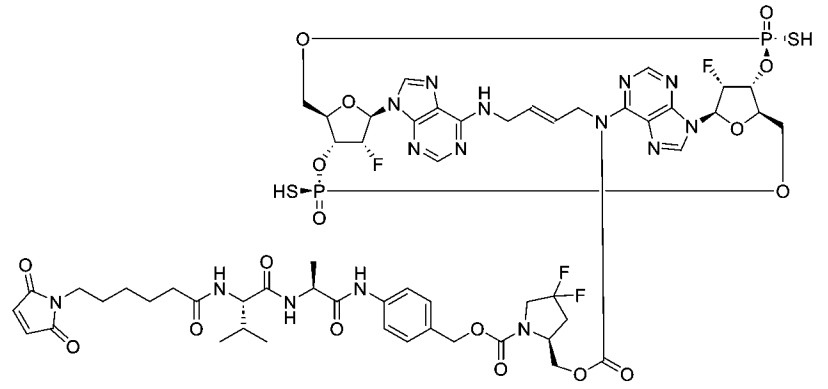
LP1	
LP2	
LP4	
LP5	
LP6	

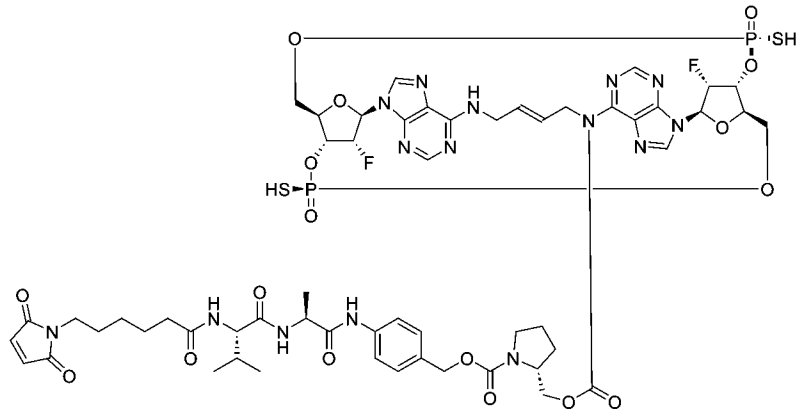
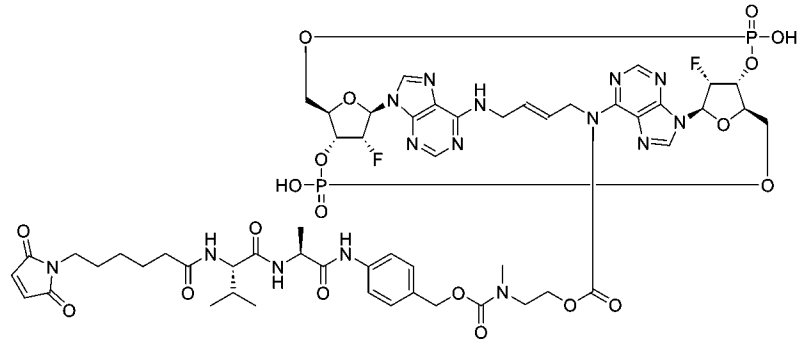
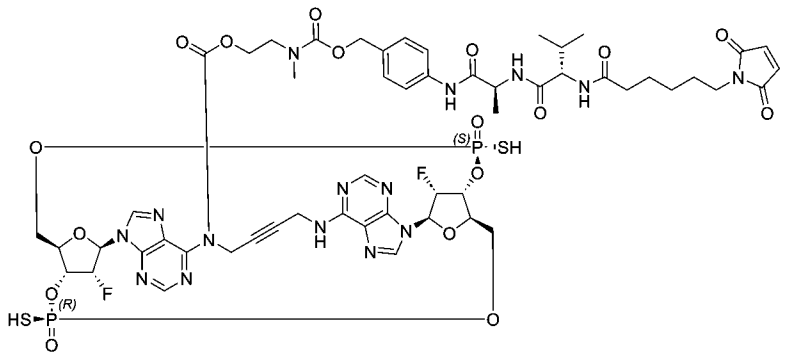
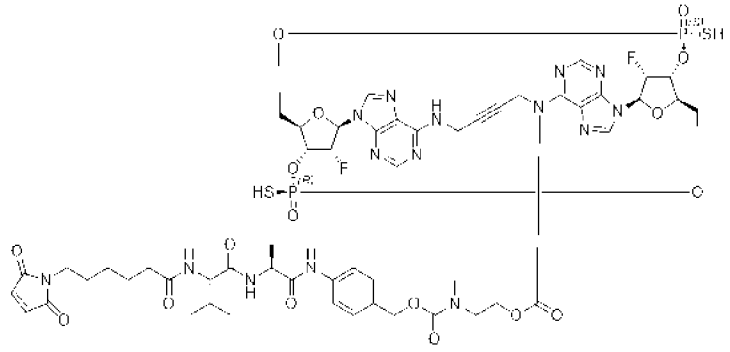
LP7	
LP8	
LP9	
LP10	
LP11	
LP12	

LP13	
LP14	
LP15	
LP16	

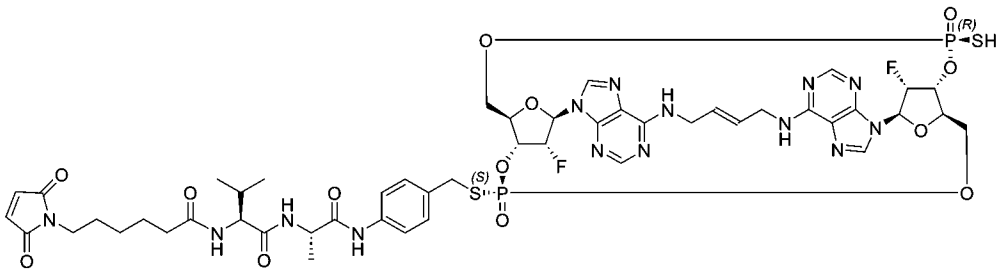
LP17	
LP18	
LP19	
LP20	

LP21	
LP22	
LP23	
LP24	

LP25	
LP26	
LP27	
LP28	

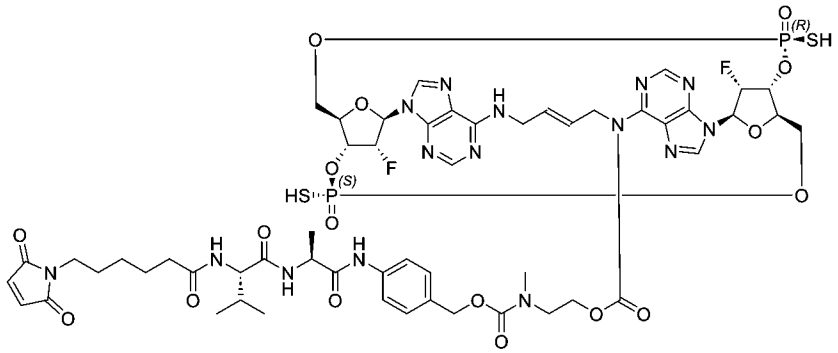
LP29	
LP30	
LP31	
LP32	

【0429】在一些實施方式中，示例性連接子-藥物軛合物或其鹽可以稱為「LP3」並且具有如下所示的LP3的結構：



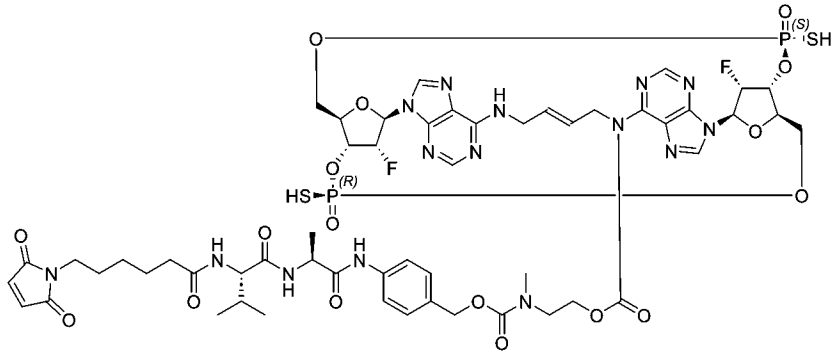
LP3。

【0430】在一些實施方式中，示例性連接子-藥物軛合物或其鹽可以稱為「LP1」並且具有如下所示的LP1的結構：



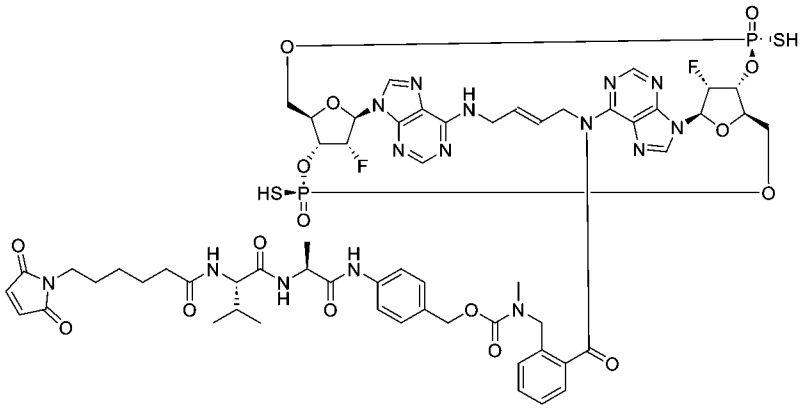
LP1。

【0431】在一些實施方式中，示例性連接子-藥物軛合物或其鹽可以稱為「LP2」並且具有如下所示的LP2的結構：



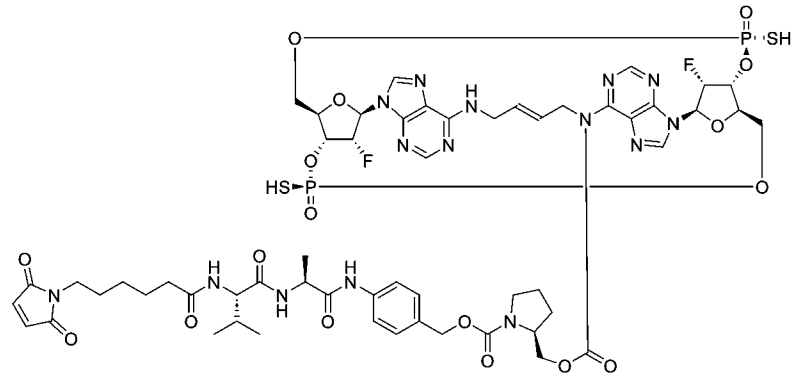
LP2。

【0432】在一些實施方式中，示例性連接子-藥物軛合物或其鹽具有如下所示的LP16的結構：



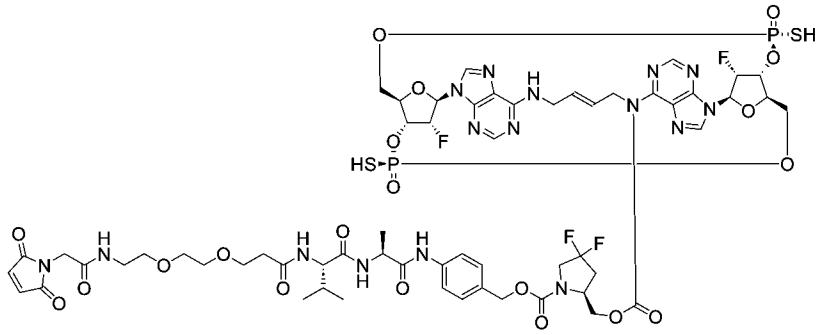
LP16。

【0433】在一些實施方式中，示例性連接子-藥物軛合物或其鹽具有如下所示的LP20的結構：



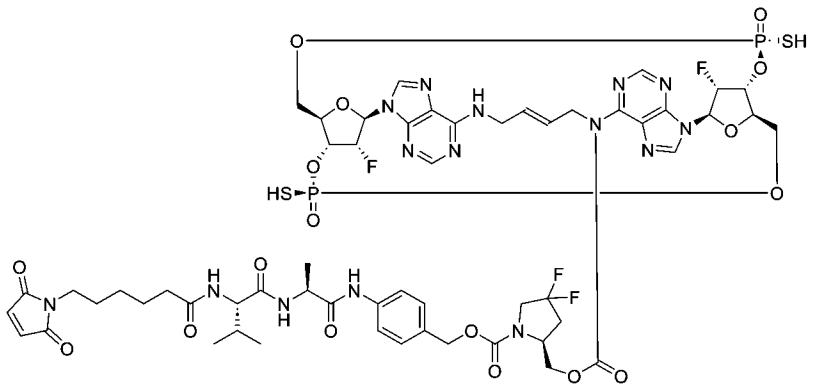
LP20。

【0434】一些實施方式，示例性連接子-藥物軛合物或其鹽具有如下所示的LP26的結構：



LP26。

【0435】在一些實施方式中，示例性連接子-藥物軛合物或其鹽具有如下所示的LP28的結構：



LP28。

【0436】在一些實施方式中，與現有的連接子-STING促效劑軛合物相比，本文揭露的連接子-有效載荷，例如LP1、LP2、LP16、LP20、LP26、LP28或LP3具有改進的特性。在一些實施方式中，本文揭露的連接子-有效載荷，例如LP1、LP2、LP3、LP16、LP20、LP26或LP28具有優於先前技術的連接子-STING促效劑軛合物的血漿穩定性。在一些實施方式中，本文揭露的連接子-有效載荷，例如LP1、LP2、LP3、LP16、LP20、LP26或LP28具有優於先前技術的連接子-STING促效劑軛合物的體內抗腫瘤活性。在一些實施方式中，本文揭露的連接子-有效載荷，例如LP1、LP2、LP3、LP16、LP20、LP26或LP28具有優於先前技術的連接子-STING促效劑軛合物的體內耐受性。

【0437】在本文揭露的連接子-有效載荷軛合物的一些實施方式中，其中D係STING促效劑，例如具有式 (III)、式 (IV) 的化合物或表14的化合物、例如化合物1，並且L在N-34氮或N-39氮處與D軛合（例如，LP16、LP20、LP26或LP28），與包含具有式 (III)、式 (IV) 的化合物或表14的化合物的其他連接子-有效載荷軛合物（它們在替代附接點處，例如在硫（例如S-2或S-14）處與D軛合）相比，該連接子-有效載荷軛合物表現出優異的特性（例如，血漿穩定性、體外免疫反應、體內抗腫瘤活性、耐受性、在腫瘤微環境中刺激抗免疫反應）。這樣的連接子-有效載荷軛合物的優異益處的示例性證據顯示在實例4、9、12、14和15中。

【0438】在本文揭露的連接子-有效載荷軛合物的一些實施方式中，其中L包含含有式 (II) 的間隔子單元，與包含替代間隔子單元的其他連接子-有效載荷軛合物相比，該連接子-有效載荷軛合物表現出優異的特性（例如，改進的軛合穩定性、改進的血漿穩定性、體內抗腫瘤活性）。在一些實施方式中，不受理論的束縛，使用包含式 (II) 的連接子與本文揭露的STING促效劑，例如具有式 (III)、式 (IV) 的化合物或表14的化合物、例如化合物1的益處可以包括改進的軛合穩定性、改進的血漿穩定性和體內抗腫瘤活性。在一些實施方式中，包含含有式 (II) 的連接子和含有本文揭露的STING促效劑，例如具有式 (III)、式 (IV) 的化合物或表14的化合物的有效載荷的連接子-有效載荷軛合物當與本文揭露的抗PSMA抗體軛合時表現出優異的特性。這樣的連接子-有效載荷軛合物的優異益處（例如，與多種不同抗體軛合時可能提供的益處）的示例性證據顯示在實例4、9、12和15中。

【0439】在一些實施方式中，本文揭露的ADC包含可切割連接子和如本文所述之內化抗PSMA抗體或其抗原結合片段。在一些實施方式中，抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含三個HCDR，其包含以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 21（HCDR1）、SEQ ID NO: 22（HCDR2）和SEQ ID NO: 27（HCDR3）；以及三個LCDR，其包含SEQ ID NO: 32（LCDR1）、SEQ ID NO: 35（LCDR2）和SEQ ID NO: 37（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的。在一些實施方式中，抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含三個HCDR，其包含以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 21（HCDR1）、SEQ ID NO: 22（HCDR2）和SEQ ID NO: 27（HCDR3）；以及三個LCDR，其包含SEQ ID NO: 33（LCDR1）、SEQ ID NO: 36（LCDR2）和SEQ ID NO: 37（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的。在一些實施方式中，抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含三個HCDR，其包含以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 28（HCDR1）、SEQ ID NO: 29（HCDR2）

和SEQ ID NO: 30（HCDR3）；以及三個LCDR，其包含SEQ ID NO: 38（LCDR1）、SEQ ID NO: 39（LCDR2）和SEQ ID NO: 37（LCDR3），如由IMGT編號系統所定義的。

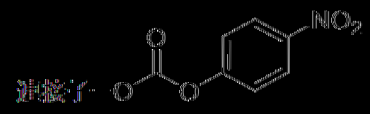
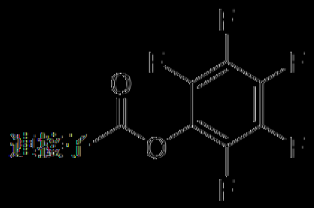
【0440】 在一些實施方式中，抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 1的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 15的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 2的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 15的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 3的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 15的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 14的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 15的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 14的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 19的胺基酸序列的輕鏈可變區。

【0441】 在一些實施方式中，*p*係1至12或2至11。在一些實施方式中，*p*係1至8。在一些實施方式中，*p*係4至11。在一些實施方式中，*p*係4至8。在一些實施方式中，*p*係2。在一些實施方式中，*p*係4。在一些實施方式中，*p*係7。在一些實施方式中，*p*係11。

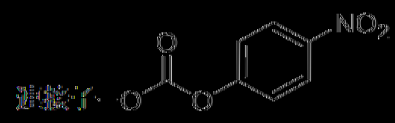
【0442】 本揭露包括產生所描述的連接子-藥物軛合物之方法。連接子-藥物軛合物包含連接子和藥物部分並且可以使用具有用於將連接子與藥物部分共價附接的反應性官能性（reactive functionality）的連接子來製備。在一些實施方式中，產生連接子-藥物軛合物之方法包括使藥物或其鹽與活化連接子反應。

【0443】 在一些實施方式中，與活化連接子反應的藥物係表14中揭露的化合物；該化合物的異構物；該化合物或異構物的氘代衍生物；或者該化合

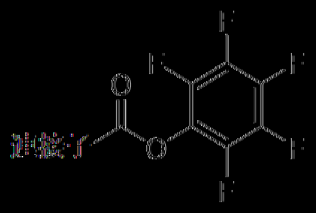
物、其構物或其代衍生物的鹽。在一典實施方式中，藥物係表14中揭露的化合物的鈉鹽。在一典實施方式中，藥物係表14中揭露的化合物的二銨鹽。在一典實施方式中，藥物係表14中揭露的化合物的二烷基銨鹽。在一典實施方式中，藥物係表14中揭露的化合物的雙(二乙銨)鹽。

[0444] 在一典實施方式中，與表14中揭露的化合物；該化合物的其構物；該化合物或其構物的代衍生物；或者該化合物、其構物或代衍生物的鹽反應的汙化連接子係  。在一典實施方式中，與表14中揭露的化合物；該化合物的其構物；該化合物或其構物的代衍生物；或者該化合物、其構物或代衍生物的鹽反應的汙化連接子係  。在一典實施方式中，汙化連接子的連接子部分包含本揭露的連接子，例如上文揭露的連接子，例如，如本節中所揭露的。

[0445] 在一典實施方式中，產生連接子-藥物靶合物之方法包括使表14中揭露的化合物；該化合物的其構物；該化合物或其構物的代衍生物；或者該化合物、其構物或代衍生物的鹽與本揭露的汙化連接子反應。在一典實施方式中，化合物、其構物、代衍生物或鹽的反應在有機金屬鹼的存在下進行。在一典實施方式中，有機金屬鹼選自LDA、NaHMDS、LiHMDS和KHMDS。在一典實施方式中，有機金屬鹼係LiHMDS。

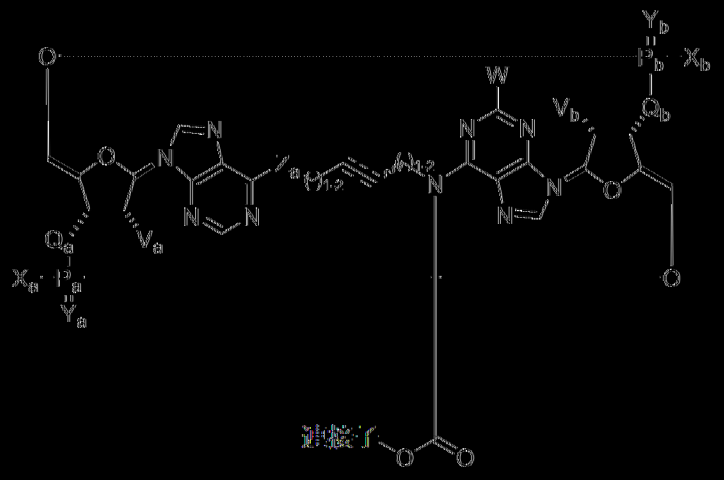
[0446] 在一典實施方式中，產生汙化連接子  之方法包括使本揭露的連接子與4-硝基苯基氯甲酸酯反應。在一典實施方式

中，連接子與4-硝基苯基甲酸酯的反應在鹼的存在下進行。在一些實施方式中，鹼係吡啶。



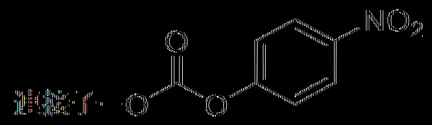
[0447] 在一些實施方式中，產生汙化連接子 之方法包括使本揭露的連接子與五氟苯酚反應。在一些實施方式中，連接子與五氟苯酚的反應在肽偶聯試劑的存在下進行。在一些實施方式中，肽偶聯試劑係DCC。

[0448] 在一些實施方式中，汙化連接子用於產生LD軛合物 (V) 之方法中：



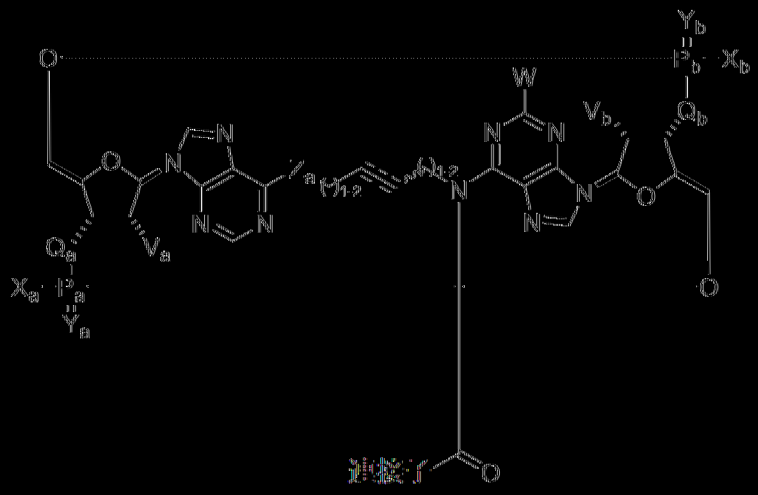
。

[0449] 在一些實施方式中，產生LD軛合物 (V) 之方法包括使具有式

(III) 的化合物或其鹽與汙化連接子  反應。在一些實施方式中，Z_b係NH。在一些實施方式中，P_b具有 (S) 組態，並且汙化連接子優先與Z_b反應。如本文所用的「優先」（除非上下文另外說明）係指超過70%的反應，例如，70%的汙化連接子與Z_b氨反應而不是與Z_a氨反應。

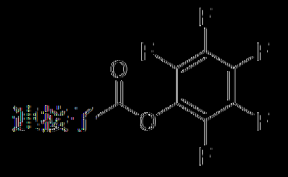
[0450] 在一些實施方式中，汙化連接子與$_{b}$反應超過與$_{a}$反應的95%、超過90%、超過85%、超過80%、超過75%、或超過70%。在一些實施方式中，汙化連接子與$_{b}$反應超過與$_{a}$反應的95%。在一些實施方式中，汙化連接子與$_{b}$反應超過與$_{a}$反應的90%。在一些實施方式中，汙化連接子與$_{b}$反應超過與$_{a}$反應的85%。在一些實施方式中，汙化連接子與$_{b}$反應超過與$_{a}$反應的80%。在一些實施方式中，汙化連接子與$_{b}$反應超過與$_{a}$反應的75%。在一些實施方式中，汙化連接子與$_{b}$反應超過與$_{a}$反應的70%。

[0451] 在一些實施方式中，汙化連接子用於產生LD軛合物 (VI) 之方法中：



。

[0452] 在一些實施方式中，產生LD軛合物 (VI) 之方法包括使具有式



(III) 的化合物或其鹽與汙化連接子 反應。在一些實施方式中，$_{b}$係NH。在一些實施方式中，P_b具有 (S) 組態，並且汙化連接子優先與$_{b}$反應。

[0453] 在一些實施方式中，汙化連接子與$_{b}$反應超過與$_{a}$反應的95%、超過90%、超過85%、超過80%、超過75%、或超過70%。在一些實施方

式中，活化連接子與Zb氮反應超過與Za氮反應的95%。在一些實施方式中，活化連接子與Zb氮反應超過與Za氮反應的90%。在一些實施方式中，活化連接子與Zb氮反應超過與Za氮反應的85%。在一些實施方式中，活化連接子與Zb氮反應超過與Za氮反應的80%。在一些實施方式中，活化連接子與Zb氮反應超過與Za氮反應的75%。在一些實施方式中，活化連接子與Zb氮反應超過與Za氮反應的70%。

抗體-藥物軛合物

【0454】 在各個實施方式中，如本文所揭露的抗PSMA抗體部分或其抗原結合片段可以與藥物部分軛合（即共價附接，例如藉由連接子），其中藥物部分當不與抗體部分軛合時具有細胞毒性或細胞生長抑制作用。在一些實施方式中，藥物部分當結合在軛合物中時展現出減少的細胞毒性或沒有細胞毒性，但在從連接子和抗體部分切割後恢復細胞毒性。

【0455】 用作人治療劑（例如，用作腫瘤藥劑）的ADC的研發和生產可能不僅僅需要鑒定能夠結合一個或多個所需靶標且附接至單獨使用以治療癌症的藥物的抗體。將抗體與藥物連接可能對抗體和藥物之一或兩者的活性具有顯著且不可預測的影響，該等影響將根據所選連接子和/或藥物的類型而變化。因此，在一些實施方式中，對ADC的組分進行選擇以 (i) 保留單獨的抗體和藥物部分展現出的一種或多種治療性特性；(ii) 維持抗體部分的特異性結合特性；(iii) 優化載藥量以及藥物與抗體比率；(iv) 允許藉由與抗體部分的穩定附接而靶向腫瘤細胞遞送（例如，細胞內遞送）藥物部分；(v) 減少與藥物部分的非靶向和/或全身遞送相比的毒性；(vi) 保留ADC作為完整軛合物的穩定性直到轉運或遞送至靶位點；(vii) 最大限度地減少投與前後ADC的聚集；(viii) 展現出與單獨的抗體和藥物部分相當或優於其的體內抗癌治療功效；(ix) 最大限度地減少藥物部分引起的脫靶殺傷；(x) 展現出所需的藥物動力學和藥效學特性、可配製

性和毒理學/免疫學特徵；(xi) 維持腫瘤微環境中抗免疫反應的刺激；和/或 (xii) 增加骨髓細胞（例如巨噬細胞或樹突狀細胞）對表現PSMA的細胞的吞噬作用。可能需要篩選該等特性中的各項以鑒定用於治療性用途的改進的ADC。參見，例如Ab等人 (2015) Mol. Cancer Ther.[分子癌症治療學]14:1605-13。

【0456】 在一些實施方式中，與包含其他抗體（例如J591或deJ591）和/或其他連接子的ADC化合物相比，本揭露的ADC化合物在轉運或遞送至靶位點之前作為完整軛合物具有優異的穩定性。在一些實施方式中，與包含其他抗體（例如J591或deJ591）和/或其他連接子的ADC化合物相比，本揭露的ADC化合物具有更低的免疫原性。

【0457】 本揭露的ADC化合物可以將有效劑量的細胞毒性劑或細胞生長抑制劑選擇性地遞送至癌細胞或腫瘤組織。已發現，所揭露的ADC對表現PSMA的細胞具有有效的細胞毒性和/或細胞生長抑制活性。在一些實施方式中，ADC的細胞毒性和/或細胞生長抑制活性取決於細胞中的PSMA表現水平。在一些實施方式中，與低水平表現同一抗原的癌細胞相比，所揭露的ADC在殺傷表現高水平PSMA的癌細胞方面特別有效。在一些實施方式中，所揭露的ADC在殺傷高表現PSMA的癌症、例如前列腺癌的方面特別有效。在一些實施方式中，藉由骨髓細胞（例如巨噬細胞和/或樹突狀細胞）的存在或募集來改進表現PSMA的癌細胞的靶向殺傷。

【0458】 在一些實施方式中，本文揭露的ADC證明了對表現PSMA的細胞（例如，在表現PSMA的癌症中）的PSMA特異性結合。在一些實施方式中，一旦結合PSMA，所揭露的ADC就被內化。在一些實施方式中，藥物部分（例如化合物1）的釋放導致STING通路活化並釋放促炎細胞介素（例如IFNβ）。在一些實施方式中，促炎細胞介素的釋放促進骨髓細胞活化。在一些實施方式中，促炎細胞介素的釋放刺激I型IFN依賴性抗腫瘤活性。

【0459】在一些實施方式中，所揭露的ADC活化骨髓細胞、例如巨噬細胞或樹突狀細胞。不受理論的束縛，骨髓細胞活化可能是由所揭露的ADC結合的表現PSMA的癌細胞的吞噬作用的結果。在一些實施方式中，所揭露的ADC活化巨噬細胞。在一些實施方式中，活化的巨噬細胞係促炎（M1）巨噬細胞。在一些實施方式中，腫瘤相關巨噬細胞或M2巨噬細胞在投與所揭露的ADC時經歷促炎活化。在一些實施方式中，活化的巨噬細胞釋放促炎細胞介素和趨化因子（例如，TNFα、CXCL10、IL-6、IFNβ和/或IL-1β）。在一些實施方式中，活化的巨噬細胞進一步促進骨髓細胞活化。在一些實施方式中，活化的巨噬細胞促進細胞毒性T細胞的產生。在一些實施方式中，活化的巨噬細胞表現出對癌細胞的吞噬作用增加。在一些實施方式中，所揭露的ADC的投與刺激I型IFN依賴性抗腫瘤活性。如本文所用，「活化的巨噬細胞」與「極化的巨噬細胞」同義。

【0460】本文提供了ADC化合物，其包含靶向腫瘤細胞的抗體或其抗原結合片段（Ab）、藥物部分（D）和將Ab與D共價附接的連接子部分（L）。在某些方面，抗體或抗原結合片段能夠以高特異性和高親和力結合腫瘤相關抗原（例如PSMA）。在某些實施方式中，抗體或抗原結合片段在結合時內化到靶細胞中，例如內化到細胞中的降解隔室中。在一些實施方式中，ADC在與靶細胞結合時內化，經歷降解並釋放藥物部分。藥物部分可以藉由酶促作用、水解、氧化或任何其他機制從ADC的抗體和/或連接子部分釋放。

【0461】在一些實施方式中，ADC結合的靶細胞被骨髓細胞、例如巨噬細胞或樹突狀細胞吞噬。在一些實施方式中，在吞噬作用發生時，ADC經歷降解並釋放藥物部分。在一些實施方式中，藥物部分在骨髓細胞（例如巨噬細胞或樹突狀細胞）的吞噬溶酶體中釋放。藥物部分可以藉由酶促作用、水解、氧化或任何其他機制從ADC的抗體和/或連接子部分釋放。

【0462】 示例性ADC具有式I：

Ab-(L-D)*p* (I)

其中Ab = 抗體部分（即抗體或抗原結合片段），L = 連接子部分，D = 藥物部分，並且*p* =藥物部分的數目/抗體部分。

【0463】 在一些實施方式中，本文揭露的抗體-藥物軛合物包含抗PSMA抗體或抗原結合片段。在一些實施方式中，抗PSMA抗體或抗原結合片段包含如下重鏈，其具有選自上文表8中列出的SEQ ID NO: 47-60的胺基酸序列和/或包含來自表8中的胺基酸序列的一組CDR和/或可變結構域。在一些實施方式中，抗PSMA抗體或抗原結合片段包含如下輕鏈，其具有選自下文表8中列出的SEQ ID NO: 61-66的胺基酸序列和/或包含來自表8中的胺基酸序列的一組CDR和/或可變結構域。

【0464】 在一些實施方式中，抗PSMA抗體或抗原結合片段包含表1的一個或多個共有CDR序列與表3的一個或多個CDR序列的組合，例如，藉由選擇表1的HC CDR2、LC CDR1和/或LCDR2序列以及表3的HC CDR1、HC CDR2、HC CDR3、LC CDR1、LC CDR2和/或LC CDR3來藉由其三個重鏈和三個輕鏈CDR序列來描述抗體。

【0465】 在一些實施方式中，抗PSMA抗體或抗原結合片段包含三個HCDR，其包含以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 21（HCDR1）、SEQ ID NO: 22（HCDR2）和SEQ ID NO: 27（HCDR3）；以及三個LCDR，其包含SEQ ID NO: 32（LCDR1）、SEQ ID NO: 35（LCDR2）和SEQ ID NO: 37（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的。在一些實施方式中，抗PSMA抗體或抗原結合片段包含三個HCDR，其包含以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 28（HCDR1）、SEQ ID NO: 29（HCDR2）和SEQ ID NO: 30（HCDR3）；以及三個LCDR，其包含

SEQ ID NO: 38（LCDR1）、SEQ ID NO: 39（LCDR2）和SEQ ID NO: 37（LCDR3），如由IMGT編號系統所定義的。

【0466】 在一些實施方式中，抗PSMA抗體或抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 14的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 19的胺基酸序列的輕鏈可變區。

【0467】 為了完成連接子和/或藥物部分與抗體或其抗原結合片段的位點特異性軛合，在一些實施方式中，包含硫醇反應性基團的連接子用於產生軛合的抗體或抗原結合片段，例如藉由在半胱胺酸殘基處與抗體或抗原結合片段反應。在一些實施方式中，半胱胺酸殘基位於輕鏈上的胺基酸位置80。在一些實施方式中，半胱胺酸殘基位於重鏈上的胺基酸位置118。完成連接子和/或藥物部分與抗體或抗原結合片段的位點特異性軛合以產生ADC之方法係本領域已知的並且揭露於PCT申請WO 2016/205618中，將該申請藉由引用以其全文併入本文。

載藥量

【0468】 載藥量由*p*表示，並且在本文中也稱為藥物與抗體比率（DAR）。在一些實施方式中，載藥量的範圍可以是1至20（即，與每個抗體部分附接的連接子-藥物的1至20個拷貝），例如1至12個藥物部分/抗體部分。在一些實施方式中，*p*係1至12的整數。在一些實施方式中，*p*係1至8的整數。在一些實施方式中，*p*係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的整數。在一些實施方式中，*p*係2至12、2至11、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的整數。在一些實施方式中，*p*係2至11的整數。在一些實施方式中，*p*係1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11或12。在一些實施方式中，*p*係2。在一些實施方式中，*p*係4。在一些實施方式中，*p*係7。在一些實施方式中，*p*係8。在一些實施方式中，*p*係

11。在一些實施方式中，載藥量可以表示為抗體群體中的平均載量，例如約1-12、例如約2-11的平均載量。在一些實施方式中，抗體群體中的平均載藥量係約2至約8。在一些實施方式中，抗體群體中的平均載藥量係約2、約4或約8。

【0469】 載藥量可能受到抗體部分上附接位點數目的限制。在一些實施方式中，ADC的連接子部分（L）藉由抗體部分上的一個或多個胺基酸殘基上的化學活性基團與抗體部分附接。例如，連接子可以藉由游離胺基、亞胺基、羥基、硫醇或羧基基團與抗體部分（例如，與N末端或C末端、與一個或多個離胺酸殘基的ε胺基基團、與一個或多個麩胺酸或天冬胺酸殘基的游離羧酸基團、或與一個或多個半胱胺酸殘基的硫氫基基團）附接。與連接子附接的位點可以是抗體部分的胺基酸序列中的天然殘基，或者它可以例如藉由DNA重組技術（例如，藉由將半胱胺酸或離胺酸殘基引入胺基酸序列中）或藉由蛋白質生物化學（例如，藉由還原、pH調節或水解）引入抗體部分中。在一些實施方式中，連接子藉由半胱胺酸殘基與抗體部分附接。在一些實施方式中，連接子藉由離胺酸殘基與抗體部分附接。

【0470】 在一些實施方式中，可以與抗體部分軛合的藥物部分的數目受到游離半胱胺酸殘基數目的限制。例如，在附接係半胱胺酸硫醇基團的情況下，抗體可以具有僅一個或幾個半胱胺酸硫醇基團，或者可以具有僅一個或幾個具有足夠反應性的硫醇基團，藉由該等硫醇基團可以附接連接子。通常，抗體不含有許多可與藥物部分連接的游離反應性半胱胺酸硫醇基團。實際上，抗體中的大多數半胱胺酸硫醇殘基以二硫橋形式存在。連接子-毒素與抗體的過度附接可以藉由還原可用於形成二硫橋的半胱胺酸殘基來使抗體不穩定。因此，最佳的藥物:抗體比率應當增加ADC的效力（藉由增加所附接的藥物部分的數目/抗體），同時不會使抗體部分不穩定。在一些實施方式中，最佳比率可以是約2、4、7或11。

【0471】在一些實施方式中，使用一種或多種位點特異性軛合技術來附接ADC，例如產生具有確定的載藥量（即，確定的藥物與抗體比率（DAR））的均質ADC產物。在一些實施方式中，可以在抗體的輕鏈或重鏈中產生游離半胱胺酸殘基以藉由殘基特異性軛合技術（RESPECT）進行位點特異性軛合。Albone等人 (2017) Cancer Biol. Ther.[癌症生物學與治療] 18(5):347-57以及國際公開案號WO/2016205618和WO/2017106643描述了用於產生RESPECT形式的抗體的示例性方案，將該等文獻中的每個關於進行位點特異性軛合之方法藉由引用併入本文。在一些實施方式中，使用位點特異性軛合產生ADC，以藉由連接子將抗體部分與藥物部分共價附接（例如，本文揭露的連接子-有效載荷軛合物）。在一些實施方式中，對於包含本文揭露的化合物（例如具有式 (III)、式 (IV) 的化合物或表14的化合物、例如化合物1）的ADC或組成物，使用位點特異性軛合來靶向約2的DAR。

【0472】在一些實施方式中，藉由Mal或MC部分與抗體部分附接的連接子可以提供約2、4、7或11的比率。在一些實施方式中，包含與如本文所揭露的抗PSMA抗體接合的MC-Val-Ala-pAB-化合物1的ADC具有約2、4、7或11的比率。在一些實施方式中，包含與如本文所揭露的抗PSMA抗體接合的MC-Val-Ala-pABC-MEC-化合物1的ADC具有約2、4、7或11的比率。在一些實施方式中，包含與如本文所揭露的抗PSMA抗體接合的MC-Val-Ala-pABC-單元8-化合物1的ADC具有約2、4、7或11的比率。在一些實施方式中，包含與如本文所揭露的抗PSMA抗體接合的MC-Val-Ala-pABC-單元9-化合物1的ADC具有約2、4、7或11的比率。在一些實施方式中，包含與如本文所揭露的抗PSMA抗體接合的MC-Val-Ala-pABC-單元11-化合物1的ADC具有約2、4、7或11的比率。

【0473】在一些實施方式中，使抗體部分在軛合前暴露於還原條件以便產生一個或多個游離半胱胺酸殘基。在一些實施方式中，可以在部分或總體還

原條件下用還原劑（如二硫蘇糖醇（DTT）或三(2-羧乙基)膦（TCEP））還原抗體以產生反應性半胱胺酸硫醇基團。可以藉由用受限莫耳當量的TCEP進行部分還原來產生未配對的半胱胺酸，該受限莫耳當量的TCEP優先還原連接輕鏈和重鏈（一對/H-L配對）以及鉸鏈區中的兩條重鏈（在人IgG1的情況下，兩對/H-H配對）的鏈間二硫鍵，但使鏈內二硫鍵保持完整。參見，例如Stefano等人 (2013) Methods Mol. Biol.[分子生物學方法] 1045:145-71。在一些實施方式中，例如藉由採用施加交替還原和氧化電壓的工作電極來以電化學方式還原抗體內的二硫鍵。此方法可允許二硫鍵還原與分析型裝置（例如，電化學檢測裝置、NMR光譜儀或質譜儀）或化學分離裝置（例如，液相層析儀（例如HPLC））或電泳裝置的線上偶聯。參見，例如美國公開號20140069822。在某些實施方式中，抗體經受變性條件以顯露胺基酸殘基（如離胺酸或半胱胺酸）上的反應性親核基團。

【0474】 ADC的載藥量可以以不同方式控制，例如藉由：(i) 限制藥物-連接子中間體或連接子試劑相對於抗體的莫耳過量；(ii) 限制軛合反應時間或溫度；(iii) 用於半胱胺酸硫醇修飾的部分或限制性還原條件；和/或 (iv) 藉由重組技術工程改造抗體的胺基酸序列，使得半胱胺酸或離胺酸殘基的數目和位置得到改變以控制連接子-藥物附接的數目和/或位置。

【0475】 在一些實施方式中，將游離半胱胺酸殘基引入抗體部分的胺基酸序列中。例如，可以製備經半胱胺酸工程改造的抗體，其中親本抗體的一個或多個胺基酸被半胱胺酸胺基酸替代。任何形式的抗體均可經如此工程改造，即突變。例如，親本Fab抗體片段可經工程改造以形成經半胱胺酸工程改造的Fab，稱為「ThioFab」。類似地，親本單株抗體可經工程改造以形成「ThioMab」。單位點突變在ThioFab中產生單個經工程改造的半胱胺酸殘基，而由於IgG抗體的二聚體性質，單位點突變在ThioMab中產生兩個經工程改造的

半胱胺酸殘基。編碼親本多肽的胺基酸序列變體的DNA可由本領域已知的多種方法製備。參見，例如WO2006/034488中描述之方法。該等方法包括但不限於藉由先前所製備的編碼多肽的DNA的定點（或寡核苷酸介導的）誘變、PCR誘變和盒式誘變進行的製備。重組抗體的變體還可藉由限制性片段操作或藉由用合成寡核苷酸進行重疊延伸PCR來構建。具有式I的ADC包括但不限於具有1、2、3或4個經工程改造的半胱胺酸胺基酸的抗體。參見Lyon等人 (2012) Methods Enzymol.[酶學方法]502:123-38。在一些實施方式中，在不使用工程改造的情況下，一個或多個游離半胱胺酸殘基已存在於抗體部分中，在此情況下可使用現有游離半胱胺酸殘基來將抗體部分與藥物部分軛合。

【0476】 在包含抗體部分和連接子部分的多個拷貝的反應混合物中，在超過一個親核基團與藥物-連接子中間體或連接子部分試劑反應、隨後與藥物部分試劑反應的情況下，那麼所得產物可以是ADC化合物的混合物，該混合物中分佈有與混合物中的抗體部分的各拷貝附接的一個或多個藥物部分。在一些實施方式中，由軛合反應得到的ADC混合物中的載藥量在1至12個所附接的藥物部分/抗體部分的範圍內。藥物部分的平均數目/抗體部分（即平均載藥量或平均p）可以藉由本領域中已知的任何常規方法，例如藉由質譜法（例如反相LC-MS）和/或高效液相層析法（例如HPLC）來計算。在一些實施方式中，藥物部分的平均數目/抗體部分藉由疏水相互作用層析法-高效液相層析法（HIC-HPLC）來確定。在一些實施方式中，藥物部分的平均數目/抗體部分藉由反相液相層析法-質譜法（LC-MS）來確定。在一些實施方式中，藥物部分的平均數目/抗體部分係約1至約11；約1至約8；約1至約7；約1至約4；或約1至約2。在一些實施方式中，藥物部分的平均數目/抗體部分係約2。在一些實施方式中，藥物部分的平均數目/抗體部分係約4。在一些實施方式中，藥物部分的平均數

目/抗體部分係約7。在一些實施方式中，藥物部分的平均數目/抗體部分係約11。

【0477】 具有特定DAR比率的各個ADC複合物或「種類」可在混合物中例如藉由質譜法鑒定並且例如藉由超高效液相層析法（UPLC）或HPLC（例如疏水相互作用層析法（HIC-HPLC））分離。在某些實施方式中，具有單一負載值的均質或接近均質的ADC可以例如藉由電泳或層析法從軛合混合物分離。

【0478】 本揭露包括產生所描述的ADC之方法。簡言之，ADC包含作為抗體部分的抗體或抗原結合片段、藥物部分、以及將藥物部分與抗體部分接合的連接子。在一些實施方式中，可以使用具有用於與藥物部分共價附接以及與抗體部分共價附接的反應性官能性的連接子來製備ADC。例如，在一些實施方式中，抗體部分的半胱胺酸硫醇可以與連接子或藥物-連接子中間體的反應性官能基（例如Mal或MC部分）形成鍵，該連接子或連接子中間體包含可以與官能試劑軛合的反應性基團（例如，包含化合物1的可切割肽）。

【0479】 在一些實施方式中，藉由以下產生ADC：使抗體或抗原結合片段與連接子和藥物部分以順序方式接觸，使得抗體部分先與連接子共價連接，然後預先形成的抗體-連接子中間體與藥物部分反應。抗體-連接子中間體在接觸藥物部分之前可經受或可不經受純化步驟。在其他實施方式中，藉由以下產生ADC：使抗體部分與連接子-藥物軛合物或其鹽接觸，該連接子-藥物軛合物或其鹽藉由連接子與藥物部分反應而預先形成。預先形成的連接子-藥物軛合物在接觸抗體部分之前可經受或可不經受純化步驟。在其他實施方式中，抗體部分接觸一種反應混合物中的連接子和藥物部分，從而允許在抗體部分與連接子之間以及連接子與藥物部分之間同時形成共價鍵。在一些實施方式中，藉由以下產生ADC：使抗體部分與接合至藥物部分的連接子（如LP3）或其鹽在允許軛合的條件下反應。在一些實施方式中，藉由以下產生ADC：使抗體部分與接

合至藥物部分的連接子（如LP1）或其鹽在允許軛合的條件下反應。在一些實施方式中，藉由以下產生ADC：使抗體部分與接合至藥物部分的連接子（如LP2）或其鹽在允許軛合的條件下反應。在一些實施方式中，藉由以下產生ADC：使抗體部分與接合至藥物部分的連接子（如LP16）或其鹽在允許軛合的條件下反應。在一些實施方式中，藉由以下產生ADC：使抗體部分與接合至藥物部分的連接子（如LP20）或其鹽在允許軛合的條件下反應。在一些實施方式中，藉由以下產生ADC：使抗體部分與接合至藥物部分的連接子（如LP26）或其鹽在允許軛合的條件下反應。在一些實施方式中，藉由以下產生ADC：使抗體部分與接合至藥物部分的連接子（如LP28）或其鹽在允許軛合的條件下反應。允許軛合的條件可涉及本領域已知的用於軛合ADC的任何生物化學方法。該等條件包括但不限於在室溫下在合適的緩衝液（例如，1 x DBPS、pH 7.4的0.1 M Tris-甘胺酸、10%丙二醇:90% 1 x DPBS、或1 x DPBS、2 mM EDTA）中孵育。軛合條件可包括或可不包括酶（例如轉麩醯胺酸酶）的存在。

【0480】 根據上述方法製備的ADC可以經受一個或多個純化步驟。純化步驟可涉及本領域已知的用於純化蛋白質的任何生物化學方法或其任何方法組合。該等方法包括但不限於切向流過濾（TFF）、親和層析法、離子交換層析法、基於電荷或等電點的任何層析法、混合模式層析法（例如，CHT（陶瓷羥磷灰石））、疏水相互作用層析法、尺寸排阻層析法、透析、過濾、選擇性沈澱、脫鹽層析法、或其任何組合。

治療性用途

【0481】 本文揭露了使用所揭露的抗體和/或ADC來治療受試者的病症、例如腫瘤病症之方法。抗體和/或ADC可以單獨投與或與一種或多種額外的治療劑組合投與，並且可以以任何藥學上可接受的配製物、劑量和/或給藥方案投與。可以針對毒性以及功效指標評估治療功效並且相應地作出調整。功效量度

包括但不限於體外或體內觀察到的細胞生長抑制和/或細胞毒性作用、減小的腫瘤體積、腫瘤生長抑制和/或延長的存活期。

【0482】 測定抗體或ADC是否對細胞發揮細胞生長抑制和/或細胞毒性作用之方法係已知的。例如，抗體或ADC的細胞毒性活性可藉由以下測量：使表現抗體或ADC（例如PSMA）的靶蛋白的哺乳動物細胞暴露於細胞培養基中；將該等細胞與免疫細胞（例如骨髓細胞，如巨噬細胞）共培養一段時間，例如約6小時至約5天；以及測量細胞活力。基於細胞的體外測定可用於測量抗體或ADC的活力（增殖）、細胞毒性、生長抑制和對細胞凋亡的誘導（半胱天冬酶活化）。

【0483】 在一些實施方式中，為了測定細胞毒性，可以測量吞噬作用、壞死或細胞凋亡（計劃性細胞死亡）。可以使用流動式細胞測量術或顯微鏡檢查來觀察吞噬作用。壞死通常伴隨質膜滲透性的增加、細胞膨脹和質膜破裂。細胞凋亡的典型特徵係膜起泡、細胞質凝聚和內源性內切核酸酶的活化。針對對癌細胞的該等影響中的任一者的測定指示，抗體或ADC可用於治療癌症。

【0484】 細胞活力可以例如藉由測定細胞中染料（如中性紅、錐蟲藍、結晶紫或ALAMAR™藍）的吸收來測量。參見，例如Page等人 (1993) Intl. J. Oncology [國際腫瘤學雜誌] 3:473-6。在這樣的測定中，在含有染料的培養基中孵育細胞，洗滌細胞，並且藉由分光光度法測量反映細胞對染料的吸收的剩餘染料。在某些實施方式中，使用結晶紫測定評估所製備的抗體或ADC的體外效力。結晶紫係一種三芳基甲烷染料，可積聚在活細胞的細胞核中。在此測定中，使細胞暴露於抗體或ADC或對照劑持續一段時間，然後將細胞用結晶紫染色，用水充分洗滌，接著用1% SDS溶解並藉由分光光度法讀取。蛋白質結合染料磺醯羅丹明B（SRB）也可用於測量細胞毒性。參見，例如Skehan等人 (1990) J. Natl. Cancer Inst.[國家癌症研究所雜誌]82:1107-12。

【0485】細胞凋亡可以例如藉由測量DNA片段化來定量。用於定量體外測定DNA片段化的商業測光方法係可用的。這樣的測定的實例（包括TUNEL（其檢測片段化的DNA中的標記核苷酸的摻入）和基於ELISA的測定）在Biochemica [生物化學] (1999) 第2期, 第34-37頁（羅氏分子生物化學公司（Roche Molecular Biochemicals））中描述。

【0486】細胞凋亡也可以藉由測量細胞的形態變化來測定。例如，如同壞死一樣，質膜完整性的損失可以藉由測量對某些染料（例如，螢光染料，如吖啶橙或溴化乙錠）的吸收來測定。用於測量凋亡細胞數目之方法已由Duke和Cohen, Current Protocols in Immunology [免疫學實驗指南]參見Coligan等人, 編輯 (1992) 第3.17.1-3.17.16頁描述。細胞也可以用DNA染料（例如吖啶橙、溴化乙錠或碘化丙錠）標記並觀察細胞沿內部核膜的染色質凝聚和邊緣化。可經測量以確定細胞凋亡的其他形態變化包括例如細胞質凝聚、增加的膜起泡和細胞收縮。

【0487】在一些實施方式中，本揭露提供了一種藉由激動STING通路並將該激動作用靶向特定細胞（例如，表現PSMA的癌細胞（例如，相對於非癌細胞，PSMA的表現水平增加））來殺傷癌細胞或組織、或者抑制或調節癌細胞或組織的生長之方法。在一些實施方式中，激動STING通路增強了抗腫瘤免疫，例如藉由活化骨髓細胞（例如巨噬細胞或樹突狀細胞）、細胞毒性T細胞和/或1型T輔助細胞（Th1）偏向反應。該方法可用於增強抗腫瘤免疫提供了治療性益處的任何受試者。無論PSMA表現水平如何，抗腫瘤免疫反應都可以靶向癌細胞。

【0488】在各個實施方式中，可以投與所揭露的抗體和/或ADC來影響表現PSMA的任何細胞或組織，例如表現PSMA的癌細胞或組織。示例性實施方式包括藉由全身遞送抗PSMA ADC中的STING促效劑（例如具有式 (III)、式

(IV) 的化合物或表14的化合物、例如化合物1）來殺傷細胞之方法。該方法可用於表現PSMA的任何細胞或組織，例如癌性細胞或轉移性病變。在一些實施方式中，表現PSMA的癌症係前列腺癌。在一些實施方式中，前列腺癌係晚期前列腺癌。在一些實施方式中，前列腺癌係轉移性去勢抵抗性前列腺癌。表現PSMA的細胞的非限制性實例包括22RV1、LNCaP和C4-2細胞，以及包含編碼PSMA或其部分的重組核酸的細胞。不受理論的束縛，本文揭露的抗PSMA抗體和ADC可以特別有效地藉由靶向表現PSMA的細胞進行免疫清除、藉由活化I型干擾素和其他炎性細胞介素（例如，IFN-β、TNFα、CXCL10和/或IL-6）、和/或藉由將藥物有效載荷（例如化合物1）遞送至細胞來治療表現PSMA的癌症。

【0489】 在一些實施方式中，ADC可用於將藥物有效載荷（例如化合物1）遞送至細胞，其中該藥物有效載荷活化STING通路。不受理論的束縛，STING通路活化可能導致I型干擾素和其他炎性細胞介素（例如，IFN-β、TNFα、CXCL10和/或IL-6）的活化。在一些實施方式中，本文揭露的抗PSMA ADC的投與增加IFN-β的表現和/或分泌。在一些實施方式中，本文揭露的抗PSMA ADC的投與增加TNFα的表現和/或分泌。在一些實施方式中，本文揭露的抗PSMA ADC的投與增加CXCL10的表現和/或分泌。在一些實施方式中，本文揭露的抗PSMA ADC的投與增加IL-6的表現和/或分泌。I型干擾素和其他炎性細胞介素的活化可以藉由活化樹突狀細胞和促炎（M1）巨噬細胞、藉由促進細胞毒性T細胞反應的產生、和/或藉由促進1型T輔助細胞（Th1）偏向反應的產生來刺激抗腫瘤免疫反應。然後，該等活化的免疫細胞可以靶向殺傷癌細胞或腫瘤。活化的樹突狀細胞和促炎（M1）巨噬細胞也可以產生I型干擾素和其他炎性細胞介素或趨化因子，從而增強抗腫瘤炎性反應。巨噬細胞的非限制性

實例包括J774A.1、THP-1、骨髓源性巨噬細胞（BMDM）、人單核細胞源性巨噬細胞（HMDM）和外周血單核細胞（PBMC）。

【0490】 在一些實施方式中，本文揭露的抗PSMA抗體和抗原結合片段提供了STING促效劑向癌細胞或組織的穩定的全身遞送。在一些實施方式中，STING促效劑係化合物1。在一些實施方式中，癌細胞或組織表現PSMA。在一些實施方式中，癌細胞或組織係前列腺癌。在一些實施方式中，前列腺癌係晚期前列腺癌。在一些實施方式中，前列腺癌係轉移性去勢抵抗性前列腺癌。

【0491】 本文揭露的示例性方法包括以下步驟：使細胞與有效量（例如，足以刺激STING活性的量）的如本文所述之抗體和/或ADC接觸（例如，藉由合適的投與途徑向受試者投與抗體和/或ADC）。該方法可用於例如體外、離體或原位培養物中的細胞上。例如，表現PSMA的細胞（例如，藉由腫瘤或轉移性病變的活檢收集的細胞；來自已建立的癌細胞系的細胞；或重組細胞），可以在培養基中體外培養，並且可以藉由向培養基中添加抗體和/或ADC來影響接觸步驟。在與免疫細胞（例如巨噬細胞或樹突狀細胞）共培養的細胞中，該方法將導致表現PSMA的細胞（特別包括表現PSMA的腫瘤細胞）的殺傷。可替代地，抗體和/或ADC可以藉由任何合適的投與途徑（例如，靜脈內、皮下或與腫瘤組織直接接觸）投與至受試者以在體內發揮作用。

【0492】 所揭露的抗體和/或ADC的體內作用可以在合適的動物模型中進行評估。例如，可以使用異種癌症模型，其中將癌症外植體或傳代的異種移植細胞或組織引入免疫受損的動物（例如裸小鼠或SCID小鼠）中。參見，例如Klein等人 (1997) Nature Med.[自然醫學] 3:402-8。可以使用測量對腫瘤形成的抑制、腫瘤消退或轉移等的測定來預測功效。在一些實施方式中，與用替代治療處理的攜帶異種移植物的小鼠相比，本文揭露的抗PSMA抗體和ADC在抑制腫瘤生長方面更有效。

【0493】 也可以使用測量PSMA和/或細胞介素的表現的測定。可以使用本領域已知的用於測量PSMA和/或細胞介素表現的任何方法，包括ELISA（酶聯免疫吸附測定）、q-PCR（定量聚合酶鏈反應）、Meso Scale Discovery V-PLEX細胞介素面板、免疫組織化學、RNA-seq（RNA定序）、蛋白質印跡和流動式細胞測量術。可以在從受試者分離的癌細胞中測定PSMA的表現。在一些實施方式中，PSMA的表現在投與如本文所揭露的抗體和/或ADC之前測定。在一些實施方式中，PSMA的表現相對於非癌性和/或野生型組織或細胞中PSMA的表現升高。在一些實施方式中，測量I型干擾素和其他炎性細胞介素（例如，IFN-β、TNFα、CXCL10、IL-6）的表現。該等細胞介素在所治療受試者的腫瘤中的表現可以提供響應治療而刺激抗腫瘤免疫反應的指示。

【0494】 在各個實施方式中，本文提供了治療表現PSMA的癌症之方法。本文揭露的抗體和ADC可以出於任何治療性目的並藉由任何合適的投與途徑投與至非人哺乳動物或人受試者。該等治療性方法可能需要向患有腫瘤（例如，表現PSMA的腫瘤）的哺乳動物投與生物學有效量的本文揭露的抗體或包含與該抗體連接的所選化療劑（例如化合物1）的ADC。

【0495】 在一些實施方式中，提供了一種治療患有表現PSMA的癌症或有患表現PSMA的癌症風險的患者之方法，該方法包括向該患者投與治療有效量的本揭露的抗體和/或ADC。在一些實施方式中，當單獨投與時，患者對藥物部分（例如化合物1）的治療無反應或反應差，並且向患者投與本文揭露的抗體或ADC。在其他實施方式中，當單獨投與時，患者對藥物部分（例如化合物1）的治療不耐受。例如，為了治療癌症，患者可能需要導致全身毒性的化合物1劑量，而這可以藉由將本文揭露的抗體和/或ADC靶向遞送至表現PSMA的癌症來克服，從而減少脫靶殺傷。在一些實施方式中，患者患有無法局部注射藥物部分（例如化合物1）的癌症。

【0496】 在各個實施方式中，本文揭露之方法治療前列腺癌。

【0497】 本揭露的抗體和/或ADC可出於獸醫學目的或作為人類疾病的動物模型投與至表現PSMA的非人哺乳動物。就後者而言，這樣的動物模型可用於評估所揭露的抗體和ADC的治療性功效（例如，劑量檢測和投與時程）。

【0498】 在一些實施方式中，抗體或ADC的功效可以藉由使來自受試者的腫瘤樣本與該抗體或ADC接觸並評估腫瘤生長速率或體積來評估。在一些實施方式中，當確定抗體或ADC有效時，可以將其投與至受試者。在一些實施方式中，抗體或ADC的功效可以藉由使受試者與該抗體或ADC接觸並監測腫瘤生長速率或體積來評估。在一些實施方式中，抗體或ADC的功效可以藉由使受試者與該抗體或ADC接觸並監測I型干擾素和其他炎性細胞介素（例如，IFN-β、TNFα、CXCL10、IL-6）的表現來評估。

【0499】 本文揭露的抗體和ADC可以以合適的劑量投與至有需要的患者。使用前述方法治療癌症的劑量和投與方案將隨方法和靶標癌症而變化，並且通常取決於本領域所瞭解的許多其他因素。

【0500】 在各個實施方式中，治療涉及藉由可接受的投與途徑單次推注或重複投與抗體或ADC製劑。

【0501】 上述治療性方法還可以與多種額外的手術、化療或放射療法方案中的任一種組合。在一些實施方式中，上述治療性方法與癌症免疫療法，例如免疫檢查點療法（例如，PD-1/PD-L1抑制劑和CTLA4抑制劑）或過繼性T細胞（ATC）療法（例如，嵌合抗原受體（CAR）T細胞）組合。

【0502】 本文進一步提供了所揭露的抗體和/或ADC的治療性用途。示例性實施方式係抗體和/或ADC在治療表現PSMA的癌症、如前列腺癌中之用途。用於鑒定患有表現PSMA的癌症的受試者之方法係本領域已知的，並且可用於鑒定適合用所揭露的抗體或ADC治療的患者。

【0503】另一示例性實施方式係如本文所揭露的ADC或抗體或抗原結合片段在製造用於治療表現PSMA的癌症、如前列腺癌的藥物中之用途。

藥物組成物和配製物

【0504】可以將用於實施前述方法的抗體或ADC配製成適合投與至受試者、例如人受試者的藥物組成物。在一些實施方式中，藥物組成物包含抗體和/或ADC以及適用於所需遞送方法的藥學上可接受的載劑。合適的載劑包括當與本文揭露的抗體或ADC組合時允許該抗體或ADC保留其抗腫瘤功能並且通常不與患者的免疫系統反應的任何材料。藥學上可接受的載劑可以包括生理上相容的任何和所有溶劑、分散介質、包衣、抗細菌劑和抗真菌劑、等滲劑和吸收延遲劑等。藥學上可接受的載劑的實例包括水、生理鹽水、磷酸鹽緩衝生理鹽水、右旋糖、甘油、乙醇、甲磺酸鹽等中的一種或多種，以及其組合。在許多情況下，將較佳的是在組成物中包括等滲劑，例如糖、多元醇（如甘露醇、山梨糖醇）或氯化鈉。藥學上可接受的載劑可進一步包含極少量的輔助物質，如潤濕劑或乳化劑、防腐劑或緩衝液，該等輔助物質增強ADC的保存期限或有效性。

【0505】本文所述之藥物組成物可以呈多種形式。該等形式包括例如液體、半固體和固體劑型，如液體溶液（例如，可注射溶液和可輸注溶液）、分散體或懸浮液、片劑、丸劑、粉末、脂質體和栓劑。較佳的形式取決於預期的投與方式和治療性應用。

【0506】藥物組成物可以被溶解並藉由能夠將組成物遞送至腫瘤部位的任何途徑投與。潛在有效的投與途徑包括但不限於靜脈內、腸胃外、腹膜內、肌內、瘤內、真皮內、器官內、正位等。藥物組成物可以被凍乾並作為無菌粉末儲存，較佳的是在真空下，然後在注射前在抑菌水（含有例如苄醇防腐劑）

或無菌水中重構。投與可以是全身的或局部的。藥物組成物可以包含抗體和/或ADC或其藥學上可接受的鹽（例如甲磺酸鹽）。

【0507】 在各個實施方式中，用於本文所述之實驗室應用和治療性應用的套組（kit）處於本揭露的範圍內。這樣的套組可以包含本文揭露的抗體或ADC和載劑、包裝或容器。載劑、包裝或容器可以被分隔以容納一個或多個容器，例如小瓶、試管等，該一個或多個容器中的每個包含以下：待用於本文揭露之方法中的獨立要素中之一和/或含有使用說明（例如本文所述之用途）的標籤或插頁。套組可以進一步包含與其相關的一個或多個其他容器，該等容器包含從商業和使用者角度來看所需的材料，包括緩衝液、稀釋劑、過濾器、針頭、注射器、載架（carrier）、包裝、容器、小瓶和/或列出內容物和/或使用說明的試管標籤、以及帶有使用說明的包裝插頁。

【0508】 標籤可存在於容器上或容器中以指示組成物用於特定療法或非治療性應用，如預後、預防、診斷或實驗室應用。標籤還可指示關於體內或體外用途（如本文所述之用途）的指導。在包括在套組中或套組上的一個或多個插頁或一個或多個標籤上還可包括指導和/或其他資訊。標籤可處於容器上或與容器相關聯。當將形成標籤的字母、數字或其他字元模製或蝕刻至容器自身中時，標籤可處於容器上。當標籤存在於還固持容器的接受器或載架內時，標籤可例如以包裝插頁形式與容器相關聯。標籤可指示組成物用於診斷或治療病況（例如，如本文所述之癌症）。

本揭露的示例性實施方式

【0509】 在各個實施方式中，本揭露提供了能夠與抗體-藥物軛合物中的抗體軛合的新型連接子-藥物軛合物。

【0510】 在一些實施方式中，連接子-藥物軛合物包含MC-Val-Ala-pABC-單元8部分和具有式 (III) 的化合物。在一些實施方式中，連接子-藥物軛合物包

含MC-Val-Ala-pABC-單元8部分和具有式 (IV) 的化合物。在一些實施方式中，連接子-藥物軛合物包含MC-Val-Ala-pABC-單元8部分和選自表14的化合物的化合物。

【0511】 在一些實施方式中，連接子-藥物軛合物包含MC-Val-Ala-pABC-單元8-化合物1。在一些實施方式中，連接子-藥物軛合物包含LP16。

【0512】 在一些實施方式中，連接子-藥物軛合物包含MC-Val-Ala-pABC-單元9部分和具有式 (III) 的化合物。在一些實施方式中，連接子-藥物軛合物包含MC-Val-Ala-pABC-單元9部分和具有式 (IV) 的化合物。在一些實施方式中，連接子-藥物軛合物包含MC-Val-Ala-pABC-單元9部分和選自表14的化合物的化合物。

【0513】 在一些實施方式中，連接子-藥物軛合物包含MC-Val-Ala-pABC-單元9-化合物1。在一些實施方式中，連接子-藥物軛合物包含LP20。

【0514】 在一些實施方式中，連接子-藥物軛合物包含Mal-式 (II)-Val-Ala-pAB-單元11部分和具有式 (III) 的化合物。在一些實施方式中，連接子-藥物軛合物包含Mal-式 (II)-Val-Ala-pAB-單元11部分和具有式 (IV) 的化合物。在一些實施方式中，連接子-藥物軛合物包含Mal-式 (II)-Val-Ala-pAB-單元11部分和選自表14的化合物的化合物。

【0515】 在一些實施方式中，連接子-藥物軛合物包含Mal-式 (II)-Val-Ala-pAB-單元11-化合物1。在一些實施方式中，連接子-藥物軛合物包含LP26。

【0516】 在一些實施方式中，連接子-藥物軛合物包含MC-Val-Ala-pABC-單元11部分和具有式 (III) 的化合物。在一些實施方式中，連接子-藥物軛合物包含MC-Val-Ala-pABC-單元11部分和具有式 (IV) 的化合物。在一些實施方式中，連接子-藥物軛合物包含MC-Val-Ala-pABC-單元11部分和選自表14的化合物的化合物。

【0517】在一些實施方式中，連接子-藥物軛合物包含MC-Val-Ala-pABC-單元11-化合物1。在一些實施方式中，連接子-藥物軛合物包含LP28。

【0518】在各個實施方式中，本揭露提供了能夠特異性結合PSMA的新型抗體-藥物軛合物。

【0519】在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含本文揭露的任何抗PSMA抗體或抗原結合片段、含有MC-Val-Ala-pABC-單元8部分的連接子、以及含有具有式 (III) 的化合物的藥物部分。在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含本文揭露的任何抗PSMA抗體或抗原結合片段、含有MC-Val-Ala-pABC-單元8部分的連接子、以及含有具有式 (IV) 的化合物的藥物部分。在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含本文揭露的任何抗PSMA抗體或抗原結合片段、含有MC-Val-Ala-pABC-單元8部分的連接子、以及含有選自表14的化合物的化合物的藥物部分。

【0520】在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含本文揭露的任何抗PSMA抗體或抗原結合片段和含有MC-Val-Ala-pABC-單元8-化合物1的連接子-藥物軛合物。在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含與LP16軛合的本文揭露的任何抗PSMA抗體或抗原結合片段。

【0521】在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含本文揭露的任何抗PSMA抗體或抗原結合片段、含有MC-Val-Ala-pABC-單元9部分的連接子、以及含有具有式 (III) 的化合物的藥物部分。在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含本文揭露的任何抗PSMA抗體或抗原結合片段、含有MC-Val-Ala-pABC-單元9部分的連接子、以及含有具有式 (IV) 的化合物的藥物部分。在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含本文揭露的任何抗PSMA抗體或抗原結合片段、含有MC-Val-Ala-pABC-單元9部分的連接子、以及含有選自表14的化合物的化合物的藥物部分。

【0522】 在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含本文揭露的任何抗PSMA抗體或抗原結合片段和含有MC-Val-Ala-pABC-單元9-化合物1的連接子-藥物軛合物。在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含與LP20軛合的本文揭露的任何抗PSMA抗體或抗原結合片段。

【0523】 在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含本文揭露的任何抗PSMA抗體或抗原結合片段、含有Mal-式 (II)-Val-Ala-pAB-單元11部分的連接子、以及含有具有式 (III) 的化合物的藥物部分。在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含本文揭露的任何抗PSMA抗體或抗原結合片段、含有Mal-式 (II)-Val-Ala-pAB-單元11部分的連接子、以及含有具有式 (IV) 的化合物的藥物部分。在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含本文揭露的任何抗PSMA抗體或抗原結合片段、含有Mal-式 (II)-Val-Ala-pAB-單元11部分的連接子、以及含有選自表14的化合物的化合物的藥物部分。

【0524】 在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含本文揭露的任何抗PSMA抗體或抗原結合片段和含有Mal-式 (II)-Val-Ala-pAB-單元11-化合物1的連接子-藥物軛合物。在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含與LP26軛合的本文揭露的任何抗PSMA抗體或抗原結合片段。

【0525】 在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含本文揭露的任何抗PSMA抗體或抗原結合片段、含有MC-Val-Ala-pABC-單元11部分的連接子、以及含有具有式 (III) 的化合物的藥物部分。在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含本文揭露的任何抗PSMA抗體或抗原結合片段、含有MC-Val-Ala-pABC-單元11部分的連接子、以及含有具有式 (IV) 的化合物的藥物部分。在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含本文揭露的任何抗PSMA抗體或抗原結合片段、含有MC-Val-Ala-pABC-單元11部分的連接子、以及含有選自表14的化合物的化合物的藥物部分。

【0526】在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含本文揭露的任何抗PSMA抗體或抗原結合片段和含有MC-Val-Ala-pABC-單元11-化合物1的連接子-藥物軛合物。在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含與LP28軛合的本文揭露的任何抗PSMA抗體或抗原結合片段。在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含抗PSMA抗體或其抗原結合片段，該抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含以下三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 21的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 22的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 27的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 32的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 35的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的；本文揭露的任何連接子；以及含有具有式 (III) 的化合物的藥物部分。在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含抗PSMA抗體或其抗原結合片段，該抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含以下三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 21的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 22的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 27的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 32的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 35的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的；本文揭露的任何連接子；以及含有具有式 (IV) 的化合物的藥物部分。在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含抗PSMA抗體或其抗原結合片段，該抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含以下三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 21的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 22的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 27的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 32的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 35的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3

（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的；本文揭露的任何連接子；以及含有選自表14的化合物的化合物的藥物部分。

【0527】在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含抗PSMA抗體或其抗原結合片段，該抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含以下三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 28的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 29的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 30的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 38的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 39的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由IMGT編號系統所定義的；本文揭露的任何連接子；以及含有具有式 (III) 的化合物的藥物部分。在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含抗PSMA抗體或其抗原結合片段，該抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含以下三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 28的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 29的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 30的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 38的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 39的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由IMGT編號系統所定義的；本文揭露的任何連接子；以及含有具有式 (IV) 的化合物的藥物部分。在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含抗PSMA抗體或其抗原結合片段，該抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含以下三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 28的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 29的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 30的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 38的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 39的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由IMGT編號系統所定義的；本文揭露的任何連接子；以及含有選自表14的化合物的化合物的藥物部分。

【0528】 在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含抗PSMA抗體或其抗原結合片段，該抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 14的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 19的胺基酸序列的輕鏈可變區；本文揭露的任何連接子；以及含有具有式 (III) 的化合物的藥物部分。在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含抗PSMA抗體或其抗原結合片段，該抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 14的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 19的胺基酸序列的輕鏈可變區；本文揭露的任何連接子；以及含有具有式 (IV) 的化合物的藥物部分。在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含抗PSMA抗體或其抗原結合片段，該抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 14的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 19的胺基酸序列的輕鏈可變區；本文揭露的任何連接子；以及含有選自表14的化合物的化合物的藥物部分。

【0529】 在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含抗PSMA抗體或其抗原結合片段，該抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含以下三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 21的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 22的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 27的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 32的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 35的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的；本文揭露的任何連接子；以及含有化合物1的藥物部分。

【0530】 在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含抗PSMA抗體或其抗原結合片段，該抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含以下三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 28的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 29的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 30的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 38的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 39的輕鏈CDR2

（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由IMGT編號系統所定義的；本文揭露的任何連接子；以及含有化合物1的藥物部分。

【0531】在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含抗PSMA抗體或其抗原結合片段，該抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 14的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 19的胺基酸序列的輕鏈可變區；本文揭露的任何連接子；以及含有化合物1的藥物部分。

【0532】在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含抗PSMA抗體或其抗原結合片段，該抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含以下三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 21的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 22的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 27的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 32的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 35的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的；含有MC-Val-Ala-pABC-單元8的連接子；以及含有化合物1的藥物部分。

【0533】在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含抗PSMA抗體或其抗原結合片段，該抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含以下三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 21的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 22的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 27的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 32的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 35的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的；以及含有LP16的連接子-藥物軛合物。

【0534】在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含抗PSMA抗體或其抗原結合片段，該抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含以下三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 28的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 29

的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 30的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 38的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 39的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由IMGT編號系統所定義的；含有MC-Val-Ala-pABC-單元8部分的連接子；以及含有化合物1的藥物部分。

【0535】 在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含抗PSMA抗體或其抗原結合片段，該抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含以下三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 28的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 29的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 30的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 38的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 39的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由IMGT編號系統所定義的；以及含有LP16的連接子-藥物軛合物。

【0536】 在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含抗PSMA抗體或其抗原結合片段，該抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 14的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 19的胺基酸序列的輕鏈可變區；含有MC-Val-Ala-pABC-單元8部分的連接子；以及含有化合物1的藥物部分。

【0537】 在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含抗PSMA抗體或其抗原結合片段，該抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 14的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 19的胺基酸序列的輕鏈可變區；以及含有LP16的連接子-藥物軛合物。

【0538】 在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含抗PSMA抗體或其抗原結合片段，該抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含以下三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 21的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 22的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 27的重鏈CDR3（HCDR3）；包含

SEQ ID NO: 32的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 35的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的；含有MC-Val-Ala-pABC-單元9部分的連接子；以及含有化合物1的藥物部分。

【0539】 在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含抗PSMA抗體或其抗原結合片段，該抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含以下三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 21的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 22的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 27的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 32的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 35的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的；以及含有LP20的連接子-藥物軛合物。

【0540】 在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含抗PSMA抗體或其抗原結合片段，該抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含以下三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 28的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 29的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 30的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 38的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 39的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由IMGT編號系統所定義的；含有MC-Val-Ala-pABC-單元9部分的連接子；以及含有化合物1的藥物部分。

【0541】 在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含抗PSMA抗體或其抗原結合片段，該抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含以下三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 28的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 29的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 30的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 38的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 39的輕鏈CDR2

（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由IMGT編號系統所定義的；以及含有LP20的連接子-藥物軛合物。

【0542】在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含抗PSMA抗體或其抗原結合片段，該抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 14的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 19的胺基酸序列的輕鏈可變區；含有MC-Val-Ala-pABC-單元9部分的連接子；以及含有化合物1的藥物部分。

【0543】在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含抗PSMA抗體或其抗原結合片段，該抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 14的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 19的胺基酸序列的輕鏈可變區；以及含有LP20的連接子-藥物軛合物。

【0544】在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含抗PSMA抗體或其抗原結合片段，該抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含以下三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 21的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 22的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 27的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 32的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 35的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的；含有Mal-式 (II)-Val-Ala-pAB-單元11部分的連接子；以及含有化合物1的藥物部分。

【0545】在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含抗PSMA抗體或其抗原結合片段，該抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含以下三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 21的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 22的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 27的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 32的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 35的輕鏈CDR2

（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的；以及含有LP26的連接子-藥物軛合物。

【0546】在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含抗PSMA抗體或其抗原結合片段，該抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含以下三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 28的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 29的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 30的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 38的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 39的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由IMGT編號系統所定義的；含有Mal-式 (II)-Val-Ala-pAB-單元11部分的連接子；以及含有化合物1的藥物部分。

【0547】在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含抗PSMA抗體或其抗原結合片段，該抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含以下三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 28的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 29的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 30的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 38的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 39的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由IMGT編號系統所定義的；以及含有LP26的連接子-藥物軛合物。

【0548】在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含抗PSMA抗體或其抗原結合片段，該抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 14的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 19的胺基酸序列的輕鏈可變區；含有Mal-式 (II)-Val-Ala-pAB-單元11部分的連接子；以及含有化合物1的藥物部分。

【0549】在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含抗PSMA抗體或其抗原結合片段，該抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 14的胺基

酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 19的胺基酸序列的輕鏈可變區；以及含有LP26的連接子-藥物軛合物。

【0550】 在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含抗PSMA抗體或其抗原結合片段，該抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含以下三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 21的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 22的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 27的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 32的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 35的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的；含有MC-Val-Ala-pABC-單元11部分的連接子；以及含有化合物1的藥物部分。

【0551】 在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含抗PSMA抗體或其抗原結合片段，該抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含以下三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 21的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 22的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 27的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 32的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 35的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的；以及含有LP28的連接子-藥物軛合物。

【0552】 在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含抗PSMA抗體或其抗原結合片段，該抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含以下三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 28的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 29的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 30的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 38的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 39的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由IMGT編號系

統所定義的；含有MC-Val-Ala-pABC-單元11部分的連接子；以及含有化合物1的藥物部分。

【0553】在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含抗PSMA抗體或其抗原結合片段，該抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含以下三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 28的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 29的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 30的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 38的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 39的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由IMGT編號系統所定義的；以及含有LP28的連接子-藥物軛合物。

【0554】在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含抗PSMA抗體或其抗原結合片段，該抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 14的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 19的胺基酸序列的輕鏈可變區；含有MC-Val-Ala-pABC-單元11部分的連接子；以及含有化合物1的藥物部分。

【0555】在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含抗PSMA抗體或其抗原結合片段，該抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 14的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 19的胺基酸序列的輕鏈可變區；以及含有LP28的連接子-藥物軛合物。

【0556】在本文揭露的抗體-藥物軛合物的一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含抗PSMA抗體或其抗原結合片段，該抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含三個HCDR，其包含以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 21（HCDR1）、SEQ ID NO: 22（HCDR2）和SEQ ID NO: 27（HCDR3）；以及三個LCDR，其包含SEQ ID NO: 32（LCDR1）、SEQ ID NO: 35（LCDR2）和SEQ ID NO: 37（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的；以及含有LP16、LP20、LP26或LP28的連接子-藥物軛合物。不受理論的束縛，該等抗體-藥物軛合物中的一種

或多種可以表現出優於其他ADC（例如使用其他抗體、連接子和/或藥物的那些，例如與本文揭露的其他ADC相比）的特性（例如，改進的軛合穩定性、改進的血漿穩定性、低ADC聚集、中靶細胞毒性、低脫靶毒性、藥物動力學和藥效學特性、可配製性和毒理學/免疫學特徵、在腫瘤微環境中刺激抗免疫反應、刺激骨髓細胞（例如巨噬細胞和/或樹突狀細胞）對表現PSMA的細胞的吞噬作用增加、和體內抗腫瘤活性）。在一些實施方式中，不受理論的束縛，使用抗體-藥物軛合物（該抗體-藥物軛合物包含抗PSMA抗體或其抗原結合片段，該抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含三個HCDR，其包含以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 21（HCDR1）、SEQ ID NO: 22（HCDR2）和SEQ ID NO: 27（HCDR3）；以及三個LCDR，其包含SEQ ID NO: 32（LCDR1）、SEQ ID NO: 35（LCDR2）和SEQ ID NO: 37（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的；以及含有LP16、LP20、LP26或LP28的連接子-藥物軛合物）的益處可以包括改進的軛合穩定性、改進的血漿穩定性、低ADC聚集、中靶細胞毒性、低脫靶毒性、藥物動力學和藥效學特性、可配製性和毒理學/免疫學特徵、在腫瘤微環境中刺激抗免疫反應、刺激骨髓細胞（例如巨噬細胞和/或樹突狀細胞）對表現PSMA的細胞的吞噬作用增加、和體內抗腫瘤活性。這樣的抗體-藥物軛合物的優異益處的示例性證據顯示在實例9、12、14和15中。

【0557】在本文揭露的抗體-藥物軛合物的一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含抗PSMA抗體或其抗原結合片段，該抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含三個HCDR，其包含以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 28（HCDR1）、SEQ ID NO: 29（HCDR2）和SEQ ID NO: 30（HCDR3）；以及三個LCDR，其包含SEQ ID NO: 38（LCDR1）、SEQ ID NO: 39（LCDR2）和SEQ ID NO: 37（LCDR3），如由IMGT編號系統所定義的；以及含有LP16、LP20、LP26或LP28的連接子-藥物軛合物。不受理論的束縛，與其他抗PSMA抗體-藥物軛合

物相比，該等抗體-藥物軛合物中的一種或多種可以表現出優於其他ADC（例如使用其他抗體、連接子和/或藥物的那些，例如與本文揭露的其他ADC相比）的特性（例如，改進的軛合穩定性、改進的血漿穩定性、低ADC聚集、中靶細胞毒性、低脫靶毒性、藥物動力學和藥效學特性、可配製性和毒理學/免疫學特徵、在腫瘤微環境中刺激抗免疫反應、刺激骨髓細胞（例如巨噬細胞和/或樹突狀細胞）對表現PSMA的細胞的吞噬作用增加、和體內抗腫瘤活性）。在一些實施方式中，不受理論的束縛，使用抗體-藥物軛合物（該抗體-藥物軛合物包含抗PSMA抗體或其抗原結合片段，該抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含三個HCDR，其包含以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 28（HCDR1）、SEQ ID NO: 29（HCDR2）和SEQ ID NO: 30（HCDR3）；以及三個LCDR，其包含SEQ ID NO: 38（LCDR1）、SEQ ID NO: 39（LCDR2）和SEQ ID NO: 37（LCDR3），如由IMGT編號系統所定義的；以及含有LP16、LP20、LP26或LP28的連接子-藥物軛合物）的益處可以包括改進的軛合穩定性、改進的血漿穩定性、低ADC聚集、中靶細胞毒性、低脫靶毒性、藥物動力學和藥效學特性、可配製性和毒理學/免疫學特徵、在腫瘤微環境中刺激抗免疫反應、刺激骨髓細胞（例如巨噬細胞和/或樹突狀細胞）對表現PSMA的細胞的吞噬作用增加、和體內抗腫瘤活性。這樣的抗體-藥物軛合物的優異益處的示例性證據顯示在實例9、12、14和15中。

【0558】在本文揭露的抗體-藥物軛合物的一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含抗PSMA抗體或其抗原結合片段，該抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 14的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 19的胺基酸序列的輕鏈可變區；以及含有LP16、LP20、LP26或LP28的連接子-藥物軛合物。不受理論的束縛，該等抗體-藥物軛合物中的一種或多種可以表現出優於其他ADC（例如使用其他抗體、連接子和/或藥物的那些，例如與本文揭露的其

他ADC相比）的特性（例如，改進的軛合穩定性、改進的血漿穩定性、低ADC聚集、中靶細胞毒性、低脫靶毒性、藥物動力學和藥效學特性、可配製性和毒理學/免疫學特徵、在腫瘤微環境中刺激抗免疫反應、刺激骨髓細胞（例如巨噬細胞和/或樹突狀細胞）對表現PSMA的細胞的吞噬作用增加、和體內抗腫瘤活性）。在一些實施方式中，不受理論的束縛，使用抗體-藥物軛合物（該抗體-藥物軛合物包含抗PSMA抗體或其抗原結合片段，該抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 14的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 19的胺基酸序列的輕鏈可變區；以及含有LP16、LP20、LP26或LP28的連接子-藥物軛合物）的益處可以包括改進的軛合穩定性、改進的血漿穩定性、低ADC聚集、中靶細胞毒性、低脫靶毒性、藥物動力學和藥效學特性、可配製性和毒理學/免疫學特徵、在腫瘤微環境中刺激抗免疫反應、刺激骨髓細胞（例如巨噬細胞和/或樹突狀細胞）對表現PSMA的細胞的吞噬作用增加、和體內抗腫瘤活性。這樣的抗體-藥物軛合物的優異益處的示例性證據顯示在實例9、12、14和15中。

【0559】 對於熟悉該項技術者顯而易見的是，在不脫離本文揭露的發明或實施方式的範圍的情況下，本文所述之本發明之方法的其他合適的修改和調整係顯而易見的並且可以使用合適的等同物進行。現在已經詳細描述了本發明，藉由參考以下實例將更清楚地理解它們，所包括的該等實例僅用於說明的目的而不旨在具有限制性。

實例

實例1.連接子-有效載荷合成

【0560】 在以下說明性實例中，除非另外說明，否則

(i) 溫度以攝氏度（°C）給出；

(ii) 有機溶液經無水硫酸鈉或硫酸鎂乾燥；

(iii) 使用旋轉蒸發器在減壓（0 - 1000毫巴）下在高達60°C的浴溫下進行有機溶劑的蒸發；

(iv) 柱層析法意指在矽膠或預填充矽膠柱（12 g、24 g、40 g等）上的快速層析法；

(v) 在矽膠板上進行薄層層析法（TLC）；

(vi) 正相和反相快速柱層析法使用Teledyne ISCO CombiFlash®系統或Biotage®快速柱進行，根據製造商的說明使用，並且分別從蘇必利爾街4700號，林肯NE 68504，美國或拜泰齊公司（Biotage AB），郵政信箱8 751 03，瑞典烏普薩拉大學獲得；

(vii) 製備型TLC意指在純化中使用的製備型TLC板；

(viii) 通常，藉由TLC或液相層析法/質譜法（LC/MS）跟蹤反應過程，並且給出反應時間僅用於說明；

(ix) 最終產物具有令人滿意的質子核磁共振（NMR）譜和/或質譜數據；

(x) 如果需要更多材料，則重複製備過程；

(xi) 當給出時，^{1}H NMR數據呈主要診斷性質子的δ值形式，以相對於作為內標的四甲基矽烷（TMS，0 ppm）的百萬分之一（ppm）給出。殘留溶劑峰也可以用作內標。耦合常數以赫茲（Hz）為單位報告。裂分形式的縮寫如下：s：單峰；d：雙峰；t：三重峰；m：多重峰；以及brs：寬單峰；

(xii) 如果分配給給定化合物的命名法與本文描述的化合物結構不一致，則以結構為准；以及

(xiii) 製備型HPLC意指製備型高效液相層析法，係指使用下文列出的反相HPLC柱進行純化，並根據製造商的說明使用。

縮寫

可以在整個實例中使用以下縮寫。

Boc：三級丁氧基羰基

AcOH：乙酸

Cbz：苄氧基羰基

CSA：樟腦磺酸

DCC：*N*,*N*'-二環己基碳二亞胺

DCM：二氯甲烷

DIBAL-H：二異丁基氫化鋁

DIEA：*N*,*N*-二異丙基乙胺

DIPEA：*N*,*N*-二異丙基乙胺

DME：1,2-二甲氧基乙烷

DMF： *N*,*N*-二甲基甲醯胺

DMT-MM：4-(4,6-二甲氧基-1,3,5-三-2-基)-4-甲基啉-4-鎓氯化物

DPPA：二苯基磷醯基疊氮化物

EDCI：1-乙基-3-[3-(二甲基胺基)丙基]碳二亞胺

EEDQ: 1-乙氧基羰基-2-乙氧基-1,2-二氫喹啉

eq：當量

ESI：電灑電離

EtOAc：乙酸乙酯

FA：甲酸

h：小時

HATU：1-[雙(二甲基胺基)亞甲基]-1H-1,2,3-三唑并[4,5-b]吡啶鎓 3-氧化物六氟磷酸鹽

HFIP：1,1,1,3,3,3-六氟丙烷-2-醇

HOBT：1-羥基苯并三唑

HPLC：高效液相層析法

IPA： 2-丙醇

LAH： 氫化鋁鋰

LC-MS：液相層析法-質譜法

LiHMDS：雙(三甲基矽基)醯胺鋰

MeCN：乙腈

MTBE：甲基三級丁基醚

NMM：4-甲基啉

PE：石油醚

Prep：製備型

Py： 吡啶

RT：保留時間

rt：室溫

TBAF：四正丁基氟化銨

TBS：三級丁基二甲基矽基

TEA：三乙胺

tert-：三級

TFA：三氟乙酸

THF：四氫呋喃

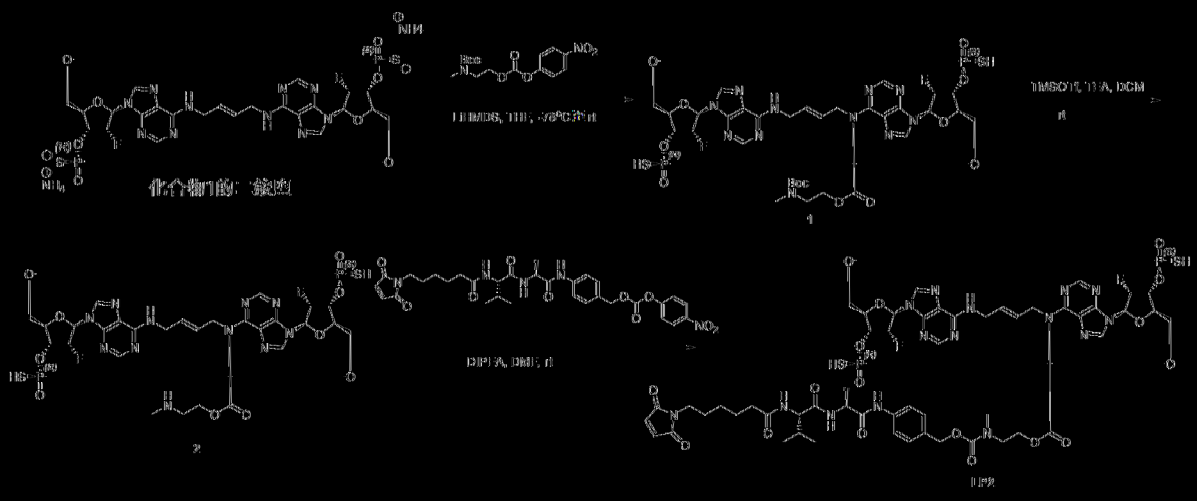
TLC：薄層層析法

TMSOTf：三甲基矽基三氟甲磺酸酯

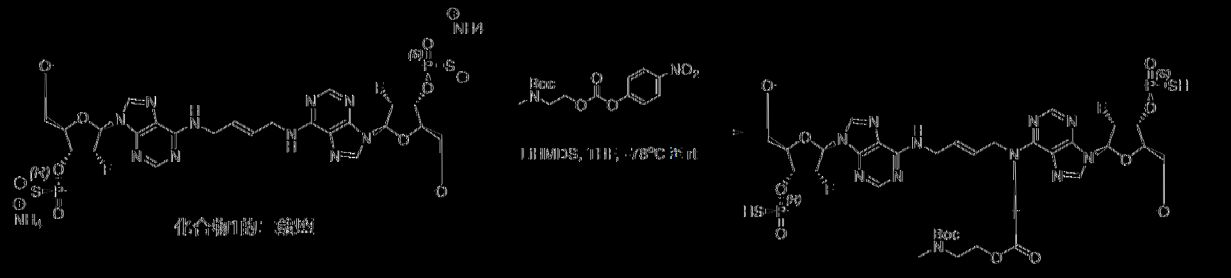
TSTU：*N*,*N*,*N*,*N*'-四甲基-*O*- (*N*-琥珀醯亞胺基)脲四氟硼酸鹽

*1. **LP2**的合成*

【0561】 **LP2**的合成如下所示：

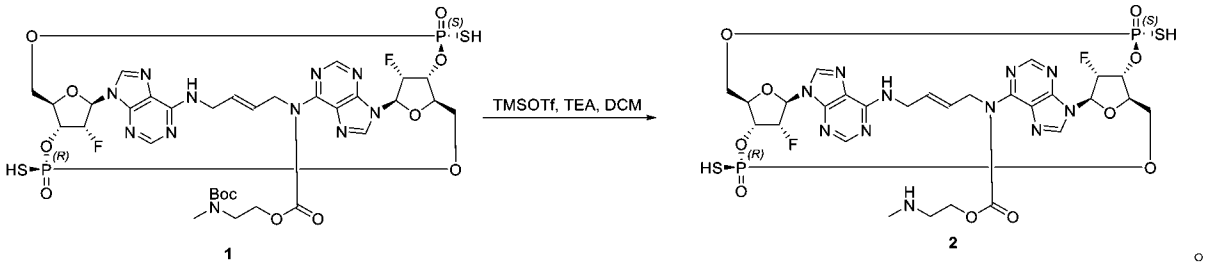


[0562] (1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫砒基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氫雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-[(三級-丁氧基羰基)(甲基)胺基]乙基酯（1）的合成如下所示：



[0563] 在-78°C，將雙(三甲基矽基)醯胺鋰（LiHMDS）（1.6 mmol）的溶液添加至化合物1的二鈉鹽（150 mg，0.201 mmol）在四氫呋喃（THF）（10 mL）中的攪拌溶液中。將所得混合物在氮氣氣氛下在-78°C攪拌30 min。然後在-78°C，將1-[(2-[(三級-丁氧基羰基)(甲基)胺基]乙氧基羰基)氧基]-4-硝基苯（68 mg，0.201 mmol）添加至所得混合物中。將所得混合物在2 h內緩慢加溫至室溫（rt）。將反應用AcOH（96.52 mg，1.608 mmol）淬滅。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由製備型TLC（CH_2Cl_2 / MeOH 7:1）純化以獲得100 mg呈白色固體的[標產物1。LC-MS (ESI): 948.1 [M+H]$^+$。

【0564】(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*) -29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-(甲基胺基)乙基酯（**2**）的合成如下所示：

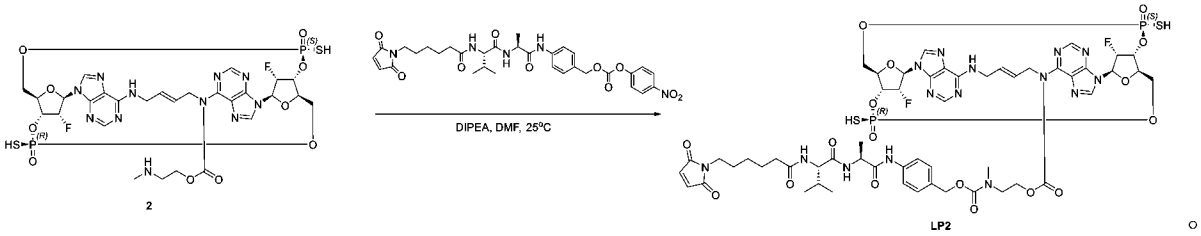


。

【0565】將三乙胺（TEA）（14.41 mg，0.140 mmol）添加至(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-[(三級丁氧基羰基)(甲基)胺基]乙基酯（**1**）（27 mg，0.028 mmol）在CH_2Cl_2（2 mL）中的攪拌溶液中。然後在室溫，將三甲基矽基三氟甲磺酸酯（TMSOTf）（44.32 mg，0.196 mmol）添加至所得混合物中。將所得混合物在室溫攪拌30 min。將所得混合物在減壓下濃縮，以提供呈無色油狀物的目標產物**2**，其無需進一步純化即可用於下一步驟。LC-MS (ESI): 848.1 $[M+H]^+$。

【0566】(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-{[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)己醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}乙基

酯（**LP2**）的合成如下詳細所示：



【0567】 將碳酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)己醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基 4-硝基苯基酯（18.45 mg，0.028 mmol）和N,N-二異丙基乙胺（DIPEA）（7.32 mg，0.056 mmol）添加至(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-(甲基胺基)乙基酯（2）（24 mg，0.028 mmol）在N,N-二甲基甲醯胺（DMF）（1 mL）中的攪拌溶液中。將所得混合物在室溫攪拌14 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由製備型TLC（乙酸乙酯（EtOAc）（1% TEA）/ MeOH 3/1）和製備型HPLC（柱：XBridge Prep Phenyl OBD柱，19x250 mm，5 μm；流動相A：水（0.3% NH_4HCO_2），流動相B：乙腈（MeCN）；流速： 25 mL/min；梯度：在10 min內25% B至40% B，40% B；波長： 254 nm；保留時間（RT）= 9 min）純化，以得到呈白色固體的目標產物**LP2**（6.0 mg）。

【0568】 LC-MS (ESI): 1360.55 $[M+H]^+$。

【0569】 ^{1}H NMR (300 MHz, 甲醇- d_4) δ 8.97 – 8.85 (m, 1H), 8.84 – 8.62 (m, 2H), 8.12 (s, 1H), 7.69 – 7.51 (m, 2H), 7.40 – 7.14 (m, 2H), 6.88 – 6.72 (s, 2H), 6.54 – 6.20 (m, 2H), 6.11 – 5.97 (m, 1H), 5.95 – 5.18 (m, 3H), 5.09 – 4.95 (m, 2H), 4.91 – 4.86 (m, 2H), 4.72 – 4.57 (m, 3H), 4.57 – 4.46 (m, 3H), 4.48 – 4.36 (m, 2H), 4.36 –

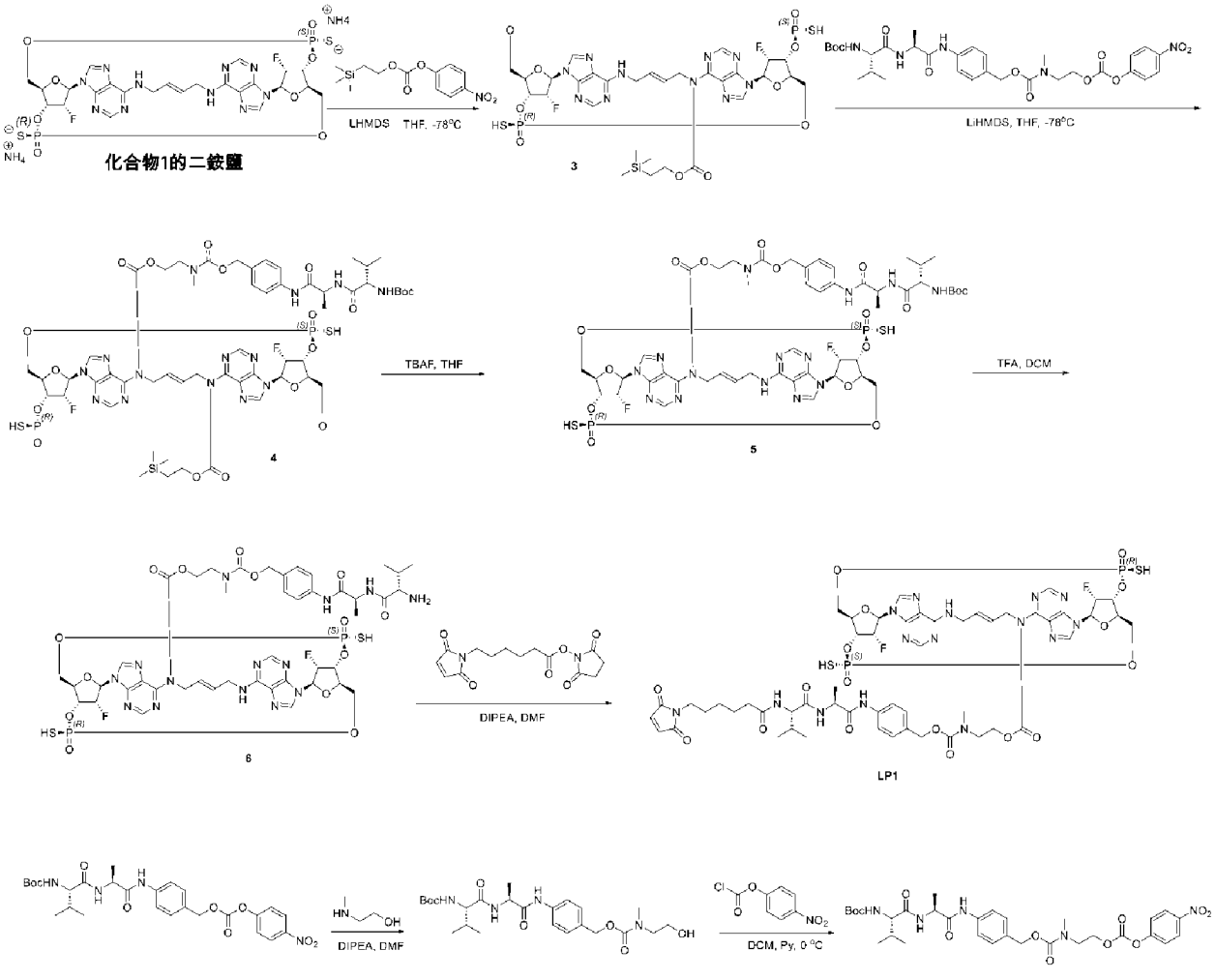
4.24 (m, 1H), 4.24 – 4.12 (m, 2H), 4.11 – 3.90 (m, 2H), 3.72 – 3.54 (m, 1H), 3.55 – 3.41 (m, 4H), 2.85 – 2.68 (m, 3H), 2.41 – 2.23 (m, 2H), 2.18 – 2.02 (m, 1H), 1.79 – 1.50 (m, 5H) 1.50 – 1.41 (m, 3H), 1.36 – 1.22 (m, 2H), 1.09 – 0.88 (m, 7H)。

【0570】 ^{31}P NMR (162 MHz, 甲醇-d_4) δ ppm 54.82, 55.19。

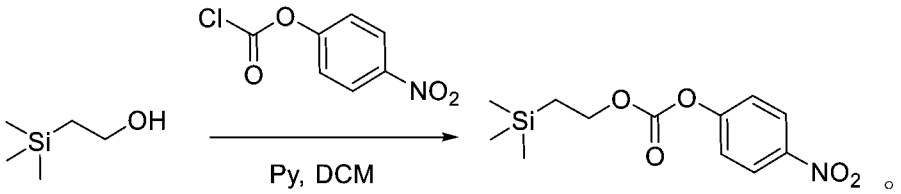
【0571】 分析型HPLC RT = 3.60 min（儀器： Shimadzu LC20AD；柱：HALO C18（4.6 mm ID x 100 mm）；流動相A：水（0.05%三氟乙酸（TFA）），流動相B：MeCN（0.05% TFA）；流速： 1.5 mL/min；溫度：40°C；梯度：10% B（t = 0.01 min），95% B（t = 8至10 min）；波長：254 nm）。

*2. **LP1**的合成*

【0572】 **LP1**的合成如下所示：



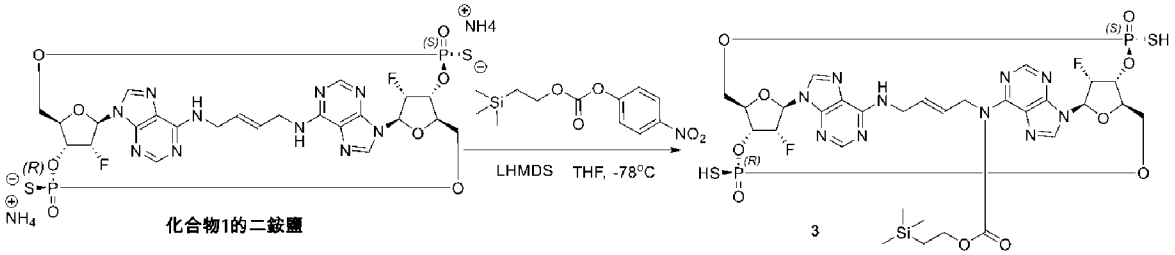
【0573】 碳酸4-硝基苯基 2-(三甲基矽基)乙基酯的合成如下所示：



。

【0574】 將4-硝基苯基氯甲酸酯（3.8 g，19 mmol）和吡啶（1.5 g，19 mmol）添加至2-(三甲基矽基)乙醇（1.50 g，12.7 mmol）在CH_2Cl_2（20 mL）中的溶液中。將所得混合物在室溫攪拌4 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用石油醚/EtOAc（1:2）洗脫）純化。這產生2.7 g呈淡黃色固體的碳酸4-硝基苯基 2-(三甲基矽基)乙基酯。

【0575】 (1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-(三甲基矽基)乙基酯（**3**）的合成如下所示：

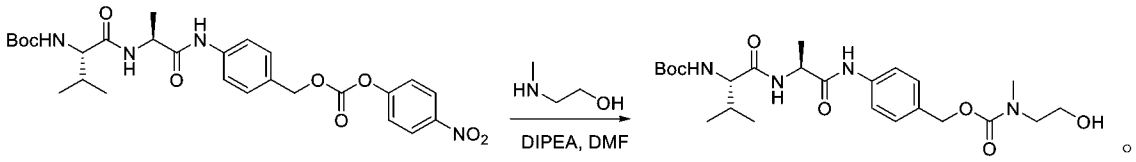


。

【0576】 在-78°C，將LiHMDS（0.80 mmol）的溶液添加至化合物1的二銨鹽（100 mg）在THF（3 mL）中的溶液中。將所得混合物在氮氣氣氛下在-78°C攪拌30 min。在-78°C，向上述混合物中滴加碳酸4-硝基苯基 2-(三甲基矽基)乙基酯（38 mg，0.13 mmol）。將所得混合物在氮氣氣氛下在-78°C攪拌1 h。將反應用AcOH（48 mg，0.804 mmol）淬滅。將所得混合物在減壓下濃

縮。將殘餘物藉由製備型TLC（使用CH_2Cl_2 / MeOH（7:1））純化。這產生80 mg呈白色固體的目標產物**3**。LC-MS (ESI): 891 $[M+H]^+$。

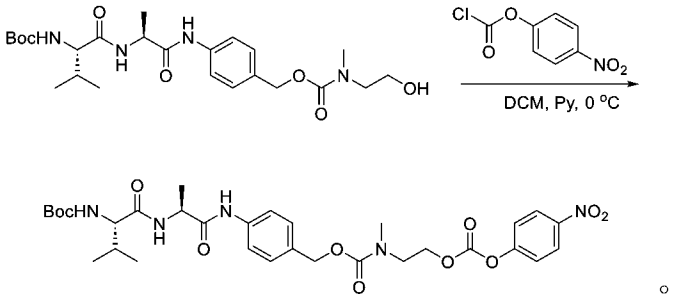
【0577】 N-[(1S)-1-{[(1S)-1-{[4-({[(2-羥基乙基)(甲基)胺基甲醯基]氧基}甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸三級丁基酯的合成如下所示：



。

【0578】 向碳酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[(三級丁氧基羰基)胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基 4-硝基苯基酯（1.2 g，2.1 mmol）和N-甲基-乙醇胺（161 mg，2.15 mmol）在DMF（10 mL）中的攪拌溶液中添加DIPEA（555 mg，4.30 mmol）。將所得混合物在室溫攪拌2 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用CH_2Cl_2 / MeOH（12:1）洗脫）純化。這產生呈白色固體的N-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-({[(2-羥基乙基)(甲基)胺基甲醯基]氧基}甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸三級丁基酯（950 mg）。LC-MS (ESI): 495.2 $[M+H]^+$。

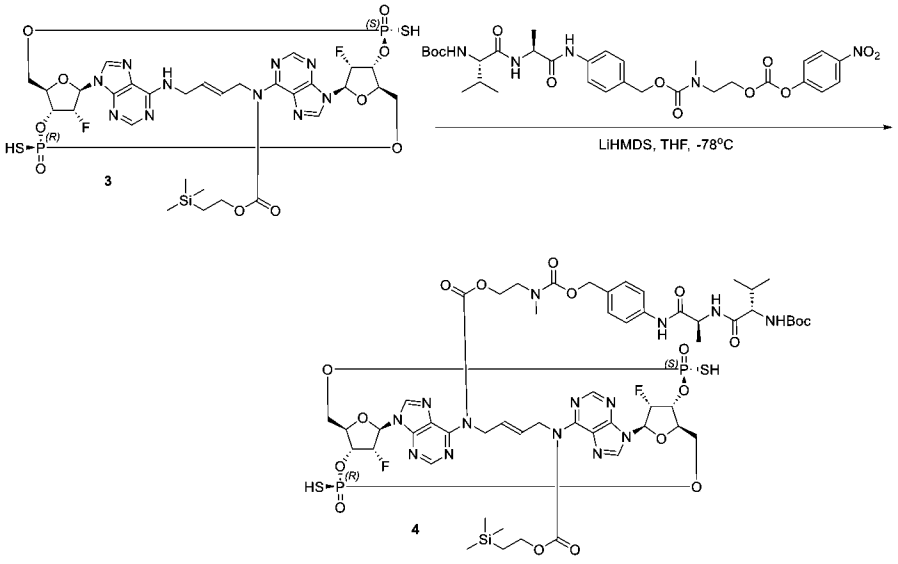
【0579】 N-[(1S)-2-甲基-1-{[(1S)-1-{[4-({[甲基({2-[(4-硝基苯氧基羰基)氧基]乙基})胺基甲醯基]氧基}甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}丙基]胺基甲酸三級丁基酯的合成如下所示：



。

【0580】 向N-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-({[(2-羥基乙基)(甲基)胺基甲醯基]氧基}甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸三級丁基酯（950 mg，1.92 mmol）和4-硝基苯基氯甲酸酯（581 mg，2.88 mmol）在二氯甲烷（DCM）（30 mL）中的攪拌溶液中添加吡啶（228 mg，2.88 mmol）。將所得混合物在氮氣氣氛下在室溫攪拌過夜。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用石油醚/EtOAc（1:2）洗脫）純化。這產生呈白色固體的N-[(1*S*)-2-甲基-1-{[(1*S*)-1-{[4-({[甲基({2-[(4-硝基苯氧基羰基)氧基]乙基})胺基甲醯基]氧基}甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}丙基]胺基甲酸三級丁基酯（1.1 g）。LC-MS (ESI): 660.2 $[M+H]^+$。

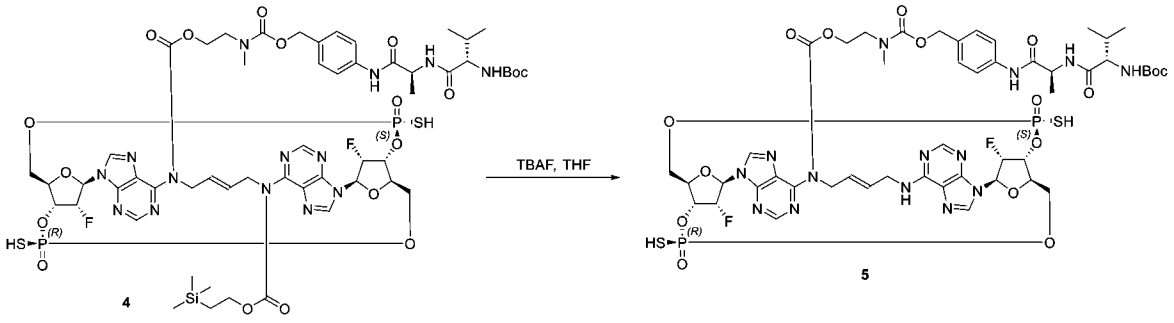
【0581】 (1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13,18-二甲酸13-(2-{[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[(三級丁氧基羰基)胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}乙基) 18-[2-(三甲基矽基)乙基]酯（**4**）的合成如下所示：



。

【0582】 在-78°C，將LiHMDS（0.54 mmol）的溶液添加至(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-(三甲基矽基)乙基酯（**3**）（80 mg，0.090 mmol）在THF（3 mL）中的混合物中。將所得混合物在氮氣氣氛下在-78°C攪拌30 min。在-78°C，向上述混合物中分批添加*N*-[(1S)-2-甲基-1-{[(1S)-1-{[4-({[甲基({2-[(4-硝基苯氧基羰基)氧基]乙基})胺基甲醯基]氧基}甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}丙基]胺基甲酸三級丁基酯（59.3 mg，0.090 mmol）。將所得混合物在氮氣氣氛下在-78°C攪拌2 h。將反應在-78°C藉由添加AcOH淬滅。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由製備型TLC（CH_2Cl_2 / MeOH 7:1）純化。這產生60 mg呈白色固體的目標產物**4**。LC-MS (ESI): 1411 $[M+H]^+$。

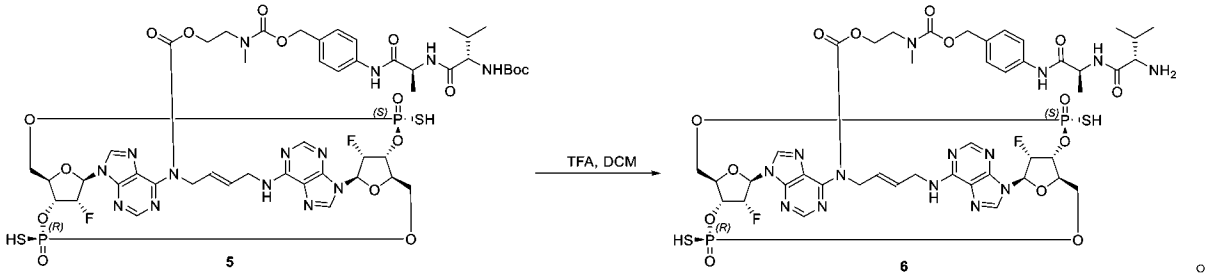
【0583】 (1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-{[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-胺基-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}-2-甲基丙基酯（**5**）的合成如下所示：



。

【0584】將四丁基氟化銨（TBAF）（0.22 mmol）的溶液添加至(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13,18-二甲酸13-(2-{[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[(三級丁氧基羰基)胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}乙基)18-[2-(三甲基矽基)乙基]酯（**4**）（60 mg，0.043 mmol）在THF（3 mL）中的混合物中。將所得混合物在室溫攪拌1 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由製備型TLC（EtOAc（1% TEA）/ MeOH 3:1）純化。這產生48 mg呈白色固體的目標產物**5**。LC-MS (ESI): 1267 $[M+H]^+$。

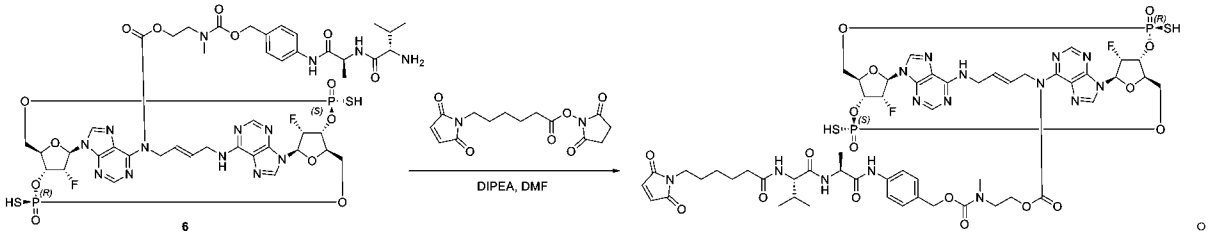
【0585】(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-{[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-胺基-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}乙基酯（**6**）的合成如下所示：



【0586】將TFA（0.5 mL）添加至(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-{[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[(三級丁氧基羰基)胺

基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}乙基酯（**5**）（40 mg，0.032 mmol）在DCM（3 mL）中的混合物中。將所得混合物在0°C攪拌1 h。將所得混合物在減壓下濃縮。這產生60 mg（粗品）呈油狀物的目標產物**6**。LC-MS (ESI): 1167 $[M+H]^+$。

【0587】(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸(1-{[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-胺基-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}環丙基)甲基酯（**LP1**）的合成如下所示：



【0588】將6-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)己酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（21.1 mg，0.068 mmol）和DIPEA（13.3 mg，0.102 mmol）添加至(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-{[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-胺基-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}乙基酯（**6**）（40 mg，0.034 mmol）在DMF（2 mL）中的混合物中。將所得混合物在室溫攪拌1 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用製備型TLC（CH_2Cl_2 / MeOH 5:1）洗脫）純化。將粗製產物藉由製備型HPLC用以下條件純化：柱：

XBridge Prep Phenyl OBD柱，19x250 mm，5 μm；流動相A：水（0.3% NH_4HCO_3），流動相B：MeCN；流速：25 mL/min；梯度：在10 min內25% B至40% B，40% B；波長：254 nm；RT = 9 min。這產生12.3 mg呈白色固體的目標產物**LP1**。

【0589】 LC-MS (ESI): 1360.50 $[M+H]^+$。

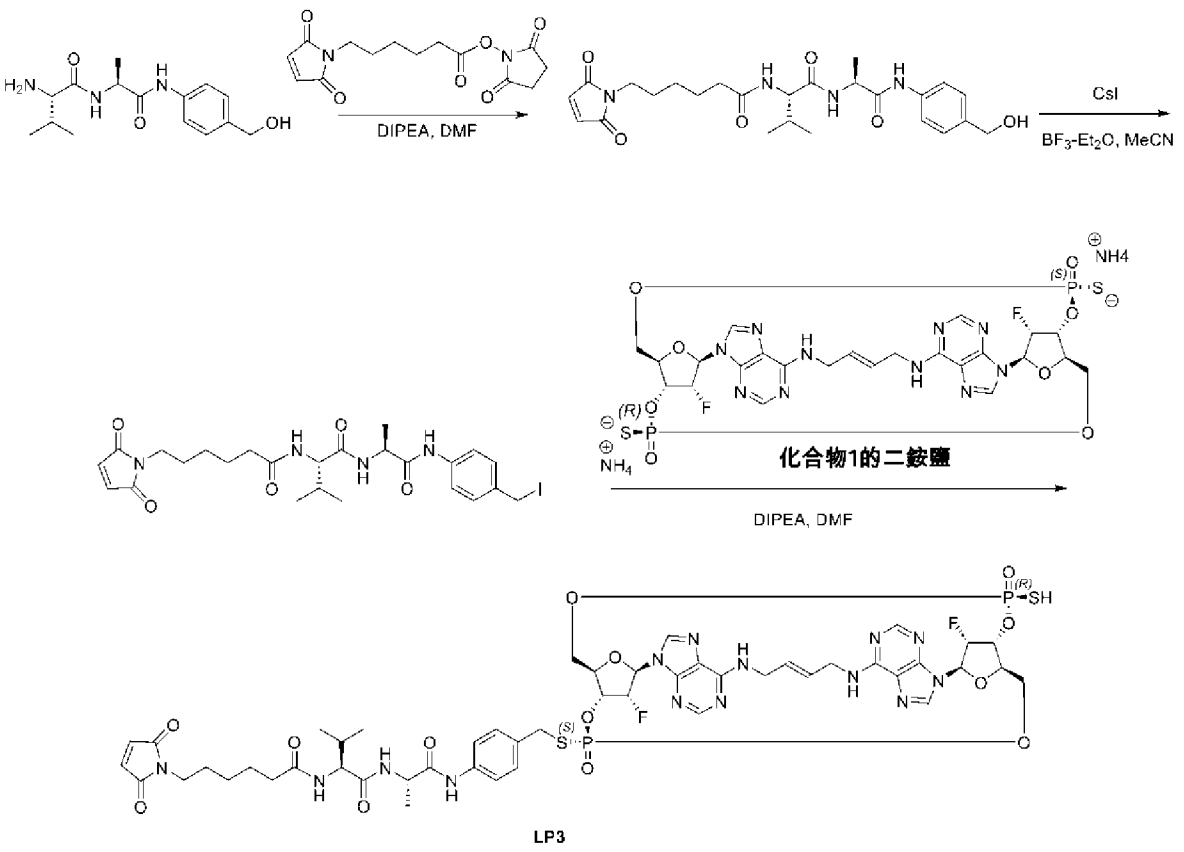
【0590】 ^{1}H NMR (400 MHz, 甲醇-d_4) δ 9.21 - 9.09 (m, 1H), 8.80 – 8.70 (m, 1H), 8.59 – 8.45 (m, 1H), 8.20 – 7.73 (m, 3H), 7.64 – 7.54 (m, 2H), 7.35 – 7.27 (m, 1H), 7.27 – 7.18 (m, 1H), 6.83 – 6.77 (m, 2H), 6.55 – 6.41 (m, 1H), 6.40 – 6.16 (m, 1H), 5.88 – 5.63 (m, 2H), 5.60 – 5.49 (m, 1H), 5.48 – 5.29 (m, 1H), 5.15 – 4.91 (m, 5H), 4.75 – 4.68 (m, 3H), 4.67 – 4.59 (m, 2H), 4.58 – 4.47 (m, 3H), 4.46 – 4.38 (m, 2H), 4.33 – 4.14 (m, 3H), 4.11 – 4.02 (m, 1H), 4.01 – 3.93 (m, 1H), 3.71 – 3.60 (m, 2H), 3.57 – 3.43 (m, 3H), 2.80 – 2.69 (m, 3H), 2.34 – 2.26 (m, 2H), 2.15 – 2.04 (m, 1H), 1.70 – 1.54 (m, 4H), 1.50 – 1.44 (m, 3H), 1.36 – 1.27 (m, 3H), 1.03 – 0.95 (m, 6H)。

【0591】 ^{31}P NMR (162 MHz, 甲醇-d_4) δ ppm 55.26, 55.71。

【0592】 分析型HPLC RT = 7.70 min（儀器：Shimadzu LC20AD；柱：XSelect HSS T3（4.6 mm ID x 100 mm）；流動相A：水（0.05% TFA），流動相B：MeCN（0.05% TFA）；流速： 1.2 mL/min；溫度：40°C；梯度：10% B（t=0.01 min）、50% B（t=10 min）、95% B（t=12至14 min）；波長：254 nm）。

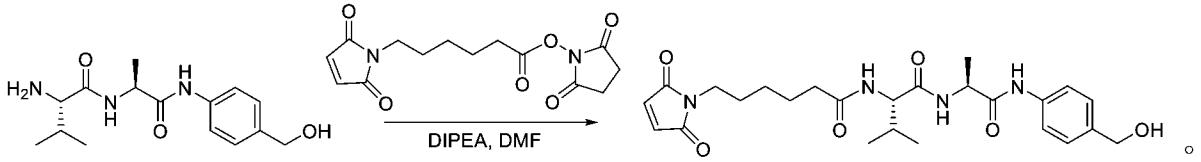
*3. **LP3**的合成*

【0593】 **LP3**的合成如下所示：



。

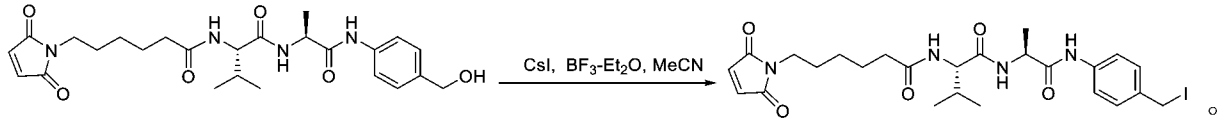
【0594】 6-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺的合成如下所示：



。

【0595】 將DIPEA（1.32 g，10.2 mmol）和6-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)己酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（1.58 g，5.11 mmol）添加至(2*S*)-2-胺基-*N*-[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺（1.5 g，5.1 mmol）在DMF（40 mL）中的溶液中。將所得混合物在室溫攪拌2 h。將所得混合物用EtOAc稀釋、用水洗滌並濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用CH_2Cl_2 / MeOH（10:1）洗脫）純化。這產生2.0 g呈灰白色固體的6-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)-*N*-[(1S)-1-{[(1S)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺。LC-MS (ESI): 487 $[M+H]^+$。

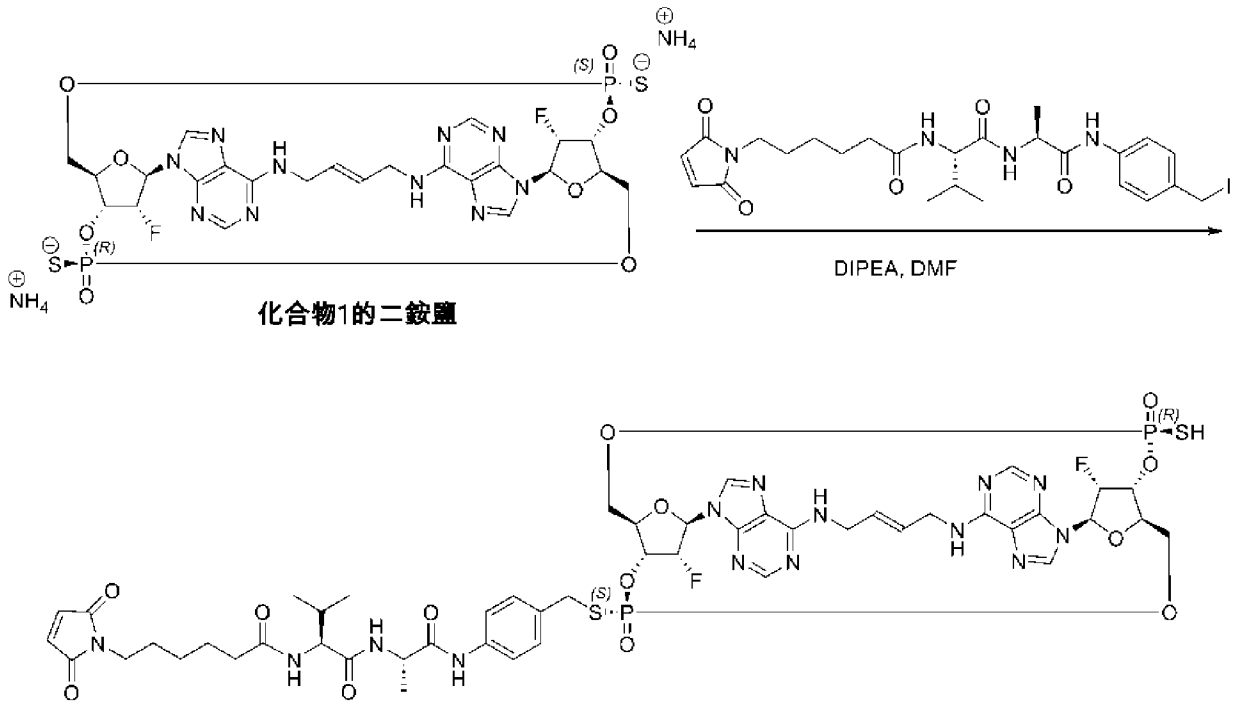
【0596】 6-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(碘甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺的合成如下所示：



。

【0597】 將碘化銫（801 mg，3.08 mmol）和三氟化硼醚合物（$BF_3 \cdot Et_2O$）（438 mg，3.08 mmol）添加至6-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺（1.0 g，2.06 mmol）在乙腈（10 mL）中的溶液中。將所得混合物在室溫攪拌2 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用CH_2Cl_2 / $^{i}PrOH$（10:1）洗脫）純化。這產生700 mg呈白色固體的6-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)-*N*-[(1S)-1-{[(1S)-1-{[4-(碘甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺。LC-MS (ESI): 597 $[M+H]^+$。

【0598】 *N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-({[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-39-氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-34-基]氫硫基}甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)己醯胺（**LP3**）的合成如下所示：



化合物1的二銨鹽

【0599】 將6-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)-N-[(1S)-1-{[(1S)-1-{[4-(碘甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺（480 mg，0.805 mmol）和DIPEA（208 mg，1.61 mmol）添加至化合物1的二銨鹽（600 mg，0.805 mmol）在DMF（5 mL）中的溶液中。將所得混合物在室溫攪拌2 h。將粗製溶液藉由製備型HPLC用以下條件純化（柱：XBridge Prep OBD C18柱，19*x250 mm，5 μm；流動相A：水（0.05% FA），流動相B：MeCN；流速：25 mL/min；梯度：在8 min內32% B至32% B，32% B；波長：254 nm；RT = 13 min）。這產生108 mg目標產物**LP3**。

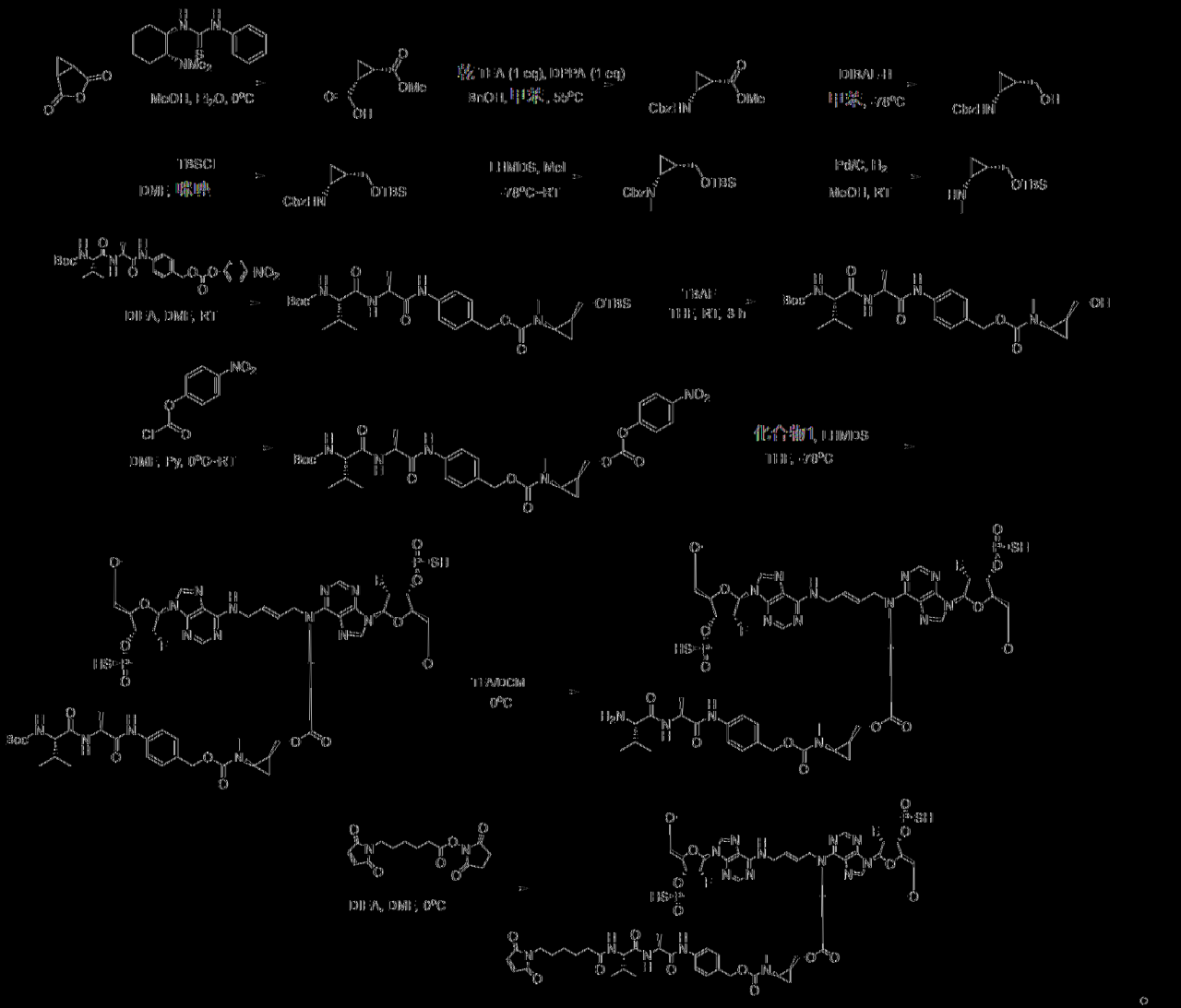
【0600】 LC-MS (ESI): 1215.3 $[M+H]^+$。

【0601】 ^{1}H NMR (400 MHz, 甲醇-d_4) δ (ppm) = 8.77 - 8.46 (m, 1H), 8.30 - 7.90 (m, 6H), 7.40 (br s, 2H), 7.22 - 6.85 (m, 2H), 6.77 (s, 2H), 6.45 (br d, J = 14.5 Hz, 1H), 6.25 (br d, J = 19.9 Hz, 1H), 5.90 - 5.10 (m, 6H), 4.75 - 3.50 (m, 14H), , 3.46 (t, J = 7.0 Hz, 2H), 2.28 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 2.16 - 2.04 (m, 1H), 1.70 - 1.50 (m, 4H), 1.47 - 1.37 (m, 3H), 1.35 - 1.24 (m, 2H), 0.97 (t, J = 7.0 Hz, 6H)。

[0602] 分析型HPLC RT: 6.74 min（儀器：Shimadzu LC20AD；柱：HALO C18（4.6 mm ID x 100 mm）；流動相A：水（0.05% TFA），流動相B：MeCN（0.05% TFA）；流速：1.5 mL/min；溫度：40°C；梯度：10% B（1 0.01 min）、70% B（1 10 min）、95% B（1 12至14 min）；波長：254 nm）。

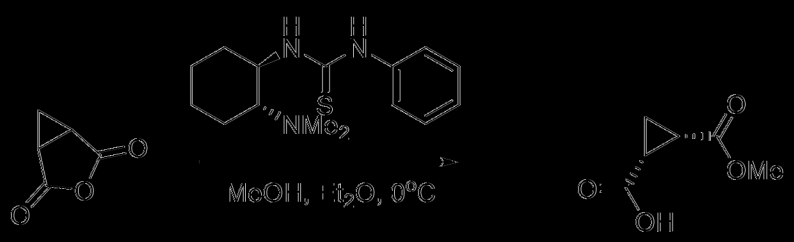
4. LP4的合成

[0603] LP4的合成如下所示：



。

(1R,2S)-2-(甲氨基羰基)環丙烷-1-甲酸的合成

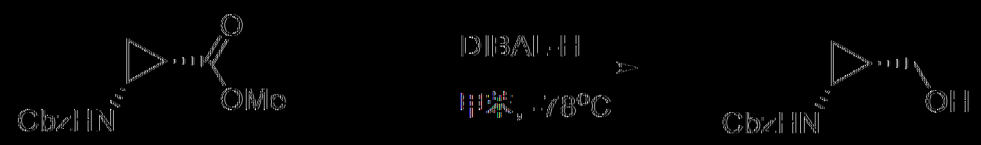


[0604] 在室溫，將3-[(1*R*,2*R*)-2-(二甲基胺基)環丙基]-1-苯基硫脲（618.80 mg，2.231 mmol）添加至3-氧雜雙環[3.1.0]己烷-2,4-二酮（2.5 g，22.3 mmol）在Et_2O（2.50 L）中的溶液中。然後在氮氣氣氛下在0°C滴加MeOH（9.03 mL）。將所得混合物在25°C中攪拌14 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物溶解於Na_2CO_3水溶液（300 mL）中並用DCM（300 mL）洗滌以除去催化劑。將水層用HCl酸化至pH 1。將混合物用EtOAc（300 ml x 2）萃取。將有機層在減壓下濃縮。這產生呈黃色油狀物的(1*R*,2*S*)-2-(甲氧基羰基)環丙烷-1-甲酸（2.5 g）。

(1*S*,2*R*)-2-{[(苄氧基)羰基]胺基}環丙烷-1-甲酸甲基酯的合成

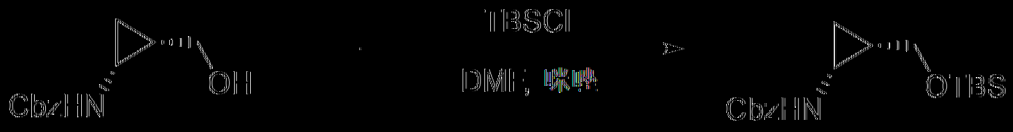
[0605] 在室溫，向(1*R*,2*S*)-2-(甲氧基羰基)環丙烷-1-甲酸（2500 mg，17.3 mmol）在甲苯（150 mL）中的溶液中添加苯基甲醇（1875.51 mg，17.5 mmol）、TEA（1755.29 mg，17.3 mmol）和DPPA（4.7 g，17.3 mmol）。將所得混合物在55°C攪拌14 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將粗製產物藉由反相快速用以下條件純化（柱：C18；流動相A：水（1% FA），流動相B：MeCN；梯度：在30 min內5% B至25% B；220/254 nm），以得到呈白色油狀的(1*S*,2*R*)-2-{[(苄氧基)羰基]胺基}環丙烷-1-甲酸甲基酯（1000 mg）。LC-MS (ESI): 250.1 [M+H]$^+$。

N-[(1*R*,2*S*)-2-(溴甲基)環丙基]胺基甲酸苄基酯的合成



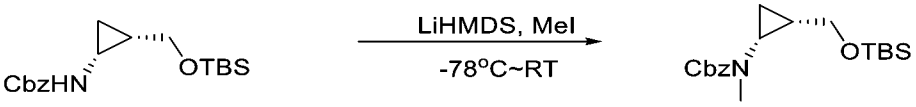
[0606] 在-78°C，向(1*S*,2*R*)-2-{[(下氧基)羰基]胺基}環內烷-1-甲酸[1]其酯（1000 mg，4.012 mmol）在甲苯（6 mL）中的溶液中滴加DIBAL-H（16.048 mmol）。將所得混合物在N_2氣氛下在-78°C攪拌3 h。將反應藉由AcOH淬滅。將混合物用EtOAc稀釋並用H_2O洗滌。將所得混合物在減壓下濃縮。將粗製產物藉由反相快速用以下條件純化（柱：C18；流動相A：水（1% FA），流動相B：MeCN；梯度：在30 min內5 B至20 B；220/254 nm），以得到呈無色油狀物的*N*-[(1*R*,2*S*)-2-(羥基甲基)環內烷]胺基甲酸下其酯（400 mg）。LC-MS (ESI): 222.1 [M+H]$^+$。

N-[(1*R*,2*S*)-2-{[(三級丁基二甲基矽基)氧基]甲基}環內烷]胺基甲酸下其酯的合成



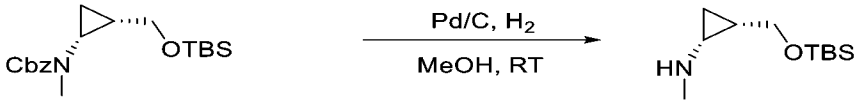
[0607] 向*N*-[(1*R*,2*S*)-2-(羥基甲基)環內烷]胺基甲酸下其酯（800 mg，3.616 mmol）和咪唑（369.23 mg，5.424 mmol）在DMF（5 mL）中的溶液中添加[三級丁基(二甲基)氯矽烷（817.44 mg，5.424 mmol）。將所得混合物在25°C攪拌14 h。將所得混合物在真空下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用PE：EtOAc（5:1）洗脫）純化，以得到呈無色油狀物的*N*-[(1*R*,2*S*)-2-{[(三級丁基二甲基矽基)氧基]甲基}環內烷]胺基甲酸下其酯（600 mg）。LC-MS (ESI): 336.1 [M+H]$^+$。

N-[(1*R*,2*S*)-2-{[(三級丁基二甲基矽基)氧基]甲基}環內烷]-*N*-甲基胺基甲酸下其酯的合成



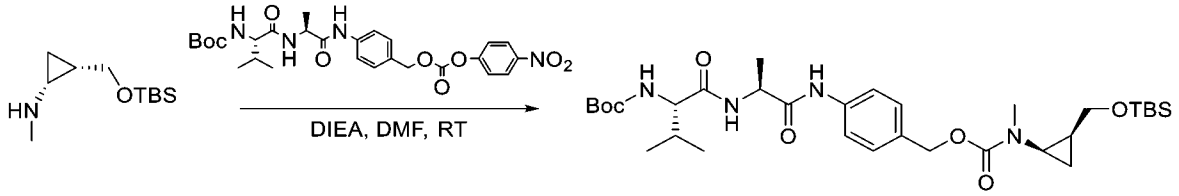
【0608】 在氮氣下在-78°C，向*N*-[(1*R*,2*S*)-2-{[(*三級丁基*二甲基矽基)氧基]甲基}環丙基]胺基甲酸苄基酯（300 mg，0.894 mmol）在THF（20 mL）中的溶液中滴加LiHMDS（2.682 mmol）。將混合物在氮氣氣氛下在-78°C攪拌30 min。在-78°C，向上述混合物中添加碘甲烷（761.48 mg，5.364 mmol）。將所得混合物在兩小時內緩慢加溫至室溫。將反應藉由AcOH淬滅。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由製備型TLC（PE : EtOAc=5:1）純化，以得到呈無色油狀物的*N*-[(1*R*,2*S*)-2-{[(*三級丁基*二甲基矽基)氧基]甲基}環丙基]-*N*-甲基胺基甲酸苄基酯（250 mg）。LC-MS (ESI): 350.2 $[M+H]^+$。

(1*R*,2*S*)-2-{[(*三級丁基*二甲基矽基)氧基]甲基}-N-甲基環丙烷-1-胺的合成



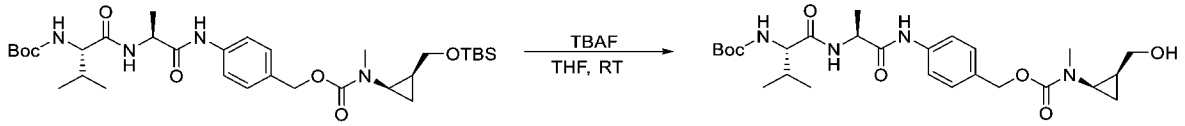
【0609】 向*N*-[(1*R*,2*S*)-2-{[(*三級丁基*二甲基矽基)氧基]甲基}環丙基]-N-甲基胺基甲酸苄基酯（400 mg，1.144 mmol）在MeOH（5 mL）中的溶液中添加Pd/C（80 mg，10%）。將所得混合物在H_2氣氛下在25°C攪拌14 h。將所得混合物過濾，將濾餅用MeOH洗滌。將濾液在減壓下濃縮。這產生呈無色油狀物的(1*R*,2*S*)-2-{[(*三級丁基*二甲基矽基)氧基]甲基}-*N*-甲基環丙烷-1-胺（200 mg）。LC-MS (ESI): 216.2 $[M+H]^+$。

***N*-[(1*R*,2*S*)-2-{[(*三級丁基*二甲基矽基)氧基]甲基}環丙基]-*N*-甲基胺基甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基酯的合成**



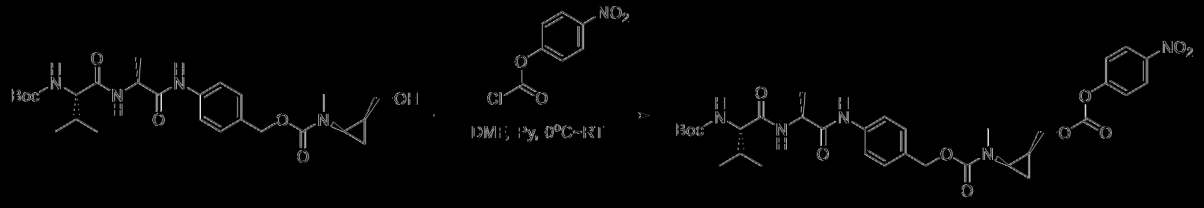
【0610】 向(1*R*,2*S*)-2-{[(*三級丁基*二甲基矽基)氧基]甲基}-*N*-甲基環丙烷-1-胺（231.38 mg，1.074 mmol）和((*S*)-3-甲基-1-(((*S*)-1-((4-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯基)胺基)-1-側氧基丙烷-2-基)胺基)-1-側氧基丁烷-2-基)胺基甲酸*三級丁基*酯（400 mg，0.716 mmol）在DMF（4 mL）中的溶液中添加DIEA（370.21 mg，2.864 mmol）。將所得混合物在25°C攪拌14 h。將濾液在減壓下濃縮。將殘餘物藉由製備型TLC（DCM : EtOAc=4:1）純化，以得到呈黃色固體的*N*-[(1*R*,2*S*)-2-{[(*三級丁基*二甲基矽基)氧基]甲基}環丙基]-*N*-甲基胺基甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基酯（350 mg）。LC-MS (ESI): 635.4 $[M+H]^+$。

_N_-[(1_R_,2_S_)-2-(羥基甲基)環丙基]-_N_-甲基胺基甲酸{4-[(2_S_)-2-[(2_S_)-2-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基酯的合成



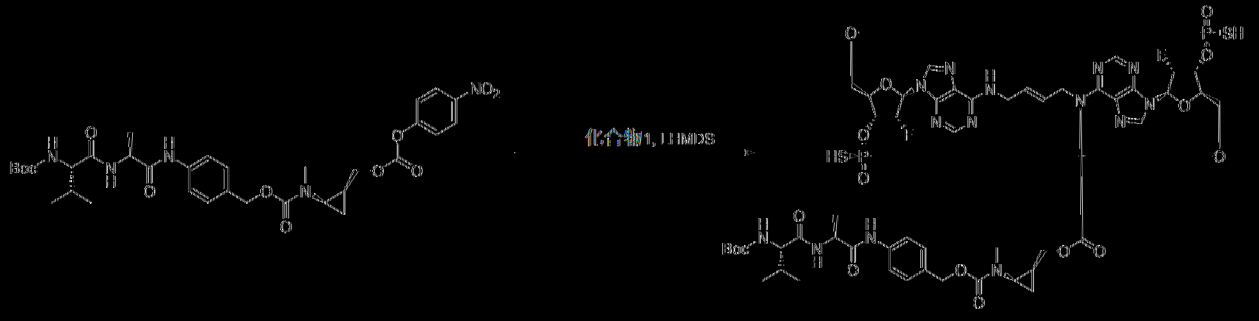
【0611】 在室溫，向*N*-[(1*R*,2*S*)-2-{[(*三級丁基*二甲基矽基)氧基]甲基}環丙基]-*N*-甲基胺基甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基酯（300 mg，0.473 mmol）在THF（3 mL）中的溶液中添加TBAF（370.64 mg，1.419 mmol）。將所得混合物在室溫攪拌3 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由製備型TLC（PE / EtOAc = 1:4）純化，以得到呈白色固體的*N*-[(1*R*,2*S*)-2-(羥基甲基)環丙基]-*N*-甲基胺基甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[(*三級丁氧基*羰基)胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基酯（220 mg）。柱：CHIRAL ART Cellulose-SC，2*25 cm，5 μm；流動相A：Hex（0.5% 2M NH_3-MeOH）—HPLC，流動相B：EtOH: DCM=1: 1—HPLC；流速： 20 mL/min；梯度：在16 min內30% B至30% B；波長： 220/254 nm；LC-MS (ESI): 521.3 $[M+H]^+$。

碳酸[(1*S*,2*R*)-2-{[(4-{(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}環丙基]甲基4-硝基苯基酯的合成



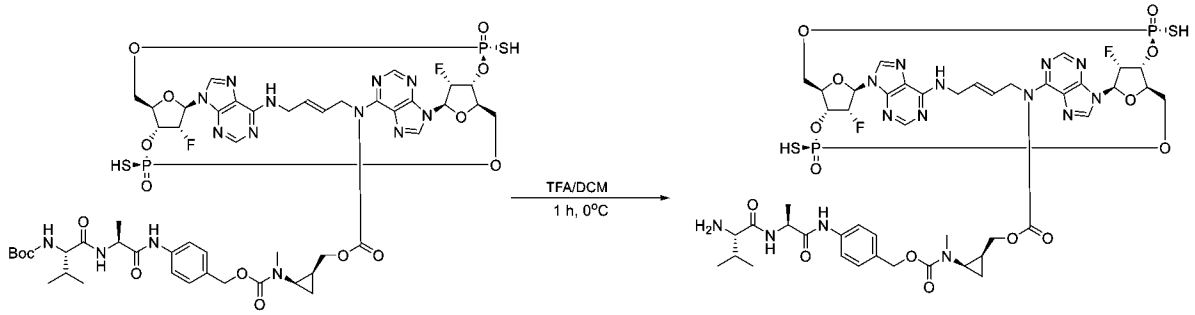
[0612] 向4-硝基苯氯甲酸酯（309.72 mg，1.536 mmol）和*N*-[(1*R*,2*S*)-2-(羥基甲基)環丙基]-*N*-甲基胺基甲酸(4-{(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]苯基}甲基)酯（400 mg，0.768 mmol）在DCM（3 mL）中的溶液中添加吡啶（121.55 mg，1.536 mmol）。將混合物在N_2氣氛下在25°C攪拌6 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用（PE：EtOAc = 1:2）洗脫）純化，以得到呈白色固體的碳酸[(1*S*,2*R*)-2-{[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基]環丙基]甲基4-硝基苯基酯（240 mg）。LC-MS (ESI): 686.3 [M+H]$^+$。

(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(1*S*,2*R*)-2-{[(4-{(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基]環丙基]甲基酯的合成



【0613】在氮氣氣氛下在-78°C將化合物1（50 mg，0.067 mmol）在THF（3 mL）中的溶液用LiHMDS（0.402 mmol）處理30 min，隨後在-78°C滴加碳酸[(1*S*,2*R*)-2-{[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}環丙基]甲基 4-硝基苯基酯（46 mg，0.067 mmol）在THF（0.5 mL）中的溶液。將混合物在一小時內緩慢加溫至室溫。將反應藉由AcOH淬滅。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由製備型TLC（EtOAc（1% TEA）：MeOH=4:1）純化，以得到呈白色固體的(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(1*S*,2*R*)-2-{[({4-[(2*S*)-2-[(2S)-2-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}環丙基]甲基酯（40 mg）。LC-MS (ESI): 1293.4 $[M+H]^+$。

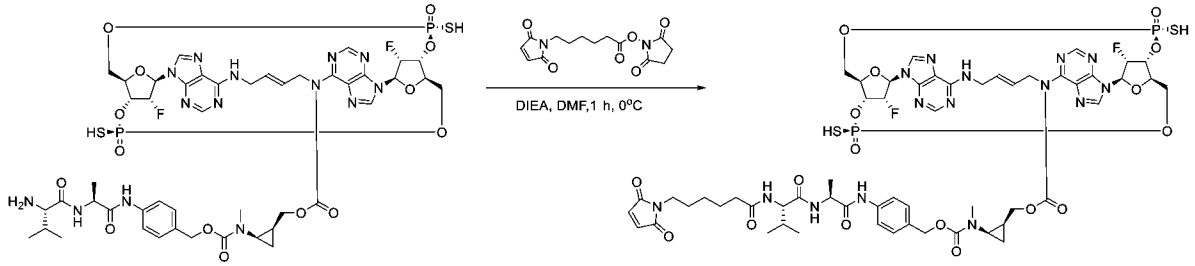
(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(1*S*,2*R*)-2-{[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-胺基-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}環丙基]甲基酯的合成



【0614】將(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-

4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(1*S*,2*R*)-2-{[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}環丙基]甲基酯（35 mg，0.027 mmol）和TFA（0.3 mL）在DCM（1.8 mL）中的溶液在0°C攪拌1 h。將所得混合物在真空下濃縮。粗製產物無需進一步純化即可直接用於下一步驟。LC-MS (ESI): 1193.3 $[M+H]^+$。

(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(1*S*,2*R*)-2-{[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}環丙基]甲基酯（LP4）的合成



【0615】 向(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*) -29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(1*S*,2*R*)-2-{[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-胺基-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}環丙基]甲基酯（35 mg，0.029 mmol）和6-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)己酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（9.04 mg，0.029 mmol）在DMF（3 mL）

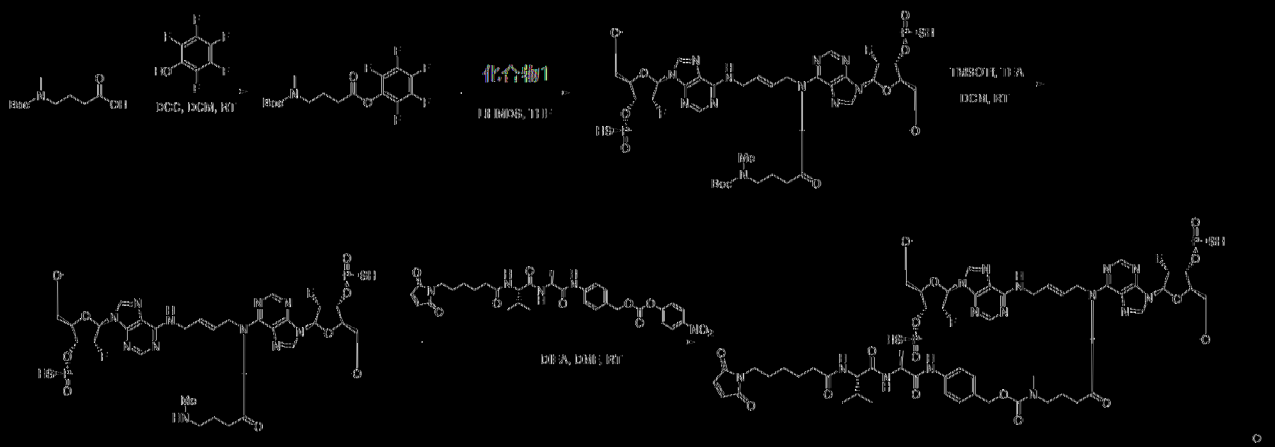
中的混合物中添加DIEA（18.96 mg，0.145 mmol）。將混合物在25°C攪拌2 h。將所得混合物在真空下濃縮。將殘餘物藉由製備型TLC（EtOAc（1%TEA）:MeOH=4:1）和製備型HPLC用以下條件純化（柱：Xbridge Prep Phenyl OBD柱，19x250 mm，5 μm；流動相A：水（50 mmol HCO_2NH_4），流動相B：MeCN；流速：25 mL/min；梯度：在10 min內25% B至35% B，35% B；波長：254 nm），以得到呈白色固體的(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(1*S*,2*R*)-2-{[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}環丙基]甲基酯（**LP4**）（7.6 mg）。

【0616】 LC-MS (ESI): 1386.40 $[M+H]^+$。

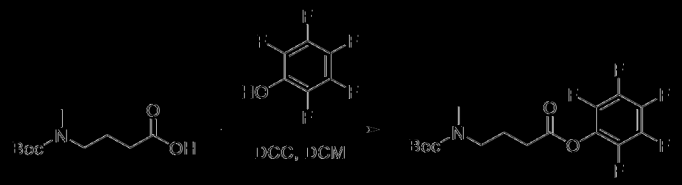
【0617】 ^{1}H NMR (300 MHz, 甲醇-d_4) δ 8.99 – 8.61 (m, 3H), 8.20 – 8.03 (m, 1H), 7.65 – 7.49 (m, 2H), 7.35 – 7.14 (m, 2H), 6.79 (s, 2H), 6.53 – 6.23 (m, 2H), 6.12 – 5.96 (m, 1H), 5.93 – 5.55 (m, 2H), 5.55 – 5.27 (m, 1H), 5.16 – 4.90 (m, 3H), 4.75 – 4.57 (m, 4H), 4.55 – 4.33 (m, 4H), 4.24 – 4.13 (m, 1H), 4.15 – 3.89 (m, 4H), 3.83 – 3.53 (m, 1H), 3.53 – 3.42 (m, 2H), 2.82 (s, 3H), 2.78 – 2.64 (m, 1H), 2.37 – 2.23 (m, 2H), 2.23 – 1.99 (m, 1H), 1.73 – 1.52 (m, 4H), 1.52 – 1.42 (m, 3H), 1.40 – 1.20 (m, 4H), 1.09 – 0.85 (m, 7H), 0.72 – 0.59 (m, 1H)。

*5. **LP5**的合成*

【0618】 **LP5**的合成如下所示：

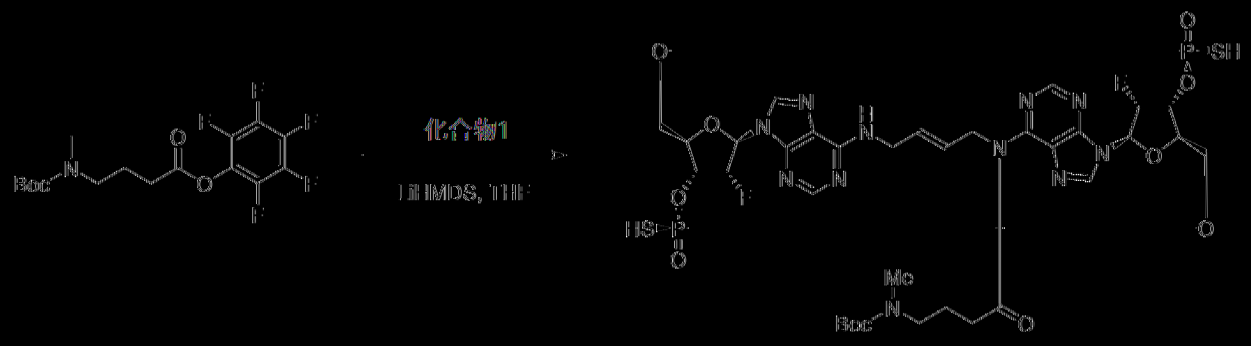


4-[(三級丁氧羰基)(甲基)胺基]丁酸2,3,4,5,6-五氟苯基酯的合成



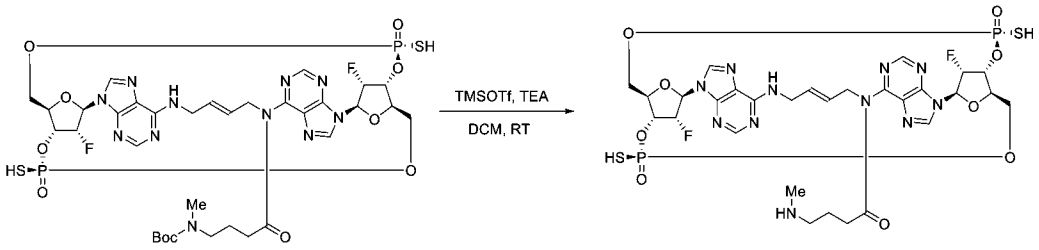
[0619] 將DCC（1.90 g，9.206 mmol）添加至4-[(三級丁氧羰基)(甲基)胺基]丁酸（1 g，4.603 mmol）和五氟苯酚（847.19 mg，4.603 mmol）在DCM（15 mL）中的混合物中。將所得混合物在25°C攪拌2 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（以PE/EtOAc（7:1）洗脫）純化。這產生1.5 g呈白色固體的4-[(三級丁氧羰基)(甲基)胺基]丁酸2,3,4,5,6-五氟苯基酯。LC-MS (ESI): 384 [M+H]+。

N-{4-[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氫雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{1,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-十烯-13-基]-4-側氧基丁基}-*N*-甲基胺基甲酸三級丁酯的合成



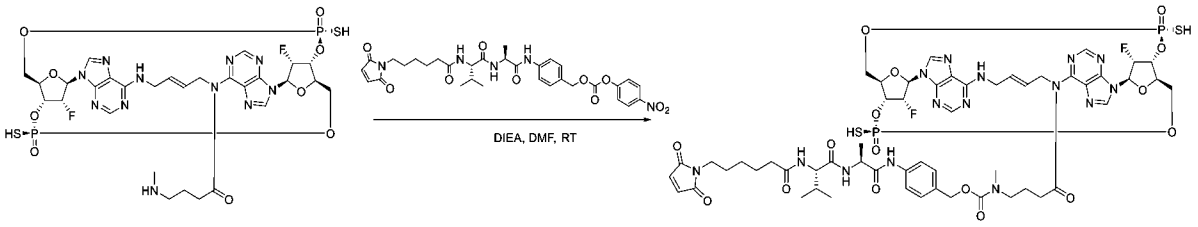
[0620] 在-78°C，將LiHMDS（0.268 mmol）添加至化合物1（50 mg，0.067 mmol）在THF（2 mL）中的混合物中。將所得混合物在-78°C攪拌30 min。在-78°C，向上述混合物中滴加4-[(二級丁氧羰基)(甲基)胺基]丁酸2,3,4,5,6-五氟苯基酯（25 mg，0.067 mmol）。將所得混合物在1 h內緩慢加溫至0°C。在-78°C向上述混合物中添加LiHMDS（0.134 mmol）並攪拌5 min。在-78°C向混合物中滴加4-[(二級丁氧羰基)(甲基)胺基]丁酸2,3,4,5,6-五氟苯基酯（25 mg，0.067 mmol）。將所得混合物在1 h內緩慢加溫至0°C。將反應用AcOH淬滅。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由製備型TLC（DCM/MeOH = 7:1）純化。這產生40 mg呈黃色固體的*N*-{4-[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-基]-4-側氧基丁基}-*N*-甲基胺基甲酸二級丁酯。LC-MS (ESI): 946 [M+H]$^+$。

(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-13-[4-(甲基胺基)丁醯基]-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-34,39-二酮的合成



【0621】將TMSOTf（41 mg，0.185 mmol）添加至*N*-{4-[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*) -29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-基]-4-側氧基丁基}-*N*-甲基胺基甲酸三級丁基酯（35 mg，0.037 mmol）和TEA（11 mg，0.111 mmol）在DCM（2 mL）中的混合物中。將所得混合物在室溫攪拌30 min。將所得混合物在減壓下濃縮。這產生呈黃色油狀物的(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-13-[4-(甲基胺基)丁醯基]-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-34,39-二酮的粗品。LC-MS (ESI): 846 $[M+H]^+$。

_N_-{4-[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*) -29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-基]-4-側氧基丁基}-*N*-甲基胺基甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1基)己醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基酯（LP5）的合成



【0622】將DIEA（18.34 mg，0.140 mmol）添加至(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-13-[4-(甲基胺基)丁醯基]-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-34,39-二酮（30 mg，0.035 mmol）和碳酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)己醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基 4-硝基苯基酯（23.12 mg，0.035 mmol）在DMF（1 mL）中的混合物中。將所得混合物在25ºC攪拌2 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由以下純化：矽膠柱層析法（用製備型TLC（1%TEA）CH_2Cl_2 / MeOH 7:1洗脫）和製備型HPLC（柱：XBridge Prep Phenyl OBD柱，19x250 mm，5 μm；流動相A：水（50 mmol HCO_2NH_4），流動相B：MeCN；流速：25 mL/min；梯度：在10 min內25% B至40% B，40% B；波長：254 nm）。這產生10.1 mg呈白色固體的*N*-{4-[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*) -29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-基]-4-側氧基丁基}-*N*-甲基胺基甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1基)己醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基酯（**LP5**）。

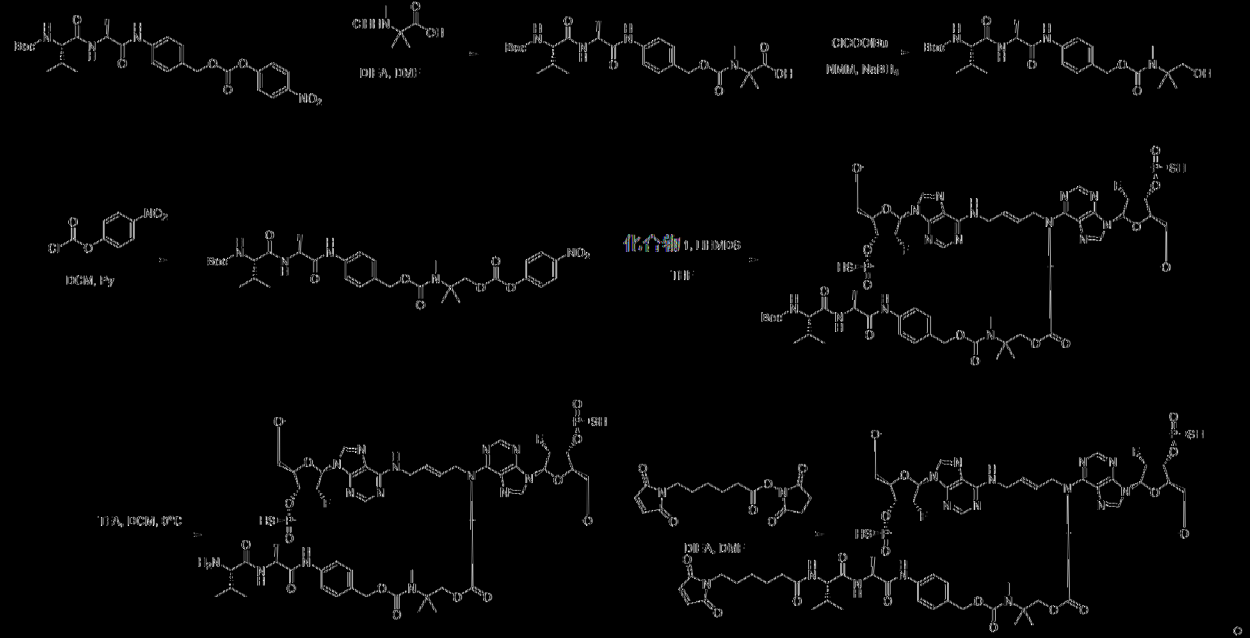
【0623】LC-MS (ESI): 1358.50 $[M+H]^+$。

【0624】^{1}H NMR (400 MHz, 甲醇-d_4) δ 9.02 – 8.62 (m, 3H), 8.19 (s, 1H), 7.56 (m, 2H), 7.36 – 7.16 (m, 2H), 6.79 (s, 2H), 6.52 – 6.30 (m, 2H), 6.11 – 5.76 (m, 1H), 5.73 – 5.44 (m, 2H), 5.08 – 4.95 (m, 2H), 4.72 – 4.41 (m, 9H), 4.20 – 3.92 (m, 3H), 3.75 – 3.40 (m, 4H), 3.28 – 3.16 (m, 4H), 2.81 (s, 3H), 2.70 – 2.55 (m, 2H), 2.49

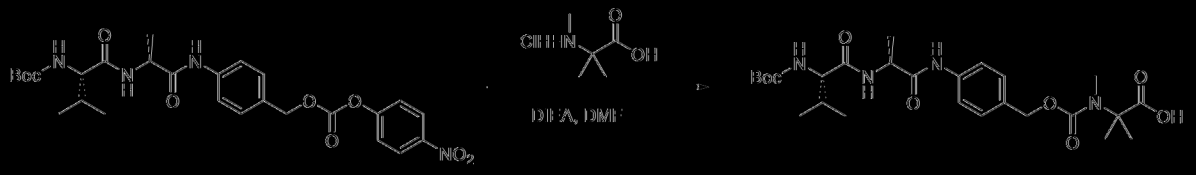
2.03 (m, 4H), 1.93 – 1.77 (m, 2H), 1.68 – 1.60 (m, 3H), 1.59 – 1.50 (m, 2H), 1.48 – 1.41 (m, 4H), 1.36 – 1.25 (m, 4H), 1.03 – 0.95 (m, 6H)。

6. LP6的合成

[0625] LP6的合成如下所示：



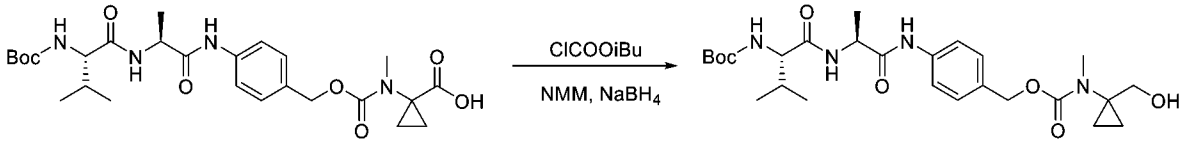
1-{[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基]環丙烷-1-甲酸的合成



[0626] 將DIEA（231.38 mg，1.790 mmol）和1-(甲基胺基)環丙烷-1-甲酸鹽酸鹽（136 mg，0.895 mmol）添加至碳酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]苯甲基}甲基4-硝基苯酯（500 mg，0.895 mmol）在DMF（5 mL）中的混合物中。將所得混合物在60°C攪拌14 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用DCM / MeOH（10:1）洗脫）純化。這產生350 mg呈白色固體的1-{[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)

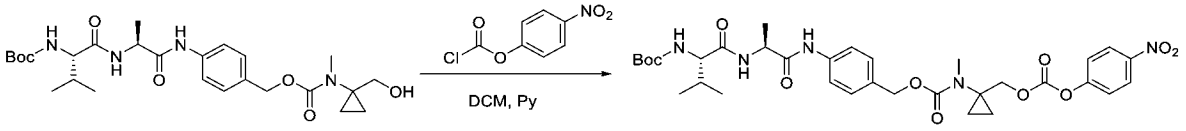
羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}環丙烷-1-甲酸。LC-MS (ESI): 535 $[M+H]^+$。

_N_-[1-(羥基甲基)環丙基]-_N_-甲基胺基甲酸{4-[(2_S_)-2-[(2_S_)-2-{[(_三級丁氧基_)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基酯的合成



【0627】 在0°C，將2-甲基丙基氯甲酸酯（126 mg，0.925 mmol）和4-甲基啉（94 mg，0.925 mmol）添加至1-{[({4-[(2_S_)-2-[(2_S_)-2-{[(_三級丁氧基_)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}環丙烷-1-甲酸（330 mg，0.617 mmol）在DME（5 mL）中的混合物中。將所得混合物在0°C攪拌20 min。向上述混合物中滴加在H_2O（1 mL）中的$NaBH_4$（47 mg，1.234 mmol）。將所得混合物在25°C攪拌2 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用DCM / MeOH（10:1）洗脫）純化。這產生260 mg呈白色固體的_N_-[1-(羥基甲基)環丙基]-_N_-甲基胺基甲酸{4-[(2_S_)-2-[(2_S_)-2-{[(_三級丁氧基_)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基酯。LC-MS (ESI): 521 $[M+H]^+$。

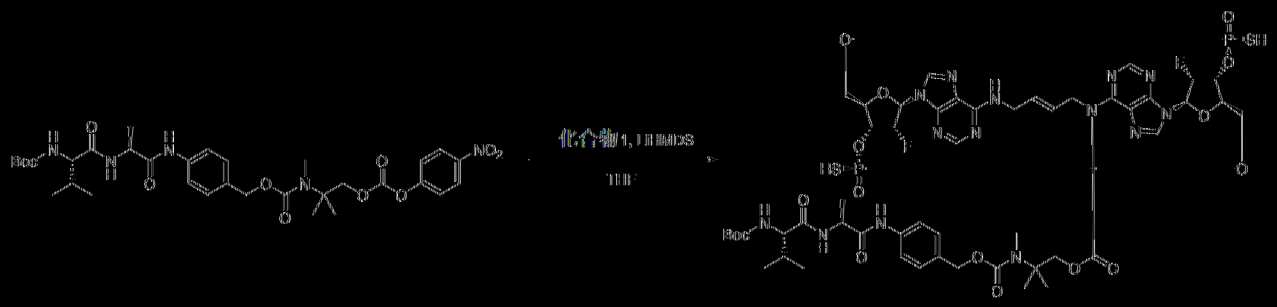
碳酸(1-{[({4-[(2_S_)-2-[(2_S_)-2-{[(_三級丁氧基_)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}環丙基)甲基 4-硝基苯基酯的合成



【0628】 將4-硝基苯基氯甲酸酯（140 mg，0.692 mmol）和吡啶（55 mg，0.692 mmol）添加至_N_-[1-(羥基甲基)環丙基]-_N_-甲基胺基甲酸{4-[(2_S_)-2-[(2_S_)-2-{[(_三級丁氧基_)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基酯（240 mg，0.461 mmol）在DCM（5 mL）中的混合物中。將所得混合物在25°C攪拌4

h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠層析法（用PE / EtOAc（1:2）洗脫）純化。這產生250 mg呈白色固體的碳酸(1-{[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}環丙基)甲基 4-硝基苯基酯。LC-MS (ESI): 686 [M+H]+。

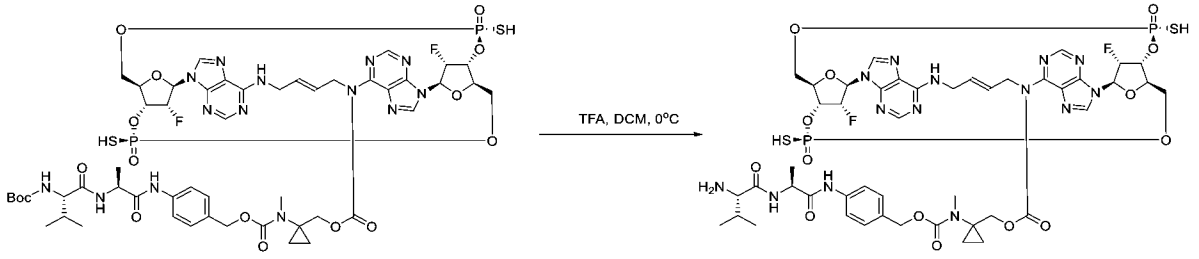
(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸(1-{[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}環丙基)甲基酯的合成



[0629] 在-78°C，將LiHMDS（0.75 mL 0.752 mmol）添加至化合物1（70 mg，0.094 mmol）在THF（5 mL）中的混合物中。將所得混合物在-78°C攪拌20 min。在-78°C，向上述混合物中滴加碳酸(1-{[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-(三級丁氧基)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}環丙基)甲基 4-硝基苯基酯（65 mg，0.094 mmol）。將所得混合物在-78°C攪拌2 h。將反應藉由添加AcOH淬滅。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由製備型TLC（DCM / MeOH 7:1）純化。這產生55 mg呈白色固體的(1*R*,3*R*,15,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-

壬烯-13-甲酸(1-{[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}環丙基)甲基酯。LC-MS (ESI): 1293 $[M+H]^+$。

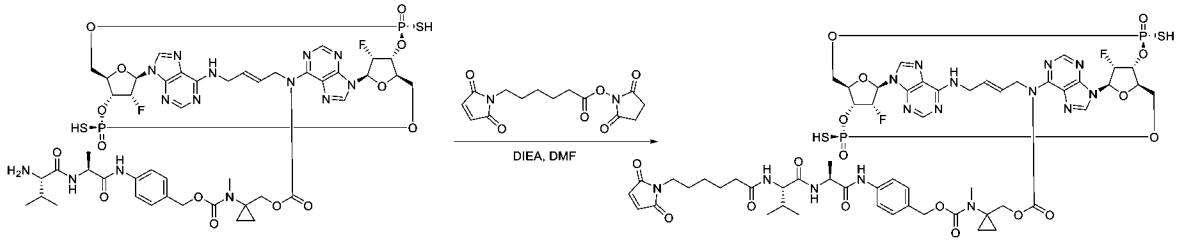
(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸(1-{[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-胺基-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}環丙基)甲基酯的合成



【0630】將TFA（0.5 mL）添加至(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸(1-{[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[(*三級丁氧基*羰基)胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}環丙基)甲基酯（50 mg，0.039 mmol）在DCM（3 mL）中的混合物中。將所得混合物在0°C攪拌1 h。將所得混合物在減壓下濃縮。這產生呈油狀物的(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸(1-{[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-胺基-3-甲基丁醯胺

基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}環丙基)甲基酯的粗品。LC-MS (ESI): 1193[M+H]$^+$。

(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸(1-{[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)己醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}環丙基)甲基酯（LP6）的合成



【0631】 在25°C，將6-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)己酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（21 mg，0.068 mmol）和DIEA（13 mg，0.102 mmol）添加至(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4. 1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸(1-{[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-胺基-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}環丙基)甲基酯（40 mg，0.034 mmol）在DMF（1.5 mL）中的混合物中。將所得混合物在25°C攪拌1 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用製備型TLC（DCM / MeOH 5:1）洗脫）純化。將粗製產物藉由製備型HPLC用以下條件純化（柱：XBridge Prep Phenyl OBD柱，19x250 mm，5 μm；流動相A：水（50 mmol HCO_2NH_4），流動相B：MeCN；流速：25 mL/min；梯度：在10 min內25% B至40% B；波長：254 nm）。這產生16.3 mg呈白色固體的

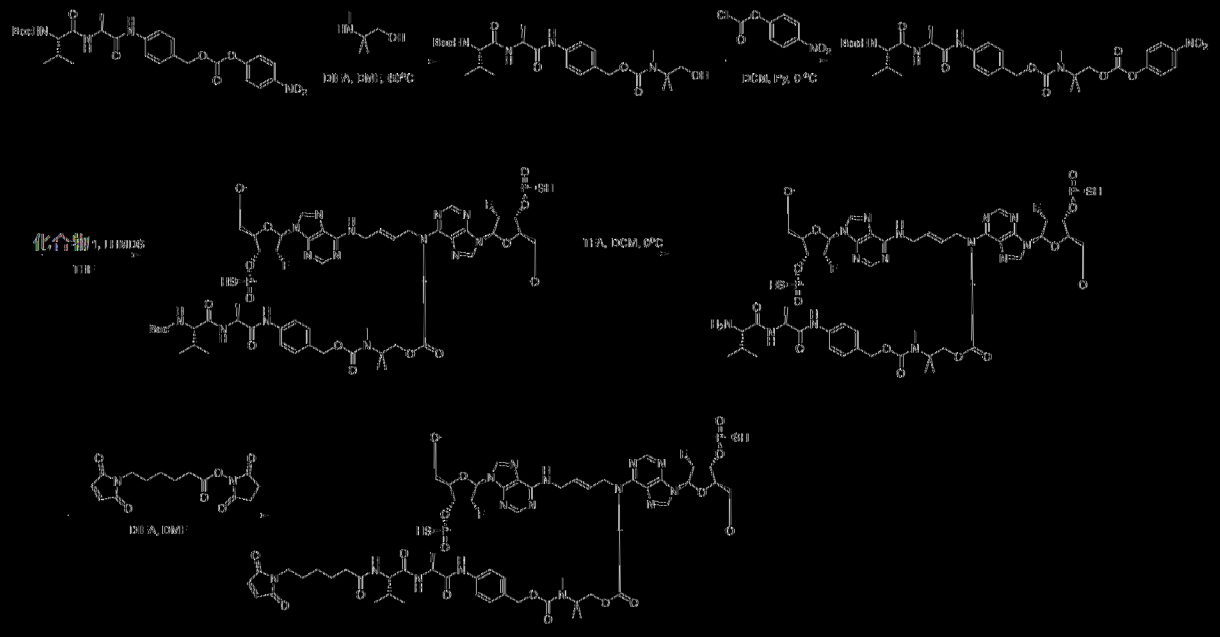
(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸(1-{[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}環丙基)甲基酯（DLP6）。

[0632] LC-MS (ESI): 1386.50 [M+H]$^+$。

[0633] ^{1}H NMR (300 MHz, 甲醇-*d*$_4$) δ 9.03 – 8.63 (m, 3H), 8.28 – 7.98 (m, 2H), 7.57 (d, *J* = 7.4 Hz, 2H), 7.41 – 7.11 (m, 2H), 6.80 (s, 2H), 6.58 – 6.21 (m, 2H), 6.10 – 5.25 (m, 4H), 4.73 – 4.35 (m, 9H), 4.29 – 3.87 (m, 6H), 3.83 – 3.41 (m, 5H), 2.82 – 2.51 (m, 3H), 2.36 – 2.19 (m, 2H), 2.17 – 1.99 (m, 1H), 1.70 – 1.50 (m, 3H), 1.51 – 1.17 (m, 9H), 1.03 – 0.93 (m, 6H), 0.91 – 0.80 (m, 6H)。

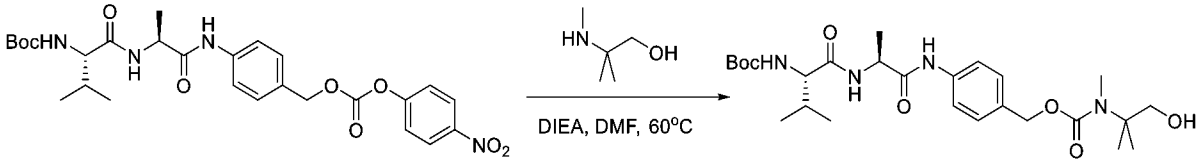
7. DLP7的合成

[0634] DLP7的合成如下所示：



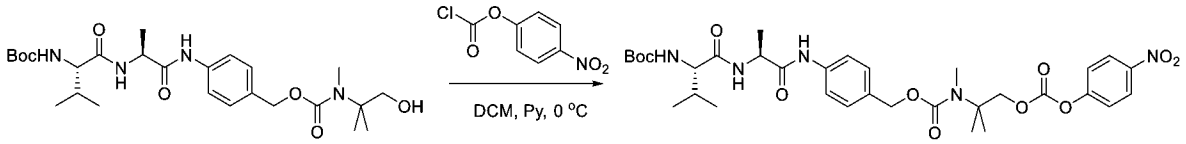
。

_N_-[(1_S_)-1-{[(1_S_)-1-{[4-({[(1-羥基-2-甲基丙烷-2-基)(甲基)胺基甲醯基]氧基}甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸*三級丁基*酯的合成



【0635】將2-甲基-2-(甲基胺基)丙烷-1-醇（185 mg，1.790 mmol）和DIEA（463 mg，3.580 mmol）添加至碳酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[(*三級丁氧基*羰基)胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基 4-硝基苯基酯（1 g，1.790 mmol）在DMF（5 mL）中的混合物中。將所得混合物在60°C攪拌14 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用DCM / MeOH（10:1）洗脫）純化。這產生560 mg呈白色固體的*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-({[(1-羥基-2-甲基丙烷-2-基)(甲基)胺基甲醯基]氧基}甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸*三級丁基*酯。LC-MS (ESI): 523 $[M+H]^+$。

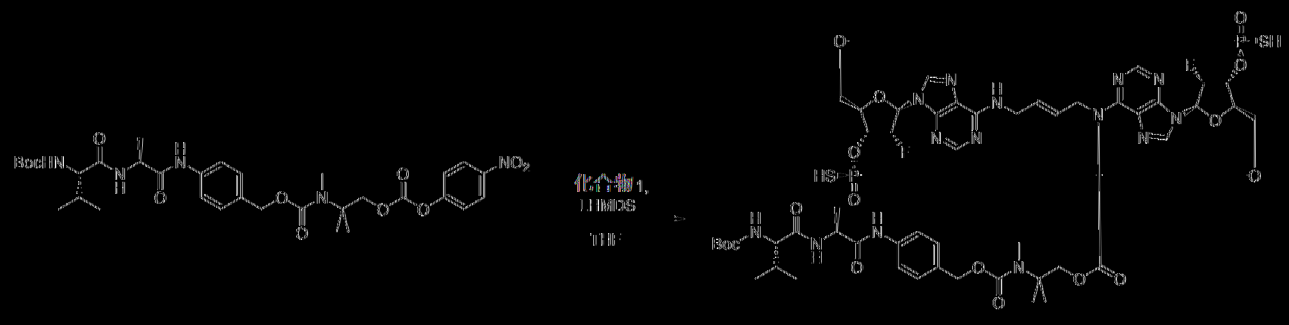
_N_-[(1_S_)-2-甲基-1-{[(1_S_)-1-{[4-({[甲基({2-甲基-1-[(4-硝基苯氧基羰基)氧基]丙烷-2-基})胺基甲醯基]氧基}甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}丙基]胺基甲酸*三級丁基*酯的合成



【0636】將4-硝基苯基氯甲酸酯（313 mg，1.549 mmol）和吡啶（123 mg，1.549 mmol）添加至*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-({[(1-羥基-2-甲基丙烷-2-基)(甲基)胺基甲醯基]氧基}甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸*三級丁基*酯（540 mg，1.033 mmol）在DCM（5 mL）中的溶液中。將所得混合物在氮氣氣氛下在25°C攪拌4 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用PE / EtOAc（1:2）洗脫）純化。這產生630 mg呈白色固

醯的*N*-[(1*S*)-2-甲基-1-{[(1*S*)-1-{[4-({甲基[2-甲基-1-(4-硝基苯氧基羰基)丙烷-2-基]胺基}甲醯基氧基]甲基}苯基]胺基甲醯基}丙基]胺基甲酸三級丁酯。LC-MS (ESI): 688 [M+H]⁺。

(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫烷基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-{[(4-{(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基}苯基)甲氧基]羰基}乙酯的合成

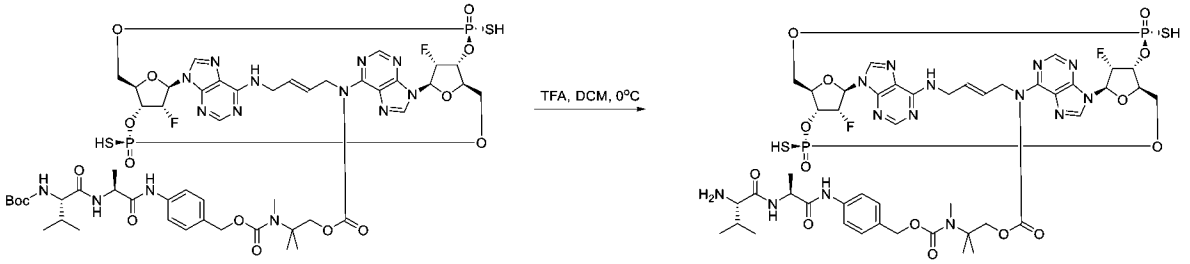


[0637] 將LiHMDS（0.75 mL，0.752 mmol）添加至化合物1（70 mg，0.094 mmol）在THF（3 mL）中的混合物中。將所得混合物在氮氣氣氛下在-78°C攪拌30 min。在-78°C，向上述混合物中滴加*N*-[(1*S*)-2-甲基-1-{[(1*S*)-1-{[4-({甲基[2-甲基-1-(4-硝基苯氧基羰基)丙烷-2-基]胺基}甲醯基氧基]甲基}苯基]胺基甲醯基}丙基]胺基甲酸三級丁酯（65 mg，0.094 mmol）。將所得混合物在氮氣氣氛下在-78°C攪拌2 h。將反應藉由添加AcOH淬滅。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由製備型TLC（DCM / MeOH 7:1）純化。這產生45 mg呈白色固體的

(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫烷基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯

5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-{[({4-[(2S)-2-[(2S)-2-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}-2-甲基丙基酯。LC-MS (ESI): 1295 $[M+H]^+$。

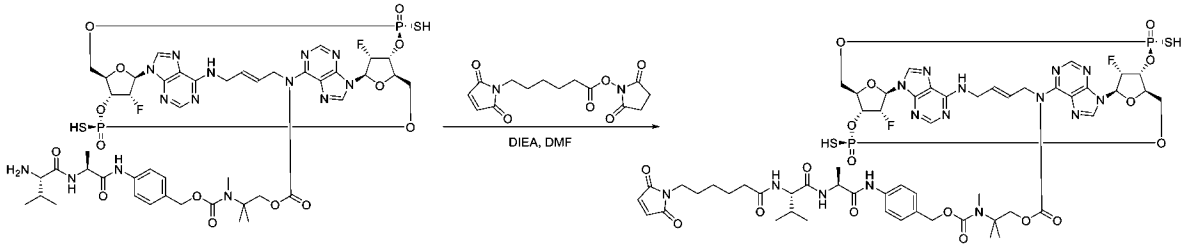
(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-{[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-胺基-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}-2-甲基丙基酯的合成



【0638】將TFA（0.5 mL）添加至(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-{[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}-2-甲基丙基酯（35 mg，0.027 mmol）在DCM（3 mL）中的混合物中。將所得混合物在0°C攪拌1 h。將所得混合物在減壓下濃縮。這產生30 mg呈油狀物的(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-{[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-胺基-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}-2-甲基丙基酯。LC-MS (ESI): 1195 $[M+H]^+$。

基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}-2-甲基丙基酯。LC-MS (ESI): 1195 $[M+H]^{+}$。

(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-{[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}-2-甲基丙基酯（LP7）的合成



【0639】將6-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)己酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（15 mg，0.050 mmol）和DIEA（10 mg，0.075 mmol）添加至(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-{[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-胺基-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}-2-甲基丙基酯（30 mg，0.025 mmol）在DMF（2 mL）中的混合物中。將所得混合物在25°C攪拌1 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用製備型TLC（DCM / MeOH 5:1）洗脫）純化。將粗製產物藉由製備型HPLC用以下條件純化（柱：XBridge Prep Phenyl OBD柱，19x250 mm，5 μm；流動相A：水（50 mmol HCO_2NH_4），流動相B：MeCN；流速：25 mL/min；梯度：在15 min內25% B

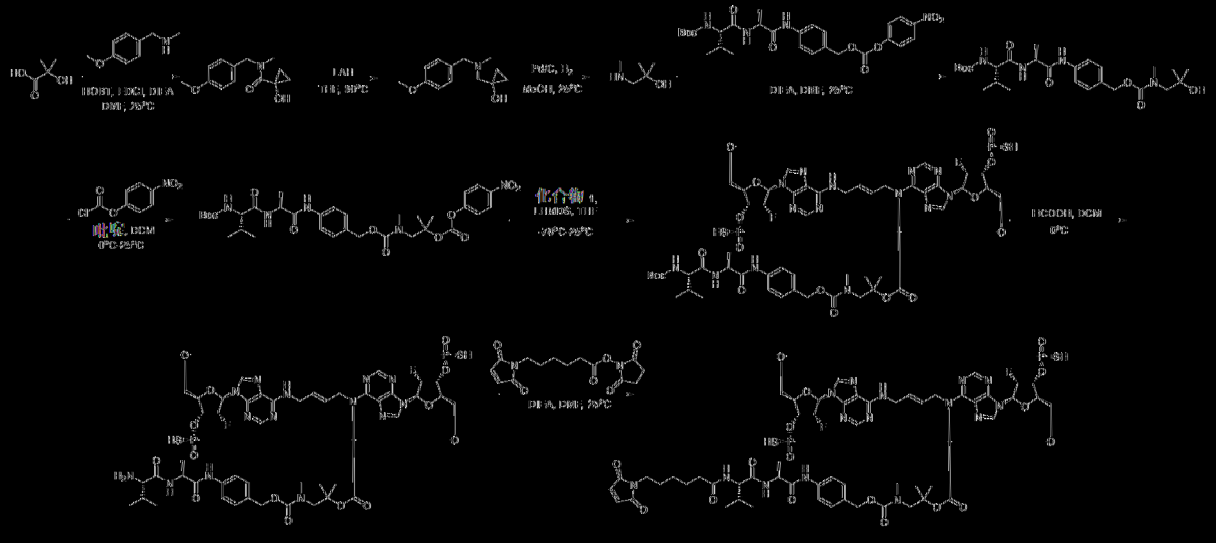
至40% B，40% B；波長：254 nm）。這產生10 mg呈白色固體的(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十全氟雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-{[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}-2-甲基丙基酯（DP7）。

[0640] LC-MS (ESI): 1388.55[M+H]$^+$。

[0641] ^{1}H NMR (300 MHz, 甲醇-*d*$_4$) δ 9.01 – 8.70 (m, 3H), 8.33 – 8.26 (m, 2H), 8.11 – 8.01 (m, 2H), 7.62 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 7.27 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 6.84 – 6.76 (m, 2H), 6.58 – 6.24 (m, 2H), 6.10 – 5.30 (m, 3H), 5.13 – 4.98 (m, 3H), 4.82 – 4.59 (m, 5H), 4.56 – 4.14 (m, 8H), 4.13 – 3.89 (m, 2H), 3.74 – 3.54 (m, 1H), 3.51 – 3.42 (m, 3H), 2.78 – 2.62 (m, 3H), 2.39 – 2.26 (m, 2H), 2.23 – 2.10 (m, 1H), 1.70 – 1.40 (m, 8H), 1.36 – 1.22 (m, 9H), 1.03 – 0.93 (m, 6H)。

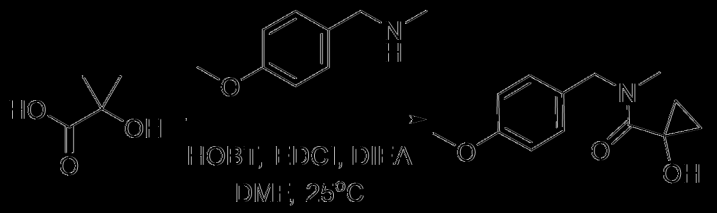
8. LP8的合成

[0642] LP8的合成如下所示：



。

1-羥基-*N*-[(4-甲氧基苯基)甲基]-*N*-甲基環丙烷-1-甲醯胺的合成：

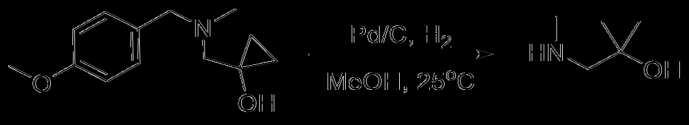


[0643] 將HOBT（1.99 g，14.692 mmol）和EDCI（2.82 g，14.692 mmol）添加至1-羥基環丙烷-1-甲酸（1 g，9.795 mmol）在DMF（10 mL）中的攪拌溶液中。將所得混合物在25°C攪拌30 min。然後將[(4-甲氧基苯基)甲基](甲基)胺（1.48 g，9.795 mmol）和DIEA（3.80 g，29.385 mmol）添加至所得混合物中。將所得混合物在25°C攪拌2 h。將所得混合物用EtOAc稀釋並用水洗滌。將有機物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用PE / EtOAc（1/2）洗脫）純化，以得到1.8 g呈白色固體的1-羥基-*N*-[(4-甲氧基苯基)甲基]-*N*-甲基環丙烷-1-甲醯胺。LC-MS (ESI): 236.1 [M+H]+。

1-({[(4-甲氧基苯基)甲基](甲基)胺基}甲基)環丙烷-1-醇的合成：

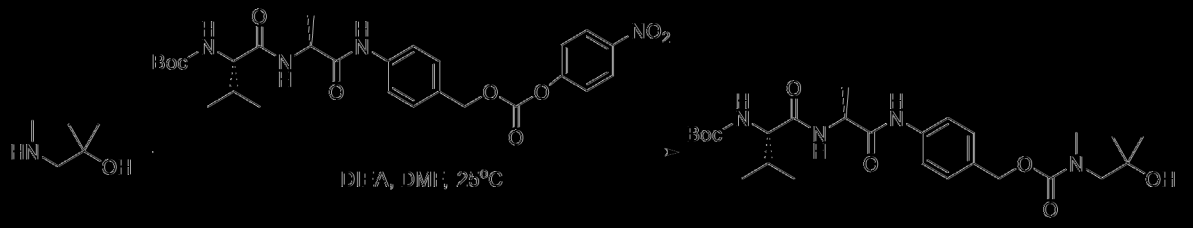
[0644] 將THF中的$LiAlH_4$（7.65 mL，7.650 mmol）添加至1-羥基-*N*-[(4-甲氧基苯基)甲基]-*N*-甲基環丙烷-1-甲醯胺（1.8 g，7.650 mmol）在THF（10 mL）中的攪拌溶液中。將所得混合物在60°C攪拌2 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用CH_2Cl_2 / MeOH（10/1）洗脫）純化，以得到780 mg呈淡黃色油狀物的1-({[(4-甲氧基苯基)甲基](甲基)胺基}甲基)環丙烷-1-醇。LC-MS (ESI): 222.1 [M+H]+。

1-[(甲基胺基)甲基]環丙烷-1-醇的合成



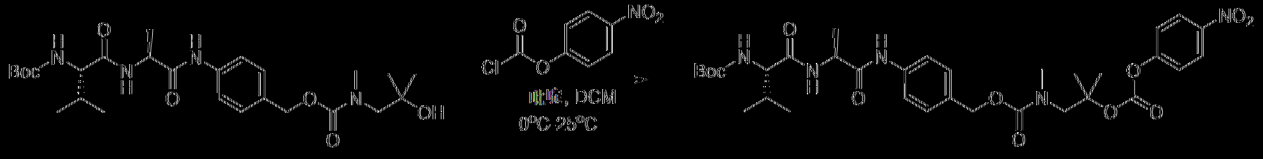
[0645] 將Pd/C（220 mg）添加至1-({[(4-甲氧基苯基)甲基](甲基)胺基}甲基)環丙烷-1-醇（1.1 g，4.971 mmol）在MeOH（10 mL）中的攪拌溶液中。將所得混合物在氫氣氣氛下在25°C攪拌2 h。將所得混合物過濾。將濾液在減壓下濃縮。將殘餘物藉由SCX純化，以獲得214 mg呈淡棕色油狀物的1-[(甲基胺基)甲基]環丙烷-1-醇。LC-MS (ESI): 102.0 [M+H]+。

N-[(1-羥基環丙基)甲基]-*N*-甲基胺基甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(三級-丁氧基)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]苯基}甲基酯的合成



[0646] 將碳酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[(三級-丁氧基)羰基]胺基]-3-甲基丁醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]苯基}甲基4-硝基苯基酯（1.10 g，1.977 mmol）和DIEA（511.12 mg，3.954 mmol）添加至1-[(甲基胺基)甲基]環丙烷-1-醇（200 mg，1.977 mmol）在DMF（10 mL）中的攪拌溶液中。將所得混合物在25°C攪拌14 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由製備型TLC（DCM / MeOH 10/1）純化，以得到504 mg呈淡黃色油狀物的*N*-[(1-羥基環丙基)甲基]-*N*-甲基胺基甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(三級-丁氧基)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]苯基}甲基酯。LC-MS (ESI): 521.2 [M+H]+。

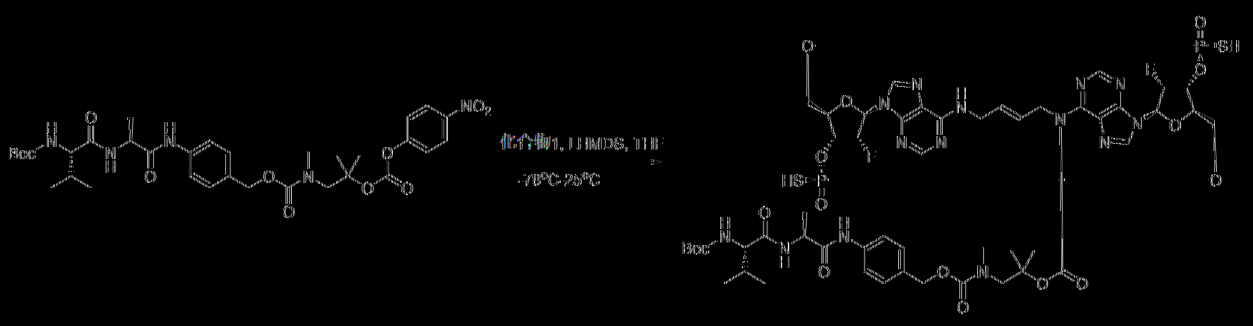
碳酸1-({[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(三級-丁氧基)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]苯基}甲基)(甲基)胺基]甲基}環丙基4-硝基苯基酯的合成



[0647] 將{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[(三級-丁氧基)羰基]胺基]-3-甲基丁醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]苯基}甲基4-硝基苯基氯甲酸酯（174.22 mg，0.864 mmol）添加至*N*-[(1-

羥基環內基)甲基]-*N*-甲基胺基甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]苯基}甲酯（300 mg，0.576 mmol）在DCM（10 mL）中的攪拌溶液中。然後在0°C將吡啶（68.37 mg，0.864 mmol）添加至所得混合物中。將所得混合物在25°C攪拌14 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用PE / EtOAc（1/3）洗脫）純化，以得到303 mg呈白色固體的碳酸1-({[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}甲基)環丙基4-硝基苯酯。LC-MS (ESI): 686.3 [M+H]⁺。

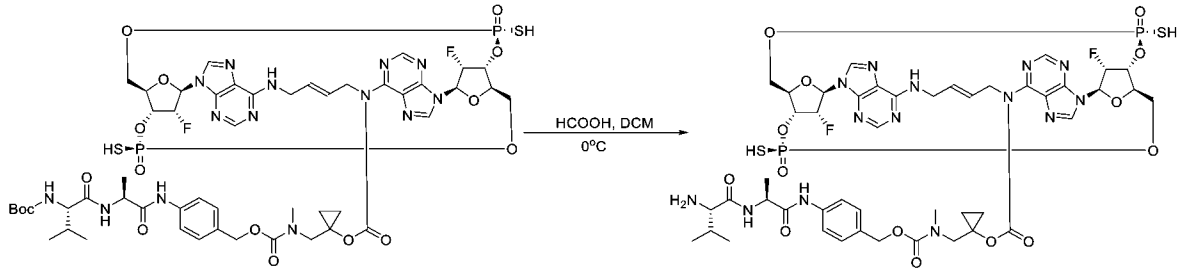
(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^3,36^.1^28,31^.0^4,8^.0^7,12^.0^19,24^.0^23,27^]四十三烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸1-({[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}甲基)環丙酯的合成：



[0648] 在-78°C，將LiHMDS（0.60 mL，0.600 mmol）添加至化合物1（75 mg，0.100 mmol）在THF（3 mL）中的攪拌溶液中。將所得混合物在氮氣氣氛下在-78°C攪拌30 min。然後將碳酸1-({[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}甲基)環丙基4-硝基苯酯（68.89 mg，0.100 mmol）添加至所得混合物中。將所得混合

物在氮氣氣氛下在1小時內緩慢加溫至25°C。將反應用AcOH淬滅。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由製備型TLC（EtOAc（1%TEA）/ MeOH 3/1）純化，以得到55 mg呈白色固體的(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸1-({[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}甲基)環丙基酯。LC-MS (ESI): 1293.3 $[M+H]^+$。

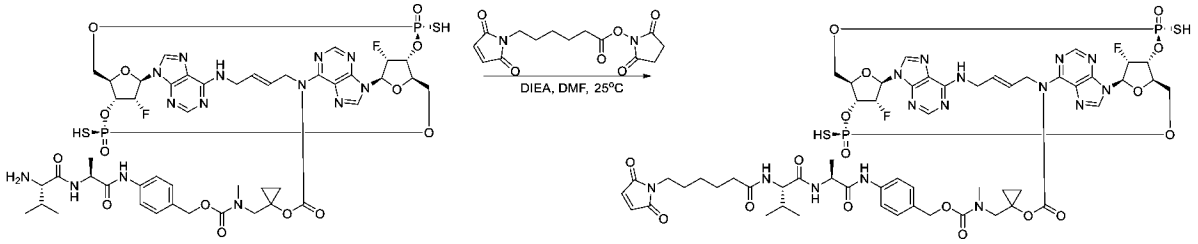
(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸1-({[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-胺基-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}甲基)環丙基酯的合成



【0649】 在0°C，將HCOOH（2 mL）添加至(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸1-({[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}甲基)環丙基酯

（55 mg，0.042 mmol）在DCM（2 mL）中的攪拌溶液中。將所得混合物在0°C攪拌1 h。將所得混合物在減壓下濃縮，以獲得呈無色油狀物的(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸1-({[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-胺基-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}甲基)環丙基酯的粗製產物。LC-MS (ESI): 1193.3 $[M+H]^+$。

(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸1-({[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}甲基)環丙基酯（LP8）的合成



【0650】將6-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)己酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（12.92 mg，0.042 mmol）和DIEA（16.25 mg，0.126 mmol）添加至(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸1-({[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-胺基-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}甲基)環丙基酯（50 mg，0.042

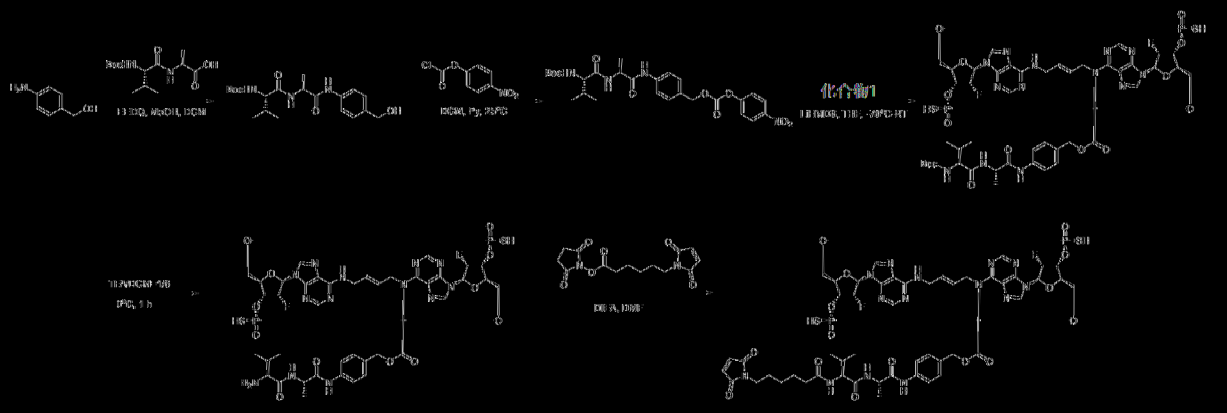
mmol）在DMF（2 mL）中的攪拌溶液中。將所得混合物在25°C攪拌14 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由製備型TLC（EtOAc（1%TEA）/MeOH 3/1）和製備型HPLC用以下條件純化（柱：XBridge Prep OBD C18柱，19x250 mm，5 μm；流動相A：水（50 mmol NH_4HCO_2），流動相B：MECN；流速：25 mL/min；梯度：在10 min內25% B至35% B，35% B；波長：220/254 nm），以得到12.5 mg呈白色固體的(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸1-({[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)己醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}甲基)環丙基酯（**LP8**）。

【0651】 LC-MS (ESI): 1386.40 $[M+H]^+$。

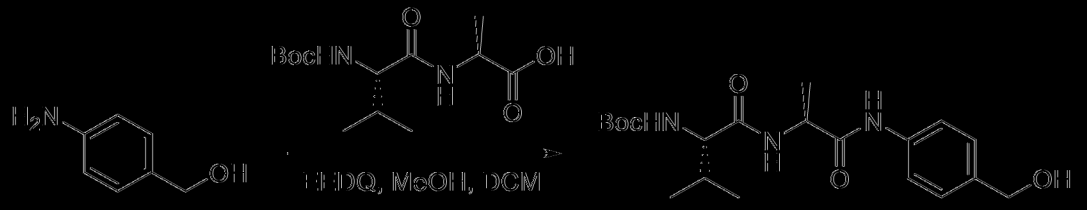
【0652】 ^{1}H NMR (400 MHz, 甲醇-d_4) δ 9.03 – 8.80 (m, 1H), 8.80 – 8.57 (m, 2H), 8.39 – 8.20 (m, 1H), 8.18 – 8.02 (m, 1H), 7.68 – 7.50 (m, 2H), 7.34 – 7.21 (m, 2H), 6.82 – 6.73 (m, 2H), 6.59 – 6.24 (m, 2H), 6.14 – 5.86 (m, 1H), 5.85 – 5.28 (m, 3H), 5.12 – 4.98 (m, 2H), 4.84 – 4.72 (m, 2H), 4.71 – 4.55 (m, 3H), 4.53 – 4.35 (m, 5H), 4.23 – 4.10 (m, 1H), 4.12 – 4.02 (m, 1H), 3.99 – 3.88 (m, 2H), 3.77 – 3.55 (m, 1H), 3.54 – 3.44 (m, 3H), 3.44 – 3.37 (m, 1H), 2.96 – 2.79 (m, 3H), 2.36 – 2.22 (m, 2H), 2.18 – 2.00 (m, 1H), 1.73 – 1.51 (m, 4H), 1.51 – 1.41 (m, 3H), 1.37 – 1.24 (m, 2H), 1.23 – 1.10 (m, 1H), 1.05 – 0.94 (m, 6H), 0.94 – 0.60 (m, 3H)。

*9. **LP9**的合成*

【0653】 **LP9**的合成如下所示：

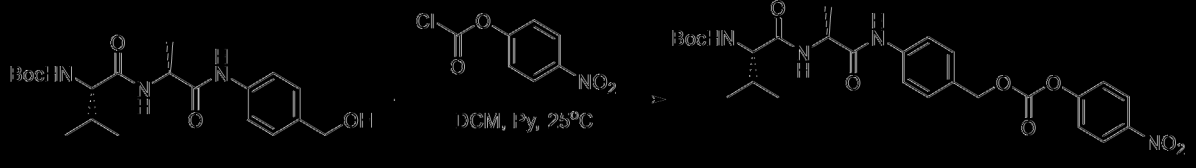


N-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸三級丁酯的合成



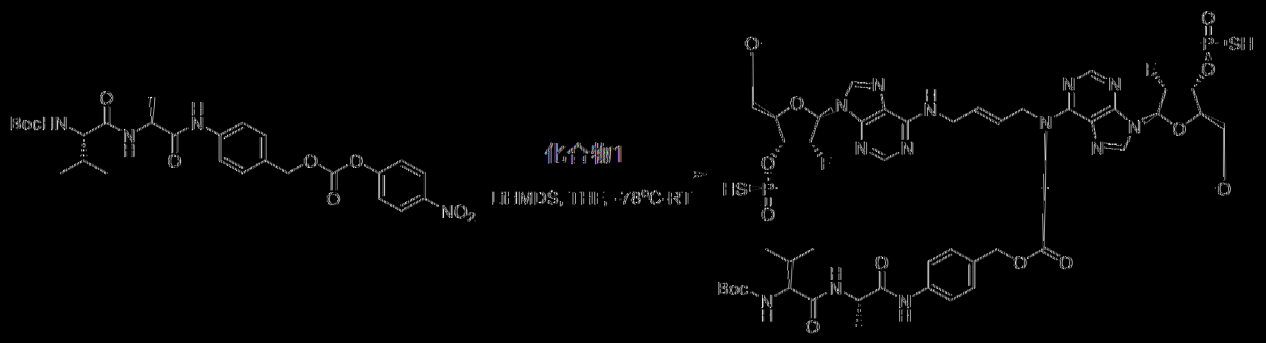
[0654] 將2-乙氧基-1,2-二氫喹啉-1-甲酸乙基酯（32.13 g，129.918 mmol）和(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[(三級丁氧羰基)胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙酸（18.73 g，64.959 mmol）添加至*胺基苄醇*（8 g，64.959 mmol）在MeOH（5 mL）/DCM（30 mL）中的攪拌溶液中。將所得混合物在25°C攪拌2 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（以CH_2Cl_2 / MeOH（10/1）洗脫）純化，以得到23 g呈淡黃色油狀的*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸三級丁酯。LC-MS (ESI): 394.2, [M+H]$^+$。

碳酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(三級丁氧羰基)胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基4-硝基苯基酯的合成



[0655] 將4-硝基苯氧基甲酸酯（768.37 mg，3.811 mmol）和吡啶（301.54 mg，3.811 mmol）添加至*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸三級丁酯（1 g，2.541 mmol）在DCM（20 mL）中的攪拌溶液中。將所得混合物在25°C攪拌2 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用PE/EtOAc（1/1）洗脫）純化，以得到1.4 g呈白色固體的碳酸[4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基]4-硝基苯酯。LC-MS (ESI): 559.2 [M+H]+。

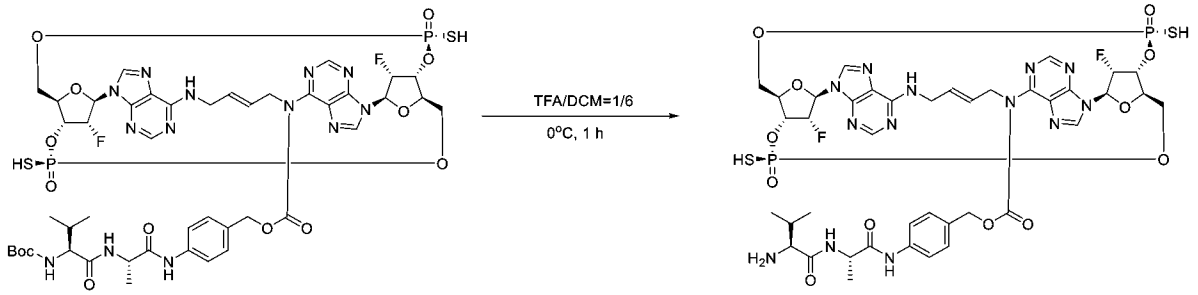
(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^3,36.1^28,31.0^4,8.0^7,12.0^19,24.0^23,27]四十三-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基]甲基酯的合成



[0656] 將LiHMDS（0.40 mL，0.402 mmol）添加至化合物1（50 mg，0.067 mmol）在THF（2 mL）中的攪拌溶液中。將所得混合物在-78°C攪拌30 min。然後將碳酸[4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基]4-硝基苯酯（37.41 mg，0.067 mmol）添加至所得混合物中。將所得混合物在氮氣氣氛下在-78°C至25°C攪拌2 h。將反應用AcOH淬滅。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由製備型TLC（EtOAc

（1%TEA）/ MeOH 3/1）純化，以得到45 mg呈白色固體的(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基酯。LC-MS (ESI): 1166.2 $[M+H]^+$。

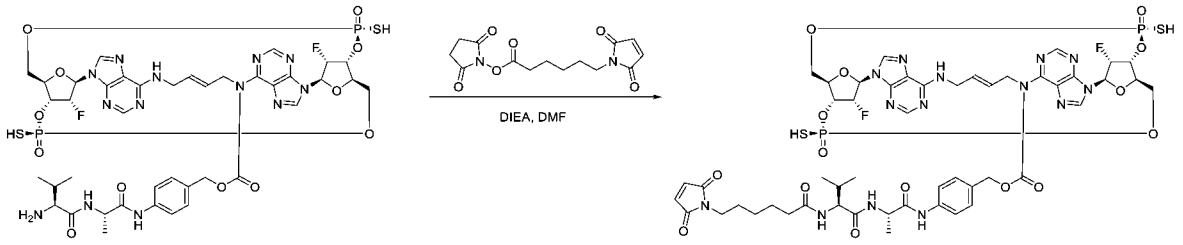
(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-胺基-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基酯的合成



【0657】將TFA（1 mL）添加至(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[(三級丁氧基羰基)胺基-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基酯（45 mg，0.039 mmol）在DCM（6 mL）中的攪拌溶液中。將所得混合物在0°C攪拌1 h。將所得混合物在減壓下濃縮，以獲得呈無色油狀物的(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-

4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-胺基-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基酯的粗製產物。LC-MS (ESI): 1066.2 $[M+H]^+$。

(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)己醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基酯（LP9）的合成



【0658】將DIEA（24.86 mg，0.190 mmol）和6-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)己酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（11.86 mg，0.038 mmol）添加至(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-胺基-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基酯（41 mg，0.038 mmol）在DMF（2 mL）中的攪拌溶液中。將所得混合物在25°C攪拌14 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由製備型TLC（CH_2Cl_2（1%TEA）/ MeOH 8/1），然後是製備型TLC（EtOAc（1%TEA）/ MeOH 3/1）純化。將粗製產物藉由製備型HPLC用以下條件純化（柱：XBridge Prep Phenyl OBD柱，19x250 mm，5 μm；流動相A：水（50

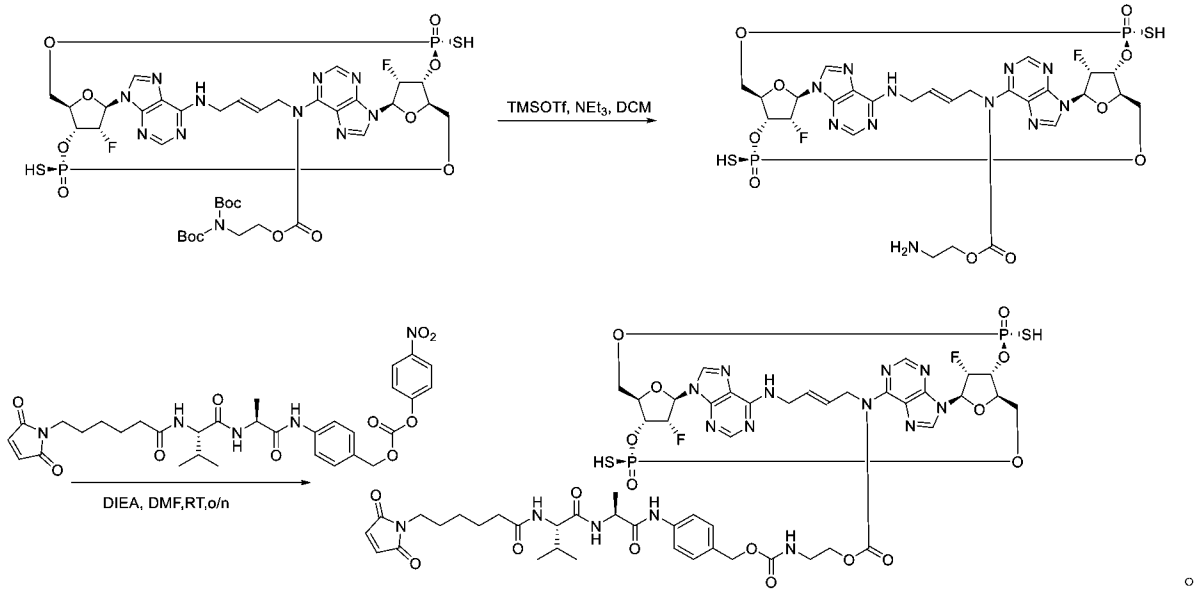
mmol HCO_2NH_4），流動相B：MeCN；流速：25 mL/min；梯度：在15 min內20% B至40% B，40% B；波長：254 nm），以得到5.1 mg呈白色固體的(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)己醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基酯（**LP9**）。

【0659】 LC-MS (ESI): 1259.45 $[M+H]^+$。

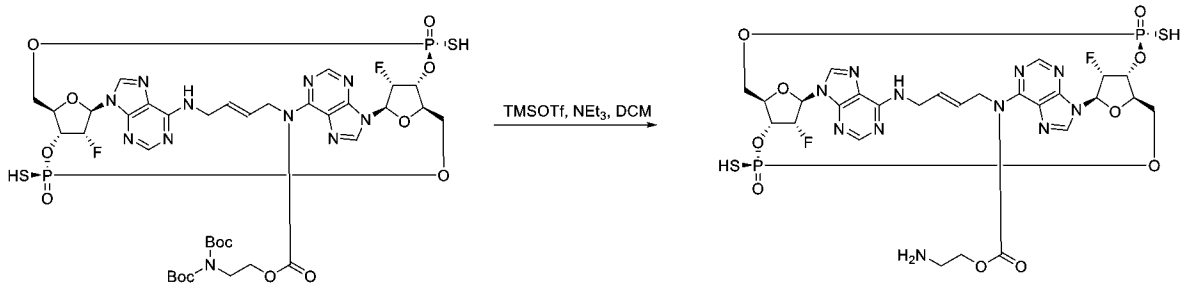
【0660】 ^{1}H NMR (400 MHz, 甲醇-d_4) δ 8.92 (s, 1H), 8.77 – 8.69 (m, 2H), 8.31 (s, 1H), 8.15 (s, 1H), 7.53 (d, *J* = 8.25 Hz, 2H), 7.23 (d, *J* = 8.00 Hz, 2H) , 6.85 – 6.67 (m, 2H), 6.52 – 6.41 (m, 1H), 6.39 – 6.25 (m, 1H), 6.09 – 5.40 (m, 4H), 5.30 – 5.15 (m, 2H), 5.09 – 4.95 (m, 2H), 4.66 – 4.56 (m, 3H), 4.55 – 4.45 (m, 2H), 4.44 – 4.34 (m, 2H), 4.22 – 4.13 (m, 1H), 4.12 – 4.01 (m, 1H), 4.00 – 3.92 (m, 1H), 3.72 – 3.55 (m, 1H), 3.52 – 3.43 (m, 2H), 2.36 – 2.18 (m, 2H), 2.15 – 2.04 (m, 1H), 1.72 – 1.53 (m, 5H), 1.48 – 1.40 (m, 3H), 1.36 – 1.25 (m, 4H), 1.04 – 0.90 (m, 6H)。

10. ***LP10****的合成*

【0661】 **LP10**的合成如下所示：



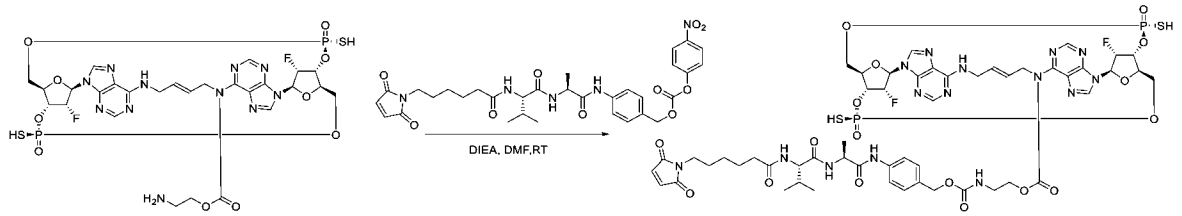
(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-胺基乙基酯的合成



【0662】在室溫，向(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-{雙[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}乙基酯（40 mg，0.039 mmol）在DCM（2 mL）中的混合物中添加TEA（19.57 mg，0.195 mmol）和TMSOTf（60.19 mg，0.273 mmol）。將所得混合物在室溫攪拌1 h。將所得混合物在減壓下濃

縮。粗製產物無需進一步純化即可直接用於下一步驟。LC-MS (ESI): 834.2 $[M+H]^+$。

(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-{[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)己醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]胺基}乙基酯（LP10）的合成



【0663】在室溫，向(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-胺基乙基酯（32 mg，0.038 mmol）和碳酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)己醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基 4-硝基苯基酯（25.01 mg，0.038 mmol）在DMF（2 mL）中的混合物中添加DIEA（24.81 mg，0.190 mmol）。將所得混合物在室溫攪拌過夜。將所得混合物在真空下濃縮。將殘餘物藉由製備型TLC（EtOAc/MeOH 3:1）和製備型HPLC用以下條件純化（柱：XBridge Prep Phenyl OBD柱，19*250 mm，5 μm；流動相A：水（50 mmol/L HCO_2NH_4），流動相B：MeCN；流速：25 mL/min；梯度：在10 min內25% B至50% B，50% B；波長：254 nm），以得到呈白色固體的(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-

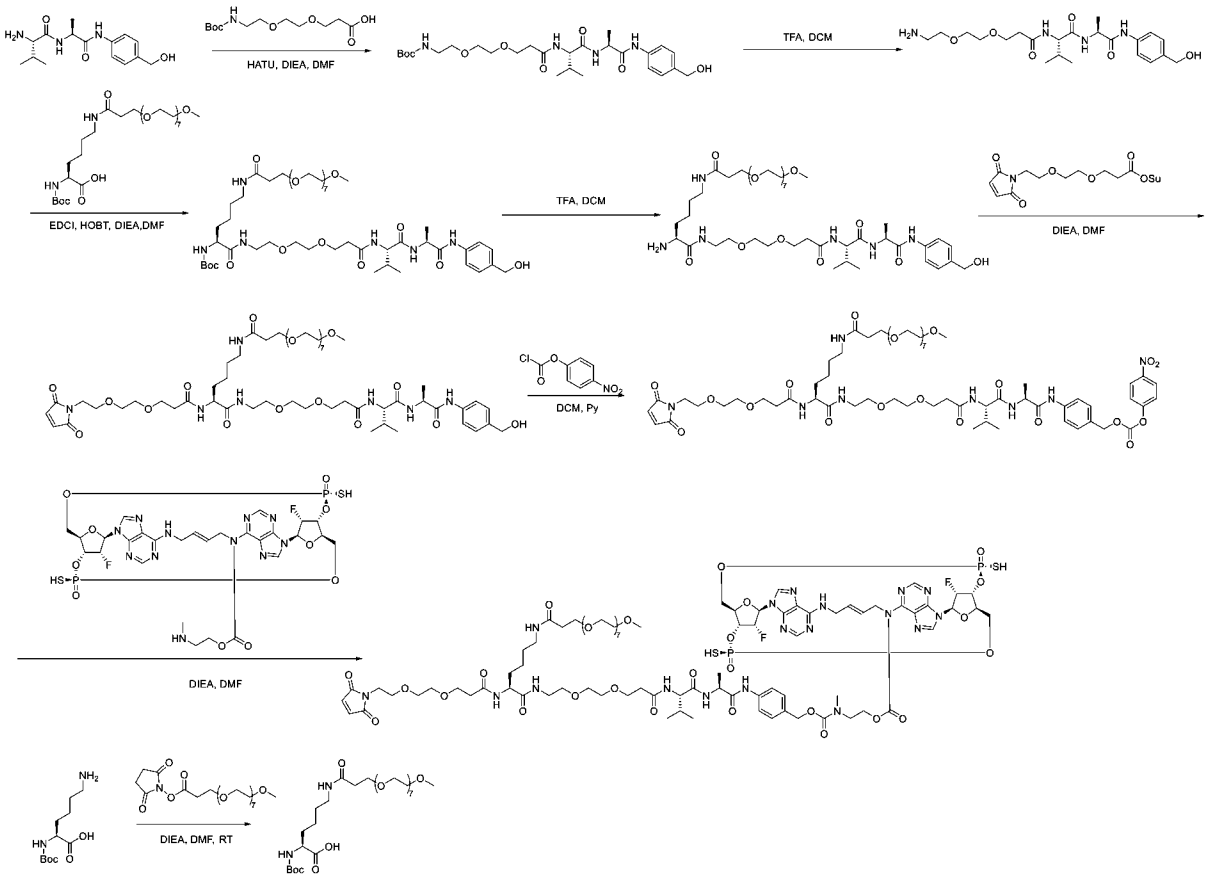
34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-{[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]胺基}乙基酯（**LP10**）（7.6 mg）。

【0664】LC-MS (ESI): 1346.45 $[M+H]^+$。

【0665】^{1}H NMR (400 MHz, 甲醇-d_4) δ 8.92 (s, 2H), 8.73 (m, 1H), 8.19 (m, 2H), 7.57 (m, 2H), 7.30 (m, 2H), 6.79 (s, 2H), 6.39 (m, 1H), 6.31 (m, 1H),6.05 (s, 1H) 5.92 (s, 1H), 5.78 (s, 1H), 5.58 – 5.45 (m, 2H), 5.02 (m,2H), 4.99 (m,3H), 4.61 (m, 5H), 4.55 – 4.36 (m, 2H), 4.36 (m, 2H), 4.21 (m, 1H),4.14 (m, 1H), 4.04 (m, 2H) ,3.76 (m, 1H), 3.52 (m, 1H) ,3.55-3.40(m, 2H), 3.15 (m, 3H), 2.29 (m, 2H), 2.09 (m, 1H), 1.94 (m, 4H), 1.61 (m, 3H), 1.37 – 1.18 (m, 2H), 0.98 (m, 6H)。

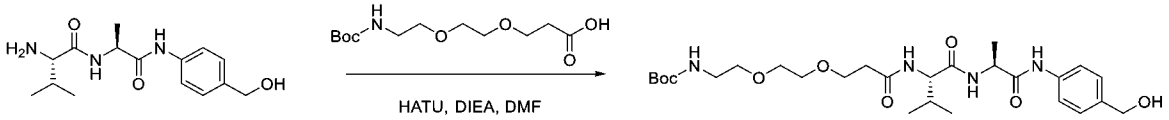
*11.　**LP11**的合成*

【0666】**LP11**的合成如下所示：



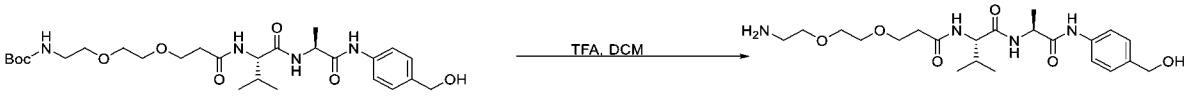
。

_N_-{2-[2-(2-{[(1_S_)-1-{[(1_S_)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲醯基}乙氧基)乙氧基]乙基}胺基甲酸三級丁基酯的合成



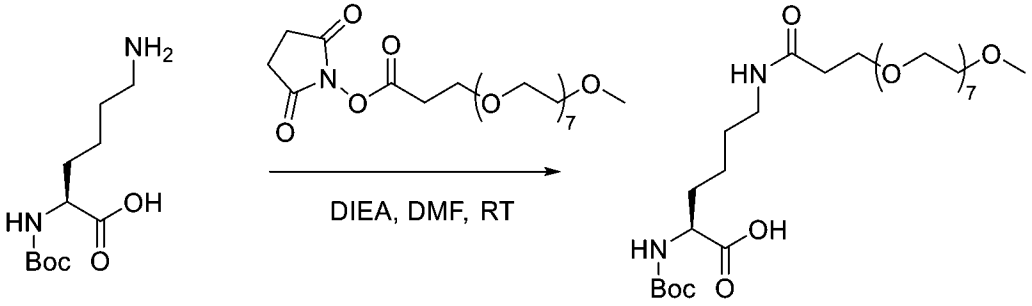
【0667】 向(2_S_)-2-胺基-_N_-[(1_S_)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺（400 mg，1.363 mmol）、3-(2-{2-[(三級丁氧基羰基)胺基]乙氧基}乙氧基)丙酸（378.12 mg，1.363 mmol）、HATU（570.29 mg，1.499 mmol）在DMF（3 mL）中的溶液中添加DIEA（528.68 mg，4.089 mmol）。將溶液在室溫攪拌2 h。將所得混合物用EtOAc稀釋並用H_2O洗滌。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由製備型TLC（CH2Cl2 / MeOH 8:1）純化，以得到呈白色固體的_N_-{2-[2-(2-{[(1_S_)-1-{[(1_S_)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲醯基}乙氧基)乙氧基]乙基}胺基甲酸三級丁基酯（420 mg）。LC-MS (ESI): 553.3 $[M+H]^+$。

(2*S*)-2-{3-[2-(2-胺基乙氧基)乙氧基]丙醯胺基}-*N*-[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺的合成



【0668】 在室溫，將*N*-{2-[2-(2-{[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲醯基}乙氧基)乙氧基]乙基}胺基甲酸*三級丁基*酯（420 mg，0.760 mmol）在DCM（1.5 mL）中的溶液用TFA（1.5 mL）處理。將所得混合物在室溫攪拌0.5 h。將混合物在減壓下濃縮。將殘餘物溶解於MeOH（2 mL）/ H_2O（2 mL）/ THF（2 mL）中。將K_2CO_3（577.66 mg，4.180 mmol）添加至上述溶液中並在室溫攪拌一小時。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由製備型TLC（CH_2Cl_2 / MeOH 4:1）純化，以得到呈淡黃色固體的(2*S*)-2-{3-[2-(2-胺基乙氧基)乙氧基]丙醯胺基}-*N*-[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺（300 mg）。LC-MS (ESI): 453.3$[M+H]^+$。

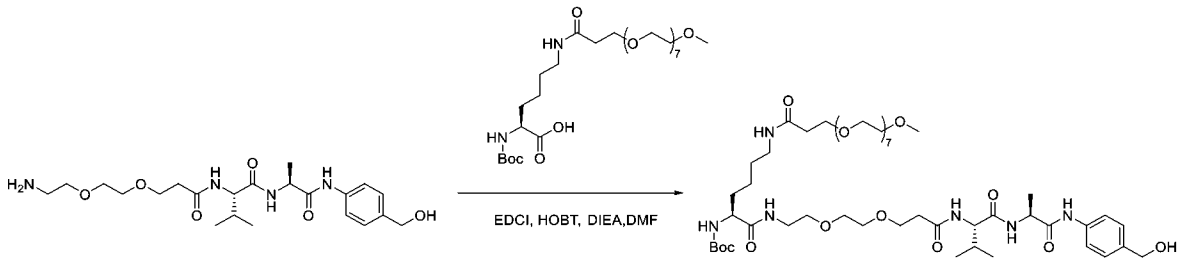
(2*S*)-2-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}-6-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧雜二十六烷-26-醯胺基)己酸的合成



【0669】 向(2*S*)-6-胺基-2-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}己酸（287.61 mg，1.168 mmol）和2,5,8,11,14,17,20,23-八氧雜二十六烷-26-酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（350 mg，0.687 mmol）在DMF（3.00 mL）中的溶液中添加DIEA（266.33 mg，2.061 mmol）。將所得混合物在室溫攪拌2 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用CH_2Cl_2 / MeOH（5:1）洗脫）純

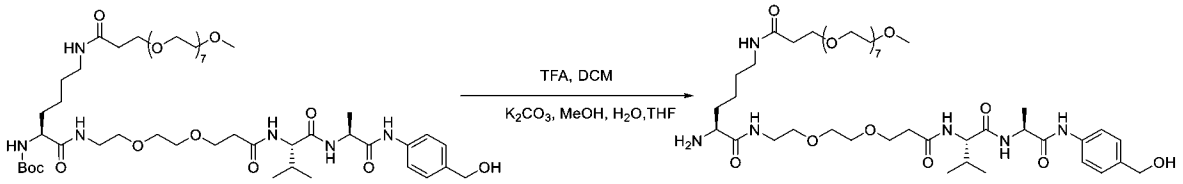
化，以得到呈無色油狀物的(2*S*)-2-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}-6-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧雜二十六烷-26-醯胺基)己酸（410 mg）。LC-MS (ESI): 641.4[M+H]$^+$。

_N_-[(1*S*)-1-({2-[2-(2-{[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲醯基}乙氧基)乙氧基]乙基}胺基甲醯基)-5-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧雜二十六烷-26-醯胺基)戊基]胺基甲酸*三級丁基*酯的合成



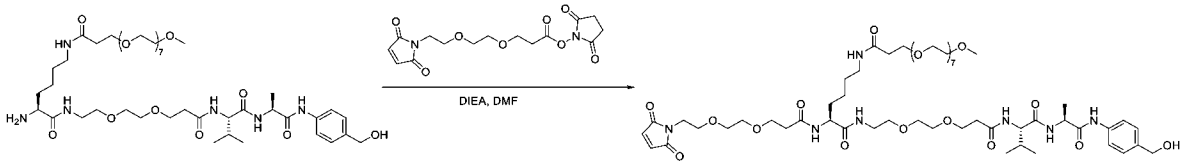
【0670】在室溫，向(2*S*)-2-[(*三級丁氧基*羰基)胺基]-6-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧雜二十六烷-26-醯胺基)己酸（290 mg，0.453 mmol）在DMF（3 mL）中的溶液中添加HOBT（91.73 mg，0.679 mmol）、EDCI（130.14 mg，0.679 mmol）。將所得混合物在室溫攪拌0.5 h。在室溫，向上述溶液中添加(2*S*)-2-{3-[2-(2-胺基乙氧基)乙氧基]丙醯胺基}-*N*-[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺（204.82 mg，0.453 mmol）和DIEA（175.48 mg，1.359 mmol）。將所得混合物在室溫攪拌一小時。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由製備型TLC（CH_2Cl_2 / MeOH 5:1）純化，以得到呈黃色油狀物的*N*-[(1*S*)-1-({2-[2-(2-{[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲醯基}乙氧基)乙氧基]乙基}胺基甲醯基)-5-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧雜二十六烷-26-醯胺基)戊基]胺基甲酸*三級丁基*酯（437 mg）。LC-MS (ESI): 1075.6[M+H]$^+$。

_N_-[(5_S_)-5-胺基-5-({2-[2-(2-{[(1_S_)-1-{[(1_S_)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲醯基}乙氧基)乙氧基]乙基}胺基甲醯基)戊基]-2,5,8,11,14,17,20,23-八氧雜二十六烷-26-醯胺的合成



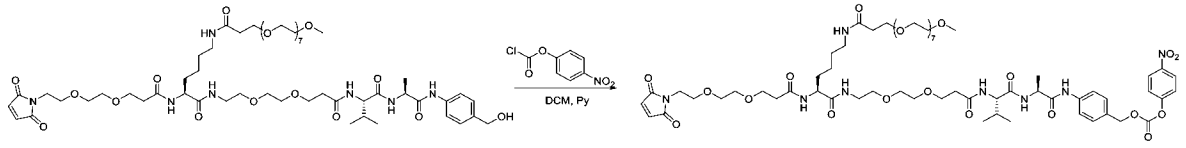
【0671】向_N_-[(1_S_)-1-({2-[2-(2-{[(1_S_)-1-{[(1_S_)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲醯基}乙氧基)乙氧基]乙基}胺基甲醯基)-5-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧雜二十六烷-26-醯胺基)戊基]胺基甲酸*三級丁基*酯（430 mg，0.400 mmol）在DCM（2 mL）中的溶液中添加TFA（2 mL）。將所得混合物在室溫攪拌0.5 h。將混合物在減壓下濃縮。將殘餘物溶解於MeOH（2 mL）/ H_2O（2 mL）/ THF（2 mL）中。將K_2CO_3（221.07 mg，1.600 mmol）添加至上述溶液中並在室溫攪拌一小時。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由製備型TLC（DCM / MeOH 5:1）純化，以得到呈黃色油狀物的_N_-[(5_S_)-5-胺基-5-({2-[2-(2-{[(1_S_)-1-{[(1_S_)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲醯基}乙氧基)乙氧基]乙基}胺基甲醯基)戊基]-2,5,8,11,14,17,20,23-八氧雜二十六烷-26-醯胺（305 mg）。LC-MS (ESI): 975.6 $[M+H]^+$。

_N_-[(5_S_)-5-(3-{2-[2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1_H_-吡咯-1-基)乙氧基]乙氧基}丙醯胺基)-5-({2-[2-(2-{[(1_S_)-1-{[(1_S_)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲醯基}乙氧基)乙氧基]乙基}胺基甲醯基)戊基]-2,5,8,11,14,17,20,23-八氧雜二十六烷-26-醯胺的合成



【0672】 向*N*-[(5*S*)-5-胺基-5-({2-[2-(2-{[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲醯基}乙氧基)乙氧基]乙基}胺基甲醯基)戊基]-2,5,8,11,14,17,20,23-八氧雜二十六烷-26-醯胺（305 mg，0.313 mmol）和3-{2-[2-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)乙氧基]乙氧基}丙酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（132.98 mg，0.376 mmol）在DMF（3.5 mL）中的溶液中添加DIEA（80.85 mg，0.626 mmol）。將所得混合物在室溫攪拌2 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由製備型TLC（DCM / MeOH 5:1）純化，以得到呈淡黃色固體的*N*-[(5*S*)-5-(3-{2-[2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)乙氧基]乙氧基}丙醯胺基)-5-({2-[2-(2-{[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲醯基}乙氧基)乙氧基]乙基}胺基甲醯基)戊基]-2,5,8,11,14,17,20,23-八氧雜二十六烷-26-醯胺（247 mg）。LC-MS (ESI): 1214.7[M+H]$^+$。

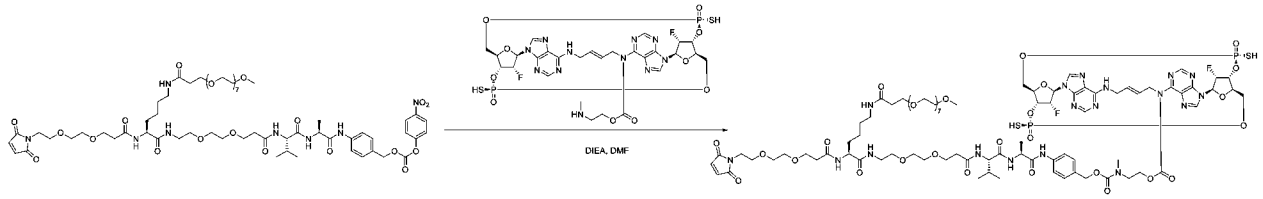
碳酸{4-[(2S)-2-[(2S)-2-[3-(2-{2-[(2S)-2-(3-{2-[2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)乙氧基]乙氧基}丙醯胺基)-6-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧雜二十六烷-26-醯胺基)己醯胺基]乙氧基}乙氧基)丙醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基 4-硝基苯基酯的合成



【0673】 向*N*-[(5*S*)-5-(3-{2-[2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)乙氧基]乙氧基}丙醯胺基)-5-({2-[2-(2-{[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲醯基}乙氧基)乙氧基]乙基}胺基甲醯基)戊基]-2,5,8,11,14,17,20,23-八氧雜二十六烷-26-醯胺（270 mg，0.222 mmol）在DCM（3.5 mL）中的溶液中添加4-硝基苯基氯甲酸酯（134.44 mg，0.666 mmol）和吡啶（52.76 mg，0.666 mmol）。將所得混合物在室溫攪拌2 h。將所

得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由製備型TLC（DCM / MeOH 8:1）純化，以得到呈淡黃色油狀物的碳酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[3-(2-{2-[(2S)-2-(3-{2-[2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)乙氧基]乙氧基}丙醯胺基)-6-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧雜二十六烷-26-醯胺基)己醯胺基]乙氧基}乙氧基)丙醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基 4-硝基苯基酯（160 mg）。LC-MS (ESI): 1379.7[M+H]$^+$。

(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-{[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[3-(2-{2-[(2*S*)-2-(3-{2-[2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)乙氧基]乙氧基}丙醯胺基)-6-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧雜二十六烷-26-醯胺基)己醯胺基]乙氧基}乙氧基)丙醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}乙基酯（LP11）的合成



【0674】 向碳酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[3-(2-{2-[(2*S*)-2-(3-{2-[2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)乙氧基]乙氧基}丙醯胺基)-6-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧雜二十六烷-26-醯胺基)己醯胺基]乙氧基}乙氧基)丙醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基 4-硝基苯基酯（70 mg，0.051 mmol）和(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4. 1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-

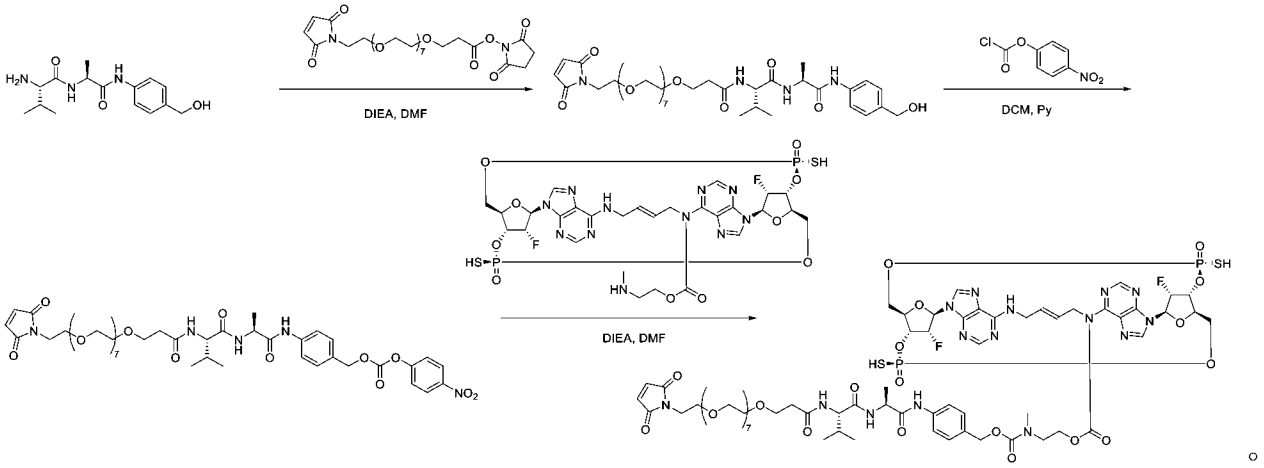
5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-(甲基胺基)乙基酯（43.01 mg，0.051 mmol）在DMF（3 mL）中的溶液中添加DIEA（45.91 mg，0.357 mmol）。將所得混合物在室溫攪拌14 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由製備型TLC（DCM（1%TEA）/ MeOH 6:1）和製備型HPLC（柱：XBridge Prep OBD C18柱，19x250 mm，5 μm；流動相A：水（50 mmol HCO_2NH_4），流動相B：MeCN；流速：25 mL/min；梯度：在10 min內25% B至35% B，35% B；波長：254 nm）純化，以得到呈白色固體的(1R,3R,15Z,28R,29R,30R,31R,34S,36R,39R,41R)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-{[({4-[(2S)-2-[(2S)-2-[3-(2-{2-[(2S)-2-(3-{2-[2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)乙氧基]乙氧基}丙醯胺基)-6-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧雜二十六烷-26-醯胺基)己醯胺基]乙氧基}乙氧基)丙醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}乙基酯（**LP11**）（6 mg）。

【0675】 LC-MS (ESI): 2087.77$[M+H]^+$。

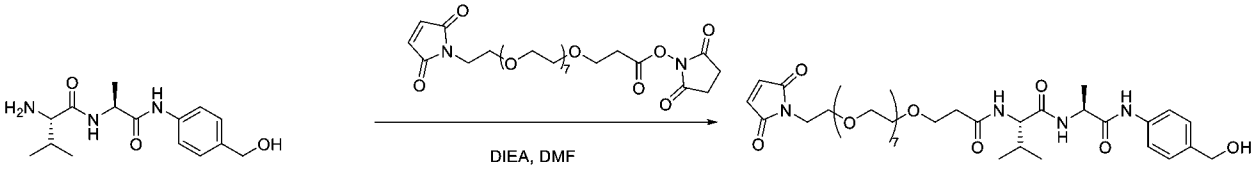
【0676】 ^{1}H NMR (400 MHz, 甲醇-d_4) δ 8.91 (s, 1H), 8.84 – 8.56 (m, 2H), 8.13 (s, 1H), 7.66 – 7.55 (m, 2H), 7.32 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.21 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 6.83 (s, 2H), 6.57 – 6.25 (m, 2H), 6.09 – 5.88 (m, 1H), 5.84 – 5.04 (m, 5H), 4.73 – 4.48 (m, 6H), 4.47 – 4.32 (m, 4H), 4.30 – 4.13 (m, 1H), 4.10 – 3.91 (m, 2H), 3.84 – 3.69 (m, 7H), 3.69 – 3.47 (m, 50H), 3.26 – 3.14 (m, 3H), 2.85 – 2.69 (m, 3H), 2.63 – 2.41 (m, 7H), 2.15 (s, 2H), 1.90 – 1.76 (m, 1H), 1.73 – 1.60 (m, 1H), 1.56 – 1.26 (m, 10H), 1.09 – 0.92 (m, 6H)。

12. ***LP12****的合成*

【0677】 **LP12**的合成如下所示：

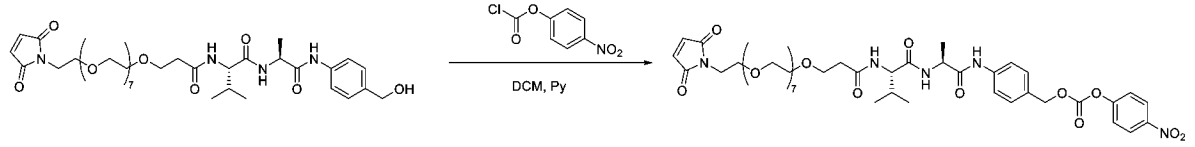


1-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧雜二十七烷-27-醯胺的合成



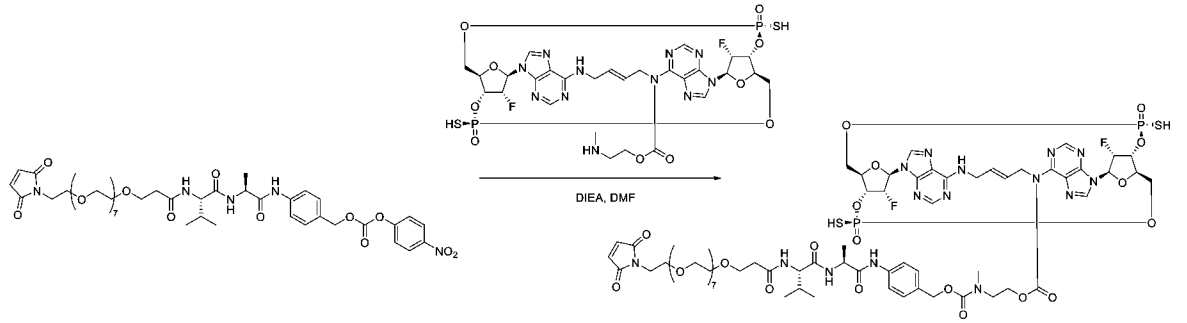
【0678】 將(2*S*)-2-胺基-*N*-[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺（100 mg，0.341 mmol）、1-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧雜二十七烷-27-酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（210.87 mg，0.341 mmol）和DIEA（88.11 mg，0.682 mmol）在DMF（3 mL）中的溶液在室溫攪拌2 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由製備型TLC（DCM / MeOH 8:1）純化，以得到呈白色固體的1-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧雜二十七烷-27-醯胺（180 mg）。LC-MS (ESI): 797.4 $[M+H]^+$。

碳酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[1-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧雜二十七烷-27-醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基 4-硝基苯基酯的合成



【0679】 在室溫，將吡啶（44.67 mg，0.565 mmol）添加至1-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧雜二十七烷-27-醯胺（180 mg，0.226 mmol）和4-硝基苯基氯甲酸酯（113.82 mg，0.565 mmol）在DCM（2 mL）中的溶液中。將溶液在室溫攪拌3 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由製備型TLC（DCM / IPA 10:1）純化，以得到呈淡黃色油狀物的碳酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[1-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧雜二十七烷-27-醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基 4-硝基苯基酯（109 mg）。LC-MS (ESI): 962.4 $[M+H]^+$。

(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-{[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[1-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧雜二十七烷-27-醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}乙基酯（LP12）的合成



【0680】 在室溫，將DIEA（47.02 mg，0.365 mmol）添加至(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-(甲基胺基)乙基酯（61.68 mg，0.073 mmol）和碳酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[1-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧雜二十七烷-27-醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基 4-硝基苯基酯（70 mg，0.073 mmol）在DMF（2.5 mL）中的溶液中。將溶液在室溫攪拌3 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由製備型TLC（DCM / MeOH 6:1）和製備型HPLC（柱：XBridge Prep OBD C18柱，19x250 mm，5 μm；流動相A：水（50 mmol HCO_2NH_4），流動相B：MeCN；流速：25 mL/min；梯度：在10 min內25% B至35% B，35% B；波長：220/254 nm）純化，以得到呈白色固體的(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-{[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[1-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧雜二十七烷-27-醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}乙基酯（**LP12**）（23.5 mg）。

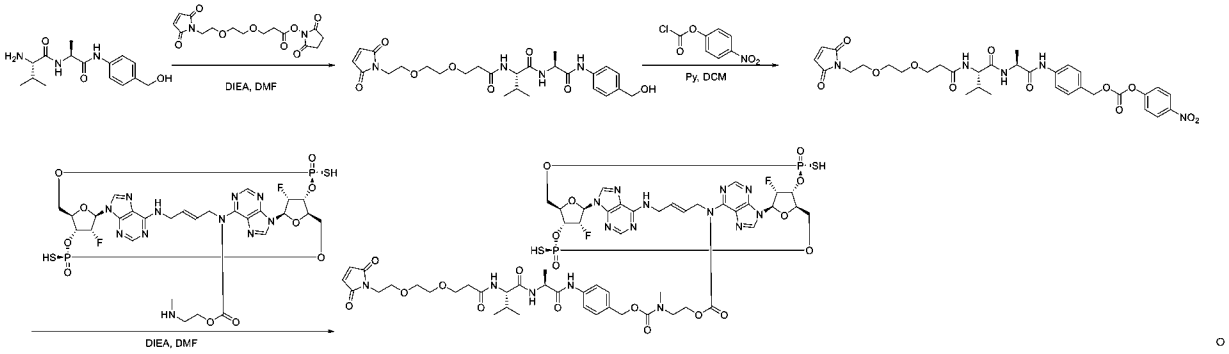
【0681】 LC-MS (ESI): 1671.70 $[M+H]^+$。

【0682】 ^{1}H NMR (400 MHz, 甲醇-d_4) δ 8.92 (s, 1H), 8.82 – 8.66 (m, 2H), 8.30 – 7.99 (m, 2H), 7.71 – 7.53 (m, 2H), 7.37 – 7.28 (m, 1H), 7.26 – 7.14 (m, 1H), 6.84 (s, 2H), 6.56 – 6.22 (m, 2H), 6.08 – 5.86 (m, 1H), 5.84 – 5.23 (m, 4H), 5.13 – 4.94 (m, 2H), 4.76 – 4.40 (m, 7H), 4.37 – 4.13 (m, 3H), 4.09 – 3.89 (m, 2H), 3.81 –

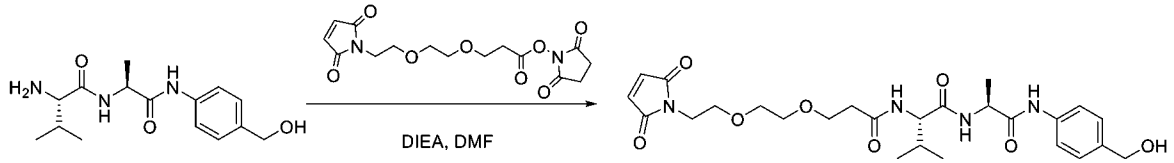
3.74 (m, 2H), 3.72 – 3.68 (m, 2H), 3.67 – 3.56 (m, 24H), 2.83 – 2.69 (m, 3H), 2.65 – 2.55 (m, 2H), 2.30 – 2.04 (m, 1H), 1.54 – 1.40 (m, 3H), 1.08 – 0.91 (m, 6H)。

13. ***LP13****的合成*

【0683】 **LP13**的合成如下所示：

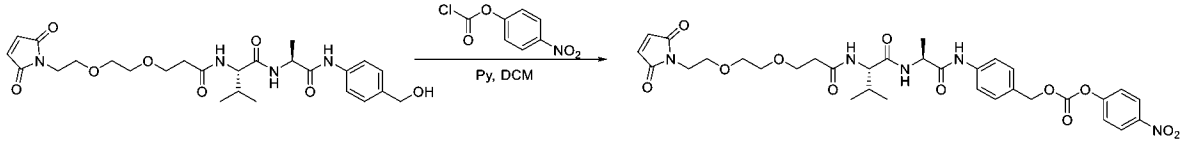


(2*S*)-2-(3-{2-[2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)乙氧基]乙氧基}丙醯胺基)-N-[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺的合成



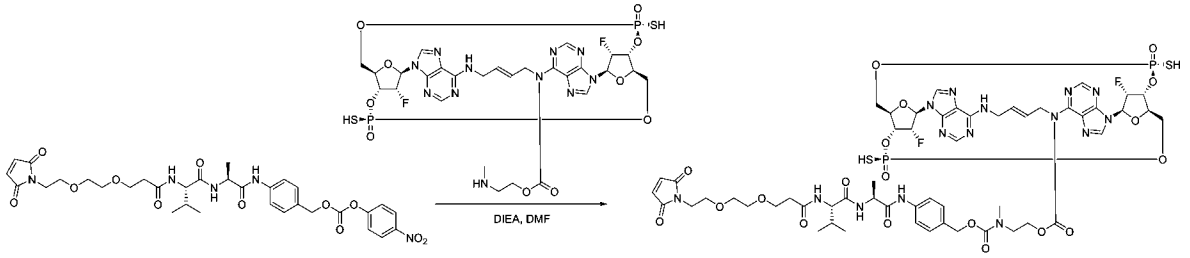
【0684】 在0°C，向(2*S*)-2-胺基-*N*-[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺（200 mg，0.682 mmol）和3-{2-[2-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)乙氧基]乙氧基}丙酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（241.55 mg，0.682 mmol）在DMF（5 mL）中的混合物中添加DIEA（264.34 mg，2.046 mmol）。將所得混合物在室溫攪拌2 h。將所得混合物在真空下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用DCM/ MeOH（10:1）洗脫）純化，以得到呈白色固體的(2*S*)-2-(3-{2-[2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)乙氧基]乙氧基}丙醯胺基)-*N*-[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺（170 mg）。LC-MS (ESI): 533.3 $[M+H]^+$。

碳酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-(3-{2-[2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)乙氧基]乙氧基}丙醯胺基)-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基 4-硝基苯基酯的合成



【0685】 在0°C，向(2*S*)-2-(3-{2-[2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)乙氧基]乙氧基}丙醯胺基)-*N*-[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺（150 mg，0.282 mmol）和4-硝基苯基氯甲酸酯（113.53 mg，0.564 mmol）在DCM（5 mL）中的混合物中添加吡啶（33.42 mg，0.423 mmol）。將所得混合物在25°C攪拌4 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由製備型TLC（CH_2Cl_2 / IPA 10:1）純化，以得到呈白色固體的碳酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-(3-{2-[2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)乙氧基]乙氧基}丙醯胺基)-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基 4-硝基苯基酯（70 mg）。LC-MS (ESI): 698.4[M+H]$^+$。

(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-{[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-(3-{2-[2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)乙氧基]乙氧基}丙醯胺基)-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}乙基酯（LP13）的合成



【0686】 在室溫，向碳酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-(3-{2-[2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)乙氧基]乙氧基}丙醯胺基)-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲

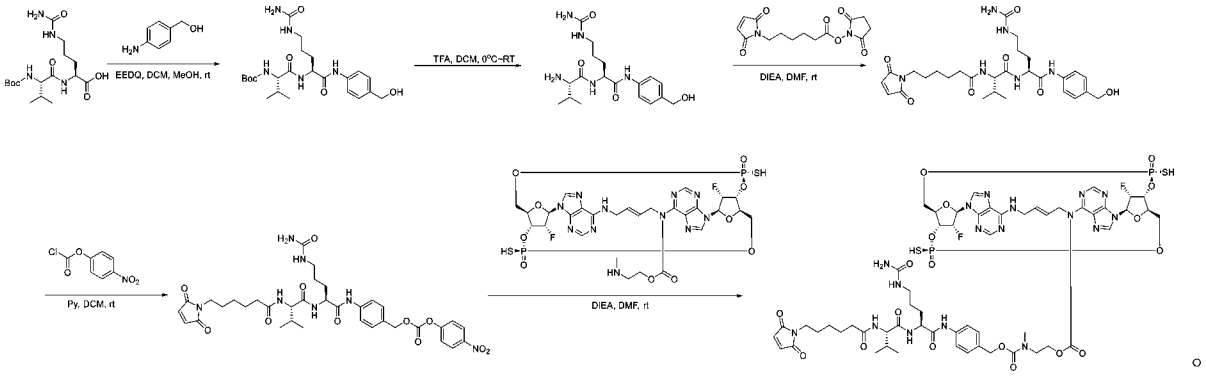
基 4-硝基苯基酯（36 mg，0.052 mmol）和 (1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-(甲基胺基)乙基酯（43.74 mg，0.052 mmol）在DMF（2 mL）中的混合物中添加DIEA（33.34 mg，0.260 mmol）。將所得混合物在室溫攪拌過夜。將所得混合物在真空下濃縮。將殘餘物藉由製備型TLC（EtOAc/MeOH 3:1）和製備型HPLC用以下條件純化（柱：XBridge Prep Phenyl OBD柱，19x250 mm，5 μm；流動相A：水（50 mmol/L HCO_2NH_4），流動相B：MeCN；流速：25 mL/min；梯度：在15 min內35% B至60% B，60% B；波長：254 nm），以得到呈白色固體的 (1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-{[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-(3-{2-[2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)乙氧基]乙氧基}丙醯胺基)-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}乙基酯（**LP13**）（3.5 mg）。

【0687】 LC-MS (ESI): 1406.40 $[M+H]^+$。

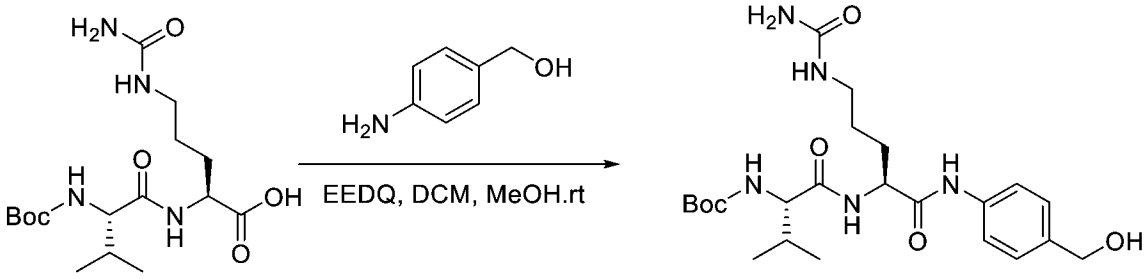
【0688】 ^{1}H NMR (400 MHz, 甲醇-d_4) δ 8.92 (s, 1H), 8.72 (m, 2H), 8.31 – 8.02 (m, 2H), 7.60 (m, 2H), 7.31 (m, 1H), 7.21 (m, 1H), 6.82 (s, 2H), 6.43 (m, 1H), 6.32 (m, 1H), 6.02 (s, 1H), 5.84 (m, 1H), 5.51 (m, 1H), 5.02 (s, 2H), 4.92 (m, 4H), 4.62 (m, 4H), 4.54 – 4.45 (m, 3H), 4.42 (s, 2H), 4.35 – 4.13 (m, 2H), 4.09 (m, 4H), 3.84(m, 4H), 3.79– 3.61 (m, 3H), 3.42 (m, 4H), 2.9 (m, 2H),2.73 (m, 3H), 2.55 (m, 2H), 2.24 – 2.07 (m, 1H), 1.50 – 1.39 (m, 3H), 1.00 (m, 6H)。

14. ***LP14****的合成*

【0689】 **LP14**的合成如下所示：

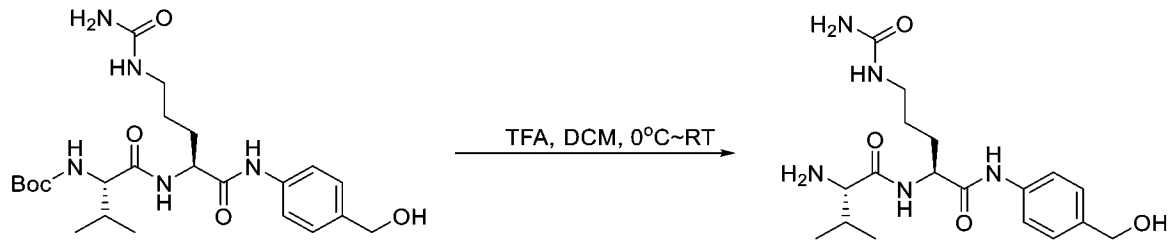


***N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-4-(胺基甲醯基胺基)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}丁基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸*三級丁基*酯的合成**



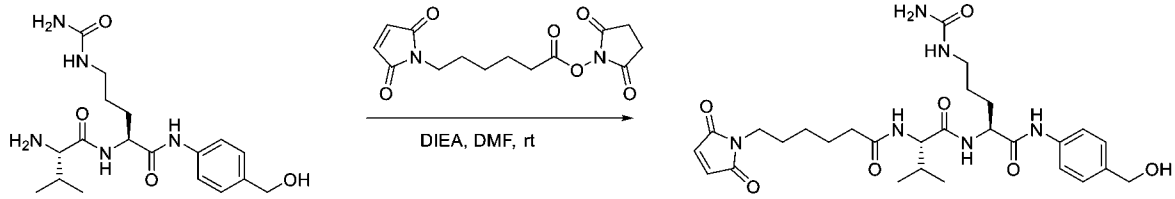
【0690】 在室溫，將2-乙氧基-1,2-二氫喹啉-1-甲酸乙基酯（2.64 g，10.682 mmol）添加至(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[(*三級丁氧基*羰基)胺基]-3-甲基丁醯胺基]-5-(胺基甲醯基胺基)戊酸（2 g，5.341 mmol）和*對胺基苄醇*（657.81 mg，5.341 mmol）在DCM（12 mL）和MeOH（2 mL）中的混合物中。將所得混合物在25°C攪拌2 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用DCM/ MeOH（5:1）洗脫）純化，以得到呈淡粉色固體的*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-4-(胺基甲醯基胺基)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}丁基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸*三級丁基*酯（1.8 g）。LC-MS (ESI): 480.5 $[M+H]^+$。

(2*S*)-2-[(2*S*)-2-胺基-3-甲基丁醯胺基]-5-(胺基甲醯基胺基)-*N*-[4-(羥基甲基)苯基]戊醯胺的合成



【0691】 在0°C，將TFA（10 mL）添加至*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-4-(胺基甲醯基胺基)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}丁基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸*三級丁基*酯（1.8 g，3.753 mmol）在DCM（10 mL）中的混合物中。將所得混合物在25°C攪拌30 min。將所得混合物在減壓下濃縮。然後在0°C，將K_2CO_3（2.07 g，15.012 mmol）添加至上述中間體在MeOH（5 mL）、THF（5 mL）和H_2O（5 mL）中的混合物中。將所得混合物在25°C攪拌2 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用DCM/ MeOH（3:1）洗脫）純化，以得到呈白色固體的(2*S*)-2-[(2*S*)-2-胺基-3-甲基丁醯胺基]-5-(胺基甲醯基胺基)-*N*-[4-(羥基甲基)苯基]戊醯胺（1.3 g）。LC-MS (ESI): 380.4 $[M+H]^+$。

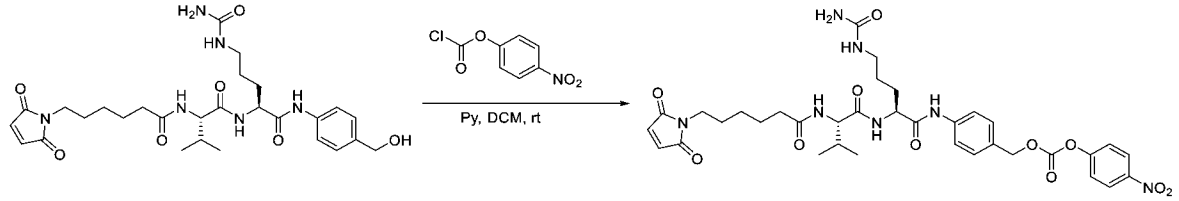
_N_-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-4-(胺基甲醯基胺基)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}丁基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)己醯胺的合成



【0692】 在25°C，將DIEA（1.33 g，10.278 mmol）添加至(2*S*)-2-[(2*S*)-2-胺基-3-甲基丁醯胺基]-5-(胺基甲醯基胺基)-*N*-[4-(羥基甲基)苯基]戊醯胺（1.3 g，3.426 mmol）和6-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)己酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（1.06 g，3.426 mmol）在DMF（5 mL）中的混合物中。將所得混合物在25°C攪拌3 h。將殘餘物藉由反相快速層析法用以下條件純化：柱，C18矽膠；流動相A：水（0.1% FA），流動相B：MeCN，在30 min內10%至35%梯度；檢測器，UV 254 nm。這產生呈白色固體的*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-4-(胺基甲醯基胺基)-1-

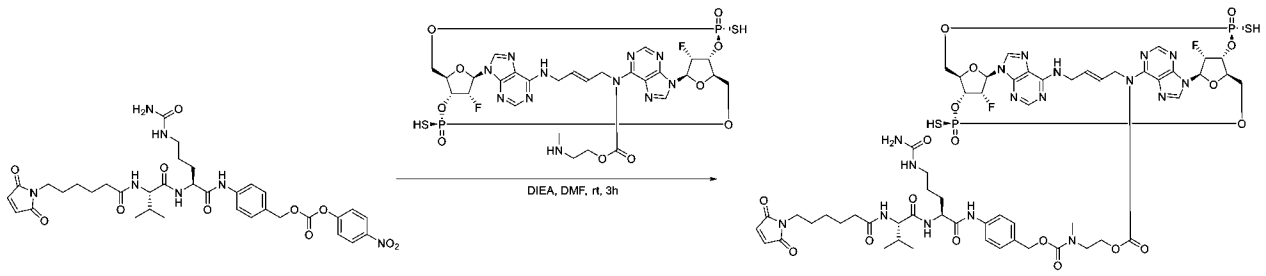
{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}丁基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)己醯胺（1.5 g）。LC-MS (ESI): 573.6 $[M+H]^+$。

碳酸{4-[(2*S*)-5-(胺基甲醯基胺基)-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)己醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]戊醯胺基]苯基}甲基 4-硝基苯基酯的合成



【0693】 在25°C，將吡啶（82.88 mg，1.048 mmol）添加至*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-4-(胺基甲醯基胺基)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}丁基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)己醯胺（300 mg，0.524 mmol）和4-硝基苯基氯甲酸酯（211.18 mg，1.048 mmol）在DCM（5 mL）中的混合物中。將所得混合物在25°C攪拌14 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由反相快速層析法用以下條件純化：柱，C18矽膠；流動相A：水（0.1% FA），流動相B：MeCN，在20 min內20%至50%梯度；檢測器，UV 254 nm。這產生呈黃色固體的碳酸{4-[(2*S*)-5-(胺基甲醯基胺基)-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)己醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]戊醯胺基]苯基}甲基 4-硝基苯基酯（110 mg）。LC-MS (ESI): 738.7 $[M+H]^+$

(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-{[({4-[(2*S*)-5-(胺基甲醯基胺基)-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]戊醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}乙基酯（LP14）的合成



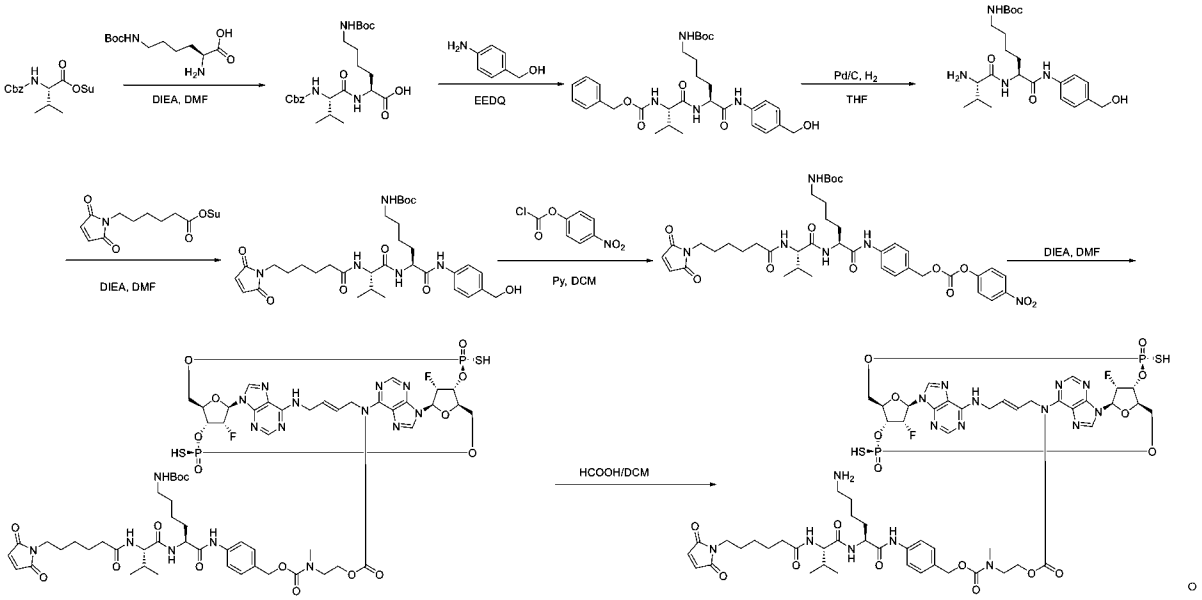
【0694】 在氮氣氣氛下，將DIEA（26.28 mg，0.205 mmol）添加至碳酸{4-[(2*S*)-5-(胺基甲醯基胺基)-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)己醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]戊醯胺基]苯基}甲基 4-硝基苯基酯（30 mg，0.041 mmol）和(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-(甲基胺基)乙基酯（34.47 mg，0.041 mmol）在DMF（1 mL）中的混合物中。將所得混合物在氮氣氣氛下在25°C攪拌3 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由製備型TLC（EtOAc（1% TEA）/ MeOH 4:1）純化。將粗製產物（30 mg）藉由製備型HPLC用以下條件純化（柱：XBridge Prep OBD C18柱，19x250 mm，5 μm；流動相A：水（50 mmol/L HCO_2NH_4），流動相B：MeCN；流速：25 mL/min；梯度：在10 min內20% B至30% B，30% B；波長：220 nm），以得到呈白色固體的(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-{[({4-[(2*S*)-5-(胺基甲醯基胺基)-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)己醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]戊醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}乙基酯（**LP14**）（6.3 mg）。

【0695】 LC-MS (ESI): 1446.45 $[M+H]^+$。

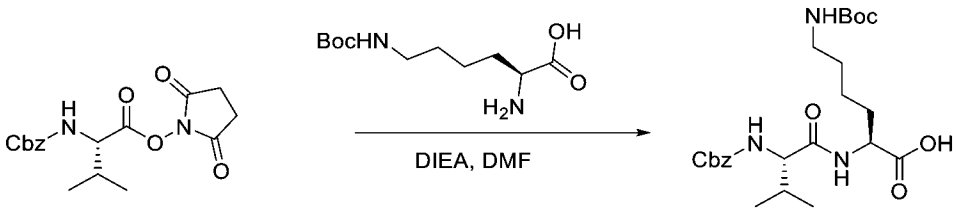
【0696】 ^{1}H NMR (300 MHz, 甲醇-d_4) δ 8.95 – 8.68 (m, 3H), 8.57 – 8.53 (m, 3H), 8.09 (s, 1H), 7.64 – 7.57 (m, 2H), 7.39 – 7.16 (m, 2H), 6.80 (s, 1H), 6.50 – 6.24 (m, 2H), 6.11 – 5.66 (m, 2H), 5.62 – 5.25 (m, 2H), 4.36 – 4.11 (m, 3H), 4.10 – 3.91 (m, 2H), 3.67 (s, 2H), 3.58 – 3.44 (m, 3H), 2.88 (s, 1H), 2.76 (d, *J* = 15.0 Hz, 2H), 2.31 – 2.20 (m, 3H), 2.14 – 1.73 (m, 4H), 1.72 – 1.49 (m, 8H), 1.07 – 0.78 (m, 16H)。

15. ***LP15****的合成*

【0697】 **LP15**的合成如下所示：



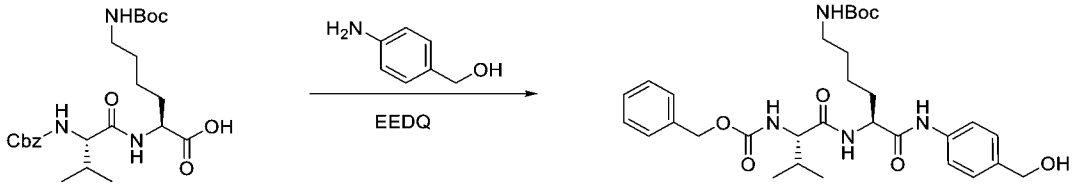
(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(苄氧基)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]-6-[(*三級丁氧基*羰基)胺基]己酸的合成



【0698】 在室溫，向(2*S*)-2-{[(苄氧基)羰基]胺基}-3-甲基丁酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（1 g，2.871 mmol）和(2*S*)-2-胺基-6-[(*三級丁氧基*羰基)胺基]己酸（707.06 mg，2.871 mmol）在DMF（5 mL）中的混合物中添加DIEA（1.11

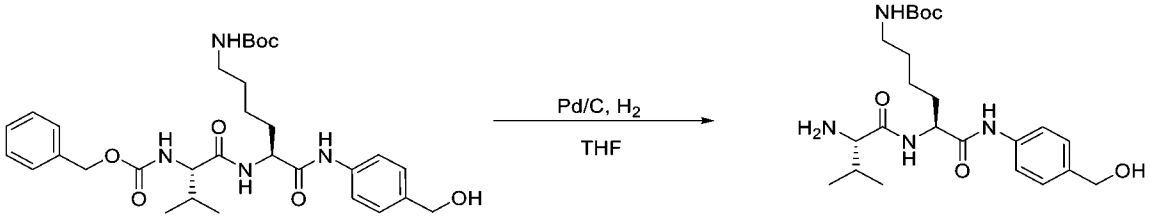
g，8.613 mmol）。將所得混合物在室溫攪拌過夜。將溶液藉由反相快速層析法用以下條件純化：柱：C18；流動相A：水（0.5% FA），流動相B：MeCN；梯度：在30 min內20% B至50% B；220/254 nm。這產生呈灰白色固體的(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(苄氧基)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]-6-[(*三級丁氧基*羰基)胺基]己酸（1 g）。LC-MS (ESI): 480.6 $[M+H]^+$

_N_-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-5-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}戊基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸苄基酯的合成



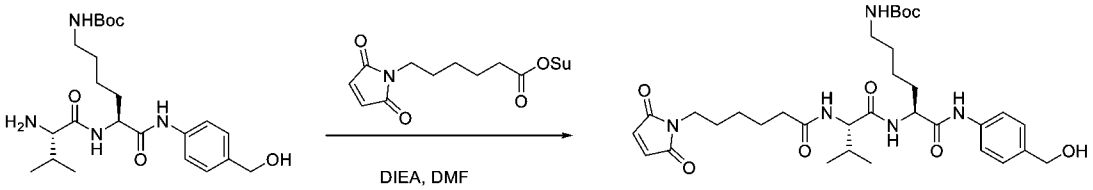
【0699】 向(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(苄氧基)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]-6-[(*三級丁氧基*羰基)胺基]己酸（1 g，2.085 mmol）和*對胺基苄醇*（256.80 mg，2.085 mmol）在DCM（6 mL）/ MeOH（1 mL）中的混合物中添加2-乙氧基-1,2-二氫喹啉-1-甲酸乙基酯（515.64 mg，2.085 mmol）。將所得混合物在室溫攪拌過夜。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用DCM/MeOH（10:1）洗脫）純化，以得到呈白色固體的*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-5-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}戊基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸苄基酯（1 g）。LC-MS (ESI): 585.3 $[M+H]^+$

_N_-[(5*S*)-5-[(2*S*)-2-胺基-3-甲基丁醯胺基]-5-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}戊基]胺基甲酸*三級丁基*酯的合成



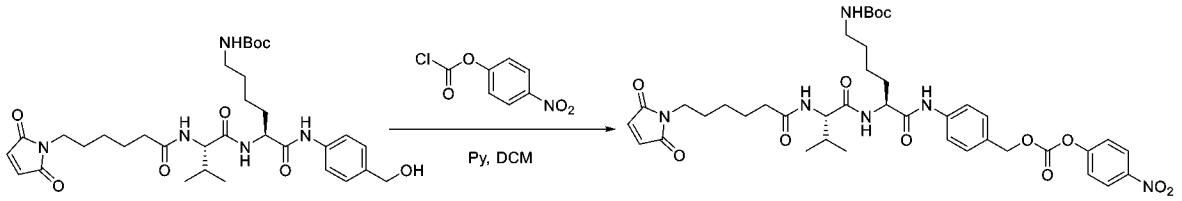
【0700】 在室溫，向*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-5-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}戊基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸苄基酯（1 g，1.710 mmol）在THF（10 mL）中的混合物中添加Pd/C（200 mg）。將所得混合物在氫氣氣氛下在室溫攪拌過夜。將所得混合物過濾，將濾餅用THF洗滌。將濾液在減壓下濃縮。這產生呈綠色固體的*N*-[(5*S*)-5-[(2*S*)-2-胺基-3-甲基丁醯胺基]-5-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}戊基]胺基甲酸*三級丁基*酯（800 mg）。LC-MS (ESI): 451.3 $[M+H]^+$。

_N_-[(5*S*)-5-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]-5-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}戊基]胺基甲酸*三級丁基*酯的合成



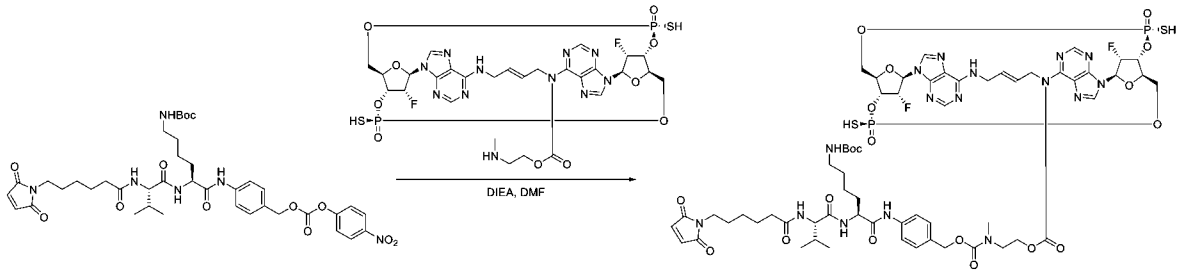
【0701】 在室溫，向*N*-[(5*S*)-5-[(2*S*)-2-胺基-3-甲基丁醯胺基]-5-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}戊基]胺基甲酸*三級丁基*酯（800 mg，1.775 mmol）和6-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)己酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（68.42 mg，0.222 mmol）在DMF（5 mL）中的混合物中添加DIEA（688.43 mg，5.325 mmol）。將所得混合物在室溫攪拌1 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用DCM/ MeOH（10:1）洗脫）純化，以得到呈灰白色固體的*N*-[(5*S*)-5-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]-5-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}戊基]胺基甲酸*三級丁基*酯（650 mg）。LC-MS (ESI): 644.5 $[M+H]^+$。

碳酸{4-[(2*S*)-6-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]己醯胺基]苯基}甲基 4-硝基苯基酯的合成



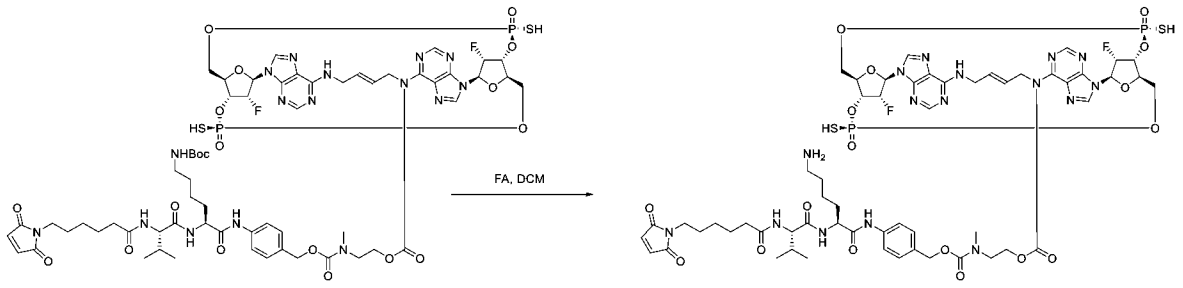
【0702】 在室溫，向*N*-[(5*S*)-5-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]-5-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}戊基]胺基甲酸*三級丁基*酯（100 mg，0.155 mmol）和4-硝基苯基氯甲酸酯（62.62 mg，0.310 mmol）在DCM（2 mL）中的混合物中添加吡啶（18.43 mg，0.232 mmol）。將所得混合物在室溫攪拌4 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用PE / EtOAc（1:3）洗脫）純化，以得到呈白色固體的碳酸{4-[(2*S*)-6-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)己醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]己醯胺基]苯基}甲基 4-硝基苯基酯（60 mg）。LC-MS (ESI):809.5 $[M+H]^+$。

(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-{[({4-[(2*S*)-6-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]己醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}乙基酯的合成



【0703】 在室溫，向碳酸{4-[(2*S*)-6-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]己醯胺基]苯基}甲基 4-硝基苯基酯（60 mg，0.074 mmol）和 (1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-(甲基胺基)乙基酯（62.88 mg，0.074 mmol）在DMF（2 mL）中的混合物中添加DIEA（47.94 mg，0.370 mmol）。將所得混合物在室溫攪拌4 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由製備型TLC（DCM/ MeOH 5:1）純化，以得到呈白色固體的 (1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-{[({4-[(2*S*)-6-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]己醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}乙基酯（30 mg）。LC-MS (ESI):1517.5 $[M+H]^+$。

(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-{[({4-[(2*S*)-6-胺基-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]己醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}乙基酯（LP15）的合成



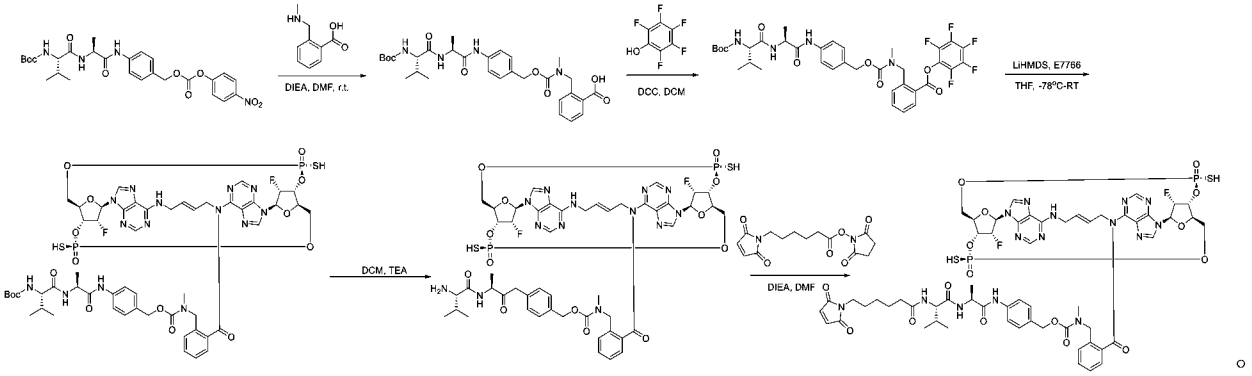
【0704】在室溫，向(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-{[({4-[(2*S*)-6-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]己醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}乙基酯（40 mg，0.026 mmol）在DCM（2 mL）中的混合物中添加甲酸（2 mL）。將所得混合物在室溫攪拌1 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將粗製產物藉由製備型HPLC用以下條件純化（柱：XBridge Prep OBD C18柱，19*250 mm，5 μm；流動相A：水（50 mmol/L HCO_2NH_4），流動相B：MeCN；流速：25 mL/min；梯度：在10 min內20% B至30% B，30% B；波長：254 nm），以得到呈白色固體的(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-{[({4-[(2*S*)-6-胺基-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]己醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}乙基酯（**LP15**）（10.6 mg）。

【0705】LC-MS (ESI): 1418.65 $[M+H]^+$。

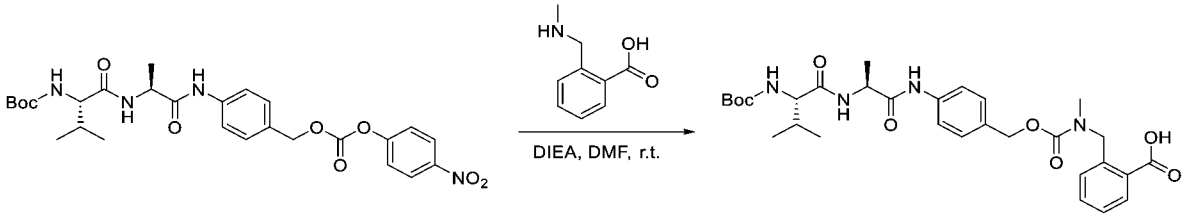
【0706】 ^{1}H NMR (400 MHz 甲醇-d_4) δ 8.94 – 8.43 (m, 3H), 8.28 – 7.85 (m, 2H), 7.70 – 7.39 (m, 2H), 7.32 – 7.00 (m, 2H), 6.81 (m, 2H), 6.30 (s, 1H), 6.05 – 5.75 (m, 4H), 5.70 – 5.27 (m, 1H), 4.69 – 4.54 (m, 5H), 4.51– 4.39 (m, 7H), 4.19 – 4.05 (m, 5H), 4.09 – 3.88 (m, 2H), 3.66 – 3.40 (m, 2H), 3.05 – 2.93 (m, 3H), 2.91 – 2.78 (m, 2H), 2.70 (s, 1H), 2.40 – 2.20 (m, 2H), 2.20 – 2.02 (m, 1H), 2.01 – 1.90 (m, 1H), 1.82 – 1.69 (m, 3H), 1.70 – 1.45 (m, 7H), 1.44 – 1.22 (m, 5H), 1.10 – 0.86 (m, 6H)。

16. ***LP16****的合成*

【0707】 **LP16**的合成如下所示：



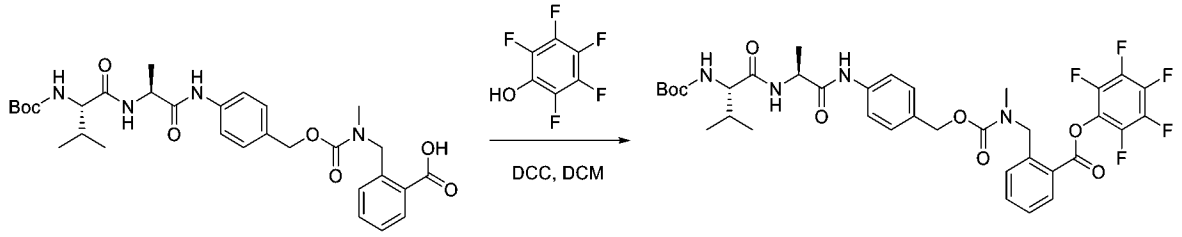
2-({[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基} -3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}甲基)苯甲酸的合成



【0708】 將2-[(甲基胺基)甲基]苯甲酸（177 mg，1.074 mmol）和DIEA（555 mg，4.296 mmol）添加至碳酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[(*三級丁氧基*羰基)胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基 4-硝基苯基酯（600 mg，1.074 mmol）在DMF（5 mL）中的混合物中。將所得混合物在25°C攪拌2 h。將所得混合物用EtOAc稀釋、用水洗滌並濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用CH_2Cl_2 / MeOH（10:1）洗脫）純化。這產生600 mg呈白色固體的2-({[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(三

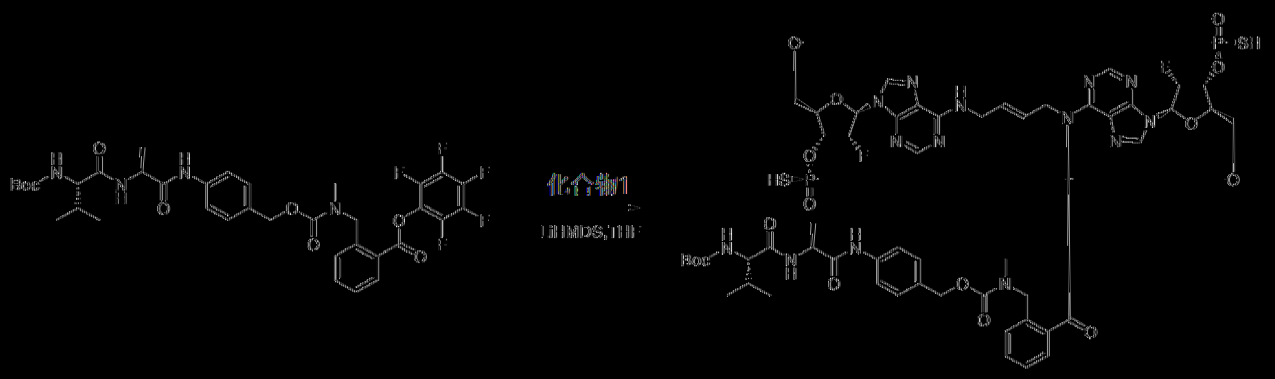
級丁氧基)羰基]胺基} -3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}甲基)苯甲酸。LC-MS (ESI): 585 $[M+H]^+$。

2-({[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}甲基)苯甲酸2,3,4,5,6-五氟苯基酯的合成



【0709】將五氟苯酚（378 mg，2.052 mmol）和DCC（424 mg，2.052 mmol）添加至2-({[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基} -3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}甲基)苯甲酸（600 mg，1.026 mmol）在DCM（10 mL）中的混合物中。將所得混合物在25°C攪拌1 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用PE / EtOAc（1:1）洗脫）純化。這產生830 mg呈白色固體的2-({[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}甲基)苯甲酸2,3,4,5,6-五氟苯基酯。LC-MS (ESI): 751 $[M+H]^+$。

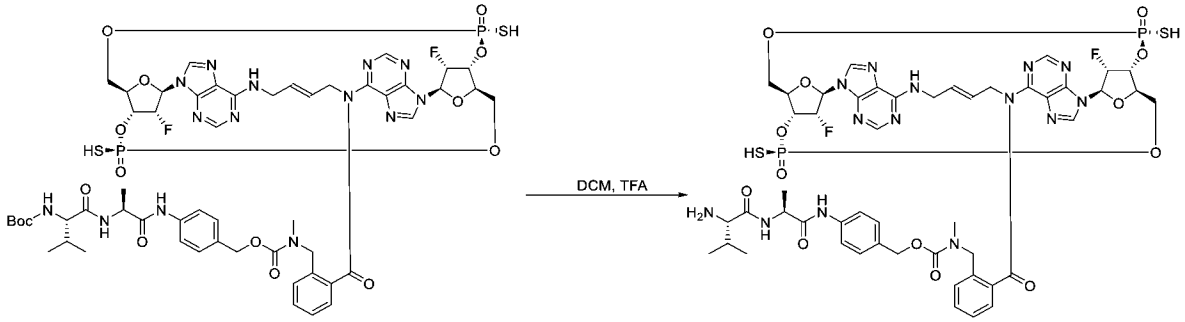
***N*-({2-[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-羰基]苯基}甲基)-*N*-甲基胺基甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基酯的合成**



[0710]將LiHMDS（0.48 mmol）添加至化合物1（60 mg，0.080 mmol）在THF（5 mL）中的混合物中。將所得混合物在-78°C攪拌30 min。在-78°C，向上述混合物中滴加2-({[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}甲基)苯甲酸2,3,4,5,6-五氟苯基酯（60 mg，0.08 mmol）。將所得混合物在-78°C再攪拌3 h。如果未消耗化合物1，則在-78°C添加2 eq LiHMDS和1 eq 2-({[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}甲基)苯甲酸2,3,4,5,6-五氟苯基酯。將反應用AcOH淬滅。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用DCM / MeOH（8:1）洗脫）純化。這產生60 mg呈白色固體的*N*-({2-[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-羰基]苯基}甲基)-*N*-甲基胺基甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]苯基}甲基酯。LC-MS (ESI): 1313 [M+H]$^+$。

N-({2-[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-

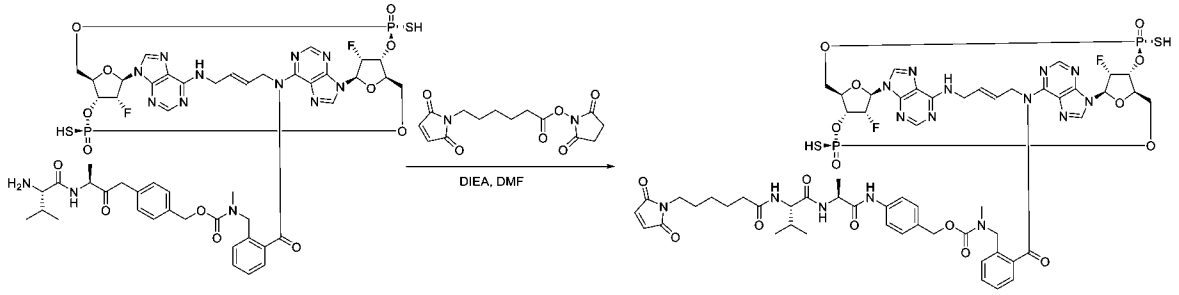
5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-羰基]苯基}甲基)-*N*-甲基胺基甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-胺基-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基酯的合成



【0711】將TFA（0.6 mL）添加至*N*-({2-[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-羰基]苯基}甲基)-*N*-甲基胺基甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基酯（80 mg，0.061 mmol）在DCM（3.6 mL）中的混合物中。將所得混合物在0°C攪拌1 h。將所得混合物在減壓下濃縮。這產生80 mg呈粗製油狀物的*N*-({2-[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-羰基]苯基}甲基)-*N*-甲基胺基甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-胺基-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基酯。LC-MS (ESI): 1212 $[M+H]^+$。

***N*-({2-[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-羰基]苯基}甲基)-*N*-甲基胺基甲酸{4-[(2*S*)-2-**

[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基酯（LP16）的合成



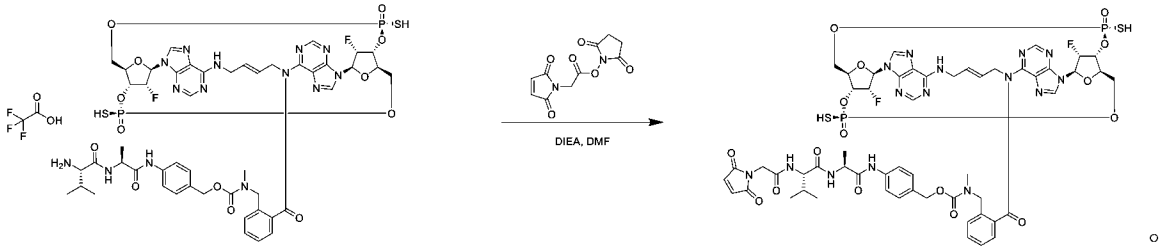
【0712】 將6-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)己酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（41 mg，0.132 mmol）和DIEA（85 mg，0.660 mmol）添加至*N*-({2-[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-羰基]苯基}甲基)-*N*-甲基胺基甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-胺基-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基酯（80 mg，0.066 mmol）在DMF（2 mL）中的混合物中。將所得混合物在25°C攪拌1 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由製備型TLC（DCM / MeOH 7:1）和製備型HPLC（柱：XBridge Prep Phenyl OBD柱，19x250 mm，5 μm；流動相A：水（50 mmol HCO_2NH_4），流動相B：MeCN；流速：25 mL/min；梯度：在15 min內25% B至50% B；波長：254 nm）純化。這產生25.3 mg呈白色固體的*N*-({2-[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-羰基]苯基}甲基)-*N*-甲基胺基甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基酯（**LP16**）。

【0713】 LC-MS (ESI): 1406.55[M+H]$^+$。

【0714】 ^{1}H NMR (400 MHz, 甲醇-d_4) δ 8.97 (s, 1H), 8.52 –8.28 (m, 2H), 8.26 – 8.13 (m, 2H), 8.09 – 7.99 (m, 1H), 7.64 – 7.50 (m, 2H), 7.41 – 7.33 (m, 1H), 7.28 – 7.17 (m, 2H), 7.06 – 6.93 (m, 2H), 6.80 (s, 2H), 6.43 – 6.23 (m, 2H), 6.13 – 5.45 (m, 4H), 5.14 (d, *J* = 7.0 Hz, 3H), 4.87 – 4.72 (m, 3H), 4.70 – 4.30 (m, 8H), 4.24 – 4.13 (m, 1H), 4.10 – 4.00 (m, 1H), 3.99 – 3.83 (m, 1H), 3.77 – 3.59 (m, 1H), 3.54 – 3.42 (m, 3H), 3.31 – 3.14 (m, 3H), 3.02 – 2.91 (m, 3H), 2.37 – 2.25 (m, 2H), 2.16 – 2.04 (m, 1H), 1.68 – 1.53 (m, 4H), 1.47 – 1.42 (m, 3H), 1.40 – 1.25 (m, 3H), 1.03 – 0.95 (m, 6H)。

17. ***LP17****的合成*

【0715】 **LP17**的合成如下所示：



。

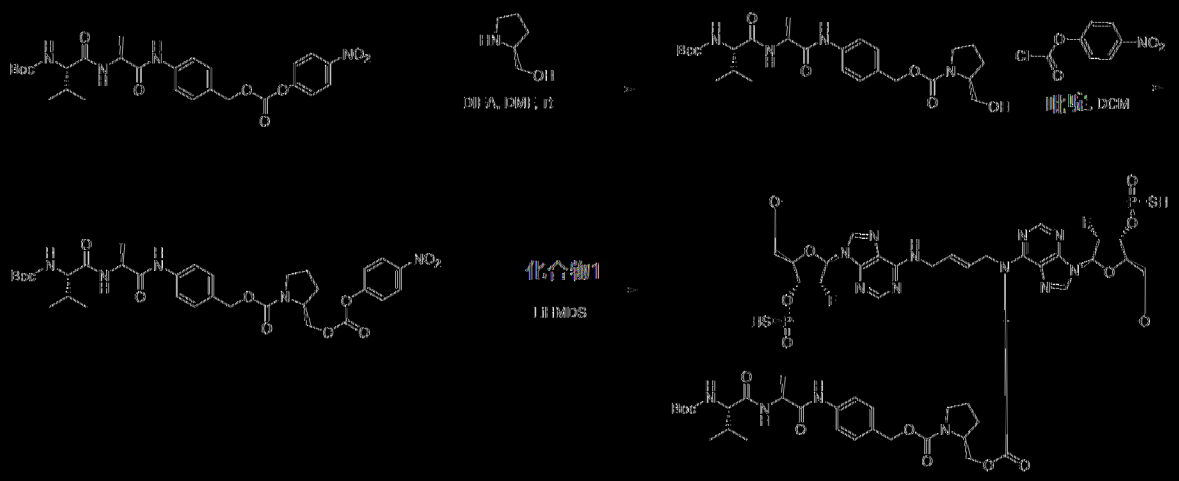
【0716】 在室溫，向*N*-({2-[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-羰基]苯基}甲基)-*N*-甲基胺基甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-胺基-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基酯三氟乙酸鹽（16 mg，0.012 mmol）在DMF（1 mL）中的溶液中添加DIEA（10.53 µl，0.06 mmol）和2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)乙酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（4.56 mg，0.018 mmol）。將反應混合物在室溫攪拌2小時。將反應混合物藉由反相

快速層析法（使用在水（0.1%甲酸）中的3%至70%梯度的MeCN）純化，以給出呈無色固體的*N*-({2-[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十-15-烯-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-羰基]苯基}甲基)-*N*-甲基胺基甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)乙醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基酯（DLP17）（7.2 mg）。

[0717] LC-MS (ESI): 1350.40 [M+H]$^+$。

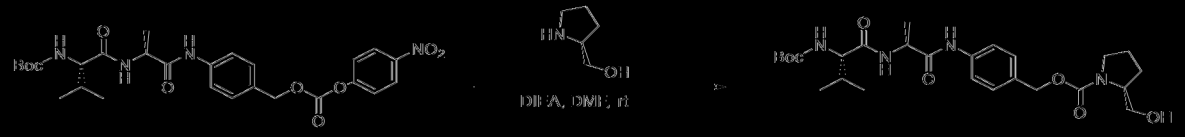
18. DLP20的合成

[0718] DLP20的合成如下所示：



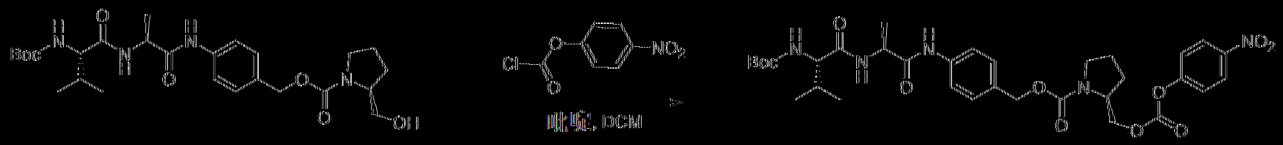
。

(2*S*)-2-(溴甲基)吡咯啶-1-甲酸4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基甲基酯的合成



[0719] 在室溫，向脯胺醇（50 mg，0.494 mmol）在DMF（5 mL）中的混合物中添加碳酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(二級丁氧基)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基4-硝基苯基酯（276.12 mg，0.494 mmol）和DIEA（191.67 mg，1.482 mmol）。將所得混合物在室溫攪拌過夜。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用CH_2Cl_2/MeOH（10:1）洗脫）純化，以得到呈白色油狀物的(2*S*)-2-(羥基甲基)吡咯烷-1-甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(二級丁氧基)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基酯（250 mg）。LCMS (ESI): 521.6 [M+H]+。

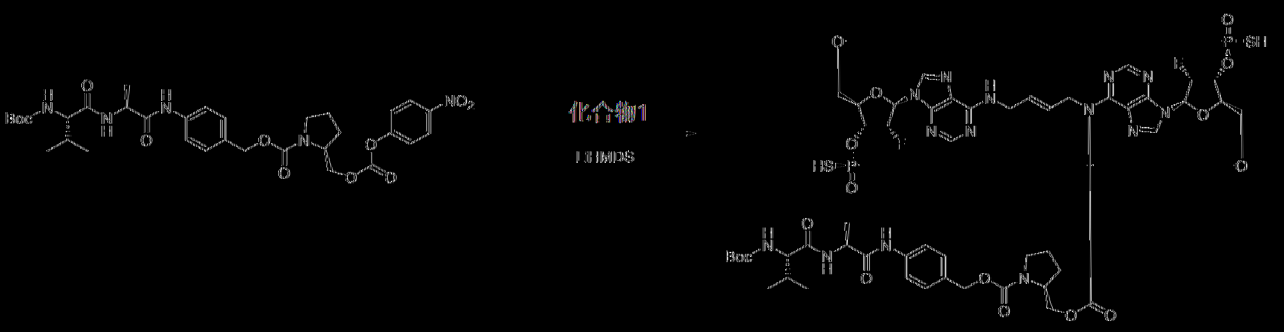
(2*S*)-2-({[(4-硝基苯氧基)羰基]氧基}甲基)吡咯烷-1-甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(二級丁氧基)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基酯的合成



[0720] 在室溫，向(2*S*)-2-(羥基甲基)吡咯烷-1-甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(二級丁氧基)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基酯（250 mg，0.480 mmol）和4-硝基苯氯甲酸酯（145.18 mg，0.720 mmol）在DCM（7 mL）中的混合物中添加吡啶（56.97 mg，0.720 mmol）。將所得混合物在室溫攪拌過夜。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由製備型TLC（PE/EtOAc 1:3）純化，以得到呈白色油狀物的(2*S*)-2-({[(4-硝基苯氧基)羰基]氧基}甲基)吡咯烷-1-甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(二級丁氧基)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基酯（230 mg）。LCMS (ESI): 686.7 [M+H]+。

(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34

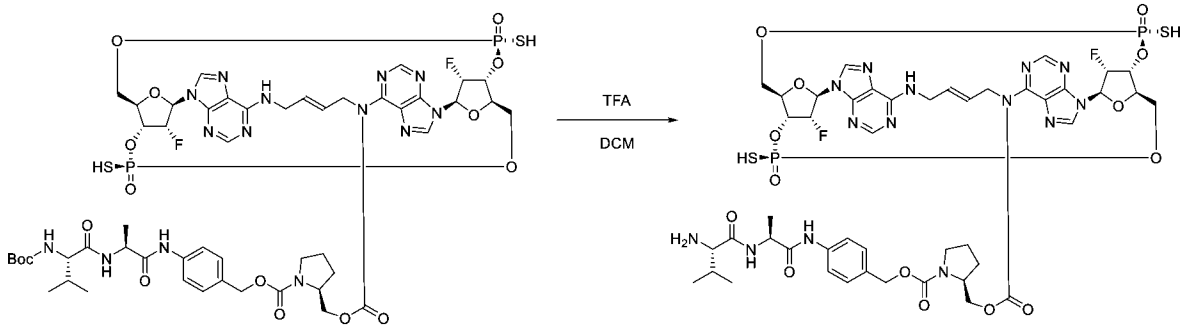
λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十六烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-[(4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(二級丁氧基)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]-5-脲基戊醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]吡咯啶-2-基甲基]酯的合成



[0721] 在氮氣氣氛下在-78°C，向化合物1（60 mg，0.080 mmol）在THF（5 mL）中的混合物中添加LiHMDS（0.480 mmol）。將所得混合物在-78°C攪拌30 min。在氮氣氣氛下在-78°C，向所得混合物中添加(2*S*)-2-({[(4-硝基苯氧基)羰基]氧基}甲基)吡咯啶-1-甲酸(4-{(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(二級丁氧基)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]-5-脲基戊醯胺基}苯基)甲基酯（55.11 mg，0.080 mmol）。將所得混合物在一小時內緩慢加溫至0°C。將反應藉由添加AcOH淬滅。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由製備型TLC（EtOAc /MeOH 3:1）純化，以得到呈白色固體的(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十六烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-[(4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(二級丁氧基)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]-5-脲基戊醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]吡咯啶-2-基甲基]酯（50 mg）。LC-MS (ESI): 1293.4 [M+H]$^+$。

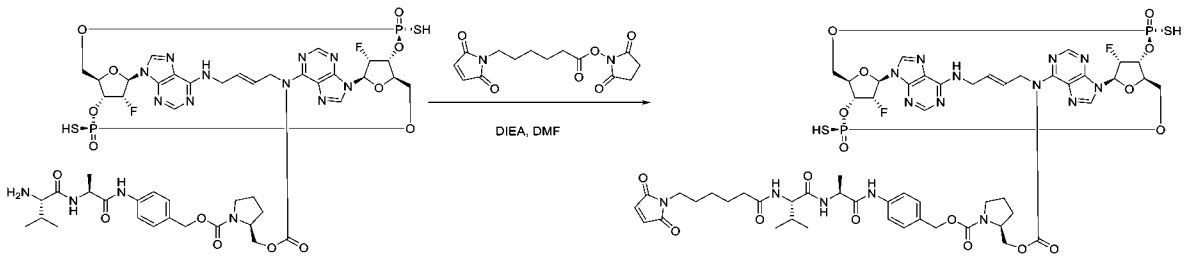
(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34

λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-胺基-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]吡咯啶-2-基]甲基酯的合成



【0722】 在0°C，向(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}-3 甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]吡咯啶-2-基]甲基酯（50 mg，0.039 mmol）在DCM（6 mL）中的混合物中添加TFA（1 mL）。將所得混合物在0°C攪拌1 h。將所得混合物在減壓下濃縮。粗品無需進一步純化即可直接用於下一步驟。LC-MS (ESI): 1193.1 $[M+H]^+$。

(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)己醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]吡咯啶-2-基]甲基酯（LP20）的合成

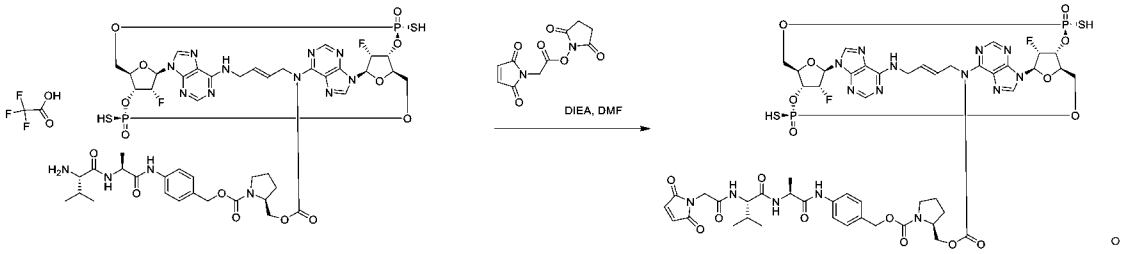


【0723】在室溫，向(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-胺基-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]吡咯啶-2-基]甲基酯（10 mg，0.008 mmol）和6-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)己酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（25.84 mg，0.084 mmol）在DMF（3 mL）中的混合物中添加DIEA（16.25 mg，0.126 mmol）。將所得混合物在室溫攪拌1 h。將所得混合物在真空下濃縮。將殘餘物藉由製備型TLC（DCM / MeOH 5:1）和製備型HPLC用以下條件純化（柱：XBridge Prep OBD C18柱，19*250 mm，5 μm；流動相A：水（50 mmol/L HCO_2NH4），流動相B：MeCN；流速：25 mL/min；梯度：在12 min內25% B至35% B，35% B；波長：254 nm），以得到呈白色固體的(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]吡咯啶-2-基]甲基酯（**LP20**）（11.4 mg）。LC-MS (ESI):1386.40 $[M+H]^+$; ^1H NMR (400 MHz, 甲醇-d_4) δ 9.14 – 8.62 (m, 3H), 8.24 – 7.98 (m, 1H), 7.69 – 7.47 (m, 2H), 7.41 – 7.17 (m, 2H), 6.94 – 6.64 (m, 2H), 6.62 – 6.14 (m, 2H), 6.11 – 5.31

(m, 4H), 5.09 – 4.92 (m, 3H), 4.74 – 4.58 (m, 4H), 4.54 – 4.39 (m, 4H), 4.35 – 4.17 (m, 2H), 4.12 – 3.87 (m, 4H), 3.79 – 3.55 (m, 1H), 3.56 – 3.41 (m, 3H), 3.23 – 2.98 (m, 1H), 2.70 (s, 1H), 2.36 – 2.27 (m, 2H), 2.24 – 2.05 (m, 2H), 2.00 – 1.75 (m, 1H), 1.74 – 1.51 (m, 8H), 1.52 – 1.43 (m, 3H), 1.40 – 1.22 (m, 5H), 1.06 – 0.85 (m, 6H)。

19. ***LP18****的合成*

【0724】 **LP18**的合成如下所示：



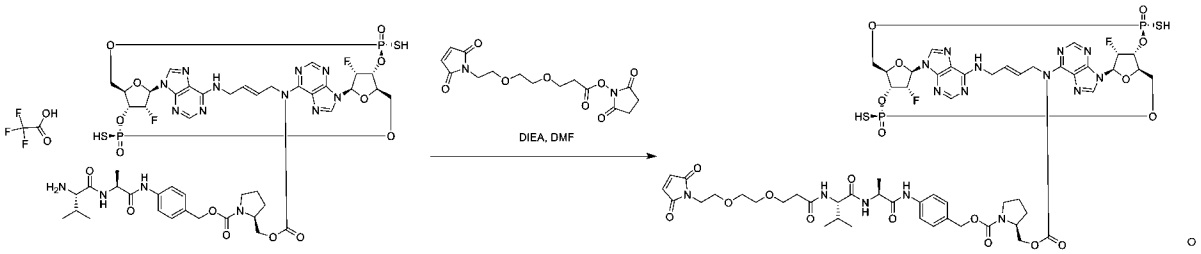
。

【0725】 化合物(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)乙醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]吡咯啶-2-基]甲基酯（**LP18**）藉由類似於LP20的程序的程序，藉由使用2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)乙酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯代替6-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)己酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯獲得。

【0726】 LC-MS (ESI): 1330.72 $[M+H]^+$。

20. ***LP19****的合成*

【0727】 **LP19**的合成如下所示：

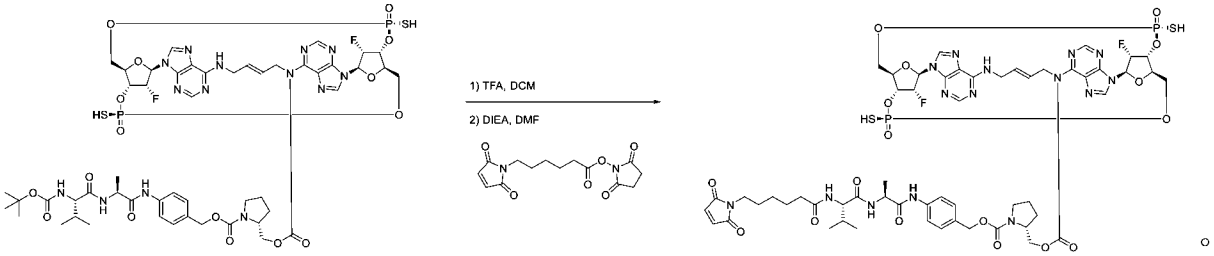


【0728】 化合物(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-(3-{2-[2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)乙氧基]乙氧基}丙醯胺基)-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]吡咯啶-2-基]甲基酯（**LP19**）藉由類似於LP20的程序的程序，藉由使用3-{2-[2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)乙氧基]乙氧基}丙酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯代替6-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)己酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯獲得。

【0729】 LC-MS (ESI): 1432.88 $[M+H]^+$。

*21. **LP29**的合成*

【0730】 **LP29**的合成如下所示：



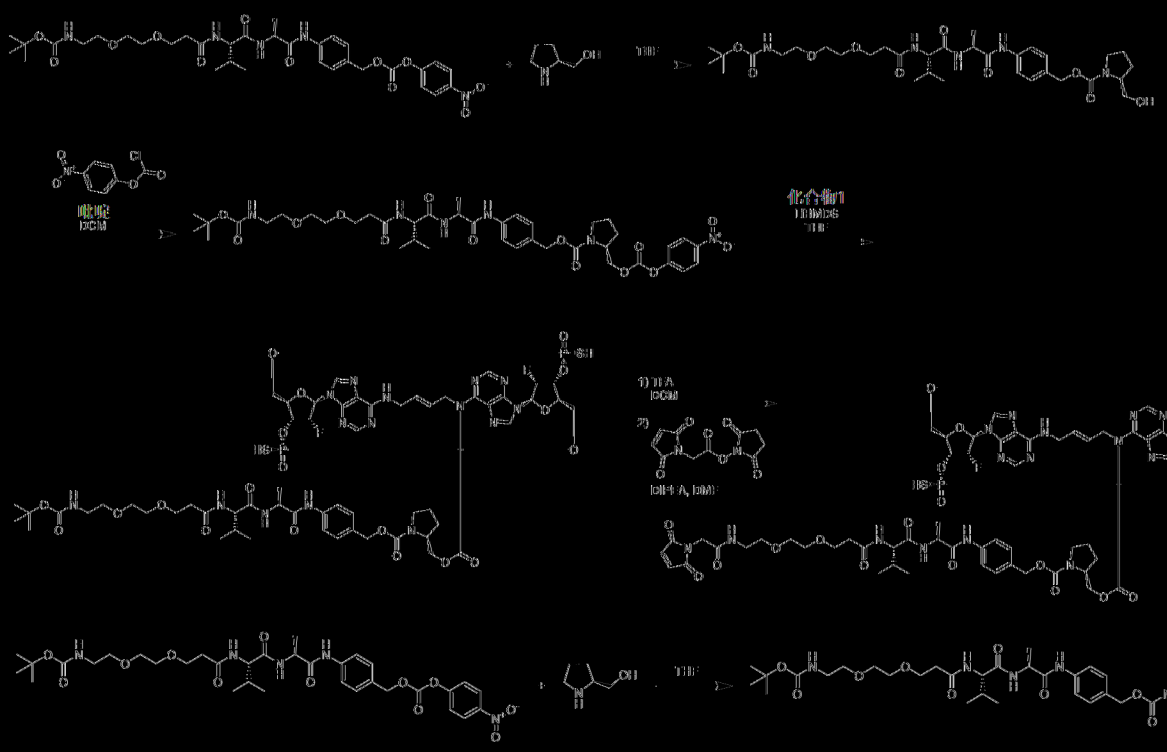
【0731】 向(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*R*)-1-[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺

基]苯基}甲氧基)羰基]吡咯啶-2-基]甲基酯（20 mg，0.015 mmol）在DCM（0.5 mL）中的混合物中添加TFA（0.5 mL）。將所得混合物在室溫攪拌15 min。將所得混合物在減壓下濃縮並溶解於DCM/甲苯中，然後在減壓下濃縮三次。將粗製殘餘物溶解於DMF（0.5 mL）中，然後將三乙胺（31.3 mg，0.309 mmol）和6-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)己酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（9.5 mg，0.031 mmol）添加至混合物中。將所得混合物在室溫攪拌30 min。將所得混合物用甲酸（20.2 mg，0.387 mmol）淬滅並藉由ODS矽膠層析法（MeCN中的0.1%甲酸/水 = 1:9至4:6）直接純化，以得到粗製產物。將粗製產物藉由ODS矽膠層析法（MeCN中的0.1% TFA/水 = 1:9至4:6）純化，以得到(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*R*)-1-[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]吡咯啶-2-基]甲基酯（**LP29**）（3.97 mg）。

【0732】 LC-MS (ESI): 1386.59 $[M+H]^+$。

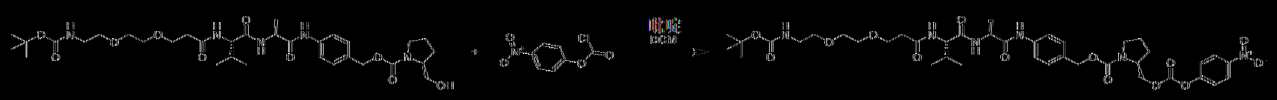
*22.　**LP25**的合成*

【0733】 **LP25**的合成如下所示：



[0734] 在室溫，向碳酸{4-[(2S)-2-[(2S)-2-{3-[2-(2-{[(三級丁氧羰基)胺基]乙氧基}乙氧基]丙醯胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基 4-硝基苯基酯（100 mg，0.139 mmol）在DMF（2.0 mL）中的溶液中添加DMF（0.4 mL）中的L-脯胺醇（42.3 mg，0.418 mmol）。將反應混合物在室溫攪拌2 h 50 min。將溶劑在減壓下除去。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（EtOAc:MeOH = 100:0至85:15）純化，以給出呈無色油狀物的(2S)-2-(羥基甲基)吡咯烷-1-甲酸{4-[(2S)-2-[(2S)-2-{3-[2-(2-{[(三級丁氧羰基)胺基]乙氧基}乙氧基]丙醯胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基酯（98.8 mg）。LC-MS (ESI): 680.45 [M+H]+。

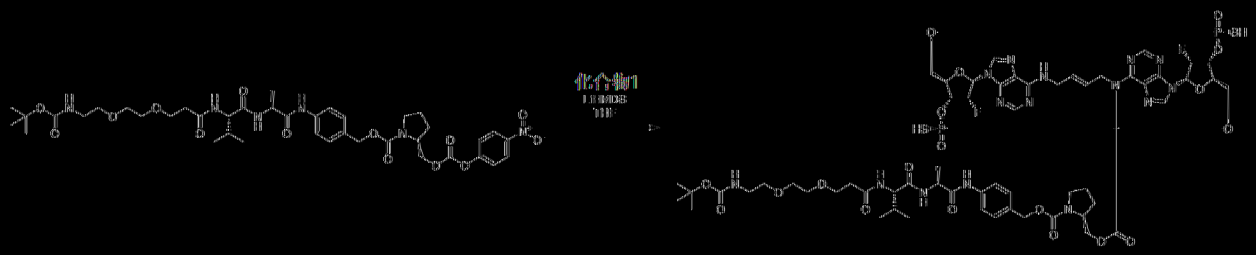
(2S)-2-({[(4-硝基苯氧基)羰基]氧基}甲基)吡咯烷-1-甲酸{4-[(2S)-2-[(2S)-2-{3-[2-(2-{[(三級丁氧羰基)胺基]乙氧基}乙氧基]丙醯胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基酯的合成



[0735] 在室溫，向(2S)-2-(羥基甲基)吡咯烷-1-甲酸{4-[(2S)-2-[(2S)-2-{3-[2-(2-{[(三級丁氧羰基)胺基]乙氧基}乙氧基]丙醯胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基

胺基]苯基}甲基酯（98.8 mg，0.139 mmol）在DCM（3.0 mL）中的溶液中添加吡啶（22.4 μL，0.277 mmol）和4-硝基苯基氯甲酸酯（55.1 mg，0.273 mmol）。將混合物在室溫攪拌2 h 45 min。將乙酸乙酯（10 mL）和10%水性檸檬酸（5 mL）添加至反應混合物中，並且將有機相分離、用鹽水洗滌、經硫酸鈉乾燥、過濾並在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（EtOAc-MeOH：100:0至90:10）純化，以給出呈無色油狀物的(2*S*)-2-({[(4-硝基苯氧基)羰基]氧基}甲基)吡咯烷-1-甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{3-[2-(2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}乙氧基)乙氧基]丙醯胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基}苯基}甲基酯（91.9 mg）。LC-MS (ESI): 845.54 [M+H]$^+$。

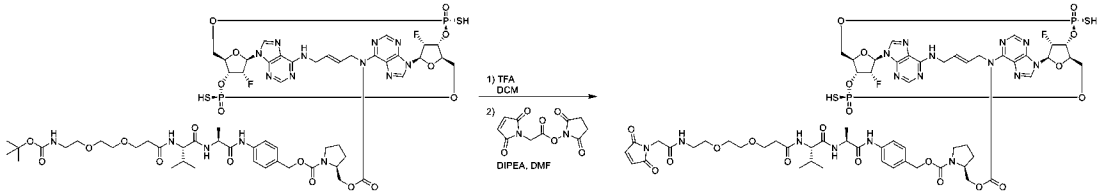
(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十金雜-34λ^5,39λ^5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{1,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-十烯-13-甲酸(2*S*)-1-({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{3-[2-(2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}乙氧基)乙氧基]丙醯胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基}苯基]甲氧基)羰基吡咯烷-2-基甲基酯的合成



[0736] 在室溫，向化合物1（45 mg，0.053 mmol）在THF（5.0 mL）中的白色懸浮液中滴加LiHMDS（0.487 mL，0.633 mmol）持續4 min。將反應混合物在室溫攪拌30 min。然後將它冷卻至-78°C。向混合物中添加THF（0.5 mL）中的(2*S*)-2-({[(4-硝基苯氧基)羰基]氧基}甲基)吡咯烷-1-甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{3-[2-(2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}乙氧基)乙氧基]丙醯胺基}-3-甲基丁醯

胺基]丙醯胺基]苯基}甲基酯（46.3 mg，0.055 mmol）（用THF沖洗（0.25 mL x 2））。將反應混合物在-78°C攪拌10 min。然後使反應混合物加溫至室溫。在室溫攪拌30 min後，將反應混合物冷卻至-78°C並在-78°C用乙酸（0.076 mL，1.319 mmol）淬滅。然後將它在0°C攪拌1 h 45 min。將混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由ODS矽膠柱層析法（H_2O-MeCN（0.1%甲酸）= 95:5至35:65）純化，以給出呈白色固體的(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ^5,39λ^5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{3-[2-(2-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}乙氧基)乙氧基]丙醯胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]吡咯啶-2-基]甲基酯（53.3 mg）。LC-MS (ESI): 1452.48 $[M+H]^+$。

(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ^5,39λ^5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[3-(2-{2-[2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)乙醯胺基]乙氧基}乙氧基)丙醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]吡咯啶-2-基]甲基酯（LP25）的合成



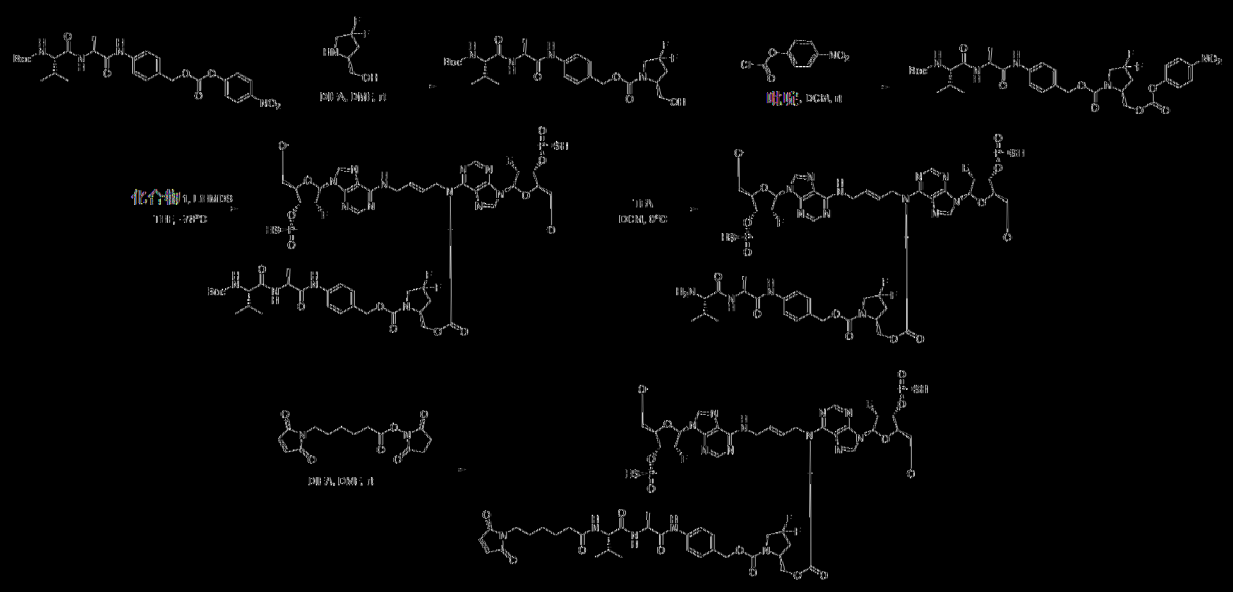
【0737】 在0°C，向(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ^5,39λ^5-二磷雜八環

[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{3-[2-(2-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}乙氧基)乙氧基]丙醯胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]吡咯啶-2-基]甲基酯（52.8 mg，0.036 mmol）在二氯甲烷（4.0 mL）中的懸浮液中添加三氟乙酸（0.4 mL）。將混合物在室溫攪拌1 h。藉由與甲苯共沸（三次）除去所有揮發物。將殘餘物在高真空下乾燥。將該材料溶解於DMF（2.0 mL）中。在0°C，向溶液中添加DIEA（63 μL，0.364 mmol）和2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)乙酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（36.7 mg，0.145 mmol）。將混合物在0°C攪拌1 h。將反應在0°C藉由添加甲酸（0.014 mL，0.364 mmol）淬滅。在高真空下除去所有揮發物。將殘餘物藉由ODS矽膠柱層析法（H_2O-MeCN（0.1%甲酸）= 95:5至55:45）純化，以給出呈白色固體的(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ^5,39λ^5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[3-(2-{2-[2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)乙醯胺基]乙氧基}乙氧基)丙醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]吡咯啶-2-基]甲基酯（**LP25**）（31.56 mg）。

【0738】 LC-MS (ESI): 1489.43 $[M+H]^+$ 。

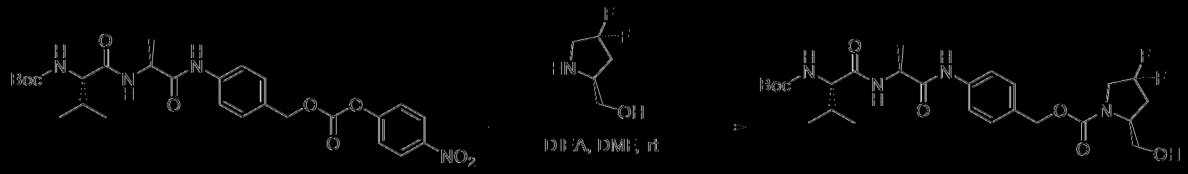
*23. **LP28**的合成*

【0739】 **LP28**的合成如下所示：



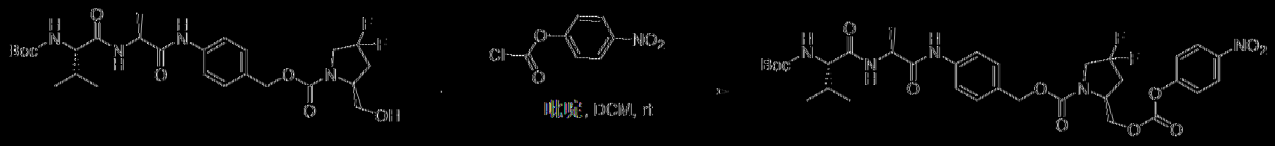
。

(2*S*) 4,4-二氟-2-(羥基甲基)吡咯烷-1-甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(二級丁氧基)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基酯的合成



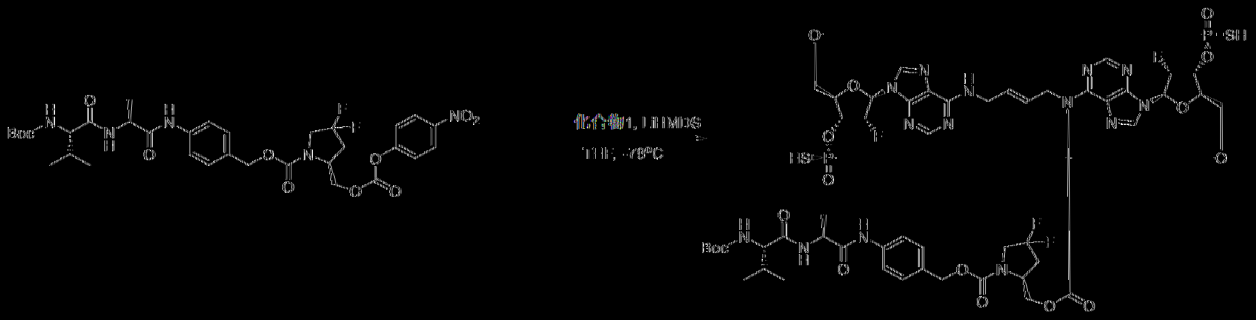
[0740] 在25°C，將DIEA（347.07 mg，2.685 mmol）添加至碳酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[(二級丁氧基)胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基4-硝基苯基酯（500 mg，0.895 mmol）和[(2*S*)-4,4-二氟吡咯烷-2-基]甲醇（122.75 mg，0.895 mmol）在DMF（5 mL）中的攪拌溶液中。將所得混合物在25°C攪拌2 h。將所得混合物用EtOAc稀釋並用水洗滌。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用DCM / MeOH（15/1）洗脫）純化，以得到呈白色固體的(2*S*)-4,4-二氟-2-(羥基甲基)吡咯烷-1-甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(二級丁氧基)胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基酯（480 mg）。LC-MS (ESI): 557.2 [M+H]+。

(2*S*)-4,4-二氟-2-({[(4-硝基苯氧基)羰基]氧基}甲基)吡咯烷-1-甲酸4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(二級丁氧基)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基甲基酯的合成



[0741] 在25°C，將吡啶（136.43 mg，1.724 mmol）添加至(2*S*)-4,4-二氟-2-(羥基甲基)吡咯烷-1-甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]內醯胺基]苯基}甲基酯（480 mg，0.862 mmol）和4-硝基苯基氯甲酸酯（347.64 mg，1.724 mmol）在DCM（10 mL）中的攪拌溶液中。將所得混合物在25°C攪拌14 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用PE/EtOAc（1/2）洗脫）純化，以得到呈白色固體的(2*S*)-4,4-二氟-2-({[(4-硝基苯氧基)羰基]氧基}甲基)吡咯烷-1-甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]內醯胺基]苯基}甲基酯（600 mg）。LC-MS (ESI): 722.2, [M+H]+。

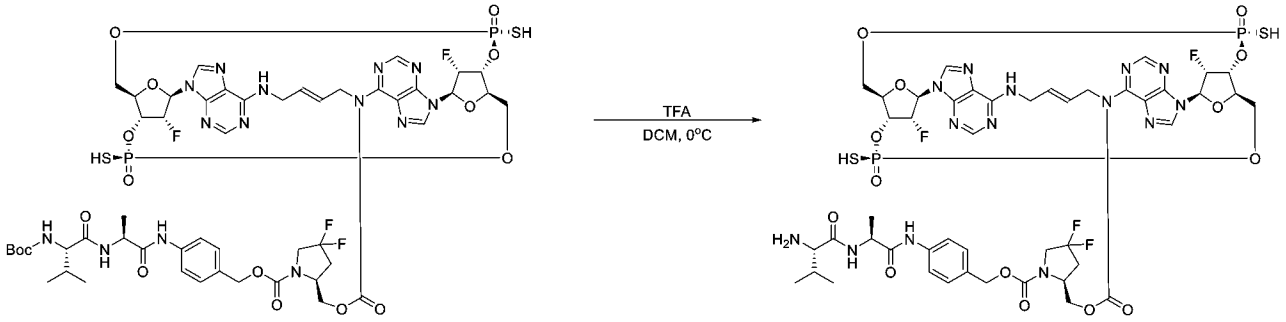
(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫烯基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十三烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]內醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]-4,4-二氟吡咯烷-2-基]甲基酯的合成



[0742] 在氮氣氣氛下在-78°C，將LiHMDS（0.40 mL，0.402 mmol）添加至化合物1在THF（5 mL）中的攪拌溶液中。將所得混合物在氮氣氣氛下在

78°C攪拌30 min。然後添加(2*S*)-4,4-二氟-2-({[(4-硝基苯氧基)羰基]氧基}甲基)吡咯啶-1-甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基酯（48 mg，0.067 mmol）。將所得混合物在氮氣氣氛下在1 h內緩慢加溫至0°C。將反應用AcOH淬滅。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由製備型TLC（DCM（1% TEA）/ MeOH（6/1））純化，以得到呈白色固體的(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]-4,4-二氟吡咯啶-2-基]甲基酯（44 mg）。LC-MS (ESI): 1329.3 $[M+H]^+$。

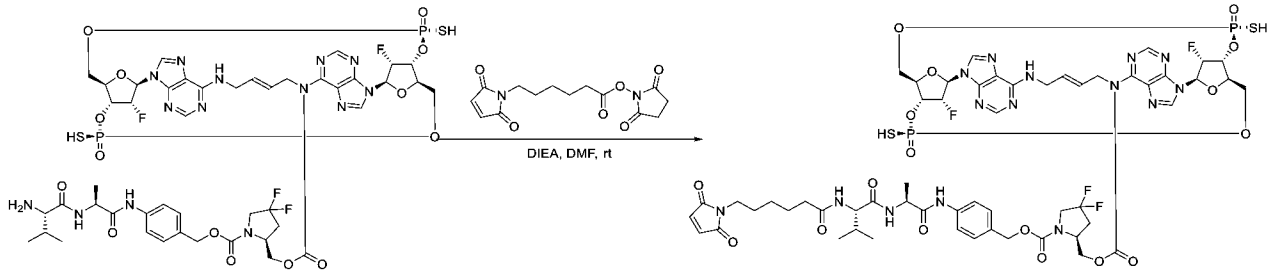
(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-胺基-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]-4,4-二氟吡咯啶-2-基]甲基酯的合成



【0743】 在氮氣氣氛下在0°C，將TFA（0.6 mL）添加至(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-

5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[(*三級丁氧基*羰基)胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]-4,4-二氟吡咯啶-2-基]甲基酯（44 mg，0.033 mmol）在DCM（2.4 mL）中的攪拌溶液中。將所得混合物在氮氣氣氛下在0°C攪拌2 h。將所得混合物在減壓下濃縮，以獲得呈無色油狀物的(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-胺基-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]-4,4-二氟吡咯啶-2-基]甲基酯的粗製產物。LC-MS (ESI): 1229.2 $[M+H]^+$。

(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)己醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]-4,4-二氟吡咯啶-2-基]甲基酯（LP28）的合成



【0744】在氮氣氣氛下在25°C，將DIEA（25.24 mg，0.198 mmol）添加至(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-

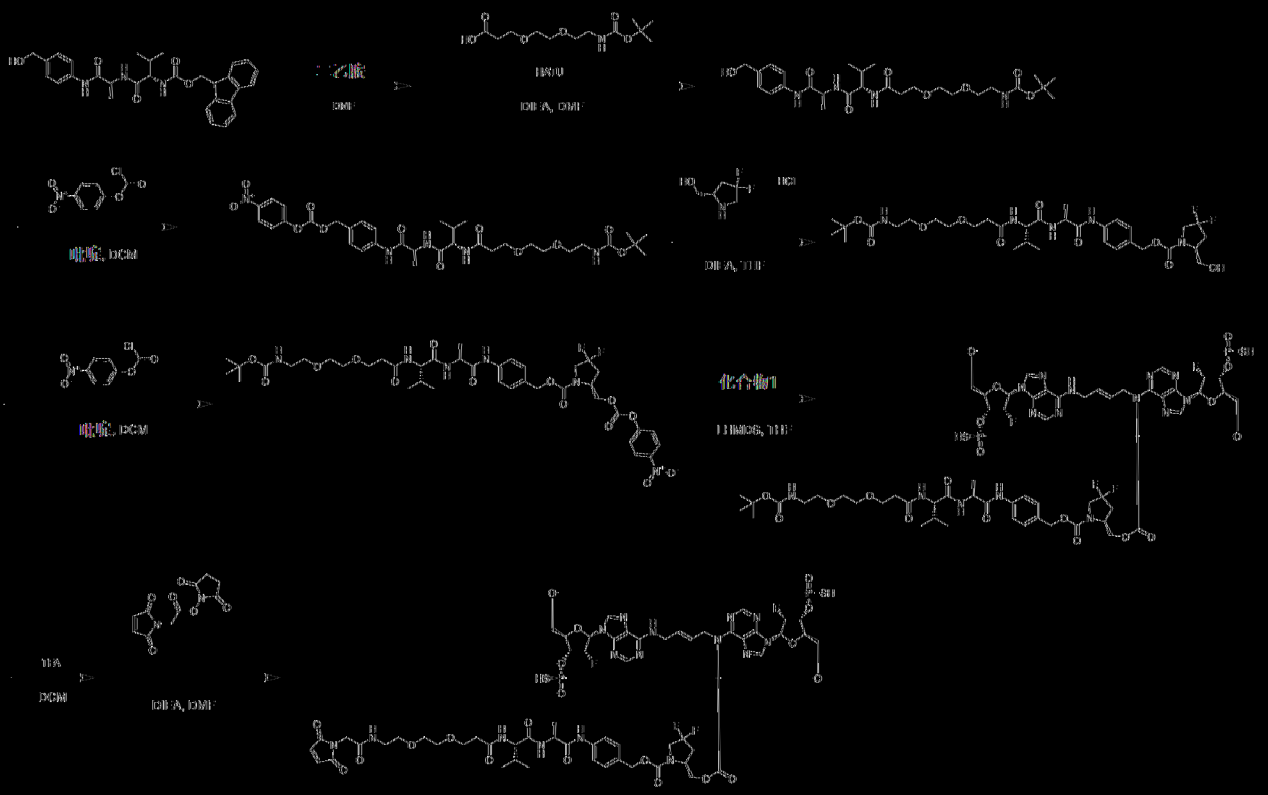
5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-胺基-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]-4,4-二氟吡咯啶-2-基]甲基酯（40 mg，0.033 mmol）和6-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)己酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（10.03 mg，0.033 mmol）在DMF（2 mL）中的混合物中。將所得混合物在氮氣氣氛下在25°C攪拌4 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由製備型TLC（DCM（1% TEA）/ MeOH（7/1））和製備型HPLC用以下條件純化（柱：Xbridge Prep OBD C18柱，19*250 mm，5 μm；流動相A：水（50 mmol HCO_2NH_4），流動相B：MeCN；流速：25 mL/min；梯度：在10 min內25% B至35% B，35% B；波長：254 nm），以得到呈灰白色固體的(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]-4,4-二氟吡咯啶-2-基]甲基酯（**LP28**）（12.8 mg）。

【0745】 LC-MS (ESI):1423.60 $[M+H]^+$。

【0746】 ^{1}H NMR (400 MHz, 甲醇-d_4) δ 8.94 – 8.90 (m, 1H), 8.78 – 8.73 (m, 2H), 8.17 – 8.00 (m, 3H), 7.65 – 7.59 (m, 2H), 7.31 – 7.27 (m, 2H), 6.81 – 6.76 (m, 2H), 6.49 – 6.44 (m, 1H), 6.33 – 6.29 (m, 1H), 6.06 – 5.87 (m, 2H), 5.85 – 5.57 (m, 2H), , 5.17 – 4.94 (m, 3H), 4.69 – 4.58 (m, 5H), 4.55 – 4.46 (m, 3H), 4.46 – 4.36 (m, 3H), 4.34 – 4.22 (m, 2H), 4.22 – 4.02 (m, 2H), 4.01 – 3.97 (m, 1H), 3.80 – 3.76 (m, 1H), 3.66 – 3.57 (m, 1H), 3.51 – 3.43 (m, 2H), 3.33 – 3.16 (m, 1H), 2.56-2.36 (m, 1H), 2.34 – 2.26 (m, 2H), 2.25 – 1.92 (m, 2H), 1.70 – 1.53 (m, 4H), 1.52 – 1.42 (m, 3H), 1.38 – 1.21 (m, 2H), 1.03 – 0.94 (m, 6H)。

24. LP26的合成

[0747] LP26的合成如下所示：

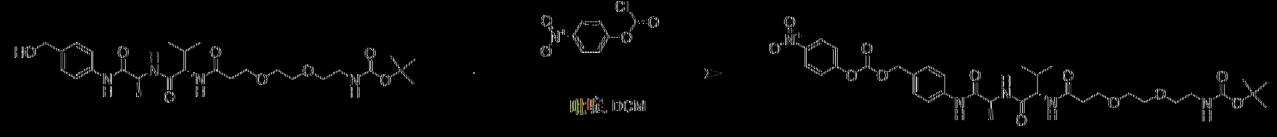


N-{2-[2-(2-{[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基}甲醯基]-2-甲基丙基]胺基}-2-側氧基乙基]胺基}乙氧基)乙氧基]乙基}胺基甲酸三級丁基酯的合成

[0748] 向*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基}甲醯基]-2-甲基丙基]-2-甲基丙胺酸(9*H*-第9-基)甲基酯（410 mg，0.795 mmol）在DMF（5 mL）中的溶液中添加二乙胺（0.828 mL，7.95 mmol）。將混合物攪拌1 h。將所得混合物濃縮並在減壓下與甲苯共沸。向DMF（5 mL）中的殘餘物中添加3-[2-(2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}乙氧基)乙氧基]丙酸（250 mg，0.901 mmol）、DIEA（0.278 mL，1.59 mmol）和HATU（454 mg，1.19 mmol）。將混合物攪拌90 min。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物用EtOAc和水稀釋。將有機相分離並用鹽水洗滌、經Na_2SO_4乾燥並在減壓下濃縮。將殘餘物精

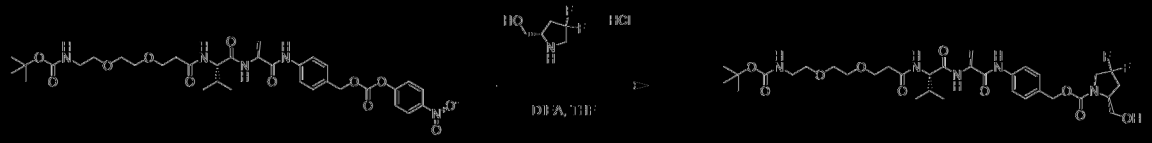
用矽膠柱層析法（EtOAc /庚烷：1/19至1/10）純化，以給出粗製材料。將粗製材料藉用NH矽膠柱層析法（EtOAc/庚烷：1/1至1/0、然後EtOAc/MeOH：10/1）純化，以給出*N*-{2-[2-(2-{[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥甲基)苯基]胺基}甲醯基]乙基]胺基}甲醯基]-2-甲基丙基]胺基}甲醯基)乙氧基]乙基}胺基甲酸三級丁酯（354.4 mg）。LC-MS (ESI): 553.5 [M+H]⁺。

碳酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{3-[2-(2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}乙氧基)乙氧基]丙醯胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基}苯基}甲基4-硝基苯基酯的合成



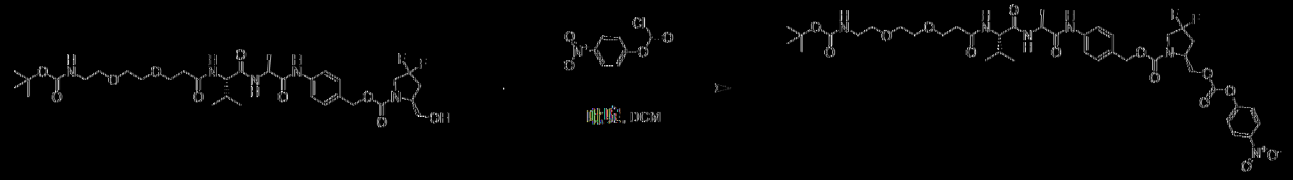
[0749] 向*N*-{2-[2-(2-{[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥甲基)苯基]胺基}甲醯基]乙基]胺基}甲醯基]-2-甲基丙基]胺基}甲醯基)乙氧基]乙基}胺基甲酸三級丁酯（354.4 mg，0.641 mmol）在DCM（15 mL）中的溶液中添加4-硝基苯基氯甲酸酯（323 mg，1.60 mmol）和吡啶（0.130 mL，1.60 mmol）。將混合物攪拌1 h。將所得混合物用EtOAc和10%水性檸檬酸稀釋。將有機層分離並用鹽水洗滌、經Na_2SO_4乾燥並在減壓下濃縮。將殘餘物藉用矽膠柱層析法（EtOAc/庚烷：1/1至1/0）純化，以給出碳酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{3-[2-(2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}乙氧基)乙氧基]丙醯胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基}苯基}甲基4-硝基苯基酯（412.2 mg）。LC-MS (ESI): 718.4 [M+H]⁺。

(2*S*)-4,4-二氟-2-(羥甲基)吡咯烷-1-甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{3-[2-(2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}乙氧基)乙氧基]丙醯胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基}苯基}甲基酯的合成



[0750] 向碳酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{3-[2-(2-{[(二級丁氧基)羰基]胺基}乙氧基)乙氧基]丙醯胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基4-硝基苯基酯（150 mg，0.209 mmol）在DMF（4 mL）和DIEA（0.183 mL，1.05 mmol）中的溶液中添加(2*S*)-4,4-二氟吡咯烷-2-基甲醇鹽酸鹽（43.5 mg，0.251 mmol）。將混合物攪拌17 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由NH矽膠柱層析法（EtOAc/庚烷：1/1至1/0、然後EtOAc/MeOH：10/1）純化，以給出(2*S*)-4,4-二氟-2-(羥基甲基)吡咯烷-1-甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{3-[2-(2-{[(二級丁氧基)羰基]胺基}乙氧基)乙氧基]丙醯胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基酯（138.3 mg）。LC-MS (ESI): 716.5 [M+H]+。

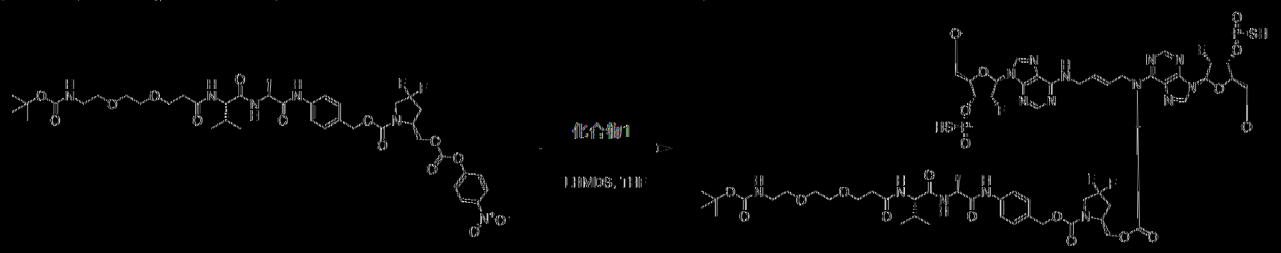
(2*S*)-4,4-二氟-2-({[(4-硝基苯氧基)羰基]氧基}甲基)吡咯烷-1-甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{3-[2-(2-{[(二級丁氧基)羰基]胺基}乙氧基)乙氧基]丙醯胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基酯的合成



[0751] 向(2*S*)-4,4-二氟-2-(羥基甲基)吡咯烷-1-甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{3-[2-(2-{[(二級丁氧基)羰基]胺基}乙氧基)乙氧基]丙醯胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基酯（138.3 mg，0.193 mmol）在DCM（5 mL）中的溶液中添加4-硝基苯基氯甲酸酯（78 mg，0.386 mmol）和吡啶（0.031 mL，0.386 mmol）。將混合物攪拌1 h。向混合物中添加吡啶（0.016 mL，0.193 mmol）和4-硝基苯基氯甲酸酯（38.9 mg，0.193 mmol）。將混合物攪拌4 h。將所得混合物用EtOAc和10%水性檸檬酸稀釋。將有機相分離、用鹽水洗滌、經Na_2SO_4乾燥並在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（EtOAc/庚烷：1/1至1/0、然後EtOAc/MeOH：10/1）純化，以給出(2*S*)-4,4-二氟-2-({[(4-硝基苯氧基)羰基]氧

基}甲基)吡咯啶-1-甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{3-[2-(2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}乙氧基)乙氧基]丙醯胺基}-3-甲基丁醯胺基]-5-脲基戊醯胺基]苯基}甲基酯（173.8 mg）。LC-MS (ESI): 881.5 [M+H]⁺。

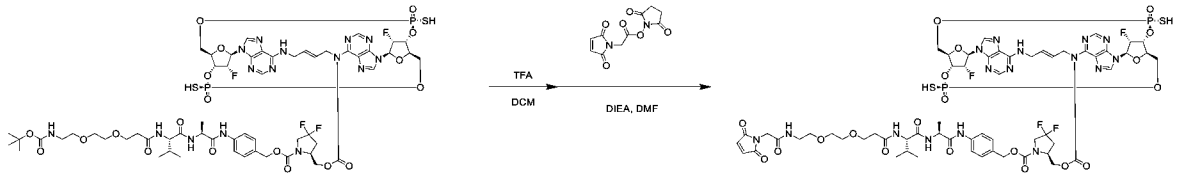
(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫偶氮-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸(2*S*)-1-[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{3-[2-(2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}乙氧基)乙氧基]丙醯胺基}-3-甲基丁醯胺基]-5-脲基戊醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]-4,4-二氟吡咯啶-2-基]甲酯的合成



[0752] 在室溫，向化合物1（50 mg，0.059 mmol）在THF（5 mL）中的懸浮液中添加LiHMDS（0.586 mmol）。將所得混合物在室溫攪拌30 min並冷卻至-78°C。向上述混合物中添加THF（0.5 mL）中的(2*S*)-4,4-二氟-2-({[(4-硝基苯氧基)羰基]氧基}甲基)吡咯啶-1-甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{3-[2-(2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}乙氧基)乙氧基]丙醯胺基}-3-甲基丁醯胺基]-5-脲基戊醯胺基]苯基}甲酯（54.2 mg，0.062 mmol）（用THF沖洗（0.5 mL））並在-78°C攪拌10 min。將所得混合物加溫至室溫並攪拌3 h。將反應用AcOH（0.252 mL，4.40 mmol）淬滅並攪拌10 min。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由ODS矽膠柱層析法（H2O/MeCN（包含0.1%甲酸）：95/25至20/80）純化，以給出(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫偶氮-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34

λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{3-[2-(2-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}乙氧基)乙氧基]丙醯胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]-4,4-二氟吡咯啶-2-基]甲基酯（41.1 mg）。LC-MS (ESI): 1488.4 [M+H]$^+$。

(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[3-(2-{2-[2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)乙醯胺基]乙氧基}乙氧基)丙醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]-4,4-二氟吡咯啶-2-基]甲基酯（LP26）的合成



【0753】 在0ºC，向(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2S)-1-[({4-[(2S)-2-[(2S)-2-{3-[2-(2-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}乙氧基)乙氧基]丙醯胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]-4,4-二氟吡咯啶-2-基]甲基酯（21.1 mg，0.014 mmol）在DCM（2 mL）中的懸浮液中添加TFA（200 mL，2.60 mmol）。將混合物在室溫攪拌30 min。將所得混合物濃縮並在減壓下與甲苯共沸。在0ºC，向DMF（1 mL）中的殘餘物中添加DIEA（0.025 mL，

0.142 mmol）和2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)乙酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（14.30 mg，0.057 mmol）。將混合物在室溫攪拌2 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由ODS矽膠柱層析法（H2O/MeCN（包含0.1%甲酸）= 95/25至20/80）純化，以給出(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2S)-1-[({4-[(2S)-2-[(2S)-2-[3-(2-{2-[2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)乙醯胺基]乙氧基}乙氧基)丙醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]-4,4-二氟吡咯啶-2-基]甲基酯（**LP26**）（6.85 mg）。

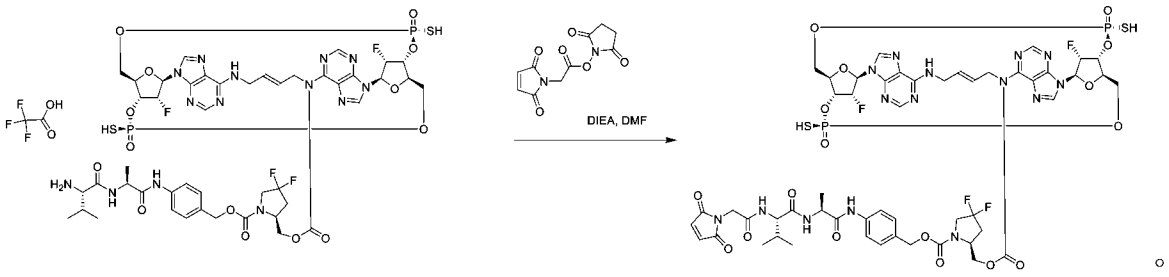
【0754】 LC-MS (ESI): 1525.6 $[M+H]^+$。

【0755】 在^{1}H NMR譜中觀察到旋轉異構物。^{1}H NMR (700 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 9.91 – 10.11 (m, 2 H) 8.81 (br s, 1 H) 8.59 – 8.72 (m, 2 H) 8.31 – 8.39 (m, 1 H) 8.17 – 8.27 (m, 2 H) 8.08 – 8.17 (m, 1 H) 7.84 – 7.92 (m, 1 H) 7.65 – 7.75 (m, 1 H) 7.55 – 7.62 (m, 2 H) 7.45 – 7.50 (m, 1 H) 7.24 (br s, 2 H) 7.22 (s, 1 H) 7.15 (s, 1 H) 7.05 – 7.11 (m, 3 H) 6.92 – 6.96 (m, 1 H) 6.46 – 6.53 (m, 1 H) 6.35 – 6.44 (m, 1 H) 5.78 – 5.94 (m, 2 H) 5.69 (br s, 1 H) 5.54 – 5.61 (m, 1 H) 5.29 – 5.36 (m, 1 H) 5.23 (br s, 1 H) 5.08 – 5.16 (m, 1 H) 5.01 – 5.08 (m, 1 H) 4.97 (br s, 2 H) 4.90 (br s, 1 H) 4.71 (br d, *J*=12.76 Hz, 1 H) 4.65 (br s, 1 H) 4.56 (br d, *J*=11.44 Hz, 1 H) 4.42 (br s, 1 H) 4.33 – 4.41 (m, 5 H) 4.27 – 4.33 (m, 3 H) 4.18 – 4.27 (m, 4 H) 4.11 – 4.16 (m, 2 H) 4.02 (s, 2 H) 3.81 (br d, *J*=5.72 Hz, 1 H) 3.64 – 3.77 (m, 4 H) 3.56 – 3.63 (m, 3 H) 3.44 – 3.50 (m, 4 H) 3.39 (t, *J*=5.72 Hz, 2 H) 3.19 (q, *J*=5.72 Hz, 2 H) 2.45 – 2.48

(m, 1 H) 2.36 – 2.41 (m, 1 H) 1.88 – 2.05 (m, 3 H) 1.28 – 1.36 (m, 4 H) 1.19 – 1.28 (m, 5 H) 0.86 – 0.88 (m, 3 H) 0.83 (br d, *J*=6.60 Hz, 3 H)。

25. ***LP27****的合成*

【0756】 **LP27**的合成如下所示：



。

【0757】 向(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-胺基-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]-4,4-二氟吡咯啶-2-基]甲基酯三氟乙酸鹽（15 mg，0.011 mmol）和DIEA（9.75 µl，0.056 mmol）在DMF（2 ml，25.829 mmol）中的溶液中添加2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)乙酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（4.22 mg，0.017 mmol）並在室溫攪拌1小時。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由反相矽膠層析法（ODS C18柱，H_2O/MeCN/HCOOH = 95/5/0.1至40/60/0.1）純化，以給出呈白色粉末的(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)乙醯胺

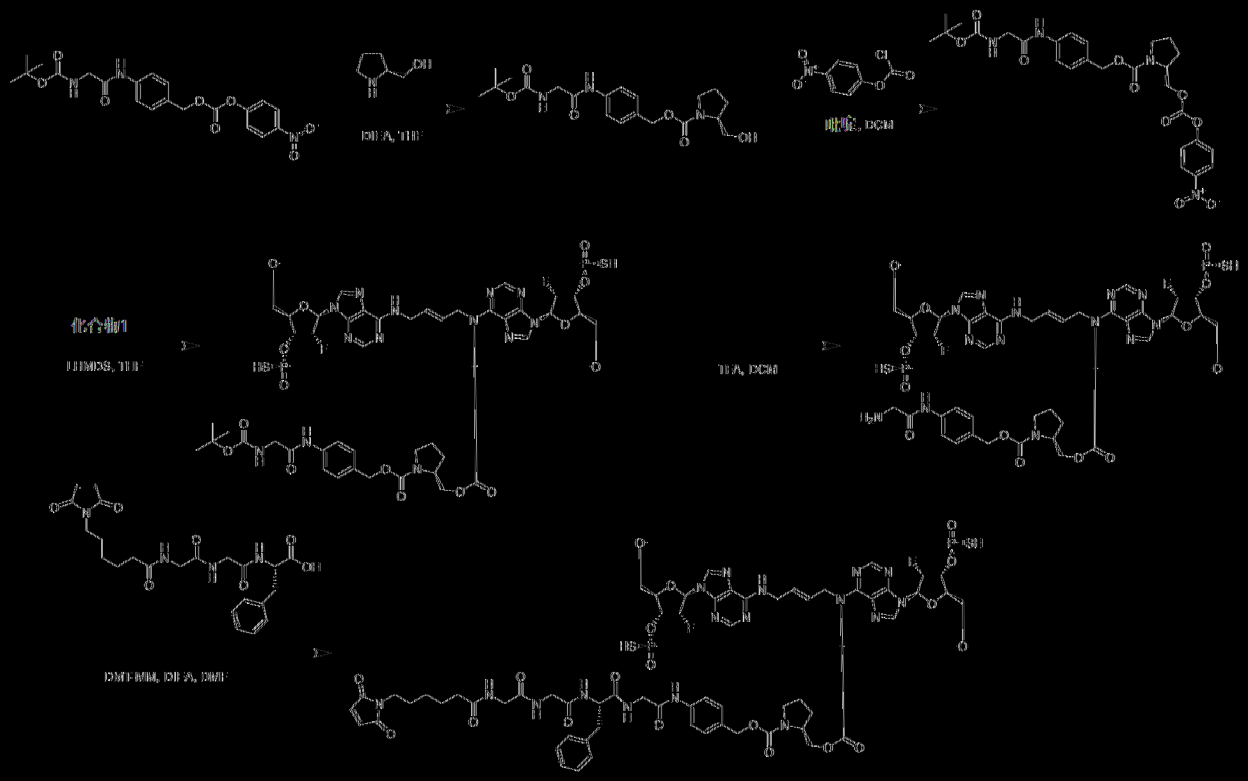
基]-3-甲氧基]醯胺基]內醯胺基]苯基]甲氧基)羰基]-4,4-二氟吡咯啶-2-基]甲基]酯（OLP247）。

[0758] LC-MS (ESI) [M+H]+：1366.30。

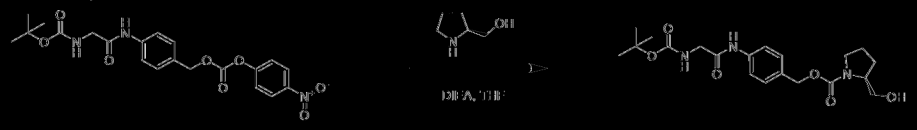
[0759] ^{1}H NMR (396 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 0.80 (br d, *J* = 16.76 Hz, 4 H) 0.82 (br d, *J* = 16.76 Hz, 3 H) 1.17 - 1.23 (m, 4 H) 1.27 (br d, *J* = 5.89 Hz, 4 H) 1.82 - 2.04 (m, 2 H) 4.08 (s, 3 H) 4.17 - 4.28 (m, 5 H) 4.30 - 4.42 (m, 3 H) 4.43 - 4.74 (m, 3 H) 4.93 (br s, 1 H) 5.11 (br s, 1 H) 5.14 - 5.33 (m, 1 H) 5.38 (br d, *J* = 1.36 Hz, 1 H) 5.46 - 5.60 (m, 1 H) 5.60 - 5.81 (m, 1 H) 5.82 - 5.96 (m, 1 H) 6.26 - 6.53 (m, 1 H) 7.05 (s, 2 H) 7.21 (br d, *J* = 7.25 Hz, 2 H) 7.53 (br d, *J* = 8.16 Hz, 2 H) 8.22 (br d, *J* = 8.61 Hz, 1 H) 8.28 (br d, *J* = 6.80 Hz, 1 H) 8.32 - 8.39 (m, 1 H) 8.52 - 8.69 (m, 2 H) 8.69 - 8.83 (m, 1 H) 9.88 - 10.11 (m, 1 H)。

26. LP24的合成

[0760] LP24的合成如下所示：



(2*S*)-2-(𠰠基甲基)吡咯啶-1-甲酸[4-(2-[(三級丁氧基)羰基]胺基}乙醯胺基)苯基]甲基酯的合成



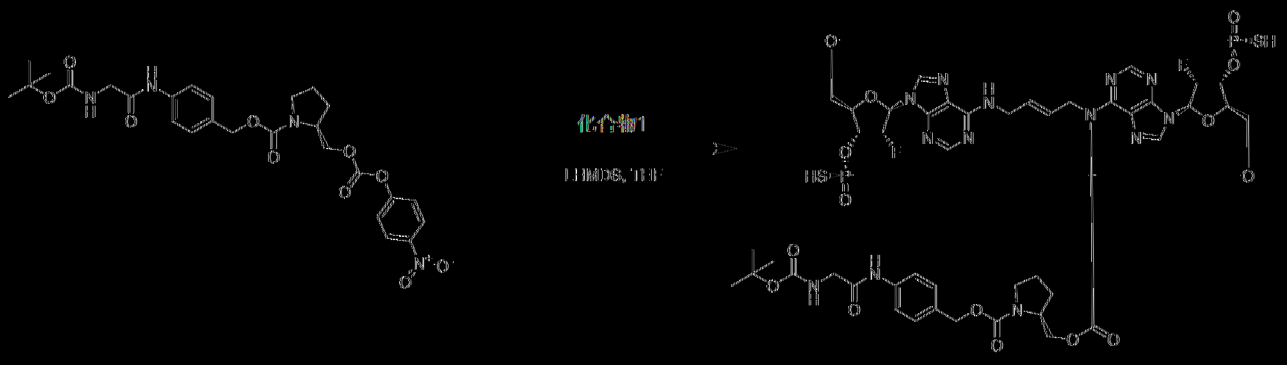
[0761] 在室溫，將[(2*S*)-吡咯啶-2-基]甲醇（272 mg，2.69 mmol）添加至碳酸[4-(2-[(三級丁氧基)羰基]胺基}乙醯胺基)苯基]甲基4-硝基苯基酯（1.00 g，2.25 mmol）和DIEA（1.45 g，11.2 mmol）在THF（41.8 mL）中的溶液中。將溶液在室溫攪拌30 min。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用EtOAc/庚烷（1/3至1/0）洗脫）純化，以給出(2*S*)-2-(𠰠基甲基)吡咯啶-1-甲酸[4-(2-[(三級丁氧基)羰基]胺基}乙醯胺基)苯基]甲基酯（873 mg）。LC-MS (ESI): 408.3 [M+H]$^+$。

(2*S*)-2-([(4-硝基苯氧基)羰基]氧基甲基)吡咯啶-1-甲酸[4-(2-[(三級丁氧基)羰基]胺基}乙醯胺基)苯基]甲基酯的合成

[0762] 在室溫，將吡啶（164 mg，2.08 mmol）添加至(2*S*)-2-(𠰠基甲基)吡咯啶-1-甲酸[4-(2-[(三級丁氧基)羰基]胺基}乙醯胺基)苯基]甲基酯（423 mg，1.04 mmol）和4-硝基苯基氯甲酸酯（418 mg，2.08 mmol）在DCM（17.4 mL）中的溶液中。將溶液在室溫攪拌1 h。將所得混合物用EtOAc和10%水性檸檬酸稀釋。將有機相分離並用鹽水洗滌，在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用EtOAc/庚烷，1/3至1/0洗脫）純化，以給出(2*S*)-2-([(4-硝基苯氧基)

羰基]氧基}甲基)吡咯烷-1-甲酸[4-(2-{[(二級丁氧基)羰基]胺基}乙醯胺基)苯基]甲基酯（542 mg）。LC-MS (ESI): 573.3 [M+H]+。

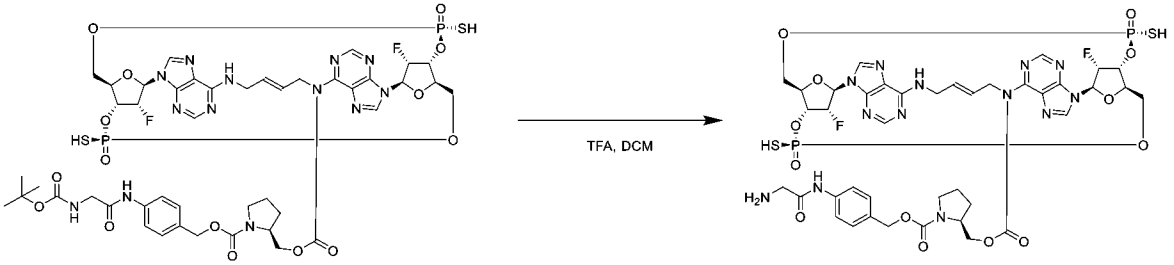
(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十金雜-34λ⁵,39λ⁵-二磷雜八環[28.6.4.1³,³⁶.1²⁸,³¹.0⁴,⁸.0⁷,¹².0¹⁹,²⁴.0²³,²⁷]四十三烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸(2*S*)-1-({[4-(2-{[(二級丁氧基)羰基]胺基}乙醯胺基)苯基]甲氧基}羰基)吡咯烷-2-基甲基酯的合成



[0763] 在室溫，將LiHMDS（1.17 mmol）添加至化合物1（100 mg，0.117 mmol）在THF（10 mL）中的溶液中。將所得混合物在室溫攪拌30 min並冷卻至-78°C。向上述混合物中添加THF（2 mL）中的(2*S*)-2-({[(4-硝基苯氧基)羰基]氧基}甲基)吡咯烷-1-甲酸[4-(2-{[(二級丁氧基)羰基]胺基}乙醯胺基)苯基]甲基酯（67.1 mg，0.117 mmol）並在-78°C攪拌10 min。將所得混合物加溫至0°C並攪拌30 min。將反應用AcOH淬滅、然後加溫至室溫並攪拌10 min。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由ODS矽膠柱層析法（用H_2O中的0.1% HCO_2H/MeCN中的0.1% HCO_2H（99/1至20/80）洗脫）純化，以給出(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十金雜-34λ⁵,39λ⁵-二磷雜八環[28.6.4.1³,³⁶.1²⁸,³¹.0⁴,⁸.0⁷,¹².0¹⁹,²⁴.0²³,²⁷]四十三烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸(2*S*)-1-({[4-(2-{[(二級丁氧基)羰基]胺基}乙

醯胺基)苯基]甲氧基}羰基)吡咯啶-2-基]甲基酯（56.7 mg）。LC-MS (ESI): 1180.5 $[M+H]^+$。

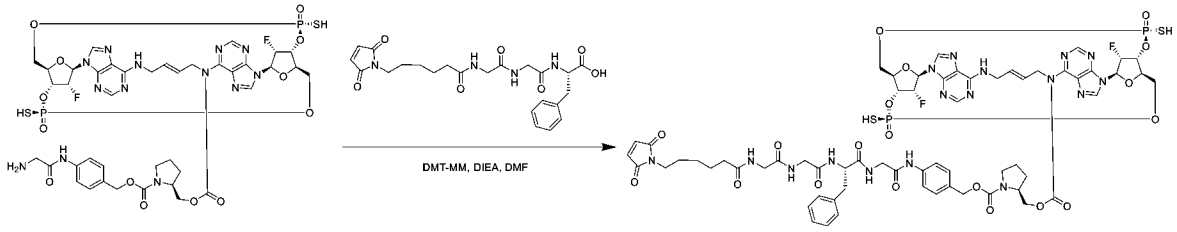
(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-({[4-(2-胺基乙醯胺基)苯基]甲氧基}羰基)吡咯啶-2-基]甲基酯的合成



【0764】在0ºC，將TFA（1.11 mL）添加至(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ^5,39λ^5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-({[4-(2-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}乙醯胺基)苯基]甲氧基}羰基)吡咯啶-2-基]甲基酯（56.7 mg，0.048 mmol）在DCM（3.71 mL）中的溶液中。將所得混合物在0ºC攪拌45 min。將所得混合物用甲苯（2 mL）稀釋並在減壓下濃縮。將殘餘物藉由ODS矽膠柱層析法（用H_2O中的0.1% NH_3 /MeCN中的0.1% NH_3，95/5至35/65洗脫）純化，以給出(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-

5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-({[4-(2-胺基乙醯胺基)苯基]甲氧基}羰基)吡咯啶-2-基]甲基酯（32.1 mg）。LC-MS (ESI): 1080.4 $[M+H]^+$。

(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ⁵,39λ⁵-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-{[(4-{2-[(2*S*)-2-(2-{2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺基]乙醯胺基}乙醯胺基)-3-苯基丙醯胺基]乙醯胺基}苯基)甲氧基]羰基}吡咯啶-2-基]甲基酯（LP24）的合成



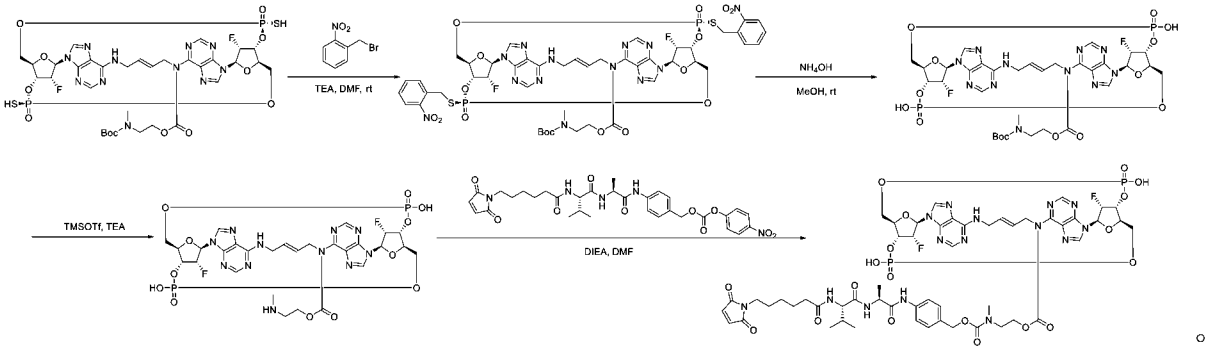
【0765】在室溫，將DIEA（2.4 mg，0.019 mmol）添加至(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-({[4-(2-胺基乙醯胺基)苯基]甲氧基}羰基)吡咯啶-2-基]甲基酯（10 mg，0.0093 mmol）和(2*S*)-2-(2-{2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺基]乙醯胺基}乙醯胺基)-3-苯基丙酸（6.6 mg，0.014 mmol）在DMF（1.0 mL）中的溶液中。將所得混合物冷卻0°C並添加DMT-MM（4.1 mg）。將所得混合物加溫至室溫並攪拌10 min。然後在0°C添加額外的DMT-MM（0.8 mg）。將所得混合物加溫至室溫並攪拌10 min。將混合物藉由ODS矽膠柱層析法（用H_2O中的0.1% HCO_2H /MeCN中的0.1% HCO_2H，95/5至50/50洗脫）直接純化，以給出(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-

34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ^5,39λ^5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-{[(4-{2-[(2*S*)-2-(2-{2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺基]乙醯胺基}乙醯胺基)-3-苯基丙醯胺基]乙醯胺基}苯基)甲氧基]羰基}276吡咯啶-2-基]甲基酯（**LP24**）（8.8 mg）。

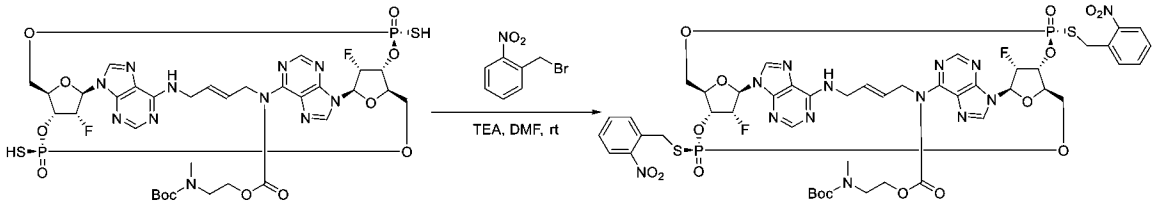
【0766】 LC-MS (ESI): 768.2 [1/2M+H]$^+$。

*27.　**LP30**的合成*

【0767】 **LP30**的合成如下所示：



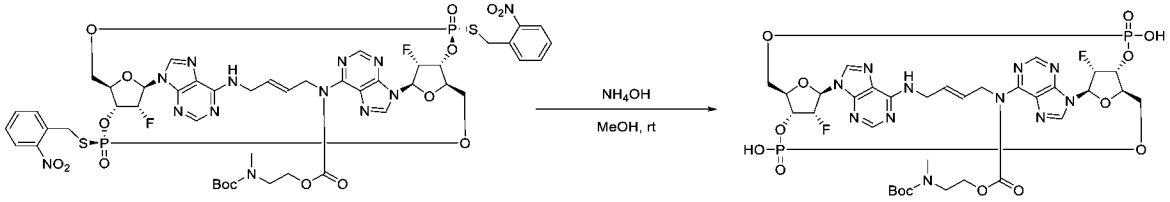
(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-雙({[(2-硝基苯基)甲基]氫硫基})-34,39-二側氧基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-{[(*三級丁氧基*)羰基](甲基)胺基}乙基酯的合成



【0768】 在25°C，將TEA（32.03 mg，0.315 mmol）添加至(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-

5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-{[(*三級丁氧基*)羰基](甲基)胺基}乙基酯（60 mg，0.063 mmol）和1-(溴甲基)-2-硝基苯（34.19 mg，0.158 mmol）在DMF（2 mL）中的攪拌溶液中。將所得混合物在氮氣氣氛下在25°C攪拌3 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由製備型TLC（CH_2Cl_2（1% TEA）/ MeOH（8/1））純化，以得到呈白色固體的(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-雙({[(2-硝基苯基)甲基]氫硫基})-34,39-二側氧基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-{[(*三級丁氧基*)羰基](甲基)胺基}乙基酯（70 mg）。LC-MS (ESI): 1218.2 $[M+H]^+$。

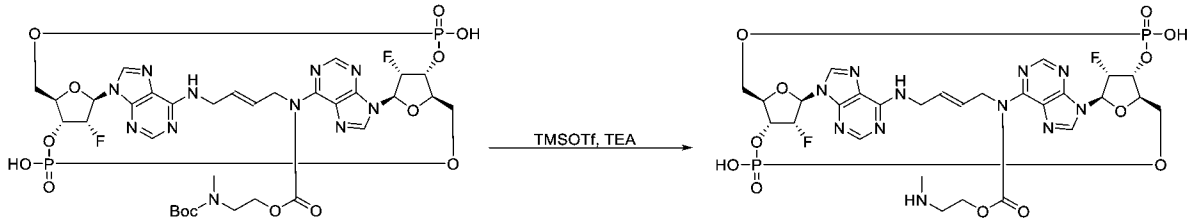
(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,36*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二羥基-34,39-二側氧基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-{[(*三級丁氧基*)羰基](甲基)胺基}乙基酯的合成



【0769】 在室溫，將NH_4OH（2 mL）添加至(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*) -29,41-二氟-34,39-雙({[(2-硝基苯基)甲基]氫硫基})-34,39-二側氧基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-[(*三級丁氧基*羰基)(甲基)胺基]乙基酯（70 mg，0.057 mmol）在MeOH（2 mL）中

的攪拌混合物中。將所得混合物在氮氣氣氛下在25°C攪拌6 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由製備型TLC（CH_2Cl_2（1% TEA）/ MeOH（6/1））純化，以得到呈白色固體的(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,36*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二羥基-34,39-二側氧基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-{[(*三級丁氧基*羰基](甲基)胺基}乙基酯（40 mg）。LC-MS (ESI): 916.2 $[M+H]^+$。

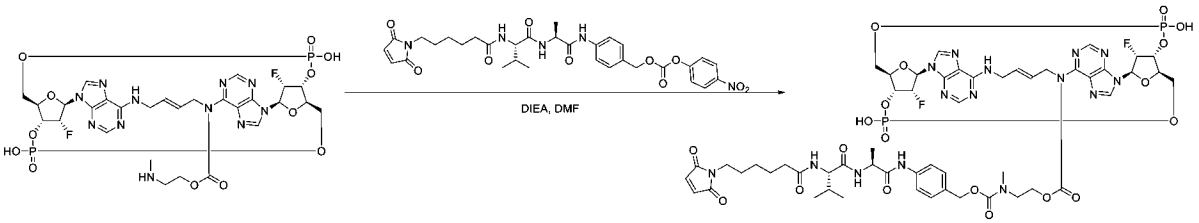
(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,36*R*,41*R*) -29,41-二氟-34,39-二羥基-34,39-二側氧基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-(甲基胺基)乙基酯的合成



【0770】 在25°C，將TEA（22.10 mg，0.220 mmol）添加至(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,36*R*,41*R*) -29,41-二氟-34,39-二羥基-34,39-二側氧基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-[(*三級丁氧基*羰基)(甲基)胺基]乙基酯（40 mg，0.044 mmol）在DCM（2 mL）中的攪拌溶液中。然後添加TMSOTf（67.96 mg，0.308 mmol）。將所得混合物在25°C攪拌30 min。將所得混合物在減壓下濃縮，以獲得呈無色油狀物的(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,36*R*,41*R*) -29,41-二氟-34,39-二羥基-34,39-二側氧基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜

八環[28.6.4. $1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-(甲基胺基)乙基酯的粗製產物。LC-MS (ESI): 816.1 $[M+H]^+$。

(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,36*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二羥基-34,39-二側氧基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-{[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}乙基酯（LP30）的合成



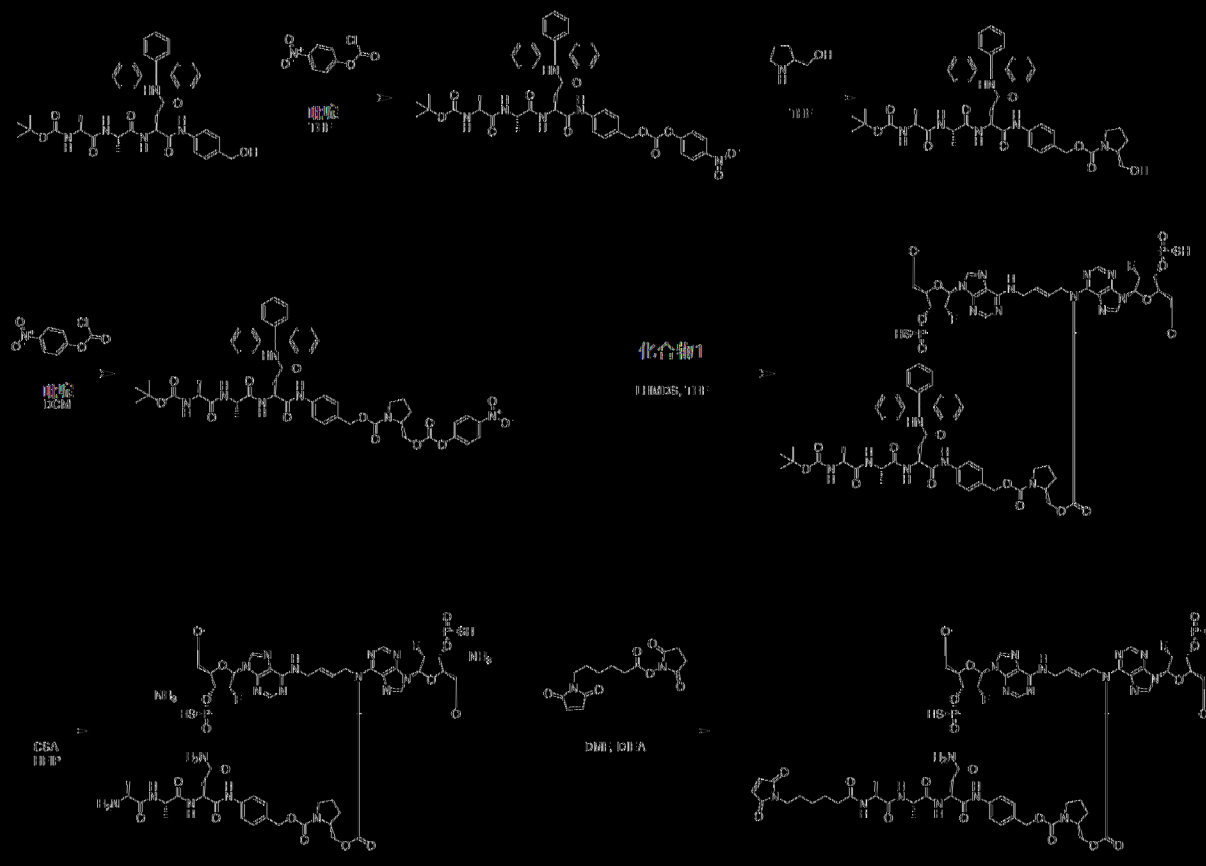
【0771】在室溫，將DIEA（29.75 mg，0.230 mmol）添加至(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,36*R*,41*R*) -29,41-二氟-34,39-二羥基-34,39-二側氧基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-(甲基胺基)乙基酯（37.55 mg，0.046 mmol）和碳酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)己醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基 4-硝基苯基酯（30 mg，0.046 mmol）在DMF（2 mL）中的混合物中。將混合物在氮氣氣氛下在室溫攪拌14 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將粗製混合物藉由製備型HPLC用以下條件純化（柱：XBridge Prep Phenyl OBD柱，19*250 mm，5 μm；流動相A：水（50 mmol HCO_2NH_4），流動相B：MeCN；流速：25 mL/min；梯度：在10 min內20% B至30% B，30% B；波長：254 nm），以得到呈白色固體的(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,36*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二羥基-34,39-二側氧基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34

λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-

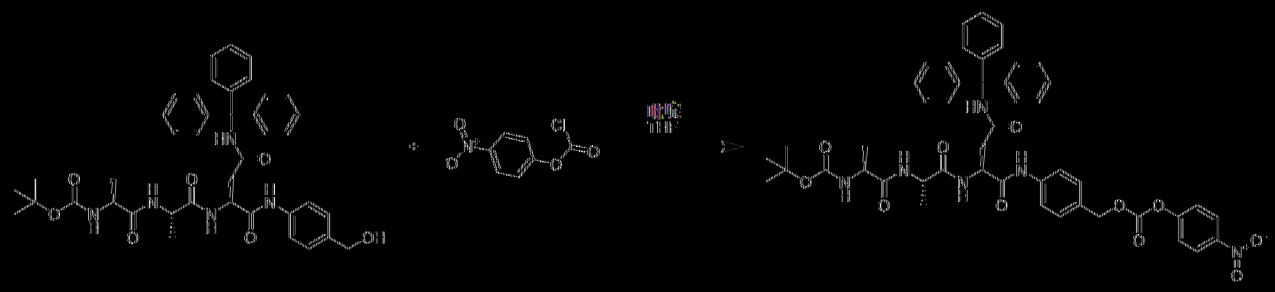
5,7,9,11,15,19,21,23,25-九烯-13-甲酸2-{[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-(6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-己醯胺基)-3-甲基-丁醯胺基]-丙醯胺基}苯基)甲氧基]羰基}肼基}乙基酯（LP30）（12.3 mg）。LC-MS (ESI): 1328.40 [M+H]$^+$。^{1}H NMR (400 MHz, 甲醇-*d*$_4$) δ 8.88 - 8.69 (m, 2H), 8.50 - 8.44 (m, 1H), 8.29 - 8.23 (m, 1H), 8.15 - 8.09 (m, 1H), 7.91 - 7.85 (m, 1H), 7.61 - 7.55 (m, 2H), 7.33 - 7.20 (m, 2H), 6.82 - 6.76 (m, 2H), 6.52 - 6.42 (m, 1H), 6.36 - 6.30 (m, 1H), 5.66 - 5.38 (m, 5H), 5.02 - 4.96 (m, 1H), 4.63 - 4.57 (m, 5H), 4.56 - 4.47 (m, 2H), 4.47 - 4.42 (m, 1H), 4.43 - 4.28 (m, 2H), 4.23 - 4.04 (m, 2H), 3.68 - 3.62 (m, 1H), 3.53 - 3.42 (m, 3H), 2.81 - 2.68 (m, 3H), 2.35 - 2.24 (m, 2H), 2.17 - 2.02 (m, 1H), 1.73 - 1.51 (m, 4H), 1.51 - 1.40 (m, 3H), 1.41 - 1.23 (m, 2H), 1.04 - 0.94 (m, 6H)。

28. LP21的合成

[0772] LP21的合成如下所示：

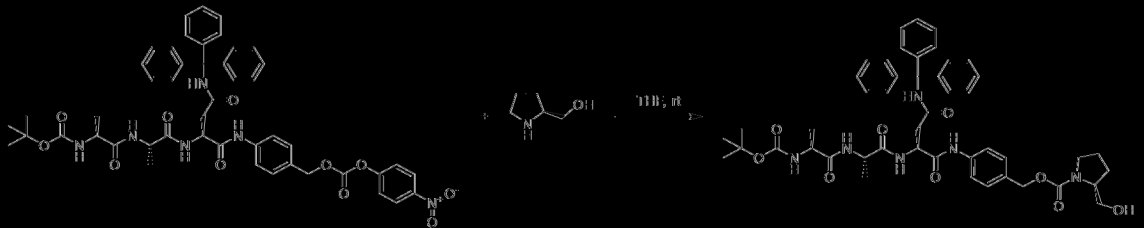


碳酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}丙醯胺基]丙醯胺基]-3-({[(苄基)氧基]甲醯基}胺基)苯基]甲基 4-硝基苯酯的合成



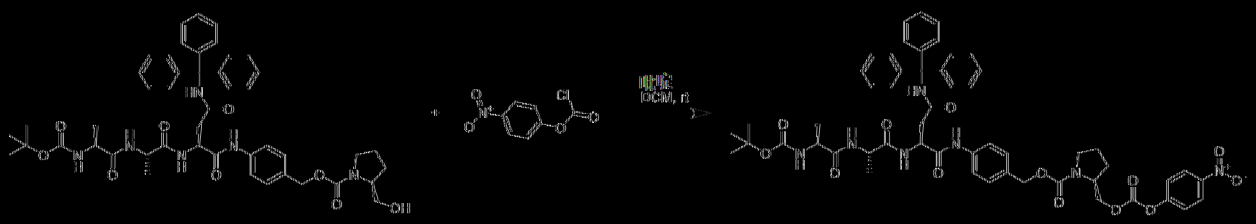
[0773] 向*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基)苯基]胺基}甲醯基]-2-({[(苄基)氧基]羰基}胺基)乙基]胺基}甲醯基]乙基]胺基}甲醯基]乙基]胺基甲酸三級丁酯（205 mg，0.284 mmol，CAS 2461517-95-1，按EP4108675中之方法製備）在DMF（3.0 mL）中的溶液中添加吡啶（0.046 mL，0.568 mmol）和4-硝基苯基氯甲酸酯（114 mg，0.568 mmol）。在室溫攪拌2 h後，在室溫添加額外的吡啶（11 μL）和4-硝基苯基氯甲酸酯（29 mg）。在室溫攪拌45 min後，將乙酸乙酯（10 mL）和10%水性檸檬酸（5 mL）添加至反應混合物中。分離各層。將有機層用鹽水洗滌（兩次）、經硫酸鈉乾燥、過濾並濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（EtOAc-庚烷；60:40至100:0）純化，以給出呈白色固體的碳酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}丙醯胺基]丙醯胺基]-3-({[(苄基)氧基]羰基}胺基)苯基]甲基 4-硝基苯酯（173 mg）。LC-MS (ESI): 887.5 [M+H]$^+$。

(2*S*)-2-(羥基甲基)吡咯啶-1-甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}丙醯胺基]丙醯胺基]-3-({[(苄基)氧基]羰基}胺基)苯基]甲基酯的合成



[0774] 在室溫，向碳酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}內醯胺基]內醯胺基]-3-[(三苯基甲基)胺基]丙醯基]內醯胺基]苯基}甲基4-硝基苯基酯（173 mg，0.195 mmol）在四氫呋喃（2.0 mL）中的溶液中添加DIEA（0.4 mL）中的*L*-脯胺醇（61.4 mg，0.607 mmol）。將反應混合物在室溫攪拌40 min。將溶劑藉由蒸發除去。將殘餘物藉由矽膠柱析法（EtOAc-庚烷：90:10至100:0、然後EtOAc-MeOH：90:10至80:20）純化，以給出呈無色油狀物的(2*S*)-2-(羥基甲基)吡咯啶-1-甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}內醯胺基]內醯胺基]-3-[(三苯基甲基)胺基]丙醯基]內醯胺基]苯基}甲基酯（165 mg）。LC-MS (ESI): 849.4 $[M+H]^+$。

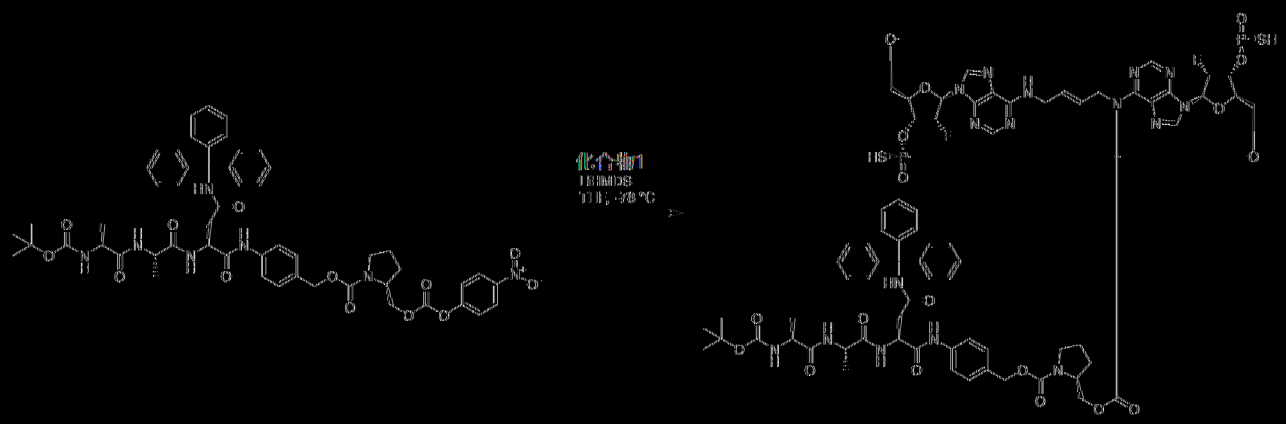
(2*S*)-2-({[(4-硝基苯氧基)羰基]氧基}甲基)吡咯啶-1-甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}內醯胺基]內醯胺基]-3-[(三苯基甲基)胺基]丙醯基]內醯胺基]苯基}甲基酯的合成



[0775] 在室溫，向(2*S*)-2-(羥基甲基)吡咯啶-1-甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}內醯胺基]內醯胺基]-3-[(三苯基甲基)胺基]丙醯基]內醯胺基]苯基}甲基酯（165 mg，0.194 mmol）在DCM（4.0 mL）中的溶液中添加吡啶（31.4 μL，0.388 mmol）和4-硝基苯氯甲酸酯（78.7 mg，0.39 mmol）。將混合物在室溫攪拌1.5 h。將乙酸乙酯（15 mL）和10%水性檸檬酸（5 mL）添加至反應混合物中，並且將有機相分離、用鹽水洗滌（兩次）、經硫酸鈉乾燥並在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱析法（EtOAc-庚烷：70:30至100:0）純化，以給出呈無色油狀物的(2*S*)-2-({[(4-硝基苯氧基)羰基]氧基}甲基)吡咯啶-1-甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}內醯

胺基]內醯胺基}-3-[(二苯基甲基)胺基]-3-側氧丙基}甲基胺基甲酸第三丁酯（183 mg）。LC-MS (ESI): 1014.6 [M+H]+。

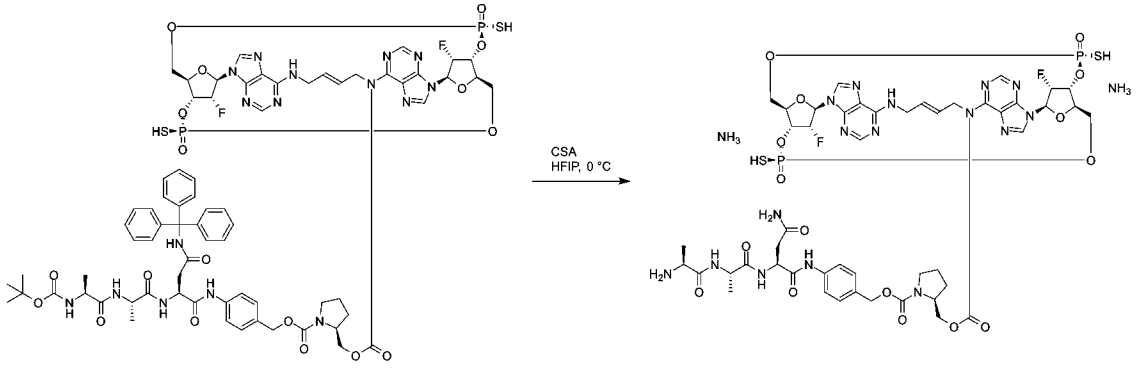
(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十金雜-34λ⁵,39λ⁵-二磷雜八環[28.6.4.1³,³⁶.1²⁸,³¹.0¹,⁸.0⁷,¹².0¹⁹,²⁴.0²³,²⁷]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸(2*S*)-1-({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(二級丁氧基)羰基]胺基}丙醯胺基]丙醯胺基]-3-(二苯基甲基胺基)-3-側氧丙基]苯基}甲氧基)羰基吡咯烷-2-基甲酯的合成



[0776] 在室溫，向化合物1（51.6 mg，0.066 mmol）在四氫呋喃（5.0 mL）中的白色懸浮液中滴加LiHMDS（0.51 mL，0.663 mmol）持續2 min。將反應混合物在室溫攪拌40 min。然後將它冷卻至-78°C。向混合物中添加DMF（0.5 mL）中的(2*S*)-2-({[(4-硝基苯氧基)羰基]氧基}甲基)吡咯烷-1-甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(二級丁氧基)羰基]胺基}丙醯胺基]丙醯胺基]-3-(二苯基甲基胺基)-3-側氧丙基]苯基}甲基酯（67.7 mg，0.067 mmol）（用THF沖洗（0.25 mL x 2））。將反應混合物在-78°C攪拌15 min。除去冷卻浴，並使反應混合物加溫至室溫。40 min後，將反應混合物冷卻至-70°C。將反應在-70°C用乙酸（95 μL，1.652 mmol）淬滅。然後將它在4°C攪拌1 h。將混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由ODS矽膠柱層析法（H_2O-MeCN：90:10至30:70，包含

0.1%甲酸）純化，以給出呈白色固體的(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ^5,39λ^5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}丙醯胺基]丙醯胺基]-3-[(三苯基甲基)胺基甲醯基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]吡咯啶-2-基]甲基酯（60.3 mg）。LC-MS (ESI): 811.6 1/2[M+2H]$^{2+}$

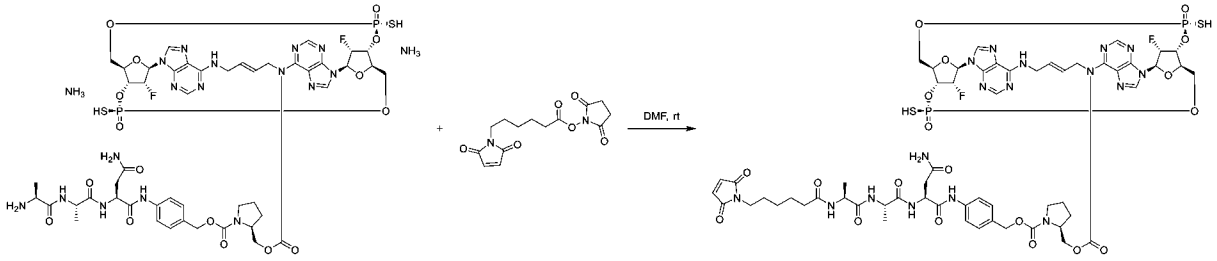
(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ^5,39λ^5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-胺基丙醯胺基]丙醯胺基]-3-胺基甲醯基丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]吡咯啶-2-基]甲基酯二銨鹽的合成



【0777】 在0°C，向(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ^5,39λ^5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}丙醯胺基]丙醯胺

基]-3-[(三苯基甲基)胺基甲醯基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]吡咯啶-2-基]甲基酯（30 mg，0.019 mmol）在1,1,1,3,3,3-六氟-2-丙醇（3.0 mL）中的溶液中添加CSA（86 mg，0.37 mmol）。將反應混合物在0°C攪拌3 h。將反應混合物用MeOH淬滅。將混合物在減壓下濃縮至約1 mL。將殘餘物藉由ODS矽膠柱層析法（H_2O-MeCN（含0.1% NH_3）= 95:5至55:45）純化，以給出呈白色固體的(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ^5,39λ^5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-胺基丙醯胺基]丙醯胺基]-3-胺基甲醯基丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]吡咯啶-2-基]甲基酯二銨鹽（11.8 mg）。LC-MS (ESI): 1279.4 $[M+H]^+$。

(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ^5,39λ^5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-[({4-[(2*S*)-3-胺基甲醯基-2-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺基]丙醯胺基]丙醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]吡咯啶-2-基]甲基酯（LP21）的合成



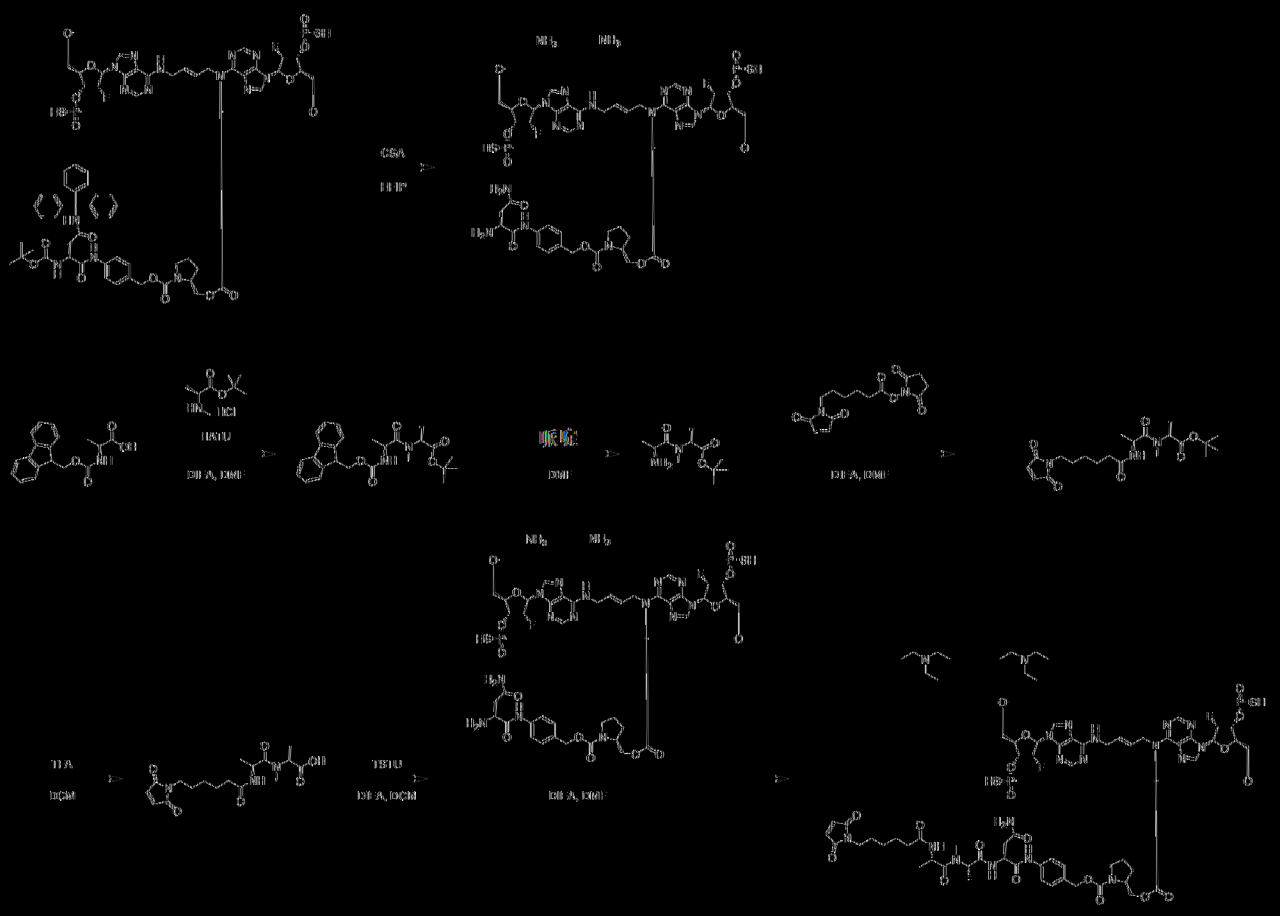
【0778】在室溫，向(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ^5,39λ^5-二磷雜八環

[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-胺基丙醯胺基]丙醯胺基]-3-胺基甲醯基丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]吡咯啶-2-基]甲基酯二銨鹽（11.8 mg，8.986 μmol）和6-馬來醯亞胺己酸*N*-琥珀醯亞胺基酯（3.5 mg，0.011 mmol）在DMF（1000 μL，12.915 mmol）中的溶液中添加DIEA（3.13 μL，0.018 mmol）。將反應混合物在室溫攪拌。攪拌1 h後，添加額外的6-馬來醯亞胺己酸*N*-琥珀醯亞胺基酯（3.7 mg）和DIEA（3.13 μL）。攪拌2 h後，將反應混合物藉由ODS矽膠柱層析法（H_2O-MeCN = 95:5至55:45）直接純化，以給出呈固體的(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ^5,39λ^5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-[({4-[(2*S*)-3-胺基甲醯基-2-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺基]丙醯胺基]丙醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]吡咯啶-2-基]甲基酯（**LP21**）（6.11 mg）。

【0779】 LC-MS (ESI): 737.2 1/2 $[M+2H]^{2+}$。

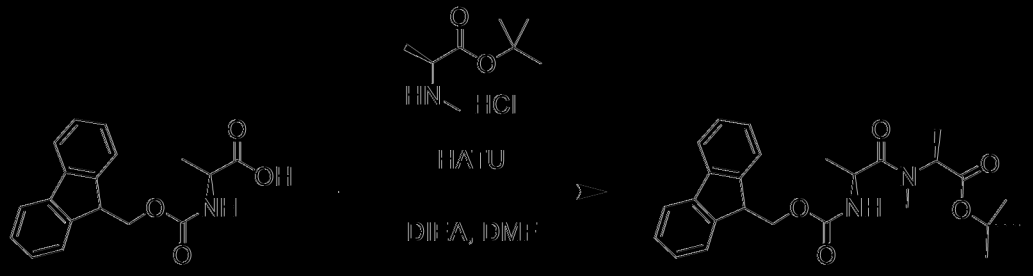
*29.　**LP22**的合成*

【0780】 **LP22**的合成如下所示：



(2*S*) 2-[(2*S*) 2-({[(9*H*-第 9 基)甲氧基]羰基}胺基) *N*-甲基戊醯胺基]戊酸；

級丁基酯的合成



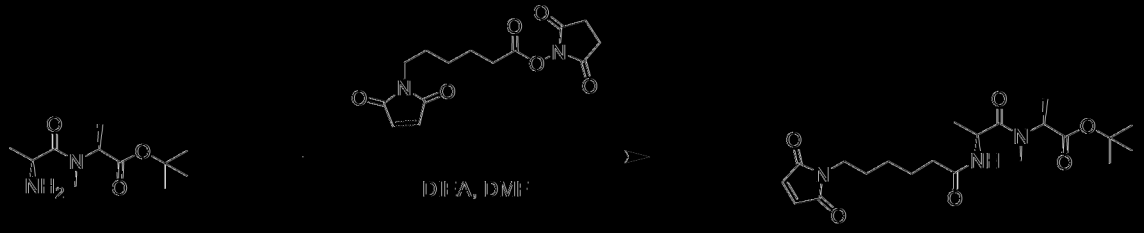
[0781] 向(2*S*) 2-({[(9*H*-第 9 基)甲氧基]羰基}胺基)戊酸（300 mg，0.964 mmol）在DMF（8 mL）中的溶液中添加DIEA（0.505 mL，2.89 mmol）和HATU（440 mg，1.16 mmol）。將混合物攪拌10 min。向混合物中添加(2*S*) 2-(甲基胺基)戊酸*三級丁基酯鹽酸鹽（198 mg，1.01 mmol）。將混合物攪拌1 h。將所得混合物用EtOAc和水稀釋。將有機層分離、用鹽水洗滌、經Na_2SO_4乾燥並在減壓下濃縮。將殘餘物藉由NH矽膠柱層析法（EtOAc /庚烷：1/5）純化，

以給出(2*S*)-2-[(2*S*)-2-({[(9*H*-芴-9-基)甲氧基]羰基}胺基)-*N*-甲基戊醯胺基]戊酸酯（399.1 mg）。LC-MS (ESI): 453.4 [M+H]+。

(2*S*)-2-[(2*S*)-2-胺基-*N*-甲基戊醯胺基]戊酸：紗丁-2-酯的合成

[0782] 在0°C，向(2*S*)-2-[(2*S*)-2-({[(9*H*-芴-9-基)甲氧基]羰基}胺基)-*N*-甲基戊醯胺基]戊酸酯（199.1 mg，0.44 mmol）在DMF（6 mL）中的溶液中添加哌啶（0.436 mL，4.40 mmol）。將混合物在0°C攪拌2 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由ODS矽膠柱層析法（H2O/MeCN（含有0.1%甲酸）：98/2至50/50）純化，以給出(2*S*)-2-[(2*S*)-2-胺基-*N*-甲基戊醯胺基]戊酸：紗丁-2-酯（41.7 mg）。LC-MS (ESI): 231.2 [M+H]+。

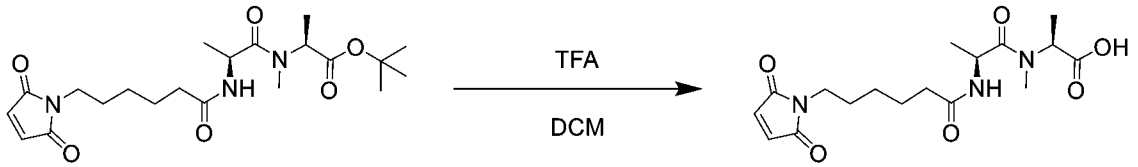
(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺基]-*N*-甲基戊醯胺基]戊酸：紗丁-2-酯的合成



[0783] 向6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（125 mg，0.405 mmol）和DIEA（0.129 mL，0.736 mmol）在DMF（3 mL）中的溶液中添加(2*S*)-2-[(2*S*)-2-胺基-*N*-甲基戊醯胺基]戊酸：紗丁-2-酯（84.8 mg，0.368 mmol）。將混合物攪拌30 min。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由ODS矽膠柱層析法（H_2O/MeCN（含有0.1%甲酸）：98/2至50/50）純化，以給出(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己

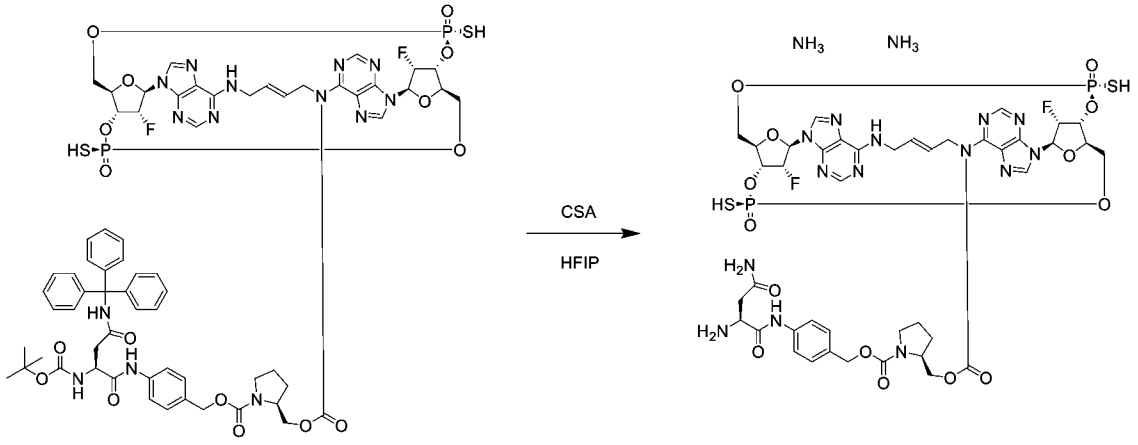
醯胺基]-*N*-甲基丙醯胺基]丙酸*三級丁基*酯（108.4 mg）。LC-MS (ESI): 424.4 $[M+H]^+$。

(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺基]-*N*-甲基丙醯胺基]丙酸的合成



【0784】 在0ºC，向(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺基]-*N*-甲基丙醯胺基]丙酸*三級丁基*酯（108.4 mg）在DCM（2 mL）中的溶液中添加TFA（2 mL，25.96 mmol）。將混合物在0ºC攪拌30 min。將混合物加溫至室溫並攪拌90 min。將所得混合物濃縮並在減壓下與甲苯共沸，以給出(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺基]-*N*-甲基丙醯胺基]丙酸（94.5 mg）。所獲得的材料無需進一步純化即可使用。LC-MS (ESI): 368.3 $[M+H]^+$。

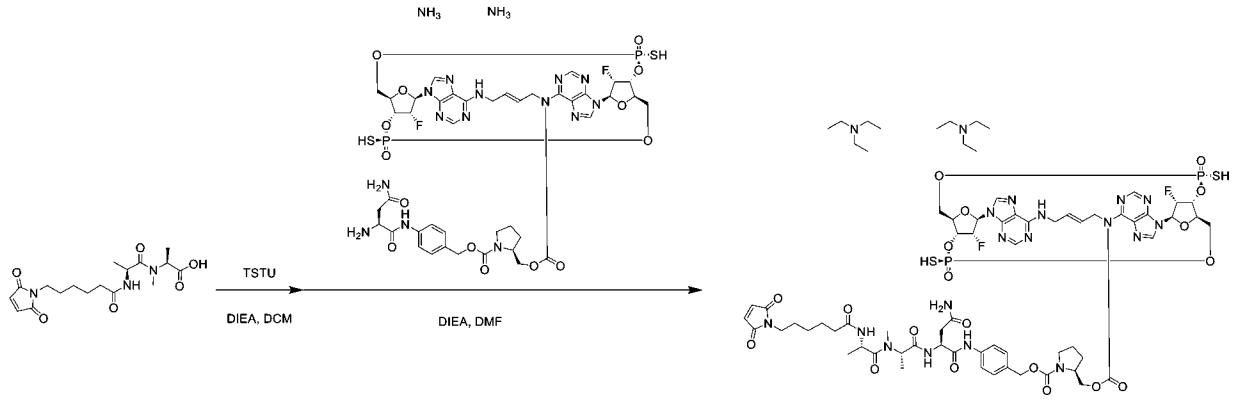
(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*) -29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-[({4-[(2*S*)-2-胺基-3-胺基甲醯基丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]吡咯啶-2-基]甲基酯二銨鹽的合成



【0785】 在0ºC，向(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-[({4-[(2*S*)-2-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}-3-[(三苯基甲基)胺基甲醯基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]吡咯啶-2-基]甲基酯（50 mg，0.034 mmol）在1,1,1,3,3,3-六氟丙烷-2-醇（5 mL）中的溶液中添加[(1*S*,4*R*)-7,7-二甲基-2-側氧基雙環[2.2.1]庚烷-1-基]甲磺酸（157 mg，0.676 mmol）。將混合物在0ºC攪拌3 h。將反應混合物用MeOH淬滅。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由ODS矽膠柱層析法（H_2O/MeCN（包括0.1%氨）= 98/2至40/60）純化，以給出(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-[({4-[(2*S*)-2-胺基-3-胺基甲醯基丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]吡咯啶-2-基]甲基酯二銨鹽（16.1 mg）。

【0786】 LC-MS (ESI): 1137.4 $[M+H]^+$。

(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-[({4-[(2*S*)-3-胺基甲醯基-2-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺基]-*N*-甲基丙醯胺基]丙醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]吡咯啶-2-基]甲基酯 雙(三乙胺)鹽（LP22·2NEt_3）的合成



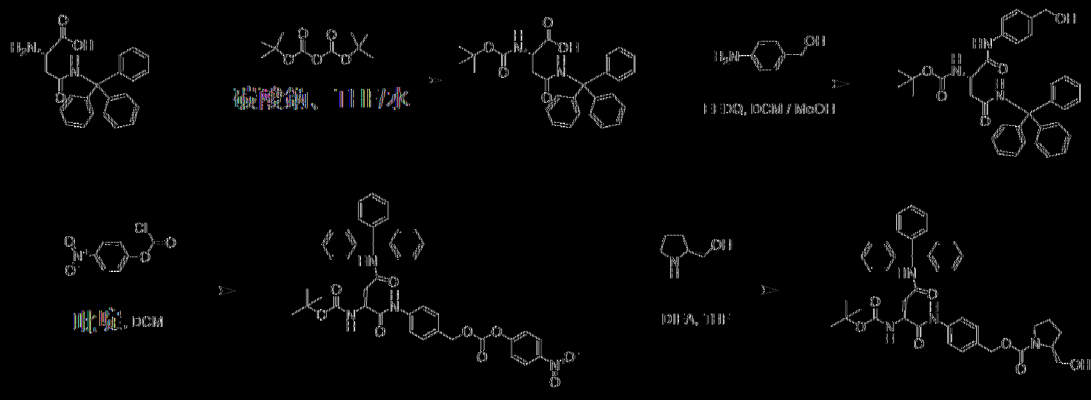
【0787】 向(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)己醯胺基]-*N*-甲基丙醯胺基]丙酸（16.7 mg，0.045 mmol）和DIEA（0.048 mL，0.275 mmol）在DCM（1 mL）中的溶液中添加TSTU（12.4 mg，0.0.41 mmol）。將混合物攪拌1 h。向混合物中添加TSTU（6.5 mg）。將混合物攪拌30 min。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物用DMF（500 mL）稀釋並添加至(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*）-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-[({4-[(2*S*)-2-胺基-3-胺基甲醯基丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]吡咯啶-2-基]甲基酯二胺（16.1 mg，0.14 mmol）和DIEA（20 mL，0.115 mmol）在DMF（1 mL）中的溶液中。將混合物攪拌90 min。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由ODS矽膠柱層析法（H_2O/MeCN（包含0.1%甲酸）= 98/2至40/60）純化，以給出粗製材料。將粗製材料藉由製備型TLC（$CHCl_3$/MeOH（含有1% TEA）= 4/1）純化，以給出(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-[({4-[(2*S*)-3-胺基甲醯基-2-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺基]-*N*-甲基丙醯胺基]丙

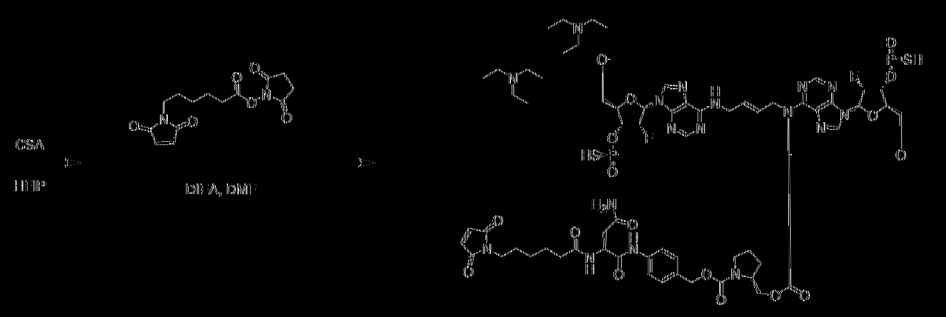
醯胺基]內醯胺基}苯基)甲氧基)羰基]吡咯啶-2-基]甲基]雙(三乙胺)鹽（LP22·2NEt3）（3.40 mg）。

[0788] LC-MS (ESI): 1486.4 [M+H]+。

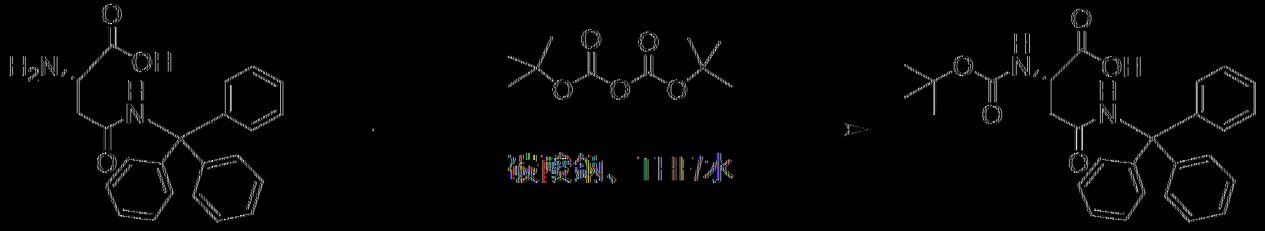
30. LP23的合成

[0789] LP23的合成如下所示：



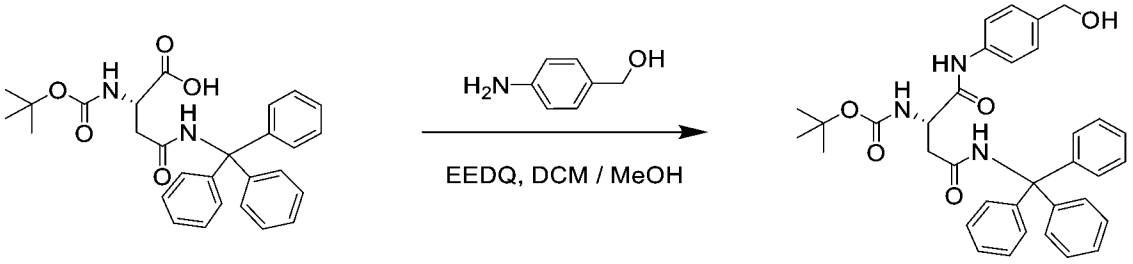


(2S)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}-3-[(4-硝基苯基)甲基]胺基}-丙酸的合成



【0790】 在0°C，向(2*S*)-2-胺基-3-[(三苯基甲基)胺基甲醯基]丙酸（2 g，5.34 mmol）在THF（14.0 mL）和水（14.0 mL）中的溶液中添加碳酸鈉（1.19 g，11.2 mmol）。10 min後，將二碳酸二*三級丁基*酯（1.63 g，7.48 mmol）添加至混合物中。將混合物在室溫攪拌4 h 20 min。將5 N HCl添加至混合物中直到pH 4。將水層用EtOAc萃取，並將有機層在減壓下濃縮。所獲得的粗製(2*S*)-2-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}-3-[(三苯基甲基)胺基甲醯基]丙酸（2.53 g）無需純化即可用於下一步驟。LC-MS (ESI): 475.4 $[M+H]^+$。

_N_-[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}-2-[(三苯基甲基)胺基甲醯基]乙基]胺基甲酸*三級丁基*酯的合成

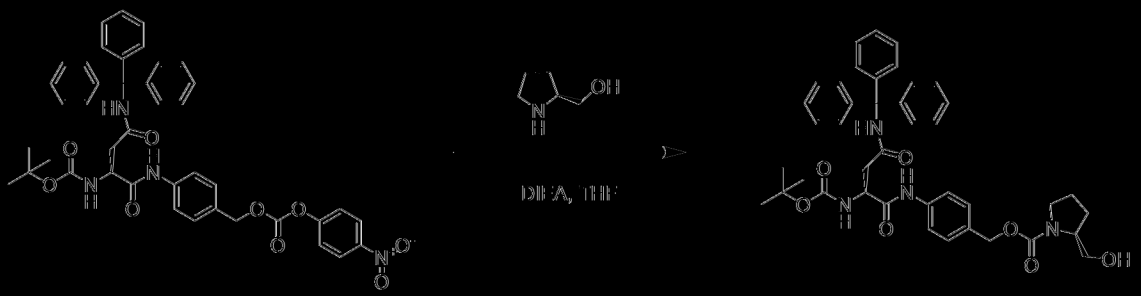


【0791】 在0°C，向(2*S*)-2-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}-3-[(三苯基甲基)胺基甲醯基]丙酸（1.3 g，2.74 mmol）和(4-胺基苯基)甲醇（0.371 g，3.01 mmol）在DCM（30 mL）和MeOH（10 mL）中的溶液中添加2-乙氧基-1,2-二氫喹啉-1-甲酸乙基酯（1.36 g，5.48 mmol）。將溶液在室溫攪拌18 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（EtOAc/庚烷 = 1/1至3/1）純化，以給出*N*-[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}-2-[(三苯基甲基)胺基甲醯基]乙基]胺基甲酸*三級丁基*酯（1.22 g）。LC-MS (ESI): 580.4 $[M+H]^+$。

碳酸{4-[(2*S*)-2-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}-3-[(三苯基甲基)胺基甲醯基]丙醯胺基]苯基}甲基 4-硝基苯基酯的合成

[0792] 向*N*-[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}-2-(三苯基甲基)肼基甲醯基]乙基胺基甲酸三級丁酯（1000 mg，1.73 mmol）在DCM（30 mL）中的溶液中添加4-硝基苯基氯甲酸酯（695 mg，3.45 mmol）和吡啶（0.279 mL，3.45 mmol）。將溶液在室溫攪拌3.5小時。將所得混合物用EtOAc和10%水性檸檬酸稀釋。將有機相分離、用鹽水洗滌、經Na_2SO_4乾燥並在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（EtOAc/庚烷：1/4至1/1）純化，以給出碳酸{4-[(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}-3-(三苯基甲基)肼基甲醯基]內醯胺基苯基}甲基4-硝基苯基酯（1.26 g）。LCMS (ESI): 745.6 [M+H]$^+$。

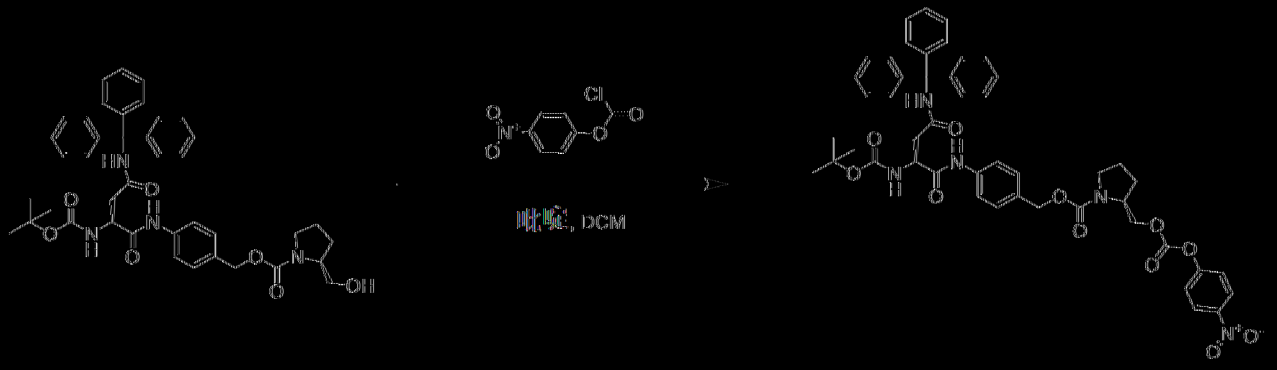
(2*S*)-2-(羥基甲基)吡咯啶-1-甲酸{4-[(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}-3-(三苯基甲基)肼基甲醯基]內醯胺基苯基}甲基酯的合成



[0793] 向碳酸{4-[(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}-3-(三苯基甲基)肼基甲醯基]內醯胺基苯基}甲基4-硝基苯基酯（400 mg，0.537 mmol）在THF（10 mL）和DIEA（0.469 mL，2.69 mmol）中的溶液中添加[(2*S*)-吡咯啶-2-基]甲醇（65.2 mg，0.644 mmol）。將溶液在室溫攪拌2 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由NH矽膠柱層析法（EtOAc/庚烷：4/1至1/0）純化，以給出(2*S*)-2-(羥基甲基)吡咯啶-1-甲酸{4-[(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}-3-(三苯基

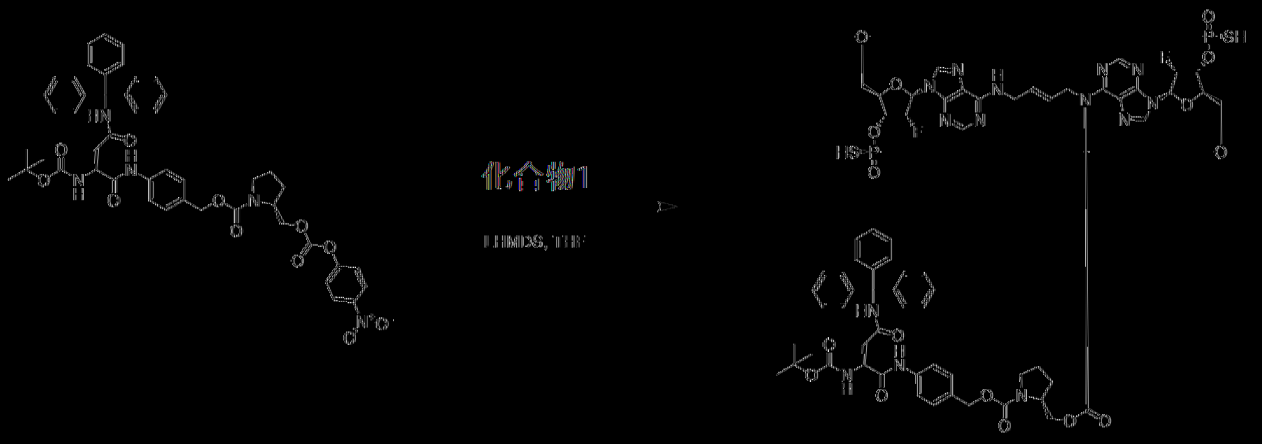
甲氧基)胺基甲醯基內醯胺基]苯基}甲基酯（343.3 mg）。LC-MS (ESI): 707.5 [M+H]+。

(2*S*)-2-({[(4-硝基苯氧基)羰基]氧基}甲基)吡咯烷-1-甲酸{4-[(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}-3-(3-苯基丙基)胺基甲醯基內醯胺基]苯基}甲基酯的合成



[0794] 向(2*S*)-2-({[(苯基丙基)胺基甲醯基內醯胺基]苯基}甲基酯（343.3 mg，0.486 mmol）在DCM（10 mL）中的溶液中添加4-硝基苯基氯甲酸酯（196 mg，0.971 mmol）和吡啶（0.079 mL，0.971 mmol）。將溶液在室溫攪拌2 h。將所得混合物用EtOAc和10%水性檸檬酸稀釋。將有機物分離、用鹽水洗滌、經Na_2SO_4乾燥並在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠層析法（EtOAc/庚烷：1/4至1/1）純化，以給出(2*S*)-2-({[(4-硝基苯氧基)羰基]氧基}甲基)吡咯烷-1-甲酸{4-[(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}-3-(3-苯基丙基)胺基甲醯基內醯胺基]苯基}甲基酯（340 mg）。LC-MS (ESI): 872.5 [M+H]+。

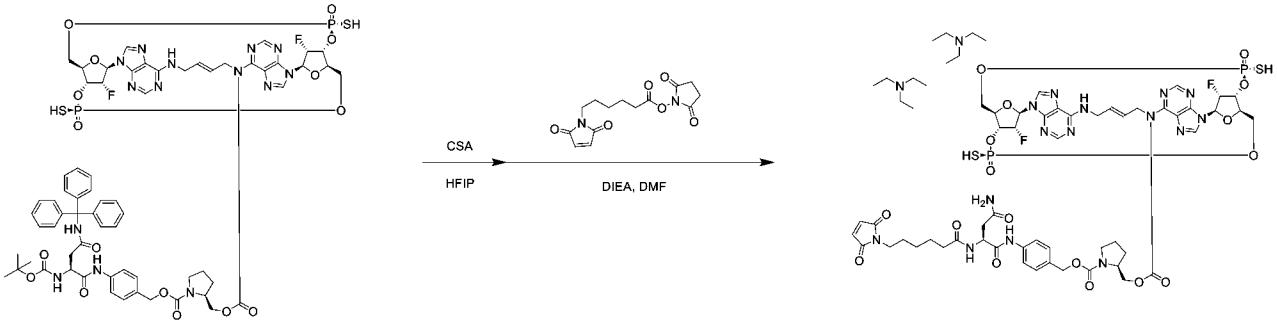
(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^3,36^.1^28,31^.0^4,8^.0^7,12^.0^19,24^.0^23,27^]四十三烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸(2*S*)-1-({4-[(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}-3-(3-苯基丙基)胺基甲醯基內醯胺基]苯甲氧基}羰基)吡咯烷-2-基甲基酯的合成



[0795] 在室溫，向化合物1（50 mg，0.059 mmol）在THF（5 mL）中的懸浮液中添加LiHMDS（0.527 mmol）。將所得混合物在室溫攪拌30 min並冷卻至-78°C。向上述混合物中添加THF（0.5 mL）中的(2*S*)-2-({[(4-硝基苯氧基)羰基]氧基}甲基)吡咯啶-1-甲酸{4-[(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}-3-(4-苯基-1*H*-1,2,3-三唑-1-基)丙醯胺基]苯基}甲酯（45.9 mg，0.053 mmol）（用THF沖洗（0.5 mL））且在-78°C攪拌10 min。將所得混合物加溫至0°C並攪拌1 h。將反應用AcOH（226 mL，3.95 mmol）淬滅。將混合物加溫至室溫並攪拌10 min。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由ODS矽膠相析法（H2O/MeCN（包含0.1%甲酸）：95/5至20/80）純化，以給出(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-十烯-13-甲酸(2*S*)-1-({4-[(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}-3-(4-苯基-1*H*-1,2,3-三唑-1-基)丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]吡咯啶-2-基}甲酯（52.3 mg）。LC-MS (ESI): 1480.6 [M+H]$^+$。

(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-

5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-[({4-[(2*S*)-3-胺基甲醯基-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]吡咯啶-2-基]甲基酯雙(三乙胺)鹽（LP23·2NEt$_3$）的合成



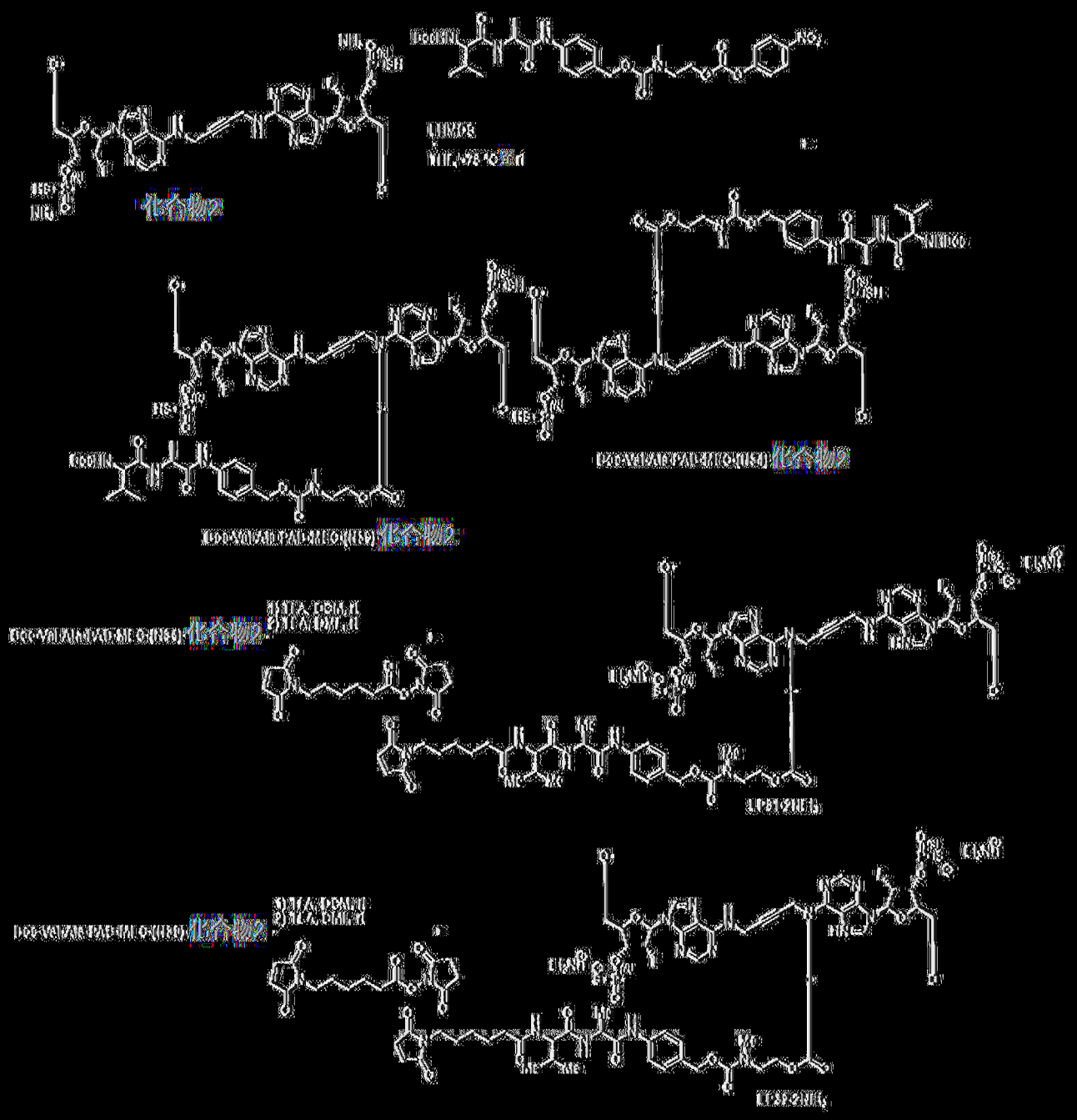
【0796】 在0°C，向(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-[({4-[(2*S*)-2-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}-3-[(三苯基甲基)胺基甲醯基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]吡咯啶-2-基]甲基酯（45 mg，0.03 mmol）在1,1,1,3,3,3-六氟丙烷-2-醇（4 mL）中的溶液中添加CSA（141 mg，0.608 mmol）。將混合物在0°C攪拌4 h。將反應混合物用MeOH淬滅。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由ODS矽膠柱層析法（H$_2$O/MeCN（包含0.1%甲酸）= 98/2至50/50）純化，以給出粗製化合物（191.4 mg）。向DMF（500 mL）中的一部分所獲得的粗製材料（63.8 mg）和DIEA（52.9 mL，0.303 mmol）中添加6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)己酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（2.80 mg，9.09 mmol）。將混合物攪拌1 h。向混合物中添加6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（12 mg）並攪拌30 min。向混合物中添加6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（18 mg）並攪拌30 min。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由ODS矽膠柱層析法（H$_2$O/MeCN（包含0.1%甲酸）= 98/2至

50/50）純化，以給出粗製材料。將粗製材料藉由正相製備型TLC（$CHCl_3$/MeOH（包括1% TEA）= 4/1）純化，以給出(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-[({4-[(2*S*)-3-胺基甲醯基-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)己醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]吡咯啶-2-基]甲基酯雙(三乙胺)鹽（**LP23·2NEt$_3$**）（3.35 mg）。

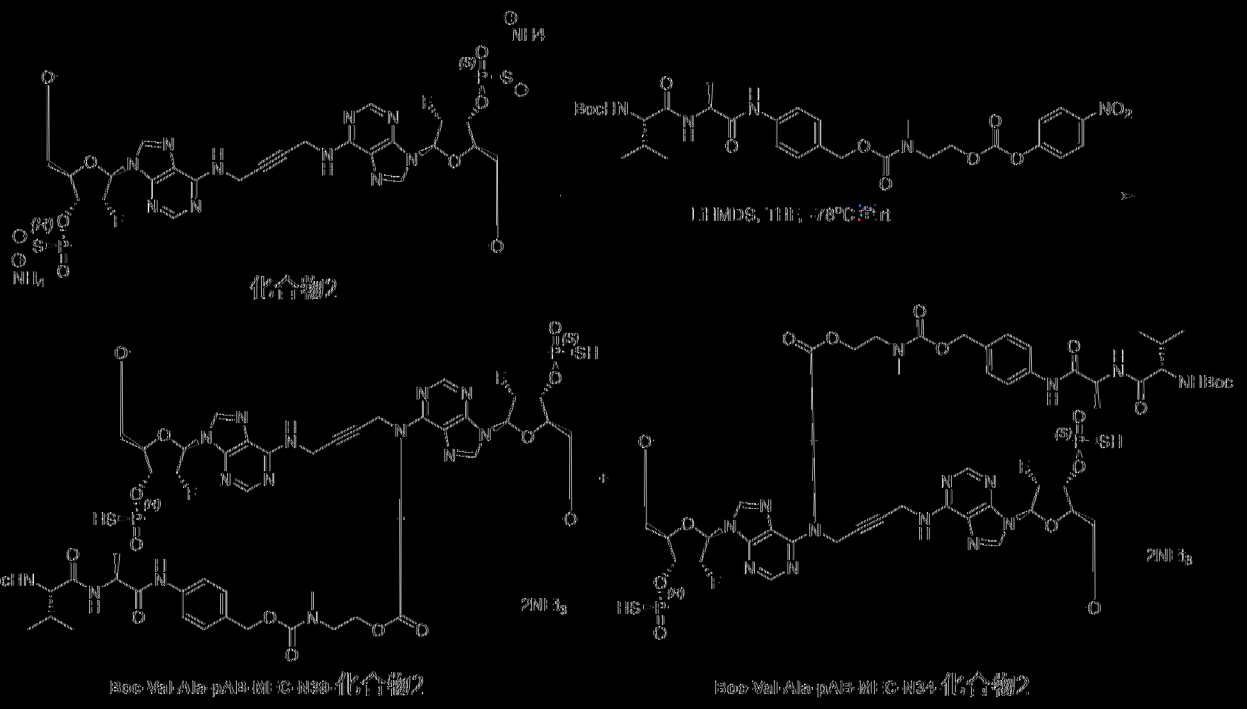
【0797】 LC-MS (ESI): 1330.8 $[M+H]^+$。

31. ***LP32*和*LP31*的合成**

【0798】 **LP32**和**LP31**的合成如下所示：



Boc-Val-Ala-pAB-MEC-(N39)-化合物2和Boc-Val-Ala-pAB-MEC-(N34)-化合物2的合成



[0799] 向化合物2的三銨鹽（50 mg，0.064 mmol）中添加DMF（3 mL）並將所得溶液真空濃縮。將該共沸乾燥過程重複兩次。將所得材料溶解於DMF（5 mL）中並在室溫用LiHMDS（1.5 M，0.385 mL，0.578 mmol）在DMF中的溶液處理。在室溫10 min後，將反應混合物冷卻至-78°C。然後添加甲基(2-(((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)乙基)胺基甲酸4-((S)-2-((S)-2-((三級-丁氧基羰基)胺基)-3-甲基丁醯胺基)內醯胺基)下基酯（42.4 mg，0.064 mmol）在DMF（0.84 mL）中的溶液。將所得混合物在1.5 h內緩慢加溫至0°C。在0°C-10°C之間1.5 h後，將反應用AcOH（0.1 mL，1.7 mmol）淬滅。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由製備型HPLC在以下條件下純化：柱：XBridge Prep OBD C18柱，19*100 mm，5 μm；流動相A：水（50 mM TEA+ 50 mM六氟異丙醇），流動相B：MeCN（50 mM TEA+50 mM六氟異丙醇）；流速： 40 mL/min；溫度：rt；梯度：1% B（t=0-2.0 min）、15% B（t=2.1 min）、35% B（t=16.3 min）、95% B（t=16.4 min）、1% B（t=17.2-17.9 min）；波長： 260 nm；執行時間：

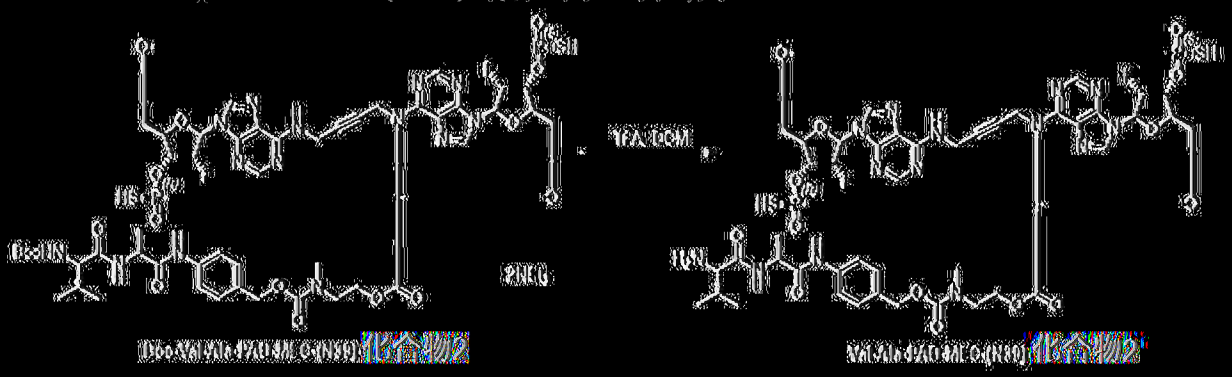
18 min。這產生18.9 mg **Boc-Val-Ala-pAB-MEC-(N39)-化合物2**和5.2 mg **Boc-Val-Ala-pAB-MEC-(N34)-化合物2**。

【0800】 **Boc-Val-Ala-pAB-MEC-(N39)-化合物2**： LC-MS (ESI): 1265.32 $[M+H]^+$。^{1}H NMR (400 MHz, 甲醇-d_4) δ 8.88 (br s, 1H), 8.78 - 8.64 (m, 1H), 8.59 (br s, 1H), 8.16 (s, 1H), 7.61 - 7.50 (m, 2H), 7.28 (br d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 7.19 (br d, *J* = 7.3 Hz, 1H), 6.45 - 6.24 (m, 2H), 6.04 (d, *J* = 51.4 Hz, 1H), 5.51 (d, *J* = 51.3 Hz, 1H), 5.17 - 4.92 (m, 2H), 4.95 - 4.54 (m, 5H), 4.49 (br d, *J* = 10.4 Hz, 2H), 4.44 - 4.30 (m, 3H), 4.29 - 4.12 (m, 1H), 4.02 (br dd, *J* = 3.6, 11.4 Hz, 1H), 3.98 - 3.87 (m, 2H), 3.86 - 3.70 (m, 1H), 3.65 - 3.40 (m, 2H), 3.35 (s, 1H), 3.25 - 3.11 (m, 12H), 2.83 - 2.70 (m, 3H), 2.07 (br d, *J* = 4.6 Hz, 1H), 1.44 (br s, 12H), 1.28 (br t, *J* = 7.3 Hz, 18H), 0.98 (br d, *J* = 6.5 Hz, 3H), 0.93 (br d, *J* = 6.4 Hz, 3H)。分析型HPLC RT = 9.70 min [柱：Xbridge Premier BEH C18柱，2.5 μm（2.1 mm ID x 150 mm）；流動相A：水（50 mM TEA+ 50 mM六氟異丙醇），流動相B：MeCN（50 mM TEA+50 mM六氟異丙醇）；流速： 0.5 mL/min；溫度：60；梯度：1% B（t=0-1.0 min）、15% B（t=1.1 min）、35% B（t=20.9 min）、95% B（t=21.0 min）、1% B（t=22.1-24.0 min）；波長： 260nm；執行時間 = 25 min。

【0801】 **Boc-Val-Ala-pAB-MEC-(N34)-化合物2**： LC-MS (ESI): 1265.32 $[M+H]^+$。^{1}H NMR (400 MHz, 甲醇-d_4) δ 9.30 (br s, 0.5H), 9.09 (br s, 0.5H), 8.83 - 8.63 (m, 1H), 8.47 (br s, 1H), 8.13 (br s, 0.5H), 7.97 (br s, 0.5H), 7.61 - 7.51 (m, 2H), 7.28 (br d, *J* = 7.0 Hz, 1H), 7.20 (br d, *J* = 7.4 Hz, 1H), 6.54 - 6.15 (m, 2H), 5.94 - 5.28 (m, 2H), 5.22 - 5.06 (m, 1H), 4.97 (br s, 1H), 4.82 - 4.57 (m, 5H), 4.49 (br d, *J* = 7.0 Hz, 2H), 4.41 (br s, 2H), 4.35 - 4.11 (m, 2H), 4.04 (br d, *J* = 9.6 Hz, 1H), 3.99 - 3.76 (m, 3H), 3.60 - 3.43 (m, 1H), 3.37 - 3.34 (m, 2H), 3.26 - 3.09 (m, 12H), 2.76 (br s, 3H), 2.17 - 2.00 (m, 1H), 1.44 (s, 12H), 1.30 (t, *J* = 7.3 Hz, 18H), 0.98 (br d, *J* =

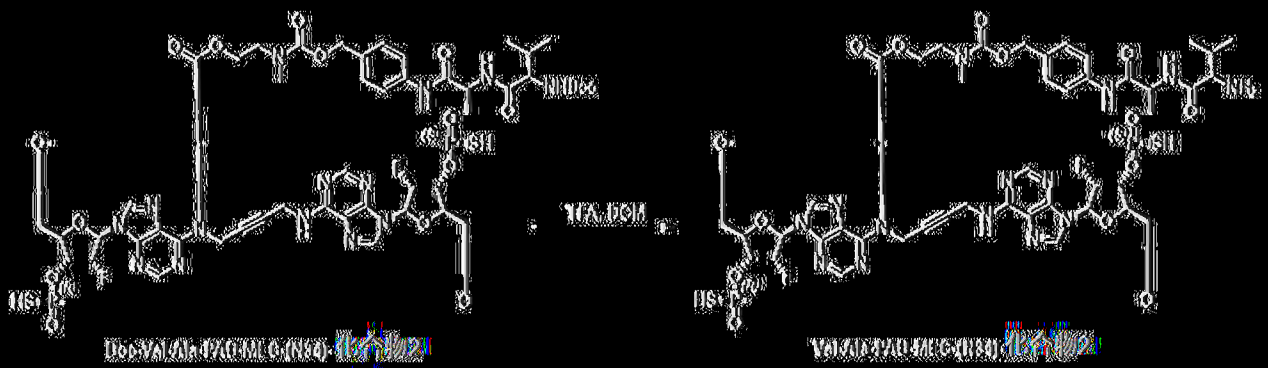
6.5 Hz, 3H), 0.94 (br d, J = 6.6 Hz, 3H)。分析型HPLC RT = 8.98 [柱：Xbridge Premier BEH C18柱，2.5 μm（2.1 mm ID x 150 mm）；流動相A：水（50 mM TEA+ 50 mM六氟異丙醇），流動相B：MeCN（50 mM TEA+50 mM六氟異丙醇）；流速：0.5 mL/min；溫度：60；梯度：1% B（t = 0-1.0 min）、15% B（t = 1.1 min）、35% B（t = 20.9 min）、95% B（t = 21.0 min）、1% B（t = 22.1-24.0 min）；波長：260nm；執行時間 = 25 min。

Val-Ala-pAB-MEC (N39)化合物2的合成



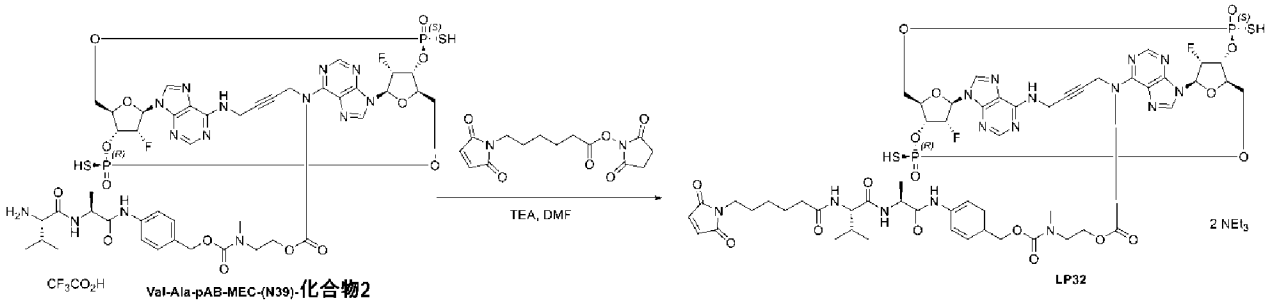
[0802] 在室溫，向Boc-Val-Ala-pAB-MEC (N39)化合物2（18.9 mg，0.013 mmol）在DCM（2 mL）中的溶液中添加TEA（0.75 mL）。將反應混合物在室溫攪拌0.5 h，然後用MTBE（5 mL）處理。對所得漿液混合物進行離心。將所得固體傾析，隨後真空乾燥過夜，得到16.5 mg呈灰白色固體的目標產物。LC-MS (ESI): 1165.05 [M+H]+。

Val-Ala-pAB-MEC (N34)化合物2的合成



【0803】 在室溫，向**Boc-Val-Ala-pAB-MEC-(N34)-化合物2**（5.2 mg，0.0052 mmol）在DCM（0.8 mL）中的溶液中添加TFA（0.3 mL）。將反應混合物在室溫攪拌0.5 h，然後用MTBE（2.5 mL）處理。對所得漿液混合物進行離心。將所得固體傾析，隨後真空乾燥過夜，得到4.0 mg呈灰白色固體的目標產物。LC-MS (ESI): 1165.10 $[M+H]^+$。

LP32的合成



CF_3CO_2H **Val-Ala-pAB-MEC-(N39)-化合物2**

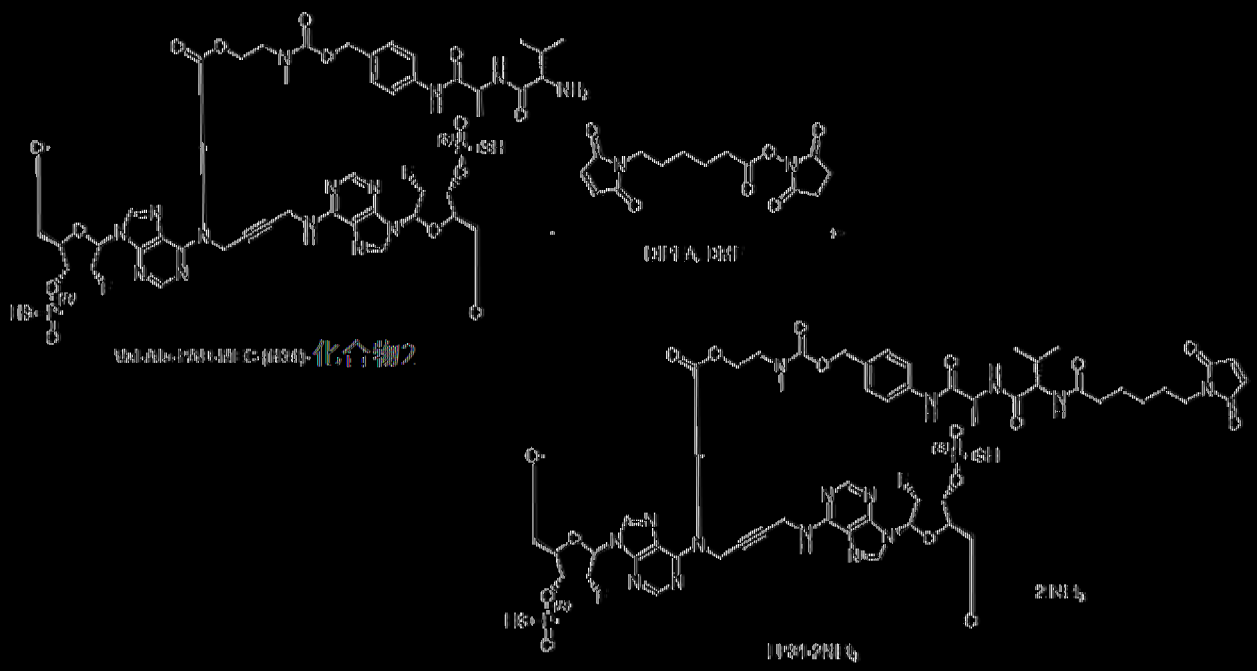
【0804】 在室溫，向**Val-Ala-pAB-MEC-(N39)-化合物2**（5.3 mg，0.0041 mmol）在DMF（0.5 mL）中的溶液中添加TEA（0.010 mL，0.072 mmol）和6-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)己酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（2.0 mg，0.0065 mmol）。將所得混合物在室溫攪拌10 min並用額外的6-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)己酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（2.0 mg，0.0065 mmol）處理。在室溫攪拌3 h後，將反應混合物保持在-20°C過週末、加溫至室溫並藉由矽膠柱層析法（15%至30% MeOH，在EtOAc中，用1%三乙胺緩衝）純化。這產生3.2 mg呈白色固體的目標產物**LP32·2NEt$_3$**。

【0805】 LC-MS (ESI): 1358.00 $[M+H]^+$。

【0806】 ^{1}H NMR (400 MHz, 甲醇-d_4) δ 8.89 (br s, 1H), 8.77 - 8.65 (m, 1H), 8.63 - 8.53 (m, 1H), 8.16 (br s, 1H), 7.56 (br dd, *J* = 7.9, 14.3 Hz, 2H), 7.37 - 7.25 (m, 1H), 7.19 (br d, *J* = 7.3 Hz, 1H), 6.77 (br s, 2H), 6.42 - 6.22 (m, 2H), 6.04 (d, *J* = 49.8 Hz, 1H), 5.51 (d, *J* = 49.5 Hz, 1H), 5.15 - 4.92 (m, 3H), 4.82 - 4.53 (m, 4H),

4.52 - 4.25 (m, 5H), 4.24 - 4.12 (m, 2H), 4.02 (br dd, *J* = 3.8, 11.4 Hz, 1H), 3.93 (br d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 3.88 - 3.70 (m, 1H), 3.67 - 3.52 (m, 1H), 3.50 - 3.35 (m, 4H), 3.24 - 3.13 (m, 12H), 2.78 (br s, 3H), 2.28 (br s, 2H), 2.15-2.05 (m, 1H), 1.67 - 1.49 (m, 4H), 1.44 (br d, *J* = 6.9 Hz, 3H), 1.29 (br t, *J* = 7.3 Hz, 18H), 1.18 - 1.05 (m, 2H), 0.99-0.88 (m, 6H)。

LP31的合成



[0807] 在室溫，向Val-Ala-pAB-MEC-(N34)-化合物2（4.0 mg，0.0031 mmol）在DMF（0.4 mL）中的溶液中添加DIEA（0.010 mL，0.072 mmol）和16-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)十六酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（4.0 mg，0.013 mmol）。在室溫攪拌8 h後，將反應混合物藉由矽膠柱層析法（15%至30% MeOH，在EtOAc中，用1%三乙胺緩衝）純化。這產生3.3 mg呈白色固體的目標產物LP31-2NEt3。

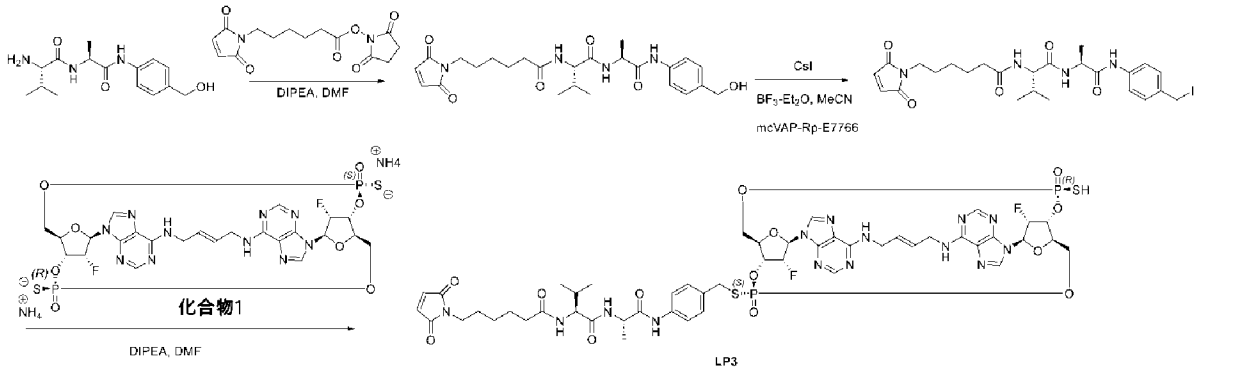
[0808] LC-MS (ESI): 1359.96 [M+H]+。

[0809] ^{1}H NMR (400 MHz, 甲醇-*d*4) δ 9.40 - 9.25 (m, 0.5H), 9.15 - 9.03 (m, 0.5H), 8.85 - 8.62 (m, 1H), 8.55 - 8.39 (m, 1H), 8.23 - 7.91 (m, 1H), 7.62-7.49 (m,

2H), 7.33 - 7.25 (m, 1H), 7.22 - 7.12 (m, 1H), 6.78 (s, 2H), 6.56 - 6.17 (m, 2H), 5.93 - 5.31 (m, 2H), 5.23 - 5.06 (m, 1H), 5.01 - 4.93 (m, 1H), 4.74 - 4.54 (m, 5H), 4.53 - 4.24 (m, 5H), 4.18 (br d, *J* = 7.0 Hz, 2H), 4.09 - 4.00 (m, 1H), 3.98 - 3.89 (m, 1H), 3.86 - 3.70 (m, 1H), 3.58 - 3.38 (m, 5H), 3.28 - 3.12 (m, 12H), 2.76 (br s, 3H), 2.28 (br t, *J* = 6.7 Hz, 2H), 2.17 - 2.01 (m, 1H), 1.69 - 1.50 (m, 4H), 1.45 (br d, *J* = 6.3 Hz, 3H), 1.31 (t, *J* = 7.2 Hz, 18H), 1.21 - 1.07 (m, 2H), 1.04 - 0.90 (m, 6H)。

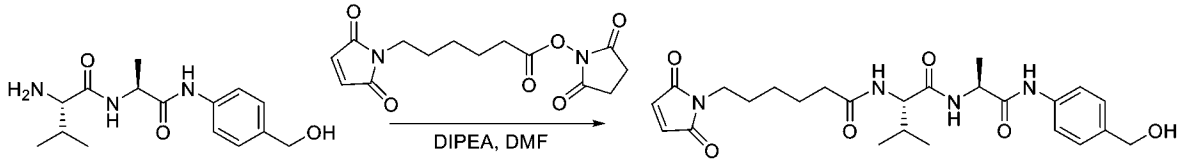
32. ***LP33****的合成和****LP3****的替代合成*

【0810】 **LP3**的合成如下所示：



。

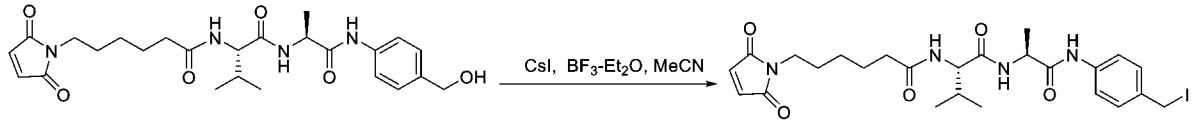
6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺的合成



【0811】 將DIPEA（1.32 g，10.2 mmol）和6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)己酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（1.58 g，5.11 mmol）添加至(2*S*)-2-胺基-*N*-[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺（1.5 g，5.1 mmol）在DMF（40 mL）中的溶液中。將所得混合物在室溫攪拌2 h。將所得混合物用EtOAc稀釋、用水洗滌並濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用CH_2Cl_2 / MeOH（10:1）洗脫）純化。這產生2.0 g呈灰白色固體的6-(2,5-二側氧基-2,5-二

氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺。LC-MS (ESI): 487 $[M+H]^+$。

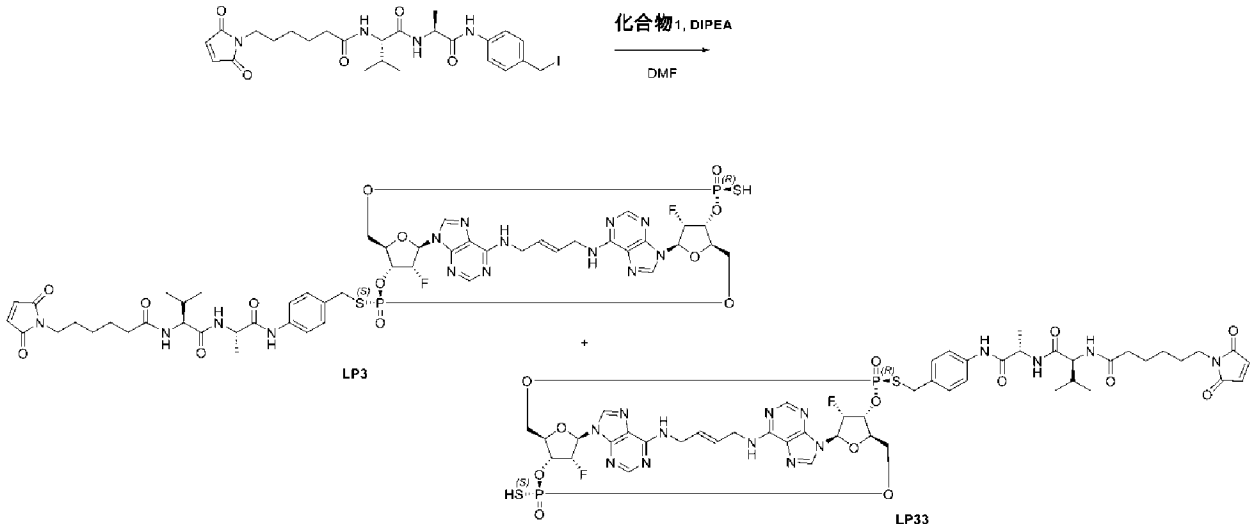
6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(碘甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺的合成



【0812】將碘化銫（801 mg，3.08 mmol）和$BF_3.Et_2O$（438 mg，3.08 mmol）添加至6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺（1.0 g，2.06 mmol）在乙腈（10 mL）中的溶液中。將所得混合物在室溫攪拌2 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用CH_2Cl_2 / ^iPrOH（10:1）洗脫）純化。這產生700 mg呈白色固體的6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(碘甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺。LC-MS (ESI): 597 $[M+H]^+$。

***N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-({[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-39-氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-34-基]氫硫基}甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)己醯胺（LP3）和*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-({[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-39-氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-34-基]氫硫基}甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}**

醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺（LP33）的合成



【0813】 將6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(碘甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺（480 mg，0.805 mmol）和DIPEA（208 mg，1.61 mmol）添加至化合物1（600 mg，0.805 mmol）在DMF（5 mL）中的溶液中。將所得混合物在室溫攪拌2小時。將粗製溶液藉由製備型HPLC用以下條件純化（柱：XBridge Prep OBD C18柱，19*250 mm，5 μm；流動相A：水（0.05%FA），流動相B：MeCN；流速：25 mL/min；梯度：在8 min內32% B至32% B，32% B；波長：254 nm；RT = 13 min）。這產生108 mg目標產物**LP3**和78.9 mg **LP33**。

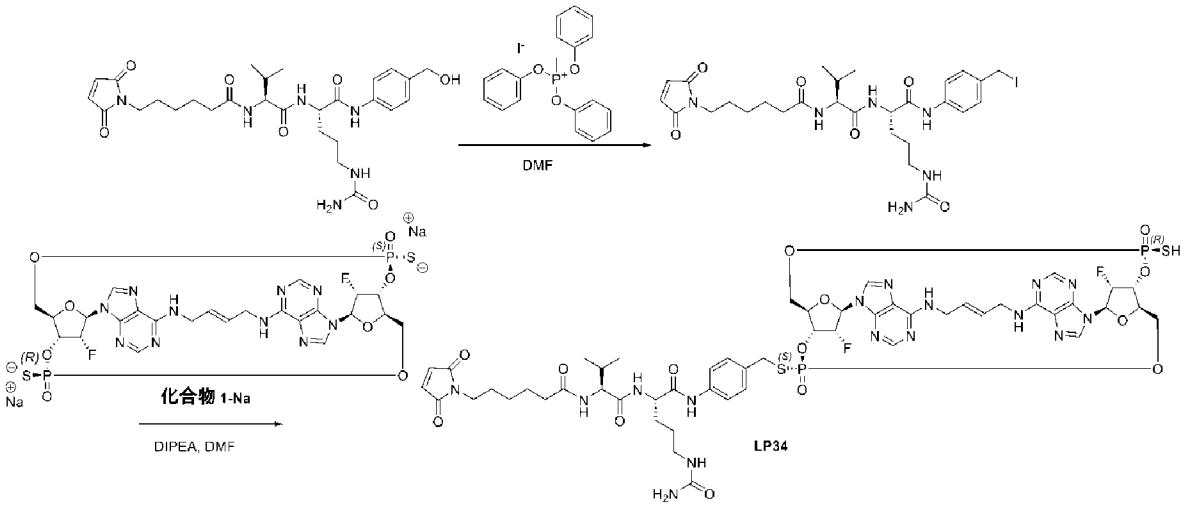
【0814】 **LP3**： LC-MS (ESI): 1215.3 $[M+H]^+$。^{1}H NMR (400 MHz, 甲醇-d_4) δ (ppm) = 8.77 - 8.46 (m, 1H), 8.30 - 7.90 (m, 6H), 7.40 (br s, 2H), 7.22 - 6.85 (m, 2H), 6.77 (s, 2H), 6.45 (br d, J = 14.5 Hz, 1H), 6.25 (br d, J = 19.9 Hz, 1H), 5.90 - 5.10 (m, 6H), 4.75 - 3.50 (m, 14H), , 3.46 (t, J = 7.0 Hz, 2H), 2.28 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 2.16 - 2.04 (m, 1H), 1.70 - 1.50 (m, 4H), 1.47 - 1.37 (m, 3H), 1.35 - 1.24 (m, 2H), 0.97 (t, J = 7.0 Hz, 6H)。分析型HPLC RT=6.74 min（儀器：Shimadzu LC20AD；柱：HALO C18（4.6 mm ID x 100 mm）；流動相A：水（0.05%

TFA），流動相B：MeCN（0.05% TFA）；流速：1.5 mL/min；溫度：40°C；梯度：10% B（t=0.01 min）、70% B（t=10 min）、95% B（t=12至14 min）；波長： 254 nm）

【0815】 **LP33**： LC-MS (ESI): 1215.3 $[M+H]^+$。^1H NMR (400 MHz, 甲醇-d4) δ 8.75 – 8.43 (m, 1H), 8.37 – 7.79 (m, 3H), 7.70 – 7.37 (m, 4H), 6.89 – 6.78 (m, 2H), 6.57 – 6.22 (m, 2H), 5.98 – 5.51 (m, 2H), 4.62 – 4.35 (m, 4H), 4.36 – 4.21 (m, 3H), 4.18 – 3.96 (m, 4H), 3.93 – 3.71 (m, 1H), 3.54 – 3.42 (m, 2H), 2.34 – 2.24 (m, 2H), 2.16 – 2.01 (m, 1H), 1.70 – 1.51 (m, 4H), 1.44 – 1.36 (m, 3H), 1.36 – 1.26 (m, 3H), 1.06 – 0.89 (m, 6H)。分析型HPLC RT=6.64 min（儀器：Shimadzu LC20AD；柱：HALO C18（4.6 mm ID x 100 mm）；流動相A：水（0.05% TFA），流動相B：MeCN（0.05% TFA）；流速：1.5 mL/min；溫度：40°C；梯度：10% B（t=0.01 min）、70% B（t=10 min）、95% B（t=12至14 min）；波長：254 nm）

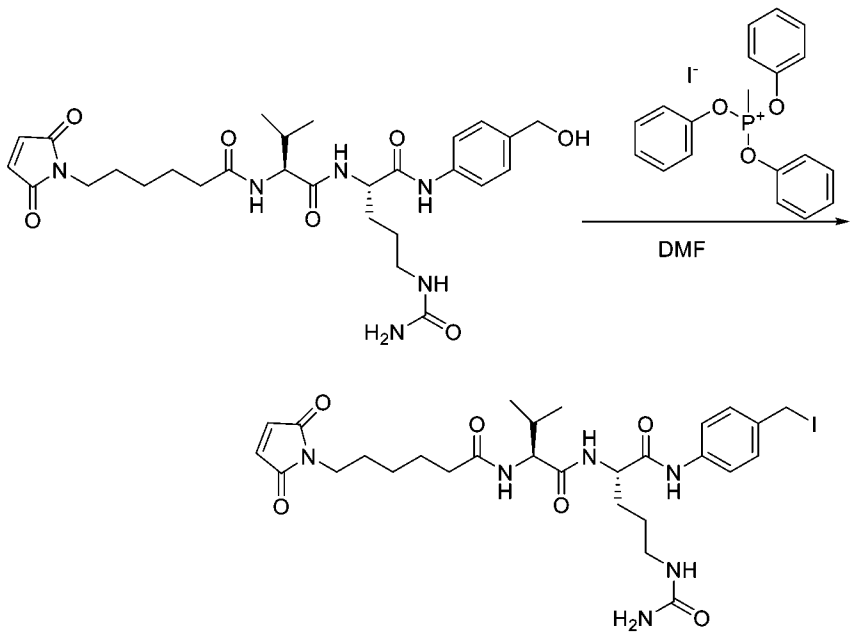
*33. **LP34**的合成*

【0816】 **LP34**的合成如下所示：



。

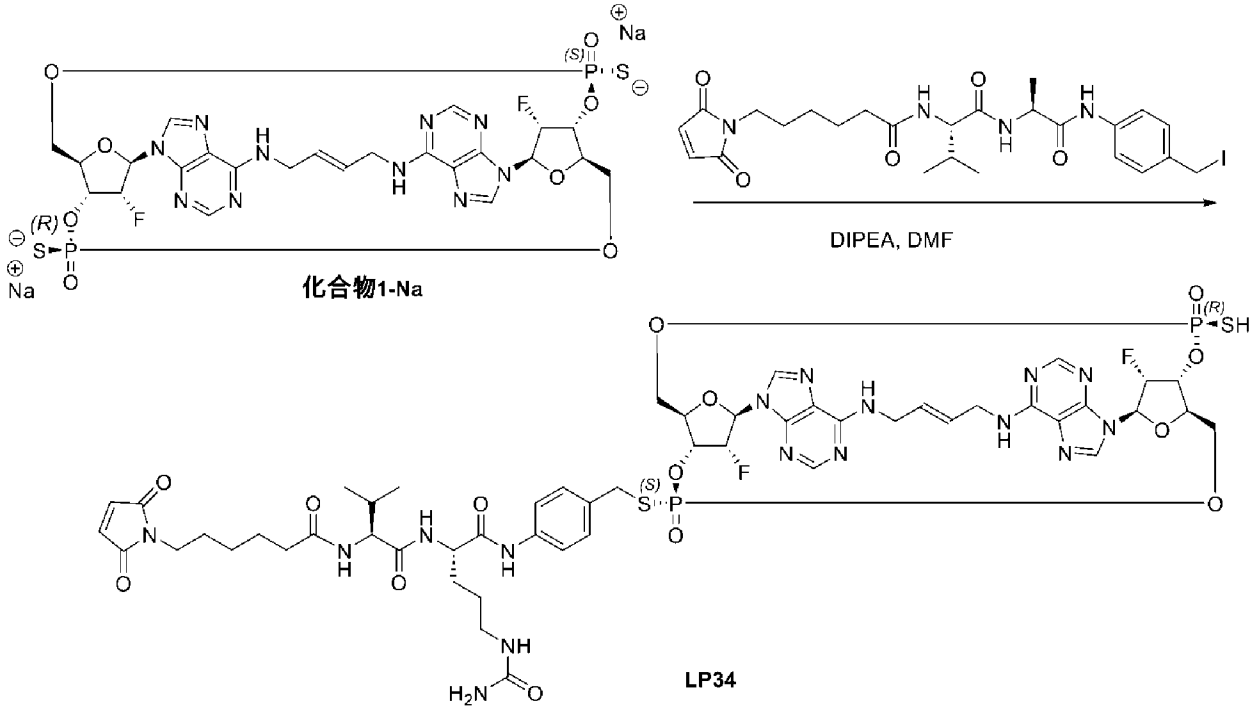
6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)-N-((S)-1-(((S)-1-((4-(碘甲基)苯基)胺基)-1-側氧基-5-脲基戊烷-2-基)胺基)-3-甲基-1-側氧基丁烷-2-基)己醯胺的合成



【0817】 在室溫，向6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)-N-((S)-1-(((S)-1-((4-(羥基甲基)苯基)胺基)-1-側氧基-5-脲基戊烷-2-基)胺基)-3-甲基-1-側氧基丁烷-2-基)己醯胺（55 mg，0.096 mmol）在DMF（0.5 mL）中的溶液中添加甲基三苯氧基碘化鏻（90 mg，0.199 mmol）。將所得混合物在室溫避光攪拌過夜。添加額外的甲基三苯氧基碘化鏻（30 mg）。4 h後，將反應混合物用20 mL EtOAc稀釋並用$Na_2S_2O_3$的飽和溶液（10 mL）洗滌。將水層用EtOAc（10 mL）萃取。將合併的有機層用30% NaCl水溶液（5 mL）洗滌並經Na_2SO_4乾燥、過濾並真空濃縮。將所得固體進一步真空乾燥並且無需進一步純化即可用於下一步驟。LC-MS (ESI): 683.20 $[M+H]^+$。

N-((S)-1-(((S)-1-((4-((((19S,22R,23R,23Ar,25S,27Ar,29R,210R,210Ar,212R,214Ar,39S,E)-23,210-二氟-212-巯基-25,212-二氧化物-23,23^a,27^a,29,210,210^a,214,214^a-八氫-19H,22H,27H,39H-4,9-二氮雜-1,3(9,6)-二噁吟雜-2(2,9)-二呋喃并[3,2-d:3',2'-j][1,3,7,9]四氧雜[2,8]二磷雜環十二烷環九蕃（diphosphacyclododecinacyclononaphan）-6-烯-25-基)硫代)甲基)苯基)胺基)-

1-側氧基-5-脲基戊烷-2-基)胺基)-3-甲基-1-側氧基丁烷-2-基)-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)己醯胺（LP34）的合成



化合物1-Na

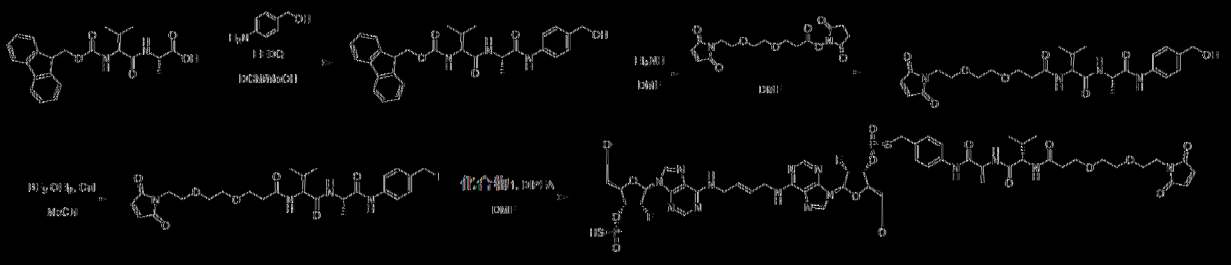
LP34

【0818】將(19S,22R,23R,23Ar,25R,27Ar,29R,210R,210Ar,212S,214Ar,39S,E)-23,210-二氟-25,212-二巯基-23,23a,27a,29,210,210a,214,214a-八氫-19H,22H,27H,39H-4,9-二氮雜-1,3(9,6)-二嘌呤雜-2(2,9)-二呋喃并[3,2-d:3',2'-j][1,3,7,9]四氧雜[2,8]二磷雜環十二烷環九蕃-6-烯 25,212-二氧化物, 二鈉鹽（50 mg，0.063 mmol）和6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)-N-((S)-1-(((S)-1-((4-(碘甲基)苯基)胺基)-1-側氧基-5-脲基戊烷-2-基)胺基)-3-甲基-1-側氧基丁烷-2-基)己醯胺（65.6 mg，0.053 mmol）在DMF（2.5 ml）中的溶液在室溫避光攪拌過夜。將所得溶液藉由製備型HPLC純化，這產生10.4 mg目標產物**LP34**。

【0819】LC-MS (ESI): 1301.38 $[M+H]^+$。

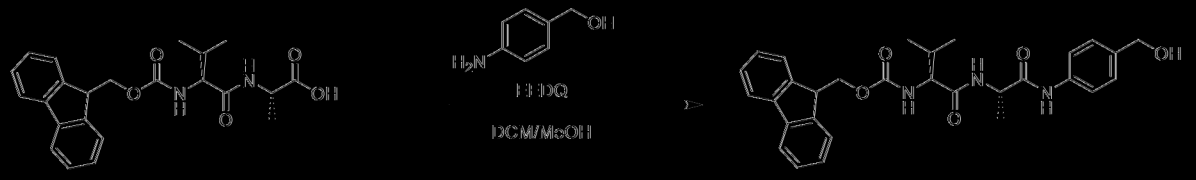
34. ***LP35****的合成*

【0820】**LP35**的合成如下所示：



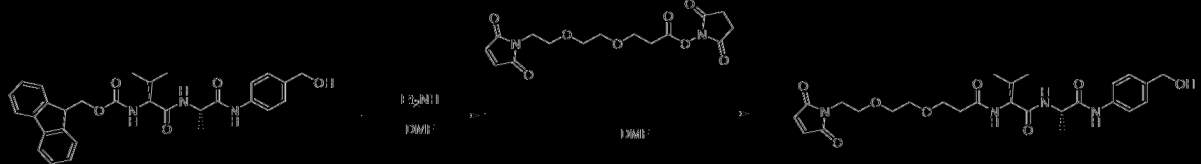
。

N-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基}-1-側氧基-5-脲基戊-2-基]胺基}-3-甲基-1-側氧基丁-2-基]-(9*H*-第9-芴基)甲氧基甲醯胺的合成



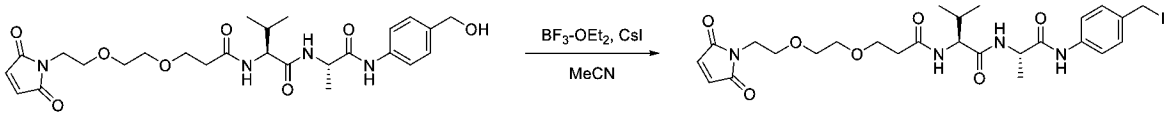
[0821] 在黑暗下向(2*S*)-2-[(2*S*)-2-({[(9*H*-第9-芴基)甲氧基]醯胺基}-3-甲基丁醯胺基]戊酸（5.53 g，13.472 mmol）在DCM（150 ml）和MeOH（20 ml）中的溶液中分批添加4-胺基苯甲醇（1.991 g，16.167 mmol）和1-乙氧基-2-乙氧基-1,2-二氫喹啉（6.66 g，26.945 mmol）。將混合物在室溫攪拌16小時。收集沈澱物並將它用DCM/MeOH（200 mL，9/1）和MTBE（100 mL）洗滌，以給出*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基}-1-側氧基-5-脲基戊-2-基]胺基}-3-甲基-1-側氧基丁-2-基]-(9*H*-第9-芴基)甲氧基甲醯胺（4.57 g）。^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-*d6*) δ ppm 0.87 (br d, *J* = 6.78 Hz, 3 H) 0.90 (br d, *J* = 6.78 Hz, 3 H) 1.31 (d, *J* = 7.03 Hz, 3 H) 1.94 - 2.06 (m, 1 H) 3.92 (br t, *J* = 7.97 Hz, 1 H) 4.17 - 4.35 (m, 3 H) 4.44 (br d, *J* = 5.52 Hz, 3 H) 5.11 (t, *J* = 5.65 Hz, 1 H) 7.24 (d, *J* = 8.41 Hz, 2 H) 7.29 - 7.37 (m, 2 H) 7.38 - 7.49 (m, 3 H) 7.54 (d, *J* = 8.28 Hz, 2 H) 7.75 (br t, *J* = 7.15 Hz, 2 H) 7.90 (d, *J* = 7.40 Hz, 2 H) 8.18 (br d, *J* = 7.03 Hz, 1 H), 9.93 (s, 1 H)

(2*S*)-2-(3-{2-[2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)乙氧基]乙氧基}丙醯胺基)-*N*-[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基}-1-側氧基-5-脲基戊-2-基]-3-甲基丁醯胺的合成



【0822】 向((*S*)-1-(((*S*)-1-((4-(羥基甲基)苯基)胺基)-1-側氧基丙烷-2-基)胺基)-3-甲基-1-側氧基丁烷-2-基)胺基甲酸(9*H*-芴-9-基)甲基酯（382 mg，0.741 mmol）在DMF（10 ml）中的溶液中添加二乙胺（0.369 ml，3.528 mmol）。將反應混合物在室溫攪拌1小時。將溶劑在減壓下除去。將所獲得的殘餘物溶解於DMF（10 ml）中並添加3-{2-[2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)乙氧基]乙氧基}丙酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（250 mg，0.706 mmol）。將反應在室溫攪拌16小時。將溶劑真空除去，並將所獲得的殘餘物藉由矽膠層析法純化，以給出(2*S*)-2-(3-{2-[2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)乙氧基]乙氧基}丙醯胺基)-*N*-[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺（117 mg）。^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6) δ ppm 0.84 (br d, *J*=6.78 Hz, 3 H) 0.88 (br d, *J*=6.78 Hz, 3 H) 1.31 (d, *J*=7.15 Hz, 3 H) 1.90 – 2.02 (m, 1 H) 2.32 - 2.48 (m, 2 H) 3.40 - 3.60 (m, 10 H) 4.21 (dd, *J*=8.34, 6.96 Hz, 1 H) 4.36 - 4.45 (m, 3 H) 5.10 (t, *J*=5.71 Hz, 1 H) 7.03 (s, 2 H) 7.24 (d, *J*=8.41 Hz, 2 H) 7.54 (d, *J*=8.53 Hz, 2 H) 7.87 (br d, *J*=8.66 Hz, 1 H) 8.16 (br d, *J*=7.03 Hz, 1 H) 9.84 (s, 1 H)。

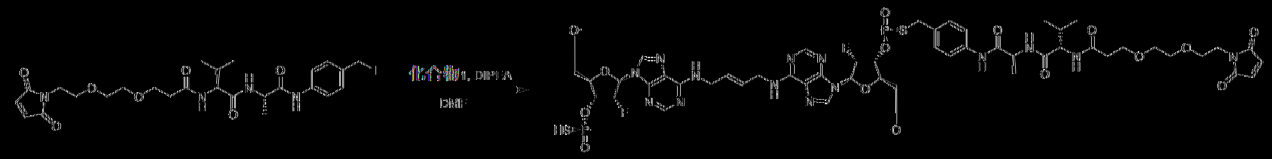
(2*S*)-2-(3-{2-[2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)乙氧基]乙氧基}丙醯胺基)-*N*-[(1*S*)-1-{[4-(碘甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺的合成



【0823】 在室溫，向(*S*)-2-(3-(2-(2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)乙氧基)乙氧基)丙醯胺基)-*N*-((*S*)-1-((4-(羥基甲基)苯基)胺基)-1-側氧基丙烷-2-基)-3-甲基丁醯胺（70 mg，0.131 mmol）在乙腈（2 ml，38.292 mmol）中的溶液中添加三氟化硼乙醚錯合物（0.021 ml，0.171 mmol），然後是碘化銫（41.0 mg，0.158 mmol）。將混合物在室溫攪拌16小時。將反應混合物用DCM（50 mL）稀釋，並將有機層用H_2O（10 mL）和飽和水性$NaHCO_3$（10 mL）洗滌。

將合併的水層用DCM（15 ml x 2）萃取。然後將合併的有機層用5%水性$NaHSO_3$洗滌，經Na_2SO_4乾燥。濾出固體，將溶劑在減壓下除去。所獲得的粗製材料（66.4 mg）無需進一步純化即可用於下一步驟。

(2*S*)-*N*-[(1*S*)-1-{[4-({[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-39-氧硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-34-基]氧硫基}甲基)苯基]胺基}甲醯基)乙基]-2-(3-{2-[2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)乙氧基]乙氧基}內醯胺基)-3-甲基丁醯胺（DP35）的合成

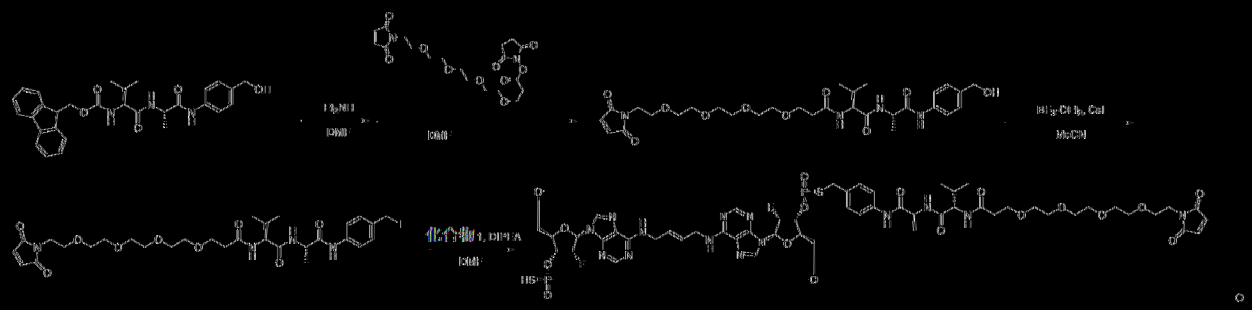


[0824] 在0°C，向化合物1（70 mg，0.094 mmol）和DIPEA（0.066 ml，0.375 mmol）在DMF（2 ml）中的懸浮液中添加DMF（2 ml）中的粗製(*S*)-2-(3-(2-(2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)乙氧基)乙氧基)內醯胺基)-*N*-((*S*)-1-((4-(曱基)苯基)胺基)-1-側氧基內烷-2-基)-3-甲基丁醯胺（60.2 mg）。使反應混合物加溫至室溫並攪拌16小時。將溶劑在減壓下除去，並將所獲得的粗製材料藉由反相HPLC純化，以給出(2*S*)-*N*-[(1*S*)-1-{[4-({[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-39-氧硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-34-基]氧硫基}甲基)苯基]胺基}甲醯基)乙基]-2-(3-{2-[2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)乙氧基]乙氧基}內醯胺基)-3-甲基丁醯胺（DP35）（14.6 mg）。

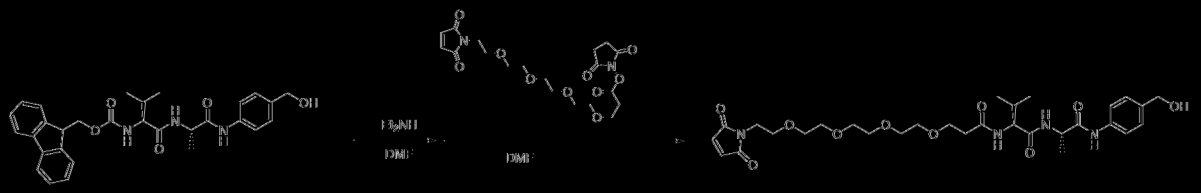
[0825] ESI [M+H]+ 1261.03。

35. *LP36的合成*

[0826] LP36的合成如下所示：



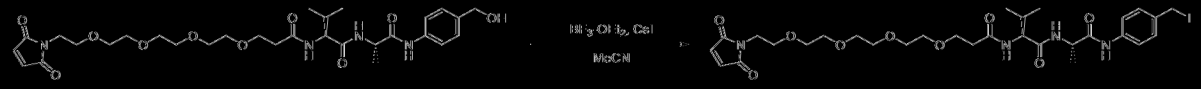
1-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-((1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基}-3-甲基-1-側氧基丁烷-2-基)-3,6,9,12-四氧雜十七烷-15-醯胺的合成



[0827] 向((*S*)-1-(((*S*)-1-((4-(羥基甲基)苯基)胺基)-1-側氧基丙烷-2-基)胺基)-3-甲基-1-側氧基丁烷-2-基)胺基甲酸(9*H*-茀-9-基)甲基酯（306 mg，0.593 mmol）在DMF（10 ml）中的溶液中添加二乙胺（0.295 ml，2.825 mmol）。將反應混合物在室溫攪拌1小時，然後將溶劑在減壓下除去。將所獲得的殘餘物溶解於DMF（10 ml）中並添加1-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-3,6,9,12-四氧雜十七烷-15-酸2,5-二側氧基吡咯烷-1-基酯（250 mg，0.565 mmol）並將反應混合物在室溫攪拌16小時。將溶劑在減壓下除去，並將所獲得的殘餘物藉由矽膠層析法純化，以給出產物（223 mg）。^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-*d6*) δ ppm 0.84 (br d, *J* = 6.78 Hz, 3 H) 0.88 (br d, *J* = 6.65 Hz, 3 H) 1.31 (br d, *J* = 7.03 Hz, 3 H) 1.91 - 2.03 (m, 1 H) 2.33 - 2.48 (m, 2 H) 3.42 - 3.62 (m, 18 H) 4.21 (br dd, *J* = 8.47, 6.84 Hz, 1 H) 4.35 - 4.46 (m, 3 H) 5.10 (t, *J* = 5.65 Hz, 1 H) 7.03 (s, 2

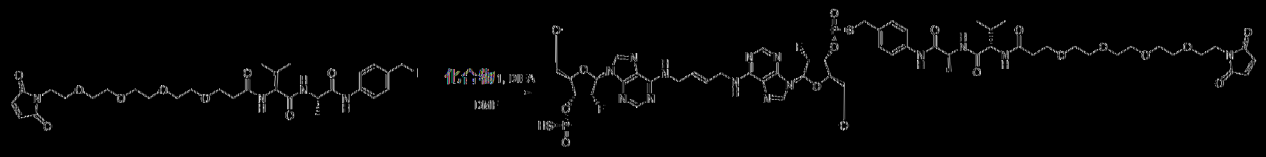
H) 7.24 (d, *J* 8.41 Hz, 2 H) 7.54 (d, *J* 8.41 Hz, 2 H) 7.89 (br d, *J* 8.53 Hz, 1 H) 8.16 (br d, *J* 6.90 Hz, 1 H) 9.84 (s, 1 H)。

1-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(碘甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-3,6,9,12-四氧雜十七烷-15-醯胺的合成



[0828] 在室溫，向1-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-3,6,9,12-四氧雜十七烷-15-醯胺（80 mg，0.129 mmol）在乙腈（2 ml）中的溶液中添加三氟化鈰乙醯鉻合物（0.021 ml，0.168 mmol），然後添加碘化鈉（40.2 mg，0.155 mmol）（分批）。將反應混合物在室溫攪拌16小時、然後用DCM（50 mL）稀釋。將有機層用H_2O（10 mL）和飽和水性$NaHCO_3$（10 mL）洗滌，並將合併的水層用DCM（15 ml x 2）萃取。將合併的有機層用5%水性$NaHSO_3$洗滌並經Na_2SO_4乾燥。用過濾器除去固體並將溶劑在減壓下除去。粗製材料無需進一步純化即可用於下一步驟。

N-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-({[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-39-氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十全氫-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-十烯-34-基]氫硫基}甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-1-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-3,6,9,12-四氧雜十七烷-15-醯胺（DP36）的合成

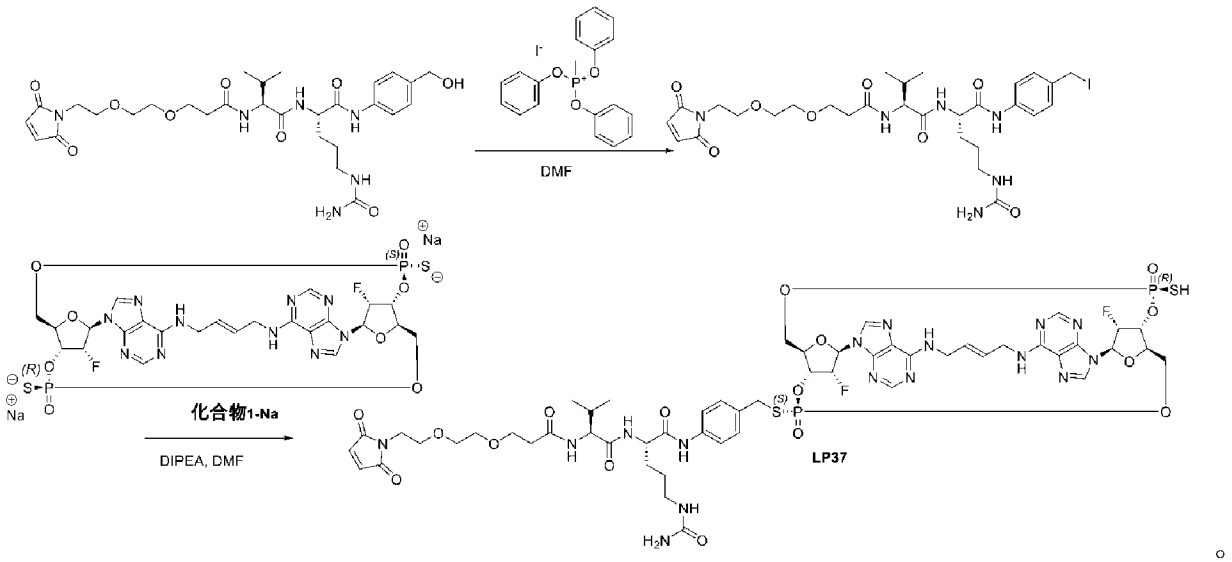


【0829】 在0ºC，向化合物1（70 mg，0.094 mmol）和DIPEA（0.066 ml，0.375 mmol）在DMF（2 ml）中的溶液中添加DMF（2 ml）中的1-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(碘甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-3,6,9,12-四氧雜十五烷-15-醯胺（68.5 mg，0.075 mmol）。使反應混合物加溫至室溫並攪拌16小時。將溶劑在減壓下除去，並將所獲得的粗製材料藉由反相HPLC純化，以給出**LP36**（14.0 mg）。

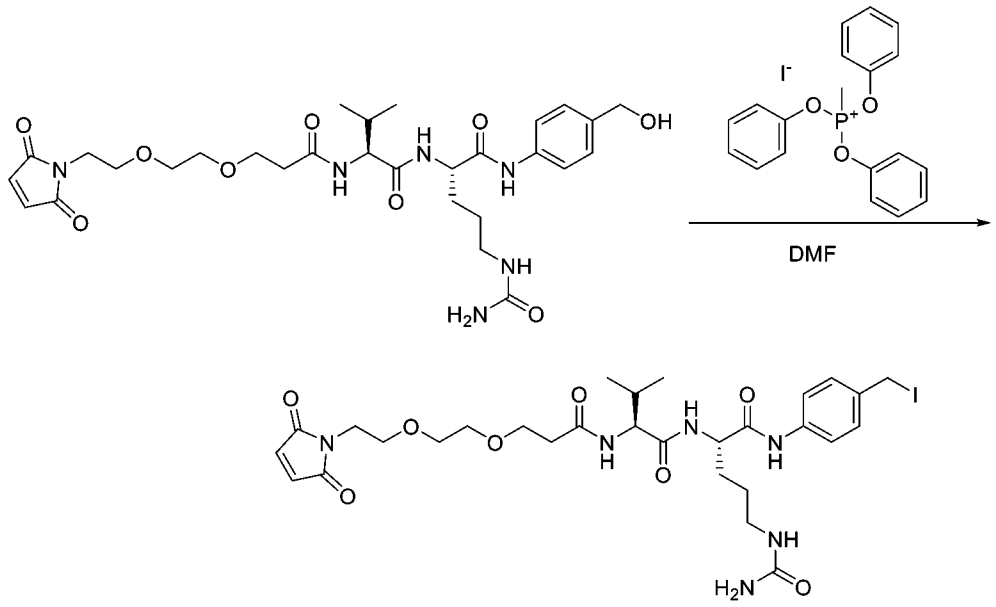
【0830】 ESI $[M+H]^+$: 1349.18。

*36.　**LP37**的合成*

【0831】 **LP37**的合成如下所示：

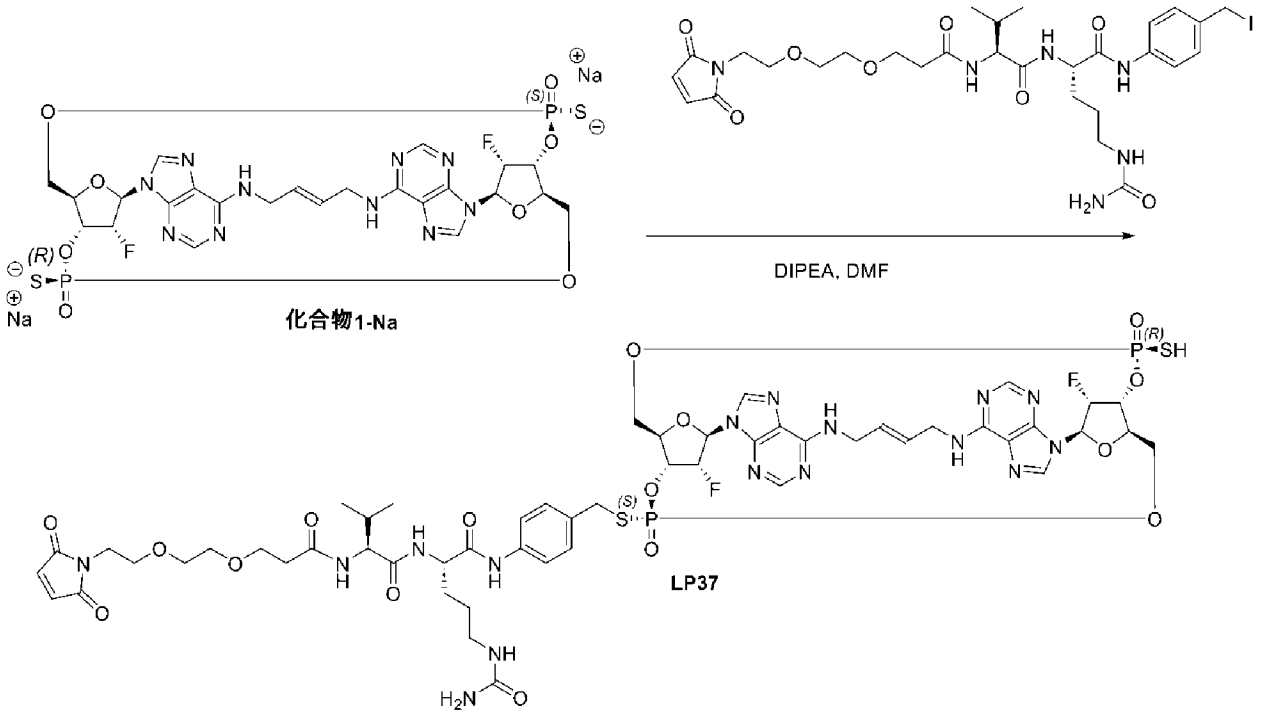


(S)-2-((S)-2-(3-(2-(2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)乙氧基)乙氧基)丙醯胺基)-3-甲基丁醯胺基)-N-(4-(碘甲基)苯基)-5-脲基戊醯胺的合成



【0832】在室溫，向(S)-2-((S)-2-(3-(2-(2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)乙氧基)乙氧基)丙醯胺基)-3-甲基丁醯胺基)-N-(4-(羥基甲基)苯基)-5-脲基戊醯胺（50 mg，0.081 mmol）在DMF（1 mL）中的溶液中添加甲基三苯氧基碘化鏻（110 mg，0.242 mmol）。將所得混合物在室溫避光攪拌5 h。將反應混合物用20 mL EtOAc稀釋並用$Na_2S_2O_3$的飽和溶液（5 mL）洗滌。將水層用EtOAc（10 mL）萃取。將合併的有機層用30% NaCl水溶液（5 mL）洗滌、經Na_2SO_4乾燥、過濾並真空濃縮。將所得固體進一步真空乾燥並且無需進一步純化即可用於下一步驟。LC-MS (ESI): 729.32 $[M+H]^+$。

(S)-N-(4-((((19S,22R,23R,23aR,25S,27aR,29R,210R,210aR,212R,214aR,39S,E)-23,210-二氟-212-巰基-25,212-二氧化物-23,23a,27a,29,210,210a,214,214a-八氫-19H,22H,27H,39H-4,9-二氮雜-1,3(9,6)-二噁吟雜-2(2,9)-二呋喃并[3,2-d:3',2'-j][1,3,7,9]四氧雜[2,8]二磷雜環十二烷環九蕃-6-烯-25-基)硫代)甲基)苯基)-2-((S)-2-(3-(2-(2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)乙氧基)乙氧基)丙醯胺基)-3-甲基丁醯胺基)-5-脲基戊醯胺（LP37）的合成

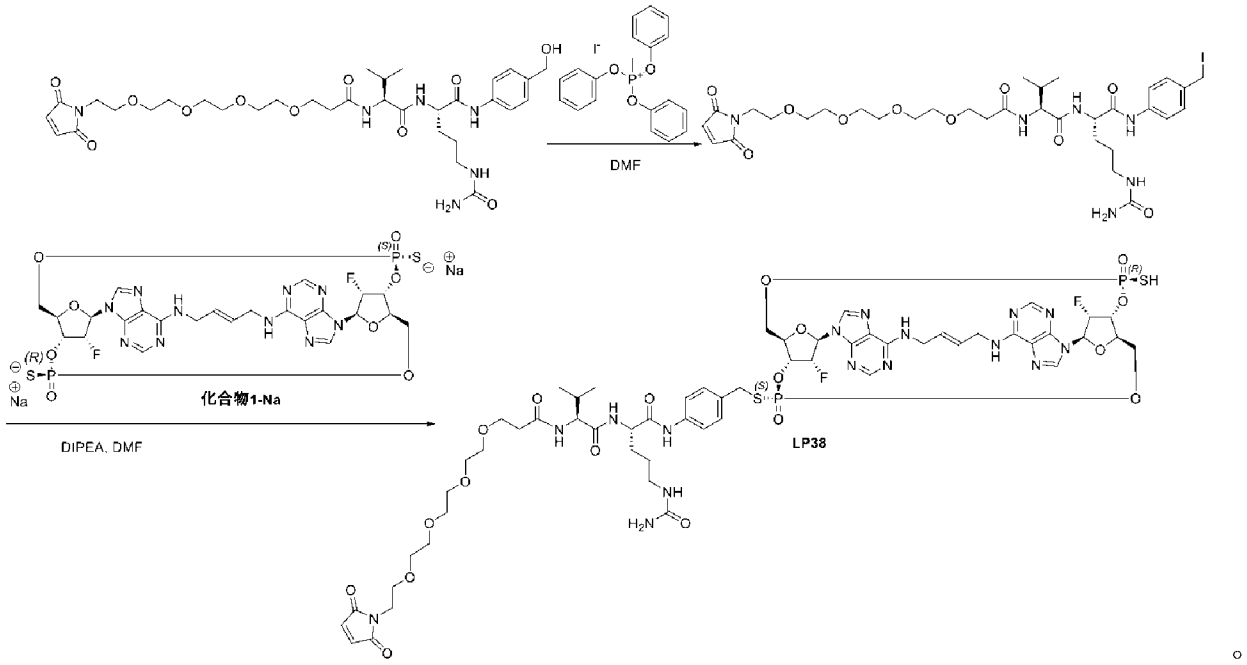


【0833】 將(19S,22R,23R,23aR,25R,27aR,29R,210R,210aR,212S,214aR,39S,E)-23,210-二氟-25,212-二巯基-23,23a,27a,29,210,210a,214,214a-八氫-19H,22H,27H,39H-4,9-二氮雜-1,3(9,6)-二嘌呤雜-2(2,9)-二呋喃并[3,2-d:3',2'-j][1,3,7,9]四氧雜[2,8]二磷雜環十二烷環九蕃-6-烯 25,212-二氧化物, 二鈉鹽（70 mg，0.088 mmol）和(S)-2-((S)-2-(3-(2-(2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)乙氧基)乙氧基)丙醯胺基)-3-甲基丁醯胺基)-N-(4-(碘甲基)苯基)-5-脲基戊醯胺（57.2 mg，0.071 mmol）在DMF（2.5 ml）中的溶液在室溫避光攪拌30 min。將所得溶液保持在-20ºC過週末、加溫至室溫並用40 mL EtoAc處理。將所得固體藉由過濾收集、用EtOAc沖洗並真空乾燥。將所得固體藉由製備型HPLC進一步純化，這產生8.7 mg目標產物**LP37**。

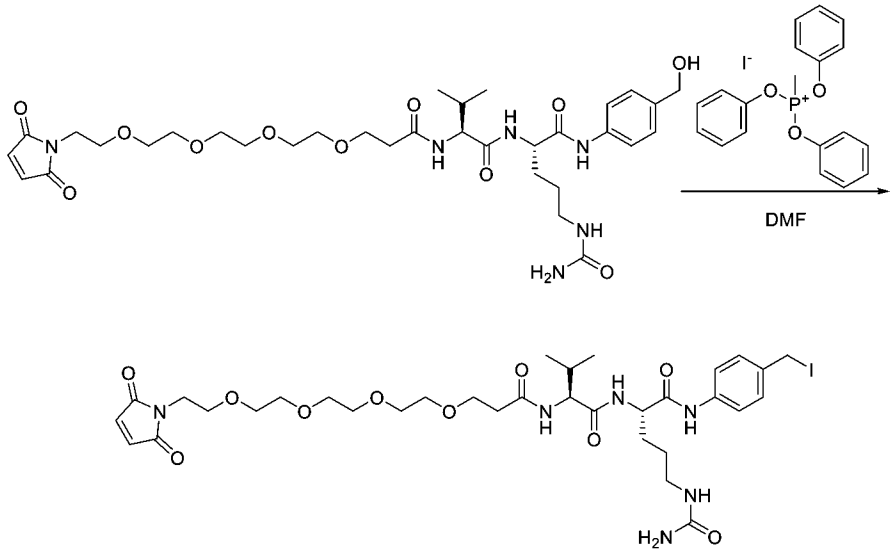
【0834】 LC-MS (ESI): 1347.28 $[M+H]^+$。

37. ***LP38****的合成*

【0835】 **LP38**的合成如下所示：



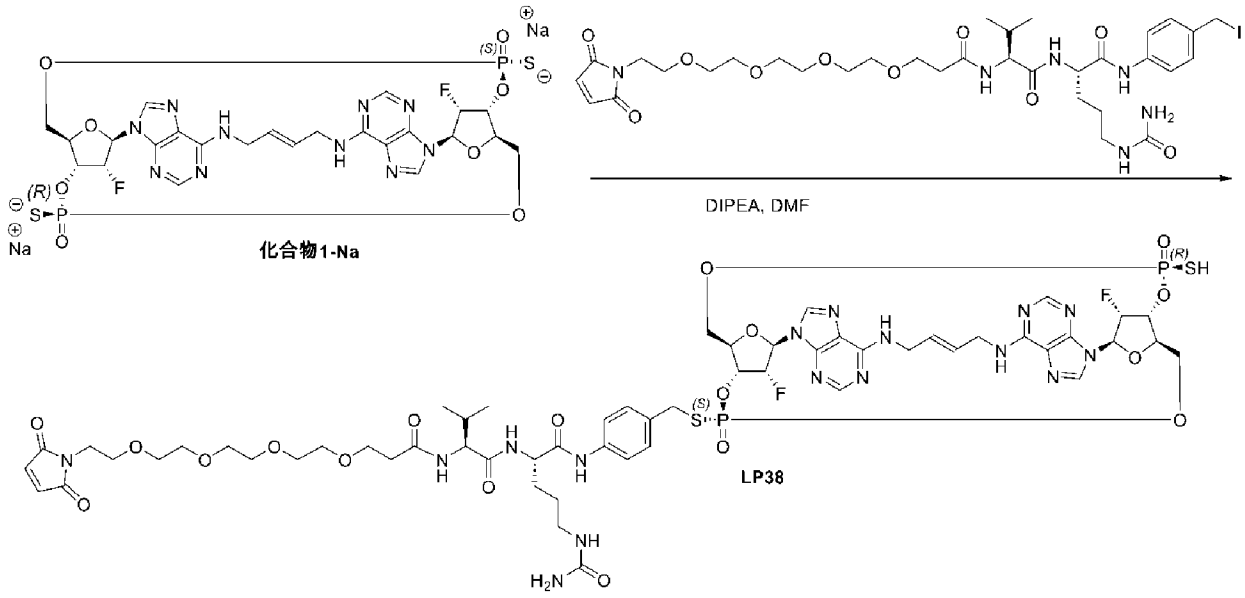
1-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)-N-((S)-1-(((S)-1-((4-(碘甲基)苯基)胺基)-1-側氧基-5-脲基戊烷-2-基)胺基)-3-甲基-1-側氧基丁烷-2-基)-3,6,9,12-四氧雜十五烷-15-醯胺的合成



【0836】在室溫，向1-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)-N-((S)-1-(((S)-1-((4-(羥基甲基)苯基)胺基)-1-側氧基-5-脲基戊烷-2-基)胺基)-3-甲基-1-側氧基丁烷-2-基)-3,6,9,12-四氧雜十五烷-15-醯胺（70 mg，0.099 mmol）在DMF（1 mL）中的溶液中添加甲基三苯氧基碘化鏻（134 mg，0.297 mmol）。將所得混合物在室溫避光攪拌過夜。將反應混合物用15 mL DCM稀釋並用$Na_2S_2O_3$的飽

和溶液（5 mL）洗滌。將水層用DCM（10 mL）萃取。將合併的有機層用30% NaCl水溶液（5 mL）洗滌、經Na_2SO_4乾燥、過濾並真空濃縮。將所得固體進一步真空乾燥並且無需進一步純化即可用於下一步驟。LC-MS (ESI): 817.22 $[M+H]^+$。

N-((S)-1-(((S)-1-((4-((((19S,22R,23R,23aR,25S,27aR,29R,210R,210aR,212R,214aR,39S,E)-23,210-二氟-212-巰基-25,212-二氧化物-23,23a,27a,29,210,210a,214,214a-八氫-19H,22H,27H,39H-4,9-二氮雜-1,3(9,6)-二嘌呤雜-2(2,9)-二呋喃并[3,2-d:3',2'-j][1,3,7,9]四氧雜[2,8]二磷雜環十二烷環九蕃-6-烯-25-基)硫代)甲基)苯基)胺基)-1-側氧基-5-脲基戊烷-2-基)胺基)-3-甲基-1-側氧基丁烷-2-基)-1-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)-3,6,9,12-四氧雜十五烷-15-醯胺（LP38）的合成



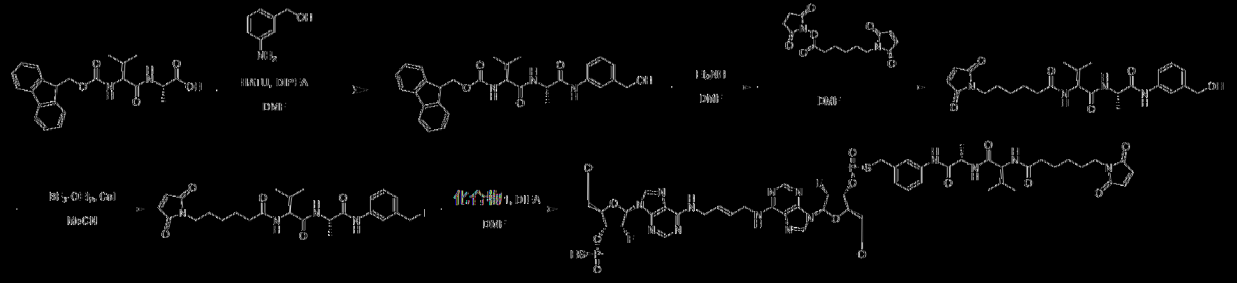
【0837】將(19S,22R,23R,23aR,25R,27aR,29R,210R,210aR,212S,214aR,39S,E)-23,210-二氟-25,212-二巰基-23,23a,27a,29,210,210a,214,214a-八氫-19H,22H,27H,39H-4,9-二氮雜-1,3(9,6)-二嘌呤雜-2(2,9)-二呋喃并[3,2-d:3',2'-j][1,3,7,9]四氧雜[2,8]二磷雜環十二烷環九蕃-6-烯 25,212-二氧化物, 二鈉鹽（80 mg，0.101 mmol）和1-(2,5-二

側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)-N-((S)-1-(((S)-1-((4-(羥甲基)苯基)胺基)-1-側氧基-5-脲基戊烷-2-基)胺基)-3-甲基-1-側氧基丁烷-2-基)-3,6,9,12-四氧雜十七烷-15-醯胺（82 mg，0.10 mmol）在DMF（2.5 ml）中的溶液在室溫避光攪拌1 h。將所得溶液用30 mL EtOAc處理。將所得固體藉由過濾收集、用EtOAc沖洗並真空乾燥。將所得固體藉由製備型HPLC進一步純化，這產生13.5 mg目標產物LP38。

[0838] LC-MS (ESI): 1435.32 [M+H]+。

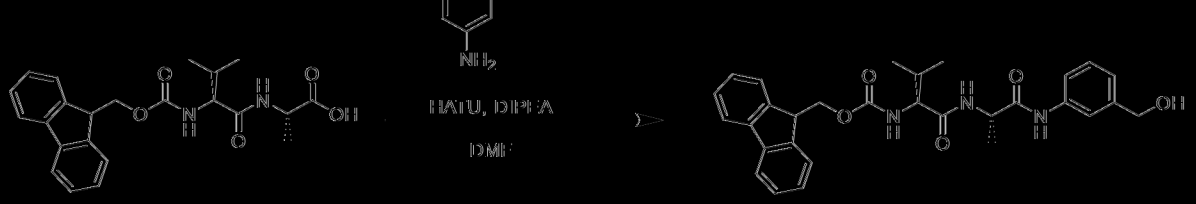
38. LP39的合成

[0839] LP39的合成如下所示：



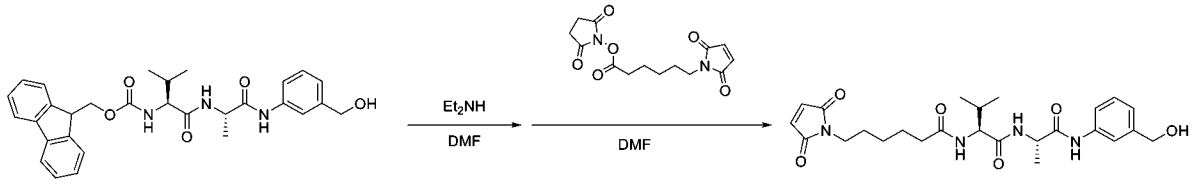
。

N-((1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[3-(羥甲基)苯基]胺甲醯基}乙基]胺甲醯基}-2-甲基丙基)胺甲酸(9*H*-第-9-基)甲基酯的合成



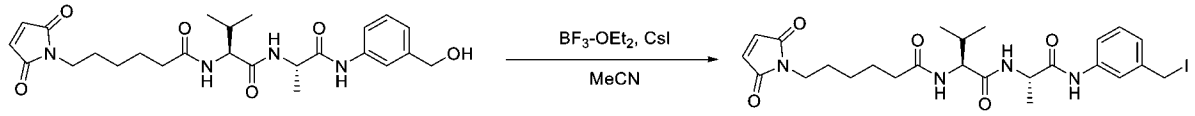
[0840] 向Fmoc-Val-Ala-OH（400 mg，0.974 mmol）和(3-胺基苯基)甲醇（180 mg，1.462 mmol）在DMF（10 mL）中的溶液中添加DIPEA（0.851 mL，4.872 mmol）和HATU（741 mg，1.949 mmol）。將反應混合物在室溫攪拌2小時，然後在減壓下除去過量的DMF。向所獲得的殘餘物中添加水（50 mL）以給出沈澱物。收集沈澱物並將它用H_2O和IMTBE洗滌，以給出呈淡棕色固體的產物（318 mg）。

6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1- {[(1*S*)-1-{[3- (羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺的合成



【0841】 向((*S*)-1-(((*S*)-1-((3-(羥基甲基)苯基)胺基)-1-側氧基丙烷-2-基)胺基)-3-甲基-1-側氧基丁烷-2-基)胺基甲酸(9*H*-芴-9-基)甲基酯（299 mg，0.579 mmol）在DMF（6 ml）中的溶液中添加二乙胺（0.288 ml，2.757 mmol）。將反應混合物在室溫攪拌1小時，然後將溶劑在減壓下除去。將所獲得的殘餘物溶解於DMF（6 ml）中並添加6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（170 mg，0.551 mmol）且在室溫攪拌2小時。將溶劑在減壓下除去，並將所獲得的殘餘物藉由反相矽膠層析法（H_2O/MeCN/HCOOH = 95/5/0.1至50/50/0.1）純化，以給出產物（85.1 mg）。

6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[3-(碘甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺的合成



【0842】 在室溫，向6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-((*S*)-1-(((*S*)-1-((3-(羥基甲基)苯基)胺基)-1-側氧基丙烷-2-基)胺基)-3-甲基-1-側氧基丁烷-2-基)己醯胺（86.1 mg，0.177 mmol）在乙腈（2 ml）中的溶液中添加三氟化硼乙醚錯合物（0.028 ml，0.23 mmol），然後是碘化銫（55.2 mg，0.212 mmol）。將混合物在室溫攪拌16小時，然後用DCM（50 mL）稀釋。將有機層用H_2O（10 mL）和飽和水性$NaHCO_3$（10 mL）洗滌。將合併的水層用DCM（15 ml x 2）萃取，並且將合併的有機層用5%水性$NaHSO_3$洗滌並經Na_2SO_4乾

燥。用過濾器除去固體並將溶劑在減壓下除去。所獲得的粗製材料無需進一步純化即可用於下一步驟。

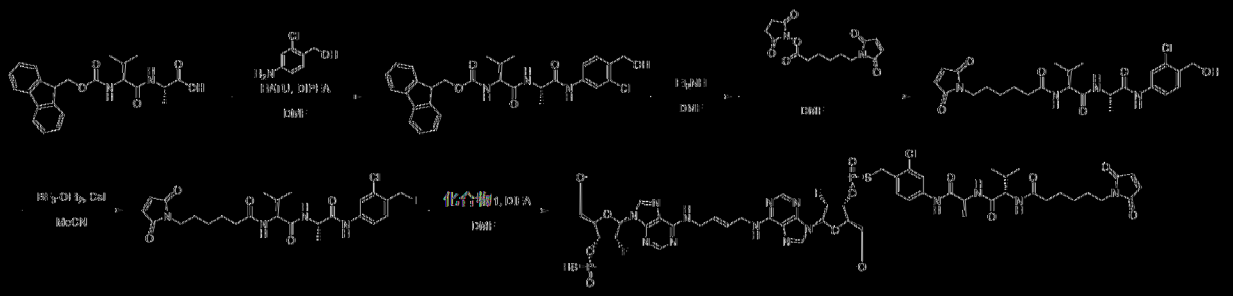
N-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[3-({[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氯-34,39-二側氧基-39-氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氫雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-34-基]氫硫基}甲基)苯基]胺基}甲醯基)乙基]胺基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺（DLP39）的合成

[0843] 在0°C，向化合物1（50 mg，0.067 mmol）和DIPEA（0.047 ml，.268 mmol）在DMF（2 ml，25.829 mmol）中的懸浮液中添加DMF（2 ml）中的6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[3-(馬來醯亞胺基)苯基]胺基}甲醯基)-2-甲基丙基]己醯胺（53.3 mg，0.054 mmol）。使反應混合物加溫至室溫並攪拌16小時。將溶劑在減壓下除去，並將所獲得的粗製材料藉由反相HPLC純化，以給出DLP39（6.5 mg）。

[0844] LC-MS (ESI): 1214.93[M+H]$^+$。

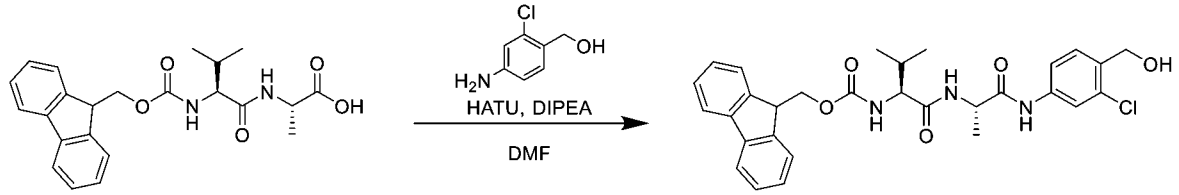
39. DLP40的合成

[0845] DLP40的合成如下所示：



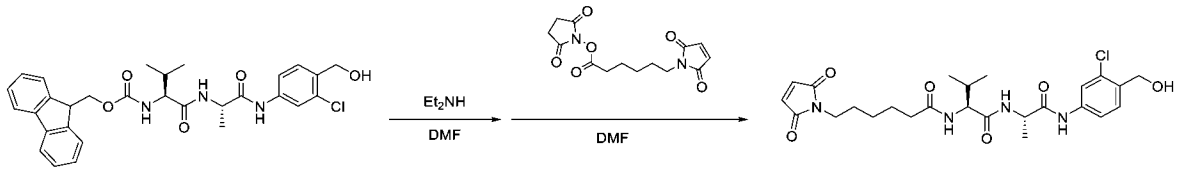
。

_N_-[(1_S_)-1-{[(1_S_)-1-{[3-氯-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸(9_H_-芴-9-基)甲基酯的合成



【0846】 向(2_S_)-2-[(2_S_)-2-({[(9_H_-芴-9-基)甲氧基]羰基}胺基)-3-甲基丁醯胺基]丙酸（600 mg，1.462 mmol）和(4-胺基-2-氯苯基)甲醇（346 mg，2.193 mmol）在DMF中的溶液中添加DIPEA（1277 µl，7.309 mmol），然後是HATU（1112 mg，2.923 mmol）。將反應在室溫攪拌2小時，然後在減壓下除去DMF。將水（50 mL）添加至殘餘物中並收集出現的沈澱物。將沈澱物藉由矽膠層析法（己烷/EtOAc = 50/50至0/100）純化，以給出產物（197 mg）。^{1}H NMR (400 MHz, 甲醇-_d_4) δ ppm 0.87 – 1.11 (m, 6 H) 1.11 – 1.35 (m, 3 H) 1.45 (dd, _J_=7.15, 1.88 Hz, 2 H) 1.95 – 2.14 (m, 1 H) 3.10 -3.31 (m, 1 H) 3.34 – 3.38 (m, 1 H) 3.80 (br d, _J_=8.53 Hz, 1 H) 3.96 (br d, _J_=6.90 Hz, 1 H) 4.07 – 4.31 (m, 1 H) 4.34 – 4.57 (m, 3 H) 4.61 (s, 1 H) 4.66 (s, 1 H) 7.25 – 7.50 (m, 5 H) 7.53 – 7.73 (m, 3 H) 7.76 – 7.82 (m, 2 H)。

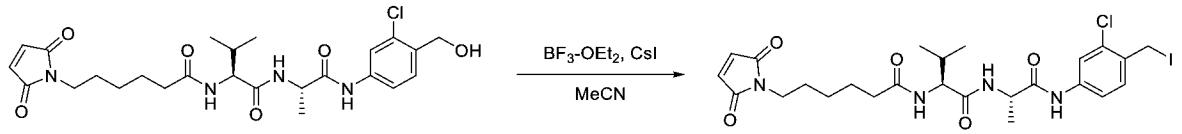
_N_-[(1_S_)-1-{[(1_S_)-1-{[3-氯-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1_H_-吡咯-1-基)己醯胺的合成



【0847】 向((_S_)-1-(((_S_)-1-((3-氯-4-(羥基甲基)苯基)胺基)-1-側氧基丙烷-2-基)胺基)-3-甲基-1-側氧基丁烷-2-基)胺基甲酸(9_H_-芴-9-基)甲基酯（196 mg，0.357 mmol）在DMF（5 ml）中的溶液中添加二乙胺（0.169 ml，1.622 mmol）。將反應混合物在室溫攪拌1小時，然後將溶劑在減壓下除去。將所獲

得的殘餘物溶解於DMF（5 ml）中並添加6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（100 mg，0.324 mmol）且在室溫攪拌2小時。將溶劑在減壓下除去，並將所獲得的殘餘物藉由反相矽膠層析法（H_2O/MeCN/HCOOH = 95/5/0.1至50/50/0.1）純化，以給出粗製產物。將粗製產物懸浮於DCM/MeOH（9/1）中，並且收集並乾燥沈澱物，以給出呈白色固體的產物（97.0 mg）。1H NMR (400 MHz, 甲醇-*d*4) δ ppm 0.92 – 1.14 (m, 6 H) 1.14 – 1.36 (m, 4 H) 1.42 – 1.69 (m, 7 H) 2.07 (br d, *J*=16.06 Hz, 1 H) 2.22 – 2.34 (m, 2 H) 2.83 – 2.89 (m, 1 H) 3.01 (s, 1 H) 3.34 – 3.53 (m, 2 H) 3.96 (br d, *J*=8.41 Hz, 1 H) 4.18 (br s, 1 H) 4.43 – 4.58 (m, 1 H) 4.66 (s, 2 H) 6.78 (s, 1 H) 6.79 – 6.82 (m, 1 H) 7.40 – 7.51 (m, 1 H) 7.64 – 7.71 (m, 1 H) 7.79 (s, 1 H) 7.87 (s, 1 H) 8.00 (s, 1 H)。

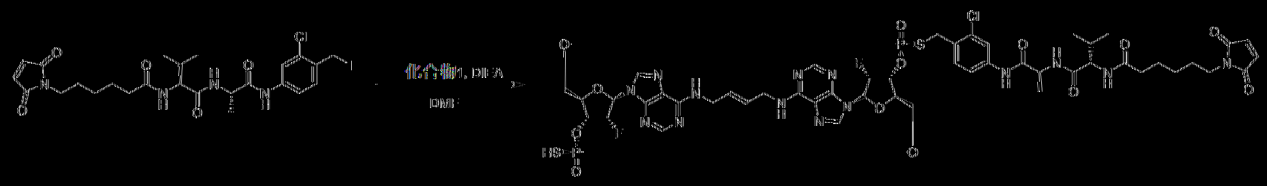
_N_-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[3-氯-4-(碘甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)己醯胺的合成



【0848】 在室溫，向*N*-((*S*)-1-(((*S*)-1-((3-氯-4-(羥基甲基)苯基)胺基)-1-側氧基丙烷-2-基)胺基)-3-甲基-1-側氧基丁烷-2-基)-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺（93.4 mg，0.179 mmol）在乙腈（2 ml）中的溶液中添加三氟化硼乙醚錯合物（0.029 ml，0.233 mmol），然後是碘化銫（55.9 mg，0.215 mmol）。將混合物在室溫攪拌16小時，然後用DCM（50 mL）稀釋。將有機層用H_2O（10 mL）和飽和水性$NaHCO_3$（10 mL）洗滌。將合併的水層用DCM（15 ml x 2）萃取，並且將合併的有機層用5%水性$NaHSO_3$洗滌並經Na_2SO_4乾燥。用過濾器除去固體並將溶劑在減壓下除去。所獲得的粗製材料無需進一步

純化即可用於下一步驟（80.4 mg，藉由UPLC上的UV測得純度為58%）。LC-MS (ESI): 631.6 [M+H]+。

N-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[3-氨基-4-({[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二羥基-39-氧硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氧雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{1,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-34-基]氧硫基}甲基)苯基]胺基}甲醯基)乙基]胺基}甲醯基)-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺（LP40）的合成

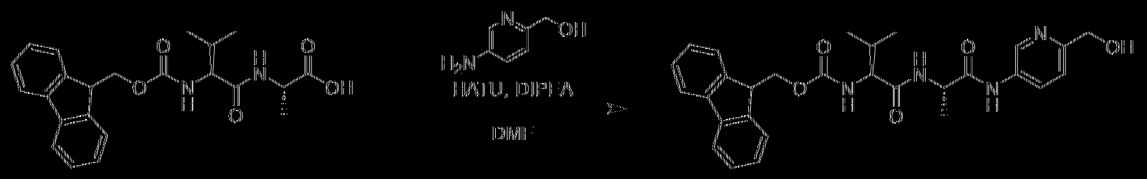


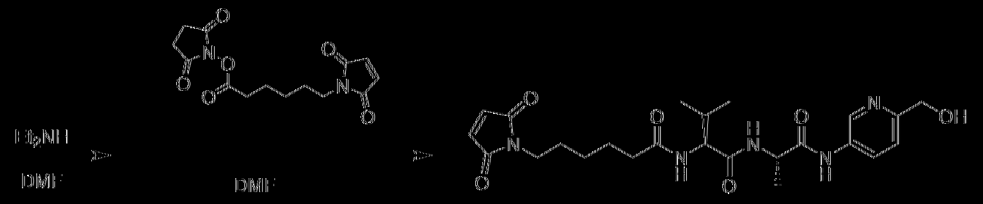
[0849] 在0°C，向化合物1（70 mg，0.094 mmol）和DIPEA（0.047 ml，.268 mmol）在DMF（2 ml）中的懸浮液中添加DMF（2 ml）中的*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[3-氨基-4-(肼甲基)苯基]胺基}甲醯基)乙基]胺基}甲醯基)-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺（79.0 mg，58%純度，0.0726 mmol）。使反應混合物加溫至室溫並攪拌16小時。將溶劑在減壓下除去，並將所獲得的粗製材料藉由反相HPLC純化，以給出LP40（9.7 mg）。

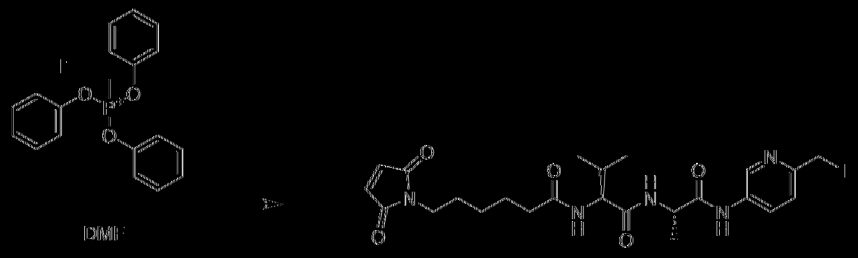
[0850] LC-MS (ESI): 1249.01 [M+H]+。

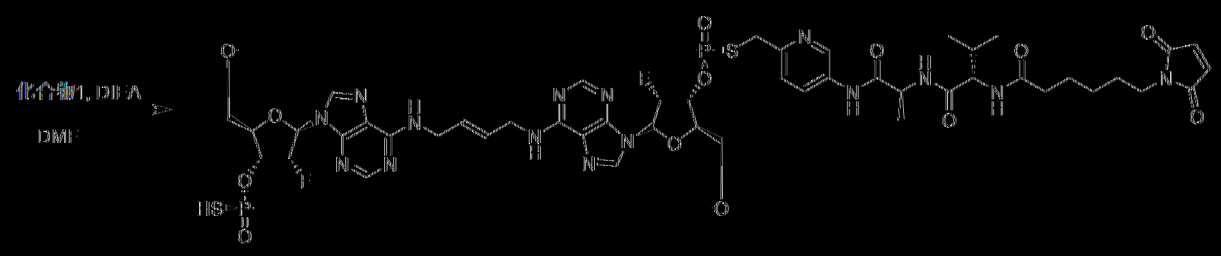
40. LP41的合成

[0851] LP41的合成如下所示：

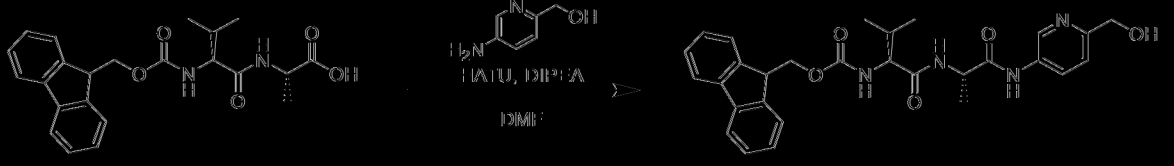








N-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[6-(溴其甲其)吡啶-3-其胺其甲羰其]乙其胺其甲羰其}-2-甲其丙其胺其甲酸(9*H*-芴-9-其)甲其酯的合成

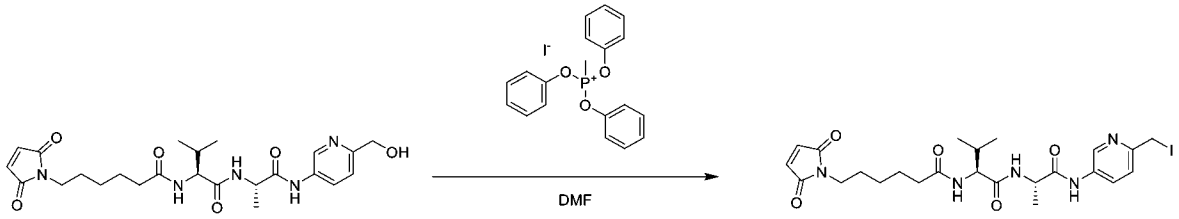


[0852] 向(2*S*)-2-[(2*S*)-2-({[(9*H*-芴-9-其)甲氧其]羰其}胺其)-3-甲其丁醯胺其]丙酸（840 mg，2.046 mmol）和(5-胺其吡啶-2-其)甲醇（381 mg，3.07 mmol）在DMF（15 ml）中的溶液中添加DIPEA（1.787 ml，10.232 mmol），然後添加HATU（1556 mg，4.093 mmol）（分批）。將反應在室溫攪拌2小時並在減壓下除去DMF。向所獲得的殘餘物中添加水（50 mL）並收集出現的沈澱物。將沈澱物用H_2O和MTBE洗滌，以給出呈淡棕色固體的產物（1.15 g）。

6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[6-(羥基甲基)吡啶-3-基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺的合成

【0853】向((*S*)-1-(((*S*)-1-((6-(羥基甲基)吡啶-3-基)胺基)-1-側氧基丙烷-2-基)胺基)-3-甲基-1-側氧基丁烷-2-基)胺基甲酸(9*H*-芴-9-基)甲基酯（1117 mg，1.946 mmol）在DMF（20 ml）中的溶液中添加二乙胺（0.847 ml，8.109 mmol）。將反應混合物在室溫攪拌1小時，然後將溶劑在減壓下除去。將所獲得的殘餘物溶解於DMF（20 ml）中並添加6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（500 mg，1.622 mmol）且在室溫攪拌2小時。將溶劑在減壓下除去，並將所獲得的殘餘物藉由反相層析法（H_2O/MeCN/HCOOH = 95/5/0.1至50/50/0.1）純化，以給出產物。產物含有雜質，因此將材料懸浮於DCM/MeOH（9/1）中，並且收集並乾燥沈澱物，以給出白色固體（110 mg）。

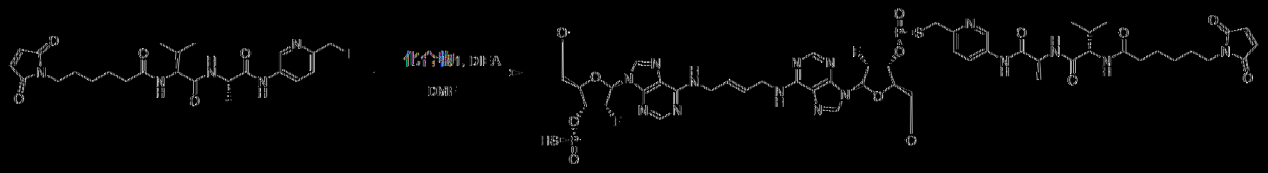
6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[6-(碘甲基)吡啶-3-基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺的合成



【0854】在室溫，向6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-((*S*)-1-(((*S*)-1-((6-(羥基甲基)吡啶-3-基)胺基)-1-側氧基丙烷-2-基)胺基)-3-甲基-1-側氧基丁烷-2-基)己醯胺（71 mg，0.146 mmol）在DMF（2 ml）中的溶液中分批添加甲基三苯氧基碘化鏻（198 mg，0.437 mmol）。將反應攪拌2小時，然後將混合物用EtOAc（50 mL）稀釋，然後將反應藉由添加10%水性NaS_2O_3（20 mL）淬

減。分離各相，並將水相用EtOAc（20 mL）萃取一次。將合併的有機相用H_2O和鹽水（每次20 mL）洗滌、然後經Na_2SO_4乾燥。用過濾器除去固體並將溶劑在減壓下除去，以給出所需產物。產物無需進一步純化即可用於下一步驟（253 mg，35%純度）。

N-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[6-({[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-39-氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十金剛雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{1,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十-5,7,9,11,15,19,21,23,25-十烯-34-基]氫硫基}甲基)吡啶-3-基]胺基}甲醯基)乙基]胺基}甲醯基)-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-1-醯胺（DLP41）的合成

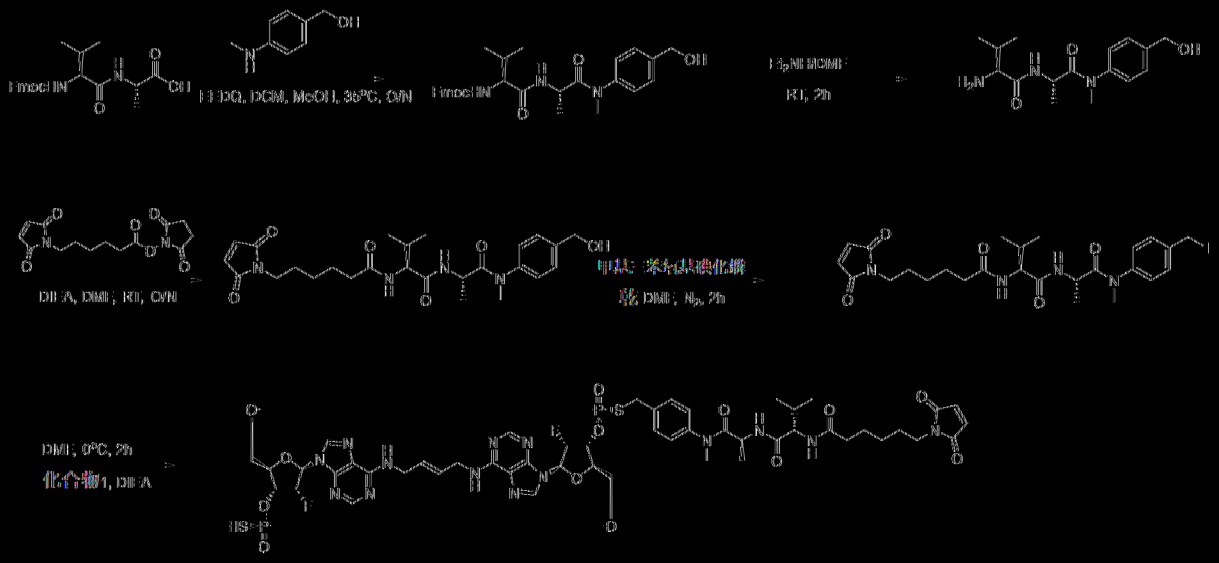


[0855] 在0°C，向化合物1（80 mg，0.107 mmol）和DIPEA（0.094 ml，0.536 mmol）在DMF（3 ml）中的溶液中添加DMF（3 ml）中的6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[6-(碘甲基)吡啶-3-基]胺基}甲醯基)乙基]胺基}甲醯基)-2-甲基丙基]-1-醯胺（146 mg，35%純度，0.086 mmol）。使反應混合物加溫至室溫並攪拌16小時。將溶劑在減壓下除去，並將所獲得的材料藉由反相HPLC純化，以給出DLP41（3.5 mg）。

[0856] LC-MS (ESI): 1216.14 $[M+H]^+$。

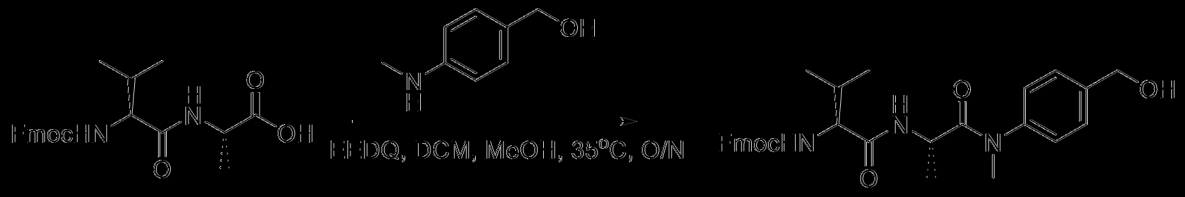
41. DLP42的合成

[0857] DLP42的合成如下所示：



。

N-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)苯基](甲基)胺基}甲醯基]乙基胺基}甲醯基]-2-甲基丙基胺基甲酸(9*H*-第-9-基)甲基酯的合成

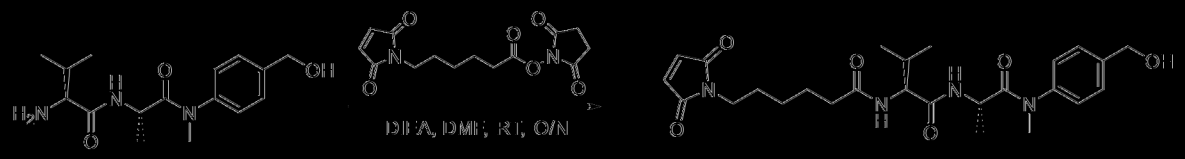


[0858] 在25℃，將2-乙氧基-1,2-二氫喹啉-1-甲酸乙基酯（1.20 g，4.872 mmol）添加至(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(9*H*-第-9-基甲氧基)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙酸（1 g，2.436 mmol）和[4-(甲基胺基)苯基]甲醇（0.33 g，2.436 mmol）在DCM（18 mL）和MeOH（3 mL）中的攪拌混合物中。將所得混合物在35℃攪拌14小時。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用PE/EtOAc（1:9）洗脫）純化，以得到呈白色固體的*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)苯基](甲基)胺基}甲醯基]乙基胺基}甲醯基]-2-甲基丙基胺基甲酸(9*H*-第-9-基)甲基酯（600 mg）。LC-MS (ESI): 530.3 [M+H]$^+$。

(2*S*)-2-胺基-*N*-[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)苯基](甲基)胺基}甲醯基]乙基]-3-甲基丁醯胺的合成

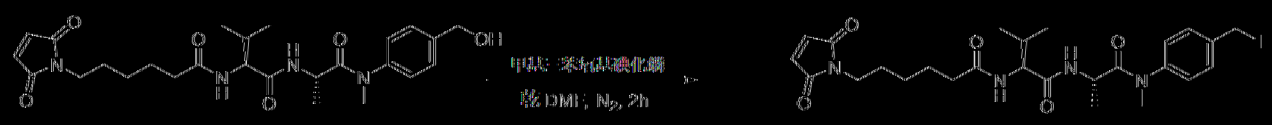
[0859] 在25°C，將二乙胺（414.27 mg，5.665 mmol）添加至*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(溴甲基)苯基](甲基)胺基}-1-側氧基-5-脲基戊-2-基]胺基}-2-甲基-1-側氧基丙-2-基]胺基}-9*H*-茀-9-基)甲基酯（600 mg，1.133 mmol）在DMF（5 mL）中的攪拌混合物中。將所得混合物在25°C攪拌2 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用CH_2Cl_2 / MeOH（4:1）洗脫）純化，以得到呈無色油狀物的(2*S*)-2-胺基-*N*-[(1*S*)-1-{[4-(溴甲基)苯基](甲基)胺基}-1-側氧基-5-脲基戊-2-基]-3-甲基丁醯胺（300 mg）。LC-MS (ESI): 308.2 $[M+H]^+$。

6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(溴甲基)苯基](甲基)胺基}-1-側氧基-5-脲基戊-2-基]胺基}-3-甲基-1-側氧基丁-2-基]己醯胺的合成



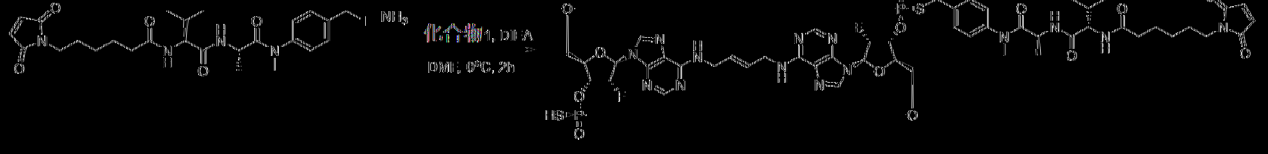
[0860] 在25°C，將DIEA（252.27 mg，1.952 mmol）添加至(2*S*)-2-胺基-*N*-[(1*S*)-1-{[4-(溴甲基)苯基](甲基)胺基}-1-側氧基-5-脲基戊-2-基]-3-甲基丁醯胺（300 mg，0.976 mmol）和6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（270.79 mg，0.878 mmol）在DMF（3 mL）中的攪拌混合物中。將所得混合物在25°C攪拌14 h。將所得混合物用EtOAc稀釋。將殘餘物用水洗滌。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用CH_2Cl_2 / MeOH（13:1）洗脫）純化，以得到呈白色固體的6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(溴甲基)苯基](甲基)胺基}-1-側氧基-5-脲基戊-2-基]胺基}-3-甲基-1-側氧基丁-2-基]己醯胺（400 mg）。LC-MS (ESI): 501.3 $[M+H]^+$。

6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(碘甲基)苯基](甲基)胺基}-1-側氧基-5-脲基戊-2-基]胺基}-3-甲基-1-側氧基丁-2-基]己醯胺的合成



[0861] 在氮氣氣氛下在25℃，將叔丁基-2-苯氧基磷酰氯（352.31 mg，0.780 mmol）添加至6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(溴甲基)苯基](甲基)胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺（130 mg，0.260 mmol）在DMF（3 mL）中的攪拌混合物中。將所得混合物在氮氣氣氛下在25℃攪拌5小時。將所得混合物用EtOAc稀釋。將殘餘物用冰水洗滌。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由製備型TLC（CH_2Cl_2 / IPA 13:1）純化，以得到呈白色固體的6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(碘甲基)苯基](甲基)胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺（110 mg）。LC-MS (ESI): 611.2 [M+H]$^+$。

N-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-({[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-39-氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{1,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-34-基]氫硫基}甲基)苯基](甲基)胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺（DLP42）的合成

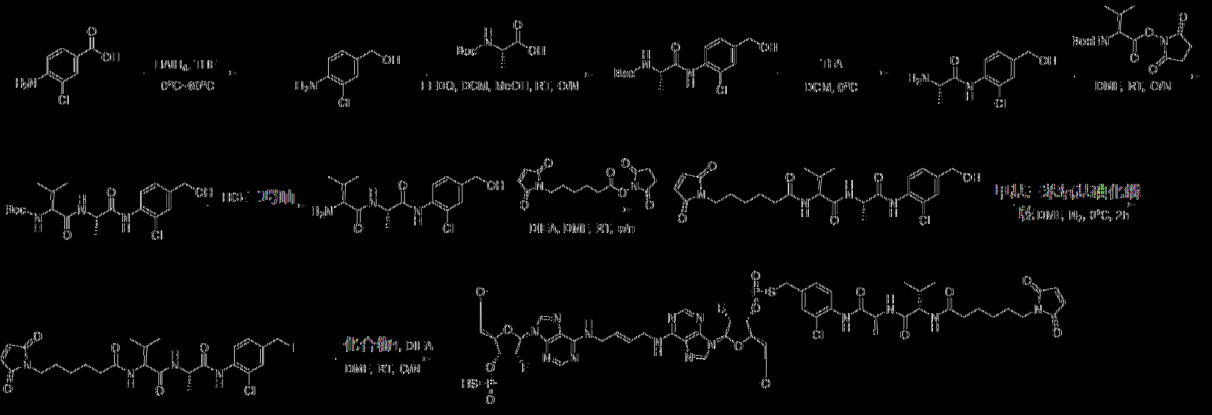

NH2
化合物1, DIEA
DMF, 0°C, 2h
HS
O
O
O

mL/min；梯度：在12 min內20% B至40% B、在12.2 min內40% B至95% B、在14 min內95% B至95% B、在14.2 min內95% B至20% B、在16 min內20% B至20%B；波長：254 nm；RT1（min）：11），以得到呈白色固體的*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-({[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氯-34,39-二側氧基-39-氧雜-2,33,35,38,40,42-六氮雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氫雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十-1(36),5,7,9,11,15,19,21,23,25-十烯-34-基]氧基}甲基)苯基](甲基)胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)己醯胺（OLP42）（13.6 mg）。

[0863] LC-MS (ESI): 1229.70 [M+H]$^+$。

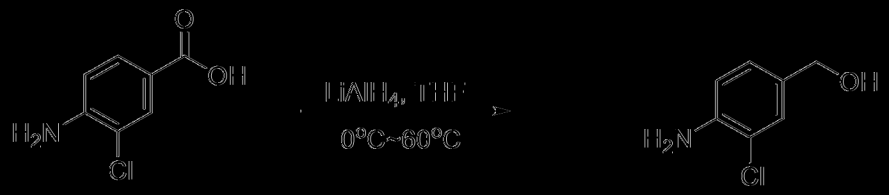
42.　OLP43的合成

[0864] OLP43的合成如下所示：



。

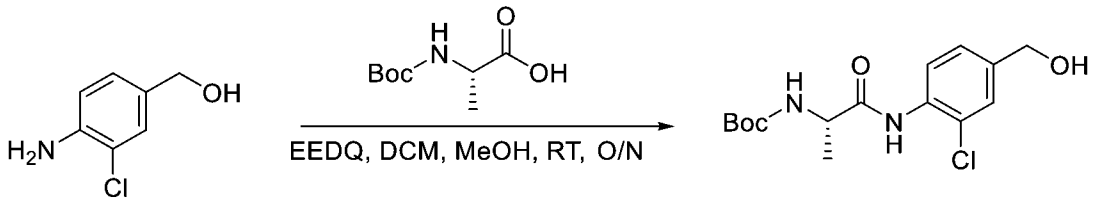
(4-胺基-3-氯苯基)甲醇的合成



[0865] 在0°C，將$LiAlH_4$（3.32 g，87.423 mmol）添加至4-胺基-3-氯苯甲酸（5 g，29.141 mmol）在THF（100 mL）中的攪拌溶液中。將所得混合物在氮氣氣氛下在60°C攪拌14 h。將反應在0°C用MeOH淬滅。將所得混合物在減

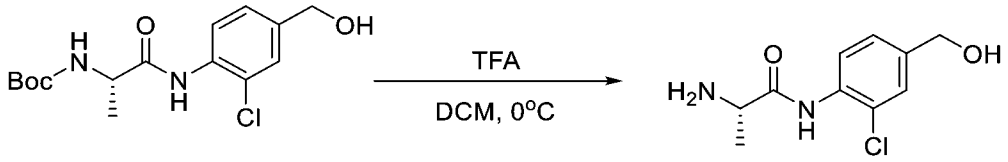
壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用PE / EtOAc（3:1）洗脫）純化，以得到呈黃色固體的(4-胺基-3-氯苯基)甲醇（1.6 g）。LC-MS (ESI): 158.03[M+H]$^+$。

_N_-[(1_S_)-1-{[2-氯-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲酸_三級丁基_酯的合成



【0866】 將EEDQ（7.53 g，30.456 mmol）和(2_S_)-2-[(_三級丁氧基_羰基)胺基]丙酸（2.88 g，15.228 mmol）添加至(4-胺基-3-氯苯基)甲醇（2.4 g，15.228 mmol）在DCM（12 mL）和MeOH（2 mL）中的攪拌混合物中。將所得混合物在25ºC攪拌14 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用PE / EtOAc（2:1）洗脫）純化，以得到呈白色固體的_N_-[(1_S_)-1-{[2-氯-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲酸_三級丁基_酯（3.7 g）。LC-MS (ESI): 329.12[M+H]$^+$。

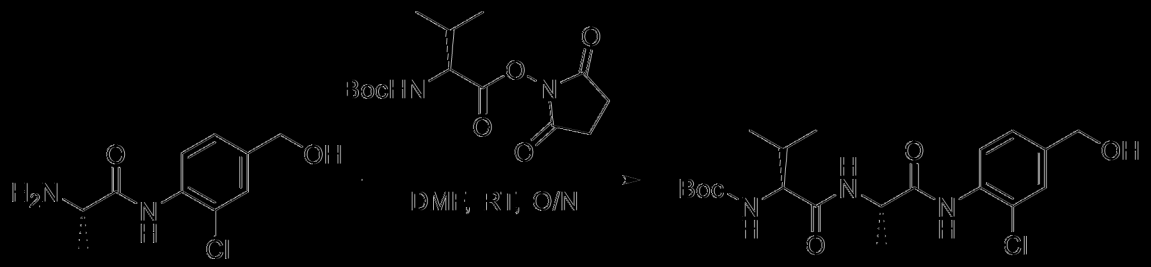
(2_S_)-2-胺基-_N_-[2-氯-4-(羥基甲基)苯基]丙醯胺的合成



【0867】 在0ºC，將TFA（10.00 mL）添加至_N_-[(1_S_)-1-{[2-氯-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲酸_三級丁基_酯（3.7 g，11.253 mmol）在DCM（10 mL）中的攪拌混合物中。將所得混合物在25ºC攪拌2 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用CH_2Cl_2 / MeOH（6:1）洗脫）純

化，以得到呈白色固體的(2*S*)-2-胺基-*N*-(2-氯-4-(羥基甲基)苯基)內醯胺（2.5 g）。LC-MS (ESI): 229.0/[M+H]+。

N-((1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[2-氯-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基)胺基甲酸三級丁酯的合成



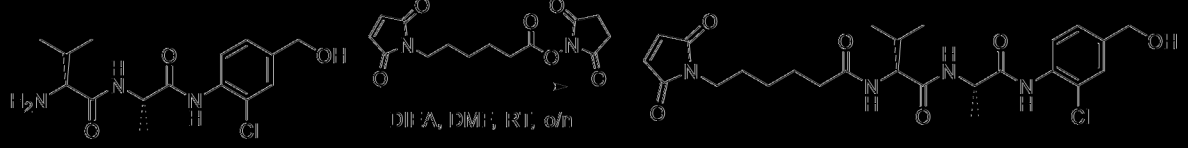
[0868] 將DIEA（2.49 g，19.240 mmol）和(2*S*)-2-[(三級丁氧基羰基)胺基]-3-甲基丁酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（3.02 g，9.620 mmol）添加至(2*S*)-2-胺基-*N*-(2-氯-4-(羥基甲基)苯基)內醯胺（2.2 g，9.620 mmol）在DMF（6 mL）中的攪拌混合物中。將所得混合物在25°C攪拌14 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用PE / EtOAc（1:1）洗脫）純化，以得到呈白色固體的*N*-((1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[2-氯-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基)胺基甲酸三級丁酯（2 g）。LC-MS (ESI): 428.19[M+H]+。

(2*S*)-2-胺基-*N*-((1*S*)-1-{[2-氯-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基)-3-甲基丁醯胺的合成

[0869] 在0°C，將*N*-((1*S*)-1-{[2-氯-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲酸三級丁酯（2 g，6.083 mmol）添加至HCl（氣體）在1,4-二㗁烷（10 mL，329.119 mmol）中的攪拌混合物中。將所得混合物在25°C攪拌2 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用CH_2Cl_2 / MeOH

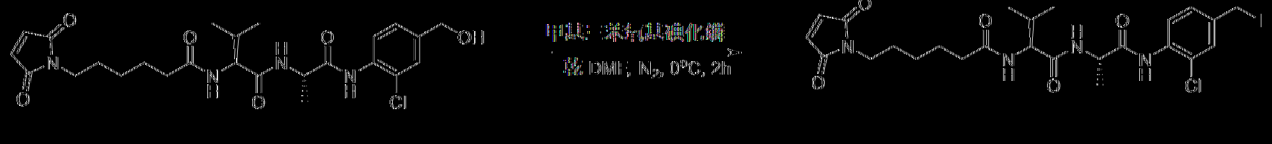
（3:1）洗脫）純化，以得到呈白色固體的(2*S*)-2-胺基-*N*-[(1*S*)-1-{[2-氯-4-(𠰌基甲氧基)苯基胺基甲醯基]乙基}-3-甲基丁醯胺（1.3 g）。LC-MS (ESI): 328.14[M+H]⁺。

N-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[2-氯-4-(𠰌基甲氧基)苯基胺基甲醯基]乙基胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)己醯胺的合成



[0870] 將DIEA（1.18 g，9.152 mmol）和6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（1.41 g，4.576 mmol）添加至(2*S*)-2-胺基-*N*-[(1*S*)-1-{[2-氯-4-(𠰌基甲氧基)苯基胺基甲醯基]乙基}-3-甲基丁醯胺（1.5 g，4.576 mmol）在DMF（5 mL）中的攪拌混合物中。將所得混合物在25°C攪拌2 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由反相快速層析法用以下條件純化：柱：C18；流動相A：水（0.5% FA），流動相B：MeCN；梯度：在30 min內20% B至30% B；220/254 nm。這產生呈白色固體的*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[2-氯-4-(𠰌基甲氧基)苯基胺基甲醯基]乙基胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺（1.2 g）。LC-MS (ESI): 521.21[M+H]⁺。

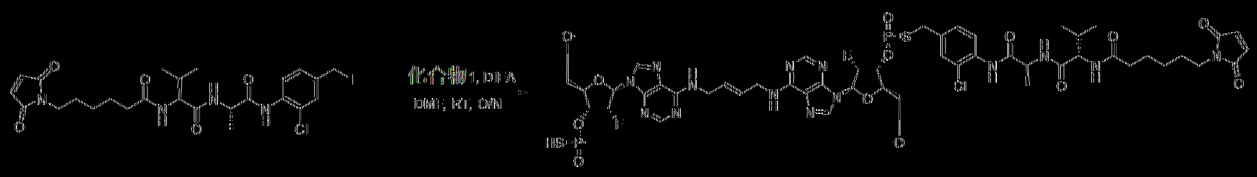
N-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[2-氯-4-(碘甲氧基)苯基胺基甲醯基]乙基胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺的合成



[0871] 將甲基三苯氧基碘化鏻（520.78 mg，1.152 mmol）添加至*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[2-氯-4-(𠰌基甲氧基)苯基胺基甲醯基]乙基胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺（200 mg，0.384 mmol）在DMF（2 mL）中的攪拌混合物中。將所得混合物在氮氣氣氛下在25°C攪拌2

h。將所得混合物用EtOAc（20 mL）稀釋。將所得混合物用3×10 mL的水洗滌。將殘餘物藉由矽膠相層析法（用CH_2Cl_2 / IPA（10:1）洗脫）純化，以得到呈白色固體的*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[2-氯-4-(肼甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺（140 mg）。LC-MS (ESI): 631.11 [M+H]+。

N-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[2-氯-4-({[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氯-34,39-二側氧基-39-氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-34-基]氫硫基}甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺（DLP43）的合成



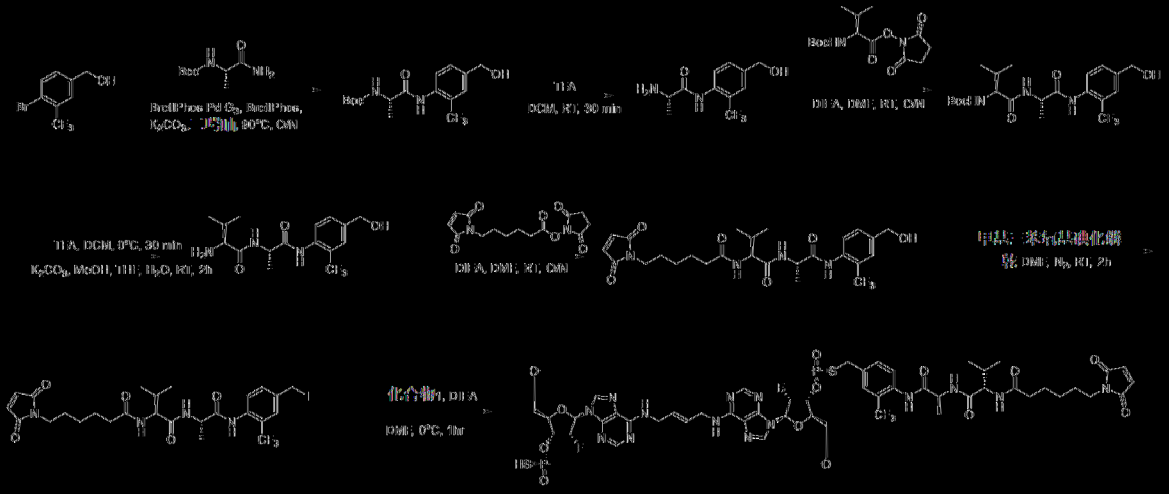
[08’2] 在0°C，將*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[2-氯-4-(肼甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺（50.70 mg，0.080 mmol）和DIEA添加至化合物1（20 mg，0.027 mmol）在DMF（1 mL）中的攪拌混合物中。將所得混合物在0°C攪拌3 h。將粗製產物藉由製備型HPLC用以下條件純化（柱：XBridge Prep OBD C18柱，19*250 mm，5 μm；流動相A：MeCN，流動相B：水（0.1% FA）；流速：25 mL/min；梯度：在14 min內20% B至40% B，40% B；波長：254/220 nm；RT1（min）：11.65-12.5；以得到呈白色固體的*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[2-氯-4-({[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氯-34,39-二側氧基-39-

氧雜基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十[氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-十烯-34-基][氧基]甲基}苯基]胺基}乙基]胺基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)己醯胺（LP43）（7.8 mg）。

[0873] LC-MS (ESI): 1249.35[M+H]$^+$。

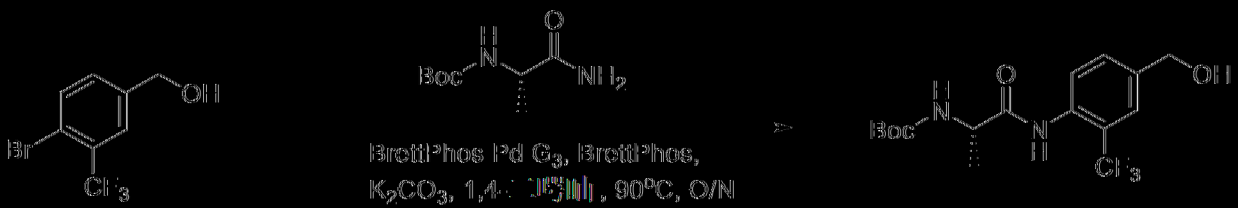
43. LP44的合成

[0874] LP44的合成如下所示：



。

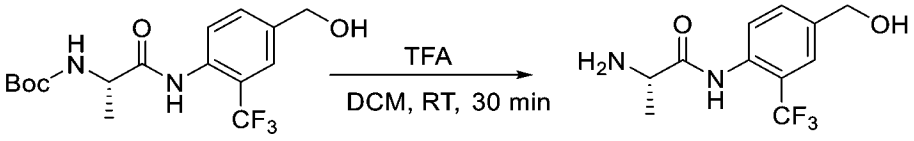
N-[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-2-(三氟甲基)苯基]胺基}-2-(三氟甲基)苯基]胺基}乙基]胺基甲酸：紋丁烷酯的合成



[0875] 在氮氣氣氛下在25°C，將BrettPhos（631.41 mg，1.176 mmol）、BrettPhos Pd G$_3$（533.16 mg，0.588 mmol）和K_2CO_3（1.63 g，11.763 mmol）添加至4-溴-3-(三氟甲基)苯甲醇（1.5 g，5.882 mmol）和*N*-[(1*S*)-1-胺基甲基-2-胺基甲酸三級丁酯（2.21 g，11.763 mmol）在1,4-二噁烷（20 mL）中的攪拌混合物中。將所得混合物在氮氣氣氛下在90°C攪拌14 h。將所得

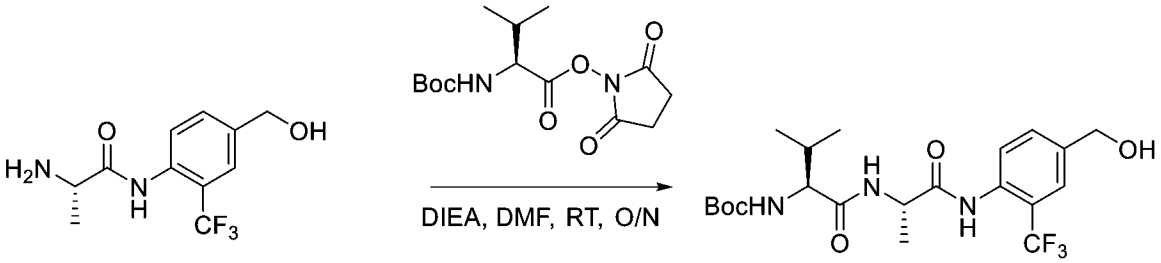
混合物在減壓下濃縮。將所得混合物用EtOAc稀釋。將所得混合物用水洗滌。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用PE / EtOAc（3:1）洗脫）純化，以得到呈白色固體的*N*-[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-2-(三氟甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲酸*三級丁基*酯（930 mg）。LC-MS (ESI): 363.2 $[M+H]^+$。

(2*S*)-2-胺基-*N*-[4-(羥基甲基)-2-(三氟甲基)苯基]丙醯胺的合成



【0876】 在0°C，將TFA（6 mL）添加至*N*-[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-2-(三氟甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲酸*三級丁基*酯（900 mg，2.484 mmol）在DCM（6 mL）中的攪拌混合物中。將所得混合物在25°C攪拌30 min。將所得混合物在減壓下濃縮。在0°C，將K_2CO_3（1.37 g，9.935 mmol）添加至MeOH（3 mL）、THF（3 mL）和H_2O（3 mL）的攪拌混合物中。將所得混合物在25°C攪拌2 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用CH_2Cl_2 / MeOH（5:1）洗脫）純化，以得到呈無色油狀物的(2*S*)-2-胺基-*N*-[4-(羥基甲基)-2-(三氟甲基)苯基]丙醯胺（530 mg）。LC-MS (ESI): 263.1 $[M+H]^+$。

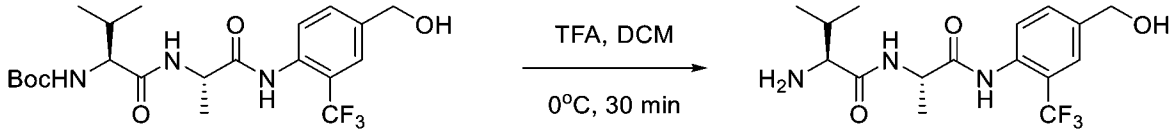
***N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-2-(三氟甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸*三級丁基*酯的合成**



【0877】 在25°C，將DIEA（1.48 g，11.442 mmol）添加至(2*S*)-2-胺基-*N*-[4-(羥基甲基)-2-(三氟甲基)苯基]丙醯胺（500 mg，1.907 mmol）和(2*S*)-2-[(*三級丁氧基*羰基)胺基]-3-甲基丁酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（599.35 mg，1.907 mmol）在DMF（5 mL）中的攪拌混合物中。將所得混合物在25°C攪拌14 h。

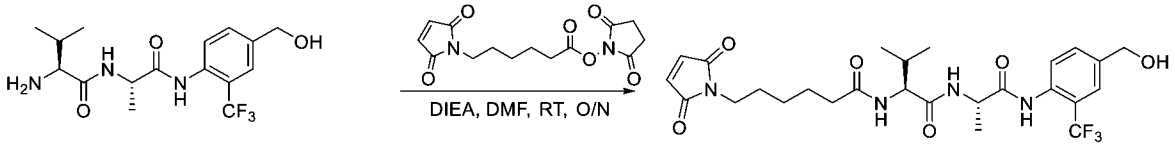
將所得混合物用EtOAc稀釋。將所得混合物用水洗滌。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用PE / EtOAc（1:1）洗脫）純化，以得到呈白色固體的*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-2-(三氟甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸*三級丁基*酯（850 mg）。LC-MS (ESI): 462.2 $[M+H]^+$。

(2*S*)-2-胺基-*N*-[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-2-(三氟甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺的合成



【0878】 在0°C，將TFA（4 mL）添加至*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-2-(三氟甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸*三級丁基*酯（830 mg，1.799 mmol）在DCM（4 mL）中的攪拌混合物中。將所得混合物在25°C攪拌30 min。將所得混合物在減壓下濃縮。然後在0°C，將K_2CO_3（994.28 mg，7.194 mmol）添加至THF（3 mL）、MeOH（3 mL）和H_2O（3 mL）的攪拌混合物中。將所得混合物在25°C攪拌2 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用CH_2Cl_2 / MeOH（5:1）洗脫）純化，以得到呈白色固體的(2*S*)-2-胺基-*N*-[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-2-(三氟甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺（500 mg）。LC-MS (ESI): 362.2 $[M+H]^+$。

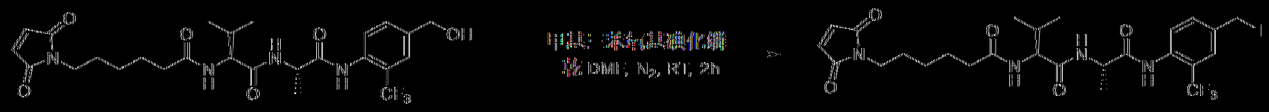
6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-2-(三氟甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺的合成



【0879】 在25°C，將DIEA（357.65 mg，2.768 mmol）添加至(2*S*)-2-胺基-*N*-[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-2-(三氟甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺

（500 mg，1.384 mmol）和6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己酸2,5-二側氧基吡咯烷-1-基酯（383.91 mg，1.246 mmol）在DMF（5 mL）中的攪拌混合物中。將所得混合物在25°C攪拌14 h。將所得混合物用EtOAc稀釋。將所得混合物用水洗滌。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用CH_2Cl_2 / MeOH（11:1）洗脫）純化，以得到呈白色固體的6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(碘甲基)-2-(三氟甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺（530 mg）。LC-MS (ESI): 555.2 [M+H]$^+$。

6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(碘甲基)-2-(三氟甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺的合成



[0880] 在氮氣氣氛下在0°C，將甲基三苯基碘化鏻（489.76 mg，1.083 mmol）添加至6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(溴甲基)-2-(三氟甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺（200 mg，0.361 mmol）在DMF（5 mL）中的攪拌混合物中。將所得混合物在氮氣氣氛下在25°C攪拌2 h。將所得混合物用EtOAc稀釋。將殘餘物用冰水洗滌。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用CH_2Cl_2 / IPA（30:1）洗脫）純化，以得到呈淡黃色固體的6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(碘甲基)-2-(三氟甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺（180 mg）。LC-MS (ESI): 665.1 [M+H]$^+$。

N-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-({[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-39-氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環

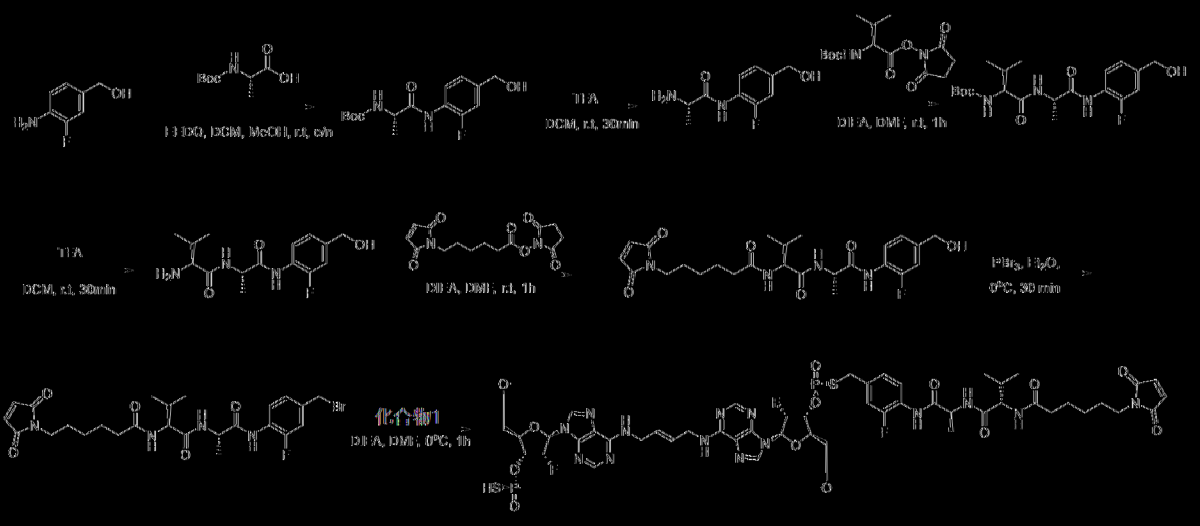
[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-十烯-34-基]氧硫基}甲基)-2-(三氟甲基)苯基]胺基}甲醯基}乙基]胺基}甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)己醯胺（LP44）的合成

[0881] 在0°C，將DIEA（57.99 mg，0.450 mmol）添加至6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(碘甲基)-2-(三氟甲基)苯基]胺基}甲醯基}乙基]胺基}甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺（149.07 mg，0.225 mmol）和化合物1（67 mg，0.090 mmol）在DMF（2 mL）中的攪拌溫合物中。將所得溫合物在0°C攪拌1 h。將粗製產物藉由製備型HPLC用以下條件純化（柱：XBridge Prep OBD C18柱，19*250 mm，5 μm；流動相A：水（0.1%FA），流動相B：MeCN；流速：25 mL/min；梯度：在10 min內30% B至30% B，30% B；波長：254 nm；RT1（min）：8.9），以得到呈白色固體的*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-({[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-39-氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-十烯-34-基]氧硫基}甲基)-2-(三氟甲基)苯基]胺基}甲醯基}乙基]胺基}甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)己醯胺（LP44）（13.6 mg）。

[0882] LC-MS (ESI): 1283.40 [M+H]$^+$。

11. LP45的合成

[0883] LP45的合成如下所示：



。

N-[(1*S*)-1-{[2-氟-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲酸三級丁酯的合成

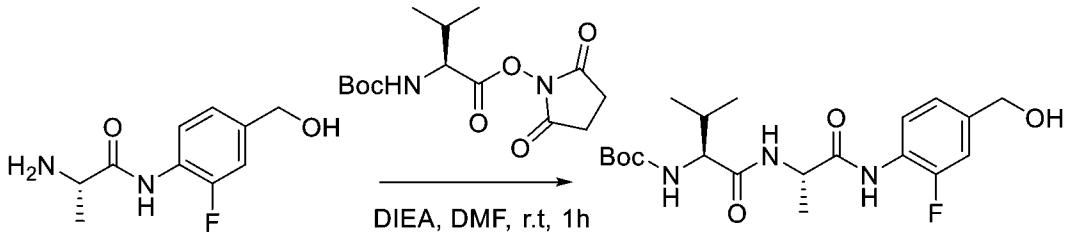
[0884] 將(4-胺基-3-氟苯基)甲醇（750 mg，5.31 mmol）、(2*S*)-2-[(三級丁氧基羰基)胺基]丙酸（1.21 g，6.37 mmol）和2-乙氧基-1,2-二氫喹啉-1-甲酸乙基酯（2.63 g，10.62 mmol）在DCM（6 mL）和MeOH（1 mL）中的混合物在室溫攪拌過夜。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠層析法（用PE/EtOAc（2/1）洗脫）純化，以得到呈黃色油狀的*N*-[(1*S*)-1-{[2-氟-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲酸三級丁酯（1.53 g）。

(2*S*)-2-胺基-*N*-(2-氟-4-(羥基甲基)苯基)丙醯胺的合成

[0885] 將*N*-[(1*S*)-1-{[2-氟-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲酸三級丁酯（700 mg，2.24 mmol）和TFA（1 mL）在DCM（5 mL）中的溶液

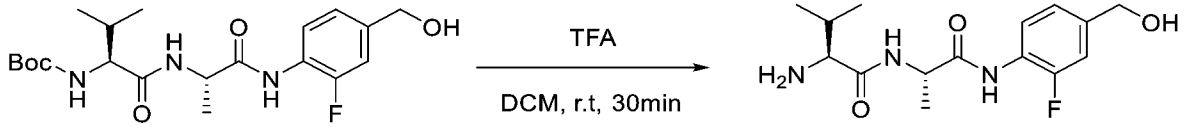
在室溫攪拌30 min。將所得混合物在減壓下濃縮，以得到呈黃色油狀物的(2*S*)-2-胺基-*N*-[2-氟-4-(羥基甲基)苯基]丙醯胺（600 mg，粗品）。

_N_-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[2-氟-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸*三級丁基*酯的合成



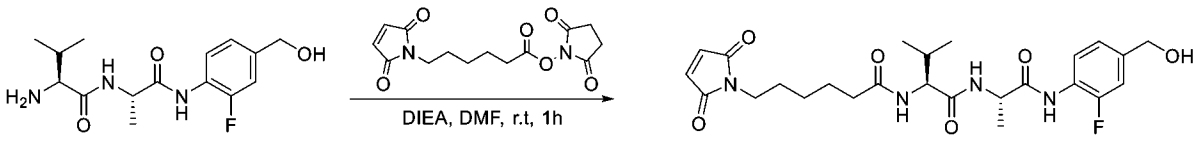
【0886】 將(2*S*)-2-胺基-*N*-[2-氟-4-(羥基甲基)苯基]丙醯胺（456 mg，2.15 mmol）和DIEA（2.78 g，21.49 mmol）在DMF（10 mL）中的混合物在室溫攪拌1 h。將反應進行處理，並將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用DCM /EtOAc（3/1）洗脫）純化，以得到呈黃色固體的*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[2-氟-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸三級丁基酯（805 mg）。

(2*S*)-2-胺基-*N*-[(1*S*)-1-{[2-氟-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺的合成



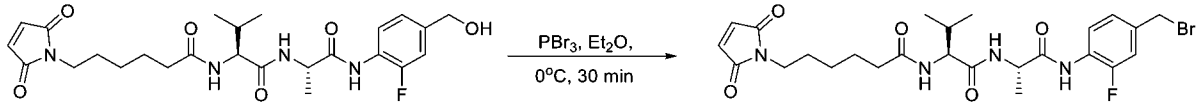
【0887】 將*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[2-氟-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸*三級丁基*酯（795 mg，1.93 mmol）和TFA（2 mL）在DCM（6 mL）中的溶液在室溫攪拌30 min。將所得混合物在減壓下濃縮，以得到呈黃色油狀物的(2*S*)-2-胺基-*N*-[(1*S*)-1-{[2-氟-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺（600 mg，粗品）。

6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[2-氟-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺的合成



【0888】 將(2*S*)-2-胺基-*N*-[(1*S*)-1-{[2-氟-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺（500 mg，1.60 mmol）、6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（544.58 mg，1.76 mmol）和DIEA（2075.48 mg，16.06 mol）在DMF（5 mL）中的混合物在室溫攪拌1 h。將反應進行處理，並將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用PE/EtOAc（3/1）洗脫）純化，以得到呈白色固體的6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[2-氟-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺（340 mg）。

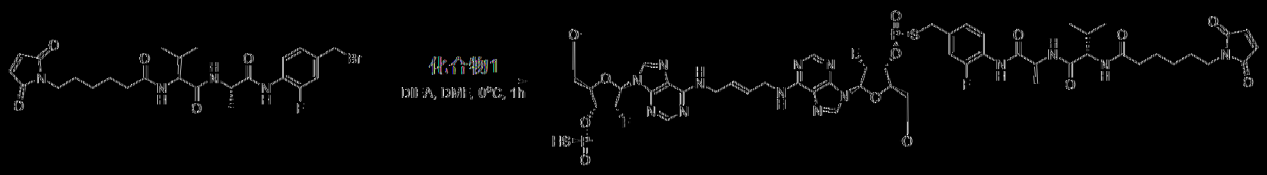
_N_-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(溴甲基)-2-氟苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺的合成



【0889】 將6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[2-氟-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺（150 mg，0.29 mmol）和PBr_3（80.47 mg，0.29 mmol）在Et_2O（2 mL）中的溶液在0°C攪拌30 min。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用CH_2Cl_2/IPA（10/1）洗脫）純化，以得到呈白色固體的*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(溴甲基)-2-氟苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺（90 mg）。

_N_-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-({[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-39-氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環

[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-十烯-34-基]氧硫基}甲基)-2-氟苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺（LP45）的合成

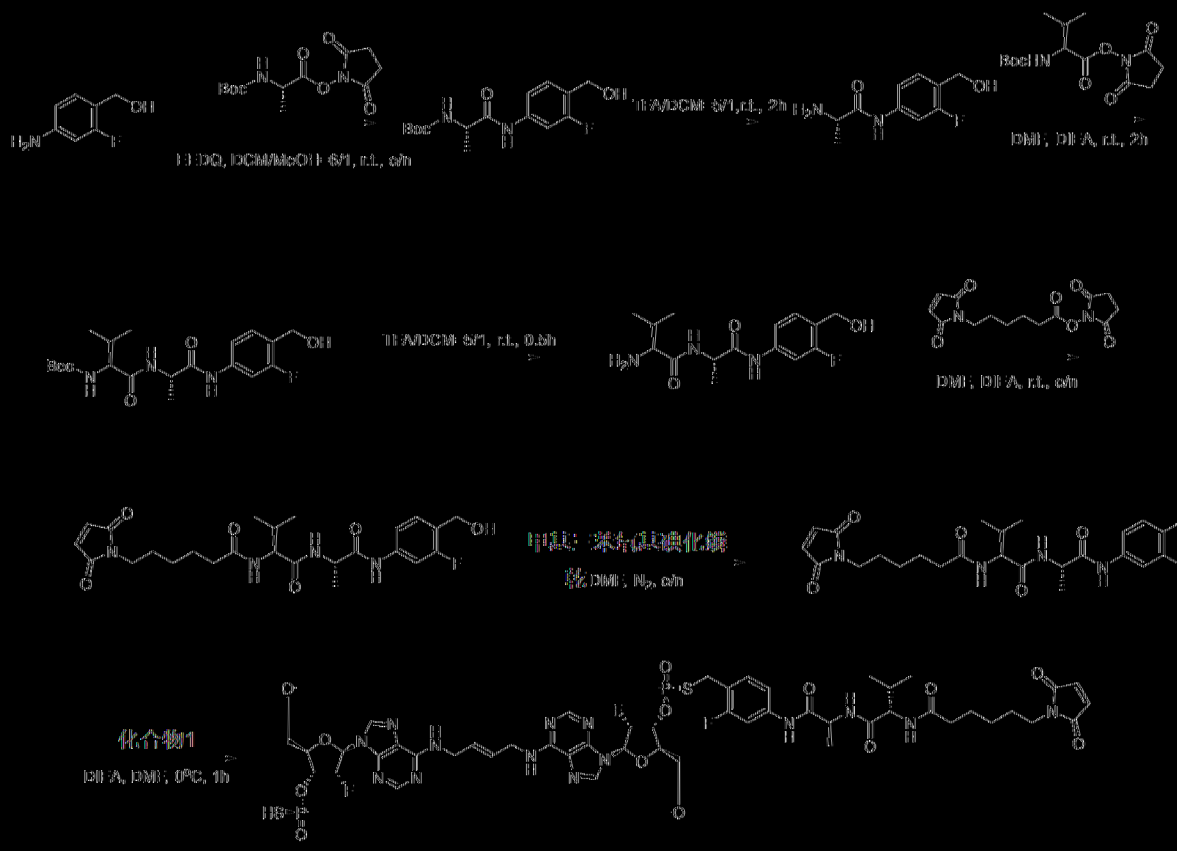


[0890] 將*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(溴甲基)-2-氟苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺（90.81 mg，0.15 mmol）、化合物1（58 mg，0.07 mmol）和DIEA（100.4 mg，0.78 mmol）在DMF（2 mL）中的混合物在氮氣氣氛下在0°C攪拌1 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將粗製產物（60 mg）藉由製備型HPLC用以下條件純化（柱：XBridge Prep Phenyl OBD柱，19*150 mm，5 μm；流動相A：水（0.1%FA），流動相B：MeCN；流速： 60 mL/min；梯度：在8 min內27% B至30% B，30% B；波長：254 nm），以得到呈白色固體的*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-({[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-39-氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-十烯-34-基]氧硫基}甲基)-2-氟苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺（LP45）（8.5 mg）。

[0891] LC-MS (ESI): [M+H]$^+$：1231.45。

45. LP46的合成

[0892] LP46的合成如下所示：

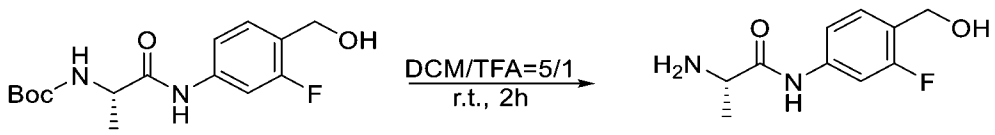


。

N-[(1*S*)-1-{[3-氟-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲酸三級丁酯的合成

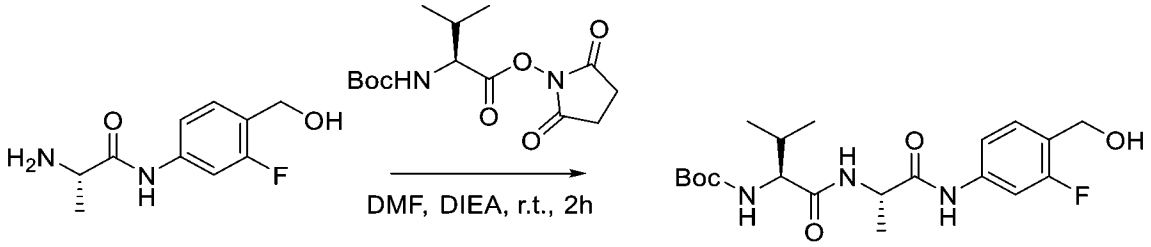
[0893] 將(4-胺基-2-氟苯基)甲醇（1 g，7.145 mmol）和(2*S*)-2-[(三級丁氧基羰基)胺基]丙酸（1.61 g，8.500 mmol）和2-乙氧基-1,2-二氫喹啉-1-甲酸乙基酯（3.54 g，15.201 mmol）在DCM（12 mL）和MeOH（2 mL）中的溶液在室溫攪拌過夜。將所得混合物在真空下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用PE/EtOAc：（1/1）洗脫）純化，以得到呈白色固體的*N*-[(1*S*)-1-{[3-氟-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲酸三級丁酯（2.2 g）。

(2*S*)-2-胺基-*N*-[3-氟-4-(羥基甲基)苯基]丙醯胺的合成



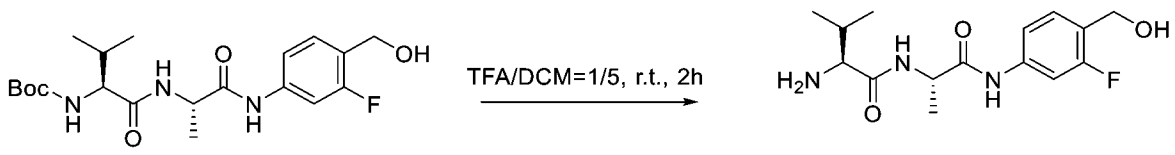
【0894】 將*N*-[(1*S*)-1-{[3-氟-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲酸*三級丁基*酯（2 g，6.404 mmol）在TFA（2 mL）和DCM（10 mL）中的溶液在室溫攪拌2 h。將所得混合物在真空下濃縮。這產生呈白色油狀物的(2*S*)-2-胺基-*N*-[3-氟-4-(羥基甲基)苯基]丙醯胺（1 g）。所得混合物無需進一步純化即可直接用於下一步驟。

_N_-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[3-氟-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸*三級丁基*酯的合成



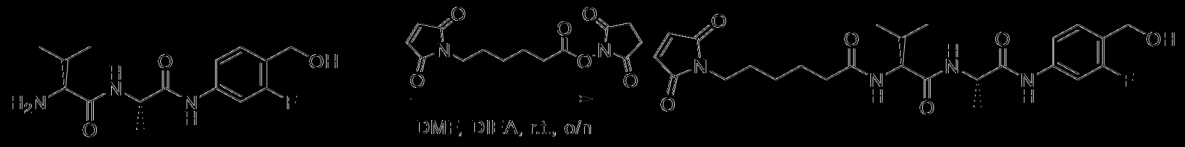
【0895】 將(2*S*)-2-胺基-*N*-[3-氟-4-(羥基甲基)苯基]丙醯胺（1 g，4.625 mmol）和(2*S*)-2-[(三級丁氧基羰基)胺基]-3-甲基丁酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（1.7 g，5.1241 mmol）在DIEA（6.8 g，49.7152 mmol）和DMF（10 mL）中的溶液在室溫攪拌2 h。將反應進行處理，並將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用DCM/EtOAc=（1/1）洗脫）純化，以得到呈白色固體的*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[3-氟-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸*三級丁基*酯（1.6 g）。

(2*S*)-2-胺基-*N*-[(1S)-1-{[3-氟-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺的合成



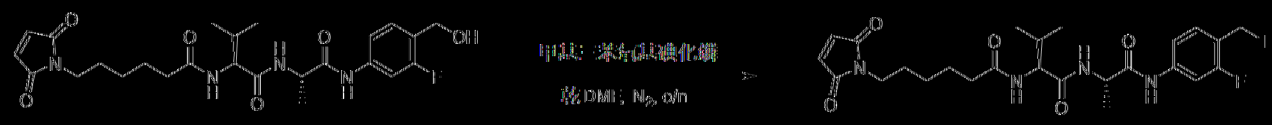
[0896] 將*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[3-氟-4-(𠰌啉-4-基)苯基]胺基}-1-側氧基-2-丙基]胺基}-2-甲基-1-側氧基丙-2-基]胺基甲酸三級丁酯（1.6 g，3.96/1 mmol）在DEA（2 mL）和DCM（10 mL）中的溶液在室溫攪拌2 h。將所得混合物在真空下濃縮。這產生呈白色油狀物的(2*S*)-2-胺基-*N*-[(1*S*)-1-{[3-氟-4-(𠰌啉-4-基)苯基]胺基}-1-側氧基丙-2-基]-3-甲基丁醯胺（1.15 g）。所得混合物無需進一步純化即可直接用於下一步驟。

6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[3-氟-4-(𠰌啉-4-基)苯基]胺基}-1-側氧基丙-2-基]胺基}-3-甲基-1-側氧基丁-2-基]己醯胺的合成



[0897] 將(2*S*)-2-胺基-*N*-[(1*S*)-1-{[3-氟-4-(𠰌啉-4-基)苯基]胺基}-1-側氧基丙-2-基]-3-甲基丁醯胺（1.2 g，3.514/ mmol）和6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（1.2 g，3.886 mmol）在DIEA（4.6 g，35.320 mmol）和DMF（10 mL）中的溶液在室溫攪拌過夜。將反應進行處理，並將殘餘物藉由矽膠柱析法（用DCM/MeOH（10/1）洗脫）純化，以得到呈白色固體的6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[3-氟-4-(𠰌啉-4-基)苯基]胺基}-1-側氧基丙-2-基]胺基}-3-甲基-1-側氧基丁-2-基]己醯胺（900 mg）。

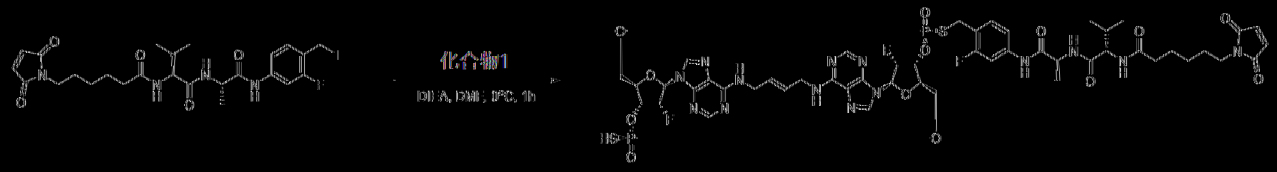
6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[3-氟-4-(碘甲基)苯基]胺基}-1-側氧基丙-2-基]胺基}-3-甲基-1-側氧基丁-2-基]己醯胺的合成



[0898] 將6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[3-氟-4-(𠰌啉-4-基)苯基]胺基}-1-側氧基丙-2-基]胺基}-3-甲基-1-側氧基丁-2-基]己醯胺（900

mg，1.798 mmol）和甲基-苯氧基碘化鏻（3.7 g，9.861 mmol）在DMF（9 mL）中的溶液在氮氣氣氛下在0°C攪拌過夜。將所得混合物用EtOAc萃取。將合併的有機相用H_2O洗滌、經無水Na_2SO_4乾燥。過濾後，將濾液在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用DCM/IPA =（10/1）洗脫）純化，以得到呈白色固體的6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[3-氟-4-(碘甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺（700 mg）。

N-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-({[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-39-氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-34-基]氫硫基}甲基)-3-氟苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺（DLP46）的合成



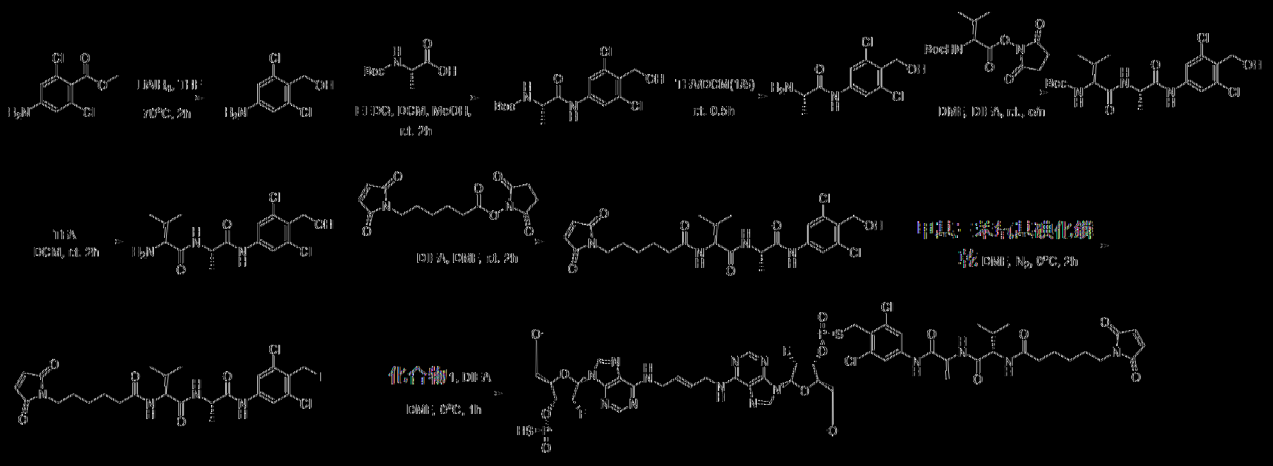
[0899] 將化合物1（55 mg，0.082 mmol）和6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[3-氟-4-(碘甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺（95.3 mg，0.1530 mmol）在DIEA（51.93 mg，0.390 mmol）和DMF（1 mL）中的溶液在氮氣氣氛下在0°C攪拌1 h。將粗製產物藉由反相快速用以下條件純化（柱：Xselect CSH C18 OBD柱，30x150mm，5μm；流動相A：水（0.1%FA），流動相B：MeCN；流速：60 mL/min；梯度：在8 min內26% B至30% B，30% B；波長：254 nm），以得到呈白色固體的*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-({[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-

二氮-34,39-二側氧基-39-氮雜基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-34-基]氮雜基}甲基)-3-氟苯基]胺基}甲醯基]乙基]胺基}甲醯基)-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)己醯胺（DLP46）（3.3 mg）。

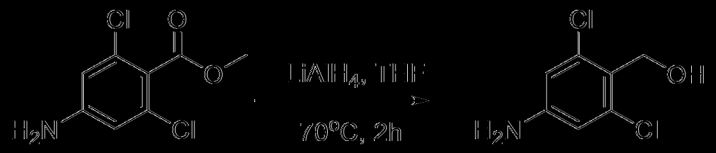
[0900] LC-MS (ESI): [M+H]$^+$：1233.2。

16. DLP47的合成

[0901] DLP47的合成如下所示：

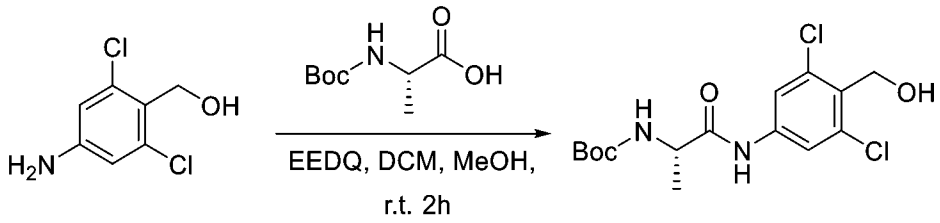


(4-胺基-2,6-二氯苯基)甲醇的合成



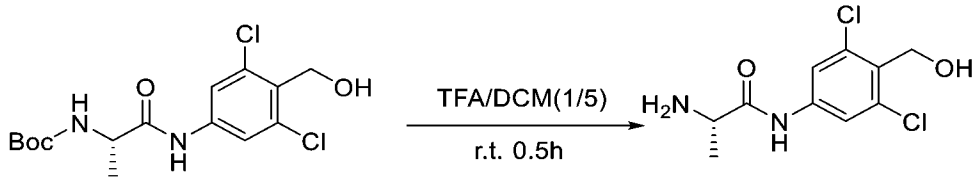
[0902] 在室溫，向4-胺基-2,6-二氯苯甲酸甲酯（500 mg，2.272 mmol）在THF中的攪拌混合物中分批添加LiAlH$_4$（258.7 mg，6.816 mmol）。將所得混合物在70°C攪拌2 h。將反應在0°C用水/冰淬滅。將所得混合物用DCM萃取。將合併的有機層用水洗滌，經無水Na$_2$SO$_4$乾燥。過濾後，將濾液在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用PE/EtOAc（5/1）洗脫）純化，以得到呈灰白色固體的(4-胺基-2,6-二氯苯基)甲醇（202 mg）。

_N_-[(1_S_)-1-{[3,5-二氯-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲酸_三級丁基_酯的合成



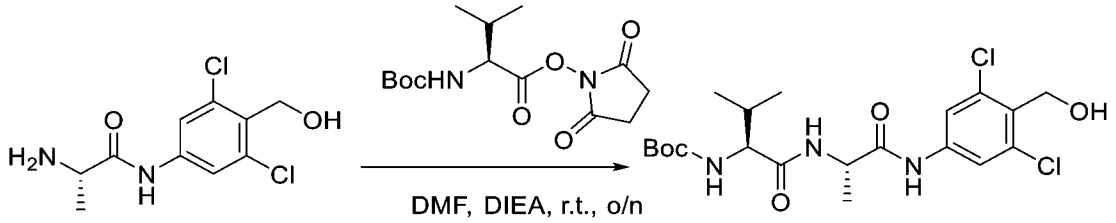
【0903】 在室溫，向(4-胺基-2,6-二氯苯基)甲醇（200 mg，1.041 mmol）和(2_S_)-2-[(三級丁氧基羰基)胺基]丙酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（745.4 mg，2.603 mmol）在DCM（2.4 mL）和MeOH（0.4 mL）中的攪拌混合物中分批添加6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1_H_-吡咯-1-基)己酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（745.4 mg，2.603 mmol）。將所得混合物在室溫攪拌2 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用PE/EtOAc（5/1）洗脫）純化，以得到呈白色固體的_N_-[(1_S_)-1-{[3,5-二氯-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲酸_三級丁基_酯（320 mg）。

(2_S_)-2-胺基-_N_-[3,5-二氯-4-(羥基甲基)苯基]丙醯胺的合成



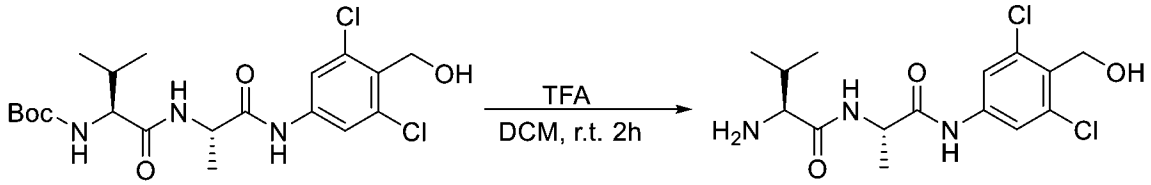
【0904】 將_N_-[(1_S_)-1-{[3,5-二氯-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲酸_三級丁基_酯（300 mg，0.826 mmol）和TFA（1 mL）在DCM（5 mL）中的混合物在室溫攪拌0.5 h。將所得混合物在減壓下濃縮，以得到呈灰色油狀物的(2_S_)-2-胺基-_N_-[3,5-二氯-4-(羥基甲基)苯基]丙醯胺（470 mg）。粗製產物無需進一步純化即可直接用於下一步驟。

_N_-[(1_S_)-1-{[(1_S_)-1-{[3,5-二氯-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸_三級丁基_酯的合成



【0905】 然後在室溫，向(2*S*)-2-胺基-*N*-[3,5-二氯-4-(羥基甲基)苯基]丙醯胺（400 mg，1.520 mmol）和(2*S*)-2-[(三級丁氧基羰基)胺基]-3-甲基丁酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（14.3 mg，0.046 mmol）在DMF（5 mL）中的攪拌混合物中分批添加DIEA（1964.8 mg，15.20 mmol）。將所得混合物在室溫攪拌過夜。將反應進行處理，並將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用PE/EA（5/1）洗脫）純化，以得到呈白色固體的*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[3,5-二氯-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸*三級丁基*酯（243 mg）。

(2*S*)-2-胺基-*N*-[(1*S*)-1-{[3,5-二氯-4-(羥基甲基)苯基] 胺基甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺的合成

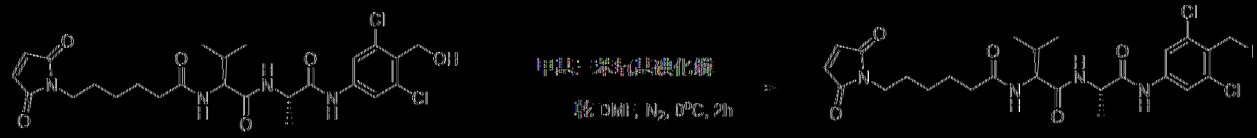


【0906】 將*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[3,5-二氯-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基] 胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸*三級丁基*酯（230 mg，0.497 mmol）和TFA（0.5 mL）在DCM（2.5 mL）中的混合物在室溫攪拌2 h。將所得混合物在減壓下濃縮，以得到呈灰色油狀物的(2*S*)-2-胺基-*N*-[(1*S*)-1-{[3,5-二氯-4-(羥基甲基)苯基] 胺基甲醯基} 乙基]-3-甲基丁醯胺（400 mg）。粗製產物無需進一步純化即可直接用於下一步驟。

***N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[3,5-二氯-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺的合成**

[0907] 在室溫，向(2*S*)-2-胺基-*N*-[(1*S*)-1-{[3,5-二氯-4-(羥甲基)苯基]胺甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺（400 mg，1.104 mmol）和6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己酸2,5-二側氧基吡咯烷-1-基酯（407.2 mg，1.325 mmol）在DMF（4 mL）中的攪拌混合物中滴加DIEA（1427.1 mg，11.040 mmol）。將所得混合物在室溫攪拌2 h。將反應進行處理，並將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用PE/EtOAc（5/1）洗脫）純化，以得到呈黃色固體的*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[3,5-二氯-4-(羥甲基)苯基]胺甲醯基}乙基]胺甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)己醯胺（271 mg）。

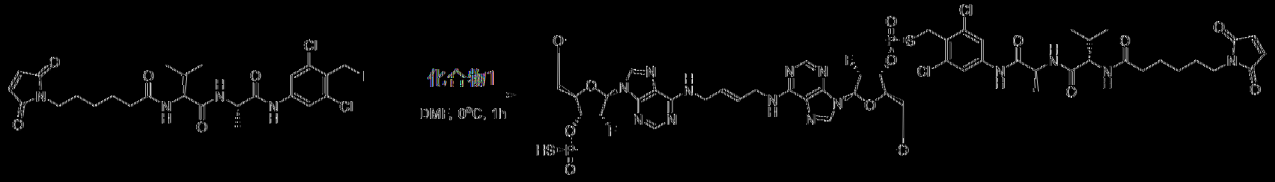
N-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[3,5-二氯-4-(碘甲基)苯基]胺甲醯基}乙基]胺甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺的合成



[0908] 將*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[3,5-二氯-4-(羥甲基)苯基]胺甲醯基}乙基]胺甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)己醯胺（80 mg，0.144 mmol）和甲基三苯基碘化鏻（195.4 mg，0.432 mmol）在DMF（1 mL）中的混合物在氮氣氣氛下在0°C攪拌2 h。將反應進行處理，並將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用DCM/*i*-PrOH（10/1）洗脫）純化，以得到呈白色固體的*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[3,5-二氯-4-(碘甲基)苯基]胺甲醯基}乙基]胺甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺（56 mg）。

N-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[3,5-二氯-4-({[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氯-34,39-二側氧基-

39-氧硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-四氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十三烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-34-基]氧基苯基]甲基]氨基]乙基]氨基]甲基]-2-甲基內基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)己醯胺（DLP47）的合成

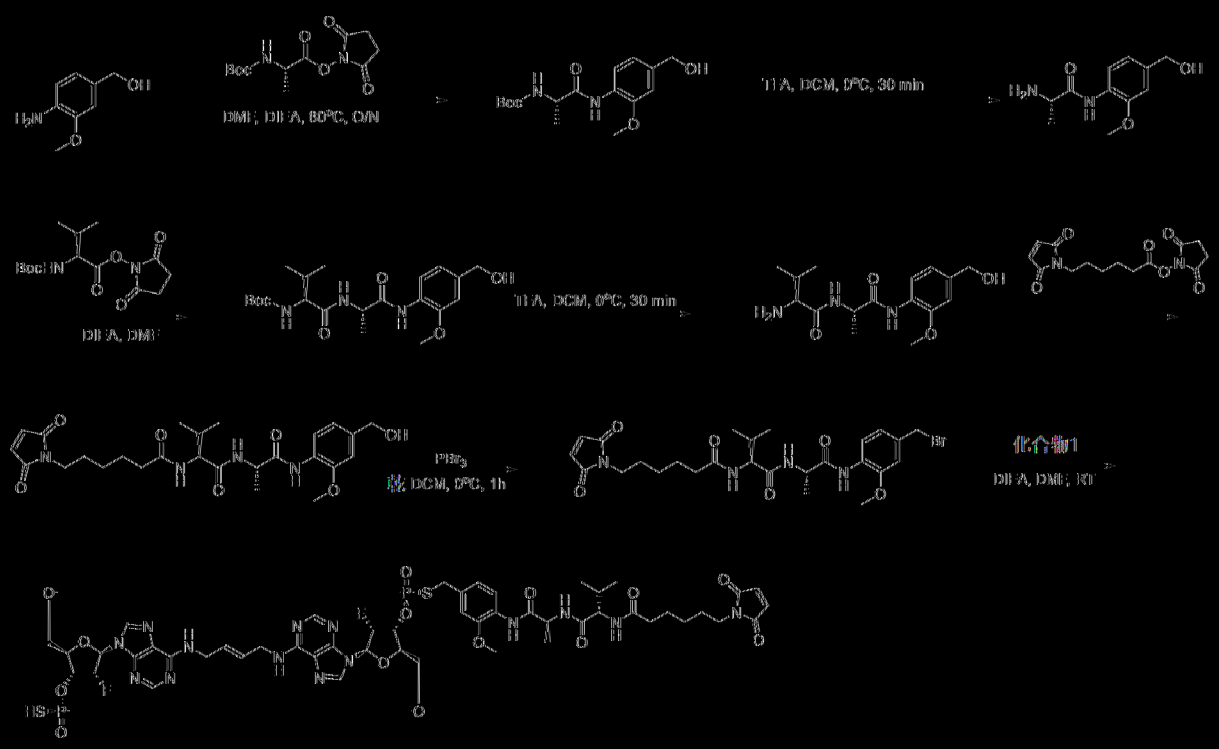


[0909] 將*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[3,5-二氯-4-(硫甲基)苯基]氨基甲醯基}乙基]氨基甲醯基}-2-甲基內基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺（99.8 mg，0.150 mmol）和化合物1（56 mg，0.075 mmol）在DMF（1 mL）中的混合物在氮氣氣氛下在0°C攪拌1 h。將粗製產物（56 mg）藉由製備型HPLC用以下條件純化（柱：XBridge Prep Phenyl OBD柱，19*150 mm，5 μm；流動相A：水（0.05%TEA），流動相B：MeCN；流速：60 mL/min；梯度：在8 min內30% B至35% B，35% B；波長：254 nm），以得到呈白色固體的*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[3,5-二氯-4-({[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氯-34,39-二側氧基-39-氧硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-四氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十三烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-34-基]氧基}甲基)苯基]氨基甲醯基}乙基]氨基甲醯基}-2-甲基內基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺（DLP47）（9.6 mg）。

[0910] LC-MS (ESI): [M+H]$^+$: 1283.00。

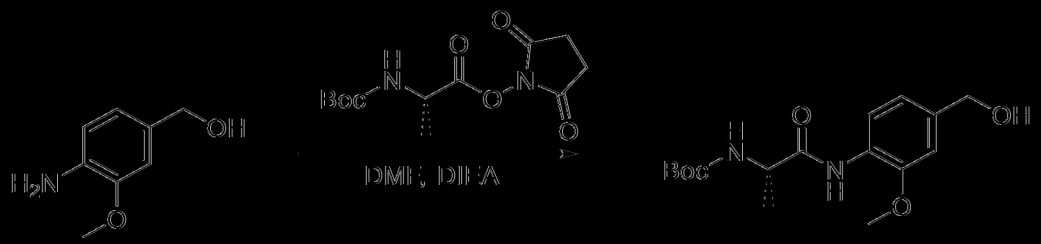
47. DLP48的合成

[0911] DLP48的合成如下所示：



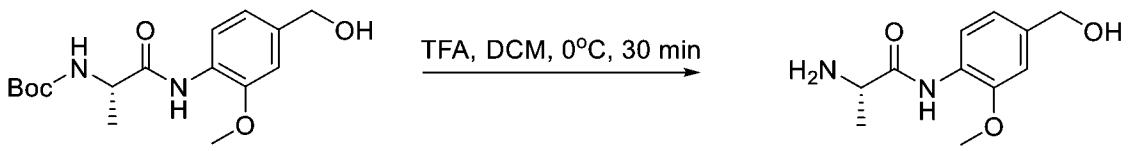
。

N-[(1*S*)-1-{[4-(溴甲基)-2-甲氧基-5-[(膦酰氧基)乙基]苯基]氨基甲酰基}-2-甲基丙基]氨基甲酸三級丁酯的合成



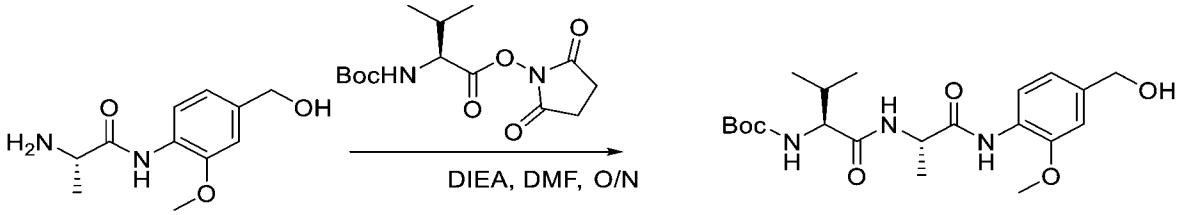
[0912] 在25°C，將DIEA（2.53 g，19.585 mmol）添加至(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}丙酸2,5-二側氧基吡咯烷-1-基酯（8.41 g，29.377 mmol）和1-(4-胺基-3-甲氧基苯基)甲醇（1.5 g，9.792 mmol）在DMF（20 mL）中的攪拌混合物中。將所得混合物在80°C攪拌14 h。將所得混合物用EtOAc稀釋。將殘餘物用水洗滌。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用PE/EtOAc（3:1）洗脫）純化，以得到呈棕色油狀物的*N*-[(1*S*)-1-{[4-(溴甲基)-2-甲氧基-5-[(膦酰氧基)乙基]苯基]氨基甲酰基}-2-甲基丙基]氨基甲酸三級丁酯（800 mg）。LC-MS (ESI): 325.2, [M+H]+。

(2*S*)-2-胺基-*N*-[4-(溴甲基)-2-甲氧基-5-[(膦酰氧基)乙基]苯基]丙醯胺的合成



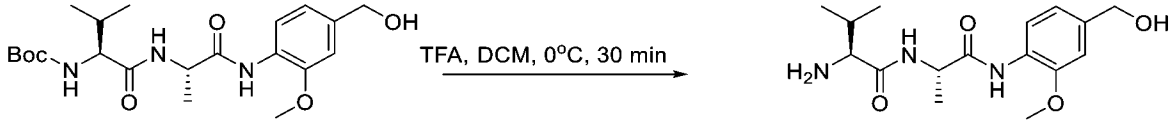
【0913】 在0°C，將TFA（3 mL）添加至*N*-[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-2-甲氧基苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲酸三級丁基酯（800 mg，2.466 mmol）在DCM（3 mL）中的攪拌混合物中。將所得混合物在25°C攪拌30 min。將所得混合物在減壓下濃縮。在0°C，將K_2CO_3（1.36 g，9.865 mmol）添加至MeOH（3 mL）、THF（3 mL）和H_2O（3 mL）的攪拌混合物中。將所得混合物在25°C攪拌2 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用DCM / MeOH（5:1）洗脫）純化，以得到呈無色油狀物的(2*S*)-2-胺基-*N*-[4-(羥基甲基)-2-甲氧基苯基]丙醯胺（420 mg）。LC-MS (ESI): 225.1 $[M+H]^+$。

_N_-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-2-甲氧基苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸*三級丁基*酯的合成



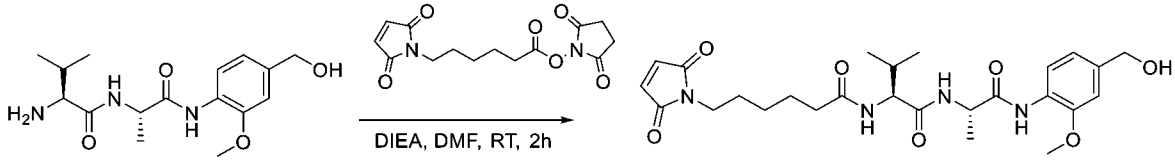
【0914】 在25°C，將DIEA（1.38 g，10.702 mmol）添加至(2*S*)-2-胺基-*N*-[4-(羥基甲基)-2-甲氧基苯基]丙醯胺（400 mg，1.784 mmol）和(2*S*)-2-[(*三級丁氧基*羰基)胺基]-3-甲基丁酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（560.67 mg，1.784 mmol）在DMF（5 mL）中的攪拌混合物中。將所得混合物在25°C攪拌14 h。將所得混合物用EtOAc稀釋。將所得混合物用水洗滌。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用PE / EtOAc（1:1）洗脫）純化，以得到呈白色固體的*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-2-甲氧基苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸*三級丁基*酯（470 mg）。LC-MS (ESI): 424.2 $[M+H]^+$。

(2*S*)-2-胺基-*N*-[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-2-甲氧基苯基]胺基甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺的合成



【0915】 在0°C，將TFA（3 mL）添加至*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-2-甲氧基苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸*三級丁基*酯（450 mg，1.063 mmol）在DCM（3 mL）中的攪拌混合物中。將所得混合物在25°C攪拌30 min。將所得混合物在減壓下濃縮。在0°C，將K_2CO_3（585.30 mg，4.252 mmol）添加至MeOH（3 mL）、THF（3 mL）和H_2O（3 mL）的攪拌混合物中。將所得混合物在25°C攪拌2 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用DCM / MeOH（6:1）洗脫）純化，以得到呈無色油狀物的(2*S*)-2-胺基-*N*-[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-2-甲氧基苯基]胺基甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺（270 mg）。LC-MS (ESI): 324.2 $[M+H]^+$。

6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-2-甲氧基苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺的合成



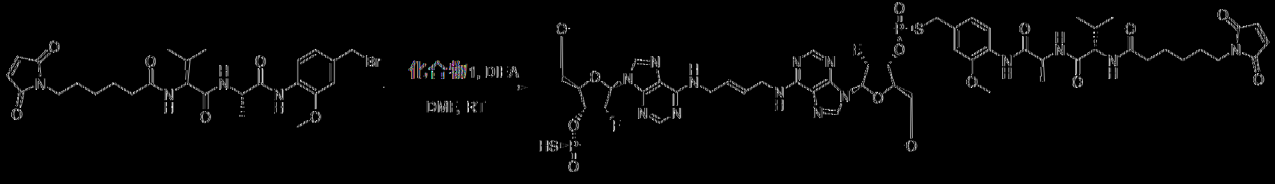
【0916】 在25°C，將DIEA（199.82 mg，1.546 mmol）添加至(2*S*)-2-胺基-*N*-[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-2-甲氧基苯基]胺基甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺（250 mg，0.773 mmol）和6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（214.49 mg，0.696 mmol）在DMF（3 mL）中的攪拌混合物中。將所得混合物在25°C攪拌2 h。將所得混合物用EtOAc稀釋。將所得混合物用水洗滌。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用DCM / MeOH（12:1）洗脫）純化，以得到呈白色固體的6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-

1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(溴甲基)-2-甲氧基苯基]胺基}甲醯基]乙基]胺基}-2-甲基-1-側氧基丙-2-基]己醯胺（250 mg）。LC-MS (ESI): 517.3 [M+H]⁺。

N-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(溴甲基)-2-甲氧基苯基]胺基}甲醯基]乙基]胺基}-2-甲基-1-側氧基丙-2-基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺的合成

[0917] 在氮氣氣氛下在0°C，將PBr_3（39.30 mg，0.146 mmol）添加至6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥甲基)-2-甲氧基苯基]胺基}甲醯基]乙基]胺基}-2-甲基-1-側氧基丙-2-基]己醯胺（50 mg，0.097 mmol）在DCM（2 mL）中的攪拌混合物中。將所得混合物在氮氣氣氛下在0°C攪拌1 h。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用DCM / IPA（14:1）洗脫）純化，以得到呈白色固體的*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(溴甲基)-2-甲氧基苯基]胺基}甲醯基]乙基]胺基}-2-甲基-1-側氧基丙-2-基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺（50 mg）。LC-MS (ESI): 579.2 [M+H]⁺。

N-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-({[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-39-(磺硫基)-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1³,³⁶.1²⁸,³¹.0⁴,⁸.0⁷,¹².0¹⁹,²⁴.0²³,²⁷]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-34-基]氧硫基}甲基)-2-甲氧基苯基]胺基}甲醯基]乙基]胺基}-2-甲基-1-側氧基丙-2-基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺（LP48）的合成

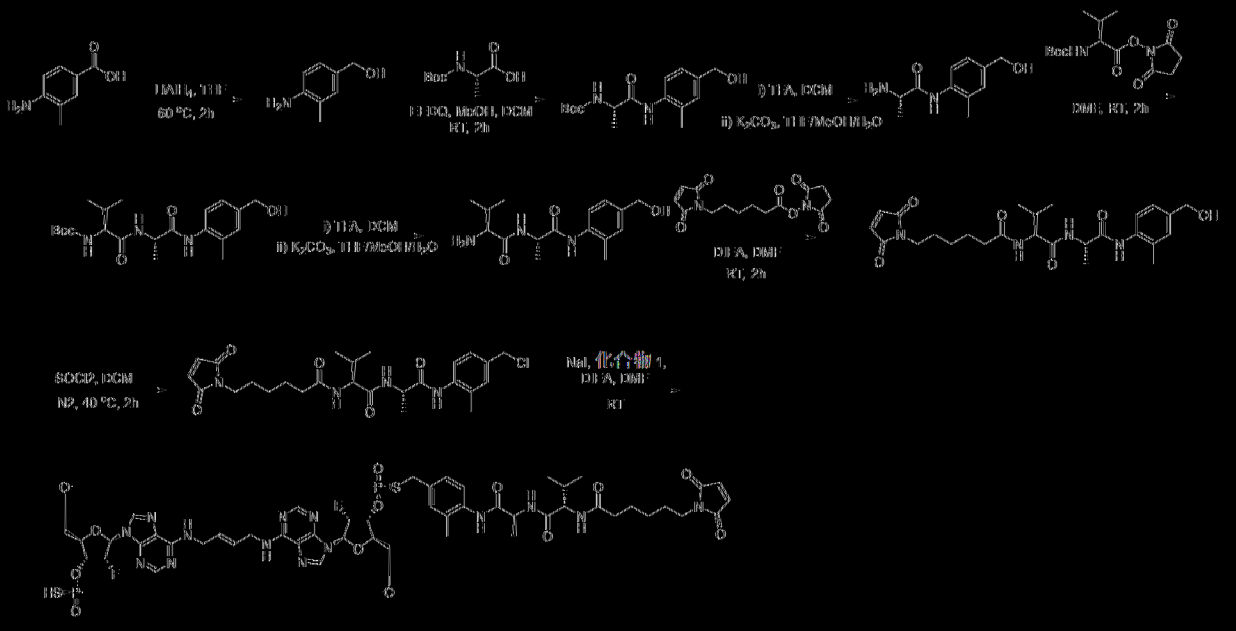


【0918】 在0°C，將DIEA（27.70 mg，0.214 mmol）添加至*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(溴甲基)-2-甲氧基苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺（49.68 mg，0.086 mmol）和化合物1（32 mg，0.043 mmol）在DMF（2 mL）中的攪拌混合物中。將所得混合物在25°C攪拌2 h。將混合物藉由製備型HPLC用以下條件純化（柱：XBridge Prep OBD C18柱，19*250 mm，5 μm；流動相A：水（0.1%FA），流動相B：MeCN；流速：25 mL/min；梯度：在12 min內20% B至40% B，40% B；波長：254 nm），以得到呈白色固體的*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-({[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-39-氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-34-基]氫硫基}甲基)-2-甲氧基苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺（**LP48**）（8.9 mg）。

【0919】 LC-MS (ESI): 1245.80 $[M+H]^+$。

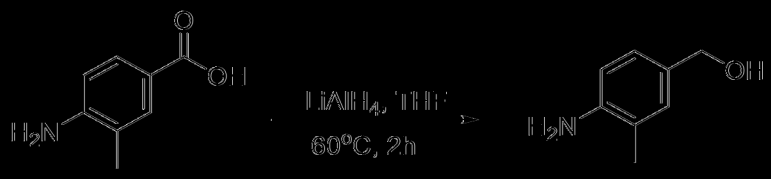
48. ***LP49****的合成*

【0920】 **LP49**的合成如下所示：



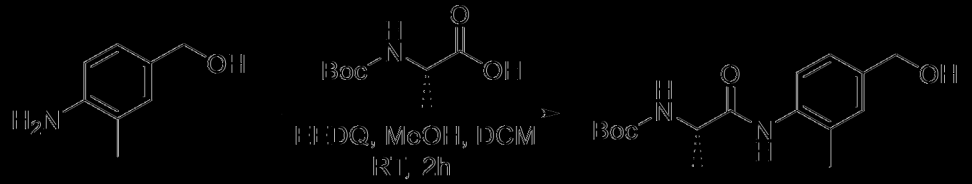
。

(4-胺基-3-甲基苯基)甲醇的合成



[0921] 在0°C，將$LiAlH_4$（59.54 mL，59.538 mmol）添加至4-胺基-3-甲基苯甲酸（3 g，19.846 mmol）在THF（50 mL）中的攪拌混合物中。將所得混合物在氮氣氣氛下在60°C攪拌2 h。將反應在0°C藉由添加MeOH（50 mL）淬滅。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用PE/EtOAc（1:1）洗脫）純化，以得到呈黃色油狀的(4-胺基-3-甲基苯基)甲醇（680 mg）。LC-MS (ESI): 138.09[M+H]+。

N-[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-2-甲基苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲酸*第三*-丁酯的合成



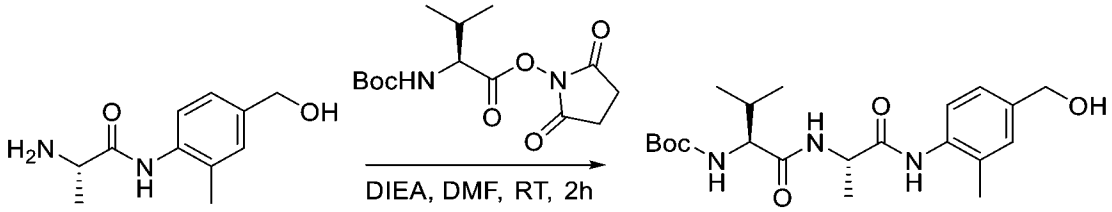
[0922] 將EEDQ（3.61 g，14.580 mmol）和(2*S*)-2-[(*第三*-丁氧基羰基)胺基]丙酸（1.38 g，7.290 mmol）添加至(4-胺基-3-甲基苯基)甲醇（1 g，7.290

mmol）在MeOH（2 mL）和DCM（12 mL）中的攪拌混合物中。將所得混合物在室溫攪拌2 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用PE / EtOAc（1:1）洗脫）純化，以得到呈白色固體的*N*-[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-2-甲基苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲酸*三級丁基*酯（1.1 g）。LC-MS (ESI): 309.18[M+H]$^+$。

(2*S*)-2-胺基-*N*-[4-(羥基甲基)-2-甲基苯基]丙醯胺的合成

【0923】將TFA（3 mL）添加至*N*-[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-2-甲基苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲酸*三級丁基*酯（1.1 g，3.567 mmol）在DCM（3 mL）中的攪拌溶液中。將所得混合物在室溫攪拌30 min。將所得混合物在減壓下濃縮。然後將H_2O（1.5 mL）、THF（1.5 mL）和MeOH（1.5 mL）中的K_2CO_3（1.47 g，10.636 mmol）添加至所得混合物中。將所得混合物在室溫攪拌2 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用DCM:MeOH（2:1）洗脫）純化，以得到呈淡黃色固體的(2*S*)-2-胺基-*N*-[4-(羥基甲基)-2-甲基苯基]丙醯胺（600 mg）。LC-MS (ESI): 209.12[M+H]$^+$。

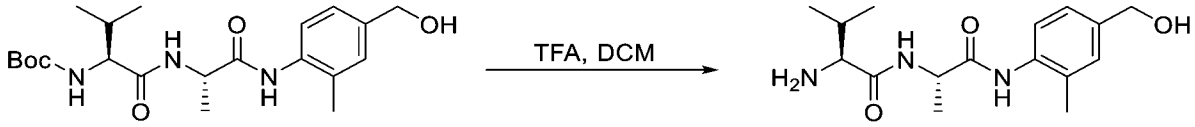
***N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-2-甲基苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸*三級丁基*酯的合成**



【0924】將DIEA（744.72 mg，5.762 mmol）、(2*S*)-2-[(三級丁氧基羰基)胺基]-3-甲基丁酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（905.61 mg，2.881 mmol）添加至(2*S*)-2-胺基-*N*-[4-(羥基甲基)-2-甲基苯基]丙醯胺（600 mg，2.881 mmol）在

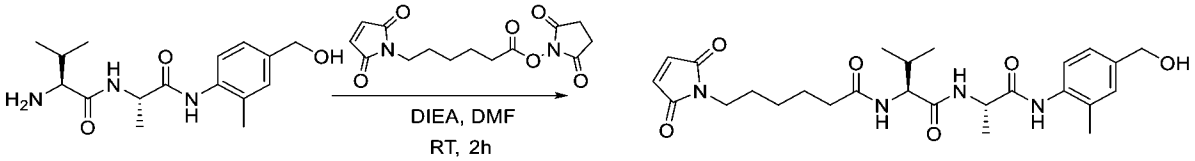
DMF（4 mL）中的攪拌混合物中。將所得混合物在室溫攪拌2 h。將所得混合物用EtOAc（100 mL）稀釋。將所得混合物用3x20 mL的水洗滌。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用PE / EtOAc（1:2）洗脫）純化，以得到呈黃色固體的*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-2-甲基苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸*三級丁基*酯（800 mg）。LC-MS (ESI): 408.25[M+H]$^+$。

(2*S*)-2-胺基-*N*-[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-2-甲基苯基]胺基甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺的合成



【0925】將TFA（4 mL）添加至*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-2-甲基苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸*三級丁基*酯（800 mg，1.963 mmol）在DCM（4 mL）中的攪拌溶液中。將所得混合物在室溫攪拌30 min。將所得混合物在減壓下濃縮。然後將H_2O（1.5 mL）、MeOH（1.5 mL）和THF（1.5 mL）中的K_2CO_3（1085.27 mg，7.852 mmol）添加至所得混合物中。將所得混合物在室溫攪拌2 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用DCM / MeOH（1:2）洗脫）純化，以得到呈白色固體的(2*S*)-2-胺基-*N*-[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-2-甲基苯基]胺基甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺（600 mg）。LC-MS (ESI): 309.19 [M+H]$^+$。

6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-2-甲基苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺的合成



【0926】將DIEA（496.13 mg，3.838 mmol）和6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（591.72 mg，1.919 mmol）添加

至(2*S*)-2-胺基-*N*-[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-2-甲基苯基]胺基甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺（590 mg，1.919 mmol）在DMF（3 mL）中的攪拌混合物中。將所得混合物在25°C攪拌2 h。將所得混合物用EtOAc（60 mL）稀釋。將所得混合物用3x10 mL的水洗滌。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用DCM / MeOH（17:1）洗脫）純化，以得到呈白色固體的6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-2-甲基苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺（380 mg）。LC-MS (ESI): 501.27 $[M+H]^+$。

_N_-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(氯甲基)-2-甲基苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺的合成

【0927】將$SOCl_2$（42.78 mg，0.360 mmol）添加至6-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-2-甲基苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺（90 mg，0.180 mmol）在DCM（1 mL）中的攪拌混合物中。將所得混合物在氮氣氣氛下在40°C攪拌2 h。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用DCM / IPA（2:1）洗脫）純化，以得到呈白色固體的*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(氯甲基)-2-甲基苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺（90 mg）。LC-MS (ESI): 519.23$[M+H]^+$。

_N_-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-({[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-39-氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-34-基]

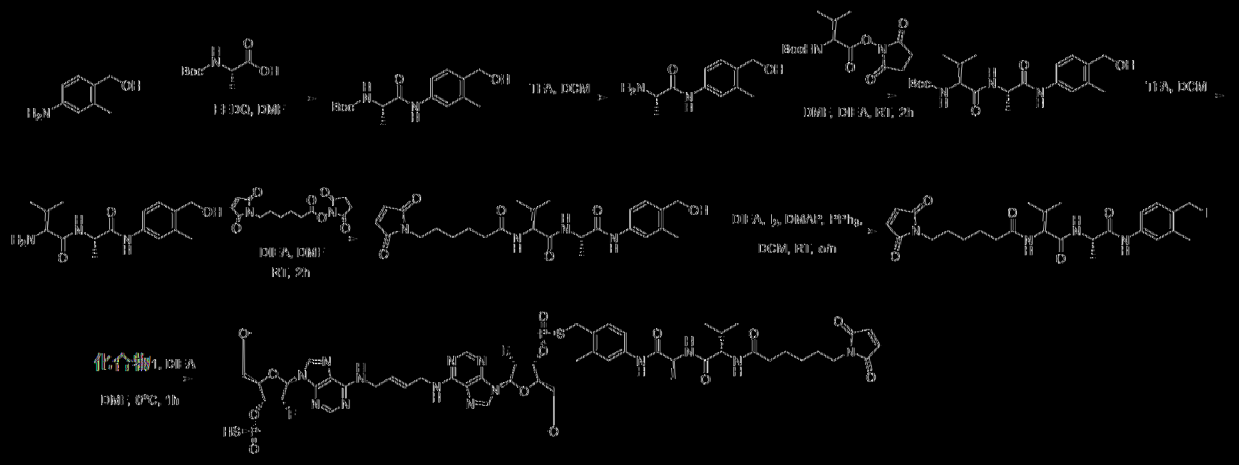
氧硫基}甲基)-2-甲基苯甲胺基]甲醯基}乙基胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺（LP49）的合成

[0928] 將NaI（12.05 mg，0.080 mmol）添加至*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(氧甲基)-2-甲基苯甲胺基]甲醯基}乙基胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺（65 mg，0.125 mmol）在DMF（1.5 mL）中的攪拌混合物中。將所得混合物在室溫攪拌1 h，然後添加化合物1（60 mg，0.080 mmol）和DIEA（51.93 mg，0.400 mmol）。將溶液在室溫攪拌1 h。將粗製產物藉由製備型HPLC用以下條件純化（柱：XBridge Prep OBD C18柱，19*250 mm，5 μm；流動相A：水（0.1%FA），流動相B：MeCN；流速：25 mL/min；梯度：在12 min內29% B至29% B，29% B；波長：254 nm；RT1（min）：10.8）；以得到呈白色固體的*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-({[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-39-氧硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-34-基]氧硫基}甲基)-2-甲基苯甲胺基]甲醯基}乙基胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺（LP49）（9.9 mg）。

[0929] LC-MS (ESI): 1229.15[M+H]$^+$。

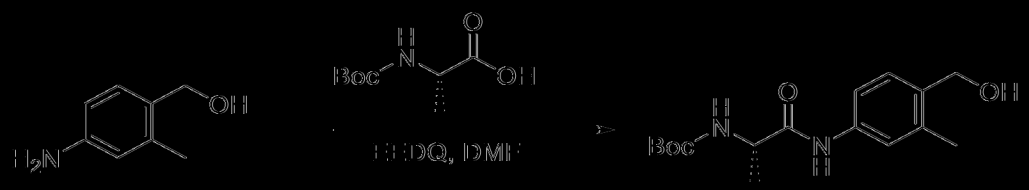
49. LP50的合成

[0930] LP50的合成如下所示：



。

N-[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-3-甲氧苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲酸三級丁基酯的合成



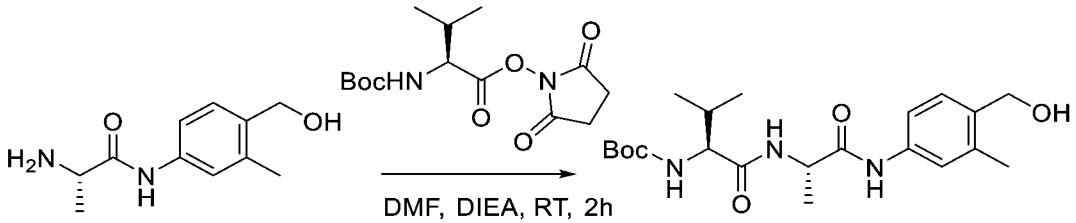
[0931] 在室溫，向(4-胺基-2-甲氧苯基)甲醇（782 mg，5.700 mmol）和(*2S*)-2-[(三級丁氧羰基)胺基]丙酸（1294.3 mg，6.840 mmol）在DCM（12 mL）和MeOH（2 mL）中的攪拌溶液中分批添加EEDQ（2819.3 mg，11.400 mmol）。將所得混合物在室溫攪拌過夜。將所得混合物在真空下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用PE/EtOAc（60/40）洗脫）純化，以得到呈白色固體的*N*-[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-3-甲氧苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲酸三級丁酯（1.7 g）。

(*2S*)-2-胺基-*N*-[4-(羥基甲基)-3-甲氧苯基]丙醯胺的合成

[0932] 在室溫，向*N*-[(1*S*)-1-{[3-氟-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲酸三級丁酯（850 mg，2.721 mmol）在DCM（10 mL）中的攪拌溶液中滴加TFA（2 mL）。將所得混合物在室溫攪拌2 h。將所得混合物在真空下濃

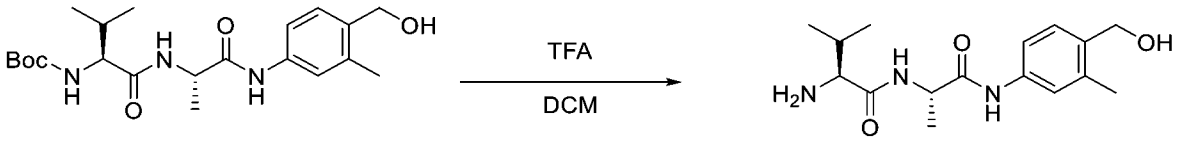
縮。這產生呈淡黃色油狀物的(2*S*)-2-胺基-*N*-[3-氟-4-(羥基甲基)苯基]丙醯胺（815 mg）。

_N_-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-3-甲基苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸*三級丁基*酯的合成



【0933】 在室溫，向(2*S*)-2-胺基-*N*-[3-氟-4-(羥基甲基)苯基]丙醯胺（448 mg，2.151 mmol）和(2*S*)-2-[(三級丁氧基羰基)胺基]-3-甲基丁酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（1328.2 mg，4.225 mmol）在DMF（5 mL）中的攪拌溶液中滴加DIEA（2780.2 mg，21.510 mmol）。將所得混合物在室溫攪拌2 h。將所得混合物用EtOAc萃取。將合併的有機層用水洗滌，經無水Na_2SO_4乾燥。過濾後，將濾液在減壓下濃縮。將所得混合物在真空下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用PE /EtOAc（70/30）洗脫）純化，以得到呈淡黃色固體的*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-3-甲基苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸*三級丁基*酯（601 mg）。

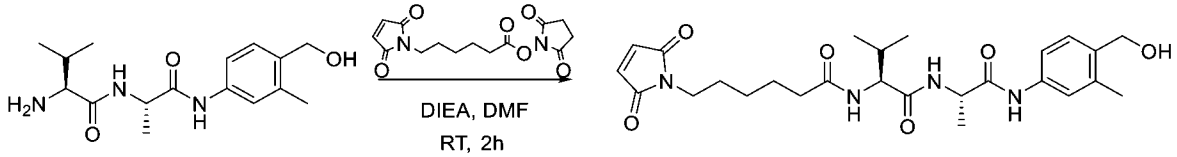
(2*S*)-2-胺基-*N*-[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-3-甲基苯基]胺基甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺的合成



【0934】 在室溫，向*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-3-甲基苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸*三級丁基*酯（601 mg，1.475 mmol）在DCM（6 mL）中的攪拌溶液中滴加TFA（2.0 mL）。將所得混合物在室溫攪拌1 h。將所得混合物在真空下濃縮。這產生呈淡黃色油狀物的(2*S*)-2-

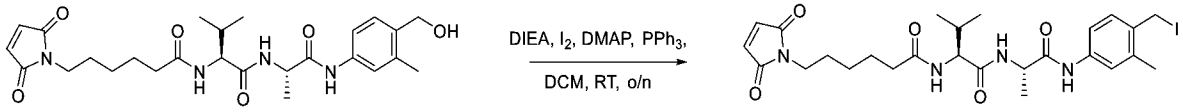
胺基-*N*-[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-3-甲基苯基]胺基甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺（245 mg）。

6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-3-甲基苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺的合成



【0935】 在氮氣氣氛下，向攪拌的DMF（5 mL）中的(2*S*)-2-胺基-*N*-[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-3-甲基苯基]胺基甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺（400 mg，1.303 mmol）中分批添加6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（441.4 mg，1.4332 mmol）和DIEA（1680.7 mg，13.0290 mmol）。將所得混合物在氮氣氣氛下攪拌2 h。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用DCM/MeOH（20/1）洗脫）純化，以得到呈白色固體的6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-3-甲基苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺（340 mg）。

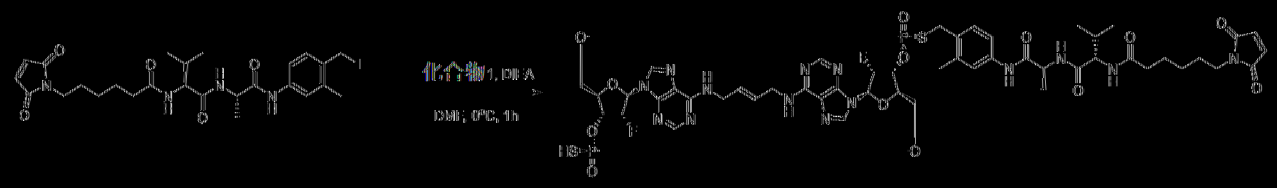
6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(碘甲基)-3-甲基苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺的合成



【0936】 在氮氣氣氛下在室溫，向6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-3-甲基苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺（120 mg，0.2400 mmol）和DMAP（11.7 mg，0.096 mmol）在DCM（1.5 mL）中的攪拌溶液中分批添加PPh_3（94.3 mg，0.3600 mmol）、I2和DIEA。將所得混合物在氮氣氣氛下在室溫攪拌過夜。將所得混合物在真空下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用DCM / IPA（95/5）洗

脫）純化，以得到呈淡黃色固體的6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(胺甲基)-3-甲氧苯基]胺甲醯基}乙基]胺甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺（20 mg）。

N-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-({[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-39-氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-十烯-34-基]氫硫基}甲基)-3-甲氧苯基]胺甲醯基}乙基]胺甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺（DLP50）的合成



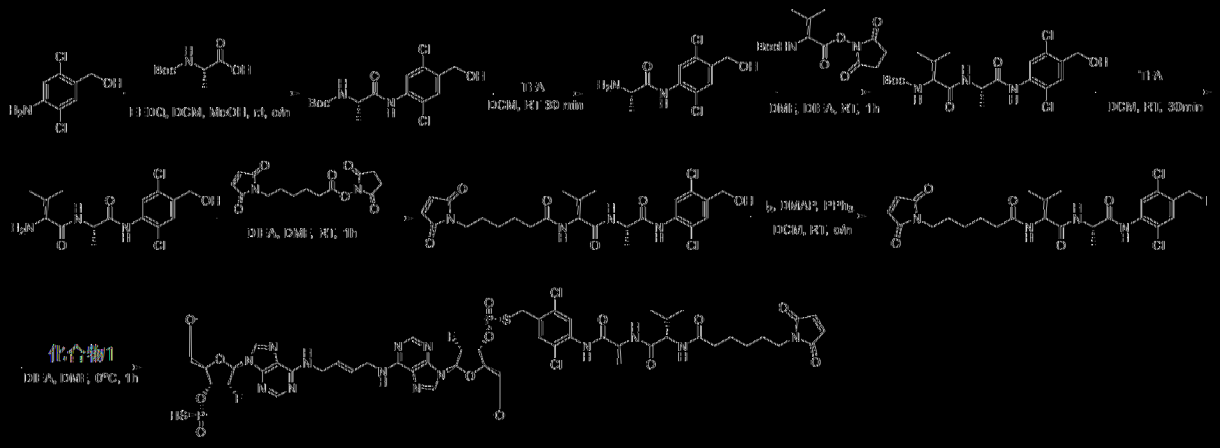
[0937] 在氮氣氣氛下在0°C，向6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(胺甲基)-3-甲氧苯基]胺甲醯基}乙基]胺甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺（81.8 mg，0.134 mmol）和DIEA（43.28 mg，0.335 mmol）在DMF（1.2 mL）中的攪拌溶液中滴加化合物1（50 mg，0.067 mmol）。將所得混合物在氮氣氣氛下在0°C攪拌1 h。將粗製產物藉由製備型HPLC用以下條件純化（柱：Xcelect CSH F-phenyl OBD柱，19*250 mm，5μm；流動相A：水（0.1%FA），流動相B：MeCN；流速：25 mL/min；梯度：在13 min內20% B至40% B，40% B；波長：254 nm；RT1（min）：11.2）。產生呈白色固體的*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-({[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-39-氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-十烯-34-基]

氧羰基}甲基)-3-甲氧苯基胺基甲醯基}乙基胺基甲醯基)-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺（LP50）（6.8 mg）。

[0938] LC-MS (ESI): [M+H]+: 1229.10。

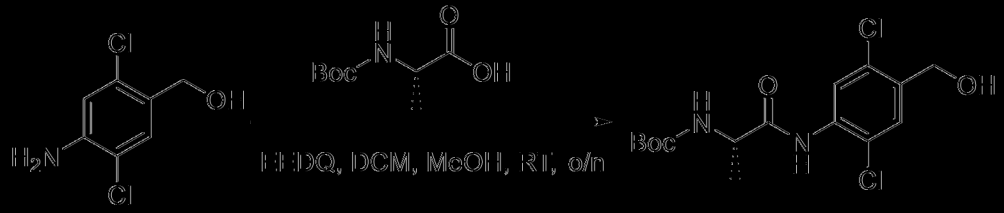
50. LP51的合成

[0939] LP51的合成如下所示：



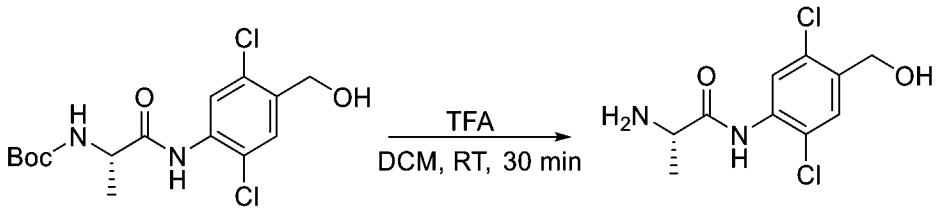
。

N-[(1*S*)-1-{[2,5-二氫-4-(羥基甲基)苯基胺基甲醯基]乙基胺基甲酸三級丁酯的合成



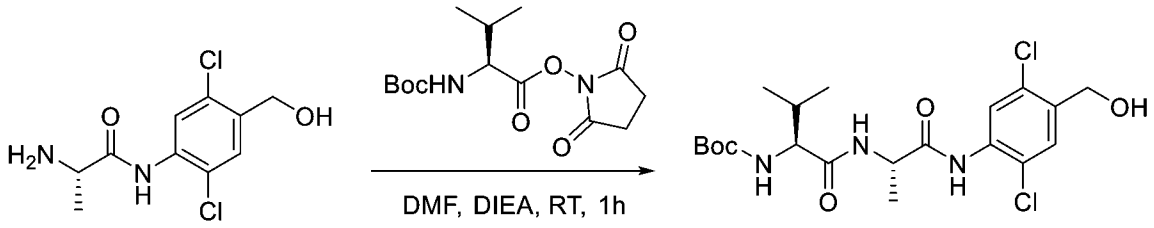
[0940] 將(4-胺基-2,5-二氯苯基)甲醇（500 mg，2.604 mmol）、EEDQ（1.29 g，5.208 mmol）和(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}丙酸在DCM（6 mL）、MeOH（1 mL）中的混合物在室氣氣氛下在室溫攪拌過夜。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用DCM / EtOAc（3/1）洗脫）純化，以得到呈白色固體的*N*-[(1*S*)-1-{[2,5-二氯-4-(羥基甲基)苯基胺基甲醯基]乙基胺基甲酸三級丁酯（248 mg）。

(2*S*)-2-胺基-*N*-(2,5-二氯-4-(羥基甲基)苯基)戊烯醯胺的合成



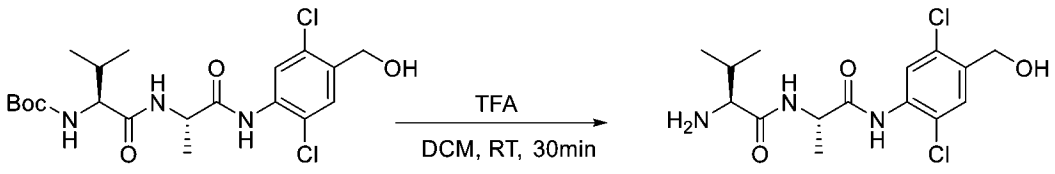
【0941】 將*N*-[(1*S*)-1-{[2,5-二氯-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲酸*三級丁基*酯（238 mg，0.655 mmol）和TFA（1 mL）在DCM（3 mL）中的溶液在室溫攪拌30 min。將所得混合物在減壓下濃縮，以得到呈黃色油狀物的(2*S*)-2-胺基-*N*-[2,5-二氯-4-(羥基甲基)苯基]丙醯胺（172 mg）。

_N_-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[2,5-二氯-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸*三級丁基*酯的合成



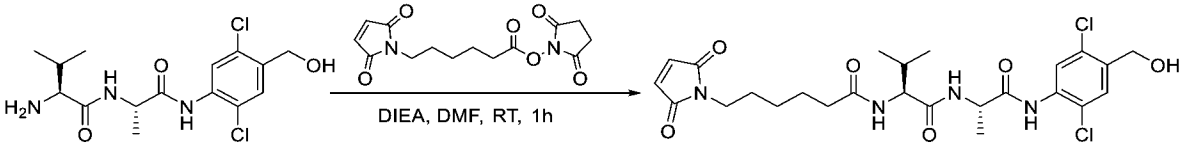
【0942】 將(2*S*)-2-胺基-*N*-[2,5-二氯-4-(羥基甲基)苯基]丙醯胺（150 mg，0.570 mmol）、DIEA（736.79 mg，5.700 mmol）和(2S)-2-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}-3-甲基丁酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯在DMF（2 mL）中的混合物在室溫攪拌1 h。將反應進行處理，並將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用PE / EtOAc（5/1）洗脫）純化，以得到呈黃色油狀物的*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[2,5-二氯-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸*三級丁基*酯（171 mg）。

(2*S*)-2-胺基-*N*-[(1*S*)-1-{[2,5-二氯-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺的合成



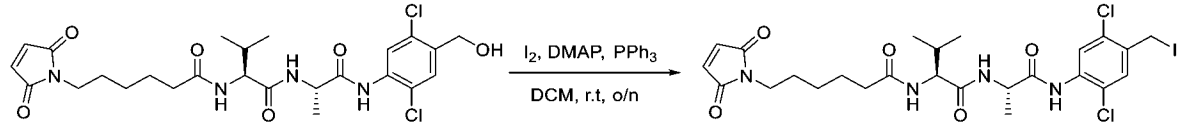
【0943】 將*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[2,5-二氯-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸*三級丁基*酯（160 mg，0.346 mmol）和TFA（1 mL）在DCM（3 mL）中的溶液在室溫攪拌30 min。將所得混合物在減壓下濃縮，以得到呈黃色油狀物的(2*S*)-2-胺基-*N*-[(1*S*)-1-{[2,5-二氯-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺（100 mg）。

_N_-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[2,5-二氯-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺的合成



【0944】 將(2*S*)-2-胺基-*N*-[(1*S*)-1-{[2,5-二氯-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺（90 mg，0.248 mmol）、6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（84.25 mg，0.273 mmol）和DIEA（321.10 mg，2.480 mmol）在DMF（2 mL）中的混合物在室溫攪拌1 h。將反應進行處理，並將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用DCM/MeOH（10/1）洗脫）純化，以得到呈白色固體的*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[2,5-二氯-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺（80 mg）。

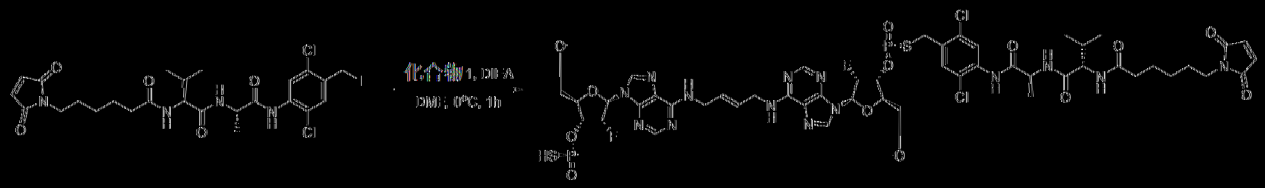
_N_-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[2,5-二氯-4-(碘甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺的合成



【0945】 將*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[2,5-二氯-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺（40 mg，0.063 mmol）、I_2（23.93 mg，0.095 mmol）、DMAP（3.07 mg，

0.025 mmol）和PPh_3（24.73 mg，0.095 mmol）在DCM（2 mL）中的溶液在室溫攪拌過夜。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用DCM/IPA（10/1）洗脫）純化，以得到呈白色固體的*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[2,5-二氧-4-(硫-{3}-基)苯基]胺基}甲醯基]胺基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺（35 mg）。

N-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[2,5-二氧-4-({[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氧-34,39-二側氧基-39-氧硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氧雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-34-基]硫基)苯基]胺基}甲醯基]胺基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺（DLP51）的合成



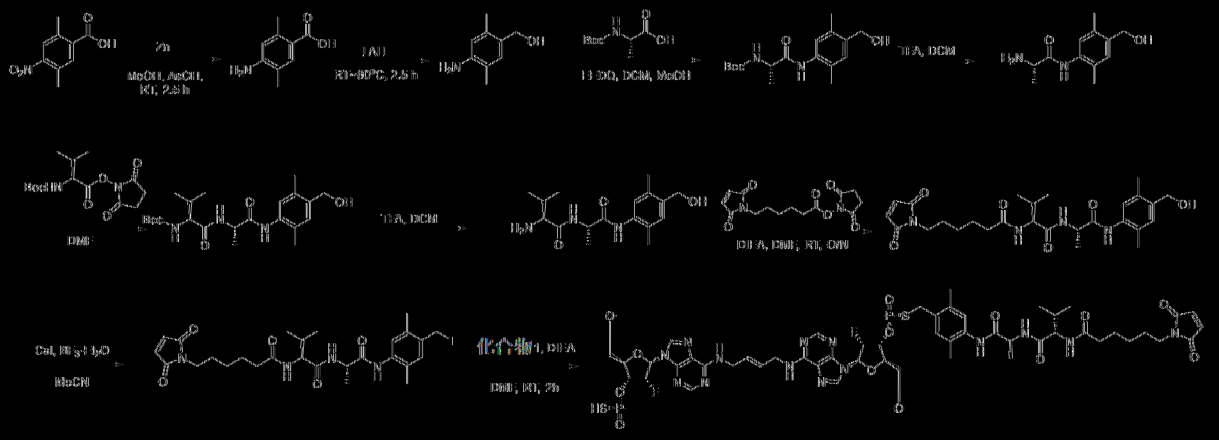
[0946] 將*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[2,5-二氧-4-(硫-{3}-基)苯基]胺基}甲醯基]胺基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺（73.12 mg，0.108 mmol）、化合物1（40 mg，0.054 mmol）和DIEA（34.62 mg，0.270 mmol）在DMF（1 mL）中的混合物在氮氣氣氛下在0°C攪拌1 h。將粗製產物藉由製備型HPLC用以下條件純化（柱：XBridge Shield RP18 OBD柱，19*250 mm，10 μm；流動相A：水（10 mmol/L NH_4HCO_3），流動相B：MeCN；流速：25 mL/min；梯度：在13 min內32% B至32% B，32% B；波長：254 nm；RT1（min）：11.5）；以得到呈白色固體的*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[2,5-二氧-4-({[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氧-34,39-二側氧

基-39-氧雜基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-34-基]甲基}苯基)甲醯基]乙基}胺基)-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)己醯胺（DLP51）（5.5 mg）。

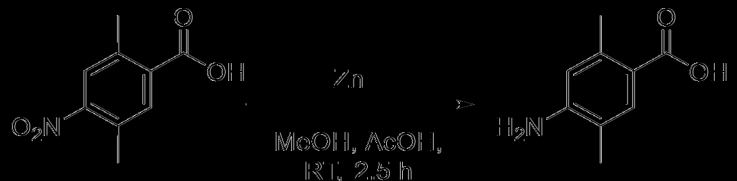
[0947] LC-MS (ESI): [M+H]$^+$: 1282.95。

51. DLP52的合成

[0948] DLP52的合成如下所示：

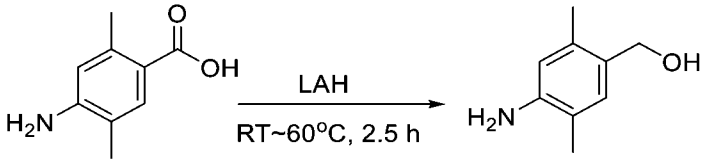


4-胺基-2,5-二甲基苯甲酸的合成



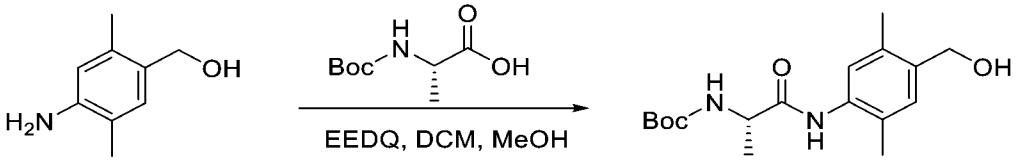
[0949] 將Zn（3.4 g，51.235 mmol）添加至2,5-二甲基-4-硝基苯甲酸（2 g，10.247 mmol）在MeOH（15 mL）和AcOH（3 mL）中的混合物中。將所得混合物在25°C攪拌16 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將所得混合物用EtOAc稀釋、用水洗滌並濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用PE/EtOAc（1:1）洗脫）純化。這產生1.1 g呈灰白色固體的4-胺基-2,5-二甲基苯甲酸。LC-MS (ESI): 166 [M+H]$^+$。

(4-胺基-2,5-二甲基苯基)甲醇的合成



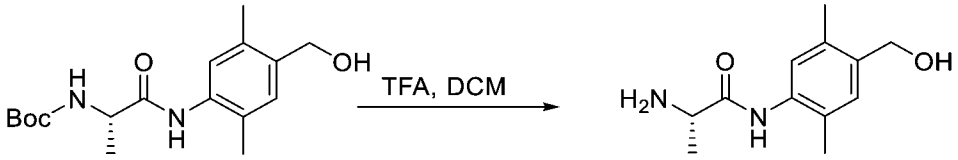
【0950】 在0°C，將LAH（13.3 ml，13.318 mmol）添加至4-胺基-2,5-二甲基苯甲酸（1.1 g，6.659 mmol）在THF（20 mL）中的混合物中。將所得混合物在60°C攪拌2.5 h。將反應在0°C藉由添加MeOH（10 mL）淬滅。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用CH_2Cl_2 / MeOH（10:1）洗脫）純化。這產生500 mg呈黃色固體的(4-胺基-2,5-二甲基苯基)甲醇。LC-MS (ESI): 152 $[M+H]^+$。

***N*-[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-2,5-二甲基苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲酸*三級丁基*酯的合成**



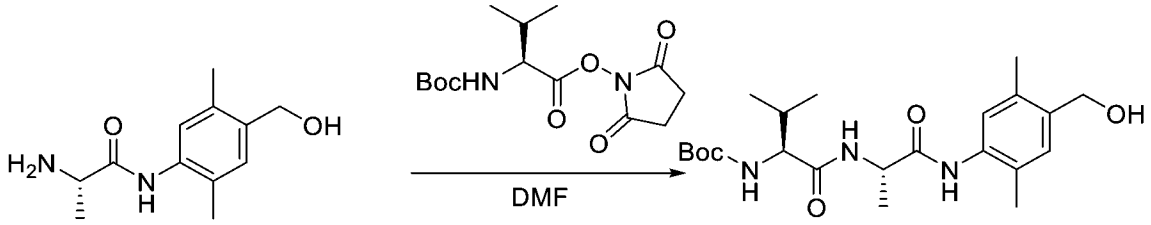
【0951】 將EEDQ（1.4 g，5.820 mmol）添加至(4-胺基-2,5-二甲基苯基)甲醇（440 mg，2.910 mmol）和(2*S*)-2-[(*三級丁氧基*羰基)胺基]丙酸（551 mg，2.910 mmol）在DCM（6 mL）和MeOH（1 mL）中的混合物中。將所得混合物在25°C攪拌2 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用PE/EtOAc（1:1）洗脫）純化。這產生800 mg呈白色固體的*N*-[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-2,5-二甲基苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲酸*三級丁基*酯。LC-MS (ESI): 323 $[M+H]^+$。

(2*S*)-2-胺基-*N*-[4-(羥基甲基)-2,5-二甲基苯基]丙醯胺的合成



【0952】 在0ºC，將TFA（5 mL）添加至*N*-[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-2,5-二甲基苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲酸*三級丁基*酯（760 mg，2.357 mmol）在DCM（5 mL）中的混合物中。將所得混合物在25ºC攪拌2.5 h。將所得混合物在減壓下濃縮。在0ºC，向上述混合物中滴加K_2CO_3（652 mg，4.714 mmol）、MeOH（4 mL）、THF（4 mL）和H_2O（4 mL）。將所得混合物在25ºC再攪拌2 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用CH_2Cl_2 / MeOH（5:1）洗脫）純化。這產生460 mg呈黃色固體的(2*S*)-2-胺基-*N*-[4-(羥基甲基)-2,5-二甲基苯基]丙醯胺。LC-MS (ESI): 223 $[M+H]^+$。

_N_-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-2,5-二甲基苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸*三級丁基*酯的合成

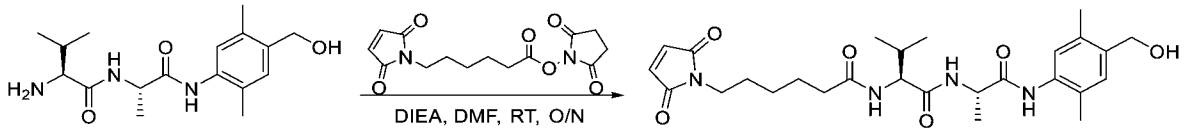


【0953】 將(2*S*)-2-[(*三級丁氧基*羰基)胺基]-3-甲基丁酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（650 mg，2.069 mmol）添加至(2*S*)-2-胺基-*N*-[4-(羥基甲基)-2,5-二甲基苯基]丙醯胺（460 mg，2.069 mmol）在DMF（5 mL）中的混合物中。將所得混合物在25ºC攪拌2 h。將所得混合物用EtOAc稀釋、用水洗滌並濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用PE/EtOAc（1:2）洗脫）純化。這產生呈黃色固體的*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-2,5-二甲基苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸*三級丁基*酯（520 mg）。LC-MS (ESI): 423 $[M+H]^+$。

(2*S*)-2-胺基-*N*-[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-2,5-二甲基苯基]胺基甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺的合成

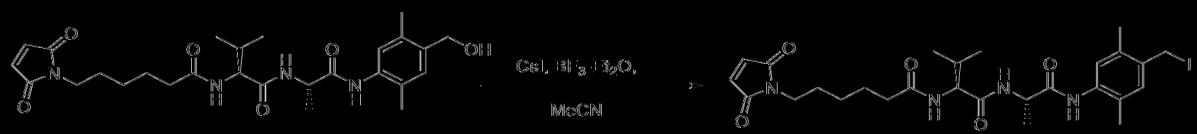
【0954】 在0ºC，將TFA（5 mL）添加至*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-2,5-二甲基苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸*三級丁基*酯（480 mg，1.139 mmol）在DCM（5 mL）中的混合物中。將所得混合物在25ºC攪拌2.5 h。將所得混合物在減壓下濃縮。在0ºC，向上述混合物中滴加K_2CO_3（472.12 mg，3.417 mmol）、MeOH（5 mL）、THF（5 mL）和H_2O（5 mL）。將所得混合物在25ºC再攪拌2 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用CH_2Cl_2 / MeOH（5:1）洗脫）純化。這產生500 mg呈黃色油狀物的(2*S*)-2-胺基-*N*-[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-2,5-二甲基苯基]胺基甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺。LC-MS (ESI): 322[M+H]$^+$。

6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-2,5-二甲基苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺的合成



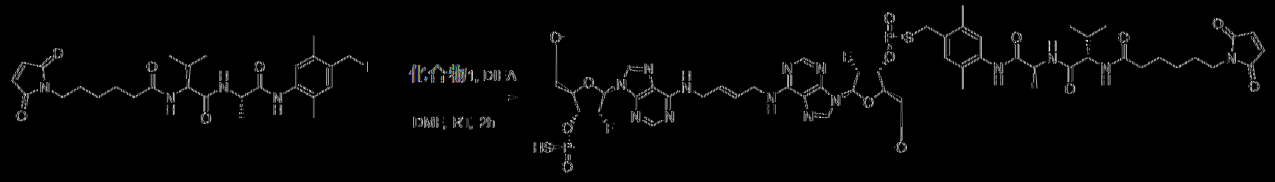
【0955】 將DIEA（386 mg，2.986 mmol）添加至(2*S*)-2-胺基-*N*-[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-2,5-二甲基苯基]胺基甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺（480 mg，1.493 mmol）和6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（460 mg，1.493 mmol）在DMF（5 mL）中的混合物中。將所得混合物在25ºC攪拌3 h。將所得混合物用EtOAc稀釋、用水洗滌並濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用CH_2Cl_2 / MeOH（10:1）洗脫）純化。這產生600 mg呈黃色固體的6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-2,5-二甲基苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺。LC-MS (ESI): 515 [M+H]$^+$。

6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(碘甲基)-2,5-二甲基苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺的合成



[0956] 將碘化銫（76 mg，0.291 mmol）和$BF_3.Et_2O$（42 mg，0.291 mmol）添加至6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥甲基)-2,5-二甲氧苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺（100 mg，0.194 mmol）在MeCN（3 mL）中的混合物中。將所得混合物在氮氣氣氛下在25℃攪拌2 h。將所得混合物用DCM稀釋、用水洗滌並濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用CH_2Cl_2/2-丙醇（10:1）洗脫）純化。這產生85 mg呈白色固體的6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(碘甲基)-2,5-二甲氧苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺。LC-MS (ESI): 625[M+H]$^+$。

N-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-({[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-39-氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十全雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{7,48}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十八烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-34-基]氫硫基}甲基)-2,5-二甲氧苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺（OLP52）的合成



[0957] 將DIEA（43 mg，0.335 mmol）添加至化合物1（50 mg，0.067 mmol）和6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(碘甲基)-2,5-二甲氧苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺（84 mg，0.134 mmol）在DMF（2 mL）中的混合物中。將所得混合物在25oC攪拌1 h。將粗品藉由製備型HPLC用以下條件純化（柱：Xbridge Prep Phenyl OBD

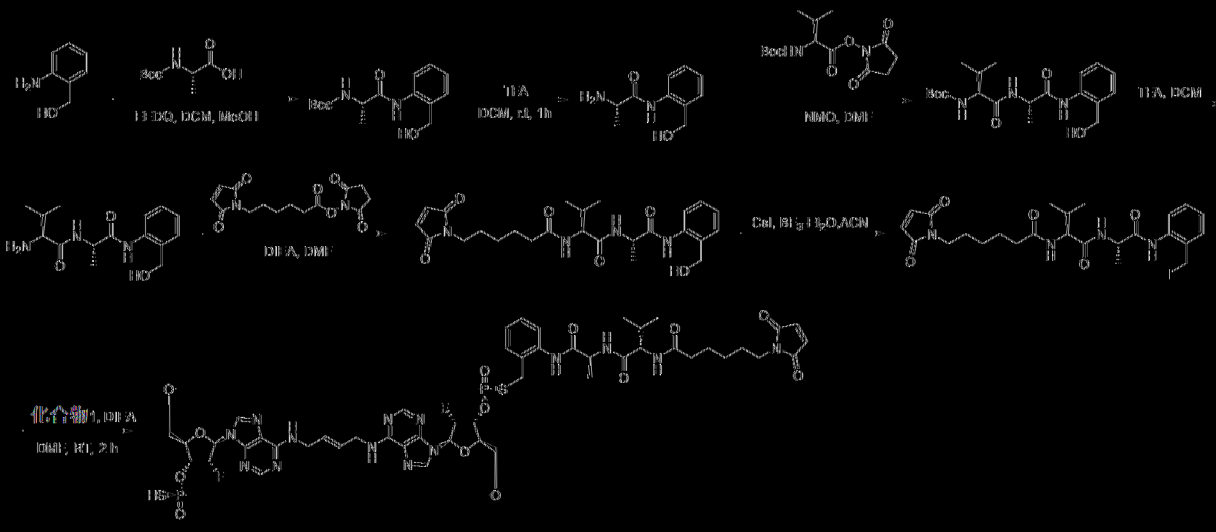
柱，19*250 mm，5 μm；流動相A：水（0.1%FA），流動相B：MeCN；流速：25 mL/min；梯度：在10 min內30% B至45% B，45% B；波長：254 nm；RT1（min）：9）。並產生8.7 mg（10.45%）呈白色固體的*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-({[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-39-氨硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氫雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十-15-烯-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-34-基]氨硫基}甲基)-2,5-二甲氧苯基]甲基}乙基胺基]甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺（DLP52）。

[0958] LC-MS (ESI): 1243.5[M+H]$^+$。

[0959] ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 9.15 (s, 1H), 8.66 (s, 1H), 8.39–7.99 (m, 4H), 7.81 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 7.24–7.06 (m, 2H), 7.00 (s, 3H), 6.88–6.64 (m, 1H), 6.57 (d, *J* = 15.8 Hz, 1H), 6.46–6.32 (m, 1H), 5.79–5.33 (m, 5H), 5.32–4.63 (m, 2H), 4.63–4.54 (m, 2H), 4.52–4.29 (m, 6H), 4.26–4.09 (m, 2H), 4.05–3.81 (m, 3H), 3.42–3.20 (m, 3H), 2.48–2.42 (m, 1H), 2.22–2.02 (m, 5H), 1.99–1.93 (m, 2H), 1.54–1.42 (m, 3H), 1.32–1.11 (m, 6H), 0.82 (t, *J* = 7.7 Hz, 6H)。

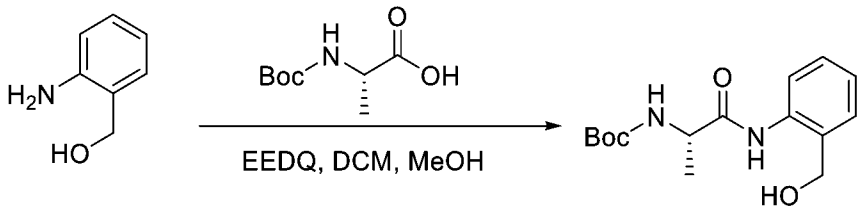
52. *LP53的合成*

[0960] LP53的合成如下所示：



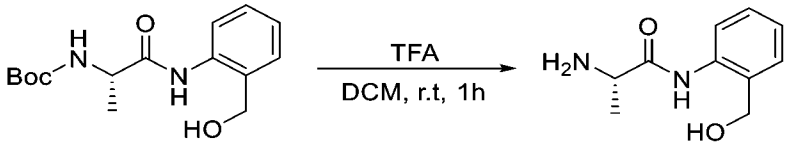
。

_N_-[(1_S_)-1-{[2-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲酸_三級丁基_酯的合成



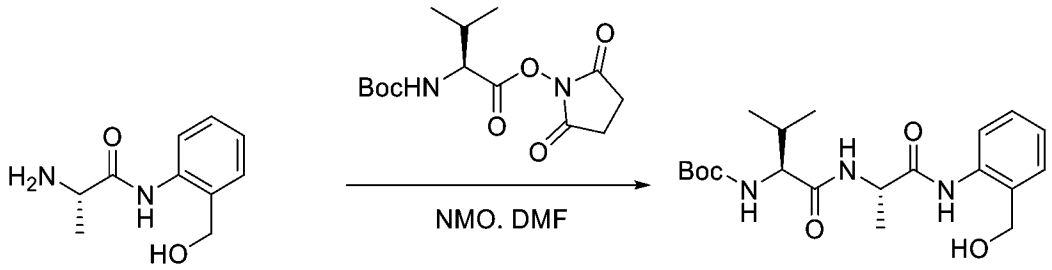
【0961】將2-乙氧基-1,2-二氫喹啉-1-甲酸乙基酯（16.1 g，64.958 mmol）添加至(2-胺基苯基)甲醇（4 g，32.479 mmol）和(2_S_)-2-[(_三級丁氧基_羰基)胺基]丙酸（6.2 g，32.479 mmol）在DCM（24 mL）和MeOH（4 mL）中的混合物中。將所得混合物在25°C攪拌2.5 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將所得混合物用EtOAc稀釋、用水洗滌並濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用PE/EtOAc（1:2）洗脫）純化。這產生9 g呈白色固體的_N_-[(1_S_)-1-{[2-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲酸_三級丁基_酯。LC-MS (ESI): 295 $[M+H]^+$。

(2_S_)-2-胺基-_N_-[2-(羥基甲基)苯基]丙醯胺的合成



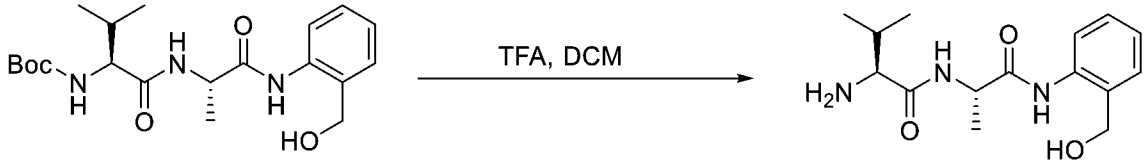
【0962】在0°C，將TFA（20 ml）添加至_N_-[(1S)-1-{[2-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲酸_三級丁基_酯（9 g，30.576 mmol）在DCM（20 mL）中的混合物中。將所得混合物在25°C攪拌2 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用CH_2Cl_2 / MeOH（5:1）洗脫）純化。這產生5 g呈黃色固體的(2_S_)-2-胺基-_N_-[2-(羥基甲基)苯基]丙醯胺。LC-MS (ESI): 195 $[M+H]^+$。

_N_-[(1_S_)-1-{[(1_S_)-1-{[2-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸_三級丁基_酯的合成：



【0963】將NMO（5.3 g，45.306 mmol）添加至(2*S*)-2-胺基-*N*-[2-(羥基甲基)苯基]丙醯胺（4.4 g，22.653 mmol）和(2*S*)-2-[(*三級丁氧基*羰基)胺基]-3-甲基丁酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（7.1 g，22.653 mmol）在DMF（20 mL）中的混合物中。將所得混合物在25°C攪拌2 h。將所得混合物用EtOAc稀釋、用水洗滌並濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用CH_2Cl_2 / MeOH（5:1）洗脫）純化。這產生5.1 g呈黃色固體的*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[2-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸*三級丁基*酯。LC-MS (ESI): 394 $[M+H]^+$。

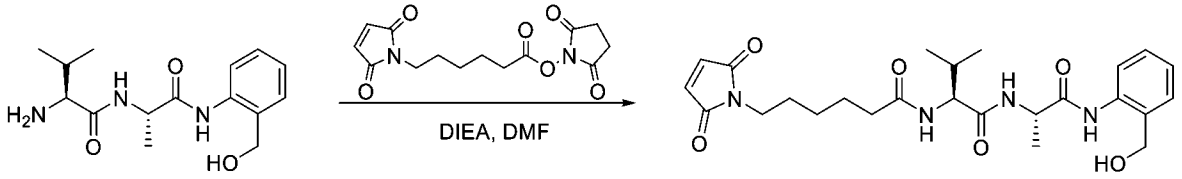
(2*S*)-2-胺基-*N*-[(1*S*)-1-{[2-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺的合成



【0964】在0°C，將TFA（15 mL）添加至*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[2-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸*三級丁基*酯（5.1 g，12.961 mmol）在DCM（15 mL）中的混合物中。將所得混合物在25°C攪拌2.5 h。將所得混合物在減壓下濃縮。在0°C，向上述混合物中滴加K_2CO_3（5.4 g，38.883 mmol）、MeOH（10 mL）、THF（10 mL）和H_2O（10 mL）。將所得混合物在25°C再攪拌2 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用CH_2Cl_2 / MeOH（5:1）洗脫）純化。這產生2.52 g呈白色固體的(2*S*)-

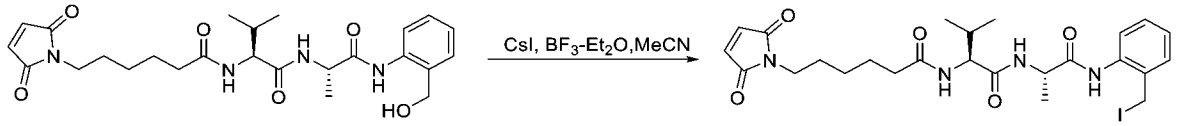
2-胺基-*N*-[(1*S*)-1-{[2-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺。LC-MS (ESI): 294[M+H]$^+$。

6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[2-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺的合成



【0965】將DIEA（2.2 g，17.044 mmol）添加至(2*S*)-2-胺基-*N*-[(1*S*)-1-{[2-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺（2.5 g，8.522 mmol）和6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（2.63 g，8.522 mmol）在DMF（10 mL）中的混合物中。將所得混合物在25ºC攪拌2 h。將所得混合物用EtOAc稀釋、用水洗滌並濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用PE/EtOAc（1:1）洗脫）純化。這產生1.65 g呈黃色固體的6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[2-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺。LC-MS (ESI): 487 [M+H]$^+$。

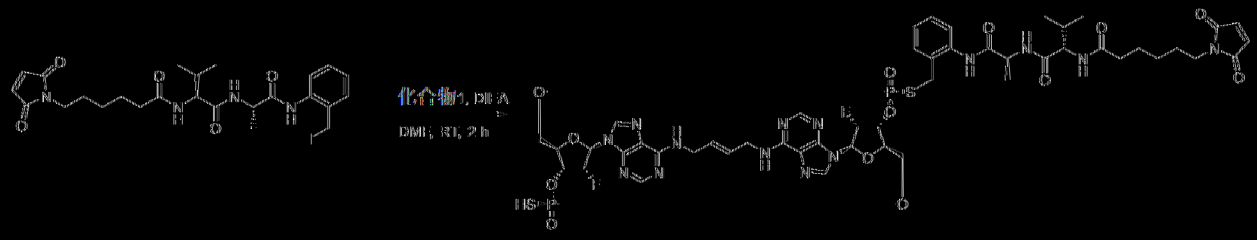
6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[2-(碘甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺的合成



【0966】將碘化銫（400 mg，1.542 mmol）和$BF_3.Et_2O$（219 mg，1.542 mmol）添加至6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[2-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺（500 mg，1.028 mmol）在MeCN（5 mL）中的混合物中。將所得混合物在氮氣氣氛下在25ºC攪拌2 h。將所得混合物用DCM稀釋、用水洗滌並濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用CH_2Cl_2 / 2-丙醇（7:1）洗脫）純化。這產生300 mg呈白色固體

的6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[2-(碘甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺。LC-MS (ESI): 597 [M+H]$^+$。

N-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[2-({[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-39-氧硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-34-基]氧硫基}甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺（DLP53）的合成



[0967] 將DIEA（43 mg，0.335 mmol）添加至化合物1（50 mg，0.067 mmol）和6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[2-(碘甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺（80 mg，0.134 mmol）在DMF（2 mL）中的混合物中。將所得混合物在25°C攪拌1 h。將粗品藉由製備型HPLC用以下條件純化：柱：XSelect CSH Prep C18 OBD柱，19*250 mm，5 μm；流動相A：水（10 mmol/L NH_4HCO_3），流動相B：MeCN；流速：25 mL/min；梯度：在13 min內30% B至30% B，30% B；波長：254 nm；RT1（min）：11.2。這產生12.7 mg呈白色固體的*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[2-({[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-39-氧硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬

烯-34-基]氫硫基}甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺（**LP53**）。LC-MS (ESI): 1215.30[M+H]$^+$。

實例2. J591的人源化

1 方法

1.1 電腦建模

【0968】 使用抗體預測工具在薛定諤的BioLuminate中對J591進行建模。將J591與最接近的人種系IGHV1-2*06和IGKV1-13*02進行比對。分析該等亞家族在人群中的流行率，該等亞家族的代表性或相互配對程度不高。參見，例如Tiller等人 (2013) mAbs [單株抗體] 5:3, 445-470。因此，使用非常相似的亞家族IGHV1-69-2*01和IGKV1-39*01。

【0969】 小鼠的可變結構域和CDR移植序列用於生成電腦結構模型。遵循同源結構域方案，使用薛定諤的BioLuminate軟體生成模型。

1.2 基因合成與選殖

1.2.1 InFusion選殖

【0970】 人源化重可變結構域和輕可變結構域針對在HEK293細胞中的表現進行了密碼子優化，並由賽默飛世爾科技公司（Thermo Fisher Scientific）合成。可變結構域被合成為具有Kozak翻譯起始序列和Ig分泌前導序列，並在5'和3'端處包括與亞選殖載體內的選殖位點同源的15個鹼基對。使用InFusion HD選殖套組（選殖技術公司（Clontech））將基因藝術公司（GeneArt）合成的PCR片段亞選殖到含有人γ或κ恒定區的表現質體中。對所有殖株進行定序以證實插入序列的存在和保真性。

1.2.2 定點誘變

【0971】 根據製造商的方案，使用安捷倫公司（Agilent）的QuikChange Lightning生成突變。藉由DNA定序證實了所需突變。

1.3 細胞培養

1.3.1 轉染和穩定細胞系生成

【0972】 對於待用ExpiFectamine（賽默飛世爾公司（ThermoFisher））轉染的每毫升細胞，將333.3 ng HC質體和333.3 ng LC質體在50 μL Opti-MEM（賽默飛世爾公司）中孵育5-10 min。同樣，將2.67 μL ExpiFectamine在50 μL Opti-MEM中孵育。將ExpiFectamine溶液添加至DNA混合物中並在室溫孵育20-30 min。在渦旋的同時將DNA:ExpiFectamine混合物添加至細胞中並在37°C、8% CO_2、125 rpm振盪下孵育。第二天，添加5 μL增強子1和50 μL增強子2/mL細胞至轉染中，並且再繼續孵育7-10天。

【0973】 表現抗體的穩定池藉由如下進行選擇：轉染後一到三天，將1 mL轉染子添加至T75燒瓶中的含10%胎牛血清的14 mL DMEM（具有5 μg/mL殺稻瘟菌素（賽默飛世爾公司）和400 μg/mL博萊黴素（英維健公司（Invivogen））中。在耐藥細胞生長至匯合後，將培養基更換為FreeStyle 293表現培養基，培養24至48 h。藉由敲擊燒瓶將細胞物理移出（胰蛋白酶消化（trypsinization）導致低活力，數據未顯示），然後以6 x 10^5個細胞/mL接種到125 mL搖瓶中的30 mL FreeStyle 293表現培養基中。將培養物在37°C、8% CO_2、125 rpm振盪下孵育。

1.3.2 MAb和Fab生產

【0974】 將穩定轉染的細胞系池以0.6 x 10^6至1 x 10^6個細胞/mL接種在FreeStyle 293表現培養基中。將細胞在37°C、8% CO_2、125 rpm振盪下孵育。在培養物密度達到1 x 10^6個細胞/mL兩天後，用最終濃度10 g/L精選大豆胰（BD生物科學公司（BD Biosciences））、5 mM戊酸（西格瑪奧德里奇公司（Sigma

Aldrich））和1:100 CD脂質濃縮物（賽默飛世爾公司）對培養物進行補料。當細胞活力低於50%（7-10天）時，將培養物在Beckman JLA8.1000轉子中以8000 rpm離心30 min。然後將上清液通過0.2 μm PES過濾器過濾並儲存在4°C或-20°C直到純化。

1.4 MAb和Fab純化

【0975】 使用兩種方法之一純化MAb。對於少於10 mL的mAb和Fab上清液，分別使用蛋白A樹脂或抗κ樹脂的批量純化方法進行親和層析法。分別使用預填充蛋白A柱或抗κ柱純化大於25 mL的MAb和Fab上清液。

1.4.1 批量純化

【0976】 使用DPBS平衡Prosep-vA高容量蛋白A樹脂（密理博公司（Millipore））或CaptureSelect™ KappaSelect LC-κ樹脂（賽默飛世爾公司），並將100 μL添加至3至6 mL樣本中。在4°C孵育1小時至過夜後，將樹脂用1 mL DPBS洗滌三次並以15,000 x *g*離心30 s。藉由添加400 μL 0.1 M甘胺酸（pH 2.9），隨後以15,000 x *g*離心30 s，將樣本從樹脂洗脫下來。將樣本用40 μL的1 M Tris（pH 8.0）中和。使用0.5 mL Amicon Ultra、10k截留過濾器（密理博公司），藉由以15,000 x *g*離心3至5分鐘將樣本濃縮至約100 μL，從而更換緩衝液。將濃縮的樣本在400 μL DPBS中稀釋，隨後進行離心。該過程總共重複四次。

1.4.2 柱純化

【0977】 蛋白A或HiTrap KappaSelect柱（通用電氣醫療集團（GE Healthcare））用10個柱體積（CV）的20 mM磷酸鈉、10 mM EDTA，pH 7.2進行平衡。然後載入樣本，隨後用10 CV的平衡緩衝液洗滌未結合的材料。使用5 CV的0.1 M甘胺酸（pH 2.9）洗脫樣本。合併含有mAb的級分，並使用MWCO 20K Slide-A-Lyzer（賽默飛世爾公司）在DPBS中進行透析。

1.5 ELISA篩選

【0978】 ELISA板（384孔高結合，格雷納公司（Greiner）編號781061）用50 mM碳酸鹽-碳酸氫鹽（pH 9.4）（皮爾斯公司（Pierce）編號28382）中的1 μg/mL抗原包被，並在4°C孵育過夜。使用BioTek ELX405洗板機用洗滌緩衝液將板洗滌三次。洗滌緩衝液由PBS（康寧公司（Corning）編號46-013-CM）和0.05% Tween20（塞拉凱公司（SeraCare）編號5460-0020）製成。用含有0.05% Tween20和1% BSA（西格瑪公司（Sigma）A7906）的PBS製成的測定緩衝液封閉板，並在4°C孵育過夜。吸乾板後添加樣本，然後在4°C孵育過夜。將板洗滌三次，然後添加在測定緩衝液中以1:10,000稀釋的HRP軛合的山羊抗兔IgG H+L抗體（傑克遜免疫研究公司（Jackson ImmunoResearch）編號111-035-144），並在室溫孵育1小時。將板洗滌三次並添加TMB底物（塞拉凱公司編號5120-0078），並且在室溫孵育20分鐘。在BMG CLARIOstar讀板器上在370 nm處讀取板。

1.6 用於結合分析的BIAcore方法

方法概述

【0979】 抗PSMA抗體樣本與人PSMA的親和力藉由表面電漿共振使用捕獲測定形式測定，藉由該捕獲測定形式，抗體配體首先被BIAcore CM5晶片上固定的抗人Fc捕獲。使用多循環結合測定形式並注射一系列濃度的人PSMA來測定抗體樣本的親和力。使用BIA評估、使用1:1 Langmuir模型進行數據擬合。

抗人抗體晶片固定

【0980】 採用標準偶聯方案藉由暴露的伯胺固定Fc特異性IgG。使用10 mM乙酸鈉（pH 5.0）（思蒂瓦公司（Cytiva），BR1008390）將抗Fc IgG儲備溶液（思蒂瓦公司，BR100839）稀釋至25 μg/mL。使用1X HBS-P+（思蒂瓦公司，BR100671）作為運行緩衝液在25°C進行固定。藉由注入新鮮製備的1:1

NHS:EDC（思蒂瓦公司，BR100050）7 min（10 µL/min）來活化CM5生物感測器晶片（思蒂瓦公司，29149603）上所有四個流動池的CM-葡聚糖表面。然後以5 µl/min的流速注射25 µg/mL抗Fc IgG溶液持續6 min。此偶聯後注射7 min（10 µl/min）的1 M乙醇胺（思蒂瓦公司，BR100050），使殘留反應性位點失活。通常，使用此方法偶聯6,000 RU的抗Fc IgG。

進一步之方法細節

【0981】篩選分析在BIAcore T-200儀器（思蒂瓦公司）上於25°C和10 Hz數據收集速率下進行。在運行緩衝液（1X HBS-P+中的0.2% BSA（BSA來自VWR公司，9048-46-8））中製備配體和分析物儲備溶液，並在環境溫度以18,000 x rcf離心5分鐘。

【0982】隨後將配體溶液稀釋至最終濃度5 µg/mL，並將人PSMA分析物（R&D系統公司（R and D Systems））稀釋至最終濃度50、12.5、3.125、0.781、0.195、0.049、0.012和0 nM。晶片調理（conditioning）重複5次，其中在流動池2、3、4上注射5 µg/mL抗PSMA抗體持續1 min（5 µL/min）。使用3 M $MgCl_2$（思蒂瓦公司，BR100839）將表面再生30 sec（30 µL/min），隨後穩定180 sec。為了評估動力學結合，流動池1作為參考對照，並將配體溶液注射到流動池2、3、4上持續1 min（5 µL/min）。人PSMA樣本以隨機順序以10 µl/min的流速注射到四個表面上。與抗原注射液相同的緩衝液注射液係隨機散佈的，以達到雙重參考的目的。結合和解離階段分別監測5 min和10 min。如調理步驟中所提及的，對表面進行再生。為了確定相互作用的動力學參數，對每個數據集進行雙重參考並全域擬合到1:1相互作用模型（使用BIA評估的Langmuir模型）。

1.7 差示掃描量熱法（DSC）分析

【0983】 PEAQ差示掃描量熱儀（瑪律文儀器公司（Malvern Instruments），PEAQ-DSC，s/n MAL1223867，帶有MicroCal PEAQ-DSC軟體v.1.53）用於解密和比較各個$F(ab')_2$片段和對照的高階結構和熱穩定性。使樣本適應環境溫度30分鐘，隨後進行渦旋。將樣本（0.325 mL，0.85 mg/ml）添加至測定板（微量分析用品公司（Microliter Analytical Supply），96孔，500 µL，圓孔和圓底，目錄號07-2100；新蘇瑞公司（Sun Suri）板蓋目錄號300-005）的適當孔中。將0.325 mL的20% Contrad溶液和0.325 mL水添加至測定板的適當孔中。將密封板放入自動進樣器中，保持4°C溫度。

【0984】 使用以下測定參數對運行進行程式設計和啟動：

DSC控制：

起始溫度 = 20°C

最終溫度 = 100°C

掃描速率 = 60°C/hr

掃描前恒溫器 = 10分鐘

掃描後恒溫器 = 0分鐘

回饋模式/增益 = 無

樣本參數：

孔板體積 = 0.325 mL

清除補充物的數目 = 5

樣本濃度 = 0.85 mg/ml

分子量（道耳頓） = 150,000

清潔設置 = 掃描

溶劑儲罐 = 1號，20% Contrad

沖洗體積 = 10 mL

使用Contrad/20°C-70°C的Contrad（60°C/小時），隨後使用兩種緩衝液/緩衝液注射液進行線上清潔

樣本分析參數：

Y軸刻度單位 = mCal/分鐘

減去緩衝液

基線擬合 = 樣條曲線

擬合 = 非兩種狀態擬合模型

迭代 = 是

2 結果

2.1 人源化和親和力表徵

【0985】 通常，人源化過程涉及將最接近的人種系序列與動物源性抗體序列進行匹配，然後將CDR區移植到人種系框架上。非人殘基可能引發免疫原性反應，導致患者產生抗藥物抗體反應，從而中和抗體的治療性效果。使用IGBLAST（圖1，https://www.ncbi.nlm.nih.gov/igblast/），使用小鼠源性J591序列來搜索最接近的人種系序列。選擇人VH種系家族IGVH1-69-2*01和人VL種系IGKV1-39*01作為種系框架。人源化變體係根據CDR的線性位置（由Kabat和IMGT兩者定義）生成的。J591 CDR被移植到該等人框架上，由此小鼠源性CDR替代了人CDR。由於CDR長度有幾種定義，因此所移植的CDR序列涵蓋IMGT和Kabat定義兩者（Vhzu1和Vkzu1）。這增加了將整個互補位移植到人框架上的可能性。取代了整個可變序列中額外的小鼠或人殘基，以增加人性化（humanness），而不影響對PSMA的親和力。

【0986】 生成了J591的電腦模型，並鑒定了與CDR相鄰的、小鼠以及Vhzu1和Vkzu1人源化序列之間不同的框架殘基（圖2）。隨後的人源化Vh變體

2至10係藉由在整個框架中添加小鼠殘基生成的。未鑒定出額外的小鼠Vk殘基對抗原結合有潛在影響。

【0987】 人源化HC 1至10與人源化LCzu1配對，並藉由ELISA測試了PSMA結合（圖3）。將PSMA包被在板上，用封閉溶液封閉，然後與不同濃度的抗體一起孵育。洗滌板以除去未結合的抗體後，添加HRP軛合的檢測抗體。除去未結合的檢測抗體後，將TMB添加至板中。用H_2SO_4終止HRP和TMB之間的反應，並對板進行分析。除zu4之外的所有HC變體與PSMA的結合類似於或優於J591。HCzu4-LCzu1抗體表現較差，並且缺乏結合可能是由於蛋白質數量不足而不是HC序列所致。

【0988】 藉由SPR分析抗體-PSMA相互作用的KD。測定了每種抗體的KD，並且每種人源化變體、deJ591和J591的KD的差異很小（2.5倍內）（表17）。使用BIAcore T-200儀器藉由SPR分析J591抗體變體和PSMA之間的結合動力學。

【表**17**】.所有人源化HC均以與J591和deJ591類似的親和力結合PSMA

	k_a	k_d	K_D	備註
HCzu1LCzu1	3.24E+04	6.88E-05	2.12E-09	
HCzu2LCzu1	2.90E+04	6.28E-05	2.17E-09	
HCzu3LCzu1	3.45E+04	7.72E-05	2.24E-09	
HCzu4LCzu1	6.95E+04	2.39E-04	3.45E-09	抗體捕獲不良
HCzu5LCzu1	3.85E+04	1.19E-04	3.10E-09	
HCzu6LCzu1	3.94E+04	1.07E-04	2.72E-09	
HCzu7LCzu1	5.82E+04	1.00E-04	1.72E-09	
HCzu8LCzu1	6.14E+04	9.38E-05	1.53E-09	
HCzu9LCzu1	7.33E+04	1.01E-04	1.38E-09	
HCzu10LCzu1	5.99E+04	1.05E-04	1.74E-09	
J591	1.03E+05	1.27E-04	1.22E-09	
de J591	7.81E+04	1.43E-04	1.82E-09	

【0989】 第一組中人源化程度最高的HC-LC組合係HCzu1-LCzu1，證明了人框架中不需要額外的小鼠殘基來支持抗原結合。然後藉由在CDRH2中Kabat定義的位置60和61，CDRL1中殘基24、33和34，以及CDRL2中殘基56處反向添加（add back）更多的人殘基，對序列進行超人源化（圖1）。每個HC與每個LC配對，並藉由ELISA分析了PSMA結合。藉由對與各個LC配對的單獨的HC進行比較，HC的變化對抗原結合的影響很小（圖4）。LCzu3和LCzu6配對往往表現出比其他超人源化變體更弱的結合。兩種LC變體分別在位置33和34處含有Leu和Asn殘基，表明該區域的小鼠殘基改進了PSMA結合。選擇該等抗體變體中的幾種進行進一步表徵。

【0990】 HCzu1、HCzu2、HCzu3和HCzu14各自與LCzu1配對。藉由SPR分析該等抗體對PSMA的親和力。與LCzu1配對的人源化HC變體之間的KD幾乎沒有差異（表18）。HCzu14係最人性化的序列（the most human sequence），並且被選為主要HC變體。HCzu14與每個人源化LC變體配對，並藉由SPR測量對PSMA的親和力（表19）。與J591類似，與LCzu1、2、4和5配對的HCzu14保留了對PSMA的親和力。正如ELISA篩選所見，與LCzu3和LCzu6配對導致親和力降低，再次證明了CDRL2殘基33和34的作用。

【表**18**】.人源化程度最高的變體Hczu14-LCzu5保留與J591類似的PSMA親和力

	k_a	k_d	K_D
J591-HCzu1LCzu1	5.29E+04	1.05E-04	1.98E-09
J591-HCzu2LCzu1	2.84E+04	7.71E-05	2.71E-09
J591-HCzu3LCzu1	3.89E+04	8.45E-05	2.17E-09
J591-HCzu14LCzu1	3.50E+04	1.42E-04	4.07E-09
J591-HCzu14LCzu5	4.14E+04	1.30E-04	3.13E-09
J591	1.06E+05	1.21E-04	1.14E-09

【表19】.人源化程度最高的變體Hczu14-LCzu5保留與J591類似的PSMA親和力

配體	k_a	k_d	K_D
J591	5.69E+04	6.56E-05	1.14E-09
Hzu14-Lzu1	3.79E+04	5.06E-05	1.34E-09
Hzu14-Lzu2	2.82E+04	5.84E-05	2.07E-09
Hzu14-Lzu3	2.62E+04	9.01E-05	3.44E-09
Hzu14-Lzu4	3.05E+04	5.19E-05	1.70E-09
Hzu14-Lzu5	2.73E+04	5.06E-05	1.85E-09
Hzu14-Lzu6	2.15E+04	1.34E-04	6.23E-09

2.2 J591和人源化變體的熱穩定性

【0991】 藉由差示掃描量熱法分析人源化抗體的熱穩定性。首先在完整抗體的上下文中分析Fab結構域的轉變中點（Tm）。對三批deJ591進行了分析，Fab顯示出兩個重疊峰，其中平均Tm為67.3和70.37（圖5A）。對於抗體來說，這種特徵非常不尋常。Fab通常會顯示Tm在mid-70s至mid-80s °C的單個峰。該等數據表明deJ591 Fab區域非常不穩定。藉由DSC分析人源化變體HCzu1-LCzu1、HCzu2-LCzu1、HCzu3-LCzu1、HCzu14-LCzu1和HCzu14-LCzu5並與deJ591進行比較（圖5B）。所有人源化變體均顯示出抗體穩定性的顯著改進。正如對HCzu14-LCzu1和HCzu14-LCzu5進行比較時所見，LCzu1和LCzu5在抗體穩定性方面沒有顯示出差異。HC變體之間的熱穩定性存在微小差異。HCzu3係最穩定的變體，Tm為85.3°C。HCzu1和HCzu2非常相似，Tm分別為83.93°C和83.43°C。當與LCzu1和LCzu4配對時，HCzu14顯示出最低的Tm，分別為82.36°C和82.25°C。該等數據表明Ile 48、Asn 60和Gln 61（由Kabat定義）在一定程度上有助於Fab穩定性。鑒於1) HCzu3和HCzu14的Tm差異僅為

3°C，2) HCzu14-LCzu5的Tm較高，以及3) HCzu14-LCzu5係人源化程度最高的序列，因此選擇人源化變體HCzu14-LCzu5進行進一步開發。

【0992】 HCzu14-LCzu5-IgG1抗體被修飾為包括位點特異性軛合殘基。將用於轉麩醯胺酸酶介導的軛合的兩個醯基受體位點和兩個未配對的馬來醯亞胺反應性半胱胺酸摻入IgG1主鏈中，並分析了Fab的穩定性。IgRH2在CH1中含有T135K突變，用於生成DAR 2軛合物。IgRH6在CH1中含有T135K和L193K突變，以生成DAR 4軛合物。IgG1-C80將Vκ中的Pro 80突變為Cys，以生成DAR 2軛合物。IgG1-A118C-C80將Vκ中的Pro 80突變為Cys，將CH1中的Ala 118突變為Cys，以生成DAR 4軛合物。所有突變均在Fab片段內，並分析了每個Fab片段的Tm。對完整抗體進行酶促消化以生成Fab'2和Fc片段後，除去Fc，並藉由DSC分析Fab'2。正如在完整IgG1的上下文中所見（圖5B），deJ591 Fab顯示出具有低Tm的兩個峰（圖5C）。J591 Fab的Tm為單個峰，但顯著（約8°C）低於HCzu14-LCzu5 Fab片段。儘管IgG1-C80-A118C顯示出比其他三個略高的Tm，但位點特異性軛合位點對熱穩定性的影響很小。

實例3.J591和人源化變體的電腦免疫原性預測

1 J591和人源化變體的電腦免疫原性預測方法

【0993】 阿布澤納公司（Abzena）的iTope-AI係一個電腦免疫原性風險評估平臺，使用機器學習預測演算法來預測與代表最常見HLA等位基因的46種HLA-DR、DP和DQ同種型結合的重疊9mer肽。與人蛋白質組完全同源的肽序列通常被排除在分析之外。總體風險評分或頭寸風險評分（Position Risk Score）係藉由對於每個HLA同種異型，為單獨的肽提供0至3的結合評分來計算的，其中將所有HLA-DR、DP和DQ等位基因的評分相加在一起。評分為1-2、3-5或6+的肽的頭寸風險評分分別被認為係弱、中或強混雜MHC II類結合物。藉由計算所有單獨的肽的頭寸風險評分的總和，為整個蛋白質序列分配一個總

評分。具有頭寸風險評分的肽與阿布澤納公司的TCED™數據庫進行交叉引用，該數據庫包含> 10,000種肽，該等肽在阿布澤納公司的離體EpiScreen™研究中刺激了T細胞反應。阿布澤納公司聲稱「該演算法能夠準確預測先前藉由X射線晶體學3D結構鑒定的95%的肽結合核心模體。」阿布澤納公司使用iTope-AI分析了來自嵌合小鼠J591Vh-huIgG1、小鼠J591Vκ-huκ、deJ591-huIgG1、deJ591-huκ、zuJ591-H14-huIgG1和zuJ591-L5-huκ的重疊9mer序列的潛在免疫原性。

2 J591和人源化變體的電腦免疫原性預測結果

【0994】 嵌合小鼠J591Vh-huIgG1含有17個弱、中、和強親和力的非種系9mer肽，產生了69的總評分和16的熱點最大值（Hotspot Max）（即最高評分表位的值）（圖6）。該等肽中的七種肽與先前鑒定的T細胞表位部分匹配。潛在的免疫原性肽涵蓋CDRH1、CDRH2和CDRH3，其中大部分與FWRH3至FWRH4的Vh區的C末端一半重疊。「去免疫」deJ591-huIgG1除去了該等肽中的8種肽，並含有9個弱、中、和強親和力的非種系肽，產生了35的總評分和9的熱點最大值。該等肽中的五種肽與先前鑒定的T細胞表位部分匹配。該等肽涵蓋CDRH1-FWRH2和CDRH3-FWRH4。zuJ591-H14-huIgG1的人源化進一步將潛在的免疫原性肽的數量減少到4個弱親和力和強親和力的非種系肽，產生了23的總評分和14的熱點最大值。鑒定出與先前鑒定的T細胞表位的三個部分匹配。該等肽與CDRH1-FWRH2重疊。

【0995】 嵌合小鼠J591Vκ-huκ含有23個弱、中、和強親和力的非種系肽，產生了207的總評分和50的熱點最大值（圖7）。四種肽與先前鑒定的T細胞表位部分匹配。所鑒定的肽幾乎遍佈整個序列。「去免疫」deJ591-huκ將潛在的免疫原性肽的數量減少到7個弱、中、和強親和力的非種系肽，產生了94的總評分和50的熱點最大值。沒有肽與先前鑒定的T細胞表位部分匹配。該等

肽位於CDRL1、CDRL2和FWRL3-CDRL3中。zuJ591-L5-huκ的人源化顯示出所鑒定的7個弱、中、和強親和力的非種系肽，與先前鑒定的T細胞表位沒有部分匹配。deJ591-huκ和zuJ591-L5-huκ之間CDRL1和CDRL2中的肽係相同的。然而，增加的zuJ591-L4人源化降低了CDRL2中肽的熱點評分，除去了deJ591-huκ中的FWR3-CDRL3肽，並在CDRL3-FWRL4中產生了新的弱結合肽。zuJ591-huκ的總評分係88且熱點最大值係48。

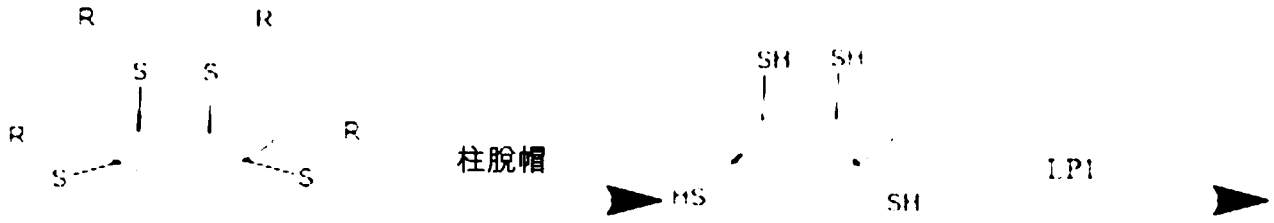
實例4.ADC軛合和表徵

抗PSMA ADC軛合方法

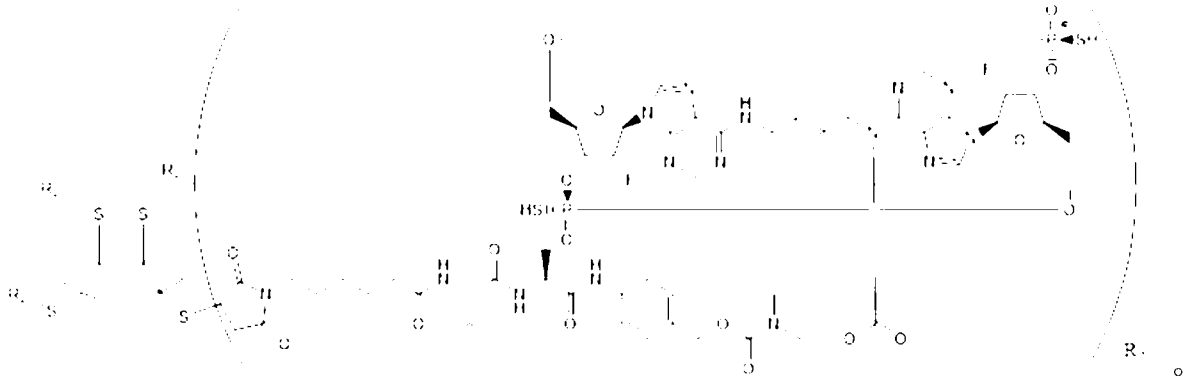
【0996】 抗PSMA ADC被製備為與未配對的半胱胺酸軛合的位點特異性DAR4（抗PSMA-LP1和抗PSMA-LP2），同時抗體保持完整，並且被製備為與抗體部分還原產生的半胱胺酸軛合的隨機DAR4（抗PSMA-LP3）。LP4 – LP29評估了對連接子的修飾，並且LP30 – LP32評估了對有效載荷的修飾。

1.1 抗PSMA-LP1部分和抗PSMA-LP2部分，位點特異性軛合的製備

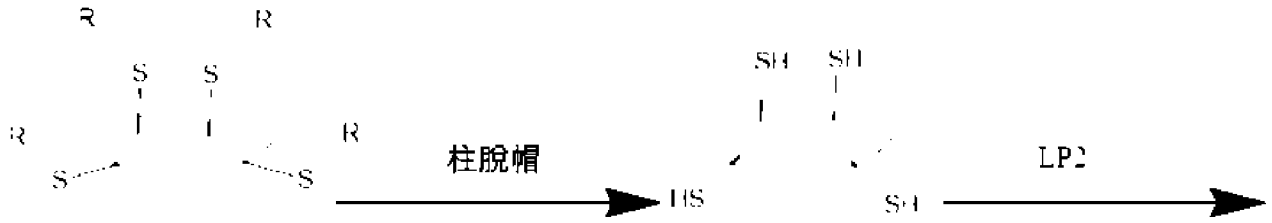
【0997】 抗PSMA-LP1部分軛合的製備方案如下所示：



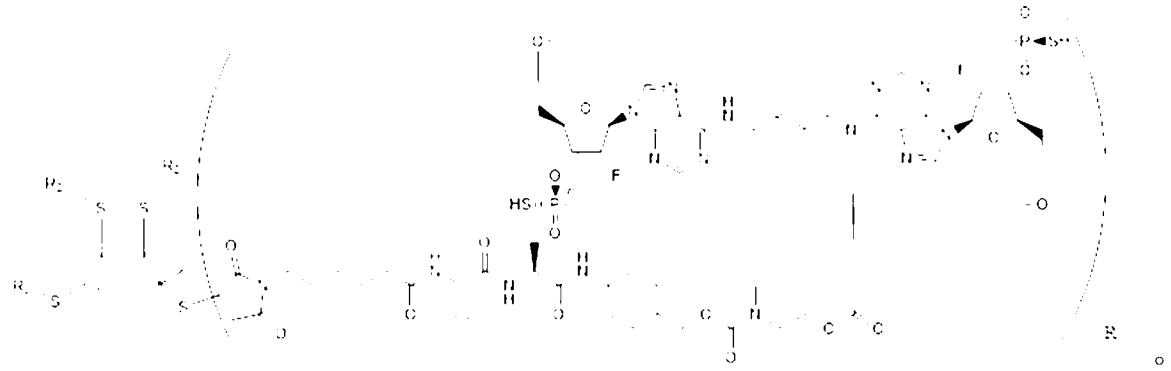
R=加帽的半胱胺酸



【0998】 抗PSMA-LP2部分軛合的製備方案如下所示：



R=加帽的半胱胺酸



1.2 方法

【0999】 抗體脫帽：抗hPSMA-zuJ591-H14L5-hIgG1-A118C-C80用於軛合。抗體在輕鏈C80和重鏈A118C處含有未配對的半胱胺酸，兩者在抗體生產過程中均被半胱胺酸化。為了使半胱胺酸能夠軛合，使用ÄKTA Explorer純化平臺（通用電氣醫療集團）進行純化。適當尺寸的Mabselect sure柱（思蒂瓦公司）用6個柱體積（CV）的20 mM磷酸鈉、10 mM EDTA，pH 7.2進行平衡。將含有抗體的條件培養基通過0.2 μm膜過濾，然後載入到柱上，隨後用10 CV的平衡緩衝液洗滌未結合的材料。然後進行以下兩者之一：

A. 然後用含有10 mM EDTA、10 mM半胱胺酸的20 mM磷酸鈉緩衝液，pH 7.2以低流速洗滌柱16小時。此步驟之後用20 mM Tris（pH 7.5）以低流速再次洗滌60小時。使用5 CV的0.1 M甘胺酸（pH 2.9）洗脫樣本。將洗脫的材料載入到在1X磷酸鹽緩衝鹽水（PBS）中平衡的26/10 HiPrep脫鹽柱（通用電氣醫療

集團）上，並在相同緩衝液中洗脫。合併峰級分並過濾。也可以使用1X PBS透析代替脫鹽。使用BCA（二辛可寧酸）測定來測定抗體濃度。

B. 使用5 CV的0.1 M甘胺酸（pH 2.9）洗脫樣本。將洗脫的材料添加到在1x磷酸鹽緩衝鹽水（PBS）中平衡的26/10 HiPrep脫鹽柱（通用電氣醫療集團）上，並在相同緩衝液中洗脫。合併峰級分並過濾。也可以使用1x PBS透析代替脫鹽。使用BCA測定來測定抗體濃度。向抗體（10 mg/mL）在1x DPBS/2 mM EDTA中的溶液中添加等體積的TCEP溶液（10 mM，在1x DPBS/2 mM EDTA中，pH 7.5）。將溶液混合90分鐘，然後使用Hitrap脫鹽藉由FPLC（快速蛋白質液相層析法）純化到1x DPBS/2 mM EDTA中。然後，將脫氫抗壞血酸（DHAA）添加至抗體溶液中，最終濃度為1 mM DHAA。將溶液混合1小時，然後使用Hitrap脫鹽藉由FPLC純化到1x DPBS/2 mM EDTA中。使用BCA測定來測定抗體濃度。

【1000】軛合和純化：向脫帽的抗體（5.8 mg/mL，3.5 mL；或7.5 mg/mL，2 mL）在1X PBS、2 mM EDTA中的溶液中添加連接子-有效載荷（4.29莫耳當量，來自LP1或LP2或其鹽的10 mM DMSO儲備溶液；或5莫耳當量，來自LP4 – LP32或其鹽的10 mM DMSO儲備溶液）。立即充分混合軛合反應，並使軛合在室溫進行0.5小時的時間段，然後使用Hitrap脫鹽（2 x 5 mL）柱藉由FPLC純化到25 mM檸檬酸鈉、100 mM蔗糖，pH 6.0中。將洗脫物合併，過濾滅菌（Whatman Puradisc 13，目錄號6791-1302），並儲存在4°C。分析純化的ADC的總蛋白質含量（二辛可寧酸測定，Pierce BCA方案，目錄號23225）。藉由HPLC-HIC（高效液相層析法-疏水相互作用層析法）、SEC（尺寸排阻層析法）和RP-UPLC-MS（反相超高效層析法-質譜法）對ADC產物進行表徵。平均DAR（藥物與抗體比率）和藥物分佈來源於HIC和LC-MS數據的說明。

1.3 結果

【1001】 抗PSMA-LP2：2.44 mg/mL，8 mL。總計19.52 mg。產率百分比：96.2%。平均DAR（HIC-HPLC）= 4.12。產率百分比計算為 [最終ADC產率] / [起始mAb]。起始mAb = 5.8 mg / ml x 3.5 ml = 20.3 mg；最終ADC產率 = 2.44 mg/ml x 8 ml = 19.52 mg。

【1002】 抗PSMA-LP1：1.87 mg/mL，8 mL。總計14.96 mg。產率：73.7%，平均DAR（HIC-HPLC）= 4.07。計算產率百分比：起始mAb = 5.8 mg / ml x 3.5 ml = 20.3 mg，最終ADC = 1.87 mg / ml x 8 ml = 14.96 mg。

【1003】 表20中總結了抗PSMA-LP1和-LP2的軛合結果，以及LP4 – LP32的軛合結果。

【表**20**】.ADC軛合結果

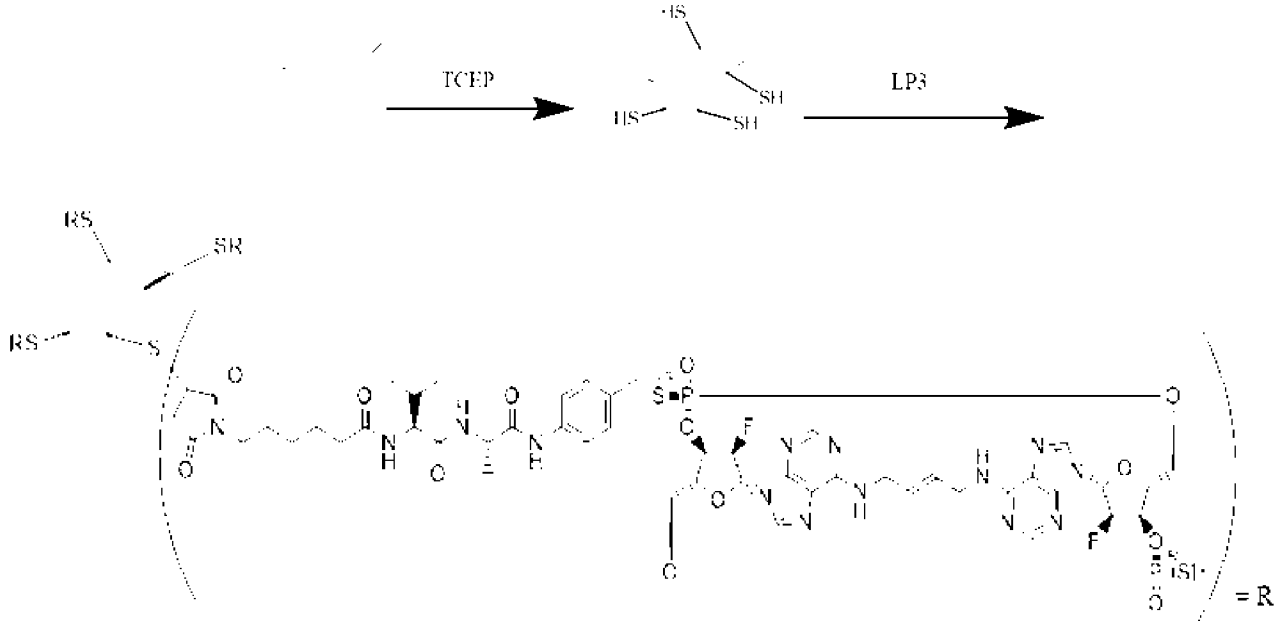
抗PSMA-LP_x	**濃度（mg/mL）**	**體積（mL）**	**總計（mg）**	**產率%**	**DAR（HIC-HPLC）**
LP2	2.44	8.0	19.52	96.2	4.12
LP1	1.87	8.0	14.96	73.7	4.07
LP4	2.42	5.25	12.71	73.1	3.90
LP5	2.80	5.50	15.40	88.7	3.90
LP6	2.79	5.50	15.35	88.3	3.92
LP7	2.91	5.50	16.01	92.1	4.02
LP8	1.25	5.25	6.56	37.8	4.06
LP9	2.93	5.50	16.12	92.8	3.96
LP10	2.10	5.00	10.50	60.4	3.85
LP11	2.24	4.00	8.96	51.6	2.50
LP12	1.66	5.50	9.13	52.6	3.96
LP13	2.10	4.75	9.98	57.4	3.78
LP14	1.89	4.50	8.51	49.0	3.81
LP15	3.09	5.50	17.00	97.8	4.04
LP16	2.43	5.50	13.37	76.9	4.02
LP17	1.61	5.00	8.05	53.7	3.98
LP18	1.79	5.00	8.95	59.7	3.92

LP19	1.75	5.00	8.75	58.2	3.87
LP20	2.87	5.25	15.07	86.7	3.78
LP21	1.68	5.00	8.40	55.8	4.17
LP22	1.18	6.00	7.08	47.1	3.35
LP23	1.71	5.00	8.55	56.8	3.22
LP24	1.14	5.00	5.70	37.9	3.82
LP25	3.11	5.00	15.55	定量	3.84
LP26	2.81	5.00	14.05	93.7	3.88
LP27	2.04	5.00	10.20	68.0	4.02
LP28	2.93	5.50	16.12	92.8	3.93
LP29	1.61	5.00	8.05	53.5	3.90
LP30	2.37	5.50	13.04	75.0	3.96
LP31	2.13	5.00	10.65	70.8	3.76
LP32	1.88	5.00	9.40	62.5	3.94

2.1 抗PSMA-LP3部分，隨機軛合的製備

【1004】 PSMA-STING ADC被製備為與抗體部分還原產生的半胱胺酸軛合的隨機DAR4（抗PSMA-LP33、LP35 – LP36和LP39 – LP53）。

【1005】 製備PSMA S附接（例如抗PSMA-LP3（LP3）部分）的示例方案如下所示：



2.2 方法

【1006】 檸檬酸鹽緩衝液的製備：向1 L DI（去離子）水中添加34.2 g蔗糖和7.35 g檸檬酸鈉二水合物。攪拌混合物，然後用1 M HCl將pH調節至6.0。

【1007】 軛合和純化：抗hPSMA-zu591-H14L5-IgG1抗體用於軛合。使用ÄKTA Explorer純化平臺（通用電氣醫療集團）進行抗體純化。適當尺寸的Mabselect sure柱（思蒂瓦公司）用6個柱體積（CV）的20 mM磷酸鈉，pH 7.2進行平衡。將含有抗體的條件培養基通過0.2 μm膜過濾，然後載入到柱上，隨後用10 CV的平衡緩衝液洗滌未結合的材料。使用5 CV的0.1 M甘胺酸（pH 2.9）洗脫樣本。將洗脫的材料載入到在1X磷酸鹽緩衝鹽水（PBS）中平衡的26/10 HiPrep脫鹽柱（通用電氣醫療集團）上，並在相同緩衝液中洗脫。合併峰級分並過濾。也可以使用1X PBS透析代替脫鹽。使用如下所述之BCA測定來測定抗體濃度。

【1008】 向抗體（5 mg/mL，2.5 mL）在1X DPBS緩衝液中的溶液中添加0.5 M EDTA儲備溶液至最終EDTA濃度為2 mM。以1:3.336莫耳當量（mAb:TCEP）添加相同緩衝液中新鮮製備的儲備液（1 mM）的TCEP溶液。將溶液充分混合並在室溫（21°C）孵育1小時。將還原的抗體溶液用等體積的50:50 1X DPBS:丙二醇進一步稀釋，與LP3（7.44莫耳當量，來自10 mM DMSO儲備溶液）預混合，以獲得最終蛋白質濃度為約2.315 mg/mL的溶液。立即充分混合軛合反應，並使軛合在室溫進行大約0.5小時的時間段，然後使用Hitrap脫鹽（2 x 5 mL）柱藉由FPLC純化到25 mM檸檬酸鈉緩衝液（含有100 mM蔗糖，pH 6.0）中。將洗脫物合併，過濾滅菌（Whatman Puradisc 13，目錄號6791-1302），並儲存在4°C。分析純化的ADC的總蛋白質含量（二辛可寧酸測定，Pierce BCA方案，目錄號23225）。藉由HPLC-HIC、SEC和RP-UPLC-MS對ADC產物進行表徵。平均DAR和藥物分佈來源於HIC和LC-MS數據的說明。

【1009】 陰性對照ADC抗SEB-LP3部分係根據上述方案製備的。抗SEB單株抗體79G9用於軛合。將0.5 M EDTA儲備溶液添加至抗SEB 79G9抗體（6 mg/mL，1 mL）在1X DPBS緩衝液中的溶液中至最終EDTA濃度為2 mM。以1:3.75莫耳當量（mAb:TCEP）添加相同緩衝液中新鮮製備的儲備液（1 mM）的TCEP溶液。將溶液充分混合並在室溫（21°C）孵育1小時。將還原的抗體溶液用等體積的50:50 1X DPBS:丙二醇進一步稀釋，與LP3（7.44莫耳當量，來自10 mM DMSO儲備溶液）預混合，以獲得最終蛋白質濃度為約2.5 mg/mL的溶液。立即充分混合軛合反應，並使軛合在室溫進行大約0.5小時的時間段，然後使用Hitrap脫鹽（2 x 5 mL）柱藉由FPLC純化到25 mM檸檬酸鈉緩衝液（含有100 mM蔗糖，pH 6.0）中。將洗脫物合併，過濾滅菌（Whatman Puradisc 13，目錄號6791-1302），並儲存在4°C。

2.3 結果

【1010】 抗PSMA-LP3：製備為1.16 mg/mL，6 mL，總計6.96 mg，DAR 3.95，55.7%產率。計算產率百分比：起始mAb量 = 5 mg /ml x 2.5 ml = 12.5 mg；ADC產率 = 1.16 ng/ml x 6 ml = 6.96 mg。

【1011】 表21中總結了抗PSMA-LP3的軛合結果，以及LP33 – LP53的軛合結果。

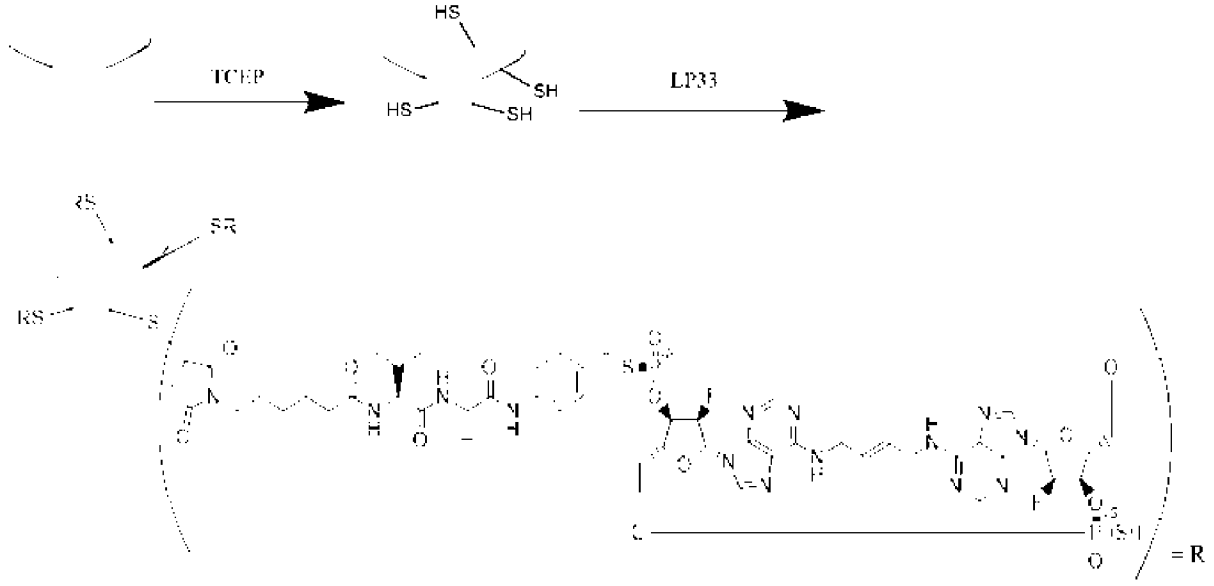
【表**21**】.S附接ADC軛合結果

抗PSMA-LP_x	**濃度（mg/mL）**	**體積（mL）**	**總計（mg）**	**產率%**	**DAR（HIC-HPLC）**
LP3	1.16	6.0	6.96	55.7	3.95
LP33	1.70	9.0	15.30	97.1	4.00
LP35	2.04	4.2	8.57	定量	3.75
LP36	1.81	4.0	7.24	96.5	3.87
LP39	2.32	7.5	17.40	定量	3.67
LP40	6.17	1.5	9.26	定量	3.69

抗PSMA-LP_x	濃度（mg/mL）	體積（mL）	總計（mg）	產率%	DAR（HIC-HPLC）
LP41	4.13	1.5	6.20	82.7	4.20
LP42	1.20	3.0	3.60	72.0	4.16
LP43	1.98	7.5	14.85	定量	4.31
LP44	1.58	7.5	11.85	94.8	3.96
LP45	1.72	8.0	13.76	定量	4.03
LP46	1.48	7.5	11.10	88.8	4.40
LP47	1.89	8.0	15.12	定量	4.03
LP48	1.84	8.5	15.64	定量	4.17
LP49	1.30	7.5	9.75	77.9	3.83
LP50	1.22	8.0	9.76	78.0	3.67
LP51	1.33	8.0	10.64	85.0	3.60
LP52	1.15	6.0	6.90	55.2	3.88
LP53	1.15	6.0	6.90	55.2	3.82

3 抗PSMA-LP33，隨機軛合的製備

【1012】抗PSMA-LP33部分的製備方案如下所示：



【1013】軛合和純化：向抗體（4 mg/mL，3.5 mL）在1x DPBS緩衝液中的溶液中添加0.5 M EDTA儲備溶液至最終EDTA濃度為2 mM。以1:4.18莫耳當

量（mAb:TCEP）添加相同緩衝液中新鮮製備的儲備液（1 mM）的TCEP溶液。將溶液充分混合並在室溫（21°C）孵育80分鐘。將還原的抗體溶液用等體積的50:50 1x DPBS:丙二醇進一步稀釋，與LP33連接子-藥物軛合物（4.18莫耳當量，來自10 mM DMSO儲備溶液）預混合，以獲得最終蛋白質濃度為約1.79 mg/mL的溶液。立即充分混合軛合反應，並使軛合在室溫進行大約0.5小時的時間段，然後使用Hitrap脫鹽（4x5 mL）柱藉由FPLC純化到1x DPBS中。將洗脫物合併，過濾滅菌（Whatman Puradisc 13，目錄號6791-1302），並儲存在4°C。分析純化的ADC的總蛋白質含量（二辛可寧酸測定，Pierce BCA方案，目錄號23225）。藉由HPLC-HIC、SEC和RP-UPLC-MS對ADC產物進行表徵。

【1014】結果：抗PSMA-LP33：1.70 mg/mL，8 mL。總計15.3 mg。產率百分比：97.1%，DAR 4.00。計算產率百分比：起始mAb = 4 mg/ml x 3.5 ml = 14 mg；最終ADC = 1.7 mg/ml x 8 ml = 13.6 mg。

4 ADC表徵方法

4.1 蛋白質濃度 - BCA測定

【1015】使用UV/Vis 96孔板，使用BCA測定（賽默科技公司（Thermo Scientific），目錄號23225或23227）來測定蛋白質濃度。向20 µl連續稀釋的ADC樣本或牛丙種球蛋白2 mg/ml標準品中添加160 µl製備的BCA試劑（新鮮混合的200 µL試劑B和10 mL試劑A），並將樣本充分混合。將樣本在37°C孵育30 min。在SpectraMax M5讀板器（分子裝置公司（Molecular Devices），S/N MV05371）上在562 nm處讀取板。使用SoftMax Pro軟體和4參數擬合模型對數據進行分析。

4.2 HIC-HPLC

【1016】抗體藥物軛合物於室溫在連接到安捷倫公司1260系列HPLC的TSKgel® Butyl-NPR柱（東曹生物科學公司（Tosoh Bioscience）；4.6 mm x 35

mm i.d.；2.5 μm粒徑）上經受疏水相互作用層析法（HIC）。以1 mg/mL或以上濃度注入樣本（10 μL）（所有穩定性樣本均為1 mg/mL）。採用線性梯度洗脫，以100%流動相A/0%流動相B開始，在15 min的時間段內以0.7 mL/min或0.6 mL/min過渡到0%流動相A/100%流動相B（流動相A：1.5 M硫酸銨、25 mM磷酸鈉，pH 7.0，流動相B：25%異丙醇、25 mM磷酸鈉，pH 7.0）。注射未修飾的抗體提供了一種鑒定DAR = 0的峰之方法。根據280 nm處的吸光度檢測抗體。使用安捷倫公司化學工作站軟體分析峰面積。

【1017】 DAR（藥物與抗體比率）計算如下：

平均DAR=$\sum_0^8 F(DAR的峰面積\%\ n * n/100)$

實例：

DAR 0：10%

DAR 2：25%

DAR 4：25%

DAR 6：25%

DAR 8：15%

平均DAR= (10 * 0 / 100) + (25 * 2 / 100) + (25 * 4 / 100) + (25 * 6 / 100) + (15 * 8 / 100) = 4.20

4.3 SEC-HPLC

【1018】 在配備DAD（二極體陣列檢測器）的安捷倫公司1200 HPLC系統上使用SEC分析抗體藥物軛合物的聚集和片段化。保護型柱（安捷倫公司AdvanceBio SEC 300 A，2.7 um，7.8x50 mm，PL1180-1301）和分析型柱（安捷倫公司AdvanceBio SEC 300 A，2.7 um，7.8x300 mm，PL1180-5301）在流動相（0.1 M磷酸鈉、0.15 M氯化鈉、5% IPA，pH 7.4）中以3個柱體積進行平衡。純注入8 μL ADC，並以0.5 mL/min運行36分鐘。ADC在280 nm處檢測，參

考波長為360 nm。使用安捷倫公司化學工作站軟體（BC.01.07版）分析數據，並根據峰積分結果將數據包告為聚集%、單體%和片段化%。

實例5. 體外研究

1 PSMA特異性結合分析

【1019】將抗PSMA抗體、抗PSMA-LP3（ADC）和對照抗人IgG1與Alexa Fluor 647（AF647）琥珀醯亞胺酯（賽默公司（Thermo），目錄號A20006）以mAb:AF647 = 1:10的莫耳比在室溫軛合1小時，然後使用抗體軛合純化套組（賽默公司，目錄號A33086）按照製造商的說明進行純化。

【1020】使用BD Fortessa流動式細胞測量術測量ADC與表現PSMA的細胞的結合。將1 x 10^5個LNCaP細胞/孔進行胰蛋白酶消化，然後與直接用NHS-AF647標記的抗體、ADC或hIgG1對照一起在冰上孵育30分鐘，濃度範圍為0.003-100 nM，作為半對數連續稀釋度。使用FACS緩衝液（1 x PBS中的2% FBS，不含鈣和鎂）洗滌樣本兩次，然後將樣本用100 µL含有Fixable Viability染料的FACS緩衝液（1:5000稀釋）重懸，並藉由流動式細胞測量術進行分析。AF647-抗PSMA和AF647-PSMA-LP3顯示出與細胞的類似的結合親和力，而AF647-hIgG1不與細胞結合（圖8）。結果表明抗PSMA抗體和抗PSMA ADC均與PSMA陽性LNCaP細胞結合。

2 PSMA依賴性抗體依賴性細胞吞噬作用（ADCP）活性

【1021】將新鮮的人單核細胞在M-CSF（巨噬細胞集落刺激因子）存在下培養6天，以將細胞分化為人巨噬細胞。將LNCaP（PSMA高）和DU-145（PSMA無效）細胞用羧基螢光素二乙酸琥珀醯亞胺酯（CFSE；艾博康公司（Abcam），目錄號ab113853）標記、洗滌、然後以1 x 10^5個細胞/孔接種到96孔U型底板中。以1 x 10^5個細胞/孔添加人巨噬細胞並充分混合。將測試試劑（PSMA-LP3、SEB-LP3（葡萄球菌腸毒素B-LP3）、PSMA抗體和化合物1）

連續稀釋並以0.01 - 100 nM範圍內的最終濃度添加至細胞中，如圖所示（圖9）。將板在37°C孵育2小時。然後使用流動式細胞測量術分析細胞。吞噬作用百分比分析為CFSE+ (FITC) CD14+ (APC)/ [CFSE+/CD14+和CFSE-/CD14+] X 100；CD14被用作巨噬細胞的標記物。數據包告為攝取至少一種靶細胞的巨噬細胞的百分比。

【1022】 如圖9所示，在LNCaP和巨噬細胞的共培養物中觀察到抗原依賴性吞噬作用，但在DU-145和巨噬細胞細胞的共培養物中未觀察到抗原依賴性吞噬作用。抗PSMA-LP3和抗PSMA抗體促進了相當的對腫瘤細胞的吞噬作用，而陰性對照ADC（抗SEB-LP3）沒有觀察到活性。

3 靶細胞依賴性ADC內化

【1023】 將抗PSMA-LP3 ADC與pHrodo Red琥珀醯亞胺酯（賽默公司，目錄號P36600）以mAb:pHrodo Red = 1:10的莫耳比在室溫軛合1小時，然後使用抗體軛合純化套組（賽默公司，目錄號A33086）按照製造商的說明進行純化。

【1024】 將THP1細胞、C4-2細胞和混合的C4-2/THP1細胞（C4-2 : THP1 = 1:1）進行胰蛋白酶消化，並以1 x 10^5個細胞/孔接種到96孔測定板中，然後用pHrodo軛合的抗PSMA-LP3 ADC（最終濃度範圍為0.001 - 100 nM ADC）在37°C、5% CO_2下處理2小時。將細胞離心並用無血清培養基洗滌兩次。使用NovoCyte Quanteon流式細胞儀測量內化抗體。使用ADC濃度（X軸）相對於觀察到的MFI（Y軸）繪製ADC內化（圖10）。如圖10所示，在C4-2單一培養物和C4-2/THP1共培養物中以劑量依賴性方式觀察到內化，其中對於THP1單一培養物觀察到低得多的內化速率。

4 ADCP依賴性IFNβ生產

【1025】 使用96孔平底組織培養板，將C4-2細胞以1 x 10^5個細胞/孔（100 µl）接種到10% c/RPMI培養基中。將ADC的儲備溶液按稀釋系列的10x進行連續稀釋，並將20 µL的ADC溶液添加至孔中並在37°C孵育10分鐘。以1 x 10^5個細胞/孔（總計80 µL）添加THP-1細胞。

【1026】 在經處理以阻斷吞噬作用的細胞中測量了用抗PSMA ADC處理後的hIFNβ生產（圖11，左分圖）。將細胞鬆弛素D（CytoD；細胞傳訊公司（Cell Signaling），目錄號94946S）溶解於DMSO中，以產生5 mM儲備溶液，然後添加至半對數稀釋的抗PSMA-LP2溶液中至最終濃度為10 µM。在室溫孵育10分鐘後，添加THP1細胞，並將板在37°C、5% CO_2下孵育6小時。然後，收穫細胞培養物上清液用於hIFNß定量。

【1027】 還在用抗PSMA ADC（與抗PSMA抗體或同種型對照競爭）處理的細胞中測量了hIFNβ生產（圖11，右分圖）。將抗PSMA-LP1 ADC溶液在同種型對照（抗人IgG1）抗體或抗PSMA抗體（例如，用於生成抗PSMA-LP1 ADC的相同抗體）（均為2 µM）存在下連續稀釋，然後添加至測試板中，最終ADC濃度範圍為0.001-100 nM。將板在37°C、5% CO_2下孵育6小時。然後，收穫細胞培養物上清液用於hIFNβ定量。

【1028】 使用人IFNβ Quantikine ELISA套組（R&D系統公司，目錄號DIFNB0），按照製造商的說明測量IFNβ釋放。測定結束時，使用QuantaBlu螢光過氧化物酶底物（賽默公司，目錄號15169）來探測信號。在分子裝置公司M5讀板器上在320 nM的激發和405 nM的發射處讀取板。

5 ADCP依賴性骨髓細胞活化

【1029】 將新鮮的人單核細胞與M-CSF一起培養6天，以分化為人巨噬細胞，然後收穫用於研究。將LNCaP或DU-145細胞進行胰蛋白酶消化，並以1 x 10^5個細胞/孔接種到96孔板中。將人巨噬細胞細胞添加至每個孔中，然後添加

抗體和ADC，抗體和ADC的最終濃度範圍為0.01 - 30 nM，而單獨的化合物1的最終濃度範圍為0.04 - 120 nM。將細胞板在37°C、5% CO_2下孵育20小時，然後收穫細胞進行流動式細胞測量術分析。如圖12所示，巨噬細胞中的CD80表現（Y軸）相對於ADC濃度（nM）作圖。

【1030】 抗PSMA-LP3 ADC在LNCaP細胞存在的情況下活化巨噬細胞，如藉由濃度低至0.1 nM時CD80表現上調所證明的（圖12，左分圖）。用單獨的抗PSMA抗體或單獨的化合物1處理，CD80表現保持不變，並且在高濃度的抗SEB-LP3 ADC（陰性對照抗體-化合物1軛合物）下僅觀察到對CD80表現的微小影響。

【1031】 在存在不表現PSMA的DU-145細胞的情況下，在抗PSMA-LP3處理的巨噬細胞中未觀察到CD80表現的上調（圖12，右分圖）。

實例6. LNCaP異種移植模型

*1 PSMA+ LNCaP異種移植模型中抗PSMA-*化合物1 *ADC的體內抗腫瘤活性*

【1032】 6-8週齡的CB17 SCID小鼠用於本研究。將LNCaP-FGC（ECACC，目錄號891102117）細胞以與基質膠混合的0.2 ml PBS（50:50）中的10 x 10^6個細胞皮下接種於右脅部。接種後第15天對小鼠進行去勢。將小鼠分為10隻小鼠/組，總計五組。對小鼠進行單次劑量靜脈內（IV）給藥，並監測腫瘤體積和體重長達35天。

【1033】 如圖13所示，0.5 mg/kg和1.0 mg/kg的抗PSMA-LP3 ADC（「抗PSMA-LP3 VAP-Sp」）顯著減少了腫瘤生長。對照抗SEB-LP3 ADC也顯示出抗腫瘤作用，而單獨的抗PSMA抗體和媒介物之間沒有觀察到統計學顯著性。應用雙因素方差分析檢驗進行統計學分析。

2 抗PSMA-LP3 ADC對I型干擾素基因的調節

【1034】 藥效學研究與上述功效研究一起進行。額外的6隻小鼠/組用於媒介物、PSMA抗體、抗PSMA-LP3 ADC和對照SEB-LP3 ADC組。將LNCaP-FGC（ECACC，目錄號891102117）細胞以與基質膠混合的0.2 ml PBS（50:50）中的10 x 10^6個細胞皮下接種於右脅部。接種後第15天對小鼠進行去勢。第23天，當平均腫瘤體積達到約400 mm^3時，對小鼠以1 mg/kg的單次靜脈內劑量的抗體或ADC給藥6小時，然後從每隻小鼠身上收集腫瘤和血液進行RNA-seq分析。

【1035】 將腫瘤樣本保存在RNAlater中用於RNA分離。cDNA文庫製備、定序和原始讀取過濾方法均在BGI執行，如前所述（Ren等人, 2012）。使用STAR將異種移植模型的讀數與組合的hg19和mm10基因組進行比對（參見Dobin等人 (2013) Bioinformatics [生物資訊學] 29 (1): 15-21），並且基因異形體計數由Kallisto定量（參見Bray等人 (2016) Nature Biotechnology [自然生物技術] 34: 525-527）。基因定量以TPM（每百萬轉錄本數）為單位給出。

【1036】 如圖14所示，四種STING通路特異性細胞介素（CXCL10、IFNβ、IL6、TNFα）藉由抗PSMA-LP3 ADC處理來調節（圖14A和14B）。還觀察到腫瘤微環境中巨噬細胞極化從M2轉變為M1。

實例7. 22RV1異種移植模型

1 22RV1異種移植模型：去勢條件

【1037】 Balb/c去勢雄性裸鼠用於本研究。將懸浮在100 μL含有50%基質膠的1X PBS中的2.5 x 10^6個22RV1細胞皮下植入每隻小鼠的右臂，並監測腫瘤生長。將小鼠隨機分為六組（8隻小鼠/組），並在腫瘤尺寸達到約210 mm^3（212.52至216.42 mm^3）時接受如下所示的治療。每次治療對小鼠進行靜脈內治療，每週一次，持續五週（Q7D X 5），或使用單次劑量。每週兩次監測腫瘤尺寸和體重。

第1組，媒介物（IV）Q7D X 5

第2組，1 mg/kg抗PSMA抗體（IV）Q7D X 5

第3組，1 mg/kg抗SEB-LP3 ADC（IV）Q7D X 5

第4組，1 mg/kg抗PSMA-LP3 ADC（IV）Q7D X 5

第5組，1 mg/kg抗PSMA-LP3 ADC（IV）單次劑量

第6組，2 mg/kg抗PSMA-LP3 ADC（IV）單次劑量

【1038】 在第23天，在接受了單次劑量2 mg/kg PSMA-LP3 ADC治療的小鼠中觀察到顯著的抗腫瘤作用（圖15A）。在PSMA-LP3 ADC治療組中觀察到短暫的體重減輕，這種短暫的體重減輕隨時間會恢復。

2 22RV1異種移植模型：非去勢條件

【1039】 Balb/c nu/nu雄性小鼠用於本研究。將懸浮在100 µL含有50%基質膠的1X PBS中的5 x 10^6個22RV1細胞皮下植入每隻小鼠的右脅部，並監測腫瘤生長。將小鼠隨機分為五組（8隻小鼠/組），並在腫瘤尺寸達到約100 mm^3（110.4至111.4 mm^3）時接受如下所示的治療。對小鼠以1 mg/kg劑量的單次靜脈內劑量進行治療，並監測腫瘤尺寸和體重23天。

第1組，媒介物（IV）單次劑量

第2組，1 mg/kg抗PSMA抗體（IV）單次劑量

第3組，1 mg/kg抗SEB-LP3 ADC（IV）單次劑量

第4組，1 mg/kg抗PSMA-LP3 ADC（IV）單次劑量

第5組，1 mg/kg抗PSMA-LP33 ADC（IV）單次劑量

【1040】 抗PSMA-LP3 ADC治療在1 mg/kg的單次靜脈內劑量下顯示出統計學的腫瘤生長抑制（圖15B）。陰性對照抗SEB-LP3 ADC和抗PSMA抗體對腫瘤生長沒有顯示出影響。在所有條件下，在1 mg/kg下觀察到最小的體重變化。

實例8. ADC穩定性：pAB類似物

1 22RV1模型中S-連接子有效載荷的體內功效

【1041】 在攜帶皮下22RV1人前列腺癌腫瘤的Balb/c雄性裸鼠中，以2個劑量水平/ADC評估了與各種連接子改變的pAB類似物軛合的PSMA-LP3 ADC的抗腫瘤活性。

【1042】 將含有50%基質膠的1X PBS（100 μL）中的2.5 X 10^6個細胞的22RV1細胞皮下注射到每隻小鼠的右脅部。監測腫瘤生長以達到平均100-150 mm^3以進行治療。將小鼠隨機分為十一組（8隻小鼠/組）接受單次靜脈內劑量，如下所示。每週兩次測量腫瘤尺寸和體重，直到第21天。

第1組，媒介物（PBS）（IV），單次劑量

第2組，1 mg/kg抗PSMA-LP3（IV），單次劑量

第3組，2 mg/kg抗PSMA-LP3（IV），單次劑量

第4組，1 mg/kg抗PSMA-LP49（IV），單次劑量

第5組，2 mg/kg抗PSMA-LP49（IV），單次劑量

第6組，1 mg/kg抗PSMA-LP53（IV），單次劑量

第7組，2 mg/kg抗PSMA-LP53（IV），單次劑量

第8組，1 mg/kg抗PSMA LP44（IV），單次劑量

第9組，2 mg/kg抗PSMA LP44（IV），單次劑量

第10組，1 mg/kg抗PSMA-LP40（IV），單次劑量

第11組，2 mg/kg抗PSMA-LP40（IV），單次劑量

【1043】 計算研究結束時每組的平均腫瘤尺寸，並將腫瘤抑制百分比計算為 [腫瘤尺寸(媒介物) - 腫瘤尺寸(治療)] / 腫瘤尺寸(媒介物) x 100。繪製了最大體重減輕百分比（BW減輕%，X軸）相對於腫瘤抑制百分比（相對於媒介物）的圖（圖16A）。LP3、LP49和LP53的連接子-有效載荷被鑒定為十個測試

的連接子-有效載荷中的較佳的連接子-有效載荷選項，因為它們在體內表現出高腫瘤抑制活性和低體重損失。

2 S-連接子有效載荷的劑量依賴性

【1044】 上述研究中還評估了劑量反應活性。注射後六小時，從每隻小鼠尾部收集血液，轉移至肝素鋰管中，並在4°C以2000 *g*離心20 min。離心後，在-20°C收集血漿用於檢測。

【1045】 測量了小鼠TNFα和IFNβ。使用Quantikine小鼠IFNβ ELISA套組（R&D系統公司，目錄號MIFNB0）測量血漿IFNβ，測定範圍為15.6 - 1000 pg/ml。使用Quantikine小鼠TNFα ELISA套組（R&D系統公司，目錄號MTA00B），測定範圍為10.9 - 700 pg/ml，按照製造商的說明測量血漿TNFα。

【1046】 與媒介物組相比，所有抗PSMA ADC治療組均顯示TNFα和IFNβ細胞介素釋放增加（圖16B）。還觀察到劑量依賴性TNFα釋放。

3 ADC中pAB類似物的進一步表徵

3.1 連接子-有效載荷的緩衝液穩定性研究

【1047】 將如表22中所示的每個連接子-有效載荷在DMSO中的溶液（10 mM，4 µL）用新鮮製備的*N*-乙醯基半胱胺酸在DMSO中的溶液（3.3 mM，36 µL）處理。將所得混合物在37°C孵育5分鐘以完成馬來醯亞胺的封端（capping）。然後，將20 µL所得連接子-有效載荷溶液添加至在37°C預熱的980 µL D-PBS（pH 7.4）中。將所得溶液在37°C、以350 rpm孵育，同時在每個時間點（t = 0、6、24、48、120和168小時）取出125 µL等分試樣並與25 µL內標溶液混合。將所得分析樣本在-20°C儲存，隨後加溫至4°C並藉由UPLC進行分析。

系統：	Waters H class Acquity UPLC
柱：	Waters Acquity UPLC HSS T3，2.1 x 50 mm，裝有1.8 µm顆粒。

溫度：	50°C		
流速：	0.9 mL/min		
流動相A	流動相A：水中的0.1%甲酸（98%純MS規格級）		
流動相B	流動相B：乙腈中的0.1%甲酸（98%純MS規格級）		
梯度：	**時間（min）**	**%-溶劑A**	
	初始	95	
	0.75	95	
	1.00	10	
	1.01	10	
	1.5	0	
注射體積：	4 μL注射量。		
檢測：	UV最大吸光度、ELSD和MS總離子計數及提取質量		
MS掃描：	正負離子100至1800 amu		
數據獲取時間：	1.5 min		
執行時間：	1.5 min		

【1048】 然後按如下方式計算半衰期。親本連接子-有效載荷峰與內標峰相比的UV面積%（260 nm）的時間過程用於半衰期計算。繪製採樣時間點和每個時間的剩餘親本峰，並將曲線擬合到方程$N(t)/N_0 = e^{-lt}$。半衰期用衰變常數l計算，公式如下：

$$T_{1/2} = \ln(2)/\lambda$$

【1049】 內標樣本：將10 μL 4-乙醯基哌-1-甲酸4-[({[(2S,5S,6S)-6-[(2E,4E,6S)-7-[(2S,3S)-3-[(2R,3R,4R)-4-羥基-3-甲氧基戊烷-2-基]-2-甲基環氧乙烷-2-基]-6-甲基庚-2,4-二烯-2-基]-5-甲基噁-2-基]甲基}胺基甲醯基)胺基]丁基酯的10 mM DMSO溶液用990 μL 1:1 乙腈 : D-PBS（pH 7.4）稀釋。

3.2 游離有效載荷百分比的計算

【1050】 所有ADC均在37°C進行熱穩定性評估。藉由將ADC在含有100 mM蔗糖的25 mM檸檬酸鈉緩衝液（pH 6.0）中稀釋至1 mg/mL來製備樣本。然後將樣本在37°C儲存長達336小時或504小時。在每個時間點（T = 0、24、48、72、168、336、504小時），取出等分試樣並儲存在-80°C直到分析。藉由HIC-HPLC和SEC-HPLC分析樣本。DAR係根據HIC-HPLC分析報告得出的。

【1051】 使用下面的LC-MS方法對第14天（336小時）的樣本中釋放的游離有效載荷進行分析。%游離有效載荷 = 100x定量游離有效載荷濃度（T14d，37°C）/ 總有效載荷濃度，其中總有效載荷濃度係根據T = 0時的ADC濃度和DAR計算得出的。

【1052】 藉由LC-MS進行化合物1的定量。將化合物1參考標準（粉末狀試劑）溶解於LC-MS級水中。化合物1標準曲線也是在LC-MS級水中製備的。將ADC樣本在LC-MS級水中稀釋10x。 每個樣本注入10 µL進行LC-MS分析。使用TargetLynx（沃特世公司（Waters））進行定量。

【1053】 LC-MS方法參數如下所示：

儀器：

UPLC	Waters Acquity I class plus UPLC
MS	Waters Xevo TQ-XS Triple Quadrupole MS
柱	Waters Acquity UPLC BEH C18 2.1 x 50 mm，130 Å，1.7 µm，部件號186002350
流動相A	H_2O中的5 mM碳酸氫銨
流動相B	MeOH中的5 mM碳酸氫銨
注射溶劑	H_2O

LC-MS方法：

樣本製備	
溶液中的標準品	使用注射溶劑進行連續稀釋

基質中的樣本	在Waters Oasis HLB 96孔μElution板（186001828BA）上進行固相萃取（SPE） 洗滌液：5% MeOH，洗脫液： ACN/MeOH = 60/40					
進樣方法	化合物1-NH4 20210927_20%B					
柱溫	40°C					
樣本溫度	15°C					
注射體積	5 μL					
梯度	時間（min）	流速（mL/m）	%A	%B	曲線	
	0.0	0.5	95.0	5.0	6	
	2.0	0.5	80.0	20.0	6	
	2.1	0.5	10.0	90.0	6	
	4.0	0.5	10.0	90.0	6	
	4.1	0.5	95.0	5.0	6	
	6.0	0.5	95.0	5.0	6	
MRM方法	MRM化合物1和mP-化合物1，IS 20210927					
	質量	親本	子代	錐孔電壓	碰撞工程（Colli. Eng.）	駐留（Dwell）
化合物1-NH4		747.0700	171.0000	90	72	0.025
		747.0700	187.9700	90	64	0.025
D6化合物1 IS		753.2700	194.1100	100	56	0.025
事件	2.2 min時轉入廢棄物					
MS調諧文件（ES+）	調諧化合物1-NH4 20210901					
	毛細管（kV）	2.1				
	樣本錐（V）	93				
	脫溶溫度（°C）	600				
	脫溶氣體（L/h）	1000				
	錐孔氣體（L/h）	150				
	霧化器（巴）	7.0				

	LM解析度1	2.79
	HM解析度1	14.29
	離子能量1	-0.8
	LM解析度2	2.46
	HM解析度2	14.45
	離子能量2	0.2
	碰撞氣體流速（mL/min）	0.16
	碰撞	4
TargetLynx方法	TargetLynx化合物1和mP-化合物1，IS 20220105	
	保留時間（min）	
	化合物1	1.70
	D6化合物1	1.70

3.3 體外效力*測定*

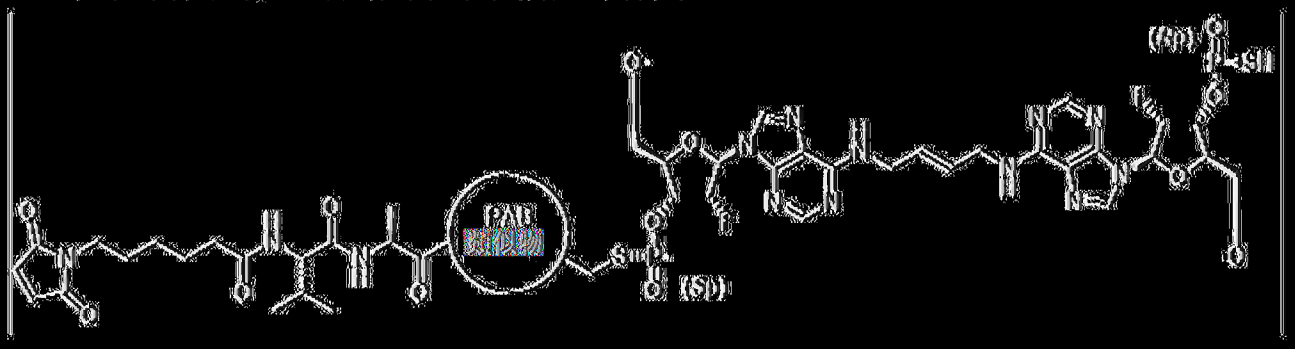
【1054】 體外IFNβ生產（報告為AUC）之方法如下。將LNCap細胞以60,000個細胞/孔接種在96孔板的100 µL細胞培養基（完全RPMI-10% FBS）中，然後以0.01-100 nM的半對數連續稀釋度添加20 µL ADC，充分混合，並在37°C、5% CO_2下孵育10分鐘，將80 µL培養基中的THP1細胞按60,000個細胞/孔添加至孔中，並將細胞板在37°C、5% CO_2下孵育20小時。將板以1500 rpm離心5分鐘，收集上清液，然後儲存在-20°C以進行hIFNβ測量。

【1055】 使用人IFNβ Quantikine套組（R&D系統公司，目錄號DIFNB0），按照製造商的說明測試hIFNβ的水平。使用1x PBS將上清液按1:5稀釋以進行測定。hIFNβ的動態範圍係7.8-500 pg/ml。 將IFNβ生產曲線繪製為濃度（X軸）相對於IFNβ釋放（Y軸），將曲線擬合為非線性回歸擬合，並使用GraphPad Prism軟體計算AUC（曲線下面積）。

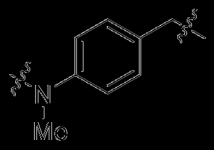
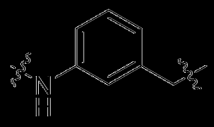
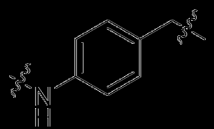
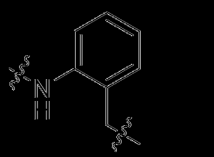
[1056] IFNβ生產比率（RIP）計算為每個ADC的IFNβ生產的AUC（曲線下面積）除以來自抗PSMA-LP2的IFNβ生產的AUC。

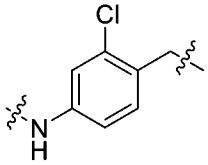
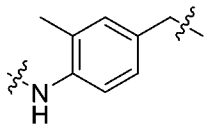
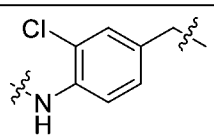
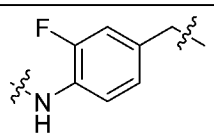
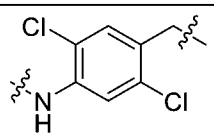
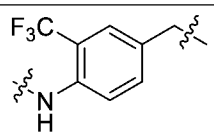
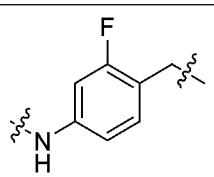
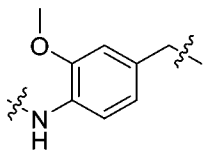
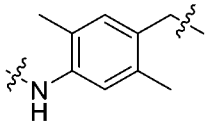
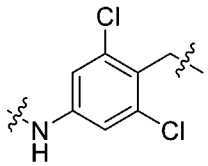
[1057] *體外效力*報告為RIP/DAR。

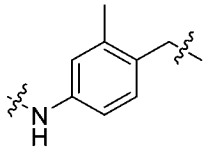
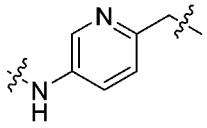
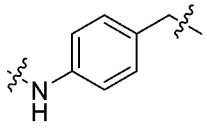
[1058] ADC中pAB類似物的進一步表徵結果顯示在表22中。連接子-LP3執合物內的pAB類似物的結構如下所示：



[表22]。

連接子-有效載荷	PAB類似物	連接子特性	連接子附接位點	$t_{1/2}$, hr（37°C PBS）	游離有效載荷%（$T_{1/2}$ 37°C檸檬酸鹽緩衝液，pH 6.0）	*體外效力* 測定 RIP& /（DAR）
LP42		不可切割的	Sp-硫代磷酸酯（S14）	111	12%	0.01（4.31）
LP39				161	10%	0.01（3.67）
LP3		可切割的		46	56%	1.00（3.75）*
LP53				>168	17%	0.45（3.82）

連接子-有效載荷	PAB類似物	連接子特性	連接子附接位點	$t_{1/2}$ hr（37°C PBS）	游離有效載荷%（T_{14d} 37°C檸檬酸鹽緩衝液，pH 6.0）	*體外效力* 測定 RIP[&] /（DAR）
LP40				101	未測試	0.31（3.69）
LP49				98	31%	2.48（3.83）
LP43				91	19%	1.15（4.31）
LP45				85	25%	1.42（4.03）
LP51				64	31%	1.36（3.6）
LP44				57	26%	0.75（3.96）
LP46				45	42%	1.50（4.4）
LP48				42	49%	1.26（4.17）
LP52				29	75%	1.35（3.88）
LP47				23	33%	1.08（4.03）

連接子-有效載荷	**PAB類似物**	**連接子特性**	**連接子附接位點**	**$t_{1/2}$ hr（37°C PBS）**	**游離有效載荷%（T_{14d} 37°C檸檬酸鹽緩衝液，pH 6.0）**	***體外效力*測定 RIP[&]/（DAR）**
LP50				22	81%	1.81（3.67）
LP41				6	未測試	0.74（HER2）
LP33			Rp-硫代磷酸酯（S2）	分解	未測試	0.18（4.2）

[&] RIP = IFNβ生產AUC與參考ADC（LP3）的比率。DBDE = δ鍵解離能

實例9. ADC穩定性：連接子-藥物附接

1 ADC緩衝液穩定性方法和結果

1.1 N附接的連接子

【1059】將每個ADC在含有100 mM蔗糖的25 mM檸檬酸鈉緩衝液（pH 6.0）中稀釋至1 mg/mL。然後將樣本在37°C儲存長達336小時（對於S附接的連接子）或504小時（對於N附接的連接子）。在每個時間點（T = 0、24、48、72、168、336和504小時），取出等分試樣並儲存在-80°C直到分析。藉由HIC-HPLC和SEC-HPLC分析樣本。HIC-HPLC和SEC-HPLC方法如上所述。藉由HIC-HPLC計算了DAR。DAR變化%報告如下：

DAR變化% = 100 * T_n的DAR / T_0的DAR

如圖17所示，與測試的其他連接子-有效載荷選項相比，ADC-LP3顯示出DAR隨時間的最大變化百分比。S附接的連接子的緩衝液穩定性結果顯示在圖18-20和表23中。

【表**23**】.S附接ADC緩衝液穩定性結果

抗PSMA-LP$_x$	單體% T=14天（SEC-HPLC）	DAR變化%（T14/T0）（HIC-HPLC）	T=14的游離有效載荷（ng/mL，LC-MS）
LP3	95.56（7天）	31.81	7746.8
LP39	92.55	81.50	737.4
LP42	87.74	87.21	952.6
LP43	91.85	84.52	2101.9
LP44	88.50	89.37	2627.4
LP45	89.00	78.48	2734.6
LP46	89.97	75.58	5876.9
LP47	91.00	86.58	3638.6
LP48	86.67	56.25	7437.4
LP49	86.06	54.39	4207.2
LP50	87.14	37.37	14150.0
LP51	91.28	76.12	3691.8
LP52	84.21	31.83	11250.7
LP53	92.15	73.53	1760.0

1.2 N附接的連接子

【1060】 如上所述測試了N附接的連接子的緩衝液穩定性。N附接的連接子的緩衝液穩定性結果顯示在圖21-23和表24中。

【表**24**】.N附接ADC緩衝液穩定性結果

抗PSMA-LP$_x$	單體% T=21天（SEC-HPLC）	DAR變化%（T21/T0）（HIC-HPLC）	T=21的游離有效載荷（ng/mL，LC-MS）
LP1	87.11	94.62	775.10（T=14）
LP2	86.93	96.84	18.0

抗PSMA-LP$_x$	單體% T=21天（SEC-HPLC）	DAR變化%（T21/T0）（HIC-HPLC）	T=21的游離有效載荷（ng/mL，LC-MS）
LP4	88.87	100.26	53.7
LP5	90.22	81.04	32.17
LP6	89.20	100.26	5.96
LP7	93.56	88.68	7.13
LP8	87.12	98.18	23.4
LP9	87.83	66.58	46.28
LP10	89.11	100.00	50.1
LP11	85.84	98.03	9.8
LP12	88.21	98.51	37
LP13	87.51	98.71	25.5
LP14	89.58	101.03	22.2
LP15	88.08	95.51	29.7
LP16	89.78	98.45	5.74
LP17	90.46	93.72	29.0
LP18	90.22	94.13	23.7
LP19	85.88	94.83	18.5
LP20	89.14	100.51	53.3
LP21	86.07	91.61	40.2
LP22	83.26	97.31	41.2
LP23	84.59	96.58	27.7
LP24	91.47	94.24	20.0
LP25	92.14	98.18	213
LP26	90.97	97.11	466
LP27	89.95	93.28	49.9
LP28	88.46	95.13	57
LP29	85.24	95.38	39.7
LP30	88.30	98.52	4.3
LP31	88.43	95.21	76.7
LP32	88.97	97.46	47.8

2 ADC血漿穩定性

2.1 樣本製備

【1061】藉由將J591-化合物1 ADC在小鼠血漿（BioIVT，使用3.8%檸檬酸鈉作為抗凝劑製備的BALB/C小鼠血漿）中稀釋至0.3 mg/mL或0.4 mg/mL來製備血漿穩定性樣本，並等分到0.1 mL或0.2 mL時間點樣本中。將樣本放入37°C培養箱中，並在0、2、6、24、48、72、168和240小時取出等分試樣，且取出後立即冷凍在-80°C。

2.2 藉由LC-MS進行ADC結構和DAR的分析

【1062】藉由用PBS洗滌3次來製備用於免疫捕獲的磁珠（Dynabeads，英傑公司（Invitrogen），目錄號65602），每次洗滌後用DynaMag-2磁鐵（英傑公司，12321D）收集磁珠。將40 μg生物素抗人Fc（南方生物公司（Southern Biotech），9040-08）/200 μL原珠（stock bead）添加至該等珠中，並在室溫混合1 hr。用PBS洗滌珠3次，然後在PBS中恢復至原始體積。將100 μL血漿樣本添加至200 μL抗人Fc固定的磁珠中，在室溫混合2 hr，用PBS洗滌2次，並重懸於100 μL 2%乙酸中。將珠在室溫混合30 min。收集上清液並用50 μL 1 M碳酸氫銨中和。將1單位的FabRICATOR酶（吉諾維斯公司（Genovis），A0-FR1）/μg ADC添加至洗脫的/中和的樣本中並在室溫孵育1 hr，或用微波輔助的消化（快速酶消化系統，哈德遜表面技術公司（Hudson Surface Technologies））、400W、37°C消化15 min。添加4 μL 100 mM DTT以還原樣本並在37°C孵育20 min。將樣本轉移至LC樣本瓶中，並在配有Waters Acquity UPLC的Waters Synapt G2上藉由LC-MS進行分析。DAR計算為：

DAR = [(DPA cLC/(DPA cLC + DPA ucLC)) + (DPA cHC/(DPA cHC + DPA ucHC))] x 2

DPA = 解卷積峰面積

cLC = LCcys80處軛合的輕鏈

ucLC = 未軛合的輕鏈

cHC = HCcys118處軛合的重鏈

ucHC = 未軛合的重鏈

【1063】 DAR的變化百分比計算為：

100 - [(*x*時間的DAR/起始DAR) x 100]

【1064】 LC-MS方法參數顯示在下表25和26中。

【表**25**】.LC-MS方法參數：儀器

材料：	
UPLC	Waters Acquity UPLC
MS（質譜儀）	Waters Synapt G2 Q-TOF MS
柱	Waters BioResolve RP Mab polyphenol 450 Å，2.7 µm，4.6 x 50 mm，部件號186008953
MPA	水中的0.1%甲酸（FA）
MPB	ACN中的0.1% FA
弱針洗滌	水: ACN = 97:3（v:v）
強針洗滌	水: ACN = 20:80（v:v）
密封洗滌	水: ACN = 90:10（v:v）

【表**26**】.LC-MS方法參數

LC方法				
柱溫	65°C			
樣本溫度	10°C			
注射體積	5 µL			
梯度（還原的mAb）	25 min還原方法			
	時間（min）	流速（mL/min）	%A	%B
	0.0	0.5	75	25
	3.0	0.5	75	25
	18.0	0.5	60	40
	19.0	0.5	10	90
	22.0	0.5	10	90
	22.5	0.5	75	25
	25.0	0.5	75	25

MS方法		
MS調諧文件ES+	毛細管（kV）	2.50
	樣本錐	30
	萃取錐	4.0
	源溫度	80
	脫溶溫度	600
	錐孔氣體（L/h）	30
	脫溶氣體（L/h）	1000
應用流體學	流速狀態：LC	
MS方法		
還原的 mab_500_4000	MS的T（對於還原的mAb）	
方法事件	初始條件流速狀態	廢棄樣本
	4.00 流速狀態	LC 樣本
	採集時間 來源 極性 分析器模式 動態範圍 靈敏度	0 – 24 min ES 正 靈敏度 正常 正常
	TOF MS 低質量 高質量 掃描時間 數據格式	 500 Da 4000 Da 1 sec 連續體
	陷阱CE控制	預設
	轉移CE控制	預設
數據處理方法		
MaxEnt 1	減少的質量	
範圍 解析度	20,000 – 35,000 Da 0.5 Da/通道 0.5 Da	

均勻的高斯函數 – 半高寬 模擬的同位素模式 - 光譜儀模糊寬度 最小強度比	0.5 Da 左33% 右33% 迭代至收斂

2.3 藉由定量LC-MS進行游離有效載荷的分析

【1065】 將化合物1和D6-化合物1內標（IS）粉末狀試劑溶解於LC-MS級水中。在小鼠血漿中製備化合物1參考標準品（標準曲線）和QC標準品（QC-低、QC-中和QC-高），並在水中製備注射用內標。將10 µL IS添加至每個標準曲線樣本、QC對照和穩定性樣本中，並且所有樣本均使用固相萃取（SPE）進行製備。對於SPE，使用真空用100 µL水洗滌固相萃取板（沃特世公司，186001828BA）。將100 µL的每個樣本施加在板上並使用真空抽吸（drawn through）。使用真空用5%甲醇（在水中）洗滌孔。用25 µL乙腈:甲醇（60:40）將樣本洗脫到乾淨的收集板中。將收集板短暫離心以將所有洗脫的材料收集至收集孔底部，然後向每個孔中添加100 µL水。然後將樣本用於定量LC-MS分析。每個洗脫的樣本注入5 µL或10 µL進行LC-MS分析。使用TargetLynx（沃特世公司）進行定量。化合物1的LOQ係0.01 ng/mL，而Rp-單磷酸鹽-化合物1和Sp-單磷酸鹽-化合物1的LOQ係0.05 ng/mL。

【1066】 LC-MS參數顯示在下表27和28中。

【表**27**】.LC-MS儀器

UPLC	Waters Acquity I class plus UPLC
MS	Waters Xevo TQ-XS Triple Quadrupole MS
柱	Waters Acquity UPLC BEH C18 2.1 x 50 mm，130 Å，1.7 µm，部件號186002350
流動相A	H_2O中的5 mM碳酸氫銨
流動相BB	MeOH中的5 mM碳酸氫銨
注射溶劑	H_2O

【表28】.LC-MS方法

樣本製備						
溶液中的標準品	使用注射溶劑進行連續稀釋					
基質中的樣本	在Waters Oasis HLB 96孔μElution板（186001828BA）上進行固相萃取（SPE） 洗滌液：5% MeOH，洗脫液：ACN/MeOH = 60/40					
進樣方法	化合物1-NH4 20210927_20% B					
柱溫	40°C					
樣本溫度	15°C					
注射體積	5 μL					
梯度	時間（min）	流速（mL/m）	%A	%B	曲線	
	0.0	0.5	95.0	5.0	6	
	2.0	0.5	80.0	20.0	6	
	2.1	0.5	10.0	90.0	6	
	4.0	0.5	10.0	90.0	6	
	4.1	0.5	95.0	5.0	6	
	6.0	0.5	95.0	5.0	6	
MRM方法	MRM化合物1和mP-化合物1，IS 20210927					
	質量	親本	子代	錐孔電壓	碰撞工程	駐留
化合物1-NH4		747.0700	171.0000	90	72	0.025
		747.0700	187.9700	90	64	0.025
D6化合物1IS		753.2700	194.1100	100	56	0.025
事件	2.2 min時轉入廢棄物					
MS調諧文件（ES+）	調諧化合物1-NH4 20210901					
	毛細管（kV）			2.1		
	樣本錐（V）			93		

	脫溶溫度（ºC）	600
	脫溶氣體（L/h）	1000
	錐孔氣體（L/h）	150
	霧化器（巴）	7.0
	LM解析度1	2.79
	HM解析度1	14.29
	離子能量1	-0.8
	LM解析度2	2.46
	HM解析度2	14.45
	離子能量2	0.2
	碰撞氣體流速（mL/min）	0.16
	碰撞	4
TargetLynx方法	TargetLynx化合物1和mP-化合物1，IS 20220105	
	保留時間（min）	
	化合物1	1.70
	D6化合物1	1.70

2.4 結果

【1067】 血漿穩定性結果顯示在圖24中。與LP3相比，用抗PSMA-LP2或抗PSMA LP1處理的小鼠血清中隨時間的有效載荷釋放百分比更低（圖24A）。與S連接的ADC（LP3）相比，N連接的ADC中平均DAR隨時間的下降幅度最小（圖24B和24C）。用N連接的ADC進行處理導致血清中游離化合物1隨時間顯著減少（圖24D）。

2.4.1 S連接的抗PSMA化合物1 ADC的穩定性

【1068】 在小鼠血漿中檢查了藉由化合物1中的硫代磷酸酯鍵連接的抗PSMA ADC（「S連接的ADC」）的穩定性，濃度為0.4 mg/mL。連接子-有效載荷結構顯示在表15和16中。它們藉由鏈間二硫鍵部分還原（隨機DAR4）或

藉由LC cys80（RESPECT-L）和LC A118C（RESPECT-L DAR4）產生的未配對的半胱胺酸與人源化抗人PSMA deJ591軛合。

【1069】 對血漿樣本進行SPE萃取後，使用Waters TQ-XS三重四極桿質譜儀藉由定量LC-MS對釋放的有效載荷進行分析。其結果顯示在圖25中。

【1070】 發現隨機和RESPECT-L軛合的LP3 ADC在小鼠血漿中通常不穩定，因為DAR4的0.4 mg/mL ADC樣本中的總軛合有效載荷係7957 ng/mL。還發現釋放了三種分子形式的有效載荷 – 化合物1、Rp-單磷酸鹽-化合物1和Sp-單磷酸鹽-化合物1。該等形式可能是由於代謝過程中連接子-有效載荷中的S-P或C-S鍵切割造成的，也可能是由於釋放過程中或釋放後硫代磷酸酯鍵的異構化造成的。三種釋放的有效載荷形式的結構顯示在圖26中。

【1071】 從小鼠血漿中免疫捕獲ADC後，還藉由混合LC-MS分析了抗PSMA ADC LP3穩定性樣本。其結果顯示在圖27中。AUC值係解卷積質譜的AUC，對應於每個指示的結構。所有物種在T0時的總AUC值均已歸一化。

【1072】 兩種ADC均表現出顯著的有效載荷代謝和連接子釋放（LC+連接子和HC+連接子增加）。對於隨機軛合的ADC，僅觀察到LC+1連接子和HC+1連接子；其他多重軛合形式（例如，HC+1連接子+1 LP3、HC+2連接子、HC+2連接子+1 LP3等）的豐度可能太低，無法可靠地檢測和定量。對於RESPECT-L ADC，代謝幾乎完全係由於連接子釋放有效載荷所致，而不是由於逆向邁克爾解軛合（retro-Michael deconjugation）而從抗體釋放連接子-有效載荷，這由未軛合的LC和HC沒有增加表明。對於隨機軛合的LP3 ADC，觀察到連接子有效載荷的代謝（導致游離有效載荷的釋放）和連接子-有效載荷的逆向邁克爾解軛合（導致游離LC和HC的增加）兩者。這可能解釋了LP3 ADC的RESPECT-L軛合形式的DAR損失速率較低的原因。

2.4.2 N連接的抗PSMA化合物1 ADC的穩定性

【1073】 在小鼠血漿中檢查了藉由化合物1中的橋氮連接的抗PSMA ADC（「N連接的ADC」）的穩定性，濃度為0.3 mg/mL或0.4 mg/mL。該等ADC藉由RESPECT-L DAR4與LC cys80和HC A118C未配對的半胱胺酸的軛合來製備。對血漿樣本進行SPE萃取後，使用Waters TQ-XS三重四極桿質譜儀藉由定量LC-MS評估釋放的游離有效載荷。為了在ADC之間進行比較，游離有效載荷表示為時間T0時的總軛合有效載荷的百分比。該等結果顯示在圖28中。

【1074】 抗PSMA ADC LP3（隨機和RESPECT-L）包含在繪製數據中（化合物1、Rp-單磷酸鹽化合物1和Sp-單磷酸鹽化合物1的總計）。通常，所有N連接的抗PSMA化合物1 ADC都比S連接的ADC更穩定。此外，化合物1係唯一檢測到的釋放的有效載荷；沒有釋放出單磷酸鹽形式。抗PSMA LP22（mcA(NMe)AN-單元9-SN-化合物1）表現出比其他間隔子、切割位點或第二間隔子變體顯著更高的有效載荷釋放。通常，L-F_2Pro和Bz第二間隔子似乎在小鼠血漿中最不穩定（游離有效載荷釋放最高），其次係L-Pro，然後是MEC。另外，無論第二間隔子結構如何（與C2和C2-PEG_2間隔子相比），馬來醯亞胺和切割位點之間的mc間隔子似乎都會導致較低的有效載荷釋放水平。

【1075】 從小鼠血漿中免疫捕獲ADC後，還藉由混合LC-MS分析了抗PSMA化合物1 ADC穩定性樣本。為了比較所有ADC，數據被繪製為剩餘DAR相對於第0天的DAR的百分比。抗PSMA ADC LP3（隨機和RESPECT-L）包含在繪製數據中。繪製了第7天或第10天的數據（例如，顯示穩定性研究的最後一個時間點）。該等結果顯示在圖29中。

【1076】 所有N連接的ADC均表現出比S連接的ADC更好的整體DAR保留。此外，分析表明，N連接的ADC的DAR損失係由於連接子-有效載荷的逆向邁克爾釋放所致，而不是由於連接子的有效載荷的代謝（將DAR與游離有效載荷進行比較），正如在抗PSMA ADC LP3中觀察到的那樣。具有己醯基間隔子

的ADC在穩定性方面係變動的，而C2和C2PEG$_2$間隔子變體在連接子-有效載荷釋放方面通常非常穩定，這可能是由於軛合後馬來醯亞胺水解所致。

實例10. N-連接子附接在體外和體內均表現出功效

1 C4-2 + THP1共培養物中的hIFNβ釋放

【1077】 將C4-2細胞以1 x 10^5個細胞/孔接種在96孔板的100 µL細胞培養基（完全RPMI，10% FBS）中，然後以0.03 - 1000 nM的半對數連續稀釋度添加20 µL ADC試劑，充分混合，並在37°C、5% CO_2下孵育10分鐘。將1 x 10^5個細胞/孔的THP1細胞（在80 µL培養基中）添加至孔中，並將細胞板在37°C、5% CO_2下孵育6小時。將板以1500 rpm離心5分鐘，並收集上清液且儲存在-80°C以進行hIFNβ測量。

【1078】 使用人IFNβ U-PLEX（MSD公司，目錄號K151VIK-2），按照製造商的說明測量hIFNβ。hIFNβ的動態範圍係3.1-100,000 pg/ml。

【1079】 如圖30所示，在C4-2/THP1共培養物測定中，AB2-RL4-LP3比AB2-RL4-LP1和AB2-RL4-LP2誘導更多的IFNβ生產。AB2-RL4-LP1和AB2-RL4-LP2在C4-2/THP1共培養物測定中顯示出類似的IFNβ誘導。

2 C4-2模型中的體內功效

【1080】 CB17 SCID雄性小鼠用於本研究。將懸浮在100 µL含有50%基質膠的1X PBS中的10 x 10^6個C4-2細胞皮下植入每隻小鼠的右脅部，並監測腫瘤生長。將小鼠隨機分為五組（10隻小鼠/組），並在腫瘤尺寸達到約150 mm^3時接受如下所示的治療。對小鼠以所指示的單次靜脈內劑量進行治療，並監測腫瘤尺寸和體重35天。

第1組，媒介物（PBS）（IV），單次劑量

第2組，8 mg/kg抗PSMA-LP1（IV），單次劑量

第3組，4 mg/kg抗PSMA-LP1（IV），單次劑量

第4組，8 mg/kg抗PSMA-LP2（IV），單次劑量

第5組，4 mg/kg抗PSMA-LP2（IV），單次劑量

【1081】4 mg/kg和8 mg/kg的兩個抗PSMA ADC組均顯示出腫瘤消退（圖31）。兩個ADC組均觀察到短暫的體重減輕（<20%），但最終恢復。與用包含LP2的ADC治療的組相比，用包含LP1的ADC治療的組顯示出更少的體重減輕。媒介物組在小鼠患病25天後開始體重減輕，而其他四個治療組在腫瘤生長受到抑制時開始體重增加。

實例11. ADC在C57BL/6小鼠的RM1-hPSMAg（Teton）鼠前列腺癌模型中的體內功效研究

1 方法總結

【1082】在本研究中，評估了SEB-LP3 ADC、AB2-RL4-LP2、AB2-RL4-LP3和恩雜魯胺在治療C57BL/6小鼠皮下模型RM1-hPSMAg中的功效。

【1083】將RM1-hPSMAg腫瘤細胞接種到雄性C57BL/6小鼠體內。當腫瘤達到平均腫瘤體積約84 mm^3時啟動治療。將小鼠隨機分為十組（10隻小鼠/組），如下所示。

組	動物編號	治療	劑量水平	給藥溶液（mg/ml）	給藥體積	給藥途徑	給藥頻率和持續時間
1	10	媒介物	-	-	10 μL/g	i.v.	單次劑量（隨機分組後第二天）
		多西環素	2 mg/小鼠	10	200 μL/小鼠	口服	兩次劑量（在隨機分組日當天開始且連續給藥兩天）
2	10	SEB-LP3 ADC	1 mg/kg	0.1	10 μL/g	i.v.	單次劑量（隨機分組後第二天）

組	動物編號	治療	劑量水平	給藥溶液（mg/ml）	給藥體積	給藥途徑	給藥頻率和持續時間
		多西環素	2 mg/小鼠	10	200 μL/小鼠	口服	兩次劑量（在隨機分組日當天開始且連續給藥兩天）
3	10	AB2-RL4-LP1	4 mg/kg	0.4	10 μL/g	i.v.	單次劑量（隨機分組後第二天）
		多西環素	2 mg/小鼠	10	200 μL/小鼠	口服	兩次劑量（在隨機分組日當天開始且連續給藥兩天）
4	10	AB2-RL4-LP3	1 mg/kg	0.1	10 μL/g	i.v.	單次劑量（隨機分組後第二天）
		多西環素	2 mg/小鼠	10	200 μL/小鼠	口服	兩次劑量（在隨機分組日當天開始且連續給藥兩天）
5	10	恩雜魯胺	25 mg/kg	2.5	10 μL/g	口服	QD×21天（隨機分組後第二天開始給藥且連續給藥21天）
		多西環素	2 mg/小鼠	10	200 μL/小鼠	口服	兩次劑量（在隨機分組日當天開始且連續給藥兩天）
6	10	媒介物	-	-	10 μL/g	i.v.	單次劑量（隨機分組後3天）
		多西環素	2 mg/小鼠	10	200 μL/小鼠	口服	四次劑量（在隨機分組日當

組	動物編號	治療	劑量水平	給藥溶液（mg/ml）	給藥體積	給藥途徑	給藥頻率和持續時間
							天開始且連續給藥四天）
7	10	AB2-RL4-LP1	4 mg/kg	0.4	10 μL/g	i.v.	單次劑量（隨機分組後3天）
		多西環素	2 mg/小鼠	10	200 μL/小鼠	口服	四次劑量（在隨機分組日當天開始且連續給藥四天）
8	10	AB2-RL4-LP3	1 mg/kg	0.1	10 μL/g	i.v.	單次劑量（隨機分組後3天）
		多西環素	2 mg/小鼠	10	200 μL/小鼠	口服	四次劑量（在隨機分組日當天開始且連續給藥四天）
9	10	媒介物	-	-	10 μL/g	i.v.	單次劑量（隨機分組後第二天）
10	10	AB2-RL4-LP3	1 mg/kg	0.1	10 μL/g	i.v.	單次劑量（隨機分組後第二天）

i.v.= 靜脈內

【1084】隨機分組後每週兩次測量體重和腫瘤體積。腫瘤接種日表示為第1天。多西環素治療在隨機分組日當天開始。隨機分組後第二天開始媒介物、SEB-LP3 ADC、AB2-RL4-LP1和AB2-RL4-LP3治療。

【1085】 第1-4組的小鼠在隨機分組日當天和隨機分組後第二天接受多西環素治療。在隨機分組後第二天，在多西環素治療後4-6小時，給予小鼠媒介物或SEB-LP3 ADC、AB2-RL4-LP1或AB2-RL4-LP3。

【1086】 第6-8組的小鼠在隨機分組日當天開始接受多西環素治療且連續治療4天。在第四次投與多西環素時，在多西環素治療後4-6小時，給予小鼠媒介物或AB2-RL4- LP1或AB2-RL4-LP3。

【1087】 第5組的小鼠在隨機分組日當天和隨機分組後第二天接受多西環素治療。在隨機分組後第二天，在多西環素治療後4-6小時，給予小鼠恩雜魯胺。

【1088】 在隨機分組後第二天，給予第9組和第10組的小鼠媒介物（第9組）或AB2-RL4-LP3。

【1089】 連續三天給予第2、3、4、7、8和10組的小鼠皮下液體補充劑，並且使用SEB-LP3 ADC、AB2-RL4- LP1或AB2-RL4-LP3治療後24小時開始補充。

【1090】 使用卡尺每週兩次在兩個維度上測量腫瘤體積，並使用以下公式以mm^3表示體積：V = (L x W x W)/2，其中V係腫瘤體積，L係腫瘤長度（最長的腫瘤尺寸），W係腫瘤寬度（垂直於L）。而且每週兩次測量體重。

【1091】 所有小鼠於第26天處死。

【1092】 為了比較不同組在預先指定的日期的腫瘤體積，使用巴特利檢驗（Bartlett's test）來檢查所有組之間的方差同質性假設。當巴特利檢驗的p值≥0.05時，運行單因素方差分析來檢驗所有組之間平均值的總體相等性。如果單因素方差分析的p值<0.05，則藉由運行針對所有成對比較的圖凱HSD（誠實顯著差異）檢驗以及針對每個治療組與媒介物組進行比較的鄧奈特檢驗來進行事後檢驗。當巴特利檢驗的p值<0.05時，運行克魯斯卡爾-沃利斯檢驗來檢驗所有

組之間中位數的總體相等性。如果克魯斯卡爾-沃利斯檢驗的*p*值<0.05，則藉由運行針對所有成對比較或針對每個治療組與媒介物組進行比較的科諾弗非參數檢驗來進行事後檢驗，兩者均採用單步*p*值調整。

【1093】 此外，進行成對比較而無需多重檢驗校正，並且標稱/未校正的*p*值直接從韋爾奇t檢驗或曼-惠特尼U檢驗報告。具體來說，巴特利檢驗首先用於檢查一對組的方差同質性假設。當巴特利檢驗的*p*值≥ 0.05時，進行韋爾奇*t*檢驗；否則，進行曼-惠特尼U檢驗以獲得標稱*p*值。

2 結果

【1094】 在四個劑量的多西環素治療後，4 mg/kg單次靜脈內劑量的AB2-RL4- LP1（第7組）和1 mg/kg單次靜脈內劑量的AB2-RL4-LP3（第8組）在第26天表現出對模型RM1-hPSMAg的統計學上顯著的功效（$p < 0.05$）。在沒有任何多西環素治療的情況下，1 mg/kg單次靜脈內劑量的AB2-RL4-LP3在第26天也表現出對模型RM1-hPSMAg的統計學上顯著的功效（$p < 0.05$）。結果顯示在下表29中。

【1095】 小鼠對治療的耐受性良好。給予了SEB-LP3 ADC、AB2-RL4-LP1或AB2-RL4-LP3的小鼠表現出體重減輕，在連續三天向小鼠提供飲食凝膠劑和皮下液體補充劑後體重有所恢復。對於其他小鼠治療組，沒有觀察到體重減輕。

【表**29**】**.**測試ADC在治療C57BL/6小鼠模型RM1-hPSMAg中的抗腫瘤活性

組	在第5天	在第26天			
	平均腫瘤尺寸（mm^3）	平均腫瘤尺寸（mm^3）	媒介物組1作為對照組		
			T/C（%）	TGI（%）	*p*值
1	84.59±1.99	578.84±204.09	-	-	-
2	84.56±2.01	256.44±64.29	44.30	65.23	0.874

3	84.57±2.00	132.41±39.51	22.88	90.32	0.073
4	84.55±1.97	142.47±47.42	24.61	88.28	0.107
5	84.58±1.98	599.41±144.67	103.55	-4.16	1.000
組	**在第5天**	**在第26天**			
	平均腫瘤尺寸（mm^3）[a]	**平均腫瘤尺寸（mm^3）[a]**	**媒介物組6作為對照組**		
			T/C（%）	**TGI（%）**	***p*值**
6	84.57±1.99	863.76±197.56	-	-	-
7	84.55±1.97	167.26±37.15	19.36	89.39	0.005**
8	84.56±1.99	192.88±31.52	22.33	86.10	0.039*
組	**在第5天**	**在第26天**			
	平均腫瘤尺寸（mm^3）[a]	**平均腫瘤尺寸（mm^3）[a]**	**媒介物組9作為對照組**		
			T/C（%）	**TGI（%）**	***P*值**
9	84.59±1.99	1592.85±191.34	-	-	-
10	84.60±2.11	282.18±72.68	17.72	86.90	<0.001***

實例12. 抗PSMA ADC的體內抗腫瘤活性以及ADC體內治療後的細胞介素生產

【1096】 抗PSMA抗體deJ591與STING促效劑化合物1或化合物2軛合。化合物1或化合物2上的兩個不同的附接點用於連接子附接至*(S)*-硫代磷酸酯上的硫（「S連接的」）或附接至橋氮（「N連接的」）。對連接子進行了各種結構改變，以評估間隔子、切割位點和第二間隔子（第二消解有效載荷釋放步驟）修飾對所得ADC的效力、毒性和穩定性的影響。本實例顯示了抗PSMA ADC在荷瘤小鼠中的體內抗腫瘤活性，並藉由測量小鼠細胞介素生產（包括I型干擾素）來評估藥效學（PD）效果。

1 方法總結

1.1 抗PSMA-LP ADC的列表

【1097】 本實例中評估的與連接子-有效載荷（LP）軛合的抗PSMA列於下表30中。

【表**30**】.抗PSMA-LP ADC的列表

LP	**抗體**	**DAR**
LP2	a-hPSMA-zuJ591-H14L5-hIgG1-A118C C80	4
LP3	a-hPSMA-zuJ591-H14L5-hIgG1-A118C C80	3.81
LP4	a-hPSMA-zuJ591-H14L5-hIgG1-A118C C80	3.9
LP5	a-hPSMA-zuJ591-H14L5-hIgG1-A118C C80	3.9
LP6	a-hPSMA-zuJ591-H14L5-hIgG1-A118C C80	3.92
LP7	a-hPSMA-zuJ591-H14L5-hIgG1-A118C C80	4.02
LP8	a-hPSMA-zuJ591-H14L5-hIgG1-A118C C80	4.06
LP9	a-hPSMA-zuJ591-H14L5-hIgG1-A118C C80	3.96
LP10	a-hPSMA-zuJ591-H14L5-hIgG1-A118C C80	3.85
LP11	a-hPSMA-zuJ591-H14L5-hIgG1-A118C C80	2.5
LP12	a-hPSMA-zuJ591-H14L5-hIgG1-A118C C80	3.96
LP13	a-hPSMA-zuJ591-H14L5-hIgG1-A118C C80	3.78
LP14	a-hPSMA-zuJ591-H14L5-hIgG1-A118C C80	3.81
LP15	a-hPSMA-zuJ591-H14L5-hIgG1-A118C C80	4.04
LP16	a-hPSMA-zuJ591-H14L5-hIgG1-A118C C80	4.02
LP17	a-hPSMA-zuJ591-H14L5-hIgG1-A118C C80	4
LP18	a-hPSMA-zuJ591-H14L5-hIgG1-A118C C80	4
LP19	a-hPSMA-zuJ591-H14L5-hIgG1-A118C C80	4
LP20	a-hPSMA-zuJ591-H14L5-hIgG1-A118C C80	3.78
LP21	a-hPSMA-zuJ591-H14L5-hIgG1-A118C C80	4
LP22	a-hPSMA-zuJ591-H14L5-hIgG1-A118C C80	3.14
LP23	a-hPSMA-zuJ591-H14L5-hIgG1-A118C C80	3.2
LP24	a-hPSMA-zuJ591-H14L5-hIgG1-A118C C80	4
LP25	a-hPSMA-zuJ591-H14L5-hIgG1-A118C C80	3.84
LP26	a-hPSMA-zuJ591-H14L5-hIgG1-A118C C80	3.88
LP27	a-hPSMA-zuJ591-H14L5-hIgG1-A118C C80	4
LP28	a-hPSMA-zuJ591-H14L5-hIgG1-A118C C80	3.93
LP29	a-hPSMA-zuJ591-H14L5-hIgG1-A118C C80	4
LP30	a-hPSMA-zuJ591-H14L5-hIgG1-A118C C80	3.96
LP31	a-hPSMA-zuJ591-H14L5-hIgG1-A118C C80	3.85
LP32	a-hPSMA-zuJ591-H14L5-hIgG1-A118C C80	4

1.2 22Rv1異種移植模型中的體內功效[群組1]

【1098】 6週齡的雄性BALB/c裸鼠（查理斯河公司（Charles River））用於本研究。22Rv1細胞（批號：RJT07NOV22p14）在含有10% HI-FBS的RPMI培養基中生長。將含有50%基質膠的1X PBS中的5x10^6個22Rv1細胞以200 µL的體積皮下注射到小鼠的右脅部。藉由卡尺監測腫瘤生長至平均達到150-200 mm^3（約161 mm^3），然後將荷瘤小鼠隨機分為治療組和對照組，6隻小鼠/組（群組1有12組，群組2有11組，群組3有15組，如下詳述）。入選小鼠接受單次靜脈內（IV）注射100 µL媒介物或藥物。藉由頜下（面部）靜脈將血液樣本收集到血清收集管中。使血液在室溫凝結，然後藉由在4ºC以1,200 g離心15 min來分離血清。將分離的血清轉移到乾淨的聚丙烯管中並儲存在-80ºC。監測腫瘤體積和體重26天（群組1）、35天（群組2）或21天（群組3）。

【表**31**】.22Rv1給藥組 – 群組1

組	化合物	劑量（mg/kg）	途徑	方案
1	媒介物（PBS）	0	IV	單次
2	抗PSMA-LP2	1.0	IV	單次
3	抗PSMA-LP3	2.0	IV	單次
4	抗PSMA-LP8	2.0	IV	單次
5	抗PSMA-LP10	2.0	IV	單次
6	抗PSMA-LP11	3.2	IV	單次
7	抗PSMA-LP13	2.0	IV	單次
8	抗PSMA-LP14	2.0	IV	單次
9	抗PSMA-LP15	2.0	IV	單次
10	抗PSMA-LP16	2.0	IV	單次
11	抗PSMA-LP20	2.0	IV	單次
12	抗PSMA-LP28	2.0	IV	單次

【表**32**】.22Rv1給藥組 – 群組2

組	化合物	劑量（mg/kg）	途徑	方案
1	媒介物（PBS）	0	IV	單次
2	抗PSMA-LP2	1.0	IV	單次
3	抗PSMA-LP3	2.0	IV	單次
4	抗PSMA-LP4	2.0	IV	單次
5	抗PSMA-LP5	2.0	IV	單次
6	抗PSMA-LP6	2.0	IV	單次
7	抗PSMA-LP7	2.0	IV	單次
8	抗PSMA-LP9	2.0	IV	單次
9	抗PSMA-LP12	2.0	IV	單次
10	抗PSMA-LP16	2.0	IV	單次
11	抗PSMA-LP30	2.0	IV	單次

【表**33**】.22Rv1給藥組 – 群組3

組	化合物	劑量（mg/kg）	途徑	方案
1	媒介物（PBS）	0.00	IV	單次
2	抗PSMA-LP2	2.00	IV	單次
3	抗PSMA-LP17	2.00	IV	單次
4	抗PSMA-LP18	2.00	IV	單次
5	抗PSMA-LP19	2.00	IV	單次
6	抗PSMA-LP21	2.00	IV	單次
7	抗PSMA-LP22	2.50	IV	單次
8	抗PSMA-LP23	2.54	IV	單次
9	抗PSMA-LP24	2.00	IV	單次
10	抗PSMA-LP25	2.00	IV	單次
11	抗PSMA-LP26	2.00	IV	單次
12	抗PSMA-LP27	2.00	IV	單次
13	抗PSMA-LP29	2.00	IV	單次
14	抗PSMA-LP31	2.00	IV	單次
15	抗PSMA-LP32	2.00	IV	單次

1.3 C4-2異種移植模型中的體內功效

【1099】 6週齡的雄性Fox Chase SCID小鼠（恩維戈公司（Envigo））用於本研究。C4-2細胞（批號：RJT07NOV22p11）在含有10% HI-FBS的RPMI培養基中生長。將含有50%基質膠的1X PBS中的$1x10^7$個C4-2細胞以200 µL的體積皮下注射到小鼠的右脅部。藉由卡尺監測腫瘤生長至平均達到150-200 mm^3（約170 mm^3），然後將荷瘤小鼠隨機分為治療組和對照組，5隻小鼠/組（有6組，如下詳述）。入選小鼠接受單次靜脈內（IV）注射100 µL媒介物或藥物。藉由頜下（面部）靜脈將血液樣本收集到血清收集管中。使血液在室溫凝結，然後藉由在4ºC以2000 x g離心15 min來分離血清。將分離的血清轉移到乾淨的聚丙烯管中並儲存在-80ºC。監測腫瘤體積和體重35天。

【表**34**】.C4-2給藥組

組	化合物	劑量（mg/kg）	途徑	方案
1	媒介物（PBS）	0	IV	單次
2	抗PSMA-LP2	1.0	IV	單次
3	抗PSMA-LP14	2.0	IV	單次
4	抗PSMA-LP26	2.0	IV	單次
5	抗PSMA-LP29	2.0	IV	單次
6	抗PSMA-LP28	2.0	IV	單次

1.4 血清和血漿細胞介素分析

【1100】 治療後六小時收集血清和血漿樣本並儲存在-80°C直到分析。使用Luminex xMAP多重套組（英傑公司編號PPX-08-MX2XANK）對樣本進行測定，該套組旨在檢測和定量以下細胞介素：IFN-β、IFN-γ、IL-6、IL-13、IP-10（CXCL10）、MCP-1（CCL2）、MIP-1α（CCL3）和MIP-1β（CCL4）。根據製造商的指導製備所有試劑。將標準品和樣本與磁珠一起孵育過夜，並且所有洗滌步驟均使用安捷倫公司的配備磁鐵外掛程式（magnet insert）的自動洗板機

進行。使用Luminex xMAP Intelliflex收集數據，並使用EMD密理博公司的Belysa軟體進行分析。

1.5 統計學分析

【1101】使用雙因素方差分析對媒介物治療組和抗PSMA-LP ADC治療組之間的平均腫瘤體積差異進行統計學分析，以檢驗所有組之間平均值的總體相等性。使用鄧奈特方法檢查各組的所有成對比較。

2 結果

2.1 抗PSMA LP ADC在22Rv1異種移植小鼠模型中的抗腫瘤活性和血清細胞介素分析（群組1）

【1102】抗PSMA-LP ADC（隨機DAR2-4）以單次IV推注劑量投與至雄性BALB/c裸鼠模型中的22Rv1異種移植物。將治療組的平均腫瘤體積與對照組1（媒介物/PBS）進行比較，並測量體重變化（相對於第0天歸一化）。該分析的結果顯示在圖32中。分析表明，在給藥後第11天，抗PSMA-LP16、-LP28、-LP20和-LP10具有顯著的抗腫瘤活性。在給藥後第19天觀察到抗PSMA-LP16（mcVAPC-單元8-SN-化合物1）和-LP28（mcVAPC-單元11-SN-化合物1）的持續抗腫瘤活性。抗PSMA-LP16（mcVAPC-單元8-SN-化合物1）和-LP28（mcVAPC-單元11-SN-化合物1）治療的小鼠到第4天顯示出暫時性體重減輕超過10%，而抗PSMA-LP3（mcVAP-Sp-化合物1）和-LP20（mcVAPC-單元9-SN-化合物1）到第4天顯示出暫時性體重減輕5%。測試的其他抗PSMA-LP ADC顯示出有限的體重減輕。

【1103】為了進行血清細胞介素分析，在治療後6小時收集小鼠血清。使用Luminex xMAP多重套組測量並定量細胞介素濃度。該分析的結果顯示在圖33和表35中。分析表明，給藥後六小時產生了細胞介素。該等數據表明，具有理想的抗腫瘤活性的抗PSMA-LP16和-LP28也刺激了細胞介素的大量生產。使

用抗PSMA-LP16或-LP28治療導致暫時性體重減輕超過10%。抗PSMA-LP3（mcVAP-Sp-化合物1）也刺激了細胞介素的大量生產。雖然抗PSMA-LP3組的抗腫瘤活性較低，但也導致了體重急劇減輕。抗PSMA-LP10和-LP20 ADC顯示出抗腫瘤活性，並且還刺激了細胞介素生產。

【表35】.22Rv1異種移植模型中抗PSMA-LP ADC的抗腫瘤活性和細胞介素生產的總結（群組1）

層級*		**層級1**				**層級2**	**層級3**			**層級之外****		
LP編號		**16**	**28**	**20**	**10**	**14**	**2**	**13**	**15**	**3**	**8**	**11**
BW減輕（%）		**10**	**10**	**5**						**5**		
細胞介素	**IP10**	**+++**	**++**	**++**	**++**	**++**	**+**	**+**	**++**	**+++**	**++**	**+/-**
	IFN-β	**+++**	**+++**	**++**	**+**	**+**	**+/-**	**+/-**	**+**	**++**	**+**	**-**
	IFN-γ	**++**	**+**	**+/-**	**+/-**	**+/-**	**-**	**+/-**	**+/-**	**+++**	**+/-**	**+/-**
	IL-6	**+++**	**+++**	**+**	**+/-**	**+/-**	**-**	**-**	**+/-**	**+++**	**+/-**	**-**
	IL-13	**+++**	**+++**	**++**	**-**	**-**	**+/-**	**-**	**-**	**+++**	**+/-**	**-**
	MCP-1	**+++**	**+++**	**+**	**+/-**	**+/-**	**+/-**	**-**	**+/-**	**+++**	**+/-**	**-**
	MIP-1α	**+++**	**+++**	**+**	**+/-**	**+/-**	**-**	**-**	**+/-**	**+++**	**+/-**	**-**
	MIP-1β	**+++**	**+++**	**++**	**+**	**+**	**+/-**	**+/-**	**+**	**+++**	**+**	**+/-**
抗腫瘤活性	**D11的$p < 0.0001$**	真	真	真	真							
	D11的$p < 0.001$	真	真	真	真	真						
	D11的$p < 0.05$	真	真	真	真	真	真	真	真			
	無意義									真	真	真

*層級：根據抗腫瘤活性的分類的LP

**層級之外：層級之外，第11天（D11）沒有有意義的抗腫瘤活性

2.2 抗PSMA LP ADC在22Rv1異種移植小鼠模型中的抗腫瘤活性和血清細胞介素分析（群組2）

【1104】 抗PSMA-LP ADC（隨機DAR2-4）以單次IV推注劑量投與至雄性BALB/c裸鼠模型中的22Rv1異種移植物。將治療組的平均腫瘤體積與對照組1（媒介物/PBS）進行比較，並測量體重變化（相對於第0天歸一化）。該分析的結果顯示在圖34中。分析表明，在第10天用抗PSMA-LP3、-LP9和-LP16治療

的組具有統計學上顯著的抗腫瘤活性，用抗PSMA-LP2、-LP4、-LP5、-LP6、-LP7和-LP12治療的組的統計學顯著性較弱（$p < 0.05$），而用抗PSMA-LP30治療的組則表現出較低的抗腫瘤活性。在用抗PSMA-LP3（mcVAP-Sp-化合物1）和抗PSMA-LP9（mcVAPC-SN-化合物1）治療的組中觀察到持續的抗腫瘤活性，直到給藥後第17天。抗PSMA-LP3、-LP9和-LP16治療的小鼠到第4天顯示出暫時性體重減輕超過10%。

【1105】 在治療後6小時收集小鼠血清。使用Luminex xMAP多重套組測量並定量細胞介素濃度。該分析的結果顯示在圖35和表36中。分析表明，給藥後六小時產生了細胞介素。值得注意的是，抗PSMA-LP9（mcVAPC-SN-化合物1）和LP16（與群組1相同）具有優異的抗腫瘤活性，產生的細胞介素與抗PSMA-LP3的豐度類似，但表現出體重急劇減輕。另一方面，第3層級的組（抗PSMA-LP2、-LP4、-LP5、-LP6、-LP7和-LP12）也產生細胞介素，但與第1層級和第2層級相比水平較低。

【表**36**】.22Rv1異種移植模型中抗PSMA-LP ADC的抗腫瘤活性和細胞介素生產的總結（群組2）

層級*		**層級1**		**層級2**	**層級3**					**層級之外****
LP編號		**16**	**9**	**3**	**2**	**4**	**5**	**6**	**7**	**12**	**30**
BW減輕（%）		**10**	**10**	**10**							
細胞介素	**IP10**	**+++**	**+++**	**+++**	**+**	**++**	**+**	**++**	**++**	**+**	**+**
	IFN-β	**+++**	**+++**	**+++**	**+/-**	**+**	**-**	**+/-**	**+/-**	**+/-**	**+/-**
	IFN-γ	**++**	**+**	**+++**	**-**	**-**	**-**	**-**	**-**	**+/-**	**-**
	IL-6	**+++**	**+**	**+++**	**-**	**-**	**-**	**-**	**-**	**-**	**-**
	IL-13	**+++**	**+++**	**+++**	**+/-**	**-**	**-**	**-**	**-**	**-**	**-**
	MCP-1	**+++**	**+++**	**+++**	**+/-**	**+/-**	**+/-**	**+/-**	**+/-**	**+/-**	**+/-**
	MIP-1α	**+++**	**+++**	**+++**	**-**	**+/-**	**-**	**-**	**-**	**-**	**-**
	MIP-1β	**+++**	**+++**	**+++**	**+/-**	**+/-**	**+/-**	**+/-**	**+/-**	**+/-**	**+/-**
抗腫瘤活性	**D10的$p < 0.0001$**	真	真								
	D10的$p < 0.001$	真	真	真							
	D10的$p < 0.05$	真	真	真	真	真	真	真	真	真	

	無意義										真

*層級：根據抗腫瘤活性的分類的LP

**層級之外：層級之外，第10天（D10）沒有有意義的抗腫瘤活性

2.3 抗PSMA LP ADC在22Rv1異種移植小鼠模型中的抗腫瘤活性和血清細胞介素分析（群組3）

【1106】抗PSMA-LP ADC（隨機DAR2-4）以單次IV推注劑量投與至荷瘤雄性BALB/c裸鼠中的22Rv1異種移植物。將治療組的平均腫瘤體積與對照組1（媒介物/PBS）進行比較，並測量體重變化（相對於第0天歸一化）。該分析的結果顯示在圖36中。分析表明，從第7天開始，抗PSMA-LP17和-LP27的抗腫瘤活性具有統計學上的優異性（$p < 0.0001$），並且在給藥後第21天，用抗PSMA-LP17、-LP18、-LP26、-LP27、-LP32（$p < 0.0001$）以及-LP21和-LP22（P<0.001）治療的組具有顯著的抗腫瘤活性。到給藥後第21天觀察到，用抗PSMA-LP24（mcGGFG-單元9-SN-化合物1）治療的小鼠也具有顯著的抗腫瘤活性（$p < 0.05$）。總體而言，三種抗PSMA-ADC（LP-17、-27和-26）在研究中顯示出很強的抗腫瘤活性。值得注意的是，抗PSMA-LP17和-LP27到第3天顯示出暫時性體重減輕20%或以上，而用抗PSMA-LP26、-LP19、-LP18 ADC治療的小鼠體重減輕約10%。

【1107】在治療後6小時收集小鼠血漿。使用Luminex xMAP多重套組測量並定量細胞介素濃度。該分析的結果顯示在圖37和表37中。在所有抗PSMA-LP ADC中均觀察到細胞介素生產。經抗PSMA-LP19治療的小鼠產生了更大量的所檢查的大多數細胞介素，但抗腫瘤活性有限且體重減輕相對較高。另一方面，具有較強抗腫瘤活性的三種抗PSMA-ADC（LP-17、-27和-26）也產生了較高水平的細胞介素，如IFN-γ、IL-6和IL-13，但在本研究中，與其他兩種抗PSMA-LP17和-LP27 ADC相比，抗PSMA-LP26刺激更多細胞介素生產。值得注

意的是，抗PSMA-LP26顯示出暫時性體重減輕10%，而觀察到用抗PSMA-LP17和-27 ADC治療的小鼠體重減輕超過20%。

【表**37**】.22Rv1異種移植模型中抗PSMA-LP ADC的抗腫瘤活性和細胞介素生產的總結（群組3）

層級*		**層級1**			**層級2**		**層級3**			**層級之外****
LP編號		17	27	26	18	32	21	22	24	19
BW減輕（%）		20	20	10	10					10
細胞介素	IP10	+	+	+++	+	+	+	+	+	+++
	IFN-β	++	++	++	++	++	++	++	++	+++
	IFN-γ	+++	+++	+++	+	+	+	+	+	+
	IL-6	+++	++	+++	+	+	+	+	+	++
	IL-13	++	+	+++	++	++	+	+++	+	+++
	MCP-1	+	+	+++	+	+	+	+	+	++
	MIP-1α	+	+	++	+	+	+	+	+	+++
	MIP-1β	+	+	+++	+	+	+	+	+	+++
抗腫瘤活性	D7的$p < 0.0001$	真	真							
	D21的$P < 0.0001$	真	真	真	真	真				
	D21的$p < 0.001$	真	真	真	真	真	真	真		
	D21的$p < 0.05$	真	真	真	真	真	真	真	真	
	無意義									真

*層級：根據第21天（D21）抗腫瘤活性的分類的LP

**層級之外：層級之外，D21沒有有意義的抗腫瘤活性

2.4 抗PSMA-LP ADC在C4-2異種移植SCID小鼠模型中的抗腫瘤活性

【1108】 抗PSMA-LP ADC（隨機DAR2-4）以單次IV推注劑量投與至荷瘤雄性SCID小鼠中的C4-2異種移植物。將治療組的平均腫瘤體積與對照組1（媒介物/PBS）進行比較，並測量體重變化（相對於第0天歸一化）。該分析的結果顯示在圖38中。分析表明，從給藥後第10天開始，抗PSMA-LP16（mcVAPC-單元8-SN-化合物1）具有統計學上優異的抗腫瘤活性，並且其抗腫瘤活性持續到終點。到給藥後第17天，給予了抗PSMA-LP28（mcVAPC-單元

11-SN-化合物1）的小鼠也具有顯著的抗腫瘤活性（P <0.05），呈高斯分佈範圍。在此模型中，在第17天在抗PSMA-LP2、-LP14組中觀察到抗腫瘤活性，但不顯著。雖然抗PSMA-LP16、-LP20和-LP28治療的小鼠到第4天表現出暫時性體重減輕超過10%，但測試的其他抗PSMA-LP ADC在C4-2模型中表現出有限的體重減輕。

【1109】 在治療後6小時收集小鼠血清。使用Luminex xMAP多重套組測量並定量細胞介素濃度。該分析的結果顯示在圖39和表38中。在所有抗PSMA-LP ADC中均觀察到細胞介素生產，並且在此C4-2異種移植小鼠模型中對抗PSMA-LP16、LP28、-LP20、-LP2和-LP14中的細胞介素生產進行了排名。抗PSMA-LP16和-LP28顯示出統計學上顯著的抗腫瘤活性，也刺激了該模型中細胞介素的大量生產。

【表**38**】.C4-2異種移植模型中抗PSMA-LP ADC的抗腫瘤活性和細胞介素生產的總結

層級*		**層級1**	**層級2**	**層級3**		
LP編號		16	28	2	14	20
BW減輕（%）		10	10			10
細胞介素	IP10	+++	++	++	+	+
	IFN-β	+++	++	+	+	+
	IFN-γ	+++	+	+	+	+
	IL-6	+++	+	+	+	+
	IL-13	+++	++	-	-	+
	MCP-1	+++	+/-	+/-	-	+/-
	MIP-1α	+++	++	+/-	-	+/-
	MIP-1β	+++	++	+	+/-	+
抗腫瘤活性	D10的p < 0.0001	真	真			
	D17的*p* < 0.05	真	真			
	無意義			真	真	真

*層級：根據抗腫瘤活性的分類的LP

實例13. 抗人PSMA-LP3 ADC在小鼠體內的藥物動力學

1 方法

1.1 動物給藥和樣本採集（非荷瘤小鼠）

【1110】 6週齡的雄性balb/c裸鼠（傑克遜實驗室（Jackson Labs））用於研究非荷瘤小鼠的藥物動力學（PK）。在給藥前（1 mpk最終給藥），將抗PSMA-LP3在PBS中稀釋至5 mg ADC/kg小鼠體重的濃度。給小鼠靜脈內注射200 μL的抗PSMA-LP3。用氯胺酮（0.9 mL）和賽拉唄（0.5 mL）在0.9%生理鹽水（8.6 mL）中製備麻醉混合物。在給藥後10分鐘、30分鐘、2小時、6小時、24小時、72小時、168小時和336小時（3隻小鼠/時間點），用200 μL氯胺酮/賽拉唄混合物腹膜內麻醉小鼠。使用27G針頭和3 mL注射器藉由心臟穿刺抽血，隨後藉由頸脫位立即安樂死。將收集的血液立即轉移至檸檬酸鈉管中，並在2000 g離心15 min後收集血漿。將血漿儲存在-80ºC直到使用。

1.2 動物給藥和樣本採集（荷瘤小鼠）

【1111】 C4-2腫瘤（去勢抵抗性人前列腺癌LnCAP亞系）在6週齡的雄性CB17 SCID小鼠（恩維戈公司）中皮下建立。在給藥前（3 mpk和9 mpk最終給藥），將抗PSMA-LP3在PBS中稀釋至15 mg和45 mg ADC/kg小鼠體重的濃度。當平均腫瘤尺寸達到約100 mm^3時開始治療。給小鼠靜脈內注射200 μL的抗PSMA-LP3。用氯胺酮（0.9 mL）和賽拉唄（0.5 mL）在0.9%生理鹽水（8.6 mL）中製備麻醉混合物。在給藥後5分鐘、30分鐘、2小時、6小時、24小時、72小時、168小時和504小時（3隻小鼠/時間點），用200 μL氯胺酮/賽拉唄混合物腹膜內麻醉小鼠。使用27G針頭和3 mL注射器藉由心臟穿刺抽血，隨後藉由頸脫位立即安樂死。藉由解剖分離腫瘤和所選器官，快速冷凍，並儲存在-80ºC直到使用。將收集的血液立即轉移至檸檬酸鈉管中，並在2000 g離心15 min後收集血漿。將血漿儲存在-80ºC直到使用。

1.3 腫瘤組織處理

【1112】將冷凍的腫瘤與300 µL裂解緩衝液和5 µL核酸酶在2 mL螺旋蓋微量離心管中混合。添加珠並在Fast-Prep 24 5G珠攪拌器裂解系統（MP生物醫學公司（MP Biomedical））中以6 mps、30 sec/循環的設置均質化樣本，總共三個循環，循環之間在冰上休息30 sec。將裂解的樣本在4°C以12,000 x g離心10 min。取出上清液，進行等分，速凍，並儲存在-80ºC直到使用。

1.4 抗PSMA-LP3總抗體和完整ADC測定

【1113】抗PSMA-LP3總抗體和完整ADC測定在Gyros xPand納升級微流體免疫測定儀器平臺（Gyros蛋白質技術公司（Gyros Protein Technologies））上進行。將含有鏈黴親和素的BioAffy 1000 CD（Gyros蛋白質技術公司）平衡至室溫至少30 min。將測試小鼠血漿/腫瘤裂解物樣本在Rexxip HN緩衝液（Gyros蛋白質技術公司）中的2% Tween 20中以1:10（針對血漿）和1:500（針對腫瘤裂解物）進行最低限度稀釋，以進入基於估計濃度的測定的定量範圍。對於總抗體測定和完整ADC標準曲線兩者，首先將抗PSMA-LP3 ADC在Rexxip HN緩衝液中從50 µg/mL儲備液稀釋至800 ng/mL，然後以2.2倍稀釋6次（範圍為800 ng/mL – 7.06 ng/mL，總共7個標準品）。對於總抗體測定，捕獲試劑係Rexxip HN緩衝液中的2% Tween-20中的25 µg/mL生物素化的人PSMA（R&D系統公司），檢測試劑係Rexxip F緩衝液中的25 µg/mL Alexa-Fluor 647標記的小鼠抗人IgG Fc（CH2結構域）（伯樂公司（BioRad）MCA4774）。對於完整ADC測定，捕獲試劑係Rexxip HN緩衝液中的2% Tween-20中的50 µg/mL生物素化的抗化合物1 Fab（2.1A3）片段，檢測試劑係Rexxip F緩衝液中的25 µg/mL Alexa-Fluor 647標記的小鼠抗人IgG Fc（CH2結構域）（伯樂公司MCA4774）。所有樣本和標準品均以5,000 x g離心5 min。然後在Gyros xPand上運行以下方案，進行總抗體測定和完整ADC測定兩者，流速為2 nL/sec（用於洗滌和試劑處理的體積為200 nL）：

- 用Gyros洗滌緩衝液，pH 11（Gyros蛋白質技術公司，P0020096）洗滌針，然後用PBST洗滌
- 用PBST洗滌柱2次
- 使捕獲試劑通過柱
- 用PBST洗滌柱2次
- 使測試樣本和標準品通過柱
- 用PBST洗滌柱2次
- 在添加檢測試劑之前設置背景
- 使檢測試劑通過柱
- 用PBST洗滌柱4次
- 使用1% PMT設置檢測總捕獲信號
- 用Gyros洗滌緩衝液，pH 11洗滌針，然後用PBST洗滌

【1114】使用Gyros Evaluator軟體、使用具有響應加權的5參數曲線擬合，或使用Watson LIMS、使用5% PMT設置和具有標準曲線$1/y^2$加權的5參數曲線擬合來分析收集的數據。純血漿中總抗體測定和完整ADC測定的定量限（LOQ）均為10 ng/mL，最低需求血漿稀釋度（MRD）為1:10。使用Winnonlin（賽塔拉公司（Certara））對收集的數據進行藥物動力學分析。

1.5 藉由定量LC-MS進行游離有效載荷的分析

【1115】藉由定量LC-MS分析游離有效載荷之方法在上文實例9中描述。

2 結果

2.1 抗PSMA LP3 ADC（隨機DAR4）在非荷瘤小鼠中的藥物動力學

【1116】將抗PSMA LP3（隨機DAR4）以單次IV推注劑量投與至正常裸鼠，並使用總抗體、完整ADC和游離有效載荷測定來測定ADC和代謝物的濃度。對於游離化合物1，僅檢測到化合物1，並且沒有發現單磷酸鹽形式。使用

2隔室模型測定完整ADC和總抗體PK參數，並使用非隔室擬合測定游離化合物1。該分析的結果顯示在圖40中。

【1117】分析表明，ADC在循環中具有不穩定性，如藉由與總抗體相比，完整ADC的AUC和半衰期更低且清除速率增加所證明的。這與血漿穩定性研究一致，表明藉由化合物1的*(S)*硫代磷酸酯中的硫連接的化合物1的快速切割。

2.2 抗PSMA LP3 ADC（RESPECT-L DAR2）和抗PSMA LP1（RESPECT-L DAR4）在C4-2荷瘤小鼠中的藥物動力學

2.2.1 抗PSMA LP3 ADC（RESPECT-L DAR2）的血漿PK

【1118】將抗PSMA LP3（RESPECT-L DAR2）和抗PSMA LP1（RESPECT-L DAR4）以3 mg/kg和9 mg/kg單次IV推注劑量投與至C4-2荷瘤小鼠，並且使用總抗體、完整ADC和抗PSMA LP3（RESPECT-L DAR2）的游離有效載荷測定來測定ADC和代謝物的濃度。特異性研究表明，抗化合物1（抗有效載荷）試劑抗體2.1.A3不能識別化合物1藉由橋氮軛合的ADC（「N連接的」ADC）上的化合物1，因此僅測定來自抗PSMA LP1（RESPECT-L DAR4）給藥動物的樣本的游離有效載荷。對於釋放的游離有效載荷，化合物1係檢測到的主要有效載荷，儘管在給予了9 mg/kg抗PSMA LP3（RESPECT-L DAR2）的動物的早期時間點檢測到低水平的Rp-和Sp-單磷酸鹽-化合物1。使用2隔室模型測定完整ADC和總抗體PK參數，並使用非隔室擬合測定游離化合物1。該分析的結果顯示在圖41中。

【1119】在攜帶C4-2腫瘤的小鼠中觀察到抗PSMA LP3（RESPECT-L DAR2）的類似不穩定性，正如在非荷瘤動物中觀察到隨機軛合的DAR4 ADC的不穩定性。觀察到總抗體、完整ADC和釋放的化合物1的AUC明顯劑量反應。

2.2.2 抗PSMA LP3 ADC（RESPECT-L DAR2）和抗PSMA LP1 ADC（RESPECT-L DAR4）的瘤內PK

【1120】在收集並均質化所治療小鼠的C4-2腫瘤後，測定抗PSMA LP3 ADC（RESPECT-L DAR2）和抗PSMA LP1 ADC（RESPECT-L DAR4）的游離化合物1濃度。數據以ng/kg繪製，以便與腫瘤攝取進行比較。該等結果顯示在圖42中。

【1121】即使DAR增加，抗PSMA LP1 ADC（RESPECT-L DAR4）給藥動物的血漿中的游離化合物1也比給予了抗PSMA LP3 ADC（RESPECT-L DAR2）的動物低得多，其中C_{max}水平低50倍。這與LP1 ADC的改進的體外血漿穩定性（與基於LP3的形式相比）一致。相對於抗PSMA LP3 ADC（RESPECT-L DAR2），抗PSMA LP1 ADC（RESPECT-L DAR4）的C_{max}也延遲。

【1122】還測量了來自該等相同給藥動物的腫瘤裂解物中游離化合物1的水平。將濃度相對於g腫瘤重量歸一化。該等結果顯示在圖43中。

【1123】相對於抗PSMA LP3 ADC（RESPECT-L DAR2），化合物1在抗PSMA LP1 ADC（RESPECT-L DAR4）給藥動物中保留更高水平（4至5倍高的C_{max}）且更長時間，並且腫瘤C_{max}/血漿C_{max}高出3個對數單位（圖44）。

實例14. PSMA-STING ADC的有效載荷釋放測定

1 兩步有效載荷釋放測定方法

【1124】N連接的PSMA-STING ADC的LP主要分兩步釋放其有效載荷。在第一步中，在酸性條件下對可切割胺基酸單元進行酶促切割（例如，藉由半胱胺酸蛋白酶（LP21-23）或組織蛋白酶B（LP1-20、24和27-32））。對胺基苄基胺基甲酸酯（pABC）間隔子立即藉由第一自消解反應除去。結果係，釋放由有效載荷和第二間隔子組成的中間體。在第二步中，藉由第二消解反應從

中間體除去第二間隔子，並釋放有效載荷。中間體在酸性pH下相對穩定，但第二消解反應在中性pH範圍內快速進行。

【1125】 在該測定中，在pH 5下用組織蛋白酶B或半胱胺酸蛋白酶處理連接子-有效載荷以監測第一步反應，然後將溶液的pH調節至7以評估第二步反應的動力學。代表性LP2的有效載荷釋放測定的方案如圖45所示。

1.1 LP中馬來醯亞胺的失活

【1126】 在有效載荷釋放測定之前，藉由軛合*N*-乙醯基半胱胺酸（NAC）使反應性馬來醯亞胺部分失活。將每個LP用二甲基亞碸（DMSO）中的3莫耳當量的NAC處理以製備NAC-LP。

1.2 有效載荷釋放測定

【1127】 第一步反應的評估（酶促觸發物切割速率（enzymatic trigger cleavage rate））。藉由合適的條件C1、C2或L評估每個LP的第一步反應的動力學。適用於每個LP的條件顯示在下文表39、40和41中。

【1128】 條件C1：將組織蛋白酶B（西格瑪奧德里奇公司，目錄號C8571）在含有30 mM二硫蘇糖醇（DTT）和15 mM乙二胺四乙酸（EDTA）的25 mM乙酸鈉緩衝液，pH 5.5中稀釋至125 μg/mL，並在室溫活化10 min。將NAC-LP在250 μL含有20 μM NAC-LP和1 mM EDTA的25 mM乙酸鈉緩衝液，pH 5.0中稀釋至20 μM。取五十（50）μL溶液並添加50 μL含有1%甲酸的甲醇。溶液用於分析初始（t_0）樣本。將活化的酶以最終濃度1.25 ug/mL添加至剩餘的200 μL NAC-LP溶液中。

【1129】 條件C2：將組織蛋白酶B（西格瑪奧德里奇公司，目錄號C8571）在含有30 mM DTT的20 mM乙酸鈉緩衝液，pH 5.5中稀釋至125 μg/mL，並在37°C活化30 min。將NAC-LP在250 μL含有1 mM DTT的20 mM乙酸鈉緩衝液，pH 5.0中稀釋至20 μM。取50 μL溶液並添加50 μL含有1%甲酸的

甲醇。溶液用於分析初始（t_0）樣本。將活化的酶以最終濃度1.25 μg/mL添加至剩餘的200 μL NAC-LP溶液中。

【1130】 條件L：將半胱胺酸蛋白酶（飛世爾科技公司2199-CY-010）在含有100 mM NaCl的20 mM乙酸鈉緩衝液，pH 4.0中稀釋至47 μg/mL，並在37°C活化30 min。將NAC-LP在250 μL含有1 mM DTT的20 mM乙酸鈉緩衝液，pH 5.0中稀釋至20 μM。取50 μL溶液並添加50 μL含有1%甲酸的甲醇。溶液用於分析初始（t_0）樣本。將活化的酶以最終濃度1.2 μg/mL添加至剩餘的200 μL NAC-LP溶液中。

【1131】 每個測定條件的採樣時間表都是通用的。在t = 15 min、30 min和240 min（分別為t_{15}、t_{30}和t_{240}）時對30 μL溶液進行採樣，並添加30 μL含有1%甲酸的甲醇以終止反應。藉由HPLC分析該等溶液。剩餘溶液作為t'_0溶液用於第二步反應的評估。

1.3 有效載荷釋放測定：第二步反應的評估（第二間隔子的自消解速率）

【1132】 無論第一步反應的測定條件如何，程序都是通用的。在第一步反應（對t_{240}溶液進行採樣）後，立即將50 μL 200 mM磷酸鹽緩衝液，pH 7.0添加至50 μL t'_0溶液中以啟動第二步反應。在t'=15 min和30 min（分別為t'_{15}和t'_{30}）時，對30 μL溶液進行採樣，並添加30 μL含有1%甲酸的甲醇以終止反應。藉由HPLC分析該等溶液。

1.4 HPLC條件

【1133】 對於測定條件C1：

系統：Waters Acquity UPLC

柱：Waters Acquity CSH C18，2.1 x 50 mm，粒徑1.7 um

檢測： UV260 nm

流速： 0.5 mL/min

流動相A：水和甲酸銨的混合物（1000/1，w/v）

流動相B：水、乙腈和甲酸銨的混合物（100/900/1，v/v/w）

梯度程式（t，B濃度）：（0至0.2 min，5%）-（0.2至1.5 min，5%至60%）-（1.5至1.8 min，60%至95%）-（1.8至2.0 min，95%）-（2.01至2.5 min，5%）

柱溫：40°C

樣本溫度：5ºC

注射體積：5 µL

【1134】對於測定條件C2和L：

系統：Waters Acquity UPLC

柱：Waters Acquity CSH C18，2.1 x 50 mm，粒徑1.7 um

檢測：UV260 nm

流速： 0.3 mL/min

流動相A：水和甲酸銨的混合物（1000/1，w/v）

流動相B：水、乙腈和甲酸銨的混合物（100/900/1，v/v/w）

梯度程式（t，B濃度）：（0至0.2 min，5%）-（0.2至1.8 min，5%至60%）-（1.8至2.2 min，60%至95%）-（2.21至3 min，5%）

柱溫：40°C

樣本溫度：15°C

注射體積：5 µL

1.5 數據分析

【1135】第一步反應的動力學分析如下進行。

$$\textbf{\textit{LP的殘留比率}} = \frac{A_{LP}}{A_{LP} + A_{INT} + A_P}$$

$$速率常數(k, min^{-1}) = -\frac{1}{t} ln \frac{t處LP的殘留比率}{t_0處LP的殘留比率}$$

【1136】 計算t_{15}和t_{30}的速率常數k，並將它們的平均值用作第一步反應的速率常數（酶促觸發物切割速率）。

【1137】 第二步反應的動力學分析如下進行。

$$\boldsymbol{INT的殘留比率} = \frac{\boldsymbol{A_{INT}}}{\boldsymbol{A_{INT} + A_P}}$$

$$速率常數(k', min^{-1}) = -\frac{1}{t'} ln \frac{t'處INT的殘留比率}{t'_0處INT的殘留比率}$$

【1138】 計算t'_{15}和t'_{30}的速率常數k’，並將它們的平均值用作第二步反應的速率常數（第二間隔子的自消解速率）。t'_0處的殘留比率係根據t_{240}樣本中每個峰面積計算的。

A_{LP}：NAC-LP的HPLC峰面積

A_{INT}：INT的HPLC峰面積

A_P：有效載荷的HPLC峰面積

t：第一步反應的採樣時間（min）

t’：第二步反應的採樣時間（min）（$t'_0 = t_{240}$ = 藉由添加200 mM磷酸鹽緩衝液將pH調節至7的時間點）

2 結果

【1139】 在測定中評估了30個LP。結果總結在表39和40中。表39中列出的LP在測定方法C1中評估，而表40中列出的那些藉由方法C2或L評估（方法L僅適用於具有半胱胺酸蛋白酶可切割觸發物的LP21-23）。LP2的結果表明，測定方法C1和C2之間的細微差別對第一步和第二步反應的影響很小。

【表**39**】.有效載荷釋放速率的總結（1）

LP編號	**間隔子（馬來醯亞胺**	**觸發物**	**第二間隔子**	**第一步反應的**	**相對k值[b]**	**第二步反應的速率常數**	**相對k'值[c]**

	-觸發物）	序列		速率常數（k，min-1）		（k'，min-1）	
1	C6	VA	MEC	1.87E-03	1.4	1.60E-02	0.8
2				1.33E-03	1.0	1.99E-02	1
3			無間隔子	6.97E-03	5.3	NA [d]	NA [d]
4			cPrCH2羰基	2.05E-03	1.5	1.01E-02	0.5
5			MEA	2.27E-03	1.7	1.60E-03	0.1
6			cPrMEC	1.72E-03	1.3	1.38E-02	0.7
7			DMMEC	1.98E-03	1.5	2.03E-02	1.0
8			b-cPrMEC	1.41E-03	1.1	2.67E-02	1.3
9			無間隔子	9.05E-03	6.8	NA [d]	NA [d]
10			HEC	2.45E-03	1.9	1.78E-02	0.9
11	$mPEG_2$-Lys(e-PEG_8-OMe) -PEG_2		MEC	1.26E-03	1.0	2.02E-02	1.0
12	PEG_8			5.00E-04	0.4	1.98E-02	1.0
13	PEG_2			2.01E-03	1.5	1.90E-02	1.0
14	C6	VC		8.87E-03	6.7	1.96E-02	1.0
15		VK		1.26E-02	9.5	1.94E-02	1.0
16		VA	Bz	3.43E-03	2.6	在pH 5時快速轉化為有效載荷[e]	在pH 5時快速轉化為有效載荷[e]
20			(L)-脯胺醇	2.88E-03	2.2	1.15E-01	5.8
28			F2-(L)-脯胺醇	2.86E-03	2.2	在pH 5時快速轉化為有效載荷[e]	在pH 5時快速轉化為有效載荷[e]
30			MEC	8.11E-04	0.6	2.67E-02	1.3

a：此表中列出的LP都是組織蛋白酶可切割的，並藉由測定條件C1進行評估。

b：由LP2的k歸一化的每個LP的相對k值。

c：由LP2的k’歸一化的每個LP的相對k’值。

d：LP沒有第二間隔子。

e：即使在pH 5下（第一反應步驟期間），第二間隔子也被除去得太快，並且自消解速率高於該測定方法的上限。

【表**40**】.有效載荷釋放速率的總結（2）

LP編號	**間隔子（馬來醯亞胺-觸發物）**	**觸發物序列**	**第二間隔子**	**第一步反應的速率常數（k，min-1）**	**相對k值[b]**	**第二步反應的速率常數（k'，min-1）**	**相對k'值[c]**
2	C6	VA	MEC	1.63E-03	1.0	2.29E-02	1.0
17	C2		Bz	5.43E-03	3.3	在pH 5時快速轉化為有效載荷[d]	在pH 5時快速轉化為有效載荷[d]
18			(L)-脯胺醇	4.35E-03	2.7	1.36E-01	6.0
19	PEG2			3.18E-03	1.9	1.26E-01	5.5
21	C6	AAN		1.61E-01	1.0[e]	1.40E-01	6.1
22		A(NMe)AN		1.09E-01	0.7[e]	1.38E-01	6.0
23		N		8.60E-03	0.1[e]	1.71E-01	7.5
24		GGFG		5.64E-04	0.3	1.28E-01	5.6
27	C2	VA	F2-(L)-脯胺醇	5.50E-03	3.4	在pH 5時快速轉化為有效載荷[d]	在pH 5時快速轉化為有效

							載荷[d]
29	C6		(D)-脯胺醇	6.12E-03	3.8	4.70E-02	2.1
31			MEC	3.72E-03	2.3	4.78E-02	2.1
32				2.00E-03	1.2	5.88E-02	2.6

a：LP 21-23具有半胱胺酸蛋白酶可切割觸發物並藉由方法L進行評估。其他具有組織蛋白酶B可切割觸發物並藉由方法C2進行評估。

b：由LP2的k歸一化的每個LP的相對k值（LP21-23除外，請參見下面的註腳e）。高k值表示高觸發物切割速率。

c：由LP2的k'歸一化的每個LP的相對k'值。高k'值表示高第二自消解速率。

d：即使在pH 5下（第一反應步驟期間），第二間隔子也被除去得太快，並且自消解速率高於該測定方法的上限。

e：由LP21的k歸一化的每個LP的相對k值。

【表**41**】.有效載荷釋放速率的總結（3）

LP編號	**間隔子（馬來醯亞胺-觸發物）**	**觸發物序列**	**第二間隔子**	**第一步反應的速率常數（k，min-1）**	**相對k值[b]**	**第二步反應的速率常數（k'，min-1）**	**相對k'值[c]**
2	C6	VA	MEC	1.40E-03	1.0	2.68E-02	1.0
25	C2P2		(L)-脯胺醇	9.51E-04	0.7	1.35E-01	5.0
26			F2-(L)-脯胺醇	1.69E-03	1.2	在pH 5時快速轉化為有效載荷[d]	在pH 5時快速轉化為有效載荷[d]

a：此表中列出的LP都是組織蛋白酶可切割的，並藉由測定條件C2進行評估。

b：由LP2的k歸一化的每個LP的相對k值。高k值表示高觸發物切割速率。

c：由LP2的k’歸一化的每個LP的相對k’值。高k’值表示高第二自消解速率。

d：即使在pH 5下（第一反應步驟期間），第二間隔子也被除去得太快，並且自消解速率高於該測定方法的上限。

【1140】 觸發物切割速率主要取決於觸發物肽序列，並且也可能受到第二間隔子的影響。關於第二間隔子，觀察到苯甲酸鹽（LP16和LP17）、二-F-(L)-脯胺醇（LP26、LP27和LP28）和(L)-脯胺醇（LP18-25）間隔子具有高自消解速率，這可能是提高ADC效力的重要屬性。間隔子（馬來醯亞胺和觸發物之間）和觸發物的結構對第二自消解速率的影響很小。

實例15. PSMA-STING ADC的體外干擾素-β（IFN-β）釋放測定

1 方法

【1141】 本實例中測試了LP1-32、39、42-48、50和53。

1.1 體外IFN-β釋放測定

【1142】 STING活化後，經修飾的STING會招募TBK1和IRF3基因，並最終調節促炎細胞介素（包括IFN-β）的表現和分泌。

【1143】 測量了IFN-β釋放以確定所示PSMA-STING ADC的體外效力。已廣泛用於研究單核細胞/巨噬細胞功能的PSMA陽性前列腺癌細胞系（C4-2）和人白血病單核細胞系（THP-1）用於該測定。ADC在C4-2和THP-1細胞的共培養物以及THP-1的單一培養物中進行了測試。共培養物釋放的IFN-β代表了ADC的效力，而單一培養物釋放的IFN-β僅代表了ADC對免疫細胞的作用（脫靶效應）。

1.1.1 C4-2和THP-1共培養物的體外IFN-β釋放

【1144】 將C4-2細胞以15,000個細胞/孔接種在96孔平底培養板的100 μL細胞培養基（完全RPMI-10% FBS）中，並在37°C、5% CO_2下孵育過夜。第二

天，添加50 μL/孔的ADC試劑並連續稀釋至0.01 - 100 nM，隨後在50 μL/孔的細胞培養基中以15,000個細胞/孔添加THP-1細胞，然後充分混合並在37°C、5% CO_2下孵育20-22小時。孵育後，將培養板以1500 rpm離心5分鐘，然後收集上清液並儲存在-80°C，然後測量人IFN-β。

1.1.2 THP-1單一培養物的體外IFN-β釋放

【1145】 將THP-1細胞以30,000個細胞/孔接種在96孔平底培養板的100 μL細胞培養基（完全RPMI-10% FEBS）中。然後添加100 μL/孔的ADC試劑，從0.01 - 100 nM進行連續稀釋，充分混合，然後在37°C、5% CO_2下孵育20-22小時。孵育後，將培養板以1500 rpm離心5分鐘，收集上清液，儲存在-80°C，然後測量人IFN-β。

1.1.3 藉由ELISA進行的人IFN-β測量

【1146】 除7.8 – 1,000 pg/ml的擴展標準範圍外，使用人IFN-β DuoSet ELISA（R&D系統公司，目錄號DY814-05）按照製造商的說明測量人IFN-β。測定結束時，使用QuantaBlu螢光過氧化物酶底物（賽默公司，目錄號15169）來探測信號。在BMG Labtech Clariostar讀板器上在320 nM的激發和405 nM的發射處讀取板。根據IFN-β標準曲線（7.8 - 1,000 pg/ml）對IFN-β進行定量，並使用GraphPad Prism生成數據圖。

2 結果

【1147】 總共評估了42個ADC。顯示了單一培養物和共培養物的定量IFN-β。具有S附接（SP）和N附接（SN）的ADC顯示在圖46和47中。還顯示了最大IFN-β釋放。檢測低於檢測限的樣本顯示為「< LOD」。

【1148】 通常，與S附接ADC相比，N附接ADC顯示出更高水平的IFN-β釋放。連接子設計的其他變化影響了IFN-β釋放。

所選序列

SEQ ID NO	
67（人PSMA）	MWNLLHETDSAVATARRPRWLCAGALVL AGGFFLLGFLFGWFIKSSNEATNITPKHNM KAFLDELKAENIKKFLYNFTQIPHLAGTEQ NFQLAKQIQSQWKEFGLDSVELAHYDVLL SYPNKTHPNYISIINEDGNEIFNTSLFEPPPPG YENVSDIVPPFSAFSPQGMPEGDLVYVNYA RTEDFFKLERDMKINCSGKIVIARYGKVFR GNKVKNAQLAGAKGVILYSDPADYFAPGV KSYPDGWNLPGGGVQRGNILNLNGAGDPL TPGYPANEYAYRRGIAEAVGLPSIPVHPIGY YDAQKLLEKMGGSAPPDSSWRGSLKVPYN VGPGFTGNFSTQKVKMHIHSTNEVTRIYNV IGTLRGAVEPDRYVILGGHRDSWVFGGIDP QSGAAVVHEIVRSFGTLKKEGWRPRRTILF ASWDAEEFGLLGSTEWAEENSRLLQERGV AYINADSSIEGNYTLRVDCTPLMYSLVHNL TKELKSPDEGFEGKSLYESWTKKSPSPEFSG MPRISKLGSGNDFEVFFQRLGIASGRARYT KNWETNKFSGYPLYHSVYETYELVEKFYD PMFKYHLTVAQVRGGMVFELANSIVLPFD CRDYAVVLRKYADKIYSISMKHPQEMKTY SVSFDSLFSAVKNFTEIASKFSERLQDFDKS NPIVLRMMNDQLMFLERAFIDPLGLPDRPF YRHVIYAPSSHNKYAGESFPGIYDALFDIES KVDPSKAWGEVKRQIYVAAFTVQAAAETL SEVA
68（人STING）	MPHSSLHPSIPCPRGHGAQKAALVLLSACL VTLWGLGEPPEHTLRYLVLHLASLQLGLLL NGVCSLAEELRHIHSRYRGSYWRTVRACL GCPLRRGALLLLSIYFYYSLPNAVGPPFTW MLALLGLSQALNILLGLKGLAPAEISAVCE KGNFNVAHGLAWSYYIGYLRLILPELQARI RTYNQHYNNLLRGAVSQRLYILLPLDCGVP DNLSMADPNIRFLDKLPQQTGDHAGIKDR VYSNSIYELLENGQRAGTCVLEYATPLQTL FAMSQYSQAGFSREDRLEQAKLFCRTLEDI LADAPESQNNCRLIAYQEPADDSSFSLSQE VLRHLRQEEKEEVTVGSLKTSAVPSTSTMS QEPELLISGMEKPLPLRTDFS
69（人野生型IgG1 Fc）	TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP

	REPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPGK
70（人IgG1 CH2結構域）	GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAK
71（人IgG1 CH3結構域）	GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK

【符號說明】

【1149】無

【生物材料寄存】

【1150】無

```
<?xml version="1.0" encoding="UTF-8"?>
<!DOCTYPE ST26SequenceListing PUBLIC "-//WIPO//DTD Sequence Listing 1.3//EN"
"ST26SequenceListing_V1_3.dtd">
<ST26SequenceListing originalFreeTextLanguageCode="en"
nonEnglishFreeTextLanguageCode="zh" dtdVersion="V1_3" fileName="15648_0052-
00270_SL.xml" softwareName="WIPO Sequence" softwareVersion="2.2.0"
productionDate="2024-04-25">
 <ApplicationIdentification>
  <IPOfficeCode>TW</IPOfficeCode>
  <ApplicationNumberText>113107255</ApplicationNumberText>
  <FilingDate>2024-02-29</FilingDate>
 </ApplicationIdentification>
 <ApplicantFileReference>15648.0052-00270</ApplicantFileReference>
 <EarliestPriorityApplicationIdentification>
  <IPOfficeCode>US</IPOfficeCode>
  <ApplicationNumberText>63/487,553</ApplicationNumberText>
  <FilingDate>2023-02-28</FilingDate>
 </EarliestPriorityApplicationIdentification>
 <ApplicantName languageCode="zh">衛材R&amp;amp;D管理有限公司</ApplicantName>
 <ApplicantNameLatin>EISAI R&amp;amp;D MANAGEMENT CO., LTD.</ApplicantNameLatin>
 <InventionTitle languageCode="en">ANTI-PSMA ANTIBODIES, CONJUGATES, AND METHODS
OF USE</InventionTitle>
 <InventionTitle languageCode="zh">抗PSMA抗體、軛合物及使用方法</InventionTitle>
 <SequenceTotalQuantity>144</SequenceTotalQuantity>
 <SequenceData sequenceIDNumber="1">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>115</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..115</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q1">
```

```
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGYTFTEYTIHWVQQAPGKGLEWMGNINPNNGGTTYNQ
KFEDRVTITADTSTDTAYMELSSLRSEDTAVYYCATGWNFDYWGQGTLVTVSS</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="2">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>115</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..115</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q2">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKTSGYTFTEYTIHWVQQAPGKGLEWMGNINPNNGGTTYNQ
KFEDRVTITADTSTDTAYMELSSLRSEDTAVYYCATGWNFDYWGQGTLVTVSS</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="3">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>115</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
```

```
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..115</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q3">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGYTFTEYTIHWVQQAPGKGLEWIGNINPNNGGTTYNQ
KFEDRVTITADTSTDTAYMELSSLRSEDTAVYYCATGWNFDYWGQGTLVTVSS</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="4">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>115</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..115</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q4">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
```

```
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGYTFTEYTIHWVQQAPGKGLEWMGNINPNNGGTTYNQ
KFEDRVTITVDTSTDTAYMELSSLRSEDTAVYYCATGWNFDYWGQGTLVTVSS</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="5">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>115</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..115</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q5">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGYTFTEYTIHWVQQAPGKGLEWMGNINPNNGGTTYNQ
KFEDRVTITADKSTDTAYMELSSLRSEDTAVYYCATGWNFDYWGQGTLVTVSS</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="6">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>115</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
```

```
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..115</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q6">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGYTFTEYTIHWVQQAPGKGLEWMGNINPNNGGTTYNQ
KFEDRVTITADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCATGWNFDYWGQGTLVTVSS</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="7">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>115</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..115</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q7">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
```

<INSDSeq_sequence>EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGYTFTEYTIHWVQQAPGKGLEWMGNINPNNGGTTYNQ
KFEDRVTITADTSTDTAYMELSSLRSEDTAVYYCAAGWNFDYWGQGTLVTVSS</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="8">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>115</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..115</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q8">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGYTFTEYTIHWVQQAPGKGLEWIGNINPNNGGTTYNQ
KFEDRVTITADTSTDTAYMELSSLRSEDTAVYYCAAGWNFDYWGQGTLVTVSS</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="9">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>115</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..115</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>

```
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q9">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKTSGYTFTEYTIHWVQQAPGKGLEWIGNINPNNGGTTYNQ
KFEDRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAAGWNFDYWGQGTLVTVSS</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="10">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>115</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..115</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q10">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKTSGYTFTEYTIHWVQQAPGKGLEWIGNINPNNGGTTYNQ
KFEDRVTITADTSTDTAYMELSSLRSEDTAVYYCAAGWNFDYWGQGTLVTVSS</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
```

```
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="11">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>115</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..115</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q11">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGYTFTEYTIHWVQQAPGKGLEWMGNINPNNGGTTYNQ
KFEGRVTITADTSTDTAYMELSSLRSEDTAVYYCATGWNFDYWGQGTLVTVSS</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="12">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>115</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..115</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
```

```
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q12">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGYTFTEYTIHWVQQAPGKGLEWMGNINPNNGGTTYNQ
KFQGRVTITADTSTDTAYMELSSLRSEDTAVYYCATGWNFDYWGQGTLVTVSS</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="13">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>115</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..115</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q13">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGYTFTEYTIHWVQQAPGKGLEWMGNINPNNGGTTYNE
KFQGRVTITADTSTDTAYMELSSLRSEDTAVYYCATGWNFDYWGQGTLVTVSS</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="14">
  <INSDSeq>
```

```
    <INSDSeq_length>115</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..115</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q14">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGYTFTEYTIHWVQQAPGKGLEWMGNINPNNGGTTYAE
KFQGRVTITADTSTDTAYMELSSLRSEDTAVYYCATGWNFDYWGQGTLVTVSS</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="15">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>107</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..107</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q15">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
```

```
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVGTAVDWYQQKPGKAPKLLIYWASTRHTGVPSRF
SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYNSYPLTFGQGTKLEIK</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="16">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>107</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..107</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q16">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVGTAVDWYQQKPGKAPKLLIYWASTRHTGVPSRF
SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYNSYPLTFGQGTKLEIK</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="17">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>107</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
```

```
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..107</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q17">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVGTALNWYQQKPGKAPKLLIYWASTRHTGVPSRF
SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYNSYPLTFGQGTKLEIK</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="18">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>107</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..107</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q18">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
```

```
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVGTAVDWYQQKPGKAPKLLIYWASTRHSGVPSRF
SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYNSYPLTFGQGTKLEIK</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="19">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>107</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..107</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q19">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVGTAVDWYQQKPGKAPKLLIYWASTRHSGVPSRF
SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYNSYPLTFGQGTKLEIK</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="20">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>107</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
```

```
      <INSDFeature_location>1..107</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q20">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVGTALNWYQQKPGKAPKLLIYWASTRHSGVPSRF
SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYNSYPLTFGQGTKLEIK</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="21">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>5</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..5</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q21">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>EYTIH</INSDSeq_sequence>
```

```
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="22">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>17</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q22">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>NINPNNGGTTYAEKFQG</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="23">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>17</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
```

```
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q23">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>NINPNNGGTTYNEKFQG</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="24">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>17</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q24">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>NINPNNGGTTYNQKFQG</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="25">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>17</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
```

```
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q25">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>NINPNNGGTTYNQKFEG</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="26">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>17</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q26">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
```

```
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>NINPNNGGTTYNQKFED</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="27">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>6</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..6</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q27">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GWNFDY</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="28">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>8</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
```

```
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q28">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>GYTFTEYT</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="29">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>8</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q29">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>INPNNGGT</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="30">
```

```
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>8</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q30">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>ATGWNFDY</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="31">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>8</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q31">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
```

```
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>AAGWNFDY</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="32">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>11</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..11</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q32">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>RASQDVGTAVD</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="33">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>11</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
```

```
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..11</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q33">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>KASQDVGTAVD</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="34">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>11</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..11</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q34">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>RASQDVGTALN</INSDSeq_sequence>
```

```
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="35">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>7</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q35">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>WASTRHS</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="36">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>7</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
```

```
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q36">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>WASTRHT</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="37">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q37">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>QQYNSYPLT</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="38">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>6</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
```

```
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..6</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q38">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>QDVGTA</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="39">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="40">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>115</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..115</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
```

```
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q39">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>EVQLVQSGPEVKKPGATVKISCKTSGYTFTEYTIHWVKQAPGKGLEWIGNINPNNGGTTYNQ
KFEDKATLTVDKSTDTAYMELSSLRSEDTAVYYCAAGWNFDYWGQGTLLTVSS</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="41">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>107</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..107</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q40">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>DIQMTQSPSSLSTSVGDRVTLTCKASQDVGTAVDWYQQKPGPSPKLLIYWASTRHTGIPSRF
SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFADYYCQQYNSYPLTFGPGTKVDIK</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
```

<SequenceData sequenceIDNumber="42">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>115</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..115</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q41">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>VARIANT</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>24</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier id="q42">
<INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>V or T</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>VARIANT</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>48</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier id="q43">
<INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>M or I</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>

```
</INSDFeature>
<INSDFeature>
 <INSDFeature_key>VARIANT</INSDFeature_key>
 <INSDFeature_location>61</INSDFeature_location>
 <INSDFeature_quals>
  <INSDQualifier id="q44">
   <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
   <INSDQualifier_value>A or N</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
 </INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
 <INSDFeature_key>VARIANT</INSDFeature_key>
 <INSDFeature_location>62</INSDFeature_location>
 <INSDFeature_quals>
  <INSDQualifier id="q45">
   <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
   <INSDQualifier_value>E or Q</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
 </INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
 <INSDFeature_key>VARIANT</INSDFeature_key>
 <INSDFeature_location>65</INSDFeature_location>
 <INSDFeature_quals>
  <INSDQualifier id="q46">
   <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
   <INSDQualifier_value>Q or E</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
 </INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
 <INSDFeature_key>VARIANT</INSDFeature_key>
 <INSDFeature_location>66</INSDFeature_location>
 <INSDFeature_quals>
  <INSDQualifier id="q47">
   <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
   <INSDQualifier_value>G or D</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
```

```
 </INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
 <INSDFeature_key>VARIANT</INSDFeature_key>
 <INSDFeature_location>72</INSDFeature_location>
 <INSDFeature_quals>
  <INSDQualifier id="q48">
   <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
   <INSDQualifier_value>A or V</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
 </INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
 <INSDFeature_key>VARIANT</INSDFeature_key>
 <INSDFeature_location>74</INSDFeature_location>
 <INSDFeature_quals>
  <INSDQualifier id="q49">
   <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
   <INSDQualifier_value>T or K</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
 </INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
 <INSDFeature_key>VARIANT</INSDFeature_key>
 <INSDFeature_location>77</INSDFeature_location>
 <INSDFeature_quals>
  <INSDQualifier id="q50">
   <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
   <INSDQualifier_value>D or S</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
 </INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
 <INSDFeature_key>VARIANT</INSDFeature_key>
 <INSDFeature_location>98</INSDFeature_location>
 <INSDFeature_quals>
  <INSDQualifier id="q51">
   <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
   <INSDQualifier_value>T or A</INSDQualifier_value>
```

```
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKXSGYTFTEYTIHWVQQAPGKGLEWXGNINPNNGGTTYXX
KFXXRVTITXDXSTXTAYMELSSLRSEDTAVYYCAXGWNFDYWGQGTLLTVSS</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="43">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>107</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..107</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q52">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>VARIANT</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>24</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q53">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>R or K</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
```

```
      <INSDFeature_key>VARIANT</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>33</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q54">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>L or V</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>VARIANT</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>34</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q55">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>N or D</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>VARIANT</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>56</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q56">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>S or T</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCXASQDVGTAXXWYQQKPGKAPKLLIYWASTRHXGVPSRF
SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYNSYPLTFGQGTKLEIK</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="44">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>17</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
```

```
<INSDSeq_feature-table>
 <INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_quals>
   <INSDQualifier>
    <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
   </INSDQualifier>
   <INSDQualifier id="q57">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
   </INSDQualifier>
  </INSDFeature_quals>
 </INSDFeature>
 <INSDFeature>
  <INSDFeature_key>VARIANT</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>12</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_quals>
   <INSDQualifier id="q58">
    <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>A or N</INSDQualifier_value>
   </INSDQualifier>
  </INSDFeature_quals>
 </INSDFeature>
 <INSDFeature>
  <INSDFeature_key>VARIANT</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>13</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_quals>
   <INSDQualifier id="q59">
    <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>E or Q</INSDQualifier_value>
   </INSDQualifier>
  </INSDFeature_quals>
 </INSDFeature>
 <INSDFeature>
  <INSDFeature_key>VARIANT</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>16</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_quals>
```

```
      <INSDQualifier id="q60">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Q or E</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>VARIANT</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>17</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q61">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>G or D</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>NINPNNGGTTYXXKFXX</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="45">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>11</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..11</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q62">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
```

```
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>VARIANT</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q63">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>R or K</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>VARIANT</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>10</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q64">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>V or L</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>VARIANT</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>11</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q65">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>D or N</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>XASQDVGTAXX</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="46">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>7</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
```

```
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q66">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>VARIANT</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>7</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q67">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>S or T</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>WASTRHX</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="47">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>445</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..445</INSDFeature_location>
```

```
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q68">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGYTFTEYTIHWVQQAPGKGLEWMGNINPNNGGTTYNQ
KFEDRVTITADTSTDTAYMELSSLRSEDTAVYYCATGWNFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC
LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH
TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS
VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN
GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</INSDSeq_sequenc
e>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="48">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>445</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..445</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q69">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
```

```
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKTSGYTFTEYTIHWVQQAPGKGLEWMGNINPNNGGTTYNQ
KFEDRVTITADTSTDTAYMELSSLRSEDTAVYYCATGWNFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC
LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH
TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS
VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN
GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</INSDSeq_sequenc
e>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="49">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>445</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..445</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q70">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGYTFTEYTIHWVQQAPGKGLEWIGNINPNNGGTTYNQ
KFEDRVTITADTSTDTAYMELSSLRSEDTAVYYCATGWNFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC
LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH
TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS
VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN
GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</INSDSeq_sequenc
e>
```

```
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="50">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>445</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..445</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q71">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGYTFTEYTIHWVQQAPGKGLEWMGNINPNNGGTTYNQ
KFEDRVTITVDTSTDTAYMELSSLRSEDTAVYYCATGWNFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC
LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH
TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS
VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN
GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</INSDSeq_sequenc
e>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="51">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>445</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
```

```
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..445</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q72">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGYTFTEYTIHWVQQAPGKGLEWMGNINPNNGGTTYNQ
KFEDRVTITADKSTDTAYMELSSLRSEDTAVYYCATGWNFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC
LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH
TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS
VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN
GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</INSDSeq_sequenc
e>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="52">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>445</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..445</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q73">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
```

<INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGYTFTEYTIHWVQQAPGKGLEWMGNINPNNGGTTYNQ
KFEDRVTITADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCATGWNFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC
LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH
TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS
VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN
GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</INSDSeq_sequenc
e>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="53">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>445</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..445</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q74">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGYTFTEYTIHWVQQAPGKGLEWMGNINPNNGGTTYNQ
KFEDRVTITADTSTDTAYMELSSLRSEDTAVYYCAAGWNFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC
LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH
TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS
VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN

GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="54">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>445</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..445</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q75">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGYTFTEYTIHWVQQAPGKGLEWIGNINPNNGGTTYNQKFEDRVTITADTSTDTAYMELSSLRSEDTAVYYCAAGWNFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="55">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>445</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>

```
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..445</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q76">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKTSGYTFTEYTIHWVQQAPGKGLEWIGNINPNNGGTTYNQ
KFEDRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAAGWNFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC
LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH
TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS
VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN
GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</INSDSeq_sequenc
e>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="56">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>445</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..445</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
```

```
      <INSDQualifier id="q77">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKTSGYTFTEYTIHWVQQAPGKGLEWIGNINPNNGGTTYNQ
KFEDRVTITADTSTDTAYMELSSLRSEDTAVYYCAAGWNFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC
LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH
TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS
VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN
GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</INSDSeq_sequenc
e>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="57">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>445</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..445</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q78">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGYTFTEYTIHWVQQAPGKGLEWMGNINPNNGGTTYNQ
KFEGRVTITADTSTDTAYMELSSLRSEDTAVYYCATGWNFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC
LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH
```

TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS
VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN
GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</INSDSeq_sequenc
e>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="58">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>445</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..445</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q79">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGYTFTEYTIHWVQQAPGKGLEWMGNINPNNGGTTYNQ
KFQGRVTITADTSTDTAYMELSSLRSEDTAVYYCATGWNFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC
LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH
TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS
VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN
GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</INSDSeq_sequenc
e>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="59">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>445</INSDSeq_length>

<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..445</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q80">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGYTFTEYTIHWVQQAPGKGLEWMGNINPNNGGTTYNE
KFQGRVTITADTSTDTAYMELSSLRSEDTAVYYCATGWNFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC
LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH
TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS
VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN
GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</INSDSeq_sequenc
e>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="60">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>445</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..445</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

```
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q81">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGYTFTEYTIHWVQQAPGKGLEWMGNINPNNGGTTYAE
KFQGRVTITADTSTDTAYMELSSLRSEDTAVYYCATGWNFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC
LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH
TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS
VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN
GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</INSDSeq_sequenc
e>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="61">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>214</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..214</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q82">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
```

<INSDSeq_sequence>DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVGTAVDWYQQKPGKAPKLLIYWASTRHTGVPSRF
SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYNSYPLTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR
EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</INSDSe
q_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="62">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>214</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..214</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q83">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVGTAVDWYQQKPGKAPKLLIYWASTRHTGVPSRF
SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYNSYPLTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR
EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</INSDSe
q_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="63">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>214</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>

```
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..214</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q84">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVGTALNWYQQKPGKAPKLLIYWASTRHTGVPSRF
SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYNSYPLTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR
EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</INSDSe
q_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="64">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>214</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..214</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q85">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
```

```
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVGTAVDWYQQKPGKAPKLLIYWASTRHSGVPSRF
SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYNSYPLTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR
EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</INSDSe
q_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="65">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>214</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..214</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q86">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVGTAVDWYQQKPGKAPKLLIYWASTRHSGVPSRF
SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYNSYPLTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR
EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</INSDSe
q_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="66">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>214</INSDSeq_length>
```

```
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..214</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q87">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVGTALNWYQQKPGKAPKLLIYWASTRHSGVPSRF
SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYNSYPLTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR
EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</INSDSe
q_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="67">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>750</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..750</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q88">
```

```
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MWNLLHETDSAVATARRPRWLCAGALVLAGGFFLLGFLFGWFIKSSNEATNITPKHNMKAFL
DELKAENIKKFLYNFTQIPHLAGTEQNFQLAKQIQSQWKEFGLDSVELAHYDVLLSYPNKTHPNYISIINEDGNEIFNTS
LFEPPPPGYENVSDIVPPFSAFSPQGMPEGDLVYVNYARTEDFFKLERDMKINCSGKIVIARYGKVFRGNKVKNAQLAGA
KGVILYSDPADYFAPGVKSYPDGWNLPGGGVQRGNILNLNGAGDPLTPGYPANEYAYRRGIAEAVGLPSIPVHPIGYYDA
QKLLEKMGGSAPPDSSWRGSLKVPYNVGPGFTGNFSTQKVKMHIHSTNEVTRIYNVIGTLRGAVEPDRYVILGGHRDSWV
FGGIDPQSGAAVVHEIVRSFGTLKKEGWRPRRTILFASWDAEEFGLLGSTEWAEENSRLLQERGVAYINADSSIEGNYTL
RVDCTPLMYSLVHNLTKELKSPDEGFEGKSLYESWTKKSPSPEFSGMPRISKLGSGNDFEVFFQRLGIASGRARYTKNWE
TNKFSGYPLYHSVYETYELVEKFYDPMFKYHLTVAQVRGGMVFELANSIVLPFDCRDYAVVLRKYADKIYSISMKHPQEM
KTYSVSFDSLFSAVKNFTEIASKFSERLQDFDKSNPIVLRMMNDQLMFLERAFIDPLGLPDRPFYRHVIYAPSSHNKYAG
ESFPGIYDALFDIESKVDPSKAWGEVKRQIYVAAFTVQAAAETLSEVA</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="68">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>379</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..379</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q89">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
```

<INSDSeq_sequence>MPHSSLHPSIPCPRGHGAQKAALVLLSACLVTLWGLGEPPEHTLRYLVLHLASLQLGLLLNG
VCSLAEELRHIHSRYRGSYWRTVRACLGCPLRRGALLLLSIYFYYSLPNAVGPPFTWMLALLGLSQALNILLGLKGLAPA
EISAVCEKGNFNVAHGLAWSYYIGYLRLILPELQARIRTYNQHYNNLLRGAVSQRLYILLPLDCGVPDNLSMADPNIRFL
DKLPQQTGDHAGIKDRVYSNSIYELLENGQRAGTCVLEYATPLQTLFAMSQYSQAGFSREDRLEQAKLFCRTLEDILADA
PESQNNCRLIAYQEPADDSSFSLSQEVLRHLRQEEKEEVTVGSLKTSAVPSTSTMSQEPELLISGMEKPLPLRTDFS</I
NSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="69">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>223</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..223</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q90">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN
AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLT
CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
K</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="70">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>105</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>

```
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..105</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q91">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN
STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="71">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>107</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..107</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q92">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
```

```
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG
SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="72">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>115</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..115</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q93">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>EVQLQQSGPELKKPGTSVRISCKTSGYTFTEYTIHWVKQSHGKSLEWIGNINPNNGGTTYNQ
KFEDKATLTVDKSSSTAYMELRSLTSEDSAVYYCAAGWNFDYWGQGTTLTVSS</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="73">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>107</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
```

```
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..107</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q94">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>DIVMTQSHKFMSTSVGDRVSIICKASQDVGTAVDWYQQKPGQSPKLLIYWASTRHTGVPDRF
TGSGSGTDFTLTTTNVQSEDLADYFCQQYNSYPLTFGAGTMLDLK</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="74">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>15</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..15</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q95">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
```

```
    <INSDSeq_sequence>gagtacaccattcac</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="75">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>51</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..51</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q96">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>aacatcaaccccaacaacggcggcaccacctacgccgaaaaattccagggc</INSDSeq_s
equence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="76">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>51</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..51</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
```

```
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q97">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>aacatcaaccccaacaacggcggcaccacctacaacgaaaaattccagggc</INSDSeq_s
equence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="77">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>51</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..51</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q98">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>aacatcaaccccaacaacggcggcaccacctacaaccagaaattccagggc</INSDSeq_s
equence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
```

<SequenceData sequenceIDNumber="78">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>51</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..51</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q99">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>aacatcaaccccaacaacggcggcaccacctacaaccagaaattcgagggc</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="79">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>51</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..51</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>

```
      <INSDQualifier id="q100">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>aacatcaaccccaacaacggcggcaccacctacaaccagaaattcgaggac</INSDSeq_s
equence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="80">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>18</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..18</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q101">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>ggctggaacttcgactac</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="81">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>33</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
```

```
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..33</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q102">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>agagccagccaggatgtgggcaccgctgttgac</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="82">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>33</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..33</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q103">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
```

```
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>aaggccagccaggatgtgggcaccgctgttgac</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="83">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>33</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..33</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q104">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>agagccagccaggatgtgggcaccgctctgaac</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="84">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>21</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
```

```
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q105">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>tgggccagcacaagacacagc</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="85">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>21</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q106">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>tgggccagcacaagacacaca</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="86">
```

```
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>27</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..27</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q107">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>cagcagtacaacagctaccctctgacc</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="87">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>24</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..24</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q108">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
```

```
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>ggctacaccttcaccgagtacacc</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="88">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>24</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..24</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q109">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>atcaaccccaacaacggcggcacc</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="89">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>24</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
```

```
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..24</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q110">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>gccaccggctggaacttcgactac</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="90">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>24</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..24</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q111">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>gccgccggctggaacttcgactac</INSDSeq_sequence>
```

```
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="91">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>18</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..18</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q112">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>caggatgtgggcaccgct</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="92">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="93">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>345</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
```

```
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..345</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q113">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>gaagttcaacttgttcagagcggagccgaagtgaagaaacccggcgctacagtgaagatcag
ctgcaaggtgtccggctacaccttcaccgagtacaccattcactgggtgcagcaggcccctggcaaaggactggaatgga
tgggcaacatcaaccccaacaacggcggcaccacctacaaccagaaattcgaggacagagtgaccatcaccgccgacacc
agcaccgatacagcctacatggaactgagcagcctgagaagcgaggacaccgccgtgtattattgtgccaccggctggaa
cttcgactactggggacagggcacactggtcaccgttagctct</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="94">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>345</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..345</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q114">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
```

```
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>gaagttcaacttgttcagagcggagccgaagtgaagaaacccggcgctacagtgaagatcag
ctgcaagacctccggctacaccttcaccgagtacaccattcactgggtgcagcaggcccctggcaaaggactggaatgga
tgggcaacatcaaccccaacaacggcggcaccacctacaaccagaaattcgaggacagagtgaccatcaccgccgacacc
agcaccgatacagcctacatggaactgagcagcctgagaagcgaggacaccgccgtgtattattgtgccaccggctggaa
cttcgactactggggacagggcacactggtcaccgttagctct</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="95">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>345</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..345</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q115">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>gaagttcaacttgttcagagcggagccgaagtgaagaaacccggcgctacagtgaagatcag
ctgcaaggtgtccggctacaccttcaccgagtacaccattcactgggtgcagcaggcccctggcaaaggactggaatgga
tcggcaacatcaaccccaacaacggcggcaccacctacaaccagaaattcgaggacagagtgaccatcaccgccgacacc
agcaccgatacagcctacatggaactgagcagcctgagaagcgaggacaccgccgtgtattattgtgccaccggctggaa
cttcgactactggggacagggcacactggtcaccgttagctct</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
```

</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="96">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>345</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..345</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q116">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>gaagttcaacttgttcagagcggagccgaagtgaagaaacccggcgctacagtgaagatcag
ctgcaaggtgtccggctacaccttcaccgagtacaccattcactgggtgcagcaggcccctggcaaaggactggaatgga
tgggcaacatcaaccccaacaacggcggcaccacctacaaccagaaattcgaggacagagtgaccatcaccgtggacacc
agcaccgatacagcctacatggaactgagcagcctgagaagcgaggacaccgccgtgtattattgtgccaccggctggaa
cttcgactactggggacagggcacactggtcaccgttagctct</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="97">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>345</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..345</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>

```
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q117">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>gaagttcaacttgttcagagcggagccgaagtgaagaaacccggcgctacagtgaagatcag
ctgcaaggtgtccggctacaccttcaccgagtacaccattcactgggtgcagcaggcccctggcaaaggactggaatgga
tgggcaacatcaaccccaacaacggcggcaccacctacaaccagaaattcgaggacagagtgaccatcaccgccgacaag
agcaccgatacagcctacatggaactgagcagcctgagaagcgaggacaccgccgtgtattattgtgccaccggctggaa
cttcgactactggggacagggcacactggtcaccgttagctct</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="98">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>345</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..345</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q118">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
```

<INSDSeq_sequence>gaagttcaacttgttcagagcggagccgaagtgaagaaacccggcgctacagtgaagatcag
ctgcaaggtgtccggctacaccttcaccgagtacaccattcactgggtgcagcaggcccctggcaaaggactggaatgga
tgggcaacatcaaccccaacaacggcggcaccacctacaaccagaaattcgaggacagagtgaccatcaccgccgacacc
agcaccagcacagcctacatggaactgagcagcctgagaagcgaggacaccgccgtgtattattgtgccaccggctggaa
cttcgactactggggacagggcacactggtcaccgttagctct</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="99">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>345</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..345</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q119">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>gaagttcaacttgttcagagcggagccgaagtgaagaaacccggcgctacagtgaagatcag
ctgcaaggtgtccggctacaccttcaccgagtacaccattcactgggtgcagcaggcccctggcaaaggactggaatgga
tgggcaacatcaaccccaacaacggcggcaccacctacaaccagaaattcgaggacagagtgaccatcaccgccgacacc
agcaccgatacagcctacatggaactgagcagcctgagaagcgaggacaccgccgtgtattattgtgccgccggctggaa
cttcgactactggggacagggcacactggtcaccgttagctct</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="100">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>345</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>

```
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..345</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q120">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>gaagttcaacttgttcagagcggagccgaagtgaagaaacccggcgctacagtgaagatcag
ctgcaaggtgtccggctacaccttcaccgagtacaccattcactgggtgcagcaggcccctggcaaaggactggaatgga
tcggcaacatcaaccccaacaacggcggcaccacctacaaccagaaattcgaggacagagtgaccatcaccgccgacacc
agcaccgatacagcctacatggaactgagcagcctgagaagcgaggacaccgccgtgtattattgtgccgccggctggaa
cttcgactactggggacagggcacactggtcaccgttagctct</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="101">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>345</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..345</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q121">
```

<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>gaagttcaacttgttcagagcggagccgaagtgaagaaacccggcgctacagtgaagatcag
ctgcaagacctccggctacaccttcaccgagtacaccattcactgggtgcagcaggcccctggcaaaggactggaatgga
tcggcaacatcaaccccaacaacggcggcaccacctacaaccagaaattcgaggacagagtgaccatcaccgccgacaag
agcaccagcacagcctacatggaactgagcagcctgagaagcgaggacaccgccgtgtattattgtgccgccggctggaa
cttcgactactggggacagggcacactggtcaccgttagctct</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="102">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>345</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..345</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q122">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>gaagttcaacttgttcagagcggagccgaagtgaagaaacccggcgctacagtgaagatcag
ctgcaagacctccggctacaccttcaccgagtacaccattcactgggtgcagcaggcccctggcaaaggactggaatgga
tcggcaacatcaaccccaacaacggcggcaccacctacaaccagaaattcgaggacagagtgaccatcaccgccgacacc
agcaccgatacagcctacatggaactgagcagcctgagaagcgaggacaccgccgtgtattattgtgccgccggctggaa
cttcgactactggggacagggcacactggtcaccgttagctct</INSDSeq_sequence>

</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="103">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>345</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..345</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q123">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>gaagttcaacttgttcagagcggagccgaagtgaagaaacccggcgctacagtgaagatcag
ctgcaaggtgtccggctacaccttcaccgagtacaccattcactgggtgcagcaggcccctggcaaaggactggaatgga
tgggcaacatcaaccccaacaacggcggcaccacctacaaccagaaattcgagggcagagtgaccatcaccgccgacacc
agcaccgatacagcctacatggaactgagcagcctgagaagcgaggacaccgccgtgtattattgtgccaccggctggaa
cttcgactactggggacagggcacactggtcaccgttagctct</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="104">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>345</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..345</INSDFeature_location>

```
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q124">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>gaagttcaacttgttcagagcggagccgaagtgaagaaacccggcgctacagtgaagatcag
ctgcaaggtgtccggctacaccttcaccgagtacaccattcactgggtgcagcaggcccctggcaaaggactggaatgga
tgggcaacatcaaccccaacaacggcggcaccacctacaaccagaaattccagggcagagtgaccatcaccgccgacacc
agcaccgatacagcctacatggaactgagcagcctgagaagcgaggacaccgccgtgtattattgtgccaccggctggaa
cttcgactactggggacagggcacactggtcaccgttagctct</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="105">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>345</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..345</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q125">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
```

</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>gaagttcaacttgttcagagcggagccgaagtgaagaaacccggcgctacagtgaagatcag
ctgcaaggtgtccggctacaccttcaccgagtacaccattcactgggtgcagcaggcccctggcaaaggactggaatgga
tgggcaacatcaaccccaacaacggcggcaccacctacaacgaaaaattccagggcagagtgaccatcaccgccgacacc
agcaccgatacagcctacatggaactgagcagcctgagaagcgaggacaccgccgtgtattattgtgccaccggctggaa
cttcgactactggggacagggcacactggtcaccgttagctct</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="106">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>345</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..345</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q126">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>gaagttcaacttgttcagagcggagccgaagtgaagaaacccggcgctacagtgaagatcag
ctgcaaggtgtccggctacaccttcaccgagtacaccattcactgggtgcagcaggcccctggcaaaggactggaatgga
tgggcaacatcaaccccaacaacggcggcaccacctacgccgaaaaattccagggcagagtgaccatcaccgccgacacc
agcaccgatacagcctacatggaactgagcagcctgagaagcgaggacaccgccgtgtattattgtgccaccggctggaa
cttcgactactggggacagggcacactggtcaccgttagctct</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="107">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>321</INSDSeq_length>

```
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..321</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q127">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>gatattcagatgacacagagccctagcagcctgagcgcctctgtgggcgatagagtgacaat
cacatgcaaggccagccaggatgtgggcaccgctgttgactggtatcagcagaagcctggcaaggcccctaagctgctga
tctactgggccagcacaagacacacaggcgtgccaagcagattttctggcagcggctctggcaccgacttcaccctgacc
atttctagcctccagcctgaggacttcgccacctactactgtcagcagtacaacagctaccctctgacctttggccaggg
caccaagctggaaatcaaa</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="108">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>321</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..321</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
```

```
      <INSDQualifier id="q128">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>gatattcagatgacacagagccctagcagcctgagcgcctctgtgggcgatagagtgacaat
cacatgcagagccagccaggatgtgggcaccgctgttgactggtatcagcagaagcctggcaaggcccctaagctgctga
tctactgggccagcacaagacacacaggcgtgccaagcagattttctggcagcggctctggcaccgacttcaccctgacc
atttctagcctccagcctgaggacttcgccacctactactgtcagcagtacaacagctaccctctgacctttggccaggg
caccaagctggaaatcaaa</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="109">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>321</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..321</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q129">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>gatattcagatgacacagagccctagcagcctgagcgcctctgtgggcgatagagtgacaat
cacatgcagagccagccaggatgtgggcaccgctctgaactggtatcagcagaagcctggcaaggcccctaagctgctga
tctactgggccagcacaagacacacaggcgtgccaagcagattttctggcagcggctctggcaccgacttcaccctgacc
atttctagcctccagcctgaggacttcgccacctactactgtcagcagtacaacagctaccctctgacctttggccaggg
caccaagctggaaatcaaa</INSDSeq_sequence>
```

```
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="110">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>321</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..321</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q130">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>gatattcagatgacacagagccctagcagcctgagcgcctctgtgggcgatagagtgacaat
cacatgcaaggccagccaggatgtgggcaccgctgttgactggtatcagcagaagcctggcaaggcccctaagctgctga
tctactgggccagcacaagacacagcggcgtgccaagcagattttctggcagcggctctggcaccgacttcaccctgacc
atttctagcctccagcctgaggacttcgccacctactactgtcagcagtacaacagctaccctctgacctttggccaggg
caccaagctggaaatcaaa</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="111">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>321</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..321</INSDFeature_location>
```

```
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q131">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>gatattcagatgacacagagccctagcagcctgagcgcctctgtgggcgatagagtgacaat
cacatgcagagccagccaggatgtgggcaccgctgttgactggtatcagcagaagcctggcaaggcccctaagctgctga
tctactgggccagcacaagacacagcggcgtgccaagcagattttctggcagcggctctggcaccgacttcaccctgacc
atttctagcctccagcctgaggacttcgccacctactactgtcagcagtacaacagctaccctctgacctttggccaggg
caccaagctggaaatcaaa</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="112">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>321</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..321</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q132">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
```

</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>gatattcagatgacacagagccctagcagcctgagcgcctctgtgggcgatagagtgacaat
cacatgcagagccagccaggatgtgggcaccgctctgaactggtatcagcagaagcctggcaaggcccctaagctgctga
tctactgggccagcacaagacacagcggcgtgccaagcagattttctggcagcggctctggcaccgacttcaccctgacc
atttctagcctccagcctgaggacttcgccacctactactgtcagcagtacaacagctaccctctgacctttggccaggg
caccaagctggaaatcaaa</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="113">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>345</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..345</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q133">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>gaagttcaacttgtgcagagcggccctgaagtgaagaaacctggcgctaccgtgaagatcag
ctgcaagaccagcggctacaccttcaccgagtacaccatccactgggttaagcaggcccctggcaaaggcctggaatgga
tcggcaacatcaaccccaacaacggcggcaccacctacaaccagaagttcgaggataaggccacactgaccgtggacaag
agcaccgacacagcctacatggaactgagcagcctgagaagcgaggacaccgccgtgtattattgtgccgccggatggaa
cttcgactactggggacagggcaccctgctgacagtctcttct</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="114">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>321</INSDSeq_length>

```
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..321</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q134">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>gatattcagatgacacagagccccagcagcctgagcacatctgtgggagatagagtgaccct
gacctgcaaggcctctcaggatgtgggaaccgccgtggactggtatcagcagaaacccggaccttctccaaagctgctga
tctactgggccagcaccagacacacaggcatccctagcagattttctggcagcggctctggcaccgacttcaccctgacc
atttctagcctccagcctgaggacttcgccgactactactgccagcagtacaacagctaccctctgacattcggccctgg
caccaaggtggacatcaaa</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="115">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>445</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..445</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
```

```
      <INSDQualifier id="q135">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>EVQLVQSGPEVKKPGATVKISCKTSGYTFTEYTIHWVKQAPGKGLEWIGNINPNNGGTTYNQ
KFEDKATLTVDKSTDTAYMELSSLRSEDTAVYYCAAGWNFDYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC
LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH
TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS
VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN
GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</INSDSeq_sequenc
e>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="116">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>214</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..214</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q136">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>DIQMTQSPSSLSTSVGDRVTLTCKASQDVGTAVDWYQQKPGPSPKLLIYWASTRHTGIPSRF
SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFADYYCQQYNSYPLTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR
EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</INSDSe
```

```
q_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="117">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>1338</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..1338</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>genomic DNA</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q137">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>gaagttcaacttgttcagagcggagccgaagtgaagaaacccggcgctacagtgaagatcag
ctgcaaggtgtccggctacaccttcaccgagtacaccattcactgggtgcagcaggcccctggcaaaggactggaatgga
tgggcaacatcaaccccaacaacggcggcaccacctacaaccagaaattcgaggacagagtgaccatcaccgccgacacc
agcaccgatacagcctacatggaactgagcagcctgagaagcgaggacaccgccgtgtattattgtgccaccggctggaa
cttcgactactggggacagggcacactggtcaccgttagctctgcatccaccaagggcccatcggtcttcccccctggcac
cctcctccaagagcacctctgggggcacagcggccctgggctgcctggtcaaggactacttccccgaaccggtgacggtg
tcgtggaactcaggcgccctgaccagcggcgtgcacaccttcccggctgtcctacagtcctcaggactctactccctcag
cagcgtggtgaccgtgccctccagcagcttgggcacccagacctacatctgcaacgtgaatcacaagcccagcaacacca
aggtggacaagaaagttgagcccaaatcttgtgacaaaactcacacatgcccaccgtgcccagcacctgaactcctgggg
ggaccgtcagtcttcctcttcccccaaaacccaaggacaccctcatgatctcccggaccccctgaggtcacatgcgtggt
ggtggacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaagacaa
agccgcgggaggagcagtacaacagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctgaatggc
aaggagtacaagtgcaaggtctccaacaaagccctcccagcccccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagcc
ccgagaaccacaggtgtacaccctgcccccatcccgggatgagctgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggtca
aaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcagccggagaacaactacaagaccacgcctccc
gtgctggactccgacggctccttcttcttatattcaaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtctt
```

ctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctcccgggaaatga</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="118">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>1338</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..1338</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>genomic DNA</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q138">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>gaagttcaacttgttcagagcggagccgaagtgaagaaacccggcgctacagtgaagatcag
ctgcaagacctccggctacaccttcaccgagtacaccattcactgggtgcagcaggcccctggcaaaggactggaatgga
tgggcaacatcaaccccaacaacggcggcaccacctacaaccagaaattcgaggacagagtgaccatcaccgccgacacc
agcaccgatacagcctacatggaactgagcagcctgagaagcgaggacaccgccgtgtattattgtgccaccggctggaa
cttcgactactggggacagggcacactggtcaccgttagctctgcatccaccaagggcccatcggtcttcccctggcac
cctcctccaagagcacctctgggggcacagcggccctgggctgcctggtcaaggactacttccccgaaccggtgacggtg
tcgtggaactcaggcgccctgaccagcggcgtgcacaccttcccggctgtcctacagtcctcaggactctactccctcag
cagcgtggtgaccgtgccctccagcagcttgggcacccagacctacatctgcaacgtgaatcacaagcccagcaacacca
aggtggacaagaaagttgagcccaaatcttgtgacaaaactcacacatgcccaccgtgcccagcacctgaactcctgggg
ggaccgtcagtcttcctcttcccccaaaacccaaggacaccctcatgatctcccggaccccctgaggtcacatgcgtggt
ggtggacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaagacaa
agccgcgggaggagcagtacaacagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctgaatggc
aaggagtacaagtgcaaggtctccaacaaagccctcccagcccccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagcc
ccgagaaccacaggtgtacaccctgcccccatcccgggatgagctgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggtca
aaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcagccggagaacaactacaagaccacgcctccc

gtgctggactccgacggctccttcttcttatattcaaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtctt
ctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctcccgggaaatga</IN
SDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="119">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>1338</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..1338</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>genomic DNA</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q139">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>gaagttcaacttgttcagagcggagccgaagtgaagaaacccggcgctacagtgaagatcag
ctgcaaggtgtccggctacaccttcaccgagtacaccattcactgggtgcagcaggcccctggcaaaggactggaatgga
tcggcaacatcaaccccaacaacggcggcaccacctacaaccagaaattcgaggacagagtgaccatcaccgccgacacc
agcaccgatacagcctacatggaactgagcagcctgagaagcgaggacaccgccgtgtattattgtgccaccggctggaa
cttcgactactggggacagggcacactggtcaccgttagctctgcatccaccaagggcccatcggtcttcccccctggcac
cctcctccaagagcacctctgggggcacagcggccctgggctgcctggtcaaggactacttccccgaaccggtgacggtg
tcgtggaactcaggcgccctgaccagcggcgtgcacaccttcccggctgtcctacagtcctcaggactctactccctcag
cagcgtggtgaccgtgccctccagcagcttgggcacccagacctacatctgcaacgtgaatcacaagcccagcaacacca
aggtggacaagaaagttgagcccaaatcttgtgacaaaactcacacatgcccaccgtgcccagcacctgaactcctgggg
ggaccgtcagtcttcctcttccccccaaaacccaaggacaccctcatgatctcccggaccccctgaggtcacatgcgtggt
ggtggacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaagacaa
agccgcgggaggagcagtacaacagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctgaatggc
aaggagtacaagtgcaaggtctccaacaaagccctcccagcccccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagcc
ccgagaaccacaggtgtacaccctgcccccatcccgggatgagctgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggtca

aaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcagccggagaacaactacaagaccacgcctccc
gtgctggactccgacggctccttcttcttatattcaaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtctt
ctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctcccgggaaatga</IN
SDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="120">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>1338</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..1338</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>genomic DNA</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q140">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>gaagttcaacttgttcagagcggagccgaagtgaagaaacccggcgctacagtgaagatcag
ctgcaaggtgtccggctacaccttcaccgagtacaccattcactgggtgcagcaggcccctggcaaaggactggaatgga
tgggcaacatcaaccccaacaacggcggcaccacctacaaccagaaattcgaggacagagtgaccatcaccgtggacacc
agcaccgatacagcctacatggaactgagcagcctgagaagcgaggacaccgccgtgtattattgtgccaccggctggaa
cttcgactactggggacagggcacactggtcaccgttagctctgcatccaccaagggcccatcggtcttcccctggcac
cctcctccaagagcacctctgggggcacagcggccctgggctgcctggtcaaggactacttccccgaaccggtgacggtg
tcgtggaactcaggcgccctgaccagcggcgtgcacaccttcccggctgtcctacagtcctcaggactctactccctcag
cagcgtggtgaccgtgccctccagcagcttgggcacccagacctacatctgcaacgtgaatcacaagcccagcaacacca
aggtggacaagaaagttgagcccaaatcttgtgacaaaactcacacatgcccaccgtgcccagcacctgaactcctgggg
ggaccgtcagtcttcctcttcccccaaaacccaaggacaccctcatgatctcccggaccccctgaggtcacatgcgtggt
ggtggacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaagacaa
agccgcgggaggagcagtacaacagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctgaatggc
aaggagtacaagtgcaaggtctccaacaaagccctcccagcccccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagcc

ccgagaaccacaggtgtacaccctgcccccatcccgggatgagctgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggtca
aaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcagccggagaacaactacaagaccacgcctccc
gtgctggactccgacggctccttcttcttatattcaaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtctt
ctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctcccgggaaatga</IN
SDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="121">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>1338</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..1338</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>genomic DNA</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q141">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>gaagttcaacttgttcagagcggagccgaagtgaagaaacccggcgctacagtgaagatcag
ctgcaaggtgtccggctacaccttcaccgagtacaccattcactgggtgcagcaggcccctggcaaaggactggaatgga
tgggcaacatcaaccccaacaacggcggcaccacctacaaccagaaattcgaggacagagtgaccatcaccgccgacaag
agcaccgatacagcctacatggaactgagcagcctgagaagcgaggacaccgccgtgtattattgtgccaccggctggaa
cttcgactactggggacagggcacactggtcaccgttagctctgcatccaccaagggcccatcggtcttcccccctggcac
cctcctccaagagcacctctgggggcacagcggccctgggctgcctggtcaaggactacttccccgaaccggtgacggtg
tcgtggaactcaggcgccctgaccagcggcgtgcacaccttcccggctgtcctacagtcctcaggactctactccctcag
cagcgtggtgaccgtgccctccagcagcttgggcacccagacctacatctgcaacgtgaatcacaagcccagcaacacca
aggtggacaagaaagttgagcccaaatcttgtgacaaaactcacacatgcccaccgtgcccagcacctgaactcctgggg
ggaccgtcagtcttcctcttcccccaaaacccaaggacaccctcatgatctcccggaccccctgaggtcacatgcgtggt
ggtggacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaagacaa
agccgcgggaggagcagtacaacagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctgaatggc

aaggagtacaagtgcaaggtctccaacaaagccctcccagcccccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagcc
ccgagaaccacaggtgtacaccctgcccccatcccgggatgagctgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggtca
aaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcagccggagaacaactacaagaccacgcctccc
gtgctggactccgacggctccttcttcttatattcaaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtctt
ctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctcccgggaaatga</IN
SDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="122">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>1338</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..1338</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>genomic DNA</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q142">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>gaagttcaacttgttcagagcggagccgaagtgaagaaacccggcgctacagtgaagatcag
ctgcaaggtgtccggctacaccttcaccgagtacaccattcactgggtgcagcaggcccctggcaaaggactggaatgga
tgggcaacatcaaccccaacaacggcggcaccacctacaaccagaaattcgaggacagagtgaccatcaccgccgacacc
agcaccagcacagcctacatggaactgagcagcctgagaagcgaggacaccgccgtgtattattgtgccaccggctggaa
cttcgactactggggacagggcacactggtcaccgttagctctgcatccaccaagggcccatcggtcttcccccctggcac
cctcctccaagagcacctctgggggcacagcggccctgggctgcctggtcaaggactacttccccgaaccggtgacggtg
tcgtggaactcaggcgccctgaccagcggcgtgcacaccttcccggctgtcctacagtcctcaggactctactccctcag
cagcgtggtgaccgtgccctccagcagcttgggcacccagacctacatctgcaacgtgaatcacaagcccagcaacacca
aggtggacaagaaagttgagcccaaatcttgtgacaaaactcacacatgcccaccgtgcccagcacctgaactcctgggg
ggaccgtcagtcttcctcttcccccaaaacccaaggacaccctcatgatctcccggaccccctgaggtcacatgcgtggt
ggtggacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaagacaa

agccgcgggaggagcagtacaacagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctgaatggc
aaggagtacaagtgcaaggtctccaacaaagccctcccagcccccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagcc
ccgagaaccacaggtgtacaccctgcccccatcccgggatgagctgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggtca
aaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcagccggagaacaactacaagaccacgcctccc
gtgctggactccgacggctccttcttcttatattcaaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtctt
ctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctcccgggaaatga</IN
SDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="123">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>1338</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..1338</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>genomic DNA</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q143">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>gaagttcaacttgttcagagcggagccgaagtgaagaaacccggcgctacagtgaagatcag
ctgcaaggtgtccggctacaccttcaccgagtacaccattcactgggtgcagcaggcccctggcaaaggactggaatgga
tgggcaacatcaaccccaacaacggcggcaccacctacaaccagaaattcgaggacagagtgaccatcaccgccgacacc
agcaccgatacagcctacatggaactgagcagcctgagaagcgaggacaccgccgtgtattattgtgccgccggctggaa
cttcgactactggggacagggcacactggtcaccgttagctctgcatccaccaagggcccatcggtcttcccccctggcac
cctcctccaagagcacctctgggggcacagcggccctgggctgcctggtcaaggactacttccccgaaccggtgacggtg
tcgtggaactcaggcgccctgaccagcggcgtgcacaccttcccggctgtcctacagtcctcaggactctactccctcag
cagcgtggtgaccgtgccctccagcagcttgggcacccagacctacatctgcaacgtgaatcacaagcccagcaacacca
aggtggacaagaaagttgagcccaaatcttgtgacaaaactcacacatgcccaccgtgcccagcacctgaactcctgggg
ggaccgtcagtcttcctcttccccccaaaacccaaggacaccctcatgatctcccggacccctgaggtcacatgcgtggt

ggtggacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaagacaa
agccgcgggaggagcagtacaacagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctgaatggc
aaggagtacaagtgcaaggtctccaacaaagccctcccagcccccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagcc
ccgagaaccacaggtgtacaccctgcccccatcccgggatgagctgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggtca
aaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcagccggagaacaactacaagaccacgcctccc
gtgctggactccgacggctccttcttcttatattcaaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtctt
ctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctcccgggaaatga</IN
SDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="124">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>1338</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..1338</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>genomic DNA</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q144">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>gaagttcaacttgttcagagcggagccgaagtgaagaaacccggcgctacagtgaagatcag
ctgcaaggtgtccggctacaccttcaccgagtacaccattcactgggtgcagcaggcccctggcaaaggactggaatgga
tcggcaacatcaaccccaacaacggcggcaccacctacaaccagaaattcgaggacagagtgaccatcaccgccgacacc
agcaccgatacagcctacatggaactgagcagcctgagaagcgaggacaccgccgtgtattattgtgccgccggctggaa
cttcgactactggggacagggcacactggtcaccgttagctctgcatccaccaagggcccatcggtcttcccccctggcac
cctcctccaagagcacctctgggggcacagcggccctgggctgcctggtcaaggactacttccccgaaccggtgacggtg
tcgtggaactcaggcgccctgaccagcggcgtgcacaccttcccggctgtcctacagtcctcaggactctactccctcag
cagcgtggtgaccgtgccctccagcagcttgggcacccagacctacatctgcaacgtgaatcacaagcccagcaacacca
aggtggacaagaaagttgagcccaaatcttgtgacaaaactcacacatgcccaccgtgcccagcacctgaactcctgggg

ggaccgtcagtcttcctcttccccccaaaacccaaggacaccctcatgatctcccggacccctgaggtcacatgcgtggt
ggtggacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaagacaa
agccgcgggaggagcagtacaacagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctgaatggc
aaggagtacaagtgcaaggtctccaacaaagccctcccagcccccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagcc
ccgagaaccacaggtgtacaccctgcccccatcccgggatgagctgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggtca
aaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcagccggagaacaactacaagaccacgcctccc
gtgctggactccgacggctccttcttcttatattcaaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtctt
ctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctcccgggaaatga</IN
SDSeq_sequence>

</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="125">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>1338</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..1338</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>genomic DNA</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q145">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
INSDSeq_sequence>gaagttcaacttgttcagagcggagccgaagtgaagaaacccggcgctacagtgaagatcag
ctgcaagacctccggctacaccttcaccgagtacaccattcactgggtgcagcaggcccctggcaaaggactggaatgga
tcggcaacatcaaccccaacaacggcggcaccacctacaaccagaaattcgaggacagagtgaccatcaccgccgacaag
agcaccagcacagcctacatggaactgagcagcctgagaagcgaggacaccgccgtgtattattgtgccgccggctggaa
cttcgactactggggacagggcacactggtcaccgttagctctgcatccaccaagggcccatcggtcttcccctggcac
cctcctccaagagcacctctgggggcacagcggccctgggctgcctggtcaaggactacttccccgaaccggtgacggtg
tcgtggaactcaggcgccctgaccagcggcgtgcacaccttcccggctgtcctacagtcctcaggactctactccctcag
cagcgtggtgaccgtgccctccagcagcttgggcacccagacctacatctgcaacgtgaatcacaagcccagcaacacca

aggtggacaagaaagttgagcccaaatcttgtgacaaaactcacacatgcccaccgtgcccagcacctgaactcctgggg
ggaccgtcagtcttcctcttcccccaaaacccaaggacaccctcatgatctcccggacccctgaggtcacatgcgtggt
ggtggacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaagacaa
agccgcgggaggagcagtacaacagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctgaatggc
aaggagtacaagtgcaaggtctccaacaaagccctcccagcccccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagcc
ccgagaaccacaggtgtacaccctgcccccatcccgggatgagctgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggtca
aaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcagccggagaacaactacaagaccacgcctccc
gtgctggactccgacggctccttcttcttatattcaaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtctt
ctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctcccgggaaatga</IN
SDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="126">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>1338</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..1338</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>genomic DNA</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q146">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>gaagttcaacttgttcagagcggagccgaagtgaagaaacccggcgctacagtgaagatcag
ctgcaagacctccggctacaccttcaccgagtacaccattcactgggtgcagcaggcccctggcaaaggactggaatgga
tcggcaacatcaaccccaacaacggcggcaccacctacaaccagaaattcgaggacagagtgaccatcaccgccgacacc
agcaccgatacagcctacatggaactgagcagcctgagaagcgaggacaccgccgtgtattattgtgccgccggctggaa
cttcgactactggggacagggcacactggtcaccgttagctctgcatccaccaagggcccatcggtcttcccccctggcac
cctcctccaagagcacctctgggggcacagcggccctgggctgcctggtcaaggactacttccccgaaccggtgacggtg
tcgtggaactcaggcgccctgaccagcggcgtgcacaccttcccggctgtcctacagtcctcaggactctactccctcag

cagcgtggtgaccgtgccctccagcagcttgggcacccagacctacatctgcaacgtgaatcacaagcccagcaacacca
aggtggacaagaaagttgagcccaaatcttgtgacaaaactcacacatgcccaccgtgcccagcacctgaactcctgggg
ggaccgtcagtcttcctcttcccccaaaacccaaggacaccctcatgatctcccggacccctgaggtcacatgcgtggt
ggtggacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaagacaa
agccgcgggaggagcagtacaacagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctgaatggc
aaggagtacaagtgcaaggtctccaacaaagccctcccagcccccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagcc
ccgagaaccacaggtgtacaccctgcccccatcccgggatgagctgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggtca
aaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcagccggagaacaactacaagaccacgcctccc
gtgctggactccgacggctccttcttcttatattcaaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtctt
ctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctcccgggaaatga</IN
SDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="127">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>1338</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..1338</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>genomic DNA</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q147">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>gaagttcaacttgttcagagcggagccgaagtgaagaaacccggcgctacagtgaagatcag
ctgcaaggtgtccggctacaccttcaccgagtacaccattcactgggtgcagcaggcccctggcaaaggactggaatgga
tgggcaacatcaaccccaacaacggcggcaccacctacaaccagaaattcgagggcagagtgaccatcaccgccgacacc
agcaccgatacagcctacatggaactgagcagcctgagaagcgaggacaccgccgtgtattattgtgccaccggctggaa
cttcgactactggggacagggcacactggtcaccgttagctctgcatccaccaagggcccatcggtcttccccctggcac
cctcctccaagagcacctctgggggcacagcggccctgggctgcctggtcaaggactacttccccgaaccggtgacggtg

tcgtggaactcaggcgccctgaccagcggcgtgcacaccttcccggctgtcctacagtcctcaggactctactccctcag
cagcgtggtgaccgtgccctccagcagcttgggcacccagacctacatctgcaacgtgaatcacaagcccagcaacacca
aggtggacaagaaagttgagcccaaatcttgtgacaaaactcacacatgcccaccgtgcccagcacctgaactcctgggg
ggaccgtcagtcttcctcttccccccaaaacccaaggacaccctcatgatctcccggaccccctgaggtcacatgcgtggt
ggtggacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaagacaa
agccgcgggaggagcagtacaacagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctgaatggc
aaggagtacaagtgcaaggtctccaacaaagccctcccagcccccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagcc
ccgagaaccacaggtgtacaccctgcccccatcccgggatgagctgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggtca
aaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcagccggagaacaactacaagaccacgcctccc
gtgctggactccgacggctccttcttcttatattcaaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtctt
ctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctcccgggaaatga</IN
SDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="128">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>1338</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..1338</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>genomic DNA</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q148">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>gaagttcaacttgttcagagcggagccgaagtgaagaaacccggcgctacagtgaagatcag
ctgcaaggtgtccggctacaccttcaccgagtacaccattcactgggtgcagcaggcccctggcaaaggactggaatgga
tgggcaacatcaaccccaacaacggcggcaccacctacaaccagaaattccagggcagagtgaccatcaccgccgacacc
agcaccgatacagcctacatggaactgagcagcctgagaagcgaggacaccgccgtgtattattgtgccaccggctggaa
cttcgactactggggacagggcacactggtcaccgttagctctgcatccaccaagggcccatcggtcttcccccctggcac

cctcctccaagagcacctctgggggcacagcggccctgggctgcctggtcaaggactacttccccgaaccggtgacggtg
tcgtggaactcaggcgccctgaccagcggcgtgcacaccttcccggctgtcctacagtcctcaggactctactccctcag
cagcgtggtgaccgtgccctccagcagcttgggcacccagacctacatctgcaacgtgaatcacaagcccagcaacacca
aggtggacaagaaagttgagcccaaatcttgtgacaaaactcacacatgcccaccgtgcccagcacctgaactcctgggg
ggaccgtcagtcttcctcttcccccaaaacccaaggacaccctcatgatctcccggacccctgaggtcacatgcgtggt
ggtggacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaagacaa
agccgcgggaggagcagtacaacagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctgaatggc
aaggagtacaagtgcaaggtctccaacaaagccctcccagcccccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagcc
ccgagaaccacaggtgtacaccctgcccccatcccgggatgagctgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggtca
aaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcagccggagaacaactacaagaccacgcctccc
gtgctggactccgacggctccttcttcttatattcaaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtctt
ctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctcccgggaaatga</IN
SDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="129">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>1338</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..1338</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>genomic DNA</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q149">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>gaagttcaacttgttcagagcggagccgaagtgaagaaacccggcgctacagtgaagatcag
ctgcaaggtgtccggctacaccttcaccgagtacaccattcactgggtgcagcaggcccctggcaaaggactggaatgga
tgggcaacatcaaccccaacaacggcggcaccacctacaacgaaaaattccagggcagagtgaccatcaccgccgacacc
agcaccgatacagcctacatggaactgagcagcctgagaagcgaggacaccgccgtgtattattgtgccaccggctggaa

cttcgactactggggacagggcacactggtcaccgttagctctgcatccaccaagggcccatcggtcttcccctggcac
cctcctccaagagcacctctgggggcacagcggccctgggctgcctggtcaaggactacttccccgaaccggtgacggtg
tcgtggaactcaggcgccctgaccagcggcgtgcacaccttcccggctgtcctacagtcctcaggactctactccctcag
cagcgtggtgaccgtgccctccagcagcttgggcacccagacctacatctgcaacgtgaatcacaagcccagcaacacca
aggtggacaagaaagttgagcccaaatcttgtgacaaaactcacacatgcccaccgtgcccagcacctgaactcctgggg
ggaccgtcagtcttcctcttcccccaaaacccaaggacaccctcatgatctcccggaccctgaggtcacatgcgtggt
ggtggacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaagacaa
agccgcgggaggagcagtacaacagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctgaatggc
aaggagtacaagtgcaaggtctccaacaaagccctcccagcccccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagcc
ccgagaaccacaggtgtacaccctgcccccatcccgggatgagctgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggtca
aaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcagccggagaacaactacaagaccacgcctccc
gtgctggactccgacggctccttcttcttatattcaaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtctt
ctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctcccgggaaatga</IN
SDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="130">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>1338</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..1338</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>genomic DNA</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q150">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>gaagttcaacttgttcagagcggagccgaagtgaagaaacccggcgctacagtgaagatcag
ctgcaaggtgtccggctacaccttcaccgagtacaccattcactgggtgcagcaggcccctggcaaaggactggaatgga
tgggcaacatcaaccccaacaacggcggcaccacctacgccgaaaaattccagggcagagtgaccatcaccgccgacacc

agcaccgatacagcctacatggaactgagcagcctgagaagcgaggacaccgccgtgtattattgtgccaccggctggaa
cttcgactactggggacagggcacactggtcaccgttagctctgcatccaccaagggcccatcggtcttcccccctggcac
cctcctccaagagcacctctgggggcacagcggccctgggctgcctggtcaaggactacttccccgaaccggtgacggtg
tcgtggaactcaggcgccctgaccagcggcgtgcacaccttcccggctgtcctacagtcctcaggactctactccctcag
cagcgtggtgaccgtgccctccagcagcttgggcacccagacctacatctgcaacgtgaatcacaagcccagcaacacca
aggtggacaagaaagttgagcccaaatcttgtgacaaaactcacacatgcccaccgtgcccagcacctgaactcctgggg
ggaccgtcagtcttcctcttcccccaaaacccaaggacaccctcatgatctcccggaccccctgaggtcacatgcgtggt
ggtggacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaagacaa
agccgcgggaggagcagtacaacagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctgaatggc
aaggagtacaagtgcaaggtctccaacaaagccctcccagcccccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagcc
ccgagaaccacaggtgtacaccctgcccccatcccgggatgagctgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggtca
aaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcagccggagaacaactacaagaccacgcctccc
gtgctggactccgacggctccttcttcttatattcaaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtctt
ctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctcccgggaaatga</IN
SDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="131">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>645</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..645</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>genomic DNA</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q151">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>gatattcagatgacacagagccctagcagcctgagcgcctctgtgggcgatagagtgacaat
cacatgcaaggccagccaggatgtgggcaccgctgttgactggtatcagcagaagcctggcaaggcccctaagctgctga

tctactgggccagcacaagacacacaggcgtgccaagcagattttctggcagcggctctggcaccgacttcaccctgacc
atttctagcctccagcctgaggacttcgccacctactactgtcagcagtacaacagctaccctctgacctttggccaggg
caccaagctggaaatcaaacgaactgtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgagcagttgaaatctg
gaactgcctctgttgtgtgcctgctgaataacttctatcccagagaggccaaagtacagtggaaggtggataacgccctc
caatcgggtaactcccaggagagtgtcacagagcaggacagcaaggacagcacctacagcctcagcagcaccctgacgct
gagcaaagcagactacgagaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcagggcctgagctcgcccgtcacaaaga
gcttcaacaggggagagtgttga</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="132">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>645</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..645</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>genomic DNA</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q152">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>gatattcagatgacacagagccctagcagcctgagcgcctctgtgggcgatagagtgacaat
cacatgcagagccagccaggatgtgggcaccgctgttgactggtatcagcagaagcctggcaaggcccctaagctgctga
tctactgggccagcacaagacacacaggcgtgccaagcagattttctggcagcggctctggcaccgacttcaccctgacc
atttctagcctccagcctgaggacttcgccacctactactgtcagcagtacaacagctaccctctgacctttggccaggg
caccaagctggaaatcaaacgaactgtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgagcagttgaaatctg
gaactgcctctgttgtgtgcctgctgaataacttctatcccagagaggccaaagtacagtggaaggtggataacgccctc
caatcgggtaactcccaggagagtgtcacagagcaggacagcaaggacagcacctacagcctcagcagcaccctgacgct
gagcaaagcagactacgagaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcagggcctgagctcgcccgtcacaaaga
gcttcaacaggggagagtgttga</INSDSeq_sequence>

</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="133">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>645</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..645</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>genomic DNA</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q153">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>gatattcagatgacacagagccctagcagcctgagcgcctctgtgggcgatagagtgacaat
cacatgcagagccagccaggatgtgggcaccgctctgaactggtatcagcagaagcctggcaaggcccctaagctgctga
tctactgggccagcacaagacacacaggcgtgccaagcagattttctggcagcggctctggcaccgacttcaccctgacc
atttctagcctccagcctgaggacttcgccacctactactgtcagcagtacaacagctaccctctgacctttggccaggg
caccaagctggaaatcaaacgaactgtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgagcagttgaaatctg
gaactgcctctgttgtgtgcctgctgaataacttctatcccagagaggccaaagtacagtggaaggtggataacgccctc
caatcgggtaactcccaggagagtgtcacagagcaggacagcaaggacagcacctacagcctcagcagcaccctgacgct
gagcaaagcagactacgagaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcagggcctgagctcgcccgtcacaaaga
gcttcaacaggggagagtgttga</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="134">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>645</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>

```
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..645</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>genomic DNA</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q154">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>gatattcagatgacacagagccctagcagcctgagcgcctctgtgggcgatagagtgacaat
cacatgcaaggccagccaggatgtgggcaccgctgttgactggtatcagcagaagcctggcaaggcccctaagctgctga
tctactgggccagcacaagacacagcggcgtgccaagcagattttctggcagcggctctggcaccgacttcaccctgacc
atttctagcctccagcctgaggacttcgccacctactactgtcagcagtacaacagctaccctctgacctttggccaggg
caccaagctggaaatcaaacgaactgtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgagcagttgaaatctg
gaactgcctctgttgtgtgcctgctgaataacttctatcccagagaggccaaagtacagtggaaggtggataacgccctc
caatcgggtaactcccaggagagtgtcacagagcaggacagcaaggacagcacctacagcctcagcagcaccctgacgct
gagcaaagcagactacgagaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcagggcctgagctcgcccgtcacaaaga
gcttcaacaggggagagtgttga</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="135">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>645</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..645</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
```

```
        <INSDQualifier_value>genomic DNA</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q155">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>gatattcagatgacacagagccctagcagcctgagcgcctctgtgggcgatagagtgacaat
cacatgcagagccagccaggatgtgggcaccgctgttgactggtatcagcagaagcctggcaaggcccctaagctgctga
tctactgggccagcacaagacacagcggcgtgccaagcagattttctggcagcggctctggcaccgacttcaccctgacc
atttctagcctccagcctgaggacttcgccacctactactgtcagcagtacaacagctaccctctgacctttggccaggg
caccaagctggaaatcaaacgaactgtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgagcagttgaaatctg
gaactgcctctgttgtgtgcctgctgaataacttctatcccagagaggccaaagtacagtggaaggtggataacgccctc
caatcgggtaactcccaggagagtgtcacagagcaggacagcaaggacagcacctacagcctcagcagcaccctgacgct
gagcaaagcagactacgagaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcagggcctgagctcgcccgtcacaaaga
gcttcaacaggggagagtgttga</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="136">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>645</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..645</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>genomic DNA</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q156">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
```

```
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>gatattcagatgacacagagccctagcagcctgagcgcctctgtgggcgatagagtgacaat
cacatgcagagccagccaggatgtgggcaccgctctgaactggtatcagcagaagcctggcaaggcccctaagctgctga
tctactgggccagcacaagacacagcggcgtgccaagcagattttctggcagcggctctggcaccgacttcaccctgacc
atttctagcctccagcctgaggacttcgccacctactactgtcagcagtacaacagctaccctctgacctttggccaggg
caccaagctggaaatcaaacgaactgtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgagcagttgaaatctg
gaactgcctctgttgtgtgcctgctgaataacttctatcccagagaggccaaagtacagtggaaggtggataacgccctc
caatcgggtaactcccaggagagtgtcacagagcaggacagcaaggacagcacctacagcctcagcagcaccctgacgct
gagcaaagcagactacgagaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcagggcctgagctcgcccgtcacaaaga
gcttcaacaggggagagtgttga</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="137">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>1338</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..1338</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>genomic DNA</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q157">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>gaagttcaacttgtgcagagcggccctgaagtgaagaaacctggcgctaccgtgaagatcag
ctgcaagaccagcggctacaccttcaccgagtacaccatccactgggttaagcaggcccctggcaaaggcctggaatgga
tcggcaacatcaaccccaacaacggcggcaccacctacaaccagaagttcgaggataaggccacactgaccgtggacaag
agcaccgacacagcctacatggaactgagcagcctgagaagcgaggacaccgccgtgtattattgtgccgccggatggaa
cttcgactactggggacagggcaccctgctgacagtctcttctgcatccaccaagggcccatcggtcttcccccctggcac
cctcctccaagagcacctctgggggcacagcggccctgggctgcctggtcaaggactacttccccgaaccggtgacggtg
```

tcgtggaactcaggcgccctgaccagcggcgtgcacaccttcccggctgtcctacagtcctcaggactctactccctcag
cagcgtggtgaccgtgccctccagcagcttgggcacccagacctacatctgcaacgtgaatcacaagcccagcaacacca
aggtggacaagaaagttgagcccaaatcttgtgacaaaactcacacatgcccaccgtgcccagcacctgaactcctgggg
ggaccgtcagtcttcctcttccccccaaaacccaaggacaccctcatgatctcccggaccccctgaggtcacatgcgtggt
ggtggacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaagacaa
agccgcgggaggagcagtacaacagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctgaatggc
aaggagtacaagtgcaaggtctccaacaaagccctcccagcccccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagcc
ccgagaaccacaggtgtacaccctgcccccatcccgggatgagctgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggtca
aaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcagccggagaacaactacaagaccacgcctccc
gtgctggactccgacggctccttcttcttatattcaaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtctt
ctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctcccgggaaatga</IN
SDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="138">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>645</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..645</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>genomic DNA</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q158">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>gatattcagatgacacagagccccagcagcctgagcacatctgtgggagatagagtgaccct
gacctgcaaggcctctcaggatgtgggaaccgccgtggactggtatcagcagaaacccggaccttctccaaagctgctga
tctactgggccagcaccagacacacaggcatccctagcagattttctggcagcggctctggcaccgacttcaccctgacc
atttctagcctccagcctgaggacttcgccgactactactgccagcagtacaacagctaccctctgacattcggccctgg
caccaaggtggacatcaaacgaactgtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgagcagttgaaatctg

gaactgcctctgttgtgtgcctgctgaataacttctatcccagagaggccaaagtacagtggaaggtggataacgccctc
caatcgggtaactcccaggagagtgtcacagagcaggacagcaaggacagcacctacagcctcagcagcaccctgacgct
gagcaaagcagactacgagaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcagggcctgagctcgcccgtcacaaaga
gcttcaacaggggagagtgttga</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="139">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>345</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..345</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q159">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>gaagttcaacttcagcagtctggccccgagctgaagaaacctggaacaagcgtgcggatcag
ctgcaagaccagcggctacaccttcaccgagtacaccatccactgggtcaagcagagccacggcaagtctctggaatgga
tcggcaacatcaaccccaacaacggcggcaccacctacaaccagaagttcgaggataaggccacactgaccgtggacaag
agcagcagcacagcctacatggaactgagaagcctgaccagcgaggacagcgccgtgtattattgtgccgccggatggaa
cttcgactactggggacagggcacaaccctgaccgttagctct</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="140">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>321</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>

```
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..321</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q160">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>gatattgtgatgacccagagccacaagttcatgagcaccagcgtgggcgacagagtgtccat
catctgcaaggcctctcaggatgtgggcaccgccgttgactggtatcagcagaaacctggacagagccccaagctgctga
tctactgggcctctacaagacacacaggcgtgcccgatagattcacaggctctggcagcggcaccgactttaccctgacc
atcacaaacgtgcagagcgaggacctggccgactacttctgccagcagtacaacagctaccctctgacctttggagccgg
caccatgctggatcttaaa</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="141">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>4</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..4</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q161">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
```

```
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GGFG</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="142">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>4</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..4</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q162">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GFLG</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="143">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>4</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
```

```
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..4</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q163">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>ALAL</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="144">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>4</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..4</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q164">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
```

```
      <INSDFeature_location>1</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q165">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>6-(2,5-dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrrol-1-yl)hexanoyl
modified residue</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>4</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q166">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>(4-{[(2S)-2-
{[(1R,3R,15E,28R,29R,30R,31R,34S,36R,39R,41R)-29,41-difluoro-34,39-dioxo-34,39-
disulfanyl-2,33,35,38,40,42-hexaoxa-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-decaaza-
34lambda5,39lambda5-
diphosphaoctacyclo[28.6.4.13,36.128,31.04,8.07,12.019,24.023,27]dotetraconta-
5,7,9,11,15,19,21,23,25-nonaene-13-carbonyloxy]methyl}pyrrolidine-1-
carbonyloxy]methyl}phenyl)amino modified residue</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>GGFG</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
</ST26SequenceListing>
```

【發明申請專利範圍】

【請求項1】一種人源化抗前列腺特異性膜抗原（PSMA）抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或抗原結合片段特異性結合人PSMA，並且其中該抗體或抗原結合片段包含

(i) 三個HCDR，其包含以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 21（HCDR1）、SEQ ID NO: 22（HCDR2）和SEQ ID NO: 27（HCDR3）；以及三個LCDR，其包含SEQ ID NO: 32（LCDR1）、SEQ ID NO: 35（LCDR2）和SEQ ID NO: 37（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的；或

(ii) 三個HCDR，其包含以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 21（HCDR1）、SEQ ID NO: 22（HCDR2）和SEQ ID NO: 27（HCDR3）；以及三個LCDR，其包含SEQ ID NO: 33（LCDR1）、SEQ ID NO: 36（LCDR2）和SEQ ID NO: 37（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的；或

(iii) 三個HCDR，其包含以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 28（HCDR1）、SEQ ID NO: 29（HCDR2）和SEQ ID NO: 30（HCDR3）；以及三個LCDR，其包含SEQ ID NO: 38（LCDR1）、SEQ ID NO: 39（LCDR2）和SEQ ID NO: 37（LCDR3），如由IMGT編號系統所定義的。

【請求項2】如請求項1所述之抗PSMA抗體或抗原結合片段，其中該抗體或抗原結合片段包含

(i) 三個HCDR，其包含以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 21（HCDR1）、SEQ ID NO: 22（HCDR2）和SEQ ID NO: 27（HCDR3）；以及三個LCDR，其包含SEQ ID NO: 32（LCDR1）、SEQ ID NO: 35（LCDR2）和SEQ ID NO: 37（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的；或

(ii) 三個HCDR，其包含以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 28（HCDR1）、SEQ ID NO: 29（HCDR2）和SEQ ID NO: 30（HCDR3）；以及三個LCDR，其包含SEQ ID NO: 38（LCDR1）、SEQ ID NO: 39（LCDR2）和SEQ ID NO: 37（LCDR3），如由IMGT編號系統所定義的。

【請求項3】 如請求項1所述之抗PSMA抗體或抗原結合片段，其中該抗體或抗原結合片段包含

(i) 包含SEQ ID NO: 1的胺基酸序列的重鏈可變區，以及包含SEQ ID NO: 15的胺基酸序列的輕鏈可變區；或

(ii) 包含SEQ ID NO: 2的胺基酸序列的重鏈可變區，以及包含SEQ ID NO: 15的胺基酸序列的輕鏈可變區；或

(iii) 包含SEQ ID NO: 3的胺基酸序列的重鏈可變區，以及包含SEQ ID NO: 15的胺基酸序列的輕鏈可變區；或

(iv) 包含SEQ ID NO: 14的胺基酸序列的重鏈可變區，以及包含SEQ ID NO: 15的胺基酸序列的輕鏈可變區；或

(v) 包含SEQ ID NO: 14的胺基酸序列的重鏈可變區，以及包含SEQ ID NO: 19的胺基酸序列的輕鏈可變區。

【請求項4】 如請求項1至3中任一項所述之抗PSMA抗體或抗原結合片段，其中該抗體或抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 14的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 19的胺基酸序列的輕鏈可變區。

【請求項5】 如請求項1至4中任一項所述之抗PSMA抗體或抗原結合片段，其中該抗體或抗原結合片段包含人IgG重鏈恒定區。

【請求項6】 如請求項1至5中任一項所述之抗PSMA抗體或抗原結合片段，其中該抗體或抗原結合片段包含人IgG1重鏈恒定區。

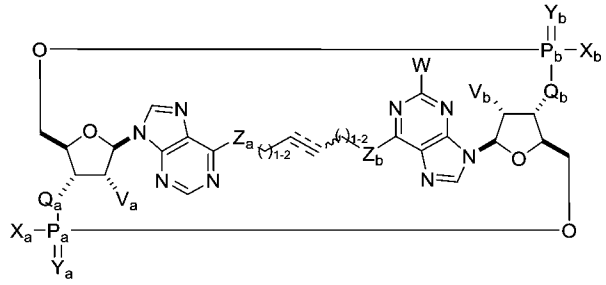
【請求項7】 如請求項1至6中任一項所述之抗PSMA抗體或抗原結合片段，其中該抗體或抗原結合片段包含人Igκ輕鏈恒定區。

【請求項8】 如請求項1至4中任一項所述之抗PSMA抗體或抗原結合片段，其中該抗原結合片段具有> 80°C的解鏈溫度（Tm），其中視需要該抗原結合片段係Fab。

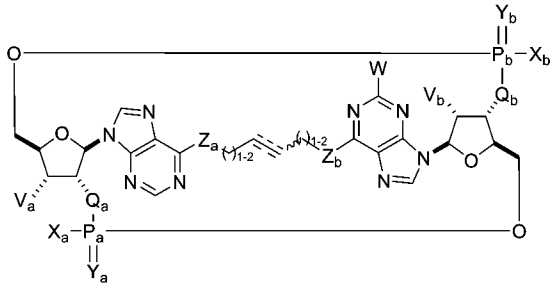
【請求項9】 如請求項1至8中任一項所述之抗PSMA抗體或抗原結合片段，其中該抗體或抗原結合片段與至少一個連接子附接，其中視需要該至少一個連接子係可切割的。

【請求項10】 如請求項9所述之抗PSMA抗體或抗原結合片段，其中該至少一個連接子與細胞毒性劑或可檢測試劑軛合。

【請求項11】 一種包含L-D的連接子-有效載荷軛合物，其中L係與D共價附接的連接子，其中D包含根據下式之一的化合物：



式 (III)，



式 (IV)，

其異構物、該化合物或異構物的氘代衍生物；或者該化合物、異構物或氘代衍生物的鹽；

其中，對於每次出現獨立地是：

- P_a和P_b中的每個，當不是外消旋時，獨立地選自(*R*)-立體化學和(*S*)-立體化學；
- Q_a和Q_b中的每個獨立地選自NH和O；
- V_a和V_b中的每個獨立地選自F和OH；

- W選自H和NH_2；
- X_a和X_b中的每個獨立地選自OH和SH；
- Y_a和Y_b中的每個獨立地選自O和S；
- Z_a和Z_b各自獨立地選自CH_2、O和NH；以及
- ⎓意味著鍵選自單鍵（－）、(*E*)-或(*Z*)-組態的雙鍵（＝）、或三鍵（≡）；

條件係Z_a和Z_b中的至少一個係NH或X_a和X_b中的至少一個係SH。

【請求項12】 如請求項11所述之連接子-有效載荷軛合物，其中P_a係(*S*)-組態且P_b係(*R*)-組態。

【請求項13】 如請求項11所述之連接子-有效載荷軛合物，其中P_a係(*R*)-組態且P_b係(*R*)-組態。

【請求項14】 如請求項11至13中任一項所述之連接子-有效載荷軛合物，其中Q_a和Q_b係O。

【請求項15】 如請求項11至14中任一項所述之連接子-有效載荷軛合物，其中V_a和V_b係OH。

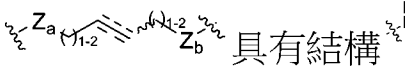
【請求項16】 如請求項11至14中任一項所述之連接子-有效載荷軛合物，其中V_a和V_b係F。

【請求項17】 如請求項11至16中任一項所述之連接子-有效載荷軛合物，其中W係H。

【請求項18】 如請求項11至17中任一項所述之連接子-有效載荷軛合物，其中Z_a和Z_b中的至少一個係NH。

【請求項19】 如請求項11至18中任一項所述之連接子-有效載荷軛合物，其中Z_a和Z_b係NH。

【請求項20】 如請求項11至19中任一項所述之連接子-有效載荷靶合物，其中 ≡ 包含(*E*)-或(*Z*)-組態的雙鍵（＝）。

【請求項21】 如請求項11至19中任一項所述之連接子-有效載荷靶合物，其中橋  具有結構 或 。

【請求項22】 如請求項11至21中任一項所述之連接子-有效載荷靶合物，其中Y_a和Y_b中的至少一個係O。

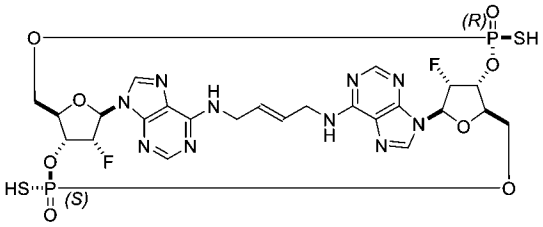
【請求項23】 如請求項11至22中任一項所述之連接子-有效載荷靶合物，其中Y_a和Y_b係O。

【請求項24】 如請求項11至23中任一項所述之連接子-有效載荷靶合物，其中X_a和X_b中的至少一個係SH。

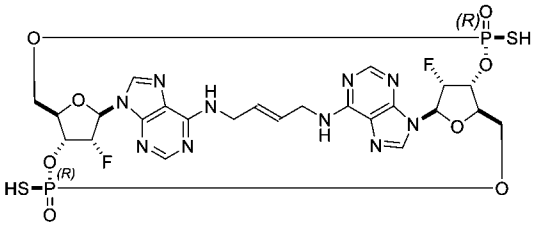
【請求項25】 如請求項11至24中任一項所述之連接子-有效載荷靶合物，其中X_a和X_b係SH。

【請求項26】 如請求項11至25中任一項所述之連接子-有效載荷靶合物，其中D包含具有式 (III) 的化合物。

【請求項27】 如請求項11所述之連接子-有效載荷靶合物，其中D包含選自以下的具有式 (III) 的化合物：

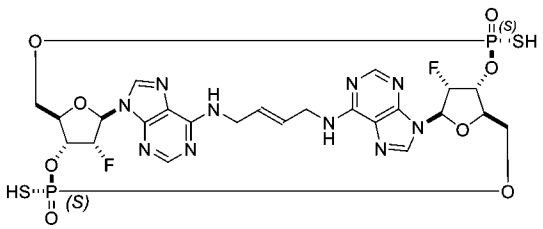


，

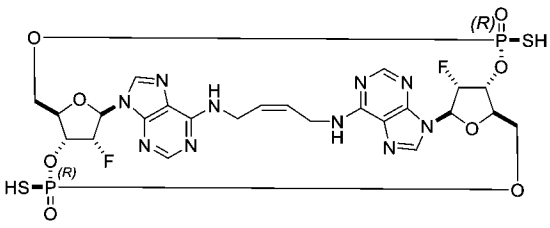


，

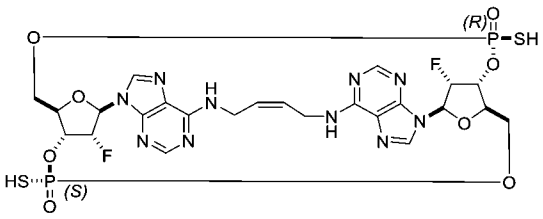
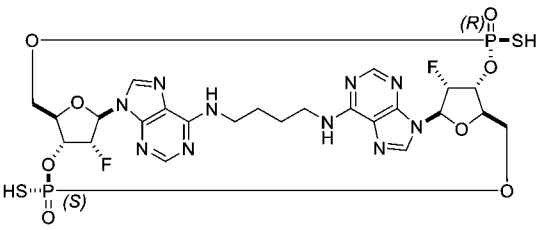
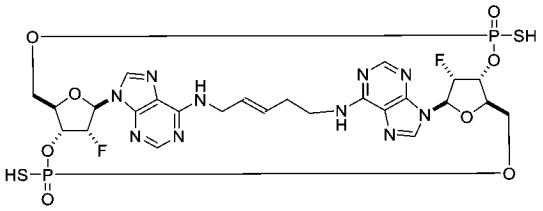
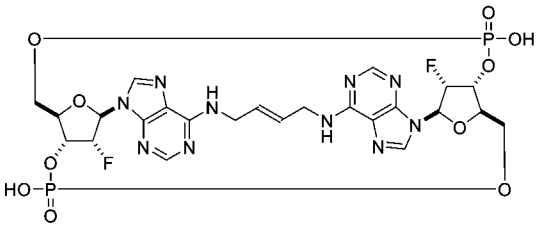
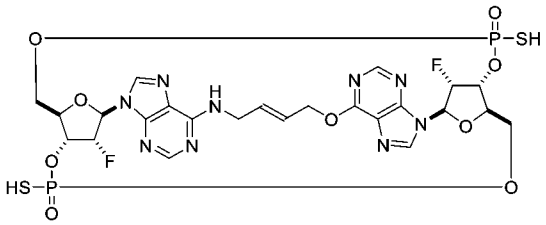
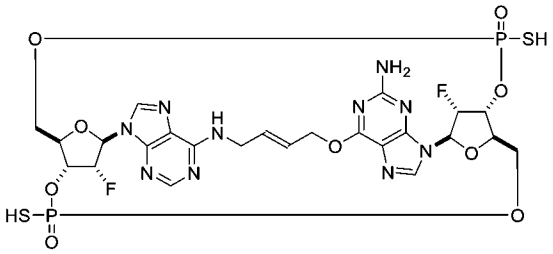
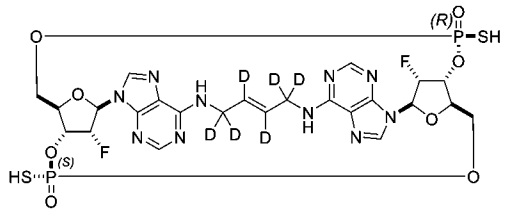
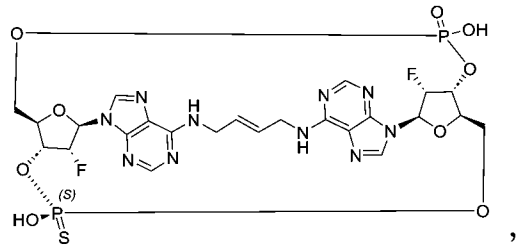
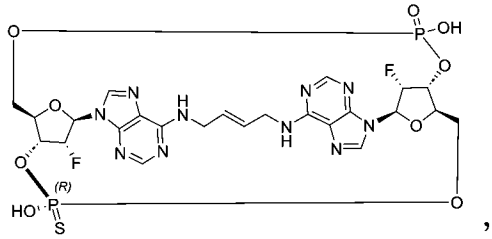
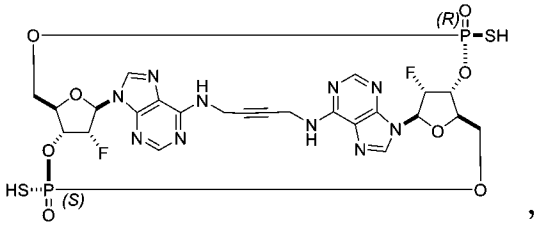
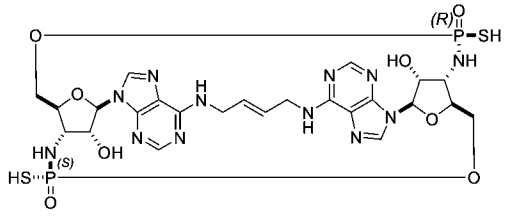
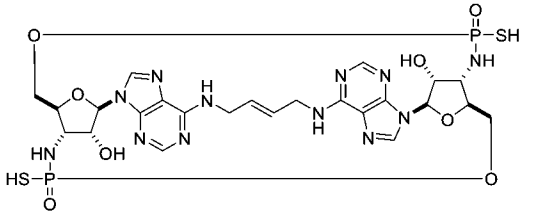
化合物1



，

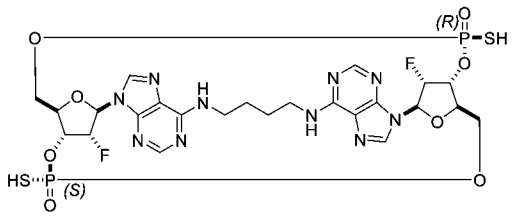
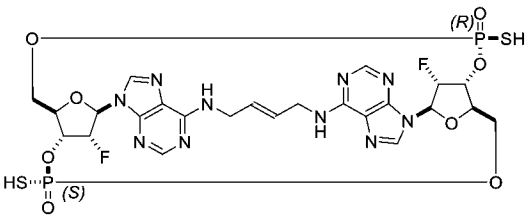


，

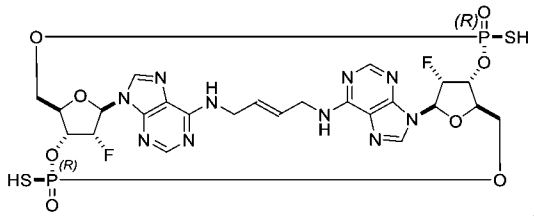
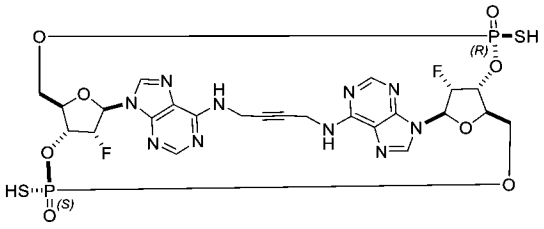

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,
化合物2

和

,

及其鹽。

【請求項28】 如請求項11或請求項27所述之連接子-有效載荷軛合物，其中D包含選自以下的具有式 (III) 的化合物：


，

，

化合物1


和

，

化合物2

及其鹽。

【請求項29】 如請求項27或請求項28所述之連接子-有效載荷靶合物，其中D包含化合物1。

【請求項30】 如請求項27或請求項28所述之連接子-有效載荷靶合物，其中D包含化合物2。

【請求項31】 如請求項11至30中任一項所述之連接子-有效載荷靶合物，其中X_a和X_b中的至少一個係SH並且L藉由S-2硫或S-14硫處的硫原子與D附接。

【請求項32】 如請求項31所述之連接子-有效載荷靶合物，其中X_b係SH並且L在S-2硫處與D附接。

【請求項33】 如請求項31所述之連接子-有效載荷靶合物，其中X_a係SH並且L在S-14硫處與D附接。

【請求項34】 如請求項11至30中任一項所述之連接子-有效載荷靶合物，其中Z_a和Z_b中的至少一個係NH並且L藉由N-34氮或N-39氮處的氮原子與D附接。

【請求項35】 如請求項34所述之連接子-有效載荷靶合物，其中Z_b係NH並且L在N-34氮處與D附接。

【請求項36】 如請求項34所述之連接子-有效載荷靶合物，其中Z_a係NH並且L在N-39氮處與D附接。

【請求項37】 如請求項11至36中任一項所述之連接子-有效載荷靶合物，其中L係可切割連接子。

【請求項38】 如請求項37所述之連接子-有效載荷靶合物，其中該可切割連接子包含可切割肽部分。

【請求項39】 如請求項38所述之連接子-有效載荷靶合物，其中該可切割肽部分可被蛋白酶切割，視需要其中該蛋白酶係組織蛋白酶或半胱胺酸蛋白酶。

【請求項40】 如請求項38或請求項39所述之連接子-有效載荷靶合物，其中該可切割肽部分包含胺基酸單元。

【請求項41】 如請求項40所述之連接子-有效載荷靶合物，其中該胺基酸單元包含Val-Ala、Val-Cit、Val-Lys、Ala-Ala-Asn、Ala-(NMe)Ala-Asn、Asn、Gly-Gly-Phe-Gly、Glu-Val-Ala、或Gly-Val-Ala。

【請求項42】 如請求項37至41中任一項所述之連接子-有效載荷靶合物，其中該可切割連接子包含Val-Ala。

【請求項43】 如請求項11至42中任一項所述之連接子-有效載荷靶合物，其中該連接子包含馬來醯亞胺（Mal）部分。

【請求項44】 如請求項43所述之連接子-有效載荷靶合物，其中該Mal部分包含馬來醯亞胺基己醯基（MC）。

【請求項45】 如請求項43或請求項44所述之連接子-有效載荷靶合物，其中該Mal部分藉由抗體或抗原結合片段上的半胱胺酸殘基與該抗體或抗原結合片段接合。

【請求項46】 如請求項11至45中任一項所述之連接子-有效載荷靶合物，其中該連接子進一步包含至少一個間隔子單元。

【請求項47】 如請求項46所述之連接子-有效載荷靶合物，其中該至少一個間隔子單元包含至少一個聚乙二醇（PEG）部分。

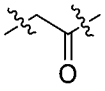
【請求項48】 如請求項47所述之連接子-有效載荷靶合物，其中該至少一個PEG部分包含-$(PEG)_m$-並且*m*係1至10的整數。

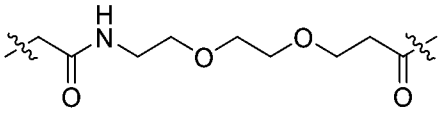
【請求項49】 如請求項48所述之連接子-有效載荷靶合物，其中*m*係2至8的整數。

【請求項50】 如請求項48或請求項49所述之連接子-有效載荷靶合物，其中*m*係2至5的整數。

【請求項51】 如請求項48至50中任一項所述之連接子-有效載荷靶合物，其中*m*係2。

【請求項52】 如請求項46或請求項47所述之連接子-有效載荷靶合物，其中該至少一個間隔子單元包含PEG_2-Lys(ε-PEG_8-OMe)-PEG_2。

【請求項53】 如請求項46所述之連接子-有效載荷靶合物，其中該至少一個間隔子單元包含  。

【請求項54】 如請求項46或請求項53所述之連接子-有效載荷靶合物，其中該至少一個間隔子單元包含  式 (II)。

【請求項55】 如請求項11至54中任一項所述之連接子-有效載荷靶合物，其中該連接子進一步包含至少一個自消解單元。

【請求項56】 如請求項55所述之連接子-有效載荷靶合物，其中該連接子包含第一自消解單元。

【請求項57】 如請求項56所述之連接子-有效載荷靶合物，其中在藉由該第一自消解單元的自消解切割該連接子後，該連接子能夠從D中除去。

【請求項58】 如請求項56或請求項57所述之連接子-有效載荷軛合物，其中該第一自消解單元包含視需要被選自甲基、氟、氯、三氟甲基、芳基和雜芳基的1-3個取代基取代的對胺基苄基（pAB）。

【請求項59】 如請求項58所述之連接子-有效載荷軛合物，其中該第一自消解單元包含對胺基苄基（pAB）。

【請求項60】 如請求項55至59中任一項所述之連接子-有效載荷軛合物，其中該連接子包含MC-Val-Ala-pAB。

【請求項61】 如請求項56至59中任一項所述之連接子-有效載荷軛合物，其中該第一自消解單元包含對胺基苄氧基羰基（pABC）。

【請求項62】 如請求項56至61中任一項所述之連接子-有效載荷軛合物，其中該連接子進一步包含第二自消解單元。

【請求項63】 如請求項62所述之連接子-有效載荷軛合物，其中在藉由該第一自消解單元的自消解和/或該第二自消解單元的自消解切割該連接子後，該連接子能夠從D中除去。

【請求項64】 如請求項62或請求項63所述之連接子-有效載荷軛合物，其中在藉由該第一自消解單元的自消解、然後是該第二自消解單元的自消解以逐步方式切割該連接子後，該連接子從D中除去。

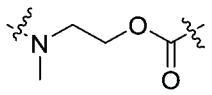
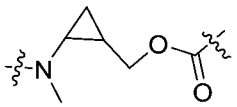
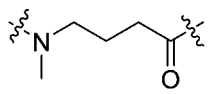
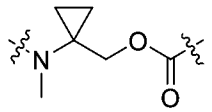
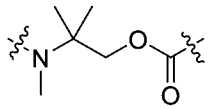
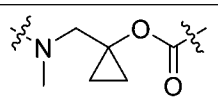
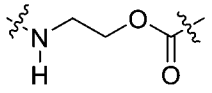
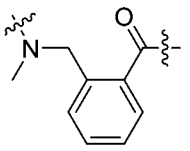
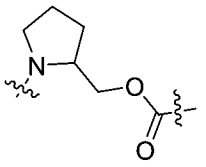
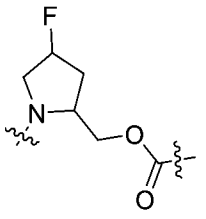
【請求項65】 如請求項11至41和43至64中任一項所述之連接子-有效載荷軛合物，其中該連接子包含可切割連接子、第一自消解單元、和第二自消解單元。

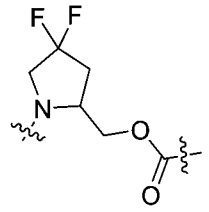
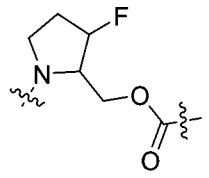
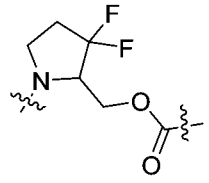
【請求項66】 如請求項65所述之連接子-有效載荷軛合物，其中該可切割連接子包含Val-Ala。

【請求項67】 如請求項65所述之連接子-有效載荷軛合物，其中該可切割連接子包含Val-Cit。

【請求項68】 如請求項65至67中任一項所述之連接子-有效載荷軛合物，其中該可切割連接子包含式 (II)。

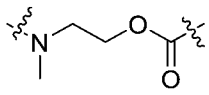
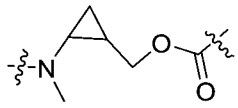
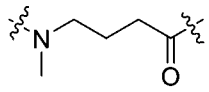
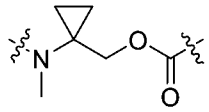
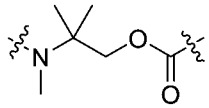
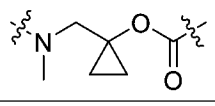
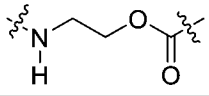
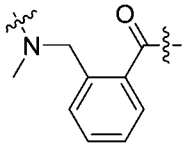
【請求項69】 如請求項65所述之連接子-有效載荷軛合物，其中該第二自消解單元包含以下部分之一：

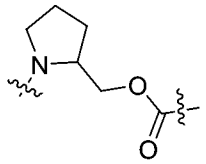
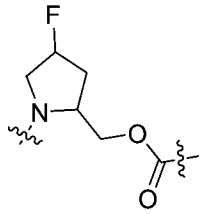
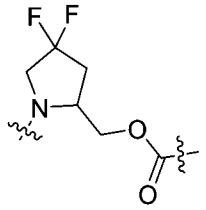
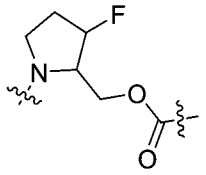
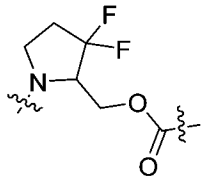
第二自消解單元	化學結構
單元1（MEC）	
單元2	
單元3	
單元4	
單元5	
單元6	
單元7	
單元8	
單元9	
單元10	

單元11	
單元12	
單元13	

或其異構物。

【請求項70】如請求項65所述之連接子-有效載荷軛合物，其中該可切割連接子包含Val-Ala，並且其中該第二自消解單元包含以下部分之一：

第二自消解單元	化學結構
單元1（MEC）	
單元2	
單元3	
單元4	
單元5	
單元6	
單元7	
單元8	

單元9	
單元10	
單元11	
單元12	
單元13	

或其異構物。

【請求項71】 如請求項62至70中任一項所述之連接子-有效載荷軛合物，其中該第二自消解單元包含單元1（MEC）部分。

【請求項72】 如請求項62至70中任一項所述之連接子-有效載荷軛合物，其中該第二自消解單元包含單元8部分。

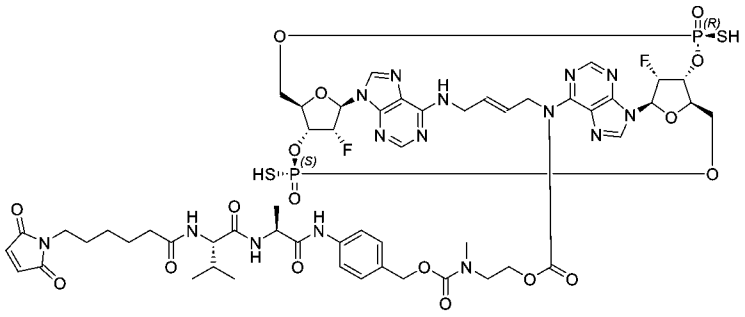
【請求項73】 如請求項62至70中任一項所述之連接子-有效載荷軛合物，其中該第二自消解單元包含單元11部分。

【請求項74】 如請求項62至70中任一項所述之連接子-有效載荷軛合物，其中該第二自消解單元包含單元9部分。

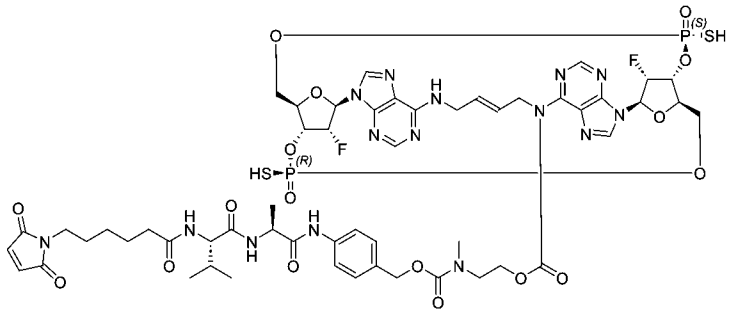
【請求項75】 如請求項70所述之連接子-有效載荷軛合物，其中該連接子包含Val-Ala-pABC-MEC部分。

【請求項76】 如請求項70所述之連接子-有效載荷靶合物，其中該連接子包含MC-Val-Ala-pABC-MEC部分。

【請求項77】 如請求項11所述之連接子-有效載荷靶合物，其中該L-D包含LP1：



、或LP2：



。

【請求項78】 如請求項69所述之連接子-有效載荷靶合物，其中該連接子包含Val-Cit-pABC-MEC部分。

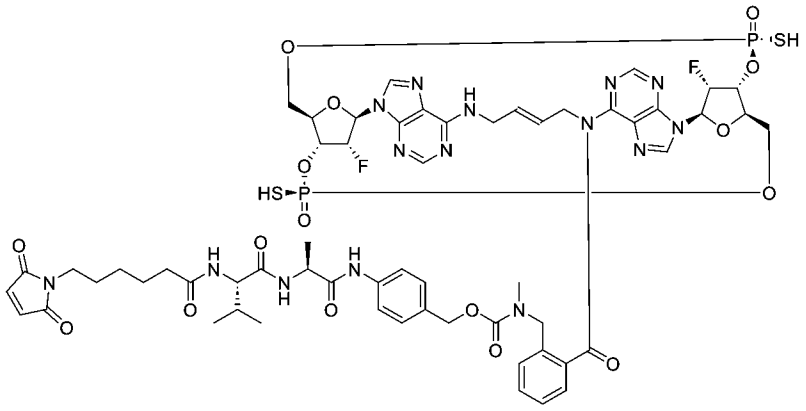
【請求項79】 如請求項69所述之連接子-有效載荷靶合物，其中該連接子包含MC-Val-Cit-pABC-MEC部分。

【請求項80】 如請求項69所述之連接子-有效載荷靶合物，其中該L-D包含MC-Val-Cit-pABC-MEC-化合物1。

【請求項81】 如請求項70所述之連接子-有效載荷靶合物，其中該連接子包含Val-Ala-pABC-單元8部分。

【請求項82】 如請求項70所述之連接子-有效載荷靶合物，其中該連接子包含MC-Val-Ala-pABC-單元8部分。

【請求項83】 如請求項11所述之連接子-有效載荷靶合物，其中該L-D包含LP16：



。

【請求項84】 如請求項69所述之連接子-有效載荷靶合物，其中該連接子包含Val-Cit-pABC-單元8部分。

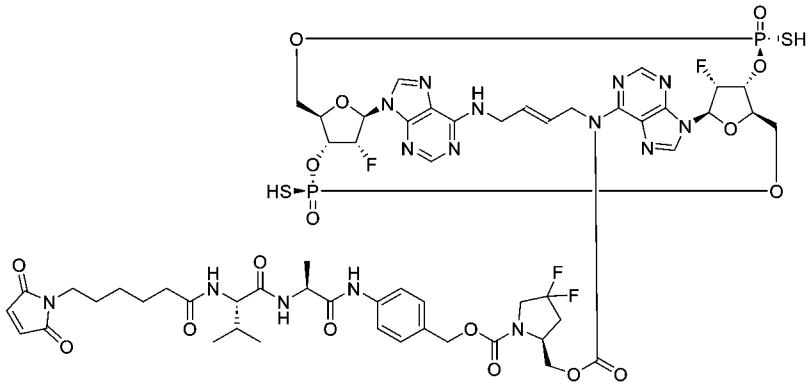
【請求項85】 如請求項69所述之連接子-有效載荷靶合物，其中該連接子包含MC-Val-Cit-pABC-單元8部分。

【請求項86】 如請求項69所述之連接子-有效載荷靶合物，其中該L-D包含MC-Val-Cit-pABC-單元8-化合物1。

【請求項87】 如請求項70所述之連接子-有效載荷靶合物，其中該連接子包含Val-Ala-pABC-單元11部分。

【請求項88】 如請求項70所述之連接子-有效載荷靶合物，其中該連接子包含MC-Val-Ala-pABC-單元11部分。

【請求項89】 如請求項11所述之連接子-有效載荷靶合物，其中該L-D包含LP28：



。

【請求項90】 如請求項69所述之連接子-有效載荷靶合物，其中該連接子包含Val-Cit-pABC-單元11部分。

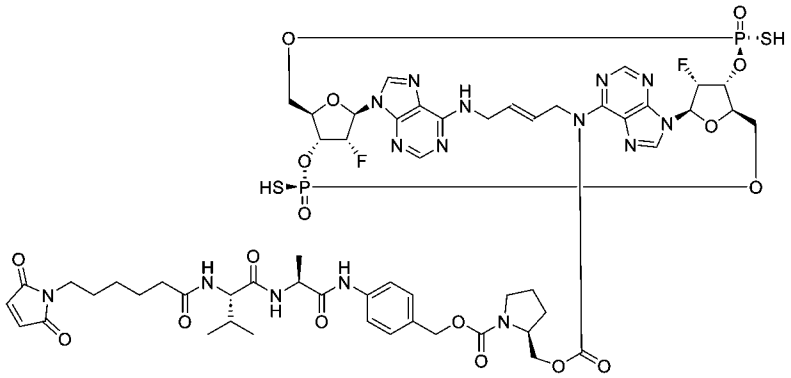
【請求項91】 如請求項69所述之連接子-有效載荷靶合物，其中該連接子包含MC-Val-Cit-pABC-單元11部分。

【請求項92】 如請求項69所述之連接子-有效載荷靶合物，其中該L-D包含MC-Val-Cit-pABC-單元11-化合物1。

【請求項93】 如請求項70所述之連接子-有效載荷靶合物，其中該連接子包含Val-Ala-pABC-單元9部分。

【請求項94】 如請求項70所述之連接子-有效載荷靶合物，其中該連接子包含MC-Val-Ala-pABC-單元9部分。

【請求項95】 如請求項11所述之連接子-有效載荷靶合物，其中該L-D包含LP20：



。

【請求項96】 如請求項69所述之連接子-有效載荷靶合物，其中該連接子包含Val-Cit-pABC-單元9部分。

【請求項97】 如請求項69所述之連接子-有效載荷靶合物，其中該連接子包含MC-Val-Cit-pABC-單元9部分。

【請求項98】 如請求項69所述之連接子-有效載荷靶合物，其中該L-D包含MC-Val-Cit-pABC-單元9-化合物1。

【請求項99】 如請求項69所述之連接子-有效載荷靶合物，其中該連接子包含式 (II)-Val-Cit-pABC。

【請求項100】 如請求項69所述之連接子-有效載荷靶合物，其中該連接子包含式 (II)-Val-Cit-pABC-MEC部分。

【請求項101】 如請求項69所述之連接子-有效載荷靶合物，其中該連接子包含Mal-式 (II)-Val-Cit-pABC-MEC部分。

【請求項102】 如請求項69所述之連接子-有效載荷靶合物，其中該L-D包含Mal-式 (II)-Val-Cit-pABC-MEC-化合物1。

【請求項103】 如請求項69所述之連接子-有效載荷靶合物，其中該連接子包含式 (II)-Val-Cit-pABC-單元8部分。

【請求項104】 如請求項69所述之連接子-有效載荷靶合物，其中該連接子包含Mal-式 (II)-Val-Cit-pABC-單元8部分。

【請求項105】 如請求項69所述之連接子-有效載荷靶合物，其中該L-D包含Mal-式 (II)-Val-Cit-pABC-單元8-化合物1。

【請求項106】 如請求項69所述之連接子-有效載荷靶合物，其中該連接子包含式 (II)-Val-Cit-pABC-單元11部分。

【請求項107】 如請求項69所述之連接子-有效載荷靶合物，其中該連接子包含Mal-式 (II)-Val-Cit-pABC-單元11部分。

【請求項108】 如請求項69所述之連接子-有效載荷靶合物，其中該L-D包含Mal-式 (II)-Val-Cit-pABC-單元11-化合物1。

【請求項109】 如請求項69所述之連接子-有效載荷軛合物，其中該連接子包含式 (II)-Val-Cit-pABC-單元9部分。

【請求項110】 如請求項69所述之連接子-有效載荷軛合物，其中該連接子包含Mal-式 (II)-Val-Cit-pABC-單元9部分。

【請求項111】 如請求項69所述之連接子-有效載荷軛合物，其中該L-D包含Mal-式 (II)-Val-Cit-pABC-單元9-化合物1。

【請求項112】 如請求項70所述之連接子-有效載荷軛合物，其中該連接子包含式 (II)-Val-Ala-pABC。

【請求項113】 如請求項70所述之連接子-有效載荷軛合物，其中該連接子包含式 (II)-Val-Ala-pABC-MEC部分。

【請求項114】 如請求項70所述之連接子-有效載荷軛合物，其中該連接子包含Mal-式 (II)-Val-Ala-pABC-MEC部分。

【請求項115】 如請求項70所述之連接子-有效載荷軛合物，其中該L-D包含Mal-式 (II)-Val-Ala-pABC-MEC-化合物1。

【請求項116】 如請求項70所述之連接子-有效載荷軛合物，其中該連接子包含式 (II)-Val-Ala-pABC-單元8部分。

【請求項117】 如請求項70所述之連接子-有效載荷軛合物，其中該連接子包含Mal-式 (II)-Val-Ala-pABC-單元8部分。

【請求項118】 如請求項70所述之連接子-有效載荷軛合物，其中該L-D包含Mal-式 (II)-Val-Ala-pABC-單元8-化合物1。

【請求項119】 如請求項70所述之連接子-有效載荷軛合物，其中該連接子包含式 (II)-Val-Ala-pABC-單元11部分。

【請求項120】 如請求項70所述之連接子-有效載荷軛合物，其中該連接子包含Mal-式 (II)-Val-Ala-pABC-單元11部分。

【請求項121】 如請求項70所述之連接子-有效載荷軛合物，其中該L-D包含Mal-式 (II)-Val-Ala-pABC-單元11-化合物1。

【請求項122】 如請求項70所述之連接子-有效載荷軛合物，其中該連接子包含式 (II)-Val-Ala-pABC-單元9部分。

【請求項123】 如請求項70所述之連接子-有效載荷軛合物，其中該連接子包含Mal-式 (II)-Val-Ala-pABC-單元9部分。

【請求項124】 如請求項70所述之連接子-有效載荷軛合物，其中該L-D包含Mal-式 (II)-Val-Ala-pABC-單元9-化合物1。

【請求項125】 如請求項69所述之連接子-有效載荷軛合物，其中該連接子包含式 (II)-Val-Cit-pAB。

【請求項126】 如請求項69所述之連接子-有效載荷軛合物，其中該連接子包含式 (II)-Val-Cit-pAB-單元9部分。

【請求項127】 如請求項69所述之連接子-有效載荷軛合物，其中該連接子包含Mal-式 (II)-Val-Cit-pAB。

【請求項128】 如請求項69所述之連接子-有效載荷軛合物，其中該連接子包含Mal-式 (II)-Val-Cit-pAB-單元9部分。

【請求項129】 如請求項69所述之連接子-有效載荷軛合物，其中該L-D包含Mal-式 (II)-Val-Cit-pAB-單元9-化合物1。

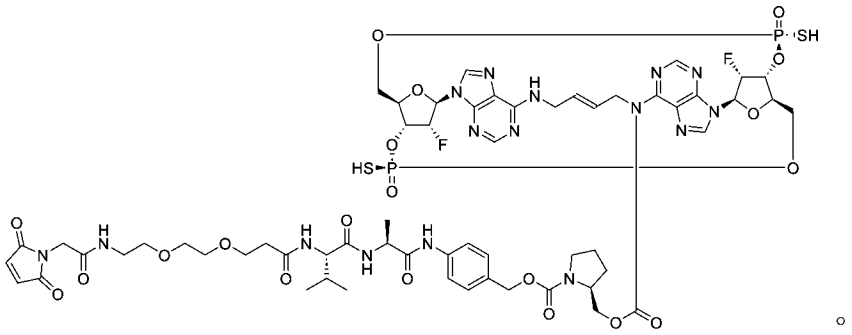
【請求項130】 如請求項70所述之連接子-有效載荷軛合物，其中該連接子包含式 (II)-Val-Ala-pAB。

【請求項131】 如請求項70所述之連接子-有效載荷軛合物，其中該連接子包含式 (II)-Val-Ala-pAB-單元9部分。

【請求項132】 如請求項70所述之連接子-有效載荷軛合物，其中該連接子包含Mal-式 (II)-Val-Ala-pAB。

【請求項133】 如請求項70所述之連接子-有效載荷靶合物，其中該連接子包含Mal-式 (II)-Val-Ala-pAB-單元9部分。

【請求項134】 如請求項11所述之連接子-有效載荷靶合物，其中該L-D包含LP25：



。

【請求項135】 如請求項69所述之連接子-有效載荷靶合物，其中該連接子包含式 (II)-Val-Cit-pAB-單元11部分。

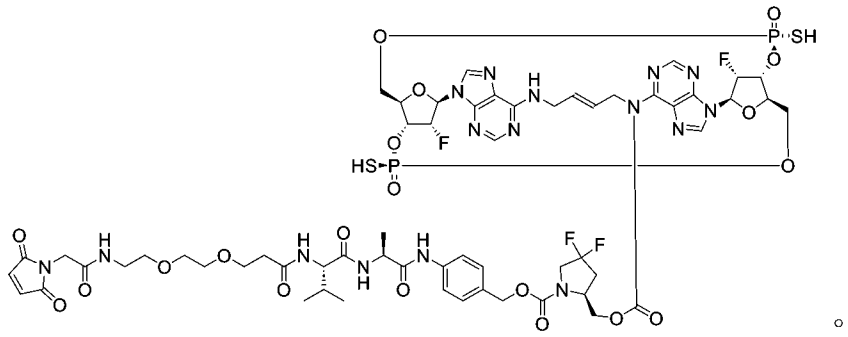
【請求項136】 如請求項69所述之連接子-有效載荷靶合物，其中該連接子包含Mal-式 (II)-Val-Cit-pAB-單元11部分。

【請求項137】 如請求項69所述之連接子-有效載荷靶合物，其中該L-D包含Mal-式 (II)-Val-Cit-pAB-單元11-化合物1。

【請求項138】 如請求項70所述之連接子-有效載荷靶合物，其中該連接子包含式 (II)-Val-Ala-pAB-單元11部分。

【請求項139】 如請求項70所述之連接子-有效載荷靶合物，其中該連接子包含Mal-式 (II)-Val-Ala-pAB-單元11部分。

【請求項140】 如請求項11所述之連接子-有效載荷靶合物，其中該L-D包含LP26：



。

【請求項141】 一種具有式 (I) 的抗體-藥物軛合物：

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

其中Ab係如請求項1至8中任一項所述之抗PSMA抗體或其抗原結合片段；

L-D係如請求項11至140中任一項所述之連接子-有效載荷軛合物；並且

*p*係1至20的整數。

【請求項142】 如請求項141所述之抗體-藥物軛合物，其中*p*係1至12的整數，較佳的是其中*p*係2至8的整數。

【請求項143】 如請求項141或請求項142所述之抗體-藥物軛合物，其中*p*係2至4的整數。

【請求項144】 如請求項141至143中任一項所述之抗體-藥物軛合物，其中該連接子包含可切割部分，該可切割部分的位置使得在切割時該連接子或者該抗體或抗原結合片段的任何部分不與D保持結合。

【請求項145】 如請求項141至144中任一項所述之抗體-藥物軛合物，其中該連接子-有效載荷軛合物藉由Mal部分與該抗體或抗原結合片段附接，其中該Mal部分藉由該抗體或抗原結合片段上的半胱胺酸殘基與該抗體或抗原結合片段接合。

【請求項146】 如請求項145所述之抗體-藥物軛合物，其中該半胱胺酸殘基位於該抗體或抗原結合片段的輕鏈上。

【請求項147】 如請求項145所述之抗體-藥物軛合物，其中該半胱胺酸殘基位於該抗體或抗原結合片段的重鏈上。

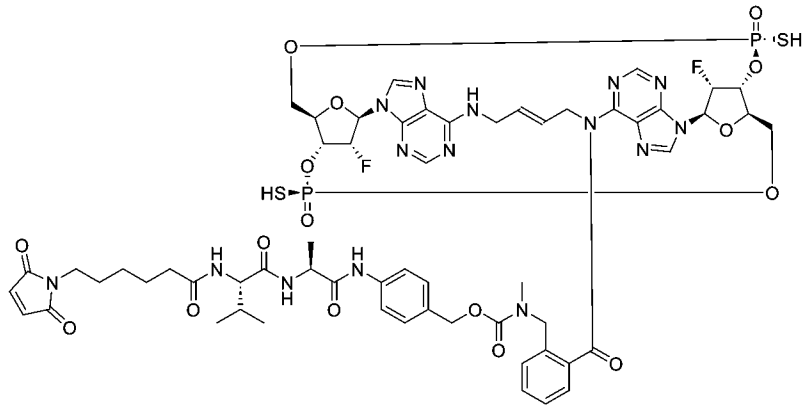
【請求項148】 如請求項141至147中任一項所述之抗體-藥物軛合物，其中該抗體或抗原結合片段包含三個HCDR，其包含以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 21（HCDR1）、SEQ ID NO: 22（HCDR2）和SEQ ID NO: 27（HCDR3）；以及三個LCDR，其包含以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 32（LCDR1）、SEQ ID NO: 35（LCDR2）和SEQ ID NO: 37（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的。

【請求項149】 如請求項141至147中任一項所述之抗體-藥物軛合物，其中該抗體或抗原結合片段包含三個HCDR，其包含以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 28（HCDR1）、SEQ ID NO: 29（HCDR2）和SEQ ID NO: 30（HCDR3）；以及三個LCDR，其包含以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 38（LCDR1）、SEQ ID NO: 39（LCDR2）和SEQ ID NO: 37（LCDR3），如由IMGT編號系統所定義的。

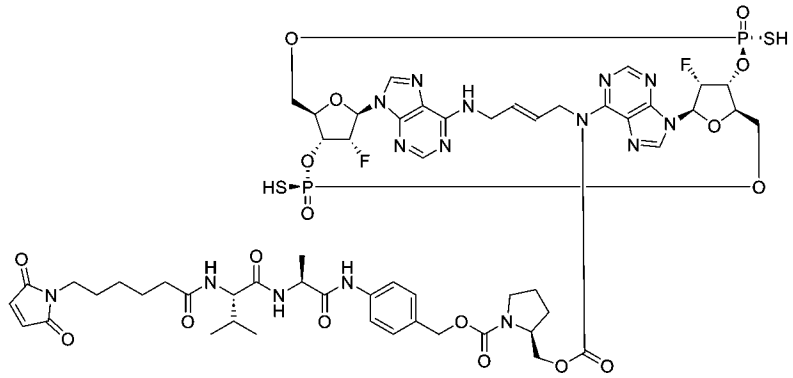
【請求項150】 如請求項148或請求項149所述之抗體-藥物軛合物，其中該抗體或抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 14的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 19的胺基酸序列的輕鏈可變區。

【請求項151】 如請求項141至150中任一項所述之抗體-藥物軛合物，其中L-D包含LP16、LP20、LP26或LP28。

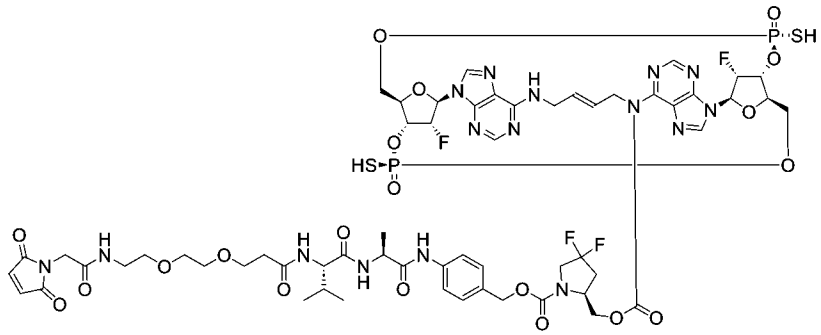
【請求項152】 如請求項141至151中任一項所述之抗體-藥物軛合物，其中該L-D包含LP16：



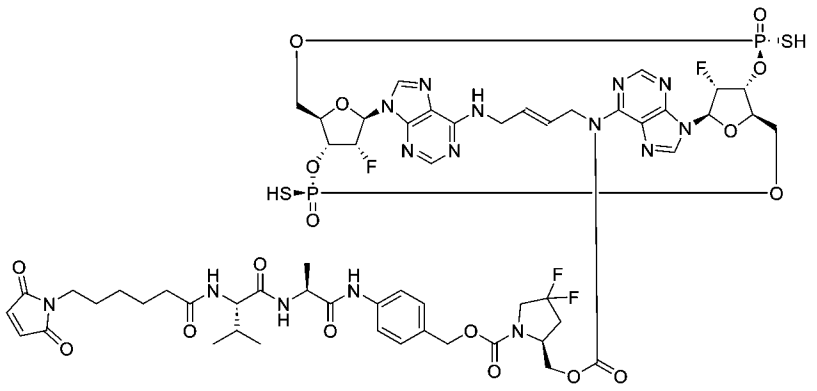
【請求項153】如請求項141至151中任一項所述之抗體-藥物軛合物，其中該L-D包含LP20：



【請求項154】如請求項141至151中任一項所述之抗體-藥物軛合物，其中該L-D包含LP26：



【請求項155】如請求項141至151中任一項所述之抗體-藥物軛合物，其中該L-D包含LP28：



。

【請求項156】 一種藥物組成物，其包含如請求項1至10中任一項所述之抗體或抗原結合片段、如請求項11-140中任一項所述之連接子-有效載荷軛合物、或如請求項141-155中任一項所述之抗體-藥物軛合物，以及藥學上可接受的載劑。

【請求項157】 一種組成物，其包含多個拷貝的具有式 (I) 的抗體-藥物軛合物：

$Ab\text{-}(L\text{-}D)_p$ (I)

其中

Ab係如請求項1至8中任一項所述之抗PSMA抗體或其抗原結合片段；

L-D係如請求項11至140中任一項所述之連接子-有效載荷軛合物；並且

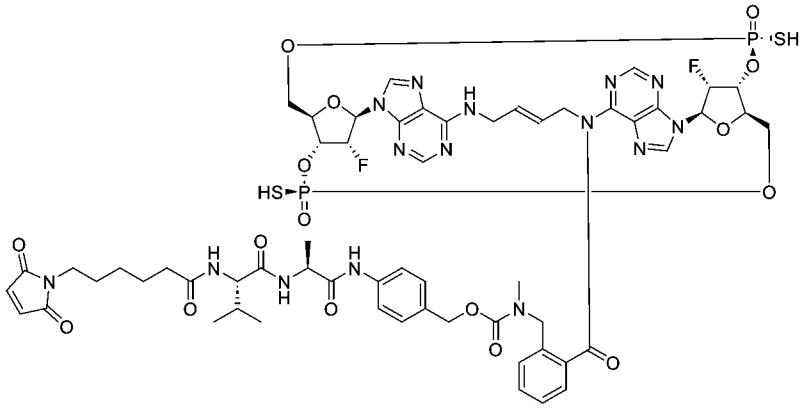
*p*係每個Ab的L-D部分的平均數量，其中該組成物中該等抗體-藥物軛合物的平均p係約2至約8。

【請求項158】 如請求項157所述之組成物，其中

該抗體或抗原結合片段包含三個HCDR，其包含以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 21（HCDR1）、SEQ ID NO: 22（HCDR2）和SEQ ID NO: 27（HCDR3）；以及三個LCDR，其包含SEQ ID NO: 32（LCDR1）、SEQ ID NO: 35（LCDR2）和SEQ ID NO: 37（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的；或三個HCDR，其包含以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 28（HCDR1）、SEQ ID NO: 29（HCDR2）和SEQ ID NO: 30（HCDR3）；以及三個LCDR，其包含SEQ ID

NO: 38（LCDR1）、SEQ ID NO: 39（LCDR2）和SEQ ID NO: 37（LCDR3），如由IMGT編號系統所定義的；並且

該L-D包含LP16：

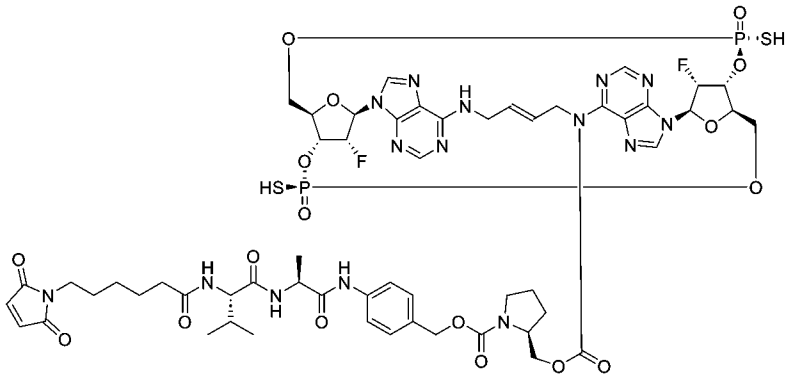


。

【請求項159】如請求項157所述之組成物，其中

該抗體或抗原結合片段包含三個HCDR，其包含以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 21（HCDR1）、SEQ ID NO: 22（HCDR2）和SEQ ID NO: 27（HCDR3）；以及三個LCDR，其包含SEQ ID NO: 32（LCDR1）、SEQ ID NO: 35（LCDR2）和SEQ ID NO: 37（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的；或三個HCDR，其包含以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 28（HCDR1）、SEQ ID NO: 29（HCDR2）和SEQ ID NO: 30（HCDR3）；以及三個LCDR，其包含SEQ ID NO: 38（LCDR1）、SEQ ID NO: 39（LCDR2）和SEQ ID NO: 37（LCDR3），如由IMGT編號系統所定義的；並且

該L-D包含LP20：

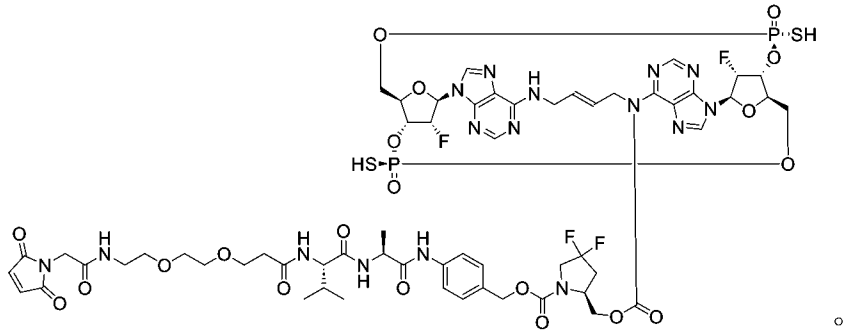


。

【請求項160】 如請求項157所述之組成物，其中

該抗體或抗原結合片段包含三個HCDR，其包含以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 21（HCDR1）、SEQ ID NO: 22（HCDR2）和SEQ ID NO: 27（HCDR3）；以及三個LCDR，其包含SEQ ID NO: 32（LCDR1）、SEQ ID NO: 35（LCDR2）和SEQ ID NO: 37（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的；或三個HCDR，其包含以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 28（HCDR1）、SEQ ID NO: 29（HCDR2）和SEQ ID NO: 30（HCDR3）；以及三個LCDR，其包含SEQ ID NO: 38（LCDR1）、SEQ ID NO: 39（LCDR2）和SEQ ID NO: 37（LCDR3），如由IMGT編號系統所定義的；並且

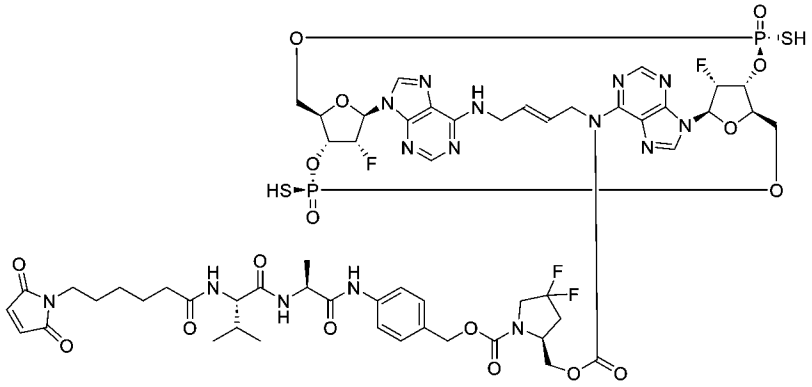
該L-D包含LP26：



【請求項161】 如請求項157所述之組成物，其中

該抗體或抗原結合片段包含三個HCDR，其包含以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 21（HCDR1）、SEQ ID NO: 22（HCDR2）和SEQ ID NO: 27（HCDR3）；以及三個LCDR，其包含SEQ ID NO: 32（LCDR1）、SEQ ID NO: 35（LCDR2）和SEQ ID NO: 37（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的；或三個HCDR，其包含以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 28（HCDR1）、SEQ ID NO: 29（HCDR2）和SEQ ID NO: 30（HCDR3）；以及三個LCDR，其包含SEQ ID NO: 38（LCDR1）、SEQ ID NO: 39（LCDR2）和SEQ ID NO: 37（LCDR3），如由IMGT編號系統所定義的；並且

該L-D包含LP28：



。

【請求項162】 如請求項157至161中任一項所述之組成物，其中該抗體或抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 14的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 19的胺基酸序列的輕鏈可變區。

【請求項163】 一種治療患有癌症或有患癌症風險的患者之方法，該方法包括向該患者投與治療有效量的如請求項1至10中任一項所述之抗體或抗原結合片段、如請求項11至140中任一項所述之連接子-有效載荷軛合物、如請求項141至155中任一項所述之抗體-藥物軛合物、如請求項156所述之藥物組成物、或如請求項157至162中任一項所述之組成物。

【請求項164】 一種減少或抑制癌症生長之方法，該方法包括投與治療有效量的如請求項1至10中任一項所述之抗體或抗原結合片段、如請求項11至140中任一項所述之連接子-有效載荷軛合物、如請求項141至155中任一項所述之抗體-藥物軛合物、如請求項156所述之藥物組成物、或如請求項157至162中任一項所述之組成物。

【請求項165】 一種如請求項1至10中任一項所述之抗體或抗原結合片段、如請求項11至140中任一項所述之連接子-有效載荷軛合物、如請求項141至155中任一項所述之抗體-藥物軛合物、如請求項156所述之藥物組成物、或如請求項157至162中任一項所述之組成物在製造用於治療癌症的藥物中之用途。

〔請求項166〕 一種如請求項1至10中任一項所述之抗體或抗原結合片段、如請求項11至140中任一項所述之連接子-有效載荷物化合物、如請求項141至155中任一項所述之抗體-藥物物化合物、如請求項156所述之藥物組成物、或如請求項157至162中任一項所述之組成物在治療癌症中之用途。

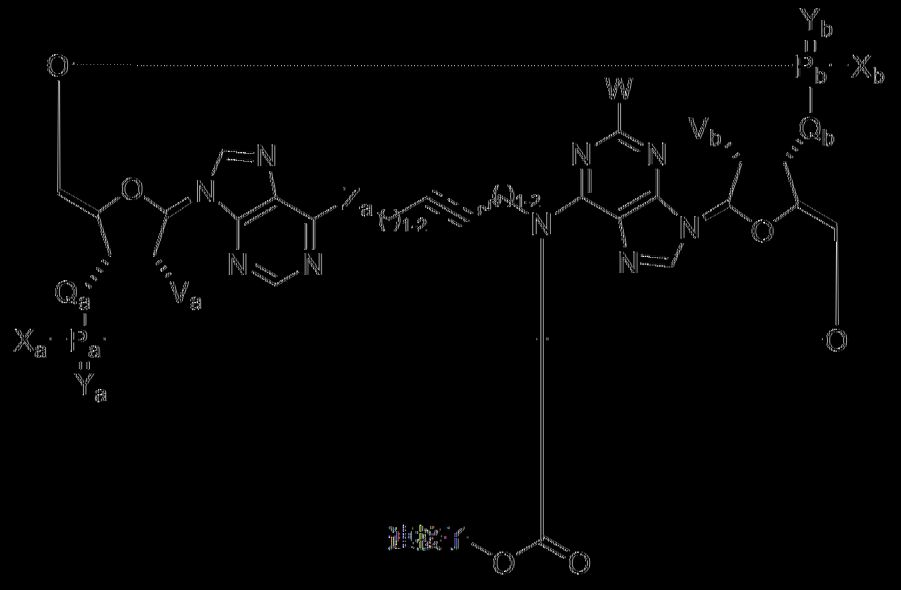
〔請求項167〕 一種如請求項163或請求項164所述之方法或者如請求項165或請求項166所述之用途，其中該癌症表現PSMA。

〔請求項168〕 一種如請求項163或請求項164所述之方法或者如請求項165或請求項166所述之用途，其中該癌症係前列腺癌。

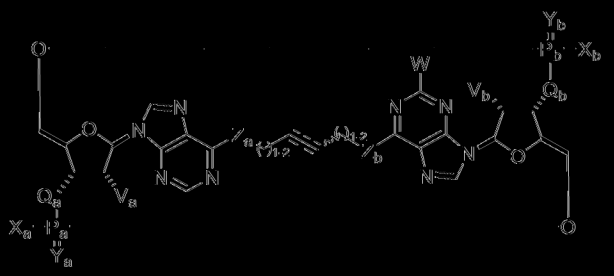
〔請求項169〕 一種產生如請求項141至155中任一項所述之抗體-藥物物化合物或如請求項157至162中任一項所述之組成物之方法，該方法包括使如請求項1至8中任一項所述之抗體或抗原結合片段與如請求項11至140中任一項所述之連接子-有效載荷物化合物反應。

〔請求項170〕 一種抗體-藥物物化合物，其根據如請求項169所述之方法產生。

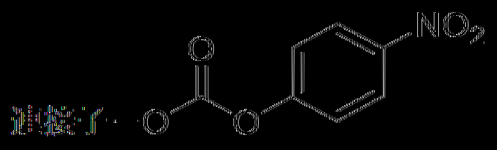
〔請求項171〕 一種產生LD物化合物 (V) 之方法：



該方法包括使請求項11的具有式 (III) 的化合物：



或其鹽與汙生連接子反應，該汙生連接子包含具有以下結構的合適連接子：



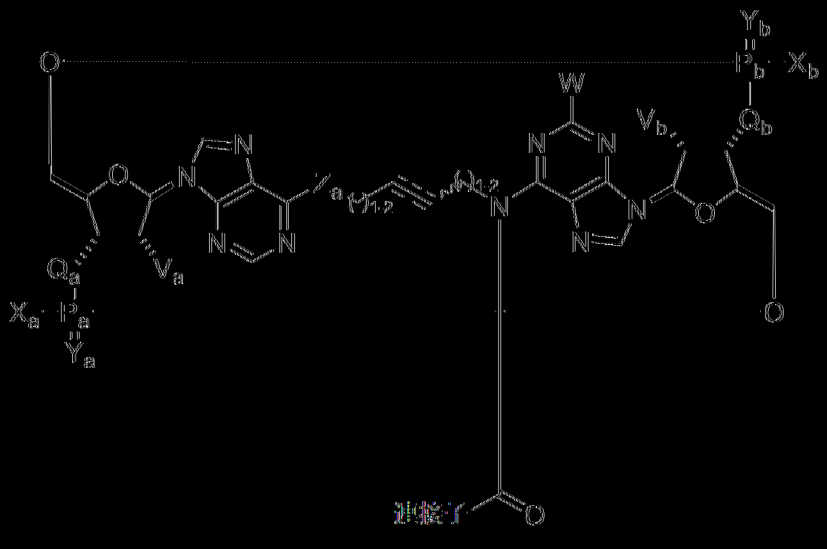
，

以產生該LD軛合物(V)，

其中Y_b係NH。

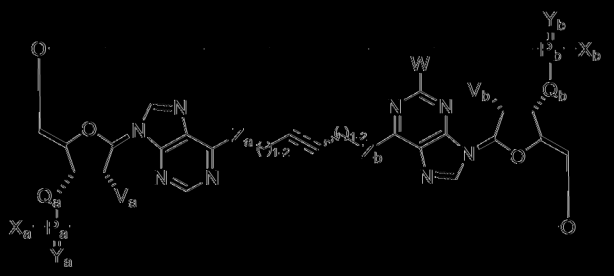
〔請求項172〕如請求項171所述之方法，其中P_b具有(S)組態，並且該汙生連接子優先與Y_b反應。

〔請求項173〕一種產生LD軛合物(VI)之方法：

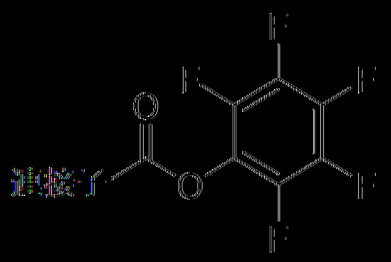


，

該方法包括使請求項11的具有式(III)的化合物：



或其鹽與活化連接子反應，該活化連接子包含具有以下結構的合適連接子：



，

以產生該LAD軛合物(VI)，

其中Z_b係NH。

〔請求項174〕如請求項173所述之方法，其中P_b具有(S)組態，並且該活化連接子優先與Z_b反應。

〔請求項175〕如請求項171至174中任一項所述之方法，其中該具有式(III)的化合物係化合物1。

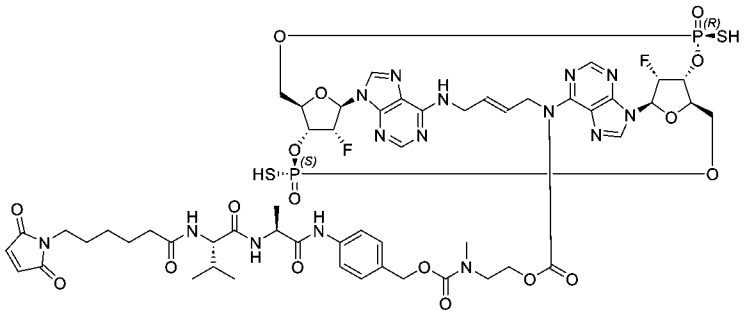
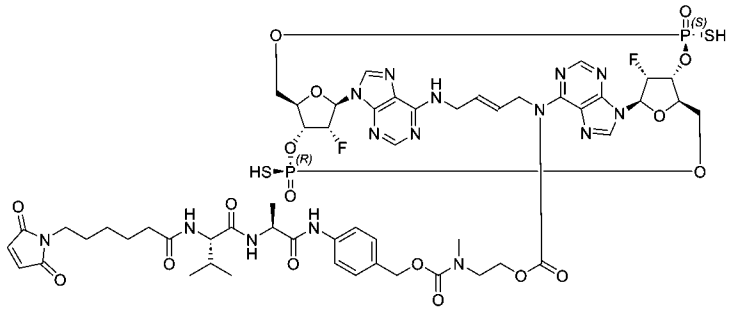
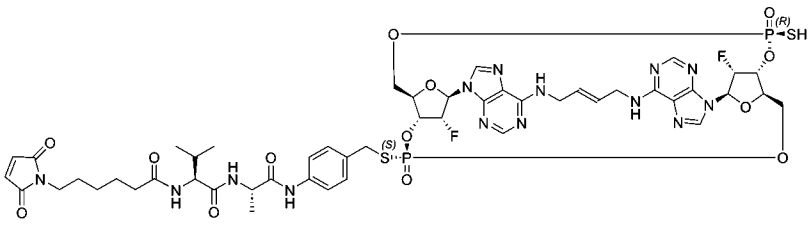
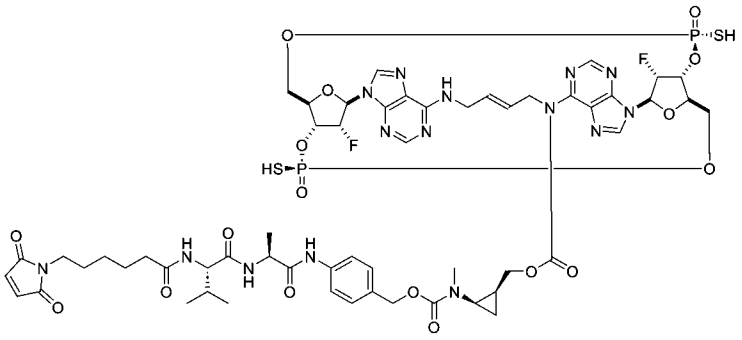
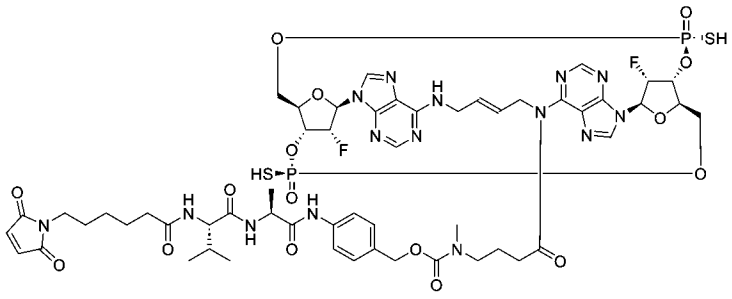
〔請求項176〕一種連接子-藥物軛合物，其藉由如請求項171至175中任一項所述之方法產生。

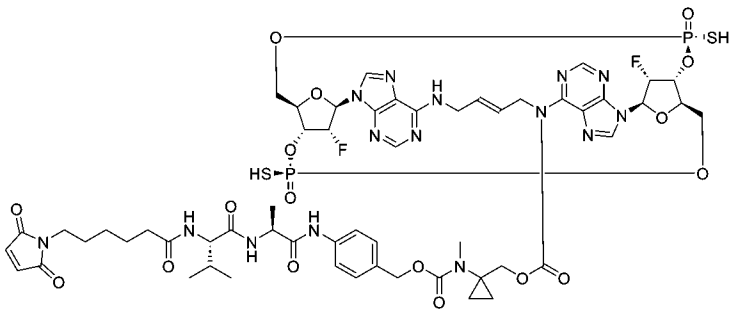
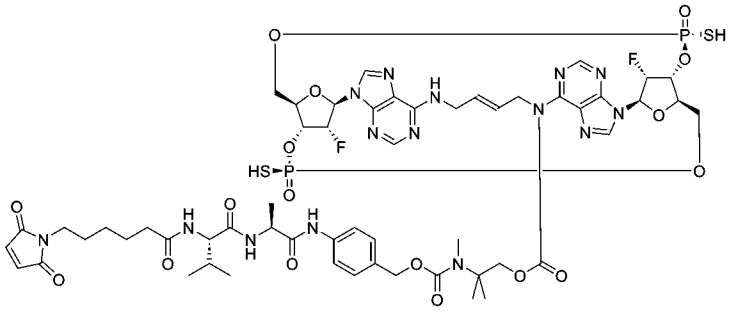
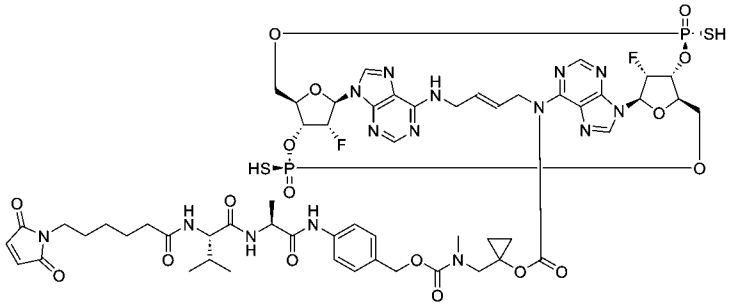
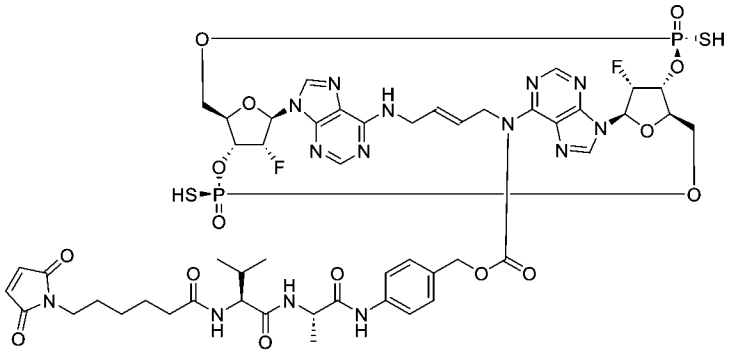
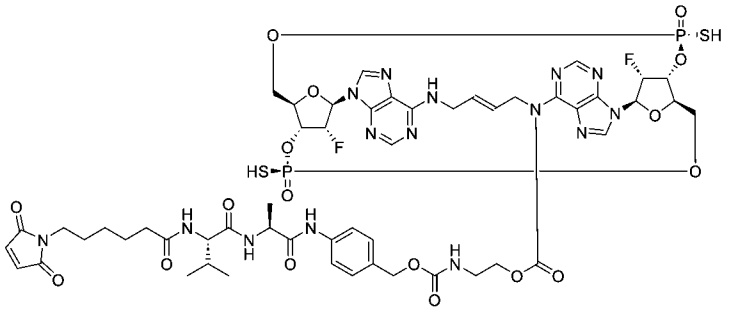
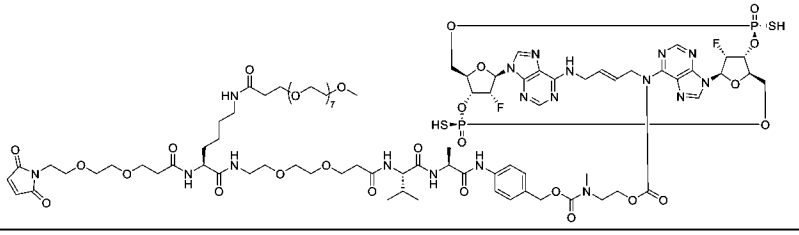
〔請求項177〕一種產生抗體-藥物軛合物之方法，其中該方法包括在適合附接的條件下將如請求項1至8中任一項所述之抗體或抗原結合片段與如請求項11至140中任一項所述之LAD軛合物軛合。

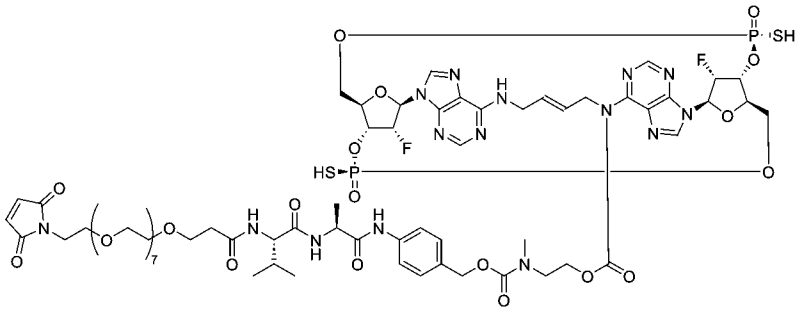
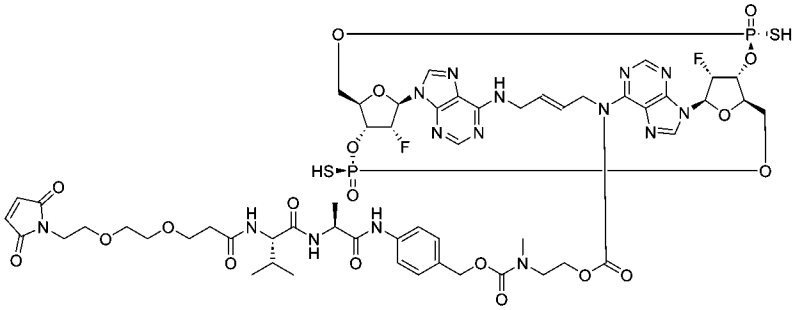
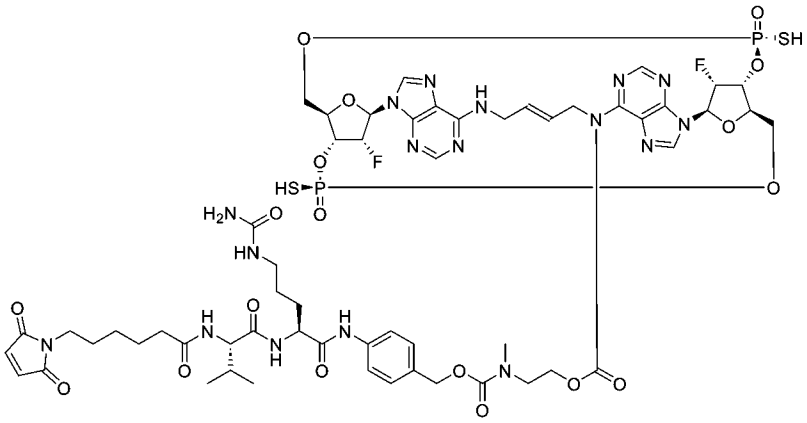
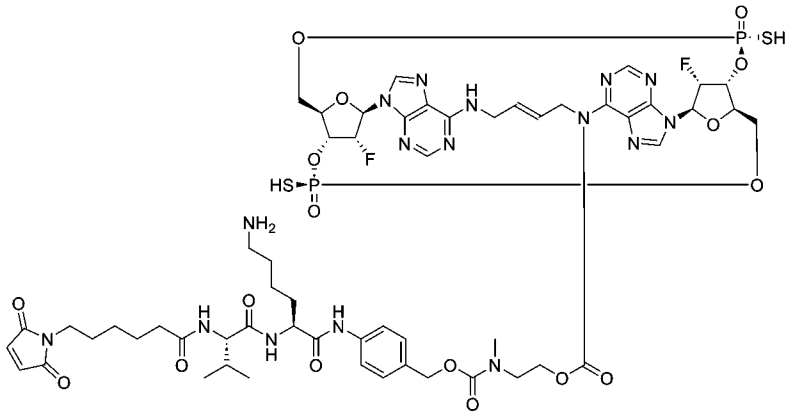
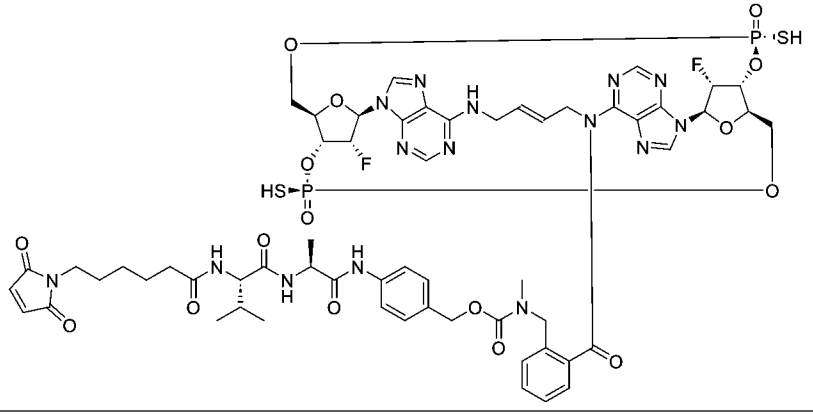
〔請求項178〕一種組成物，其包含如請求項11至140中任一項所述之連接子-有效載荷軛合物。

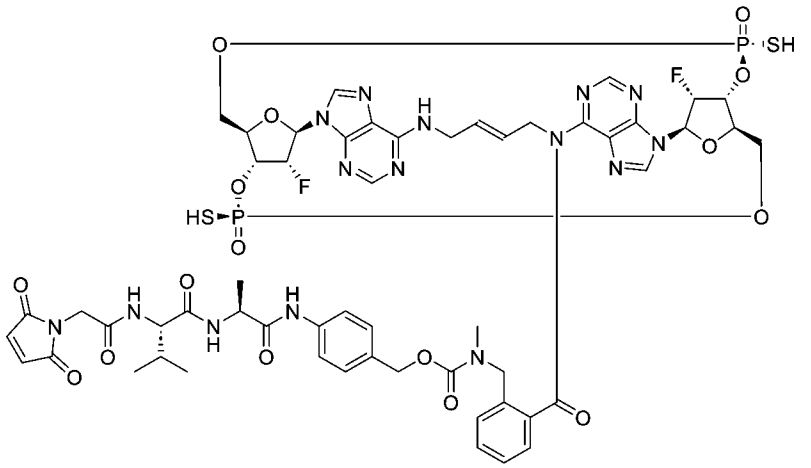
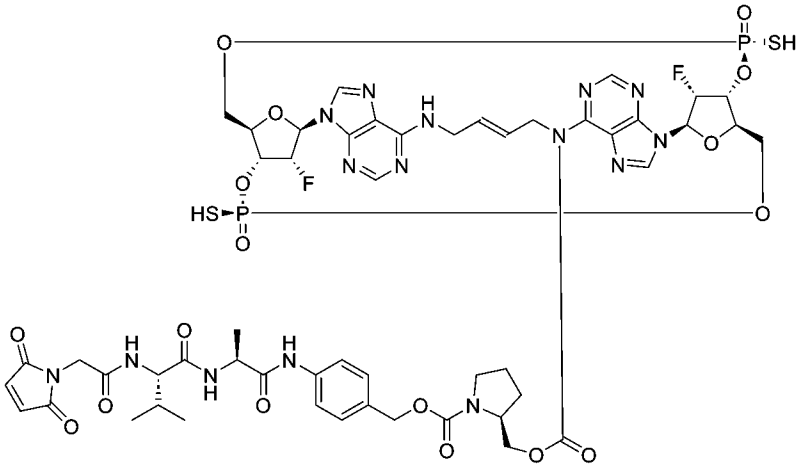
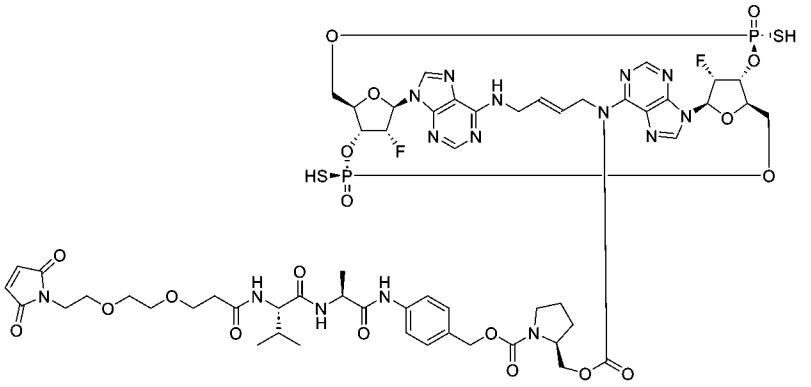
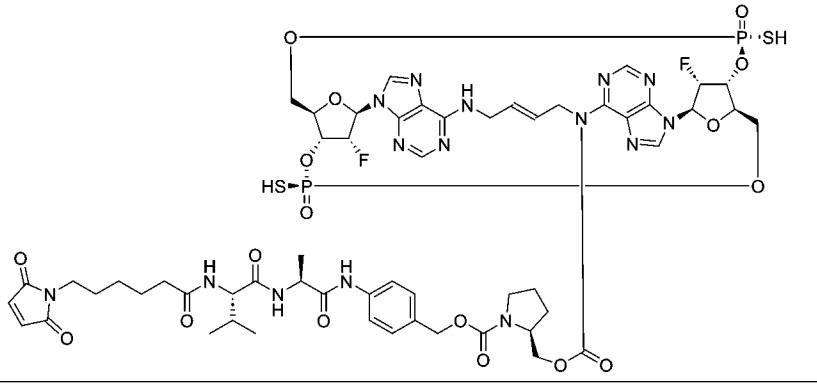
〔請求項179〕一種組成物，其包含根據如請求項171至175中任一項所述之方法產生的連接子-有效載荷軛合物。

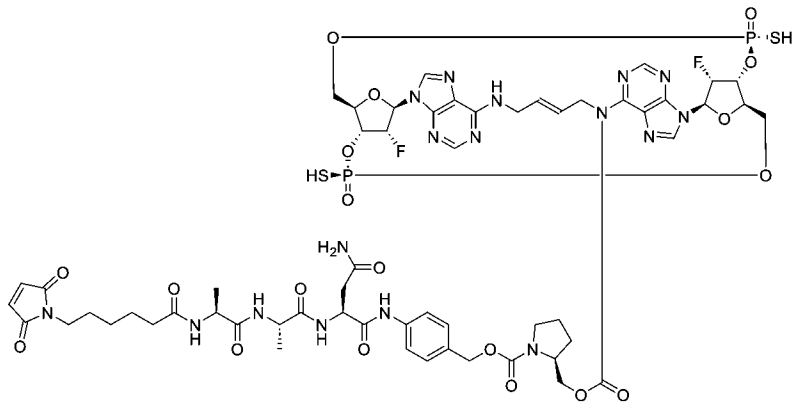
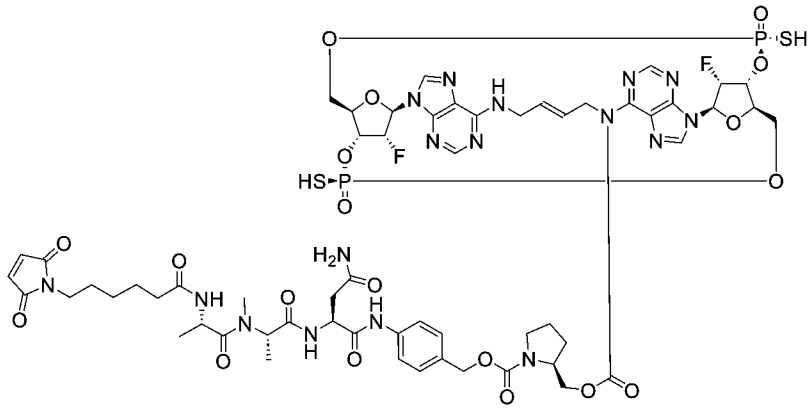
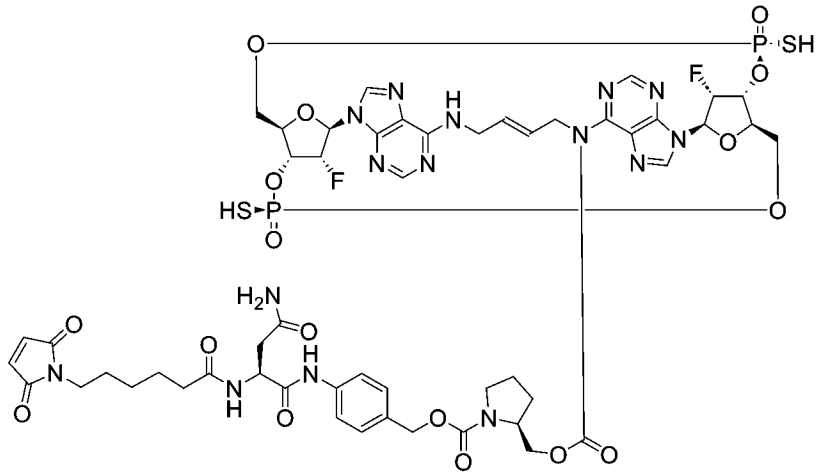
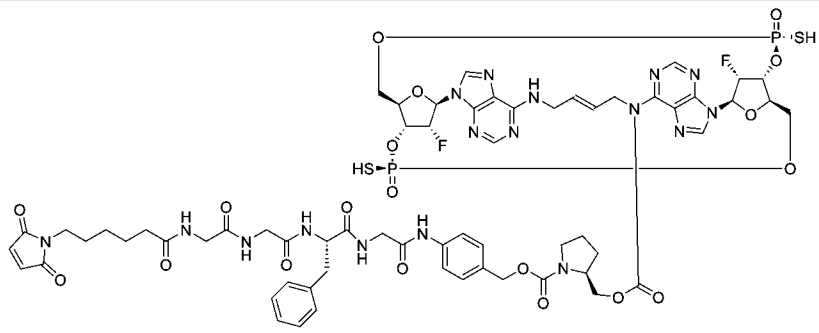
【請求項180】 如請求項11所述之連接子-有效載荷靶合物，其中該連接子-有效載荷靶合物選自以下連接子-有效載荷靶合物：

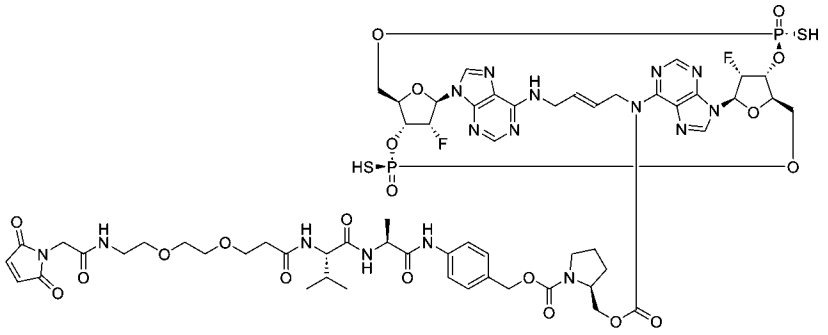
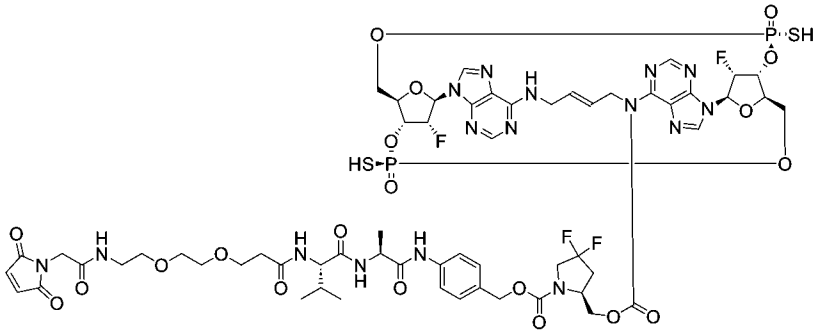
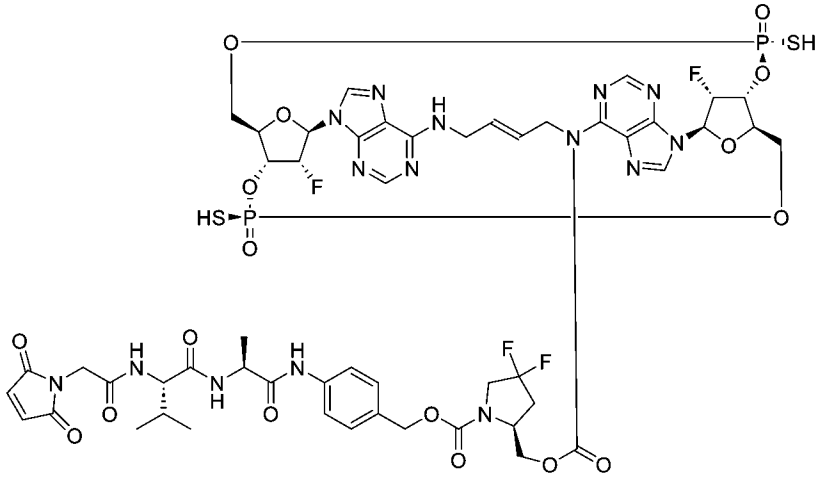
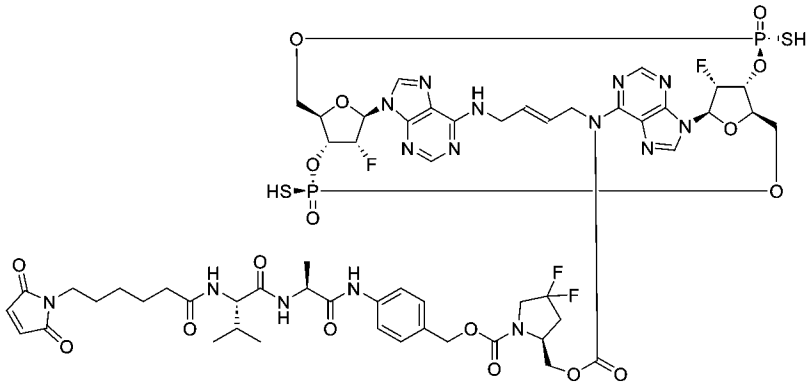
LP1	
LP2	
LP3	
LP4	
LP5	

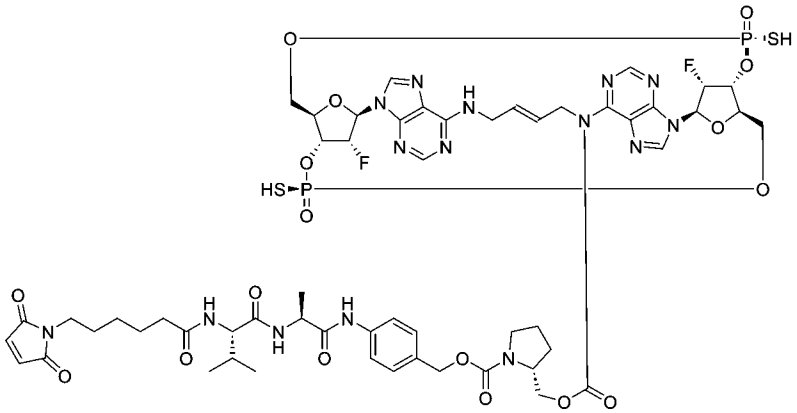
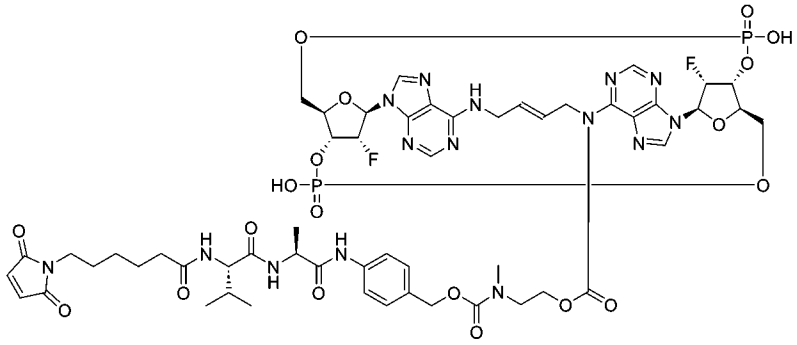
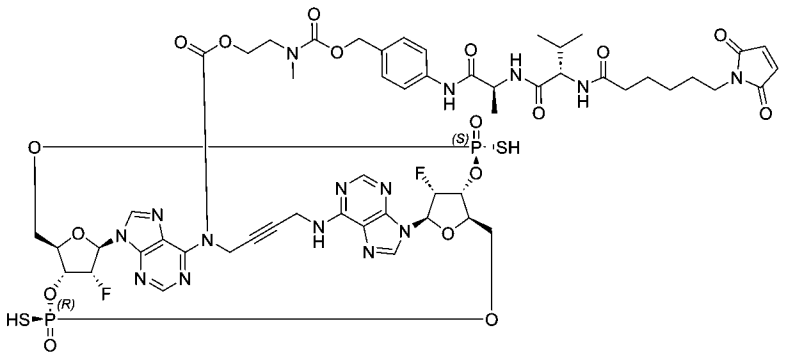
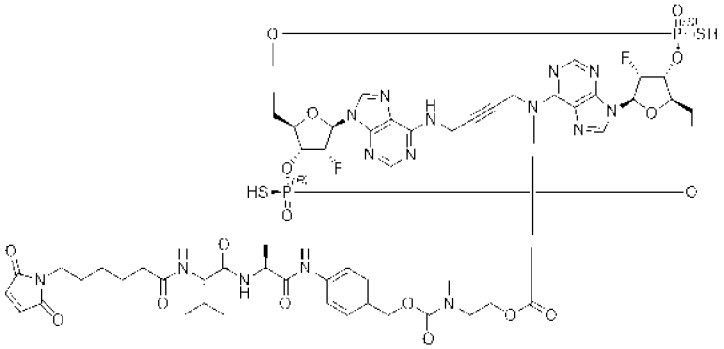
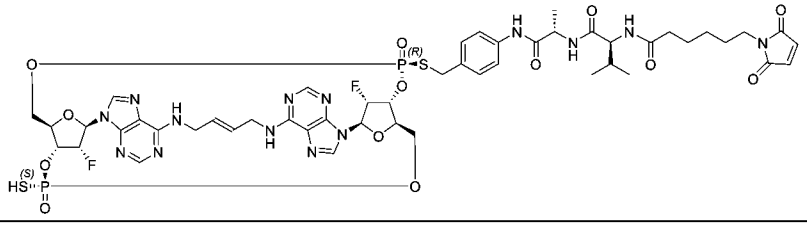
LP6	
LP7	
LP8	
LP9	
LP10	
LP11	

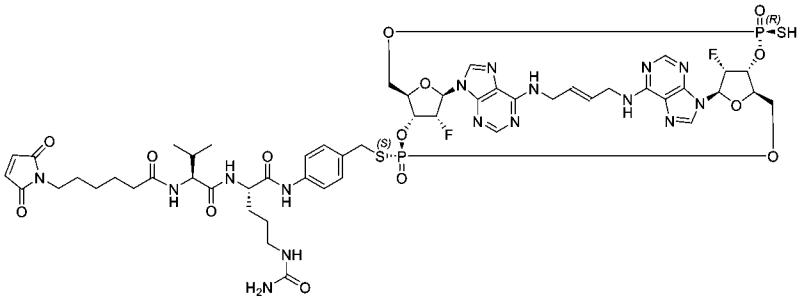
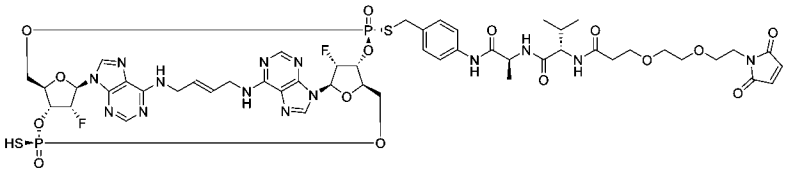
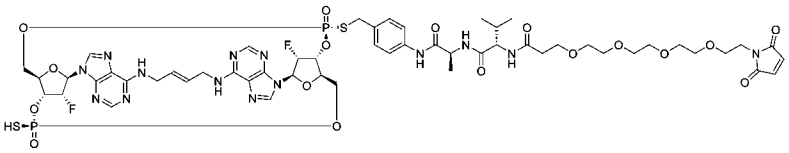
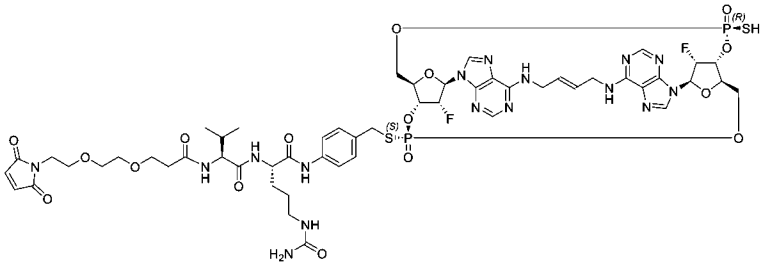
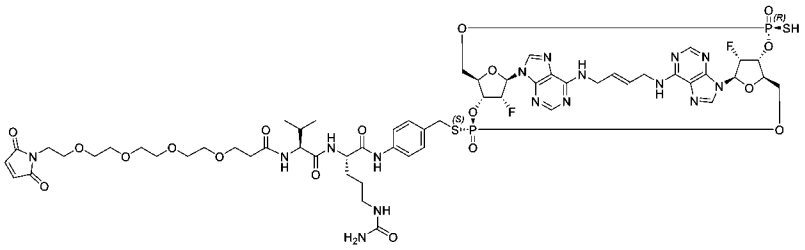
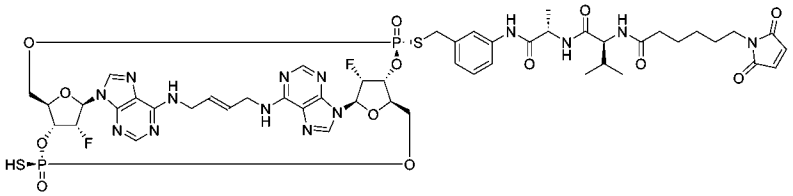
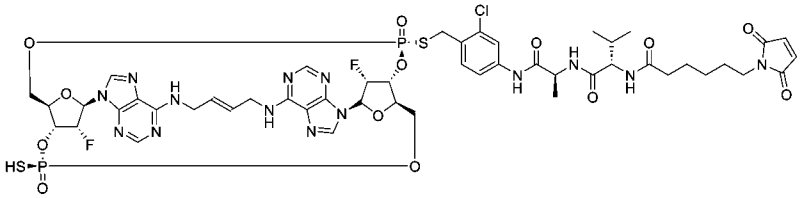
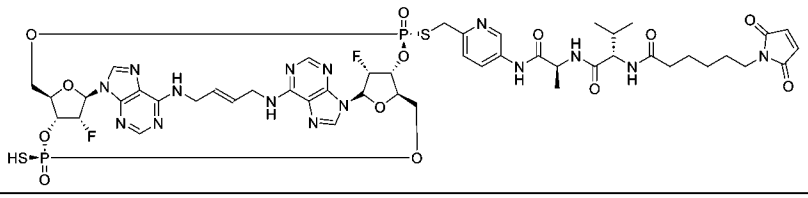
LP12	
LP13	
LP14	
LP15	
LP16	

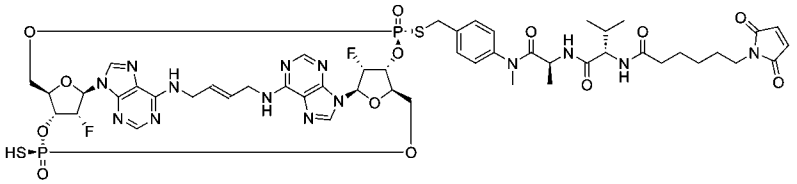
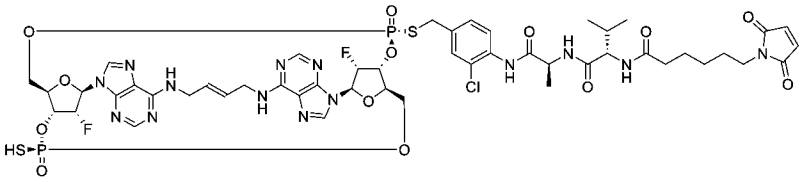
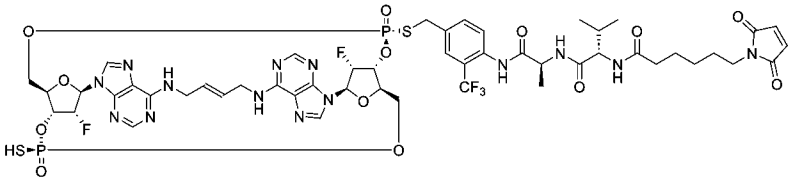
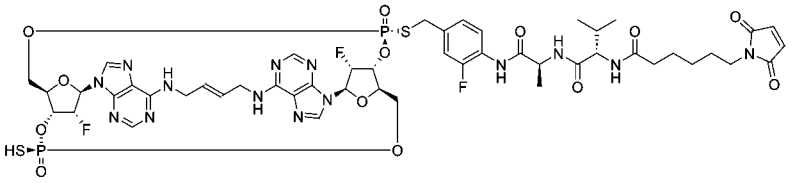
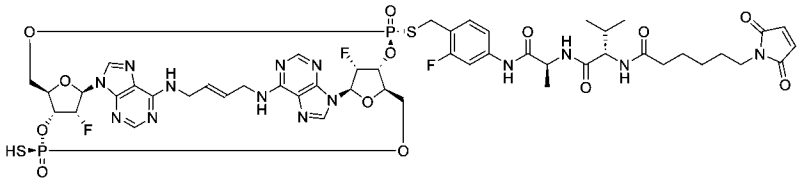
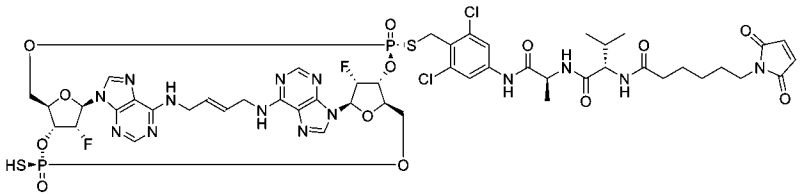
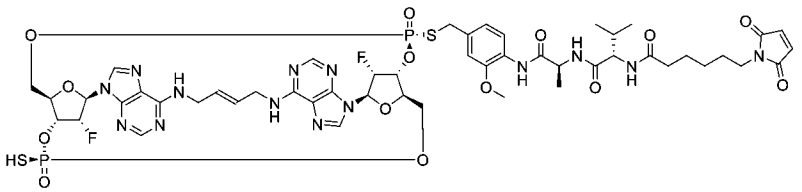
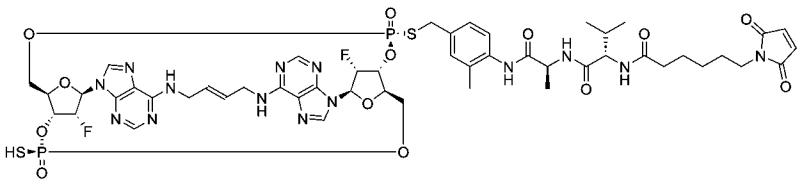
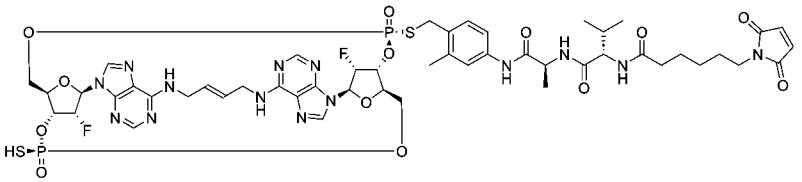
LP17	
LP18	
LP19	
LP20	

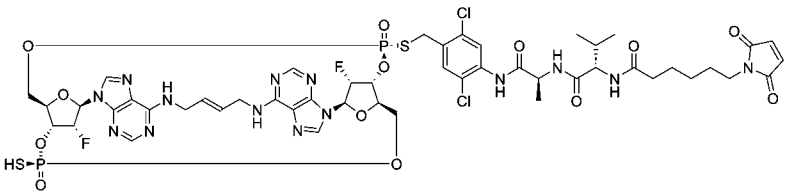
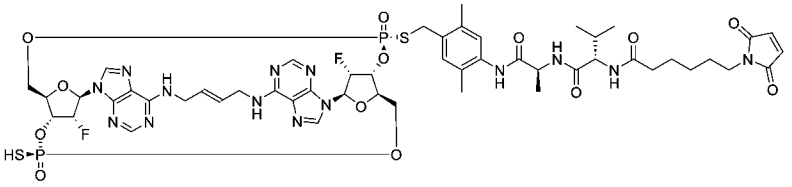
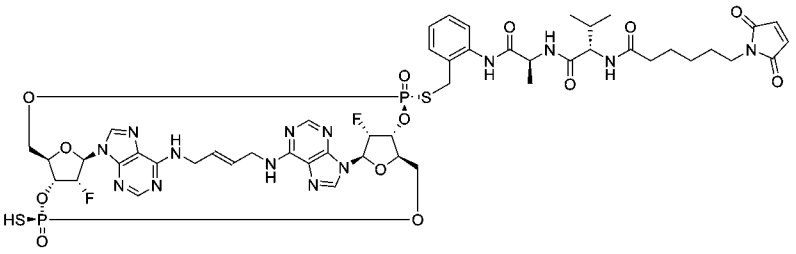
LP21	
LP22	
LP23	
LP24	

LP25	
LP26	
LP27	
LP28	

LP29	
LP30	
LP31	
LP32	
LP33	

LP34	
LP35	
LP36	
LP37	
LP38	
LP39	
LP40	
LP41	

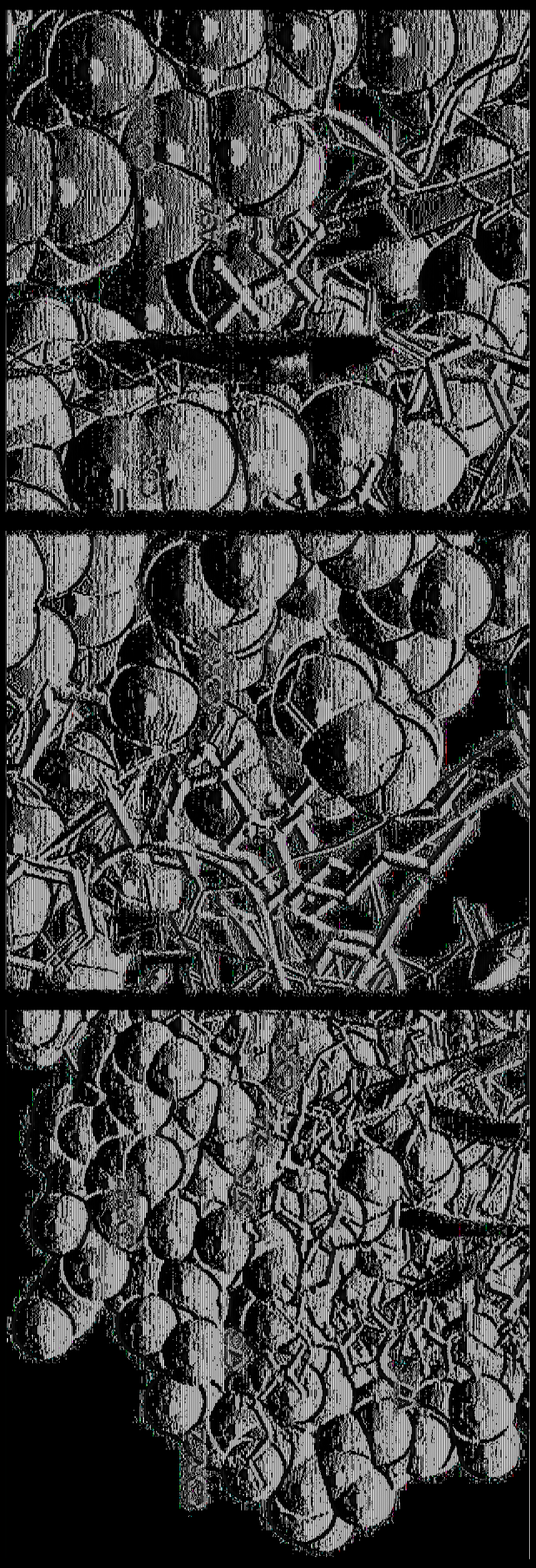
LP42	
LP43	
LP44	
LP45	
LP46	
LP47	
LP48	
LP49	
LP50	

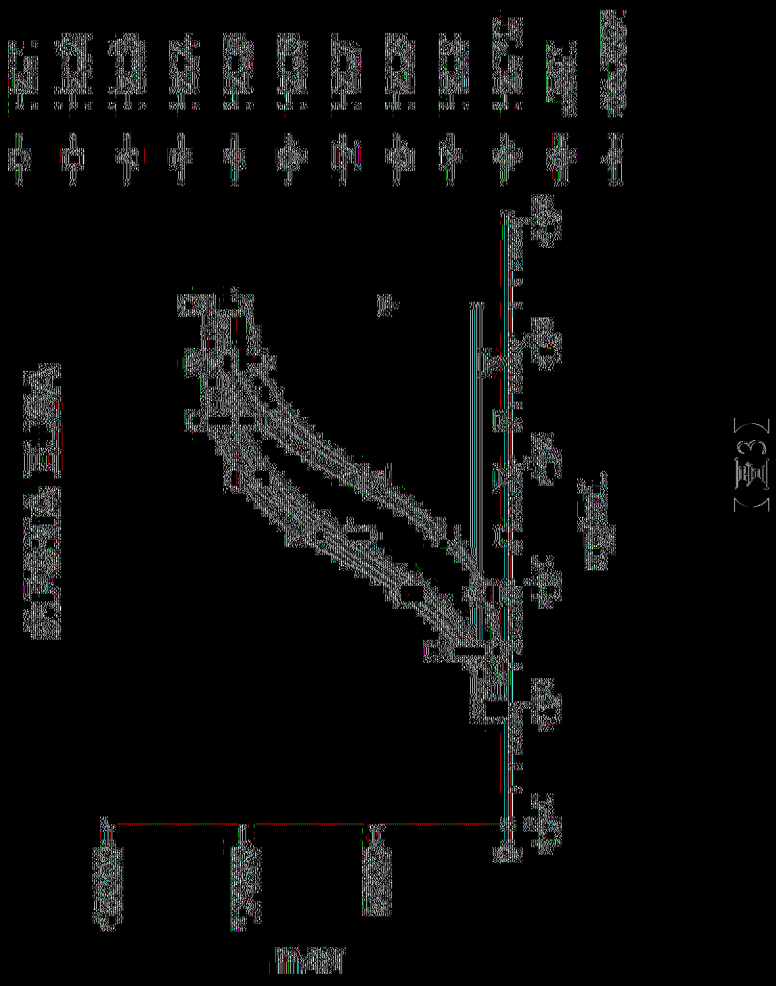
LP51	
LP52	
LP53	

及其鹽。

【發明圖式】

圖 1





100
101
102
103
104
105
106
107
108
109
110
111
112
113
114
115
116
117
118
119
120
121
122
123
124
125
126
127
128
129
130
131
132
133
134
135
136
137
138
139
140

圖 6

圖 1

圖7C1

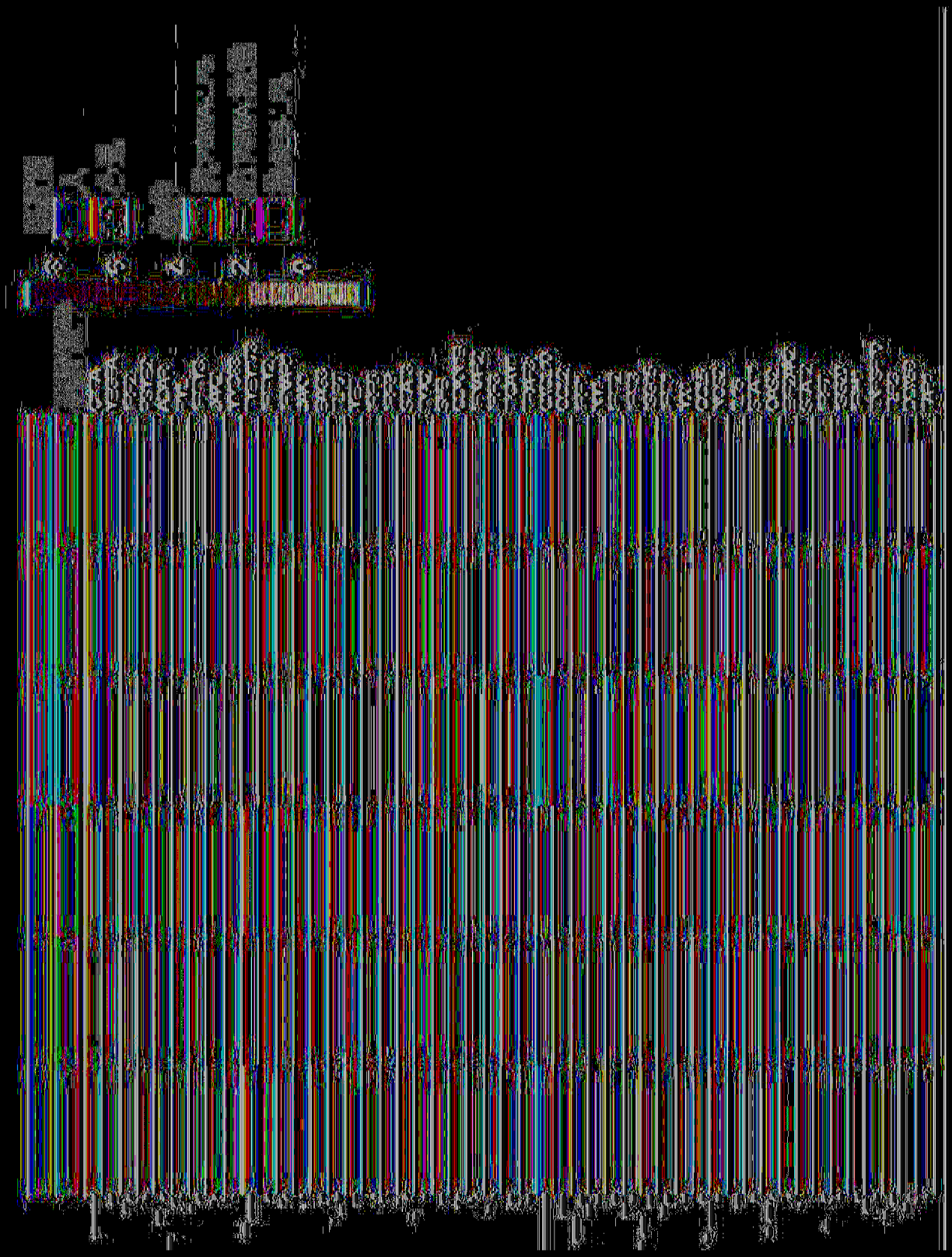
(a)
(b)
(c)
(d)
(e)
(f)
(g)
(h)
(i)
(j)
(k)
(l)
(m)
(n)
(o)
(p)
(q)
(r)
(s)
(t)
(u)
(v)
(w)
(x)
(y)
(z)
(aa)
(ab)
(ac)
(ad)
(ae)
(af)
(ag)
(ah)
(ai)
(aj)
(ak)
(al)
(am)
(an)
(ao)
(ap)
(aq)
(ar)
(as)
(at)
(au)
(av)
(aw)
(ax)
(ay)
(az)
(ba)
(bb)
(bc)
(bd)
(be)
(bf)
(bg)
(bh)
(bi)
(bj)
(bk)
(bl)
(bm)
(bn)
(bo)
(bp)
(bq)
(br)
(bs)
(bt)
(bu)
(bv)
(bw)
(bx)
(by)
(bz)
(ca)
(cb)
(cc)
(cd)
(ce)
(cf)
(cg)
(ch)
(ci)
(cj)
(ck)
(cl)
(cm)
(cn)
(co)
(cp)
(cq)
(cr)
(cs)
(ct)
(cu)
(cv)
(cw)
(cx)
(cy)
(cz)
(da)
(db)
(dc)
(dd)
(de)
(df)
(dg)
(dh)
(di)
(dj)
(dk)
(dl)
(dm)
(dn)
(do)
(dp)
(dq)
(dr)
(ds)
(dt)
(du)
(dv)
(dw)
(dx)
(dy)
(dz)
(ea)
(eb)
(ec)
(ed)
(ee)
(ef)
(eg)
(eh)
(ei)
(ej)
(ek)
(el)
(em)
(en)
(eo)
(ep)
(eq)
(er)
(es)
(et)
(eu)
(ev)
(ew)
(ex)
(ey)
(ez)
(fa)
(fb)
(fc)
(fd)
(fe)
(ff)
(fg)
(fh)
(fi)
(fj)
(fk)
(fl)
(fm)
(fn)
(fo)
(fp)
(fq)
(fr)
(fs)
(ft)
(fu)
(fv)
(fw)
(fx)
(fy)
(fz)
(ga)
(gb)
(gc)
(gd)
(ge)
(gf)
(gg)
(gh)
(gi)
(gj)
(gk)
(gl)
(gm)
(gn)
(go)
(gp)
(gq)
(gr)
(gs)
(gt)
(gu)
(gv)
(gw)
(gx)
(gy)
(gz)
(ha)
(hb)
(hc)
(hd)
(he)
(hf)
(hg)
(hh)
(hi)
(hj)
(hk)
(hl)
(hm)
(hn)
(ho)
(hp)
(hq)
(hr)
(hs)
(ht)
(hu)
(hv)
(hw)
(hx)
(hy)
(hz)
(ia)
(ib)
(ic)
(id)
(ie)
(if)
(ig)
(ih)
(ii)
(ij)
(ik)
(il)
(im)
(in)
(io)
(ip)
(iq)
(ir)
(is)
(it)
(iu)
(iv)
(iw)
(ix)
(iy)
(iz)
(ja)
(jb)
(jc)
(jd)
(je)
(jf)
(jg)
(jh)
(ji)
(jj)
(jk)
(jl)
(jm)
(jn)
(jo)
(jp)
(jq)
(jr)
(js)
(jt)
(ju)
(jv)
(jw)
(jx)
(jy)
(jz)
(ka)
(kb)
(kc)
(kd)
(ke)
(kf)
(kg)
(kh)
(ki)
(kj)
(kk)
(kl)
(km)
(kn)
(ko)
(kp)
(kq)
(kr)
(ks)
(kt)
(ku)
(kv)
(kw)
(kx)
(ky)
(kz)
(la)
(lb)
(lc)
(ld)
(le)
(lf)
(lg)
(lh)
(li)
(lj)
(lk)
(ll)
(lm)
(ln)
(lo)
(lp)
(lq)
(lr)
(ls)
(lt)
(lu)
(lv)
(lw)
(lx)
(ly)
(lz)
(ma)
(mb)
(mc)
(md)
(me)
(mf)
(mg)
(mh)
(mi)
(mj)
(mk)
(ml)
(mm)
(mn)
(mo)
(mp)
(mq)
(mr)
(ms)
(mt)
(mu)
(mv)
(mw)
(mx)
(my)
(mz)
(na)
(nb)
(nc)
(nd)
(ne)
(nf)
(ng)
(nh)
(ni)
(nj)
(nk)
(nl)
(nm)
(nn)
(no)
(np)
(nq)
(nr)
(ns)
(nt)
(nu)
(nv)
(nw)
(nx)
(ny)
(nz)
(oa)
(ob)
(oc)
(od)
(oe)
(of)
(og)
(oh)
(oi)
(oj)
(ok)
(ol)
(om)
(on)
(oo)
(op)
(oq)
(or)
(os)
(ot)
(ou)
(ov)
(ow)
(ox)
(oy)
(oz)
(pa)
(pb)
(pc)
(pd)
(pe)
(pf)
(pg)
(ph)
(pi)
(pj)
(pk)
(pl)
(pm)
(pn)
(po)
(pp)
(pq)
(pr)
(ps)
(pt)
(pu)
(pv)
(pw)
(px)
(py)
(pz)
(qa)
(qb)
(qc)
(qd)
(qe)
(qf)
(qg)
(qh)
(qi)
(qj)
(qk)
(ql)
(qm)
(qn)
(qo)
(qp)
(qq)
(qr)
(qs)
(qt)
(qu)
(qv)
(qw)
(qx)
(qy)
(qz)
(ra)
(rb)
(rc)
(rd)
(re)
(rf)
(rg)
(rh)
(ri)
(rj)
(rk)
(rl)
(rm)
(rn)
(ro)
(rp)
(rq)
(rr)
(rs)
(rt)
(ru)
(rv)
(rw)
(rx)
(ry)
(rz)
(sa)
(sb)
(sc)
(sd)
(se)
(sf)
(sg)
(sh)
(si)
(sj)
(sk)
(sl)
(sm)
(sn)
(so)
(sp)
(sq)
(sr)
(ss)
(st)
(su)
(sv)
(sw)
(sx)
(sy)
(sz)
(ta)
(tb)
(tc)
(td)
(te)
(tf)
(tg)
(th)
(ti)
(tj)
(tk)
(tl)
(tm)
(tn)
(to)
(tp)
(tq)
(tr)
(ts)
(tt)
(tu)
(tv)
(tw)
(tx)
(ty)
(tz)
(ua)
(ub)
(uc)
(ud)
(ue)
(uf)
(ug)
(uh)
(ui)
(uj)
(uk)
(ul)
(um)
(un)
(uo)
(up)
(uq)
(ur)
(us)
(ut)
(uu)
(uv)
(uw)
(ux)
(uy)
(uz)
(va)
(vb)
(vc)
(vd)
(ve)
(vf)
(vg)
(vh)
(vi)
(vj)
(vk)
(vl)
(vm)
(vn)
(vo)
(vp)
(vq)
(vr)
(vs)
(vt)
(vu)
(vv)
(vw)
(vx)
(vy)
(vz)
(wa)
(wb)
(wc)
(wd)
(we)
(wf)
(wg)
(wh)
(wi)
(wj)
(wk)
(wl)
(wm)
(wn)
(wo)
(wp)
(wq)
(wr)
(ws)
(wt)
(wu)
(wv)
(ww)
(wx)
(wy)
(wz)
(xa)
(xb)
(xc)
(xd)
(xe)
(xf)
(xg)
(xh)
(xi)
(xj)
(xk)
(xl)
(xm)
(xn)
(xo)
(xp)
(xq)
(xr)
(xs)
(xt)
(xu)
(xv)
(xw)
(xx)
(xy)
(xz)
(ya)
(yb)
(yc)
(yd)
(ye)
(yf)
(yg)
(yh)
(yi)
(yj)
(yk)
(yl)
(ym)
(yn)
(yo)
(yp)
(yq)
(yr)
(ys)
(yt)
(yu)
(yv)
(yw)
(yx)
(yy)
(yz)
(za)
(zb)
(zc)
(zd)
(ze)
(zf)
(zg)
(zh)
(zi)
(zj)
(zk)
(zl)
(zm)
(zn)
(zo)
(zp)
(zq)
(zr)
(zs)
(zt)
(zu)
(zv)
(zw)
(zx)
(zy)
(zz)

圖 7

圖 1C

101
101

圖 2



(A)
(B)
(C)
(D)
(E)
(F)
(G)
(H)
(I)
(J)
(K)
(L)
(M)
(N)
(O)
(P)
(Q)
(R)
(S)
(T)
(U)
(V)
(W)
(X)
(Y)
(Z)
(AA)
(AB)
(AC)
(AD)
(AE)
(AF)
(AG)
(AH)
(AI)
(AJ)
(AK)
(AL)
(AM)
(AN)
(AO)
(AP)
(AQ)
(AR)
(AS)
(AT)
(AU)
(AV)
(AW)
(AX)
(AY)
(AZ)
(BA)
(BB)
(BC)
(BD)
(BE)
(BF)
(BG)
(BH)
(BI)
(BJ)
(BK)
(BL)
(BM)
(BN)
(BO)
(BP)
(BQ)
(BR)
(BS)
(BT)
(BU)
(BV)
(BW)
(BX)
(BY)
(BZ)
(CA)
(CB)
(CC)
(CD)
(CE)
(CF)
(CG)
(CH)
(CI)
(CJ)
(CK)
(CL)
(CM)
(CN)
(CO)
(CP)
(CQ)
(CR)
(CS)
(CT)
(CU)
(CV)
(CW)
(CX)
(CY)
(CZ)
(DA)
(DB)
(DC)
(DD)
(DE)
(DF)
(DG)
(DH)
(DI)
(DJ)
(DK)
(DL)
(DM)
(DN)
(DO)
(DP)
(DQ)
(DR)
(DS)
(DT)
(DU)
(DV)
(DW)
(DX)
(DY)
(DZ)
(EA)
(EB)
(EC)
(ED)
(EE)
(EF)
(EG)
(EH)
(EI)
(EJ)
(EK)
(EL)
(EM)
(EN)
(EO)
(EP)
(EQ)
(ER)
(ES)
(ET)
(EU)
(EV)
(EW)
(EX)
(EY)
(EZ)
(FA)
(FB)
(FC)
(FD)
(FE)
(FF)
(FG)
(FH)
(FI)
(FJ)
(FK)
(FL)
(FM)
(FN)
(FO)
(FP)
(FQ)
(FR)
(FS)
(FT)
(FU)
(FV)
(FW)
(FX)
(FY)
(FZ)
(GA)
(GB)
(GC)
(GD)
(GE)
(GF)
(GG)
(GH)
(GI)
(GJ)
(GK)
(GL)
(GM)
(GN)
(GO)
(GP)
(GQ)
(GR)
(GS)
(GT)
(GU)
(GV)
(GW)
(GX)
(GY)
(GZ)
(HA)
(HB)
(HC)
(HD)
(HE)
(HF)
(HG)
(HH)
(HI)
(HJ)
(HK)
(HL)
(HM)
(HN)
(HO)
(HP)
(HQ)
(HR)
(HS)
(HT)
(HU)
(HV)
(HW)
(HX)
(HY)
(HZ)
(IA)
(IB)
(IC)
(ID)
(IE)
(IF)
(IG)
(IH)
(II)
(IJ)
(IK)
(IL)
(IM)
(IN)
(IO)
(IP)
(IQ)
(IR)
(IS)
(IT)
(IU)
(IV)
(IW)
(IX)
(IY)
(IZ)
(JA)
(JB)
(JC)
(JD)
(JE)
(JF)
(JG)
(JH)
(JI)
(JJ)
(JK)
(JL)
(JM)
(JN)
(JO)
(JP)
(JQ)
(JR)
(JS)
(JT)
(JU)
(JV)
(JW)
(JX)
(JY)
(JZ)
(KA)
(KB)
(KC)
(KD)
(KE)
(KF)
(KG)
(KH)
(KI)
(KJ)
(KK)
(KL)
(KM)
(KN)
(KO)
(KP)
(KQ)
(KR)
(KS)
(KT)
(KU)
(KV)
(KW)
(KX)
(KY)
(KZ)
(LA)
(LB)
(LC)
(LD)
(LE)
(LF)
(LG)
(LH)
(LI)
(LJ)
(LK)
(LL)
(LM)
(LN)
(LO)
(LP)
(LQ)
(LR)
(LS)
(LT)
(LU)
(LV)
(LW)
(LX)
(LY)
(LZ)
(MA)
(MB)
(MC)
(MD)
(ME)
(MF)
(MG)
(MH)
(MI)
(MJ)
(MK)
(ML)
(MM)
(MN)
(MO)
(MP)
(MQ)
(MR)
(MS)
(MT)
(MU)
(MV)
(MW)
(MX)
(MY)
(MZ)
(NA)
(NB)
(NC)
(ND)
(NE)
(NF)
(NG)
(NH)
(NI)
(NJ)
(NK)
(NL)
(NM)
(NN)
(NO)
(NP)
(NQ)
(NR)
(NS)
(NT)
(NU)
(NV)
(NW)
(NX)
(NY)
(NZ)
(OA)
(OB)
(OC)
(OD)
(OE)
(OF)
(OG)
(OH)
(OI)
(OJ)
(OK)
(OL)
(OM)
(ON)
(OO)
(OP)
(OQ)
(OR)
(OS)
(OT)
(OU)
(OV)
(OW)
(OX)
(OY)
(OZ)
(PA)
(PB)
(PC)
(PD)
(PE)
(PF)
(PG)
(PH)
(PI)
(PJ)
(PK)
(PL)
(PM)
(PN)
(PO)
(PP)
(PQ)
(PR)
(PS)
(PT)
(PU)
(PV)
(PW)
(PX)
(PY)
(PZ)
(QA)
(QB)
(QC)
(QD)
(QE)
(QF)
(QG)
(QH)
(QI)
(QJ)
(QK)
(QL)
(QM)
(QN)
(QO)
(QP)
(QQ)
(QR)
(QS)
(QT)
(QU)
(QV)
(QW)
(QX)
(QY)
(QZ)
(RA)
(RB)
(RC)
(RD)
(RE)
(RF)
(RG)
(RH)
(RI)
(RJ)
(RK)
(RL)
(RM)
(RN)
(RO)
(RP)
(RQ)
(RR)
(RS)
(RT)
(RU)
(RV)
(RW)
(RX)
(RY)
(RZ)
(SA)
(SB)
(SC)
(SD)
(SE)
(SF)
(SG)
(SH)
(SI)
(SJ)
(SK)
(SL)
(SM)
(SN)
(SO)
(SP)
(SQ)
(SR)
(SS)
(ST)
(SU)
(SV)
(SW)
(SX)
(SY)
(SZ)
(TA)
(TB)
(TC)
(TD)
(TE)
(TF)
(TG)
(TH)
(TI)
(TJ)
(TK)
(TL)
(TM)
(TN)
(TO)
(TP)
(TQ)
(TR)
(TS)
(TT)
(TU)
(TV)
(TW)
(TX)
(TY)
(TZ)
(UA)
(UB)
(UC)
(UD)
(UE)
(UF)
(UG)
(UH)
(UI)
(UJ)
(UK)
(UL)
(UM)
(UN)
(UO)
(UP)
(UQ)
(UR)
(US)
(UT)
(UU)
(UV)
(UW)
(UX)
(UY)
(UZ)
(VA)
(VB)
(VC)
(VD)
(VE)
(VF)
(VG)
(VH)
(VI)
(VJ)
(VK)
(VL)
(VM)
(VN)
(VO)
(VP)
(VQ)
(VR)
(VS)
(VT)
(VU)
(VV)
(VW)
(VX)
(VY)
(VZ)
(WA)
(WB)
(WC)
(WD)
(WE)
(WF)
(WG)
(WH)
(WI)
(WJ)
(WK)
(WL)
(WM)
(WN)
(WO)
(WP)
(WQ)
(WR)
(WS)
(WT)
(WU)
(WV)
(WW)
(WX)
(WY)
(WZ)
(XA)
(XB)
(XC)
(XD)
(XE)
(XF)
(XG)
(XH)
(XI)
(XJ)
(XK)
(XL)
(XM)
(XN)
(XO)
(XP)
(XQ)
(XR)
(XS)
(XT)
(XU)
(XV)
(XW)
(XX)
(XY)
(XZ)
(YA)
(YB)
(YC)
(YD)
(YE)
(YF)
(YG)
(YH)
(YI)
(YJ)
(YK)
(YL)
(YM)
(YN)
(YO)
(YP)
(YQ)
(YR)
(YS)
(YT)
(YU)
(YV)
(YW)
(YX)
(YY)
(YZ)
(ZA)
(ZB)
(ZC)
(ZD)
(ZE)
(ZF)
(ZG)
(ZH)
(ZI)
(ZJ)
(ZK)
(ZL)
(ZM)
(ZN)
(ZO)
(ZP)
(ZQ)
(ZR)
(ZS)
(ZT)
(ZU)
(ZV)
(ZW)
(ZX)
(ZY)
(ZZ)

圖 7

PEAK 1
PEAK 2
PEAK 3
PEAK 4
PEAK 5
PEAK 6
PEAK 7
PEAK 8
PEAK 9
PEAK 10
PEAK 11
PEAK 12
PEAK 13
PEAK 14
PEAK 15
PEAK 16
PEAK 17
PEAK 18
PEAK 19
PEAK 20
PEAK

SWAS
AGMC
FGC
DAR
DVD
SWAS
SWAS
SWAS

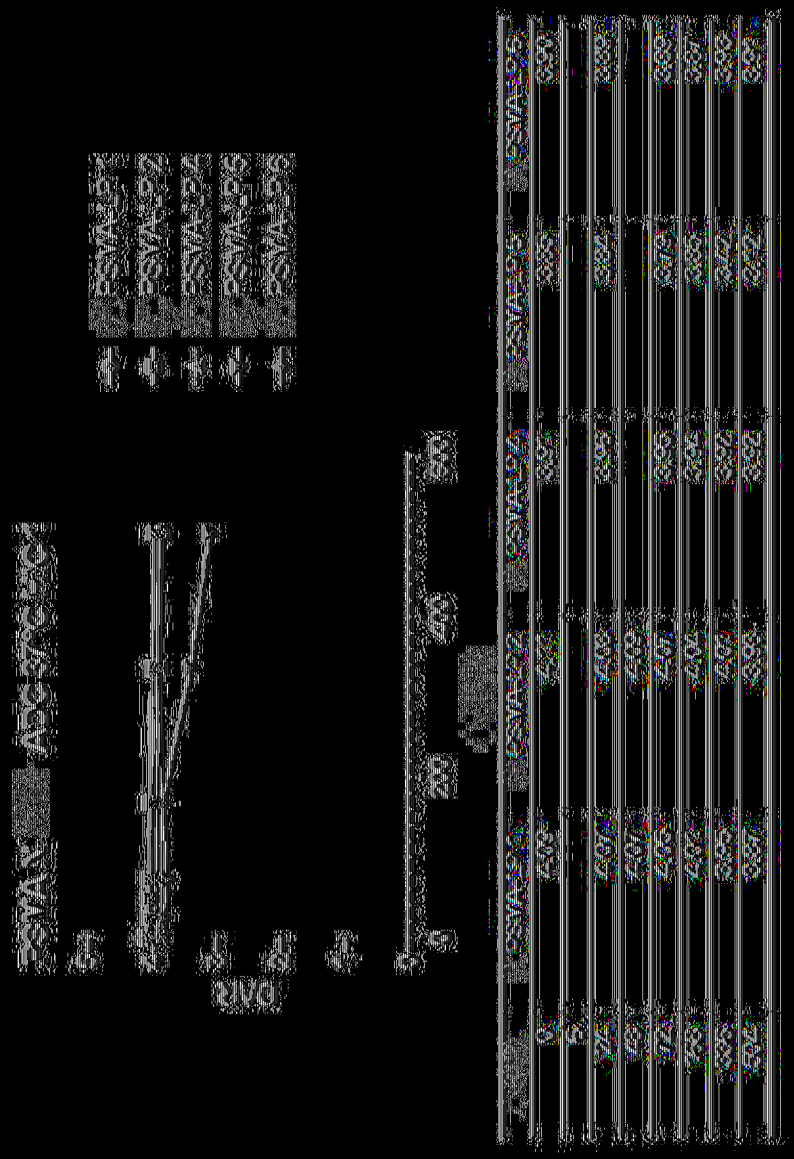
圖 3C

圖 7

ADC/MCU
STA
STA
STA

ASVA-A
ASVA-B
ASVA-C
ASVA-D
ASVA-E
ASVA-F
ASVA-G
ASVA-H
ASVA-I
ASVA-J
ASVA-K
ASVA-L
ASVA-M
ASVA-N
ASVA-O
ASVA-P
ASVA-Q
ASVA-R
ASVA-S
ASVA-T
ASVA-U
ASVA-V
ASVA-W
ASVA-X
ASVA-Y
ASVA-Z
ASVA-AA
ASVA-AB
ASVA-AC
ASVA-AD
ASVA-AE
ASVA-AF
ASVA-AG
ASVA-AH
ASVA-AI
ASVA-AJ
ASVA-AK
ASVA-AL
ASVA-AM
ASVA-AN
ASVA-AO
ASVA-AP
ASVA-AQ
ASVA-AR
ASVA-AS
ASVA-AT
ASVA-AU
ASVA-AV
ASVA-AW
ASVA-AX
ASVA-AY
ASVA-AZ
ASVA-BA
ASVA-BB
ASVA-BC
ASVA-BD
ASVA-BE
ASVA-BF
ASVA-BG
ASVA-BH
ASVA-BI
ASVA-BJ
ASVA-BK
ASVA-BL
ASVA-BM
ASVA-BN
ASVA-BO
ASVA-BP
ASVA-BQ
ASVA-BR
ASVA-BS
ASVA-BT
ASVA-BU
ASVA-BV
ASVA-BW
ASVA-BX
ASVA-BY
ASVA-BZ
ASVA-CA
ASVA-CB
ASVA-CC
ASVA-CD
ASVA-CE
ASVA-CF
ASVA-CG
ASVA-CH
ASVA-CI
ASVA-CJ
ASVA-CK
ASVA-CL
ASVA-CM
ASVA-CN
ASVA-CO
ASVA-CP
ASVA-CQ
ASVA-CR
ASVA-CS
ASVA-CT
ASVA-CU
ASVA-CV
ASVA-CW
ASVA-CX
ASVA-CY
ASVA-CZ
ASVA-DA
ASVA-DB
ASVA-DC
ASVA-DD
ASVA-DE
ASVA-DF
ASVA-DG
ASVA-DH
ASVA-DI
ASVA-DJ
ASVA-DK
ASVA-DL
ASVA-DM
ASVA-DN
ASVA-DO
ASVA-DP
ASVA-DQ
ASVA-DR
ASVA-DS
ASVA-DT
ASVA-DU
ASVA-DV
ASVA-DW
ASVA-DX
ASVA-DY
ASVA-DZ
ASVA-EA
ASVA-EB
ASVA-EC
ASVA-ED
ASVA-EE
ASVA-EF
ASVA-EG
ASVA-EH
ASVA-EI
ASVA-EJ
ASVA-EK
ASVA-EL
ASVA-EM
ASVA-EN
ASVA-EO
ASVA-EP
ASVA-EQ
ASVA-ER
ASVA-ES
ASVA-ET
ASVA-EU
ASVA-EV
ASVA-EW
ASVA-EX
ASVA-EY
ASVA-EZ
ASVA-FA
ASVA-FB
ASVA-FC
ASVA-FD
ASVA-FE
ASVA-FF
ASVA-FG
ASVA-FH
ASVA-FI
ASVA-FJ
ASVA-FK
ASVA-FL
ASVA-FM
ASVA-FN
ASVA-FO
ASVA-FP
ASVA-FQ
ASVA-FR
ASVA-FS
ASVA-FT
ASVA-FU
ASVA-FV
ASVA-FW
ASVA-FX
ASVA-FY
ASVA-FZ
ASVA-GA
ASVA-GB
ASVA-GC
ASVA-GD
ASVA-GE
ASVA-GF
ASVA-GG
ASVA-GH
ASVA-GI
ASVA-GJ
ASVA-GK
ASVA-GL
ASVA-GM
ASVA-GN
ASVA-GO
ASVA-GP
ASVA-GQ
ASVA-GR
ASVA-GS
ASVA-GT
ASVA-GU
ASVA-GV
ASVA-GW
ASVA-GX
ASVA-GY
ASVA-GZ
ASVA-HA
ASVA-HB
ASVA-HC
ASVA-HD
ASVA-HE
ASVA-HF
ASVA-HG
ASVA-HH
ASVA-HI
ASVA-HJ
ASVA-HK
ASVA-HL
ASVA-HM
ASVA-HN
ASVA-HO
ASVA-HP
ASVA-HQ
ASVA-HR
ASVA-HS
ASVA-HT
ASVA-HU
ASVA-HV
ASVA-HW
ASVA-HX
ASVA-HY
ASVA-HZ
ASVA-IA
ASVA-IB
ASVA-IC
ASVA-ID
ASVA-IE
ASVA-IF
ASVA-IG
ASVA-IH
ASVA-II
ASVA-IJ
ASVA-IK
ASVA-IL
ASVA-IM
ASVA-IN
ASVA-IO
ASVA-IP
ASVA-IQ
ASVA-IR
ASVA-IS
ASVA-IT
ASVA-IU
ASVA-IV
ASVA-IW
ASVA-IX
ASVA-IY
ASVA-IZ
ASVA-JA
ASVA-JB
ASVA-JC
ASVA-JD
ASVA-JE
ASVA-JF
ASVA-JG
ASVA-JH
ASVA-JI
ASVA-JJ
ASVA-JK
ASVA-JL
ASVA-JM
ASVA-JN
ASVA-JO
ASVA-JP
ASVA-JQ
ASVA-JR
ASVA-JS
ASVA-JT
ASVA-JU
ASVA-JV
ASVA-JW
ASVA-JX
ASVA-JY
ASVA-JZ
ASVA-KA
ASVA-KB
ASVA-KC
ASVA-KD
ASVA-KE
ASVA-KF
ASVA-KG
ASVA-KH
ASVA-KI
ASVA-KJ
ASVA-KK
ASVA-KL
ASVA-KM
ASVA-KN
ASVA-KO
ASVA-KP
ASVA-KQ
ASVA-KR
ASVA-KS
ASVA-KT
ASVA-KU
ASVA-KV
ASVA-KW
ASVA-KX
ASVA-KY
ASVA-KZ
ASVA-LA
ASVA-LB
ASVA-LC
ASVA-LD
ASVA-LE
ASVA-LF
ASVA-LG
ASVA-LH
ASVA-LI
ASVA-LJ
ASVA-LK
ASVA-LL
ASVA-LM
ASVA-LN
ASVA-LO
ASVA-LP
ASVA-LQ
ASVA-LR
ASVA-LS
ASVA-LT
ASVA-LU
ASVA-LV
ASVA-LW
ASVA-LX
ASVA-LY
ASVA-LZ
ASVA-MA
ASVA-MB
ASVA-MC
ASVA-MD
ASVA-ME
ASVA-MF
ASVA-MG
ASVA-MH
ASVA-MI
ASVA-MJ
ASVA-MK
ASVA-ML
ASVA-MM
ASVA-MN
ASVA-MO
ASVA-MP
ASVA-MQ
ASVA-MR
ASVA-MS
ASVA-MT
ASVA-MU
ASVA-MV
ASVA-MW
ASVA-MX
ASVA-MY
ASVA-MZ
ASVA-NA
ASVA-NB
ASVA-NC
ASVA-ND
ASVA-NE
ASVA-NF
ASVA-NG
ASVA-NH
ASVA-NI
ASVA-NJ
ASVA-NK
ASVA-NL
ASVA-NM
ASVA-NN
ASVA-NO
ASVA-NP
ASVA-NQ
ASVA-NR
ASVA-NS
ASVA-NT
ASVA-NU
ASVA-NV
ASVA-NW
ASVA-NX
ASVA-NY
ASVA-NZ
ASVA-OA
ASVA-OB
ASVA-OC
ASVA-OD
ASVA-OE
ASVA-OF
ASVA-OG
ASVA-OH
ASVA-OI
ASVA-OJ
ASVA-OK
ASVA-OL
ASVA-OM
ASVA-ON
ASVA-OO
ASVA-OP
ASVA-OQ
ASVA-OR
ASVA-OS
ASVA-OT
ASVA-OU
ASVA-OV
ASVA-OW
ASVA-OX
ASVA-OY
ASVA-OZ
ASVA-PA
ASVA-PB
ASVA-PC
ASVA-PD
ASVA-PE
ASVA-PF
ASVA-PG
ASVA-PH
ASVA-PI
ASVA-PJ
ASVA-PK
ASVA-PL
ASVA-PM
ASVA-PN
ASVA-PO
ASVA-PP
ASVA-PQ
ASVA-PR
ASVA-PS
ASVA-PT
ASVA-PU
ASVA-PV
ASVA-PW
ASVA-PX
ASVA-PY
ASVA-PZ
ASVA-QA
ASVA-QB
ASVA-QC
ASVA-QD
ASVA-QE
ASVA-QF
ASVA-QG
ASVA-QH
ASVA-QI
ASVA-QJ
ASVA-QK
ASVA-QL
ASVA-QM
ASVA-QN
ASVA-QO
ASVA-QP
ASVA-QQ
ASVA-QR
ASVA-QS
ASVA-QT
ASVA-QU
ASVA-QV
ASVA-QW
ASVA-QX
ASVA-QY
ASVA-QZ
ASVA-RA
ASVA-RB
ASVA-RC
ASVA-RD
ASVA-RE
ASVA-RF
ASVA-RG
ASVA-RH
ASVA-RI
ASVA-RJ
ASVA-RK
ASVA-RL
ASVA-RM
ASVA-RN
ASVA-RO
ASVA-RP
ASVA-RQ
ASVA-RR
ASVA-RS
ASVA-RT
ASVA-RU
ASVA-RV
ASVA-RW
ASVA-RX
ASVA-RY
ASVA-RZ
ASVA-SA
ASVA-SB
ASVA-SC
ASVA-SD
ASVA-SE
ASVA-SF
ASVA-SG
ASVA-SH
ASVA-SI
ASVA-SJ
ASVA-SK
ASVA-SL
ASVA-SM
ASVA-SN
ASVA-SO
ASVA-SP
ASVA-SQ
ASVA-SR
ASVA-SS
ASVA-ST
ASVA-SU
ASVA-SV
ASVA-SW
ASVA-SX
ASVA-SY
ASVA-SZ
ASVA-TA
ASVA-TB
ASVA-TC
ASVA-TD
ASVA-TE
ASVA-TF
ASVA-TG
ASVA-TH
ASVA-TI
ASVA-TJ
ASVA-TK
ASVA-TL
ASVA-TM
ASVA-TN
ASVA-TO
ASVA-TP
ASVA-TQ
ASVA-TR
ASVA-TS
ASVA-TT
ASVA-TU
ASVA-TV
ASVA-TW
ASVA-TX
ASVA-TY
ASVA-TZ
ASVA-UA
ASVA-UB
ASVA-UC
ASVA-UD
ASVA-UE
ASVA-UF
ASVA-UG
ASVA-UH
ASVA-UI
ASVA-UJ
ASVA-UK
ASVA-UL
ASVA-UM
ASVA-UN
ASVA-UO
ASVA-UP
ASVA-UQ
ASVA-UR
ASVA-US
ASVA-UT
ASVA-UU
ASVA-UV
ASVA-UW
ASVA-UX
ASVA-UY
ASVA-UZ
ASVA-VA
ASVA-VB
ASVA-VC
ASVA-VD
ASVA-VE
ASVA-VF
ASVA-VG
ASVA-VH
ASVA-VI
ASVA-VJ
ASVA-VK
ASVA-VL
ASVA-VM
ASVA-VN
ASVA-VO
ASVA-VP
ASVA-VQ
ASVA-VR
ASVA-VS
ASVA-VT
ASVA-VU
ASVA-VV
ASVA-VW
ASVA-VX
ASVA-VY
ASVA-VZ
ASVA-WA
ASVA-WB
ASVA-WC
ASVA-WD
ASVA-WE
ASVA-WF
ASVA-WG
ASVA-WH
ASVA-WI
ASVA-WJ
ASVA-WK
ASVA-WL
ASVA-WM
ASVA-WN
ASVA-WO
ASVA-WP
ASVA-WQ
ASVA-WR
ASVA-WS
ASVA-WT
ASVA-WU
ASVA-WV
ASVA-WW
ASVA-WX
ASVA-WY
ASVA-WZ
ASVA-XA
ASVA-XB
ASVA-XC
ASVA-XD
ASVA-XE
ASVA-XF
ASVA-XG
ASVA-XH
ASVA-XI
ASVA-XJ
ASVA-XK
ASVA-XL
ASVA-XM
ASVA-XN
ASVA-XO
ASVA-XP
ASVA-XQ
ASVA-XR
ASVA-XS
ASVA-XT
ASVA-XU
ASVA-XV
ASVA-XW
ASVA-XX
ASVA-XY
ASVA-XZ
ASVA-YA
ASVA-YB
ASVA-YC
ASVA-YD
ASVA-YE
ASVA-YF
ASVA-YG
ASVA-YH
ASVA-YI
ASVA-YJ
ASVA-YK
ASVA-YL
ASVA-YM
ASVA-YN
ASVA-YO
ASVA-YP
ASVA-YQ
ASVA-YR
ASVA-YS
ASVA-YT
ASVA-YU
ASVA-YV
ASVA-YW
ASVA-YX
ASVA-YY
ASVA-YZ
ASVA-ZA
ASVA-ZB
ASVA-ZC
ASVA-ZD
ASVA-ZE
ASVA-ZF
ASVA-ZG
ASVA-ZH
ASVA-ZI
ASVA-ZJ
ASVA-ZK
ASVA-ZL
ASVA-ZM
ASVA-ZN
ASVA-ZO
ASVA-ZP
ASVA-ZQ
ASVA-ZR
ASVA-ZS
ASVA-ZT
ASVA-ZU
ASVA-ZV
ASVA-ZW
ASVA-ZX
ASVA-ZY
ASVA-ZZ
ASVA-AAA
ASVA-AAB
ASVA-AAC
ASVA-AAD
ASVA-AAE
ASVA-AAF
ASVA-AAG
ASVA-AAH
ASVA-AAI
ASVA-AAJ
ASVA-AAK
ASVA-AAL
ASVA-AAM
ASVA-AAN
ASVA-AAO
ASVA-AAP
ASVA-AAQ
ASVA-AAR
ASVA-AAS
ASVA-AAT
ASVA-AAU
ASVA-AAV
ASVA-AAW
ASVA-AAX
ASVA-AAY
ASVA-AAZ
ASVA-ABA
ASVA-ABB
ASVA-ABC
ASVA-ABD
ASVA-ABE
ASVA-ABF
ASVA-ABG
ASVA-ABH
ASVA-ABI
ASVA-ABJ
ASVA-ABK
ASVA-ABL
ASVA-ABM
ASVA-ABN
ASVA-ABO
ASVA-ABP
ASVA-ABQ
ASVA-ABR
ASVA-ABS
ASVA-ABT
ASVA-ABU
ASVA-ABV
ASVA-ABW
ASVA-ABX
ASVA-ABY
ASVA-ABZ
ASVA-ACA
ASVA-ACB
ASVA-ACC
ASVA-ACD
ASVA-ACE
ASVA-ACF
ASVA-ACG
ASVA-ACH
ASVA-ACI
ASVA-ACJ
ASVA-ACK
ASVA-ACL
ASVA-ACM
ASVA-ACN
ASVA-ACO
ASVA-ACP
ASVA-ACQ
ASVA-ACR
ASVA-ACS
ASVA-ACT
ASVA-ACU
ASVA-ACV
ASVA-ACW
ASVA-ACX
ASVA-ACY
ASVA-ACZ
ASVA-ADA
ASVA-ADB
ASVA-ADC
ASVA-ADD
ASVA-ADE
ASVA-ADF
ASVA-ADG
ASVA-ADH
ASVA-ADI
ASVA-ADJ
ASVA-ADK
ASVA-ADL
ASVA-ADM
ASVA-ADN
ASVA-ADO
ASVA-ADP
ASVA-ADQ
ASVA-ADR
ASVA-ADS
ASVA-ADT
ASVA-ADU
ASVA-ADV
ASVA-ADW
ASVA-ADX
ASVA-ADY
ASVA-ADZ
ASVA-AEA
ASVA-AEB
ASVA-AEC
ASVA-AED
ASVA-AEE
ASVA-AEF
ASVA-AEG
ASVA-AEH
ASVA-AEI
ASVA-AEJ
ASVA-AEK
ASVA-AEL
ASVA-AEM
ASVA-AEN
ASVA-AEO
ASVA-AEP
ASVA-AEQ
ASVA-AER
ASVA-AES
ASVA-AET
ASVA-AEU
ASVA-AEV
ASVA-AEW
ASVA-AEX
ASVA-AEY
ASVA-AEZ
ASVA-AFA
ASVA-AFB
ASVA-AFC
ASVA-AFD
ASVA-AFE
ASVA-AFF
ASVA-AFG
ASVA-AFH
ASVA-AFI
ASVA-AFJ
ASVA-AFK
ASVA-AFL
ASVA-AFM
ASVA-AFN
ASVA-AFO
ASVA-AFP
ASVA-AFQ
ASVA-AFR
ASVA-AFS
ASVA-AFT
ASVA-AFU
ASVA-AFV
ASVA-AFW
ASVA-AFX
ASVA-AFY
ASVA-AFZ
ASVA-AGA
ASVA-AGB
ASVA-AGC
ASVA-AGD
ASVA-AGE
ASVA-AGF
ASVA-AGG
ASVA-AGH
ASVA-AGI
ASVA-AGJ
ASVA-AGK
ASVA-AGL
ASVA-AGM
ASVA-AGN
ASVA-AGO
ASVA-AGP
ASVA-AGQ
ASVA-AGR
ASVA-AGS
ASVA-AGT
ASVA-AGU
ASVA-AGV
ASVA-AGW
ASVA-AGX
ASVA-AGY
ASVA-AGZ
ASVA-AHA
ASVA-AHB
ASVA-AHC
ASVA-AHD
ASVA-AHE
ASVA-AHF
ASVA-AHG
ASVA-AHH
ASVA-AHI
ASVA-AHJ
ASVA-AHK
ASVA-AHL
ASVA-AHM
ASVA-AHN
ASVA-AHO
ASVA-AHP
ASVA-AHQ
ASVA-AHR
ASVA-AHS
ASVA-AHT
ASVA-AHU
ASVA-AHV
ASVA-AHW
ASVA-AHX
ASVA-AHY
ASVA-AHZ
ASVA-AIA
ASVA-AIB
ASVA-AIC
ASVA-AID
ASVA-AIE
ASVA-AIF
ASVA-AIG
ASVA-AIH
ASVA-AII
ASVA-AIJ
ASVA-AIK
ASVA-AIL
ASVA-AIM
ASVA-AIN
ASVA-AIO
ASVA-AIP
ASVA-AIQ
ASVA-AIR
ASVA-AIS
ASVA-AIT
ASVA-AIU
ASVA-AIV
ASVA-AIW
ASVA-AIX
ASVA-AIY
ASVA-AIZ
ASVA-AJA
ASVA-AJB
ASVA-AJC
ASVA-AJD
ASVA-AJE
ASVA-AJF
ASVA-AJG
ASVA-AJH
ASVA-AJI
ASVA-AJJ
ASVA-AJK
ASVA-AJL
ASVA-AJM
ASVA-AJN
ASVA-AJO
ASVA-AJP
ASVA-AJQ
ASVA-AJR
ASVA-AJS
ASVA-AJT
ASVA-AJU
ASVA-AJV
ASVA-AJW
ASVA-AJX
ASVA-AJY
ASVA-AJZ
ASVA-AKA
ASVA-AKB
ASVA-AKC
ASVA-AKD
ASVA-AKE
ASVA-AKF
ASVA-AKG
ASVA-AKH
ASVA-AKI
ASVA-AKJ
ASVA-AKK
ASVA-AKL
ASVA-AKM
ASVA-AKN
ASVA-AKO
ASVA-AKP
ASVA-AKQ
ASVA-AKR
ASVA-AKS
ASVA-AKT
ASVA-AKU
ASVA-AKV
ASVA-AKW
ASVA-AKX
ASVA-AKY
ASVA-AKZ
ASVA-ALA
ASVA-ALB
ASVA-ALC
ASVA-ALD
ASVA-ALE
ASVA-ALF
ASVA-ALG
ASVA-ALH
ASVA-ALI
ASVA-ALJ
ASVA-ALK
ASVA-ALL
ASVA-ALM
ASVA-ALN
ASVA-ALO
ASVA-ALP
ASVA-ALQ
ASVA-ALR
ASVA-ALS
ASVA-ALT
ASVA-ALU
ASVA-ALV
ASVA-ALW
ASVA-ALX
ASVA-ALY
ASVA-ALZ
ASVA-AMA
ASVA-AMB
ASVA-AMC
ASVA-AMD
ASVA-AME
ASVA-AMF
ASVA-AMG
ASVA-AMH
ASVA-AMI
ASVA-AMJ
ASVA-AMK
ASVA-AML
ASVA-AMM
ASVA-AMN
ASVA-AMO
ASVA-AMP
ASVA-AMQ
ASVA-AMR
ASVA-AMS
ASVA-AMT
ASVA-AMU
ASVA-AMV
ASVA-AMW
ASVA-AMX
ASVA-AMY
ASVA-AMZ
ASVA-ANA
ASVA-ANB
ASVA-ANC
ASVA-AND
ASVA-ANE
ASVA-ANF
ASVA-ANG
ASVA-ANH
ASVA-ANI
ASVA-ANJ
ASVA-ANK
ASVA-ANL
ASVA-ANM
ASVA-ANN
ASVA-ANO
ASVA-ANP
ASVA-ANQ
ASVA-ANR
ASVA-ANS
ASVA-ANT
ASVA-ANU
ASVA-ANV
ASVA-ANW
ASVA-ANX
ASVA-ANY
ASVA-ANZ
ASVA-AOA
ASVA-AOB
ASVA-AOC
ASVA-AOD
ASVA-AOE
ASVA-AOF
ASVA-AOG
ASVA-AOH
ASVA-AOI
ASVA-AOJ
ASVA-AOK
ASVA-AOL
ASVA-AOM
ASVA-AON
ASVA-AOO
ASVA-AOP
ASVA-AOQ
ASVA-AOR
ASVA-AOS
ASVA-AOT
ASVA-AOU
ASVA-AOV
ASVA-AOW
ASVA-AOX
ASVA-AOY
ASVA-AOZ
ASVA-APA
ASVA-APB
ASVA-APC
ASVA-APD
ASVA-APE
ASVA-APF
ASVA-APG
ASVA-APH
ASVA-API
ASVA-APJ
ASVA-APK
ASVA-APL
ASVA-APM
ASVA-APN
ASVA-APO
ASVA-APP
ASVA-APQ
ASVA-APR
ASVA-APS
ASVA-APT
ASVA-APU
ASVA-APV
ASVA-APW
ASVA-APX
ASVA-APY
ASVA-APZ
ASVA-AQA
ASVA-AQB
ASVA-AQC
ASVA-AQD
ASVA-AQE
ASVA-AQF
ASVA-AQG
ASVA-AQH
ASVA-AQI
ASVA-AQJ
ASVA-AQK
ASVA-AQL
ASVA-AQM
ASVA-AQN
ASVA-AQO
ASVA-AQP
ASVA-AQQ
ASVA-AQR
ASVA-AQS
ASVA-AQT
ASVA-AQU
ASVA-AQV
ASVA-AQW
ASVA-AQX
ASVA-AQY
ASVA-AQZ
ASVA-ARA
ASVA-ARB
ASVA-ARC
ASVA-ARD
ASVA-ARE
ASVA-ARF
ASVA-ARG
ASVA-ARH
ASVA-ARI
ASVA-ARJ
ASVA-ARK
ASVA-ARL
ASVA-ARM
ASVA-ARN
ASVA-ARO
ASVA-ARP
ASVA-ARQ
ASVA-ARR
ASVA-ARS
ASVA-ART
ASVA-ARU
ASVA-ARV
ASVA-ARW
ASVA-ARX
ASVA-ARY
ASVA-ARZ
ASVA-ASA
ASVA-ASB
ASVA-ASC
ASVA-ASD
ASVA-ASE
ASVA-ASF
ASVA-ASG
ASVA-ASH
ASVA-ASI
ASVA-ASJ
ASVA-ASK
ASVA-ASL
ASVA-ASM
ASVA-ASN
ASVA-ASO
ASVA-ASP
ASVA-ASQ
ASVA-ASR
ASVA-ASS
ASVA-AST
ASVA-ASU
ASVA-ASV
ASVA-ASW
ASVA-ASX
ASVA-ASY
ASVA-ASZ
ASVA-ATA
ASVA-ATB
ASVA-ATC
ASVA-ATD
ASVA-ATE
ASVA-ATF
ASVA-ATG
ASVA-ATH
ASVA-ATI
ASVA-ATJ
ASVA-ATK
ASVA-ATL
ASVA-ATM
ASVA-ATN
ASVA-ATO
ASVA-ATP
ASVA-ATQ
ASVA-ATR
ASVA-ATS
ASVA-ATT
ASVA-ATU
ASVA-ATV
ASVA-ATW
ASVA-ATX
ASVA-ATY
ASVA-ATZ
ASVA-AUA
ASVA-AUB
ASVA-AUC
ASVA-AUD
ASVA-AUE
ASVA-AUF
ASVA-AUG
ASVA-AUH
ASVA-AUI
ASVA-AUJ
ASVA-AUK
ASVA-AUL
ASVA-AUM
ASVA-AUN
ASVA-AUO
ASVA-AUP
ASVA-AUQ
ASVA-AUR
ASVA-AUS
ASVA-AUT
ASVA-AUU
ASVA-AUV
ASVA-AUW
ASVA-AUX
ASVA-AUY
ASVA-AUZ
ASVA-AVA
ASVA-AVB
ASVA-AVC
ASVA-AVD
ASVA-AVE
ASVA-AVF
ASVA-AVG
ASVA-AVH
ASVA-AVI
ASVA-AVJ
ASVA-AVK
ASVA-AVL
ASVA-AVM
ASVA-AVN
ASVA-AVO
ASVA-AVP
ASVA-AVQ
ASVA-AVR
ASVA-AVS
ASVA-AVT
ASVA-AVU
ASVA-AVV
ASVA-AVW
ASVA-AVX
ASVA-AVY
ASVA-AVZ
ASVA-AWA
ASVA-AWB
ASVA-AWC
ASVA-AWD
ASVA-AWE
ASVA-AWF
ASVA-AWG
ASVA-AWH
ASVA-AWI
ASVA-AWJ
ASVA-AWK
ASVA-AWL
ASVA-AWM
ASVA-AWN
ASVA-AWO
ASVA-AWP
ASVA-AWQ
ASVA-AWR
ASVA-AWS
ASVA-AWT
ASVA-AWU
ASVA-AWV
ASVA-AWW
ASVA-AWX
ASVA-AWY
ASVA-AWZ
ASVA-AXA
ASVA-AXB
ASVA-AXC
ASVA-AXD
ASVA-AXE
ASVA-AXF
ASVA-AXG
ASVA-AXH
ASVA-AXI
ASVA-AXJ
ASVA-AXK
ASVA-AXL
ASVA-AXM
ASVA-AXN
ASVA-AXO
ASVA-AXP
ASVA-AXQ
ASVA-AXR
ASVA-AXS
ASVA-AXT
ASVA-AXU
ASVA-AXV
ASVA-AXW
ASVA-AXX
ASVA-AXY
ASVA-AXZ
ASVA-AYA
ASVA-AYB
ASVA-AYC
ASVA-AYD
ASVA-AYE
ASVA-AYF
ASVA-AYG
ASVA-AYH
ASVA-AYI
ASVA-AYJ
ASVA-AYK
ASVA-AYL
ASVA-AYM
ASVA-AYN
ASVA-AYO
ASVA-AYP
ASVA-AYQ
ASVA-AYR
ASVA-AYS
ASVA-AYT
ASVA-AYU
ASVA-AYV
ASVA-AYW
ASVA-AYX
ASVA-AYY
ASVA-AYZ
ASVA-AZA
ASVA-AZB
ASVA-AZC
ASVA-AZD
ASVA-AZE
ASVA-AZF
ASVA-AZG
ASVA-AZH
ASVA-AZI
ASVA-AZJ
ASVA-AZK
ASVA-AZL
ASVA-AZM
ASVA-AZN
ASVA-AZO
ASVA-AZP
ASVA-AZQ
ASVA-AZR
ASVA-AZS
ASVA-AZT
ASVA-AZU
ASVA-AZV
ASVA-AZW
ASVA-AZX
ASVA-AZY
ASVA-AZZ
ASVA-BAA
ASVA-BAB
ASVA-BAC
ASVA-BAD
ASVA-BAE
ASVA-BAF
ASVA-BAG
ASVA-BAH
ASVA-BAI
ASVA-BAJ
ASVA-BAK
ASVA-BAL
ASVA-BAM
ASVA-BAN
ASVA-BAO
ASVA-BAP
ASVA-BAQ
ASVA-BAR
ASVA-BAS
ASVA-BAT
ASVA-BAU
ASVA-BAV
ASVA-BAW
ASVA-BAX
ASVA-BAY
ASVA-BAZ
ASVA-BBA
ASVA-BBB
ASVA-BBC
ASVA-BBD
ASVA-BBE
ASVA-BBF
ASVA-BBG
ASVA-BBH
ASVA-BBI
ASVA-BBJ
ASVA-BBK
ASVA-BBL
ASVA-BBM
ASVA-BBN
ASVA-BBO
ASVA-BBP
ASVA-BBQ
ASVA-BBR
ASVA-BBS
ASVA-BBT
ASVA-BBU
ASVA-BBV
ASVA-BBW
ASVA-BBX
ASVA-BBY
ASVA-BBZ
ASVA-BCA
ASVA-BCB
ASVA-BCC
ASVA-BCD
ASVA-BCE
ASVA-BCF
ASVA-BCG
ASVA-BCH
ASVA-BCI
ASVA-BCJ
ASVA-BCK
ASVA-BCL
ASVA-BCM
ASVA-BCN
ASVA-BCO
ASVA-BCP
ASVA-BCQ
ASVA-BCR
ASVA-BCS
ASVA-BCT
ASVA-BCU
ASVA-BCV
ASVA-BCW
ASVA-BCX
ASVA-BCY
ASVA-BCZ
ASVA-BDA
ASVA-BDB
ASVA-BDC
ASVA-BDD
ASVA-BDE
ASVA-BDF
ASVA-BDG
ASVA-BDH
ASVA-BDI
ASVA-BDJ
ASVA-BDK
ASVA-BDL
ASVA-BDM
ASVA-BDN
ASVA-BDO
ASVA-BDP
ASVA-BDQ
ASVA-BDR
ASVA-BDS
ASVA-BDT
ASVA-BDU
ASVA-BDV
ASVA-BDW
ASVA-BDX
ASVA-BDY
ASVA-BDZ
ASVA-BEA
ASVA-BEB
ASVA-BEC
ASVA-BED
ASVA-BEE
ASVA-BEF
ASVA-BEG
ASVA-BEH
ASVA-BEI
ASVA-BEJ
ASVA-BEK
ASVA-BEL
ASVA-BEM
ASVA-BEN
ASVA-BEO
ASVA-BEP
ASVA-BEQ
ASVA-BER
ASVA-BES
ASVA-BET
ASVA-BEU
ASVA-BEV
ASVA-BEW
ASVA-BEX
ASVA-BEY
ASVA-BEZ
ASVA-BFA
ASVA-BFB
ASVA-BFC
ASVA-BFD
ASVA-BFE
ASVA-BFF
ASVA-BFG
ASVA-BFH
ASVA-BFI
ASVA-BFJ
ASVA-BFK
ASVA-BFL
ASVA-BFM
ASVA-BFN
ASVA-BFO
ASVA-BFP
ASVA-BFQ
ASVA-BFR
ASVA-BFS
ASVA-BFT
ASVA-BFU
ASVA-BFV
ASVA-BFW
ASVA-BFX
ASVA-BFY
ASVA-BFZ
ASVA-BGA
ASVA-BGB
ASVA-BGC
ASVA-BGD
ASVA-BGE
ASVA-BGF
ASVA-BGG
ASVA-BGH
ASVA-BGI
ASVA-BGJ
ASVA-BGK
ASVA-BGL
ASVA-BGM
ASVA-BGN
ASVA-BGO
ASVA-BGP
ASVA-BGQ
ASVA-BGR
ASVA-BGS
ASVA-BGT
ASVA-BGU
ASVA-BGV
ASVA-BGW
ASVA-BGX
ASVA-BGY
ASVA-BGZ
ASVA-BHA
ASVA-BHB
ASVA-BHC
ASVA-BHD
ASVA-BHE
ASVA-BHF
ASVA-BHG
ASVA-BHH
ASVA-BHI
ASVA-BHJ
ASVA-BHK
ASVA-BHL
ASVA-BHM
ASVA-BHN
ASVA-BHO
ASVA-BHP
ASVA-BHQ
ASVA-BHR
ASVA-BHS
ASVA-BHT
ASVA-BHU
ASVA-BHV
ASVA-BHW
ASVA-BHX
ASVA-BHY
ASVA-BHZ
ASVA-BIA
ASVA-BIB
ASVA-BIC
ASVA-BID
ASVA-BIE
ASVA-BIF
ASVA-BIG
ASVA-BIH
ASVA-BII
ASVA-BIJ
ASVA-BIK
ASVA-BIL
ASVA-BIM
ASVA-BIN
ASVA-BIO
ASVA-BIP
ASVA-BIQ
ASVA-BIR
ASVA-BIS
ASVA-BIT
ASVA-BIU
ASVA-BIV
ASVA-BIW
ASVA-BIX
ASVA-BIY
ASVA-BIZ
ASVA-BJA
ASVA-BJB
ASVA-BJC
ASVA-BJD
ASVA-BJE
ASVA-BJF
ASVA-BJG
ASVA-BJH
ASVA-BJI
ASVA-BJJ
ASVA-BJK
ASVA-BJL
ASVA-BJM
ASVA-BJN
ASVA-BJO
ASVA-BJP
ASVA-BJQ
ASVA-BJR
ASVA-BJS
ASVA-BJT
ASVA-BJU
ASVA-BJV
ASVA-BJW
ASVA-BJX
ASVA-BJY
ASVA-BJZ
ASVA-BKA
ASVA-BKB
ASVA-BKC
ASVA-BKD
ASVA-BKE
ASVA-BKF
ASVA-BKG
ASVA-BKH
ASVA-BKI
ASVA-BKJ
ASVA-BKK
ASVA-BKL
ASVA-BKM
ASVA-BKN
ASVA-BKO
ASVA-BKP
ASVA-BKQ
ASVA-BKR
ASVA-BKS
ASVA-BKT
ASVA-BKU
ASVA-BKV
ASVA-BKW
ASVA-BKX
ASVA-BKY
ASVA-BKZ
ASVA-BLA
ASVA-BLB
ASVA-BLC
ASVA-BLD
ASVA-BLE
ASVA-BLF
ASVA-BLG
ASVA-BLH
ASVA-BLI
ASVA-BLJ
ASVA-BLK
ASVA-BLL
ASVA-BLM
ASVA-BLN
ASVA-BLO
ASVA-BLP
ASVA-BLQ
ASVA-BLR
ASVA-BLS
ASVA-BLT
ASVA-BLU
ASVA-BLV
ASVA-BLW
ASVA-BLX
ASVA-BLY
ASVA-BLZ
ASVA-BMA
ASVA-BMB
ASVA-BMC
ASVA-BMD
ASVA-BME
ASVA-BMF
ASVA-BMG
ASVA-BMH
ASVA-BMI
ASVA-BMJ
ASVA-BMK
ASVA-BML
ASVA-BMM
ASVA-BMN
ASVA-BMO
ASVA-BMP
ASVA-BMQ
ASVA-BMR
ASVA-BMS
ASVA-BMT
ASVA-BMU
ASVA-BMV
ASVA-BMW
ASVA-BMX
ASVA-BMY
ASVA-BMZ
ASVA-BNA
ASVA-BNB
ASVA-BNC
ASVA-BND
ASVA-BNE
ASVA-BNF
ASVA-BNG
ASVA-BNH
ASVA-BNI
ASVA-BNJ
ASVA-BNK
ASVA-BNL
ASVA-BNM
ASVA-BNN
ASVA-BNO
ASVA-BNP
ASVA-BNQ
ASVA-BNR
ASVA-BNS
ASVA-BNT
ASVA-BNU
ASVA-BNV
ASVA-BNW
ASVA-BNX
ASVA-BNY
ASVA-BNZ
ASVA-BOA
ASVA-BOB
ASVA-BOC
ASVA-BOD
ASVA-BOE
ASVA-BOF
ASVA-BOG
ASVA-BOH
ASVA-BOI
ASVA-BOJ
ASVA-BOK
ASVA-BOL
ASVA-BOM
ASVA-BON
ASVA-BOO
ASVA-BOP
ASVA-BOQ
ASVA-BOR
ASVA-BOS
ASVA-BOT
ASVA-BOU
ASVA-BOV
ASVA-BOW
ASVA-BOX
ASVA-BOY
ASVA-BOZ
ASVA-BPA
ASVA-BPB
ASVA-BPC
ASVA-BPD
ASVA-BPE
ASVA-BPF
ASVA-BPG
ASVA-BPH
ASVA-BPI
ASVA-BPJ
ASVA-BPK
ASVA-BPL
ASVA-BPM
ASVA-BPN
ASVA-BPO
ASVA-BPP
ASVA-BPQ
ASVA-BPR
ASVA-BPS
ASVA-BPT
ASVA-BPU
ASVA-BPV
ASVA-BPW
ASVA-BPX
ASVA-BPY
ASVA-BPZ
ASVA-BQA
ASVA-BQB
ASVA-BQC
ASVA-BQD
ASVA-BQE
ASVA-BQF
ASVA-BQG
ASVA-BQH
ASVA-BQI
ASVA-BQJ
ASVA-BQK
ASVA-BQL
ASVA-BQM
ASVA-BQN
ASVA-BQO
ASVA-BQP
ASVA-BQQ
ASVA-BQR
ASVA-BQS
ASVA-BQT
ASVA-BQU
ASVA-BQV
ASVA-BQW
ASVA-BQX
ASVA-BQY
ASVA-BQZ
ASVA-BRA
ASVA-BRB
ASVA-BRC
ASVA-BRD
ASVA-BRE
ASVA-BRF
ASVA-BRG
ASVA-BRH
ASVA-BRI
ASVA-BRJ
ASVA-BRK
ASVA-BRL
AS

(220℃)


SWA-1
SWA-2
SWA-3
SWA-4
SWA-5
SWA-6
SWA-7
SWA-8
SWA-9
SWA-10
SWA-11
SWA-12
SWA-13
SWA-14
SWA-15
SWA-16
SWA-17
SWA-18
SWA-19
SWA-20
SWA-21
SWA-22
SWA-23
SWA-24
SWA-25
SWA-26
SWA-27
SWA-28
SWA-29
SWA-30
SWA-31
SWA-32
SWA-33
SWA-34
SWA-35
SWA-36
SWA-37
SWA-38
SWA-39
SWA-40
SWA-41

ADC
DAC
DAC
ADC
DAC
ADC
ADC
DAC
DAC
AD

圖2-3

【C2圖】

(式2)

100
200
300
400
500
600
700
800
900
1000
1100
1200
1300
1400
1500
1600
1700
1800
1900
2000
2100
2200
2300
2400
2500
2600
2700
2800
2900
3000
3100
3200
3300
3400
3500
3600
3700
3800
3900
4000
4100

(式2-C)

(圖223)

(220)

【圖23】

（圖23A）

（圖23）

PSWA-1
PSWA-2
PSWA-3
PSWA-4
PSWA-5
PSWA-6
PSWA-7
PSWA-8
PSWA-9
PSWA-10
PSWA-11
PSWA-12
PSWA-13
PSWA-14
PSWA-15
PSWA-16
PSWA-17
PSWA-18
PSWA-19
PSWA-20
PSWA-21
PSWA-22
PSWA-23
PSWA-24
PSWA-25
PSWA-26
PSWA-27
PSWA-28
PSWA-29
PSWA-30
PSWA-31
PSWA-32
PSWA-33
PSWA-34
PSWA-35
PSWA-36
PSWA-37
PSWA-38
PSWA-39
PSWA-40
PSWA-41

START
ADC
SCL
SDA
VDD
GND
VOUT
VIN
VSS
VSS
VSS

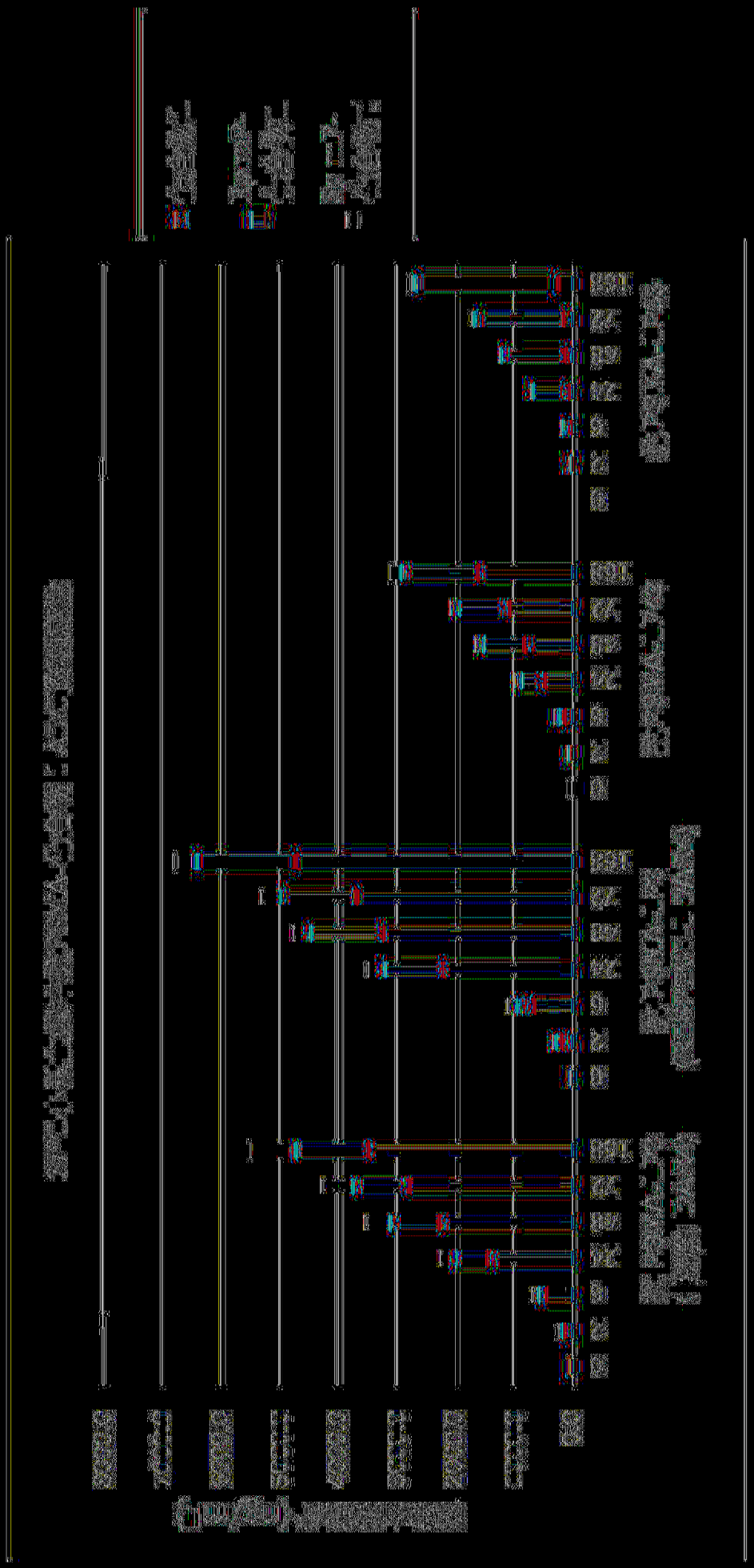
(圖23)

圖23-1

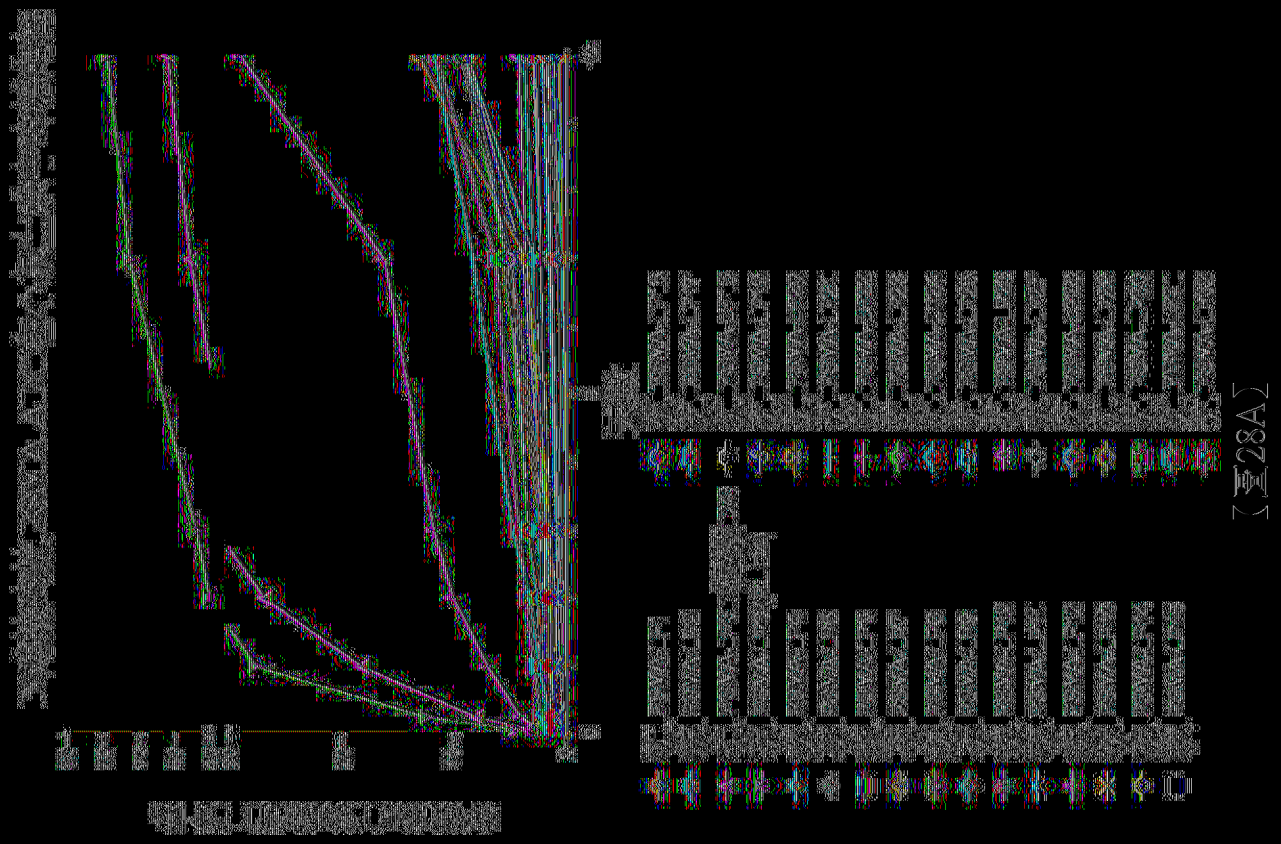
100
200
300
400
500
600
700
800
900
1000
1100
1200
1300
1400
1500
1600
1700
1800
1900
2000
2100
2200
2300
2400
2500
2600
2700
2800
2900
3000
3100
3200
3300
3400
3500
3600
3700
3800
3900
4000
4100

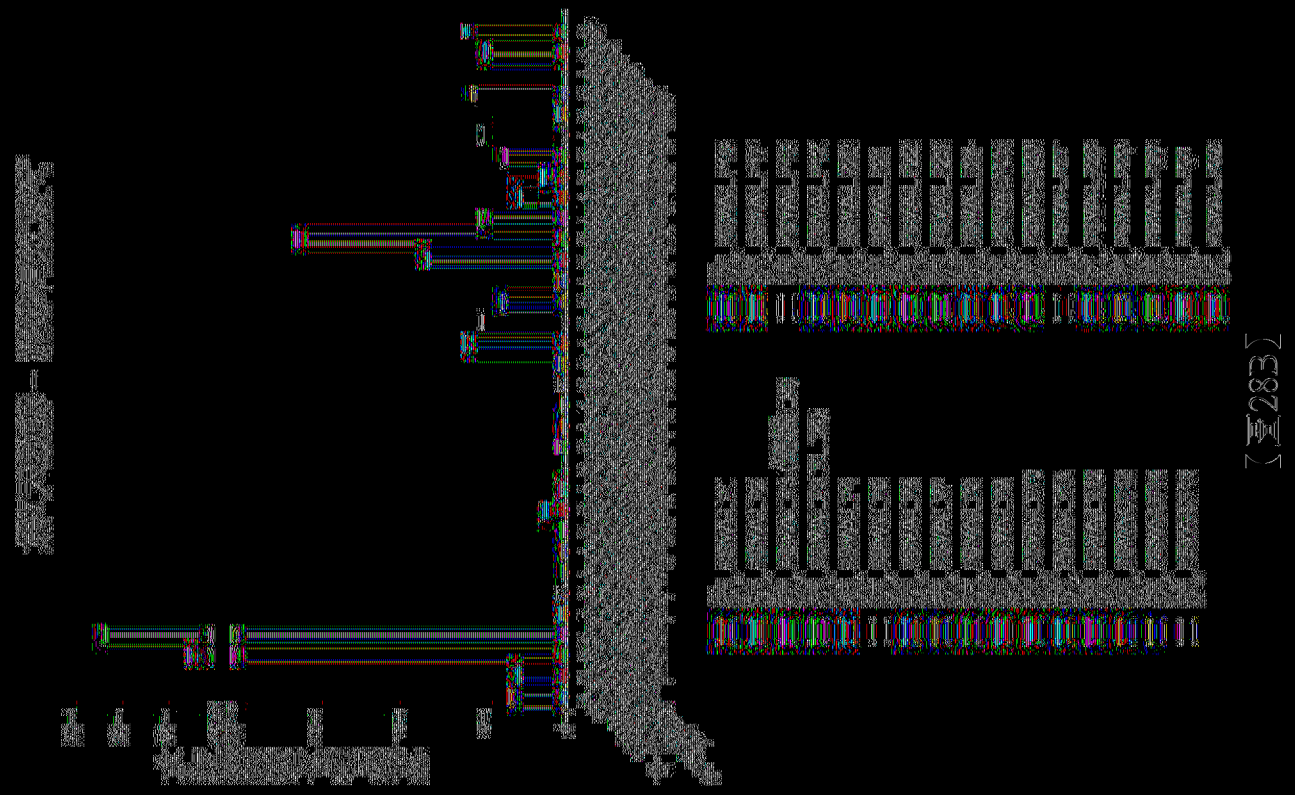
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65
66
67
68
69
70
71
72
73
74
75
76
77
78
79
80
81
82
83
84
85
86
87
88
89
90
91
92
93
94
95
96
97
98
99
100
101
102
103
104
105
106
107
108
109
110
111
112
113
114
115
116
117
118
119
120
121
122
123
124
125
126
127
128
129
130
131
132
133
134
135
136
137
138
139
140
141
142
143
144
145
146
147
148
149
150
151
152
153
154
155
156
157
158
159
160
161
162
163
164
165
166
167
168
169
170
171
172
173
174
175
176
177
178
179
180
181
182
183
184
185
186
187
188
189
190
191
192
193
194
195
196
197
198
199
200
201
202
203
204
205
206
207
208
209
210
211
212
213
214
215
216
217
218
219
220
221
222
223
224
225
226
227
228
229
230
231
232
233
234
235
236
237
238
239
240
241
242
243
244
245
246
247
248
249
250
251
252
253
254
255
256

EX1
EX2
EX3
EX4
EX5
EX6
EX7
EX8
EX9
EX10
EX11
EX12
EX13
EX14
EX15
EX16
EX17
EX18
EX19
EX20
EX21
EX22
EX23
EX24
EX25
EX26
EX27
EX28
EX29
EX30
EX31
EX32
EX33
EX34
EX35
EX36
EX37
EX38
EX39
EX40
EX41



PAR
A
B
C
D
E
F
G
H
I
J
K
L
M
N
O
P
Q
R
S
T
U
V
W
X
Y
Z
AA
AB
AC
AD
AE
AF
AG
AH
AI
AJ
AK
AL
AM
AN
AO
AP
AQ
AR
AS
AT
AU
AV
AW
AX
AY
AZ
BA
BB
BC
BD
BE
BF
BG
BH
BI
BJ
BK
BL
BM
BN
BO
BP
BQ
BR
BS
BT
BU
BV
BW
BX
BY
BZ
CA
CB
CC
CD
CE
CF
CG
CH
CI
CJ
CK
CL
CM
CN
CO
CP
CQ
CR
CS
CT
CU
CV
CW
CX
CY
CZ
DA
DB
DC
DD
DE
DF
DG
DH
DI
DJ
DK
DL
DM
DN
DO
DP
DQ
DR
DS
DT
DU
DV
DW
DX
DY
DZ
EA
EB
EC
ED
EE
EF
EG
EH
EI
EJ
EK
EL
EM
EN
EO
EP
EQ
ER
ES
ET
EU
EV
EW
EX
EY
EZ
FA
FB
FC
FD
FE
FF
FG
FH
FI
FJ
FK
FL
FM
FN
FO
FP
FQ
FR
FS
FT
FU
FV
FW
FX
FY
FZ
GA
GB
GC
GD
GE
GF
GG
GH
GI
GJ
GK
GL
GM
GN
GO
GP
GQ
GR
GS
GT
GU
GV
GW
GX
GY
GZ
HA
HB
HC
HD
HE
HF
HG
HH
HI
HJ
HK
HL
HM
HN
HO
HP
HQ
HR
HS
HT
HU
HV
HW
HX
HY
HZ
IA
IB
IC
ID
IE
IF
IG
IH
II
IJ
IK
IL
IM
IN
IO
IP
IQ
IR
IS
IT
IU
IV
IW
IX
IY
IZ
JA
JB
JC
JD
JE
JF
JG
JH
JI
JJ
JK
JL
JM
JN
JO
JP
JQ
JR
JS
JT
JU
JV
JW
JX
JY
JZ
KA
KB
KC
KD
KE
KF
KG
KH
KI
KJ
KK
KL
KM
KN
KO
KP
KQ
KR
KS
KT
KU
KV
KW
KX
KY
KZ
LA
LB
LC
LD
LE
LF
LG
LH
LI
LJ
LK
LL
LM
LN
LO
LP
LQ
LR
LS
LT
LU
LV
LW
LX
LY
LZ
MA
MB
MC
MD
ME
MF
MG
MH
MI
MJ
MK
ML
MM
MN
MO
MP
MQ
MR
MS
MT
MU
MV
MW
MX
MY
MZ
NA
NB
NC
ND
NE
NF
NG
NH
NI
NJ
NK
NL
NM
NN
NO
NP
NQ
NR
NS
NT
NU
NV
NW
NX
NY
NZ
OA
OB
OC
OD
OE
OF
OG
OH
OI
OJ
OK
OL
OM
ON
OO
OP
OQ
OR
OS
OT
OU
OV
OW
OX
OY
OZ
PA
PB
PC
PD
PE
PF
PG
PH
PI
PJ
PK
PL
PM
PN
PO
PP
PQ
PR
PS
PT
PU
PV
PW
PX
PY
PZ
QA
QB
QC
QD
QE
QF
QG
QH
QI
QJ
QK
QL
QM
QN
QO
QP
QQ
QR
QS
QT
QU
QV
QW
QX
QY
QZ
RA
RB
RC
RD
RE
RF
RG
RH
RI
RJ
RK
RL
RM
RN
RO
RP
RQ
RR
RS
RT
RU
RV
RW
RX
RY
RZ
SA
SB
SC
SD
SE
SF
SG
SH
SI
SJ
SK
SL
SM
SN
SO
SP
SQ
SR
SS
ST
SU
SV
SW
SX
SY
SZ
TA
TB
TC
TD
TE
TF
TG
TH
TI
TJ
TK
TL
TM
TN
TO
TP
TQ
TR
TS
TT
TU
TV
TW
TX
TY
TZ
UA
UB
UC
UD
UE
UF
UG
UH
UI
UJ
UK
UL
UM
UN
UO
UP
UQ
UR
US
UT
UU
UV
UW
UX
UY
UZ
VA
VB
VC
VD
VE
VF
VG
VH
VI
VJ
VK
VL
VM
VN
VO
VP
VQ
VR
VS
VT
VU
VV
VW
VX
VY
VZ
WA
WB
WC
WD
WE
WF
WG
WH
WI
WJ
WK
WL
WM
WN
WO
WP
WQ
WR
WS
WT
WU
WV
WW
WX
WY
WZ
XA
XB
XC
XD
XE
XF
XG
XH
XI
XJ
XK
XL
XM
XN
XO
XP
XQ
XR
XS
XT
XU
XV
XW
XX
XY
XZ
YA
YB
YC
YD
YE
YF
YG
YH
YI
YJ
YK
YL
YM
YN
YO
YP
YQ
YR
YS
YT
YU
YV
YW
YX
YY
YZ
ZA
ZB
ZC
ZD
ZE
ZF
ZG
ZH
ZI
ZJ
ZK
ZL
ZM
ZN
ZO
ZP
ZQ
ZR
ZS
ZT
ZU
ZV
ZW
ZX
ZY
ZZ





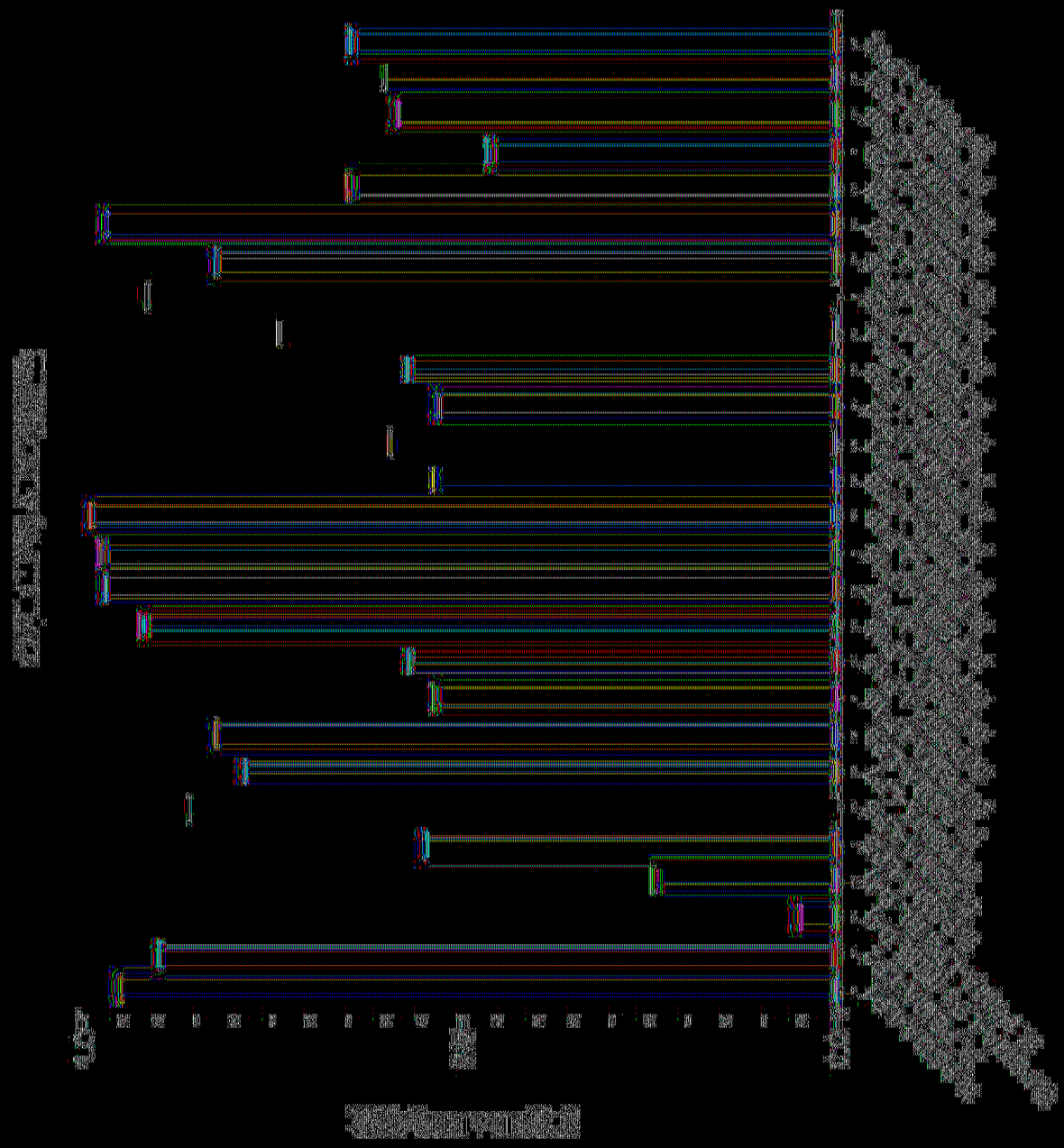


圖3

圖3A7

圖 37（續）

圖 3 (a) ~ (d)

圖 5

(27)
(42)

FIG.3D

圖 7

345

FIG. 67

(57)

圖 47（5）

圖 7（續）

圖 5-7 (續)

【發明說明書】

【中文發明名稱】　抗PSMA抗體、軛合物及使用方法

【英文發明名稱】　ANTI-PSMA ANTIBODIES, CONJUGATES, AND METHODS OF USE

【技術領域】

【0001】本揭露關於抗PSMA抗體及其抗原結合片段，以及軛合物（如抗體藥物軛合物（ADC）、例如包含STING促效劑的那些軛合物），以及它們用於治療和診斷表現PSMA和/或適合於藉由調節STING通路活性或藉由投與本文揭露的組成物進行治療的癌症之用途。

【先前技術】

【0002】前列腺癌係第二常見的癌症類型，也是男性癌症死亡的第二大原因。目前轉移性前列腺癌的治療選擇有限且此類病例的預後較差，需要開發更有效的治療方法。

【0003】前列腺特異性膜抗原（PSMA）係一種在前列腺癌中高表現的細胞表面抗原。PSMA的表現水平隨著前列腺癌的進展而增加，並且在轉移部位維持PSMA的高表現。先前已經產生了抗PSMA抗體，包括在人類中具有減少的免疫原性的經修飾的抗體。參見，例如美國專利案號7,045,605和美國專利案號11,059,903。結合PSMA的抗體的實例係J591和去免疫J591（deJ591）。deJ591抗體的重鏈可變結構域的胺基酸序列在本文中給出為SEQ ID NO: 40，並且相應的輕鏈可變結構域在本文中給出為SEQ ID NO: 41。然而，使用這種抗體

的臨床試驗已顯示出免疫原性的不良影響，包括骨髓抑制和肝酶異常。參見，例如de Bono等人 (2021) Clin Cancer Res [臨床癌症研究] 27 (13): 3602-3609。仍然需要改進的PSMA抗體，例如完全人源化以最大限度地減少免疫原性同時保留所需特性（如良好的靶標結合親和力、低脫靶結合和良好的穩定性）的那些抗體。

【0004】鑒於PSMA在前列腺癌中的高表現，它可以用作腫瘤抗原特異性藥物遞送方法（例如，抗體介導之方法）的靶標。還探索了與細胞毒性化合物（如化療藥）軛合的抗體，以增強基於抗體的藥物遞送至腫瘤細胞的細胞殺傷活性。然而，仍然需要提供合適的抗體和/或ADC，例如提供有效的前列腺腫瘤靶向、中靶效應和/或減少的脫靶效應的組合的那些。

【0005】STING（干擾素基因刺激因子）係一種模式識別受體，可感知胞質溶膠中的環狀二核苷酸並誘導I型干擾素和其他炎性細胞介素（例如，干擾素-β（IFN-β）、腫瘤壞死因子α（TNFα）、C-X-C模體趨化因子配體10（CXCL10）、白細胞介素-6（IL-6））的表現，進而介導對感染或疾病（例如癌症）的先天免疫反應。STING傳訊已被證明具有抗腫瘤作用，例如調節脈管系統和增強適應性免疫。第一代STING促效劑（例如環狀二核苷酸）通常需要腫瘤內注射並且僅顯示出適度的全身功效。該等STING促效劑的膜滲透性也很差，這可能會限制它們在細胞內部接合STING的能力。

【0006】儘管本領域已經報導了STING促效劑用於治療感染或疾病之用途，但是對於允許全身投與特異性靶向腫瘤位點的STING促效劑的遞送系統的需求仍然未得到滿足。同樣，本領域仍然需要改進的結合PSMA的抗體，其具

有優異的特性，例如在抗原結合和/或將有效載荷（如STING促效劑）有效遞送至表現PSMA的靶細胞或組織的能力方面。

【發明內容】

【0007】 在各個實施方式中，本揭露部分地提供了能夠特異性結合PSMA並且可以單獨使用或與一種或多種額外的藥劑（例如，作為ADC）連接並作為藥物組成物的一部分投與的新型抗體和抗原結合片段。在一些實施方式中，本揭露的抗體、抗原結合片段和/或ADC可用於減緩、抑制和/或逆轉哺乳動物中的腫瘤生長，並且可用於治療人類癌症患者。

【0008】 在各個實施方式中，本揭露更具體地關於能夠結合和/或殺傷表現PSMA的細胞的抗體和抗體-藥物軛合物化合物。在各個實施方式中，該等化合物在結合後還能夠內化到表現PSMA的靶細胞中。揭露了包含如下連接子（linker）的抗PSMA-ADC化合物，該連接子將STING促效劑部分（例如式(III)、式(IV)、或表14的化合物、例如化合物1）與抗PSMA抗體部分附接。抗PSMA抗體部分可以是全長抗體或抗原結合片段。

【0009】 在各個實施方式中，本揭露提供了人源化抗前列腺特異性膜抗原（PSMA）抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或抗原結合片段特異性結合人PSMA，並且其中該抗體或抗原結合片段包含 (i) 三個HCDR，其包含以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 21（HCDR1）、SEQ ID NO: 22（HCDR2）和SEQ ID NO: 27（HCDR3）；以及三個LCDR，其包含SEQ ID NO: 32（LCDR1）、SEQ ID NO: 35（LCDR2）和SEQ ID NO: 37（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的；或 (ii) 三個HCDR，其包含以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 21（HCDR1）、SEQ ID NO: 22（HCDR2）和SEQ ID NO: 27（HCDR3）；以及三個LCDR，其

包含SEQ ID NO: 33（LCDR1）、SEQ ID NO: 36（LCDR2）和SEQ ID NO: 37（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的；或 (iii) 三個HCDR，其包含以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 28（HCDR1）、SEQ ID NO: 29（HCDR2）和SEQ ID NO: 30（HCDR3）；以及三個LCDR，其包含SEQ ID NO: 38（LCDR1）、SEQ ID NO: 39（LCDR2）和SEQ ID NO: 37（LCDR3），如由IMGT編號系統所定義的。

【0010】 在一些實施方式中，抗PSMA抗體或抗原結合片段包含三個HCDR，其包含以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 21（HCDR1）、SEQ ID NO: 22（HCDR2）和SEQ ID NO: 27（HCDR3）；以及三個LCDR，其包含SEQ ID NO: 32（LCDR1）、SEQ ID NO: 35（LCDR2）和SEQ ID NO: 37（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的；或三個HCDR，其包含以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 28（HCDR1）、SEQ ID NO: 29（HCDR2）和SEQ ID NO: 30（HCDR3）；以及三個LCDR，其包含SEQ ID NO: 38（LCDR1）、SEQ ID NO: 39（LCDR2）和SEQ ID NO: 37（LCDR3），如由IMGT編號系統所定義的。

【0011】 在一些實施方式中，抗PSMA抗體或抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 1的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 15的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，抗PSMA抗體或抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 2的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 15的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，抗PSMA抗體或抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 3的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 15的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，抗PSMA抗體或抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 14的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 15的胺基酸序列的輕鏈可變區。

在一些實施方式中，抗PSMA抗體或抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 14的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 19的胺基酸序列的輕鏈可變區。

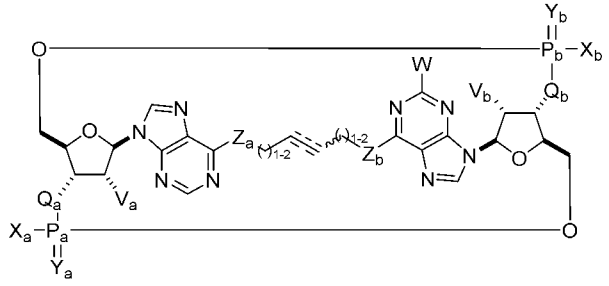
【0012】 在一些實施方式中，抗PSMA抗體或抗原結合片段包含人IgG1重鏈恒定區。在一些實施方式中，抗PSMA抗體或抗原結合片段包含人Igκ輕鏈恒定區。

【0013】 在一些實施方式中，抗PSMA抗原結合片段具有> 80°C的解鏈溫度（Tm）。在一些實施方式中，抗原結合片段係Fab。

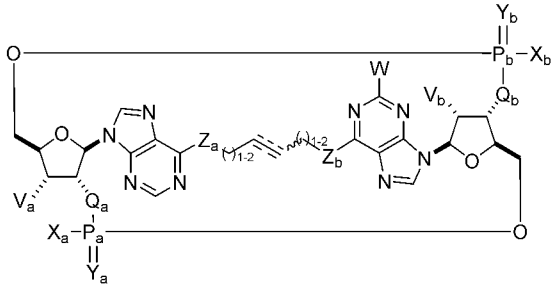
【0014】 在一些實施方式中，抗PSMA抗體或抗原結合片段與至少一個連接子附接。在一些實施方式中，至少一個連接子係可切割的。在一些實施方式中，至少一個連接子與細胞毒性劑或可檢測試劑軛合。

【0015】 在各個實施方式中，本揭露還部分地提供了新型連接子-有效載荷軛合物。在各個實施方式中，本揭露更具體地關於包含如下連接子的連接子-有效載荷軛合物，該連接子將STING促效劑部分（例如式 (III)、式 (IV)、或表14的化合物、例如化合物1）與抗PSMA抗體部分附接。

【0016】 在各個實施方式中，本揭露提供了一種包含L-D的連接子-有效載荷軛合物，其中L係與D共價附接的連接子，其中D包含根據下式之一的化合物：



式 (III)，



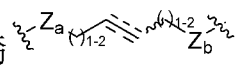
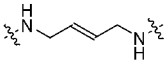
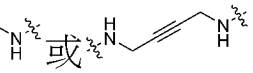
式 (IV)，

其異構物、該化合物或異構物的氘代衍生物；或者該化合物、異構物或氘代衍生物的鹽；

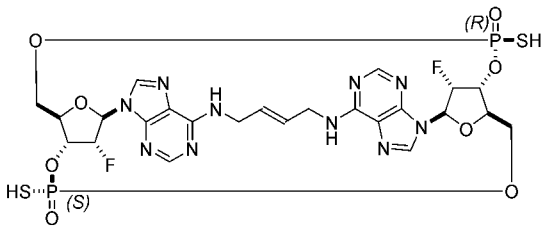
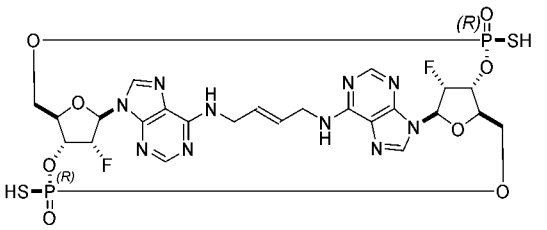
其中，對於每次出現獨立地是：

- P_a和P_b中的每個，當不是外消旋時，獨立地選自(*R*)-立體化學和(*S*)-立體化學；
- Q_a和Q_b中的每個獨立地選自NH和O；
- V_a和V_b中的每個獨立地選自F和OH；
- W選自H和NH_2；
- X_a和X_b中的每個獨立地選自OH和SH；
- Y_a和Y_b中的每個獨立地選自O和S；
- Z_a和Z_b各自獨立地選自CH_2、O和NH；以及
- ≡意味著鍵選自單鍵（－）、(*E*)-或(*Z*)-組態的雙鍵（＝）、或三鍵（≡）；

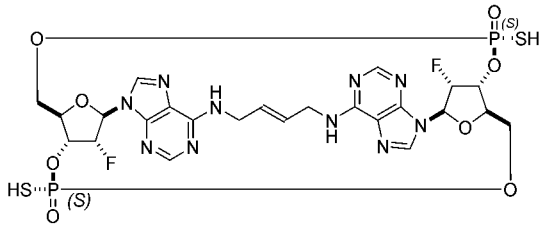
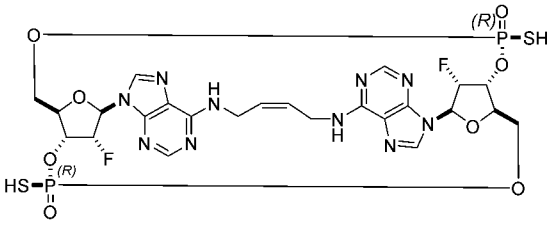
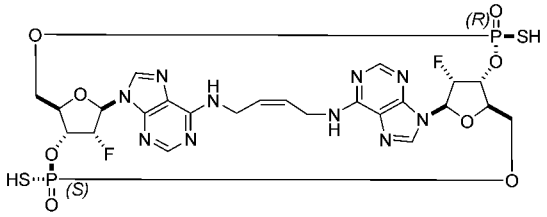
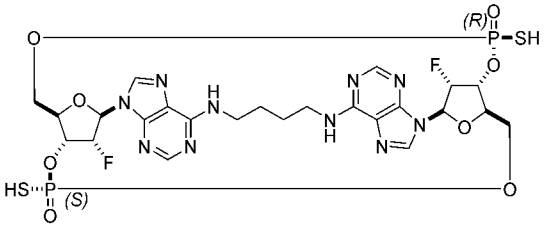
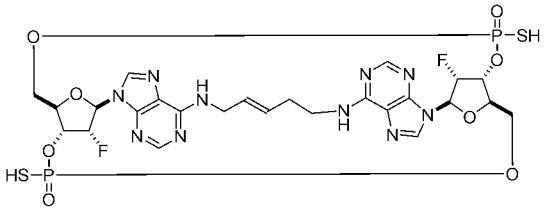
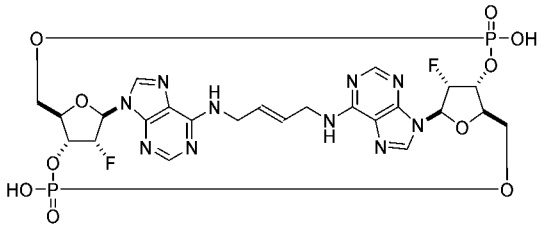
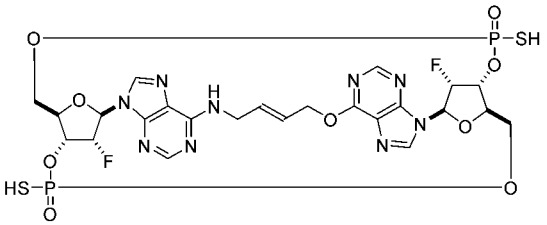
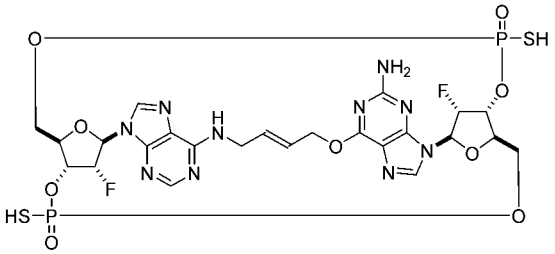
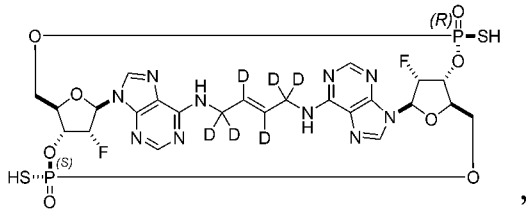
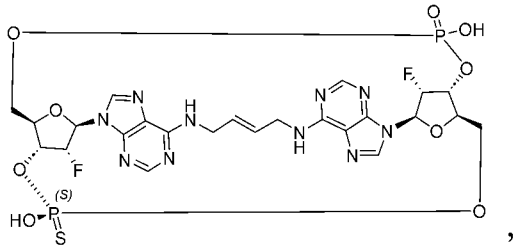
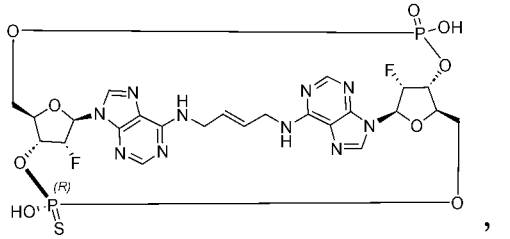
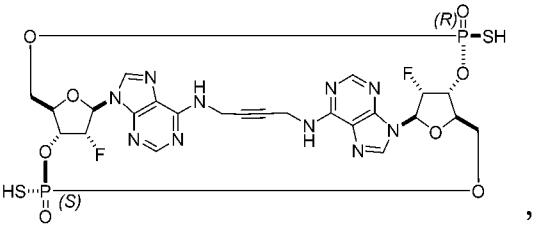
條件係Z_a和Z_b中的至少一個係NH或X_a和X_b中的至少一個係SH。

【0017】在一些實施方式中，P_a係(*S*)-組態且P_b係(*R*)-組態。在一些實施方式中，P_a係(*R*)-組態且P_b係(*R*)-組態。在一些實施方式中，Q_a和Q_b係O。在一些實施方式中，V_a和V_b係OH。在一些實施方式中，V_a和V_b係F。在一些實施方式中，W係H。在一些實施方式中，Z_a和Z_b中的至少一個係NH。在一些實施方式中，Z_a和Z_b係NH。在一些實施方式中，≡包含(*E*)-或(*Z*)-組態的雙鍵（＝）。在一些實施方式中，橋  具有結構  或  。在一些實施方式中，Y_a和Y_b中的至少一個係O。在一些實施方式中，Y_a和Y_b係O。在一些實施方式中，X_a和X_b中的至少一個係SH。在一些實施方式中，X_a和X_b係SH。在一些實施方式中，D包含具有式 (III) 的化合物。

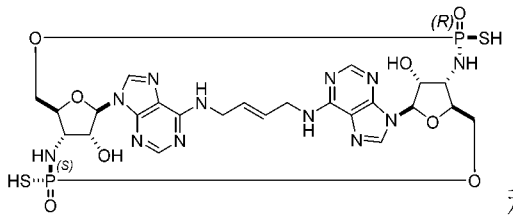
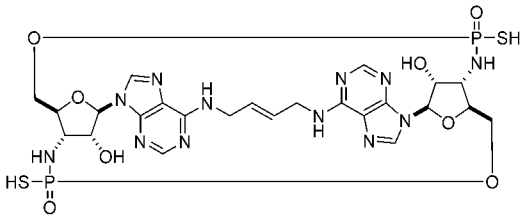
【0018】在一些實施方式中，D包含選自以下的具有式 (III) 的化合物：


,

,

化合物1

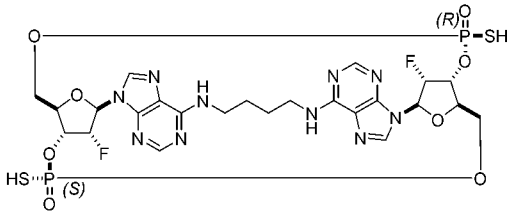
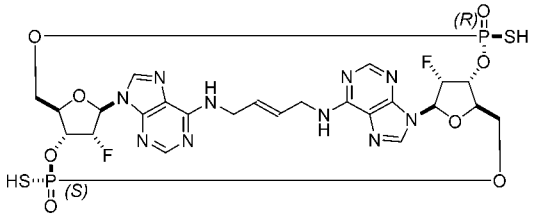

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

化合物2

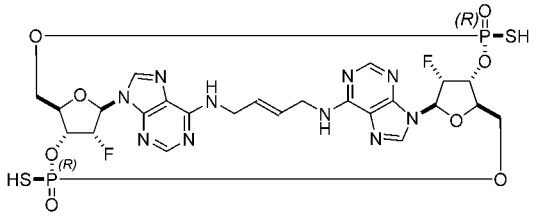
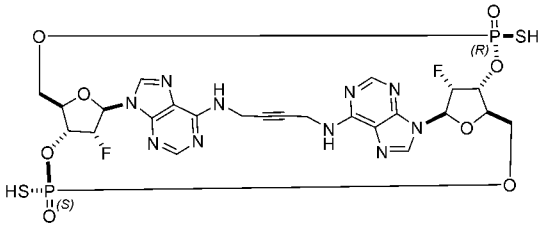

和

，

及其鹽。

【0019】在一些實施方式中，D包含選自以下的具有式 (III) 的化合物：


，

，

化合物1


和

，

化合物2

及其鹽。

【0020】在一些實施方式中，D包含化合物1。

【0021】在一些實施方式中，D包含化合物2。

【0022】在一些實施方式中，X_a和X_b中的至少一個係SH並且L藉由S-2硫或S-14硫處的硫原子與D附接。在一些實施方式中，X_b係SH並且L在S-2硫處與D附接。在一些實施方式中，X_a係SH並且L在S-14硫處與D附接。

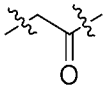
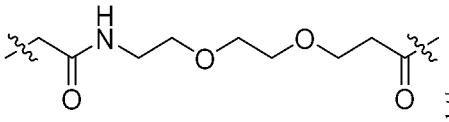
【0023】在一些實施方式中，Z_a和Z_b中的至少一個係NH並且L藉由N-34氮或N-39氮處的氮原子與D附接。在一些實施方式中，Z_b係NH並且L在N-34氮處與D附接。在一些實施方式中，Z_a係NH並且L在N-39氮處與D附接。

【0024】在一些實施方式中，L係可切割連接子。在一些實施方式中，可切割連接子包含可切割肽部分。在一些實施方式中，可切割肽部分可被蛋白酶

切割，視需要其中該蛋白酶係組織蛋白酶或半胱胺酸蛋白酶（legumain）。在一些實施方式中，可切割肽部分包含胺基酸單元。在一些實施方式中，胺基酸單元包含Val-Ala、Val-Cit、Val-Lys、Ala-Ala-Asn、Ala-(NMe)Ala-Asn、Asn、Gly-Gly-Phe-Gly（SEQ ID NO: 141）、Glu-Val-Ala、或Gly-Val-Ala。在一些實施方式中，可切割連接子包含Val-Cit。在一些實施方式中，可切割連接子包含Val-Ala。

【0025】在一些實施方式中，連接子包含馬來醯亞胺（Mal）部分。在一些實施方式中，Mal部分包含馬來醯亞胺基己醯基（MC）。在一些實施方式中，Mal部分藉由抗體或抗原結合片段上的半胱胺酸殘基與該抗體或抗原結合片段接合。

【0026】在一些實施方式中，連接子進一步包含至少一個間隔子單元。在一些實施方式中，至少一個間隔子單元包含至少一個聚乙二醇（PEG）部分。在一些實施方式中，至少一個PEG部分包含-$(PEG)_m$-並且*m*係1至10的整數。在一些實施方式中，*m*係2至8的整數。在一些實施方式中，m係2至5的整數。在一些實施方式中，*m*係2。在一些實施方式中，至少一個間隔子單元包含PEG_2-Lys(ε-PEG_8-OMe)-PEG_2。

【0027】在一些實施方式中，至少一個間隔子單元包含  。在一些實施方式中，至少一個間隔子單元包含  式(II)。

【0028】在一些實施方式中，連接子進一步包含至少一個自消解單元（self-immolative unit）。在一些實施方式中，連接子包含第一自消解單元。在一些實施方式中，在藉由第一自消解單元的自消解切割連接子後，該連接子能夠從D中除去。在一些實施方式中，第一自消解單元包含視需要被選自甲基、氟、氯、三氟甲基、芳基和雜芳基的1-3個取代基取代的對胺基苄基（pAB）。

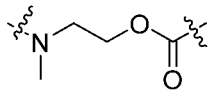
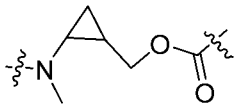
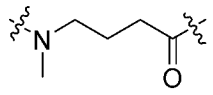
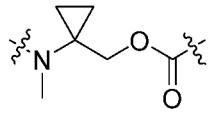
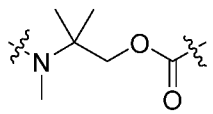
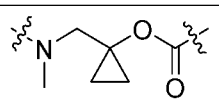
在一些實施方式中，第一自消解單元包含對胺基苄基（pAB）。在一些實施方式中，連接子包含MC-Val-Ala-pAB。

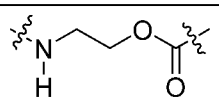
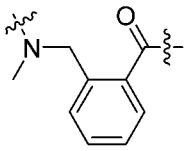
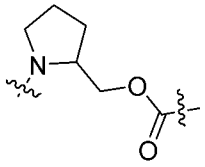
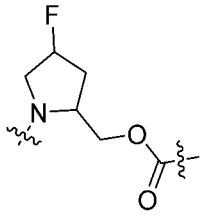
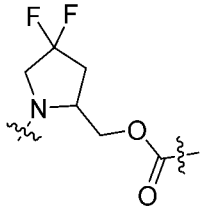
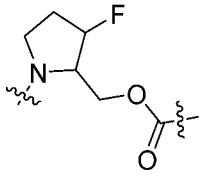
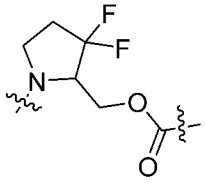
【0029】在一些實施方式中，第一自消解單元包含對胺基苄氧基羰基（pABC）。

【0030】在一些實施方式中，連接子進一步包含第二自消解單元。在一些實施方式中，在藉由第一自消解單元的自消解和/或第二自消解單元的自消解切割連接子後，該連接子能夠從D中除去。在一些實施方式中，在藉由第一自消解單元的自消解、然後是第二自消解單元的自消解以逐步方式切割連接子後，該連接子從D中除去。

【0031】在一些實施方式中，連接子包含可切割連接子、第一自消解單元、和第二自消解單元。在一些實施方式中，可切割連接子包含Val-Ala。在一些實施方式中，可切割連接子包含Val-Cit。在一些實施方式中，可切割連接子包含式 (II)。

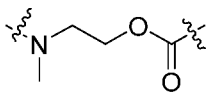
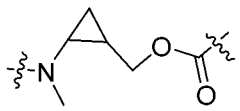
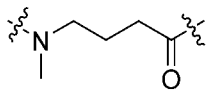
【0032】在一些實施方式中，第二自消解單元包含以下部分之一：

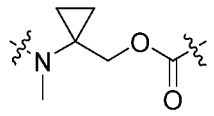
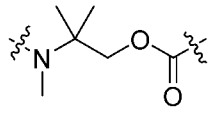
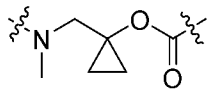
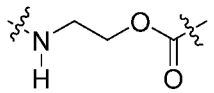
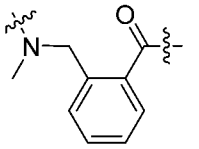
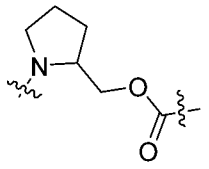
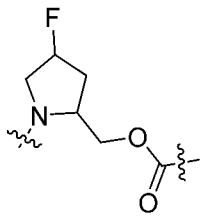
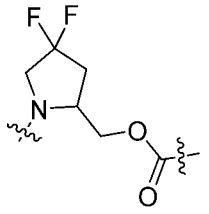
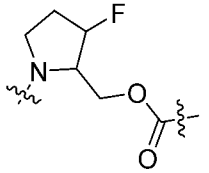
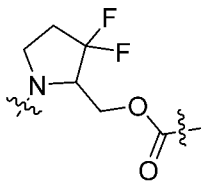
第二自消解單元	化學結構
單元1（MEC）	
單元2	
單元3	
單元4	
單元5	
單元6	

單元7	
單元8	
單元9	
單元10	
單元11	
單元12	
單元13	

或其異構物。

【0033】在一些實施方式中，可切割連接子包含Val-Ala，並且其中第二自消解單元包含以下部分之一：

第二自消解單元	化學結構
單元1（MEC）	
單元2	
單元3	

單元4	
單元5	
單元6	
單元7	
單元8	
單元9	
單元10	
單元11	
單元12	
單元13	

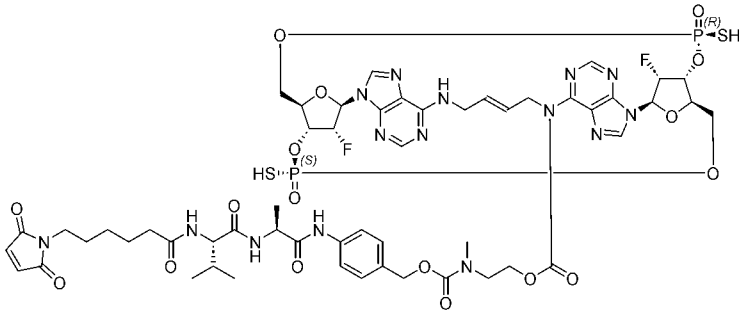
或其異構物。

【0034】在一些實施方式中，第二自消解單元包含單元1（MEC）部分。在一些實施方式中，第二自消解單元包含單元8部分。在一些實施方式中，第

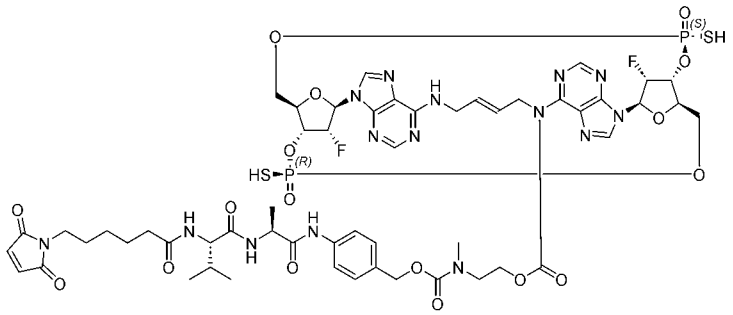
二自消解單元包含單元11部分。在一些實施方式中，第二自消解單元包含單元9部分。

【0035】在一些實施方式中，連接子包含Val-Ala-pABC-MEC部分。在一些實施方式中，連接子包含MC-Val-Ala-pABC-MEC部分。

【0036】在一些實施方式中，L-D包含LP1：



、或LP2：

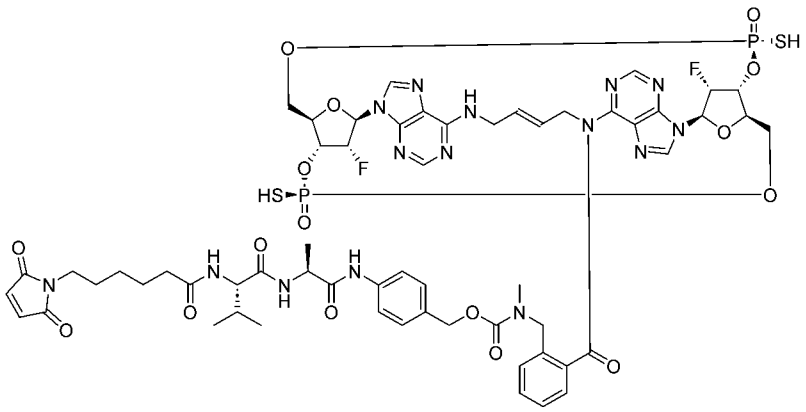


。

【0037】在一些實施方式中，連接子包含Val-Cit-pABC-MEC部分。在一些實施方式中，連接子包含MC-Val-Cit-pABC-MEC部分。在一些實施方式中，MC-Val-Cit-pABC-MEC-化合物1。

【0038】在一些實施方式中，連接子包含Val-Ala-pABC-單元8部分。在一些實施方式中，連接子包含MC-Val-Ala-pABC-單元8部分。

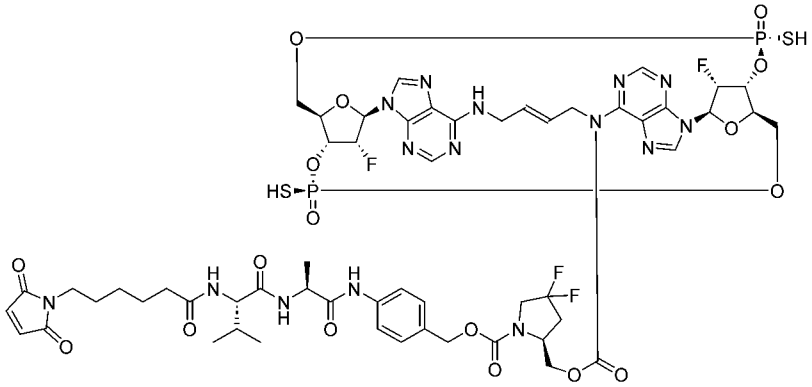
【0039】在一些實施方式中，L-D包含LP16：



【0040】在一些實施方式中，連接子包含Val-Cit-pABC-單元8部分。在一些實施方式中，連接子包含MC-Val-Cit-pABC-單元8部分。在一些實施方式中，L-D包含MC-Val-Cit-pABC-單元8-化合物1。

【0041】在一些實施方式中，連接子包含Val-Ala-pABC-單元11部分。在一些實施方式中，連接子包含MC-Val-Ala-pABC-單元11部分。

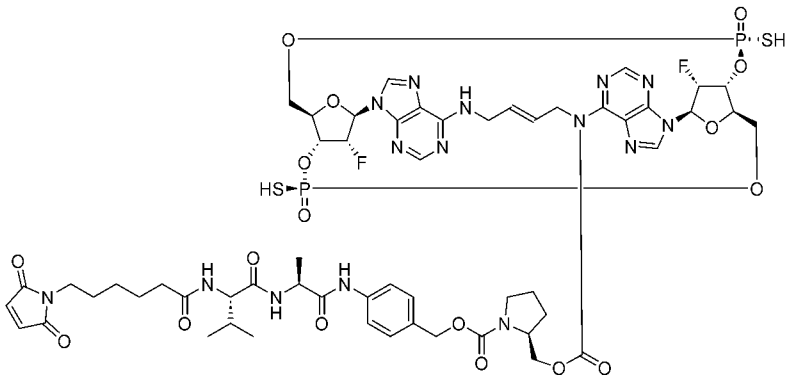
【0042】在一些實施方式中，L-D包含LP28：



【0043】在一些實施方式中，連接子包含Val-Cit-pABC-單元11部分。在一些實施方式中，連接子包含MC-Val-Cit-pABC-單元11部分。在一些實施方式中，L-D包含MC-Val-Cit-pABC-單元11-化合物1。

【0044】在一些實施方式中，連接子包含Val-Ala-pABC-單元9部分。在一些實施方式中，連接子包含MC-Val-Ala-pABC-單元9部分。

【0045】在一些實施方式中，L-D包含LP20：



【0046】在一些實施方式中，連接子包含Val-Cit-pABC-單元9部分。在一些實施方式中，連接子包含MC-Val-Cit-pABC-單元9部分。在一些實施方式中，L-D包含MC-Val-Cit-pABC-單元9-化合物1。

【0047】在一些實施方式中，連接子包含式 (II)-Val-Cit-pABC。在一些實施方式中，連接子包含式 (II)-Val-Cit-pABC-MEC部分。在一些實施方式中，連接子包含Mal-式 (II)-Val-Cit-pABC-MEC部分。在一些實施方式中，L-D包含Mal-式 (II)-Val-Cit-pABC-MEC-化合物1。在一些實施方式中，連接子包含式 (II)-Val-Cit-pABC-單元8部分。在一些實施方式中，連接子包含Mal-式 (II)-Val-Cit-pABC-單元8部分。在一些實施方式中，L-D包含Mal-式 (II)-Val-Cit-pABC-單元8-化合物1。在一些實施方式中，連接子包含式 (II)-Val-Cit-pABC-單元11部分。在一些實施方式中，連接子包含Mal-式 (II)-Val-Cit-pABC-單元11部分。在一些實施方式中，L-D包含Mal-式 (II)-Val-Cit-pABC-單元11-化合物1。在一些實施方式中，連接子包含式 (II)-Val-Cit-pABC-單元9部分。在一些實施方式中，連接子包含Mal-式 (II)-Val-Cit-pABC-單元9部分。在一些實施方式中，L-D包含Mal-式 (II)-Val-Cit-pABC-單元9-化合物1。

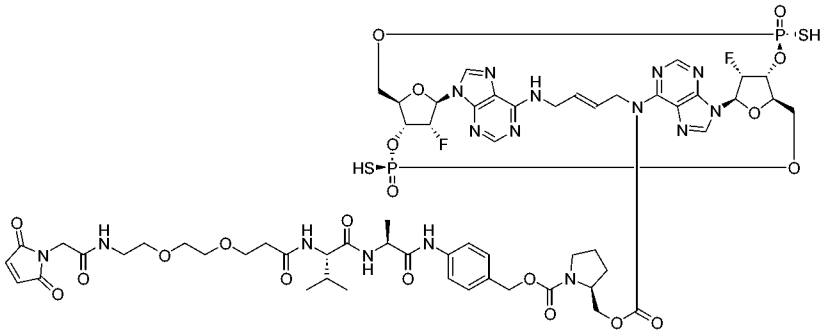
【0048】在一些實施方式中，連接子包含式 (II)-Val-Ala-pABC。在一些實施方式中，連接子包含式 (II)-Val-Ala-pABC-MEC部分。在一些實施方式中，連接子包含Mal-式 (II)-Val-Ala-pABC-MEC部分。在一些實施方式中，L-D包含Mal-式 (II)-Val-Ala-pABC-MEC-化合物1。在一些實施方式中，連接子包含

式 (II)-Val-Ala-pABC-單元8部分。在一些實施方式中，連接子包含Mal-式 (II)-Val-Ala-pABC-單元8部分。在一些實施方式中，L-D包含Mal-式 (II)-Val-Ala-pABC-單元8-化合物1。在一些實施方式中，連接子包含式 (II)-Val-Ala-pABC-單元11部分。在一些實施方式中，連接子包含Mal-式 (II)-Val-Ala-pABC-單元11部分。在一些實施方式中，L-D包含Mal-式 (II)-Val-Ala-pABC-單元11-化合物1。在一些實施方式中，連接子包含式 (II)-Val-Ala-pABC-單元9部分。在一些實施方式中，連接子包含Mal-式 (II)-Val-Ala-pABC-單元9部分。在一些實施方式中，L-D包含Mal-式 (II)-Val-Ala-pABC-單元9-化合物1。

【0049】 在一些實施方式中，連接子包含式 (II)-Val-Cit-pAB。在一些實施方式中，連接子包含式 (II)-Val-Cit-pAB-單元9部分。在一些實施方式中，連接子包含Mal-式 (II)-Val-Cit-pAB。在一些實施方式中，連接子包含Mal-式 (II)-Val-Cit-pAB-單元9部分。在一些實施方式中，L-D包含Mal-式 (II)-Val-Cit-pAB-單元9-化合物1。

【0050】 在一些實施方式中，連接子包含式 (II)-Val-Ala-pAB。在一些實施方式中，連接子包含式 (II)-Val-Ala-pAB-單元9部分。在一些實施方式中，連接子包含Mal-式 (II)-Val-Ala-pAB。在一些實施方式中，連接子包含Mal-式 (II)-Val-Ala-pAB-單元9部分。

【0051】 在一些實施方式中，L-D包含LP25：

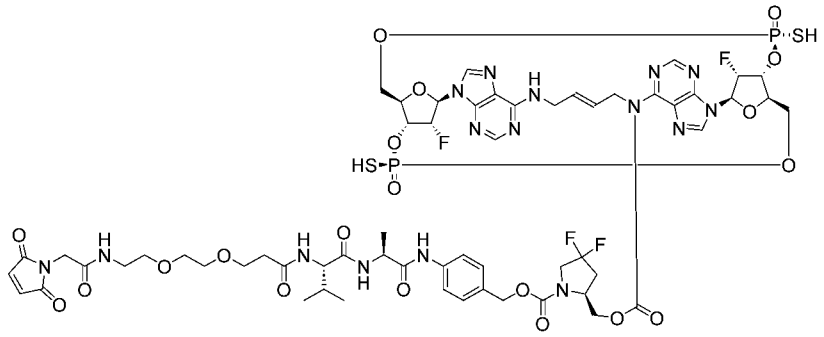


。

【0052】在一些實施方式中，連接子包含式 (II)-Val-Cit-pAB-單元11部分。在一些實施方式中，連接子包含Mal-式 (II)-Val-Cit-pAB-單元11部分。在一些實施方式中，L-D包含Mal-式 (II)-Val-Cit-pAB-單元11-化合物1。

【0053】在一些實施方式中，連接子包含式 (II)-Val-Ala-pAB-單元11部分。在一些實施方式中，連接子包含Mal-式 (II)-Val-Ala-pAB-單元11部分。

【0054】在一些實施方式中，L-D包含LP26：



。

【0055】在各個實施方式中，本揭露提供了一種具有式 (I) 的抗體-藥物軛合物：

$Ab\text{-}(L\text{-}D)_p$ (I)

其中Ab係本文揭露的抗PSMA抗體或其抗原結合片段；L-D係本文揭露的連接子-有效載荷軛合物；並且*p*係1至20的整數。

【0056】在一些實施方式中，*p*係1至12的整數。在一些實施方式中，*p*係2至8的整數。在一些實施方式中，*p*係2至4的整數。在一些實施方式中，*p*係2。在一些實施方式中，*p*係4。

【0057】在一些實施方式中，可切割連接子包含可切割部分，該可切割部分的位置使得在切割時連接子或者抗體或抗原結合片段的任何部分不與D保持結合。

【0058】在一些實施方式中，連接子-有效載荷軛合物藉由Mal部分與抗體或抗原結合片段附接。在一些實施方式中，Mal部分藉由抗體或抗原結合片

段上的半胱胺酸殘基與該抗體或抗原結合片段接合。在一些實施方式中，半胱胺酸殘基位於抗體或抗原結合片段的輕鏈上。在一些實施方式中，半胱胺酸殘基位於抗體或抗原結合片段的重鏈上。

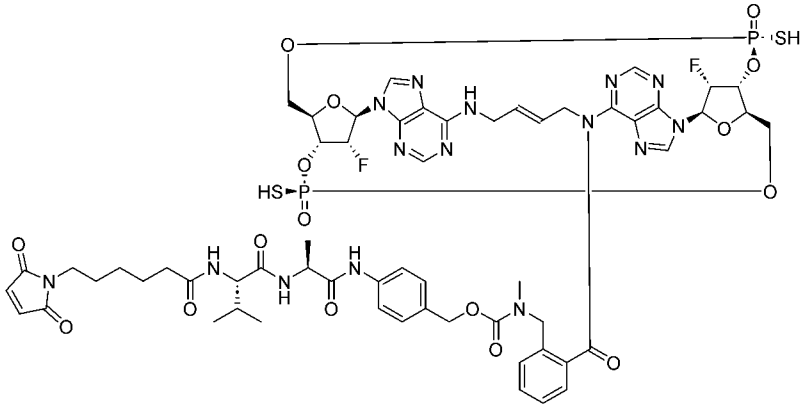
【0059】在一些實施方式中，抗體或抗原結合片段包含三個HCDR，其包含以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 21（HCDR1）、SEQ ID NO: 22（HCDR2）和SEQ ID NO: 27（HCDR3）；以及三個LCDR，其包含以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 32（LCDR1）、SEQ ID NO: 34（LCDR2）和SEQ ID NO: 36（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的。

【0060】在一些實施方式中，抗體或抗原結合片段包含三個HCDR，其包含以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 28（HCDR1）、SEQ ID NO: 29（HCDR2）和SEQ ID NO: 30（HCDR3）；以及三個LCDR，其包含以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 37（LCDR1）、SEQ ID NO: 38（LCDR2）和SEQ ID NO: 36（LCDR3），如由IMGT編號系統所定義的。

【0061】在一些實施方式中，抗體或抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 14的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 19的胺基酸序列的輕鏈可變區。

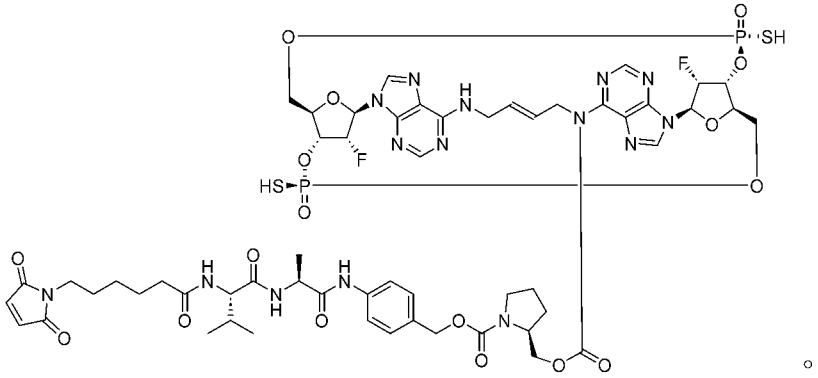
【0062】在一些實施方式中，L-D包含LP16、LP20、LP26或LP28。

【0063】在一些實施方式中，L-D包含LP16：

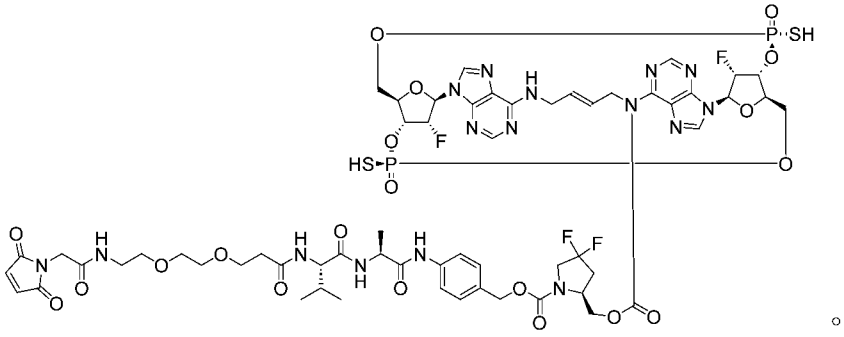


。

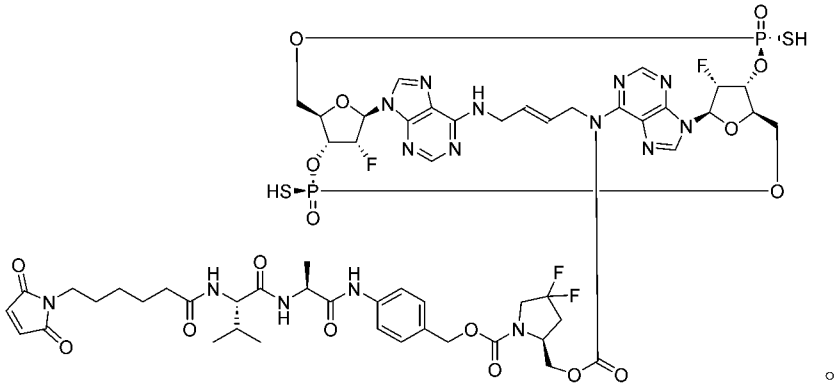
【0064】在一些實施方式中，L-D包含LP20：



【0065】在一些實施方式中，L-D包含LP26：



【0066】在一些實施方式中，L-D包含LP28：



【0067】在各個實施方式中，本揭露提供了一種藥物配製物，其包含如本文所揭露的抗PSMA ADC、抗體、其抗原結合片段、或連接子-有效載荷軛合物，以及藥學上可接受的載劑。

【0068】在各個實施方式中，本揭露提供了一種組成物，其包含多個拷貝的具有式 (I) 的抗體-藥物軛合物：

$Ab\text{-}(L\text{-}D)_p$ (I)

其中

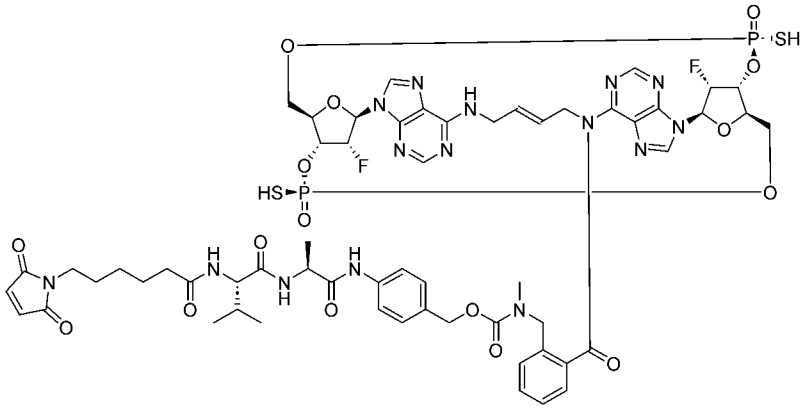
Ab係如本文所揭露的抗PSMA抗體或抗原結合片段；

L-D係如本文所揭露的連接子-有效載荷軛合物；並且

*p*係每個Ab的L-D部分的平均數量，其中該組成物中該等抗體-藥物軛合物的平均p係約2至約8。

【0069】在一些實施方式中，抗體或抗原結合片段包含三個HCDR，其包含以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 21（HCDR1）、SEQ ID NO: 22（HCDR2）和SEQ ID NO: 27（HCDR3）；以及三個LCDR，其包含SEQ ID NO: 32（LCDR1）、SEQ ID NO: 35（LCDR2）和SEQ ID NO: 37（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的；或三個HCDR，其包含以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 28（HCDR1）、SEQ ID NO: 29（HCDR2）和SEQ ID NO: 30（HCDR3）；以及三個LCDR，其包含SEQ ID NO: 38（LCDR1）、SEQ ID NO: 39（LCDR2）和SEQ ID NO: 37（LCDR3），如由IMGT編號系統所定義的；並且

該L-D包含LP16：

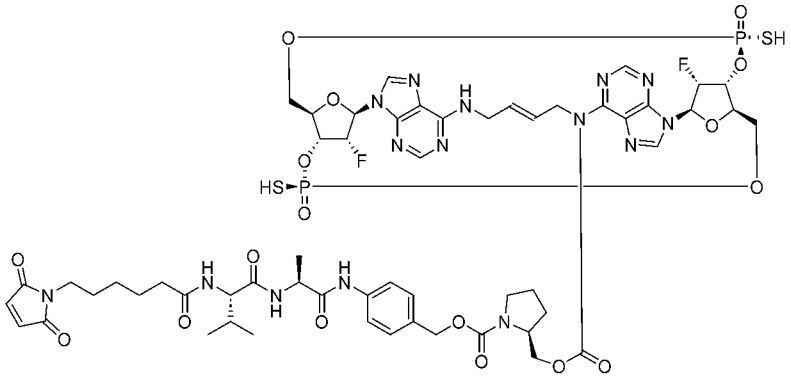


。

【0070】在一些實施方式中，抗體或抗原結合片段包含三個HCDR，其包含以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 21（HCDR1）、SEQ ID NO: 22（HCDR2）和SEQ ID NO: 27（HCDR3）；以及三個LCDR，其包含SEQ ID NO: 32（LCDR1）、SEQ ID NO: 35（LCDR2）和SEQ ID NO: 37（LCDR3），如由

Kabat編號系統所定義的；或三個HCDR，其包含以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 28（HCDR1）、SEQ ID NO: 29（HCDR2）和SEQ ID NO: 30（HCDR3）；以及三個LCDR，其包含SEQ ID NO: 38（LCDR1）、SEQ ID NO: 39（LCDR2）和SEQ ID NO: 37（LCDR3），如由IMGT編號系統所定義的；並且

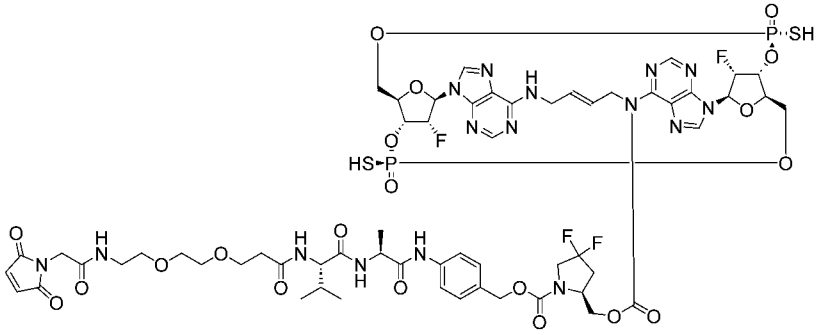
該L-D包含LP20：



。

【0071】在一些實施方式中，抗體或抗原結合片段包含三個HCDR，其包含以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 21（HCDR1）、SEQ ID NO: 22（HCDR2）和SEQ ID NO: 27（HCDR3）；以及三個LCDR，其包含SEQ ID NO: 32（LCDR1）、SEQ ID NO: 35（LCDR2）和SEQ ID NO: 37（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的；或三個HCDR，其包含以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 28（HCDR1）、SEQ ID NO: 29（HCDR2）和SEQ ID NO: 30（HCDR3）；以及三個LCDR，其包含SEQ ID NO: 38（LCDR1）、SEQ ID NO: 39（LCDR2）和SEQ ID NO: 37（LCDR3），如由IMGT編號系統所定義的；並且

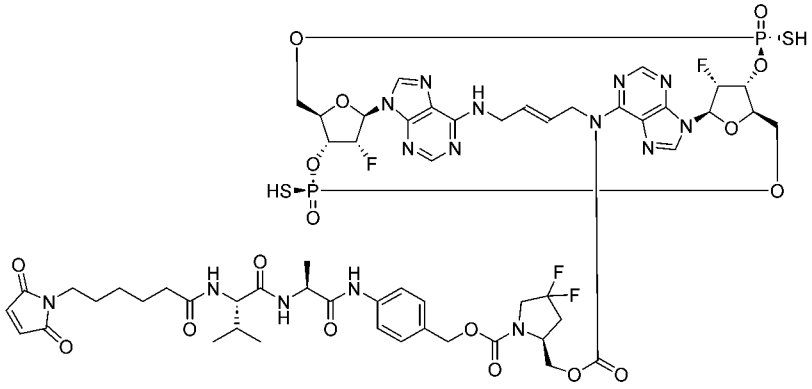
該L-D包含LP26：



。

【0072】在一些實施方式中，抗體或抗原結合片段包含三個HCDR，其包含以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 21（HCDR1）、SEQ ID NO: 22（HCDR2）和SEQ ID NO: 27（HCDR3）；以及三個LCDR，其包含SEQ ID NO: 32（LCDR1）、SEQ ID NO: 35（LCDR2）和SEQ ID NO: 37（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的；或三個HCDR，其包含以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 28（HCDR1）、SEQ ID NO: 29（HCDR2）和SEQ ID NO: 30（HCDR3）；以及三個LCDR，其包含SEQ ID NO: 38（LCDR1）、SEQ ID NO: 39（LCDR2）和SEQ ID NO: 37（LCDR3），如由IMGT編號系統所定義的；並且

該L-D包含LP28：



。

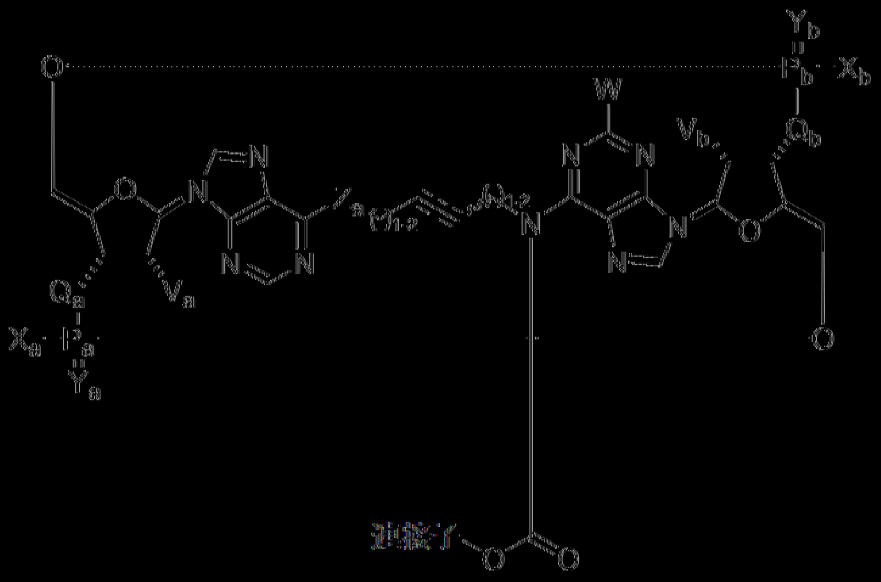
【0073】在一些實施方式中，抗體或抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 14的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 19的胺基酸序列的輕鏈可變區。

【0074】在各個實施方式中，本揭露提供了治療患有癌症或有患癌症風險的患者之方法，該等方法包括向該患者投與治療有效量的如本文所揭露的抗PSMA ADC、抗體、其抗原結合片段、或連接子-有效載荷軛合物。在各個實施方式中，本揭露提供了減少或抑制癌症生長之方法，該等方法包括投與治療有效量的如本文所揭露的抗PSMA ADC、抗體、其抗原結合片段、或連接子-有效載荷軛合物。在一些實施方式中，癌症表現PSMA。在一些實施方式中，癌症係前列腺癌。

[0075] 在各個實施方式中，本揭露提供了如本文所揭露的抗PSMA ADC、抗體、其抗原結合片段、或連接子-有效載荷物在治療癌症中之用途。在一些實施方式中，癌症表現PSMA。在一些實施方式中，癌症係前列腺癌。

[0076] 在各個實施方式中，本揭露提供了產生抗PSMA ADC之方法，該等方法包括使如本文所揭露的抗體或其抗原結合片段與如本文所揭露的連接子-有效載荷物反應。在各個實施方式中，本揭露提供了產生抗體-藥物-偶合物之方法，其中該方法包括在適合附接的條件下將如本文所揭露的抗體或抗原結合片段與如本文所揭露的連接子-有效載荷物偶合。

[0077] 在各個實施方式中，本揭露提供了產生LD偶合物 (V) 之方法：



，

該方法包括使如本文所揭露的具有式 (III) 的化合物：

或其鹽與汙作連接子反應，該汙作連接子包含具有以下結構的合適連接子：

，

以產生該LD軛合物(V)，

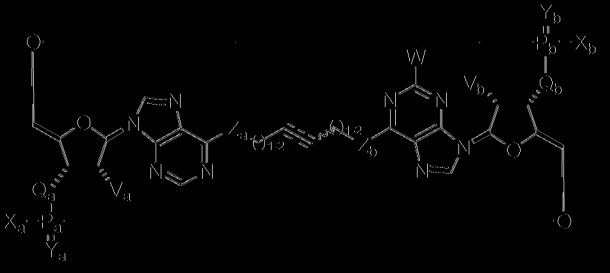
其中Xb係NH。

[0078] 在一些實施方式中，Pb具有(S)組態，並且汙化連接子優先與Xb反應。在一些實施方式中，具有式(III)的化合物係化合物1。

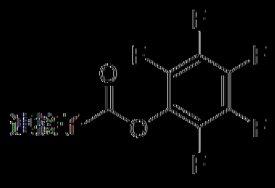
[0079] 在各個實施方式中，本揭露提供了產生LD軛合物(VI)之方法：

，

該方法包括使如本文所揭露的具有式(III)的化合物：



或其鹽與汙化連接子反應，該汙化連接子包含具有以下結構的合適連接子：



，

以產生該L-D軛合物 (VI)，

其中Z_b係NH。

【0080】 在一些實施方式中，P_b具有 (*S*)-組態，並且活化連接子優先與Z_b反應。在一些實施方式中，具有式 (III) 的化合物係化合物1。

【0081】 在各個實施方式中，本揭露提供了組成物，其包含如本文所揭露的連接子-有效載荷軛合物。在一些實施方式中，本揭露提供了組成物，其包含根據本文揭露之方法產生的連接子-有效載荷軛合物。

【圖式簡單說明】

【0082】 【圖1】顯示了J591 VH和VL與人種系序列之比對。帶底線的殘基係人特異性殘基，小寫的殘基係小鼠特異性殘基。

【0083】 【圖2】顯示了使用BioLuminate軟體生成的J591 Fv之電腦模型。CDR殘基顯示為空間填充的（space-fill）、小鼠和HCzu1-Lczu1之間不同的框架殘基，它們與顯示為球棒（ball-stick）的CDR相鄰。殘基編號根據Kabat進行。

【0084】 【圖3】顯示了與Lczu1配對的人源化重鏈（HC）變體1-10之類似PSMA結合。Hczu1-10與LCzu1配對，並藉由ELISA分析了與PSMA的結合。

【0085】 【圖4】顯示了J591之超人源化。所得PSMA抗體具有很強的結合親和力。藉由ELISA分析了人源化J591變體與PSMA的結合。

【0086】 【圖5A】顯示了deJ591之熱穩定性。圖5B顯示了與deJ591相比，人源化J591變體HC1-LC1、HC2-LC1、HC3-LC1、HC14-LC1和HC14-LC5之熱穩定性。圖5C顯示了與deJ591和J591相比，修飾為包括位點特異性軛合殘基的HC14-LC5（H14L5）IgG1抗體之熱穩定性。

【0087】【圖6A】顯示了J591重鏈可變結構域上的9mer肽序列之免疫原性預測評分。圖6B顯示了deJ591重鏈可變結構域上的9mer肽序列之免疫原性預測評分。圖6C顯示了zuJ591-H14重鏈可變結構域上的9mer肽序列之免疫原性預測評分。

【0088】【圖7A】顯示了J591輕鏈可變結構域上的9mer肽序列之免疫原性預測評分。圖7B顯示了deJ591輕鏈可變結構域上的9mer肽序列之免疫原性預測評分。圖7C顯示了zuJ591-L5輕鏈可變結構域上的9mer肽序列之免疫原性預測評分。

【0089】【圖8】顯示了抗PSMA與表現PSMA的LNCaP細胞之特異性結合。

【0090】【圖9】顯示了如藉由流動式細胞測量術評估的PSMA依賴性ADCP活性。顯示了攝取至少一種靶細胞的巨噬細胞的百分比。

【0091】【圖10】顯示了如藉由流動式細胞測量術測量的抗PSMA ADC內化之靶細胞依賴性。

【0092】【圖11】顯示了抗PSMA ADC處理導致的ADCP依賴性IFNβ生產。

【0093】【圖12】顯示了抗PSMA ADC處理導致的ADCP依賴性骨髓細胞活化。

【0094】【圖13】顯示了PSMA陽性LNCaP異種移植模型中抗PSMA ADC之體內抗腫瘤活性。

【0095】【圖14A】顯示了在用抗PSMA抗體（PSMA對照）、抗PSMA-LP3 ADC、或陰性對照（抗SEB-LP3）處理的LNCaP異種移植模型中如藉由RNA-seq評估的1型干擾素基因表現之熱圖。圖14B顯示了抗PSMA-LP3 ADC處

理調節對STING通路具有特異性之細胞介素。圖14C顯示了當用抗PSMA-LP3 ADC處理時，腫瘤微環境中巨噬細胞極化從M2轉變為M1。

【0096】【圖15A】顯示了用抗PSMA抗體或抗PSMA ADC處理時人前列腺癌22RV1異種移植小鼠（去勢）中之腫瘤體積（左）和體重變化百分比（右）。圖15B顯示了用抗PSMA抗體或抗PSMA ADC處理時人前列腺癌22RV1異種移植小鼠（未去勢）中之腫瘤體積（左）和體重變化百分比（右）。Sp = 化合物1上的*S*硫代磷酸酯連接子附接點；Rp = 化合物1上的*R*硫代磷酸酯連接子附接點。

【0097】【圖16A】顯示了22RV1異種移植模型中抗PSMA ADC的體內功效之模型。圖16B顯示了注射抗PSMA ADC後6 h血漿中小鼠TNFα（左）或IFNβ（右）之濃度。

【0098】【圖17】顯示了抗PSMA ADC的DAR之變化百分比。

【0099】【圖18A】、18B和18C顯示了S附接的連接子隨時間之DAR變化。

【0100】【圖19A】、19B和19C顯示了S附接的連接子隨時間之游離化合物1。

【0101】【圖20A】、20B和20C顯示了S附接的連接子隨時間之單體百分比。

【0102】【圖21A】、21B、21C、21D、21E、21F和21G顯示了N附接的連接子隨時間之DAR變化。

【0103】【圖22A】、22B、22C、22D、22E、22F和22G顯示了N附接的連接子隨時間之游離化合物1。

【0104】【圖23A】、23B、23C、23D、23E、23F和23G顯示了N附接的連接子隨時間之單體百分比。

【0105】【圖24A】顯示了化合物1從小鼠血漿中的抗PSMA ADC釋放隨時間之百分比。圖24B顯示了小鼠血漿中抗PSMA ADC隨時間之平均DAR。圖24C顯示了小鼠血漿中抗PSMA ADC相對於起始DAR之變化百分比。圖24D顯示了小鼠血漿中隨時間之游離化合物1。

【0106】【圖25】顯示了S連接的抗PSMA化合物1 ADC之小鼠血漿穩定性。

【0107】【圖26】顯示了化合物1和化合物1的單磷酸鹽形式之結構。

【0108】【圖27A】顯示了抗PSMA ADC LP3之平均DAR（隨機DAR4和RESPECT-L DAR4）。圖27B顯示了抗PSMA ADC LP3隨機DAR4之代謝。圖27C顯示了抗PSMA ADC LP3 RESPECT-L DAR4之代謝。

【0109】【圖28A】顯示了在10天處理內小鼠血漿中N連接的抗PSMA ADC之穩定性。圖28B顯示了第7天小鼠血漿中N連接的抗PSMA ADC之穩定性。

【0110】【圖29】顯示了第7/10天小鼠血漿中N連接的抗PSMA化合物1 ADC之DAR。

【0111】【圖30】顯示了用抗PSMA ADC處理時C4-2/THP1共培養物中之hIFN-β產生。

【0112】【圖31】顯示了用抗PSMA ADC處理的異種移植腫瘤中之平均腫瘤體積和體重減輕百分比。

【0113】【圖32】顯示了抗PSMA-LP ADC在22Rv1異種移植模型中之抗腫瘤活性（群組1）。顯示了平均腫瘤生長和平均體重變化。

【0114】【圖33】顯示了22Rv1異種移植模型中PSMA-LP ADC之血清細胞介素分析（群組1）。n = 3；每個點代表一個單獨的值。數據表示為平均值 ± SEM。

【0115】【圖34】顯示了抗PSMA-LP ADC在22Rv1異種移植模型中之抗腫瘤活性（群組2）。顯示了平均腫瘤生長和平均體重變化。

【0116】【圖35】顯示了22Rv1異種移植模型中PSMA-LP ADC之血清細胞介素分析（群組2）。n = 3；每個點代表一個單獨的值。數據表示為平均值 ± SEM。

【0117】【圖36】顯示了抗PSMA-LP ADC在22Rv1異種移植模型中之抗腫瘤活性（群組3）。顯示了平均腫瘤生長和平均體重變化。

【0118】【圖37】顯示了22Rv1異種移植模型中PSMA-LP ADC之血清細胞介素分析（群組3）。n = 3；每個點代表一個單獨的值。數據表示為平均值 ± SEM。

【0119】【圖38】顯示了抗PSMA-LP ADC在C4-2異種移植模型中之抗腫瘤活性。顯示了平均腫瘤生長和平均體重變化。

【0120】【圖39】顯示了22Rv1異種移植模型中PSMA-LP ADC之血清細胞介素分析（群組3）。n = 3；每個點代表一個單獨的值。數據表示為平均值 ± SEM。

【0121】【圖40】顯示了1 mpk IV劑量的抗PSMA LP3 ADC（隨機DAR4）在正常小鼠中之藥物動力學。

【0122】【圖41】顯示了3和9 mg/kg IV劑量的抗PSMA LP3 ADC（RESPECT-L DAR2）在C4-2荷瘤小鼠中之藥物動力學。

【0123】【圖42】顯示了來自給予了抗PSMA LP3 ADC（RESPECT-L DAR2）或抗PSMA LP1 ADC（RESPECT-L DAR4）的C4-2荷瘤小鼠的血漿中化合物1之水平。

【0124】【圖43】顯示了給予了抗PSMA LP3 ADC（RESPECT-L DAR2）或抗PSMA LP1 ADC（RESPECT-L DAR4）的C4-2荷瘤小鼠中化合物1之腫瘤內水平。

【0125】【圖44】顯示了來自給予了抗PSMA LP3 ADC（RESPECT-L DAR2）和抗PSMA LP1 ADC（RESPECT-L DAR4）的C4-2荷瘤小鼠之腫瘤PK參數。

【0126】【圖45】顯示了兩步有效載荷釋放測定之方案。以LP2為例。

【0127】【圖46】顯示了用抗PSMA S附接ADC處理後之體外IFN-β釋放。標記為A的分圖（左欄）顯示了THP-1單一培養物中的IFN-β釋放，而標記為B的分圖（右欄）顯示了C4-2和THP-1共培養物中的IFN-β釋放。

【0128】【圖47】顯示了用抗PSMA N附接ADC治療後之體外IFN-β釋放。標記為A的分圖（左欄）顯示了THP-1單一培養物中的IFN-β釋放，而標記為B的分圖（右欄）顯示了C4-2和THP-1共培養物中的IFN-β釋放。

【實施方式】

相關申請之交叉引用

【0129】本申請要求 2023 年 2 月 28 日提交的美國臨時申請案號 63/487,553 和 2024 年 2 月 23 日提交的美國臨時申請案號 63/557,342 之權益，將這兩個申請案的內容均藉由引用以其全文併入。

【0130】藉由結合附圖，參考以下詳細描述可更容易地理解所揭露的組成物和方法，該等附圖形成本揭露的一部分。

【0131】在整個本文中，該等描述關於組成物和使用所述組成物之方法。當本揭露描述或聲明與組成物相關的特徵或實施方式時，這樣的特徵或實

施方式同等地適用於使用所述組成物之方法。同樣，當本揭露描述或聲明與使用組成物之方法相關的特徵或實施方式時，這樣的特徵或實施方式同等地適用於該組成物。

【0132】 當表示值的範圍時，它包括使用該範圍內的任何特定值的實施方式。此外，對按範圍陳述的值的提及包括該範圍內的每一值。所有範圍均包括其端點且可組合。當藉由在前面使用「約」以近似值表示值時，應理解該特定值形成另一實施方式。除非上下文另外明確地指示，否則對特定數值的提及至少包括該特定值。

【0133】 本文引用的所有參考文獻均出於任何目的藉由引用併入。在參考文獻與本說明書矛盾的情況下，以本說明書為准。

【0134】 應理解，出於清楚起見本文在單獨實施方式的上下文中描述的所揭露的組成物和方法的某些特徵也可以在單個實施方式中組合提供。相反地，出於簡便起見在單個實施方式的上下文中描述的所揭露的組成物和方法的各種特徵也可以單獨地或以任何子組合的形式提供。

定義

【0135】 整個說明書和請求項中使用了與本說明書的各方面相關的各種術語。除非另外指示，否則該等術語應具有其在本領域中的普通含義。其他具體定義的術語將以與本文提供的定義一致的方式解釋。

【0136】 如本文所用，單數形式「一個/種（a/an）」和「該（the）」包括複數形式，除非上下文另外明確地指示。

【0137】 在數值和範圍的上下文中，術語「約」或「大約」係指近似或接近所述值或範圍以使得本實施方式可以如預期進行的值或範圍，例如在反應混合物中具有所需量的核酸或多肽，這對技術人員來說從本文所包含的教導中是顯而易見的。在一些實施方式中，「約」意指數值量± 10%。

【0138】術語「藥劑」在本文中用於指化合物、化合物的混合物、生物大分子或由生物材料製成的提取物。術語「治療劑」、「藥物」或「藥物部分」係指能夠調節生物過程和/或具有生物活性的藥劑。

【0139】如本文所用，術語「脂肪族」或「脂肪族基團」意指完全飽和的或者含有一個或多個不飽和單元的直鏈的（即無支鏈的）或支鏈的、經取代的或未取代的烴鏈。在一些實施方式中，脂肪族基團含有1-8個脂肪族碳原子。在一些實施方式中，脂肪族基團含有1-6個脂肪族碳原子。在一些實施方式中，脂肪族基團含有1-4個脂肪族碳原子。在一些實施方式中，脂肪族基團含有4個脂肪族碳原子。

【0140】如本文所用，術語「環境條件」意指室溫、露天條件和不受控制的濕度條件。術語「室溫」和「環境溫度」意指15°C至30°C。

【0141】術語「抗體-藥物軛合物」、「抗體軛合物」、「軛合物」、「免疫軛合物」和「ADC」可互換使用，並且是指與抗體（例如抗PSMA抗體）連接且可由以下通式定義的化合物或其衍生物：Ab-(L-D)*p*（式I），其中Ab = 抗體部分（即抗體或抗原結合片段），L = 連接子部分，D = 藥物部分，並且*p* =藥物部分的數目/抗體部分。在一些實施方式中，連接子L可以包括在抗體或抗原結合片段與治療性化合物之間的可切割部分。在一些實施方式中，連接子L可以包括可例如藉由間隔子單元與抗體或抗原結合片段和治療性化合物中的任一者或兩者附接的可切割部分。本文描述並舉例說明了示例性可切割連接子。

【0142】術語「抗體」在最廣泛意義上用於指藉由免疫球蛋白分子的可變區內的至少一個抗原識別位點識別且特異性結合靶標（如蛋白質、多肽、碳水化合物、多核苷酸、脂質或前述物質的組合）的免疫球蛋白分子。抗體的重鏈（HC）由重鏈可變結構域（VH）和重鏈恒定區（CH）構成。輕鏈（LC）

由輕鏈可變結構域（VL）和輕鏈恒定結構域（CL）構成。如本文所用，術語「結構域」和「區域」可互換使用（例如，術語「可變結構域」可與術語「可變區」互換使用，並且被理解為係指抗體的同一部分）。出於本申請的目的，成熟的重鏈和輕鏈可變結構域各自包含從N末端至C末端排列的四個框架區（FR1、FR2、FR3和FR4）內的三個互補決定區（CDR1、CDR2和CDR3；也稱為「高可變區」）：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3和FR4。CDR可以根據Kabat和/或IMGT編號系統進行鑒定（Kabat, Sequences of Proteins of Immunological Interest [具有免疫學意義的蛋白質序列]（National Institutes of Health [國立衛生研究院], 貝塞斯達, 馬里蘭州 (1987和1991)；國際免疫遺傳學資訊系統（International ImMunoGeneTics Information System）（IMGT®））。「抗體」可以是天然存在的或人造的，例如藉由常規雜交瘤技術產生的單株抗體。術語「抗體」包括全長單株抗體和全長多株抗體，以及例如Fab、Fab'、F(ab')2、Fv的抗體片段，以及單鏈抗體。抗體可以是免疫球蛋白的五種主要類別中的任一種：IgA、IgD、IgE、IgG和IgM，或其亞類（例如，同種型IgG1、IgG2、IgG3、IgG4）。任一上述類別或亞類的抗體還可以包含兩個功能相似類別的輕鏈之一：Igκ（本文中也稱為「Ig kappa」或「kappa」）和Igλ（本文中也稱為「Ig lambda」或「lambda」）。術語「抗體」涵蓋人抗體、嵌合抗體、人源化抗體及含有抗原識別位點的任何經修飾的免疫球蛋白分子，只要其表現出所需生物活性即可。

【0143】如本文所用的術語「嵌合抗體」係指其中免疫球蛋白分子的胺基酸序列來源於兩個或更多個物種的抗體。在一些情況下，重鏈和輕鏈兩者的可變區對應於來源於具有所需特異性、親和力和活性特性的一個物種的抗體的可變區，而恒定區與來源於另一物種（例如人）的抗體同源以使後一物種中的免疫反應減至最少。

【0144】如本文所用的術語「人抗體」係指由人產生的抗體或具有由人產生的抗體的胺基酸序列的抗體。

【0145】如本文所用，術語「人源化抗體」係指含有來自非人（例如鼠）抗體以及人抗體的序列的抗體形式。這樣的抗體係含有來源於非人免疫球蛋白的最小序列的嵌合抗體。通常，人源化抗體將包含至少一個且通常兩個可變結構域的實質上全部，其中所有或實質上所有的高可變區對應於非人免疫球蛋白的那些高可變區且所有或實質上所有的框架（FR）區係人免疫球蛋白序列的那些框架區。人源化抗體視需要還將包含免疫球蛋白恒定區（Fc）的至少一部分，通常是人免疫球蛋白的恒定區的至少一部分。人源化抗體可以藉由Fv框架區中和/或所替代的非人殘基內殘基的取代而進一步修飾，以改進並優化抗體特異性、親和力和/或活性。人源化抗體還可以藉由Fc結構域中殘基的取代而進一步修飾，以減少其與各種細胞受體（如Fcγ受體（FcγR）和其他免疫分子）的結合。

【0146】如本文所用的術語「單株抗體」係指從實質上均質的抗體群體獲得的抗體，即，除了可能少量存在的可能的天然存在的突變之外，構成該群體的各個抗體係相同的。單株抗體針對單一抗原性表位具有高度特異性。相反，常規的（多株）抗體製劑通常包括針對不同表位或對其具有特異性的多種抗體。修飾語「單株」表示從實質上均質的抗體群體獲得的抗體的特徵，而不應解釋為要求藉由任何特定方法生產抗體。例如，根據本揭露使用的單株抗體可藉由首先由Kohler等人 (1975) Nature [自然] 256:495描述的雜交瘤方法來製造，或可藉由重組DNA方法來製造。參見，例如美國專利案號4,816,567。還可以使用例如Clackson等人 (1991) Nature [自然] 352:624-8以及Marks等人 (1991) J. Mol. Biol.[分子生物學雜誌] 222:581-97中描述的技術從噬菌體抗體文庫分離單株抗體。

【0147】本文所述之單株抗體具體地包括「嵌合」抗體，其中重鏈和/或輕鏈的一部分與來源於特定物種或屬於特定抗體類別或亞類的抗體中的對應序列相同或同源，而該鏈的其餘部分與來源於另一物種或屬於另一抗體類別或亞類的抗體、以及這樣的抗體的片段中的對應序列相同或同源，只要它們特異性結合靶抗原和/或展現出所需生物活性即可。

【0148】如本文所用的術語抗體的「抗原結合片段」或「抗原結合部分」係指抗體中保留特異性結合抗原（例如PSMA）的能力的一個或多個片段。抗原結合片段較佳的是還保留了內化到表現抗原的細胞中的能力。在一些實施方式中，抗原結合片段還保留了免疫效應子活性。已證明全長抗體的片段可執行全長抗體的抗原結合功能。術語抗體的「抗原結合片段」或「抗原結合部分」內所涵蓋的結合片段的實例包括 (i) Fab片段，一種由VL、VH、CL和CH1結構域組成的單價片段；(ii) F（ab'）2片段，一種包含藉由鉸鏈區處的二硫橋連接的兩個Fab片段的二價片段；(iii) 由VH和CH1結構域組成的Fd片段；(iv) 由抗體的單臂的VL和VH結構域組成的Fv片段；(v) dAb片段，其包含單一可變結構域，例如VH結構域（參見，例如Ward等人 (1989) Nature [自然] 341:544-6；和Winter等人, WO 90/05144）；以及 (vi) 分離的互補決定區（CDR）。此外，儘管Fv片段的兩個結構域VL和VH由單獨的基因編碼，但它們可以使用重組方法藉由能夠使其製成單條蛋白質鏈的合成連接子來接合，在該單條蛋白質鏈中，VL和VH區配對以形成單價分子（稱為單鏈Fv（scFv））。參見，例如Bird等人 (1988) Science [科學] 242:423-6；和Huston等人 (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA [美國國家科學院院刊] 85:5879-83。這樣的單鏈抗體也意圖涵蓋在術語抗體的「抗原結合片段」或「抗原結合部分」內，並且在本領域中已知為能在結合時內化到細胞中的示例性結合片段類型。參見，例如Zhu等人 (2010) 9:2131-41；He等人 (2010) J Nucl.Med.[核醫學雜誌]

51:427-32；和Fitting等人 (2015) MAbs [單株抗體] 7:390-402。在某些實施方式中，scFv分子可摻入融合蛋白中。還涵蓋了單鏈抗體（例如雙抗體）的其他形式。雙抗體係二價雙特異性抗體，其中VH和VL結構域在單條多肽鏈上表現，但使用太短而不允許同一鏈上的兩個結構域之間進行配對的連接子，由此迫使該等結構域與另一鏈的互補結構域配對且產生兩個抗原結合位點。參見，例如Holliger等人 (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA [美國國家科學院院刊] 90:6444-8；和Poljak等人 (1994) Structure [結構] 2:1121-3）。抗原結合片段使用熟悉該項技術者已知的常規技術獲得，並且該等結合片段以與完整抗體相同的方式進行效用（例如，結合親和力、內化）篩選。抗原結合片段可例如藉由切割完整蛋白，例如藉由蛋白酶或化學切割來製備。

【0149】 術語「抗PSMA抗體」或「特異性結合PSMA的抗體」係指特異性結合PSMA的抗體或其片段的任何形式，並且涵蓋單株抗體（包括全長單株抗體）、多株抗體和具有生物學功能的抗體片段，只要它們特異性結合PSMA即可。較佳的是，本文揭露的ADC中使用的抗PSMA抗體係內化抗體或內化抗體片段。如本文所用，術語「特異性」、「特異性結合（specifically binds和binds specifically）」係指抗體與靶抗原或表位相對於替代抗原或表位的選擇性結合。可藉由在一組給定條件下將與適當抗原的結合同與不相關抗原或抗原混合物的結合進行比較來測試抗體的結合特異性。如果抗體與適當抗原的結合親和力比與不相關抗原或抗原混合物的結合親和力高至少2倍，或較佳的是至少50倍、至少100倍、或至少1000倍，則它被認為係特異性的，例如，如藉由表面電漿共振所測量的，例如BIAcore®分析。在一個實施方式中，特異性抗體係結合PSMA抗原但不結合其他抗原（或展現出與其他抗原的最小結合）的抗體。

【0150】術語「芳基」係指來源於芳族環的基團或取代基，並且涵蓋單環芳族環以及二環、三環和稠環系統（總共具有六至十四個環成員），其中該系統中的至少一個環係芳族的。芳基基團可以視需要被一個或多個取代基取代。

【0151】術語「雜芳基」係指包含至少一個為雜原子（例如O、N或S）的環原子的環狀基團。雜芳基基團涵蓋總共具有五至十四個環成員的單環、二環和三環系統，其中該系統中的至少一個環係芳族的，該系統中的至少一個環含有一個或多個雜原子，並且其中該系統中的每個環含有三至七個環成員。

【0152】術語「至少一個」係指一個或多個。

【0153】術語「橋」係指本揭露的大環橋接的STING促效劑化合物中的一組原子，其從該大環橋接的STING促效劑化合物中的第一核酸鹼基延伸至該大環橋接的STING促效劑化合物中的第二核酸鹼基。

【0154】術語「癌症」係指哺乳動物中的生理病況，其中細胞群的特徵為不受調控的細胞生長。癌症的實例包括但不限於癌、淋巴瘤、胚細胞瘤、肉瘤和白血病。這樣的癌症的更特定的實例包括鱗狀細胞癌、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、肺腺癌、肺鱗癌、膽道癌（例如膽管癌）、食道癌、鼻咽癌、腹膜癌、肝細胞癌（hepatocellular cancer）（例如肝細胞癌（hepatocellular carcinoma））、胃腸癌、胰臟癌、膠質母細胞瘤、宮頸癌、卵巢癌、肝癌（liver cancer）、膀胱癌、肝細胞瘤、乳腺癌、骨肉瘤、皮膚癌（例如黑色素瘤）、大腸癌、大腸直腸癌、子宮內膜癌或子宮癌、卵巢癌、唾液腺癌、腎癌、肝癌、前列腺癌（例如晚期前列腺癌、轉移性去勢抵抗性前列腺癌）、外陰癌、甲狀腺癌、肝癌（hepatic carcinoma）、骨癌和各種類型的頭頸癌。

【0155】術語「癌細胞」和「腫瘤細胞」係指來源於腫瘤的單個細胞或總細胞群，包括非致瘤細胞和癌症幹細胞。當僅提及缺乏更新和分化能力的那

些腫瘤細胞時，如本文所用的術語「腫瘤細胞」將由術語「非致瘤」修飾以將那些腫瘤細胞與癌症幹細胞進行區分。

【0156】術語「腫瘤」和「贅瘤」係指由過量細胞生長或增殖造成的良性或惡性的任何組織腫塊，包括癌前病變。

【0157】術語「化療劑」或「抗癌劑」在本文中用於指不管作用機制如何，均有效治療癌症的化合物。抑制轉移或血管生成通常是化療劑的特性。刺激抗腫瘤免疫反應也可能是化療劑的特性。化療劑的非限制性實例包括刺激劑，例如STING促效劑。此外，化療劑包括抗體、生物分子和小分子。化療劑可以是細胞毒性劑或細胞生長抑制劑。

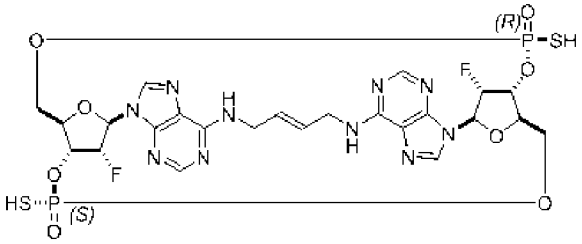
【0158】術語「細胞毒性劑」係指藉由干擾細胞的表現活性和/或功能或者藉由刺激導致細胞死亡的反應（例如免疫反應）而導致細胞死亡的物質。細胞毒性劑的實例包括但不限於STING促效劑，例如化合物1。

【0159】如本文所揭露的ADC的「有效量」係足以進行具體陳述的目的（例如，在投與後產生治療性效果，例如減小腫瘤生長速率或腫瘤體積、減少癌症症狀或治療功效的一些其他指標）的量。有效量可以以與所陳述目的相關的常規方式來測定。術語「治療有效量」係指有效治療受試者的疾病或病症的ADC的量。在癌症的情況下，治療有效量的ADC可減少癌細胞的數目、減小腫瘤尺寸、抑制（例如減緩或停止）腫瘤轉移、抑制（例如減緩或停止）腫瘤生長和/或緩解一種或多種症狀。「預防有效量」係指在必要的劑量下和時間段內有效實現所需預防結果的量。典型地，因為預防劑量在疾病之前或在疾病早期階段時用於受試者中，所以預防有效量將小於治療有效量。

【0160】術語「表位」係指能夠由抗體識別且特異性結合的抗原部分。當抗原係多肽時，表位可以由連續胺基酸或藉由多肽的三級折疊並置的非連續胺基酸形成。抗體所結合的表位可使用本領域中已知的任何表位作圖技術來鑒

定，該表位作圖技術包括用於表位鑒定的X射線結晶學（其藉由直接目測抗原-抗體複合物進行），以及監測抗體與抗原的片段或突變型變體的結合，或監測抗體和抗原的不同部分的溶劑可及性。用於給抗體表位作圖的示例性策略包括但不限於基於陣列的寡肽掃描、限制性蛋白水解、定點誘變、高通量誘變作圖、氫-氘交換和質譜法。參見，例如Gershoni等人 (2007) 21:145-56；以及Hager-Braun和Tomer (2005) Expert Rev. Proteomics [蛋白質組學專家評論] 2:745-56）。

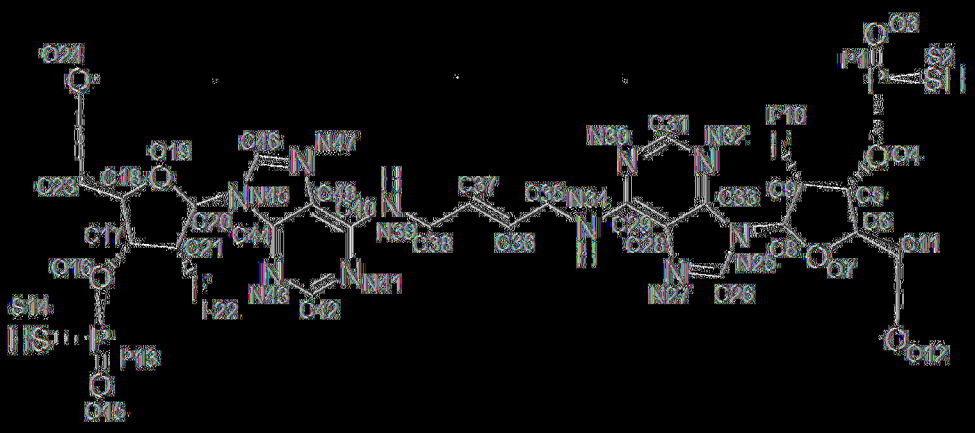
【0161】 如本文所用的術語「化合物1」係指如下所示的化合物1或其鹽的結構：



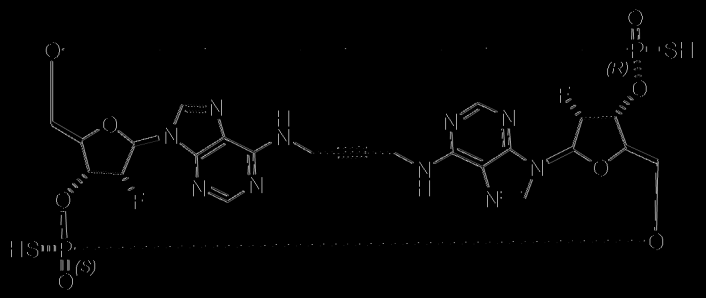
化合物1。

【0162】 化合物1係一種大環橋接的STING促效劑（MBSA），具有鎖定的環狀二核苷酸的生物活性U形構象，在核酸鹼基之間包含跨環大環橋。如本文所用，「化合物1」可以包括化合物1的鹽，例如化合物1的二銨鹽和/或鈉鹽。術語「化合物1部分」、「E7766」、「E7766促效劑部分」或「E7766部分」係指ADC的組分，其具有化合物1的結構，並且例如藉由化合物1部分的N-34氮、N-39氮、S-2硫或S-14硫與ADC的連接子附接。WO 2018/152450揭露了包括投與化合物1的抑制患者腫瘤生長的組成物和方法，將該專利的所有化合物1結構和合成該等結構之方法藉由引用以其全文併入本文。

【0163】 如本文所提及的，化合物1中的原子可以如下所示進行編號：

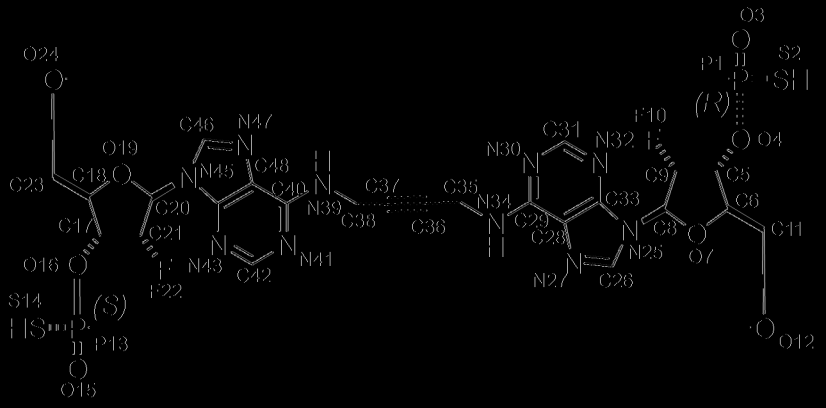


[0164] 如本文所用的術語「化合物2」係指如下所示的化合物2或其鹽的結構：



化合物2。

[0165] 如本文所提及的，化合物2中的原子可以如下所示進行編號：



[0166] 在本揭露的各個實施方式中，「N 34氮」、「N 39氮」、「S 2硫」或「S 14硫」可用於指其他STING促效劑中的氮或硫原子，該等氮或硫原子對應於化合物1或化合物2中經編號的氮或硫原子，無論該等原子是否根據命名規則以其他方式進行編號。在一些情況下，對於具有式 (III)、式 (IV) 的化合物或表14的化合物、例如化合物1或化合物2，在N 34氮處附接的LD軌合物可

稱為「R_N」或「RN」，而在N-39氮處附接的L-D軛合物可被稱為「S_N」或「SN」。

【0167】「Fcγ受體」、「Fc-gamma受體」或「FcγR」係指通常在各種類型的免疫細胞（例如中性粒細胞）上發現的細胞表面蛋白。抗體的Fc區與Fcγ受體的結合可以誘導不同的效應子功能，例如抗體依賴性細胞毒性（ADCC）或抗體依賴性細胞吞噬作用（ADCP）。

【0168】如本文所用，術語「鹵素」或「鹵代」意指F、Cl、Br或I。

【0169】術語「同源物」係指藉由例如在對應位置處具有相同或類似的化學殘基的序列而展現與另一分子的同源性的分子。

【0170】如本文所用的術語「IgG1 Fc」、「IgG1 Fc結構域」或「含有IgG1 Fc的抗體」係指至少具有IgG1 CH2和CH3結構域的抗體，如分別由SEQ ID NO: 70和SEQ ID NO: 71所鑒定的。

【0171】「野生型IgG1 Fc結構域」係指包含SEQ ID NO: 69的胺基酸序列或其片段的人IgG1 Fc結構域。

【0172】如本文所用的術語「抑制（inhibit或inhibition of）」意指減少可測量的量，並且可包括但不需要完全預防或抑制。

【0173】如本文關於抗體或抗原結合片段所用的「內化」係指抗體或抗原結合片段在與細胞結合時能夠穿過細胞的脂質雙層膜進入內部隔室（即，「內化」），較佳的是進入細胞中的降解隔室中。例如，內化抗PSMA抗體係一種在與細胞膜上的PSMA結合後能夠進入細胞中的抗體。

【0174】術語「KD」係指特定抗體-抗原相互作用的平衡解離常數。KD藉由k_a/k_d來計算。該速率可以使用標準測定（如BIAcore®或ELISA測定）來測定。

【0175】術語「k_{on}」或「k_a」係指抗體與抗原締合以形成抗體/抗原複合物的締合速率常數。該速率可以使用標準測定（如BIAcore®或ELISA測定）來測定。

【0176】術語「k_{off}」或「k_d」係指抗體自抗體/抗原複合物解離的解離速率常數。該速率可以使用標準測定（如BIAcore®或ELISA測定）來測定。

【0177】「連接子」或「連接子部分」指能夠將化合物、通常是藥物部分（如化療劑）與另一部分（如抗體部分）共價接合的任何化學部分。連接子可以在化合物或抗體仍保持活性的條件下易於以下切割或對以下切割有實質性抗性：酸誘導的切割、肽酶誘導的切割、基於光的切割、酯酶誘導的切割和/或二硫鍵切割。「可切割連接子」係包含可切割部分並且可因此易於切割的任何連接子。可切割部分可以是可切割肽部分。術語「可切割肽部分」係指可被細胞內環境中存在的藥劑切割的任何化學鍵連接的胺基酸（天然或合成胺基酸衍生物）。

【0178】除非另外指示其具體使用情形，否則「或」的使用意指「和/或」。

【0179】術語「p」或「抗體:藥物比率」或「藥物與抗體比率」或「DAR」係指藥物部分的數目/抗體部分，即載藥量，或具有式I的ADC中L-D部分的數目/抗體或抗原結合片段（Ab）。在包括具有式I的ADC的多個拷貝的組成物中，「p」係指L-D部分的平均數目/抗體或抗原結合片段，也被稱為平均載藥量。

【0180】「藥物組成物」係指呈准許投與活性成分且隨後提供活性成分的預期生物活性和/或實現治療性效果的形式，且不含對應投與配製物的受試者具有不可接受毒性的額外組分的製劑。藥物組成物可以是無菌的。

【0181】「藥物賦形劑」包含例如輔助劑、載劑、pH調節劑和緩衝劑、張力調節劑、潤濕劑、防腐劑等的材料。

【0182】「藥學上可接受的」意指美國聯邦管理機構或州政府審批藉由或可由其審批藉由，或美國藥典（U.S.Pharmacopeia）或其他普遍公認藥典中列出可用於動物且更特別地用於人。

【0183】如本文所用，術語「π鍵」意指由相鄰原子的p軌道形成的共價鍵。當兩個原子之間存在多重鍵（即雙鍵或三鍵）時，就存在π鍵。例如，碳-碳雙鍵由一個π鍵組成，而碳-碳三鍵由兩個π鍵組成。

【0184】如本文所用的術語「前列腺特異性膜抗原」或「PSMA」係指人PSMA的任何天然形式。該術語涵蓋全長PSMA（例如，NCBI參考序列：NP_004467.1；SEQ ID NO: 67），以及由細胞加工產生的任何形式的人PSMA。該術語還可涵蓋天然存在的PSMA的變體，包括但不限於剪接變體、等位基因變體和異形體。結合PSMA的抗體可能不結合所有變體，這對於熟悉該項技術者來說係顯而易見的。PSMA可以從人中分離，或者可以以重組方式或藉由合成方法產生。術語「PSMA」和「前列腺特異性膜抗原」可與「麩胺酸羧肽酶II（GCPII）」、「葉酸水解酶1」、「N-乙醯化-α-連接的酸性二肽酶I（NAALAD酶I）」和本領域已知的由*FOLH1*編碼的蛋白質的任何其他名稱互換。

【0185】如本文所用的術語「保護基團」係指藉由官能基的化學修飾引入分子中以獲得後續化學反應中的化學選擇性的任何化學基團。

【0186】添加（通常稱為「保護」之方法）和去除（通常稱為「去保護」之方法）保護基團之方法係本領域熟知的並且可見於例如：P. J. Kocienski, Protecting Groups [保護基團], 第3版 (Thieme [德國蒂墨出版集團], 2005) 以及Greene和Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis [有機合成中的保護基團],

第4版 (John Wiley & Sons [約翰威利父子公司], 紐約, 2007)，將這兩者藉由引用以其全文特此併入。

【0187】 可用於本揭露的胺的有用保護基團的非限制性實例包括單價保護基團，例如三級丁氧基羰基（Boc）、苄基（Bn）、9-芴基甲氧基羰基（Fmoc）、苄氧基羰基（Cbz）、甲醯基、乙醯基（Ac）、三氟乙醯基（TFA）和對甲苯磺醯基（Ts）；以及二價保護基團，例如亞苄基、N-鄰苯二甲醯亞胺、N-二硫雜琥珀醯亞胺、N-2,3-二苯基馬來醯亞胺、N-2,3-二甲基馬來醯亞胺和N-2,5-二甲基吡咯。

【0188】 可用於本揭露的醇的有用保護基團的非限制性實例包括例如，乙醯基（Ac）、苯甲醯基（Bz）、苄基（Bn）、β-甲氧基乙氧基甲基（MEM）、二甲氧基三苯甲基（DMT）、甲氧基甲基（MOM）、甲氧基三苯甲基（MMT）、對甲氧基苄基（PMB）、新戊醯基（Piv）、四氫哌喃基（THP）、三苯甲基（Tr）、4-硝基苯基碳酸酯、三甲基矽基（TMS）、三乙基矽基（TES）、三異丙基矽基（TIPS）、三級丁基二甲基矽基（TBS）和三級丁基二苯基矽基（TBDPS）。

【0189】 可用於本揭露的羧酸的有用保護基團的非限制性實例包括例如，甲基酯或乙基酯、經取代的烷基酯如9-芴基甲基、甲氧基甲基（MOM）、四氫哌喃基（THP）、四氫呋喃基、β-甲氧基乙氧基甲基（MEM）、2-(三甲基矽基)乙氧基甲基（SEM）、苄氧基甲基（BOM）、乙醯基（Ac）、苯甲醯甲基、經取代的苯甲醯甲基酯、三級丁基、烯丙基、苯基（Ph）、矽基酯、苄基和經取代的苄基酯、2,6-二烷基苯基和五氟苯基（PFP）。

【0190】 可用於本揭露的胺鹼的非限制性實例包括例如，1,8-二氮雜雙環[5.4.0]十一碳-7-烯（DBU）、N-甲基啉（NMM）、三乙胺（Et_3N；TEA）、二異丙基乙胺（*i*-Pr_2EtN；DIPEA）、吡啶、2,2,6,6-四甲基哌啶、1,5,7- 三氮雜雙

環[4.4.0]癸-5-烯（TBD）、7-甲基-1,5,7-三氮雜雙環[4.4.0]癸-5-烯（MTBD）、t-Bu-四甲基胍、1,5-二氮雜雙環[4.3.0]壬-5-烯（DBN）、雙(三甲基矽基)醯胺鋰（LiHMDS）和雙(三甲基矽基)醯胺鉀（KHMDS）。

【0191】 可用於本揭露的鹼性碳酸鹽的非限制性實例包括例如，碳酸鈉（Na_2CO_3）、碳酸鉀（K_2CO_3）、碳酸銫（Cs_2CO_3）、碳酸鋰（Li_2CO_3）、碳酸氫鈉（$NaHCO_3$）和碳酸氫鉀（$KHCO_3$）。

【0192】 可用於本揭露的鹼性磷酸鹽的非限制性實例包括例如，磷酸三鈉（Na_3PO_4）、磷酸三鉀（K_3PO_4）、磷酸氫二鉀（K_2HPO_4）和磷酸二氫鉀（KH_2PO_4）。

【0193】 可用於本揭露的酸的非限制性實例包括例如，乙酸（AcOH）、三氟乙酸（TFA）、鹽酸（HCl）、樟腦磺酸（CSA）、甲磺酸（MsOH）、甲酸（FA）、磷酸（H_3PO_4）和硫酸（H_2SO_4）。

【0194】 肽偶聯試劑的非限制性實例包括例如，*N*,*N*'-二環己基碳二亞胺（DCC）、1-乙基-3-[3-(二甲基胺基)丙基]碳二亞胺（EDCI）、4-(4,6-二甲氧基-1,3,5-三-2-基)-4-甲基啉-4-鎓氯化物（DMT-MM）、1-乙氧基羰基-2-乙氧基-1,2-二氫喹啉（EEDQ）、1-[雙(二甲基胺基)亞甲基]-1H-1,2,3-三唑并[4,5-b]吡啶鎓 3-氧化物六氟磷酸鹽（HATU）、1-羥基苯并三唑（HOBT）和*N*,*N*,*N*',*N*'-四甲基-*O*- (*N*-琥珀醯亞胺基)脲四氟硼酸鹽（TSTU）。

【0195】 對於胺基酸序列，可以藉由使用本領域已知的標準技術、或藉由檢查來測定序列同一性和/或相似性，該等技術包括但不限於以下：Smith和Waterman, (1981), Adv. Appl. Math.[應用數學進展] 2:482的局部序列同一性演算法、Needleman和Wunsch (1970) J. Mol. Biol.[分子生物學雜誌] 48:443的序列同一性比對演算法、Pearson和Lipman (1988) Proc. Nat. Acad. Sci. USA [美國國家科學院院刊] 85:2444的相似性搜索方法、該等演算法的電腦化實現（威斯康辛

遺傳學套裝軟體中的GAP、BESTFIT、FASTA和TFASTA，遺傳學電腦組（Genetics Computer Group）, 科學路575號, 麥迪森, 威斯康辛州）、Devereux等人 (1984) Nucl. Acid Res.[核酸研究] 12:387-95描述的最佳擬合序列程式（較佳的是使用預設設置）。較佳的是，同一性百分比藉由FastDB基於以下參數來計算：錯配罰分1；空位罰分1；空位尺寸罰分0.33；以及接合罰分30。參見「Current Methods in Sequence Comparison and Analysis [當前序列比較和分析方法]」, Macromolecule Sequencing and Synthesis, Selected Methods and Applications [大分子定序與合成、所選方法與應用], 第127-149頁 (1988), Alan R. Liss, Inc.[艾倫利斯出版公司]。

【0196】 有用演算法的一個實例係PILEUP。PILEUP使用漸進性成對比對由一組相關序列產生多序列比對。它還可以繪製顯示用於產生該比對的聚類關係的樹狀圖。PILEUP使用Feng和Doolittle (1987) J. Mol. Evol.[分子進化雜誌] 35:351-60的漸進性比對方法的簡化形式；該方法類似於Higgins和Sharp (1989) CABIOS [電腦在生物學中的應用] 5:151-3所述之方法。有用的PILEUP參數包括預設空位權重3.00、預設空位長度權重0.10、以及加權的末端空位。

【0197】 有用演算法的另一實例係BLAST演算法。參見，例如Altschul等人 (1990) J. Mol. Biol.[分子生物學雜誌] 215:403-10；Altschul等人 (1997) Nucleic Acids Res.[核酸研究] 25:3389-402；和Karin等人 (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA [美國國家科學院院刊] 90:5873-87。特別有用的BLAST程式係從Altschul等人 (1996) Methods in Enzymology [酶學方法] 266:460-80獲得的WU-BLAST-2程式。WU-BLAST-2使用幾個搜索參數，其中大部分設置為預設值。可調參數按以下值設置：重疊跨度=l、重疊分數=0.125、字串閾值（T）=II。HSP S和HSP S2參數係動態值，並且藉由程式本身根據特定序列的組成和檢索目的序列的特定數據庫的組成而確立；然而，可以調整該等值以增加靈敏度。

【0198】 額外的有用演算法係Altschul等人 (1993) Nucl. Acids Res.[核酸研究] 25:3389-402所報告的帶空位的BLAST。帶空位的BLAST使用BLOSUM-62取代評分；閾值T參數設置為9；兩次命中方法（two-hit method）用於觸發無空位的延伸，電荷空位長度為k，代價為10+k；Xu設置為16，而Xg在數據庫檢索階段設置為40且在演算法輸出階段設置為67。帶空位的比對藉由對應於約22比特的評分觸發。

【0199】 通常，本文揭露的蛋白質及其變體（例如，保留原始蛋白質功能的變體），包括PSMA的變體和抗體可變結構域的變體（包括個別變體CDR），具有至少80%的胺基酸同源性、相似性或同一性，且更典型地至少85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%和幾乎100%或100%的同源性或同一性。

【0200】 以類似方式，關於本文鑒定的抗體和其他蛋白質的核酸序列的「核酸序列同一性百分比（%）」被定義為候選序列中與抗原結合蛋白編碼序列中的核苷酸殘基相同的核苷酸殘基的百分比。具體之方法使用設置為預設參數的WU-BLAST-2的BLASTN模組，其中重疊跨度和重疊分數分別設置為1和0.125。

【0201】 如本文所用的術語「穩定的」係指如下化合物，在出於本文揭露的一個或多個目的而經受其產生、檢測和較佳的是其回收、純化和使用的條件時，它們基本上不發生改變。

【0202】 術語「受試者」與「患者」在本文中可互換用於指任何動物，如任何哺乳動物，包括但不限於人、非人靈長類動物、齧齒動物等。在一些實施方式中，哺乳動物係小鼠。在一些實施方式中，哺乳動物係人。

【0203】 術語「靶標陰性」或「靶抗原陰性」係指細胞或組織不存在靶抗原表現。術語「靶標陽性」或「靶抗原陽性」係指存在靶抗原表現。例如，

不表現靶抗原的細胞或細胞系可描述為靶標陰性的，而表現靶抗原的細胞或細胞系可描述為靶標陽性的。

【0204】 如本文所用，術語「溶劑」係指產物至少部分可溶於其中（產物的溶解度>1 g/L）的任何液體。

【0205】 如本文所用，術語「異構物」係指具有相同分子式但原子或鍵的空間排列不同的化合物。異構物包括立體異構物、順反異構物、阻轉異構物和互變異構物。

【0206】 如本文所用，術語「立體異構物」係指鏡像異構物和非鏡像異構物兩者。

【0207】 應當理解，本發明之某些化合物可以作為單獨的立體異構物或鏡像異構物和/或那些立體異構物或鏡像異構物的混合物存在。如本文揭露的化學結構中所用，立構原子的「楔形（wedge）」（ ）或「散形（hash）」（ ）鍵表示已知絕對立體化學的手性中心（即，一種立體異構物）。如本文所用，用(*R*)或(*S*)表示的立構原子表示根據Cahn-Ingold-Prelog慣例該立構原子的立體化學名稱。如本文揭露的化學結構中所用，立構原子的 （「直形」）鍵表示存在混合物（例如外消旋物或富集物）。如本文所用，雙鍵碳的兩個（「直形」）鍵表示雙鍵具有如圖所示的*E*/*Z*立體化學。

【0208】 本文揭露的某些化合物可以作為互變異構物存在，並且兩種互變異構形式都是預期的，即使僅描述了單個互變異構結構。

【0209】 本揭露還提供了用於製備本揭露化合物的鹽之方法。

【0210】 本揭露的化合物的鹽係在酸和化合物的鹼性基團（如胺基官能基）之間，或鹼和化合物的酸性基團（如羧基官能基）之間形成的。根據化合物中的鹼性或酸性基團與酸或鹼的化合價的比率，一種化合物可以與酸/鹼的一個或多個分子單元形成鹽，或者多個單元的化合物可以與一個單元的酸/鹼形成

鹽。在一些實施方式中，鹽係鈉鹽。在一些實施方式中，鹽係二銨鹽。在一些實施方式中，鹽係二烷基銨鹽。在一些實施方式中，鹽係雙(三乙銨)鹽。

【0211】 如本文所用的術語「干擾素基因刺激因子」或「STING」係指人STING的任何天然形式。該術語涵蓋全長STING（例如，NCBI參考序列：NP_938023.1；SEQ ID NO: 68），以及由細胞加工產生的任何形式的人STING。該術語還涵蓋天然存在的STING的變體，包括但不限於剪接變體、等位基因變體和異形體。STING可以從人中分離，或者可以以重組方式或藉由合成方法產生。

【0212】 如本文所用，「治療」或「治療性」和語法上相關的術語係指疾病的任何後果的任何改善，如延長的存活期、較低的發病率和/或減輕的由替代治療性模式引起的副作用。如本領域容易理解的，完全根除疾病係治療行為較佳的，但不是必需的。如本文所用的「治療（treatment或treat）」係指將所述ADC或抗體投與至受試者、例如患者。治療可以是治癒、癒合、減輕、緩解、改變、補救、改善、緩和、改良或影響病症（例如癌症）、病症的症狀或患病症的傾向性。

【0213】 如本文所用，術語「不飽和」意指部分具有一個或多個不飽和單元。

抗PSMA抗體和抗原結合片段

【0214】 本揭露提供了特異性結合PSMA並且可以單獨使用的抗體，例如配製為治療性或診斷性抗體組成物，例如用於在治療或檢測表現PSMA的癌症中使用。可以將該等抗體包裝或製備用於治療性用途，作為抗體、其抗原結合片段或作為ADC的部分。

【0215】 本文揭露的抗體可以以≤ 1 mM、≤ 100 nM、或≤ 10 nM或其間的任何量的解離常數（KD）結合PSMA，如藉由例如BIAcore®分析所測量的。在

一些實施方式中，KD係500 pM至1 nM或1 nM至10 nM。在一些實施方式中，KD係≤ 10 nM、≤ 5 nM、≤ 1 nM、或≤ 0.5 nM。

【0216】 在一些實施方式中，抗體係包含兩條重鏈和兩條輕鏈的四鏈抗體（也稱為免疫球蛋白）。在一些實施方式中，抗體係雙鏈半抗體（一條輕鏈和一條重鏈）或免疫球蛋白的抗原結合片段。

【0217】 在一些實施方式中，抗體係內化抗體或其內化抗原結合片段。在一些實施方式中，內化抗體結合細胞表面表現的PSMA並在結合時或結合後進入細胞。在一些實施方式中，ADC的藥物部分在ADC進入之後從ADC的抗體部分釋放且存在於表現PSMA的細胞中（即在ADC已內化之後）。在一些實施方式中，內化抗體結合細胞的細胞表面表現的PSMA，並且該細胞隨後被吞噬（例如，發生抗體依賴性細胞吞噬作用）。在一些實施方式中，ADC的藥物部分在ADC進入之後從ADC的抗體部分釋放且存在於吞噬細胞（例如巨噬細胞、樹突狀細胞）中。

【0218】 本文揭露的特異性結合PSMA蛋白的抗體可以包含三個重鏈CDR（HCDR1、HCDR2和HCDR3），其具有選自下文表1和/或3中列出的HC CDR的胺基酸序列，如由Kabat編號系統所定義的，和三個輕鏈CDR（LCDR1、LCDR2和LCDR3），其具有選自下文表1和/或3中列出的LC CDR的胺基酸序列，如由Kabat編號系統所定義的。在一些實施方式中，抗體包含三個重鏈CDR（HCDR1、HCDR2和HCDR3），其具有選自下文表5中列出的HC CDR的胺基酸序列，如由IMGT編號系統所定義的，和三個輕鏈CDR（LCDR1、LCDR2和LCDR3），其具有選自下文表5中列出的LC CDR的胺基酸序列，如由IMGT編號系統所定義的。

【0219】 在一些實施方式中，本文揭露的抗體包含VH結構域，其具有選自下文表2和/或7中列出的SEQ ID NO: 1-14的胺基酸序列。在一些實施方式

中，抗體包含VL結構域，其具有選自下文表2和/或7中列出的SEQ ID NO: 15-20的胺基酸序列。

【0220】在一些實施方式中，本文揭露的抗原結合片段保留PSMA結合。在一些實施方式中，抗原結合片段藉由包含以下而保留PSMA結合：三個重鏈CDR（HCDR1、HCDR2和HCDR3），其包含選自下文表1和/或3中列出的HC CDR的胺基酸序列，如由Kabat編號系統所定義的，和三個輕鏈CDR（LCDR1、LCDR2和LCDR3），其包含選自下文表1和/或3中列出的LC CDR的胺基酸序列，如由Kabat編號系統所定義的。在一些實施方式中，抗原結合片段包含三個重鏈CDR（HCDR1、HCDR2和HCDR3），其包含選自下文表5中列出的HC CDR的胺基酸序列，如由IMGT編號系統所定義的，和三個輕鏈CDR（LCDR1、LCDR2和LCDR3），其包含選自下文表5中列出的LC CDR的胺基酸序列，如由IMGT編號系統所定義的。在一些實施方式中，本文揭露的抗原結合片段可藉由包含以下而保留PSMA結合：VH結構域，其包含選自下文表2和/或7中列出的SEQ ID NO: 1-14的胺基酸序列，和VL結構域，其包含選自下文表2和/或7中列出的SEQ ID NO: 15-20的胺基酸序列。

【0221】在一些實施方式中，抗PSMA抗體或抗原結合片段包含三個HCDR，其包含以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 21（HCDR1）、SEQ ID NO: 44（HCDR2）和SEQ ID NO: 27（HCDR3）；以及三個LCDR，其包含SEQ ID NO: 45（LCDR1）、SEQ ID NO: 46（LCDR2）和SEQ ID NO: 37（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的。在一些實施方式中，抗體或抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 42的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 43的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，抗體或抗原結合片段包含IgG1結構域。

【0222】在一些實施方式中，抗PSMA抗體或抗原結合片段包含三個HCDR，其包含以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 21（HCDR1）、SEQ ID NO: 22

（HCDR2）和SEQ ID NO: 27（HCDR3）；以及三個LCDR，其包含SEQ ID NO: 32（LCDR1）、SEQ ID NO: 35（LCDR2）和SEQ ID NO: 37（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的；或三個HCDR，其包含以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 28（HCDR1）、SEQ ID NO: 29（HCDR2）和SEQ ID NO: 30（HCDR3）；以及三個LCDR，其包含SEQ ID NO: 38（LCDR1）、SEQ ID NO: 39（LCDR2）和SEQ ID NO: 37（LCDR3），如由IMGT編號系統所定義的。在一些實施方式中，抗體或抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 14的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 19的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，抗體或抗原結合片段包含IgG1結構域。

【0223】在一些實施方式中，本文揭露的抗PSMA抗體和抗原結合片段具有有利的熱穩定性。在一些實施方式中，本文揭露的抗PSMA抗體或抗原結合片段具有> 70°C、> 75°C、或> 80°C的解鏈溫度（Tm）。在一些實施方式中，本文揭露的抗PSMA抗體或抗原結合片段具有> 80°C的解鏈溫度（Tm）。在一些實施方式中，本文揭露的抗PSMA抗體或抗原結合片段具有比替代抗PSMA抗體（例如J591和deJ591）更高的解鏈溫度（Tm）。參見美國專利案號11,059,903和美國專利案號7,045,605。

【0224】可選擇抗PSMA抗體或抗原結合片段以改進或保留多種因素，包括保留靶標結合親和力、增強熱穩定性和/或最大限度地減少免疫原性。在一些實施方式中，選擇在多於一種類別中展現出優異性的抗PSMA抗體。在一些實施方式中，選擇在多於一種類別中展現出改進的抗PSMA抗體，即使不一定係任何一種類別中最好的抗體。

【0225】在一些實施方式中，選擇如下抗PSMA抗體或抗原結合片段，該抗PSMA抗體或抗原結合片段包含三個HCDR，其包含以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 21（HCDR1）、SEQ ID NO: 22（HCDR2）和SEQ ID NO: 27

（HCDR3）；以及三個LCDR，其包含SEQ ID NO: 32（LCDR1）、SEQ ID NO: 35（LCDR2）和SEQ ID NO: 37（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的；或三個HCDR，其包含以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 28（HCDR1）、SEQ ID NO: 29（HCDR2）和SEQ ID NO: 30（HCDR3）；以及三個LCDR，其包含SEQ ID NO: 38（LCDR1）、SEQ ID NO: 39（LCDR2）和SEQ ID NO: 37（LCDR3），如由IMGT編號系統所定義的，與其他抗PSMA抗體（例如J591和/或deJ591）相比，該抗PSMA抗體或抗原結合片段展現出保留的靶標結合親和力、增強的熱穩定性和最大限度減少的免疫原性。在一些實施方式中，選擇如下抗PSMA抗體或抗原結合片段，該抗PSMA抗體或抗原結合片段包含三個HCDR，其包含以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 21（HCDR1）、SEQ ID NO: 22（HCDR2）和SEQ ID NO: 27（HCDR3）；以及三個LCDR，其包含SEQ ID NO: 32（LCDR1）、SEQ ID NO: 35（LCDR2）和SEQ ID NO: 37（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的；或三個HCDR，其包含以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 28（HCDR1）、SEQ ID NO: 29（HCDR2）和SEQ ID NO: 30（HCDR3）；以及三個LCDR，其包含SEQ ID NO: 38（LCDR1）、SEQ ID NO: 39（LCDR2）和SEQ ID NO: 37（LCDR3），如由IMGT編號系統所定義的，與其他抗PSMA抗體（例如J591、deJ591和/或本文揭露的抗PSMA抗體）相比，該抗PSMA抗體或抗原結合片段展現出保留的靶標結合親和力和最大限度減少的免疫原性。

【0226】在一些實施方式中，選擇如下抗PSMA抗體或抗原結合片段，該抗PSMA抗體或抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 14的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 19的胺基酸序列的輕鏈可變區，與其他抗PSMA抗體（例如J591和/或deJ591）相比，該抗PSMA抗體或抗原結合片段展現出保留的靶標結合親和力、增強的熱穩定性和最大限度減少的免疫原性。在一些實施方式

中，選擇如下抗PSMA抗體或抗原結合片段，該抗PSMA抗體或抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 14的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 19的胺基酸序列的輕鏈可變區，與其他抗PSMA抗體（例如J591、deJ591和/或本文揭露的抗PSMA抗體）相比，該抗PSMA抗體或抗原結合片段展現出保留的靶標結合親和力和最大限度減少的免疫原性。

【0227】在一些實施方式中，本文揭露的抗體可以包含IgG恒定結構域，例如IgG1結構域或與含野生型恒定結構域（例如，含野生型IgG1）的抗體相比已被修飾以減少與Fc受體、例如Fcγ受體（FcγR）的結合的IgG1結構域。與Fc受體、例如FcγR的結合的減少可以藉由與不含修飾的抗體與同一受體的結合進行比較來測量。與含有未修飾的恒定結構域的抗體相比，結合的減少可以是至少約10倍，並且較佳的是至少約100倍。結合的減少可以使用本領域已知的任何測定來測量。例如，結合的減少可以使用螢光共振能量轉移（FRET）測定來測量。

【0228】在一些實施方式中，本文揭露的抗體可以包含IgG恒定結構域，例如IgG1結構域或與含野生型恒定結構域（例如，含野生型IgG1）的抗體相比已被修飾以增加與Fc受體、例如Fcγ受體（FcγR）的結合的IgG1結構域。與Fc受體、例如FcγR的結合增加可以藉由與不含修飾的抗體與同一受體的結合進行比較來測量。與含有未修飾的恒定結構域的抗體相比，結合增加可以是至少約5倍，並且較佳的是至少約10倍。結合增加可以使用螢光共振能量轉移（FRET）測定來測量。在一些實施方式中，經修飾的IgG恒定結構域藉由Fc工程改造和/或聚糖修飾（例如無岩藻糖基化）進行修飾。

【0229】在一些實施方式中，本文揭露的抗體可以包含IgG1結構域，其包含根據Kabat的EU編號的突變L234A、L235A、P238S、H268Q和/或K274Q（例如，包含所有該等突變）。參見，例如Wang等人 (2017) Protein Cell [蛋白

質與細胞] 9(1):63-73；Vafa等人 (2014) Methods [方法] 1；65(1):114-26；和Tam等人 (2017) Antibodies [抗體] 1 6(3):12。不受理論的束縛，該等突變可以減少抗體與Fcγ受體（FcγR）的結合，這可以減少免疫細胞（如中性粒細胞）對抗體或ADC的非抗原介導的攝取，從而減少中性粒細胞減少症。中性粒細胞減少症的減少可以使用本領域已知的任何測定來測量。例如，中性粒細胞減少症的減少可以使用流動式細胞測量術測定來測量。

【0230】 在一些實施方式中，特異性結合PSMA蛋白的抗體包含如下重鏈，其具有選自下文表8中列出的SEQ ID NO: 47-60的胺基酸序列和/或包含來自表8中的胺基酸序列的一組CDR和/或可變結構域。在一些實施方式中，特異性結合PSMA蛋白的抗體包含如下輕鏈，其具有選自下文表8中列出的SEQ ID NO: 61-66的胺基酸序列和/或包含來自表8中的胺基酸序列的一組CDR和/或可變結構域。

【0231】 表1-9中列出了本揭露的示例性抗體的胺基酸和核酸序列。單株抗體Kabat CDR和可變區共有序列（分別為表1和2）反映了由SEQ ID NO: 1-20表示的重鏈和輕鏈可變區序列的比對（圖1）。殖株之間不同的殘基由SEQ ID NO: 42-46中的「X」表示。如本文所述之抗PSMA抗體或抗原結合片段可以藉由表1的共有CDR序列與表3的CDR序列組合來定義，例如，藉由選擇表1的HC CDR2、LC CDR1和/或LCDR2序列以及表3的HC CDR1、HC CDR2、HC CDR3、LC CDR1、LC CDR2和/或LC CDR3來藉由其三個重鏈和三個輕鏈CDR序列來描述抗體。

【表1】.共有mAb Kabat CDR的胺基酸序列

IgG鏈	**SEQ ID NO**	**胺基酸序列**
重鏈CDR		
HC CDR2	44	NINPNNGGTTYX^{1}X^{2}KFX^{3}X^{4}
輕鏈CDR		

LC CDR1	45	X^5ASQDVGTAX^6X^7
LC CDR2	46	WASTRHX^8

X^1 = A或N；X^2 = E或Q；X^3 = Q或E；X^4 = G或D；X^5 = R或K；X^6 = V或L；X^7 = D或N；並且X^8 = S或T

【表2】.共有mAb可變區的胺基酸序列

IgG鏈	**SEQ ID NO**	**可變區的胺基酸序列**
重鏈	42	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKX^9SGYTFTEYTIH WVQQAPGKGLEWX^{10}GNINPNNGGTTY$X^{11}X^{12}$KFX^{13} X^{14}RVTITX^{15}DX^{16}STX^{17}TAYMELSSLRSEDTAVYYC AX^{18}GWNFDYWGQGTLLTVSS
輕鏈	43	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCX^{19}ASQDVGTA$X^{20}X^{21}$WYQQKPGKAPKLLIYWASTRHX^{22}GVPSRFSGSGS GTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYNSYPLTFGQGTK LEIK

X^9 = V或T；X^{10} = M或I；X^{11} = A或N；X^{12} = E或Q；X^{13} = Q或E；X^{14} = G或D；X^{15} = A或V；X^{16} = T或K；X^{17} = D或S；X^{18} = T或A；X^{19} = R或K；X^{20} = L或V；X^{21} = N或D；並且X^{22} = S或T

【表3】.mAb Kabat CDR的胺基酸序列

IgG鏈	**SEQ ID NO**	**胺基酸序列**
重鏈CDR		
HC CDR1	21	EYTIH
HC CDR2	22	NINPNNGGTTYAEKFQG
	23	NINPNNGGTTYNEKFQG
	24	NINPNNGGTTYNQKFQG
	25	NINPNNGGTTYNQKFEG
	26	NINPNNGGTTYNQKFED
HC CDR3	27	GWNFDY
輕鏈CDR		
LC CDR1	32	RASQDVGTAVD
	33	KASQDVGTAVD
	34	RASQDVGTALN
LC CDR2	35	WASTRHS

	36	WASTRHT
LC CDR3	37	QQYNSYPLT

【表4】.編碼mAb Kabat CDR的核酸序列

IgG鏈	**SEQ ID NO**	**核酸序列**
重鏈CDR		
HC CDR1	74	GAGTACACCATTCAC
HC CDR2	75	AACATCAACCCCAACAACGGCGGCACCACCTACGCCGAAAAATTCCAGGGC
	76	AACATCAACCCCAACAACGGCGGCACCACCTACAACGAAAAATTCCAGGGC
	77	AACATCAACCCCAACAACGGCGGCACCACCTACAACCAGAAATTCCAGGGC
	78	AACATCAACCCCAACAACGGCGGCACCACCTACAACCAGAAATTCGAGGGC
	79	AACATCAACCCCAACAACGGCGGCACCACCTACAACCAGAAATTCGAGGAC
HC CDR3	80	GGCTGGAACTTCGACTAC
輕鏈CDR		
LC CDR1	81	AGAGCCAGCCAGGATGTGGGCACCGCTGTTGAC
	82	AAGGCCAGCCAGGATGTGGGCACCGCTGTTGAC
	83	AGAGCCAGCCAGGATGTGGGCACCGCTCTGAAC
LC CDR2	84	TGGGCCAGCACAAGACACAGC
	85	TGGGCCAGCACAAGACACACA
LC CDR3	86	CAGCAGTACAACAGCTACCCTCTGACC

【表5】.mAb IMGT CDR的胺基酸序列

IgG鏈	**SEQ ID NO**	**胺基酸序列**
重鏈CDR		
HC CDR1	28	GYTFTEYT
HC CDR2	29	INPNNGGT
HC CDR3	30	ATGWNFDY

	31	AAGWNFDY
輕鏈CDR		
LC CDR1	38	QDVGTA
LC CDR2	39	WAS
LC CDR3	37	QQYNSYPLT

【表6】.編碼mAb IMGT CDR的核酸序列

IgG鏈	**SEQ ID NO**	**核酸序列**
重鏈CDR		
HC CDR1	87	GGCTACACCTTCACCGAGTACACC
HC CDR2	88	ATCAACCCCAACAACGGCGGCACC
HC CDR3	89	GCCACCGGCTGGAACTTCGACTAC
	90	GCCGCCGGCTGGAACTTCGACTAC
輕鏈CDR		
LC CDR1	91	CAGGATGTGGGCACCGCT
LC CDR2	92	TGGGCCAGC
LC CDR3	86	CAGCAGTACAACAGCTACCCTCTGACC

【表7】.mAb可變區的胺基酸序列

SEQ ID NO	**名稱**	**靶標**	**Fv**	**可變區的胺基酸序列**
1	VhZu1	人 PSMA	Vh	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSG YTFT**EYTIH**WVQQAPGKGLEWMGN**IN PNNGGT**TYNQKFEDRVTITADTSTDT AYMELSSLRSEDTAVYYCAT**GWNFDY** WGQGTLVTVSS
2	VhZu2	人 PSMA	Vh	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKTSGY TFT**EYTIH**WVQQAPGKGLEWMGN**INP NNGGT**TYNQKFEDRVTITADTSTDTA YMELSSLRSEDTAVYYCAT**GWNFDY** WGQGTLVTVSS
3	VhZu3	人 PSMA	Vh	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSG YTFT**EYTIH**WVQQAPGKGLEWIGN**IN PNNGGT**TYNQKFEDRVTITADTSTDT AYMELSSLRSEDTAVYYCAT**GWNFDY** WGQGTLVTVSS

SEQ ID NO	名稱	靶標	Fv	可變區的胺基酸序列
4	VhZu4	人 PSMA	Vh	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSG YTFT**EYTIH**WVQQAPGKGLEWMGN**IN PNNGGT**TYNQKFEDRVTITVDTSTDT AYMELSSLRSEDTAVYYCAT**GWNFDY** WGQGTLVTVSS
5	VhZu5	人 PSMA	Vh	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSG YTFT**EYTIH**WVQQAPGKGLEWMGN**IN PNNGGT**TYNQKFEDRVTITADKSTDT AYMELSSLRSEDTAVYYCAT**GWNFDY** WGQGTLVTVSS
6	VhZu6	人 PSMA	Vh	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSG YTFT**EYTIH**WVQQAPGKGLEWMGN**IN PNNGGT**TYNQKFEDRVTITADTSTST AYMELSSLRSEDTAVYYCAT**GWNFDY** WGQGTLVTVSS
7	VhZu7	人 PSMA	Vh	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSG YTFT**EYTIH**WVQQAPGKGLEWMGN**IN PNNGGT**TYNQKFEDRVTITADTSTDT AYMELSSLRSEDTAVYYCAA**GWNFD Y**WGQGTLVTVSS
8	VhZu8	人 PSMA	Vh	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSG YTFT**EYTIH**WVQQAPGKGLEWIGN**IN PNNGGT**TYNQKFEDRVTITADTSTDT AYMELSSLRSEDTAVYYCAA**GWNFD Y**WGQGTLVTVSS
9	VhZu9	人 PSMA	Vh	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKTSGY TFT**EYTIH**WVQQAPGKGLEWIGN**INP NNGGT**TYNQKFEDRVTITADKSTSTA YMELSSLRSEDTAVYYCAA**GWNFDY** WGQGTLVTVSS
10	VhZu10	人 PSMA	Vh	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKTSGY TFT**EYTIH**WVQQAPGKGLEWIGN**INP NNGGT**TYNQKFEDRVTITADTSTDTA YMELSSLRSEDTAVYYCAA**GWNFDY** WGQGTLVTVSS
11	VhZu11	人 PSMA	Vh	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSG YTFT**EYTIH**WVQQAPGKGLEWMGN**IN PNNGGT**TYNQKFEGRVTITADTSTDT AYMELSSLRSEDTAVYYCAT**GWNFDY** WGQGTLVTVSS

SEQ ID NO	名稱	靶標	Fv	可變區的胺基酸序列
12	VhZu12	人 PSMA	Vh	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSG YTFT**EYTIH**WVQQAPGKGLEWMGN**IN PNNGGT**TYNQKFQGRVTITADTSTDT AYMELSSLRSEDTAVYYCAT**GWNFDY** WGQGTLVTVSS
13	VhZu13	人 PSMA	Vh	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSG YTFT**EYTIH**WVQQAPGKGLEWMGN**IN PNNGGT**TYNEKFQGRVTITADTSTDT AYMELSSLRSEDTAVYYCAT**GWNFDY** WGQGTLVTVSS
14	VhZu14	人 PSMA	Vh	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSG YTFT**EYTIH**WVQQAPGKGLEWMGN**IN PNNGGT**TYAEKFQGRVTITADTSTDT AYMELSSLRSEDTAVYYCAT**GWNFDY** WGQGTLVTVSS
15	VkZu1	人 PSMA	Vk	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**KASQ DVGTAVD**WYQQKPGKAPKLLIY**WAS TRHT**GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQP EDFATYYC**QQYNSYPLT**FGQGTKLEIK
16	VkZu2	人 PSMA	Vk	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQ DVGTAVD**WYQQKPGKAPKLLIY**WAS TRHT**GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQP EDFATYYC**QQYNSYPLT**FGQGTKLEIK
17	VkZu3	人 PSMA	Vk	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQ DVGTALN**WYQQKPGKAPKLLIY**WAS TRHT**GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQP EDFATYYC**QQYNSYPLT**FGQGTKLEIK
18	VkZu4	人 PSMA	Vk	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**KASQ DVGTAVD**WYQQKPGKAPKLLIY**WAS TRHS**GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQP EDFATYYC**QQYNSYPLT**FGQGTKLEIK
19	VkZu5	人 PSMA	Vk	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQ DVGTAVD**WYQQKPGKAPKLLIY**WAS TRHS**GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQP EDFATYYC**QQYNSYPLT**FGQGTKLEIK
20	VkZu6	人 PSMA	Vk	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQ DVGTALN**WYQQKPGKAPKLLIY**WAS TRHS**GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQP EDFATYYC**QQYNSYPLT**FGQGTKLEIK

SEQ ID NO	名稱	靶標	Fv	可變區的胺基酸序列
40	deJ591Vh	人PSMA	Vh	EVQLVQSGPEVKKPGATVKISCKTSGYTFT**EYTIH**WVKQAPGKGLEWIG**NINPNNGGTTYNQKFED**KATLTVDKSTDTAYMELSSLRSEDTAVYYC**AAGWNFDY**WGQGTLLTVSS
41	deJ591Vk	人PSMA	DIQMTQSPSSLSTSVGDRVTLTC**KASQDVGTAVD**WYQQKPGPSPKLLIY**WASTRHT**GIPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFADYYC**QQYNSYPLT**FGPGTKVDIK
72	J591 Vh	人PSMA	EVQLQQSGPELKKPGTSVRISCKTSGYTFTEYTIHWVKQSHGKSLEWIGNINPNNGGTTYNQKFEDKATLTVDKSSSTAYMELRSLTSEDSAVYYCAAGWNFDYWGQGTTLTVSS
73	J591 Vk	人PSMA	Vk	DIVMTQSHKFMSTSVGDRVSIICKASQDVGTAVDWYQQKPGQSPKLLIYWASTRHTGVPDRFTGSGSGTDFTLTTTNVQSEDLADYFCQQYNSYPLTFGAGTMLDLK

加粗的文本表示根據Kabat系統對應於CDR序列的胺基酸位置；帶底線的文本表示根據IMGT系統對應於CDR序列的胺基酸位置。既不加粗也不帶底線的文本對應於框架區。

【表8】.編碼mAb可變區的核酸序列

SEQ ID NO	名稱	靶標	Fv	可變區的核酸序列
93	VhZu1	人PSMA	Vh	GAAGTTCAACTTGTTCAGAGCGGAGCCGAAGTGAAGAAACCCGGCGCTACAGTGAAGATCAGCTGCAAGGTGTCCGGCTACACCTTCACCGAGTACACCATTCACTGGGTGCAGCAGGCCCCTGGCAAAGGACTGGAATGGATGGGCAACATCAACCCCAACAACGGCGGCACCACCTACAACCAGAAATTCGAGGACAGAGTGACCATCACCGCCGACACCAGCACCGATACAGCCTACATGGAACTGAGCAGCCTGAGAAGCGAGGACACCGCCGTGTATTATTGTGCCACCGGCTGGAACTTCGACTACTGGG

SEQ ID NO	名稱	靶標	Fv	可變區的核酸序列
				GACAGGGCACACTGGTCACCGTTAGCTCT
94	VhZu2	人PSMA	Vh	GAAGTTCAACTTGTTCAGAGCGGAGCCGAAGTGAAGAAACCCGGCGCTACAGTGAAGATCAGCTGCAAGACCTCCGGCTACACCTTCACCGAGTACACCATTCACTGGGTGCAGCAGGCCCCTGGCAAAGGACTGGAATGGATGGGCAACATCAACCCCAACAACGGCGGCACCACCTACAACCAGAAATTCGAGGACAGAGTGACCATCACCGCCGACACCAGCACCGATACAGCCTACATGGAACTGAGCAGCCTGAGAAGCGAGGACACCGCCGTGTATTATTGTGCCACCGGCTGGAACTTCGACTACTGGGGACAGGGCACACTGGTCACCGTTAGCTCT
95	VhZu3	人PSMA	Vh	GAAGTTCAACTTGTTCAGAGCGGAGCCGAAGTGAAGAAACCCGGCGCTACAGTGAAGATCAGCTGCAAGGTGTCCGGCTACACCTTCACCGAGTACACCATTCACTGGGTGCAGCAGGCCCCTGGCAAAGGACTGGAATGGATCGGCAACATCAACCCCAACAACGGCGGCACCACCTACAACCAGAAATTCGAGGACAGAGTGACCATCACCGCCGACACCAGCACCGATACAGCCTACATGGAACTGAGCAGCCTGAGAAGCGAGGACACCGCCGTGTATTATTGTGCCACCGGCTGGAACTTCGACTACTGGGGACAGGGCACACTGGTCACCGTTAGCTCT
96	VhZu4	人PSMA	Vh	GAAGTTCAACTTGTTCAGAGCGGAGCCGAAGTGAAGAAACCCGGCGCTACAGTGAAGATCAGCTGCAAGGTGTCCGGCTACACCTTCACCGAGTACACCATTCACTGGGTGCAGCAGGCCCCTGGCAAAGGACTGGAATGGATGGGCAACATCAACCCCAACAACGGCGGCACCACCTACAACCAGAAATTCGAGGACAGAGTGACCATCACCGTGGACACCAGCACCGATACAGCCTACATGGAACTGAGCAGCCTGAGAAGCGAGGACACCGCCGTGTATTATTGTG

SEQ ID NO	名稱	靶標	Fv	可變區的核酸序列
				CCACCGGCTGGAACTTCGACTACTGGG GACAGGGCACACTGGTCACCGTTAGCT CT
97	VhZu5	人 PSM A	Vh	GAAGTTCAACTTGTTCAGAGCGGAGCC GAAGTGAAGAAACCCGGCGCTACAGT GAAGATCAGCTGCAAGGTGTCCGGCT ACACCTTCACCGAGTACACCATTCACT GGGTGCAGCAGGCCCCTGGCAAAGGA CTGGAATGGATGGGCAACATCAACCC CAACAACGGCGGCACCACCTACAACC AGAAATTCGAGGACAGAGTGACCATC ACCGCCGACAAGAGCACCGATACAGC CTACATGGAACTGAGCAGCCTGAGAA GCGAGGACACCGCCGTGTATTATTGTG CCACCGGCTGGAACTTCGACTACTGGG GACAGGGCACACTGGTCACCGTTAGCT CT
98	VhZu6	人 PSM A	Vh	GAAGTTCAACTTGTTCAGAGCGGAGCC GAAGTGAAGAAACCCGGCGCTACAGT GAAGATCAGCTGCAAGGTGTCCGGCT ACACCTTCACCGAGTACACCATTCACT GGGTGCAGCAGGCCCCTGGCAAAGGA CTGGAATGGATGGGCAACATCAACCC CAACAACGGCGGCACCACCTACAACC AGAAATTCGAGGACAGAGTGACCATC ACCGCCGACACCAGCACCAGCACAGC CTACATGGAACTGAGCAGCCTGAGAA GCGAGGACACCGCCGTGTATTATTGTG CCACCGGCTGGAACTTCGACTACTGGG GACAGGGCACACTGGTCACCGTTAGCT CT
99	VhZu7	人 PSM A	Vh	GAAGTTCAACTTGTTCAGAGCGGAGCC GAAGTGAAGAAACCCGGCGCTACAGT GAAGATCAGCTGCAAGGTGTCCGGCT ACACCTTCACCGAGTACACCATTCACT GGGTGCAGCAGGCCCCTGGCAAAGGA CTGGAATGGATGGGCAACATCAACCC CAACAACGGCGGCACCACCTACAACC AGAAATTCGAGGACAGAGTGACCATC ACCGCCGACACCAGCACCGATACAGC CTACATGGAACTGAGCAGCCTGAGAA

SEQ ID NO	名稱	靶標	Fv	可變區的核酸序列
				GCGAGGACACCGCCGTGTATTATTGTG CCGCCGGCTGGAACTTCGACTACTGGG GACAGGGCACACTGGTCACCGTTAGCT CT
100	VhZu8	人PSMA	Vh	GAAGTTCAACTTGTTCAGAGCGGAGCC GAAGTGAAGAAACCCGGCGCTACAGT GAAGATCAGCTGCAAGGTGTCCGGCT ACACCTTCACCGAGTACACCATTCACT GGGTGCAGCAGGCCCCTGGCAAAGGA CTGGAATGGATCGGCAACATCAACCC CAACAACGGCGGCACCACCTACAACC AGAAATTCGAGGACAGAGTGACCATC ACCGCCGACACCAGCACCGATACAGC CTACATGGAACTGAGCAGCCTGAGAA GCGAGGACACCGCCGTGTATTATTGTG CCGCCGGCTGGAACTTCGACTACTGGG GACAGGGCACACTGGTCACCGTTAGCT CT
101	VhZu9	人PSMA	Vh	GAAGTTCAACTTGTTCAGAGCGGAGCC GAAGTGAAGAAACCCGGCGCTACAGT GAAGATCAGCTGCAAGACCTCCGGCT ACACCTTCACCGAGTACACCATTCACT GGGTGCAGCAGGCCCCTGGCAAAGGA CTGGAATGGATCGGCAACATCAACCC CAACAACGGCGGCACCACCTACAACC AGAAATTCGAGGACAGAGTGACCATC ACCGCCGACAAGAGCACCAGCACAGC CTACATGGAACTGAGCAGCCTGAGAA GCGAGGACACCGCCGTGTATTATTGTG CCGCCGGCTGGAACTTCGACTACTGGG GACAGGGCACACTGGTCACCGTTAGCT CT
102	VhZu10	人PSMA	Vh	GAAGTTCAACTTGTTCAGAGCGGAGCC GAAGTGAAGAAACCCGGCGCTACAGT GAAGATCAGCTGCAAGACCTCCGGCT ACACCTTCACCGAGTACACCATTCACT GGGTGCAGCAGGCCCCTGGCAAAGGA CTGGAATGGATCGGCAACATCAACCC CAACAACGGCGGCACCACCTACAACC AGAAATTCGAGGACAGAGTGACCATC ACCGCCGACACCAGCACCGATACAGC

SEQ ID NO	名稱	靶標	Fv	可變區的核酸序列
				CTACATGGAACTGAGCAGCCTGAGAA GCGAGGACACCGCCGTGTATTATTGTG CCGCCGGCTGGAACTTCGACTACTGGG GACAGGGCACACTGGTCACCGTTAGCT CT
103	VhZu11	人 PSM A	Vh	GAAGTTCAACTTGTTCAGAGCGGAGCC GAAGTGAAGAAACCCGGCGCTACAGT GAAGATCAGCTGCAAGGTGTCCGGCT ACACCTTCACCGAGTACACCATTCACT GGGTGCAGCAGGCCCCTGGCAAAGGA CTGGAATGGATGGGCAACATCAACCC CAACAACGGCGGCACCACCTACAACC AGAAATTCGAGGGCAGAGTGACCATC ACCGCCGACACCAGCACCGATACAGC CTACATGGAACTGAGCAGCCTGAGAA GCGAGGACACCGCCGTGTATTATTGTG CCACCGGCTGGAACTTCGACTACTGGG GACAGGGCACACTGGTCACCGTTAGCT CT
104	VhZu12	人 PSM A	Vh	GAAGTTCAACTTGTTCAGAGCGGAGCC GAAGTGAAGAAACCCGGCGCTACAGT GAAGATCAGCTGCAAGGTGTCCGGCT ACACCTTCACCGAGTACACCATTCACT GGGTGCAGCAGGCCCCTGGCAAAGGA CTGGAATGGATGGGCAACATCAACCC CAACAACGGCGGCACCACCTACAACC AGAAATTCCAGGGCAGAGTGACCATC ACCGCCGACACCAGCACCGATACAGC CTACATGGAACTGAGCAGCCTGAGAA GCGAGGACACCGCCGTGTATTATTGTG CCACCGGCTGGAACTTCGACTACTGGG GACAGGGCACACTGGTCACCGTTAGCT CT
105	VhZu13	人 PSM A	Vh	GAAGTTCAACTTGTTCAGAGCGGAGCC GAAGTGAAGAAACCCGGCGCTACAGT GAAGATCAGCTGCAAGGTGTCCGGCT ACACCTTCACCGAGTACACCATTCACT GGGTGCAGCAGGCCCCTGGCAAAGGA CTGGAATGGATGGGCAACATCAACCC CAACAACGGCGGCACCACCTACAACG AAAAATTCCAGGGCAGAGTGACCATC

SEQ ID NO	名稱	靶標	Fv	可變區的核酸序列
				ACCGCCGACACCAGCACCGATACAGC CTACATGGAACTGAGCAGCCTGAGAA GCGAGGACACCGCCGTGTATTATTGTG CCACCGGCTGGAACTTCGACTACTGGG GACAGGGCACACTGGTCACCGTTAGCT CT
106	VhZu14	人 PSM A	Vh	GAAGTTCAACTTGTTCAGAGCGGAGCC GAAGTGAAGAAACCCGGCGCTACAGT GAAGATCAGCTGCAAGGTGTCCGGCT ACACCTTCACCGAGTACACCATTCACT GGGTGCAGCAGGCCCCTGGCAAAGGA CTGGAATGGATGGGCAACATCAACCC CAACAACGGCGGCACCACCTACGCCG AAAAATTCCAGGGCAGAGTGACCATC ACCGCCGACACCAGCACCGATACAGC CTACATGGAACTGAGCAGCCTGAGAA GCGAGGACACCGCCGTGTATTATTGTG CCACCGGCTGGAACTTCGACTACTGGG GACAGGGCACACTGGTCACCGTTAGCT CT
107	VkZu1	人 PSM A	Vk	GATATTCAGATGACACAGAGCCCTAG CAGCCTGAGCGCCTCTGTGGGCGATAG AGTGACAATCACATGCAAGGCCAGCC AGGATGTGGGCACCGCTGTTGACTGGT ATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGCCCCT AAGCTGCTGATCTACTGGGCCAGCACA AGACACACAGGCGTGCCAAGCAGATT TTCTGGCAGCGGCTCTGGCACCGACTT CACCCTGACCATTTCTAGCCTCCAGCC TGAGGACTTCGCCACCTACTACTGTCA GCAGTACAACAGCTACCCTCTGACCTT TGGCCAGGGCACCAAGCTGGAAATCA AA
108	VkZu2	人 PSM A	Vk	GATATTCAGATGACACAGAGCCCTAG CAGCCTGAGCGCCTCTGTGGGCGATAG AGTGACAATCACATGCAGAGCCAGCC AGGATGTGGGCACCGCTGTTGACTGGT ATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGCCCCT AAGCTGCTGATCTACTGGGCCAGCACA AGACACACAGGCGTGCCAAGCAGATT TTCTGGCAGCGGCTCTGGCACCGACTT

SEQ ID NO	名稱	靶標	Fv	可變區的核酸序列
				CACCCTGACCATTTCTAGCCTCCAGCC TGAGGACTTCGCCACCTACTACTGTCA GCAGTACAACAGCTACCCTCTGACCTT TGGCCAGGGCACCAAGCTGGAAATCA AA
109	VkZu3	人 PSM A	Vk	GATATTCAGATGACACAGAGCCCTAG CAGCCTGAGCGCCTCTGTGGGCGATAG AGTGACAATCACATGCAGAGCCAGCC AGGATGTGGGCACCGCTCTGAACTGGT ATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGCCCCT AAGCTGCTGATCTACTGGGCCAGCACA AGACACACAGGCGTGCCAAGCAGATT TTCTGGCAGCGGCTCTGGCACCGACTT CACCCTGACCATTTCTAGCCTCCAGCC TGAGGACTTCGCCACCTACTACTGTCA GCAGTACAACAGCTACCCTCTGACCTT TGGCCAGGGCACCAAGCTGGAAATCA AA
110	VkZu4	人 PSM A	Vk	GATATTCAGATGACACAGAGCCCTAG CAGCCTGAGCGCCTCTGTGGGCGATAG AGTGACAATCACATGCAAGGCCAGCC AGGATGTGGGCACCGCTGTTGACTGGT ATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGCCCCT AAGCTGCTGATCTACTGGGCCAGCACA AGACACAGCGGCGTGCCAAGCAGATT TTCTGGCAGCGGCTCTGGCACCGACTT CACCCTGACCATTTCTAGCCTCCAGCC TGAGGACTTCGCCACCTACTACTGTCA GCAGTACAACAGCTACCCTCTGACCTT TGGCCAGGGCACCAAGCTGGAAATCA AA
111	VkZu5	人 PSM A	Vk	GATATTCAGATGACACAGAGCCCTAG CAGCCTGAGCGCCTCTGTGGGCGATAG AGTGACAATCACATGCAGAGCCAGCC AGGATGTGGGCACCGCTGTTGACTGGT ATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGCCCCT AAGCTGCTGATCTACTGGGCCAGCACA AGACACAGCGGCGTGCCAAGCAGATT TTCTGGCAGCGGCTCTGGCACCGACTT CACCCTGACCATTTCTAGCCTCCAGCC TGAGGACTTCGCCACCTACTACTGTCA

SEQ ID NO	名稱	靶標	Fv	可變區的核酸序列
				GCAGTACAACAGCTACCCTCTGACCTTTGGCCAGGGCACCAAGCTGGAAATCAAA
112	VkZu6	人PSMA	Vk	GATATTCAGATGACACAGAGCCCTAGCAGCCTGAGCGCCTCTGTGGGCGATAGAGTGACAATCACATGCAGAGCCAGCCAGGATGTGGGCACCGCTCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGCCCCTAAGCTGCTGATCTACTGGGCCAGCACAAGACACAGCGGCGTGCCAAGCAGATTTTCTGGCAGCGGCTCTGGCACCGACTTCACCCTGACCATTTCTAGCCTCCAGCCTGAGGACTTCGCCACCTACTACTGTCAGCAGTACAACAGCTACCCTCTGACCTTTGGCCAGGGCACCAAGCTGGAAATCAAA
113	deJ591Vh	人PSMA	Vh	GAAGTTCAACTTGTGCAGAGCGGCCCTGAAGTGAAGAAACCTGGCGCTACCGTGAAGATCAGCTGCAAGACCAGCGGCTACACCTTCACCGAGTACACCATCCACTGGGTTAAGCAGGCCCCTGGCAAAGGCCTGGAATGGATCGGCAACATCAACCCCAACAACGGCGGCACCACCTACAACCAGAAGTTCGAGGATAAGGCCACACTGACCGTGGACAAGAGCACCGACACAGCCTACATGGAACTGAGCAGCCTGAGAAGCGAGGACACCGCCGTGTATTATTGTGCCGCCGGATGGAACTTCGACTACTGGGGACAGGGCACCCTGCTGACAGTCTCTTCT
114	deJ591Vk	人PSMA	Vk	GATATTCAGATGACACAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCACATCTGTGGGAGATAGAGTGACCCTGACCTGCAAGGCCTCTCAGGATGTGGGAACCGCCGTGGACTGGTATCAGCAGAAACCCGGACCTTCTCCAAAGCTGCTGATCTACTGGGCCAGCACCAGACACACAGGCATCCCTAGCAGATTTTCTGGCAGCGGCTCTGGCACCGACTTCACCCTGACCATTTCTAGCCTCCAGCCTGAGGACTTCGCCGACTACTACTGCCAGCAGTACAACAGCTACCCTCTGACATTC

SEQ ID NO	名稱	靶標	Fv	可變區的核酸序列
				GGCCCTGGCACCAAGGTGGACATCAAA
139	J591 Vh	人PSMA	Vh	GAAGTTCAACTTCAGCAGTCTGGCCCCGAGCTGAAGAAACCTGGAACAAGCGTGCGGATCAGCTGCAAGACCAGCGGCTACACCTTCACCGAGTACACCATCCACTGGGTCAAGCAGAGCCACGGCAAGTCTCTGGAATGGATCGGCAACATCAACCCCAACAACGGCGGCACCACCTACAACCAGAAGTTCGAGGATAAGGCCACACTGACCGTGGACAAGAGCAGCAGCACAGCCTACATGGAACTGAGAAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCGTGTATTATTGTGCCGCCGGATGGAACTTCGACTACTGGGGACAGGGCACAACCCTGACCGTTAGCTCT
140	J591 Vk	人PSMA	Vk	GATATTGTGATGACCCAGAGCCACAAGTTCATGAGCACCAGCGTGGGCGACAGAGTGTCCATCATCTGCAAGGCCTCTCAGGATGTGGGCACCGCCGTTGACTGGTATCAGCAGAAACCTGGACAGAGCCCCAAGCTGCTGATCTACTGGGCCTCTACAAGACACACAGGCGTGCCCGATAGATTCACAGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTTACCCTGACCATCACAAACGTGCAGAGCGAGGACCTGGCCGACTACTTCTGCCAGCAGTACAACAGCTACCCTCTGACCTTTGGAGCCGGCACCATGCTGGATCTTAAA

【表9】.全長mAb Ig鏈的胺基酸序列

SEQ ID NO	名稱	靶標	Ig鏈	全長mAb Ig鏈的胺基酸序列
47	zuJ591-H1	人PSMA	人IgG1	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGYTFT**EYTIH**WVQQAPGKGLEWMG**NINPNNGGTTYNQKFED**RVTITADTSTDTAYMELSSLRSEDTAVYYCAT**GWNFDY**WGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS

SEQ ID NO	名稱	靶標	Ig鏈	全長mAb Ig鏈的胺基酸序列
				GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKK VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
48	zuJ591-H2	人PSMA	人IgG1	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKTSGY TFT**EYTIH**WVQQAPGKGLEWMG**NINP** **NNGGT****TYNQKFED**RVTITADTSTDTA YMELSSLRSEDTAVYYCAT**GWNFDY** WGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKK VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
49	zuJ591-H3	人PSMA	人IgG1	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSG YTFT**EYTIH**WVQQAPGKGLEWIG**NIN** **PNNGGT****TYNQKFED**RVTITADTSTDT AYMELSSLRSEDTAVYYCAT**GWNFDY** WGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKK VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV

SEQ ID NO	名稱	靶標	Ig鏈	全長mAb Ig鏈的胺基酸序列
				YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
50	zuJ591-H4	人PSMA	人IgG1	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSG YTFT**EYTIH**WVQQAPGKGLEWMGN**IN** **PNNGGTTYNQKFED**RVTITVDTSTDT AYMELSSLRSEDTAVYYCAT**GWNFDY** WGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKK VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
51	zuJ591-H5	人PSMA	人IgG1	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSG YTFT**EYTIH**WVQQAPGKGLEWMGN**IN** **PNNGGTTYNQKFED**RVTITADKSTDT AYMELSSLRSEDTAVYYCAT**GWNFDY** WGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKK VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
52	zuJ591-H6	人PSMA	人IgG1	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSG YTFT**EYTIH**WVQQAPGKGLEWMGN**IN** **PNNGGTTYNQKFED**RVTITADTSTST

SEQ ID NO	名稱	靶標	Ig鏈	全長mAb Ig鏈的胺基酸序列
				AYMELSSLRSEDTAVYYCAT**GWNFDY** WGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKK VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
53	zuJ591-H7	人PSMA	人IgG1	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVS**G** YTFT**EYTIH**WVQQAPGKGLEWMGN**IN** **PNNGGTTYNQKFED**RVTITADTSTDT AYMELSSLRSEDTAVYYC**AAGWNFD** **Y**WGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
54	zuJ591-H8	人PSMA	人IgG1	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVS**G** YTFT**EYTIH**WVQQAPGKGLEWIGN**IN** **PNNGGTTYNQKFED**RVTITADTSTDT AYMELSSLRSEDTAVYYC**AAGWNFD** **Y**WGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS

SEQ ID NO	名稱	靶標	Ig鏈	全長mAb Ig鏈的胺基酸序列
				HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
55	zuJ591-H9	人PSMA	人IgG1	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKTSGY TFT**EYTIH**WVQQAPGKGLEWIG**NINP NNGGTTYNQKFED**RVTITADKSTSTA YMELSSLRSEDTAVYYCAA**GWNFDY** WGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKK VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
56	zuJ591-H10	人PSMA	人IgG1	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKTSGY TFT**EYTIH**WVQQAPGKGLEWIG**NINP NNGGTTYNQKFED**RVTITADTSTDTA YMELSSLRSEDTAVYYCAA**GWNFDY** WGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKK VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO	名稱	靶標	Ig鏈	全長mAb Ig鏈的胺基酸序列
57	zuJ591-H11	人PSMA	人IgG1	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSG YTFT**EYTIH**WVQQAPGKGLEWMGN**IN** **PNNGGTTYNQKFEG**RVTITADTSTDT AYMELSSLRSEDTAVYYCAT**GWNFDY** WGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKK VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
58	zuJ591-H12	人PSMA	人IgG1	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSG YTFT**EYTIH**WVQQAPGKGLEWMGN**IN** **PNNGGTTYNQKFQG**RVTITADTSTDT AYMELSSLRSEDTAVYYCAT**GWNFDY** WGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKK VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
59	zuJ591-H13	人PSMA	人IgG1	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSG YTFT**EYTIH**WVQQAPGKGLEWMGN**IN** **PNNGGTTYNEKFQG**RVTITADTSTDT AYMELSSLRSEDTAVYYCAT**GWNFDY** WGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT

SEQ ID NO	名稱	靶標	Ig鏈	全長mAb Ig鏈的胺基酸序列
				VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKK VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
60	zuJ591-H14	人PSMA	人IgG1	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSG YTFT**EYTIH**WVQQAPGKGLEWMGN**IN PNNGGT**TYAEKFQGRVTITADTSTDT AYMELSSLRSEDTAVYYCAT**GWNFDY** WGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKK VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
61	zuJ591-L1	人PSMA	人Igκ	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**KASQ DVGTAVD**WYQQKPGKAPKLLIY**WAS TRHT**GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQP EDFATYYC**QQYNSYPLT**FGQGTKLEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCL LNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE SVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
62	zuJ591-L2	人PSMA	人Igκ	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQ DVGTAVD**WYQQKPGKAPKLLIY**WAS TRHT**GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQP EDFATYYC**QQYNSYPLT**FGQGTKLEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCL LNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE

SEQ ID NO	名稱	靶標	Ig鏈	全長mAb Ig鏈的胺基酸序列
				SVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
63	zuJ591-L3	人PSMA	人Igκ	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQ DVGTALN**WYQQKPGKAPKLLIY**WAS TRHT**GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQP EDFATYYC**QQYNSYPLT**FGQGTKLEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCL LNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE SVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
64	zuJ591-L4	人PSMA	人Igκ	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**KASQ DVGTAVD**WYQQKPGKAPKLLIY**WAS TRHS**GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQP EDFATYYC**QQYNSYPLT**FGQGTKLEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCL LNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE SVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
65	zuJ591-L5	人PSMA	人Igκ	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQ DVGTAVD**WYQQKPGKAPKLLIY**WAS TRHS**GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQP EDFATYYC**QQYNSYPLT**FGQGTKLEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCL LNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE SVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
66	zuJ591-L6	人PSMA	人Igκ	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQ DVGTALN**WYQQKPGKAPKLLIY**WAS TRHS**GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQP EDFATYYC**QQYNSYPLT**FGQGTKLEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCL LNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE SVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO	名稱	靶標	Ig鏈	全長mAb Ig鏈的胺基酸序列
115	deJ591-HC	人PSMA	人IgG1	EVQLVQSGPEVKKPGATVKISCKTSGY TFT**EYTIH**WVKQAPGKGLEWIG**NINP NNGGTTYNQKFED**KATLTVDKSTDT AYMELSSLRSEDTAVYYC**AAGWNFD Y**WGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
116	deJ591-LC	人PSMA	人Igκ	DIQMTQSPSSLSTSVGDRVTLTC**KASQ DVGTAVD**WYQQKPGPSPKLLIY**WAST RHT**GIPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED FADYYC**QQYNSYPLT**FGPGTKVDIKR TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKH KVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

加粗的文本表示根據Kabat系統對應於CDR序列的胺基酸位置；帶底線的文本表示根據IMGT系統對應於CDR序列的胺基酸位置。既不加粗也不帶底線的文本對應於框架區。

【表10】.全長mAb Ig鏈的核酸序列

SEQ ID NO	名稱	靶標	Ig鏈	全長mAb Ig鏈的胺基酸序列
117	zuJ591-H1	人PSMA	人IgG1	GAAGTTCAACTTGTTCAGAGCGGAGC CGAAGTGAAGAAACCCGGCGCTACA GTGAAGATCAGCTGCAAGGTGTCCG GCTACACCTTCACCGAGTACACCATT CACTGGGTGCAGCAGGCCCCTGGCA AAGGACTGGAATGGATGGGCAACAT CAACCCCAACAACGGCGGCACCACC

SEQ ID NO	名稱	靶標	Ig鏈	全長mAb Ig鏈的胺基酸序列
				TACAACCAGAAATTCGAGGACAGAG TGACCATCACCGCCGACACCAGCACC GATACAGCCTACATGGAACTGAGCA GCCTGAGAAGCGAGGACACCGCCGT GTATTATTGTGCCACCGGCTGGAACT TCGACTACTGGGGACAGGGCACACT GGTCACCGTTAGCTCTGCATCCACCA AGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCA CCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGG CACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCA AGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACG GTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGAC CAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTG TCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCC CTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTC CAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACA TCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGC AACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTG AGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCAC ACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGA ACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCC TCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACC CTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGT CACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCC ACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTG CATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGG AGGAGCAGTACAACAGCACGTACCG TGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGC ACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGA GTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAA GCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAAC CATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCC CGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCC CCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAG AACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGT CAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCG CCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCA GCCGGAGAACAACTACAAGACCACG CCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTC CTTCTTCTTATATTCAAAGCTCACCGT GGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGG

SEQ ID NO	名稱	靶標	Ig鏈	全長mAb Ig鏈的胺基酸序列
				AACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCA TGAGGCTCTGCACAACCACTACACGC AGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCCGGG AAATGA
118	zuJ591-H2	人PSMA	人IgG1	GAAGTTCAACTTGTTCAGAGCGGAGC CGAAGTGAAGAAACCCGGCGCTACA GTGAAGATCAGCTGCAAGACCTCCG GCTACACCTTCACCGAGTACACCATT CACTGGGTGCAGCAGGCCCCTGGCA AAGGACTGGAATGGATGGGCAACAT CAACCCCAACAACGGCGGCACCACC TACAACCAGAAATTCGAGGACAGAG TGACCATCACCGCCGACACCAGCACC GATACAGCCTACATGGAACTGAGCA GCCTGAGAAGCGAGGACACCGCCGT GTATTATTGTGCCACCGGCTGGAACT TCGACTACTGGGGACAGGGCACACT GGTCACCGTTAGCTCTGCATCCACCA AGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCA CCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGG CACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCA AGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACG GTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGAC CAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTG TCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCC CTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTC CAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACA TCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGC AACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTG AGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCAC ACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGA ACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCC TCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACC CTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGT CACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCC ACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTG CATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGG AGGAGCAGTACAACAGCACGTACCG TGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGC ACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGA GTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAA

SEQ ID NO	名稱	靶標	Ig鏈	全長mAb Ig鏈的胺基酸序列
				GCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAAC CATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCC CGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCC CCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAG AACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGT CAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCG CCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCA GCCGGAGAACAACTACAAGACCACG CCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTC CTTCTTCTTATATTCAAAGCTCACCGT GGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGG AACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCA TGAGGCTCTGCACAACCACTACACGC AGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCCGGG AAATGA
119	zuJ591-H3	人PSMA	人IgG1	GAAGTTCAACTTGTTCAGAGCGGAGC CGAAGTGAAGAAACCCGGCGCTACA GTGAAGATCAGCTGCAAGGTGTCCG GCTACACCTTCACCGAGTACACCATT CACTGGGTGCAGCAGGCCCCTGGCA AAGGACTGGAATGGATCGGCAACAT CAACCCCAACAACGGCGGCACCACC TACAACCAGAAATTCGAGGACAGAG TGACCATCACCGCCGACACCAGCACC GATACAGCCTACATGGAACTGAGCA GCCTGAGAAGCGAGGACACCGCCGT GTATTATTGTGCCACCGGCTGGAACT TCGACTACTGGGGACAGGGCACACT GGTCACCGTTAGCTCTGCATCCACCA AGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCA CCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGG CACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCA AGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACG GTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGAC CAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTG TCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCC CTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTC CAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACA TCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGC AACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTG AGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCAC ACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGA

SEQ ID NO	名稱	靶標	Ig鏈	全長mAb Ig鏈的胺基酸序列
				ACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCC TCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACC CTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGT CACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCC ACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTG CATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGG AGGAGCAGTACAACAGCACGTACCG TGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGC ACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGA GTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAA GCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAAC CATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCC CGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCC CCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAG AACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGT CAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCG CCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCA GCCGGAGAACAACTACAAGACCACG CCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTC CTTCTTCTTATATTCAAAGCTCACCGT GGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGG AACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCA TGAGGCTCTGCACAACCACTACACGC AGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCCGGG AAATGA
120	zuJ591-H4	人PSMA	人IgG1	GAAGTTCAACTTGTTCAGAGCGGAGC CGAAGTGAAGAAACCCGGCGCTACA GTGAAGATCAGCTGCAAGGTGTCCG GCTACACCTTCACCGAGTACACCATT CACTGGGTGCAGCAGGCCCCTGGCA AAGGACTGGAATGGATGGGCAACAT CAACCCCAACAACGGCGGCACCACC TACAACCAGAAATTCGAGGACAGAG TGACCATCACCGTGGACACCAGCACC GATACAGCCTACATGGAACTGAGCA GCCTGAGAAGCGAGGACACCGCCGT GTATTATTGTGCCACCGGCTGGAACT TCGACTACTGGGGACAGGGCACACT GGTCACCGTTAGCTCTGCATCCACCA AGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCA CCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGG

SEQ ID NO	名稱	靶標	Ig鏈	全長mAb Ig鏈的胺基酸序列
				CACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCA AGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACG GTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGAC CAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTG TCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCC CTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTC CAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACA TCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGC AACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTG AGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCAC ACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGA ACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCC TCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACC CTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGT CACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCC ACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTG CATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGG AGGAGCAGTACAACAGCACGTACCG TGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGC ACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGA GTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAA GCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAAC CATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCC CGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCC CCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAG AACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGT CAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCG CCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCA GCCGGAGAACAACTACAAGACCACG CCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTC CTTCTTCTTATATTCAAAGCTCACCGT GGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGG AACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCA TGAGGCTCTGCACAACCACTACACGC AGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCCGGG AAATGA
121	zuJ591-H5	人PSMA	人IgG1	GAAGTTCAACTTGTTCAGAGCGGAGC CGAAGTGAAGAAACCCGGCGCTACA GTGAAGATCAGCTGCAAGGTGTCCG GCTACACCTTCACCGAGTACACCATT CACTGGGTGCAGCAGGCCCCTGGCA

SEQ ID NO	名稱	靶標	Ig鏈	全長mAb Ig鏈的胺基酸序列
				AAGGACTGGAATGGATGGGCAACAT CAACCCCAACAACGGCGGCACCACC TACAACCAGAAATTCGAGGACAGAG TGACCATCACCGCCGACAAGAGCAC CGATACAGCCTACATGGAACTGAGC AGCCTGAGAAGCGAGGACACCGCCG TGTATTATTGTGCCACCGGCTGGAAC TTCGACTACTGGGGACAGGGCACACT GGTCACCGTTAGCTCTGCATCCACCA AGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCA CCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGG CACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCA AGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACG GTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGAC CAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTG TCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCC CTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTC CAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACA TCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGC AACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTG AGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCAC ACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGA ACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCC TCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACC CTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGT CACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCC ACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTG CATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGG AGGAGCAGTACAACAGCACGTACCG TGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGC ACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGA GTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAA GCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAAC CATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCC CGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCC CCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAG AACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGT CAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCG CCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCA GCCGGAGAACAACTACAAGACCACG CCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTC

SEQ ID NO	名稱	靶標	Ig鏈	全長mAb Ig鏈的胺基酸序列
				CTTCTTCTTATATTCAAAGCTCACCGT GGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGG AACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCA TGAGGCTCTGCACAACCACTACACGC AGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCCGGG AAATGA
122	zuJ591-H6	人PSMA	人IgG1	GAAGTTCAACTTGTTCAGAGCGGAGC CGAAGTGAAGAAACCCGGCGCTACA GTGAAGATCAGCTGCAAGGTGTCCG GCTACACCTTCACCGAGTACACCATT CACTGGGTGCAGCAGGCCCCTGGCA AAGGACTGGAATGGATGGGCAACAT CAACCCCAACAACGGCGGCACCACC TACAACCAGAAATTCGAGGACAGAG TGACCATCACCGCCGACACCAGCACC AGCACAGCCTACATGGAACTGAGCA GCCTGAGAAGCGAGGACACCGCCGT GTATTATTGTGCCACCGGCTGGAACT TCGACTACTGGGGACAGGGCACACT GGTCACCGTTAGCTCTGCATCCACCA AGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCA CCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGG CACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCA AGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACG GTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGAC CAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTG TCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCC CTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTC CAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACA TCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGC AACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTG AGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCAC ACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGA ACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCC TCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACC CTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGT CACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCC ACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTG CATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGG AGGAGCAGTACAACAGCACGTACCG TGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGC

SEQ ID NO	名稱	靶標	Ig鏈	全長mAb Ig鏈的胺基酸序列
				ACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGA GTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAA GCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAAC CATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCC CGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCC CCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAG AACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGT CAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCG CCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCA GCCGGAGAACAACTACAAGACCACG CCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTC CTTCTTCTTATATTCAAAGCTCACCGT GGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGG AACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCA TGAGGCTCTGCACAACCACTACACGC AGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCCGGG AAATGA
123	zuJ591-H7	人PSMA	人IgG1	GAAGTTCAACTTGTTCAGAGCGGAGC CGAAGTGAAGAAACCCGGCGCTACA GTGAAGATCAGCTGCAAGGTGTCCG GCTACACCTTCACCGAGTACACCATT CACTGGGTGCAGCAGGCCCCTGGCA AAGGACTGGAATGGATGGGCAACAT CAACCCCAACAACGGCGGCACCACC TACAACCAGAAATTCGAGGACAGAG TGACCATCACCGCCGACACCAGCACC GATACAGCCTACATGGAACTGAGCA GCCTGAGAAGCGAGGACACCGCCGT GTATTATTGTGCCGCCGGCTGGAACT TCGACTACTGGGGACAGGGCACACT GGTCACCGTTAGCTCTGCATCCACCA AGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCA CCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGG CACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCA AGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACG GTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGAC CAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTG TCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCC CTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTC CAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACA TCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGC AACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTG

SEQ ID NO	名稱	靶標	Ig鏈	全長mAb Ig鏈的胺基酸序列
				AGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCAC ACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGA ACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCC TCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACC CTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGT CACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCC ACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTG CATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGG AGGAGCAGTACAACAGCACGTACCG TGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGC ACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGA GTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAA GCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAAC CATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCC CGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCC CCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAG AACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGT CAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCG CCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCA GCCGGAGAACAACTACAAGACCACG CCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTC CTTCTTCTTATATTCAAAGCTCACCGT GGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGG AACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCA TGAGGCTCTGCACAACCACTACACGC AGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCCGGG AAATGA
124	zuJ591-H8	人PSMA	人IgG1	GAAGTTCAACTTGTTCAGAGCGGAGC CGAAGTGAAGAAACCCGGCGCTACA GTGAAGATCAGCTGCAAGGTGTCCG GCTACACCTTCACCGAGTACACCATT CACTGGGTGCAGCAGGCCCCTGGCA AAGGACTGGAATGGATCGGCAACAT CAACCCCAACAACGGCGGCACCACC TACAACCAGAAATTCGAGGACAGAG TGACCATCACCGCCGACACCAGCACC GATACAGCCTACATGGAACTGAGCA GCCTGAGAAGCGAGGACACCGCCGT GTATTATTGTGCCGCCGGCTGGAACT TCGACTACTGGGGACAGGGCACACT GGTCACCGTTAGCTCTGCATCCACCA

SEQ ID NO	名稱	靶標	Ig鏈	全長mAb Ig鏈的胺基酸序列
				AGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCA CCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGG CACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCA AGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACG GTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGAC CAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTG TCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCC CTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTC CAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACA TCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGC AACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTG AGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCAC ACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGA ACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCC TCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACC CTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGT CACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCC ACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTG CATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGG AGGAGCAGTACAACAGCACGTACCG TGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGC ACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGA GTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAA GCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAAC CATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCC CGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCC CCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAG AACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGT CAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCG CCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCA GCCGGAGAACAACTACAAGACCACG CCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTC CTTCTTCTTATATTCAAAGCTCACCGT GGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGG AACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCA TGAGGCTCTGCACAACCACTACACGC AGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCCGGG AAATGA

SEQ ID NO	名稱	靶標	Ig鏈	全長mAb Ig鏈的胺基酸序列
125	zuJ591-H9	人PSMA	人IgG1	GAAGTTCAACTTGTTCAGAGCGGAGC CGAAGTGAAGAAACCCGGCGCTACA GTGAAGATCAGCTGCAAGACCTCCG GCTACACCTTCACCGAGTACACCATT CACTGGGTGCAGCAGGCCCCTGGCA AAGGACTGGAATGGATCGGCAACAT CAACCCCAACAACGGCGGCACCACC TACAACCAGAAATTCGAGGACAGAG TGACCATCACCGCCGACAAGAGCAC CAGCACAGCCTACATGGAACTGAGC AGCCTGAGAAGCGAGGACACCGCCG TGTATTATTGTGCCGCCGGCTGGAAC TTCGACTACTGGGGACAGGGCACACT GGTCACCGTTAGCTCTGCATCCACCA AGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCA CCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGG CACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCA AGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACG GTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGAC CAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTG TCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCC CTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTC CAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACA TCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGC AACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTG AGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCAC ACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGA ACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCC TCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACC CTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGT CACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCC ACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTG CATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGG AGGAGCAGTACAACAGCACGTACCG TGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGC ACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGA GTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAA GCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAAC CATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCC CGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCC CCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAG

SEQ ID NO	名稱	靶標	Ig鏈	全長mAb Ig鏈的胺基酸序列
				AACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGT CAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCG CCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCA GCCGGAGAACAACTACAAGACCACG CCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTC CTTCTTCTTATATTCAAAGCTCACCGT GGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGG AACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCA TGAGGCTCTGCACAACCACTACACGC AGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCCGGG AAATGA
126	zuJ591-H10	人PSMA	人IgG1	GAAGTTCAACTTGTTCAGAGCGGAGC CGAAGTGAAGAAACCCGGCGCTACA GTGAAGATCAGCTGCAAGACCTCCG GCTACACCTTCACCGAGTACACCATT CACTGGGTGCAGCAGGCCCCTGGCA AAGGACTGGAATGGATCGGCAACAT CAACCCCAACAACGGCGGCACCACC TACAACCAGAAATTCGAGGACAGAG TGACCATCACCGCCGACACCAGCACC GATACAGCCTACATGGAACTGAGCA GCCTGAGAAGCGAGGACACCGCCGT GTATTATTGTGCCGCCGGCTGGAACT TCGACTACTGGGGACAGGGCACACT GGTCACCGTTAGCTCTGCATCCACCA AGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCA CCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGG CACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCA AGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACG GTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGAC CAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTG TCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCC CTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTC CAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACA TCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGC AACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTG AGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCAC ACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGA ACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCC TCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACC CTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGT CACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCC

SEQ ID NO	名稱	靶標	Ig鏈	全長mAb Ig鏈的胺基酸序列
				ACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTG CATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGG AGGAGCAGTACAACAGCACGTACCG TGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGC ACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGA GTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAA GCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAAC CATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCC CGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCC CCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAG AACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGT CAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCG CCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCA GCCGGAGAACAACTACAAGACCACG CCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTC CTTCTTCTTATATTCAAAGCTCACCGT GGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGG AACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCA TGAGGCTCTGCACAACCACTACACGC AGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCCGGG AAATGA
127	zuJ591-H11	人PSMA	人IgG1	GAAGTTCAACTTGTTCAGAGCGGAGC CGAAGTGAAGAAACCCGGCGCTACA GTGAAGATCAGCTGCAAGGTGTCCG GCTACACCTTCACCGAGTACACCATT CACTGGGTGCAGCAGGCCCCTGGCA AAGGACTGGAATGGATGGGCAACAT CAACCCCAACAACGGCGGCACCACC TACAACCAGAAATTCGAGGGCAGAG TGACCATCACCGCCGACACCAGCACC GATACAGCCTACATGGAACTGAGCA GCCTGAGAAGCGAGGACACCGCCGT GTATTATTGTGCCACCGGCTGGAACT TCGACTACTGGGGACAGGGCACACT GGTCACCGTTAGCTCTGCATCCACCA AGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCA CCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGG CACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCA AGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACG GTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGAC CAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTG

SEQ ID NO	名稱	靶標	Ig鏈	全長mAb Ig鏈的胺基酸序列
				TCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCC CTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTC CAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACA TCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGC AACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTG AGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCAC ACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGA ACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCC TCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACC CTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGT CACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCC ACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTG CATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGG AGGAGCAGTACAACAGCACGTACCG TGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGC ACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGA GTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAA GCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAAC CATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCC CGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCC CCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAG AACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGT CAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCG CCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCA GCCGGAGAACAACTACAAGACCACG CCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTC CTTCTTCTTATATTCAAAGCTCACCGT GGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGG AACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCA TGAGGCTCTGCACAACCACTACACGC AGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCCGGG AAATGA
128	zuJ591-H12	人PSMA	人IgG1	GAAGTTCAACTTGTTCAGAGCGGAGC CGAAGTGAAGAAACCCGGCGCTACA GTGAAGATCAGCTGCAAGGTGTCCG GCTACACCTTCACCGAGTACACCATT CACTGGGTGCAGCAGGCCCCTGGCA AAGGACTGGAATGGATGGGCAACAT CAACCCCAACAACGGCGGCACCACC TACAACCAGAAATTCCAGGGCAGAG TGACCATCACCGCCGACACCAGCACC

SEQ ID NO	名稱	靶標	Ig鏈	全長mAb Ig鏈的胺基酸序列
				GATACAGCCTACATGGAACTGAGCA GCCTGAGAAGCGAGGACACCGCCGT GTATTATTGTGCCACCGGCTGGAACT TCGACTACTGGGGACAGGGCACACT GGTCACCGTTAGCTCTGCATCCACCA AGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCA CCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGG CACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCA AGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACG GTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGAC CAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTG TCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCC CTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTC CAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACA TCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGC AACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTG AGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCAC ACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGA ACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCC TCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACC CTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGT CACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCC ACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTG CATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGG AGGAGCAGTACAACAGCACGTACCG TGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGC ACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGA GTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAA GCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAAC CATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCC CGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCC CCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAG AACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGT CAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCG CCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCA GCCGGAGAACAACTACAAGACCACG CCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTC CTTCTTCTTATATTCAAAGCTCACCGT GGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGG AACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCA TGAGGCTCTGCACAACCACTACACGC

SEQ ID NO	名稱	靶標	Ig鏈	全長mAb Ig鏈的胺基酸序列
				AGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCCGGG AAATGA
129	zuJ591-H13	人PSMA	人IgG1	GAAGTTCAACTTGTTCAGAGCGGAGC CGAAGTGAAGAAACCCGGCGCTACA GTGAAGATCAGCTGCAAGGTGTCCG GCTACACCTTCACCGAGTACACCATT CACTGGGTGCAGCAGGCCCCTGGCA AAGGACTGGAATGGATGGGCAACAT CAACCCCAACAACGGCGGCACCACC TACAACGAAAAATTCCAGGGCAGAG TGACCATCACCGCCGACACCAGCACC GATACAGCCTACATGGAACTGAGCA GCCTGAGAAGCGAGGACACCGCCGT GTATTATTGTGCCACCGGCTGGAACT TCGACTACTGGGGACAGGGCACACT GGTCACCGTTAGCTCTGCATCCACCA AGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCA CCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGG CACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCA AGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACG GTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGAC CAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTG TCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCC CTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTC CAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACA TCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGC AACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTG AGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCAC ACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGA ACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCC TCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACC CTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGT CACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCC ACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTG CATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGG AGGAGCAGTACAACAGCACGTACCG TGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGC ACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGA GTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAA GCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAAC CATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCC

SEQ ID NO	名稱	靶標	Ig鏈	全長mAb Ig鏈的胺基酸序列
				CGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCC CCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAG AACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGT CAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCG CCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCA GCCGGAGAACAACTACAAGACCACG CCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTC CTTCTTCTTATATTCAAAGCTCACCGT GGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGG AACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCA TGAGGCTCTGCACAACCACTACACGC AGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCCGGG AAATGA
130	zuJ591-H14	人PSMA	人IgG1	GAAGTTCAACTTGTTCAGAGCGGAGC CGAAGTGAAGAAACCCGGCGCTACA GTGAAGATCAGCTGCAAGGTGTCCG GCTACACCTTCACCGAGTACACCATT CACTGGGTGCAGCAGGCCCCTGGCA AAGGACTGGAATGGATGGGCAACAT CAACCCCAACAACGGCGGCACCACC TACGCCGAAAAATTCCAGGGCAGAG TGACCATCACCGCCGACACCAGCACC GATACAGCCTACATGGAACTGAGCA GCCTGAGAAGCGAGGACACCGCCGT GTATTATTGTGCCACCGGCTGGAACT TCGACTACTGGGGACAGGGCACACT GGTCACCGTTAGCTCTGCATCCACCA AGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCA CCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGG CACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCA AGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACG GTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGAC CAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTG TCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCC CTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTC CAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACA TCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGC AACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTG AGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCAC ACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGA ACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCC TCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACC

SEQ ID NO	名稱	靶標	Ig鏈	全長mAb Ig鏈的胺基酸序列
				CTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGT CACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCC ACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTG CATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGG AGGAGCAGTACAACAGCACGTACCG TGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGC ACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGA GTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAA GCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAAC CATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCC CGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCC CCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAG AACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGT CAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCG CCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCA GCCGGAGAACAACTACAAGACCACG CCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTC CTTCTTCTTATATTCAAAGCTCACCGT GGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGG AACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCA TGAGGCTCTGCACAACCACTACACGC AGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCCGGG AAATGA
131	zuJ591-L1	人PSMA	人Igκ	GATATTCAGATGACACAGAGCCCTAG CAGCCTGAGCGCCTCTGTGGGCGATA GAGTGACAATCACATGCAAGGCCAG CCAGGATGTGGGCACCGCTGTTGACT GGTATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGC CCCTAAGCTGCTGATCTACTGGGCCA GCACAAGACACACAGGCGTGCCAAG CAGATTTTCTGGCAGCGGCTCTGGCA CCGACTTCACCCTGACCATTTCTAGC CTCCAGCCTGAGGACTTCGCCACCTA CTACTGTCAGCAGTACAACAGCTACC CTCTGACCTTTGGCCAGGGCACCAAG CTGGAAATCAAACGAACTGTGGCTGC ACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATC TGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTG CCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAAC TTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACA GTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAAT

SEQ ID NO	名稱	靶標	Ig鏈	全長mAb Ig鏈的胺基酸序列
				CGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCAC AGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACC TACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGCT GAGCAAAGCAGACTACGAGAAACAC AAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCA TCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAA AGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTG A
132	zuJ591-L2	人PSMA	人Igκ	GATATTCAGATGACACAGAGCCCTAG CAGCCTGAGCGCCTCTGTGGGCGATA GAGTGACAATCACATGCAGAGCCAG CCAGGATGTGGGCACCGCTGTTGACT GGTATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGC CCCTAAGCTGCTGATCTACTGGGCCA GCACAAGACACACAGGCGTGCCAAG CAGATTTTCTGGCAGCGGCTCTGGCA CCGACTTCACCCTGACCATTTCTAGC CTCCAGCCTGAGGACTTCGCCACCTA CTACTGTCAGCAGTACAACAGCTACC CTCTGACCTTTGGCCAGGGCACCAAG CTGGAAATCAAACGAACTGTGGCTGC ACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATC TGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTG CCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAAC TTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACA GTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAAT CGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCAC AGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACC TACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGCT GAGCAAAGCAGACTACGAGAAACAC AAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCA TCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAA AGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTG A
133	zuJ591-L3	人PSMA	人Igκ	GATATTCAGATGACACAGAGCCCTAG CAGCCTGAGCGCCTCTGTGGGCGATA GAGTGACAATCACATGCAGAGCCAG CCAGGATGTGGGCACCGCTCTGAACT GGTATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGC CCCTAAGCTGCTGATCTACTGGGCCA GCACAAGACACACAGGCGTGCCAAG

SEQ ID NO	名稱	靶標	Ig鏈	全長mAb Ig鏈的胺基酸序列
				CAGATTTTCTGGCAGCGGCTCTGGCA CCGACTTCACCCTGACCATTTCTAGC CTCCAGCCTGAGGACTTCGCCACCTA CTACTGTCAGCAGTACAACAGCTACC CTCTGACCTTTGGCCAGGGCACCAAG CTGGAAATCAAACGAACTGTGGCTGC ACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATC TGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTG CCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAAC TTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACA GTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAAT CGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCAC AGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACC TACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGCT GAGCAAAGCAGACTACGAGAAACAC AAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCA TCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAA AGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTG A
134	zuJ591-L4	人PSMA	人Igκ	GATATTCAGATGACACAGAGCCCTAG CAGCCTGAGCGCCTCTGTGGGCGATA GAGTGACAATCACATGCAAGGCCAG CCAGGATGTGGGCACCGCTGTTGACT GGTATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGC CCCTAAGCTGCTGATCTACTGGGCCA GCACAAGACACAGCGGCGTGCCAAG CAGATTTTCTGGCAGCGGCTCTGGCA CCGACTTCACCCTGACCATTTCTAGC CTCCAGCCTGAGGACTTCGCCACCTA CTACTGTCAGCAGTACAACAGCTACC CTCTGACCTTTGGCCAGGGCACCAAG CTGGAAATCAAACGAACTGTGGCTGC ACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATC TGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTG CCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAAC TTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACA GTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAAT CGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCAC AGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACC TACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGCT GAGCAAAGCAGACTACGAGAAACAC AAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCA

SEQ ID NO	名稱	靶標	Ig鏈	全長mAb Ig鏈的胺基酸序列
				TCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTGA
135	zuJ591-L5	人PSMA	人Igκ	GATATTCAGATGACACAGAGCCCTAGCAGCCTGAGCGCCTCTGTGGGCGATAGAGTGACAATCACATGCAGAGCCAGCCAGGATGTGGGCACCGCTGTTGACTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGCCCCTAAGCTGCTGATCTACTGGGCCAGCACAAGACACAGCGGCGTGCCAAGCAGATTTTCTGGCAGCGGCTCTGGCACCGACTTCACCCTGACCATTTCTAGCCTCCAGCCTGAGGACTTCGCCACCTACTACTGTCAGCAGTACAACAGCTACCCTCTGACCTTTGGCCAGGGCACCAAGCTGGAAATCAAACGAACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTGA
136	zuJ591-L6	人PSMA	人Igκ	GATATTCAGATGACACAGAGCCCTAGCAGCCTGAGCGCCTCTGTGGGCGATAGAGTGACAATCACATGCAGAGCCAGCCAGGATGTGGGCACCGCTCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGCCCCTAAGCTGCTGATCTACTGGGCCAGCACAAGACACAGCGGCGTGCCAAGCAGATTTTCTGGCAGCGGCTCTGGCACCGACTTCACCCTGACCATTTCTAGCCTCCAGCCTGAGGACTTCGCCACCTACTACTGTCAGCAGTACAACAGCTACCCTCTGACCTTTGGCCAGGGCACCAAG

SEQ ID NO	名稱	靶標	Ig鏈	全長mAb Ig鏈的胺基酸序列
				CTGGAAATCAAACGAACTGTGGCTGC ACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATC TGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTG CCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAAC TTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACA GTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAAT CGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCAC AGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACC TACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGCT GAGCAAAGCAGACTACGAGAAACAC AAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCA TCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAA AGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTG A
137	deJ591-HC	人PSMA	人IgG1	GAAGTTCAACTTGTGCAGAGCGGCCC TGAAGTGAAGAAACCTGGCGCTACC GTGAAGATCAGCTGCAAGACCAGCG GCTACACCTTCACCGAGTACACCATC CACTGGGTTAAGCAGGCCCCTGGCAA AGGCCTGGAATGGATCGGCAACATC AACCCCAACAACGGCGGCACCACCT ACAACCAGAAGTTCGAGGATAAGGC CACACTGACCGTGGACAAGAGCACC GACACAGCCTACATGGAACTGAGCA GCCTGAGAAGCGAGGACACCGCCGT GTATTATTGTGCCGCCGGATGGAACT TCGACTACTGGGGACAGGGCACCCTG CTGACAGTCTCTTCTGCATCCACCAA GGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCAC CCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGC ACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAA GGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGG TGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACC AGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGT CCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCC TCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCC AGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACAT CTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGC AACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTG AGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCAC ACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGA ACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCC

SEQ ID NO	名稱	靶標	Ig鏈	全長mAb Ig鏈的胺基酸序列
				TCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACC CTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGT CACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCC ACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTG CATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGG AGGAGCAGTACAACAGCACGTACCG TGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGC ACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGA GTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAA GCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAAC CATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCC CGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCC CCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAG AACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGT CAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCG CCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCA GCCGGAGAACAACTACAAGACCACG CCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTC CTTCTTCTTATATTCAAAGCTCACCGT GGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGG AACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCA TGAGGCTCTGCACAACCACTACACGC AGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCCGGG AAATGA
138	deJ591-LC	人PSMA	人Igκ	GATATTCAGATGACACAGAGCCCCA GCAGCCTGAGCACATCTGTGGGAGAT AGAGTGACCCTGACCTGCAAGGCCTC TCAGGATGTGGGAACCGCCGTGGACT GGTATCAGCAGAAACCCGGACCTTCT CCAAAGCTGCTGATCTACTGGGCCAG CACCAGACACACAGGCATCCCTAGC AGATTTTCTGGCAGCGGCTCTGGCAC CGACTTCACCCTGACCATTTCTAGCC TCCAGCCTGAGGACTTCGCCGACTAC TACTGCCAGCAGTACAACAGCTACCC TCTGACATTCGGCCCTGGCACCAAGG TGGACATCAAACGAACTGTGGCTGCA CCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCT GATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTGC CTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACT TCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACA

SEQ ID NO	名稱	靶標	Ig鏈	全長mAb Ig鏈的胺基酸序列
				GTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTGA

【0232】與其他抗PSMA抗體（例如J591和/或deJ591）相比，由SEQ ID NO: 1-39和42-46提供的抗PSMA抗體或抗原結合片段可以提供改進的特性。在一些實施方式中，與其他抗PSMA抗體（例如J591和/或deJ591）相比，本文揭露的抗PSMA抗體或抗原結合片段具有優異的穩定性。在一些實施方式中，與其他抗PSMA抗體（例如J591和/或deJ591）相比，本文揭露的抗PSMA抗體或抗原結合片段具有更低的免疫原性。

【0233】在一些實施方式中，重鏈可變結構域、輕鏈可變結構域、全長重鏈和全長輕鏈的序列可以「混合並匹配」以產生抗PSMA抗體的變體。可以使用本領域已知的結合測定（例如，ELISA和實例中描述的其他測定）來測試這樣的「混合並匹配的」抗PSMA抗體。在各個實施方式中，本文揭露的抗體可以包含上表中列出的任何重鏈和輕鏈可變結構域組，或來自重鏈和輕鏈組的六個CDR序列組。在一些實施方式中，抗體進一步包含人重鏈和輕鏈恒定結構域或其片段。在各個實施方式中，抗體可以包含上表中列出的任何全長重鏈和全長輕鏈序列組。在一些實施方式中，抗體可以包含人IgG重鏈恒定結構域和人κ輕鏈恒定結構域。在一些實施方式中，抗體可以包含人IgG1、IgG2、IgG3或IgG4重鏈恒定結構域。在各個實施方式中，本發明之抗體包含人免疫球蛋白

G亞型1（IgG1）重鏈恒定結構域和人Igκ輕鏈恒定結構域。在一些實施方式中，恒定結構域係人恒定結構域的經修飾的形式，例如，包含人IgG1重鏈恒定結構域的L234A、L235A、P238S、H268Q和/或K274Q修飾中的一個或多個。

【0234】在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 44的重鏈CDR2（HCDR2），其中SEQ ID NO: 44包含NINPNNGGTTYX^{1}X^{2}KFX^{3}X^4，如由Kabat編號系統所定義的。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 44中，X^{1}係A或N，X^{2}係E或Q，X^{3}係Q或E，且X^{4}係G或D。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 44中，X^{1}係A，X^{2}係E，X^{3}係Q，和/或X^{4}係G。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 44中，X^{1}係N，X^{2}係E，X^{3}係Q，和/或X^{4}係G。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 44中，X^{1}係N，X^{2}係Q，X^{3}係Q，和/或X^{4}係G。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 44中，X^{1}係N，X^{2}係Q，X^{3}係E，和/或X^{4}係G。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 44中，X^{1}係N，X^{2}係Q，X^{3}係E，和/或X^{4}係D。

【0235】在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 45的輕鏈CDR1（LCDR1），其中SEQ ID NO: 45包含X^{5}ASQDVGTAX^{6}X^7，如由Kabat編號系統所定義的。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 45中，X^{5}係R或K，X^{6}係V或L，X^{7}係D或N。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 45中，X^{5}係R，X^{6}係V，和/或X^{7}係D。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 45中，X^{5}係K，X^{6}係V，和/或X^{7}係D。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 45中，X^{5}係R，X^{6}係L，和/或X^{7}係N。

【0236】在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 46的輕鏈CDR2（LCDR2），其中SEQ ID NO: 46包含WASTRHX^8，如由Kabat編號系統所定義的。在一些實施方式中，在SEQ ID

NO: 46中，X^8係S或T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 46中，X^8係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 46中，X^8係T。

【0237】在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含如下的三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 21的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 44的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 27的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 45的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 46的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 44中，X^1係A，X^2係E，X^3係Q，和/或X^4係G。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 44中，X^1係N，X^2係E，X^3係Q，和/或X^4係G。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 44中，X^1係N，X^2係Q，X^3係Q，和/或X^4係G。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 44中，X^1係N，X^2係Q，X^3係E，和/或X^4係G。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 44中，X^1係N，X^2係Q，X^3係E，和/或X^4係D。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 45中，X^5係R，X^6係V，和/或X^7係D。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 45中，X^5係K，X^6係V，和/或X^7係D。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 45中，X^5係R，X^6係L，和/或X^7係N。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 46中，X^8係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 46中，X^8係T。

【0238】在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 44中，X^1係A，X^2係E，X^3係Q，且X^4係G；在SEQ ID NO: 45中，X^5係R，X^6係V，且X^7係D；並且在SEQ ID NO: 46中，X^8係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 44中，X^1係A，X^2係E，X^3係Q，且X^4係G；在SEQ ID NO: 45中，X^5係R，X^6係V，且X^7係D；並且在SEQ ID NO: 46中，X^8係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 44中，X^1係A，X^2係E，X^3係Q，且X^4係G；在SEQ ID NO: 45中，X^5係K，X^6係V，且X^7係D；

並且在SEQ ID NO: 46中，X^8係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 44中，X^1係A，X^2係E，X^3係Q，且X^4係G；在SEQ ID NO: 45中，X^5係K，X^6係V，且X^7係D；並且在SEQ ID NO: 46中，X^8係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 44中，X^1係A，X^2係E，X^3係Q，且X^4係G；在SEQ ID NO: 45中，X^5係R，X^6係L，且X^7係N；並且在SEQ ID NO: 46中，X^8係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 44中，X^1係A，X^2係E，X^3係Q，且X^4係G；在SEQ ID NO: 45中，X^5係R，X^6係L，且X^7係N；並且在SEQ ID NO: 46中，X^8係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 44中，X^1係N，X^2係E，X^3係Q，且X^4係G；在SEQ ID NO: 45中，X^5係R，X^6係V，且X^7係D；並且在SEQ ID NO: 46中，X^8係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 44中，X^1係N，X^2係E，X^3係Q，且X^4係G；在SEQ ID NO: 45中，X^5係R，X^6係V，且X^7係D；並且在SEQ ID NO: 46中，X^8係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 44中，X^1係N，X^2係E，X^3係Q，且X^4係G；在SEQ ID NO: 45中，X^5係K，X^6係V，且X^7係D；並且在SEQ ID NO: 46中，X^8係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 44中，X^1係N，X^2係E，X^3係Q，且X^4係G；在SEQ ID NO: 45中，X^5係K，X^6係V，且X^7係D；並且在SEQ ID NO: 46中，X^8係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 44中，X^1係N，X^2係E，X^3係Q，且X^4係G；在SEQ ID NO: 45中，X^5係R，X^6係L，且X^7係N；並且在SEQ ID NO: 46中，X^8係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 44中，X^1係N，X^2係E，X^3係Q，且X^4係G；在SEQ ID NO: 45中，X^5係R，X^6係L，且X^7係N；並且在SEQ ID NO: 46中，X^8係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 44中，X^1係N，X^2係Q，X^3係Q，且X^4係G；在SEQ ID NO: 45中，X^5係R，X^6係V，且X^7係D；並且在SEQ ID NO: 46中，X^8係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 44中，X^1係N，X^2係Q，X^3係Q，且X^4係G；在SEQ ID NO: 45中，X^5係R，X^6係V，且X^7係D；並且在SEQ ID NO: 46中，X^8係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO:

44中，X^1係N，X^2係Q，X^3係Q，且X^4係G；在SEQ ID NO: 45中，X^5係K，X^6係V，且X^7係D；並且在SEQ ID NO: 46中，X^8係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 44中，X^1係N，X^2係Q，X^3係Q，且X^4係G；在SEQ ID NO: 45中，X^5係K，X^6係V，且X^7係D；並且在SEQ ID NO: 46中，X^8係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 44中，X^1係N，X^2係Q，X^3係Q，且X^4係G；在SEQ ID NO: 45中，X^5係R，X^6係L，且X^7係N；並且在SEQ ID NO: 46中，X^8係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 44中，X^1係N，X^2係Q，X^3係Q，且X^4係G；在SEQ ID NO: 45中，X^5係R，X^6係L，且X^7係N；並且在SEQ ID NO: 46中，X^8係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 44中，X^1係N，X^2係Q，X^3係E，且X^4係G；在SEQ ID NO: 45中，X^5係R，X^6係V，且X^7係D；並且在SEQ ID NO: 46中，X^8係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 44中，X^1係N，X^2係Q，X^3係E，且X^4係G；在SEQ ID NO: 45中，X^5係R，X^6係V，且X^7係D；並且在SEQ ID NO: 46中，X^8係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 44中，X^1係N，X^2係Q，X^3係E，且X^4係G；在SEQ ID NO: 45中，X^5係K，X^6係V，且X^7係D；並且在SEQ ID NO: 46中，X^8係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 44中，X^1係N，X^2係Q，X^3係E，且X^4係G；在SEQ ID NO: 45中，X^5係K，X^6係V，且X^7係D；並且在SEQ ID NO: 46中，X^8係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 44中，X^1係N，X^2係Q，X^3係E，且X^4係G；在SEQ ID NO: 45中，X^5係R，X^6係L，且X^7係N；並且在SEQ ID NO: 46中，X^8係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 44中，X^1係N，X^2係Q，X^3係E，且X^4係G；在SEQ ID NO: 45中，X^5係R，X^6係L，且X^7係N；並且在SEQ ID NO: 46中，X^8係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 44中，X^1係N，X^2係Q，X^3係E，且X^4係D；在SEQ ID NO: 45中，X^5係R，X^6係V，且X^7係D；並且在SEQ ID NO: 46中，X^8係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 44中，X^1係N，X^2係Q，X^3係E，且X^4係D；在SEQ ID NO: 45

中，X^5係R，X^6係V，且X^7係D；並且在SEQ ID NO: 46中，X^8係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 44中，X^1係N，X^2係Q，X^3係E，且X^4係D；在SEQ ID NO: 45中，X^5係K，X^6係V，且X^7係D；並且在SEQ ID NO: 46中，X^8係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 44中，X^1係N，X^2係Q，X^3係E，且X^4係D；在SEQ ID NO: 45中，X^5係R，X^6係L，且X^7係N；並且在SEQ ID NO: 46中，X^8係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 44中，X^1係N，X^2係Q，X^3係E，且X^4係D；在SEQ ID NO: 45中，X^5係R，X^6係L，且X^7係N；並且在SEQ ID NO: 46中，X^8係T。

【0239】 在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含如下的三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 21的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 22的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 27的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 34的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 35的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的。

【0240】 在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含如下的三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 21的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 23的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 27的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 34的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 35的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的。

【0241】 在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含如下的三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 21的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 24的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 27的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 34的輕鏈CDR1（LCDR1）、包

含SEQ ID NO: 35的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的。

【0242】在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含如下的三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 21的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 25的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 27的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 34的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 35的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的。

【0243】在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含如下的三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 21的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 26的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 27的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 34的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 35的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的。

【0244】在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含如下的三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 21的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 22的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 27的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 32的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 35的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的。

【0245】在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含如下的三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 21的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 23的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 27的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 32的輕鏈CDR1（LCDR1）、包

含SEQ ID NO: 35的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的。

【0246】在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含如下的三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 21的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 24的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 27的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 32的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 35的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的。

【0247】在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含如下的三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 21的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 25的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 27的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 32的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 35的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的。

【0248】在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含如下的三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 21的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 26的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 27的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 32的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 35的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的。

【0249】在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含如下的三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 21的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 22的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 27的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 33的輕鏈CDR1（LCDR1）、包

含SEQ ID NO: 35的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的。

【0250】在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含如下的三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 21的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 23的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 27的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 33的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 35的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的。

【0251】在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含如下的三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 21的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 24的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 27的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 33的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 35的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的。

【0252】在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含如下的三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 21的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 25的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 27的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 33的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 35的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的。

【0253】在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含如下的三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 21的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 26的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 27的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 33的輕鏈CDR1（LCDR1）、包

含SEQ ID NO: 35的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的。

【0254】在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含如下的三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 21的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 22的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 27的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 34的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 36的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的。

【0255】在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含如下的三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 21的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 23的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 27的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 34的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 36的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的。

【0256】在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含如下的三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 21的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 24的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 27的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 34的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 36的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的。

【0257】在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含如下的三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 21的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 25的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 27的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 34的輕鏈CDR1（LCDR1）、包

含SEQ ID NO: 36的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的。

【0258】在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含如下的三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 21的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 26的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 27的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 34的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 36的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的。

【0259】在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含如下的三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 21的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 22的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 27的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 32的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 36的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的。

【0260】在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含如下的三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 21的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 23的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 27的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 32的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 36的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的。

【0261】在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含如下的三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 21的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 24的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 27的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 32的輕鏈CDR1（LCDR1）、包

含SEQ ID NO: 36的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的。

【0262】在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含如下的三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 21的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 25的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 27的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 32的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 36的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的。

【0263】在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含如下的三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 21的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 26的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 27的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 32的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 36的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的。

【0264】在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含如下的三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 21的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 22的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 27的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 33的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 36的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的。

【0265】在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含如下的三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 21的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 23的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 27的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 33的輕鏈CDR1（LCDR1）、包

含SEQ ID NO: 36的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的。

【0266】在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含如下的三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 21的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 24的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 27的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 33的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 36的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的。

【0267】在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含如下的三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 21的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 25的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 27的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 33的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 36的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的。

【0268】在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含如下的三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 28的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 29的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 30的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 38的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 39的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由IMGT編號系統所定義的（國際免疫遺傳學資訊系統（IMGT®））。

【0269】在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含如下的三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 28的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 29的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO:

31的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 38的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 39的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由IMGT編號系統所定義的。

【0270】在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含SEQ ID NO: 42的重鏈可變區，其中SEQ ID NO: 42包含胺基酸序列：

EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKX^{9}SGYTFTEYTIHWVQQAPGKGLEW X^{10}GNINPNNGGTTYX^{11}X^{12}KFX^{13}X^{14}RVTITX^{15}DX^{16}STX^{17}TAYMELSSLRSEDT AVYYCAX^{18}GWNFDYWGQGTLLTVSS

其中X^{9}係V或T，X^{10}係M或I，X^{11}係A或N，X^{12}係E或Q，X^{13}係Q或E，X^{14}係G或D，X^{15}係A或V，X^{16}係T或K，X^{17}係D或S，且X^{18}係T或A。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含SEQ ID NO: 43的輕鏈可變區，其中SEQ ID NO: 43包含胺基酸序列：

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCX^{19}ASQDVGTAX^{20}X^{21}WYQQKPGKAPK LLIYWASTRHX^{22}GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYNSYPLTF GQGTKLEIK

其中X^{19}係R或K，X^{20}係L或V，X^{21}係N或D，且X^{22}係S或T。在一些實施方式中，抗體或抗原結合片段包含SEQ ID NO: 42的重鏈可變區和SEQ ID NO: 43的輕鏈可變區，其中X^{9}係V或T，X^{10}係M或I，X^{11}係A或N，X^{12}係E或Q，X^{13}係Q或E，X^{14}係G或D，X^{15}係A或V，X^{16}係T或K，X^{17}係D或S，X^{18}係T或A，X^{19}係R或K，X^{20}係L或V，X^{21}係N或D，且X^{22}係S或T。

【0271】在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係V，X^{10}係M，X^{11}係A，X^{12}係E，X^{13}係Q，X^{14}係G，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，和/或X^{18}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係E，X^{13}係Q，X^{14}係G，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，和/或X^{18}係T。在一些實施方式

中，在SEQ ID NO: 42中，X^9係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係Q，X^{14}係G，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，和/或X^{18}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^9係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係G，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，和/或X^{18}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^9係T，X^{10}係I，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，和/或X^{18}係A。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^9係T，X^{10}係I，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係K，X^{17}係S，和/或X^{18}係A。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^9係V，X^{10}係I，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係K，X^{17}係D，和/或X^{18}係A。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^9係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係K，X^{17}係D，和/或X^{18}係A。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^9係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係S，和/或X^{18}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^9係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係K，X^{17}係D，和/或X^{18}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^9係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係V，X^{16}係T，X^{17}係D，和/或X^{18}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^9係V，X^{10}係I，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，和/或X^{18}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^9係T，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，和/或X^{18}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^9係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，和/或X^{18}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係K，X^{20}係V，X^{21}係D，和/或X^{22}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係V，X^{21}係D，和/或X^{22}係T。在一些實施方式中，在

SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係L，X^{21}係N，和/或X^{22}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係K，X^{20}係V，X^{21}係D，和/或X^{22}係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係V，X^{21}係D，和/或X^{22}係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係L，X^{21}係N，和/或X^{22}係S。

【0272】在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係V，X^{10}係M，X^{11}係A，X^{12}係E，X^{13}係Q，X^{14}係G，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係K，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係V，X^{10}係M，X^{11}係A，X^{12}係E，X^{13}係Q，X^{14}係G，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係V，X^{10}係M，X^{11}係A，X^{12}係E，X^{13}係Q，X^{14}係G，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係L，X^{21}係N，且X^{22}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係V，X^{10}係M，X^{11}係A，X^{12}係E，X^{13}係Q，X^{14}係G，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係K，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係V，X^{10}係M，X^{11}係A，X^{12}係E，X^{13}係Q，X^{14}係G，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係V，X^{10}係M，X^{11}係A，X^{12}係E，X^{13}係Q，X^{14}係G，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係L，X^{21}係N，且X^{22}係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係E，X^{13}係Q，X^{14}係G，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係K，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42

中，X^9係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係E，X^{13}係Q，X^{14}係G，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^9係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係E，X^{13}係Q，X^{14}係G，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係L，X^{21}係N，且X^{22}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^9係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係E，X^{13}係Q，X^{14}係G，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係K，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^9係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係E，X^{13}係Q，X^{14}係G，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^9係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係E，X^{13}係Q，X^{14}係G，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係L，X^{21}係N，且X^{22}係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^9係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係Q，X^{14}係G，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係K，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^9係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係Q，X^{14}係G，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^9係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係Q，X^{14}係G，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係L，X^{21}係N，且X^{22}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^9係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係Q，X^{14}係G，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係K，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^9係V，X^{10}係M，X^{11}係

N，X^{12}係Q，X^{13}係Q，X^{14}係G，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係Q，X^{14}係G，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係L，X^{21}係N，且X^{22}係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係G，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係K，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係G，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係G，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係L，X^{21}係N，且X^{22}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係G，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係K，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係G，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係G，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係L，X^{21}係N，且X^{22}係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係T，X^{10}係I，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係A，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係K，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係T，X^{10}係I，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係

A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係A，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係T，X^{10}係I，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係A，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係L，X^{21}係N，且X^{22}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係T，X^{10}係I，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係A，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係K，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係T，X^{10}係I，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係A，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係T，X^{10}係I，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係A，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係L，X^{21}係N，且X^{22}係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係T，X^{10}係I，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係K，X^{17}係S，且X^{18}係A，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係K，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係T，X^{10}係I，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係K，X^{17}係S，且X^{18}係A，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係T，X^{10}係I，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係K，X^{17}係S，且X^{18}係A，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係L，X^{21}係N，且X^{22}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係T，X^{10}係I，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係K，X^{17}係S，且X^{18}係A，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係K，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係T，X^{10}係I，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係K，X^{17}係S，且X^{18}係A，並且在SEQ ID NO:

43中，X^{19}係R，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係T，X^{10}係I，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係K，X^{17}係S，且X^{18}係A，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係L，X^{21}係N，且X^{22}係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係V，X^{10}係I，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係K，X^{17}係D，且X^{18}係A，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係K，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係V，X^{10}係I，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係K，X^{17}係D，且X^{18}係A，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係V，X^{10}係I，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係K，X^{17}係D，且X^{18}係A，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係L，X^{21}係N，且X^{22}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係V，X^{10}係I，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係K，X^{17}係D，且X^{18}係A，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係K，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係V，X^{10}係I，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係K，X^{17}係D，且X^{18}係A，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係V，X^{10}係I，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係K，X^{17}係D，且X^{18}係A，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係L，X^{21}係N，且X^{22}係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係K，X^{17}係D，且X^{18}係A，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係K，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係K，X^{17}係D，且X^{18}係A，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}

係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^9係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係K，X^{17}係D，且X^{18}係A，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係L，X^{21}係N，且X^{22}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^9係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係K，X^{17}係D，且X^{18}係A，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係K，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^9係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係K，X^{17}係D，且X^{18}係A，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^9係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係K，X^{17}係D，且X^{18}係A，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係L，X^{21}係N，且X^{22}係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^9係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係S，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係K，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^9係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係S，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^9係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係S，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係L，X^{21}係N，且X^{22}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^9係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係S，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係K，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^9係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係S，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係S。在一些實施方式中，在SEQ

ID NO: 42中，X^9係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係S，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係L，X^{21}係N，且X^{22}係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^9係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係K，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係K，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^9係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係K，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^9係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係K，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係L，X^{21}係N，且X^{22}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^9係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係K，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係K，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^9係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係K，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^9係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係K，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係L，X^{21}係N，且X^{22}係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^9係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係V，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係K，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^9係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係V，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^9係V，X^{10}係

M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係V，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係L，X^{21}係N，且X^{22}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係V，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係K，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係V，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係V，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係L，X^{21}係N，且X^{22}係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係V，X^{10}係I，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係K，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係V，X^{10}係I，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係V，X^{10}係I，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係L，X^{21}係N，且X^{22}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係V，X^{10}係I，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係K，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係V，X^{10}係I，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係V，X^{10}係I，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係

D，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係L，X^{21}係N，且X^{22}係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係T，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係K，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係T，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係T，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係L，X^{21}係N，且X^{22}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係T，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係K，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係T，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係T，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係L，X^{21}係N，且X^{22}係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係K，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，

且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係L，X^{21}係N，且X^{22}係T。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係K，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係V，X^{21}係D，且X^{22}係S。在一些實施方式中，在SEQ ID NO: 42中，X^{9}係V，X^{10}係M，X^{11}係N，X^{12}係Q，X^{13}係E，X^{14}係D，X^{15}係A，X^{16}係T，X^{17}係D，且X^{18}係T，並且在SEQ ID NO: 43中，X^{19}係R，X^{20}係L，X^{21}係N，且X^{22}係S。

【0273】在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 1的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 15的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 1的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 16的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 1的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 17的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 1的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 18的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 1的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 19的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 1的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 20的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 2的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 15的胺基酸序列的輕鏈可變

區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 2的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 16的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 2的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 17的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 2的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 18的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 2的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 19的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 2的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 20的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 3的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 15的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 3的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 16的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 3的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 17的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 3的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 18的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 3的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 19的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 3的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 20的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體

或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 4的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 15的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 4的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 16的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 4的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 17的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 4的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 18的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 4的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 19的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 4的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 20的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 5的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 15的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 5的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 16的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 5的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 17的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 5的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 18的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 5的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 19的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 5的胺基

酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 20的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 6的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 15的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 6的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 16的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 6的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 17的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 6的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 18的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 6的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 19的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 6的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 20的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 7的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 15的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 7的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 16的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 7的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 17的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 7的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 18的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 7的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 19的胺基

酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 7的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 20的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 8的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 15的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 8的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 16的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 8的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 17的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 8的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 18的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 8的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 19的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 8的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 20的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 9的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 15的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 9的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 16的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 9的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 17的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 9的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 18的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文

提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 9的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 19的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 9的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 20的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 10的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 15的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 10的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 16的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 10的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 17的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 10的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 18的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 10的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 19的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 10的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 20的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 11的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 15的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 11的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 16的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 11的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 17的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片

段包含含有SEQ ID NO: 11的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 18的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 11的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 19的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 11的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 20的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 12的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 15的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 12的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 16的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 12的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 17的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 12的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 18的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 12的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 19的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 12的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 20的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 13的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 15的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 13的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 16的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 13的胺基

酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 17的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 13的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 18的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 13的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 19的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 13的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 20的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 14的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 15的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 14的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 16的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 14的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 17的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 14的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 18的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 14的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 19的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 14的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 20的胺基酸序列的輕鏈可變區。

【0274】在一些實施方式中，抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 7的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 15的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有

SEQ ID NO: 8的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 15的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 9的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 15的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 10的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 15的胺基酸序列的輕鏈可變區。

【0275】 在一些實施方式中，抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 1的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 15的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 2的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 15的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 3的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 15的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 14的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 15的胺基酸序列的輕鏈可變區。

【0276】 在一些實施方式中，抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 14的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 19的胺基酸序列的輕鏈可變區。

【0277】 在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含重鏈可變區，其與SEQ ID NO: 1具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、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%、或至少99%同一性。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含重鏈可變區，其與SEQ ID NO: 2具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、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%、或至少99%同一性。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含重鏈可變區，其與SEQ ID NO: 3具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、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%、或至少99%同一性。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含重鏈可變區，其與SEQ ID NO: 14具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、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%、或至少99%同一性。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含輕鏈可變區，其與SEQ ID NO: 15具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、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%、或至少99%同一性。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含輕鏈可變區，其與SEQ ID NO: 19具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、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%、或至少99%同一性。

【0278】 在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含重鏈可變區，其與SEQ ID NO: 40具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、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%、或至少99%同一性（即，與SEQ ID NO: 40不具有100%同一性），其中與其他抗PSMA抗體（例如J591和/或deJ591）相比，該抗PSMA抗體或抗原結合片段提供了改進的特性。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含輕鏈可變區，其與SEQ ID NO: 41具有至少至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少

89%、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%、或至少99%同一性（即，與SEQ ID NO: 41不具有100%同一性），其中與其他抗PSMA抗體（例如J591和/或deJ591）相比，該抗PSMA抗體或抗原結合片段提供了改進的特性。在一些實施方式中，抗PSMA抗體或抗原結合片段包含與SEQ ID NO: 40具有至少86%同一性的重鏈可變區以及與SEQ ID NO: 41具有至少87%同一性的輕鏈可變區（但與任一可變區不具有100%同一性），其中與其他抗PSMA抗體（例如J591和/或deJ591）相比，該抗PSMA抗體或抗原結合片段提供了改進的特性。改進的特性可包括優異的穩定性和/或更低的免疫原性。

【0279】在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含重鏈可變區，其與SEQ ID NO: 40具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、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%、或至少99%同一性，其中該抗PSMA抗體或抗原結合片段至少包含以下不同於SEQ ID NO: 40的胺基酸：

相對於SEQ ID NO: 40的位置	**胺基酸**
9	A
38	Q
67	R
68	V
70	I
111	V

其中與其他抗PSMA抗體（例如J591和/或deJ591）相比，該抗PSMA抗體或抗原結合片段提供了改進的特性。改進的特性可包括優異的穩定性和/或更低的免疫原性。相對於SEQ ID NO: 40的位置藉由將抗PSMA抗體或抗原結合片段

的重鏈可變區與SEQ ID NO: 40進行比對，視需要使用BLAST演算法，然後從經比對的序列的N末端開始計數胺基酸位置來確定。

【0280】在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含輕鏈可變區，其與SEQ ID NO: 41具有至少至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、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%、或至少99%同一性，其中該抗PSMA抗體或抗原結合片段至少包含以下不同於SEQ ID NO: 41的胺基酸：

相對於SEQ ID NO: 41的位置	**胺基酸**
13	A
21	I
42	K
43	A
58	V
85	T
100	Q
104	L
105	E

其中與其他抗PSMA抗體（例如J591和/或deJ591）相比，該抗PSMA抗體或抗原結合片段提供了改進的特性。改進的特性可包括優異的穩定性和/或更低的免疫原性。相對於SEQ ID NO: 41的位置藉由將抗PSMA抗體或抗原結合片段的重鏈可變區與SEQ ID NO: 41進行比對，視需要使用BLAST演算法，然後從經比對的序列的N末端開始計數胺基酸位置來確定。

【0281】在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含重鏈可變區，其與SEQ ID NO: 42具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、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%、或至少99%同一性，其中與其他抗

PSMA抗體（例如J591和/或deJ591）相比，該抗PSMA抗體或抗原結合片段提供了改進的特性。在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含輕鏈可變區，其與SEQ ID NO: 43具有至少至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、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%、或至少99%同一性，其中與其他抗PSMA抗體（例如J591和/或deJ591）相比，該抗PSMA抗體或抗原結合片段提供了改進的特性。抗PSMA抗體或抗原結合片段不包含與SEQ ID NO: 40具有100%同一性的重鏈可變區以及與SEQ ID NO: 41具有100%同一性的輕鏈可變區。改進的特性可包括優異的穩定性和/或更低的免疫原性。

【0282】 在各個實施方式中，本文揭露的任一抗PSMA抗體可以包含人IgG1 Fc結構域。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含人IgG1 Fc結構域，與具有野生型IgG1 Fc結構域的含IgG1 Fc的抗體相比，該人IgG1 Fc結構域被修飾以減少與FcγR的結合。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含突變的人IgG1 Fc結構域，其包含對人IgG1重鏈恒定結構域的L234A、L235A、P238S、H268Q和K274Q修飾中的一個或多個（例如全部）。

【0283】 在各個實施方式中，抗PSMA抗體包含人Igκ輕鏈恒定區。在各個實施方式中，抗PSMA抗體包含人Igλ輕鏈恒定區。

【0284】 在一些實施方式中，本文提供的抗PSMA抗體包含含有選自SEQ ID NO: 47-60的胺基酸序列的重鏈和含有選自SEQ ID NO: 61-66的胺基酸序列的輕鏈。

【0285】 在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 47的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 61的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 47的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 62的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 47的重鏈胺基酸序列和SEQ

ID NO: 63的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 47的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 64的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 47的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 65的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 47的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 66的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 48的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 61的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 48的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 62的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 48的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 63的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 48的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 64的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 48的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 65的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 48的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 66的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 49的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 61的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 49的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 62的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 49的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 63的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 49的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 64的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 49的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 65的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 49的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 66的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 50的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 61的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 50的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 62的輕

鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 50的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 63的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 50的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 64的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 50的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 65的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 50的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 66的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 51的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 61的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 51的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 62的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 51的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 63的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 51的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 64的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 51的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 65的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 51的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 66的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 52的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 61的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 52的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 62的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 52的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 63的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 52的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 64的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 52的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 65的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 52的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 66的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 53的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 61的輕鏈胺基酸序列。

在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 53的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 62的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 53的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 63的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 53的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 64的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 53的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 65的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 53的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 66的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 54的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 61的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 54的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 62的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 54的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 63的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 54的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 64的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 54的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 65的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 54的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 66的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 55的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 61的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 55的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 62的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 55的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 63的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 55的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 64的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 55的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 65的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 55的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 66的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式

中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 56的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 61的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 56的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 62的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 56的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 63的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 56的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 64的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 56的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 65的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 56的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 66的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 57的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 61的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 57的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 62的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 57的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 63的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 57的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 64的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 57的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 65的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 57的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 66的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 58的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 61的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 58的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 62的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 58的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 63的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 58的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 64的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 58的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 65的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗

體包含SEQ ID NO: 58的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 66的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 59的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 61的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 59的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 62的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 59的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 63的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 59的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 64的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 59的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 65的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 59的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 66的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 60的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 61的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 60的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 62的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 60的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 63的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 60的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 64的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 60的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 65的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 60的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 66的輕鏈胺基酸序列。

【0286】 在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 47的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 61的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 48的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 61的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 49的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 61的輕鏈胺基酸序列。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 60的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 61的輕鏈胺基酸序列。

【0287】在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含SEQ ID NO: 60的重鏈胺基酸序列和SEQ ID NO: 65的輕鏈胺基酸序列。

【0288】在上文討論的任一抗體中，重鏈胺基酸序列可能缺少C末端離胺酸。

【0289】在各個實施方式中，可以進行胺基酸取代，同時保留本文揭露的抗體的結合親和力和/或特異性和/或提供一種或多種額外的有益特性，例如藉由在框架、恒定結構域和/或CDR序列中進行一種或多種變化。在一些實施方式中，取代係單個殘基的取代。例如，在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含人IgG1 Fc結構域，與具有野生型IgG1 Fc結構域的含IgG1 Fc的抗體相比，該人IgG1 Fc結構域包含胺基酸取代以減少與FcγR的結合。在一些實施方式中，抗PSMA抗體包含突變的人IgG1 Fc結構域，其包含取代L234A、L235A、P238S、H268Q和K274Q。插入的數量級通常為約1至約20個胺基酸殘基，但只要保留生物功能（例如，與PSMA的結合），就可以容許顯著更大的插入。缺失通常在約1至約20個胺基酸殘基的範圍內，但在一些情況下，缺失可能要大得多。取代、缺失、插入或其任何組合可用於獲得最終衍生物或變體。通常，該等變化係在幾個胺基酸上進行的，以最大限度地減少分子的改變，特別是抗原結合蛋白的免疫原性和特異性。然而，在某些情況下，可以容許更大的變化。保守取代通常根據以下表11中描繪的圖表進行。

【表**11**】.

原始殘基	**示例性取代**
Ala	Ser
Arg	Lys
Asn	Gln、His
Asp	Glu
Cys	Ser
Gln	Asn

原始殘基	示例性取代
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

【0290】在其中變體抗體序列用於ADC中的各個實施方式中，變體可以展現出相同的定性生物活性並且引發相同的免疫反應，儘管也可以根據需要選擇變體來修飾抗原結合蛋白的特徵。例如，本文提供的抗PSMA抗體可以包含人IgG1 Fc結構域，與具有野生型IgG1 Fc結構域的含IgG1 Fc的抗體相比，該人IgG1 Fc結構域經突變以減少與FcγR的結合。可替代地，變體可設計成使得抗原結合蛋白的生物活性被改變。

【0291】本文揭露的任一抗PSMA抗體和抗原結合片段可以用作例如與可檢測劑和/或另一治療劑的軛合物。在一些實施方式中，抗PSMA抗體或抗原結合片段可以用於抗體-藥物軛合物（ADC）中，例如本文揭露的任一ADC中，較佳的是以將ADC中的藥物靶向癌細胞。如下所示，出人意料地，本文揭露的ADC中的連接子-毒素與也在本文揭露的抗PSMA抗體一起係有效的。該等抗體可以與本文揭露的連接子和毒素（例如化合物1）一起使用。

連接子

【0292】在各個實施方式中，本文揭露的抗PSMA抗體和抗原結合片段可以藉由連接子與藥物部分（例如，細胞毒性有效載荷，例如化合物1）接合以產生抗體-藥物軛合物（ADC）。

【0293】在一些實施方式中，ADC中的連接子以足以具有治療有效性的方式具有細胞外穩定性。在一些實施方式中，連接子在細胞外部係穩定的，使得ADC在存在於細胞外條件（例如，在轉運或遞送至細胞中之前）中時保持完整。在ADC的上下文中使用的術語「完整」意指抗體部分保持與藥物部分（例如化合物1）附接。如本文所用，在連接子或包含連接子的ADC的上下文中，「穩定」意指在設置的時間段內進行評估時，在ADC存在於細胞外條件中時，ADC樣本中的不超過約20%、不超過約15%、不超過約10%、不超過約5%、不超過約3%、或不超過約1%（或其間的任何百分比）的連接子被切割（或在總體ADC在其他方面不完整的情況下）。在一些實施方式中，選擇本文揭露的ADC中的連接子以保持穩定超過約48小時、超過約60小時、超過約72小時、超過約84小時或超過約96小時。

【0294】可以例如藉由在血漿中包括ADC持續預先確定的時間段（例如，2、4、6、8、16或24小時）、然後定量血漿中存在的游離藥物部分的量來確定連接子是否具有細胞外穩定性。穩定性可允許ADC有時間定位至靶標腫瘤細胞並防止藥物過早釋放，這可能會因無差別地損害正常組織和腫瘤組織兩者而降低ADC的治療指數。在一些實施方式中，連接子在靶細胞外部係穩定的，並且一旦處於細胞內部就會從ADC釋放藥物部分，使得藥物部分可結合其靶標（例如，結合STING）。因此，有效連接子將：(i) 維持抗體部分的特異性結合特性；(ii) 允許藉由與抗體部分的穩定附接而遞送（例如，細胞內遞送）藥物部分；(iii) 保持穩定和完整直到ADC已經轉運或遞送至其靶位點；以及 (iv) 允許切割後藥物部分的治療性效果，例如細胞毒性作用。

【0295】 連接子可能影響ADC的物理-化學特性。由於許多細胞毒性劑本質上具有疏水性，因此將它們與具有額外疏水性部分的抗體連接可能會引起聚集。ADC聚集物不可溶且通常限制抗體上可實現的載藥量，這可能不利地影響ADC的效力。通常，生物製品的蛋白質聚集物還與免疫原性增加相關。如下所示，本文揭露的連接子使ADC具有低聚集水平以及所需載藥量水平。在各個實施方式中，連接子藉由半胱胺酸與抗體或抗原結合片段軛合。在各個實施方式中，連接子藉由離胺酸與抗體或抗原結合片段軛合。用於將本揭露的連接子與抗體軛合的合適之方法包括用於與抗體重鏈上的離胺酸、抗體重鏈上的半胱胺酸和抗體輕鏈上的半胱胺酸直接附接的技術，例如，如以下所揭露的：PCT申請WO 2017/213267、WO 2017/106643和WO 2016/205618，以及Junutula等人(2008) Journal of Immunological Methods [免疫學方法雜誌] 332:41–52，將所有該等藉由引用以其全文併入本文。在一些實施方式中，連接子與輕鏈上的抗體或抗原結合片段軛合，例如在輕鏈上的半胱胺酸處，例如在輕鏈上的半胱胺酸80處。在一些實施方式中，連接子與重鏈上的抗體或抗原結合片段軛合，例如在重鏈上的半胱胺酸處，例如在重鏈上的半胱胺酸118處。

【0296】 本文所用的連接子可以是「可切割的」或「不可切割的」（Ducry和Stump, Bioconjugate Chem.[生物軛合化學] (2010) 21:5-13）。可切割連接子被設計成當經受某些環境因素（例如，當內化到靶細胞中）時釋放藥物，而不可切割連接子通常依賴抗體部分本身的降解。

【0297】 在一些實施方式中，連接子係不可切割連接子。在一些實施方式中，ADC的藥物部分藉由抗體部分的降解而釋放。

【0298】 在一些實施方式中，連接子係可切割的。可切割連接子被設計成當經受某些環境因素（例如，當內化到靶細胞中）時釋放藥物。可切割連接子係指包含可切割部分的任何連接子。如本文所用，術語「可切割部分」係指

可被切割的任何化學鍵。合適的可切割化學鍵係本領域中已知的，並且包括但不限於酸不穩定性鍵、蛋白酶/肽酶不穩定性鍵、光不穩定性鍵、二硫鍵和酯酶不穩定性鍵。包含可切割部分的連接子可以藉由在連接子中的特定位點處進行切割而允許藥物部分從ADC釋放。

【0299】在一些實施方式中，連接子可在細胞內條件下切割，使得連接子的切割在細胞內環境中充分地從抗體部分釋放藥物部分以活化藥物和/或使藥物在治療上有效。在一些實施方式中，在ADC進入表現對ADC的抗體部分具有特異性的抗原的細胞之前，藥物部分不會從抗體部分切割，而是在進入細胞時，藥物部分從抗體部分切割。在一些實施方式中，連接子包含可切割部分，該可切割部分的位置使得在切割時連接子或抗體部分的任何部分不與藥物部分保持結合。示例性可切割連接子包括酸不穩定性連接子、蛋白酶/肽酶敏感性連接子、光不穩定性連接子、含二甲基連接子、含二硫化物連接子或含磺醯胺連接子。

【0300】在一些實施方式中，連接子可被細胞內環境中（例如，溶酶體、胞內體或小凹內）存在的切割劑（例如，酶）切割。連接子可以是例如被細胞內肽酶或蛋白酶（包括但不限於溶酶體或胞內體蛋白酶）切割的肽連接子。在一些實施方式中，連接子係可切割肽連接子。如本文所用，可切割肽連接子係指包含可切割肽部分的任何連接子。術語「可切割肽部分」係指可被細胞內環境中存在的藥劑切割的任何化學鍵連接的胺基酸（天然或合成胺基酸衍生物）。在一些實施方式中，與酸不穩定性連接子相比，可切割肽連接子更穩定地與本文揭露的抗體軛合。

【0301】在一些實施方式中，連接子係酶可切割連接子，並且連接子中的可切割肽部分可被酶切割。在一些實施方式中，可切割肽部分可被溶酶體酶，例如組織蛋白酶或半胱胺酸蛋白酶（也稱為天冬醯胺醯內肽酶或液泡加工

酶）切割。在一些實施方式中，連接子係組織蛋白酶可切割連接子。在一些實施方式中，連接子係半胱胺酸蛋白酶可切割連接子。在一些實施方式中，連接子中的可切割肽部分可被溶酶體半胱胺酸組織蛋白酶（如組織蛋白酶B、C、F、H、K、L、O、S、V、X或W）切割。在一些實施方式中，可切割肽部分可被組織蛋白酶B切割。可被組織蛋白酶B切割的示例性二肽係纈胺酸-瓜胺酸（Val-Cit）。參見，例如Dubowchik等人 (2002) Bioconjugate Chem.[生物軛合化學] 13:855-69。可被組織蛋白酶B切割的另一示例性二肽係纈胺酸-丙胺酸（Val-Ala）。參見，例如Fu和Ho (2002) Antib.Ther.[抗體治療]1(2):33-43。

【0302】 在一些實施方式中，連接子中的可切割肽部分可被溶酶體半胱胺酸內肽酶（如半胱胺酸蛋白酶）切割。可被半胱胺酸蛋白酶切割的示例性單肽係天冬醯胺（Asn）。可被半胱胺酸蛋白酶切割的另一示例性單肽係天冬胺酸（Asp）。

【0303】 在一些實施方式中，連接子或連接子中的可切割肽部分包含胺基酸單元。在一些實施方式中，胺基酸單元允許蛋白酶切割連接子，從而在暴露於一種或多種細胞內蛋白酶（如一種或多種溶酶體酶）時促進藥物部分從ADC釋放。參見，例如Doronina等人 (2003) Nat. Biotechnol.[自然生物技術] 21:778-84；以及Dubowchik和Walker (1999) Pharm.Therapeutics [藥理學與治療學] 83:67-123。示例性胺基酸單元包括但不限於單肽、二肽、三肽、四肽和五肽。示例性單肽包括但不限於天冬醯胺（Asn）和天冬胺酸（Asp）。示例性二肽包括但不限於纈胺酸-瓜胺酸（Val-Cit）、丙胺酸-天冬醯胺（Ala-Asn）、丙胺酸-苯丙胺酸（Ala-Phe）、苯丙胺酸-離胺酸（Phe-Lys）、丙胺酸-離胺酸（Ala-Lys）、丙胺酸-纈胺酸（Ala-Val）、纈胺酸-丙胺酸（Val-Ala）、纈胺酸-離胺酸（Val-Lys）、離胺酸-離胺酸（Lys-Lys）、苯丙胺酸-瓜胺酸（Phe-Cit）、白胺酸-瓜胺酸（Leu-Cit）、異白胺酸-瓜胺酸（Ile-Cit）、色胺酸-瓜胺

酸（Trp-Cit）、和苯丙胺酸-丙胺酸（Phe-Ala）。示例性三肽包括但不限於丙胺酸-丙胺酸-天冬醯胺（Ala-Ala-Asn）、甘胺酸-纈胺酸-瓜胺酸（Gly-Val-Cit）、麩胺酸-纈胺酸-瓜胺酸、甘胺酸-甘胺酸-甘胺酸（Gly-Gly-Gly）、苯丙胺酸-苯丙胺酸-離胺酸（Phe-Phe-Lys）、丙胺酸-苯丙胺酸-離胺酸（Ala-Phe-Lys）、甘胺酸-纈胺酸-丙胺酸（Gly-Val-Ala）、和甘胺酸-苯丙胺酸-離胺酸（Gly-Phe-Lys）。示例性四肽包括但不限於甘胺酸-甘胺酸-苯丙胺酸-甘胺酸（Gly-Gly-Phe-Gly（SEQ ID NO: 141））。其他示例性胺基酸單元包括但不限於Gly-Phe-Leu-Gly（SEQ ID NO: 142）、Ala-Leu-Ala-Leu（SEQ ID NO: 143）、Phe-N9-甲苯磺醯基-Arg、和Phe-N9-硝基-Arg，如在例如美國專利案號6,214,345中所描述的。在一些實施方式中，胺基酸單元可以包含含有至少一個甲基基團，例如一甲基或二甲基基團的胺基酸殘基。包含含有至少一個甲基基團的胺基酸殘基的示例性胺基酸單元包括但不限於N-甲基化丙胺酸（(NMe)Ala）、甲基化天冬胺酸（Asp(OMe)）和二甲基化離胺酸（Val-Lys(Me)$_2$）。在一些實施方式中，連接子中的胺基酸單元包含Val-Ala。在一些實施方式中，連接子中的胺基酸單元包含Val-Cit。胺基酸單元可以包含天然存在的胺基酸殘基和/或次級胺基酸和/或非天然存在的胺基酸類似物（如瓜胺酸）。可以設計和優化胺基酸單元以進行特定酶，例如腫瘤相關蛋白酶、溶酶體蛋白酶（如半胱胺酸蛋白酶或組織蛋白酶B、C、D或S）的酶促切割。

【0304】在一些實施方式中，本文揭露的ADC中的連接子可以包含抗體附接部分。抗體附接部分可用於例如將抗體部分與連接子連接，而連接子又可以例如藉由可切割部分（例如可切割肽）與藥物部分間接連接。

【0305】在一些實施方式中，連接子包含含有馬來醯亞胺部分（Mal）的抗體附接部分。如本文所用的術語「馬來醯亞胺部分」意指含有馬來醯亞胺基團且可與硫氫基基團（例如抗體部分上的半胱胺酸殘基的硫氫基基團）反應的化合物。可與硫氫基基團（硫醇）反應並因此可用來代替Mal的其他官能基包

括但不限於碘乙醯胺、溴乙醯胺、乙烯基吡啶、二硫化物、吡啶基二硫化物、異氰酸酯和異硫氰酸酯。

【0306】在一些實施方式中，連接子藉由Mal部分與抗體或抗原結合片段附接。在一些實施方式中，Mal部分可與抗體或抗原結合片段上的半胱胺酸殘基反應。在一些實施方式中，Mal部分藉由半胱胺酸殘基與抗體或抗原結合片段接合。

【0307】在一些實施方式中，Mal部分係馬來醯亞胺基己醯基（MC）部分。在一些實施方式中，連接子藉由MC部分與抗體或抗原結合片段附接。在一些實施方式中，MC部分可與抗體或抗原結合片段上的半胱胺酸殘基反應。在一些實施方式中，MC部分藉由半胱胺酸殘基與抗體或抗原結合片段接合。

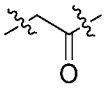
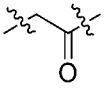
【0308】在一些實施方式中，連接子包含Mal部分和可切割肽部分。在一些實施方式中，可切割肽部分包含胺基酸單元。在一些實施方式中，胺基酸單元包含Val-Cit。在一些實施方式中，胺基酸單元包含Val-Ala。在一些實施方式中，Mal部分將抗體部分與連接子中的可切割肽部分附接。在一些實施方式中，可切割肽部分包含胺基酸單元。在一些實施方式中，胺基酸單元包含Val-Cit。在一些實施方式中，胺基酸單元包含Val-Ala。在一些實施方式中，連接子包含Mal-Val-Cit。在一些實施方式中，連接子包含Mal-Val-Ala。

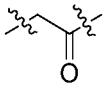
【0309】在一些實施方式中，連接子包含MC部分和可切割肽部分。在一些實施方式中，可切割肽部分包含胺基酸單元。在一些實施方式中，胺基酸單元包含Val-Cit。在一些實施方式中，胺基酸單元包含Val-Ala。在一些實施方式中，MC部分將抗體部分與連接子中的可切割肽部分附接。在一些實施方式中，可切割肽部分包含胺基酸單元。在一些實施方式中，胺基酸單元包含Val-Cit。在一些實施方式中，胺基酸單元包含Val-Ala。在一些實施方式中，連接子包含MC-Val-Cit。在一些實施方式中，連接子包含MC-Val-Ala。

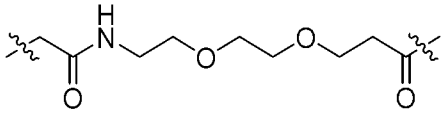
【0310】在一些實施方式中，本文揭露的ADC中的任一連接子可以包含至少一個將抗體部分與藥物部分接合的間隔子單元。在一些實施方式中，間隔子單元將連接子中的切割位點（例如可切割肽部分）與抗體部分接合。在一些實施方式中，間隔子單元將連接子中的切割位點（例如可切割肽部分）與藥物部分接合。在一些實施方式中，連接子和/或連接子中的間隔子單元實質上具有親水性。在一些實施方式中，連接子包括一個或多個聚乙二醇（PEG）部分，例如1、2、3或4個PEG部分。在一些實施方式中，連接子包括一個或多個烷基部分，例如1、2、3、4或5個烷基部分。

【0311】在一些實施方式中，連接子中的間隔子單元包含一個或多個PEG部分。在一些實施方式中，間隔子單元包含-$(PEG)_m$-且*m*係1至10的整數。在一些實施方式中，*m*在1至4範圍內；或在2至4範圍內。在一些實施方式中，*m*係2。在一些實施方式中，*m*係3。在一些實施方式中，*m*係4。在一些實施方式中，間隔子單元包含$(PEG)_2$、$(PEG)_3$或$(PEG)_4$。在一些實施方式中，間隔子單元包含PEG_2-Lys(ε-PEG_8-OMe)-PEG_2。

【0312】在一些實施方式中，連接子中的間隔子單元包含烷基部分。在一些實施方式中，間隔子單元包含-$(CH_2)_n$-且*n*係1至10的整數（即*n*可以是1、2、3、4、5、6、7、8、9或10）。在一些實施方式中，*n*係3、4或5。在一些實施方式中，間隔子單元包含$(CH_2)_3$或$(CH_2)_4$或$(CH_2)_5$。在一些實施方式中，間隔子單元包含CH_2-CH_2。

【0313】在一些實施方式中，間隔子單元包含  。在一些實施方式中，間隔子單元包含  和$(PEG)_2$。在一些實施方式中，間隔子單元包含與

(PEG)$_2$軛合的  。在一些實施方式中，間隔子單元包含

 式 (II)。

【0314】 在一些實施方式中，本文揭露的連接子可用於具有其他D部分的L-D構建體中。在一些實施方式中，使用包含含有式 (II) 的間隔子單元的連接子可以為各種D部分提供益處，包括例如與包含替代間隔子單元的其他連接子相比改進的軛合穩定性、改進的血漿穩定性和/或體內抗腫瘤活性。在一些實施方式中，不受理論的束縛，使用包含式 (II) 的連接子與本文揭露的STING促效劑，例如具有式 (III)、式 (IV) 的化合物或表14的化合物、例如化合物1的益處可以包括改進的軛合穩定性、改進的血漿穩定性和/或體內抗腫瘤活性。在一些實施方式中，包含式 (II) 的連接子和包含本文揭露的STING促效劑，例如具有式 (III)、式 (IV) 的化合物或表14的化合物的有效載荷當與本文揭露的抗PSMA抗體軛合時表現出優異的特性。這樣的L-D和抗體-藥物軛合物的優異益處的示例性證據顯示在實例4、9、12和15中。

【0315】 例如，可使用間隔子單元以將抗體部分與藥物部分直接或間接連接。在一些實施方式中，間隔子單元將抗體部分與藥物部分直接連接。在一些實施方式中，抗體部分和藥物部分藉由包含一個或多個烷基部分（例如$(CH_2)_3$或$(CH_2)_4$或$(CH_2)_5$）的間隔子單元附接。在一些實施方式中，抗體部分和藥物部分藉由包含一個或多個PEG部分（例如$(PEG)_2$或$(PEG)_3$或$(PEG)_4$）的間隔子單元附接。在一些實施方式中，抗體部分和藥物部分藉由包含式 (II) 的間隔子單元附接。在一些實施方式中，間隔子單元將抗體部分與藥物部分間接連接。在一些實施方式中，間隔子單元藉由可切割部分（例如可切割肽）和/或用於將間隔子單元與抗體部分接合的抗體附接部分（例如馬來醯亞胺部分或苄氧羰基-L-麩醯胺酸醯-甘胺酸部分）將抗體部分與藥物部分間接連接。

【0316】在一些實施方式中，間隔子單元藉由馬來醯亞胺部分（Mal）與抗體部分（即抗體或抗原結合片段）附接。藉由Mal與抗體或抗原結合片段附接的間隔子單元在本文中稱為「Mal-間隔子單元」。在一些實施方式中，Mal-間隔子單元可與抗體或抗原結合片段上的半胱胺酸殘基反應。在一些實施方式中，Mal-間隔子單元藉由半胱胺酸殘基與抗體或抗原結合片段接合。在一些實施方式中，Mal-間隔子單元包含PEG部分。在一些實施方式中，Mal-間隔子單元包含烷基部分。在一些實施方式中，Mal-間隔子單元包含式 (II)。在一些實施方式中，間隔子單元藉由馬來醯亞胺基己醯基部分（MC）與抗體部分（即抗體或抗原結合片段）附接。藉由MC與抗體或抗原結合片段附接的間隔子單元在本文中稱為「MC-間隔子單元」。在一些實施方式中，MC-間隔子單元可與抗體或抗原結合片段上的半胱胺酸殘基反應。在一些實施方式中，MC-間隔子單元藉由半胱胺酸殘基與抗體或抗原結合片段接合。在一些實施方式中，MC-間隔子單元包含PEG部分。在一些實施方式中，MC-間隔子單元包含烷基部分。在一些實施方式中，MC-間隔子單元包含式 (II)。

【0317】在一些實施方式中，連接子包含Mal-間隔子單元或MC-間隔子單元和可切割肽部分。在一些實施方式中，可切割肽部分包含胺基酸單元。在一些實施方式中，胺基酸單元包含Val-Cit。在一些實施方式中，胺基酸單元包含Val-Ala。在一些實施方式中，連接子包含Mal-間隔子單元或MC-間隔子單元和胺基酸單元。在一些實施方式中，連接子包含Mal-$(CH_2)_n$和胺基酸單元，其中n係3至5，或3、4或5。在一些實施方式中，連接子包含MC-$(CH_2)_n$和胺基酸單元，其中n係3至5，或3、4或5。

【0318】在一些實施方式中，連接子包含Mal-$(PEG)_m$和胺基酸單元，其中m係2至4，或2、3或4。在一些實施方式中，連接子包含MC-$(PEG)_m$和胺基酸單元，其中m係2至4，或2、3或4。在一些實施方式中，連接子進一步包含可切

割二肽，例如Val-Cit或Val-Ala。在一些實施方式中，連接子包含Mal-$(PEG)_n$-Val-Cit，其中n係1到10之間的任何數字。在一些實施方式中，連接子包含Mal-$(PEG)_n$-Val-Ala，其中n係1到10之間的任何數字。在一些實施方式中，連接子包含MC-$(PEG)_n$-Val-Cit，其中n係1到10之間的任何數字。在一些實施方式中，連接子包含MC-$(PEG)_n$-Val-Ala，其中n係1到10之間的任何數字。

【0319】 在一些實施方式中，連接子包含Mal-式 (II)和胺基酸單元。在一些實施方式中，連接子包含可切割二肽，例如Val-Cit或Val-Ala。在一些實施方式中，連接子包含Mal-式 (II)-Val-Cit。在一些實施方式中，連接子包含Mal-式 (II)-Val-Ala。

【0320】 在一些實施方式中，Mal-間隔子單元或MC-間隔子單元將抗體部分（即抗體或抗原結合片段）與連接子中的可切割部分附接。在一些實施方式中，Mal-間隔子單元或MC-間隔子單元將抗體或抗原結合片段與可切割肽部分附接。在一些實施方式中，可切割肽部分包含胺基酸單元。在一些實施方式中，連接子包含Mal-間隔子單元-胺基酸單元。在一些實施方式中，Mal-間隔子單元包含PEG部分。在一些實施方式中，Mal-間隔子單元包含烷基部分。在一些實施方式中，Mal-間隔子單元包含式 (II)。在一些實施方式中，連接子包含MC-間隔子單元-胺基酸單元。在一些實施方式中，MC-間隔子單元包含PEG部分。在一些實施方式中，MC-間隔子單元包含烷基部分。

【0321】 在各個實施方式中，連接子中的可切割部分與藥物部分和/或抗體部分直接接合。在其他實施方式中，間隔子單元用於將連接子中的可切割部分與藥物部分和/或抗體部分附接。在各個實施方式中，藥物部分可以是本文揭露的任何STING促效劑藥物部分，例如具有式 (III)、式 (IV) 的化合物、或下文表14中揭露的化合物。在各個實施方式中，藥物部分藉由間隔子單元與連接子中的可切割部分附接。在各個實施方式中，藥物部分係化合物1。在各個實施

方式中，化合物1部分藉由間隔子單元與連接子中的可切割部分附接。在一些實施方式中，藥物部分、例如化合物1藉由自消解單元與連接子中的可切割部分附接。在一些實施方式中，藥物部分、例如化合物1藉由自消解單元與連接子中的可切割部分附接，可切割部分包含胺基酸單元，並且另外的間隔子單元（例如，包含一個或多個烷基或PEG部分或式 (II)）將可切割部分與抗體部分接合。在一些實施方式中，藥物部分、例如化合物1藉由連接子中的Mal-間隔子單元與抗PSMA抗體接合，該連接子中的Mal-間隔子單元與可切割肽部分和pAB或pABC自消解單元接合。在一些實施方式中，藥物部分、例如化合物1藉由連接子中的MC-間隔子單元與抗PSMA抗體接合，該連接子中的MC-間隔子單元與可切割肽部分和pAB或pABC自消解單元接合。

【0322】 間隔子單元可以是「自消解的」或「非自消解的」。「非自消解」間隔子單元係在連接子切割時間隔子單元的一部分或全部仍結合藥物部分的間隔子單元。非自消解單元的實例包括但不限於甘胺酸間隔子單元和甘胺酸-甘胺酸間隔子單元。非自消解單元最終可隨時間而降解，但在細胞條件下不會容易地完全釋放所連接的天然藥物。「自消解」單元包含允許在投與至受試者後，例如在細胞內條件下釋放天然藥物部分的任何結構。「天然藥物」係在間隔子單元切割/降解後不保留間隔子單元的部分或其他化學修飾的天然藥物。

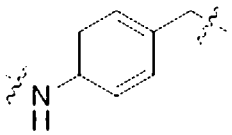
【0323】 自消解化學係本領域中已知的，並且可針對所揭露的ADC容易地選擇。在各個實施方式中，將連接子中的可切割部分與藥物部分（例如化合物1）附接的間隔子單元係自消解的，並且在細胞內條件下可切割部分切割的同時或之前/之後不久經歷自消解。

【0324】 在各個實施方式中，本文揭露的連接子可以包含至少一個自消解單元。本文揭露的任一連接子可以包含第一自消解單元。短語「第一自消解單元」可以表示包含一個自消解單元的連接子或包含一個或多個自消解單元的

連接子。在一些實施方式中，本文揭露的連接子包含第一自消解單元和第二自消解單元。

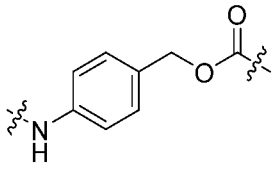
【0325】 在某些實施方式中，連接子中的至少一個自消解單元包含對胺基苄基單元。在一些實施方式中，對胺基苄醇（pABOH）藉由醯胺鍵與連接子中的胺基酸單元或其他可切割部分附接，並且在pABOH和藥物部分之間形成胺基甲酸酯、胺基甲酸甲酯或碳酸酯。參見，例如Hamann等人 (2005) Expert Opin. Ther.Patents [治療劑專利專家評論] 15:1087-103。在一些實施方式中，至少一個自消解單元係或包含對胺基苄基（pAB）。在一些實施方式中，至少一個自消解單元係或包含對胺基苄氧基羰基（pABC）。不受理論的束縛，認為pAB或pABC的自消解涉及自發的1,6-消除反應。參見，例如Jain等人 (2015) Pharm Res [藥物研究] 32:3526-40。

【0326】 在各個實施方式中，所揭露的ADC中使用的對胺基苄基（pAB）的結構如下所示：



。

【0327】 在各個實施方式中，所揭露的ADC中使用的對胺基苄氧基羰基（pABC）的結構如下所示：



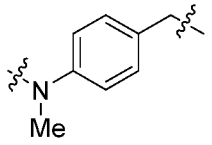
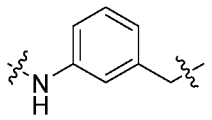
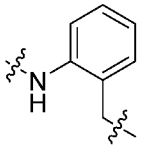
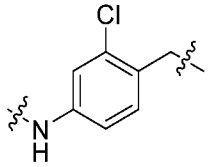
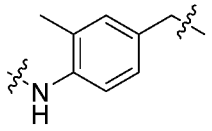
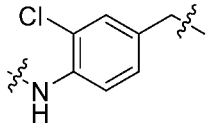
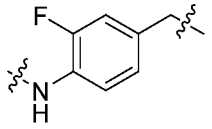
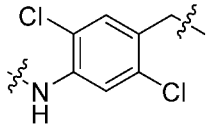
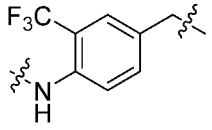
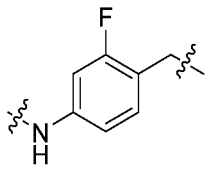
。

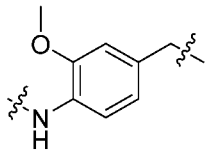
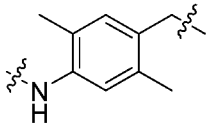
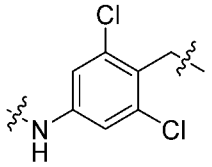
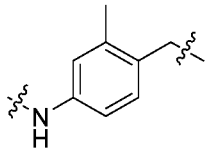
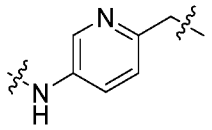
【0328】 自消解單元中的pAB或pABC的結構可以被取代。

【0329】 在一些實施方式中，pAB被選自甲基、氟、氯、三氟甲基、C_6-C_{10}芳基和C_5-C_{12}雜芳基的1-3個取代基取代。示例性經取代的pAB單元揭露於表

12中。在一些實施方式中，本文揭露的連接子可以包含選自下文表12中揭露的自消解單元的自消解單元。

【表12】.示例性經取代的pAB部分

經取代的pAB部分	經取代的pAB部分	結構
(N-Me)pAB	N-甲基-對胺基苄基	
MAB	間胺基苄基	
OAB	鄰胺基苄基	
(2-Cl)pAB	2-氯-4-胺基苄基	
(3-Me)pAB	3-甲基-4-胺基苄基	
(3-Cl)pAB	3-氯-4-胺基苄基	
(3-F)pAB	3-氟-4-胺基苄基	
(2,5-Cl2)pAB	2,5-二氯-4-胺基苄基	
(3-CF_3)pAB	3-三氟甲基-4-胺基苄基	
(2-F)pAB	2-氟-4-胺基苄基	

經取代的pAB部分	經取代的pAB部分	結構
(3-MeO)pAB	3-甲氧基-4-胺基苄基	
(2,5-Me2)pAB	2,5-二甲基-4-胺基苄基	
(2,6-Cl2)pAB	2,6-二氯-4-胺基苄基	
(2-Me)pAB	2-甲基-4-胺基苄基	
(2Py)pAB	(5-胺基吡啶-2-基)甲基	

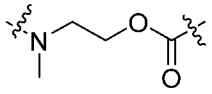
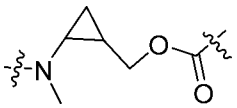
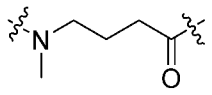
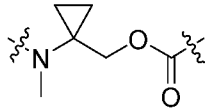
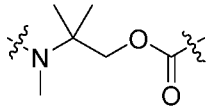
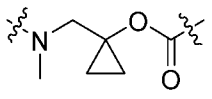
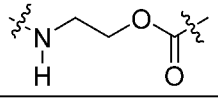
【0330】 可以修飾連接子部分以實現ADC的所需特性，例如穩定性、耐受性和/或功效。例如，與包含pAB或pABC的連接子相比，包含經修飾的pAB或pABC部分的連接子可以增加ADC穩定性和/或體內ADC耐受性（如藉由例如體重減輕百分比所確定的），同時最大限度地減少ADC功效降低。可能需要對連接子-藥物結構，例如間隔子單元或經修飾的藥物部分附接點進行某些額外修飾，以獲得一種或多種（例如，所有該等）特性。例如，可能需要進行某些修飾或修飾的組合以增強ADC穩定性，同時避免功效損失。例如，在一些實施方式中，與其他抗PSMA ADC相比，包含LP1、LP2、LP16、LP20、LP26或LP28的ADC可以實現ADC的所需特性，例如穩定性、耐受性和/或功效。

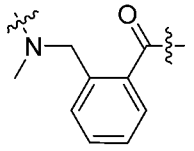
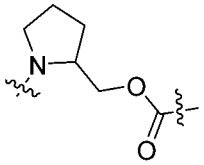
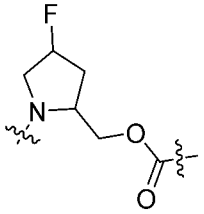
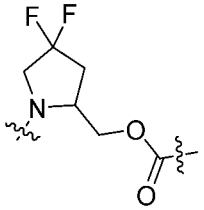
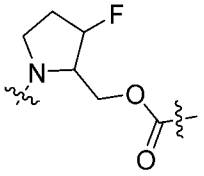
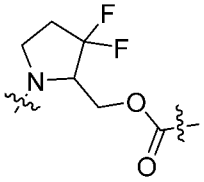
【0331】 在一些實施方式中，本文揭露的任一連接子可以包含另外的自消解單元。在一些實施方式中，另外的自消解單元將第一自消解單元與藥物部

分（例如化合物1）附接。與包含本文揭露的任一有效載荷化合物的其他連接子-有效載荷軛合物相比，將一個或多個另外的自消解單元添加至如本文所揭露的連接子-有效載荷軛合物中可以提供優異的技術益處，例如優異的穩定性和/或改進的活性。本文揭露的任一連接子可以包含第二自消解單元。

【0332】 示例性額外的自消解單元揭露於表13中。在一些實施方式中，連接子-有效載荷軛合物包含下文表13中列出的第二自消解單元。在一些實施方式中，連接子-有效載荷軛合物包含Val-Ala-pAB和選自表13的第二自消解單元。在一些實施方式中，連接子-有效載荷軛合物包含Val-Ala-pABC和選自表13的第二自消解單元。在一些實施方式中，連接子-有效載荷軛合物包含Val-Cit-pAB和選自表13的第二自消解單元。在一些實施方式中，連接子-有效載荷軛合物包含Val-Cit-pABC和選自表13的第二自消解單元。

【表13】.示例性自消解單元

第二自消解單元	化學名稱	化學結構
單元1（MEC）	(*N*-甲基胺基)乙氧基羰基	
單元2	(*N*-甲基胺基)-2-環丙基]甲氧基羰基	
單元3	3-(*N*-甲基胺基)丁醯基	
單元4	*N*-甲基胺基-(環丙基)-1-甲氧基羰基	
單元5	(*N*-甲基胺基)-1,1-二甲基-乙氧基羰基	
單元6	*N*-甲基胺基-(環丙基)-2-甲氧基羰基	
單元7	(*N*-H)乙氧基羰基	

第二自消解單元	化學名稱	化學結構
單元8	2-(*N*-甲基)胺基甲基苯甲酸酯	
單元9	脯胺醇羰基	
單元10	4-一氟-脯胺醇羰基	
單元11	4,4-二氟脯胺醇羰基	
單元12	3-一氟-脯胺醇羰基	
單元13	3,3-二氟脯胺醇羰基	

【0333】 單元2和9-13包括所有立體異構物。

【0334】 在一些實施方式中，另外的自消解單元包含單元1（MEC）部分。在一些實施方式中，MEC部分將第一自消解單元與藥物部分（例如化合物1）附接（「自消解單元-MEC部分」）。在一些實施方式中，另外的自消解單元包含單元2部分。在一些實施方式中，單元2部分將第一自消解單元與藥物部分（例如化合物1）附接（「自消解單元-單元2部分」）。在一些實施方式中，另外的自消解單元包含單元3部分。在一些實施方式中，單元3部分將第一自消

解單元與藥物部分（例如化合物1）附接（「自消解單元-單元3部分」）。在一些實施方式中，另外的自消解單元包含單元4部分。在一些實施方式中，單元4部分將第一自消解單元與藥物部分（例如化合物1）附接（「自消解單元-單元4部分」）。在一些實施方式中，另外的自消解單元包含單元5部分。在一些實施方式中，單元5部分將第一自消解單元與藥物部分（例如化合物1）附接（「自消解單元-單元5部分」）。在一些實施方式中，另外的自消解單元包含單元6部分。在一些實施方式中，單元6部分將第一自消解單元與藥物部分（例如化合物1）附接（「自消解單元-單元6部分」）。在一些實施方式中，另外的自消解單元包含單元7部分。在一些實施方式中，單元7部分將第一自消解單元與藥物部分（例如化合物1）附接（「自消解單元-單元7部分」）。在一些實施方式中，另外的自消解單元包含單元8部分。在一些實施方式中，單元8部分將第一自消解單元與藥物部分（例如化合物1）附接（「自消解單元-單元8部分」）。在一些實施方式中，另外的自消解單元包含單元9部分。在一些實施方式中，單元9部分將第一自消解單元與藥物部分（例如化合物1）附接（「自消解單元-單元9部分」）。在一些實施方式中，另外的自消解單元包含單元10部分。在一些實施方式中，單元10部分將第一自消解單元與藥物部分（例如化合物1）附接（「自消解單元-單元10部分」）。在一些實施方式中，另外的自消解單元包含單元11部分。在一些實施方式中，單元11部分將第一自消解單元與藥物部分（例如化合物1）附接（「自消解單元-單元11部分」）。在一些實施方式中，另外的自消解單元包含單元12部分。在一些實施方式中，單元12部分將第一自消解單元與藥物部分（例如化合物1）附接（「自消解單元-單元12部分」）。在一些實施方式中，另外的自消解單元包含單元13部分。在一些實施方式中，單元13部分將第一自消解單元與藥物部分（例如化合物1）附接（「自消解單元-單元13部分」）。

【0335】在各個實施方式中，連接子中的可切割部分與藥物部分中的硫直接或間接附接。藥物部分可以是本文揭露的任何合適的藥物部分，例如具有式 (III)、式 (IV) 的化合物、或下文表14中揭露的化合物。在一些實施方式中，藥物部分係或包含化合物1。在一些實施方式中，連接子中的可切割部分與本文揭露的STING促效劑藥物部分（例如化合物1）中的S-14硫直接或間接附接。在一些實施方式中，一個或多個自消解單元包含pAB。在一些實施方式中，pAB將連接子中的可切割部分與本文揭露的STING促效劑藥物部分（例如化合物1）中的S-14硫附接。在一些實施方式中，pAB在可切割部分切割時經歷自消解，並且STING促效劑藥物部分（例如化合物1）以其天然活性形式從ADC釋放。在一些實施方式中，可切割部分包含胺基酸單元。在一些實施方式中，連接子包含胺基酸單元-pAB。在一些實施方式中，胺基酸單元係Val-Cit。在一些實施方式中，連接子包含Val-Cit-pAB。在一些實施方式中，胺基酸單元係Val-Ala。在一些實施方式中，連接子包含Val-Ala-pAB。

【0336】在各個實施方式中，連接子中的可切割部分與藥物部分中的氮直接或間接附接。藥物部分可以是本文揭露的STING促效劑藥物部分，例如具有式 (III)、式 (IV) 的化合物、或下文表14中揭露的化合物。在一些實施方式中，藥物部分係或包含化合物1。在一些實施方式中，STING促效劑藥物部分（例如化合物1）中的氮係N-34氮。在一些實施方式中，STING促效劑藥物部分（例如化合物1）中的氮係N-39氮。在一些實施方式中，一個或多個自消解單元包含pAB。在一些實施方式中，一個或多個自消解單元包含pABC。在一些實施方式中，一個或多個自消解單元包含MEC部分。在一些實施方式中，一個或多個自消解單元包含pABC-MEC部分。在一些實施方式中，pABC的羧酸酯部分與MEC的n-甲基部分結合以形成N-甲基胺基甲酸酯部分。在一些實施方式中，一個或多個自消解單元包含單元8部分。在一些實施方式中，一個或多

個自消解單元包含pABC-單元8部分。在一些實施方式中，一個或多個自消解單元包含單元9部分。在一些實施方式中，一個或多個自消解單元包含pABC-單元9部分。在一些實施方式中，一個或多個自消解單元包含單元11部分。在一些實施方式中，一個或多個自消解單元包含pABC-單元11部分。

【0337】在一些實施方式中，連接子包含第一間隔子單元和第二間隔子單元之間的第三間隔子單元。在一些實施方式中，第二和/或第三間隔子單元選自上文表13的部分。在一些實施方式中，連接子包含pABC間隔子單元和MEC間隔子單元之間的第三間隔子單元。在一些實施方式中，連接子包含pABC間隔子單元和單元8間隔子單元之間的第三間隔子單元。在一些實施方式中，連接子包含pABC間隔子單元和單元9間隔子單元之間的第三間隔子單元。在一些實施方式中，連接子包含pABC間隔子單元和單元11間隔子單元之間的第三間隔子單元。在一些實施方式中，pABC將連接子中的可切割部分與化合物1中的N-34氮附接。在一些實施方式中，pABC將連接子中的可切割部分與化合物1中的N-39氮附接。

【0338】在一些實施方式中，pABC-MEC部分將連接子中的可切割部分與化合物1中的N-34氮附接。在一些實施方式中，pABC-MEC部分將連接子中的可切割部分與化合物1中的N-39氮附接。在一些實施方式中，pABC或pABC-MEC部分在可切割部分切割時經歷自消解，並且化合物1以其天然活性形式從ADC釋放。在一些實施方式中，化合物1從抗體和連接子的釋放以逐步方式發生，其中首先切割連接子中的可切割部分、然後pABC部分經歷自消解、然後MEC部分經歷自消解。在一些實施方式中，可切割部分包含胺基酸單元。在一些實施方式中，連接子包含胺基酸單元-pABC。在一些實施方式中，連接子包含胺基酸單元-pABC-MEC部分。在一些實施方式中，胺基酸單元係Val-Cit。在一些實施方式中，連接子包含Val-Cit-pABC。在一些實施方式中，連接子包含

Val-Cit-pABC-MEC部分。在一些實施方式中，胺基酸單元係Val-Ala。在一些實施方式中，連接子包含Val-Ala-pABC。在一些實施方式中，連接子包含Val-Ala-pABC-MEC部分。

【0339】在一些實施方式中，pABC-單元8部分將連接子中的可切割部分與化合物1中的N-34氮附接。在一些實施方式中，pABC-單元8部分將連接子中的可切割部分與化合物1中的N-39氮附接。在一些實施方式中，pABC或pABC-單元8部分在可切割部分切割時經歷自消解，並且化合物1以其天然活性形式從ADC釋放。在一些實施方式中，化合物1從抗體和連接子的釋放以逐步方式發生，其中首先切割連接子中的可切割部分、然後pABC部分經歷自消解、然後單元8部分經歷自消解。在一些實施方式中，可切割部分包含胺基酸單元。在一些實施方式中，連接子包含胺基酸單元-pABC。在一些實施方式中，連接子包含胺基酸單元-pABC-單元8部分。在一些實施方式中，胺基酸單元係Val-Cit。在一些實施方式中，連接子包含Val-Cit-pABC。在一些實施方式中，連接子包含Val-Cit-pABC-單元8部分。在一些實施方式中，胺基酸單元係Val-Ala。在一些實施方式中，連接子包含Val-Ala-pABC。在一些實施方式中，連接子包含Val-Ala-pABC-單元8部分。

【0340】在一些實施方式中，pABC-單元9部分將連接子中的可切割部分與化合物1中的N-34氮附接。在一些實施方式中，pABC-單元9部分將連接子中的可切割部分與化合物1中的N-39氮附接。在一些實施方式中，pABC或pABC-單元9部分在可切割部分切割時經歷自消解，並且化合物1以其天然活性形式從ADC釋放。在一些實施方式中，化合物1從抗體和連接子的釋放以逐步方式發生，其中首先切割連接子中的可切割部分、然後pABC部分經歷自消解、然後單元9部分經歷自消解。在一些實施方式中，可切割部分包含胺基酸單元。在一些實施方式中，連接子包含胺基酸單元-pABC。在一些實施方式中，連接子

包含胺基酸單元-pABC-單元9部分。在一些實施方式中，胺基酸單元係Val-Cit。在一些實施方式中，連接子包含Val-Cit-pABC。在一些實施方式中，連接子包含Val-Cit-pABC-單元9部分。在一些實施方式中，胺基酸單元係Val-Ala。在一些實施方式中，連接子包含Val-Ala-pABC。在一些實施方式中，連接子包含Val-Ala-pABC-單元9部分。

【0341】在一些實施方式中，pABC-單元11部分將連接子中的可切割部分與化合物1中的N-34氮附接。在一些實施方式中，pABC-單元11部分將連接子中的可切割部分與化合物1中的N-39氮附接。在一些實施方式中，pABC或pABC-單元11部分在可切割部分切割時經歷自消解，並且化合物1以其天然活性形式從ADC釋放。在一些實施方式中，化合物1從抗體和連接子的釋放以逐步方式發生，其中首先切割連接子中的可切割部分、然後pABC部分經歷自消解、然後單元11部分經歷自消解。在一些實施方式中，可切割部分包含胺基酸單元。在一些實施方式中，連接子包含胺基酸單元-pABC。在一些實施方式中，連接子包含胺基酸單元-pABC-單元11部分。在一些實施方式中，胺基酸單元係Val-Cit。在一些實施方式中，連接子包含Val-Cit-pABC。在一些實施方式中，連接子包含Val-Cit-pABC-單元11部分。在一些實施方式中，胺基酸單元係Val-Ala。在一些實施方式中，連接子包含Val-Ala-pABC。在一些實施方式中，連接子包含Val-Ala-pABC-單元11部分。

【0342】在一些實施方式中，至少一個自消解單元（例如pAB、pABC、pABC-MEC部分、pABC-單元8部分、pABC-單元9部分或pABC-單元11部分）在連接子中的可切割肽部分切割時經歷自消解。在一些實施方式中，至少一個自消解單元（例如pAB、pABC、pABC-MEC部分、pABC-單元8部分、pABC-單元9部分或pABC-單元11部分）的自消解在連接子中的可切割肽部分切割後以逐步方式發生，從最靠近可切割肽部分的自消解部分開始。在一些實施方式

中，至少一個自消解單元（例如pAB、pABC、pABC-MEC部分、pABC-單元8部分、pABC-單元9部分或pABC-單元11部分）在連接子中的可切割肽部分切割後以逐步方式經歷自消解，其中第一自消解單元（例如pABC或pAB）在第二自消解單元（例如MEC部分、單元8部分、單元9部分、單元11部分）的自消解之前經歷自消解。在一些實施方式中，可切割肽部分包含胺基酸單元。在一些實施方式中，連接子包含胺基酸單元-pAB。在一些實施方式中，連接子包含胺基酸單元-pABC。在一些實施方式中，連接子包含胺基酸單元-pABC-MEC部分。在一些實施方式中，連接子包含胺基酸單元-pABC-單元8部分。在一些實施方式中，連接子包含胺基酸單元-pABC-單元9部分。在一些實施方式中，連接子包含胺基酸單元-pABC-單元11部分。在一些實施方式中，胺基酸單元係Val-Cit。在一些實施方式中，連接子包含Val-Cit-pAB。在一些實施方式中，連接子包含Val-Cit-pABC。在一些實施方式中，連接子包含Val-Cit-pABC-MEC部分。在一些實施方式中，連接子包含Val-Cit-pABC-單元8部分。在一些實施方式中，連接子包含Val-Cit-pABC-單元9部分。在一些實施方式中，連接子包含Val-Cit-pABC-單元11部分。在一些實施方式中，胺基酸單元係Val-Ala。在一些實施方式中，連接子包含Val-Ala-pAB。在一些實施方式中，連接子包含Val-Ala-pABC。在一些實施方式中，連接子包含Val-Ala-pABC-MEC部分。在一些實施方式中，連接子包含Val-Ala-pABC-單元8部分。在一些實施方式中，連接子包含Val-Ala-pABC-單元9部分。在一些實施方式中，連接子包含Val-Ala-pABC-單元11部分。

【0343】在各個方面，ADC的抗體部分藉由連接子與藥物部分軛合，其中該連接子包含MC-間隔子單元、可切割胺基酸單元和pAB。在一些實施方式中，連接子包含MC-Val-Cit-pAB。在一些實施方式中，連接子包含MC-Val-Ala-pAB。

【0344】在各個方面，ADC的抗體部分藉由連接子與藥物部分軛合，其中該連接子包含MC-間隔子單元、可切割胺基酸單元和pABC。在一些實施方式中，連接子包含MC-Val-Cit-pABC。在一些實施方式中，連接子包含MC-Val-Ala-pABC。

【0345】在各個方面，ADC的抗體部分藉由連接子與藥物部分軛合，其中該連接子包含MC單元、可切割胺基酸單元、pABC和MEC部分。在一些實施方式中，連接子包含MC-Val-Cit-pABC-MEC部分。在一些實施方式中，連接子包含MC-Val-Ala-pABC-MEC部分。

【0346】在各個方面，ADC的抗體部分藉由連接子與藥物部分軛合，其中該連接子包含MC單元、可切割胺基酸單元、pABC和單元8部分。在一些實施方式中，連接子包含MC-Val-Cit-pABC-單元8部分。在一些實施方式中，連接子包含MC-Val-Ala-pABC-單元8部分。

【0347】在各個方面，ADC的抗體部分藉由連接子與藥物部分軛合，其中該連接子包含MC單元、可切割胺基酸單元、pABC和單元9部分。在一些實施方式中，連接子包含MC-Val-Cit-pABC-單元9部分。在一些實施方式中，連接子包含MC-Val-Ala-pABC-單元9部分。

【0348】在各個方面，ADC的抗體部分藉由連接子與藥物部分軛合，其中該連接子包含MC單元、可切割胺基酸單元、pABC和單元11部分。在一些實施方式中，連接子包含MC-Val-Cit-pABC-單元11部分。在一些實施方式中，連接子包含MC-Val-Ala-pABC-單元11部分。

【0349】在一些實施方式中，抗體部分藉由包含馬來醯亞胺基己醯基部分（MC）和胺基酸的連接子與藥物部分軛合。在一些實施方式中，抗體部分藉由包含馬來醯亞胺基己醯基部分（MC）、胺基酸和pAB的連接子與藥物部分軛合。在一些實施方式中，抗體部分藉由包含馬來醯亞胺基己醯基部分

（MC）、胺基酸和pABC的連接子與藥物部分軛合。在一些實施方式中，抗體部分藉由包含馬來醯亞胺基己醯基部分（MC）、胺基酸、pABC和MEC部分的連接子與藥物部分軛合。在一些實施方式中，抗體部分藉由包含馬來醯亞胺基己醯基部分（MC）、胺基酸、pABC和單元8部分的連接子與藥物部分軛合。在一些實施方式中，抗體部分藉由包含馬來醯亞胺基己醯基部分（MC）、胺基酸、pABC和單元9部分的連接子與藥物部分軛合。在一些實施方式中，抗體部分藉由包含馬來醯亞胺基己醯基部分（MC）、胺基酸、pABC和單元11部分的連接子與藥物部分軛合。

【0350】在各個方面，ADC的抗體部分藉由連接子與藥物部分軛合，其中該連接子包含Mal-間隔子單元、可切割胺基酸單元和pAB。在一些實施方式中，連接子包含Mal-式 (II)-Val-Cit-pAB。在一些實施方式中，連接子包含Mal-式 (II)-Val-Ala-pAB。在各個方面，ADC的抗體部分藉由連接子與藥物部分軛合，其中該連接子包含Mal-間隔子單元、可切割胺基酸單元和pABC。在一些實施方式中，連接子包含Mal-式 (II)-Val-Cit-pABC。在一些實施方式中，連接子包含Mal-式 (II)-Val-Ala-pABC。

【0351】在各個方面，ADC的抗體部分藉由連接子與藥物部分軛合，其中該連接子包含Mal單元、可切割胺基酸單元、pABC和MEC部分。在一些實施方式中，連接子包含Mal-式 (II)-Val-Cit-pABC-MEC部分。在一些實施方式中，連接子包含Mal-式 (II)-Val-Ala-pABC-MEC部分。

【0352】在各個方面，ADC的抗體部分藉由連接子與藥物部分軛合，其中該連接子包含Mal單元、可切割胺基酸單元、pABC和單元8部分。在一些實施方式中，連接子包含Mal-式 (II)-Val-Cit-pABC-單元8部分。在一些實施方式中，連接子包含Mal-式 (II)-Val-Ala-pABC-單元8部分。

【0353】 在各個方面，ADC的抗體部分藉由連接子與藥物部分軛合，其中該連接子包含Mal單元、可切割胺基酸單元、pABC和單元9部分。在一些實施方式中，連接子包含Mal-式 (II)-Val-Cit-pABC-單元9部分。在一些實施方式中，連接子包含Mal-式 (II)-Val-Ala-pABC-單元9部分。

【0354】 在各個方面，ADC的抗體部分藉由連接子與藥物部分軛合，其中該連接子包含Mal單元、可切割胺基酸單元、pABC和單元11部分。在一些實施方式中，連接子包含Mal-式 (II)-Val-Cit-pABC-單元11部分。在一些實施方式中，連接子包含Mal-式 (II)-Val-Ala-pABC-單元11部分。

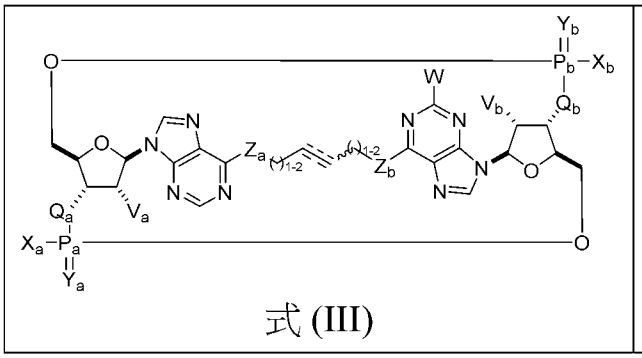
【0355】 在一些實施方式中，藥物部分係化合物1。

【0356】 在一些實施方式中，藥物部分係化合物2。

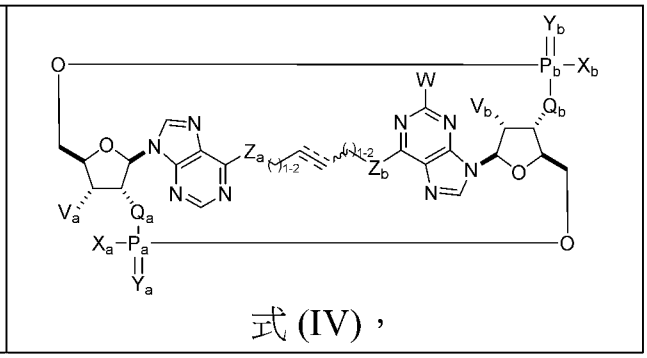
藥物部分

【0357】 本文揭露的連接子-藥物軛合物和ADC的藥物部分（D）可以是任何化療劑。在一些實施方式中，藥物部分係STING促效劑。示例性STING促效劑係本領域中已知的，並且包括環狀二核苷酸、例如大環橋接的STING促效劑，非環狀二核苷酸。在一些實施方式中，藥物部分係非環狀二核苷酸。在一些實施方式中，藥物部分係大環橋接的STING促效劑。

【0358】 本文揭露的連接子-藥物軛合物和ADC的藥物部分包含根據下式之一的化合物：



式 (III)



式 (IV)，

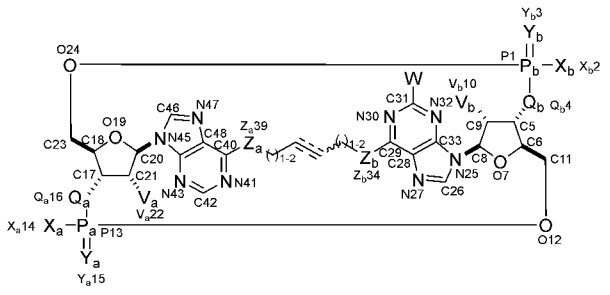
其異構物、該化合物或異構物的氘代衍生物；或者該化合物、異構物或氘代衍生物的鹽；

其中，對於每次出現獨立地是：

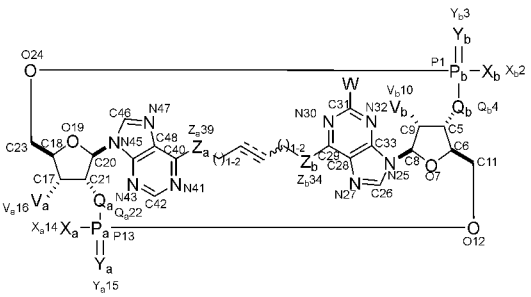
- P_a和P_b中的每個，當不是外消旋時，獨立地選自(*R*)-組態和(*S*)-組態；
- Q_a和Q_b中的每個獨立地選自NH和O；
- V_a和V_b中的每個獨立地選自F和OH；
- W選自H和NH_2；
- X_a和X_b中的每個獨立地選自OH和SH；
- Y_a和Y_b中的每個獨立地選自O和S；
- Z_a和Z_b各自獨立地選自CH_2、O和NH；以及
- ═意味著鍵選自單鍵（－）、(*E*)-或(*Z*)-組態的雙鍵（＝）、或三鍵（≡）；

條件係Z_a和Z_b中的至少一個係NH或X_a和X_b中的至少一個係SH。

【0359】如本文所提及的，式 (III) 和 (IV) 中的原子可以如下所示進行編號：



式 (III)



式 (IV)

。

【0360】在一些實施方式中，P_a和P_b中的每個係外消旋的。在一些實施方式中，P_a係外消旋的且P_b選自(*R*)-組態和(*S*)-組態。在一些實施方式中，P_a選自

(*R*)-組態和(*S*)-組態且P_b係外消旋的。在一些實施方式中，P_a和P_b中的每個選自(*R*)-組態和(*S*)-組態。

【0361】在一些實施方式中，P_a係(*R*)-組態且P_b係(*R*)-組態。在一些實施方式中，P_a係(*R*)-組態且P_b係(*S*)-組態。在一些實施方式中，P_a係(*S*)-組態且P_b係(*R*)-組態。在一些實施方式中，P_a係(*S*)-組態且P_b係(*S*)-組態。

【0362】在一些實施方式中，Q_a係O且Q_b係O。在一些實施方式中，Q_a係NH且Q_b係O。在一些實施方式中，Q_a係O且Q_b係NH。在一些實施方式中，Q_a係NH且Q_b係NH。

【0363】在一些實施方式中，V_a係OH且V_b係OH。在一些實施方式中，V_a係F且V_b係OH。在一些實施方式中，V_a係OH且V_b係F。在一些實施方式中，V_a係F且V_b係F。

【0364】在一些實施方式中，W係H。在一些實施方式中，W係NH_2。

【0365】在一些實施方式中，X_a係OH且X_b係OH。在一些實施方式中，X_a係SH且X_b係OH。在一些實施方式中，X_a係OH且X_b係SH。在一些實施方式中，X_a係SH且X_b係SH。

【0366】在一些實施方式中，Y_a係O且Y_b係O。在一些實施方式中，Y_a係S且Y_b係O。在一些實施方式中，Y_a係O且Y_b係S。在一些實施方式中，Y_a係S且Y_b係S。

【0367】在一些實施方式中，Z_a係NH且Z_b選自CH_2、O和NH。在一些實施方式中，Z_a係NH且Z_b係CH_2。在一些實施方式中，Z_a係NH且Z_b係O。在一些實施方式中，Z_a係NH且Z_b係NH。

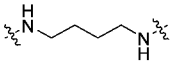
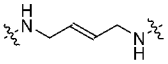
【0368】在一些實施方式中，Z_a係O且Z_b選自CH_2、O和NH。在一些實施方式中，Z_a係O且Z_b係CH_2。在一些實施方式中，Z_a係O且Z_b係O。在一些實施方式中，Z_a係O且Z_b係NH。

【0369】在一些實施方式中，Z_a係CH_2且Z_b選自CH_2、O和NH。在一些實施方式中，Z_a係CH_2且Z_b係CH_2。在一些實施方式中，Z_a係CH_2且Z_b係O。在一些實施方式中，Z_a係CH_2且Z_b係NH。

【0370】在一些實施方式中，≡係單鍵。在一些實施方式中，≡係(*E*)-組態的雙鍵。在一些實施方式中，≡係(*Z*)-組態的雙鍵。在一些實施方式中，≡係三鍵。

【0371】在一些實施方式中，X_a和X_b中的至少一個係SH且Z_a和Z_b中的每個獨立地選自CH_2、O和NH。在一些實施方式中，X_a係SH且Z_a和Z_b中的每個獨立地選自CH_2、O和NH。在一些實施方式中，X_b係SH且Z_a和Z_b中的每個獨立地選自CH_2、O和NH。在一些實施方式中，X_a和X_b中的每個係SH且Z_a和Z_b中的每個獨立地選自CH_2、O和NH。

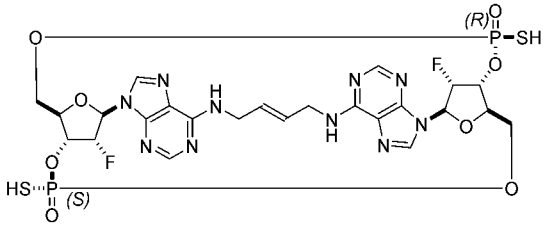
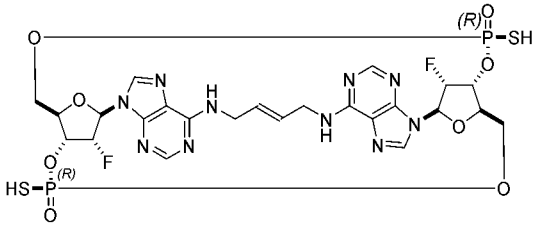
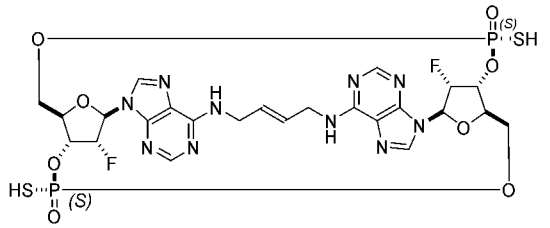
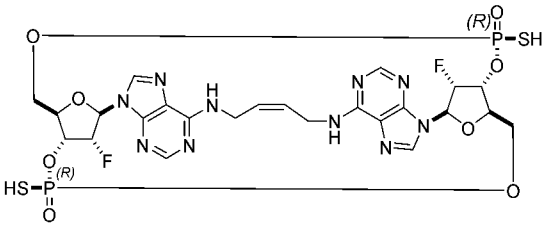
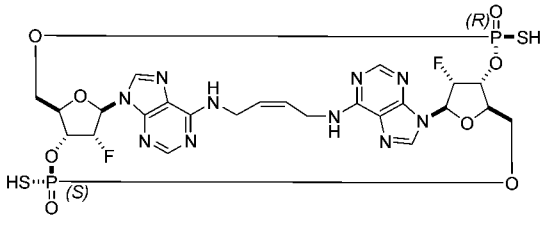
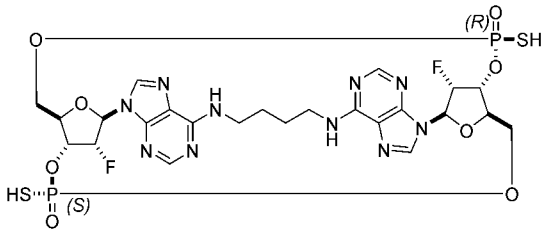
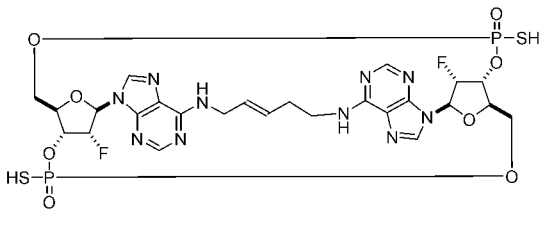
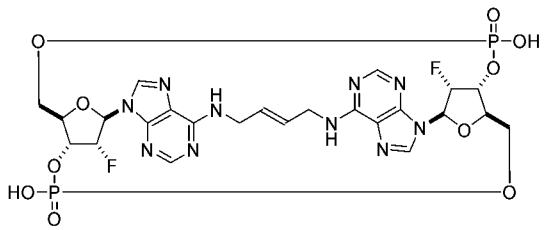
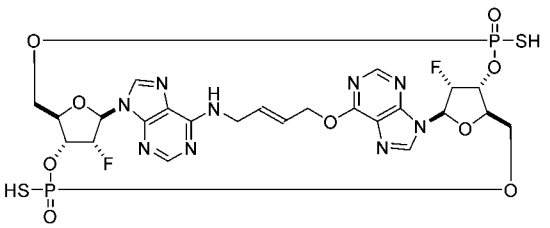
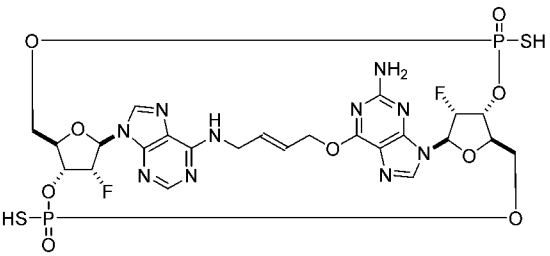
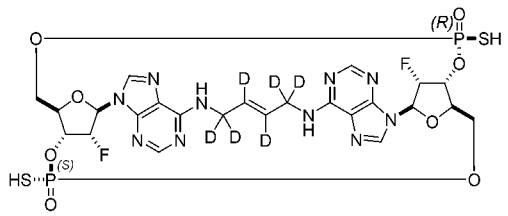
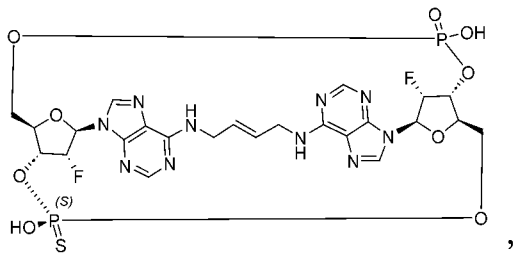
【0372】在一些實施方式中，Z_a和Z_b中的至少一個係NH且X_a和X_b選自OH和SH。在一些實施方式中，Z_a係NH且X_a和X_b選自OH和SH。在一些實施方式中，Z_b係NH且X_a和X_b選自OH和SH。在一些實施方式中，Z_a和Z_b中的每個係NH且X_a和X_b選自OH和SH。

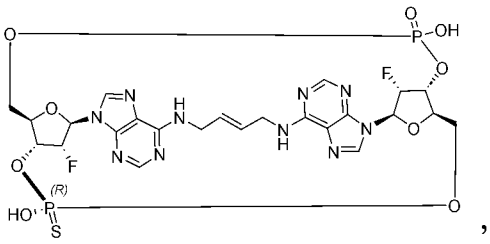
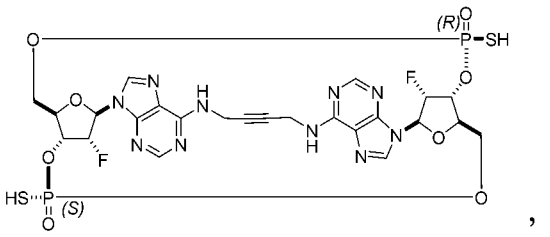
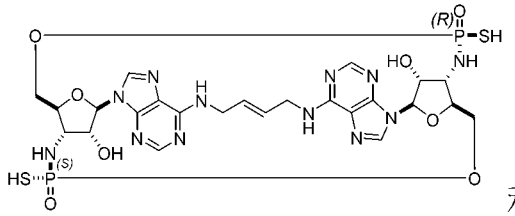
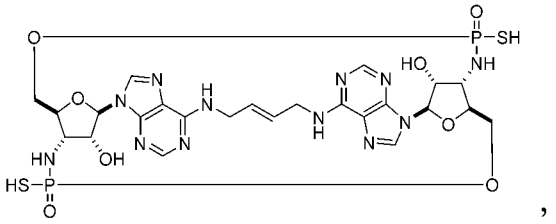
【0373】在一些實施方式中，藥物部分的橋係脂肪族基團，其中至少一個CH_2單元被NH基團替代。在一些實施方式中，脂肪族基團係完全飽和的。在一些實施方式中，脂肪族基團含有至少一個不飽和單元。在一些實施方式中，橋係脂肪族基團，其中一個CH_2單元被NH基團替代。在一些實施方式中，橋係脂肪族基團，其中兩個CH_2單元被NH基團替代。在一些實施方式中，橋原子包含  。在一些實施方式中，橋原子包含  。在一些實施方式中，橋原子包含 。

【0374】在一些實施方式中，D包含具有式 (III) 的化合物且X_a係SH。在一些實施方式中，D包含具有式 (III) 的化合物且X_b係SH。在一些實施方式中，

D包含具有式 (IV) 的化合物且X_a係SH。在一些實施方式中，D包含具有式 (IV) 的化合物且X_b係SH。

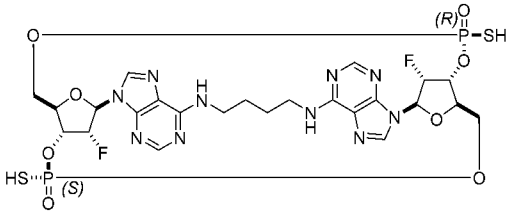
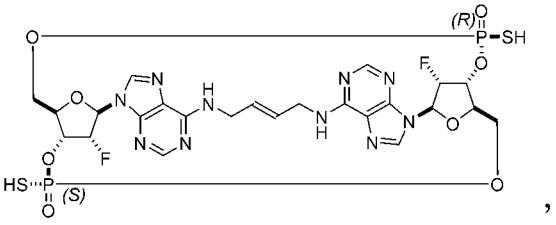
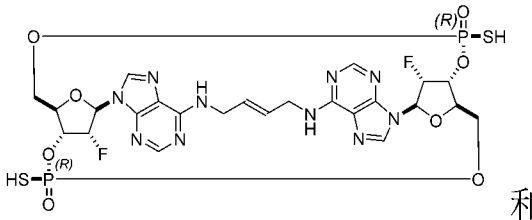
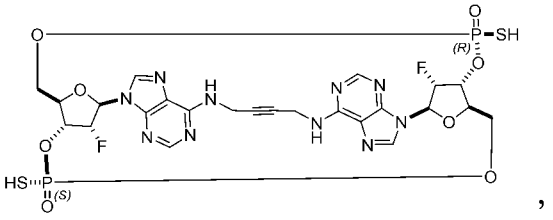
【0375】 在一些實施方式中，D包含選自以下的具有式 (III) 的化合物：


,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,


，

，

和

，

及其鹽。

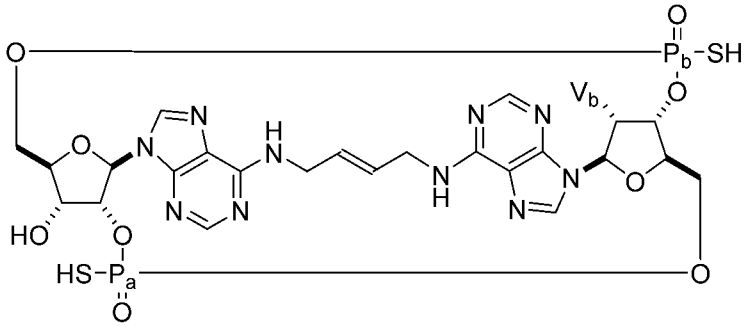
【0376】在一些實施方式中，具有式 (III) 的化合物選自：


，

，

和

，

及其鹽。

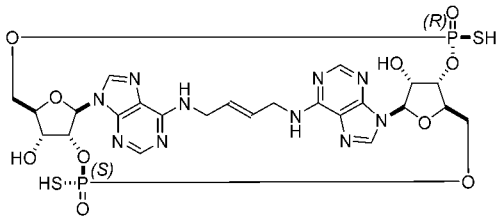
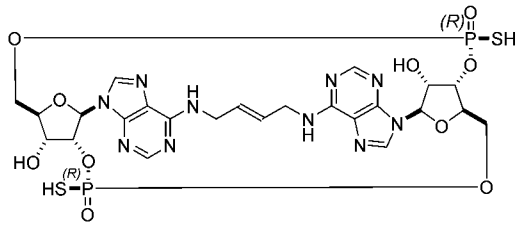
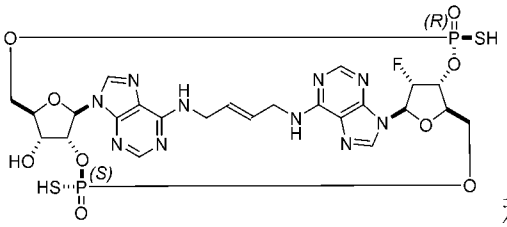
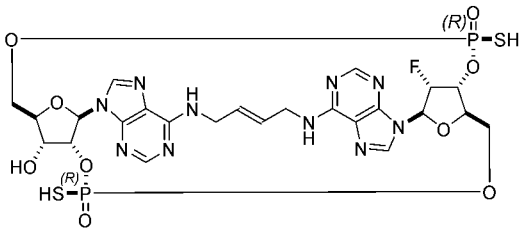
【0377】在一些實施方式中，D包含化合物1。在一些實施方式中，D包含化合物2。

【0378】在一些實施方式中，D包含選自以下的具有式 (IV) 的化合物：


（式 (VII)）

及其鹽。

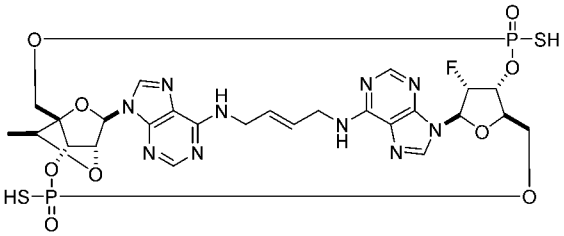
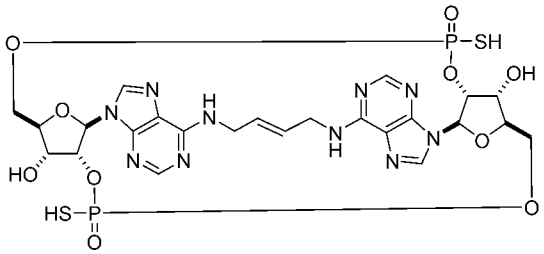
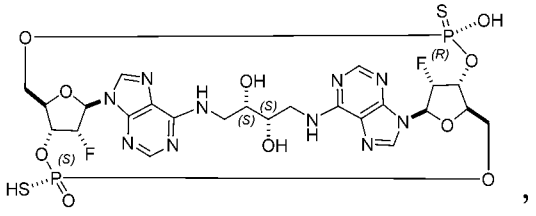
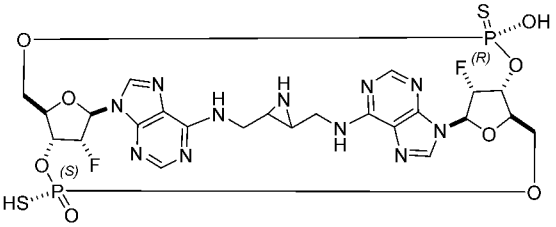
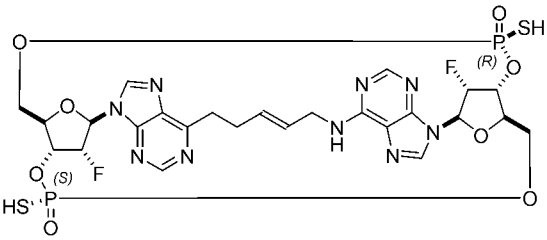
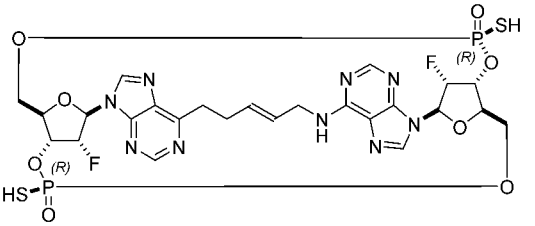
【0379】在一些實施方式中，D包含選自以下的具有式 (IV) 的化合物：


，

，

和

，

及其鹽。

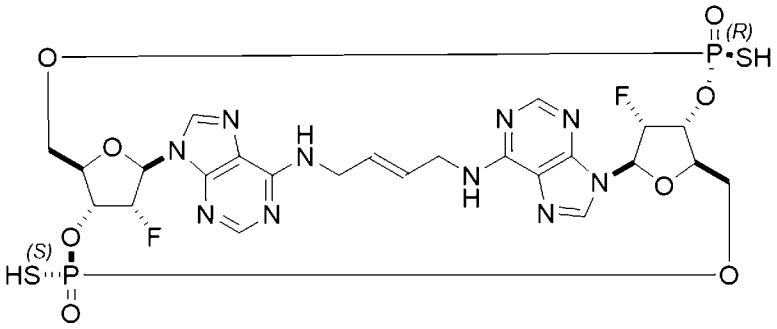
【0380】在一些實施方式中，D包含化合物1。在一些實施方式中，D包含化合物2。

【0381】在一些實施方式中，D包含選自以下的化合物：


，

，

，

，

，

，

及其鹽。

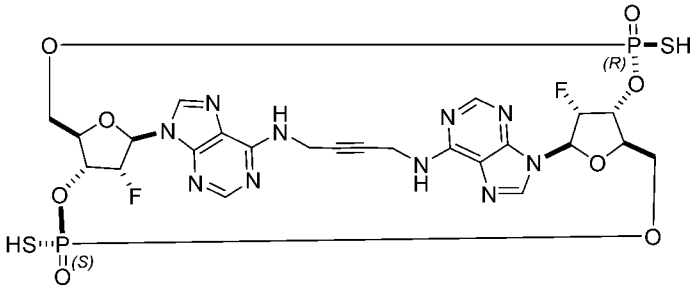
【0382】在一些實施方式中，STING促效劑係化合物1。化合物1的結構如下所示：



化合物1。

【0383】如上所述，除非上下文另外說明，否則術語化合物1還涵蓋如上所示結構的鹽。在一些實施方式中，藥物部分係化合物1。在一些實施方式中，連接子、例如ADC的連接子，藉由化合物1上的S-14硫與化合物1附接。在一些實施方式中，連接子、例如ADC的連接子，藉由化合物1上的N-34氮與化合物1附接。在一些實施方式中，連接子、例如ADC的連接子，藉由化合物1上的N-39氮與化合物1附接。在一些實施方式中，ADC的連接子藉由pAB與化合物1上的S-14硫共價附接。在一些實施方式中，pAB係如上所揭露的pAB的類似物。在一些實施方式中，ADC的連接子藉由pABC與化合物1上的N-34氮共價附接。在一些實施方式中，ADC的連接子藉由pABC與化合物1上的N-39氮共價附接。在一些實施方式中，ADC的連接子藉由如下所揭露的第二自消解單元與化合物1上的N-34氮共價附接。在一些實施方式中，ADC的連接子藉由如下所揭露的第二自消解單元與化合物1上的N-39氮共價附接。

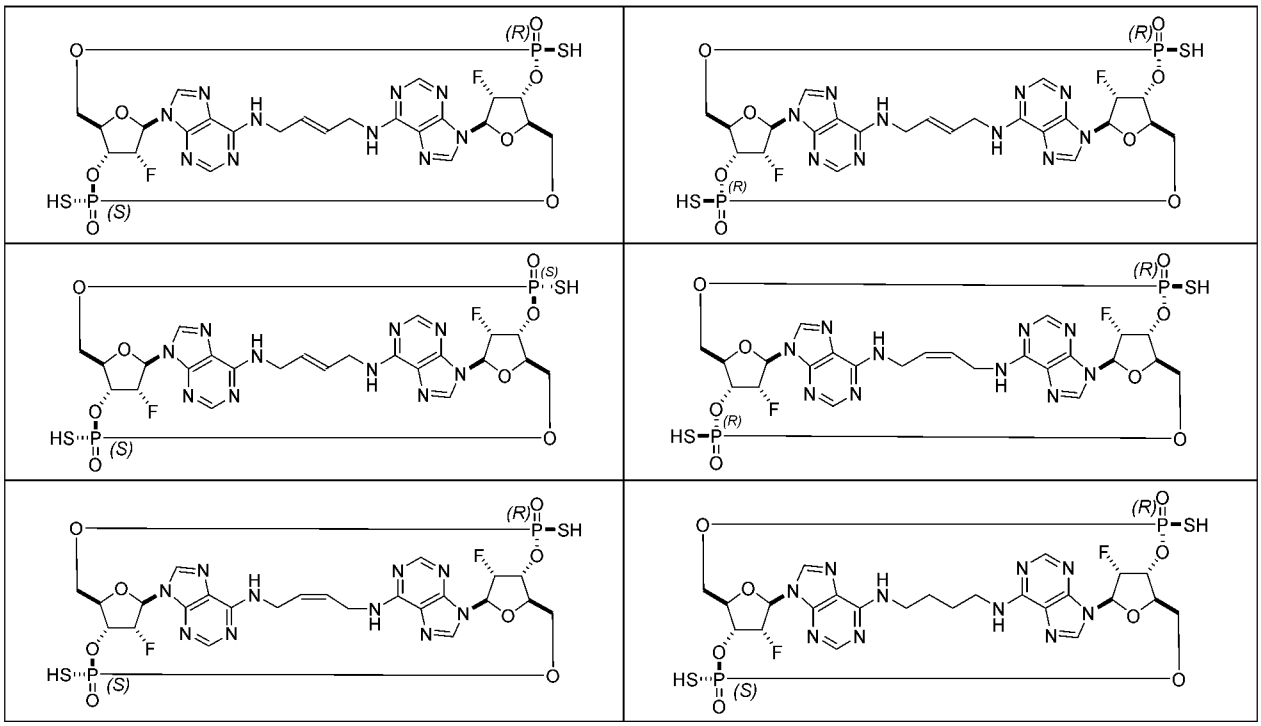
【0384】在一些實施方式中，STING促效劑係化合物2。化合物2的結構如下所示：

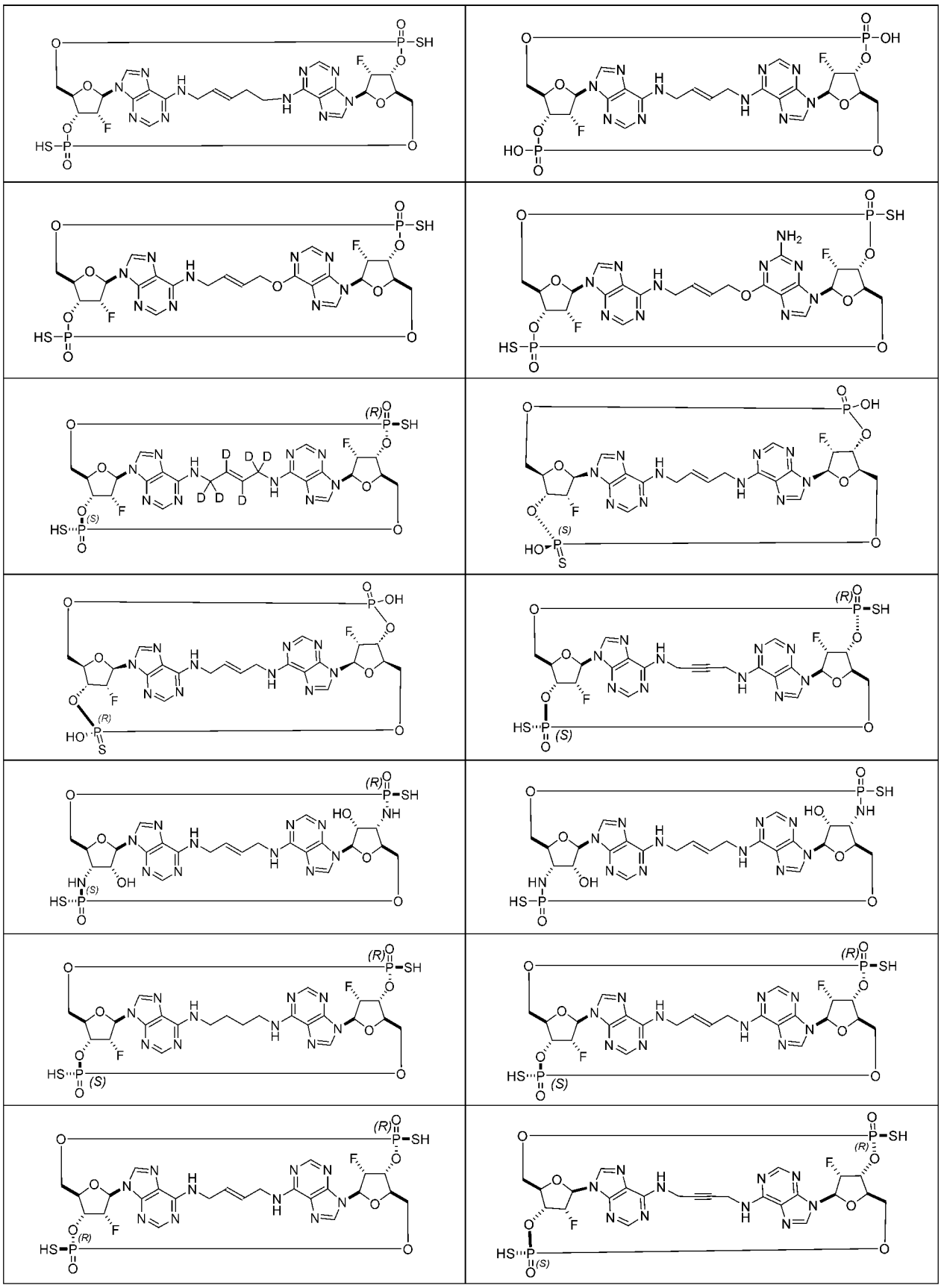


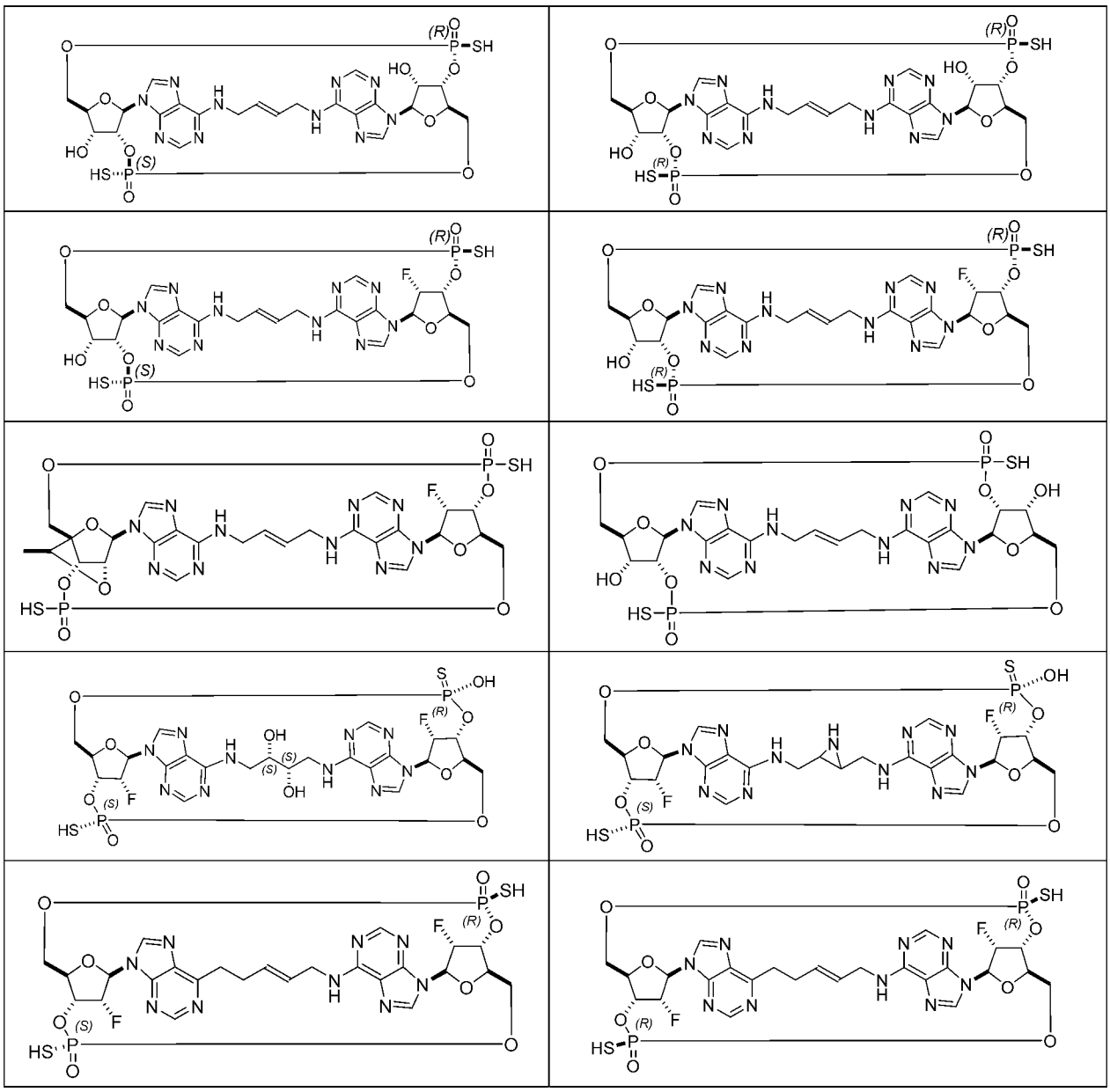
化合物2。

【0385】除非上下文另外說明，否則術語化合物2還涵蓋如上所示結構的鹽。在一些實施方式中，藥物部分係化合物2。在一些實施方式中，連接子、例如ADC的連接子，藉由化合物2上的S-14硫與化合物1附接。在一些實施方式中，連接子、例如ADC的連接子，藉由化合物2上的N-34氮與化合物1附接。在一些實施方式中，連接子、例如ADC的連接子，藉由化合物2上的N-39氮與化合物1附接。在一些實施方式中，ADC的連接子藉由pAB與化合物2上的S-14硫共價附接。在一些實施方式中，pAB係如上所揭露的pAB的類似物。在一些實施方式中，ADC的連接子藉由pABC與化合物2上的N-34氮共價附接。在一些實施方式中，ADC的連接子藉由pABC與化合物2上的N-39氮共價附接。在一些實施方式中，ADC的連接子藉由如下所揭露的第二自消解單元與化合物2上的N-34氮共價附接。在一些實施方式中，ADC的連接子藉由如下所揭露的第二自消解單元與化合物2上的N-39氮共價附接。在一些實施方式中，STING促效劑選自下文表14的化合物。

【表14】.示例性STING促效劑化合物







【0386】進一步揭露了表14的化合物的異構物，該等化合物和異構物的氘代衍生物；以及該等化合物、異構物和氘代衍生物的鹽。

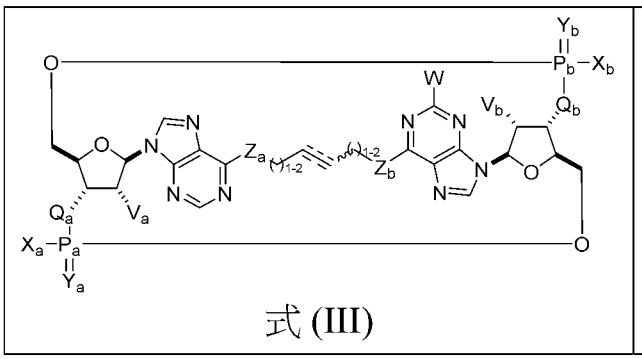
【0387】在某些實施方式中，中間體、例如上文揭露的連接子的前驅體，在適當的條件下與藥物部分反應。在某些實施方式中，在藥物和/或中間體或連接子上使用反應性基團。藥物與中間體或衍生藥物之間的反應產物隨後在適當的條件下與抗體或抗原結合片段反應，例如根據下文討論之方法。可替代

地，連接子或中間體可以首先與抗體或衍生抗體反應，然後與藥物或衍生藥物反應。

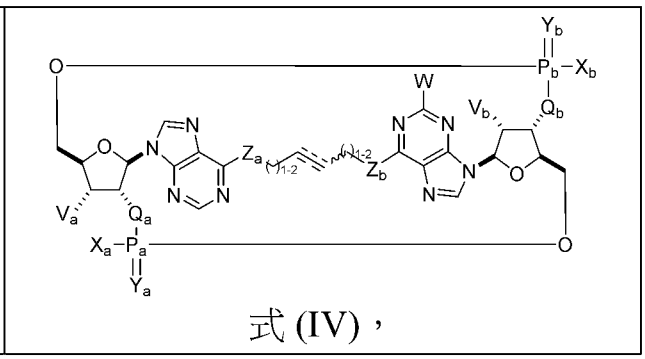
【0388】許多不同的反應可用於藥物和/或連接子與抗體部分的共價附接。這通常藉由抗體分子的一個或多個胺基酸殘基的反應來完成，包括離胺酸的胺基、麩胺酸和天冬胺酸的游離羧酸基團、半胱胺酸的硫氫基基團以及芳族胺基酸的各個部分。例如，非特異性共價附接可以使用碳二亞胺反應進行，以將化合物上的羧基（或胺基）基團與抗體部分上的胺基（或羧基）基團連接。另外，還可以使用雙官能試劑（如二醛或亞胺酸酯）將化合物上的胺基基團與抗體部分上的胺基基團連接。希夫鹼（Schiff base）反應還可用於將藥物與結合劑附接。此方法涉及過碘酸鹽氧化含有二醇或羥基基團的藥物，由此形成醛，然後使該醛與結合劑反應。藉由與結合劑的胺基基團形成希夫鹼而發生附接。也可以使用異硫氰酸酯作為偶聯劑以用於將藥物與結合劑共價附接。其他技術係技術人員已知的並且處於本揭露的範圍內。

連接子-藥物軛合物

【0389】本揭露提供了包含L-D的連接子-藥物軛合物，其中L係與D共價附接的可切割連接子。術語「連接子-藥物軛合物」和「連接子-有效載荷軛合物」在本文中可互換使用。本文揭露的連接子-藥物軛合物適合軛合至多種抗體，包括本文揭露的抗PSMA抗體。在L-D的上下文中，D係與L形成共價鍵的化合物，其導致至少一個氫自由基的損失。在L-D的上下文中，D可以是任何能從所揭露的連接子中受益的合適的化合物。在一些實施方式中，D選自本文揭露的任一化合物。在L-D的上下文中，L可以選自本文揭露的任何連接子。D包含根據下式之一的化合物：



式 (III)



式 (IV)，

其異構物、該化合物或異構物的氘代衍生物；或者該化合物、異構物或氘代衍生物的鹽；

其中，對於每次出現獨立地是：

- P_a和P_b中的每個，當不是外消旋時，獨立地選自(*R*)-組態和(*S*)-組態；
- Q_a和Q_b中的每個獨立地選自NH和O；
- V_a和V_b中的每個獨立地選自F和OH；
- W選自H和NH_2；
- X_a和X_b中的每個獨立地選自OH和SH；
- Y_a和Y_b中的每個獨立地選自O和S；
- Z_a和Z_b各自獨立地選自CH_2、O和NH；以及
- ≡意味著鍵選自單鍵（—）、(*E*)-或(*Z*)-組態的雙鍵（＝）、或三鍵（≡）；

條件係Z_a和Z_b中的至少一個係NH或X_a和X_b中的至少一個係SH。

【0390】 在一些實施方式中，P_a和P_b中的每個係外消旋的。在一些實施方式中，P_a係外消旋的且P_b選自(*R*)-組態和(*S*)-組態。在一些實施方式中，P_a選自(*R*)-組態和(*S*)-組態且P_b係外消旋的。在一些實施方式中，P_a和P_b中的每個選自(*R*)-組態和(*S*)-組態。

【0391】在一些實施方式中，P_a係(*R*)-組態且P_b係(*R*)-組態。在一些實施方式中，P_a係(*R*)-組態且P_b係(*S*)-組態。在一些實施方式中，P_a係(*S*)-組態且P_b係(*R*)-組態。在一些實施方式中，P_a係(*S*)-組態且P_b係(*S*)-組態。

【0392】在一些實施方式中，Q_a係O且Q_b係O。在一些實施方式中，Q_a係NH且Q_b係O。在一些實施方式中，Q_a係O且Q_b係NH。在一些實施方式中，Q_a係NH且Q_b係NH。

【0393】在一些實施方式中，V_a係OH且V_b係OH。在一些實施方式中，V_a係F且V_b係OH。在一些實施方式中，V_a係OH且V_b係F。在一些實施方式中，V_a係F且V_b係F。

【0394】在一些實施方式中，W係H。在一些實施方式中，W係NH_2。

【0395】在一些實施方式中，X_a係OH且X_b係OH。在一些實施方式中，X_a係SH且X_b係OH。在一些實施方式中，X_a係OH且X_b係SH。在一些實施方式中，X_a係SH且X_b係SH。

【0396】在一些實施方式中，Y_a係O且Y_b係O。在一些實施方式中，Y_a係S且Y_b係O。在一些實施方式中，Y_a係O且Y_b係S。在一些實施方式中，Y_a係S且Y_b係S。

【0397】在一些實施方式中，Z_a係NH且Z_b選自CH_2、O和NH。在一些實施方式中，Z_a係NH且Z_b係CH_2。在一些實施方式中，Z_a係NH且Z_b係O。在一些實施方式中，Z_a係NH且Z_b係NH。

【0398】在一些實施方式中，Z_a係O且Z_b選自CH_2、O和NH。在一些實施方式中，Z_a係O且Z_b係CH_2。在一些實施方式中，Z_a係O且Z_b係O。在一些實施方式中，Z_a係O且Z_b係NH。

【0399】在一些實施方式中，Z_a係CH_2且Z_b選自CH_2、O和NH。在一些實施方式中，Z_a係CH_2且Z_b係CH_2。在一些實施方式中，Z_a係CH_2且Z_b係O。在一些實施方式中，Z_a係CH_2且Z_b係NH。

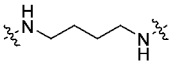
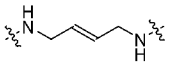
【0400】在一些實施方式中，≡係單鍵。在一些實施方式中，≡係(*E*)-組態的雙鍵。在一些實施方式中，≡係(*Z*)-組態的雙鍵。在一些實施方式中，≡係三鍵。

【0401】在一些實施方式中，X_a和X_b中的至少一個係SH且Z_a和Z_b中的每個獨立地選自CH_2、O和NH。在一些實施方式中，X_a係SH且Z_a和Z_b中的每個獨立地選自CH_2、O和NH。在一些實施方式中，X_b係SH且Z_a和Z_b中的每個獨立地選自CH_2、O和NH。在一些實施方式中，X_a和X_b中的每個係SH且Z_a和Z_b中的每個獨立地選自CH_2、O和NH。

【0402】在一些實施方式中，Z_a和Z_b中的至少一個係NH且X_a和X_b選自OH和SH。在一些實施方式中，Z_a係NH且X_a和X_b選自OH和SH。在一些實施方式中，Z_b係NH且X_a和X_b選自OH和SH。在一些實施方式中，Z_a和Z_b中的每個係NH且X_a和X_b選自OH和SH。

【0403】在一些實施方式中，D包含具有式 (III) 的化合物且X_a係SH。在一些實施方式中，D包含具有式 (III) 的化合物且X_b係SH。在一些實施方式中，D包含具有式 (IV) 的化合物且X_a係SH。在一些實施方式中，D包含具有式 (IV) 的化合物且X_b係SH。

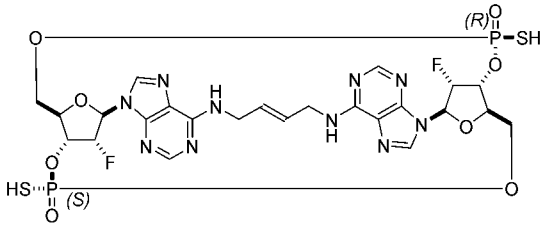
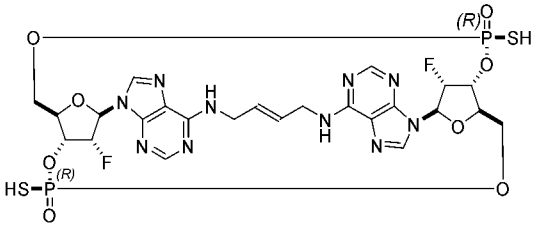
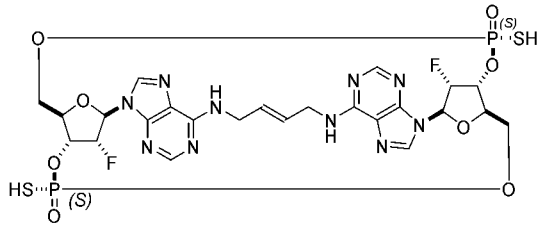
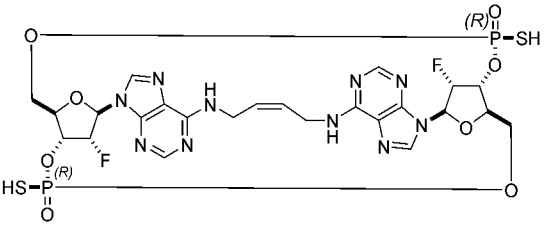
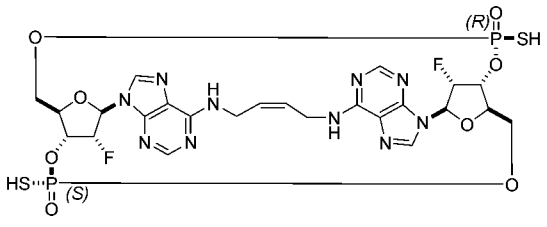
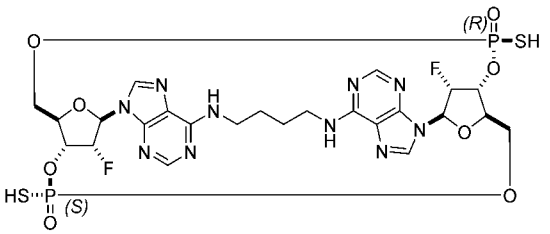
【0404】在一些實施方式中，連接子-藥物軛合物的橋係脂肪族基團，其中至少一個CH_2單元被NH基團替代。在一些實施方式中，脂肪族基團係完全飽和的。在一些實施方式中，脂肪族基團含有至少一個不飽和單元。在一些實施方式中，橋係脂肪族基團，其中一個CH_2單元被NH基團替代。在一些實施方式中，橋係脂肪族基團，其中兩個CH_2單元被NH基團替代。在一些實施方式中，

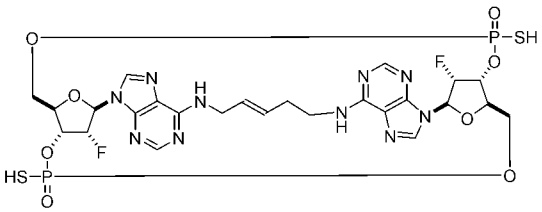
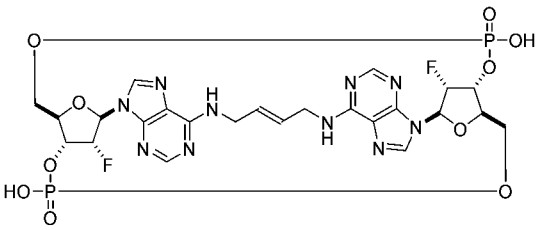
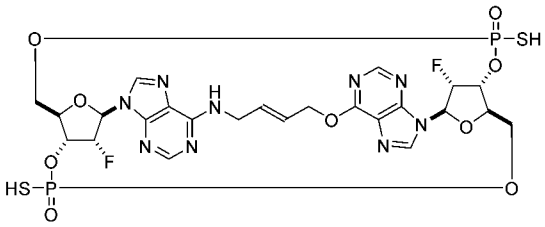
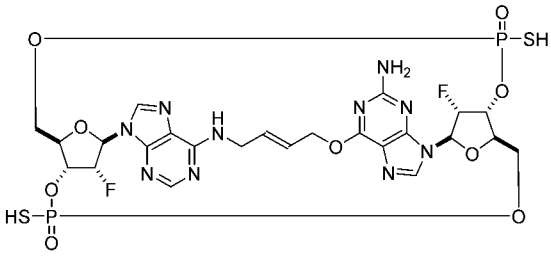
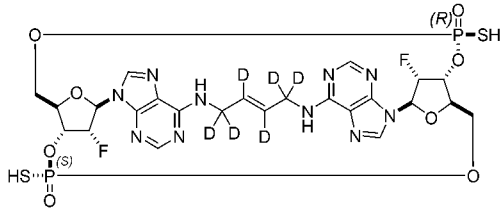
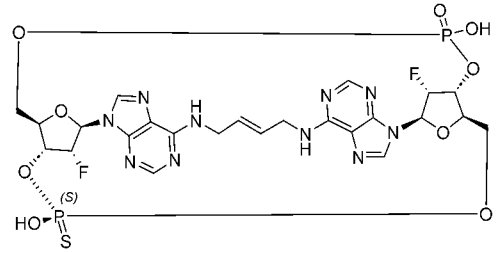
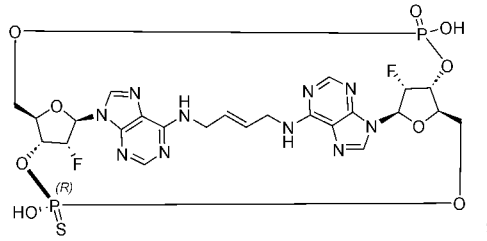
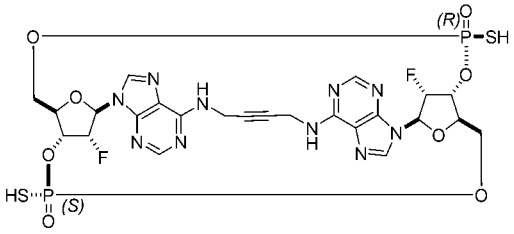
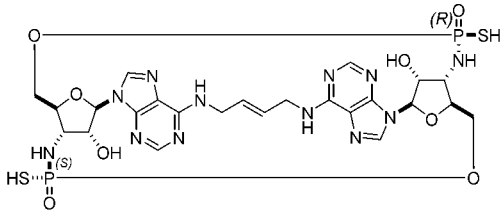
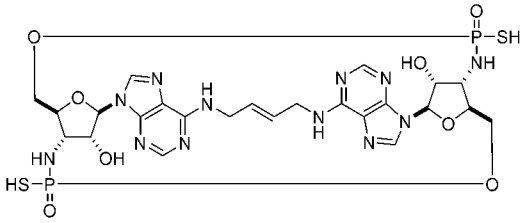
橋原子包含  。在一些實施方式中，橋原子包含  。在一些實施方式中，橋原子包含 。在一些實施方式中，L藉由硫原子與D附接。在一些實施方式中，L在S-2硫或S-14硫處與D附接。在一些實施方式中，L在S-2硫處與D附接。在一些實施方式中，L在S-14硫處與D附接。

【0405】 在一些實施方式中，D包含具有式 (III) 的化合物且Z_a係NH。在一些實施方式中，D包含具有式 (III) 的化合物且Z_b係NH。在一些實施方式中，D包含具有式 (IV) 的化合物且Z_a係NH。在一些實施方式中，D包含具有式 (IV) 的化合物且Z_b係NH。

【0406】 在一些實施方式中，L藉由橋氮原子與D附接。在一些實施方式中，L在N-34氮或N-39氮處與D附接。在一些實施方式中，L在N-34氮處與D附接。在一些實施方式中，L在N-39氮處與D附接。

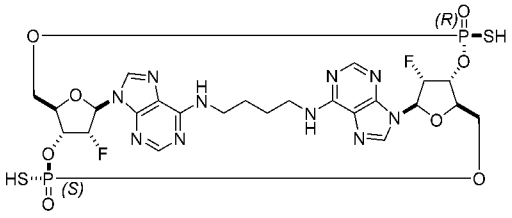
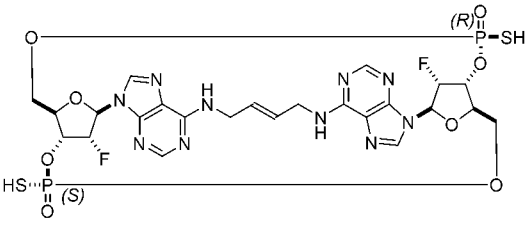
【0407】 在一些實施方式中，D包含具有式 (III) 的化合物。示例性具有式 (III) 的化合物如下所示。在一些實施方式中，D包含選自以下的具有式 (III) 的化合物：

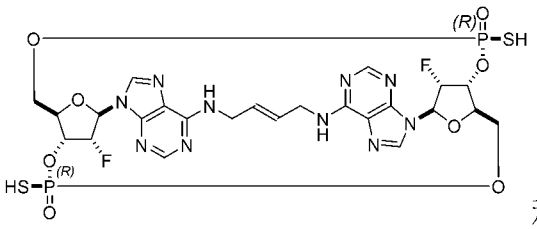
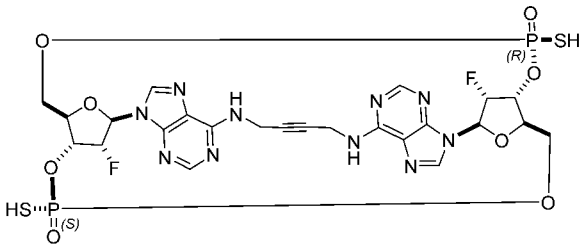

,

,

,

,

,

,


,

,

,

,

,

,

,

,

和

,

及其鹽。

【0408】在一些實施方式中，具有式 (III) 的化合物選自：

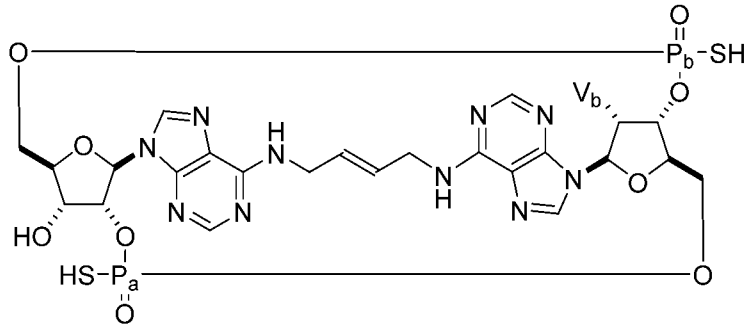

,

,


和

，

及其鹽。

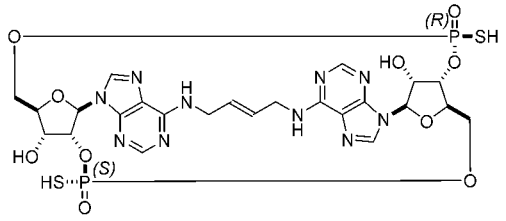
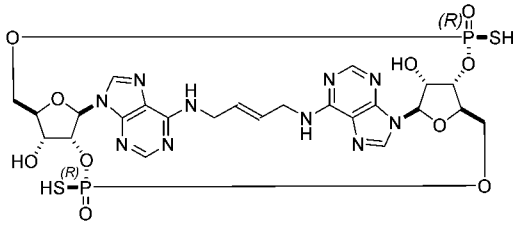
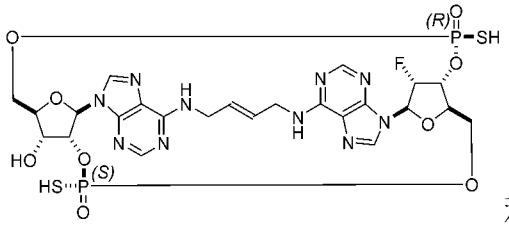
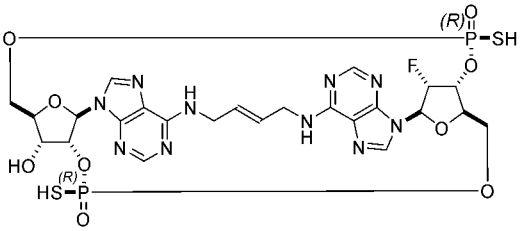
【0409】在一些實施方式中，D包含化合物1。在一些實施方式中，D包含化合物2。

【0410】在一些實施方式中，D包含選自以下的具有式 (IV) 的化合物：


（式 (VII)）

及其鹽。

【0411】在一些實施方式中，D包含選自以下的具有式 (IV) 的化合物：


，

，

和

，

及其鹽。

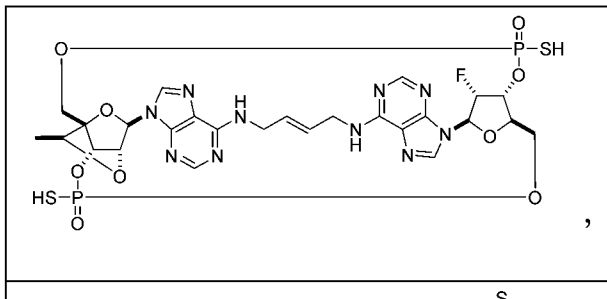
【0412】在一些實施方式中，X_a或X_b係SH並且L藉由S-2硫或S-14硫處的硫原子與D附接。在一些實施方式中，Z_a或Z_b係NH並且L藉由N-34氮或N-39氮處的氮原子與D附接。

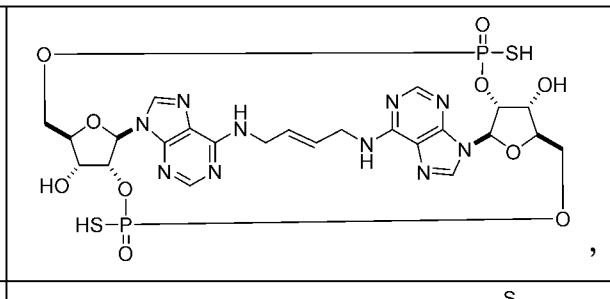
【0413】 在一些實施方式中，D包含具有式 (III) 的化合物，X_a係SH並且L在S-2硫處與D附接。在一些實施方式中，D包含具有式 (III) 的化合物，X_b係SH並且L在S-14硫處與D附接。在一些實施方式中，D包含具有式 (III) 的化合物，Z_a係NH並且L在N-34氮處與D附接。在一些實施方式中，D包含具有式 (III) 的化合物，Z_b係NH並且L在N-39氮處與D附接。

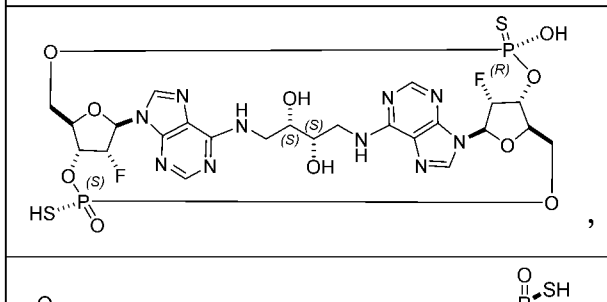
【0414】 在一些實施方式中，D包含具有式 (IV) 的化合物並且L在S-2硫處與D附接。在一些實施方式中，D包含具有式 (IV) 的化合物並且L在S-14硫處與D附接。在一些實施方式中，D包含具有式 (IV) 的化合物並且L在N-34氮處與D附接。在一些實施方式中，D包含具有式 (IV) 的化合物並且L在N-39氮處與D附接。

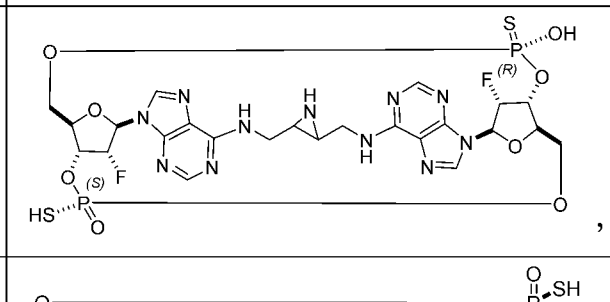
【0415】 在一些實施方式中，D包含化合物1。在一些實施方式中，D包含化合物2。

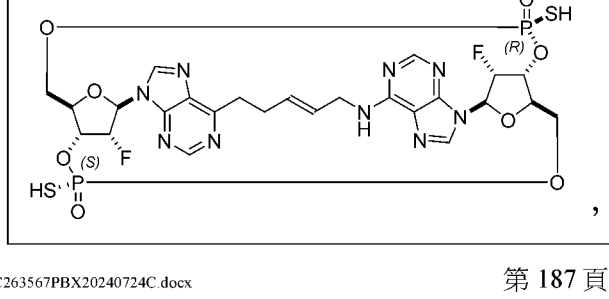
【0416】 本揭露提供了包含L-D的連接子-有效載荷軛合物，其中L係與D共價附接的可切割連接子，其中D包含選自以下的化合物：

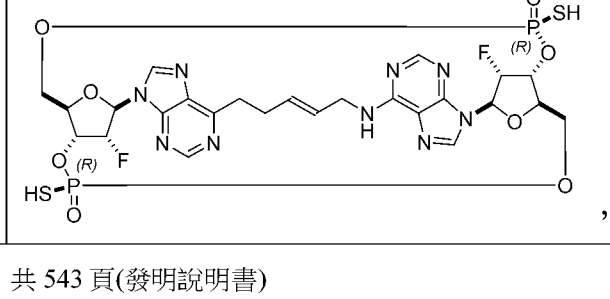

,


,


,


,


,


,

及其鹽。

【0417】在一些實施方式中，L藉由S-2硫或S-14硫處的硫原子與D附接。在一些實施方式中，L在S-2硫處與D附接。在一些實施方式中，L在S-14硫處與D附接。

【0418】在一些實施方式中，L藉由N-34氮或N-39氮處的氮原子與D附接。在一些實施方式中，L在N-34氮處與D附接。在一些實施方式中，L在N-39氮處與D附接。

【0419】在包含L-D的連接子-有效載荷軛合物的一些實施方式中，L係本文揭露的任何連接子。在包含L-D的連接子-有效載荷軛合物的一些實施方式中，D係本文揭露的任何藥物部分。

【0420】在包含L-D的連接子-有效載荷軛合物的一些實施方式中，其中L係與D共價附接的可切割連接子，該可切割連接子包含可切割肽部分。在一些實施方式中，可切割肽部分可被蛋白酶切割。在一些實施方式中，蛋白酶係半胱胺酸蛋白酶或組織蛋白酶。在一些實施方式中，可切割肽部分包含胺基酸單元。在一些實施方式中，胺基酸單元包含Val-Ala、Val-Cit、Val-Lys、Ala-Ala-Asn、Ala-(NMe)Ala-Asn、Asn、Gly-Gly-Phe-Gly（SEQ ID NO: 141）、或Gly-Val-Ala。在一些實施方式中，胺基酸單元包含Val-Ala。在一些實施方式中，胺基酸單元包含Val-Cit。

【0421】在一些實施方式中，連接子-有效載荷軛合物包含Val-Ala，並且D選自表14的化合物。在一些實施方式中，連接子-有效載荷軛合物包含Val-Cit，並且D選自表14的化合物。

【0422】在一些實施方式中，連接子-有效載荷軛合物包含式 (II)，並且D選自表14的化合物。

【0423】在一些實施方式中，連接子-有效載荷軛合物包含式 (II)-Val-Ala，並且D選自表14的化合物。在一些實施方式中，連接子-有效載荷軛合物包含式 (II)-Val-Cit，並且D選自表14的化合物。

【0424】在一些實施方式中，連接子-藥物軛合物包含MC-Val-Cit-pABC-MEC-化合物1。在一些實施方式中，連接子-藥物軛合物包含MC-Val-Ala-pABC-MEC-化合物1（例如LP1或LP2）。在一些實施方式中，連接子-藥物軛合物包含MC-Val-Cit-pABC-單元8-化合物1。在一些實施方式中，連接子-藥物軛合物包含MC-Val-Ala-pABC-單元8-化合物1（例如LP16）。在一些實施方式中，連接子-藥物軛合物包含MC-Val-Cit-pABC-單元9-化合物1。在一些實施方式中，連接子-藥物軛合物包含MC-Val-Ala-pABC-單元9-化合物1（例如LP20）。在一些實施方式中，連接子-藥物軛合物包含MC-Val-Cit-pABC-單元11-化合物1。在一些實施方式中，連接子-藥物軛合物包含MC-Val-Ala-pABC-單元11-化合物1（例如LP28）。

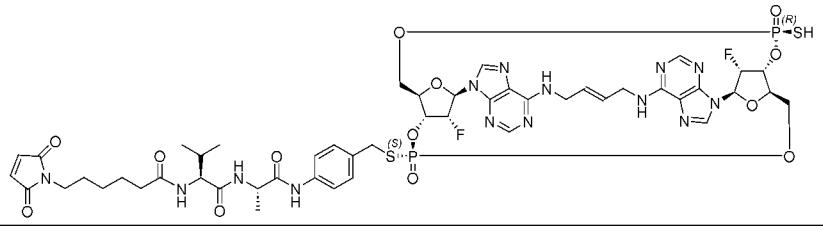
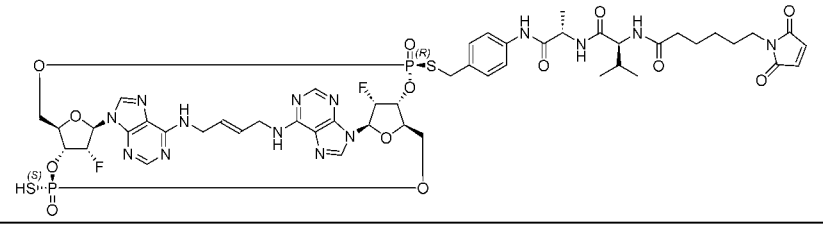
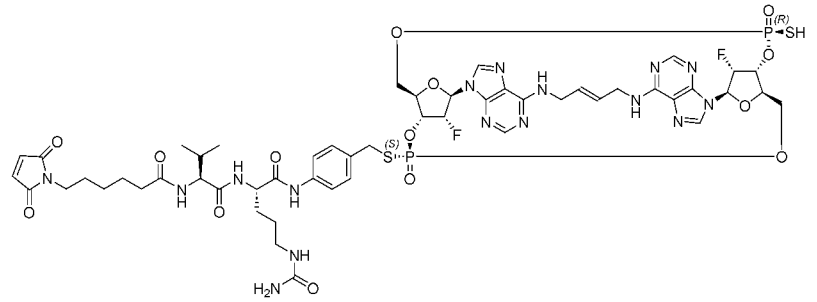
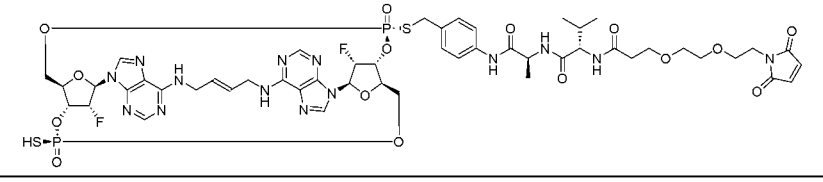
【0425】在一些實施方式中，連接子-藥物軛合物包含Mal-式 (II)-Val-Cit-pABC-MEC-化合物1。在一些實施方式中，連接子-藥物軛合物包含Mal-式 (II)-Val-Cit-pABC-單元8-化合物1。在一些實施方式中，連接子-藥物軛合物包含Mal-式 (II)-Val-Cit-pABC-單元9-化合物1。在一些實施方式中，連接子-藥物軛合物包含Mal-式 (II)-Val-Cit-pABC-單元11-化合物1。在一些實施方式中，連接子-藥物軛合物包含Mal-式 (II)-Val-Ala-pABC-MEC-化合物1。在一些實施方式中，連接子-藥物軛合物包含Mal-式 (II)-Val-Ala-pABC-單元8-化合物1。在一些實施方式中，連接子-藥物軛合物包含Mal-式 (II)-Val-Ala-pABC-單元9-化合物1。在一些實施方式中，連接子-藥物軛合物包含Mal-式 (II)-Val-Ala-pABC-單元11-化合物1。

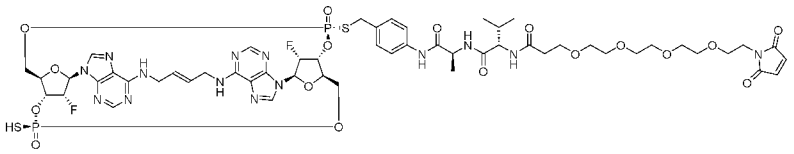
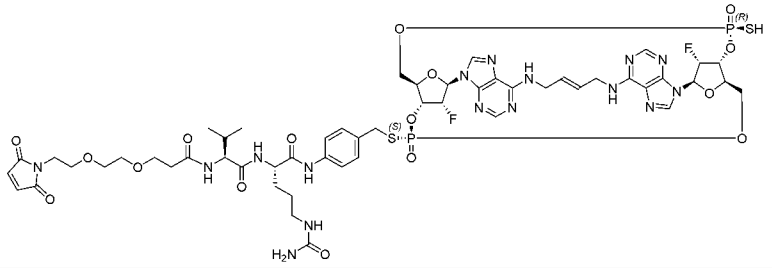
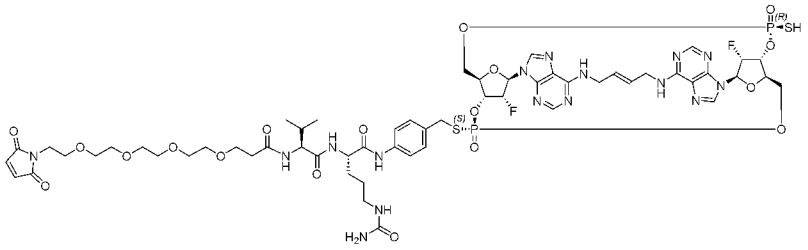
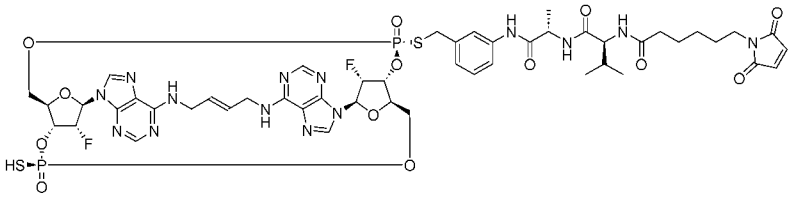
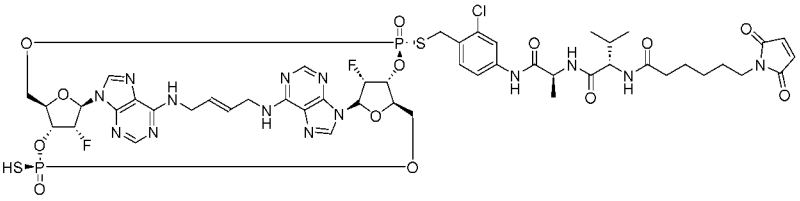
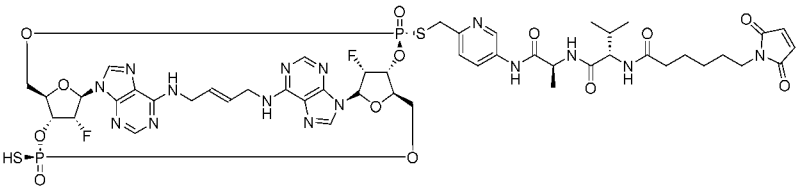
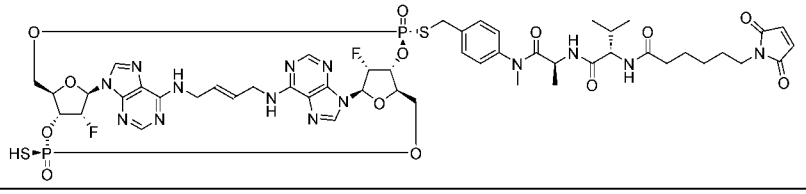
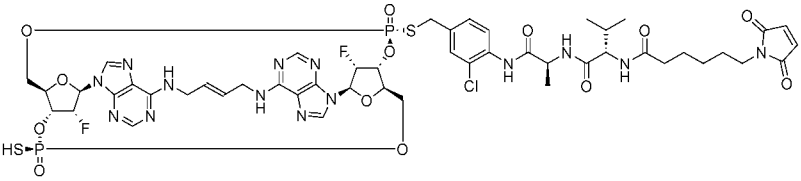
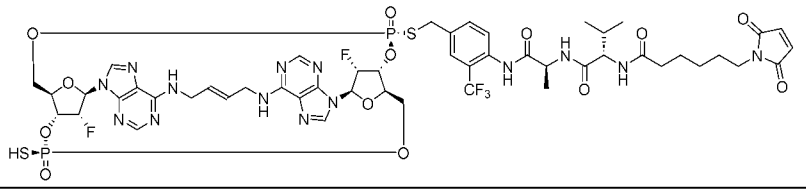
【0426】 在一些實施方式中，連接子-藥物軛合物包含Mal-式 (II)-Val-Cit-pAB-單元9-化合物1。在一些實施方式中，連接子-藥物軛合物包含Mal-式 (II)-Val-Ala-pAB-單元9-化合物1。在一些實施方式中，連接子-藥物軛合物包含LP25。

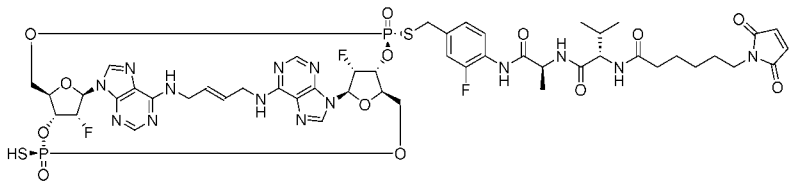
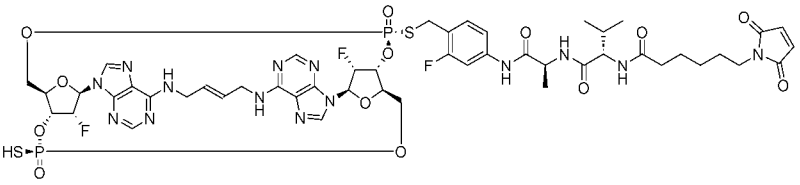
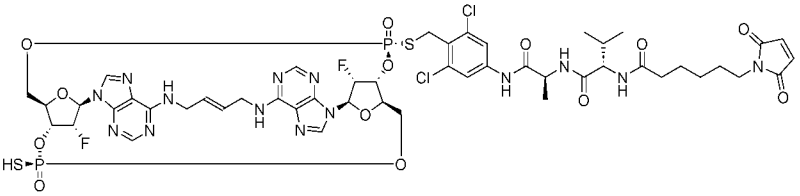
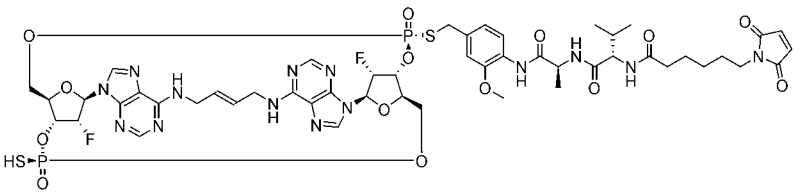
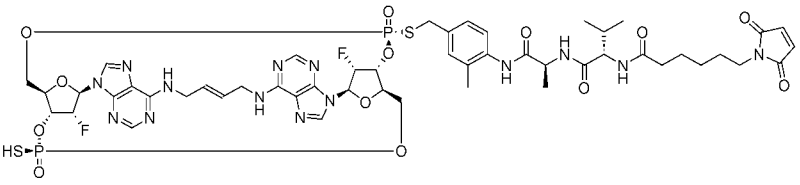
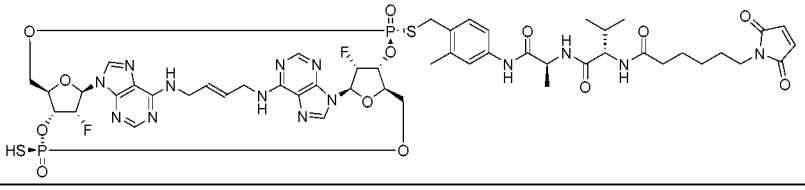
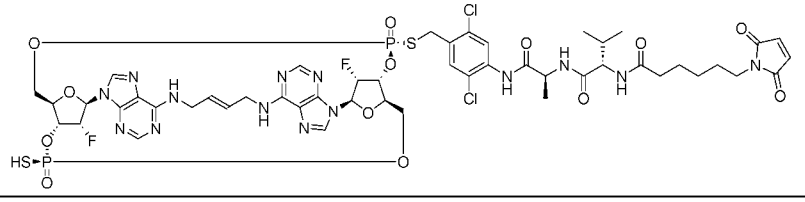
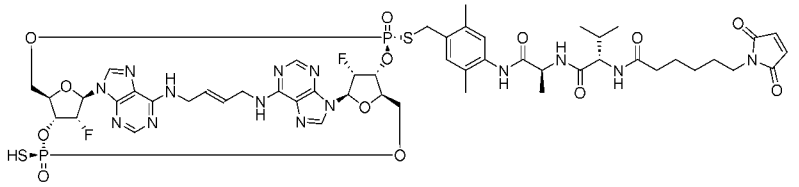
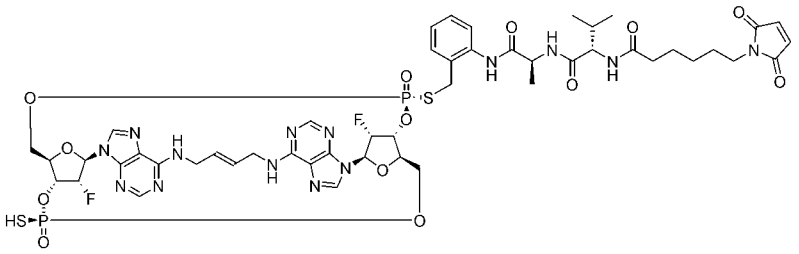
【0427】 在一些實施方式中，連接子-藥物軛合物包含Mal-式 (II)-Val-Cit-pAB-單元11-化合物1。在一些實施方式中，連接子-藥物軛合物包含Mal-式 (II)-Val-Ala-pAB-單元11-化合物1。在一些實施方式中，連接子-藥物軛合物包含LP26。

【0428】 本發明之示例性連接子-藥物軛合物揭露於下文表15和16中。在各個實施方式中，連接子-藥物軛合物選自表15和16中所示的連接子-藥物軛合物。

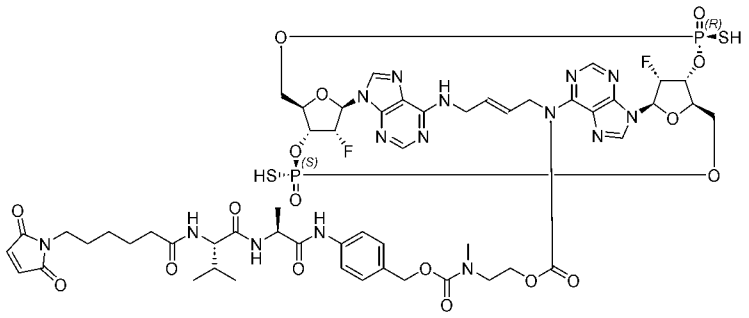
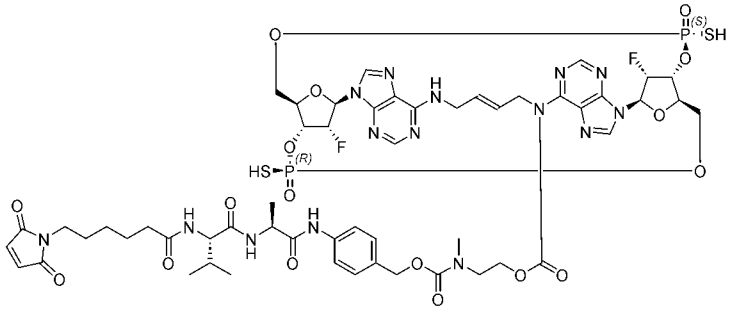
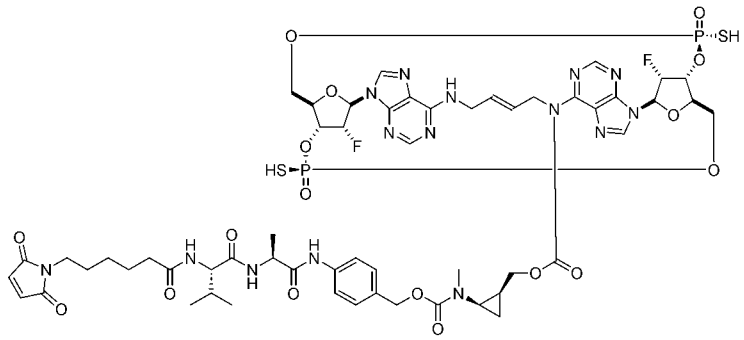
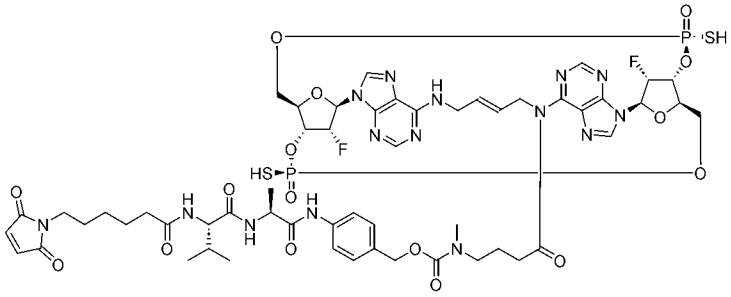
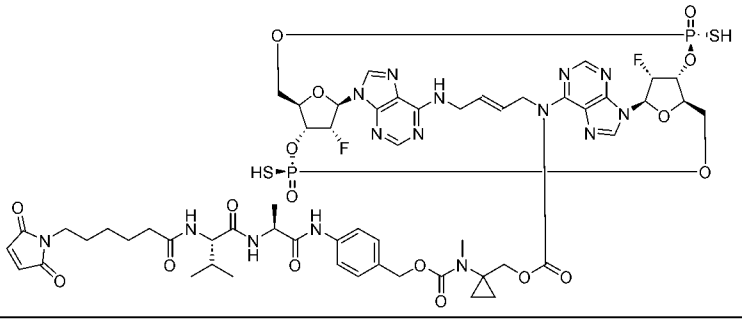
【表**15**】.示例性S附接的連接子-藥物軛合物

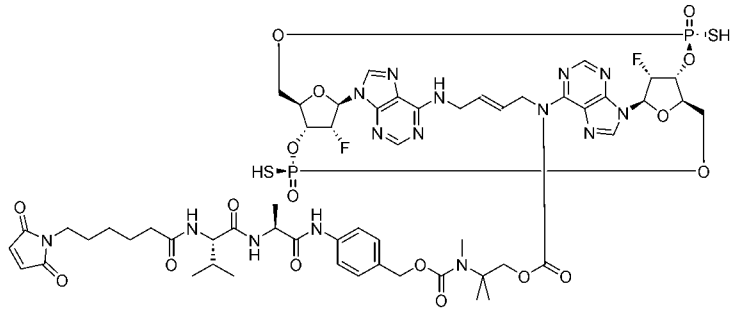
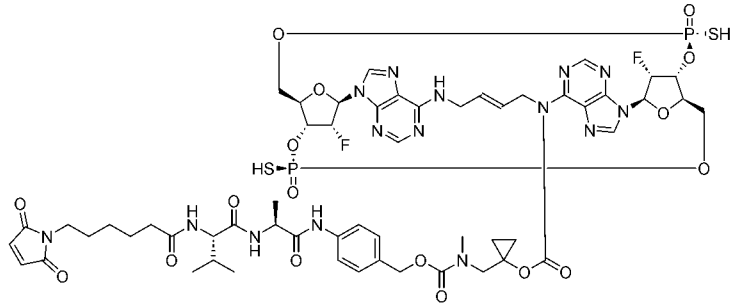
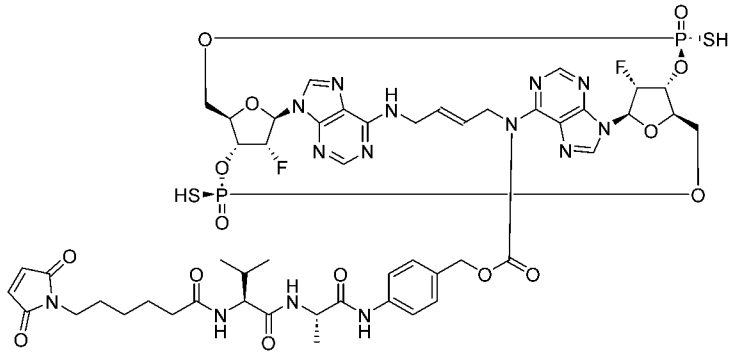
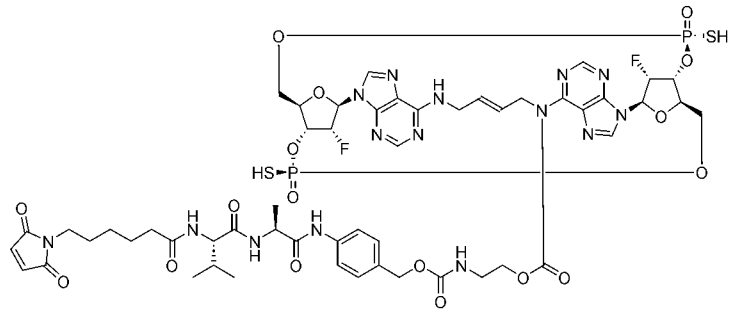
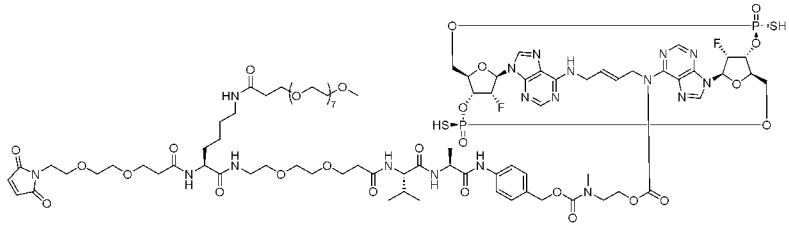
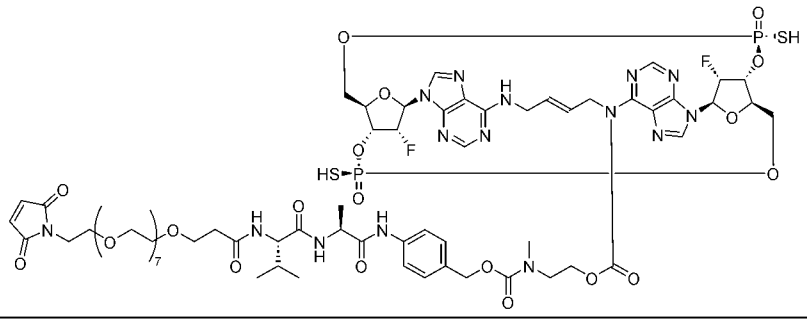
LP3	
LP33	
LP34	
LP35	

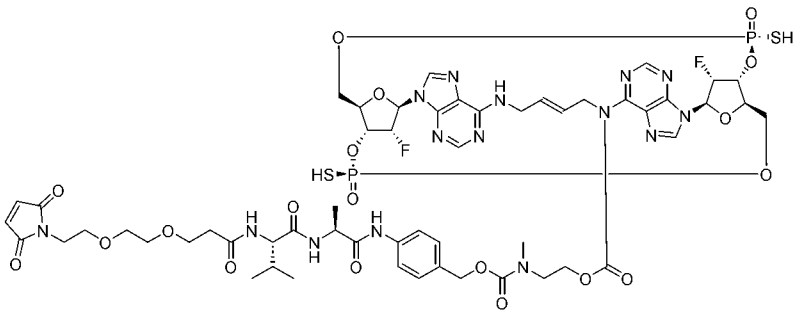
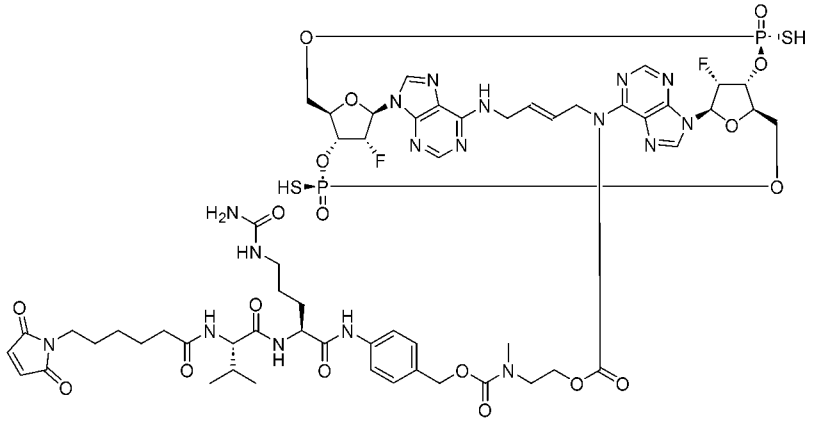
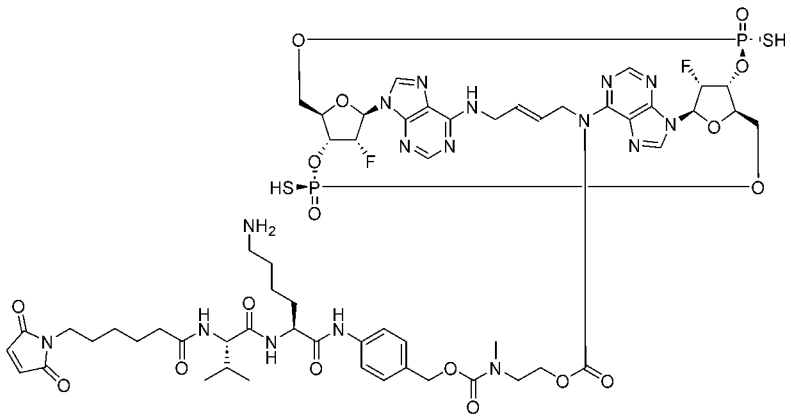
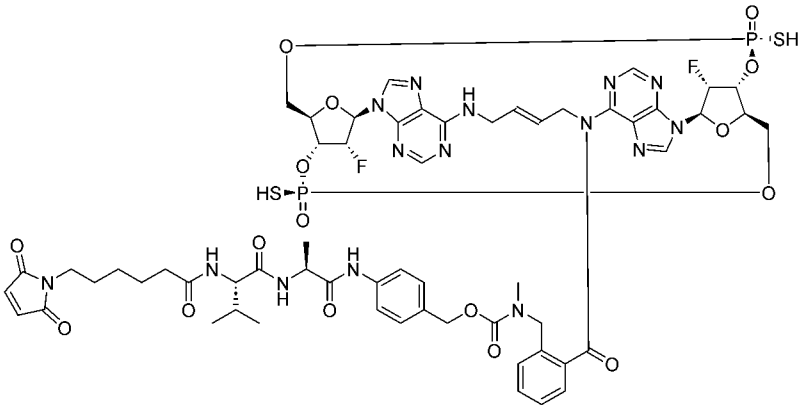
LP36	
LP37	
LP38	
LP39	
LP40	
LP41	
LP42	
LP43	
LP44	

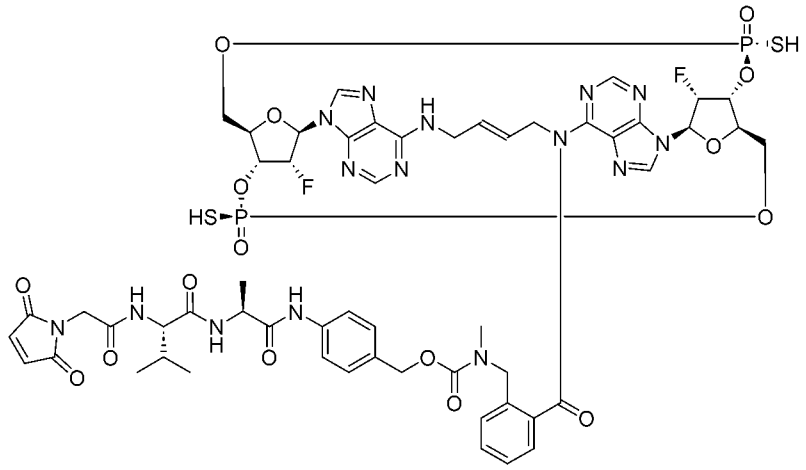
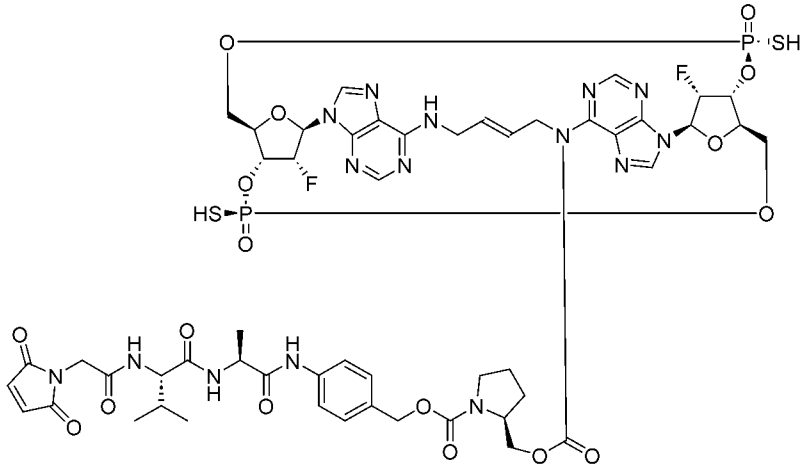
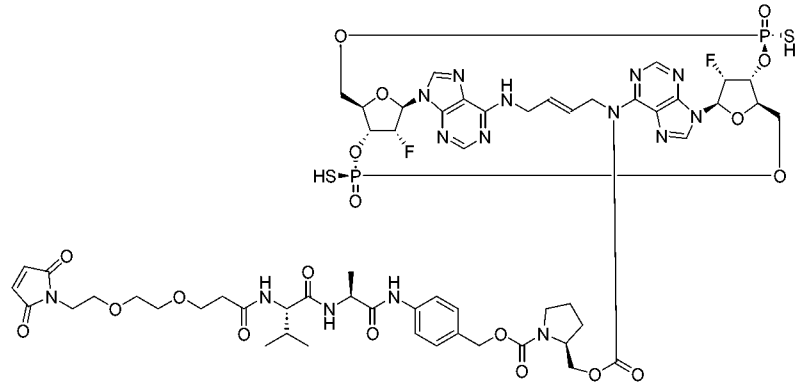
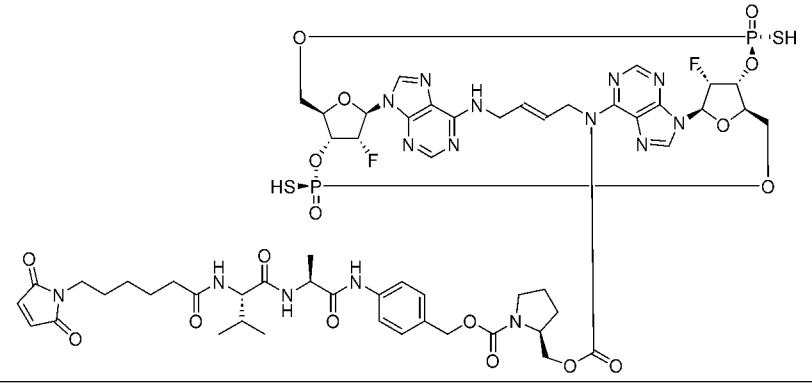
LP45	
LP46	
LP47	
LP48	
LP49	
LP50	
LP51	
LP52	
LP53	

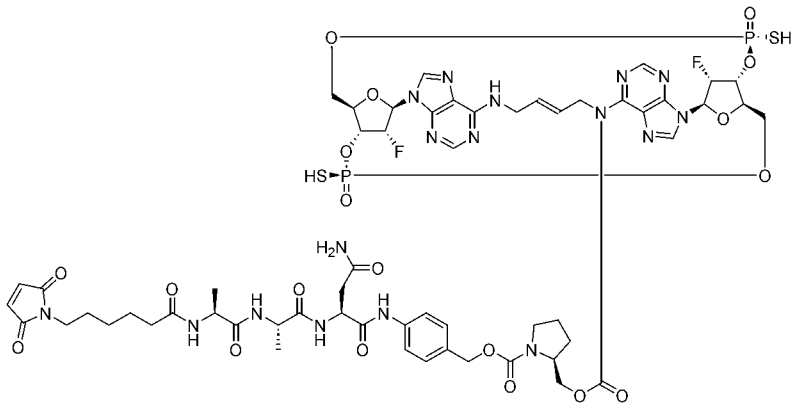
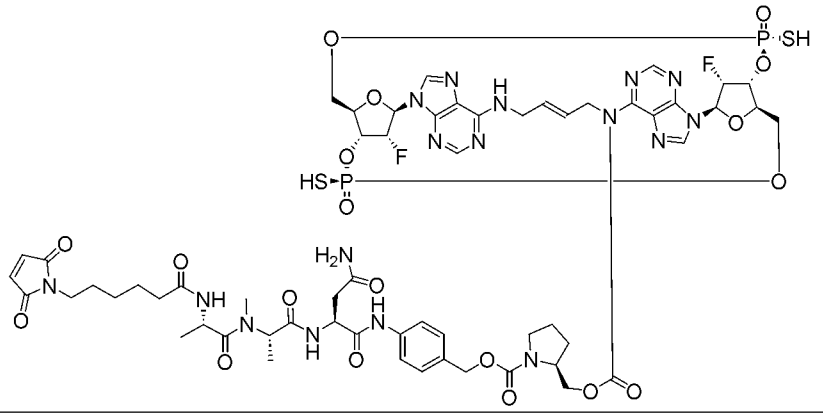
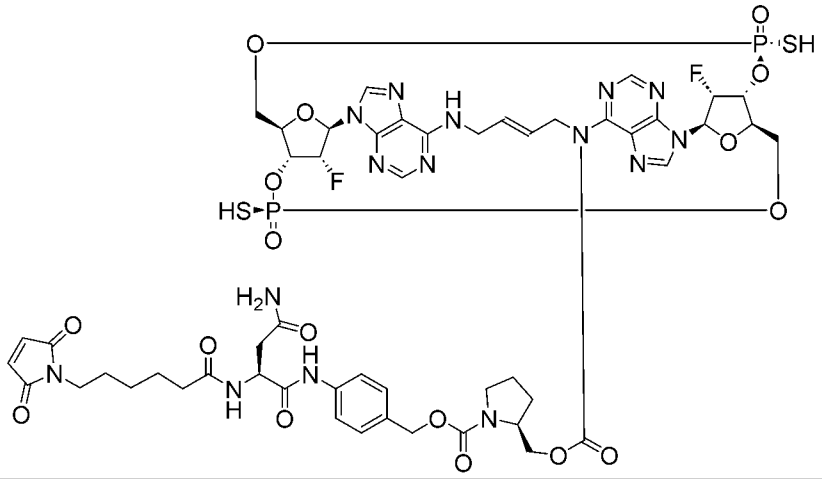
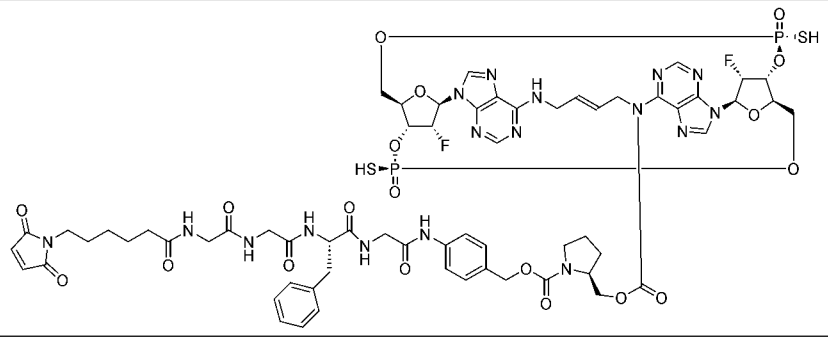
【表16】.示例性N附接的連接子-藥物軛合物

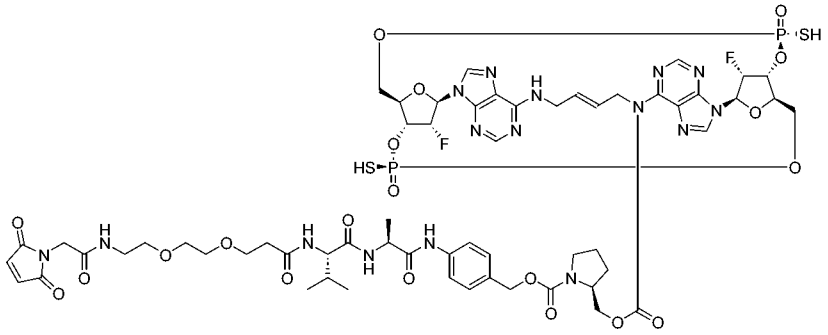
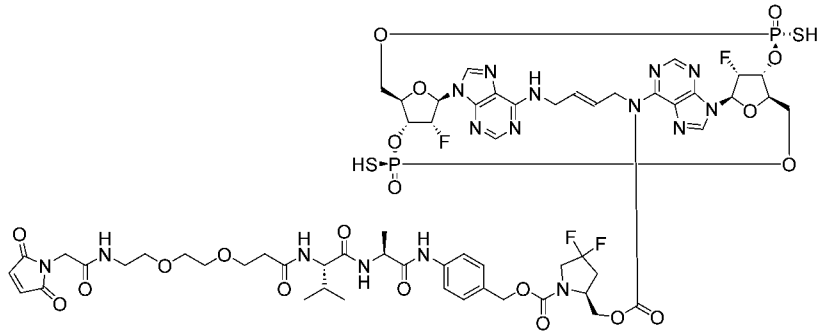
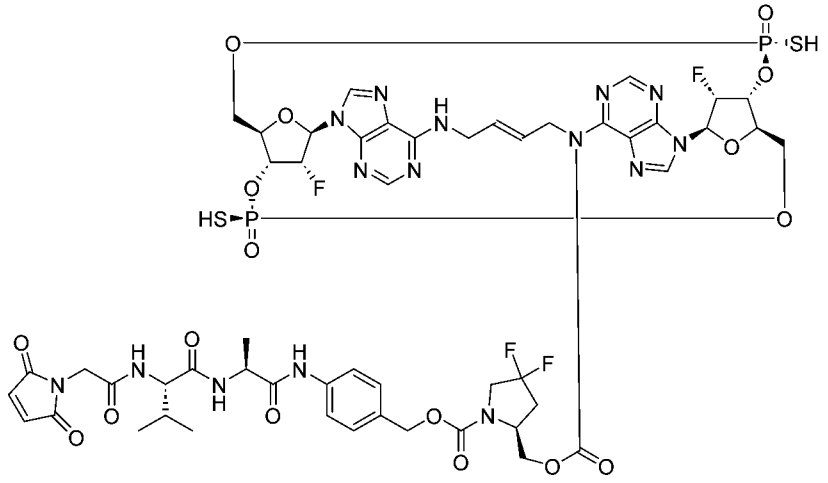
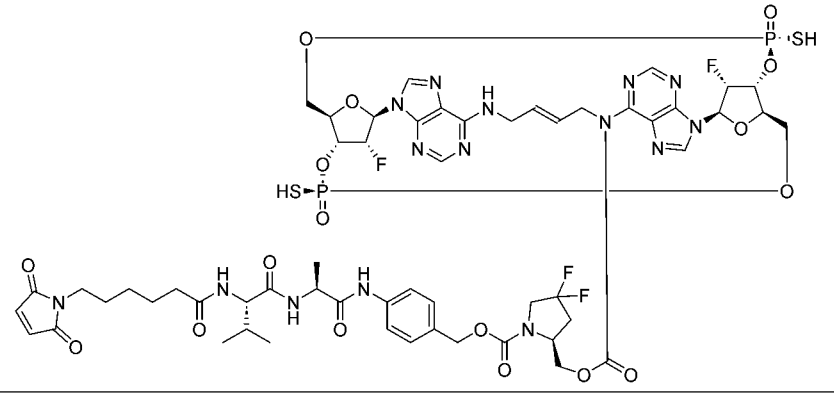
LP1	
LP2	
LP4	
LP5	
LP6	

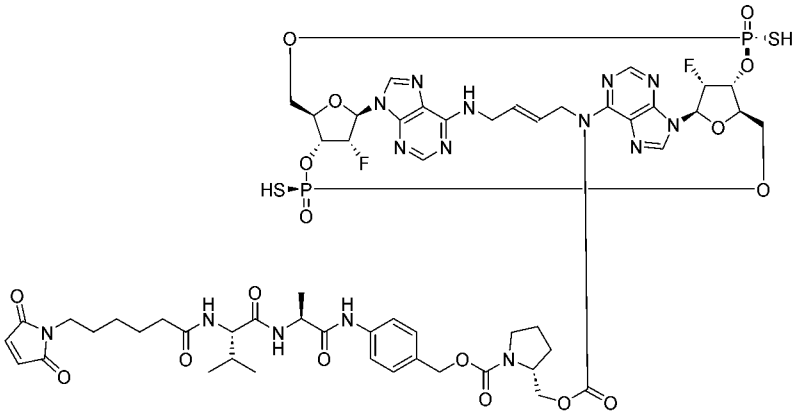
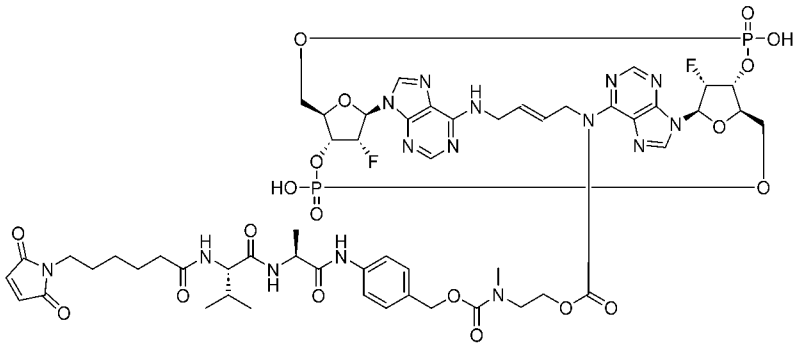
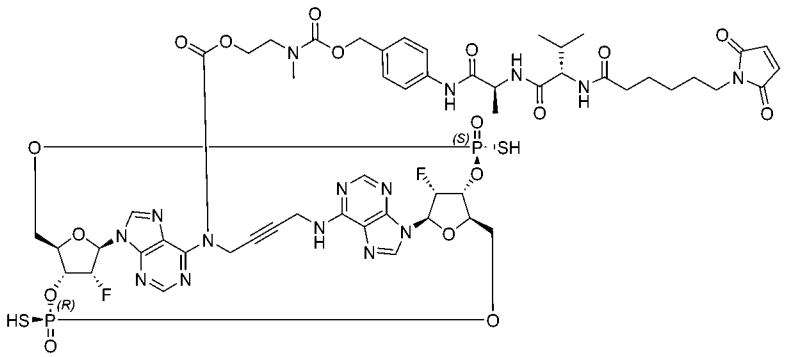
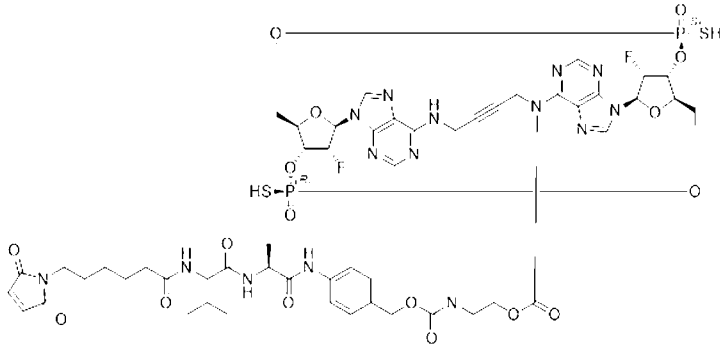
LP7	
LP8	
LP9	
LP10	
LP11	
LP12	

LP13	
LP14	
LP15	
LP16	

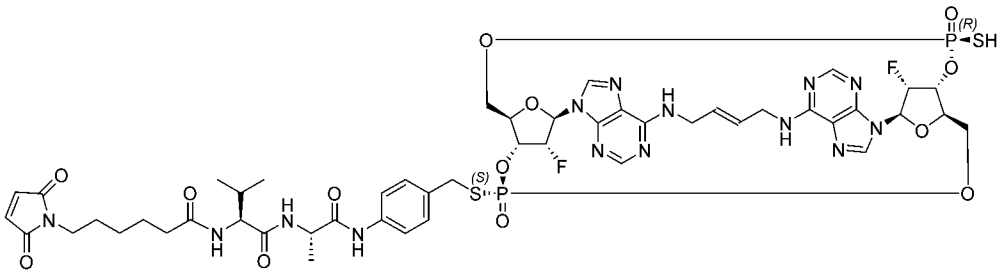
LP17	
LP18	
LP19	
LP20	

LP21	
LP22	
LP23	
LP24（SEQ ID NO: 144）	

LP25	
LP26	
LP27	
LP28	

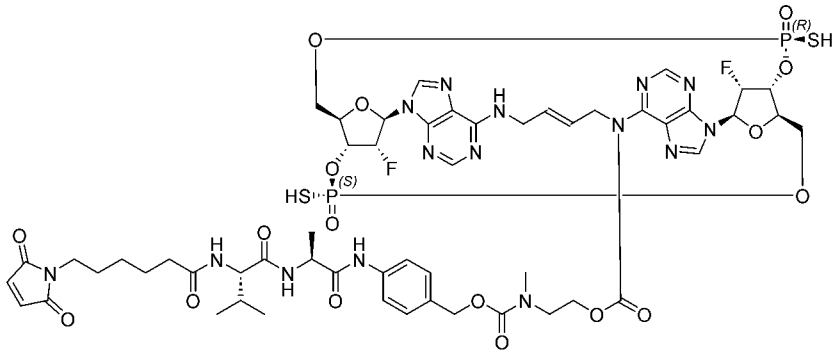
LP29	
LP30	
LP31	
LP32	

【0429】在一些實施方式中，示例性連接子-藥物軛合物或其鹽可以稱為「LP3」並且具有如下所示的LP3的結構：



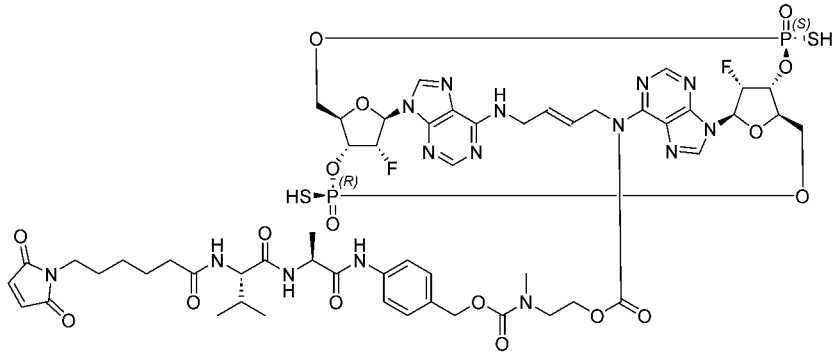
LP3。

【0430】在一些實施方式中，示例性連接子-藥物軛合物或其鹽可以稱為「LP1」並且具有如下所示的LP1的結構：



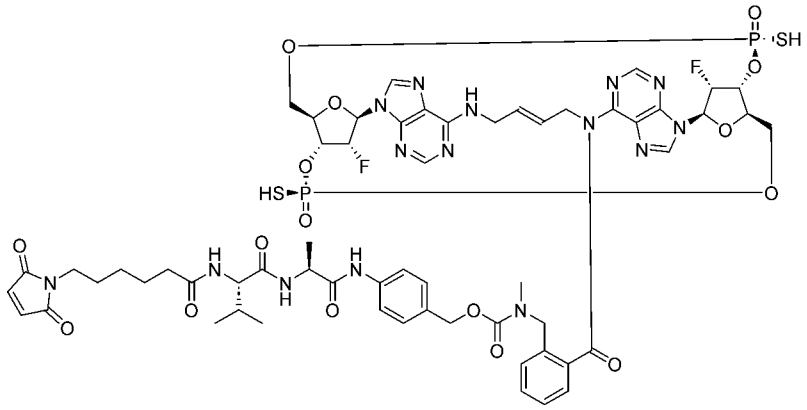
LP1。

【0431】在一些實施方式中，示例性連接子-藥物軛合物或其鹽可以稱為「LP2」並且具有如下所示的LP2的結構：



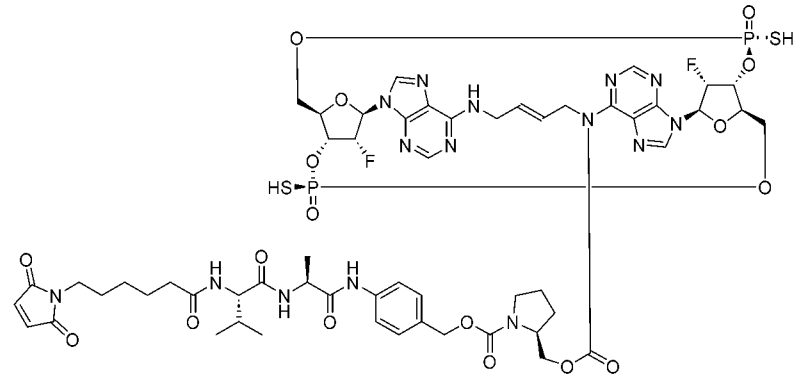
LP2。

【0432】在一些實施方式中，示例性連接子-藥物軛合物或其鹽具有如下所示的LP16的結構：



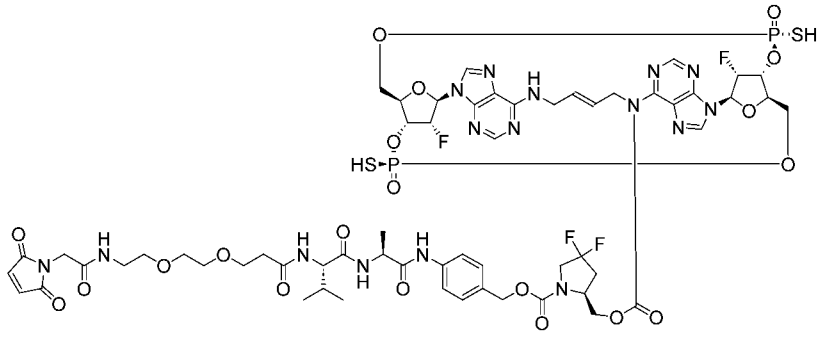
LP16。

【0433】在一些實施方式中，示例性連接子-藥物軛合物或其鹽具有如下所示的LP20的結構：



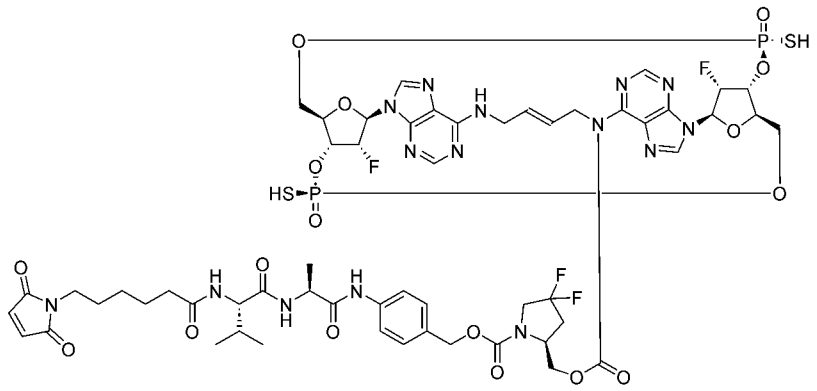
LP20。

【0434】一些實施方式，示例性連接子-藥物軛合物或其鹽具有如下所示的LP26的結構：



LP26。

【0435】在一些實施方式中，示例性連接子-藥物軛合物或其鹽具有如下所示的LP28的結構：



LP28。

【0436】在一些實施方式中，與現有的連接子-STING促效劑軛合物相比，本文揭露的連接子-有效載荷，例如LP1、LP2、LP16、LP20、LP26、LP28或LP3具有改進的特性。在一些實施方式中，本文揭露的連接子-有效載荷，例如LP1、LP2、LP3、LP16、LP20、LP26或LP28具有優於先前技術的連接子-STING促效劑軛合物的血漿穩定性。在一些實施方式中，本文揭露的連接子-有效載荷，例如LP1、LP2、LP3、LP16、LP20、LP26或LP28具有優於先前技術的連接子-STING促效劑軛合物的體內抗腫瘤活性。在一些實施方式中，本文揭露的連接子-有效載荷，例如LP1、LP2、LP3、LP16、LP20、LP26或LP28具有優於先前技術的連接子-STING促效劑軛合物的體內耐受性。

【0437】在本文揭露的連接子-有效載荷軛合物的一些實施方式中，其中D係STING促效劑，例如具有式 (III)、式 (IV) 的化合物或表14的化合物、例如化合物1，並且L在N-34氮或N-39氮處與D軛合（例如，LP16、LP20、LP26或LP28），與包含具有式 (III)、式 (IV) 的化合物或表14的化合物的其他連接子-有效載荷軛合物（它們在替代附接點處，例如在硫（例如S-2或S-14）處與D軛合）相比，該連接子-有效載荷軛合物表現出優異的特性（例如，血漿穩定性、體外免疫反應、體內抗腫瘤活性、耐受性、在腫瘤微環境中刺激抗免疫反應）。這樣的連接子-有效載荷軛合物的優異益處的示例性證據顯示在實例4、9、12、14和15中。

【0438】在本文揭露的連接子-有效載荷軛合物的一些實施方式中，其中L包含含有式 (II) 的間隔子單元，與包含替代間隔子單元的其他連接子-有效載荷軛合物相比，該連接子-有效載荷軛合物表現出優異的特性（例如，改進的軛合穩定性、改進的血漿穩定性、體內抗腫瘤活性）。在一些實施方式中，不受理論的束縛，使用包含式 (II) 的連接子與本文揭露的STING促效劑，例如具有式 (III)、式 (IV) 的化合物或表14的化合物、例如化合物1的益處可以包括改進的軛合穩定性、改進的血漿穩定性和體內抗腫瘤活性。在一些實施方式中，包含含有式 (II) 的連接子和含有本文揭露的STING促效劑，例如具有式 (III)、式 (IV) 的化合物或表14的化合物的有效載荷的連接子-有效載荷軛合物當與本文揭露的抗PSMA抗體軛合時表現出優異的特性。這樣的連接子-有效載荷軛合物的優異益處（例如，與多種不同抗體軛合時可能提供的益處）的示例性證據顯示在實例4、9、12和15中。

【0439】在一些實施方式中，本文揭露的ADC包含可切割連接子和如本文所述之內化抗PSMA抗體或其抗原結合片段。在一些實施方式中，抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含三個HCDR，其包含以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 21（HCDR1）、SEQ ID NO: 22（HCDR2）和SEQ ID NO: 27（HCDR3）；以及三個LCDR，其包含SEQ ID NO: 32（LCDR1）、SEQ ID NO: 35（LCDR2）和SEQ ID NO: 37（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的。在一些實施方式中，抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含三個HCDR，其包含以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 21（HCDR1）、SEQ ID NO: 22（HCDR2）和SEQ ID NO: 27（HCDR3）；以及三個LCDR，其包含SEQ ID NO: 33（LCDR1）、SEQ ID NO: 36（LCDR2）和SEQ ID NO: 37（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的。在一些實施方式中，抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含三個HCDR，其包含以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 28（HCDR1）、SEQ ID NO: 29（HCDR2）

和SEQ ID NO: 30（HCDR3）；以及三個LCDR，其包含SEQ ID NO: 38（LCDR1）、SEQ ID NO: 39（LCDR2）和SEQ ID NO: 37（LCDR3），如由IMGT編號系統所定義的。

【0440】 在一些實施方式中，抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 1的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 15的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 2的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 15的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 3的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 15的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 14的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 15的胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施方式中，抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 14的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 19的胺基酸序列的輕鏈可變區。

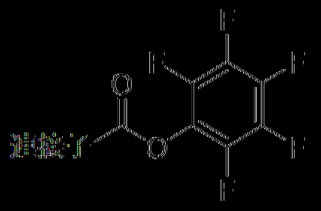
【0441】 在一些實施方式中，*p*係1至12或2至11。在一些實施方式中，*p*係1至8。在一些實施方式中，*p*係4至11。在一些實施方式中，*p*係4至8。在一些實施方式中，*p*係2。在一些實施方式中，*p*係4。在一些實施方式中，*p*係7。在一些實施方式中，*p*係11。

【0442】 本揭露包括產生所描述的連接子-藥物軛合物之方法。連接子-藥物軛合物包含連接子和藥物部分並且可以使用具有用於將連接子與藥物部分共價附接的反應性官能性（reactive functionality）的連接子來製備。在一些實施方式中，產生連接子-藥物軛合物之方法包括使藥物或其鹽與活化連接子反應。

【0443】 在一些實施方式中，與活化連接子反應的藥物係表14中揭露的化合物；該化合物的異構物；該化合物或異構物的氘代衍生物；或者該化合

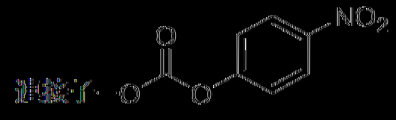
物、其構物或其代衍生物的鹽。在一些實施方式中，藥物係表14中揭露的化合物的鈉鹽。在一些實施方式中，藥物係表14中揭露的化合物的二銨鹽。在一些實施方式中，藥物係表14中揭露的化合物的二烷基銨鹽。在一些實施方式中，藥物係表14中揭露的化合物的雙(二乙銨)鹽。

[0444] 在一些實施方式中，與表14中揭露的化合物；該化合物的其構物；該化合物或其構物的其代衍生物；或者該化合物、其構物或其代衍生物的鹽反應的汙化連接子係

。在一些實施方式中，與表14中揭露的化合物；該化合物的其構物；該化合物或其構物的其代衍生物；或者該化合物、其構物或其代衍生物的鹽反應的汙化連接子係 

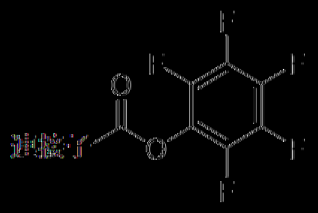
。在一些實施方式中，汙化連接子的連接子部分包含本揭露的連接子，例如上文揭露的連接子，例如，如本節中所揭露的。

[0445] 在一些實施方式中，產生連接子-藥物靶合物之方法包括使表14中揭露的化合物；該化合物的其構物；該化合物或其構物的其代衍生物；或者該化合物、其構物或其代衍生物的鹽與本揭露的汙化連接子反應。在一些實施方式中，化合物、其構物、其代衍生物或鹽的反應在有機金屬鹼的存在下進行。在一些實施方式中，有機金屬鹼選自LDA、NaHMDS、LiHMDS和KHMDS。在一些實施方式中，有機金屬鹼係LiHMDS。

[0446] 在一些實施方式中，產生汙化連接子 

之方法包括使本揭露的連接子與4-硝基苯基氯甲酸酯反應。在一些實施方式

中，連接子與4-硝基苯基氯甲酸酯的反應在鹼的存在下進行。在一些實施方式中，鹼係吡啶。

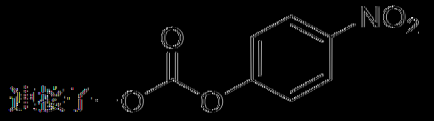


[0447] 在一些實施方式中，產生汙化連接子 之方法包括使本揭露的連接子與五氟苯酚反應。在一些實施方式中，連接子與五氟苯酚的反應在肽偶聯試劑的存在下進行。在一些實施方式中，肽偶聯試劑係DCC。

[0448] 在一些實施方式中，汙化連接子用於產生LD軛合物(V)之方法中：

。

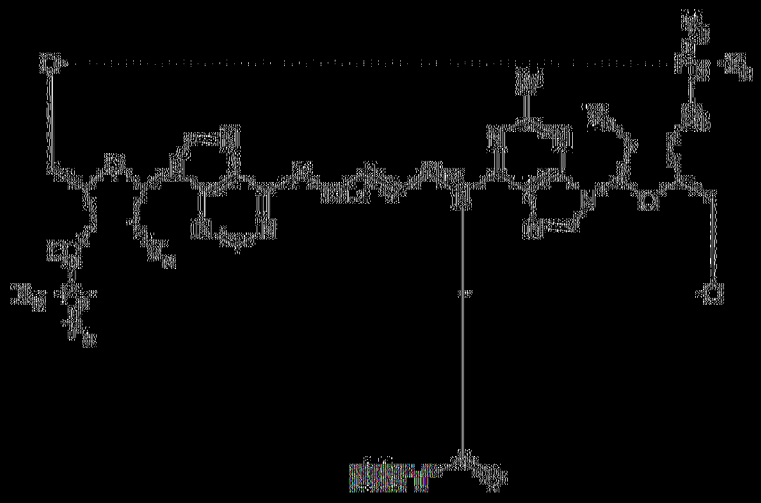
[0449] 在一些實施方式中，產生LD軛合物(V)之方法包括使具有式



(III)的化合物或其鹽與汙化連接子 反應。在一些實施方式中，Z_b係NH。在一些實施方式中，P_b具有(S)組態，並且汙化連接子優先與Z_b反應。如本文所用的「優先」（除非上下文另外說明）係指超過70%的反應，例如，70%的汙化連接子與Z_b反應而不是與Z_a反應。

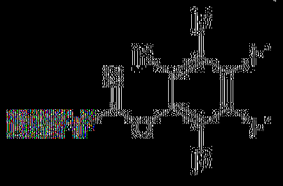
[0450] 在一些實施方式中，汙化連接子與$_b$反應超過與$_a$反應的95%、超過90%、超過85%、超過80%、超過75%、或超過70%。在一些實施方式中，汙化連接子與$_b$反應超過與$_a$反應的95%。在一些實施方式中，汙化連接子與$_b$反應超過與$_a$反應的90%。在一些實施方式中，汙化連接子與$_b$反應超過與$_a$反應的85%。在一些實施方式中，汙化連接子與$_b$反應超過與$_a$反應的80%。在一些實施方式中，汙化連接子與$_b$反應超過與$_a$反應的75%。在一些實施方式中，汙化連接子與$_b$反應超過與$_a$反應的70%。

[0451] 在一些實施方式中，汙化連接子用於產生LD軛合物 (VI) 之方法中：



。

[0452] 在一些實施方式中，產生LD軛合物 (VI) 之方法包括使具有式



(III) 的化合物或其鹽與汙化連接子 反應。在一些實施方式中，$_b$係NH。在一些實施方式中，P$_b$具有 (S) 組態，並且汙化連接子優先與$_b$反應。

[0453] 在一些實施方式中，汙化連接子與$_b$反應超過與$_a$反應的95%、超過90%、超過85%、超過80%、超過75%、或超過70%。在一些實施方

式中，活化連接子與Zb氮反應超過與Za氮反應的95%。在一些實施方式中，活化連接子與Zb氮反應超過與Za氮反應的90%。在一些實施方式中，活化連接子與Zb氮反應超過與Za氮反應的85%。在一些實施方式中，活化連接子與Zb氮反應超過與Za氮反應的80%。在一些實施方式中，活化連接子與Zb氮反應超過與Za氮反應的75%。在一些實施方式中，活化連接子與Zb氮反應超過與Za氮反應的70%。

抗體-藥物軛合物

【0454】在各個實施方式中，如本文所揭露的抗PSMA抗體部分或其抗原結合片段可以與藥物部分軛合（即共價附接，例如藉由連接子），其中藥物部分當不與抗體部分軛合時具有細胞毒性或細胞生長抑制作用。在一些實施方式中，藥物部分當結合在軛合物中時展現出減少的細胞毒性或沒有細胞毒性，但在從連接子和抗體部分切割後恢復細胞毒性。

【0455】用作人治療劑（例如，用作腫瘤藥劑）的ADC的研發和生產可能不僅僅需要鑒定能夠結合一個或多個所需靶標且附接至單獨使用以治療癌症的藥物的抗體。將抗體與藥物連接可能對抗體和藥物之一或兩者的活性具有顯著且不可預測的影響，該等影響將根據所選連接子和/或藥物的類型而變化。因此，在一些實施方式中，對ADC的組分進行選擇以 (i) 保留單獨的抗體和藥物部分展現出的一種或多種治療性特性；(ii) 維持抗體部分的特異性結合特性；(iii) 優化載藥量以及藥物與抗體比率；(iv) 允許藉由與抗體部分的穩定附接而靶向腫瘤細胞遞送（例如，細胞內遞送）藥物部分；(v) 減少與藥物部分的非靶向和/或全身遞送相比的毒性；(vi) 保留ADC作為完整軛合物的穩定性直到轉運或遞送至靶位點；(vii) 最大限度地減少投與前後ADC的聚集；(viii) 展現出與單獨的抗體和藥物部分相當或優於其的體內抗癌治療功效；(ix) 最大限度地減少藥物部分引起的脫靶殺傷；(x) 展現出所需的藥物動力學和藥效學特性、可配製

性和毒理學/免疫學特徵；(xi) 維持腫瘤微環境中抗免疫反應的刺激；和/或 (xii) 增加骨髓細胞（例如巨噬細胞或樹突狀細胞）對表現PSMA的細胞的吞噬作用。可能需要篩選該等特性中的各項以鑒定用於治療性用途的改進的ADC。參見，例如Ab等人 (2015) Mol. Cancer Ther.[分子癌症治療學]14:1605-13。

【0456】 在一些實施方式中，與包含其他抗體（例如J591或deJ591）和/或其他連接子的ADC化合物相比，本揭露的ADC化合物在轉運或遞送至靶位點之前作為完整軛合物具有優異的穩定性。在一些實施方式中，與包含其他抗體（例如J591或deJ591）和/或其他連接子的ADC化合物相比，本揭露的ADC化合物具有更低的免疫原性。

【0457】 本揭露的ADC化合物可以將有效劑量的細胞毒性劑或細胞生長抑制劑選擇性地遞送至癌細胞或腫瘤組織。已發現，所揭露的ADC對表現PSMA的細胞具有有效的細胞毒性和/或細胞生長抑制活性。在一些實施方式中，ADC的細胞毒性和/或細胞生長抑制活性取決於細胞中的PSMA表現水平。在一些實施方式中，與低水平表現同一抗原的癌細胞相比，所揭露的ADC在殺傷表現高水平PSMA的癌細胞方面特別有效。在一些實施方式中，所揭露的ADC在殺傷高表現PSMA的癌症、例如前列腺癌的方面特別有效。在一些實施方式中，藉由骨髓細胞（例如巨噬細胞和/或樹突狀細胞）的存在或募集來改進表現PSMA的癌細胞的靶向殺傷。

【0458】 在一些實施方式中，本文揭露的ADC證明了對表現PSMA的細胞（例如，在表現PSMA的癌症中）的PSMA特異性結合。在一些實施方式中，一旦結合PSMA，所揭露的ADC就被內化。在一些實施方式中，藥物部分（例如化合物1）的釋放導致STING通路活化並釋放促炎細胞介素（例如IFNβ）。在一些實施方式中，促炎細胞介素的釋放促進骨髓細胞活化。在一些實施方式中，促炎細胞介素的釋放刺激I型IFN依賴性抗腫瘤活性。

【0459】在一些實施方式中，所揭露的ADC活化骨髓細胞、例如巨噬細胞或樹突狀細胞。不受理論的束縛，骨髓細胞活化可能是由所揭露的ADC結合的表現PSMA的癌細胞的吞噬作用的結果。在一些實施方式中，所揭露的ADC活化巨噬細胞。在一些實施方式中，活化的巨噬細胞係促炎（M1）巨噬細胞。在一些實施方式中，腫瘤相關巨噬細胞或M2巨噬細胞在投與所揭露的ADC時經歷促炎活化。在一些實施方式中，活化的巨噬細胞釋放促炎細胞介素和趨化因子（例如，TNFα、CXCL10、IL-6、IFNβ和/或IL-1β）。在一些實施方式中，活化的巨噬細胞進一步促進骨髓細胞活化。在一些實施方式中，活化的巨噬細胞促進細胞毒性T細胞的產生。在一些實施方式中，活化的巨噬細胞表現出對癌細胞的吞噬作用增加。在一些實施方式中，所揭露的ADC的投與刺激I型IFN依賴性抗腫瘤活性。如本文所用，「活化的巨噬細胞」與「極化的巨噬細胞」同義。

【0460】本文提供了ADC化合物，其包含靶向腫瘤細胞的抗體或其抗原結合片段（Ab）、藥物部分（D）和將Ab與D共價附接的連接子部分（L）。在某些方面，抗體或抗原結合片段能夠以高特異性和高親和力結合腫瘤相關抗原（例如PSMA）。在某些實施方式中，抗體或抗原結合片段在結合時內化到靶細胞中，例如內化到細胞中的降解隔室中。在一些實施方式中，ADC在與靶細胞結合時內化，經歷降解並釋放藥物部分。藥物部分可以藉由酶促作用、水解、氧化或任何其他機制從ADC的抗體和/或連接子部分釋放。

【0461】在一些實施方式中，ADC結合的靶細胞被骨髓細胞、例如巨噬細胞或樹突狀細胞吞噬。在一些實施方式中，在吞噬作用發生時，ADC經歷降解並釋放藥物部分。在一些實施方式中，藥物部分在骨髓細胞（例如巨噬細胞或樹突狀細胞）的吞噬溶酶體中釋放。藥物部分可以藉由酶促作用、水解、氧化或任何其他機制從ADC的抗體和/或連接子部分釋放。

【0462】 示例性ADC具有式I：

Ab-(L-D)*p* (I)

其中Ab = 抗體部分（即抗體或抗原結合片段），L = 連接子部分，D = 藥物部分，並且*p* =藥物部分的數目/抗體部分。

【0463】 在一些實施方式中，本文揭露的抗體-藥物軛合物包含抗PSMA抗體或抗原結合片段。在一些實施方式中，抗PSMA抗體或抗原結合片段包含如下重鏈，其具有選自上文表8中列出的SEQ ID NO: 47-60的胺基酸序列和/或包含來自表8中的胺基酸序列的一組CDR和/或可變結構域。在一些實施方式中，抗PSMA抗體或抗原結合片段包含如下輕鏈，其具有選自下文表8中列出的SEQ ID NO: 61-66的胺基酸序列和/或包含來自表8中的胺基酸序列的一組CDR和/或可變結構域。

【0464】 在一些實施方式中，抗PSMA抗體或抗原結合片段包含表1的一個或多個共有CDR序列與表3的一個或多個CDR序列的組合，例如，藉由選擇表1的HC CDR2、LC CDR1和/或LCDR2序列以及表3的HC CDR1、HC CDR2、HC CDR3、LC CDR1、LC CDR2和/或LC CDR3來藉由其三個重鏈和三個輕鏈CDR序列來描述抗體。

【0465】 在一些實施方式中，抗PSMA抗體或抗原結合片段包含三個HCDR，其包含以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 21（HCDR1）、SEQ ID NO: 22（HCDR2）和SEQ ID NO: 27（HCDR3）；以及三個LCDR，其包含SEQ ID NO: 32（LCDR1）、SEQ ID NO: 35（LCDR2）和SEQ ID NO: 37（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的。在一些實施方式中，抗PSMA抗體或抗原結合片段包含三個HCDR，其包含以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 28（HCDR1）、SEQ ID NO: 29（HCDR2）和SEQ ID NO: 30（HCDR3）；以及三個LCDR，其包含

SEQ ID NO: 38（LCDR1）、SEQ ID NO: 39（LCDR2）和SEQ ID NO: 37（LCDR3），如由IMGT編號系統所定義的。

【0466】 在一些實施方式中，抗PSMA抗體或抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 14的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 19的胺基酸序列的輕鏈可變區。

【0467】 為了完成連接子和/或藥物部分與抗體或其抗原結合片段的位點特異性軛合，在一些實施方式中，包含硫醇反應性基團的連接子用於產生軛合的抗體或抗原結合片段，例如藉由在半胱胺酸殘基處與抗體或抗原結合片段反應。在一些實施方式中，半胱胺酸殘基位於輕鏈上的胺基酸位置80。在一些實施方式中，半胱胺酸殘基位於重鏈上的胺基酸位置118。完成連接子和/或藥物部分與抗體或抗原結合片段的位點特異性軛合以產生ADC之方法係本領域已知的並且揭露於PCT申請WO 2016/205618中，將該申請藉由引用以其全文併入本文。

載藥量

【0468】 載藥量由*p*表示，並且在本文中也稱為藥物與抗體比率（DAR）。在一些實施方式中，載藥量的範圍可以是1至20（即，與每個抗體部分附接的連接子-藥物的1至20個拷貝），例如1至12個藥物部分/抗體部分。在一些實施方式中，*p*係1至12的整數。在一些實施方式中，*p*係1至8的整數。在一些實施方式中，*p*係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的整數。在一些實施方式中，*p*係2至12、2至11、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的整數。在一些實施方式中，*p*係2至11的整數。在一些實施方式中，*p*係1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11或12。在一些實施方式中，*p*係2。在一些實施方式中，*p*係4。在一些實施方式中，*p*係7。在一些實施方式中，*p*係8。在一些實施方式中，*p*係

11。在一些實施方式中，載藥量可以表示為抗體群體中的平均載量，例如約1-12、例如約2-11的平均載量。在一些實施方式中，抗體群體中的平均載藥量係約2至約8。在一些實施方式中，抗體群體中的平均載藥量係約2、約4或約8。

【0469】載藥量可能受到抗體部分上附接位點數目的限制。在一些實施方式中，ADC的連接子部分（L）藉由抗體部分上的一個或多個胺基酸殘基上的化學活性基團與抗體部分附接。例如，連接子可以藉由游離胺基、亞胺基、羥基、硫醇或羧基基團與抗體部分（例如，與N末端或C末端、與一個或多個離胺酸殘基的ε胺基基團、與一個或多個麩胺酸或天冬胺酸殘基的游離羧酸基團、或與一個或多個半胱胺酸殘基的硫氫基基團）附接。與連接子附接的位點可以是抗體部分的胺基酸序列中的天然殘基，或者它可以例如藉由DNA重組技術（例如，藉由將半胱胺酸或離胺酸殘基引入胺基酸序列中）或藉由蛋白質生物化學（例如，藉由還原、pH調節或水解）引入抗體部分中。在一些實施方式中，連接子藉由半胱胺酸殘基與抗體部分附接。在一些實施方式中，連接子藉由離胺酸殘基與抗體部分附接。

【0470】在一些實施方式中，可以與抗體部分軛合的藥物部分的數目受到游離半胱胺酸殘基數目的限制。例如，在附接係半胱胺酸硫醇基團的情況下，抗體可以具有僅一個或幾個半胱胺酸硫醇基團，或者可以具有僅一個或幾個具有足夠反應性的硫醇基團，藉由該等硫醇基團可以附接連接子。通常，抗體不含有許多可與藥物部分連接的游離反應性半胱胺酸硫醇基團。實際上，抗體中的大多數半胱胺酸硫醇殘基以二硫橋形式存在。連接子-毒素與抗體的過度附接可以藉由還原可用於形成二硫橋的半胱胺酸殘基來使抗體不穩定。因此，最佳的藥物:抗體比率應當增加ADC的效力（藉由增加所附接的藥物部分的數目/抗體），同時不會使抗體部分不穩定。在一些實施方式中，最佳比率可以是約2、4、7或11。

【0471】在一些實施方式中，使用一種或多種位點特異性軛合技術來附接ADC，例如產生具有確定的載藥量（即，確定的藥物與抗體比率（DAR））的均質ADC產物。在一些實施方式中，可以在抗體的輕鏈或重鏈中產生游離半胱胺酸殘基以藉由殘基特異性軛合技術（RESPECT）進行位點特異性軛合。Albone等人 (2017) Cancer Biol. Ther.[癌症生物學與治療] 18(5):347-57以及國際公開案號WO/2016205618和WO/2017106643描述了用於產生RESPECT形式的抗體的示例性方案，將該等文獻中的每個關於進行位點特異性軛合之方法藉由引用併入本文。在一些實施方式中，使用位點特異性軛合產生ADC，以藉由連接子將抗體部分與藥物部分共價附接（例如，本文揭露的連接子-有效載荷軛合物）。在一些實施方式中，對於包含本文揭露的化合物（例如具有式 (III)、式 (IV) 的化合物或表14的化合物、例如化合物1）的ADC或組成物，使用位點特異性軛合來靶向約2的DAR。

【0472】在一些實施方式中，藉由Mal或MC部分與抗體部分附接的連接子可以提供約2、4、7或11的比率。在一些實施方式中，包含與如本文所揭露的抗PSMA抗體接合的MC-Val-Ala-pAB-化合物1的ADC具有約2、4、7或11的比率。在一些實施方式中，包含與如本文所揭露的抗PSMA抗體接合的MC-Val-Ala-pABC-MEC-化合物1的ADC具有約2、4、7或11的比率。在一些實施方式中，包含與如本文所揭露的抗PSMA抗體接合的MC-Val-Ala-pABC-單元8-化合物1的ADC具有約2、4、7或11的比率。在一些實施方式中，包含與如本文所揭露的抗PSMA抗體接合的MC-Val-Ala-pABC-單元9-化合物1的ADC具有約2、4、7或11的比率。在一些實施方式中，包含與如本文所揭露的抗PSMA抗體接合的MC-Val-Ala-pABC-單元11-化合物1的ADC具有約2、4、7或11的比率。

【0473】在一些實施方式中，使抗體部分在軛合前暴露於還原條件以便產生一個或多個游離半胱胺酸殘基。在一些實施方式中，可以在部分或總體還

原條件下用還原劑（如二硫蘇糖醇（DTT）或三(2-羧乙基)膦（TCEP））還原抗體以產生反應性半胱胺酸硫醇基團。可以藉由用受限莫耳當量的TCEP進行部分還原來產生未配對的半胱胺酸，該受限莫耳當量的TCEP優先還原連接輕鏈和重鏈（一對/H-L配對）以及鉸鏈區中的兩條重鏈（在人IgG1的情況下，兩對/H-H配對）的鏈間二硫鍵，但使鏈內二硫鍵保持完整。參見，例如Stefano等人 (2013) Methods Mol. Biol.[分子生物學方法] 1045:145-71。在一些實施方式中，例如藉由採用施加交替還原和氧化電壓的工作電極來以電化學方式還原抗體內的二硫鍵。此方法可允許二硫鍵還原與分析型裝置（例如，電化學檢測裝置、NMR光譜儀或質譜儀）或化學分離裝置（例如，液相層析儀（例如HPLC））或電泳裝置的線上偶聯。參見，例如美國公開號20140069822。在某些實施方式中，抗體經受變性條件以顯露胺基酸殘基（如離胺酸或半胱胺酸）上的反應性親核基團。

【0474】 ADC的載藥量可以以不同方式控制，例如藉由：(i) 限制藥物-連接子中間體或連接子試劑相對於抗體的莫耳過量；(ii) 限制軛合反應時間或溫度；(iii) 用於半胱胺酸硫醇修飾的部分或限制性還原條件；和/或 (iv) 藉由重組技術工程改造抗體的胺基酸序列，使得半胱胺酸或離胺酸殘基的數目和位置得到改變以控制連接子-藥物附接的數目和/或位置。

【0475】 在一些實施方式中，將游離半胱胺酸殘基引入抗體部分的胺基酸序列中。例如，可以製備經半胱胺酸工程改造的抗體，其中親本抗體的一個或多個胺基酸被半胱胺酸胺基酸替代。任何形式的抗體均可經如此工程改造，即突變。例如，親本Fab抗體片段可經工程改造以形成經半胱胺酸工程改造的Fab，稱為「ThioFab」。類似地，親本單株抗體可經工程改造以形成「ThioMab」。單位點突變在ThioFab中產生單個經工程改造的半胱胺酸殘基，而由於IgG抗體的二聚體性質，單位點突變在ThioMab中產生兩個經工程改造的

半胱胺酸殘基。編碼親本多肽的胺基酸序列變體的DNA可由本領域已知的多種方法製備。參見，例如WO2006/034488中描述之方法。該等方法包括但不限於藉由先前所製備的編碼多肽的DNA的定點（或寡核苷酸介導的）誘變、PCR誘變和盒式誘變進行的製備。重組抗體的變體還可藉由限制性片段操作或藉由用合成寡核苷酸進行重疊延伸PCR來構建。具有式I的ADC包括但不限於具有1、2、3或4個經工程改造的半胱胺酸胺基酸的抗體。參見Lyon等人 (2012) Methods Enzymol.[酶學方法]502:123-38。在一些實施方式中，在不使用工程改造的情況下，一個或多個游離半胱胺酸殘基已存在於抗體部分中，在此情況下可使用現有游離半胱胺酸殘基來將抗體部分與藥物部分軛合。

【0476】 在包含抗體部分和連接子部分的多個拷貝的反應混合物中，在超過一個親核基團與藥物-連接子中間體或連接子部分試劑反應、隨後與藥物部分試劑反應的情況下，那麼所得產物可以是ADC化合物的混合物，該混合物中分佈有與混合物中的抗體部分的各拷貝附接的一個或多個藥物部分。在一些實施方式中，由軛合反應得到的ADC混合物中的載藥量在1至12個所附接的藥物部分/抗體部分的範圍內。藥物部分的平均數目/抗體部分（即平均載藥量或平均p）可以藉由本領域中已知的任何常規方法，例如藉由質譜法（例如反相LC-MS）和/或高效液相層析法（例如HPLC）來計算。在一些實施方式中，藥物部分的平均數目/抗體部分藉由疏水相互作用層析法-高效液相層析法（HIC-HPLC）來確定。在一些實施方式中，藥物部分的平均數目/抗體部分藉由反相液相層析法-質譜法（LC-MS）來確定。在一些實施方式中，藥物部分的平均數目/抗體部分係約1至約11；約1至約8；約1至約7；約1至約4；或約1至約2。在一些實施方式中，藥物部分的平均數目/抗體部分係約2。在一些實施方式中，藥物部分的平均數目/抗體部分係約4。在一些實施方式中，藥物部分的平均數

目/抗體部分係約7。在一些實施方式中，藥物部分的平均數目/抗體部分係約11。

【0477】 具有特定DAR比率的各個ADC複合物或「種類」可在混合物中例如藉由質譜法鑒定並且例如藉由超高效液相層析法（UPLC）或HPLC（例如疏水相互作用層析法（HIC-HPLC））分離。在某些實施方式中，具有單一負載值的均質或接近均質的ADC可以例如藉由電泳或層析法從軛合混合物分離。

【0478】 本揭露包括產生所描述的ADC之方法。簡言之，ADC包含作為抗體部分的抗體或抗原結合片段、藥物部分、以及將藥物部分與抗體部分接合的連接子。在一些實施方式中，可以使用具有用於與藥物部分共價附接以及與抗體部分共價附接的反應性官能性的連接子來製備ADC。例如，在一些實施方式中，抗體部分的半胱胺酸硫醇可以與連接子或藥物-連接子中間體的反應性官能基（例如Mal或MC部分）形成鍵，該連接子或連接子中間體包含可以與官能試劑軛合的反應性基團（例如，包含化合物1的可切割肽）。

【0479】 在一些實施方式中，藉由以下產生ADC：使抗體或抗原結合片段與連接子和藥物部分以順序方式接觸，使得抗體部分先與連接子共價連接，然後預先形成的抗體-連接子中間體與藥物部分反應。抗體-連接子中間體在接觸藥物部分之前可經受或可不經受純化步驟。在其他實施方式中，藉由以下產生ADC：使抗體部分與連接子-藥物軛合物或其鹽接觸，該連接子-藥物軛合物或其鹽藉由連接子與藥物部分反應而預先形成。預先形成的連接子-藥物軛合物在接觸抗體部分之前可經受或可不經受純化步驟。在其他實施方式中，抗體部分接觸一種反應混合物中的連接子和藥物部分，從而允許在抗體部分與連接子之間以及連接子與藥物部分之間同時形成共價鍵。在一些實施方式中，藉由以下產生ADC：使抗體部分與接合至藥物部分的連接子（如LP3）或其鹽在允許軛合的條件下反應。在一些實施方式中，藉由以下產生ADC：使抗體部分與接

合至藥物部分的連接子（如LP1）或其鹽在允許軛合的條件下反應。在一些實施方式中，藉由以下產生ADC：使抗體部分與接合至藥物部分的連接子（如LP2）或其鹽在允許軛合的條件下反應。在一些實施方式中，藉由以下產生ADC：使抗體部分與接合至藥物部分的連接子（如LP16）或其鹽在允許軛合的條件下反應。在一些實施方式中，藉由以下產生ADC：使抗體部分與接合至藥物部分的連接子（如LP20）或其鹽在允許軛合的條件下反應。在一些實施方式中，藉由以下產生ADC：使抗體部分與接合至藥物部分的連接子（如LP26）或其鹽在允許軛合的條件下反應。在一些實施方式中，藉由以下產生ADC：使抗體部分與接合至藥物部分的連接子（如LP28）或其鹽在允許軛合的條件下反應。允許軛合的條件可涉及本領域已知的用於軛合ADC的任何生物化學方法。該等條件包括但不限於在室溫下在合適的緩衝液（例如，1 x DBPS、pH 7.4的0.1 M Tris-甘胺酸、10%丙二醇:90% 1 x DPBS、或1 x DPBS、2 mM EDTA）中孵育。軛合條件可包括或可不包括酶（例如轉麩醯胺酸酶）的存在。

【0480】 根據上述方法製備的ADC可以經受一個或多個純化步驟。純化步驟可涉及本領域已知的用於純化蛋白質的任何生物化學方法或其任何方法組合。該等方法包括但不限於切向流過濾（TFF）、親和層析法、離子交換層析法、基於電荷或等電點的任何層析法、混合模式層析法（例如，CHT（陶瓷羥磷灰石））、疏水相互作用層析法、尺寸排阻層析法、透析、過濾、選擇性沈澱、脫鹽層析法、或其任何組合。

治療性用途

【0481】 本文揭露了使用所揭露的抗體和/或ADC來治療受試者的病症、例如腫瘤病症之方法。抗體和/或ADC可以單獨投與或與一種或多種額外的治療劑組合投與，並且可以以任何藥學上可接受的配製物、劑量和/或給藥方案投與。可以針對毒性以及功效指標評估治療功效並且相應地作出調整。功效量度

包括但不限於體外或體內觀察到的細胞生長抑制和/或細胞毒性作用、減小的腫瘤體積、腫瘤生長抑制和/或延長的存活期。

【0482】 測定抗體或ADC是否對細胞發揮細胞生長抑制和/或細胞毒性作用之方法係已知的。例如，抗體或ADC的細胞毒性活性可藉由以下測量：使表現抗體或ADC（例如PSMA）的靶蛋白的哺乳動物細胞暴露於細胞培養基中；將該等細胞與免疫細胞（例如骨髓細胞，如巨噬細胞）共培養一段時間，例如約6小時至約5天；以及測量細胞活力。基於細胞的體外測定可用於測量抗體或ADC的活力（增殖）、細胞毒性、生長抑制和對細胞凋亡的誘導（半胱天冬酶活化）。

【0483】 在一些實施方式中，為了測定細胞毒性，可以測量吞噬作用、壞死或細胞凋亡（計劃性細胞死亡）。可以使用流動式細胞測量術或顯微鏡檢查來觀察吞噬作用。壞死通常伴隨質膜滲透性的增加、細胞膨脹和質膜破裂。細胞凋亡的典型特徵係膜起泡、細胞質凝聚和內源性內切核酸酶的活化。針對對癌細胞的該等影響中的任一者的測定指示，抗體或ADC可用於治療癌症。

【0484】 細胞活力可以例如藉由測定細胞中染料（如中性紅、錐蟲藍、結晶紫或ALAMAR™藍）的吸收來測量。參見，例如Page等人 (1993) Intl. J. Oncology [國際腫瘤學雜誌] 3:473-6。在這樣的測定中，在含有染料的培養基中孵育細胞，洗滌細胞，並且藉由分光光度法測量反映細胞對染料的吸收的剩餘染料。在某些實施方式中，使用結晶紫測定評估所製備的抗體或ADC的體外效力。結晶紫係一種三芳基甲烷染料，可積聚在活細胞的細胞核中。在此測定中，使細胞暴露於抗體或ADC或對照劑持續一段時間，然後將細胞用結晶紫染色，用水充分洗滌，接著用1% SDS溶解並藉由分光光度法讀取。蛋白質結合染料磺醯羅丹明B（SRB）也可用於測量細胞毒性。參見，例如Skehan等人 (1990) J. Natl. Cancer Inst.[國家癌症研究所雜誌]82:1107-12。

【0485】細胞凋亡可以例如藉由測量DNA片段化來定量。用於定量體外測定DNA片段化的商業測光方法係可用的。這樣的測定的實例（包括TUNEL（其檢測片段化的DNA中的標記核苷酸的摻入）和基於ELISA的測定）在Biochemica [生物化學] (1999) 第2期, 第34-37頁（羅氏分子生物化學公司（Roche Molecular Biochemicals））中描述。

【0486】細胞凋亡也可以藉由測量細胞的形態變化來測定。例如，如同壞死一樣，質膜完整性的損失可以藉由測量對某些染料（例如，螢光染料，如吖啶橙或溴化乙錠）的吸收來測定。用於測量凋亡細胞數目之方法已由Duke和Cohen, Current Protocols in Immunology [免疫學實驗指南]參見Coligan等人, 編輯 (1992) 第3.17.1-3.17.16頁描述。細胞也可以用DNA染料（例如吖啶橙、溴化乙錠或碘化丙錠）標記並觀察細胞沿內部核膜的染色質凝聚和邊緣化。可經測量以確定細胞凋亡的其他形態變化包括例如細胞質凝聚、增加的膜起泡和細胞收縮。

【0487】在一些實施方式中，本揭露提供了一種藉由激動STING通路並將該激動作用靶向特定細胞（例如，表現PSMA的癌細胞（例如，相對於非癌細胞，PSMA的表現水平增加））來殺傷癌細胞或組織、或者抑制或調節癌細胞或組織的生長之方法。在一些實施方式中，激動STING通路增強了抗腫瘤免疫，例如藉由活化骨髓細胞（例如巨噬細胞或樹突狀細胞）、細胞毒性T細胞和/或1型T輔助細胞（Th1）偏向反應。該方法可用於增強抗腫瘤免疫提供了治療性益處的任何受試者。無論PSMA表現水平如何，抗腫瘤免疫反應都可以靶向癌細胞。

【0488】在各個實施方式中，可以投與所揭露的抗體和/或ADC來影響表現PSMA的任何細胞或組織，例如表現PSMA的癌細胞或組織。示例性實施方式包括藉由全身遞送抗PSMA ADC中的STING促效劑（例如具有式 (III)、式

(IV) 的化合物或表14的化合物、例如化合物1）來殺傷細胞之方法。該方法可用於表現PSMA的任何細胞或組織，例如癌性細胞或轉移性病變。在一些實施方式中，表現PSMA的癌症係前列腺癌。在一些實施方式中，前列腺癌係晚期前列腺癌。在一些實施方式中，前列腺癌係轉移性去勢抵抗性前列腺癌。表現PSMA的細胞的非限制性實例包括22RV1、LNCaP和C4-2細胞，以及包含編碼PSMA或其部分的重組核酸的細胞。不受理論的束縛，本文揭露的抗PSMA抗體和ADC可以特別有效地藉由靶向表現PSMA的細胞進行免疫清除、藉由活化I型干擾素和其他炎性細胞介素（例如，IFN-β、TNFα、CXCL10和/或IL-6）、和/或藉由將藥物有效載荷（例如化合物1）遞送至細胞來治療表現PSMA的癌症。

【0489】 在一些實施方式中，ADC可用於將藥物有效載荷（例如化合物1）遞送至細胞，其中該藥物有效載荷活化STING通路。不受理論的束縛，STING通路活化可能導致I型干擾素和其他炎性細胞介素（例如，IFN-β、TNFα、CXCL10和/或IL-6）的活化。在一些實施方式中，本文揭露的抗PSMA ADC的投與增加IFN-β的表現和/或分泌。在一些實施方式中，本文揭露的抗PSMA ADC的投與增加TNFα的表現和/或分泌。在一些實施方式中，本文揭露的抗PSMA ADC的投與增加CXCL10的表現和/或分泌。在一些實施方式中，本文揭露的抗PSMA ADC的投與增加IL-6的表現和/或分泌。I型干擾素和其他炎性細胞介素的活化可以藉由活化樹突狀細胞和促炎（M1）巨噬細胞、藉由促進細胞毒性T細胞反應的產生、和/或藉由促進1型T輔助細胞（Th1）偏向反應的產生來刺激抗腫瘤免疫反應。然後，該等活化的免疫細胞可以靶向殺傷癌細胞或腫瘤。活化的樹突狀細胞和促炎（M1）巨噬細胞也可以產生I型干擾素和其他炎性細胞介素或趨化因子，從而增強抗腫瘤炎性反應。巨噬細胞的非限制性

實例包括J774A.1、THP-1、骨髓源性巨噬細胞（BMDM）、人單核細胞源性巨噬細胞（HMDM）和外周血單核細胞（PBMC）。

【0490】 在一些實施方式中，本文揭露的抗PSMA抗體和抗原結合片段提供了STING促效劑向癌細胞或組織的穩定的全身遞送。在一些實施方式中，STING促效劑係化合物1。在一些實施方式中，癌細胞或組織表現PSMA。在一些實施方式中，癌細胞或組織係前列腺癌。在一些實施方式中，前列腺癌係晚期前列腺癌。在一些實施方式中，前列腺癌係轉移性去勢抵抗性前列腺癌。

【0491】 本文揭露的示例性方法包括以下步驟：使細胞與有效量（例如，足以刺激STING活性的量）的如本文所述之抗體和/或ADC接觸（例如，藉由合適的投與途徑向受試者投與抗體和/或ADC）。該方法可用於例如體外、離體或原位培養物中的細胞上。例如，表現PSMA的細胞（例如，藉由腫瘤或轉移性病變的活檢收集的細胞；來自已建立的癌細胞系的細胞；或重組細胞），可以在培養基中體外培養，並且可以藉由向培養基中添加抗體和/或ADC來影響接觸步驟。在與免疫細胞（例如巨噬細胞或樹突狀細胞）共培養的細胞中，該方法將導致表現PSMA的細胞（特別包括表現PSMA的腫瘤細胞）的殺傷。可替代地，抗體和/或ADC可以藉由任何合適的投與途徑（例如，靜脈內、皮下或與腫瘤組織直接接觸）投與至受試者以在體內發揮作用。

【0492】 所揭露的抗體和/或ADC的體內作用可以在合適的動物模型中進行評估。例如，可以使用異種癌症模型，其中將癌症外植體或傳代的異種移植細胞或組織引入免疫受損的動物（例如裸小鼠或SCID小鼠）中。參見，例如Klein等人 (1997) Nature Med.[自然醫學] 3:402-8。可以使用測量對腫瘤形成的抑制、腫瘤消退或轉移等的測定來預測功效。在一些實施方式中，與用替代治療處理的攜帶異種移植物的小鼠相比，本文揭露的抗PSMA抗體和ADC在抑制腫瘤生長方面更有效。

【0493】 也可以使用測量PSMA和/或細胞介素的表現的測定。可以使用本領域已知的用於測量PSMA和/或細胞介素表現的任何方法，包括ELISA（酶聯免疫吸附測定）、q-PCR（定量聚合酶鏈反應）、Meso Scale Discovery V-PLEX細胞介素面板、免疫組織化學、RNA-seq（RNA定序）、蛋白質印跡和流動式細胞測量術。可以在從受試者分離的癌細胞中測定PSMA的表現。在一些實施方式中，PSMA的表現在投與如本文所揭露的抗體和/或ADC之前測定。在一些實施方式中，PSMA的表現相對於非癌性和/或野生型組織或細胞中PSMA的表現升高。在一些實施方式中，測量I型干擾素和其他炎性細胞介素（例如，IFN-β、TNFα、CXCL10、IL-6）的表現。該等細胞介素在所治療受試者的腫瘤中的表現可以提供響應治療而刺激抗腫瘤免疫反應的指示。

【0494】 在各個實施方式中，本文提供了治療表現PSMA的癌症之方法。本文揭露的抗體和ADC可以出於任何治療性目的並藉由任何合適的投與途徑投與至非人哺乳動物或人受試者。該等治療性方法可能需要向患有腫瘤（例如，表現PSMA的腫瘤）的哺乳動物投與生物學有效量的本文揭露的抗體或包含與該抗體連接的所選化療劑（例如化合物1）的ADC。

【0495】 在一些實施方式中，提供了一種治療患有表現PSMA的癌症或有患表現PSMA的癌症風險的患者之方法，該方法包括向該患者投與治療有效量的本揭露的抗體和/或ADC。在一些實施方式中，當單獨投與時，患者對藥物部分（例如化合物1）的治療無反應或反應差，並且向患者投與本文揭露的抗體或ADC。在其他實施方式中，當單獨投與時，患者對藥物部分（例如化合物1）的治療不耐受。例如，為了治療癌症，患者可能需要導致全身毒性的化合物1劑量，而這可以藉由將本文揭露的抗體和/或ADC靶向遞送至表現PSMA的癌症來克服，從而減少脫靶殺傷。在一些實施方式中，患者患有無法局部注射藥物部分（例如化合物1）的癌症。

【0496】 在各個實施方式中，本文揭露之方法治療前列腺癌。

【0497】 本揭露的抗體和/或ADC可出於獸醫學目的或作為人類疾病的動物模型投與至表現PSMA的非人哺乳動物。就後者而言，這樣的動物模型可用於評估所揭露的抗體和ADC的治療性功效（例如，劑量檢測和投與時程）。

【0498】 在一些實施方式中，抗體或ADC的功效可以藉由使來自受試者的腫瘤樣本與該抗體或ADC接觸並評估腫瘤生長速率或體積來評估。在一些實施方式中，當確定抗體或ADC有效時，可以將其投與至受試者。在一些實施方式中，抗體或ADC的功效可以藉由使受試者與該抗體或ADC接觸並監測腫瘤生長速率或體積來評估。在一些實施方式中，抗體或ADC的功效可以藉由使受試者與該抗體或ADC接觸並監測I型干擾素和其他炎性細胞介素（例如，IFN-β、TNFα、CXCL10、IL-6）的表現來評估。

【0499】 本文揭露的抗體和ADC可以以合適的劑量投與至有需要的患者。使用前述方法治療癌症的劑量和投與方案將隨方法和靶標癌症而變化，並且通常取決於本領域所瞭解的許多其他因素。

【0500】 在各個實施方式中，治療涉及藉由可接受的投與途徑單次推注或重複投與抗體或ADC製劑。

【0501】 上述治療性方法還可以與多種額外的手術、化療或放射療法方案中的任一種組合。在一些實施方式中，上述治療性方法與癌症免疫療法，例如免疫檢查點療法（例如，PD-1/PD-L1抑制劑和CTLA4抑制劑）或過繼性T細胞（ATC）療法（例如，嵌合抗原受體（CAR）T細胞）組合。

【0502】 本文進一步提供了所揭露的抗體和/或ADC的治療性用途。示例性實施方式係抗體和/或ADC在治療表現PSMA的癌症、如前列腺癌中之用途。用於鑒定患有表現PSMA的癌症的受試者之方法係本領域已知的，並且可用於鑒定適合用所揭露的抗體或ADC治療的患者。

【0503】另一示例性實施方式係如本文所揭露的ADC或抗體或抗原結合片段在製造用於治療表現PSMA的癌症、如前列腺癌的藥物中之用途。

藥物組成物和配製物

【0504】可以將用於實施前述方法的抗體或ADC配製成適合投與至受試者、例如人受試者的藥物組成物。在一些實施方式中，藥物組成物包含抗體和/或ADC以及適用於所需遞送方法的藥學上可接受的載劑。合適的載劑包括當與本文揭露的抗體或ADC組合時允許該抗體或ADC保留其抗腫瘤功能並且通常不與患者的免疫系統反應的任何材料。藥學上可接受的載劑可以包括生理上相容的任何和所有溶劑、分散介質、包衣、抗細菌劑和抗真菌劑、等滲劑和吸收延遲劑等。藥學上可接受的載劑的實例包括水、生理鹽水、磷酸鹽緩衝生理鹽水、右旋糖、甘油、乙醇、甲磺酸鹽等中的一種或多種，以及其組合。在許多情況下，將較佳的是在組成物中包括等滲劑，例如糖、多元醇（如甘露醇、山梨糖醇）或氯化鈉。藥學上可接受的載劑可進一步包含極少量的輔助物質，如潤濕劑或乳化劑、防腐劑或緩衝液，該等輔助物質增強ADC的保存期限或有效性。

【0505】本文所述之藥物組成物可以呈多種形式。該等形式包括例如液體、半固體和固體劑型，如液體溶液（例如，可注射溶液和可輸注溶液）、分散體或懸浮液、片劑、丸劑、粉末、脂質體和栓劑。較佳的形式取決於預期的投與方式和治療性應用。

【0506】藥物組成物可以被溶解並藉由能夠將組成物遞送至腫瘤部位的任何途徑投與。潛在有效的投與途徑包括但不限於靜脈內、腸胃外、腹膜內、肌內、瘤內、真皮內、器官內、正位等。藥物組成物可以被凍乾並作為無菌粉末儲存，較佳的是在真空下，然後在注射前在抑菌水（含有例如苄醇防腐劑）

或無菌水中重構。投與可以是全身的或局部的。藥物組成物可以包含抗體和/或ADC或其藥學上可接受的鹽（例如甲磺酸鹽）。

【0507】 在各個實施方式中，用於本文所述之實驗室應用和治療性應用的套組（kit）處於本揭露的範圍內。這樣的套組可以包含本文揭露的抗體或ADC和載劑、包裝或容器。載劑、包裝或容器可以被分隔以容納一個或多個容器，例如小瓶、試管等，該一個或多個容器中的每個包含以下：待用於本文揭露之方法中的獨立要素中之一和/或含有使用說明（例如本文所述之用途）的標籤或插頁。套組可以進一步包含與其相關的一個或多個其他容器，該等容器包含從商業和使用者角度來看所需的材料，包括緩衝液、稀釋劑、過濾器、針頭、注射器、載架（carrier）、包裝、容器、小瓶和/或列出內容物和/或使用說明的試管標籤、以及帶有使用說明的包裝插頁。

【0508】 標籤可存在於容器上或容器中以指示組成物用於特定療法或非治療性應用，如預後、預防、診斷或實驗室應用。標籤還可指示關於體內或體外用途（如本文所述之用途）的指導。在包括在套組中或套組上的一個或多個插頁或一個或多個標籤上還可包括指導和/或其他資訊。標籤可處於容器上或與容器相關聯。當將形成標籤的字母、數字或其他字元模製或蝕刻至容器自身中時，標籤可處於容器上。當標籤存在於還固持容器的接受器或載架內時，標籤可例如以包裝插頁形式與容器相關聯。標籤可指示組成物用於診斷或治療病況（例如，如本文所述之癌症）。

本揭露的示例性實施方式

【0509】 在各個實施方式中，本揭露提供了能夠與抗體-藥物軛合物中的抗體軛合的新型連接子-藥物軛合物。

【0510】 在一些實施方式中，連接子-藥物軛合物包含MC-Val-Ala-pABC-單元8部分和具有式 (III) 的化合物。在一些實施方式中，連接子-藥物軛合物包

含MC-Val-Ala-pABC-單元8部分和具有式 (IV) 的化合物。在一些實施方式中，連接子-藥物軛合物包含MC-Val-Ala-pABC-單元8部分和選自表14的化合物的化合物。

【0511】 在一些實施方式中，連接子-藥物軛合物包含MC-Val-Ala-pABC-單元8-化合物1。在一些實施方式中，連接子-藥物軛合物包含LP16。

【0512】 在一些實施方式中，連接子-藥物軛合物包含MC-Val-Ala-pABC-單元9部分和具有式 (III) 的化合物。在一些實施方式中，連接子-藥物軛合物包含MC-Val-Ala-pABC-單元9部分和具有式 (IV) 的化合物。在一些實施方式中，連接子-藥物軛合物包含MC-Val-Ala-pABC-單元9部分和選自表14的化合物的化合物。

【0513】 在一些實施方式中，連接子-藥物軛合物包含MC-Val-Ala-pABC-單元9-化合物1。在一些實施方式中，連接子-藥物軛合物包含LP20。

【0514】 在一些實施方式中，連接子-藥物軛合物包含Mal-式 (II)-Val-Ala-pAB-單元11部分和具有式 (III) 的化合物。在一些實施方式中，連接子-藥物軛合物包含Mal-式 (II)-Val-Ala-pAB-單元11部分和具有式 (IV) 的化合物。在一些實施方式中，連接子-藥物軛合物包含Mal-式 (II)-Val-Ala-pAB-單元11部分和選自表14的化合物的化合物。

【0515】 在一些實施方式中，連接子-藥物軛合物包含Mal-式 (II)-Val-Ala-pAB-單元11-化合物1。在一些實施方式中，連接子-藥物軛合物包含LP26。

【0516】 在一些實施方式中，連接子-藥物軛合物包含MC-Val-Ala-pABC-單元11部分和具有式 (III) 的化合物。在一些實施方式中，連接子-藥物軛合物包含MC-Val-Ala-pABC-單元11部分和具有式 (IV) 的化合物。在一些實施方式中，連接子-藥物軛合物包含MC-Val-Ala-pABC-單元11部分和選自表14的化合物的化合物。

【0517】在一些實施方式中，連接子-藥物軛合物包含MC-Val-Ala-pABC-單元11-化合物1。在一些實施方式中，連接子-藥物軛合物包含LP28。

【0518】在各個實施方式中，本揭露提供了能夠特異性結合PSMA的新型抗體-藥物軛合物。

【0519】在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含本文揭露的任何抗PSMA抗體或抗原結合片段、含有MC-Val-Ala-pABC-單元8部分的連接子、以及含有具有式 (III) 的化合物的藥物部分。在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含本文揭露的任何抗PSMA抗體或抗原結合片段、含有MC-Val-Ala-pABC-單元8部分的連接子、以及含有具有式 (IV) 的化合物的藥物部分。在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含本文揭露的任何抗PSMA抗體或抗原結合片段、含有MC-Val-Ala-pABC-單元8部分的連接子、以及含有選自表14的化合物的化合物的藥物部分。

【0520】在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含本文揭露的任何抗PSMA抗體或抗原結合片段和含有MC-Val-Ala-pABC-單元8-化合物1的連接子-藥物軛合物。在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含與LP16軛合的本文揭露的任何抗PSMA抗體或抗原結合片段。

【0521】在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含本文揭露的任何抗PSMA抗體或抗原結合片段、含有MC-Val-Ala-pABC-單元9部分的連接子、以及含有具有式 (III) 的化合物的藥物部分。在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含本文揭露的任何抗PSMA抗體或抗原結合片段、含有MC-Val-Ala-pABC-單元9部分的連接子、以及含有具有式 (IV) 的化合物的藥物部分。在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含本文揭露的任何抗PSMA抗體或抗原結合片段、含有MC-Val-Ala-pABC-單元9部分的連接子、以及含有選自表14的化合物的化合物的藥物部分。

【0522】在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含本文揭露的任何抗PSMA抗體或抗原結合片段和含有MC-Val-Ala-pABC-單元9-化合物1的連接子-藥物軛合物。在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含與LP20軛合的本文揭露的任何抗PSMA抗體或抗原結合片段。

【0523】在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含本文揭露的任何抗PSMA抗體或抗原結合片段、含有Mal-式 (II)-Val-Ala-pAB-單元11部分的連接子、以及含有具有式 (III) 的化合物的藥物部分。在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含本文揭露的任何抗PSMA抗體或抗原結合片段、含有Mal-式 (II)-Val-Ala-pAB-單元11部分的連接子、以及含有具有式 (IV) 的化合物的藥物部分。在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含本文揭露的任何抗PSMA抗體或抗原結合片段、含有Mal-式 (II)-Val-Ala-pAB-單元11部分的連接子、以及含有選自表14的化合物的化合物的藥物部分。

【0524】在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含本文揭露的任何抗PSMA抗體或抗原結合片段和含有Mal-式 (II)-Val-Ala-pAB-單元11-化合物1的連接子-藥物軛合物。在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含與LP26軛合的本文揭露的任何抗PSMA抗體或抗原結合片段。

【0525】在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含本文揭露的任何抗PSMA抗體或抗原結合片段、含有MC-Val-Ala-pABC-單元11部分的連接子、以及含有具有式 (III) 的化合物的藥物部分。在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含本文揭露的任何抗PSMA抗體或抗原結合片段、含有MC-Val-Ala-pABC-單元11部分的連接子、以及含有具有式 (IV) 的化合物的藥物部分。在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含本文揭露的任何抗PSMA抗體或抗原結合片段、含有MC-Val-Ala-pABC-單元11部分的連接子、以及含有選自表14的化合物的化合物的藥物部分。

【0526】在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含本文揭露的任何抗PSMA抗體或抗原結合片段和含有MC-Val-Ala-pABC-單元11-化合物1的連接子-藥物軛合物。在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含與LP28軛合的本文揭露的任何抗PSMA抗體或抗原結合片段。在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含抗PSMA抗體或其抗原結合片段，該抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含以下三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 21的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 22的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 27的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 32的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 35的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的；本文揭露的任何連接子；以及含有具有式 (III) 的化合物的藥物部分。在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含抗PSMA抗體或其抗原結合片段，該抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含以下三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 21的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 22的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 27的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 32的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 35的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的；本文揭露的任何連接子；以及含有具有式 (IV) 的化合物的藥物部分。在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含抗PSMA抗體或其抗原結合片段，該抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含以下三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 21的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 22的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 27的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 32的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 35的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3

（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的；本文揭露的任何連接子；以及含有選自表14的化合物的化合物的藥物部分。

【0527】在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含抗PSMA抗體或其抗原結合片段，該抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含以下三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 28的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 29的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 30的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 38的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 39的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由IMGT編號系統所定義的；本文揭露的任何連接子；以及含有具有式 (III) 的化合物的藥物部分。在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含抗PSMA抗體或其抗原結合片段，該抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含以下三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 28的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 29的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 30的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 38的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 39的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由IMGT編號系統所定義的；本文揭露的任何連接子；以及含有具有式 (IV) 的化合物的藥物部分。在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含抗PSMA抗體或其抗原結合片段，該抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含以下三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 28的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 29的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 30的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 38的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 39的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由IMGT編號系統所定義的；本文揭露的任何連接子；以及含有選自表14的化合物的化合物的藥物部分。

【0528】在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含抗PSMA抗體或其抗原結合片段，該抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 14的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 19的胺基酸序列的輕鏈可變區；本文揭露的任何連接子；以及含有具有式 (III) 的化合物的藥物部分。在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含抗PSMA抗體或其抗原結合片段，該抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 14的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 19的胺基酸序列的輕鏈可變區；本文揭露的任何連接子；以及含有具有式 (IV) 的化合物的藥物部分。在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含抗PSMA抗體或其抗原結合片段，該抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 14的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 19的胺基酸序列的輕鏈可變區；本文揭露的任何連接子；以及含有選自表14的化合物的化合物的藥物部分。

【0529】在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含抗PSMA抗體或其抗原結合片段，該抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含以下三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 21的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 22的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 27的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 32的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 35的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的；本文揭露的任何連接子；以及含有化合物1的藥物部分。

【0530】在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含抗PSMA抗體或其抗原結合片段，該抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含以下三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 28的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 29的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 30的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 38的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 39的輕鏈CDR2

（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由IMGT編號系統所定義的；本文揭露的任何連接子；以及含有化合物1的藥物部分。

【0531】在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含抗PSMA抗體或其抗原結合片段，該抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 14的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 19的胺基酸序列的輕鏈可變區；本文揭露的任何連接子；以及含有化合物1的藥物部分。

【0532】在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含抗PSMA抗體或其抗原結合片段，該抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含以下三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 21的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 22的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 27的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 32的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 35的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的；含有MC-Val-Ala-pABC-單元8的連接子；以及含有化合物1的藥物部分。

【0533】在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含抗PSMA抗體或其抗原結合片段，該抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含以下三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 21的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 22的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 27的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 32的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 35的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的；以及含有LP16的連接子-藥物軛合物。

【0534】在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含抗PSMA抗體或其抗原結合片段，該抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含以下三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 28的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 29

的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 30的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 38的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 39的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由IMGT編號系統所定義的；含有MC-Val-Ala-pABC-單元8部分的連接子；以及含有化合物1的藥物部分。

【0535】 在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含抗PSMA抗體或其抗原結合片段，該抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含以下三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 28的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 29的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 30的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 38的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 39的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由IMGT編號系統所定義的；以及含有LP16的連接子-藥物軛合物。

【0536】 在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含抗PSMA抗體或其抗原結合片段，該抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 14的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 19的胺基酸序列的輕鏈可變區；含有MC-Val-Ala-pABC-單元8部分的連接子；以及含有化合物1的藥物部分。

【0537】 在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含抗PSMA抗體或其抗原結合片段，該抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 14的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 19的胺基酸序列的輕鏈可變區；以及含有LP16的連接子-藥物軛合物。

【0538】 在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含抗PSMA抗體或其抗原結合片段，該抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含以下三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 21的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 22的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 27的重鏈CDR3（HCDR3）；包含

SEQ ID NO: 32的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 35的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的；含有MC-Val-Ala-pABC-單元9部分的連接子；以及含有化合物1的藥物部分。

【0539】 在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含抗PSMA抗體或其抗原結合片段，該抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含以下三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 21的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 22的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 27的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 32的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 35的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的；以及含有LP20的連接子-藥物軛合物。

【0540】 在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含抗PSMA抗體或其抗原結合片段，該抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含以下三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 28的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 29的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 30的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 38的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 39的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由IMGT編號系統所定義的；含有MC-Val-Ala-pABC-單元9部分的連接子；以及含有化合物1的藥物部分。

【0541】 在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含抗PSMA抗體或其抗原結合片段，該抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含以下三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 28的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 29的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 30的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 38的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 39的輕鏈CDR2

（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由IMGT編號系統所定義的；以及含有LP20的連接子-藥物軛合物。

【0542】在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含抗PSMA抗體或其抗原結合片段，該抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 14的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 19的胺基酸序列的輕鏈可變區；含有MC-Val-Ala-pABC-單元9部分的連接子；以及含有化合物1的藥物部分。

【0543】在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含抗PSMA抗體或其抗原結合片段，該抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 14的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 19的胺基酸序列的輕鏈可變區；以及含有LP20的連接子-藥物軛合物。

【0544】在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含抗PSMA抗體或其抗原結合片段，該抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含以下三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 21的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 22的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 27的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 32的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 35的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的；含有Mal-式 (II)-Val-Ala-pAB-單元11部分的連接子；以及含有化合物1的藥物部分。

【0545】在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含抗PSMA抗體或其抗原結合片段，該抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含以下三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 21的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 22的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 27的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 32的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 35的輕鏈CDR2

（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的；以及含有LP26的連接子-藥物軛合物。

【0546】在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含抗PSMA抗體或其抗原結合片段，該抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含以下三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 28的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 29的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 30的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 38的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 39的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由IMGT編號系統所定義的；含有Mal-式 (II)-Val-Ala-pAB-單元11部分的連接子；以及含有化合物1的藥物部分。

【0547】在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含抗PSMA抗體或其抗原結合片段，該抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含以下三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 28的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 29的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 30的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 38的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 39的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由IMGT編號系統所定義的；以及含有LP26的連接子-藥物軛合物。

【0548】在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含抗PSMA抗體或其抗原結合片段，該抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 14的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 19的胺基酸序列的輕鏈可變區；含有Mal-式 (II)-Val-Ala-pAB-單元11部分的連接子；以及含有化合物1的藥物部分。

【0549】在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含抗PSMA抗體或其抗原結合片段，該抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 14的胺基

酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 19的胺基酸序列的輕鏈可變區；以及含有LP26的連接子-藥物軛合物。

【0550】在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含抗PSMA抗體或其抗原結合片段，該抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含以下三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 21的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 22的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 27的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 32的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 35的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的；含有MC-Val-Ala-pABC-單元11部分的連接子；以及含有化合物1的藥物部分。

【0551】在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含抗PSMA抗體或其抗原結合片段，該抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含以下三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 21的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 22的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 27的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 32的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 35的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的；以及含有LP28的連接子-藥物軛合物。

【0552】在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含抗PSMA抗體或其抗原結合片段，該抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含以下三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 28的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 29的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 30的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 38的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 39的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由IMGT編號系

統所定義的；含有MC-Val-Ala-pABC-單元11部分的連接子；以及含有化合物1的藥物部分。

【0553】在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含抗PSMA抗體或其抗原結合片段，該抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含以下三個重鏈CDR和三個輕鏈CDR：包含SEQ ID NO: 28的重鏈CDR1（HCDR1）、包含SEQ ID NO: 29的重鏈CDR2（HCDR2）、包含SEQ ID NO: 30的重鏈CDR3（HCDR3）；包含SEQ ID NO: 38的輕鏈CDR1（LCDR1）、包含SEQ ID NO: 39的輕鏈CDR2（LCDR2）和包含SEQ ID NO: 37的輕鏈CDR3（LCDR3），如由IMGT編號系統所定義的；以及含有LP28的連接子-藥物軛合物。

【0554】在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含抗PSMA抗體或其抗原結合片段，該抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 14的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 19的胺基酸序列的輕鏈可變區；含有MC-Val-Ala-pABC-單元11部分的連接子；以及含有化合物1的藥物部分。

【0555】在一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含抗PSMA抗體或其抗原結合片段，該抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 14的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 19的胺基酸序列的輕鏈可變區；以及含有LP28的連接子-藥物軛合物。

【0556】在本文揭露的抗體-藥物軛合物的一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含抗PSMA抗體或其抗原結合片段，該抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含三個HCDR，其包含以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 21（HCDR1）、SEQ ID NO: 22（HCDR2）和SEQ ID NO: 27（HCDR3）；以及三個LCDR，其包含SEQ ID NO: 32（LCDR1）、SEQ ID NO: 35（LCDR2）和SEQ ID NO: 37（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的；以及含有LP16、LP20、LP26或LP28的連接子-藥物軛合物。不受理論的束縛，該等抗體-藥物軛合物中的一種

或多種可以表現出優於其他ADC（例如使用其他抗體、連接子和/或藥物的那些，例如與本文揭露的其他ADC相比）的特性（例如，改進的軛合穩定性、改進的血漿穩定性、低ADC聚集、中靶細胞毒性、低脫靶毒性、藥物動力學和藥效學特性、可配製性和毒理學/免疫學特徵、在腫瘤微環境中刺激抗免疫反應、刺激骨髓細胞（例如巨噬細胞和/或樹突狀細胞）對表現PSMA的細胞的吞噬作用增加、和體內抗腫瘤活性）。在一些實施方式中，不受理論的束縛，使用抗體-藥物軛合物（該抗體-藥物軛合物包含抗PSMA抗體或其抗原結合片段，該抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含三個HCDR，其包含以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 21（HCDR1）、SEQ ID NO: 22（HCDR2）和SEQ ID NO: 27（HCDR3）；以及三個LCDR，其包含SEQ ID NO: 32（LCDR1）、SEQ ID NO: 35（LCDR2）和SEQ ID NO: 37（LCDR3），如由Kabat編號系統所定義的；以及含有LP16、LP20、LP26或LP28的連接子-藥物軛合物）的益處可以包括改進的軛合穩定性、改進的血漿穩定性、低ADC聚集、中靶細胞毒性、低脫靶毒性、藥物動力學和藥效學特性、可配製性和毒理學/免疫學特徵、在腫瘤微環境中刺激抗免疫反應、刺激骨髓細胞（例如巨噬細胞和/或樹突狀細胞）對表現PSMA的細胞的吞噬作用增加、和體內抗腫瘤活性。這樣的抗體-藥物軛合物的優異益處的示例性證據顯示在實例9、12、14和15中。

【0557】在本文揭露的抗體-藥物軛合物的一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含抗PSMA抗體或其抗原結合片段，該抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含三個HCDR，其包含以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 28（HCDR1）、SEQ ID NO: 29（HCDR2）和SEQ ID NO: 30（HCDR3）；以及三個LCDR，其包含SEQ ID NO: 38（LCDR1）、SEQ ID NO: 39（LCDR2）和SEQ ID NO: 37（LCDR3），如由IMGT編號系統所定義的；以及含有LP16、LP20、LP26或LP28的連接子-藥物軛合物。不受理論的束縛，與其他抗PSMA抗體-藥物軛合

物相比，該等抗體-藥物軛合物中的一種或多種可以表現出優於其他ADC（例如使用其他抗體、連接子和/或藥物的那些，例如與本文揭露的其他ADC相比）的特性（例如，改進的軛合穩定性、改進的血漿穩定性、低ADC聚集、中靶細胞毒性、低脫靶毒性、藥物動力學和藥效學特性、可配製性和毒理學/免疫學特徵、在腫瘤微環境中刺激抗免疫反應、刺激骨髓細胞（例如巨噬細胞和/或樹突狀細胞）對表現PSMA的細胞的吞噬作用增加、和體內抗腫瘤活性）。在一些實施方式中，不受理論的束縛，使用抗體-藥物軛合物（該抗體-藥物軛合物包含抗PSMA抗體或其抗原結合片段，該抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含三個HCDR，其包含以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 28（HCDR1）、SEQ ID NO: 29（HCDR2）和SEQ ID NO: 30（HCDR3）；以及三個LCDR，其包含SEQ ID NO: 38（LCDR1）、SEQ ID NO: 39（LCDR2）和SEQ ID NO: 37（LCDR3），如由IMGT編號系統所定義的；以及含有LP16、LP20、LP26或LP28的連接子-藥物軛合物）的益處可以包括改進的軛合穩定性、改進的血漿穩定性、低ADC聚集、中靶細胞毒性、低脫靶毒性、藥物動力學和藥效學特性、可配製性和毒理學/免疫學特徵、在腫瘤微環境中刺激抗免疫反應、刺激骨髓細胞（例如巨噬細胞和/或樹突狀細胞）對表現PSMA的細胞的吞噬作用增加、和體內抗腫瘤活性。這樣的抗體-藥物軛合物的優異益處的示例性證據顯示在實例9、12、14和15中。

【0558】在本文揭露的抗體-藥物軛合物的一些實施方式中，抗體-藥物軛合物包含抗PSMA抗體或其抗原結合片段，該抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 14的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 19的胺基酸序列的輕鏈可變區；以及含有LP16、LP20、LP26或LP28的連接子-藥物軛合物。不受理論的束縛，該等抗體-藥物軛合物中的一種或多種可以表現出優於其他ADC（例如使用其他抗體、連接子和/或藥物的那些，例如與本文揭露的其

他ADC相比）的特性（例如，改進的軛合穩定性、改進的血漿穩定性、低ADC聚集、中靶細胞毒性、低脫靶毒性、藥物動力學和藥效學特性、可配製性和毒理學/免疫學特徵、在腫瘤微環境中刺激抗免疫反應、刺激骨髓細胞（例如巨噬細胞和/或樹突狀細胞）對表現PSMA的細胞的吞噬作用增加、和體內抗腫瘤活性）。在一些實施方式中，不受理論的束縛，使用抗體-藥物軛合物（該抗體-藥物軛合物包含抗PSMA抗體或其抗原結合片段，該抗PSMA抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 14的胺基酸序列的重鏈可變區和含有SEQ ID NO: 19的胺基酸序列的輕鏈可變區；以及含有LP16、LP20、LP26或LP28的連接子-藥物軛合物）的益處可以包括改進的軛合穩定性、改進的血漿穩定性、低ADC聚集、中靶細胞毒性、低脫靶毒性、藥物動力學和藥效學特性、可配製性和毒理學/免疫學特徵、在腫瘤微環境中刺激抗免疫反應、刺激骨髓細胞（例如巨噬細胞和/或樹突狀細胞）對表現PSMA的細胞的吞噬作用增加、和體內抗腫瘤活性。這樣的抗體-藥物軛合物的優異益處的示例性證據顯示在實例9、12、14和15中。

【0559】 對於熟悉該項技術者顯而易見的是，在不脫離本文揭露的發明或實施方式的範圍的情況下，本文所述之本發明之方法的其他合適的修改和調整係顯而易見的並且可以使用合適的等同物進行。現在已經詳細描述了本發明，藉由參考以下實例將更清楚地理解它們，所包括的該等實例僅用於說明的目的而不旨在具有限制性。

實例

實例1.連接子-有效載荷合成

【0560】 在以下說明性實例中，除非另外說明，否則

(i) 溫度以攝氏度（°C）給出；

(ii) 有機溶液經無水硫酸鈉或硫酸鎂乾燥；

(iii) 使用旋轉蒸發器在減壓（0 - 1000毫巴）下在高達60°C的浴溫下進行有機溶劑的蒸發；

(iv) 柱層析法意指在矽膠或預填充矽膠柱（12 g、24 g、40 g等）上的快速層析法；

(v) 在矽膠板上進行薄層層析法（TLC）；

(vi) 正相和反相快速柱層析法使用Teledyne ISCO CombiFlash®系統或Biotage®快速柱進行，根據製造商的說明使用，並且分別從蘇必利爾街4700號，林肯NE 68504，美國或拜泰齊公司（Biotage AB），郵政信箱8 751 03，瑞典烏普薩拉大學獲得；

(vii) 製備型TLC意指在純化中使用的製備型TLC板；

(viii) 通常，藉由TLC或液相層析法/質譜法（LC/MS）跟蹤反應過程，並且給出反應時間僅用於說明；

(ix) 最終產物具有令人滿意的質子核磁共振（NMR）譜和/或質譜數據；

(x) 如果需要更多材料，則重複製備過程；

(xi) 當給出時，^{1}H NMR數據呈主要診斷性質子的δ值形式，以相對於作為內標的四甲基矽烷（TMS，0 ppm）的百萬分之一（ppm）給出。殘留溶劑峰也可以用作內標。耦合常數以赫茲（Hz）為單位報告。裂分形式的縮寫如下：s：單峰；d：雙峰；t：三重峰；m：多重峰；以及brs：寬單峰；

(xii) 如果分配給給定化合物的命名法與本文描述的化合物結構不一致，則以結構為准；以及

(xiii) 製備型HPLC意指製備型高效液相層析法，係指使用下文列出的反相HPLC柱進行純化，並根據製造商的說明使用。

縮寫

可以在整個實例中使用以下縮寫。

Boc：三級丁氧基羰基

AcOH：乙酸

Cbz：苄氧基羰基

CSA：樟腦磺酸

DCC：*N*,*N*'-二環己基碳二亞胺

DCM：二氯甲烷

DIBAL-H：二異丁基氫化鋁

DIEA：*N*,*N*-二異丙基乙胺

DIPEA：*N*,*N*-二異丙基乙胺

DME：1,2-二甲氧基乙烷

DMF： *N*,*N*-二甲基甲醯胺

DMT-MM：4-(4,6-二甲氧基-1,3,5-三-2-基)-4-甲基啉-4-鎓氯化物

DPPA：二苯基磷醯基疊氮化物

EDCI：1-乙基-3-[3-(二甲基胺基)丙基]碳二亞胺

EEDQ: 1-乙氧基羰基-2-乙氧基-1,2-二氫喹啉

eq：當量

ESI：電灑電離

EtOAc：乙酸乙酯

FA：甲酸

h：小時

HATU：1-[雙(二甲基胺基)亞甲基]-1H-1,2,3-三唑并[4,5-b]吡啶鎓 3-氧化物六氟磷酸鹽

HFIP：1,1,1,3,3,3-六氟丙烷-2-醇

HOBT：1-羥基苯并三唑

HPLC：高效液相層析法

IPA： 2-丙醇

LAH： 氫化鋁鋰

LC-MS：液相層析法-質譜法

LiHMDS：雙(三甲基矽基)醯胺鋰

MeCN：乙腈

MTBE：甲基三級丁基醚

NMM：4-甲基啉

PE：石油醚

Prep：製備型

Py： 吡啶

RT：保留時間

rt：室溫

TBAF：四正丁基氟化銨

TBS：三級丁基二甲基矽基

TEA：三乙胺

tert-：三級

TFA：三氟乙酸

THF：四氫呋喃

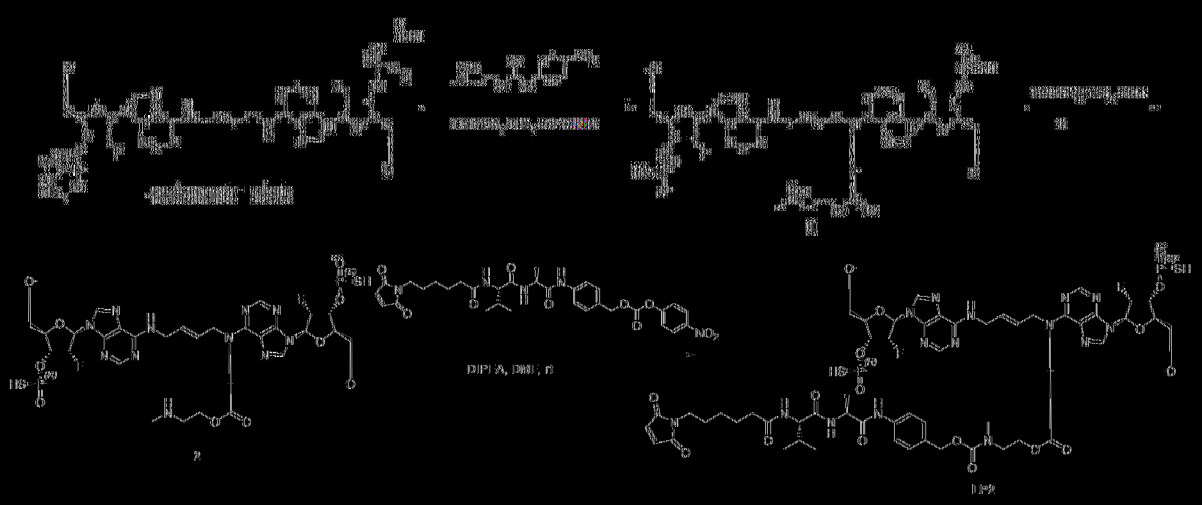
TLC：薄層層析法

TMSOTf：三甲基矽基三氟甲磺酸酯

TSTU：*N*,*N*,*N*',*N*'-四甲基-*O*- (*N*-琥珀醯亞胺基)脲四氟硼酸鹽

*1. **LP2**的合成*

【0561】 **LP2**的合成如下所示：



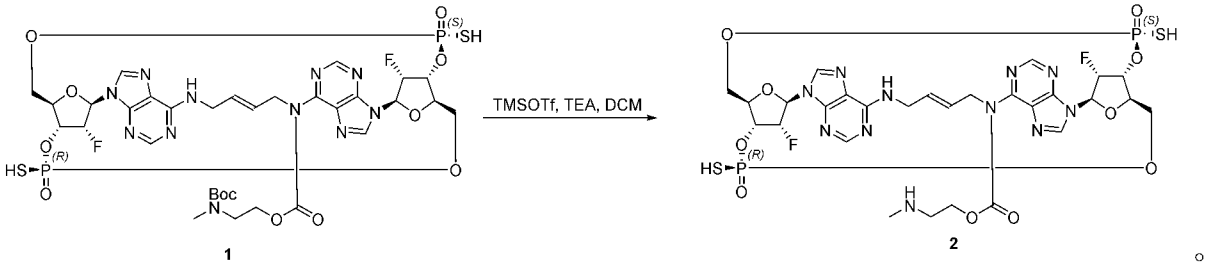
。

[0562] (1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*) 29,41-二氧-34,39-二側氧基-34,39-二氫砒基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十三烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-[(二級-氧基膦基)(甲基)胺基]乙基酯（1）的合成如下所示：

。

[0563] 在-78°C，將雙(二甲基矽基)醯胺鋰（LiHMDS）（1.6 mmol）的溶液添加至化合物1的二銨鹽（150 mg，0.201 mmol）在四氫呋喃（THF）（10 mL）中的攪拌溶液中。將所得混合物在氮氣氣氛下在-78°C攪拌30 min。然後在-78°C，將1-[(2-[(二級-氧基膦基)(甲基)胺基]乙氧基膦基)氧基]-4-硝基苯（68 mg，0.201 mmol）添加至所得混合物中。將所得混合物在2 h內緩慢加溫至室溫（rt）。將反應用AcOH（96.52 mg，1.608 mmol）淬滅。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由製備型TLC（CH_2Cl_2 / MeOH 7:1）純化以獲得100 mg呈白色固體的標題化合物1。LC-MS (ESI): 948.1 [M+H]+。

【0564】(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*) -29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-(甲基胺基)乙基酯（**2**）的合成如下所示：

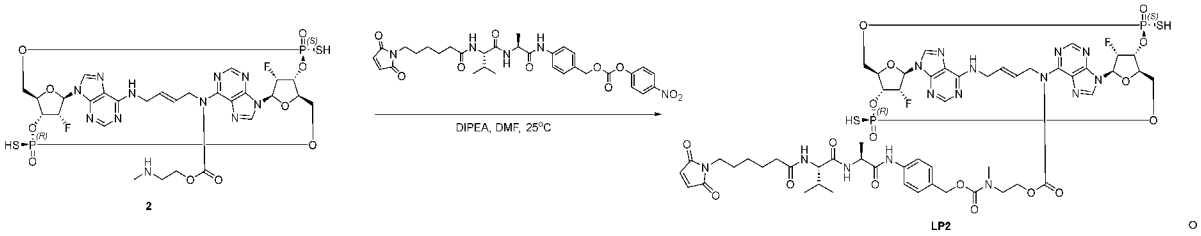


。

【0565】將三乙胺（TEA）（14.41 mg，0.140 mmol）添加至(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-[(三級丁氧基羰基)(甲基)胺基]乙基酯（**1**）（27 mg，0.028 mmol）在CH_2Cl_2（2 mL）中的攪拌溶液中。然後在室溫，將三甲基矽基三氟甲磺酸酯（TMSOTf）（44.32 mg，0.196 mmol）添加至所得混合物中。將所得混合物在室溫攪拌30 min。將所得混合物在減壓下濃縮，以提供呈無色油狀物的目標產物**2**，其無需進一步純化即可用於下一步驟。LC-MS (ESI): 848.1 $[M+H]^+$。

【0566】(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-{[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)己醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}乙基

酯（**LP2**）的合成如下詳細所示：



【0567】 將碳酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)己醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基 4-硝基苯基酯（18.45 mg，0.028 mmol）和N,N-二異丙基乙胺（DIPEA）（7.32 mg，0.056 mmol）添加至(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-(甲基胺基)乙基酯（2）（24 mg，0.028 mmol）在N,N-二甲基甲醯胺（DMF）（1 mL）中的攪拌溶液中。將所得混合物在室溫攪拌14 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由製備型TLC（乙酸乙酯（EtOAc）（1% TEA）/ MeOH 3/1）和製備型HPLC（柱：XBridge Prep Phenyl OBD柱，19x250 mm，5 μm；流動相A：水（0.3% NH_4HCO_2），流動相B：乙腈（MeCN）；流速： 25 mL/min；梯度：在10 min內25% B至40% B，40% B；波長： 254 nm；保留時間（RT）= 9 min）純化，以得到呈白色固體的目標產物**LP2**（6.0 mg）。

【0568】 LC-MS (ESI): 1360.55 $[M+H]^+$。

【0569】 ^{1}H NMR (300 MHz, 甲醇- d_4) δ 8.97 – 8.85 (m, 1H), 8.84 – 8.62 (m, 2H), 8.12 (s, 1H), 7.69 – 7.51 (m, 2H), 7.40 – 7.14 (m, 2H), 6.88 – 6.72 (s, 2H), 6.54 – 6.20 (m, 2H), 6.11 – 5.97 (m, 1H), 5.95 – 5.18 (m, 3H), 5.09 – 4.95 (m, 2H), 4.91 – 4.86 (m, 2H), 4.72 – 4.57 (m, 3H), 4.57 – 4.46 (m, 3H), 4.48 – 4.36 (m, 2H), 4.36 –

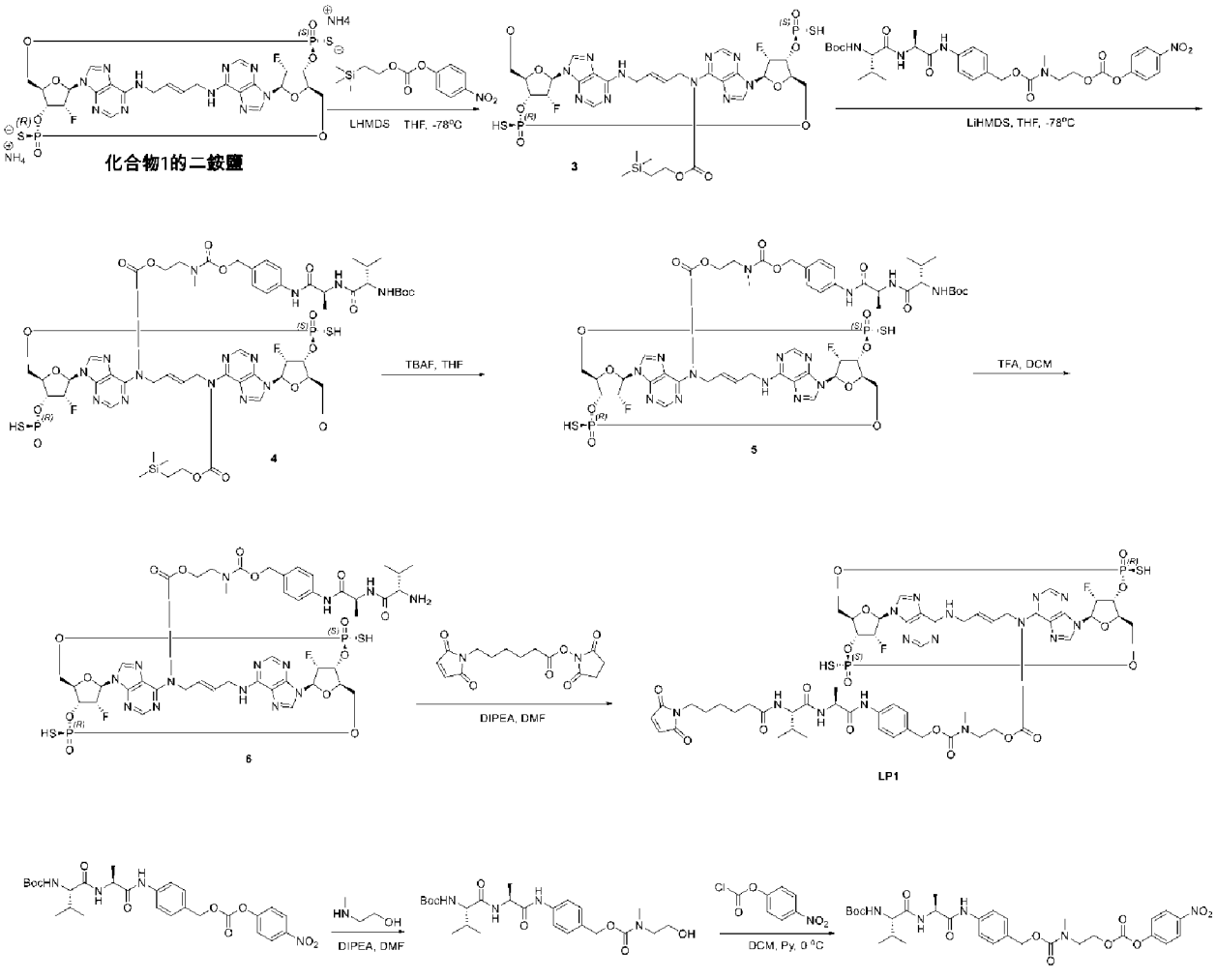
4.24 (m, 1H), 4.24 – 4.12 (m, 2H), 4.11 – 3.90 (m, 2H), 3.72 – 3.54 (m, 1H), 3.55 – 3.41 (m, 4H), 2.85 – 2.68 (m, 3H), 2.41 – 2.23 (m, 2H), 2.18 – 2.02 (m, 1H), 1.79 – 1.50 (m, 5H) 1.50 – 1.41 (m, 3H), 1.36 – 1.22 (m, 2H), 1.09 – 0.88 (m, 7H)。

【0570】 ^{31}P NMR (162 MHz, 甲醇-d_4) δ ppm 54.82, 55.19。

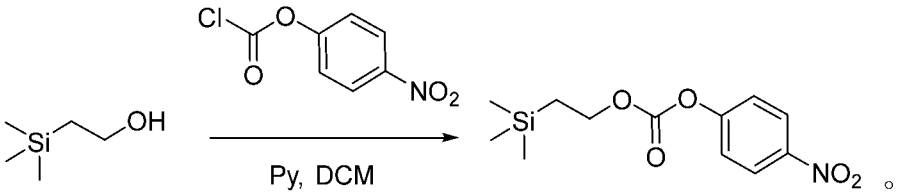
【0571】 分析型HPLC RT = 3.60 min（儀器： Shimadzu LC20AD；柱：HALO C18（4.6 mm ID x 100 mm）；流動相A：水（0.05%三氟乙酸（TFA）），流動相B：MeCN（0.05% TFA）；流速： 1.5 mL/min；溫度：40°C；梯度：10% B（t = 0.01 min），95% B（t = 8至10 min）；波長：254 nm）。

*2. **LP1**的合成*

【0572】 **LP1**的合成如下所示：



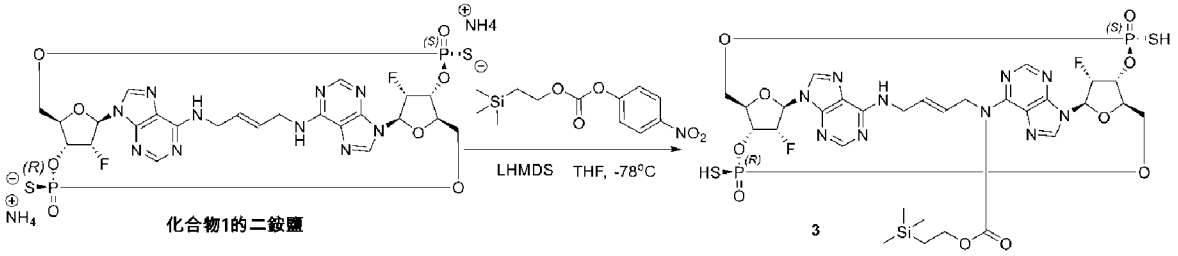
【0573】 碳酸4-硝基苯基 2-(三甲基矽基)乙基酯的合成如下所示：



。

【0574】 將4-硝基苯基氯甲酸酯（3.8 g，19 mmol）和吡啶（1.5 g，19 mmol）添加至2-(三甲基矽基)乙醇（1.50 g，12.7 mmol）在CH_2Cl_2（20 mL）中的溶液中。將所得混合物在室溫攪拌4 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用石油醚/EtOAc（1:2）洗脫）純化。這產生2.7 g呈淡黃色固體的碳酸4-硝基苯基 2-(三甲基矽基)乙基酯。

【0575】 (1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-(三甲基矽基)乙基酯（**3**）的合成如下所示：

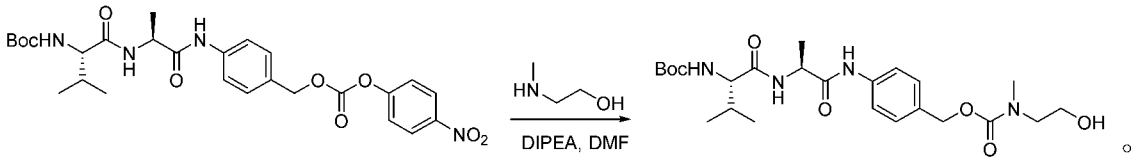


。

【0576】 在-78°C，將LiHMDS（0.80 mmol）的溶液添加至化合物1的二銨鹽（100 mg）在THF（3 mL）中的溶液中。將所得混合物在氮氣氣氛下在-78°C攪拌30 min。在-78°C，向上述混合物中滴加碳酸4-硝基苯基 2-(三甲基矽基)乙基酯（38 mg，0.13 mmol）。將所得混合物在氮氣氣氛下在-78°C攪拌1 h。將反應用AcOH（48 mg，0.804 mmol）淬滅。將所得混合物在減壓下濃

縮。將殘餘物藉由製備型TLC（使用CH_2Cl_2 / MeOH（7:1））純化。這產生80 mg呈白色固體的目標產物**3**。LC-MS (ESI): 891 $[M+H]^+$。

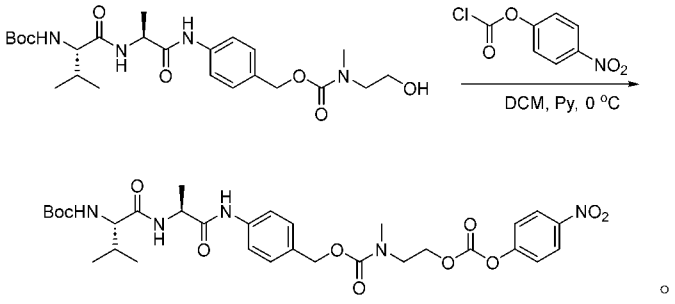
【0577】 N-[(1S)-1-{[(1S)-1-{[4-({[(2-羥基乙基)(甲基)胺基甲醯基]氧基}甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸三級丁基酯的合成如下所示：



。

【0578】 向碳酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[(三級丁氧基羰基)胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基 4-硝基苯基酯（1.2 g，2.1 mmol）和N-甲基-乙醇胺（161 mg，2.15 mmol）在DMF（10 mL）中的攪拌溶液中添加DIPEA（555 mg，4.30 mmol）。將所得混合物在室溫攪拌2 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用CH_2Cl_2 / MeOH（12:1）洗脫）純化。這產生呈白色固體的N-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-({[(2-羥基乙基)(甲基)胺基甲醯基]氧基}甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸三級丁基酯（950 mg）。LC-MS (ESI): 495.2 $[M+H]^+$。

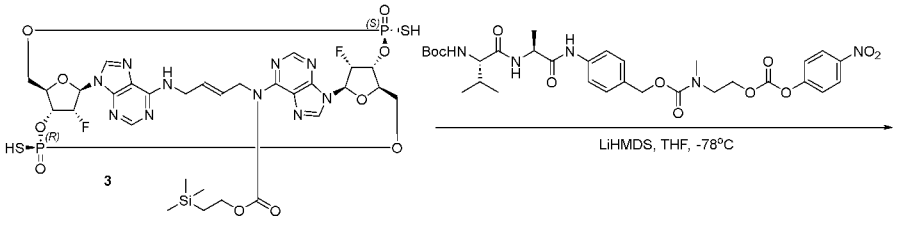
【0579】 N-[(1S)-2-甲基-1-{[(1S)-1-{[4-({[甲基({2-[(4-硝基苯氧基羰基)氧基]乙基})胺基甲醯基]氧基}甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}丙基]胺基甲酸三級丁基酯的合成如下所示：

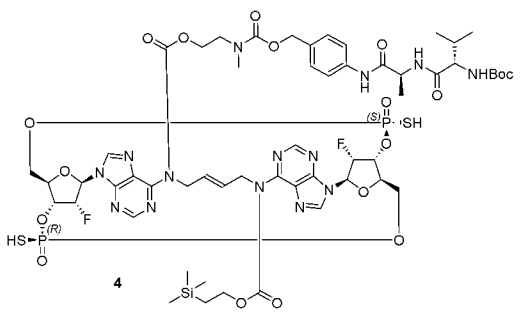


。

【0580】 向N-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-({[(2-羥基乙基)(甲基)胺基甲醯基]氧基}甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸三級丁基酯（950 mg，1.92 mmol）和4-硝基苯基氯甲酸酯（581 mg，2.88 mmol）在二氯甲烷（DCM）（30 mL）中的攪拌溶液中添加吡啶（228 mg，2.88 mmol）。將所得混合物在氮氣氣氛下在室溫攪拌過夜。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用石油醚/EtOAc（1:2）洗脫）純化。這產生呈白色固體的N-[(1*S*)-2-甲基-1-{[(1*S*)-1-{[4-({[甲基({2-[(4-硝基苯氧基羰基)氧基]乙基})胺基甲醯基]氧基}甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}丙基]胺基甲酸三級丁基酯（1.1 g）。LC-MS (ESI): 660.2 $[M+H]^+$。

【0581】 (1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13,18-二甲酸13-(2-{[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[(三級丁氧基羰基)胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}乙基) 18-[2-(三甲基矽基)乙基]酯（**4**）的合成如下所示：

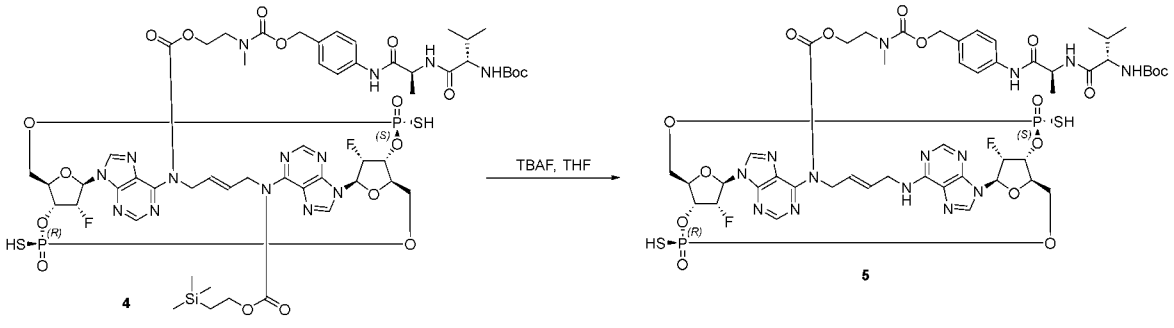




。

【0582】 在-78°C，將LiHMDS（0.54 mmol）的溶液添加至(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-(三甲基矽基)乙基酯（**3**）（80 mg，0.090 mmol）在THF（3 mL）中的混合物中。將所得混合物在氮氣氣氛下在-78°C攪拌30 min。在-78°C，向上述混合物中分批添加*N*-[(1S)-2-甲基-1-{[(1S)-1-{[4-({[甲基({2-[(4-硝基苯氧基羰基)氧基]乙基})胺基甲醯基]氧基}甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}丙基]胺基甲酸三級丁基酯（59.3 mg，0.090 mmol）。將所得混合物在氮氣氣氛下在-78°C攪拌2 h。將反應在-78°C藉由添加AcOH淬滅。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由製備型TLC（CH_2Cl_2 / MeOH 7:1）純化。這產生60 mg呈白色固體的目標產物**4**。LC-MS (ESI): 1411 $[M+H]^+$。

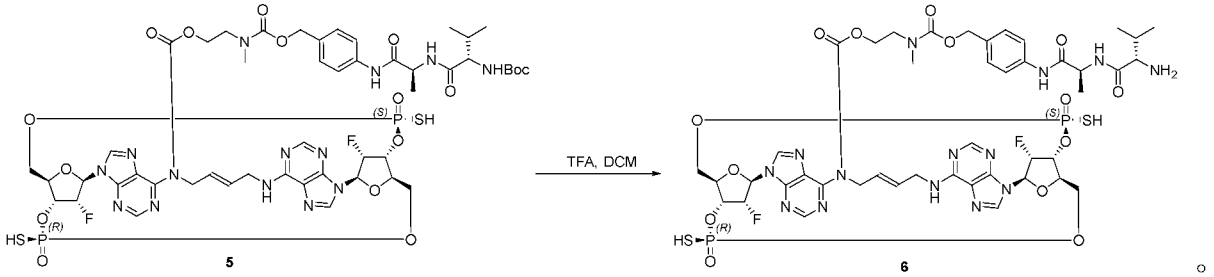
【0583】 (1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-{[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-胺基-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}-2-甲基丙基酯（**5**）的合成如下所示：



。

【0584】將四丁基氟化銨（TBAF）（0.22 mmol）的溶液添加至(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13,18-二甲酸13-(2-{[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[(三級丁氧基羰基)胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}乙基)18-[2-(三甲基矽基)乙基]酯（**4**）（60 mg，0.043 mmol）在THF（3 mL）中的混合物中。將所得混合物在室溫攪拌1 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由製備型TLC（EtOAc（1% TEA）/ MeOH 3:1）純化。這產生48 mg呈白色固體的目標產物**5**。LC-MS (ESI): 1267 $[M+H]^+$。

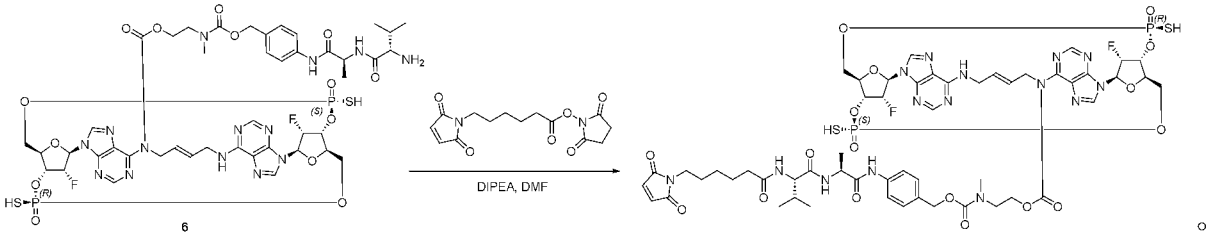
【0585】(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-{[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-胺基-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}乙基酯（**6**）的合成如下所示：



【0586】將TFA（0.5 mL）添加至(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-{[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[(三級丁氧基羰基)胺

基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}乙基酯（**5**）（40 mg，0.032 mmol）在DCM（3 mL）中的混合物中。將所得混合物在0°C攪拌1 h。將所得混合物在減壓下濃縮。這產生60 mg（粗品）呈油狀物的目標產物**6**。LC-MS (ESI): 1167 $[M+H]^+$。

【0587】(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸(1-{[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-胺基-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}環丙基)甲基酯（**LP1**）的合成如下所示：



6

【0588】將6-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)己酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（21.1 mg，0.068 mmol）和DIPEA（13.3 mg，0.102 mmol）添加至(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-{[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-胺基-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}乙基酯（**6**）（40 mg，0.034 mmol）在DMF（2 mL）中的混合物中。將所得混合物在室溫攪拌1 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用製備型TLC（CH_2Cl_2 / MeOH 5:1）洗脫）純化。將粗製產物藉由製備型HPLC用以下條件純化：柱：

XBridge Prep Phenyl OBD柱，19x250 mm，5 μm；流動相A：水（0.3% NH_4HCO_3），流動相B：MeCN；流速：25 mL/min；梯度：在10 min內25% B至40% B，40% B；波長：254 nm；RT = 9 min。這產生12.3 mg呈白色固體的目標產物**LP1**。

【0589】 LC-MS (ESI): 1360.50 $[M+H]^+$。

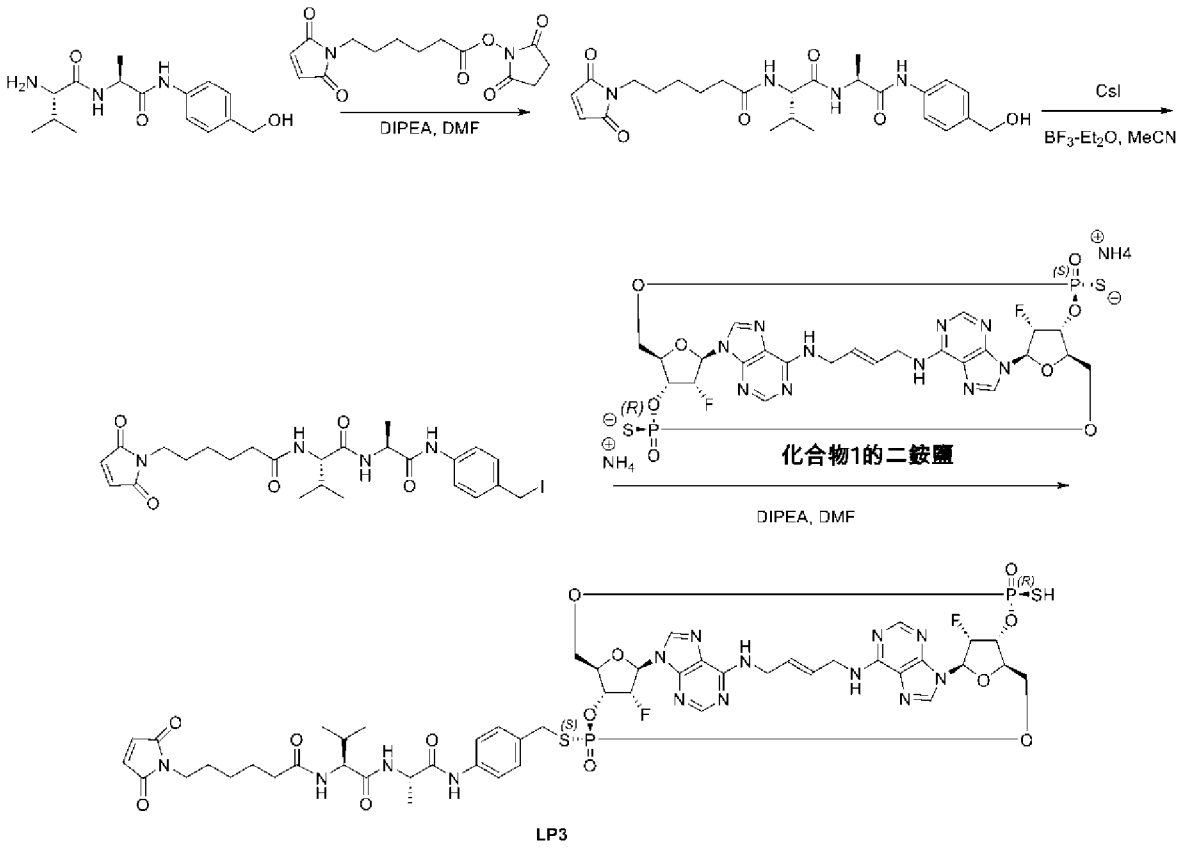
【0590】 ^{1}H NMR (400 MHz, 甲醇-d_4) δ 9.21 - 9.09 (m, 1H), 8.80 – 8.70 (m, 1H), 8.59 – 8.45 (m, 1H), 8.20 – 7.73 (m, 3H), 7.64 – 7.54 (m, 2H), 7.35 – 7.27 (m, 1H), 7.27 – 7.18 (m, 1H), 6.83 – 6.77 (m, 2H), 6.55 – 6.41 (m, 1H), 6.40 – 6.16 (m, 1H), 5.88 – 5.63 (m, 2H), 5.60 – 5.49 (m, 1H), 5.48 – 5.29 (m, 1H), 5.15 – 4.91 (m, 5H), 4.75 – 4.68 (m, 3H), 4.67 – 4.59 (m, 2H), 4.58 – 4.47 (m, 3H), 4.46 – 4.38 (m, 2H), 4.33 – 4.14 (m, 3H), 4.11 – 4.02 (m, 1H), 4.01 – 3.93 (m, 1H), 3.71 – 3.60 (m, 2H), 3.57 – 3.43 (m, 3H), 2.80 – 2.69 (m, 3H), 2.34 – 2.26 (m, 2H), 2.15 – 2.04 (m, 1H), 1.70 – 1.54 (m, 4H), 1.50 – 1.44 (m, 3H), 1.36 – 1.27 (m, 3H), 1.03 – 0.95 (m, 6H)。

【0591】 ^{31}P NMR (162 MHz, 甲醇-d_4) δ ppm 55.26, 55.71。

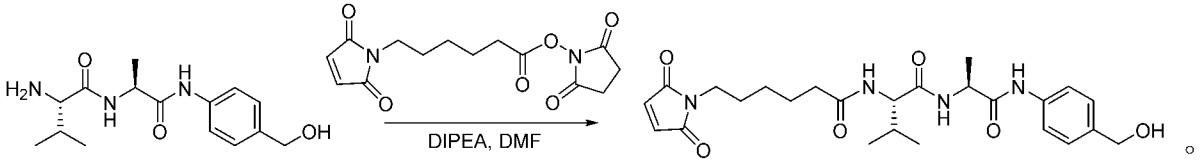
【0592】 分析型HPLC RT = 7.70 min（儀器：Shimadzu LC20AD；柱：XSelect HSS T3（4.6 mm ID x 100 mm）；流動相A：水（0.05% TFA），流動相B：MeCN（0.05% TFA）；流速： 1.2 mL/min；溫度：40°C；梯度：10% B（t=0.01 min）、50% B（t=10 min）、95% B（t=12至14 min）；波長：254 nm）。

*3. **LP3**的合成*

【0593】 **LP3**的合成如下所示：

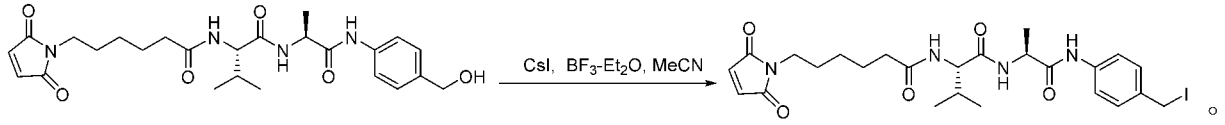


【0594】 6-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺的合成如下所示：



【0595】 將DIPEA（1.32 g，10.2 mmol）和6-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)己酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（1.58 g，5.11 mmol）添加至(2*S*)-2-胺基-*N*-[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺（1.5 g，5.1 mmol）在DMF（40 mL）中的溶液中。將所得混合物在室溫攪拌2 h。將所得混合物用EtOAc稀釋、用水洗滌並濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用CH_2Cl_2 / MeOH（10:1）洗脫）純化。這產生2.0 g呈灰白色固體的6-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)-*N*-[(1S)-1-{[(1S)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺。LC-MS (ESI): 487 $[M+H]^+$。

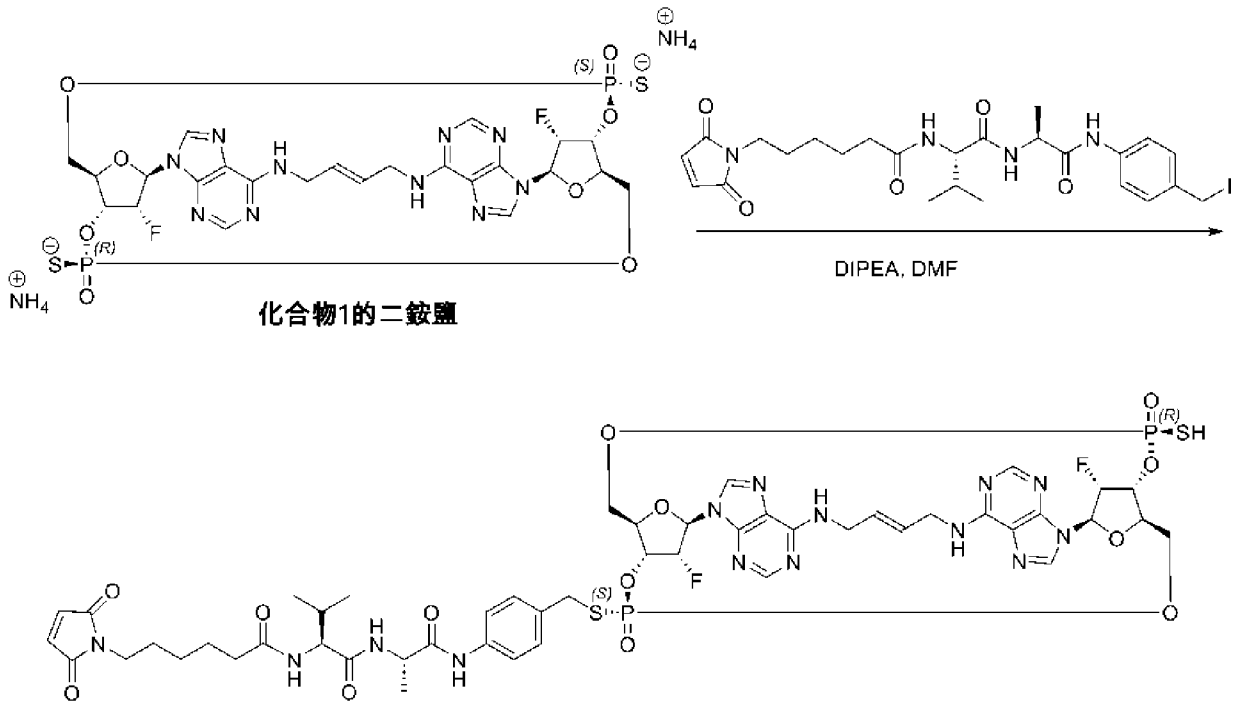
【0596】 6-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(碘甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺的合成如下所示：



。

【0597】 將碘化銫（801 mg，3.08 mmol）和三氟化硼醚合物（$BF_3 \cdot Et_2O$）（438 mg，3.08 mmol）添加至6-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺（1.0 g，2.06 mmol）在乙腈（10 mL）中的溶液中。將所得混合物在室溫攪拌2 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用CH_2Cl_2 / $^{i}PrOH$（10:1）洗脫）純化。這產生700 mg呈白色固體的6-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)-*N*-[(1S)-1-{[(1S)-1-{[4-(碘甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺。LC-MS (ESI): 597 $[M+H]^+$。

【0598】 *N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-({[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-39-氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-34-基]氫硫基}甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)己醯胺（**LP3**）的合成如下所示：



化合物1的二銨鹽

【0599】將6-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)-N-[(1S)-1-{[(1S)-1-{[4-(碘甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺（480 mg，0.805 mmol）和DIPEA（208 mg，1.61 mmol）添加至化合物1的二銨鹽（600 mg，0.805 mmol）在DMF（5 mL）中的溶液中。將所得混合物在室溫攪拌2 h。將粗製溶液藉由製備型HPLC用以下條件純化（柱：XBridge Prep OBD C18柱，19*x250 mm，5 μm；流動相A：水（0.05% FA），流動相B：MeCN；流速：25 mL/min；梯度：在8 min內32% B至32% B，32% B；波長：254 nm；RT = 13 min）。這產生108 mg目標產物**LP3**。

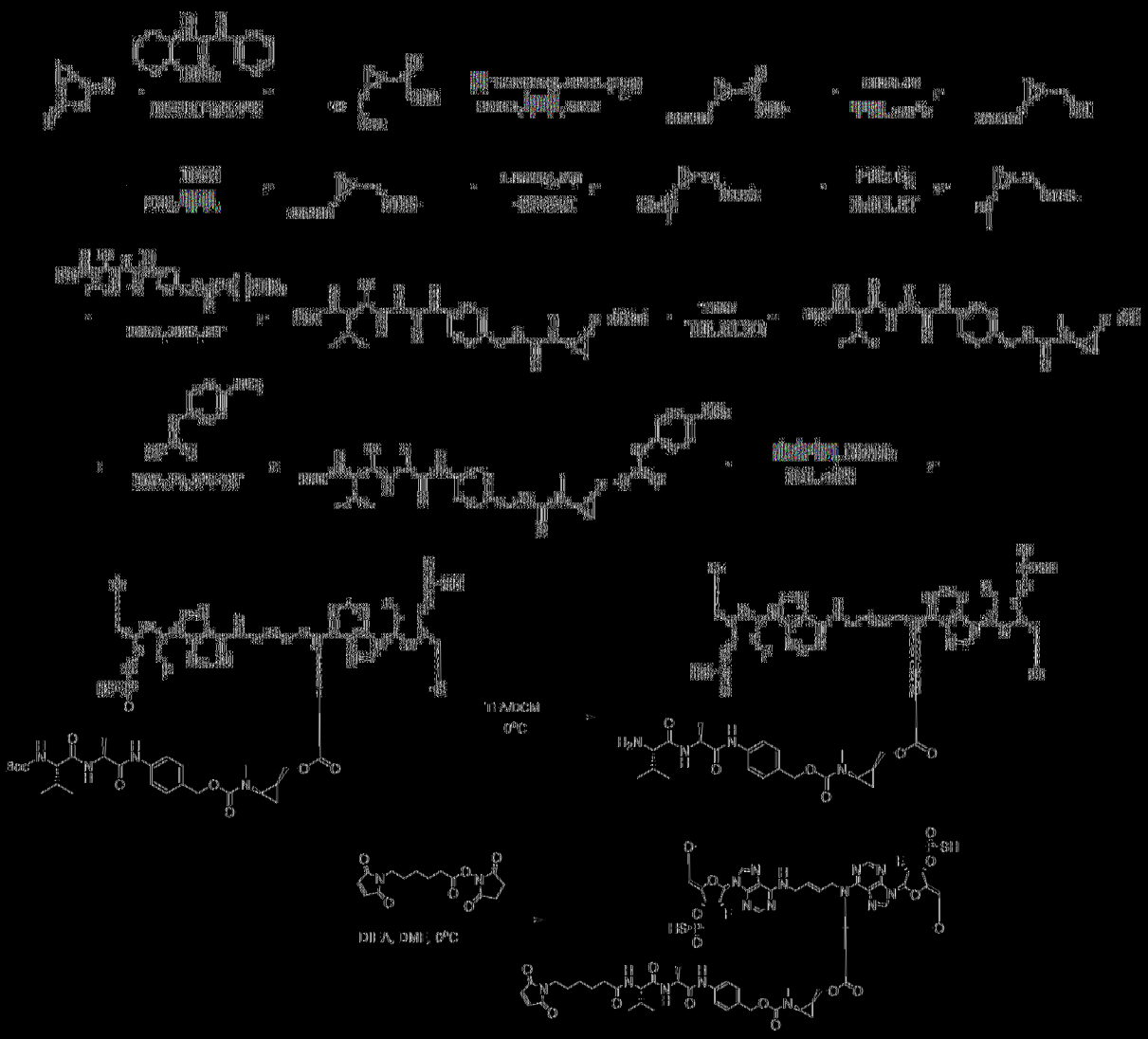
【0600】LC-MS (ESI): 1215.3 $[M+H]^+$。

【0601】^{1}H NMR (400 MHz, 甲醇-d_4) δ (ppm) = 8.77 - 8.46 (m, 1H), 8.30 - 7.90 (m, 6H), 7.40 (br s, 2H), 7.22 - 6.85 (m, 2H), 6.77 (s, 2H), 6.45 (br d, J = 14.5 Hz, 1H), 6.25 (br d, J = 19.9 Hz, 1H), 5.90 - 5.10 (m, 6H), 4.75 - 3.50 (m, 14H), , 3.46 (t, J = 7.0 Hz, 2H), 2.28 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 2.16 - 2.04 (m, 1H), 1.70 - 1.50 (m, 4H), 1.47 - 1.37 (m, 3H), 1.35 - 1.24 (m, 2H), 0.97 (t, J = 7.0 Hz, 6H)。

[0602] 分析型HPLC RT 6.74 min（儀器：Shimadzu LC20AD；柱：HALO C18（4.6 mm ID x 100 mm）；流動相A：水（0.05% TFA），流動相B：MeCN（0.05% TFA）；流速：1.5 mL/min；溫度：40°C；梯度：10% B（t 0.01 min）、70% B（t 10 min）、95% B（t 12至14 min）；波長：254 nm）。

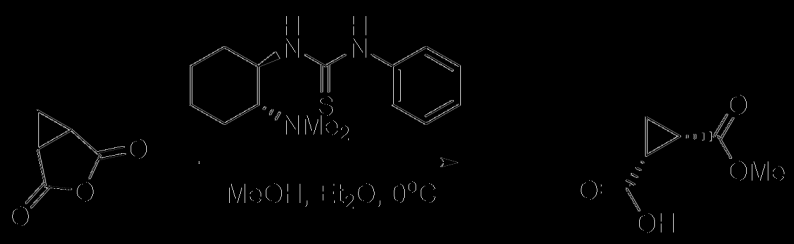
4. LP4的合成

[0603] LP4的合成如下所示：



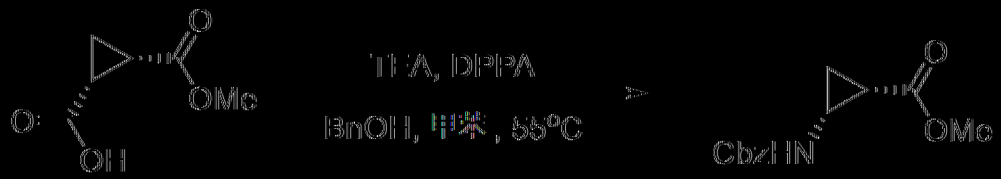
。

(1R,2S) 2-(甲氧基羰基)環丙烷-1-甲酸的合成



[0604] 在室溫，將3-[(1*R*,2*R*)-2-(二甲基胺基)環己基]-1-苯基硫脲（618.80 mg，2.231 mmol）添加至3-氧雜雙環[3.1.0]己烷-2,4-二酮（2.5 g，22.3 mmol）在Et_2O（2.50 L）中的溶液中。然後在氮氣氣氛下在0°C滴加MeOH（9.03 mL）。將所得混合物在25°C下攪拌14 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物溶解於Na_2CO_3水溶液（300 mL）中並用DCM（300 mL）洗滌以除去催化劑。將水層用HCl酸化至pH 1。將混合物用EtOAc（300 ml x 2）萃取。將有機層在減壓下濃縮。這產生呈黃色油狀物的(1*R*,2*S*)-2-(甲氧羰基)環丙烷-1-甲酸（2.5 g）。

(1*S*,2*R*)-2-{[(苄氧基)羰基]胺基}環丙烷-1-甲酸甲基酯的合成



[0605] 在室溫，向(1*R*,2*S*)-2-(甲氧基羰基)環丙烷-1-甲酸（2500 mg，17.3 mmol）在甲苯（150 mL）中的溶液中添加苯基甲醇（1875.51 mg，17.3 mmol）、TEA（1755.29 mg，17.3 mmol）和DPPA（4.7 g，17.3 mmol）。將所得混合物在55°C攪拌14 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將粗製產物藉由反相快速用以下條件純化（柱：C18；流動相A：水（1% FA），流動相B：MeCN；梯度：在30 min內5% B至25% B；220/254 nm），以得到呈白色固體的(1*S*,2*R*)-2-{[(苄氧基)羰基]胺基}環丙烷-1-甲酸甲基酯（1000 mg）。LC-MS (ESI): 250.1 [M+H]+。

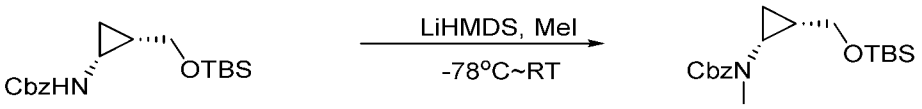
N-[(1*R*,2*S*)-2-(羥基甲基)環丙基]胺基甲酸苄基酯的合成

[0606] 在-78°C，向(1*S*,2*R*) 2-{[(下氧基)羰基]胺基}環內烷-1-甲酸甲基酯（1000 mg，4.012 mmol）在甲苯（6 mL）中的溶液中滴加DIBAL-H（16.048 mmol）。將所得混合物在N_2氣氛下在-78°C攪拌3 h。將反應藉由AcOH淬滅。將混合物用EtOAc稀釋並用H_2O洗滌。將所得混合物在減壓下濃縮。將粗製產物藉由反相快速用以下條件純化（柱：C18；流動相A：水（1% FA），流動相B：MeCN；梯度：在30 min內5 B至20 B；220/254 nm），以得到呈無色油狀物的*N*-[(1*R*,2*S*) 2-(羥基甲基)環內基]胺基甲酸下基酯（400 mg）。LC-MS (ESI): 222.1 [M+H]+。

N-[(1*R*,2*S*) 2-{[(三級丁基二甲基矽基)氧基]甲基}環內基]胺基甲酸下基酯的合成

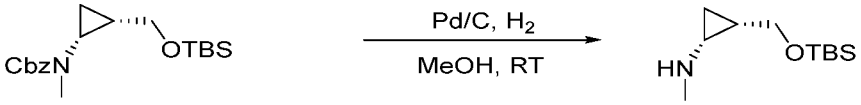
[0607] 向*N*-[(1*R*,2*S*) 2-(羥基甲基)環內基]胺基甲酸下基酯（800 mg，3.616 mmol）和咪唑（369.23 mg，5.424 mmol）在DMF（5 mL）中的溶液中添加[三級丁基(二甲基)氯矽烷（817.44 mg，5.424 mmol）。將所得混合物在25°C攪拌14 h。將所得混合物在真空下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用PE：EtOAc（5:1）洗脫）純化，以得到呈無色油狀物的*N*-[(1*R*,2*S*) 2-{[(三級丁基二甲基矽基)氧基]甲基}環內基]胺基甲酸下基酯（600 mg）。LC-MS (ESI): 336.1 [M+H]+。

N-[(1*R*,2*S*) 2-{[(三級丁基二甲基矽基)氧基]甲基}環內基]-*N*-甲基胺基甲酸下基酯的合成



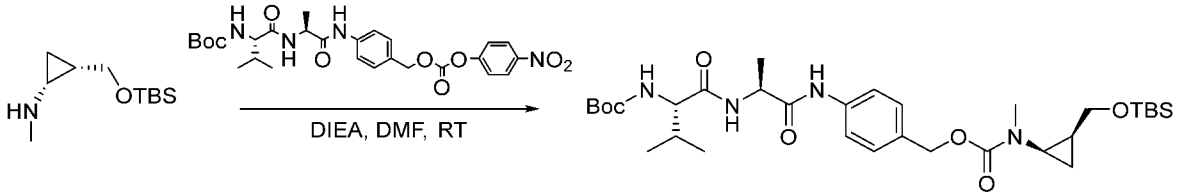
【0608】 在氮氣下在-78°C，向*N*-[(1*R*,2*S*)-2-{[(*三級丁基*二甲基矽基)氧基]甲基}環丙基]胺基甲酸苄基酯（300 mg，0.894 mmol）在THF（20 mL）中的溶液中滴加LiHMDS（2.682 mmol）。將混合物在氮氣氣氛下在-78°C攪拌30 min。在-78°C，向上述混合物中添加碘甲烷（761.48 mg，5.364 mmol）。將所得混合物在兩小時內緩慢加溫至室溫。將反應藉由AcOH淬滅。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由製備型TLC（PE : EtOAc=5:1）純化，以得到呈無色油狀物的*N*-[(1*R*,2*S*)-2-{[(*三級丁基*二甲基矽基)氧基]甲基}環丙基]-*N*-甲基胺基甲酸苄基酯（250 mg）。LC-MS (ESI): 350.2 $[M+H]^+$。

(1*R*,2*S*)-2-{[(*三級丁基*二甲基矽基)氧基]甲基}-N-甲基環丙烷-1-胺的合成



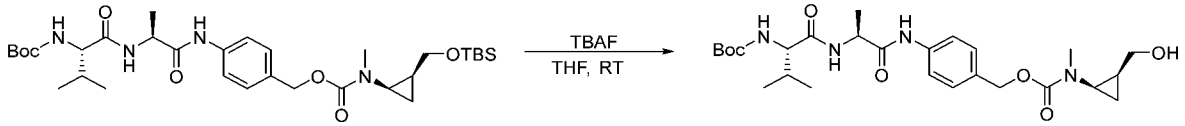
【0609】 向*N*-[(1*R*,2*S*)-2-{[(*三級丁基*二甲基矽基)氧基]甲基}環丙基]-N-甲基胺基甲酸苄基酯（400 mg，1.144 mmol）在MeOH（5 mL）中的溶液中添加Pd/C（80 mg，10%）。將所得混合物在H_2氣氛下在25°C攪拌14 h。將所得混合物過濾，將濾餅用MeOH洗滌。將濾液在減壓下濃縮。這產生呈無色油狀物的(1*R*,2*S*)-2-{[(*三級丁基*二甲基矽基)氧基]甲基}-*N*-甲基環丙烷-1-胺（200 mg）。LC-MS (ESI): 216.2 $[M+H]^+$。

***N*-[(1*R*,2*S*)-2-{[(*三級丁基*二甲基矽基)氧基]甲基}環丙基]-*N*-甲基胺基甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基酯的合成**



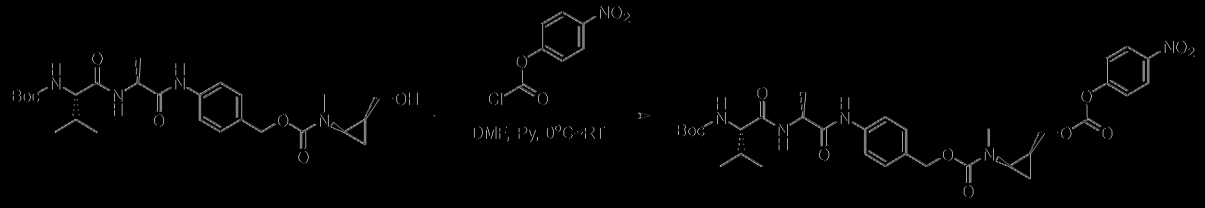
【0610】 向(1*R*,2*S*)-2-{[(*三級丁基*二甲基矽基)氧基]甲基}-*N*-甲基環丙烷-1-胺（231.38 mg，1.074 mmol）和((*S*)-3-甲基-1-(((*S*)-1-((4-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯基)胺基)-1-側氧基丙烷-2-基)胺基)-1-側氧基丁烷-2-基)胺基甲酸*三級丁基*酯（400 mg，0.716 mmol）在DMF（4 mL）中的溶液中添加DIEA（370.21 mg，2.864 mmol）。將所得混合物在25°C攪拌14 h。將濾液在減壓下濃縮。將殘餘物藉由製備型TLC（DCM : EtOAc=4:1）純化，以得到呈黃色固體的*N*-[(1*R*,2*S*)-2-{[(*三級丁基*二甲基矽基)氧基]甲基}環丙基]-*N*-甲基胺基甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基酯（350 mg）。LC-MS (ESI): 635.4 $[M+H]^+$。

***N*-[(1*R*,2*S*)-2-(羥基甲基)環丙基]-*N*-甲基胺基甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基酯的合成**



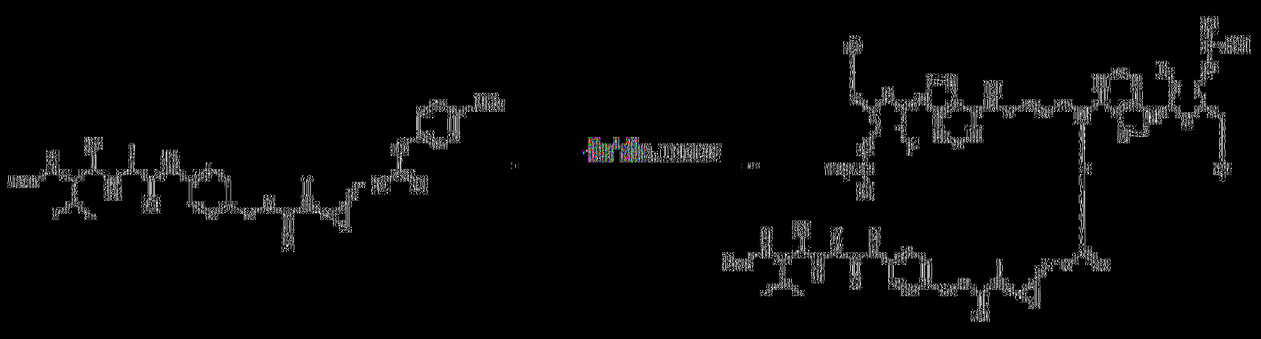
【0611】 在室溫，向*N*-[(1*R*,2*S*)-2-{[(*三級丁基*二甲基矽基)氧基]甲基}環丙基]-*N*-甲基胺基甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基酯（300 mg，0.473 mmol）在THF（3 mL）中的溶液中添加TBAF（370.64 mg，1.419 mmol）。將所得混合物在室溫攪拌3 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由製備型TLC（PE / EtOAc = 1:4）純化，以得到呈白色固體的*N*-[(1*R*,2*S*)-2-(羥基甲基)環丙基]-*N*-甲基胺基甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[(*三級丁氧基*羰基)胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基酯（220 mg）。柱：CHIRAL ART Cellulose-SC，2*25 cm，5 μm；流動相A：Hex（0.5% 2M NH_3-MeOH）—HPLC，流動相B：EtOH: DCM=1: 1—HPLC；流速： 20 mL/min；梯度：在16 min內30% B至30% B；波長： 220/254 nm；LC-MS (ESI): 521.3 $[M+H]^+$。

碳酸[(1*S*,2*R*)-2-{[(4-{[(2*S*)-2-{[(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}-3-甲基丁醯]胺基}丙醯]胺基}苯基]甲氧基}羰基)胺基](甲基)胺基}環丙基]甲基4-硝基苯基酯的合成



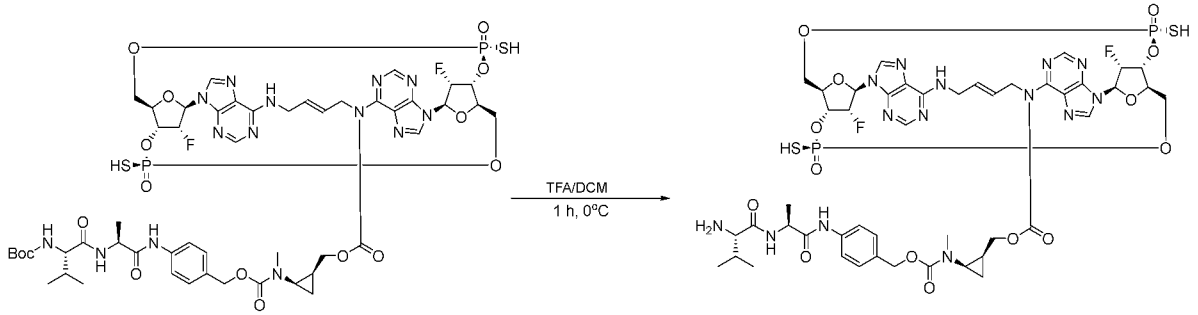
[0612] 向4-硝基苯氯甲酸酯（309.72 mg，1.536 mmol）和*N*-[(1*R*,2*S*)-2-(羥基甲基)環丙基]-*N*-甲基胺基甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[(三級丁氧羰基)胺基]-3-甲基丁醯]胺基]丙醯胺基}苯基甲酯（400 mg，0.768 mmol）在DCM（3 mL）中的溶液中添加吡啶（121.55 mg，1.536 mmol）。將混合物在N2氣氛下在25°C攪拌6 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用（PE：EtOAc = 1:2）洗脫）純化，以得到呈白色固體的碳酸[(1*S*,2*R*)-2-{[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}-3-甲基丁醯]胺基}苯基]甲氧基}羰基)胺基](甲基)胺基}環丙基]甲基4-硝基苯基酯（240 mg）。LC-MS (ESI): 686.3 [M+H]+。

(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{17,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(1*S*,2*R*)-2-{[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}-3-甲基丁醯]胺基}苯基]甲氧基}羰基)胺基](甲基)胺基}環丙基]甲基酯的合成



【0613】在氮氣氣氛下在-78°C將化合物1（50 mg，0.067 mmol）在THF（3 mL）中的溶液用LiHMDS（0.402 mmol）處理30 min，隨後在-78°C滴加碳酸[(1*S*,2*R*)-2-{[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}環丙基]甲基 4-硝基苯基酯（46 mg，0.067 mmol）在THF（0.5 mL）中的溶液。將混合物在一小時內緩慢加溫至室溫。將反應藉由AcOH淬滅。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由製備型TLC（EtOAc（1% TEA）：MeOH=4:1）純化，以得到呈白色固體的(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(1*S*,2*R*)-2-{[({4-[(2*S*)-2-[(2S)-2-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}環丙基]甲基酯（40 mg）。LC-MS (ESI): 1293.4 $[M+H]^+$。

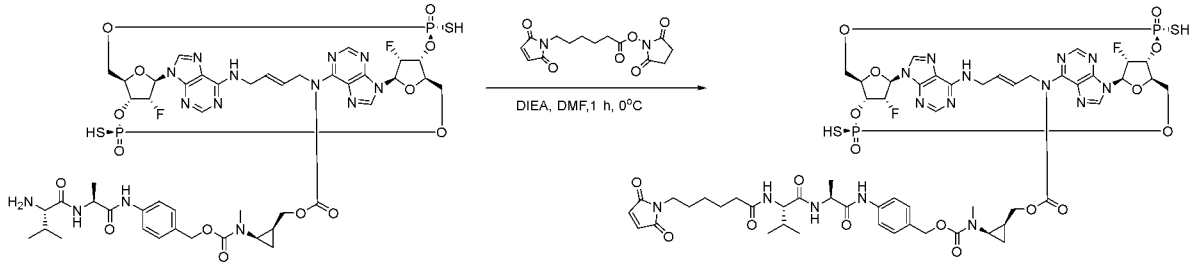
(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(1*S*,2*R*)-2-{[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-胺基-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}環丙基]甲基酯的合成



【0614】將(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-

4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(1*S*,2*R*)-2-{[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}環丙基]甲基酯（35 mg，0.027 mmol）和TFA（0.3 mL）在DCM（1.8 mL）中的溶液在0°C攪拌1 h。將所得混合物在真空下濃縮。粗製產物無需進一步純化即可直接用於下一步驟。LC-MS (ESI): 1193.3 $[M+H]^+$。

(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(1*S*,2*R*)-2-{[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}環丙基]甲基酯（LP4）的合成



【0615】 向(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*) -29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(1*S*,2*R*)-2-{[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-胺基-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}環丙基]甲基酯（35 mg，0.029 mmol）和6-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)己酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（9.04 mg，0.029 mmol）在DMF（3 mL）

中的混合物中添加DIEA（18.96 mg，0.145 mmol）。將混合物在25°C攪拌2 h。將所得混合物在真空下濃縮。將殘餘物藉由製備型TLC（EtOAc（1%TEA）:MeOH=4:1）和製備型HPLC用以下條件純化（柱：Xbridge Prep Phenyl OBD柱，19x250 mm，5 μm；流動相A：水（50 mmol HCO_2NH_4），流動相B：MeCN；流速：25 mL/min；梯度：在10 min內25% B至35% B，35% B；波長：254 nm），以得到呈白色固體的(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(1*S*,2*R*)-2-{[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}環丙基]甲基酯（**LP4**）（7.6 mg）。

【0616】 LC-MS (ESI): 1386.40 $[M+H]^+$。

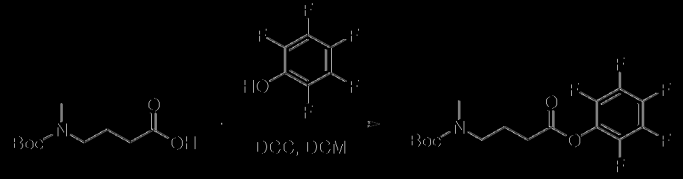
【0617】 ^{1}H NMR (300 MHz, 甲醇-d_4) δ 8.99 – 8.61 (m, 3H), 8.20 – 8.03 (m, 1H), 7.65 – 7.49 (m, 2H), 7.35 – 7.14 (m, 2H), 6.79 (s, 2H), 6.53 – 6.23 (m, 2H), 6.12 – 5.96 (m, 1H), 5.93 – 5.55 (m, 2H), 5.55 – 5.27 (m, 1H), 5.16 – 4.90 (m, 3H), 4.75 – 4.57 (m, 4H), 4.55 – 4.33 (m, 4H), 4.24 – 4.13 (m, 1H), 4.15 – 3.89 (m, 4H), 3.83 – 3.53 (m, 1H), 3.53 – 3.42 (m, 2H), 2.82 (s, 3H), 2.78 – 2.64 (m, 1H), 2.37 – 2.23 (m, 2H), 2.23 – 1.99 (m, 1H), 1.73 – 1.52 (m, 4H), 1.52 – 1.42 (m, 3H), 1.40 – 1.20 (m, 4H), 1.09 – 0.85 (m, 7H), 0.72 – 0.59 (m, 1H)。

*5. **LP5**的合成*

【0618】 **LP5**的合成如下所示：

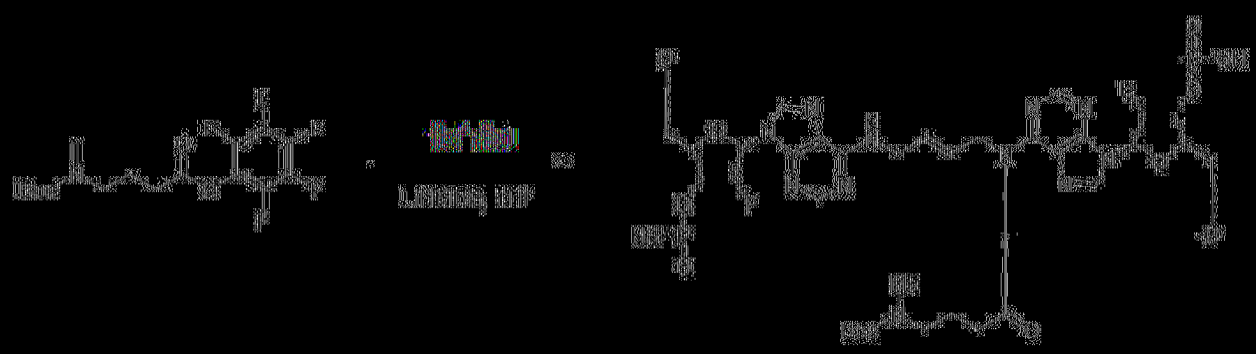
。

4-[(三級丁氧羰基)(甲基)胺基]丁酸2,3,4,5,6-五氟苯基酯的合成



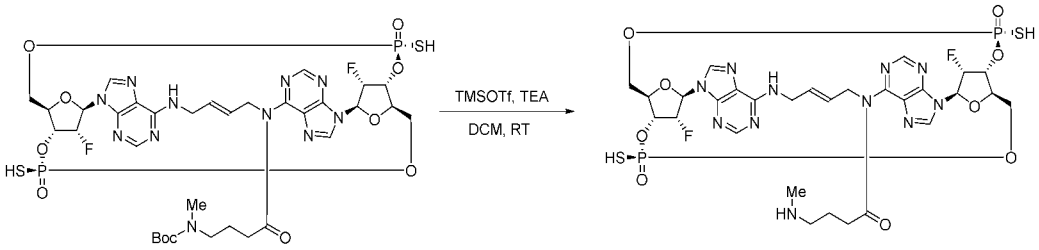
[0619] 將DCC（1.90 g，9.206 mmol）添加至4-[(三級丁氧羰基)(甲基)胺基]丁酸（1 g，4.603 mmol）和五氟苯酚（847.19 mg，4.603 mmol）在DCM（15 mL）中的混合物中。將所得混合物在25°C攪拌2 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠層析法（用PE/EtOAc（7:1）洗脫）純化。這產生1.5 g呈白色固體的4-[(三級丁氧羰基)(甲基)胺基]丁酸2,3,4,5,6-五氟苯基酯。LC-MS (ESI): 384 [M+H]+。

N-{4-[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-基]-4-側氧基丁基}-*N*-甲基胺基甲酸三級丁酯的合成



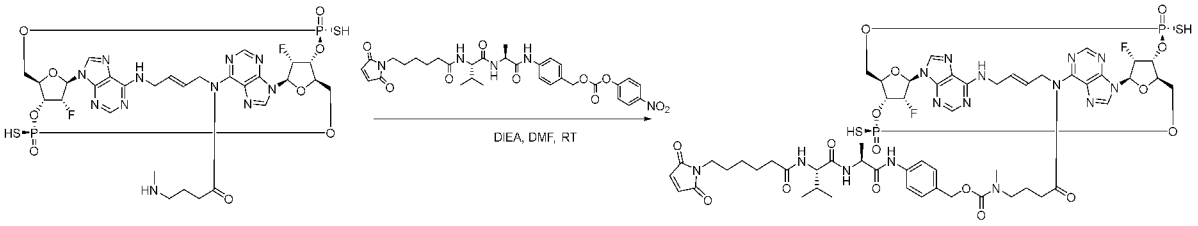
[0620] 在-78°C，將LiHMDS（0.268 mmol）添加至化合物1（50 mg，0.067 mmol）在THF（2 mL）中的混合物中。將所得混合物在-78°C攪拌30 min。在-78°C，向上述混合物中滴加4-[(三級丁氧羰基)(甲基)胺基]丁酸2,3,4,5,6-五氟苯基酯（25 mg，0.067 mmol）。將所得混合物在1 h內緩慢加溫至0°C。在-78°C向上述混合物中添加LiHMDS（0.134 mmol）並攪拌5 min。在-78°C向混合物中滴加4-[(三級丁氧羰基)(甲基)胺基]丁酸2,3,4,5,6-五氟苯基酯（25 mg，0.067 mmol）。將所得混合物在1 h內緩慢加溫至0°C。將反應用AcOH淬滅。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由製備型TLC（DCM/MeOH = 7:1）純化。這產生40 mg黃色固體的*N*-{4-[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-基]-4-側氧基丁基}-*N*-甲基胺基甲酸三級丁酯。LC-MS (ESI): 946 [M+H]$^+$。

(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-13-[4-(甲基胺基)丁基]-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-34,39-二酮的合成



【0621】將TMSOTf（41 mg，0.185 mmol）添加至*N*-{4-[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*) -29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-基]-4-側氧基丁基}-*N*-甲基胺基甲酸三級丁基酯（35 mg，0.037 mmol）和TEA（11 mg，0.111 mmol）在DCM（2 mL）中的混合物中。將所得混合物在室溫攪拌30 min。將所得混合物在減壓下濃縮。這產生呈黃色油狀物的(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-13-[4-(甲基胺基)丁醯基]-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-34,39-二酮的粗品。LC-MS (ESI): 846 $[M+H]^+$。

_N_-{4-[(1_R_,3_R_,15_E_,28_R_,29_R_,30_R_,31_R_,34_S_,36_R_,39_R_,41_R_) -29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-基]-4-側氧基丁基}-*N*-甲基胺基甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1基)己醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基酯（LP5）的合成



【0622】將DIEA（18.34 mg，0.140 mmol）添加至(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-13-[4-(甲基胺基)丁醯基]-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-34,39-二酮（30 mg，0.035 mmol）和碳酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)己醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基 4-硝基苯基酯（23.12 mg，0.035 mmol）在DMF（1 mL）中的混合物中。將所得混合物在25ºC攪拌2 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由以下純化：矽膠柱層析法（用製備型TLC（1%TEA）CH_2Cl_2 / MeOH 7:1洗脫）和製備型HPLC（柱：XBridge Prep Phenyl OBD柱，19x250 mm，5 μm；流動相A：水（50 mmol HCO_2NH_4），流動相B：MeCN；流速：25 mL/min；梯度：在10 min內25% B至40% B，40% B；波長：254 nm）。這產生10.1 mg呈白色固體的*N*-{4-[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*) -29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-基]-4-側氧基丁基}-*N*-甲基胺基甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1基)己醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基酯（**LP5**）。

【0623】LC-MS (ESI): 1358.50 $[M+H]^+$。

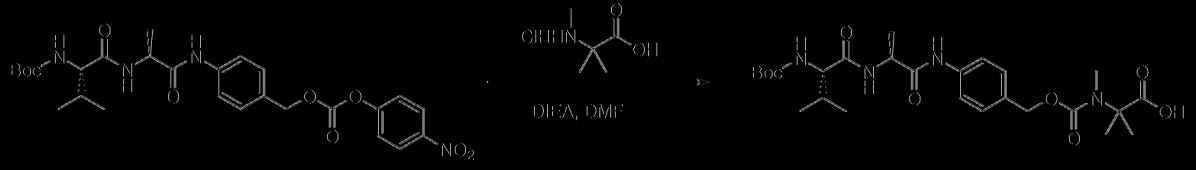
【0624】^{1}H NMR (400 MHz, 甲醇-d_4) δ 9.02 – 8.62 (m, 3H), 8.19 (s, 1H), 7.56 (m, 2H), 7.36 – 7.16 (m, 2H), 6.79 (s, 2H), 6.52 – 6.30 (m, 2H), 6.11 – 5.76 (m, 1H), 5.73 – 5.44 (m, 2H), 5.08 – 4.95 (m, 2H), 4.72 – 4.41 (m, 9H), 4.20 – 3.92 (m, 3H), 3.75 – 3.40 (m, 4H), 3.28 – 3.16 (m, 4H), 2.81 (s, 3H), 2.70 – 2.55 (m, 2H), 2.49

· · 2.03 (m, 4H), 1.93 · · 1.77 (m, 2H), 1.68 · · 1.60 (m, 3H), 1.59 · · 1.50 (m, 2H), 1.48 · · 1.41 (m, 4H), 1.36 · · 1.25 (m, 4H), 1.03 · · 0.95 (m, 6H)。

6. LP6的合成

[0625] LP6的合成如下所示：

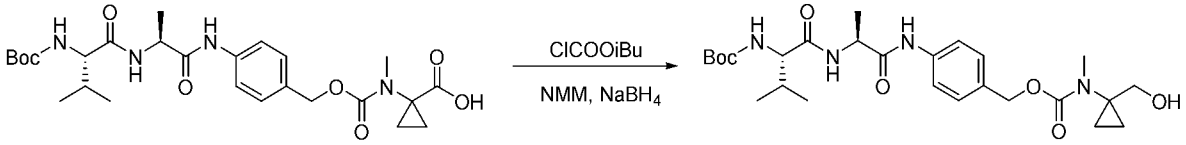
1-{[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]-5-脲基戊醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}環丙烷-1-甲酸的合成



[0626] 將DIEA（231.38 mg，1.790 mmol）和1-(甲基胺基)環丙烷-1-甲酸鹽酸鹽（136 mg，0.895 mmol）添加至碳酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]-5-脲基戊醯胺基]苯基}甲基4-硝基苯基酯（500 mg，0.895 mmol）在DMF（5 mL）中的混合物中。將所得混合物在60°C攪拌14 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用DCM / MeOH（10:1）洗脫）純化。這產生350 mg呈白色固體的1-{[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)

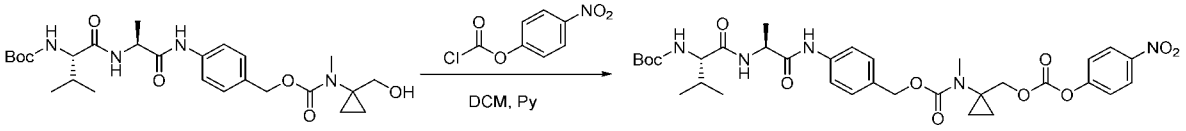
羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}環丙烷-1-甲酸。LC-MS (ESI): 535 $[M+H]^+$。

_N_-[1-(羥基甲基)環丙基]-_N_-甲基胺基甲酸{4-[(2_S_)-2-[(2_S_)-2-{[(_三級丁氧基_)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基酯的合成



【0627】 在0°C，將2-甲基丙基氯甲酸酯（126 mg，0.925 mmol）和4-甲基啉（94 mg，0.925 mmol）添加至1-{[({4-[(2_S_)-2-[(2_S_)-2-{[(_三級丁氧基_)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}環丙烷-1-甲酸（330 mg，0.617 mmol）在DME（5 mL）中的混合物中。將所得混合物在0°C攪拌20 min。向上述混合物中滴加在H_2O（1 mL）中的$NaBH_4$（47 mg，1.234 mmol）。將所得混合物在25°C攪拌2 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用DCM / MeOH（10:1）洗脫）純化。這產生260 mg呈白色固體的_N_-[1-(羥基甲基)環丙基]-_N_-甲基胺基甲酸{4-[(2_S_)-2-[(2_S_)-2-{[(_三級丁氧基_)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基酯。LC-MS (ESI): 521 $[M+H]^+$。

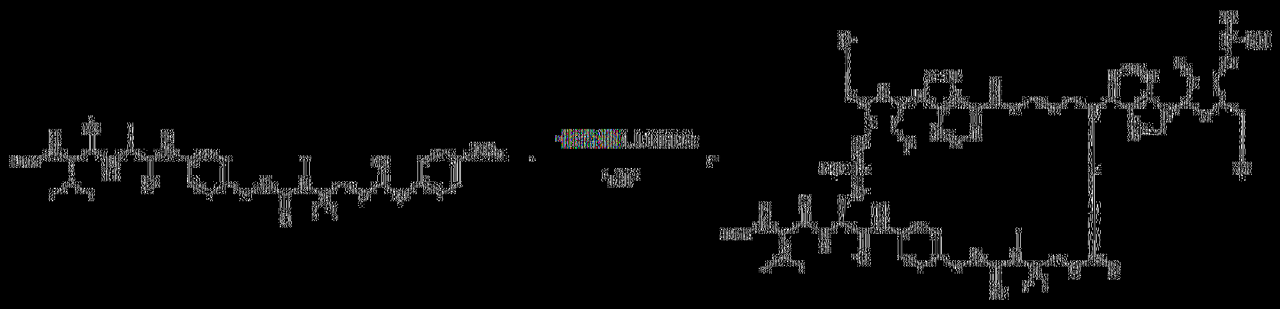
碳酸(1-{[({4-[(2_S_)-2-[(2_S_)-2-{[(_三級丁氧基_)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}環丙基)甲基 4-硝基苯基酯的合成



【0628】 將4-硝基苯基氯甲酸酯（140 mg，0.692 mmol）和吡啶（55 mg，0.692 mmol）添加至_N_-[1-(羥基甲基)環丙基]-_N_-甲基胺基甲酸{4-[(2_S_)-2-[(2_S_)-2-{[(_三級丁氧基_)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基酯（240 mg，0.461 mmol）在DCM（5 mL）中的混合物中。將所得混合物在25°C攪拌4

h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用PE / EtOAc（1:2）洗脫）純化。這產生250 mg呈灰色固體的碳酸(1-{[(4-{(2*S*)-2-{(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基}苯甲醯胺基}苯基)胺基](甲基)胺基}環丙基)甲基 4-硝基苯基酯。LC-MS (ESI): 686 [M+H]+。

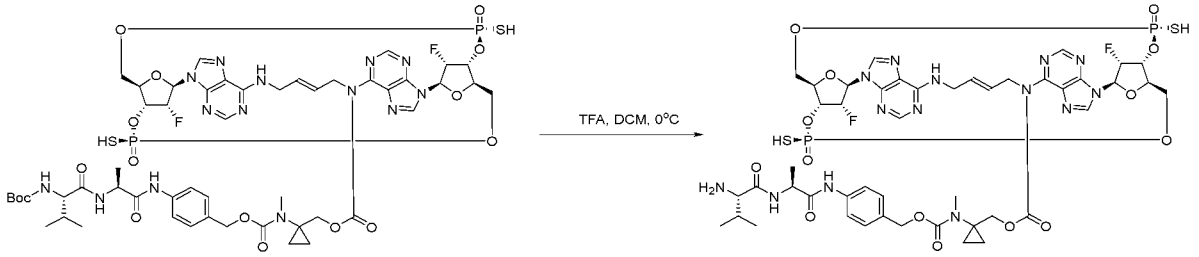
(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸(1-{[(4-{(2*S*)-2-{(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基}苯甲醯胺基}苯基)胺基](甲基)胺基}環丙基)甲基酯的合成



[0629] 在-78°C，將LiHMDS（0.75 mL，0.752 mmol）添加至化合物1（70 mg，0.094 mmol）在THF（5 mL）中的混合物中。將所得混合物在-78°C攪拌20 min。在-78°C，向上述混合物中滴加碳酸(1-{[(4-{(2*S*)-2-{(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基}苯甲醯胺基}苯基)胺基](甲基)胺基}環丙基)甲基 4-硝基苯基酯（65 mg，0.094 mmol）。將所得混合物在-78°C攪拌2 h。將反應藉由添加AcOH淬滅。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由製備型TLC（DCM / MeOH 7:1）純化。這產生55 mg呈灰色固體的(1*R*,3*R*,15,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-

壬烯-13-甲酸(1-{[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}環丙基)甲基酯。LC-MS (ESI): 1293 $[M+H]^+$。

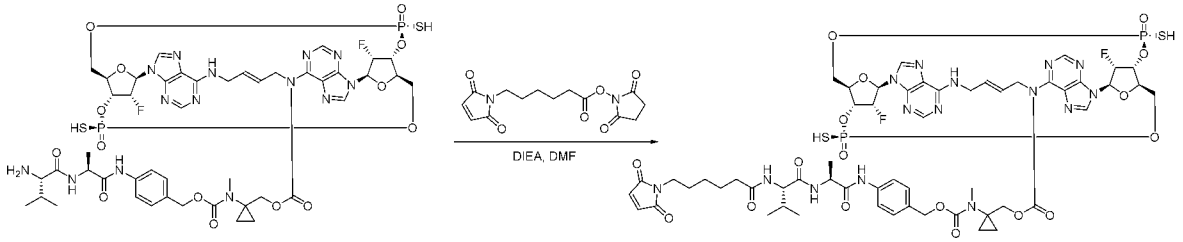
(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸(1-{[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-胺基-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}環丙基)甲基酯的合成



【0630】將TFA（0.5 mL）添加至(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸(1-{[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[(*三級丁氧基*羰基)胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}環丙基)甲基酯（50 mg，0.039 mmol）在DCM（3 mL）中的混合物中。將所得混合物在0°C攪拌1 h。將所得混合物在減壓下濃縮。這產生呈油狀物的(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸(1-{[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-胺基-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}環丙基)甲基酯

基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}環丙基)甲基酯的粗品。LC-MS (ESI): 1193[M+H]$^+$。

(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸(1-{[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)己醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}環丙基)甲基酯（LP6）的合成



【0631】 在25ºC，將6-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)己酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（21 mg，0.068 mmol）和DIEA（13 mg，0.102 mmol）添加至(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4. 1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸(1-{[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-胺基-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}環丙基)甲基酯（40 mg，0.034 mmol）在DMF（1.5 mL）中的混合物中。將所得混合物在25ºC攪拌1 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用製備型TLC（DCM / MeOH 5:1）洗脫）純化。將粗製產物藉由製備型HPLC用以下條件純化（柱：XBridge Prep Phenyl OBD柱，19x250 mm，5 μm；流動相A：水（50 mmol HCO_2NH_4），流動相B：MeCN；流速：25 mL/min；梯度：在10 min內25% B至40% B；波長：254 nm）。這產生16.3 mg呈白色固體的

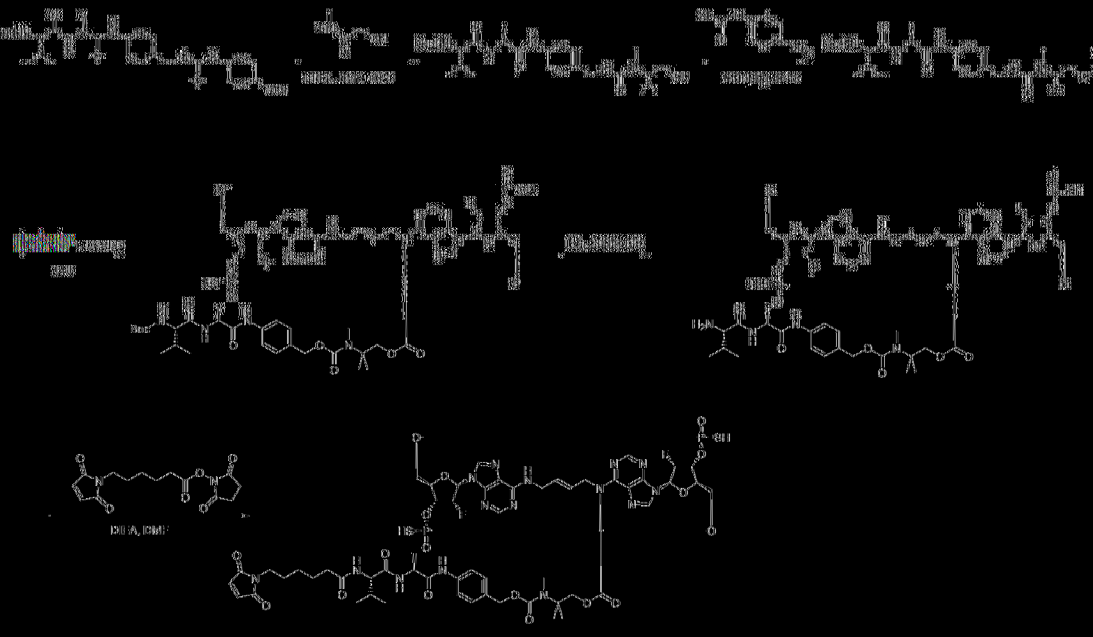
(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-二氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸(1-{[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}環丙基)甲基酯（DP6）。

[0632] LC-MS (ESI): 1386.50 [M+H]$^+$。

[0633] ^{1}H NMR (300 MHz, 甲醇-*d*$_4$) δ 9.03 – 8.63 (m, 3H), 8.28 – 7.98 (m, 2H), 7.57 (d, *J* = 7.4 Hz, 2H), 7.41 – 7.11 (m, 2H), 6.80 (s, 2H), 6.58 – 6.21 (m, 2H), 6.10 – 5.25 (m, 4H), 4.73 – 4.35 (m, 9H), 4.29 – 3.87 (m, 6H), 3.83 – 3.41 (m, 5H), 2.82 – 2.51 (m, 3H), 2.36 – 2.19 (m, 2H), 2.17 – 1.99 (m, 1H), 1.70 – 1.50 (m, 3H), 1.51 – 1.17 (m, 9H), 1.03 – 0.93 (m, 6H), 0.91 – 0.80 (m, 6H)。

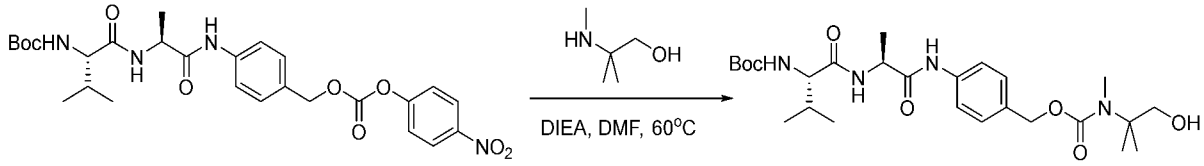
7. DP7的合成

[0634] DP7的合成如下所示：



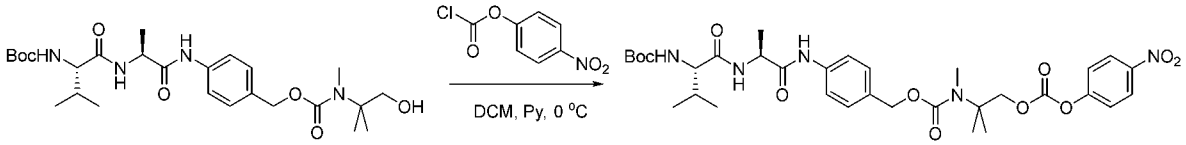
。

_N_-[(1_S_)-1-{[(1_S_)-1-{[4-({[(1-羥基-2-甲基丙烷-2-基)(甲基)胺基甲醯基]氧基}甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸_三級丁基_酯的合成



【0635】將2-甲基-2-(甲基胺基)丙烷-1-醇（185 mg，1.790 mmol）和DIEA（463 mg，3.580 mmol）添加至碳酸{4-[(2_S_)-2-[(2_S_)-2-[(_三級丁氧基_羰基)胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基 4-硝基苯基酯（1 g，1.790 mmol）在DMF（5 mL）中的混合物中。將所得混合物在60°C攪拌14 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用DCM / MeOH（10:1）洗脫）純化。這產生560 mg呈白色固體的_N_-[(1_S_)-1-{[(1_S_)-1-{[4-({[(1-羥基-2-甲基丙烷-2-基)(甲基)胺基甲醯基]氧基}甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸_三級丁基_酯。LC-MS (ESI): 523 $[M+H]^+$。

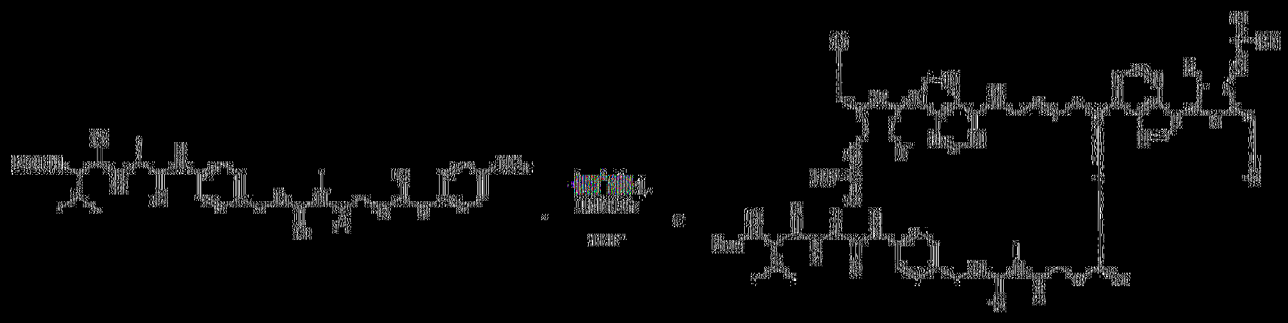
_N_-[(1_S_)-2-甲基-1-{[(1_S_)-1-{[4-({[甲基({2-甲基-1-[(4-硝基苯氧基羰基)氧基]丙烷-2-基})胺基甲醯基]氧基}甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}丙基]胺基甲酸_三級丁基_酯的合成



【0636】將4-硝基苯基氯甲酸酯（313 mg，1.549 mmol）和吡啶（123 mg，1.549 mmol）添加至_N_-[(1_S_)-1-{[(1_S_)-1-{[4-({[(1-羥基-2-甲基丙烷-2-基)(甲基)胺基甲醯基]氧基}甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸_三級丁基_酯（540 mg，1.033 mmol）在DCM（5 mL）中的溶液中。將所得混合物在氮氣氣氛下在25°C攪拌4 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用PE / EtOAc（1:2）洗脫）純化。這產生630 mg呈白色固

態的*N*-[(1*S*)-2-甲基-1-{[(1*S*)-1-{[4-({[甲基({2-甲基-1-[(4-硝基苯氧基)羰基]丙烷-2-基}胺基)甲醯基]氧基}甲基)苄基]胺基}甲醯基]丙基}胺基甲酸三級丁酯。LC-MS (ESI): 688 [M+H]⁺。

(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1³,³⁶.1²⁸,³¹.0⁴,⁸.0⁷,¹².0¹⁹,²⁴.0²³,²⁷]四十三烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-{[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苄基}(甲基)胺基)甲基]-2-甲基丙酯的合成

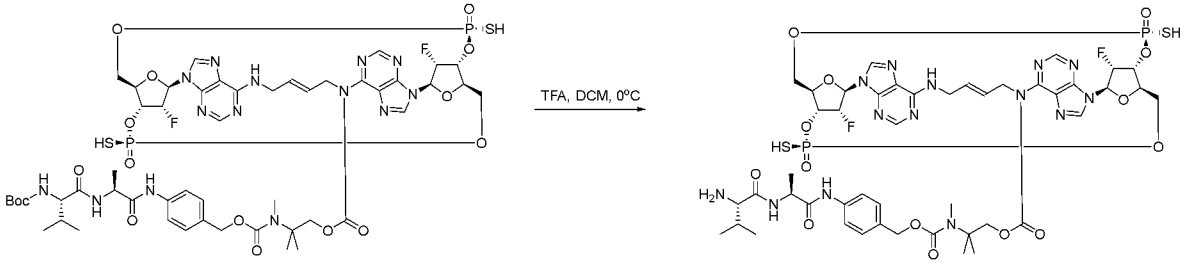


[0637] 將LiHMDS（0.75 mL，0.752 mmol）添加至化合物1（70 mg，0.094 mmol）在THF（3 mL）中的溶合物中。將所得溶合物在氮氣氣氛下在-78°C攪拌30 min。在-78°C，向上述溶合物中滴加*N*-[(1*S*)-2-甲基-1-{[(1*S*)-1-{[4-({[甲基({2-甲基-1-[(4-硝基苯氧基)羰基]丙烷-2-基}胺基)甲醯基]氧基}甲基)苄基]胺基}甲醯基]丙基}胺基甲酸三級丁酯（65 mg，0.094 mmol）。將所得溶合物在氮氣氣氛下在-78°C攪拌2 h。將反應物中添加AcOH淬滅。將所得溶合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由製備型TLC（DCM / MeOH 7:1）純化。這產生45 mg呈白色固體的

(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1³,³⁶.1²⁸,³¹.0⁴,⁸.0⁷,¹².0¹⁹,²⁴.0²³,²⁷]四十三烷-

5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-{[({4-[(2S)-2-[(2S)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}-2-甲基丙基酯。LC-MS (ESI): 1295 $[M+H]^+$。

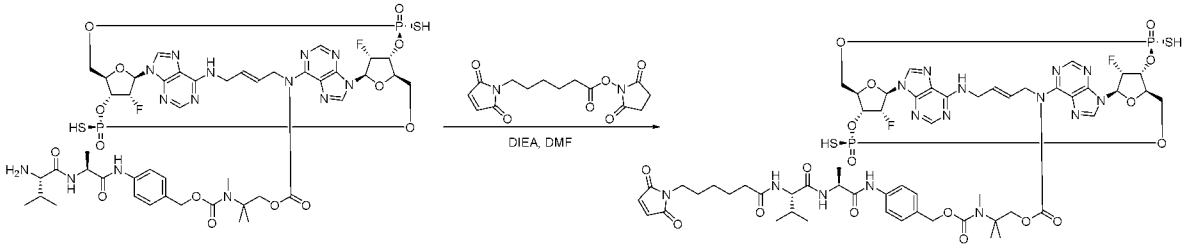
(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-{[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-胺基-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}-2-甲基丙基酯的合成



【0638】將TFA（0.5 mL）添加至(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-{[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}-2-甲基丙基酯（35 mg，0.027 mmol）在DCM（3 mL）中的混合物中。將所得混合物在0°C攪拌1 h。將所得混合物在減壓下濃縮。這產生30 mg呈油狀物的(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-{[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-胺基-3-甲基丁醯胺

基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}-2-甲基丙基酯。LC-MS (ESI): 1195 $[M+H]^{+}$。

(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-{[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}-2-甲基丙基酯（LP7）的合成



【0639】將6-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)己酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（15 mg，0.050 mmol）和DIEA（10 mg，0.075 mmol）添加至(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-{[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-胺基-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}-2-甲基丙基酯（30 mg，0.025 mmol）在DMF（2 mL）中的混合物中。將所得混合物在25°C攪拌1 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用製備型TLC（DCM / MeOH 5:1）洗脫）純化。將粗製產物藉由製備型HPLC用以下條件純化（柱：XBridge Prep Phenyl OBD柱，19x250 mm，5 μm；流動相A：水（50 mmol HCO_2NH_4），流動相B：MeCN；流速：25 mL/min；梯度：在15 min內25% B

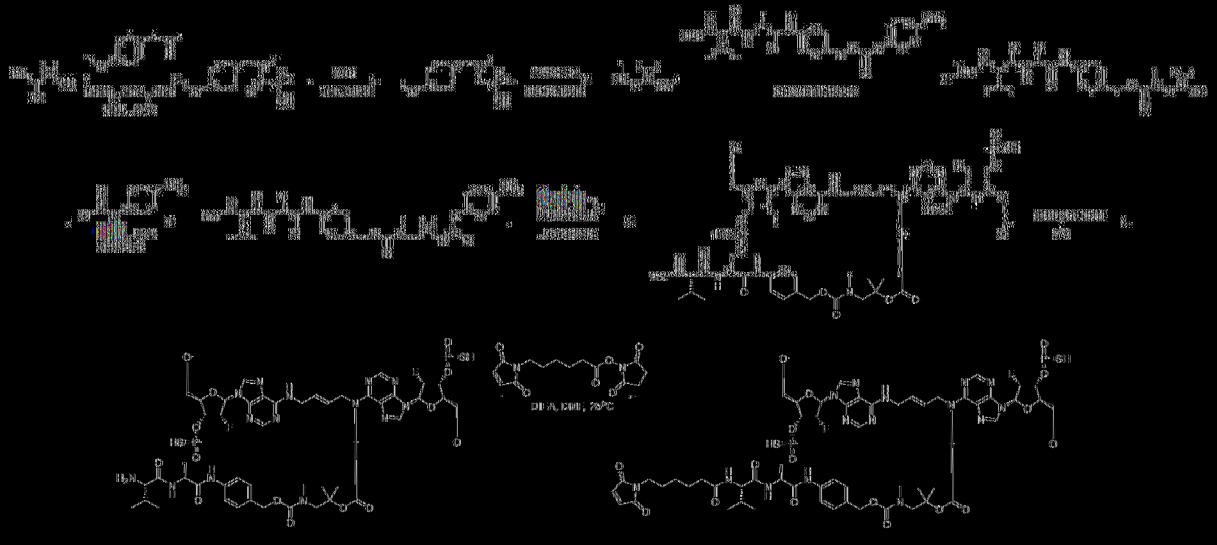
至40% B，40% B；波長：254 nm）。純產生10 mg呈白色固體的(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-二氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-{[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}-2-甲基丙基酯（LP7）。

[0640] LC-MS (ESI): 1388.55 [M+H]$^+$。

[0641] ^{1}H NMR (300 MHz, 甲醇-*d*$_4$) δ 9.01 – 8.70 (m, 3H), 8.33 – 8.26 (m, 2H), 8.11 – 8.01 (m, 2H), 7.62 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 7.27 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 6.84 – 6.76 (m, 2H), 6.58 – 6.24 (m, 2H), 6.10 – 5.30 (m, 3H), 5.13 – 4.98 (m, 3H), 4.82 – 4.59 (m, 5H), 4.56 – 4.14 (m, 8H), 4.13 – 3.89 (m, 2H), 3.74 – 3.54 (m, 1H), 3.51 – 3.42 (m, 3H), 2.78 – 2.62 (m, 3H), 2.39 – 2.26 (m, 2H), 2.23 – 2.10 (m, 1H), 1.70 – 1.40 (m, 8H), 1.36 – 1.22 (m, 9H), 1.03 – 0.93 (m, 6H)。

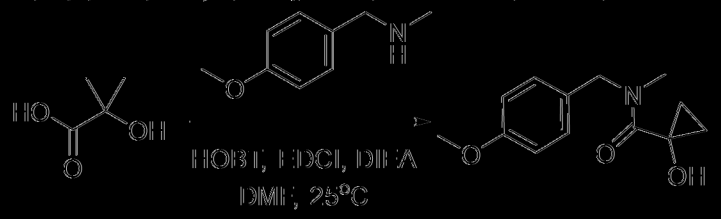
8. LP8的合成

[0642] LP8的合成如下所示：



。

1-羥基-*N*-[(4-甲氧基苯基)甲基]-*N*-甲基環丙烷-1-甲醯胺的合成：

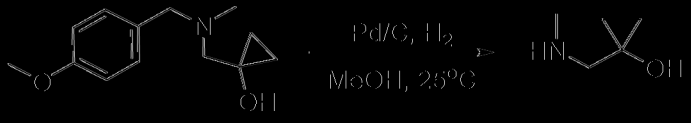


[0643] 將HOBT（1.99 g，14.692 mmol）和EDCI（2.82 g，14.692 mmol）添加至1-羥基環丙烷-1-甲酸（1 g，9.795 mmol）在DMF（10 mL）中的攪拌溶液中。將所得混合物在25°C攪拌30 min。然後將[(4-甲氧基苯基)甲基](甲基)胺（1.48 g，9.795 mmol）和DIEA（3.80 g，29.385 mmol）添加至所得混合物中。將所得混合物在25°C攪拌2 h。將所得混合物用EtOAc稀釋並用水洗滌。將有機層在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用PE / EtOAc（1/2）洗脫）純化，以得到1.8 g呈白色固體的1-羥基-*N*-[(4-甲氧基苯基)甲基]-*N*-甲基環丙烷-1-甲醯胺。LC-MS (ESI): 236.1 [M+H]+。

1-({[(4-甲氧基苯基)甲基](甲基)胺基}甲基)環丙烷-1-醇的合成：

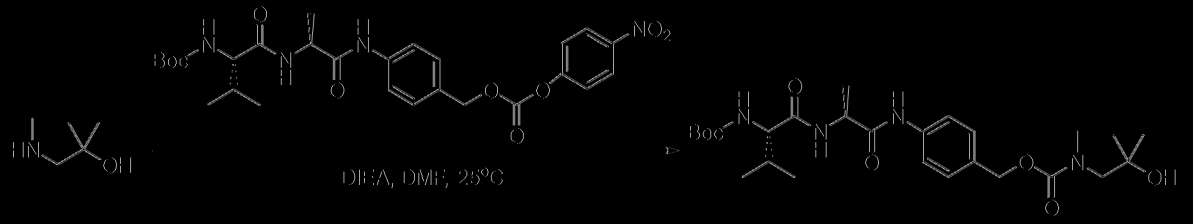
[0644] 將THF中的$LiAlH_4$（7.65 mL，7.650 mmol）添加至1-羥基-*N*-[(4-甲氧基苯基)甲基]-*N*-甲基環丙烷-1-甲醯胺（1.8 g，7.650 mmol）在THF（10 mL）中的攪拌溶液中。將所得混合物在60°C攪拌2 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用CH_2Cl_2 / MeOH（10/1）洗脫）純化，以得到780 mg呈淡黃色油狀物的1-({[(4-甲氧基苯基)甲基](甲基)胺基}甲基)環丙烷-1-醇。LC-MS (ESI): 222.1 [M+H]+。

1-[(甲基胺基)甲基]環丙烷-1-醇的合成



[0645] 將Pd/C（220 mg）添加至1-({[(4-甲氧基苯基)甲基](甲基)胺基}甲基)環丙烷-1-醇（1.1 g，4.971 mmol）在MeOH（10 mL）中的攪拌溶液中。將所得混合物在氫氣氣氛下在25°C攪拌2 h。將所得混合物過濾。將濾液在減壓下濃縮。將殘餘物藉由SCX純化，以獲得214 mg淺棕色油狀物的1-[(甲基胺基)甲基]環丙烷-1-醇。LC-MS (ESI): 102.0 [M+H]+。

N-[(1-羥基環丙基)甲基]-*N*-甲基胺基甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(三級-丁氧基)羰基]胺基}-3-甲基-丁醯基]胺基-戊醯基]胺基-苯基}甲基酯的合成



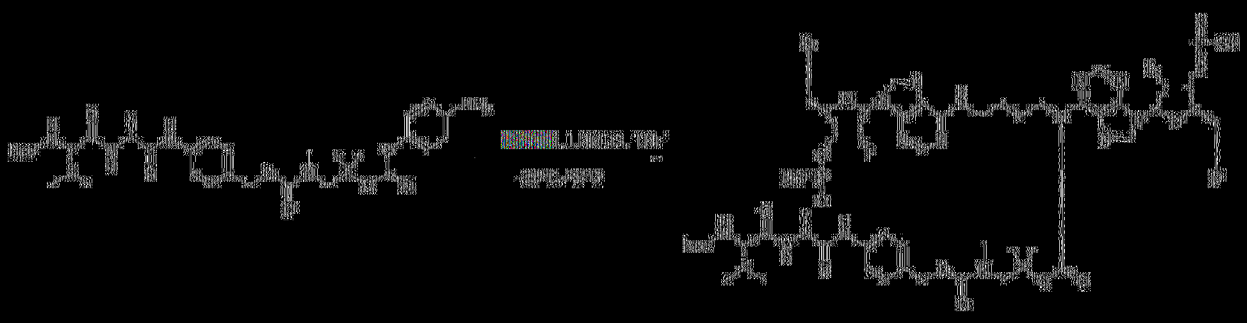
[0646] 將碳酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[(三級-丁氧基羰基)胺基]-3-甲基-丁醯基]胺基-戊醯基]胺基-苯基}甲基-4-硝基苯基酯（1.10 g，1.977 mmol）和DIEA（511.12 mg，3.954 mmol）添加至1-[(甲基胺基)甲基]環丙烷-1-醇（200 mg，1.977 mmol）在DMF（10 mL）中的攪拌溶液中。將所得混合物在25°C攪拌14 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由製備型TLC（DCM / MeOH 10/1）純化，以得到504 mg淺黃色油狀物的*N*-[(1-羥基環丙基)甲基]-*N*-甲基胺基甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(三級-丁氧基)羰基]胺基}-3-甲基-丁醯基]胺基-戊醯基]胺基-苯基}甲基酯。LC-MS (ESI): 521.2 [M+H]+。

碳酸1-({[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(三級-丁氧基)羰基]胺基}-3-甲基-丁醯基]胺基-戊醯基]胺基-苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}甲基)環丙基4-硝基苯基酯的合成

[0647] 將{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[(三級-丁氧基)胺基]-3-甲基-丁醯基]胺基-戊醯基]胺基-苯基}甲基4-硝基苯氧基甲酸酯（174.22 mg，0.864 mmol）添加至*N*-[(1-

羥基環丙基)甲基]-*N*-甲基胺基甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基酯（300 mg，0.576 mmol）在DCM（10 mL）中的攪拌溶液中。然後在0°C將吡啶（68.37 mg，0.864 mmol）添加至所得混合物中。將所得混合物在25°C攪拌14 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用PE / EtOAc（1/3）洗脫）純化，以得到303 mg呈白色固體的碳酸1-({[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}甲基)環丙基4-硝基苯基酯。LC-MS (ESI): 686.3 [M+H]+。

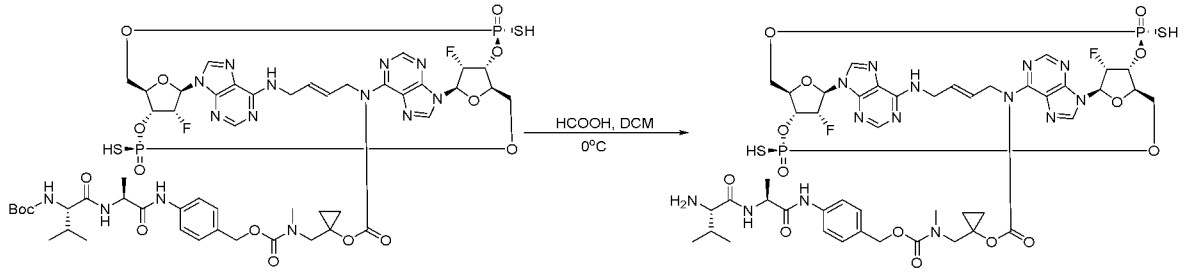
(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸1-({[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}甲基)環丙酯的合成：



[0648] 在-78°C，將LiHMDS（0.60 mL，0.600 mmol）添加至化合物1（75 mg，0.100 mmol）在THF（3 mL）中的攪拌溶液中。將所得混合物在氮氣氣氛下在-78°C攪拌30 min。然後將碳酸1-({[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}甲基)環丙基4-硝基苯基酯（68.89 mg，0.100 mmol）添加至所得混合物中。將所得混合

物在氮氣氣氛下在1小時內緩慢加溫至25°C。將反應用AcOH淬滅。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由製備型TLC（EtOAc（1%TEA）/ MeOH 3/1）純化，以得到55 mg呈白色固體的(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸1-({[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}甲基)環丙基酯。LC-MS (ESI): 1293.3 $[M+H]^+$。

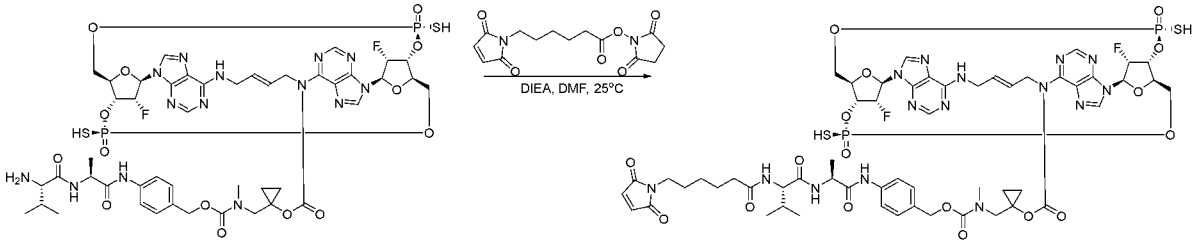
(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸1-({[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-胺基-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}甲基)環丙基酯的合成



【0649】 在0°C，將HCOOH（2 mL）添加至(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸1-({[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}甲基)環丙基酯

（55 mg，0.042 mmol）在DCM（2 mL）中的攪拌溶液中。將所得混合物在0°C攪拌1 h。將所得混合物在減壓下濃縮，以獲得呈無色油狀物的(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸1-({[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-胺基-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}甲基)環丙基酯的粗製產物。LC-MS (ESI): 1193.3 $[M+H]^+$。

(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸1-({[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}甲基)環丙基酯（LP8）的合成



【0650】將6-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)己酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（12.92 mg，0.042 mmol）和DIEA（16.25 mg，0.126 mmol）添加至(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸1-({[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-胺基-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}甲基)環丙基酯（50 mg，0.042

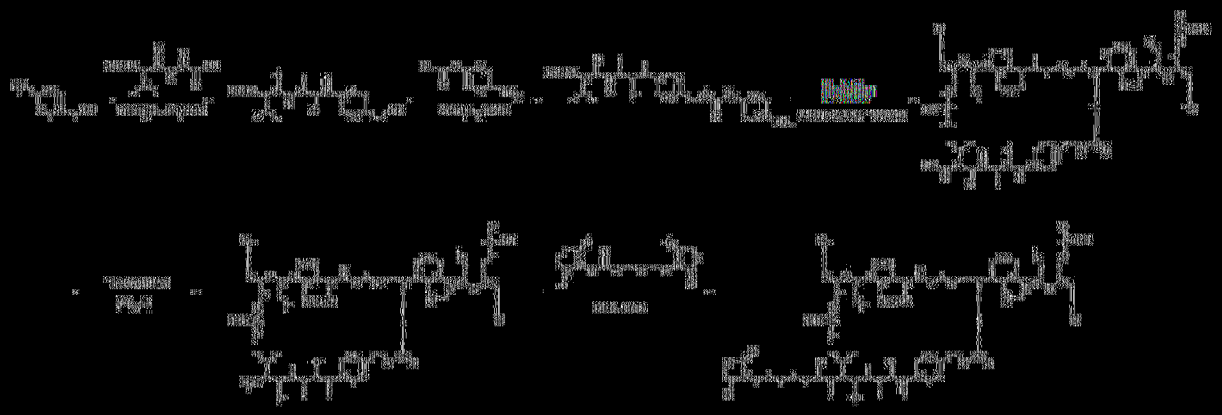
mmol）在DMF（2 mL）中的攪拌溶液中。將所得混合物在25°C攪拌14 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由製備型TLC（EtOAc（1%TEA）/MeOH 3/1）和製備型HPLC用以下條件純化（柱：XBridge Prep OBD C18柱，19x250 mm，5 μm；流動相A：水（50 mmol NH_4HCO_2），流動相B：MECN；流速：25 mL/min；梯度：在10 min內25% B至35% B，35% B；波長：220/254 nm），以得到12.5 mg呈白色固體的(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸1-({[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)己醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}甲基)環丙基酯（**LP8**）。

【0651】 LC-MS (ESI): 1386.40 $[M+H]^+$。

【0652】 ^{1}H NMR (400 MHz, 甲醇-d_4) δ 9.03 – 8.80 (m, 1H), 8.80 – 8.57 (m, 2H), 8.39 – 8.20 (m, 1H), 8.18 – 8.02 (m, 1H), 7.68 – 7.50 (m, 2H), 7.34 – 7.21 (m, 2H), 6.82 – 6.73 (m, 2H), 6.59 – 6.24 (m, 2H), 6.14 – 5.86 (m, 1H), 5.85 – 5.28 (m, 3H), 5.12 – 4.98 (m, 2H), 4.84 – 4.72 (m, 2H), 4.71 – 4.55 (m, 3H), 4.53 – 4.35 (m, 5H), 4.23 – 4.10 (m, 1H), 4.12 – 4.02 (m, 1H), 3.99 – 3.88 (m, 2H), 3.77 – 3.55 (m, 1H), 3.54 – 3.44 (m, 3H), 3.44 – 3.37 (m, 1H), 2.96 – 2.79 (m, 3H), 2.36 – 2.22 (m, 2H), 2.18 – 2.00 (m, 1H), 1.73 – 1.51 (m, 4H), 1.51 – 1.41 (m, 3H), 1.37 – 1.24 (m, 2H), 1.23 – 1.10 (m, 1H), 1.05 – 0.94 (m, 6H), 0.94 – 0.60 (m, 3H)。

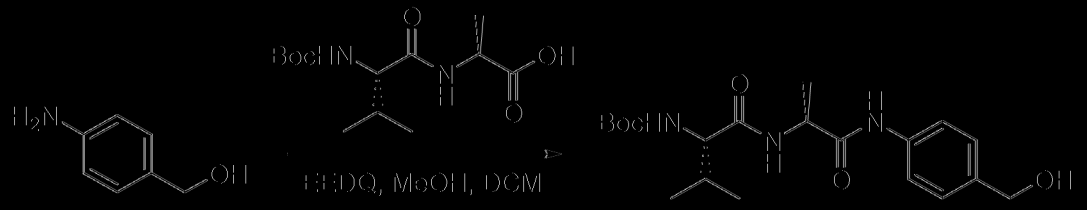
*9. **LP9**的合成*

【0653】 **LP9**的合成如下所示：



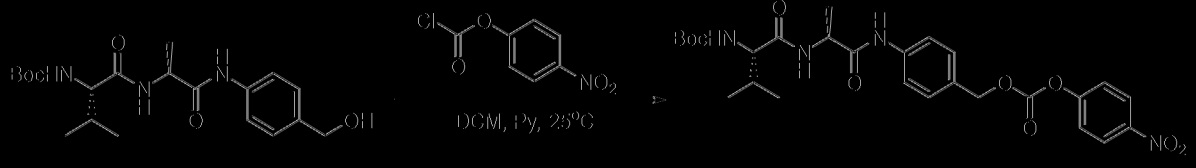
。

N-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸三級丁酯的合成



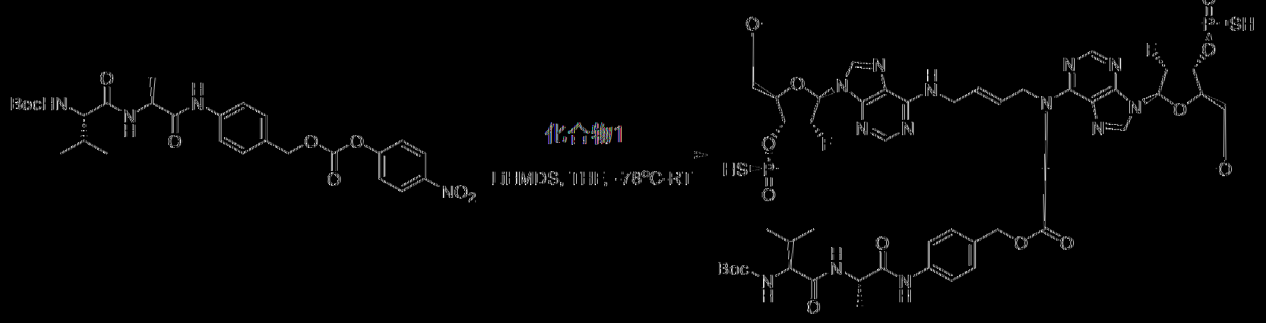
[0654] 將2-乙氧基-1,2-二氫喹啉-1-甲酸乙基酯（32.13 g，129.918 mmol）和(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[(三級丁氧羰基)胺基]-3-甲基-丁醯胺基]丙酸（18.73 g，64.959 mmol）添加至*對胺基苯酚*（8 g，64.959 mmol）在MeOH（5 mL）/DCM（30 mL）中的攪拌溶液中。將所得混合物在25°C攪拌2 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（以CH_2Cl_2 / MeOH（10/1）洗脫）純化，以得到23 g呈淺黃色固體的*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸三級丁酯。LC-MS (ESI): 394.2, [M+H]+。

碳酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(三級丁氧羰基)胺基]-3-甲基-丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基 4-硝基苯基酯的合成



[0655] 將4-硝基苯基氯甲酸酯（768.37 mg，3.811 mmol）和吡啶（301.54 mg，3.811 mmol）添加至含*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸三級丁酯（1 g，2.541 mmol）在DCM（20 mL）中的攪拌溶液中。將所得混合物在25°C攪拌2 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用PE / EtOAc（1/1）洗脫）純化，以得到1.4 g呈白色固體的碳酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基4-硝基苯酯。LC-MS (ESI): 559.2 [M+H]+。

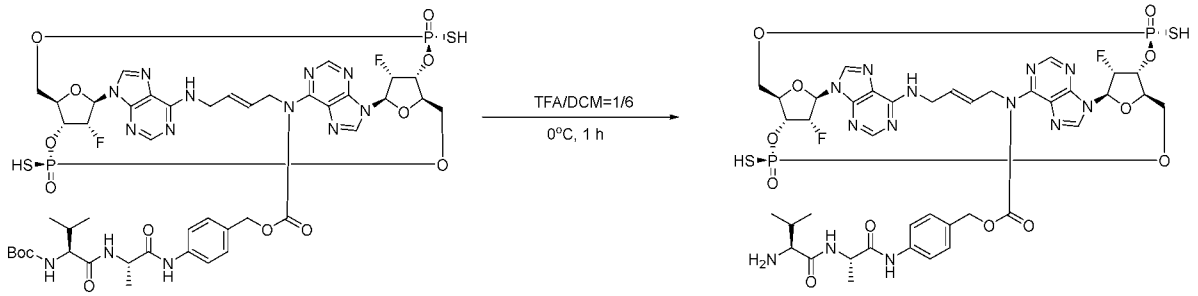
(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十三烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基酯的合成



[0656] 將LiHMDS（0.40 mL，0.402 mmol）添加至含化合物1（50 mg，0.067 mmol）在THF（2 mL）中的攪拌溶液中。將所得混合物在-78°C攪拌30 min。然後將碳酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基4-硝基苯酯（37.41 mg，0.067 mmol）添加至含所得混合物中。將所得混合物在氮氣氣氛下在-78°C至25°C攪拌2 h。將反應用AcOH淬滅。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由製備型TLC（EtOAc

（1%TEA）/ MeOH 3/1）純化，以得到45 mg呈白色固體的(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基酯。LC-MS (ESI): 1166.2 $[M+H]^+$。

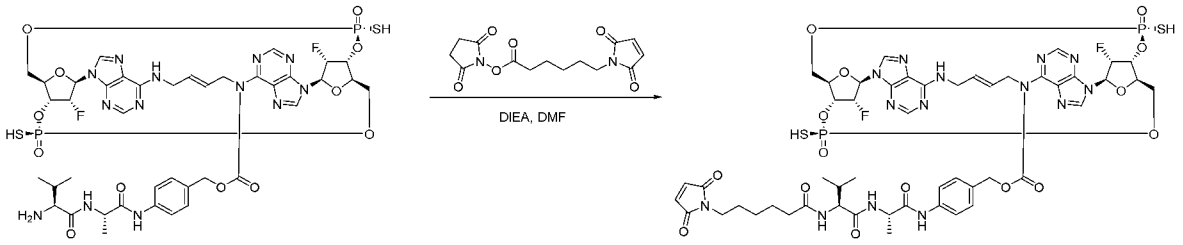
(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-胺基-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基酯的合成



【0657】將TFA（1 mL）添加至(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[(三級丁氧基羰基)胺基-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基酯（45 mg，0.039 mmol）在DCM（6 mL）中的攪拌溶液中。將所得混合物在0°C攪拌1 h。將所得混合物在減壓下濃縮，以獲得呈無色油狀物的(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-

4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-胺基-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基酯的粗製產物。LC-MS (ESI): 1066.2 $[M+H]^+$。

(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)己醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基酯（LP9）的合成



【0658】將DIEA（24.86 mg，0.190 mmol）和6-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)己酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（11.86 mg，0.038 mmol）添加至(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-胺基-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基酯（41 mg，0.038 mmol）在DMF（2 mL）中的攪拌溶液中。將所得混合物在25°C攪拌14 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由製備型TLC（CH_2Cl_2（1%TEA）/ MeOH 8/1），然後是製備型TLC（EtOAc（1%TEA）/ MeOH 3/1）純化。將粗製產物藉由製備型HPLC用以下條件純化（柱：XBridge Prep Phenyl OBD柱，19x250 mm，5 μm；流動相A：水（50

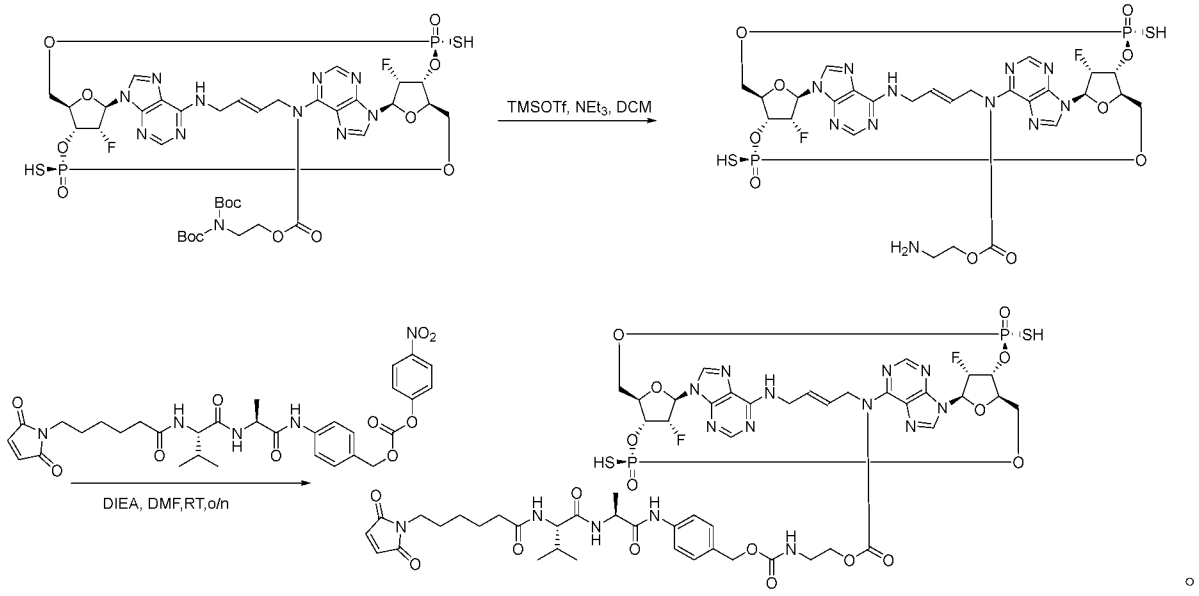
mmol HCO_2NH_4），流動相B：MeCN；流速：25 mL/min；梯度：在15 min內20% B至40% B，40% B；波長：254 nm），以得到5.1 mg呈白色固體的(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)己醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基酯（**LP9**）。

【0659】 LC-MS (ESI): 1259.45 $[M+H]^+$。

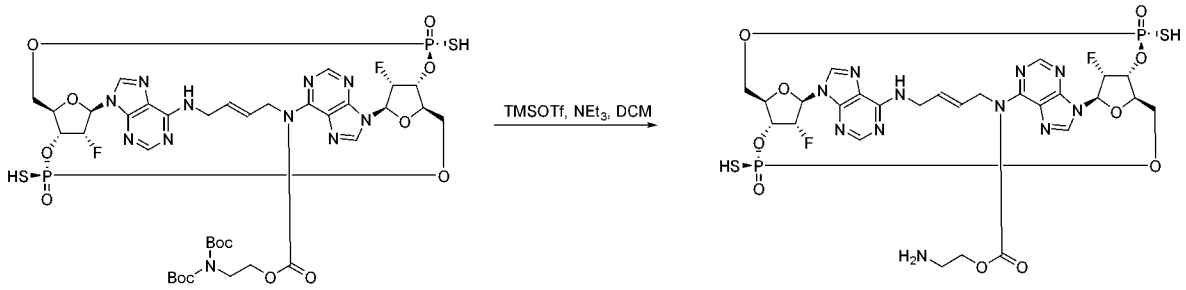
【0660】 ^{1}H NMR (400 MHz, 甲醇-d_4) δ 8.92 (s, 1H), 8.77 – 8.69 (m, 2H), 8.31 (s, 1H), 8.15 (s, 1H), 7.53 (d, *J* = 8.25 Hz, 2H), 7.23 (d, *J* = 8.00 Hz, 2H) , 6.85 – 6.67 (m, 2H), 6.52 – 6.41 (m, 1H), 6.39 – 6.25 (m, 1H), 6.09 – 5.40 (m, 4H), 5.30 – 5.15 (m, 2H), 5.09 – 4.95 (m, 2H), 4.66 – 4.56 (m, 3H), 4.55 – 4.45 (m, 2H), 4.44 – 4.34 (m, 2H), 4.22 – 4.13 (m, 1H), 4.12 – 4.01 (m, 1H), 4.00 – 3.92 (m, 1H), 3.72 – 3.55 (m, 1H), 3.52 – 3.43 (m, 2H), 2.36 – 2.18 (m, 2H), 2.15 – 2.04 (m, 1H), 1.72 – 1.53 (m, 5H), 1.48 – 1.40 (m, 3H), 1.36 – 1.25 (m, 4H), 1.04 – 0.90 (m, 6H)。

10. ***LP10****的合成*

【0661】 **LP10**的合成如下所示：



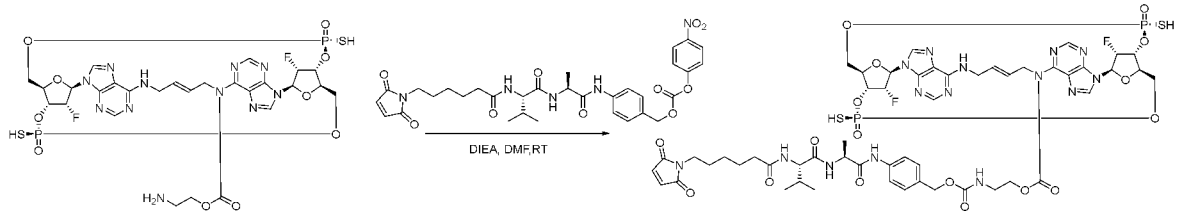
(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-胺基乙基酯的合成



【0662】在室溫，向(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-{雙[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}乙基酯（40 mg，0.039 mmol）在DCM（2 mL）中的混合物中添加TEA（19.57 mg，0.195 mmol）和TMSOTf（60.19 mg，0.273 mmol）。將所得混合物在室溫攪拌1 h。將所得混合物在減壓下濃

縮。粗製產物無需進一步純化即可直接用於下一步驟。LC-MS (ESI): 834.2 $[M+H]^+$。

(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-{[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)己醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]胺基}乙基酯（LP10）的合成



【0663】在室溫，向(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-胺基乙基酯（32 mg，0.038 mmol）和碳酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)己醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基 4-硝基苯基酯（25.01 mg，0.038 mmol）在DMF（2 mL）中的混合物中添加DIEA（24.81 mg，0.190 mmol）。將所得混合物在室溫攪拌過夜。將所得混合物在真空下濃縮。將殘餘物藉由製備型TLC（EtOAc/MeOH 3:1）和製備型HPLC用以下條件純化（柱：XBridge Prep Phenyl OBD柱，19*250 mm，5 μm；流動相A：水（50 mmol/L HCO_2NH_4），流動相B：MeCN；流速：25 mL/min；梯度：在10 min內25% B至50% B，50% B；波長：254 nm），以得到呈白色固體的(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-

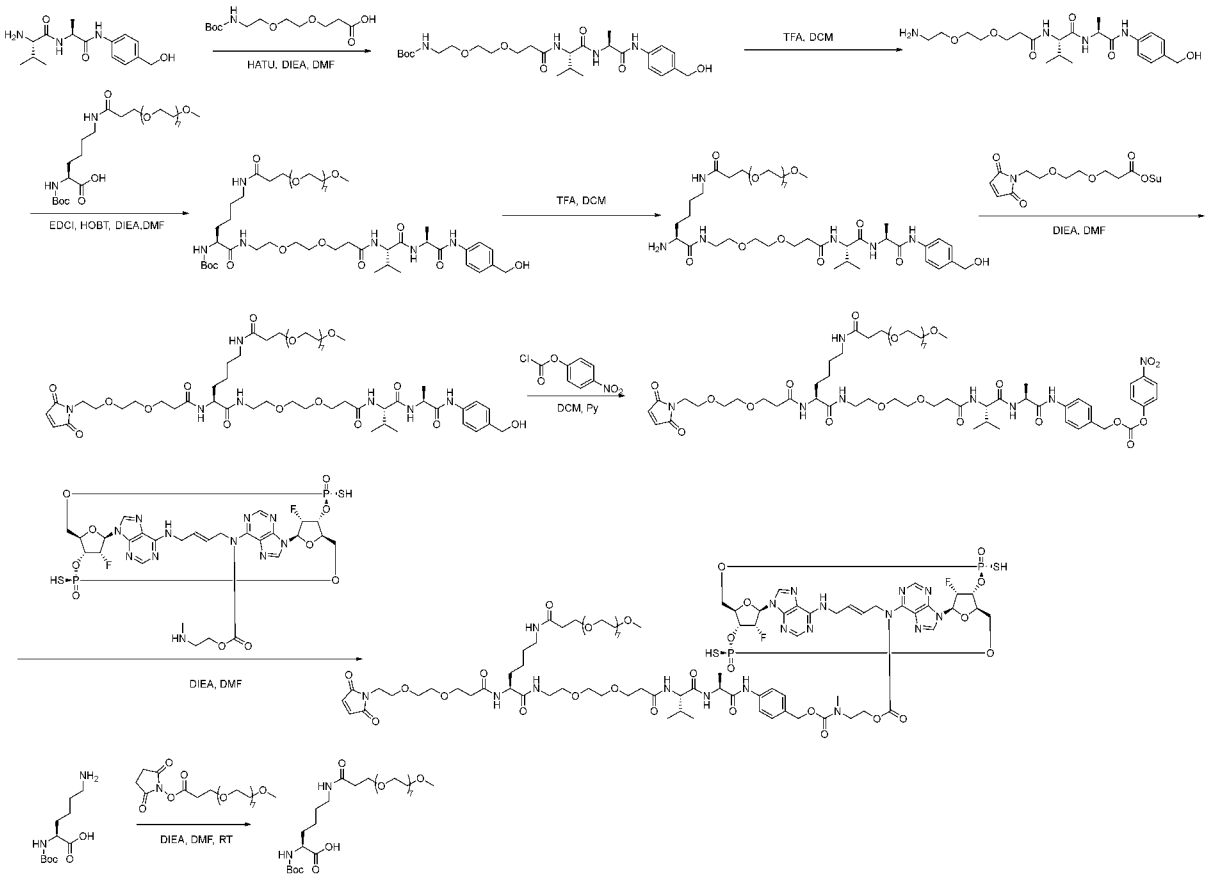
34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-{[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]胺基}乙基酯（**LP10**）（7.6 mg）。

【0664】LC-MS (ESI): 1346.45 $[M+H]^+$。

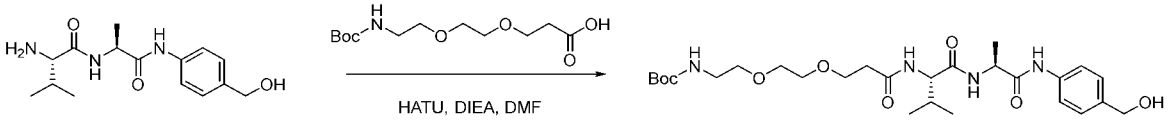
【0665】^{1}H NMR (400 MHz, 甲醇-d_4) δ 8.92 (s, 2H), 8.73 (m, 1H), 8.19 (m, 2H), 7.57 (m, 2H), 7.30 (m, 2H), 6.79 (s, 2H), 6.39 (m, 1H), 6.31 (m, 1H),6.05 (s, 1H) 5.92 (s, 1H), 5.78 (s, 1H), 5.58 – 5.45 (m, 2H), 5.02 (m,2H), 4.99 (m,3H), 4.61 (m, 5H), 4.55 – 4.36 (m, 2H), 4.36 (m, 2H), 4.21 (m, 1H),4.14 (m, 1H), 4.04 (m, 2H) ,3.76 (m, 1H), 3.52 (m, 1H) ,3.55-3.40(m, 2H), 3.15 (m, 3H), 2.29 (m, 2H), 2.09 (m, 1H), 1.94 (m, 4H), 1.61 (m, 3H), 1.37 – 1.18 (m, 2H), 0.98 (m, 6H)。

*11.　**LP11**的合成*

【0666】**LP11**的合成如下所示：



_N_-{2-[2-(2-{[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲醯基}乙氧基)乙氧基]乙基}胺基甲酸*三級丁基*酯的合成

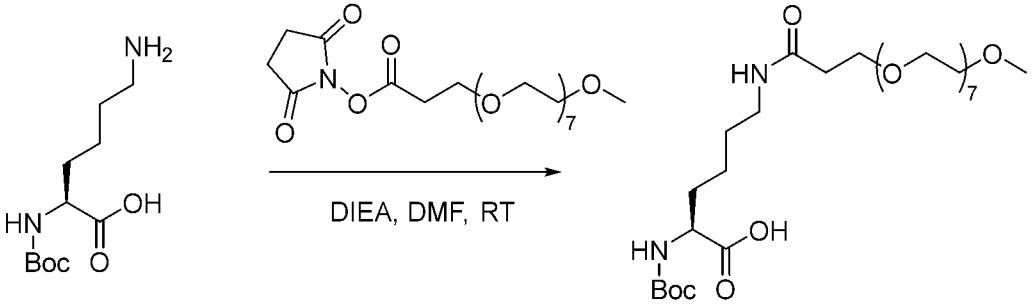


【0667】 向(2*S*)-2-胺基-*N*-[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺（400 mg，1.363 mmol）、3-(2-{2-[(*三級丁氧基*羰基)胺基]乙氧基}乙氧基)丙酸（378.12 mg，1.363 mmol）、HATU（570.29 mg，1.499 mmol）在DMF（3 mL）中的溶液中添加DIEA（528.68 mg，4.089 mmol）。將溶液在室溫攪拌2 h。將所得混合物用EtOAc稀釋並用H_2O洗滌。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由製備型TLC（CH2Cl2 / MeOH 8:1）純化，以得到呈白色固體的*N*-{2-[2-(2-{[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲醯基}乙氧基)乙氧基]乙基}胺基甲酸*三級丁基*酯（420 mg）。LC-MS (ESI): 553.3 $[M+H]^+$。

(2*S*)-2-{3-[2-(2-胺基乙氧基)乙氧基]丙醯胺基}-*N*-[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺的合成

【0668】 在室溫，將*N*-{2-[2-(2-{[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲醯基}乙氧基)乙氧基]乙基}胺基甲酸*三級丁基*酯（420 mg，0.760 mmol）在DCM（1.5 mL）中的溶液用TFA（1.5 mL）處理。將所得混合物在室溫攪拌0.5 h。將混合物在減壓下濃縮。將殘餘物溶解於MeOH（2 mL）/ H_2O（2 mL）/ THF（2 mL）中。將K_2CO_3（577.66 mg，4.180 mmol）添加至上述溶液中並在室溫攪拌一小時。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由製備型TLC（CH_2Cl_2 / MeOH 4:1）純化，以得到呈淡黃色固體的(2*S*)-2-{3-[2-(2-胺基乙氧基)乙氧基]丙醯胺基}-*N*-[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺（300 mg）。LC-MS (ESI): 453.3$[M+H]^+$。

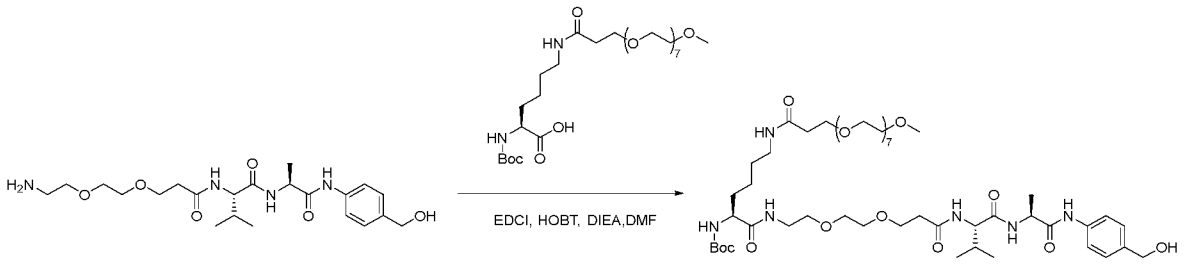
(2*S*)-2-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}-6-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧雜二十六烷-26-醯胺基)己酸的合成



【0669】 向(2*S*)-6-胺基-2-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}己酸（287.61 mg，1.168 mmol）和2,5,8,11,14,17,20,23-八氧雜二十六烷-26-酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（350 mg，0.687 mmol）在DMF（3.00 mL）中的溶液中添加DIEA（266.33 mg，2.061 mmol）。將所得混合物在室溫攪拌2 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用CH_2Cl_2 / MeOH（5:1）洗脫）純

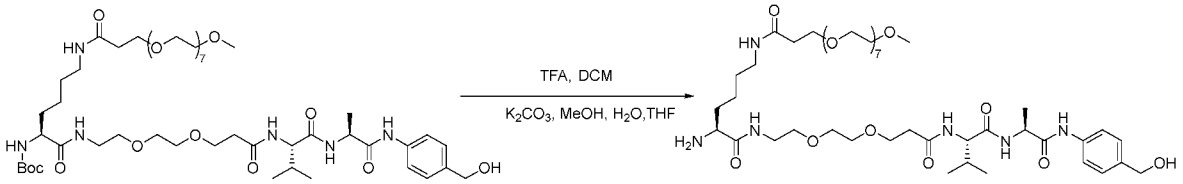
化，以得到呈無色油狀物的(2*S*)-2-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}-6-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧雜二十六烷-26-醯胺基)己酸（410 mg）。LC-MS (ESI): 641.4[M+H]$^+$。

_N_-[(1*S*)-1-({2-[2-(2-{[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲醯基}乙氧基)乙氧基]乙基}胺基甲醯基)-5-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧雜二十六烷-26-醯胺基)戊基]胺基甲酸*三級丁基*酯的合成



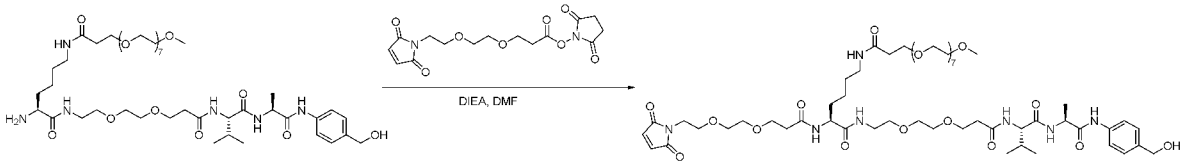
【0670】 在室溫，向(2*S*)-2-[(*三級丁氧基*羰基)胺基]-6-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧雜二十六烷-26-醯胺基)己酸（290 mg，0.453 mmol）在DMF（3 mL）中的溶液中添加HOBT（91.73 mg，0.679 mmol）、EDCI（130.14 mg，0.679 mmol）。將所得混合物在室溫攪拌0.5 h。在室溫，向上述溶液中添加(2*S*)-2-{3-[2-(2-胺基乙氧基)乙氧基]丙醯胺基}-*N*-[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺（204.82 mg，0.453 mmol）和DIEA（175.48 mg，1.359 mmol）。將所得混合物在室溫攪拌一小時。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由製備型TLC（CH_2Cl_2 / MeOH 5:1）純化，以得到呈黃色油狀物的*N*-[(1*S*)-1-({2-[2-(2-{[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲醯基}乙氧基)乙氧基]乙基}胺基甲醯基)-5-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧雜二十六烷-26-醯胺基)戊基]胺基甲酸*三級丁基*酯（437 mg）。LC-MS (ESI): 1075.6[M+H]$^+$。

_N_-[(5_S_)-5-胺基-5-({2-[2-(2-{[(1_S_)-1-{[(1_S_)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲醯基}乙氧基)乙氧基]乙基}胺基甲醯基)戊基]-2,5,8,11,14,17,20,23-八氧雜二十六烷-26-醯胺的合成



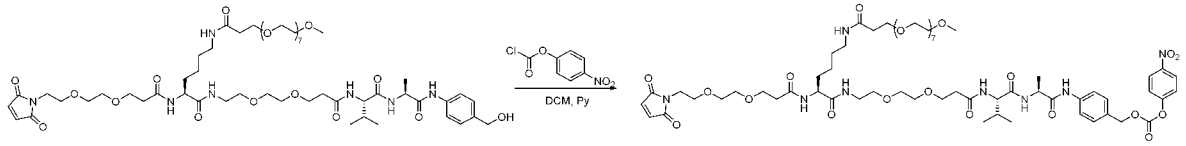
【0671】向_N_-[(1_S_)-1-({2-[2-(2-{[(1_S_)-1-{[(1_S_)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲醯基}乙氧基)乙氧基]乙基}胺基甲醯基)-5-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧雜二十六烷-26-醯胺基)戊基]胺基甲酸*三級丁基*酯（430 mg，0.400 mmol）在DCM（2 mL）中的溶液中添加TFA（2 mL）。將所得混合物在室溫攪拌0.5 h。將混合物在減壓下濃縮。將殘餘物溶解於MeOH（2 mL）/ H_2O（2 mL）/ THF（2 mL）中。將K_2CO_3（221.07 mg，1.600 mmol）添加至上述溶液中並在室溫攪拌一小時。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由製備型TLC（DCM / MeOH 5:1）純化，以得到呈黃色油狀物的_N_-[(5_S_)-5-胺基-5-({2-[2-(2-{[(1_S_)-1-{[(1_S_)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲醯基}乙氧基)乙氧基]乙基}胺基甲醯基)戊基]-2,5,8,11,14,17,20,23-八氧雜二十六烷-26-醯胺（305 mg）。LC-MS (ESI): 975.6 $[M+H]^+$。

_N_-[(5_S_)-5-(3-{2-[2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1_H_-吡咯-1-基)乙氧基]乙氧基}丙醯胺基)-5-({2-[2-(2-{[(1_S_)-1-{[(1_S_)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲醯基}乙氧基)乙氧基]乙基}胺基甲醯基)戊基]-2,5,8,11,14,17,20,23-八氧雜二十六烷-26-醯胺的合成



【0672】 向*N*-[(5*S*)-5-胺基-5-({2-[2-(2-{[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲醯基}乙氧基)乙氧基]乙基}胺基甲醯基)戊基]-2,5,8,11,14,17,20,23-八氧雜二十六烷-26-醯胺（305 mg，0.313 mmol）和3-{2-[2-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)乙氧基]乙氧基}丙酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（132.98 mg，0.376 mmol）在DMF（3.5 mL）中的溶液中添加DIEA（80.85 mg，0.626 mmol）。將所得混合物在室溫攪拌2 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由製備型TLC（DCM / MeOH 5:1）純化，以得到呈淡黃色固體的*N*-[(5*S*)-5-(3-{2-[2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)乙氧基]乙氧基}丙醯胺基)-5-({2-[2-(2-{[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲醯基}乙氧基)乙氧基]乙基}胺基甲醯基)戊基]-2,5,8,11,14,17,20,23-八氧雜二十六烷-26-醯胺（247 mg）。LC-MS (ESI): 1214.7[M+H]$^+$。

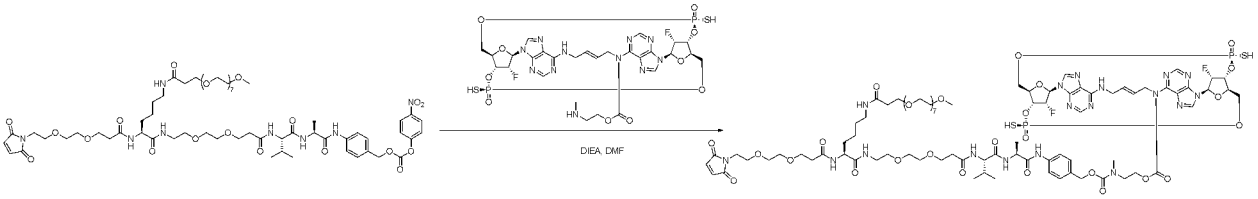
碳酸{4-[(2S)-2-[(2S)-2-[3-(2-{2-[(2S)-2-(3-{2-[2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)乙氧基]乙氧基}丙醯胺基)-6-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧雜二十六烷-26-醯胺基)己醯胺基]乙氧基}乙氧基)丙醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基 4-硝基苯基酯的合成



【0673】 向*N*-[(5*S*)-5-(3-{2-[2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)乙氧基]乙氧基}丙醯胺基)-5-({2-[2-(2-{[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲醯基}乙氧基)乙氧基]乙基}胺基甲醯基)戊基]-2,5,8,11,14,17,20,23-八氧雜二十六烷-26-醯胺（270 mg，0.222 mmol）在DCM（3.5 mL）中的溶液中添加4-硝基苯基氯甲酸酯（134.44 mg，0.666 mmol）和吡啶（52.76 mg，0.666 mmol）。將所得混合物在室溫攪拌2 h。將所

得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由製備型TLC（DCM / MeOH 8:1）純化，以得到呈淡黃色油狀物的碳酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[3-(2-{2-[(2S)-2-(3-{2-[2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)乙氧基]乙氧基}丙醯胺基)-6-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧雜二十六烷-26-醯胺基)己醯胺基]乙氧基}乙氧基)丙醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基 4-硝基苯基酯（160 mg）。LC-MS (ESI): 1379.7[M+H]$^+$。

(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-{[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[3-(2-{2-[(2*S*)-2-(3-{2-[2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)乙氧基]乙氧基}丙醯胺基)-6-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧雜二十六烷-26-醯胺基)己醯胺基]乙氧基}乙氧基)丙醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}乙基酯（LP11）的合成



【0674】 向碳酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[3-(2-{2-[(2*S*)-2-(3-{2-[2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)乙氧基]乙氧基}丙醯胺基)-6-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧雜二十六烷-26-醯胺基)己醯胺基]乙氧基}乙氧基)丙醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基 4-硝基苯基酯（70 mg，0.051 mmol）和(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4. 1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-

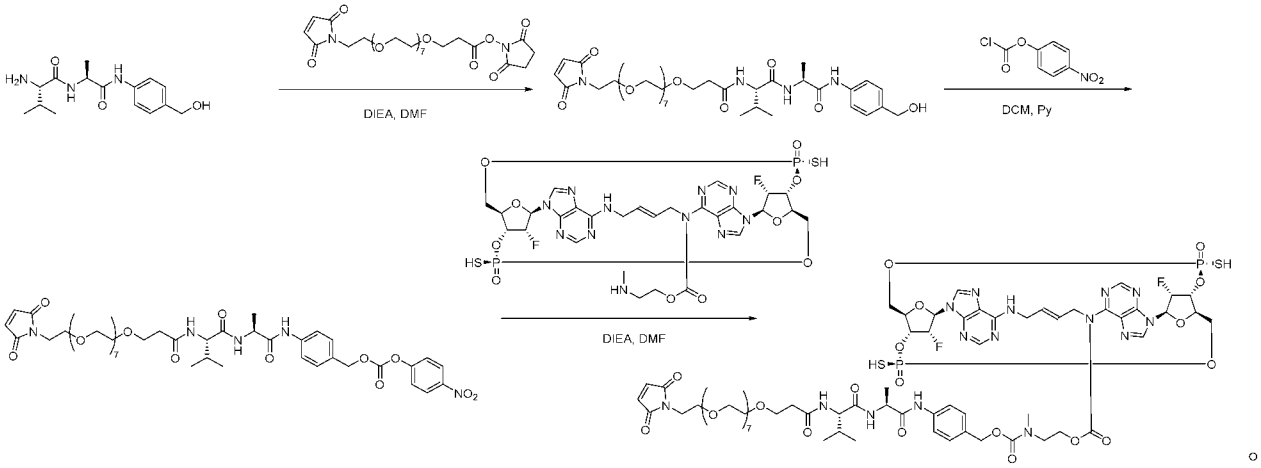
5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-(甲基胺基)乙基酯（43.01 mg，0.051 mmol）在DMF（3 mL）中的溶液中添加DIEA（45.91 mg，0.357 mmol）。將所得混合物在室溫攪拌14 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由製備型TLC（DCM（1%TEA）/ MeOH 6:1）和製備型HPLC（柱：XBridge Prep OBD C18柱，19x250 mm，5 μm；流動相A：水（50 mmol HCO_2NH_4），流動相B：MeCN；流速：25 mL/min；梯度：在10 min內25% B至35% B，35% B；波長：254 nm）純化，以得到呈白色固體的(1R,3R,15Z,28R,29R,30R,31R,34S,36R,39R,41R)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-{[({4-[(2S)-2-[(2S)-2-[3-(2-{2-[(2S)-2-(3-{2-[2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)乙氧基]乙氧基}丙醯胺基)-6-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧雜二十六烷-26-醯胺基)己醯胺基]乙氧基}乙氧基)丙醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}乙基酯（**LP11**）（6 mg）。

【0675】 LC-MS (ESI): 2087.77$[M+H]^+$。

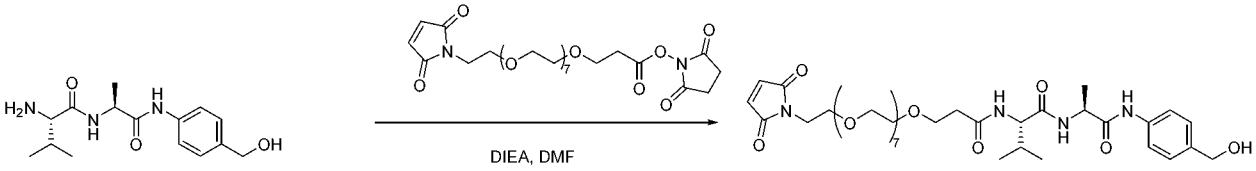
【0676】 ^{1}H NMR (400 MHz, 甲醇-d_4) δ 8.91 (s, 1H), 8.84 – 8.56 (m, 2H), 8.13 (s, 1H), 7.66 – 7.55 (m, 2H), 7.32 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.21 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 6.83 (s, 2H), 6.57 – 6.25 (m, 2H), 6.09 – 5.88 (m, 1H), 5.84 – 5.04 (m, 5H), 4.73 – 4.48 (m, 6H), 4.47 – 4.32 (m, 4H), 4.30 – 4.13 (m, 1H), 4.10 – 3.91 (m, 2H), 3.84 – 3.69 (m, 7H), 3.69 – 3.47 (m, 50H), 3.26 – 3.14 (m, 3H), 2.85 – 2.69 (m, 3H), 2.63 – 2.41 (m, 7H), 2.15 (s, 2H), 1.90 – 1.76 (m, 1H), 1.73 – 1.60 (m, 1H), 1.56 – 1.26 (m, 10H), 1.09 – 0.92 (m, 6H)。

12. ***LP12****的合成*

【0677】 **LP12**的合成如下所示：

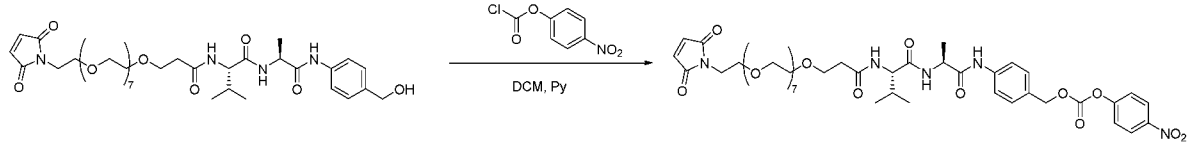


1-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧雜二十七烷-27-醯胺的合成



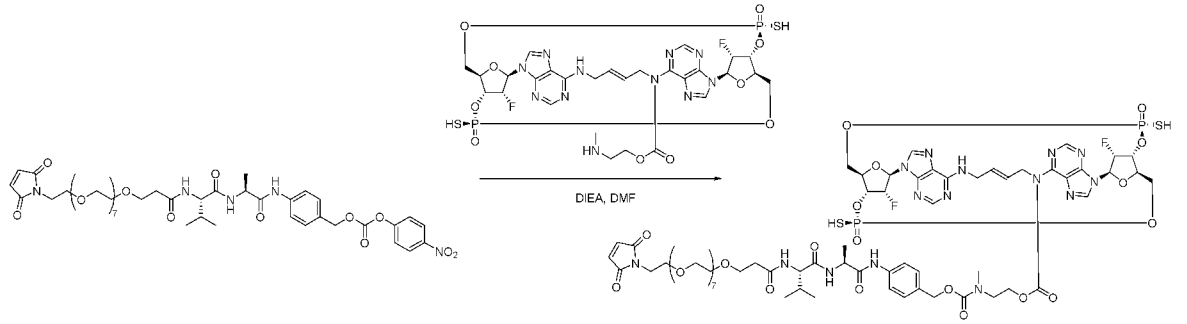
【0678】 將(2*S*)-2-胺基-*N*-[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺（100 mg，0.341 mmol）、1-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧雜二十七烷-27-酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（210.87 mg，0.341 mmol）和DIEA（88.11 mg，0.682 mmol）在DMF（3 mL）中的溶液在室溫攪拌2 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由製備型TLC（DCM / MeOH 8:1）純化，以得到呈白色固體的1-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧雜二十七烷-27-醯胺（180 mg）。LC-MS (ESI): 797.4 $[M+H]^+$。

碳酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[1-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧雜二十七烷-27-醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基 4-硝基苯基酯的合成



【0679】 在室溫，將吡啶（44.67 mg，0.565 mmol）添加至1-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧雜二十七烷-27-醯胺（180 mg，0.226 mmol）和4-硝基苯基氯甲酸酯（113.82 mg，0.565 mmol）在DCM（2 mL）中的溶液中。將溶液在室溫攪拌3 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由製備型TLC（DCM / IPA 10:1）純化，以得到呈淡黃色油狀物的碳酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[1-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧雜二十七烷-27-醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基 4-硝基苯基酯（109 mg）。LC-MS (ESI): 962.4 $[M+H]^+$。

(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-{[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[1-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧雜二十七烷-27-醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}乙基酯（LP12）的合成



【0680】在室溫，將DIEA（47.02 mg，0.365 mmol）添加至(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-(甲基胺基)乙基酯（61.68 mg，0.073 mmol）和碳酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[1-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧雜二十七烷-27-醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基 4-硝基苯基酯（70 mg，0.073 mmol）在DMF（2.5 mL）中的溶液中。將溶液在室溫攪拌3 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由製備型TLC（DCM / MeOH 6:1）和製備型HPLC（柱：XBridge Prep OBD C18柱，19x250 mm，5 μm；流動相A：水（50 mmol HCO_2NH_4），流動相B：MeCN；流速：25 mL/min；梯度：在10 min內25% B至35% B，35% B；波長：220/254 nm）純化，以得到呈白色固體的(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-{[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[1-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧雜二十七烷-27-醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}乙基酯（**LP12**）（23.5 mg）。

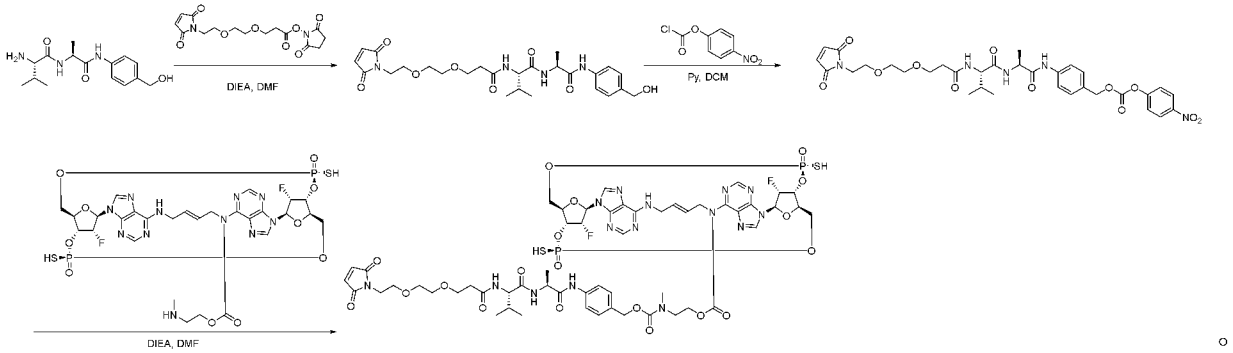
【0681】LC-MS (ESI): 1671.70 $[M+H]^+$。

【0682】^{1}H NMR (400 MHz, 甲醇-d_4) δ 8.92 (s, 1H), 8.82 – 8.66 (m, 2H), 8.30 – 7.99 (m, 2H), 7.71 – 7.53 (m, 2H), 7.37 – 7.28 (m, 1H), 7.26 – 7.14 (m, 1H), 6.84 (s, 2H), 6.56 – 6.22 (m, 2H), 6.08 – 5.86 (m, 1H), 5.84 – 5.23 (m, 4H), 5.13 – 4.94 (m, 2H), 4.76 – 4.40 (m, 7H), 4.37 – 4.13 (m, 3H), 4.09 – 3.89 (m, 2H), 3.81 –

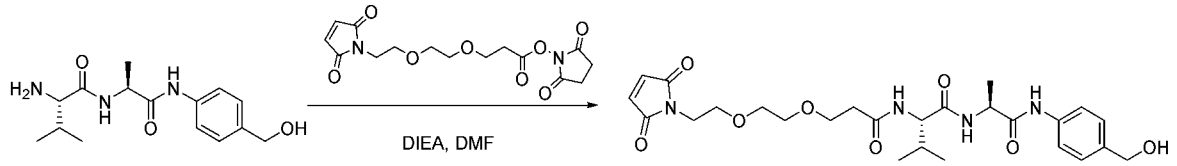
3.74 (m, 2H), 3.72 – 3.68 (m, 2H), 3.67 – 3.56 (m, 24H), 2.83 – 2.69 (m, 3H), 2.65 – 2.55 (m, 2H), 2.30 – 2.04 (m, 1H), 1.54 – 1.40 (m, 3H), 1.08 – 0.91 (m, 6H)。

13. ***LP13****的合成*

【0683】 **LP13**的合成如下所示：

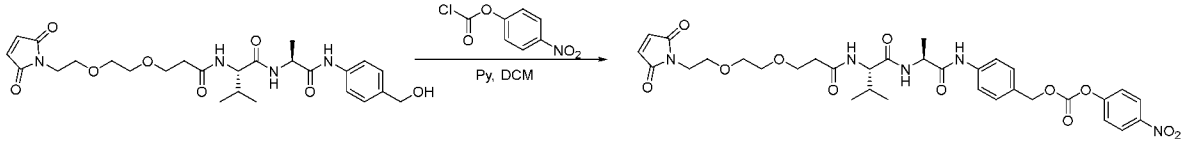


(2*S*)-2-(3-{2-[2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)乙氧基]乙氧基}丙醯胺基)-N-[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺的合成



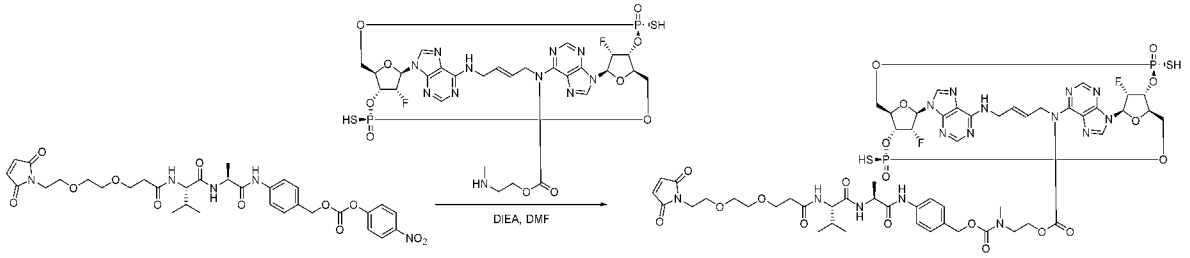
【0684】 在0°C，向(2*S*)-2-胺基-*N*-[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺（200 mg，0.682 mmol）和3-{2-[2-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)乙氧基]乙氧基}丙酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（241.55 mg，0.682 mmol）在DMF（5 mL）中的混合物中添加DIEA（264.34 mg，2.046 mmol）。將所得混合物在室溫攪拌2 h。將所得混合物在真空下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用DCM/ MeOH（10:1）洗脫）純化，以得到呈白色固體的(2*S*)-2-(3-{2-[2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)乙氧基]乙氧基}丙醯胺基)-*N*-[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺（170 mg）。LC-MS (ESI): 533.3 $[M+H]^+$。

碳酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-(3-{2-[2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)乙氧基]乙氧基}丙醯胺基)-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基 4-硝基苯基酯的合成



【0685】 在0°C，向(2*S*)-2-(3-{2-[2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)乙氧基]乙氧基}丙醯胺基)-*N*-[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺（150 mg，0.282 mmol）和4-硝基苯基氯甲酸酯（113.53 mg，0.564 mmol）在DCM（5 mL）中的混合物中添加吡啶（33.42 mg，0.423 mmol）。將所得混合物在25°C攪拌4 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由製備型TLC（CH_2Cl_2 / IPA 10:1）純化，以得到呈白色固體的碳酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-(3-{2-[2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)乙氧基]乙氧基}丙醯胺基)-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基 4-硝基苯基酯（70 mg）。LC-MS (ESI): 698.4$[M+H]^+$。

(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-{[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-(3-{2-[2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)乙氧基]乙氧基}丙醯胺基)-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}乙基酯（LP13）的合成



【0686】 在室溫，向碳酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-(3-{2-[2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)乙氧基]乙氧基}丙醯胺基)-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲

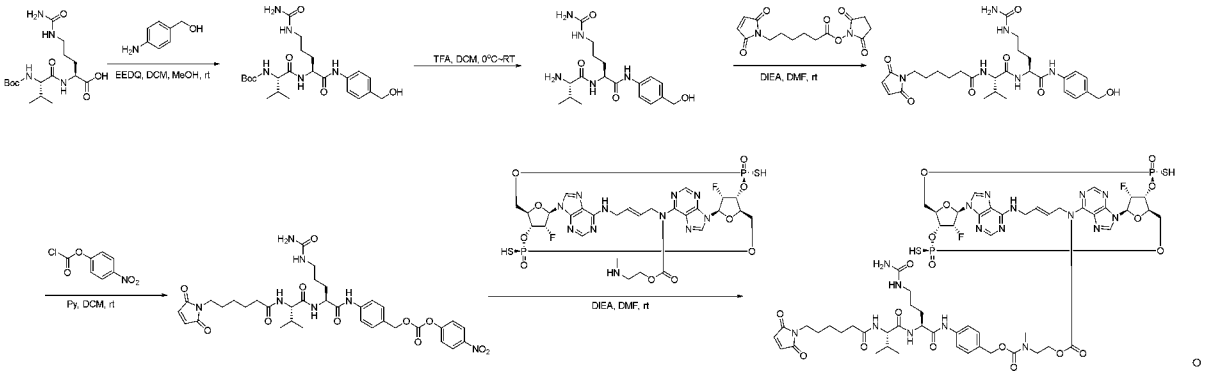
基 4-硝基苯基酯（36 mg，0.052 mmol）和 (1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-(甲基胺基)乙基酯（43.74 mg，0.052 mmol）在DMF（2 mL）中的混合物中添加DIEA（33.34 mg，0.260 mmol）。將所得混合物在室溫攪拌過夜。將所得混合物在真空下濃縮。將殘餘物藉由製備型TLC（EtOAc/MeOH 3:1）和製備型HPLC用以下條件純化（柱：XBridge Prep Phenyl OBD柱，19x250 mm，5 μm；流動相A：水（50 mmol/L HCO_2NH_4），流動相B：MeCN；流速：25 mL/min；梯度：在15 min內35% B至60% B，60% B；波長：254 nm），以得到呈白色固體的 (1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-{[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-(3-{2-[2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)乙氧基]乙氧基}丙醯胺基)-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}乙基酯（**LP13**）（3.5 mg）。

【0687】 LC-MS (ESI): 1406.40 $[M+H]^+$。

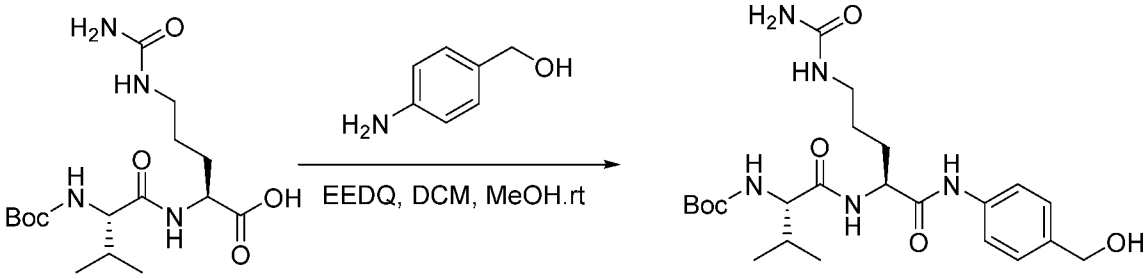
【0688】 ^{1}H NMR (400 MHz, 甲醇-d_4) δ 8.92 (s, 1H), 8.72 (m, 2H), 8.31 – 8.02 (m, 2H), 7.60 (m, 2H), 7.31 (m, 1H), 7.21 (m, 1H), 6.82 (s, 2H), 6.43 (m, 1H), 6.32 (m, 1H), 6.02 (s, 1H), 5.84 (m, 1H), 5.51 (m, 1H), 5.02 (s, 2H), 4.92 (m, 4H), 4.62 (m, 4H), 4.54 – 4.45 (m, 3H), 4.42 (s, 2H), 4.35 – 4.13 (m, 2H), 4.09 (m, 4H), 3.84(m, 4H), 3.79– 3.61 (m, 3H), 3.42 (m, 4H), 2.9 (m, 2H),2.73 (m, 3H), 2.55 (m, 2H), 2.24 – 2.07 (m, 1H), 1.50 – 1.39 (m, 3H), 1.00 (m, 6H)。

14. ***LP14****的合成*

【0689】 **LP14**的合成如下所示：



***N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-4-(胺基甲醯基胺基)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}丁基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸*三級丁基*酯的合成**

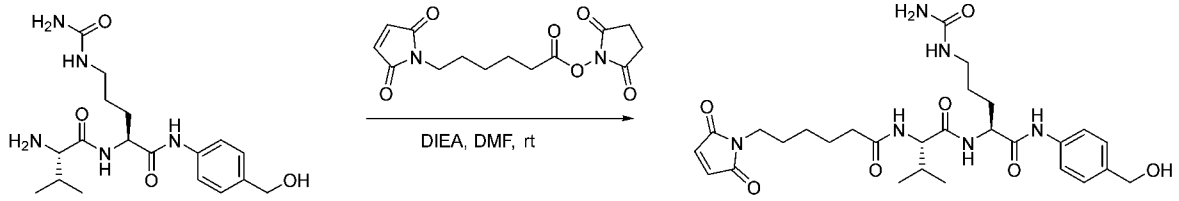


【0690】 在室溫，將2-乙氧基-1,2-二氫喹啉-1-甲酸乙基酯（2.64 g，10.682 mmol）添加至(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[(*三級丁氧基*羰基)胺基]-3-甲基丁醯胺基]-5-(胺基甲醯基胺基)戊酸（2 g，5.341 mmol）和*對胺基苄醇*（657.81 mg，5.341 mmol）在DCM（12 mL）和MeOH（2 mL）中的混合物中。將所得混合物在25°C攪拌2 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用DCM/ MeOH（5:1）洗脫）純化，以得到呈淡粉色固體的*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-4-(胺基甲醯基胺基)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}丁基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸*三級丁基*酯（1.8 g）。LC-MS (ESI): 480.5 $[M+H]^+$。

(2*S*)-2-[(2*S*)-2-胺基-3-甲基丁醯胺基]-5-(胺基甲醯基胺基)-*N*-[4-(羥基甲基)苯基]戊醯胺的合成

【0691】 在0°C，將TFA（10 mL）添加至*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-4-(胺基甲醯基胺基)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}丁基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸*三級丁基*酯（1.8 g，3.753 mmol）在DCM（10 mL）中的混合物中。將所得混合物在25°C攪拌30 min。將所得混合物在減壓下濃縮。然後在0°C，將K_2CO_3（2.07 g，15.012 mmol）添加至上述中間體在MeOH（5 mL）、THF（5 mL）和H_2O（5 mL）中的混合物中。將所得混合物在25°C攪拌2 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用DCM/ MeOH（3:1）洗脫）純化，以得到呈白色固體的(2*S*)-2-[(2*S*)-2-胺基-3-甲基丁醯胺基]-5-(胺基甲醯基胺基)-*N*-[4-(羥基甲基)苯基]戊醯胺（1.3 g）。LC-MS (ESI): 380.4 $[M+H]^+$。

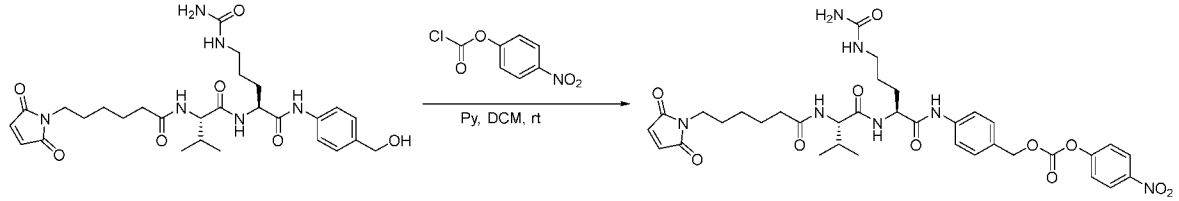
_N_-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-4-(胺基甲醯基胺基)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}丁基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)己醯胺的合成



【0692】 在25°C，將DIEA（1.33 g，10.278 mmol）添加至(2*S*)-2-[(2*S*)-2-胺基-3-甲基丁醯胺基]-5-(胺基甲醯基胺基)-*N*-[4-(羥基甲基)苯基]戊醯胺（1.3 g，3.426 mmol）和6-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)己酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（1.06 g，3.426 mmol）在DMF（5 mL）中的混合物中。將所得混合物在25°C攪拌3 h。將殘餘物藉由反相快速層析法用以下條件純化：柱，C18矽膠；流動相A：水（0.1% FA），流動相B：MeCN，在30 min內10%至35%梯度；檢測器，UV 254 nm。這產生呈白色固體的*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-4-(胺基甲醯基胺基)-1-

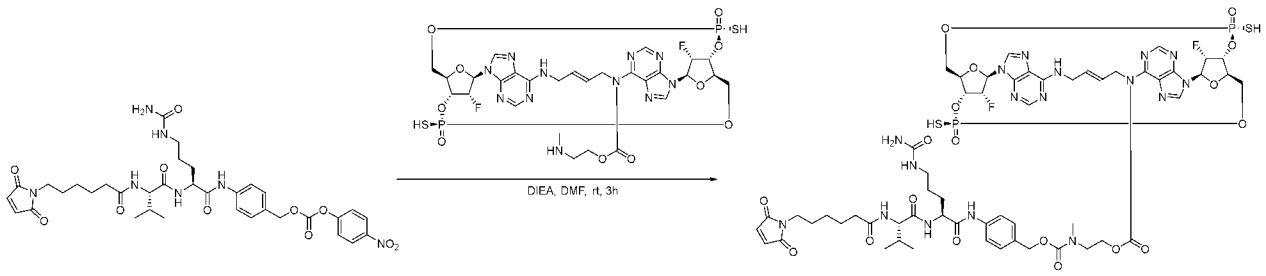
{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}丁基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)己醯胺（1.5 g）。LC-MS (ESI): 573.6 $[M+H]^+$。

碳酸{4-[(2*S*)-5-(胺基甲醯基胺基)-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)己醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]戊醯胺基]苯基}甲基 4-硝基苯基酯的合成



【0693】在25°C，將吡啶（82.88 mg，1.048 mmol）添加至*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-4-(胺基甲醯基胺基)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}丁基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)己醯胺（300 mg，0.524 mmol）和4-硝基苯基氯甲酸酯（211.18 mg，1.048 mmol）在DCM（5 mL）中的混合物中。將所得混合物在25°C攪拌14 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由反相快速層析法用以下條件純化：柱，C18矽膠；流動相A：水（0.1% FA），流動相B：MeCN，在20 min內20%至50%梯度；檢測器，UV 254 nm。這產生呈黃色固體的碳酸{4-[(2*S*)-5-(胺基甲醯基胺基)-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)己醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]戊醯胺基]苯基}甲基 4-硝基苯基酯（110 mg）。LC-MS (ESI): 738.7 $[M+H]^+$

(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-{[({4-[(2*S*)-5-(胺基甲醯基胺基)-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]戊醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}乙基酯（LP14）的合成



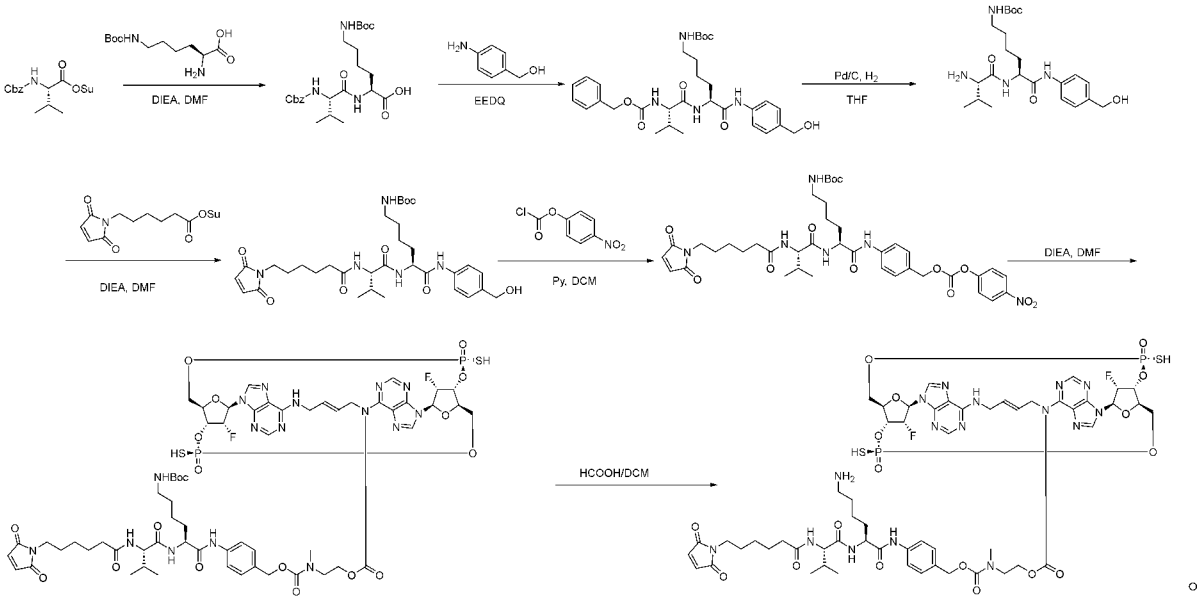
【0694】在氮氣氣氛下，將DIEA（26.28 mg，0.205 mmol）添加至碳酸{4-[(2*S*)-5-(胺基甲醯基胺基)-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)己醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]戊醯胺基]苯基}甲基 4-硝基苯基酯（30 mg，0.041 mmol）和(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-(甲基胺基)乙基酯（34.47 mg，0.041 mmol）在DMF（1 mL）中的混合物中。將所得混合物在氮氣氣氛下在25°C攪拌3 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由製備型TLC（EtOAc（1% TEA）/ MeOH 4:1）純化。將粗製產物（30 mg）藉由製備型HPLC用以下條件純化（柱：XBridge Prep OBD C18柱，19x250 mm，5 μm；流動相A：水（50 mmol/L HCO_2NH_4），流動相B：MeCN；流速：25 mL/min；梯度：在10 min內20% B至30% B，30% B；波長：220 nm），以得到呈白色固體的(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-{[({4-[(2*S*)-5-(胺基甲醯基胺基)-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)己醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]戊醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}乙基酯（**LP14**）（6.3 mg）。

【0695】LC-MS (ESI): 1446.45 $[M+H]^+$。

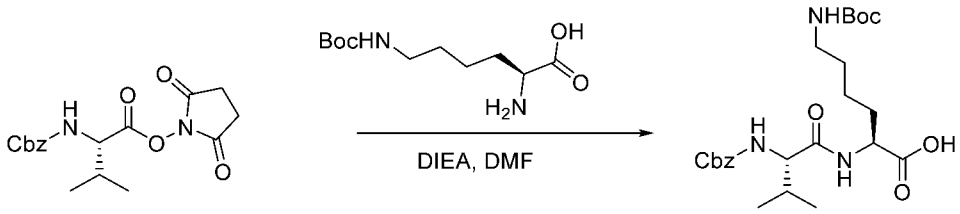
【0696】 ^{1}H NMR (300 MHz, 甲醇-d_4) δ 8.95 – 8.68 (m, 3H), 8.57 – 8.53 (m, 3H), 8.09 (s, 1H), 7.64 – 7.57 (m, 2H), 7.39 – 7.16 (m, 2H), 6.80 (s, 1H), 6.50 – 6.24 (m, 2H), 6.11 – 5.66 (m, 2H), 5.62 – 5.25 (m, 2H), 4.36 – 4.11 (m, 3H), 4.10 – 3.91 (m, 2H), 3.67 (s, 2H), 3.58 – 3.44 (m, 3H), 2.88 (s, 1H), 2.76 (d, J = 15.0 Hz, 2H), 2.31 – 2.20 (m, 3H), 2.14 – 1.73 (m, 4H), 1.72 – 1.49 (m, 8H), 1.07 – 0.78 (m, 16H)。

15. ***LP15****的合成*

【0697】 **LP15**的合成如下所示：



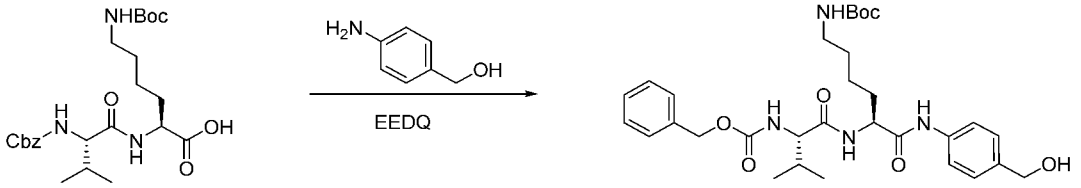
(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(苄氧基)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]-6-[(*三級丁氧基*羰基)胺基]己酸的合成



【0698】 在室溫，向(2*S*)-2-{[(苄氧基)羰基]胺基}-3-甲基丁酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（1 g，2.871 mmol）和(2*S*)-2-胺基-6-[(*三級丁氧基*羰基)胺基]己酸（707.06 mg，2.871 mmol）在DMF（5 mL）中的混合物中添加DIEA（1.11

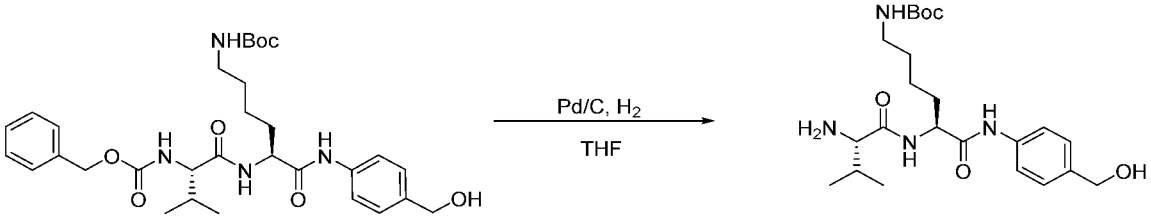
g，8.613 mmol）。將所得混合物在室溫攪拌過夜。將溶液藉由反相快速層析法用以下條件純化：柱：C18；流動相A：水（0.5% FA），流動相B：MeCN；梯度：在30 min內20% B至50% B；220/254 nm。這產生呈灰白色固體的(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(苄氧基)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]-6-[(*三級丁氧基*羰基)胺基]己酸（1 g）。LC-MS (ESI): 480.6 $[M+H]^+$

_N_-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-5-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}戊基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸苄基酯的合成



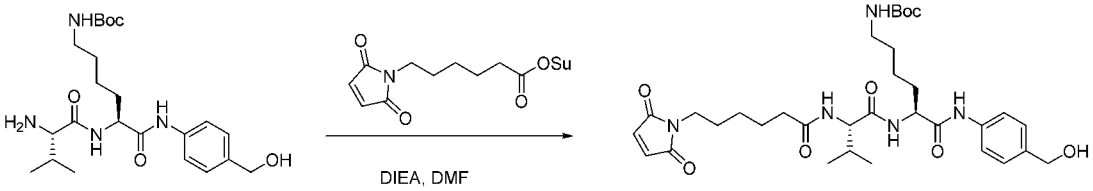
【0699】 向(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(苄氧基)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]-6-[(*三級丁氧基*羰基)胺基]己酸（1 g，2.085 mmol）和*對胺基苄醇*（256.80 mg，2.085 mmol）在DCM（6 mL）/ MeOH（1 mL）中的混合物中添加2-乙氧基-1,2-二氫喹啉-1-甲酸乙基酯（515.64 mg，2.085 mmol）。將所得混合物在室溫攪拌過夜。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用DCM/MeOH（10:1）洗脫）純化，以得到呈白色固體的*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-5-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}戊基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸苄基酯（1 g）。LC-MS (ESI): 585.3 $[M+H]^+$

_N_-[(5*S*)-5-[(2*S*)-2-胺基-3-甲基丁醯胺基]-5-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}戊基]胺基甲酸*三級丁基*酯的合成



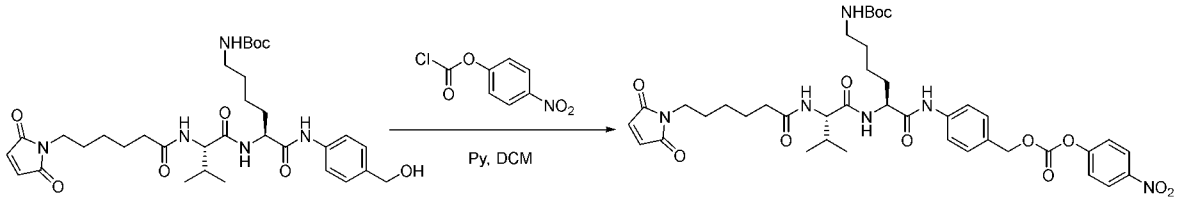
【0700】 在室溫，向*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-5-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}戊基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸苄基酯（1 g，1.710 mmol）在THF（10 mL）中的混合物中添加Pd/C（200 mg）。將所得混合物在氫氣氣氛下在室溫攪拌過夜。將所得混合物過濾，將濾餅用THF洗滌。將濾液在減壓下濃縮。這產生呈綠色固體的*N*-[(5*S*)-5-[(2*S*)-2-胺基-3-甲基丁醯胺基]-5-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}戊基]胺基甲酸*三級丁基*酯（800 mg）。LC-MS (ESI): 451.3 $[M+H]^+$。

_N_-[(5*S*)-5-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]-5-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}戊基]胺基甲酸*三級丁基*酯的合成



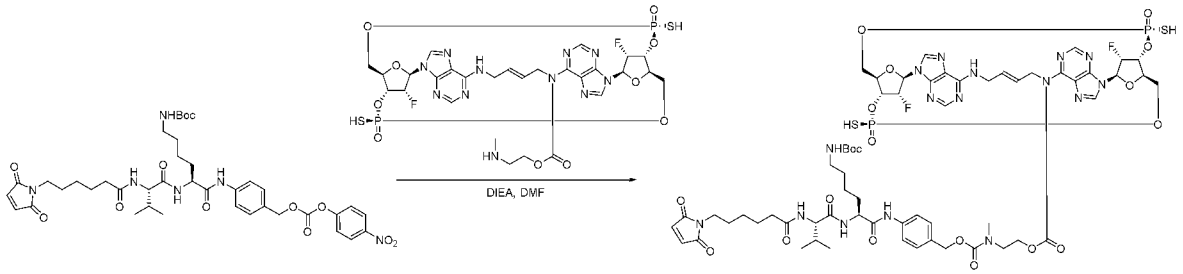
【0701】 在室溫，向*N*-[(5*S*)-5-[(2*S*)-2-胺基-3-甲基丁醯胺基]-5-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}戊基]胺基甲酸*三級丁基*酯（800 mg，1.775 mmol）和6-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)己酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（68.42 mg，0.222 mmol）在DMF（5 mL）中的混合物中添加DIEA（688.43 mg，5.325 mmol）。將所得混合物在室溫攪拌1 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用DCM/ MeOH（10:1）洗脫）純化，以得到呈灰白色固體的*N*-[(5*S*)-5-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]-5-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}戊基]胺基甲酸*三級丁基*酯（650 mg）。LC-MS (ESI): 644.5 $[M+H]^+$。

碳酸{4-[(2*S*)-6-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]己醯胺基]苯基}甲基 4-硝基苯基酯的合成



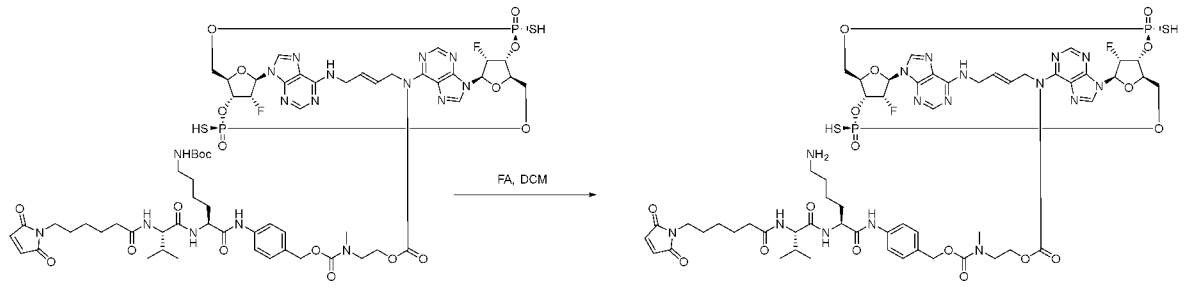
【0702】 在室溫，向*N*-[(5*S*)-5-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]-5-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}戊基]胺基甲酸*三級丁基*酯（100 mg，0.155 mmol）和4-硝基苯基氯甲酸酯（62.62 mg，0.310 mmol）在DCM（2 mL）中的混合物中添加吡啶（18.43 mg，0.232 mmol）。將所得混合物在室溫攪拌4 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用PE / EtOAc（1:3）洗脫）純化，以得到呈白色固體的碳酸{4-[(2*S*)-6-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)己醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]己醯胺基]苯基}甲基 4-硝基苯基酯（60 mg）。LC-MS (ESI):809.5 $[M+H]^+$。

(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-{[({4-[(2*S*)-6-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]己醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}乙基酯的合成



【0703】 在室溫，向碳酸{4-[(2*S*)-6-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]己醯胺基]苯基}甲基 4-硝基苯基酯（60 mg，0.074 mmol）和(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-(甲基胺基)乙基酯（62.88 mg，0.074 mmol）在DMF（2 mL）中的混合物中添加DIEA（47.94 mg，0.370 mmol）。將所得混合物在室溫攪拌4 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由製備型TLC（DCM/ MeOH 5:1）純化，以得到呈白色固體的(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-{[({4-[(2*S*)-6-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]己醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}乙基酯（30 mg）。LC-MS (ESI):1517.5 $[M+H]^+$。

(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-{[({4-[(2*S*)-6-胺基-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]己醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}乙基酯（LP15）的合成



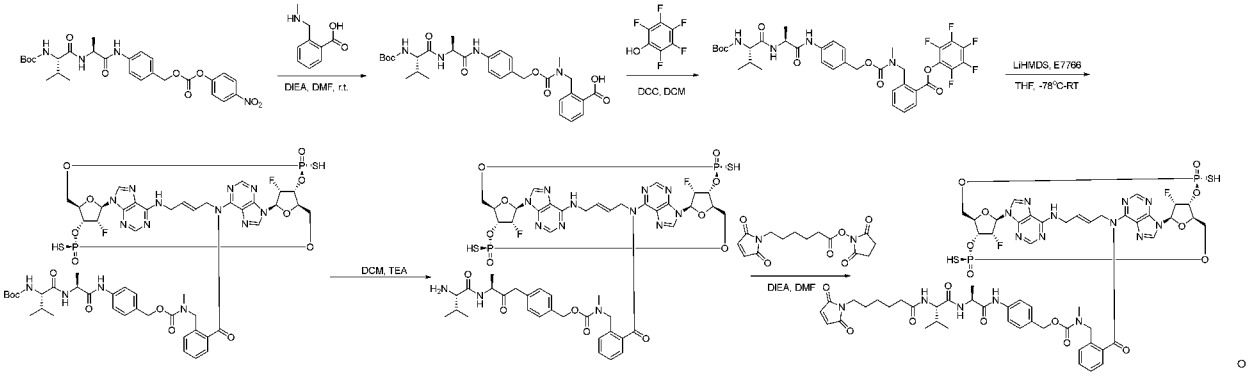
【0704】在室溫，向(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-{[({4-[(2*S*)-6-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]己醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}乙基酯（40 mg，0.026 mmol）在DCM（2 mL）中的混合物中添加甲酸（2 mL）。將所得混合物在室溫攪拌1 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將粗製產物藉由製備型HPLC用以下條件純化（柱：XBridge Prep OBD C18柱，19*250 mm，5 μm；流動相A：水（50 mmol/L HCO_2NH_4），流動相B：MeCN；流速：25 mL/min；梯度：在10 min內20% B至30% B，30% B；波長：254 nm），以得到呈白色固體的(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-{[({4-[(2*S*)-6-胺基-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]己醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}乙基酯（**LP15**）（10.6 mg）。

【0705】LC-MS (ESI): 1418.65 $[M+H]^+$。

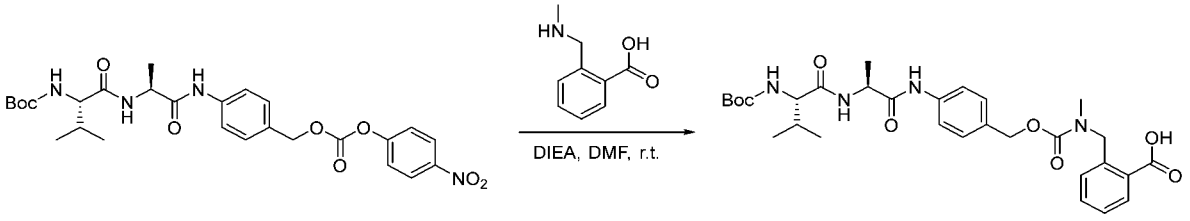
【0706】 ^{1}H NMR (400 MHz 甲醇-d_4) δ 8.94 – 8.43 (m, 3H), 8.28 – 7.85 (m, 2H), 7.70 – 7.39 (m, 2H), 7.32 – 7.00 (m, 2H), 6.81 (m, 2H), 6.30 (s, 1H), 6.05 – 5.75 (m, 4H), 5.70 – 5.27 (m, 1H), 4.69 – 4.54 (m, 5H), 4.51– 4.39 (m, 7H), 4.19 – 4.05 (m, 5H), 4.09 – 3.88 (m, 2H), 3.66 – 3.40 (m, 2H), 3.05 – 2.93 (m, 3H), 2.91 – 2.78 (m, 2H), 2.70 (s, 1H), 2.40 – 2.20 (m, 2H), 2.20 – 2.02 (m, 1H), 2.01 – 1.90 (m, 1H), 1.82 – 1.69 (m, 3H), 1.70 – 1.45 (m, 7H), 1.44 – 1.22 (m, 5H), 1.10 – 0.86 (m, 6H)。

16. ***LP16****的合成*

【0707】 **LP16**的合成如下所示：



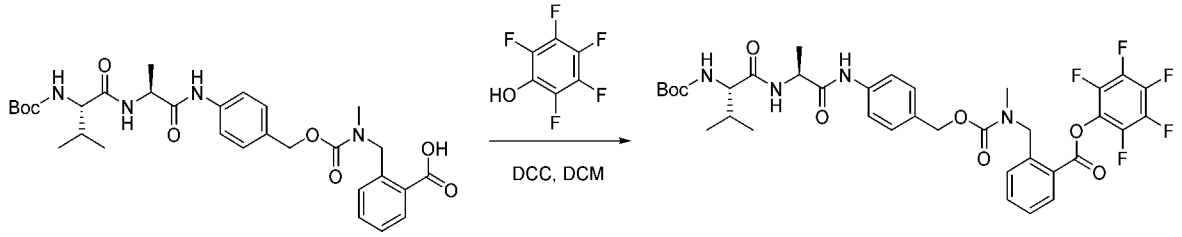
2-({[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基} -3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}甲基)苯甲酸的合成



【0708】 將2-[(甲基胺基)甲基]苯甲酸（177 mg，1.074 mmol）和DIEA（555 mg，4.296 mmol）添加至碳酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[(*三級丁氧基*羰基)胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基 4-硝基苯基酯（600 mg，1.074 mmol）在DMF（5 mL）中的混合物中。將所得混合物在25°C攪拌2 h。將所得混合物用EtOAc稀釋、用水洗滌並濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用CH_2Cl_2 / MeOH（10:1）洗脫）純化。這產生600 mg呈白色固體的2-({[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(三

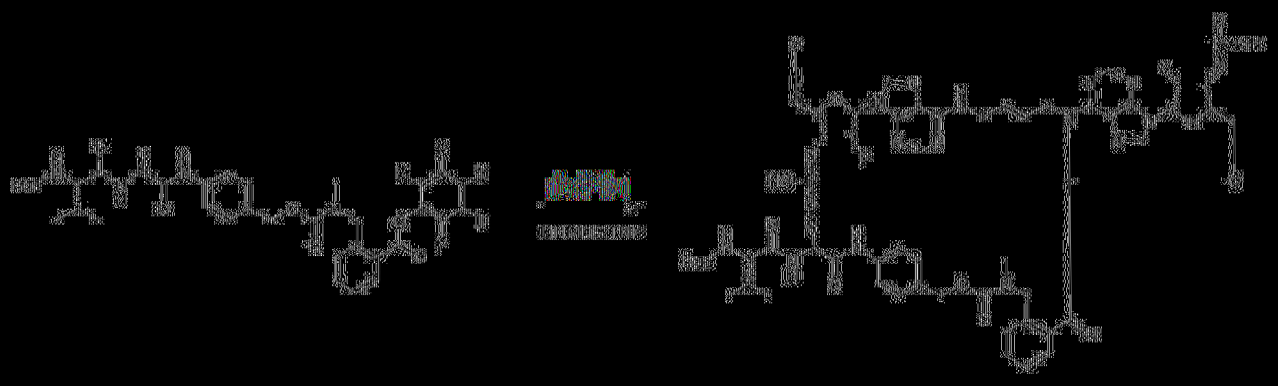
級丁氧基)羰基]胺基} -3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}甲基)苯甲酸。LC-MS (ESI): 585 $[M+H]^+$。

2-({[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}甲基)苯甲酸2,3,4,5,6-五氟苯基酯的合成



【0709】將五氟苯酚（378 mg，2.052 mmol）和DCC（424 mg，2.052 mmol）添加至2-({[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基} -3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}甲基)苯甲酸（600 mg，1.026 mmol）在DCM（10 mL）中的混合物中。將所得混合物在25°C攪拌1 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用PE / EtOAc（1:1）洗脫）純化。這產生830 mg呈白色固體的2-({[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}甲基)苯甲酸2,3,4,5,6-五氟苯基酯。LC-MS (ESI): 751 $[M+H]^+$。

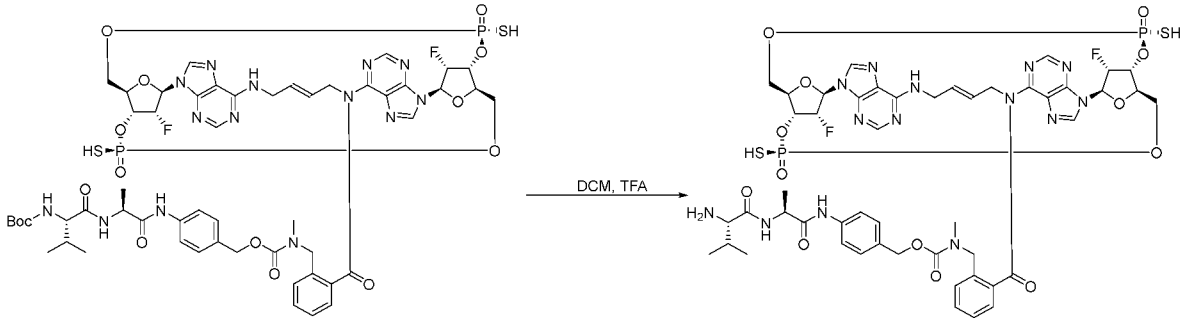
***N*-({2-[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-羰基]苯基}甲基)-*N*-甲基胺基甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基酯的合成**



[0710]將LiHMDS（0.48 mmol）添加至化合物1（60 mg，0.080 mmol）在THF（5 mL）中的混合物中。將所得混合物在-78°C攪拌30 min。在-78°C，向上述混合物中滴加2-({[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]-5-脲基戊醯胺基}苯基]甲氧基)羰基](甲基)胺基}甲基)苯甲酸2,3,4,5,6-五氟苯基酯（60 mg，0.08 mmol）。將所得混合物在-78°C下攪拌3 h。如果未消耗化合物1，則在-78°C添加2 eq LiHMDS和1 eq 2-({[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]-5-脲基戊醯胺基}苯基]甲氧基)羰基](甲基)胺基}甲基)苯甲酸2,3,4,5,6-五氟苯基酯。將反應用AcOH淬滅。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用DCM / MeOH（8:1）洗脫）純化。獲得60 mg呈白色固體的*N*-({2-[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^3,36^.1^28,31^.0^4,8^.0^7,12^.0^19,24^.0^23,27^]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-羰基]苯基}甲基)-*N*-甲基胺基甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]-5-脲基戊醯胺基}苯甲酯。LC-MS (ESI): 1313 [M+H]+。

N-({2-[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^3,36^.1^28,31^.0^4,8^.0^7,12^.0^19,24^.0^23,27^]四十二烷-

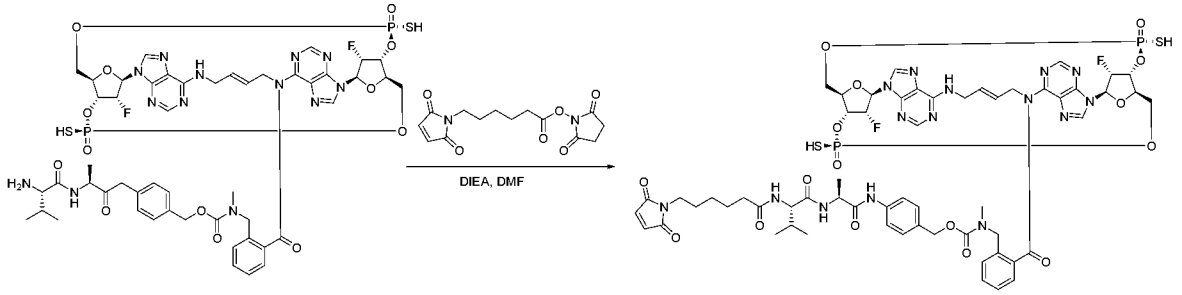
5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-羰基]苯基}甲基)-*N*-甲基胺基甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-胺基-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基酯的合成



【0711】將TFA（0.6 mL）添加至*N*-({2-[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-羰基]苯基}甲基)-*N*-甲基胺基甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基酯（80 mg，0.061 mmol）在DCM（3.6 mL）中的混合物中。將所得混合物在0°C攪拌1 h。將所得混合物在減壓下濃縮。這產生80 mg呈粗製油狀物的*N*-({2-[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-羰基]苯基}甲基)-*N*-甲基胺基甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-胺基-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基酯。LC-MS (ESI): 1212 $[M+H]^+$。

***N*-({2-[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-羰基]苯基}甲基)-*N*-甲基胺基甲酸{4-[(2*S*)-2-**

[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基酯（LP16）的合成



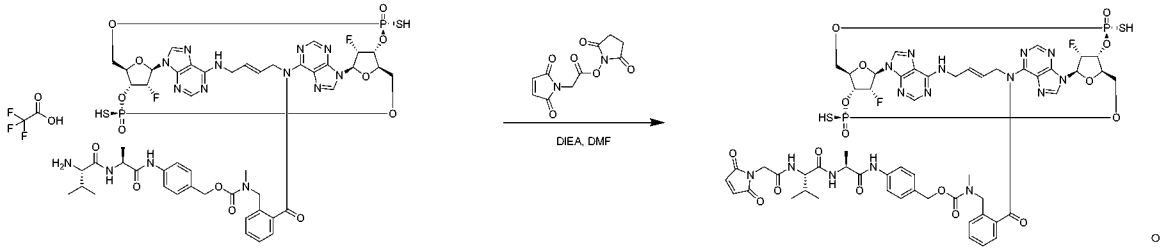
【0712】將6-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)己酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（41 mg，0.132 mmol）和DIEA（85 mg，0.660 mmol）添加至*N*-({2-[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-羰基]苯基}甲基)-*N*-甲基胺基甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-胺基-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基酯（80 mg，0.066 mmol）在DMF（2 mL）中的混合物中。將所得混合物在25°C攪拌1 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由製備型TLC（DCM / MeOH 7:1）和製備型HPLC（柱：XBridge Prep Phenyl OBD柱，19x250 mm，5 μm；流動相A：水（50 mmol HCO_2NH_4），流動相B：MeCN；流速：25 mL/min；梯度：在15 min內25% B至50% B；波長：254 nm）純化。這產生25.3 mg呈白色固體的*N*-({2-[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-羰基]苯基}甲基)-*N*-甲基胺基甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基酯（**LP16**）。

【0713】 LC-MS (ESI): 1406.55[M+H]$^+$。

【0714】 ^{1}H NMR (400 MHz, 甲醇-d_4) δ 8.97 (s, 1H), 8.52 –8.28 (m, 2H), 8.26 – 8.13 (m, 2H), 8.09 – 7.99 (m, 1H), 7.64 – 7.50 (m, 2H), 7.41 – 7.33 (m, 1H), 7.28 – 7.17 (m, 2H), 7.06 – 6.93 (m, 2H), 6.80 (s, 2H), 6.43 – 6.23 (m, 2H), 6.13 – 5.45 (m, 4H), 5.14 (d, J = 7.0 Hz, 3H), 4.87 – 4.72 (m, 3H), 4.70 – 4.30 (m, 8H), 4.24 – 4.13 (m, 1H), 4.10 – 4.00 (m, 1H), 3.99 – 3.83 (m, 1H), 3.77 – 3.59 (m, 1H), 3.54 – 3.42 (m, 3H), 3.31 – 3.14 (m, 3H), 3.02 – 2.91 (m, 3H), 2.37 – 2.25 (m, 2H), 2.16 – 2.04 (m, 1H), 1.68 – 1.53 (m, 4H), 1.47 – 1.42 (m, 3H), 1.40 – 1.25 (m, 3H), 1.03 – 0.95 (m, 6H)。

17. ***LP17****的合成*

【0715】 **LP17**的合成如下所示：



。

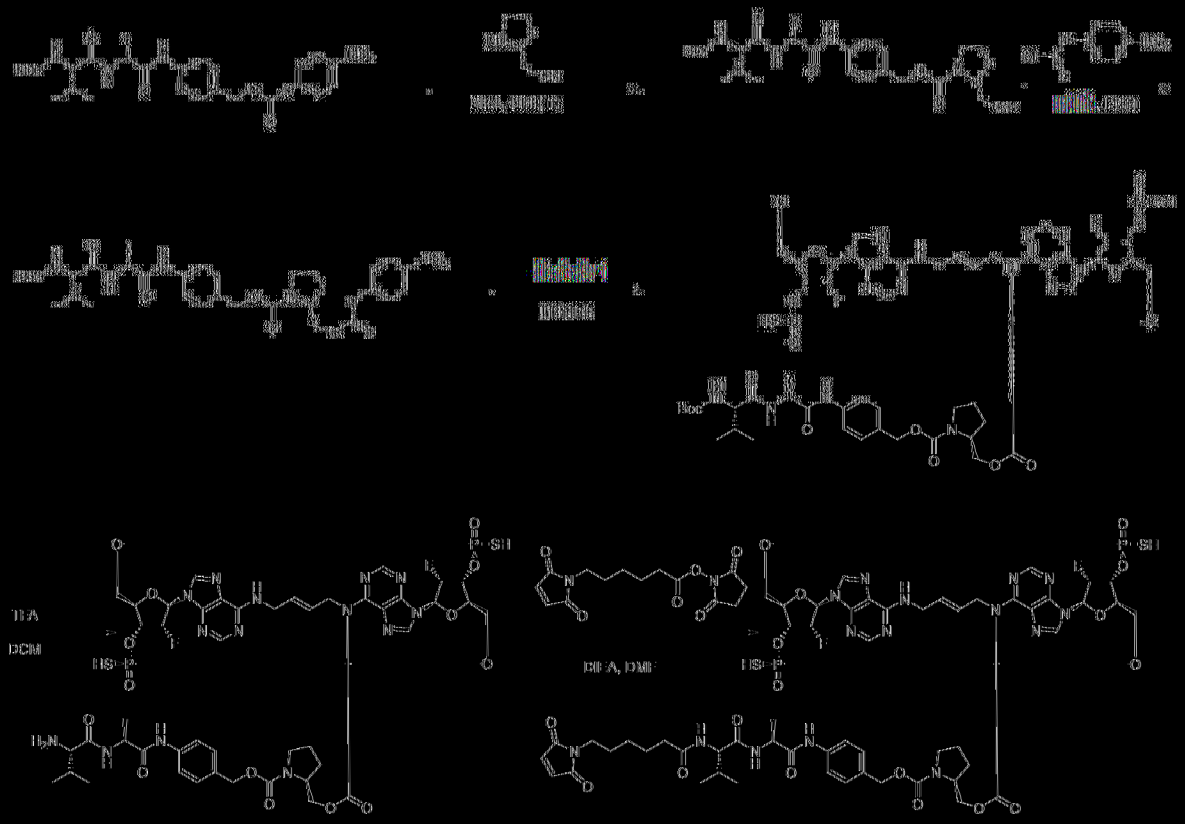
【0716】 在室溫，向*N*-({2-[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-羰基]苯基}甲基)-*N*-甲基胺基甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-胺基-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基酯三氟乙酸鹽（16 mg，0.012 mmol）在DMF（1 mL）中的溶液中添加DIEA（10.53 µl，0.06 mmol）和2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)乙酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（4.56 mg，0.018 mmol）。將反應混合物在室溫攪拌2小時。將反應混合物藉由反相

快速HPLC法（使用在水（0.1%甲酸）中的3%至70%梯度的MeCN）純化，以給出呈無色固體的*N*-({2-[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-羰基]苯基}甲基)-*N*-甲基胺基甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)乙醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基酯（CLPT7）（7.2 mg）。

[0717] LC-MS (ESI): 1350.40 [M+H]$^+$。

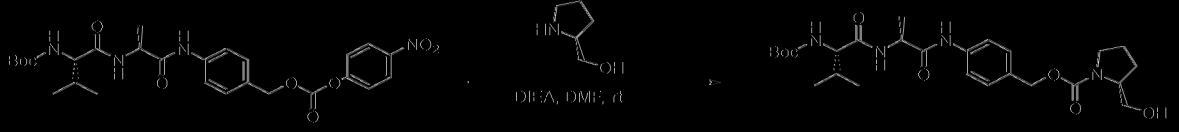
18. LP20的合成

[0718] LP20的合成如下所示：



。

(2*S*)-2-(羥甲基)吡咯啶-1-甲酸4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[（三級丁氧基）羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基甲基酯的合成



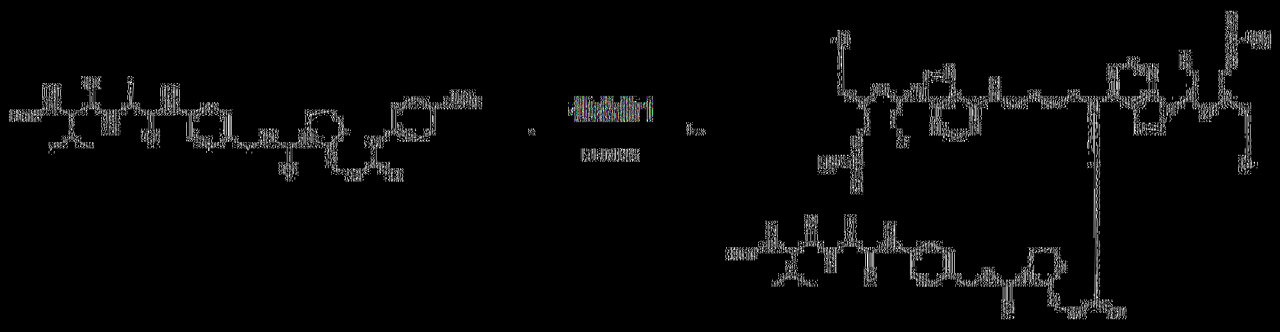
[0719] 在室溫，向脯胺醇（50 mg，0.494 mmol）在DMF（5 mL）中的混合物中添加碳酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基4-硝基苯基酯（276.12 mg，0.494 mmol）和DIEA（191.67 mg，1.482 mmol）。將所得混合物在室溫攪拌過夜。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠層析法（用CH_2Cl_2/ MeOH（10:1）洗脫）純化，以得到呈白色油狀物的(2*S*)-2-(羥基甲基)吡咯烷-1-甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基酯（250 mg）。LC-MS (ESI): 521.6 [M+H]$^+$。

(2*S*)-2-({[(4-硝基苯氧基)羰基]氧基}甲基)吡咯烷-1-甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基酯的合成

[0720] 在室溫，向(2*S*)-2-(羥基甲基)吡咯烷-1-甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基酯（250 mg，0.480 mmol）和4-硝基苯基氯甲酸酯（145.18 mg，0.720 mmol）在DCM（7 mL）中的混合物中添加吡啶（56.97 mg，0.720 mmol）。將所得混合物在室溫攪拌過夜。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由製備型TLC（PE / EtOAc 1:3）純化，以得到呈白色油狀物的(2*S*)-2-({[(4-硝基苯氧基)羰基]氧基}甲基)吡咯烷-1-甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基酯（230 mg）。LC-MS (ESI): 686.7 [M+H]$^+$。

(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34

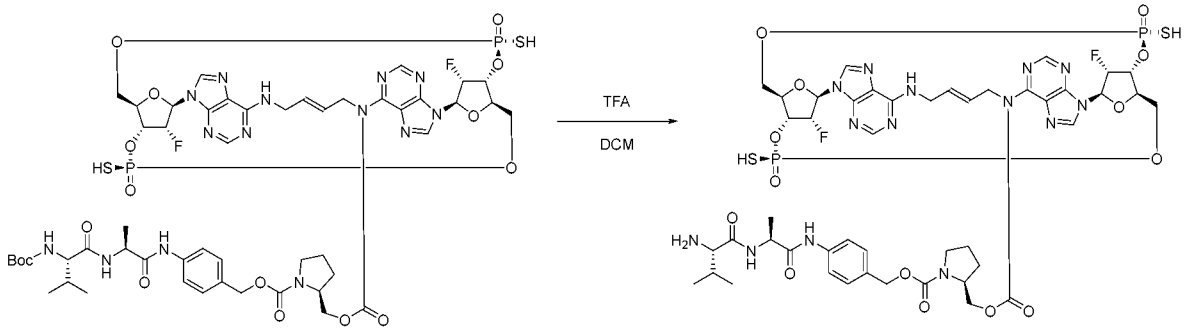
λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸(2*S*)-1-[(4-{(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]-5-脲基戊醯胺基}苯基)甲氧基]羰基吡咯啶-2-基甲基酯的合成



[(0721)]在氮氣氣氛下在-78°C，向化合物1（60 mg，0.080 mmol）在THF（5 mL）中的溶合物中添加LiHMDS（0.480 mmol）。將所得溶合物在-78°C攪拌30 min。在氮氣氣氛下在-78°C，向所得溶合物中添加(2*S*)-2-({[(4-硝基苯氧基)羰基]氧基}甲基)吡咯啶-1-甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]-5-脲基戊醯胺基]苯基}甲基酯（55.11 mg，0.080 mmol）。將所得溶合物在一小時內緩慢加溫至0°C。將反應藉由添加AcOH淬滅。將所得溶合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由製備型LC（EtOAc /MeOH 3:1）純化，以得到呈白色固體的(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸(2*S*)-1-[(4-{(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]-5-脲基戊醯胺基}苯基)甲氧基]羰基吡咯啶-2-基甲基酯（50 mg）。LC-MS (ESI): 1293.4 [M+H]+。

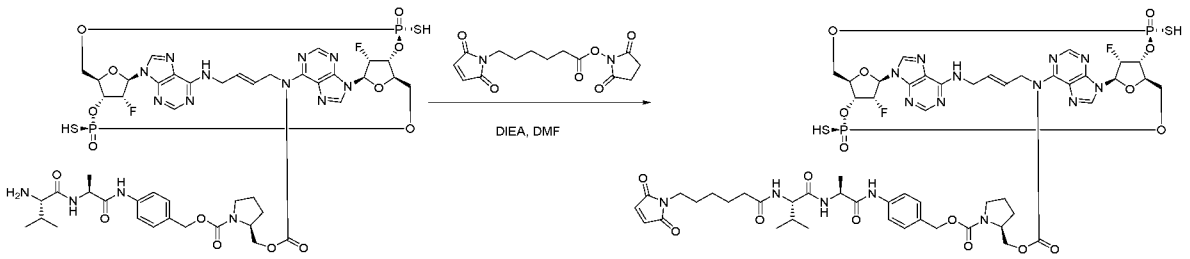
(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34

λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-胺基-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]吡咯啶-2-基]甲基酯的合成



【0722】 在0°C，向(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}-3 甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]吡咯啶-2-基]甲基酯（50 mg，0.039 mmol）在DCM（6 mL）中的混合物中添加TFA（1 mL）。將所得混合物在0°C攪拌1 h。將所得混合物在減壓下濃縮。粗品無需進一步純化即可直接用於下一步驟。LC-MS (ESI): 1193.1 $[M+H]^+$。

(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)己醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]吡咯啶-2-基]甲基酯（LP20）的合成

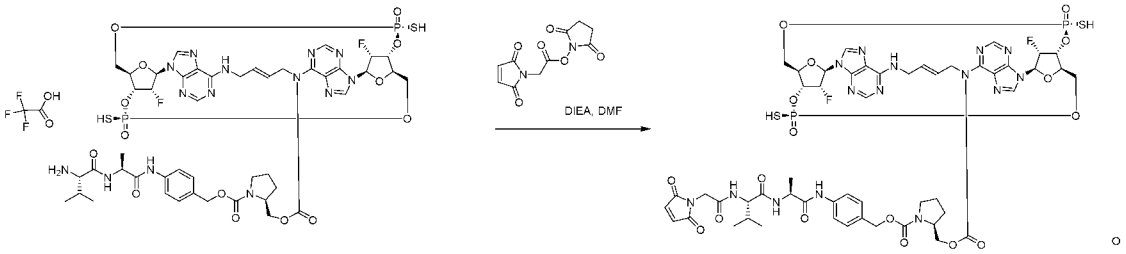


【0723】在室溫，向(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-胺基-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]吡咯啶-2-基]甲基酯（10 mg，0.008 mmol）和6-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)己酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（25.84 mg，0.084 mmol）在DMF（3 mL）中的混合物中添加DIEA（16.25 mg，0.126 mmol）。將所得混合物在室溫攪拌1 h。將所得混合物在真空下濃縮。將殘餘物藉由製備型TLC（DCM / MeOH 5:1）和製備型HPLC用以下條件純化（柱：XBridge Prep OBD C18柱，19*250 mm，5 μm；流動相A：水（50 mmol/L HCO_2NH4），流動相B：MeCN；流速：25 mL/min；梯度：在12 min內25% B至35% B，35% B；波長：254 nm），以得到呈白色固體的(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]吡咯啶-2-基]甲基酯（**LP20**）（11.4 mg）。LC-MS (ESI):1386.40 $[M+H]^+$; ^1H NMR (400 MHz, 甲醇-d_4) δ 9.14 – 8.62 (m, 3H), 8.24 – 7.98 (m, 1H), 7.69 – 7.47 (m, 2H), 7.41 – 7.17 (m, 2H), 6.94 – 6.64 (m, 2H), 6.62 – 6.14 (m, 2H), 6.11 – 5.31

(m, 4H), 5.09 – 4.92 (m, 3H), 4.74 – 4.58 (m, 4H), 4.54 – 4.39 (m, 4H), 4.35 – 4.17 (m, 2H), 4.12 – 3.87 (m, 4H), 3.79 – 3.55 (m, 1H), 3.56 – 3.41 (m, 3H), 3.23 – 2.98 (m, 1H), 2.70 (s, 1H), 2.36 – 2.27 (m, 2H), 2.24 – 2.05 (m, 2H), 2.00 – 1.75 (m, 1H), 1.74 – 1.51 (m, 8H), 1.52 – 1.43 (m, 3H), 1.40 – 1.22 (m, 5H), 1.06 – 0.85 (m, 6H)。

19. ***LP18****的合成*

【0724】 **LP18**的合成如下所示：



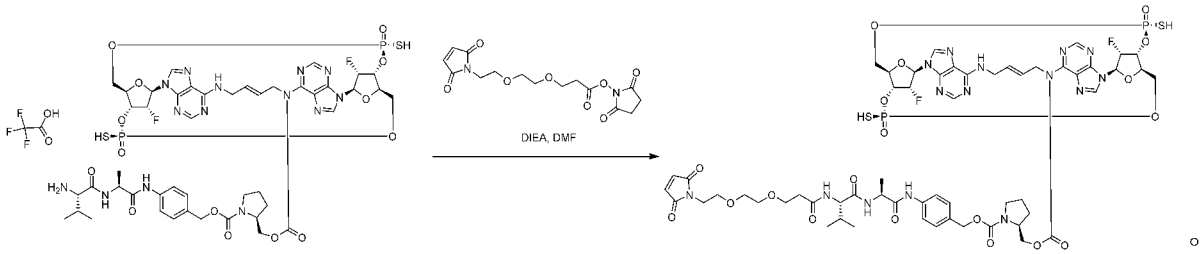
。

【0725】 化合物(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)乙醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]吡咯啶-2-基]甲基酯（**LP18**）藉由類似於LP20的程序的程序，藉由使用2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)乙酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯代替6-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)己酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯獲得。

【0726】 LC-MS (ESI): 1330.72 $[M+H]^+$。

20. ***LP19****的合成*

【0727】 **LP19**的合成如下所示：

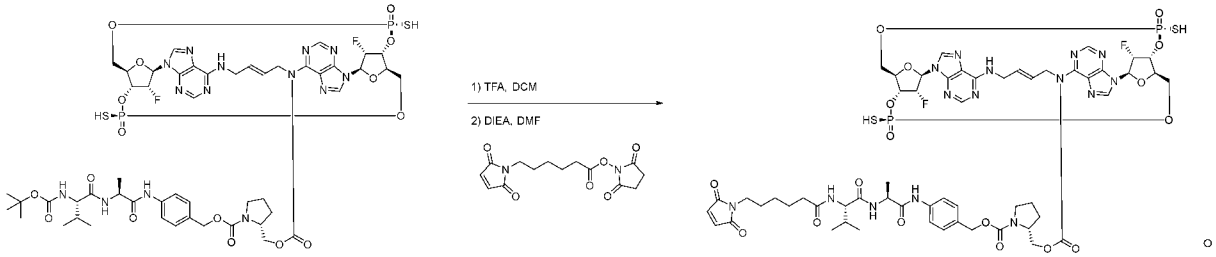


【0728】 化合物(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-(3-{2-[2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)乙氧基]乙氧基}丙醯胺基)-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]吡咯啶-2-基]甲基酯（**LP19**）藉由類似於LP20的程序的程序，藉由使用3-{2-[2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)乙氧基]乙氧基}丙酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯代替6-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)己酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯獲得。

【0729】 LC-MS (ESI): 1432.88 $[M+H]^+$。

*21.　**LP29**的合成*

【0730】 **LP29**的合成如下所示：



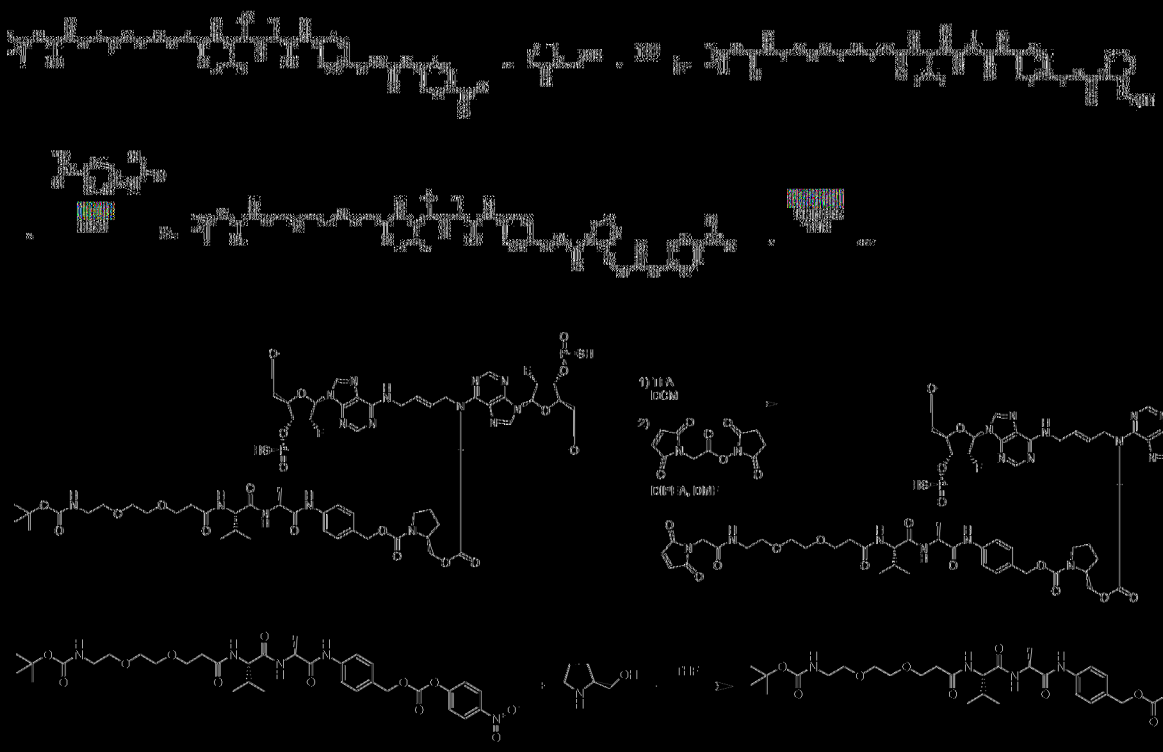
【0731】 向(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*R*)-1-[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺

基]苯基}甲氧基)羰基]吡咯啶-2-基]甲基酯（20 mg，0.015 mmol）在DCM（0.5 mL）中的混合物中添加TFA（0.5 mL）。將所得混合物在室溫攪拌15 min。將所得混合物在減壓下濃縮並溶解於DCM/甲苯中，然後在減壓下濃縮三次。將粗製殘餘物溶解於DMF（0.5 mL）中，然後將三乙胺（31.3 mg，0.309 mmol）和6-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)己酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（9.5 mg，0.031 mmol）添加至混合物中。將所得混合物在室溫攪拌30 min。將所得混合物用甲酸（20.2 mg，0.387 mmol）淬滅並藉由ODS矽膠層析法（MeCN中的0.1%甲酸/水 = 1:9至4:6）直接純化，以得到粗製產物。將粗製產物藉由ODS矽膠層析法（MeCN中的0.1% TFA/水 = 1:9至4:6）純化，以得到(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*R*)-1-[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]吡咯啶-2-基]甲基酯（**LP29**）（3.97 mg）。

【0732】 LC-MS (ESI): 1386.59 $[M+H]^+$。

*22.　**LP25**的合成*

【0733】 **LP25**的合成如下所示：



[0734] 在室溫，向碳酸{4-[(2S)-2-[(2S)-2-{3-[2-(2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}乙氧基)乙氧基]丙醯胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基 4-硝基苯基酯（100 mg，0.139 mmol）在THF（2.0 mL）中的溶液中添加THF（0.4 mL）中的L-脯胺醇（42.3 mg，0.418 mmol）。將反應混合物在室溫攪拌2 h 50 min。將溶劑在減壓下除去。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（EtOAc:MeOH = 100:0至85:15）純化，以給出呈無色油狀物的(2S)-2-(羥基甲基)吡咯啶-1-甲酸{4-[(2S)-2-[(2S)-2-{3-[2-(2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}乙氧基)乙氧基]丙醯胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基酯（98.8 mg）。LC-MS (ESI): 680.45 [M+H]+。

(2S)-2-({[(4-硝基苯氧基)羰基]氧基}甲基)吡咯啶-1-甲酸{4-[(2S)-2-[(2S)-2-{3-[2-(2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}乙氧基)乙氧基]丙醯胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基酯的合成

[0735] 在室溫，向(2S)-2-(羥基甲基)吡咯啶-1-甲酸{4-[(2S)-2-[(2S)-2-{3-[2-(2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}乙氧基)乙氧基]丙醯胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]

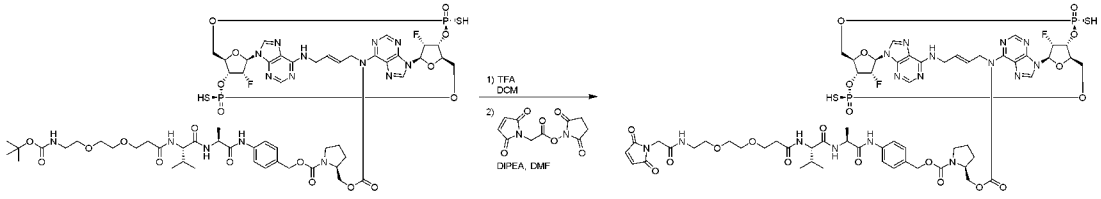
胺基]苯基}甲基酯（98.8 mg，0.139 mmol）在DCM（3.0 mL）中的溶液中添加吡啶（22.4 μL，0.277 mmol）和4-硝基苯基氯甲酸酯（55.1 mg，0.273 mmol）。將混合物在室溫攪拌2 h 45 min。將乙酸乙酯（10 mL）和10%水性檸檬酸（5 mL）添加至反應混合物中，並且將有機相分離、用鹽水洗滌、經硫酸鈉乾燥、過濾並在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（EtOAc/MeOH = 100:0至90:10）純化，以給出呈無色油狀物的(2*S*)-2-({[(4-硝基苯氧基)羰基]氧基}甲基)吡咯烷-1-甲酸(4-{(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{3-[2-(2-{[(三級-丁氧基)羰基]胺基}乙氧基)乙氧基]丙醯胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基}苯基)甲基酯（91.9 mg）。LC-MS (ESI): 845.54 [M+H]+。

(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ⁵,39λ⁵-二磷雜八環[28.6.4.1³,³⁶.1²⁸,³¹.0⁴,⁸.0⁷,¹².0¹⁹,²⁴.0²³,²⁷]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-十烯-13-甲酸(2*S*)-1-({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{3-[2-(2-{[(三級-丁氧基)羰基]胺基}乙氧基)乙氧基]丙醯胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基}苯基]甲氧基)羰基吡咯烷-2-基甲基酯的合成

[(0736)] 在室溫，向化合物1（45 mg，0.053 mmol）在THF（5.0 mL）中的白色懸浮液中滴加LiHMDS（0.487 mL，0.633 mmol）持續4 min。將反應混合物在室溫攪拌30 min。然後將它冷卻至-78°C。向混合物中添加THF（0.5 mL）中的(2*S*)-2-({[(4-硝基苯氧基)羰基]氧基}甲基)吡咯烷-1-甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{3-[2-(2-{[(三級-丁氧基)羰基]胺基}乙氧基)乙氧基]丙醯胺基}-3-甲基丁醯

胺基]丙醯胺基]苯基}甲基酯（46.3 mg，0.055 mmol）（用THF沖洗（0.25 mL x 2））。將反應混合物在-78°C攪拌10 min。然後使反應混合物加溫至室溫。在室溫攪拌30 min後，將反應混合物冷卻至-78°C並在-78°C用乙酸（0.076 mL，1.319 mmol）淬滅。然後將它在0°C攪拌1 h 45 min。將混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由ODS矽膠柱層析法（H_2O-MeCN（0.1%甲酸）= 95:5至35:65）純化，以給出呈白色固體的(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ^5,39λ^5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{3-[2-(2-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}乙氧基)乙氧基]丙醯胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]吡咯啶-2-基]甲基酯（53.3 mg）。LC-MS (ESI): 1452.48 $[M+H]^+$。

(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ^5,39λ^5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[3-(2-{2-[2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)乙醯胺基]乙氧基}乙氧基)丙醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]吡咯啶-2-基]甲基酯（LP25）的合成



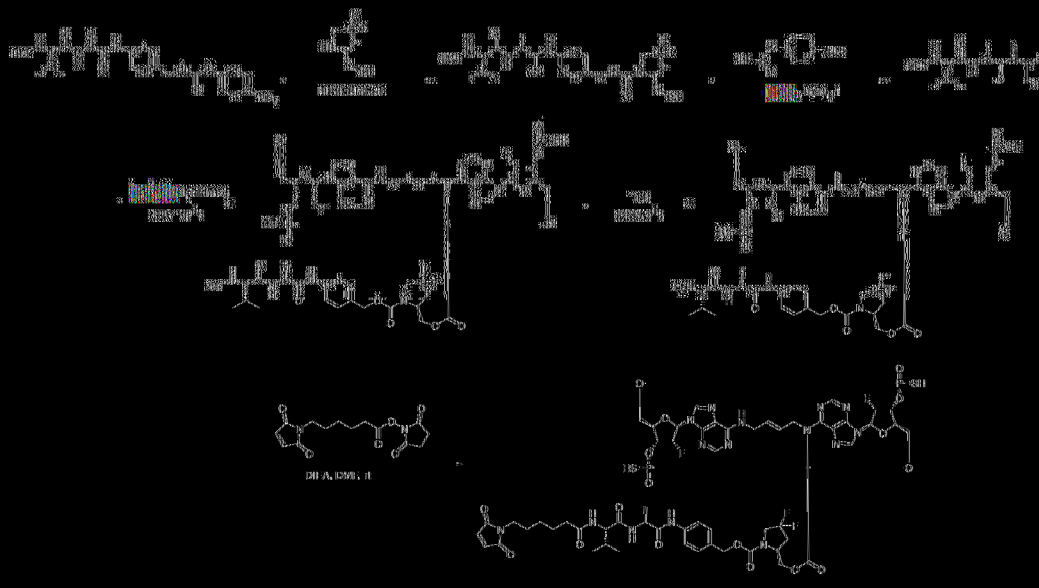
【0737】 在0°C，向(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ^5,39λ^5-二磷雜八環

[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{3-[2-(2-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}乙氧基)乙氧基]丙醯胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]吡咯啶-2-基]甲基酯（52.8 mg，0.036 mmol）在二氯甲烷（4.0 mL）中的懸浮液中添加三氟乙酸（0.4 mL）。將混合物在室溫攪拌1 h。藉由與甲苯共沸（三次）除去所有揮發物。將殘餘物在高真空下乾燥。將該材料溶解於DMF（2.0 mL）中。在0°C，向溶液中添加DIEA（63 μL，0.364 mmol）和2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)乙酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（36.7 mg，0.145 mmol）。將混合物在0°C攪拌1 h。將反應在0°C藉由添加甲酸（0.014 mL，0.364 mmol）淬滅。在高真空下除去所有揮發物。將殘餘物藉由ODS矽膠柱層析法（H_2O-MeCN（0.1%甲酸）＝95:5至55:45）純化，以給出呈白色固體的(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ^5,39λ^5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[3-(2-{2-[2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)乙醯胺基]乙氧基}乙氧基)丙醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]吡咯啶-2-基]甲基酯（**LP25**）（31.56 mg）。

【0738】 LC-MS (ESI): 1489.43 $[M+H]^+$ 。

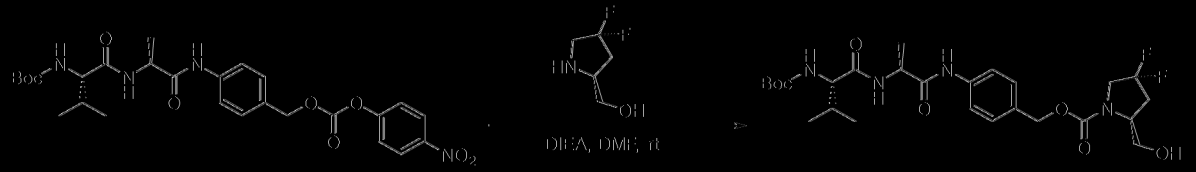
*23.　**LP28**的合成*

【0739】 **LP28**的合成如下所示：



。

(2*S*) 4,4-二氟-2-(羥基甲基)吡咯啶-1-甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(二級丁氧基)羰基]胺基}-3-甲基-丁醯胺基]-5-脲胺基-戊醯胺基]-苯基}甲基酯的合成

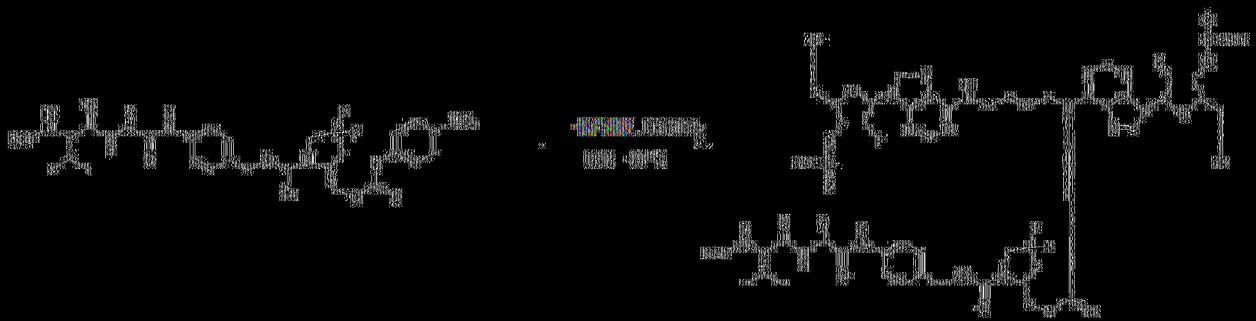


[0740] 在25°C，將DIEA（347.07 mg，2.685 mmol）添加至碳酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(二級丁氧基)羰基]胺基}-3-甲基-丁醯胺基]-5-脲胺基-戊醯胺基]-苯基}甲基4-硝基苯基酯（500 mg，0.895 mmol）和[(2*S*) 4,4-二氟吡咯啶-2-基]甲醇（122.75 mg，0.895 mmol）在DMF（5 mL）中的攪拌溶液中。將所得混合物在25°C攪拌2 h。將所得混合物用EtOAc稀釋並用水洗滌。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用DCM / MeOH（15/1）洗脫）純化，以得到呈白色固體的(2*S*) 4,4-二氟-2-(羥基甲基)吡咯啶-1-甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(二級丁氧基)羰基]胺基}-3-甲基-丁醯胺基]-5-脲胺基-戊醯胺基]-苯基}甲基酯（480 mg）。LC-MS (ESI): 557.2 [M+H]+。

(2*S*) 4,4-二氟-2-({[(4-硝基苯氧基)羰基]氧基}甲基)吡咯啶-1-甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(二級丁氧基)羰基]胺基}-3-甲基-丁醯胺基]-5-脲胺基-戊醯胺基]-苯基}甲基酯的合成

[0741] 在25°C，將吡啶（136.43 mg，1.724 mmol）添加至(2*S*) 4,4-二氟-2-(羥基甲基)吡咯烷-1-甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]內醯胺基]苯基}甲基酯（480 mg，0.862 mmol）和4-硝基苯基氯甲酸酯（347.64 mg，1.724 mmol）在DCM（10 mL）中的攪拌溶液中。將所得混合物在25°C攪拌14 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠相層析法（用PE / EtOAc（1/2）洗脫）純化，以得到呈白色固體的(2*S*) 4,4-二氟-2-({[(4-硝基苯氧基)羰基]氧基}甲基)吡咯烷-1-甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]內醯胺基]苯基}甲基酯（600 mg）。LC-MS (ESI): 722.2 [M+H]+。

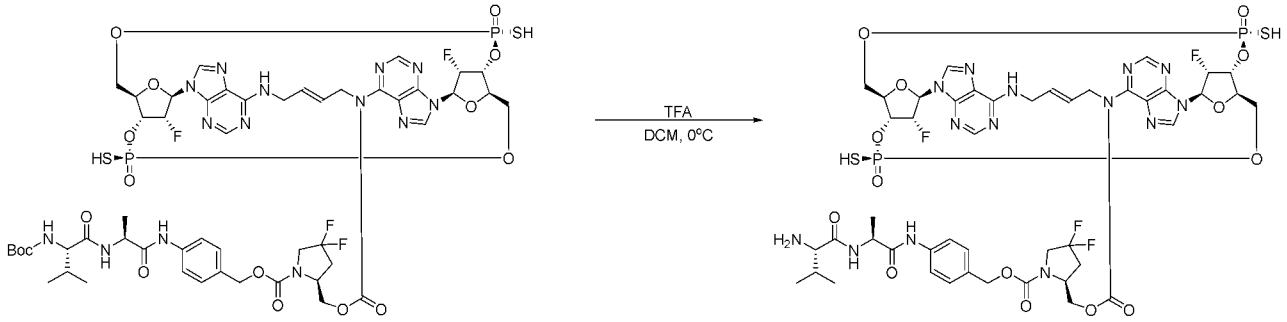
(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸(2*S*)-1-({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]內醯胺基]苯基}甲氧基)羰基-4,4-二氟吡咯烷-2-基}甲基酯的合成



[0742] 在氮氣氣氛下在-78°C，將LiHMDS（0.40 mL，0.402 mmol）添加至化合物1在THF（5 mL）中的攪拌溶液中。將所得混合物在氮氣氣氛下在

78°C攪拌30 min。然後添加(2*S*)-4,4-二氟-2-({[(4-硝基苯氧基)羰基]氧基}甲基)吡咯啶-1-甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基酯（48 mg，0.067 mmol）。將所得混合物在氮氣氣氛下在1 h內緩慢加溫至0°C。將反應用AcOH淬滅。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由製備型TLC（DCM（1% TEA）/ MeOH（6/1））純化，以得到呈白色固體的(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]-4,4-二氟吡咯啶-2-基]甲基酯（44 mg）。LC-MS (ESI): 1329.3 $[M+H]^+$。

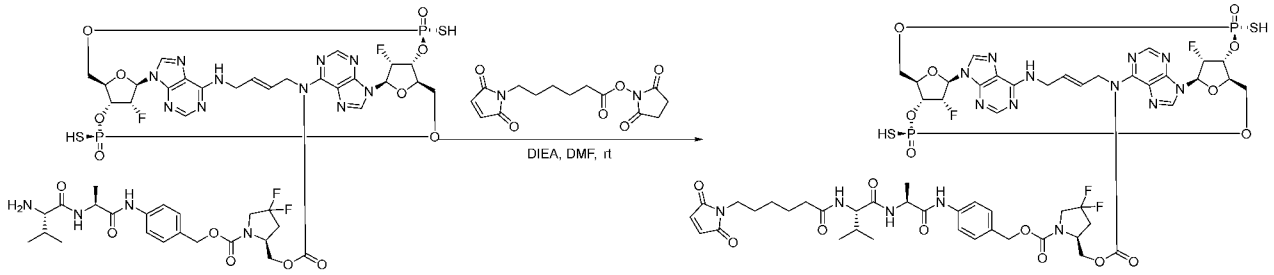
(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-胺基-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]-4,4-二氟吡咯啶-2-基]甲基酯的合成



【0743】 在氮氣氣氛下在0°C，將TFA（0.6 mL）添加至(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-

5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[(*三級丁氧基*羰基)胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]-4,4-二氟吡咯啶-2-基]甲基酯（44 mg，0.033 mmol）在DCM（2.4 mL）中的攪拌溶液中。將所得混合物在氮氣氣氛下在0°C攪拌2 h。將所得混合物在減壓下濃縮，以獲得呈無色油狀物的(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-胺基-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]-4,4-二氟吡咯啶-2-基]甲基酯的粗製產物。LC-MS (ESI): 1229.2 $[M+H]^+$。

(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)己醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]-4,4-二氟吡咯啶-2-基]甲基酯（LP28）的合成



【0744】在氮氣氣氛下在25°C，將DIEA（25.24 mg，0.198 mmol）添加至(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-

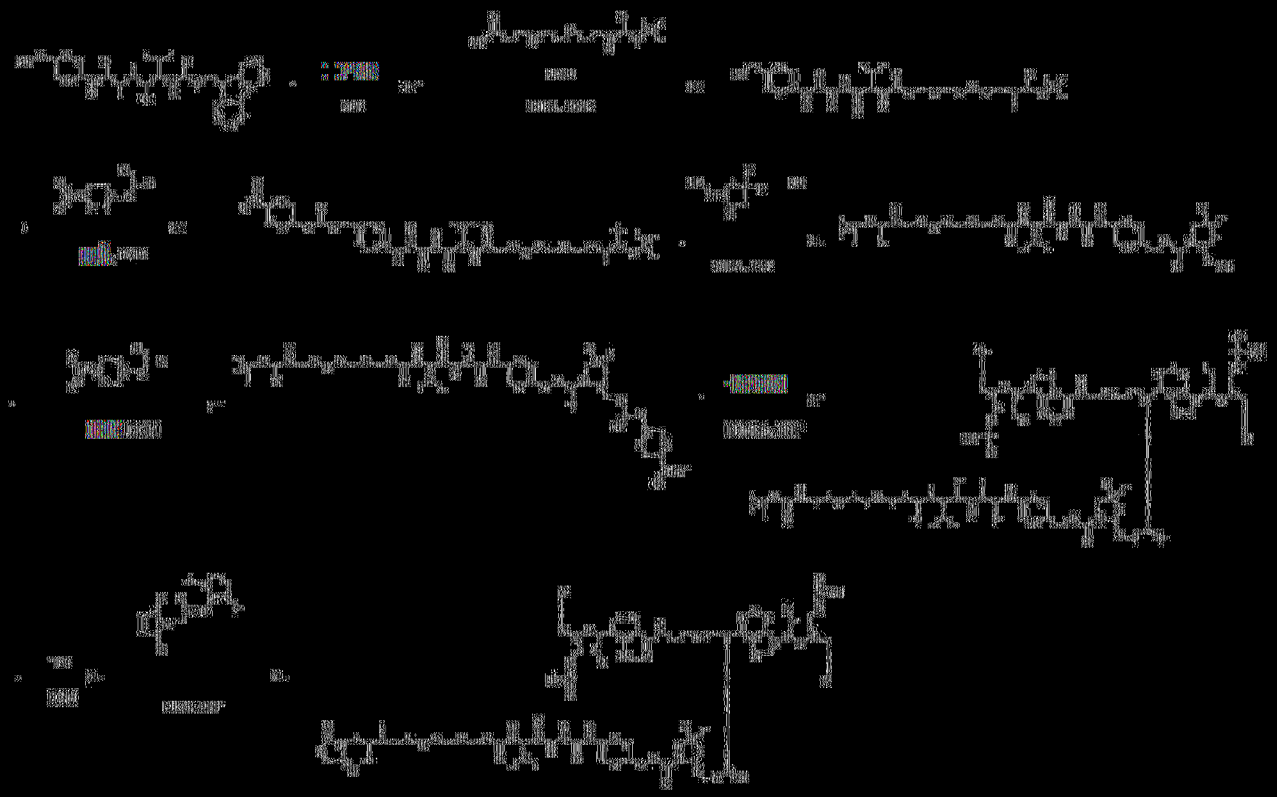
5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-胺基-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]-4,4-二氟吡咯啶-2-基]甲基酯（40 mg，0.033 mmol）和6-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)己酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（10.03 mg，0.033 mmol）在DMF（2 mL）中的混合物中。將所得混合物在氮氣氣氛下在25°C攪拌4 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由製備型TLC（DCM（1% TEA）/ MeOH（7/1））和製備型HPLC用以下條件純化（柱：Xbridge Prep OBD C18柱，19*250 mm，5 μm；流動相A：水（50 mmol HCO_2NH_4），流動相B：MeCN；流速：25 mL/min；梯度：在10 min內25% B至35% B，35% B；波長：254 nm），以得到呈灰白色固體的(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]-4,4-二氟吡咯啶-2-基]甲基酯（**LP28**）（12.8 mg）。

【0745】 LC-MS (ESI):1423.60 $[M+H]^+$。

【0746】 ^{1}H NMR (400 MHz, 甲醇-d_4) δ 8.94 – 8.90 (m, 1H), 8.78 – 8.73 (m, 2H), 8.17 – 8.00 (m, 3H), 7.65 – 7.59 (m, 2H), 7.31 – 7.27 (m, 2H), 6.81 – 6.76 (m, 2H), 6.49 – 6.44 (m, 1H), 6.33 – 6.29 (m, 1H), 6.06 – 5.87 (m, 2H), 5.85 – 5.57 (m, 2H), , 5.17 – 4.94 (m, 3H), 4.69 – 4.58 (m, 5H), 4.55 – 4.46 (m, 3H), 4.46 – 4.36 (m, 3H), 4.34 – 4.22 (m, 2H), 4.22 – 4.02 (m, 2H), 4.01 – 3.97 (m, 1H), 3.80 – 3.76 (m, 1H), 3.66 – 3.57 (m, 1H), 3.51 – 3.43 (m, 2H), 3.33 – 3.16 (m, 1H), 2.56-2.36 (m, 1H), 2.34 – 2.26 (m, 2H), 2.25 – 1.92 (m, 2H), 1.70 – 1.53 (m, 4H), 1.52 – 1.42 (m, 3H), 1.38 – 1.21 (m, 2H), 1.03 – 0.94 (m, 6H)。

24.　LP26的合成

[0747] LP26的合成如下所示：



N-{2-[2-(2-{[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺甲醯基}乙基]胺甲醯基}-2-甲基丙基]胺甲醯基}乙氧基)乙氧基]乙基}胺甲酸三級丁酯的合成

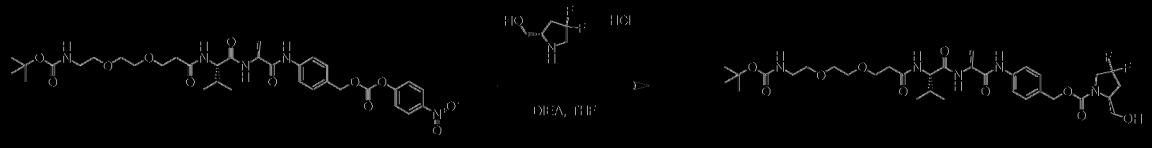
[0748] 向*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺甲醯基}乙基]胺甲醯基}-2-甲基丙基]胺甲酸(9*H*-茀-9-基)甲酯（410 mg，0.795 mmol）在DMF（5 mL）中的溶液中添加二乙胺（0.828 mL，7.95 mmol）。將混合物攪拌1 h。將所得混合物濃縮以在減壓下與甲苯共沸。向DMF（5 mL）中的殘餘物中添加3-[2-(2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}乙氧基)乙氧基]丙酸（250 mg，0.901 mmol）、DIEA（0.278 mL，1.59 mmol）和HATU（454 mg，1.19 mmol）。將混合物攪拌90 min。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物用EtOAc和水稀釋。將有機層分離並用鹽水洗滌、經Na_2SO_4乾燥並在減壓下濃縮。將殘餘物藉

矽膠柱層析法（EtOAc /庚烷 = 1/19至1/10）純化，以給出粗製材料。將粗製材料藉由NH矽膠柱層析法（EtOAc/庚烷 = 1/1至1/0、然後EtOAc/MeOH = 10/1）純化，以給出*N*-{2-[2-(2-{[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(溴甲基)苯基]胺甲醯基}乙基]胺甲醯基}-2-甲基丙基]胺甲醯基}乙氧基)乙氧基]乙基}胺甲酸三級丁酯（354.4 mg）。LC-MS (ESI): 553.5 [M+H]+。

碳酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{3-[2-(2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}乙氧基)乙氧基]丙醯胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基}苯基}甲基4-硝基苯基酯的合成

[(0749)] 向*N*-{2-[2-(2-{[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(溴甲基)苯基]胺甲醯基}乙基]胺甲醯基}-2-甲基丙基]胺甲醯基}乙氧基)乙氧基]乙基}胺甲酸三級丁酯（354.4 mg，0.641 mmol）在DCM（15 mL）中的溶液中添加4-硝基苯基氯甲酸酯（323 mg，1.60 mmol）和吡啶（0.130 mL，1.60 mmol）。將混合物攪拌1 h。將所得混合物用EtOAc和10%水性檸檬酸稀釋。將有機層分離、用鹽水洗滌、經Na_2SO_4乾燥、並在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（EtOAc/庚烷 = 1/1至1/0）純化，以給出碳酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{3-[2-(2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}乙氧基)乙氧基]丙醯胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基}苯基}甲基4-硝基苯基酯（412.2 mg）。LC-MS (ESI): 718.4 [M+H]+。

(2*S*)-4,4-二氟-2-(溴甲基)吡咯烷-1-甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{3-[2-(2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}乙氧基)乙氧基]丙醯胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基}苯基}甲基酯的合成



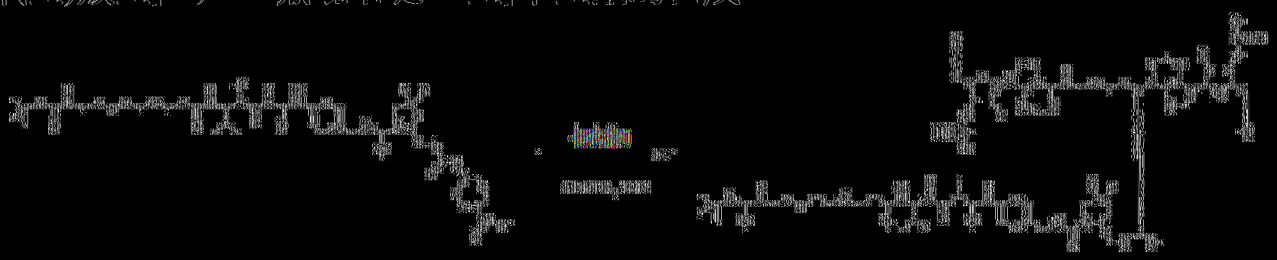
[0750] 向碳酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{3-[2-(2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}乙氧基)乙氧基]丙醯胺基}-3-甲基丁醯胺基]-5-脲基戊基}苯酯（150 mg，0.209 mmol）在THF（4 mL）和DIEA（0.183 mL，1.05 mmol）中的溶液中添加(2*S*)-4,4-二氟吡咯烷-2-甲醯氯酸鹽（43.5 mg，0.251 mmol）。將混合物攪拌17 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由NH矽膠柱層析法（EtOAc/庚烷 = 1/1至1/0、然後EtOAc/MeOH = 10/1）純化，以給出(2*S*)-4,4-二氟-2-(羥基甲基)吡咯烷-1-甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{3-[2-(2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}乙氧基)乙氧基]丙醯胺基}-3-甲基丁醯胺基]-5-脲基戊基}苯酯（138.3 mg）。LC-MS (ESI): 716.5 [M+H]+。

(2*S*)-4,4-二氟-2-({[(4-硝基苯氧基)羰基]氧基}甲基)吡咯烷-1-甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{3-[2-(2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}乙氧基)乙氧基]丙醯胺基}-3-甲基丁醯胺基]-5-脲基戊基}苯酯的合成

[0751] 向(2*S*)-4,4-二氟-2-(羥基甲基)吡咯烷-1-甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{3-[2-(2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}乙氧基)乙氧基]丙醯胺基}-3-甲基丁醯胺基]-5-脲基戊基}苯酯（138.3 mg，0.193 mmol）在DCM（5 mL）中的溶液中添加4-硝基苯基氯甲酸酯（78 mg，0.386 mmol）和吡啶（0.031 mL，0.386 mmol）。將混合物攪拌1 h。向混合物中添加吡啶（0.016 mL，0.193 mmol）和4-硝基苯基氯甲酸酯（38.9 mg，0.193 mmol）。將混合物攪拌4 h。將所得混合物用EtOAc和10%水性檸檬酸稀釋。將有機相分離、用鹽水洗滌、經Na_2SO_4乾燥、並在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（EtOAc/庚烷 = 1/1至1/0、然後EtOAc/MeOH = 10/1）純化，以給出(2*S*)-4,4-二氟-2-({[(4-硝基苯氧基)羰基]氧

基}甲基)吡咯啶-1-甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{3-[2-(2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}乙氧基)乙氧基]丙醯胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基酯（173.8 mg）。LC-MS (ESI): 881.5 [M+H]+。

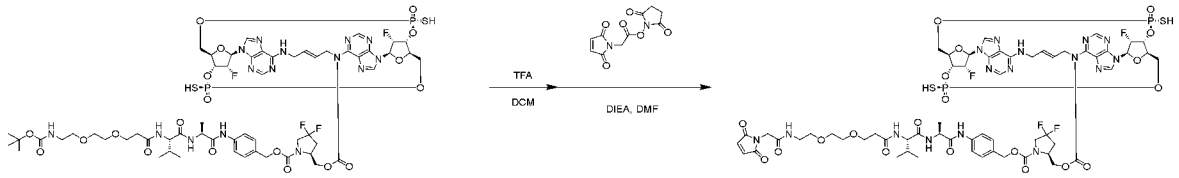
(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十三-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸(2*S*)-1-({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{3-[2-(2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}乙氧基)乙氧基]丙醯胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基-4,4-二氟吡咯啶-2-基甲基酯的合成



[(0752)] 在室溫，向化合物1（50 mg，0.059 mmol）在THF（5 mL）中的懸浮液中添加LiHMDS（0.586 mmol）。將所得混合物在室溫攪拌30 min，然冷卻至-78°C。向上述混合物中添加THF（0.5 mL）中的(2*S*)-4,4-二氟-2-({[(4-硝基苯氧基)羰基]氧基}甲基)吡咯啶-1-甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{3-[2-(2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}乙氧基)乙氧基]丙醯胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基酯（54.2 mg，0.062 mmol）（用THF沖洗（0.5 mL））並在-78°C攪拌10 min。將所得混合物加溫至室溫並攪拌3 h。將反應用AcOH（0.252 mL，4.40 mmol）淬滅並攪拌10 min。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由ODS矽膠柱層析法（H2O/MeCN（每個含0.1%甲酸）：95/25至20/80）純化，以給出(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34

λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{3-[2-(2-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}乙氧基)乙氧基]丙醯胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]-4,4-二氟吡咯啶-2-基]甲基酯（41.1 mg）。LC-MS (ESI): 1488.4 $[M+H]^+$。

(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[3-(2-{2-[2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)乙醯胺基]乙氧基}乙氧基)丙醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]-4,4-二氟吡咯啶-2-基]甲基酯（LP26）的合成



【0753】 在0ºC，向(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2S)-1-[({4-[(2S)-2-[(2S)-2-{3-[2-(2-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}乙氧基)乙氧基]丙醯胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]-4,4-二氟吡咯啶-2-基]甲基酯（21.1 mg，0.014 mmol）在DCM（2 mL）中的懸浮液中添加TFA（200 mL，2.60 mmol）。將混合物在室溫攪拌30 min。將所得混合物濃縮並在減壓下與甲苯共沸。在0ºC，向DMF（1 mL）中的殘餘物中添加DIEA（0.025 mL，

0.142 mmol）和2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)乙酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（14.30 mg，0.057 mmol）。將混合物在室溫攪拌2 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由ODS矽膠柱層析法（H2O/MeCN（包含0.1%甲酸）＝95/25至20/80）純化，以給出(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2S)-1-[({4-[(2S)-2-[(2S)-2-[3-(2-{2-[2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)乙醯胺基]乙氧基}乙氧基)丙醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]-4,4-二氟吡咯啶-2-基]甲基酯（**LP26**）（6.85 mg）。

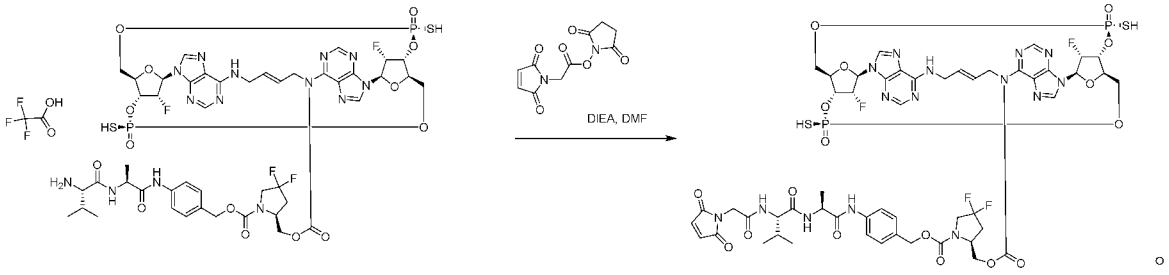
【0754】 LC-MS (ESI): 1525.6 $[M+H]^+$。

【0755】 在^{1}H NMR譜中觀察到旋轉異構物。^{1}H NMR (700 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 9.91 – 10.11 (m, 2 H) 8.81 (br s, 1 H) 8.59 – 8.72 (m, 2 H) 8.31 – 8.39 (m, 1 H) 8.17 – 8.27 (m, 2 H) 8.08 – 8.17 (m, 1 H) 7.84 – 7.92 (m, 1 H) 7.65 – 7.75 (m, 1 H) 7.55 – 7.62 (m, 2 H) 7.45 – 7.50 (m, 1 H) 7.24 (br s, 2 H) 7.22 (s, 1 H) 7.15 (s, 1 H) 7.05 – 7.11 (m, 3 H) 6.92 – 6.96 (m, 1 H) 6.46 – 6.53 (m, 1 H) 6.35 – 6.44 (m, 1 H) 5.78 – 5.94 (m, 2 H) 5.69 (br s, 1 H) 5.54 – 5.61 (m, 1 H) 5.29 – 5.36 (m, 1 H) 5.23 (br s, 1 H) 5.08 – 5.16 (m, 1 H) 5.01 – 5.08 (m, 1 H) 4.97 (br s, 2 H) 4.90 (br s, 1 H) 4.71 (br d, *J*=12.76 Hz, 1 H) 4.65 (br s, 1 H) 4.56 (br d, *J*=11.44 Hz, 1 H) 4.42 (br s, 1 H) 4.33 – 4.41 (m, 5 H) 4.27 – 4.33 (m, 3 H) 4.18 – 4.27 (m, 4 H) 4.11 – 4.16 (m, 2 H) 4.02 (s, 2 H) 3.81 (br d, *J*=5.72 Hz, 1 H) 3.64 – 3.77 (m, 4 H) 3.56 – 3.63 (m, 3 H) 3.44 – 3.50 (m, 4 H) 3.39 (t, *J*=5.72 Hz, 2 H) 3.19 (q, *J*=5.72 Hz, 2 H) 2.45 – 2.48

(m, 1 H) 2.36 – 2.41 (m, 1 H) 1.88 – 2.05 (m, 3 H) 1.28 – 1.36 (m, 4 H) 1.19 – 1.28 (m, 5 H) 0.86 – 0.88 (m, 3 H) 0.83 (br d, *J*=6.60 Hz, 3 H)。

25. ***LP27****的合成*

【0756】 **LP27**的合成如下所示：



。

【0757】 向(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-胺基-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]-4,4-二氟吡咯啶-2-基]甲基酯三氟乙酸鹽（15 mg，0.011 mmol）和DIEA（9.75 µl，0.056 mmol）在DMF（2 ml，25.829 mmol）中的溶液中添加2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)乙酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（4.22 mg，0.017 mmol）並在室溫攪拌1小時。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由反相矽膠層析法（ODS C18柱，H_2O/MeCN/HCOOH = 95/5/0.1至40/60/0.1）純化，以給出呈白色粉末的(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)乙醯胺

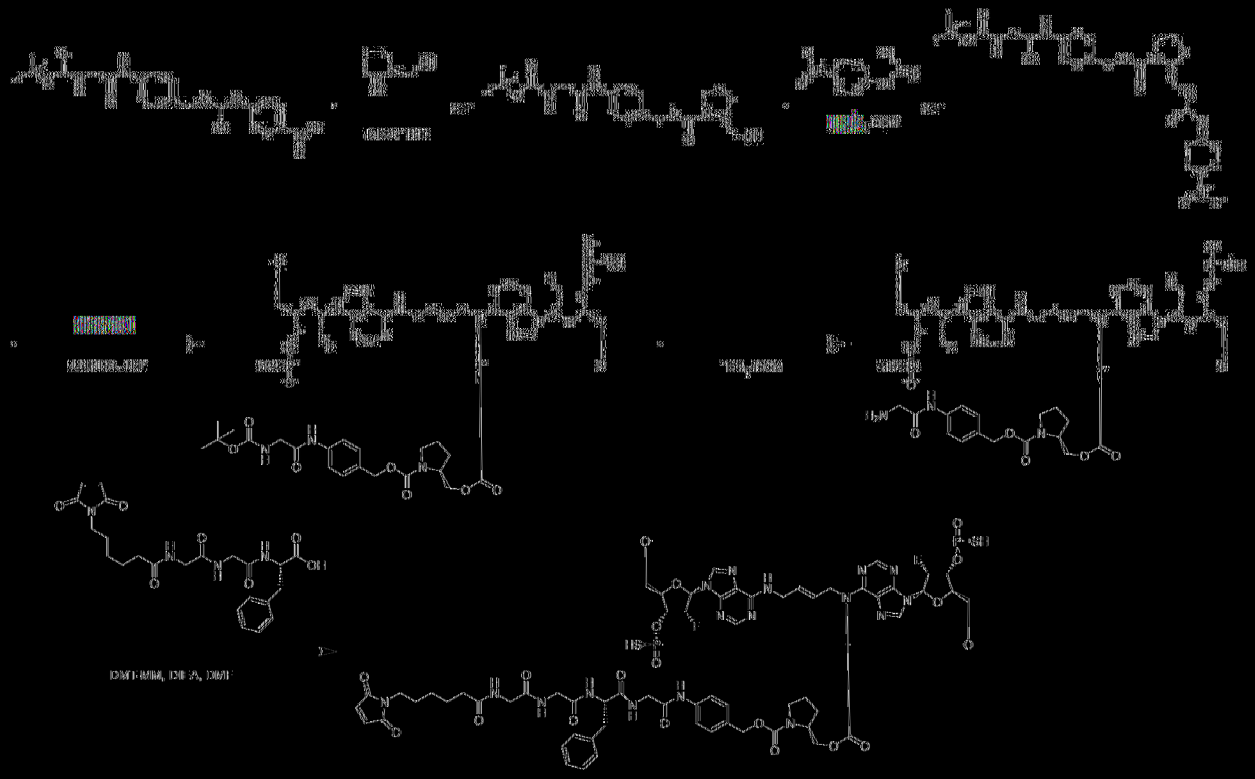
基]-3-甲基丁醯胺基]內醯胺基]苯基]甲氧基)羰基]-4,4-二氟吡咯烷-2-基]甲基]胺基甲酸酯（CLP247）。

[0758] LC-MS (ESI) $[M+H]^+$ = 1366.30。

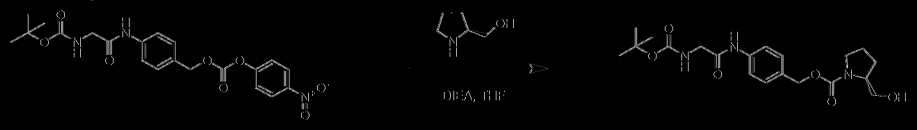
[0759] ^{1}H NMR (396 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 0.80 (br d, J = 16.76 Hz, 4 H) 0.82 (br d, J = 16.76 Hz, 3 H) 1.17 - 1.23 (m, 4 H) 1.27 (br d, J = 5.89 Hz, 4 H) 1.82 - 2.04 (m, 2 H) 4.08 (s, 3 H) 4.17 - 4.28 (m, 5 H) 4.30 - 4.42 (m, 3 H) 4.43 - 4.74 (m, 3 H) 4.93 (br s, 1 H) 5.11 (br s, 1 H) 5.14 - 5.33 (m, 1 H) 5.38 (br d, J = 1.36 Hz, 1 H) 5.46 - 5.60 (m, 1 H) 5.60 - 5.81 (m, 1 H) 5.82 - 5.96 (m, 1 H) 6.26 - 6.53 (m, 1 H) 7.05 (s, 2 H) 7.21 (br d, J = 7.25 Hz, 2 H) 7.53 (br d, J = 8.16 Hz, 2 H) 8.22 (br d, J = 8.61 Hz, 1 H) 8.28 (br d, J = 6.80 Hz, 1 H) 8.32 - 8.39 (m, 1 H) 8.52 - 8.69 (m, 2 H) 8.69 - 8.83 (m, 1 H) 9.88 - 10.11 (m, 1 H)。

26. LP24的合成

[0760] LP24（SEQ ID NO: 144）的合成如下所示：

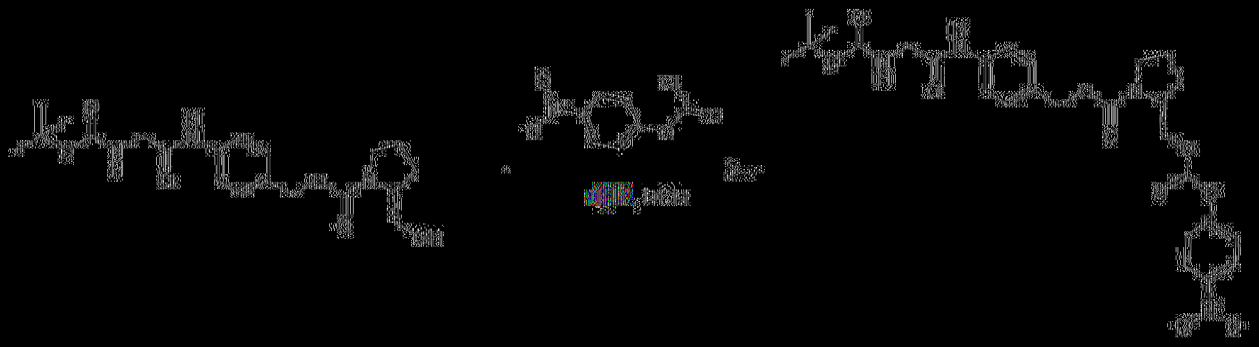


(2*S*) 2-(羥甲基)吡咯啶-1-甲酸[4-(2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}乙醯胺基)苯基]甲基酯的合成



[0761] 在室溫，將(2*S*)-吡咯啶-2-基甲醇（272 mg，2.69 mmol）添加至碳酸[4-(2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}乙醯胺基)苯基]甲基4-硝基苯基酯（1.00 g，2.25 mmol）和DIEA（1.45 g，11.2 mmol）在THF（41.8 mL）中的溶液中。將溶液在室溫攪拌30 min。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用EtOAc/庚烷（1/3至1/0）洗脫）純化，以給出(2*S*)-2-(羥基甲基)吡咯啶-1-甲酸[4-(2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}乙醯胺基)苯基]甲基酯（873 mg）。LC-MS (ESI): 408.3 [M+H]+。

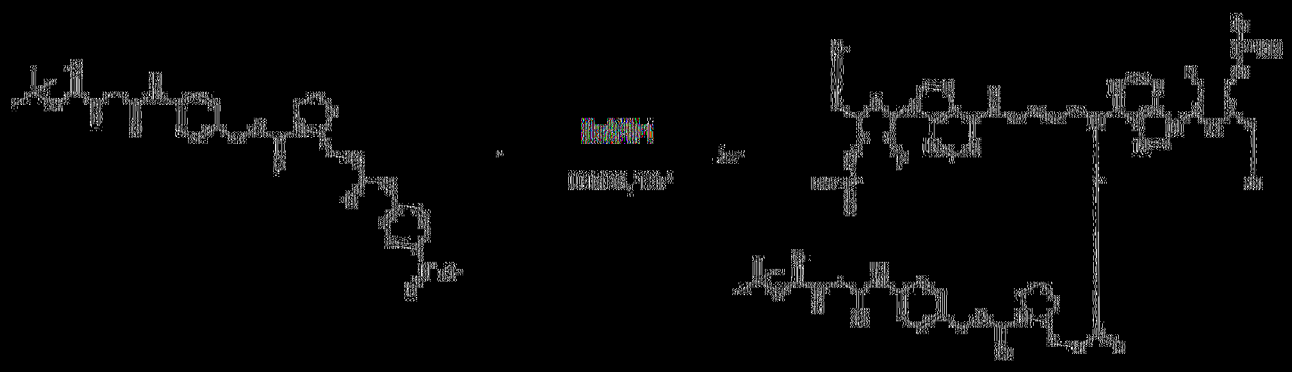
(2*S*)-2-({[(4-硝基苯氧基)羰基]氧基}甲基)吡咯啶-1-甲酸[4-(2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}乙醯胺基)苯基]甲基酯的合成



[0762] 在室溫，將吡啶（164 mg，2.08 mmol）添加至(2*S*)-2-(羥基甲基)吡咯啶-1-甲酸[4-(2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}乙醯胺基)苯基]甲基酯（423 mg，1.04 mmol）和4-硝基苯氯甲酸酯（418 mg，2.08 mmol）在DCM（17.4 mL）中的溶液中。將溶液在室溫攪拌1 h。將所得混合物用EtOAc和10%水性檸檬酸稀釋。將有機相分離並用鹽水洗滌，在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用EtOAc/庚烷，1/3至1/0洗脫）純化，以給出(2*S*)-2-({[(4-硝基苯氧基)

羰基氧基)甲基)吡咯啶-1-甲酸(4-(2-{[(二級丁氧羰基)胺基]乙醯胺基)苯基)甲基酯（542 mg）。LC-MS (ESI): 573.3 [M+H]+。

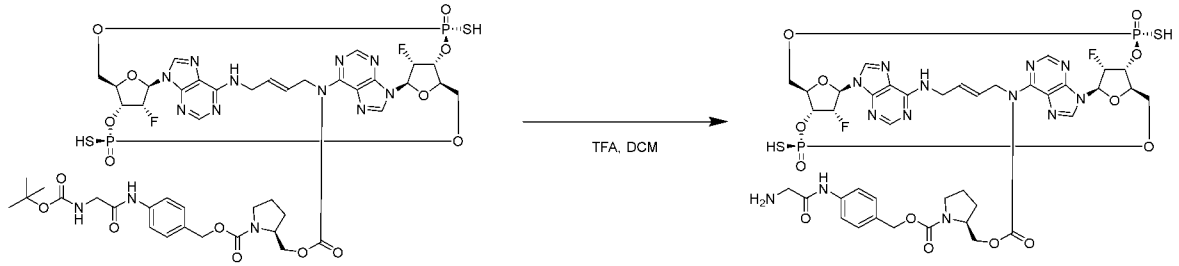
(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十安雜-34λ⁵,39λ⁵-二磷雜八環[28.6.4.1³,³⁶.1²⁸,³¹.0⁴,⁸.0⁷,¹².0¹⁹,²⁴.0²³,²⁷]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸(2*S*)-1-({[4-(2-{[(二級丁氧羰基)胺基]乙醯胺基)苯基]甲氧基}羰基)吡咯啶-2-基]甲基酯的合成



[(0763)] 在室溫，將LiHMDS（1.17 mmol）添加至化合物1（100 mg，0.117 mmol）在THF（10 mL）中的溶液中。將所得混合物在室溫攪拌30 min並冷卻至-78°C。向上述混合物中添加THF（2 mL）中的(2*S*)-2-({[(4-硝基苯氧基)羰基]氧基}甲基)吡咯啶-1-甲酸(4-(2-{[(二級丁氧羰基)胺基]乙醯胺基)苯基)甲基酯（67.1 mg，0.117 mmol）並在-78°C攪拌10 min。將所得混合物加溫至0°C並攪拌30 min。將反應用AcOH淬滅、然後加溫至室溫並攪拌10 min。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由ODS矽膠柱層析法（用H_2O中的0.1% HCO_2H/MeCN中的0.1% HCO_2H（99/1至20/80）洗脫）純化，以給出(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十安雜-34λ⁵,39λ⁵-二磷雜八環[28.6.4.1³,³⁶.1²⁸,³¹.0⁴,⁸.0⁷,¹².0¹⁹,²⁴.0²³,²⁷]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸(2*S*)-1-({[4-(2-{[(二級丁氧羰基)胺基]乙

醯胺基)苯基]甲氧基}羰基)吡咯啶-2-基]甲基酯（56.7 mg）。LC-MS (ESI): 1180.5 $[M+H]^+$。

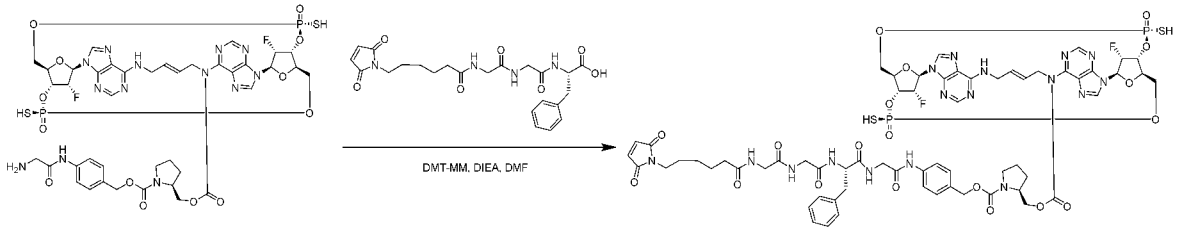
(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-({[4-(2-胺基乙醯胺基)苯基]甲氧基}羰基)吡咯啶-2-基]甲基酯的合成



【0764】在0ºC，將TFA（1.11 mL）添加至(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ^5,39λ^5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-({[4-(2-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}乙醯胺基)苯基]甲氧基}羰基)吡咯啶-2-基]甲基酯（56.7 mg，0.048 mmol）在DCM（3.71 mL）中的溶液中。將所得混合物在0ºC攪拌45 min。將所得混合物用甲苯（2 mL）稀釋並在減壓下濃縮。將殘餘物藉由ODS矽膠柱層析法（用H_2O中的0.1% NH_3 /MeCN中的0.1% NH_3，95/5至35/65洗脫）純化，以給出(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-

5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-({[4-(2-胺基乙醯胺基)苯基]甲氧基}羰基)吡咯啶-2-基]甲基酯（32.1 mg）。LC-MS (ESI): 1080.4 $[M+H]^+$。

(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ⁵,39λ⁵-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-{[(4-{2-[(2*S*)-2-(2-{2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺基]乙醯胺基}乙醯胺基)-3-苯基丙醯胺基]乙醯胺基}苯基)甲氧基]羰基}吡咯啶-2-基]甲基酯（LP24）的合成



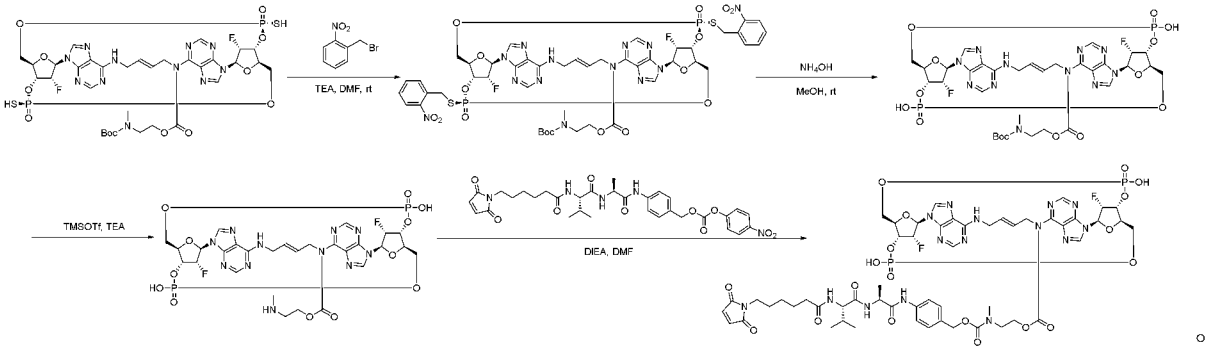
【0765】在室溫，將DIEA（2.4 mg，0.019 mmol）添加至(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-({[4-(2-胺基乙醯胺基)苯基]甲氧基}羰基)吡咯啶-2-基]甲基酯（10 mg，0.0093 mmol）和(2*S*)-2-(2-{2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺基]乙醯胺基}乙醯胺基)-3-苯基丙酸（6.6 mg，0.014 mmol）在DMF（1.0 mL）中的溶液中。將所得混合物冷卻0°C並添加DMT-MM（4.1 mg）。將所得混合物加溫至室溫並攪拌10 min。然後在0°C添加額外的DMT-MM（0.8 mg）。將所得混合物加溫至室溫並攪拌10 min。將混合物藉由ODS矽膠柱層析法（用H_2O中的0.1% HCO_2H /MeCN中的0.1% HCO_2H，95/5至50/50洗脫）直接純化，以給出(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-

34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ⁵,39λ⁵-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-{[(4-{2-[(2*S*)-2-(2-{2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺基]乙醯胺基}乙醯胺基)-3-苯基丙醯胺基]乙醯胺基}苯基)甲氧基]羰基}276吡咯啶-2-基]甲基酯（**LP24**）（8.8 mg）。

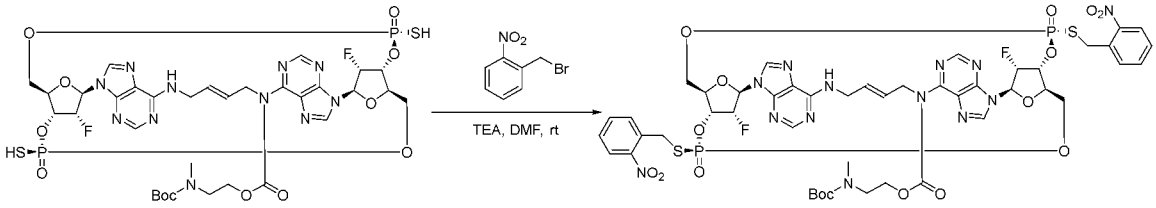
【0766】 LC-MS (ESI): 768.2 [1/2M+H]$^+$。

*27.　**LP30**的合成*

【0767】 **LP30**的合成如下所示：



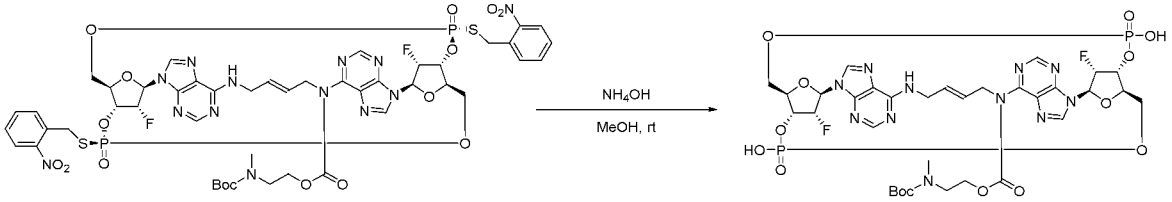
(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-雙({[(2-硝基苯基)甲基]氫硫基})-34,39-二側氧基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-{[(*三級丁氧基*)羰基](甲基)胺基}乙基酯的合成



【0768】 在25°C，將TEA（32.03 mg，0.315 mmol）添加至(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-

5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-{[(*三級丁氧基*)羰基](甲基)胺基}乙基酯（60 mg，0.063 mmol）和1-(溴甲基)-2-硝基苯（34.19 mg，0.158 mmol）在DMF（2 mL）中的攪拌溶液中。將所得混合物在氮氣氣氛下在25°C攪拌3 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由製備型TLC（CH_2Cl_2（1% TEA）/MeOH（8/1））純化，以得到呈白色固體的(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-雙({[(2-硝基苯基)甲基]氫硫基})-34,39-二側氧基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-{[(*三級丁氧基*)羰基](甲基)胺基}乙基酯（70 mg）。LC-MS (ESI): 1218.2 $[M+H]^+$。

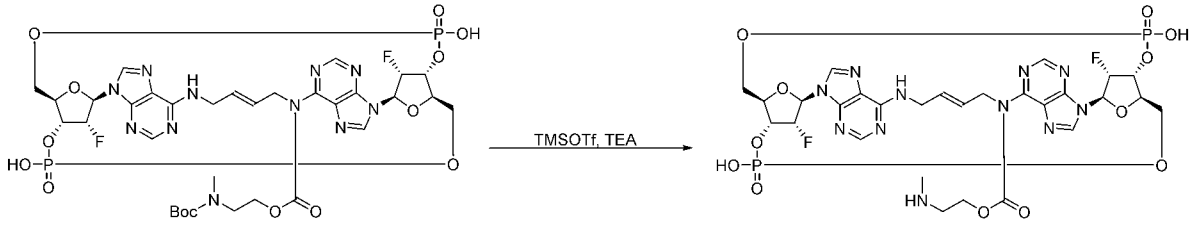
(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,36*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二羥基-34,39-二側氧基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-{[(*三級丁氧基*)羰基](甲基)胺基}乙基酯的合成



【0769】在室溫，將NH_4OH（2 mL）添加至(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*) -29,41-二氟-34,39-雙({[(2-硝基苯基)甲基]氫硫基})-34,39-二側氧基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-[(*三級丁氧基*羰基)(甲基)胺基]乙基酯（70 mg，0.057 mmol）在MeOH（2 mL）中

的攪拌混合物中。將所得混合物在氮氣氣氛下在25°C攪拌6 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由製備型TLC（CH_2Cl_2（1% TEA）/ MeOH（6/1））純化，以得到呈白色固體的(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,36*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二羥基-34,39-二側氧基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-{[(*三級丁氧基*)羰基](甲基)胺基}乙基酯（40 mg）。LC-MS (ESI): 916.2 $[M+H]^+$。

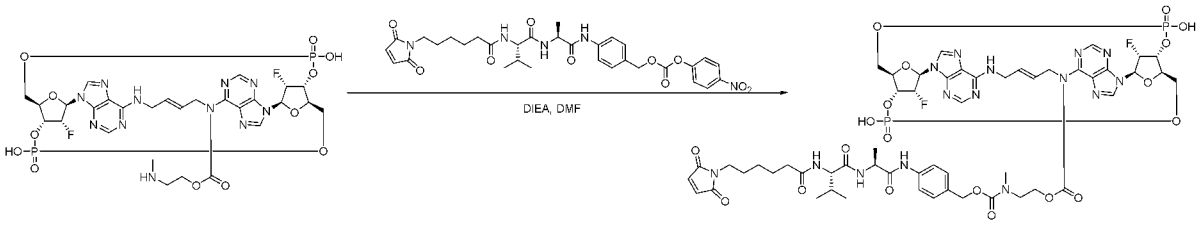
(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,36*R*,41*R*) -29,41-二氟-34,39-二羥基-34,39-二側氧基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-(甲基胺基)乙基酯的合成



【0770】在25°C，將TEA（22.10 mg，0.220 mmol）添加至(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,36*R*,41*R*) -29,41-二氟-34,39-二羥基-34,39-二側氧基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-[(*三級丁氧基*羰基)(甲基)胺基]乙基酯（40 mg，0.044 mmol）在DCM（2 mL）中的攪拌溶液中。然後添加TMSOTf（67.96 mg，0.308 mmol）。將所得混合物在25°C攪拌30 min。將所得混合物在減壓下濃縮，以獲得呈無色油狀物的(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,36*R*,41*R*) -29,41-二氟-34,39-二羥基-34,39-二側氧基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜

八環[28.6.4. $1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-(甲基胺基)乙基酯的粗製產物。LC-MS (ESI): 816.1 $[M+H]^+$。

(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,36*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二羥基-34,39-二側氧基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-{[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基](甲基)胺基}乙基酯（LP30）的合成

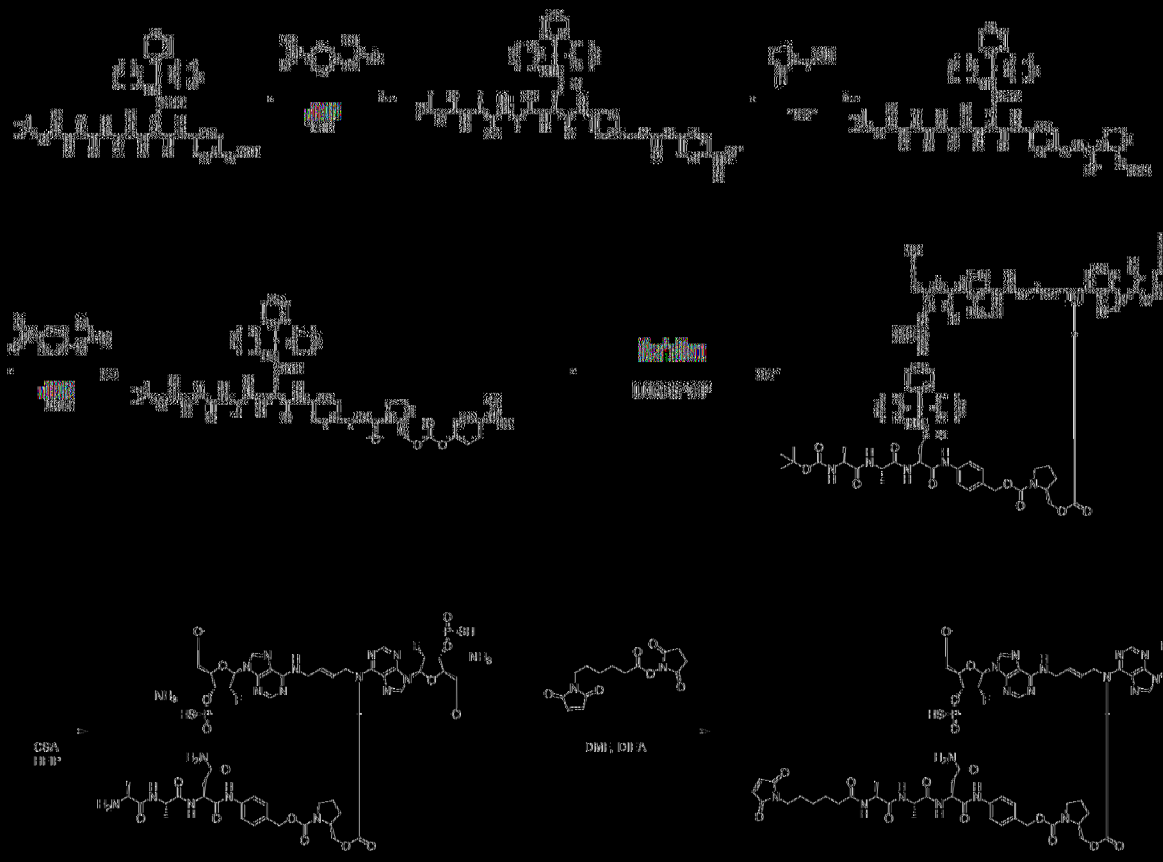


【0771】在室溫，將DIEA（29.75 mg，0.230 mmol）添加至(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,36*R*,41*R*) -29,41-二氟-34,39-二羥基-34,39-二側氧基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4. $1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-(甲基胺基)乙基酯（37.55 mg，0.046 mmol）和碳酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)己醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲基 4-硝基苯基酯（30 mg，0.046 mmol）在DMF（2 mL）中的混合物中。將混合物在氮氣氣氛下在室溫攪拌14 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將粗製混合物藉由製備型HPLC用以下條件純化（柱：XBridge Prep Phenyl OBD柱，19*250 mm，5 μm；流動相A：水（50 mmol HCO_2NH_4），流動相B：MeCN；流速：25 mL/min；梯度：在10 min內20% B至30% B，30% B；波長：254 nm），以得到呈白色固體的(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,36*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二羥基-34,39-二側氧基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34

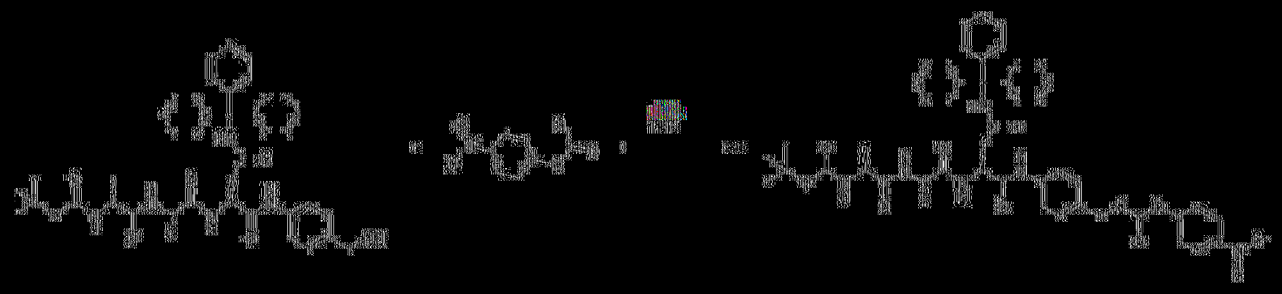
λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{9,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸2-{[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基}苯基]甲氧基)羰基](甲基)胺基}乙基酯（LP30）（12.3 mg）。LC-MS (ESI): 1328.40 [M+H]$^+$。^{1}H NMR (400 MHz, 甲醇-*d*$_4$) δ 8.88 – 8.69 (m, 2H), 8.50 – 8.44 (m, 1H), 8.29 – 8.23 (m, 1H), 8.15 – 8.09 (m, 1H), 7.91 – 7.85 (m, 1H), 7.61 – 7.55 (m, 2H), 7.33 – 7.20 (m, 2H), 6.82 – 6.76 (m, 2H), 6.52 – 6.42 (m, 1H), 6.36 – 6.30 (m, 1H), 5.66 – 5.38 (m, 5H), 5.02 – 4.96 (m, 1H), 4.63 – 4.57 (m, 5H), 4.56 – 4.47 (m, 2H), 4.47 – 4.42 (m, 1H), 4.43 – 4.28 (m, 2H), 4.23 – 4.04 (m, 2H), 3.68 – 3.62 (m, 1H), 3.53 – 3.42 (m, 3H), 2.81 – 2.68 (m, 3H), 2.35 – 2.24 (m, 2H), 2.17 – 2.02 (m, 1H), 1.73 – 1.51 (m, 4H), 1.51 – 1.40 (m, 3H), 1.41 – 1.23 (m, 2H), 1.04 – 0.94 (m, 6H)。

28. LP21的合成

[0772] LP21的合成如下所示：

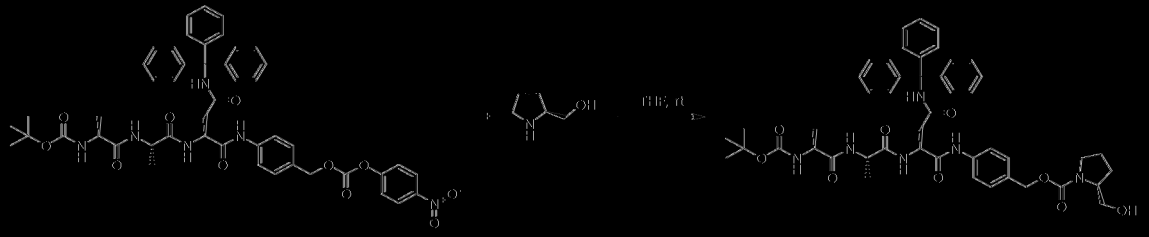


碳酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}丙醯胺基]丙醯胺基]-3-[(三苯基甲基)胺基甲醯基]丙醯胺基]苯基}甲基4-硝基苯基酯的合成



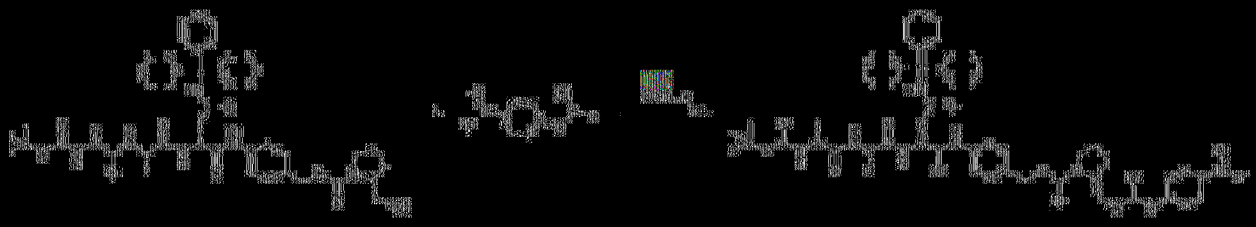
[0773] 向*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}-2-[(三苯基甲基)胺基甲醯基]乙基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲酸三級丁酯（205 mg，0.284 mmol，CAS 2461517-95-1，按EP4108675中之方法製備）在THF（3.0 mL）中的溶液中添加吡啶（0.046 mL，0.568 mmol）和4-硝基苯基氯甲酸酯（114 mg，0.568 mmol）。在室溫攪拌2 h後，在室溫添加額外的吡啶（11 μL）和4-硝基苯基氯甲酸酯（29 mg）。在室溫攪拌45 min後，將乙酸乙酯（10 mL）和10%水性檸檬酸（5 mL）添加至反應混合物中。分離各層。將有機層用鹽水洗滌（兩次）、經硫酸鈉乾燥、過濾並濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（EtOAc-庚烷；60:40至100:0）純化，以給出呈白色固體的碳酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}丙醯胺基]丙醯胺基]-3-[(三苯基甲基)胺基甲醯基]丙醯胺基]苯基}甲基4-硝基苯酯（173 mg）。LC-MS (ESI): 887.5 [M+H]+。

(2*S*)-2-(羥基甲基)吡咯啶-1-甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}丙醯胺基]丙醯胺基]-3-[(三苯基甲基)胺基甲醯基]丙醯胺基]苯基}甲基酯的合成



[0774] 在室溫，向碳酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}內醯胺基]內醯胺基]-3-[(三苯基甲基)胺基]丙醯基]內醯胺基]苯基}甲基4-硝基苯基酯（173 mg，0.195 mmol）在四氫呋喃（2.0 mL）中的溶液中添加DIEA（0.4 mL）中的*L*-脯胺醇（61.4 mg，0.607 mmol）。將反應混合物在室溫攪拌40 min。將溶劑藉由蒸發除去。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（EtOAc/庚烷 = 90:10至100:0、然後EtOAc/MeOH = 90:10至80:20）純化，以給出呈無色油狀物的(2*S*)-2-(羥基甲基)吡咯啶-1-甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}內醯胺基]內醯胺基]-3-[(三苯基甲基)胺基]丙醯基]內醯胺基]苯基}甲基酯（165 mg）。LC/MS (ESI): 849.4 [M+H]+。

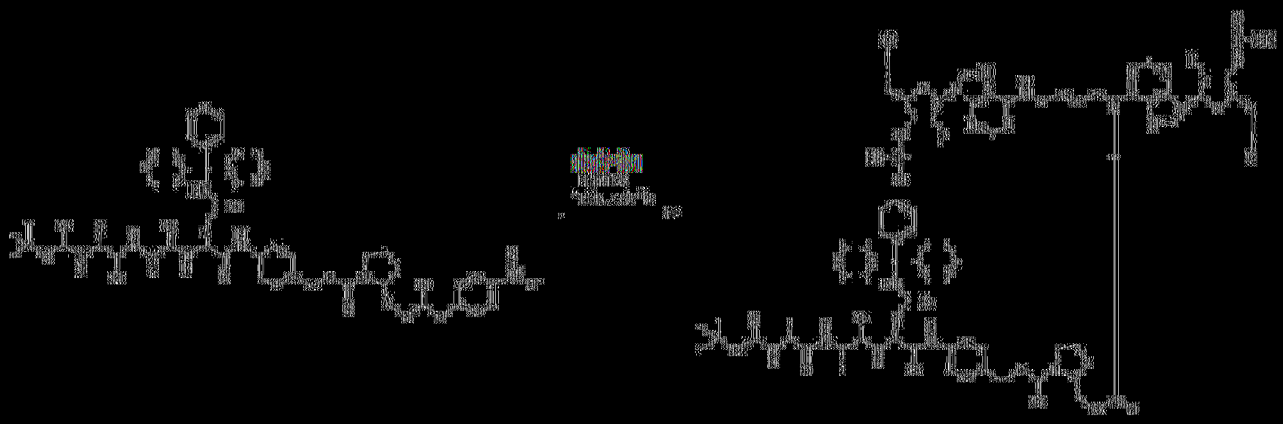
(2*S*)-2-({[(4-硝基苯氧基)羰基]氧基}甲基)吡咯啶-1-甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}內醯胺基]內醯胺基]-3-[(三苯基甲基)胺基]丙醯基]內醯胺基]苯基}甲基酯的合成



[0775] 在室溫，向(2*S*)-2-(羥基甲基)吡咯啶-1-甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}內醯胺基]內醯胺基]-3-[(三苯基甲基)胺基]丙醯基]內醯胺基]苯基}甲基酯（165 mg，0.194 mmol）在DCM（4.0 mL）中的溶液中添加吡啶（31.4 μL，0.388 mmol）和4-硝基苯氯甲酸酯（78.7 mg，0.39 mmol）。將混合物在室溫攪拌1.5 h。將乙酸乙酯（15 mL）和10%水性檸檬酸（5 mL）添加至反應混合物中，並且將有機層分離、用鹽水洗滌（兩次）、經硫酸鈉乾燥並在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（EtOAc/庚烷 = 70:30至100:0）純化，以給出呈無色油狀物的(2*S*)-2-({[(4-硝基苯氧基)羰基]氧基}甲基)吡咯啶-1-甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}內醯

胺基]丙醯胺基]-3-[(2-苯基甲基)胺基]丙醯基]吡咯啶-2-甲醯胺（183 mg）。LC-MS (ESI): 1014.6 [M+H]+。

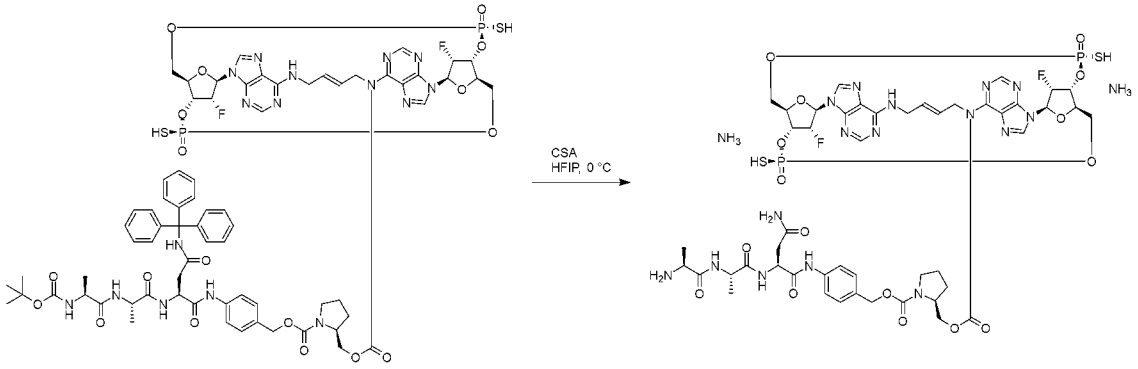
(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-3,4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十一氮雜-34λ⁵,39λ⁵-二磷雜八環[28.6.4.1³,³⁶.1²⁸,³¹.0⁴,⁸.0⁷,¹².0¹⁹,²⁴.0²³,²⁷]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸(2*S*)-1-[(4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(二級丁氧基)羰基]胺基}丙醯胺基]丙醯胺基]-3-[(2-苯基甲基)胺基]丙醯基]哌嗪-2-基甲氧基)羰基]吡咯啶-2-基甲基酯的合成



[(07/6)] 在室溫，向化合物1（51.6 mg，0.066 mmol）在四氫呋喃（5.0 mL）中的白色懸浮液中滴加LiHMDS（0.51 mL，0.663 mmol）持續2 min。將反應混合物在室溫攪拌40 min。然後將它冷卻至-78°C。向混合物中添加THF（0.5 mL）中的(2*S*)-2-({[(4-硝基苯氧基)羰基]氧基}甲基)吡咯啶-1-甲酸{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(二級丁氧基)羰基]胺基}丙醯胺基]丙醯胺基]-3-[(2-苯基甲基)胺基]丙醯基}哌嗪-2-基]甲酯（67.7 mg，0.067 mmol）（用THF沖洗（0.25 mL x 2））。將反應混合物在-78°C攪拌15 min。除去冷卻浴，並使反應混合物加溫至室溫。40 min後，將反應混合物冷卻至-70°C。將反應在-70°C用乙酸（95 μL，1.652 mmol）淬滅。然後將它在4°C攪拌1 h。將混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由ODS矽膠柱析法（H_2O-MeCN；90:10至30:70，4個

0.1%甲酸）純化，以給出呈白色固體的(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ^5,39λ^5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}丙醯胺基]丙醯胺基]-3-[(三苯基甲基)胺基甲醯基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]吡咯啶-2-基]甲基酯（60.3 mg）。LC-MS (ESI): 811.6 1/2[M+2H]$^{2+}$

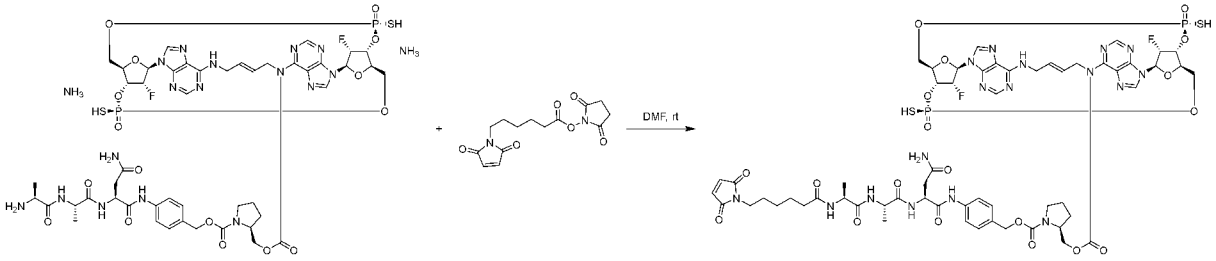
(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ^5,39λ^5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-胺基丙醯胺基]丙醯胺基]-3-胺基甲醯基丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]吡咯啶-2-基]甲基酯二銨鹽的合成



【0777】 在0°C，向(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ^5,39λ^5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}丙醯胺基]丙醯胺

基]-3-[(三苯基甲基)胺基甲醯基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]吡咯啶-2-基]甲基酯（30 mg，0.019 mmol）在1,1,1,3,3,3-六氟-2-丙醇（3.0 mL）中的溶液中添加CSA（86 mg，0.37 mmol）。將反應混合物在0°C攪拌3 h。將反應混合物用MeOH淬滅。將混合物在減壓下濃縮至約1 mL。將殘餘物藉由ODS矽膠柱層析法（H_2O-MeCN（含0.1% NH_3）= 95:5至55:45）純化，以給出呈白色固體的(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ^5,39λ^5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-胺基丙醯胺基]丙醯胺基]-3-胺基甲醯基丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]吡咯啶-2-基]甲基酯二銨鹽（11.8 mg）。LC-MS (ESI): 1279.4 $[M+H]^+$。

(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ^5,39λ^5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-[({4-[(2*S*)-3-胺基甲醯基-2-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺基]丙醯胺基]丙醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]吡咯啶-2-基]甲基酯（LP21）的合成



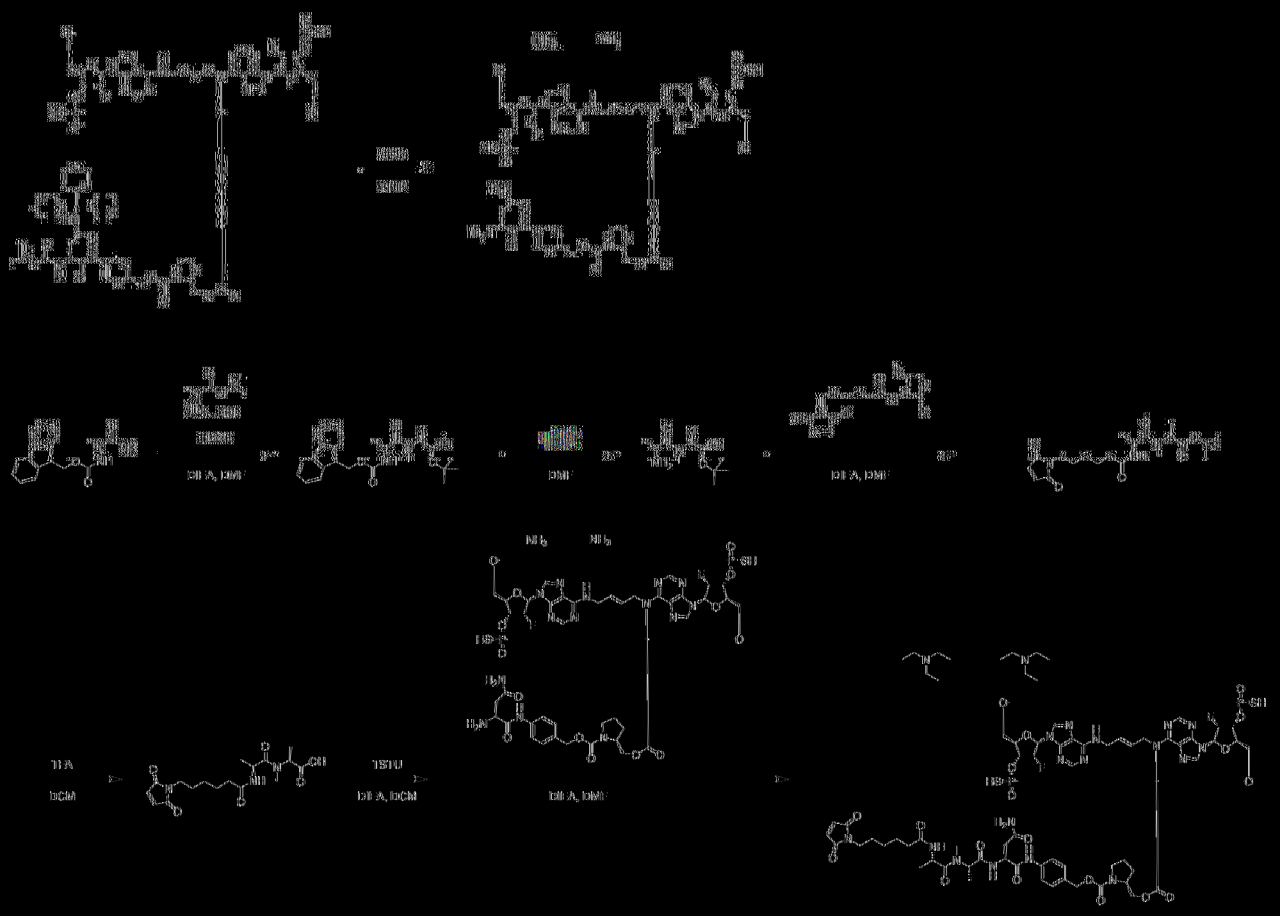
【0778】在室溫，向(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ^5,39λ^5-二磷雜八環

[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-[({4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-胺基丙醯胺基]丙醯胺基]-3-胺基甲醯基丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]吡咯啶-2-基]甲基酯二銨鹽（11.8 mg，8.986 μmol）和6-馬來醯亞胺己酸*N*-琥珀醯亞胺基酯（3.5 mg，0.011 mmol）在DMF（1000 μL，12.915 mmol）中的溶液中添加DIEA（3.13 μL，0.018 mmol）。將反應混合物在室溫攪拌。攪拌1 h後，添加額外的6-馬來醯亞胺己酸*N*-琥珀醯亞胺基酯（3.7 mg）和DIEA（3.13 μL）。攪拌2 h後，將反應混合物藉由ODS矽膠柱層析法（H_2O-MeCN = 95:5至55:45）直接純化，以給出呈固體的(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ^5,39λ^5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-[({4-[(2*S*)-3-胺基甲醯基-2-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺基]丙醯胺基]丙醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]吡咯啶-2-基]甲基酯（**LP21**）（6.11 mg）。

【0779】 LC-MS (ESI): 737.2 1/2 [M+2H]$^{2+}$。

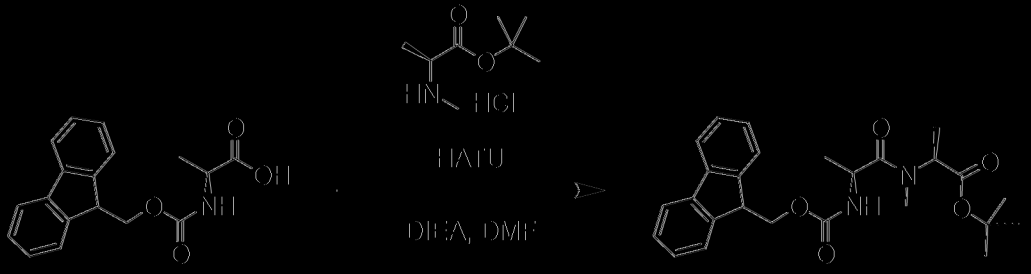
29. ***LP22****的合成*

【0780】 **LP22**的合成如下所示：



(2*S*) 2-[(2*S*) 2-({[(9*H*-第-9-基)甲氧基]羰基}胺基) *N*-甲基戊醯胺基]戊酸；

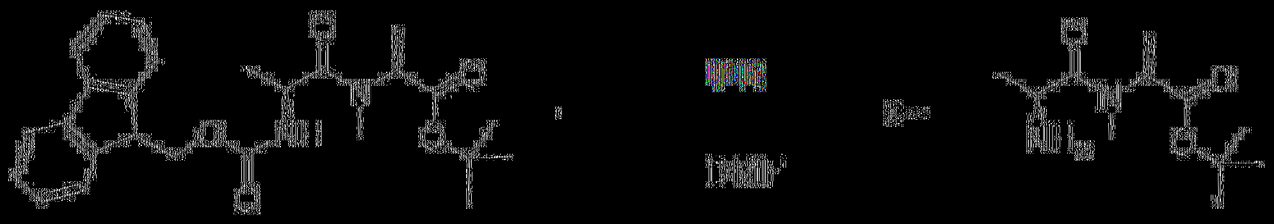
*級丁基*酯的合成



[0781] 向(2*S*) 2-({[(9*H*-第-9-基)甲氧基]羰基}胺基)戊酸（300 mg，0.964 mmol）在DMF（8 mL）中的溶液中添加DIEA（0.505 mL，2.89 mmol）和HATU（440 mg，1.16 mmol）。將混合物攪拌10 min。向混合物中添加(2*S*) 2-(甲基胺基)戊酸*級丁*酯鹽酸鹽（198 mg，1.01 mmol）。將混合物攪拌1 h。將所得混合物用EtOAc和水稀釋。將有機物分離、用鹽水洗滌、經Na_2SO_4乾燥並在減壓下濃縮。將殘餘物藉由NH矽膠相層析法（EtOAc /庚烷 = 1/5）純化，

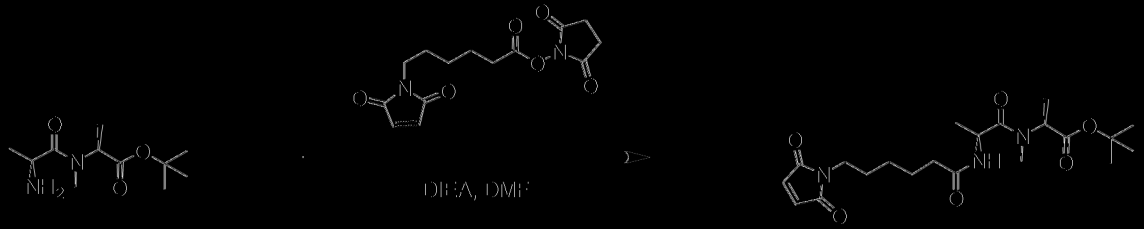
以給出(2*S*)-2-[(2*S*)-2-({[(9*H*-芴-9-基)甲氧基]羰基}胺基)-*N*-甲基戊醯胺基]戊酸酯（399.1 mg）。LC-MS (ESI): 453.4 [M+H]+。

(2*S*)-2-[(2*S*)-2-胺基-*N*-甲基戊醯胺基]戊酸：3級-丁酯的合成



[0782] 在0°C，向(2*S*)-2-[(2*S*)-2-({[(9*H*-芴-9-基)甲氧基]羰基}胺基)-*N*-甲基戊醯胺基]戊酸酯（199.1 mg，0.44 mmol）在DMF（6 mL）中的溶液中添加哌啶（0.436 mL，4.40 mmol）。將混合物在0°C攪拌2 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由ODS矽膠柱層析法（H2O/MeCN（含0.1%甲酸）：98/2至50/50）純化，以給出(2*S*)-2-[(2*S*)-2-胺基-*N*-甲基戊醯胺基]戊酸：3級-丁酯（41.7 mg）。LC-MS (ESI): 231.2 [M+H]+。

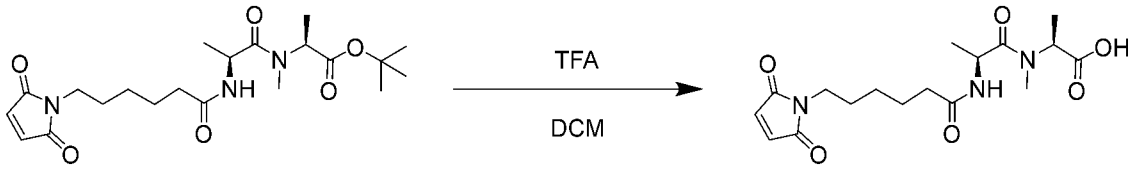
(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺基]-*N*-甲基戊醯胺基]戊酸：3級-丁酯的合成



[0783] 向6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（125 mg，0.405 mmol）和DIEA（0.129 mL，0.736 mmol）在DMF（3 mL）中的溶液中添加(2*S*)-2-[(2*S*)-2-胺基-*N*-甲基戊醯胺基]戊酸：3級-丁酯（84.8 mg，0.368 mmol）。將混合物攪拌30 min。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由ODS矽膠柱層析法（H_2O/MeCN（含有0.1%甲酸）：98/2至50/50）純化，以給出(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己

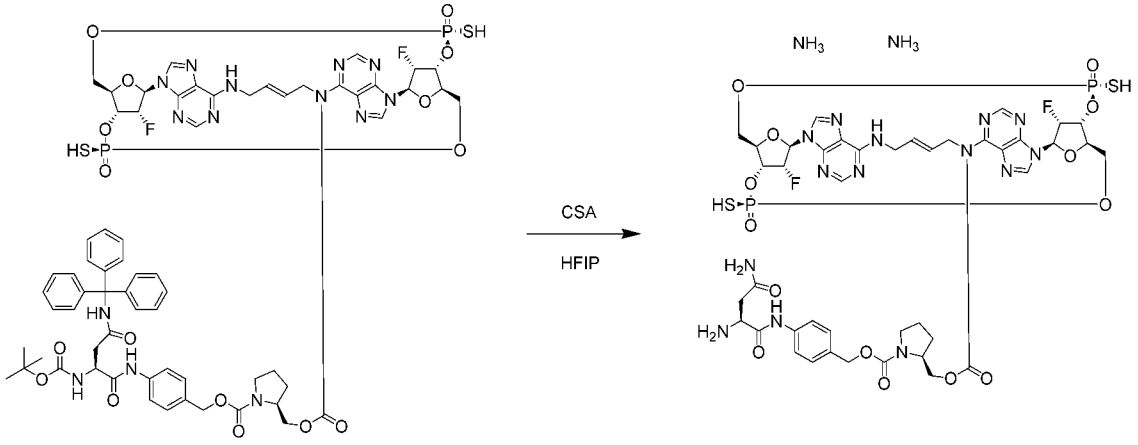
醯胺基]-*N*-甲基丙醯胺基]丙酸*三級丁基*酯（108.4 mg）。LC-MS (ESI): 424.4 $[M+H]^+$。

(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺基]-*N*-甲基丙醯胺基]丙酸的合成



【0784】 在0ºC，向(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺基]-*N*-甲基丙醯胺基]丙酸*三級丁基*酯（108.4 mg）在DCM（2 mL）中的溶液中添加TFA（2 mL，25.96 mmol）。將混合物在0ºC攪拌30 min。將混合物加溫至室溫並攪拌90 min。將所得混合物濃縮並在減壓下與甲苯共沸，以給出(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺基]-*N*-甲基丙醯胺基]丙酸（94.5 mg）。所獲得的材料無需進一步純化即可使用。LC-MS (ESI): 368.3 $[M+H]^+$。

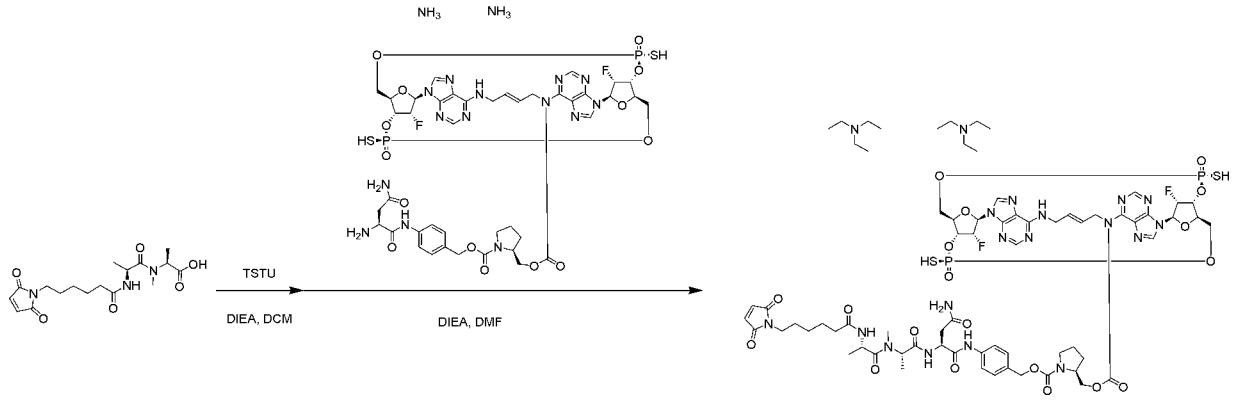
(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*) -29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-[({4-[(2*S*)-2-胺基-3-胺基甲醯基丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]吡咯啶-2-基]甲基酯二銨鹽的合成



【0785】 在0ºC，向(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-[({4-[(2*S*)-2-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}-3-[(三苯基甲基)胺基甲醯基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]吡咯啶-2-基]甲基酯（50 mg，0.034 mmol）在1,1,1,3,3,3-六氟丙烷-2-醇（5 mL）中的溶液中添加[(1*S*,4*R*)-7,7-二甲基-2-側氧基雙環[2.2.1]庚烷-1-基]甲磺酸（157 mg，0.676 mmol）。將混合物在0ºC攪拌3 h。將反應混合物用MeOH淬滅。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由ODS矽膠柱層析法（H_2O/MeCN（包括0.1%氨）＝98/2至40/60）純化，以給出(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-[({4-[(2*S*)-2-胺基-3-胺基甲醯基丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]吡咯啶-2-基]甲基酯二銨鹽（16.1 mg）。

【0786】 LC-MS (ESI): 1137.4 $[M+H]^+$。

(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-[({4-[(2*S*)-3-胺基甲醯基-2-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺基]-*N*-甲基丙醯胺基]丙醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]吡咯啶-2-基]甲基酯 雙(三乙胺)鹽（LP22·2NEt_3）的合成



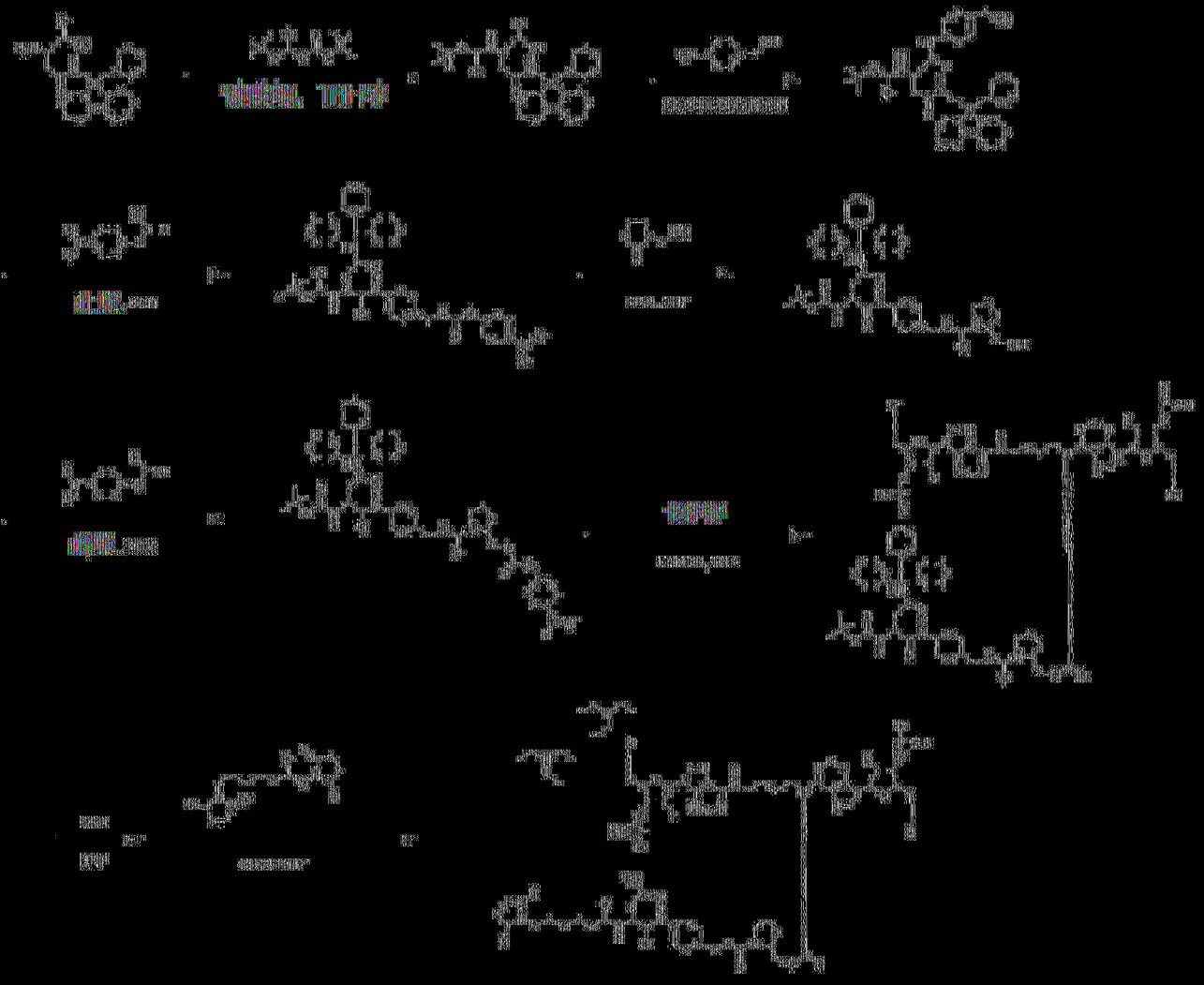
【0787】 向(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)己醯胺基]-*N*-甲基丙醯胺基]丙酸（16.7 mg，0.045 mmol）和DIEA（0.048 mL，0.275 mmol）在DCM（1 mL）中的溶液中添加TSTU（12.4 mg，0.0.41 mmol）。將混合物攪拌1 h。向混合物中添加TSTU（6.5 mg）。將混合物攪拌30 min。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物用DMF（500 mL）稀釋並添加至(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*）-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-[({4-[(2*S*)-2-胺基-3-胺基甲醯基丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]吡咯啶-2-基]甲基酯二胺（16.1 mg，0.14 mmol）和DIEA（20 mL，0.115 mmol）在DMF（1 mL）中的溶液中。將混合物攪拌90 min。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由ODS矽膠柱層析法（H_2O/MeCN（包含0.1%甲酸）＝98/2至40/60）純化，以給出粗製材料。將粗製材料藉由製備型TLC（$CHCl_3$/MeOH（含有1% TEA）＝4/1）純化，以給出(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-[({4-[(2*S*)-3-胺基甲醯基-2-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺基]-*N*-甲基丙醯胺基]丙

醯胺基]內醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]吡咯啶-2-基]甲基]雙(三乙胺)鹽（CLP22·2NEt3）（3.40 mg）。

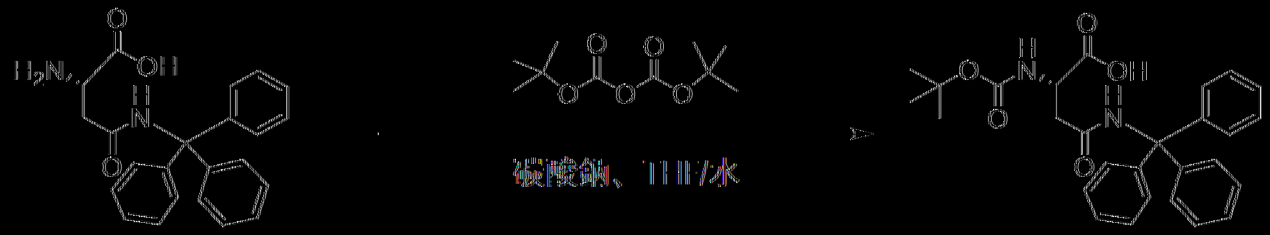
[0788] LC-MS (ESI): 1486.4 [M+H]+。

30. LP23的合成

[0789] LP23的合成如下所示：

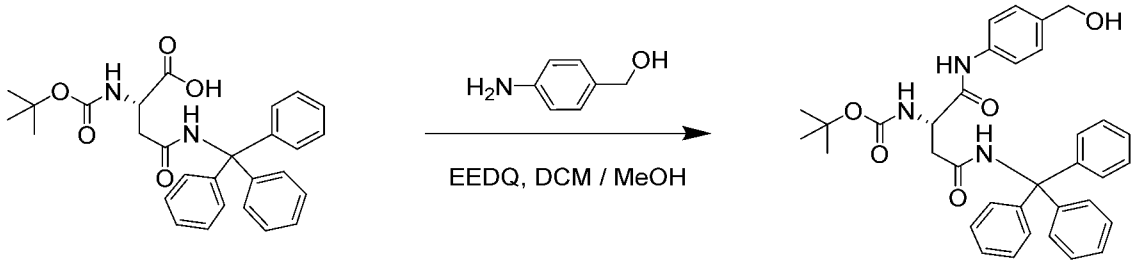


(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}-3-[(三苯甲基)硫基]丙酸的合成



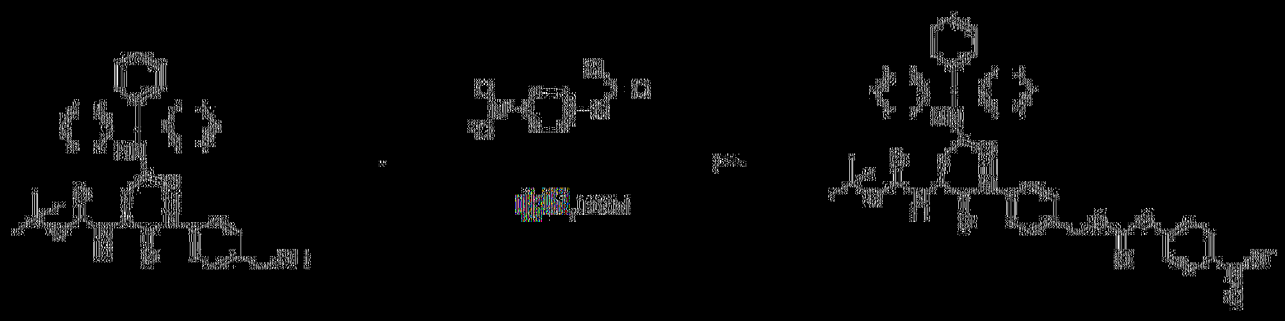
【0790】 在0°C，向(2*S*)-2-胺基-3-[(三苯基甲基)胺基甲醯基]丙酸（2 g，5.34 mmol）在THF（14.0 mL）和水（14.0 mL）中的溶液中添加碳酸鈉（1.19 g，11.2 mmol）。10 min後，將二碳酸二*三級丁基*酯（1.63 g，7.48 mmol）添加至混合物中。將混合物在室溫攪拌4 h 20 min。將5 N HCl添加至混合物中直到pH 4。將水層用EtOAc萃取，並將有機層在減壓下濃縮。所獲得的粗製(2*S*)-2-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}-3-[(三苯基甲基)胺基甲醯基]丙酸（2.53 g）無需純化即可用於下一步驟。LC-MS (ESI): 475.4 $[M+H]^+$。

_N_-[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}-2-[(三苯基甲基)胺基甲醯基]乙基]胺基甲酸*三級丁基*酯的合成



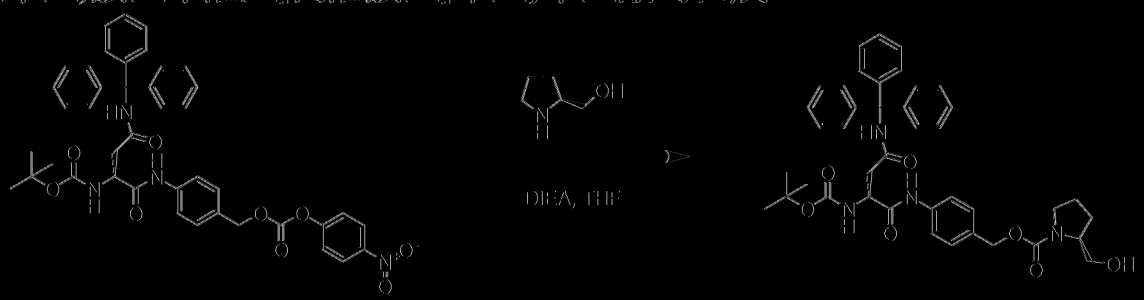
【0791】 在0°C，向(2*S*)-2-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}-3-[(三苯基甲基)胺基甲醯基]丙酸（1.3 g，2.74 mmol）和(4-胺基苯基)甲醇（0.371 g，3.01 mmol）在DCM（30 mL）和MeOH（10 mL）中的溶液中添加2-乙氧基-1,2-二氫喹啉-1-甲酸乙基酯（1.36 g，5.48 mmol）。將溶液在室溫攪拌18 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（EtOAc/庚烷 = 1/1至3/1）純化，以給出*N*-[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}-2-[(三苯基甲基)胺基甲醯基]乙基]胺基甲酸*三級丁基*酯（1.22 g）。LC-MS (ESI): 580.4 $[M+H]^+$。

碳酸{4-[(2*S*)-2-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}-3-[(三苯基甲基)胺基甲醯基]丙醯胺基]苯基}甲基 4-硝基苯基酯的合成



[0792] 向*N*-[(1*S*)-1-{[4-(溴甲基)苯基]甲酰基}-2-(二苄基)肼基]甲酰基乙基]氨基甲酸叔丁酯（1000 mg，1.73 mmol）在DCM（30 mL）中的溶液中添加4-硝基苯氯甲酸酯（695 mg，3.45 mmol）和吡啶（0.279 mL，3.45 mmol）。将溶液在室温搅拌3.5小时。将所得混合物用EtOAc和10%水性柠檬酸稀释。将有机相分离、用盐水洗涤、经Na_2SO_4干燥、在减压下浓缩。将残余物藉由矽胶柱层析法（EtOAc/庚烷 = 1/4至1/1）纯化，以给出碳酸{4-[(2*S*)-2-{[(二级丁氧基)羰基]氨基}-3-(二苄基)肼基]甲酰基]内酰胺基]苄基}甲基4-硝基苯基酯（1.26 g）。LC-MS (ESI): 745.6 [M+H]+。

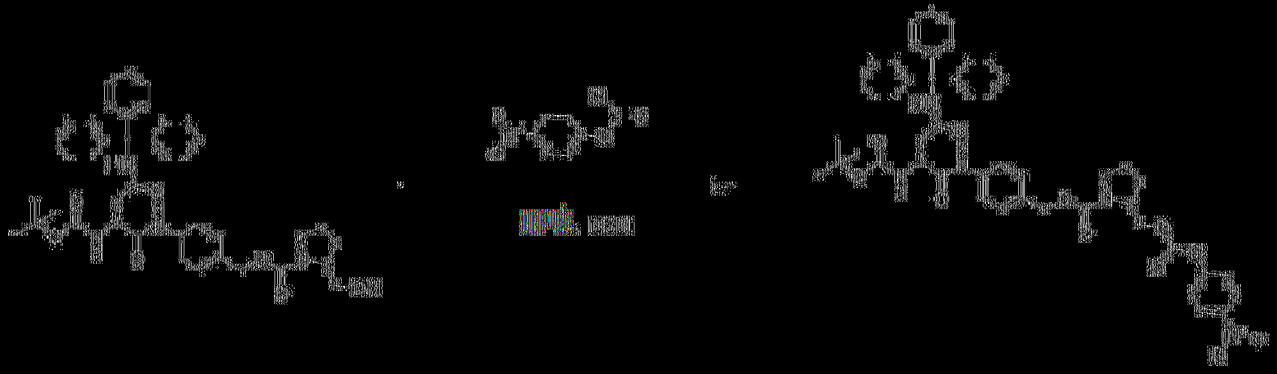
(2*S*)-2-(溴甲基)吡咯啶-1-甲酸{4-[(2*S*)-2-{[(二级丁氧基)羰基]氨基}-3-(二苄基)肼基]甲酰基]内酰胺基]苄基}甲基酯的合成



[0793] 向碳酸{4-[(2*S*)-2-{[(二级丁氧基)羰基]氨基}-3-(二苄基)肼基]甲酰基]内酰胺基]苄基}甲基4-硝基苯基酯（400 mg，0.537 mmol）在THF（10 mL）和DIEA（0.469 mL，2.69 mmol）中的溶液中添加(2*S*)-吡咯啶-2-基甲醇（65.2 mg，0.644 mmol）。将溶液在室温搅拌2 h。将所得混合物在减压下浓缩。将残余物藉由NH矽胶柱层析法（EtOAc/庚烷 = 4/1至1/0）纯化，以给出(2*S*)-2-(溴甲基)吡咯啶-1-甲酸{4-[(2*S*)-2-{[(二级丁氧基)羰基]氨基}-3-(二苄基

甲以)胺基]甲醯基}內醯胺基]苯基}甲基酯（343.3 mg）。LC-MS (ESI): 707.5 [M+H]+。

(2*S*)-2-({[(4-硝基苯氧基)羰基]氧基}甲基)吡咯啶-1-甲酸{4-[(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}-3-(4-苯基甲基)胺基甲醯基]內醯胺基]苯基}甲基酯的合成



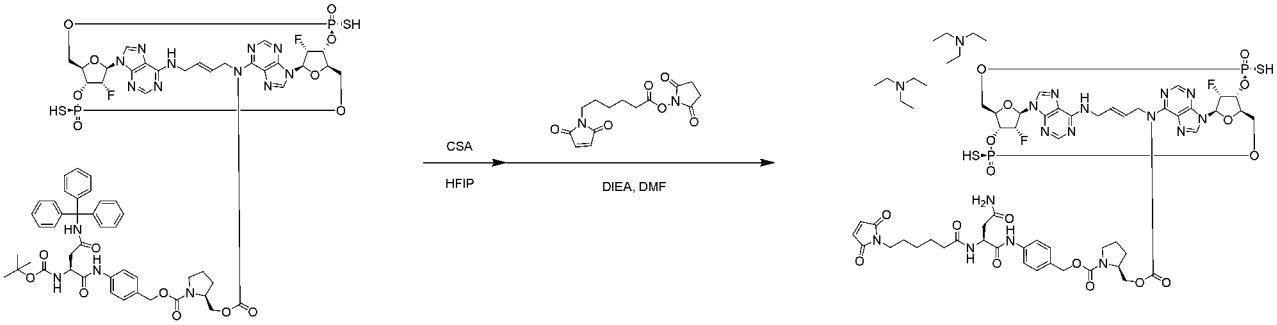
向(2*S*)-2-(羥基甲基)吡咯啶-1-甲酸{4-[(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}-3-(4-苯基甲基)胺基甲醯基]內醯胺基]苯基}甲基酯（343.3 mg，0.486 mmol）在DCM（10 mL）中的溶液中添加4-硝基苯基氯甲酸酯（196 mg，0.971 mmol）和吡啶（0.079 mL，0.971 mmol）。將溶液在室溫攪拌2 h。將所得混合物用EtOAc和10%水性檸檬酸稀釋。將有機相分離、用鹽水洗滌、經Na_2SO_4乾燥並在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠相析法（EtOAc/庚烷；1/4至1/1）純化，以給出(2*S*)-2-({[(4-硝基苯氧基)羰基]氧基}甲基)吡咯啶-1-甲酸{4-[(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}-3-(4-苯基甲基)胺基甲醯基]內醯胺基]苯基}甲基酯（340 mg）。LC-MS (ESI): 872.5 [M+H]+。

(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸(2*S*)-1-({4-[(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}-3-(4-苯基甲基)胺基甲醯基]內醯胺基]苯基}甲氧基)羰基吡咯啶-2-基甲基酯的合成

[0795] 在室溫，向化合物1（50 mg，0.059 mmol）在THF（5 mL）中的懸浮液中添加LiHMDS（0.527 mmol）。將所得混合物在室溫攪拌30 min並冷卻至 -78°C。向上述混合物中添加THF（0.5 mL）中的(2*S*)-2-({[(4-硝基苯氧基)羰基]氧基}甲基)吡咯烷-1-甲酸{4-[(2*S*)-2-{[(二級丁氧基)羰基]胺基}-3-(4-苯基哌啶-1-基)丙醯基]苯基}甲酯（45.9 mg，0.053 mmol）（用THF沖洗（0.5 mL））且在-78°C攪拌10 min。將所得混合物加溫至0°C並攪拌1 h。將反應用AcOH（226 mL，3.95 mmol）淬滅。將混合物加溫至室溫並攪拌10 min。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由ODS矽膠柱析法（H2O/MeCN（包含0.1%甲酸）=95/5至20/80）純化，以給出(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸(2*S*)-1-({4-[(2*S*)-2-{[(二級丁氧基)羰基]胺基}-3-(4-苯基哌啶-1-基)丙醯基]苯基}甲氧基)羰基吡咯烷-2-基甲酯（52.3 mg）。LC-MS (ESI): 1480.6 [M+H]+。

(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-

5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-[({4-[(2*S*)-3-胺基甲醯基-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]吡咯啶-2-基]甲基酯雙(三乙胺)鹽（LP23·2NEt$_3$）的合成



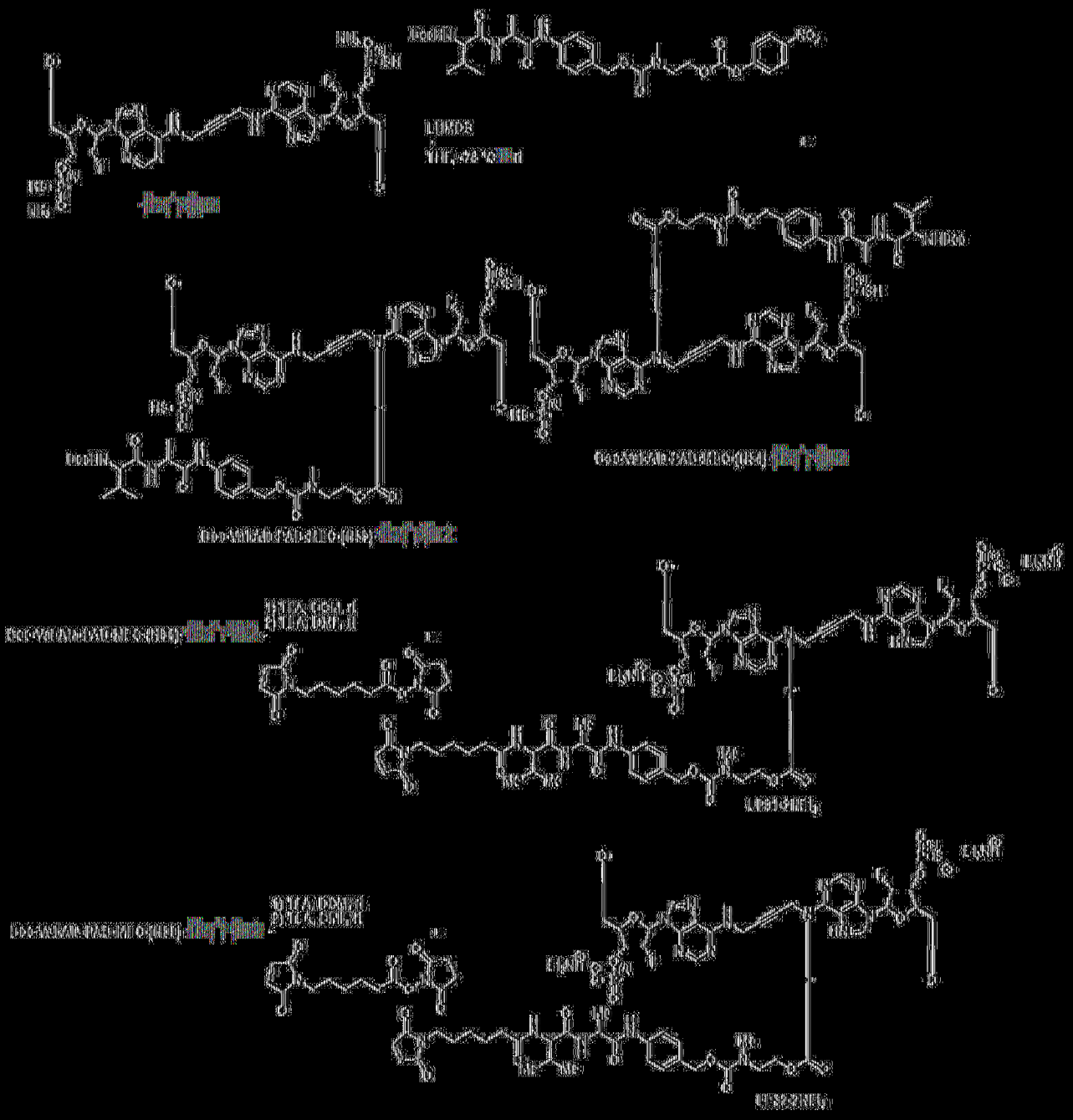
【0796】 在0°C，向(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-[({4-[(2*S*)-2-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}-3-[(三苯基甲基)胺基甲醯基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]吡咯啶-2-基]甲基酯（45 mg，0.03 mmol）在1,1,1,3,3,3-六氟丙烷-2-醇（4 mL）中的溶液中添加CSA（141 mg，0.608 mmol）。將混合物在0°C攪拌4 h。將反應混合物用MeOH淬滅。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由ODS矽膠柱層析法（H$_2$O/MeCN（包含0.1%甲酸）＝98/2至50/50）純化，以給出粗製化合物（191.4 mg）。向DMF（500 mL）中的一部分所獲得的粗製材料（63.8 mg）和DIEA（52.9 mL，0.303 mmol）中添加6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)己酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（2.80 mg，9.09 mmol）。將混合物攪拌1 h。向混合物中添加6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（12 mg）並攪拌30 min。向混合物中添加6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（18 mg）並攪拌30 min。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由ODS矽膠柱層析法（H$_2$O/MeCN（包含0.1%甲酸）＝98/2至

50/50）純化，以給出粗製材料。將粗製材料藉由正相製備型TLC（$CHCl_3$/MeOH（包括1% TEA）= 4/1）純化，以給出(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-34,39-二氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-13-甲酸[(2*S*)-1-[({4-[(2*S*)-3-胺基甲醯基-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)己醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲氧基)羰基]吡咯啶-2-基]甲基酯雙(三乙胺)鹽（**LP23·2NEt$_3$**）（3.35 mg）。

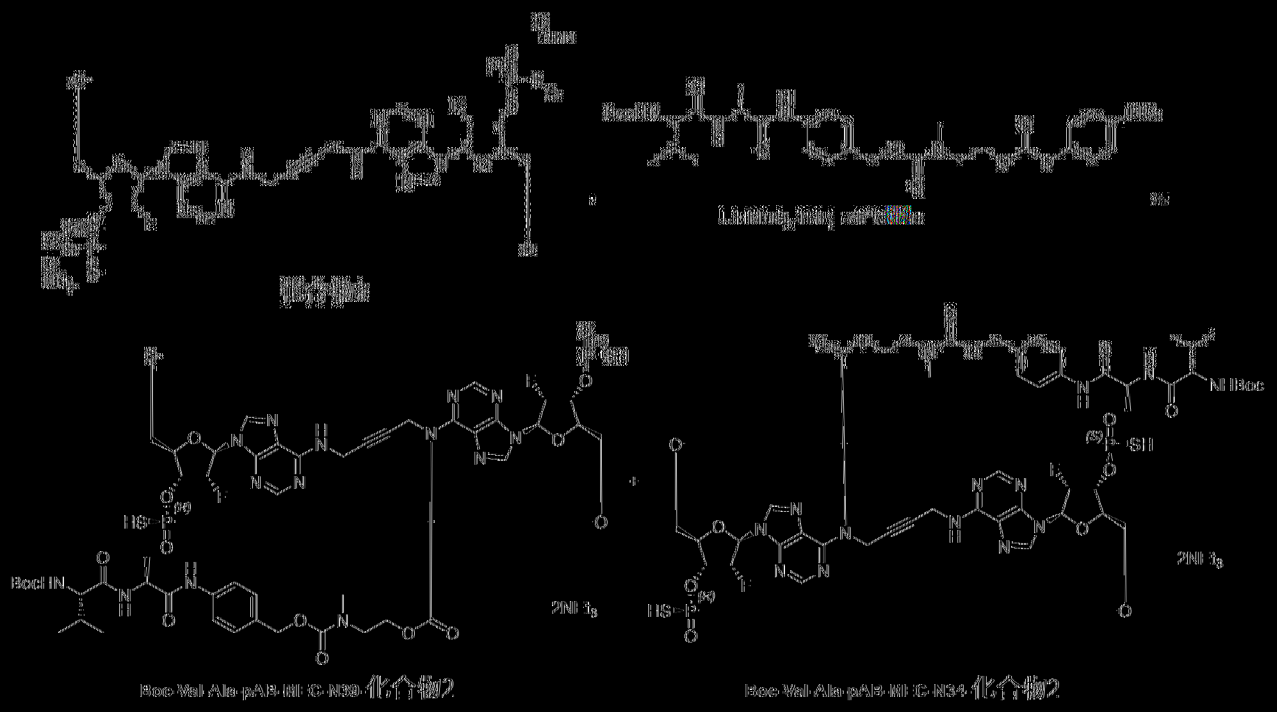
【0797】 LC-MS (ESI): 1330.8 $[M+H]^+$。

31. ***LP32和LP31的合成***

【0798】 **LP32**和**LP31**的合成如下所示：



Boc-Val-Ala-pAB-MEC-(N39)化合物2和Boc-Val-Ala-pAB-MEC-(N34)化合物2的合成



Boc Val Ala pAB MIC-N30 化合物2　　Boc Val Ala pAB MIC-N34 化合物2

[0799] 向化合物2的三銨鹽（50 mg，0.064 mmol）中添加THF（3 mL）並將所得溶液真空濃縮。將該共沸乾燥過程再重複兩次。將所得材料溶解於THF（5 mL）中並在室溫用LiHMDS（1.5 M，0.385 mL，0.578 mmol）在THF中的溶液處理。在室溫10 min後，將反應混合物冷卻至-78°C。然後添加甲基(2-(((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)乙基)胺基甲酸4-((S)-2-((S)-2-((三級丁氧基羰基)胺基)-3-甲基丁醯胺基)內醯胺基)丁基酯（42.4 mg，0.064 mmol）在THF（0.84 mL）中的溶液。將所得混合物在1.5 h內緩慢加溫至0°C。在0°C-10°C之間1.5 h後，將反應用AcOH（0.1 mL，1.7 mmol）淬滅。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由製備型HPLC在以下條件下純化：柱：XBridge Prep OBD C18柱，19*100 mm，5 μm；流動相A：水（50 mM TEA+50 mM六氟異丙醇），流動相B：MeCN（50 mM TEA+50 mM六氟異丙醇）；流速： 40 mL/min；溫度：rt；梯度：1% B（t=0-2.0 min）、15% B（t=2.1 min）、35% B（t=16.3 min）、95% B（t=16.4 min）、1% B（t=17.2-17.9 min）；波長： 260 nm；執行時間：

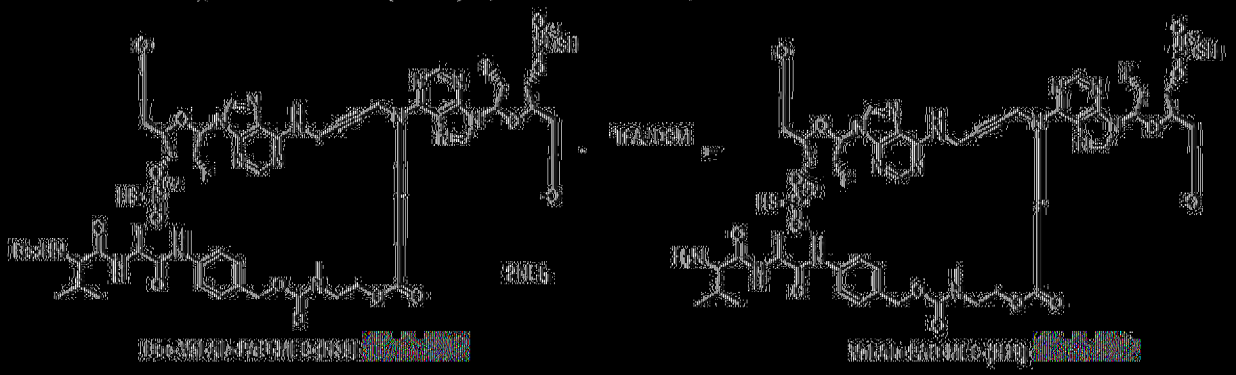
18 min。這產生18.9 mg **Boc-Val-Ala-pAB-MEC-(N39)-化合物2**和5.2 mg **Boc-Val-Ala-pAB-MEC-(N34)-化合物2**。

【0800】 **Boc-Val-Ala-pAB-MEC-(N39)-化合物2**： LC-MS (ESI): 1265.32 $[M+H]^+$。^{1}H NMR (400 MHz, 甲醇-d_4) δ 8.88 (br s, 1H), 8.78 - 8.64 (m, 1H), 8.59 (br s, 1H), 8.16 (s, 1H), 7.61 - 7.50 (m, 2H), 7.28 (br d, J = 7.5 Hz, 1H), 7.19 (br d, J = 7.3 Hz, 1H), 6.45 - 6.24 (m, 2H), 6.04 (d, J = 51.4 Hz, 1H), 5.51 (d, J = 51.3 Hz, 1H), 5.17 - 4.92 (m, 2H), 4.95 - 4.54 (m, 5H), 4.49 (br d, J = 10.4 Hz, 2H), 4.44 - 4.30 (m, 3H), 4.29 - 4.12 (m, 1H), 4.02 (br dd, J = 3.6, 11.4 Hz, 1H), 3.98 - 3.87 (m, 2H), 3.86 - 3.70 (m, 1H), 3.65 - 3.40 (m, 2H), 3.35 (s, 1H), 3.25 - 3.11 (m, 12H), 2.83 - 2.70 (m, 3H), 2.07 (br d, J = 4.6 Hz, 1H), 1.44 (br s, 12H), 1.28 (br t, J = 7.3 Hz, 18H), 0.98 (br d, J = 6.5 Hz, 3H), 0.93 (br d, J = 6.4 Hz, 3H)。分析型HPLC RT = 9.70 min [柱：Xbridge Premier BEH C18柱，2.5 μm（2.1 mm ID x 150 mm）；流動相A：水（50 mM TEA+ 50 mM六氟異丙醇），流動相B：MeCN（50 mM TEA+50 mM六氟異丙醇）；流速： 0.5 mL/min；溫度：60；梯度：1% B（t=0-1.0 min）、15% B（t=1.1 min）、35% B（t=20.9 min）、95% B（t=21.0 min）、1% B（t=22.1-24.0 min）；波長： 260nm；執行時間 = 25 min。

【0801】 **Boc-Val-Ala-pAB-MEC-(N34)-化合物2**： LC-MS (ESI): 1265.32 $[M+H]^+$。^{1}H NMR (400 MHz, 甲醇-d_4) δ 9.30 (br s, 0.5H), 9.09 (br s, 0.5H), 8.83 - 8.63 (m, 1H), 8.47 (br s, 1H), 8.13 (br s, 0.5H), 7.97 (br s, 0.5H), 7.61 - 7.51 (m, 2H), 7.28 (br d, J = 7.0 Hz, 1H), 7.20 (br d, J = 7.4 Hz, 1H), 6.54 - 6.15 (m, 2H), 5.94 - 5.28 (m, 2H), 5.22 - 5.06 (m, 1H), 4.97 (br s, 1H), 4.82 - 4.57 (m, 5H), 4.49 (br d, J = 7.0 Hz, 2H), 4.41 (br s, 2H), 4.35 - 4.11 (m, 2H), 4.04 (br d, J = 9.6 Hz, 1H), 3.99 - 3.76 (m, 3H), 3.60 - 3.43 (m, 1H), 3.37 - 3.34 (m, 2H), 3.26 - 3.09 (m, 12H), 2.76 (br s, 3H), 2.17 - 2.00 (m, 1H), 1.44 (s, 12H), 1.30 (t, J = 7.3 Hz, 18H), 0.98 (br d, J =

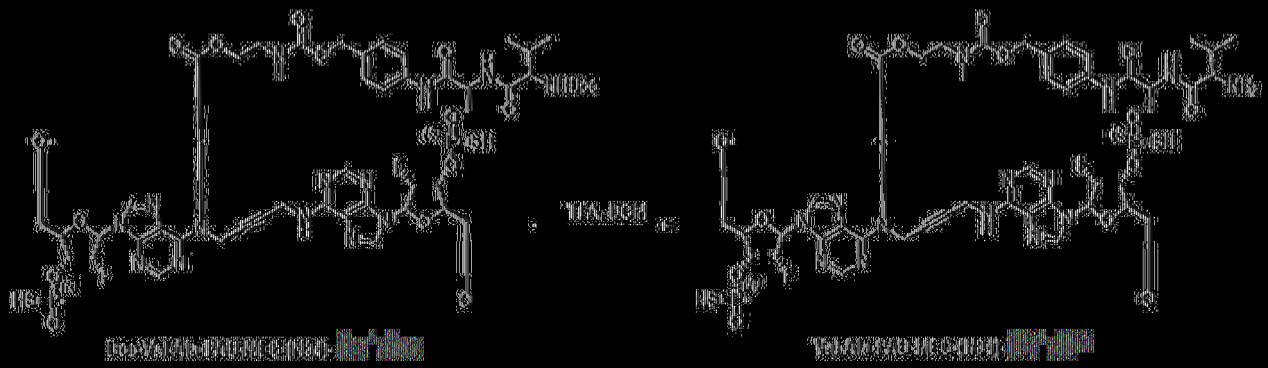
6.5 Hz, 3H), 0.94 (br d, *J* = 6.6 Hz, 3H)。分析型HPLC RT = 8.98 [柱：Xbridge Premier BEH C18柱，2.5 μm（2.1 mm ID x 150 mm）；流動相A：水（50 mM TEA + 50 mM六氟異丙醇），流動相B：MeCN（50 mM TEA+50 mM六氟異丙醇）；流速：0.5 mL/min；溫度：60；梯度：1% B（t 0-1.0 min）、15% B（t 1.1 min）、35% B（t 20.9 min）、95% B（t 21.0 min）、1% B（t 22.1-24.0 min）；波長：260nm；執行時間 = 25 min。

Val-Ala-pAB-MEC (N39) 化合物2的合成



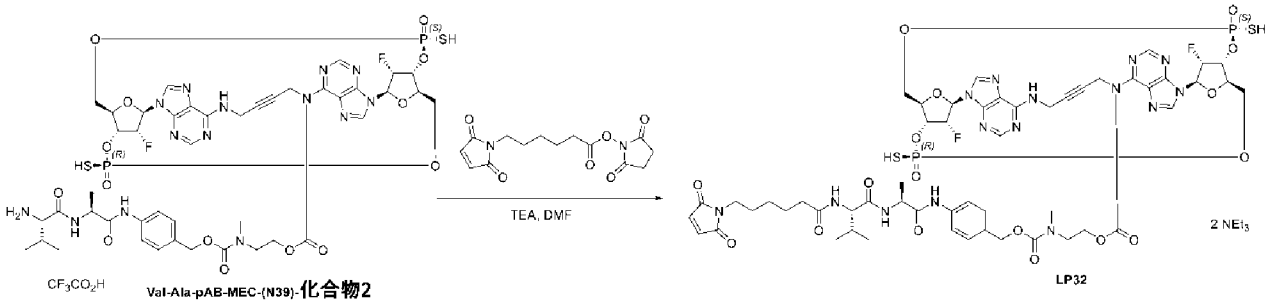
[0802] 在室溫，向Boc-Val-Ala-pAB-MEC (N39) 化合物2（18.9 mg，0.013 mmol）在DCM（2 mL）中的溶液中添加TFA（0.75 mL）。將反應混合物在室溫攪拌0.5 h，然後用MTBE（5 mL）處理。對所得漿液混合物進行離心。將所得固體傾析，隨後真空乾燥過夜，得到16.5 mg呈灰白色固體的目標產物。LC-MS (ESI): 1165.05 [M+H]+。

Val-Ala-pAB-MEC (N34) 化合物2的合成



【0803】 在室溫，向**Boc-Val-Ala-pAB-MEC-(N34)-化合物2**（5.2 mg，0.0052 mmol）在DCM（0.8 mL）中的溶液中添加TFA（0.3 mL）。將反應混合物在室溫攪拌0.5 h，然後用MTBE（2.5 mL）處理。對所得漿液混合物進行離心。將所得固體傾析，隨後真空乾燥過夜，得到4.0 mg呈灰白色固體的目標產物。LC-MS (ESI): 1165.10 $[M+H]^+$。

LP32的合成



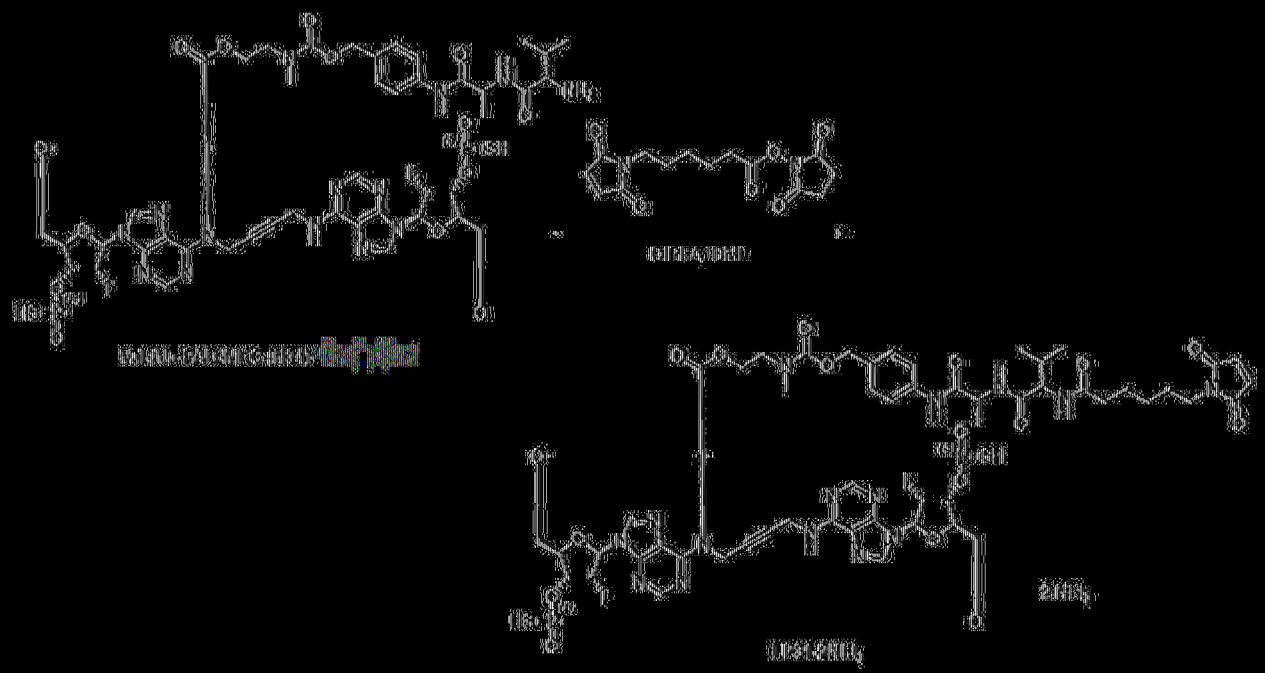
【0804】 在室溫，向**Val-Ala-pAB-MEC-(N39)-化合物2**（5.3 mg，0.0041 mmol）在DMF（0.5 mL）中的溶液中添加TEA（0.010 mL，0.072 mmol）和6-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)己酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（2.0 mg，0.0065 mmol）。將所得混合物在室溫攪拌10 min並用額外的6-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)己酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（2.0 mg，0.0065 mmol）處理。在室溫攪拌3 h後，將反應混合物保持在-20°C過週末、加溫至室溫並藉由矽膠柱層析法（15%至30% MeOH，在EtOAc中，用1%三乙胺緩衝）純化。這產生3.2 mg呈白色固體的目標產物**LP32·2NEt$_3$**。

【0805】 LC-MS (ESI): 1358.00 $[M+H]^+$。

【0806】 ^{1}H NMR (400 MHz, 甲醇-d_4) δ 8.89 (br s, 1H), 8.77 - 8.65 (m, 1H), 8.63 - 8.53 (m, 1H), 8.16 (br s, 1H), 7.56 (br dd, J = 7.9, 14.3 Hz, 2H), 7.37 - 7.25 (m, 1H), 7.19 (br d, J = 7.3 Hz, 1H), 6.77 (br s, 2H), 6.42 - 6.22 (m, 2H), 6.04 (d, J = 49.8 Hz, 1H), 5.51 (d, J = 49.5 Hz, 1H), 5.15 - 4.92 (m, 3H), 4.82 - 4.53 (m, 4H),

4.52 - 4.25 (m, 5H), 4.24 - 4.12 (m, 2H), 4.02 (br dd, *J* = 3.8, 11.4 Hz, 1H), 3.93 (br d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 3.88 - 3.70 (m, 1H), 3.67 - 3.52 (m, 1H), 3.50 - 3.35 (m, 4H), 3.24 - 3.13 (m, 12H), 2.78 (br s, 3H), 2.28 (br s, 2H), 2.15 2.05 (m, 1H), 1.67 - 1.49 (m, 4H), 1.44 (br d, *J* = 6.9 Hz, 3H), 1.29 (br t, *J* = 7.3 Hz, 18H), 1.18 - 1.05 (m, 2H), 0.99 0.88 (m, 6H)。

LP31的合成



[0807] 在室溫，向Val-Ala-pAB-MEC (N34)化合物2（4.0 mg，0.0031 mmol）在DMF（0.4 mL）中的溶液中添加DIEA（0.010 mL，0.072 mmol）和6-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)己酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（4.0 mg，0.013 mmol）。在室溫攪拌8 h後，將反應混合物藉由矽膠柱層析法（15%至30% MeOH，在EtOAc中，用1%三乙胺緩衝）純化。這產生3.3 mg呈白色固體的目標產物LP31·2NEt3。

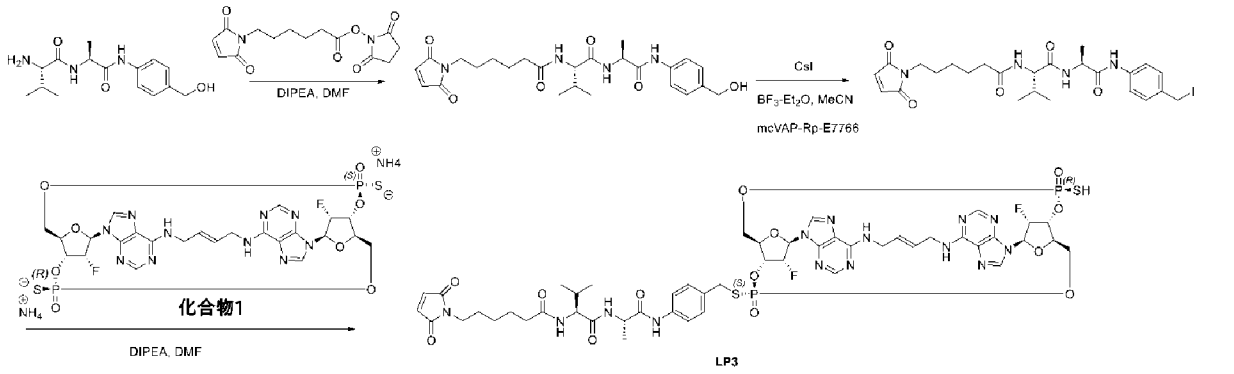
[0808] LC-MS (ESI): 1359.96 [M+H]+。

[0809] ^{1}H NMR (400 MHz, 甲醇-*d*4) δ 9.40 - 9.25 (m, 0.5H), 9.15 - 9.03 (m, 0.5H), 8.85 - 8.62 (m, 1H), 8.55 - 8.39 (m, 1H), 8.23 - 7.91 (m, 1H), 7.62-7.49 (m,

2H), 7.33 - 7.25 (m, 1H), 7.22 - 7.12 (m, 1H), 6.78 (s, 2H), 6.56 - 6.17 (m, 2H), 5.93 - 5.31 (m, 2H), 5.23 - 5.06 (m, 1H), 5.01 - 4.93 (m, 1H), 4.74 - 4.54 (m, 5H), 4.53 - 4.24 (m, 5H), 4.18 (br d, *J* = 7.0 Hz, 2H), 4.09 - 4.00 (m, 1H), 3.98 - 3.89 (m, 1H), 3.86 - 3.70 (m, 1H), 3.58 - 3.38 (m, 5H), 3.28 - 3.12 (m, 12H), 2.76 (br s, 3H), 2.28 (br t, *J* = 6.7 Hz, 2H), 2.17 - 2.01 (m, 1H), 1.69 - 1.50 (m, 4H), 1.45 (br d, *J* = 6.3 Hz, 3H), 1.31 (t, *J* = 7.2 Hz, 18H), 1.21 - 1.07 (m, 2H), 1.04 - 0.90 (m, 6H)。

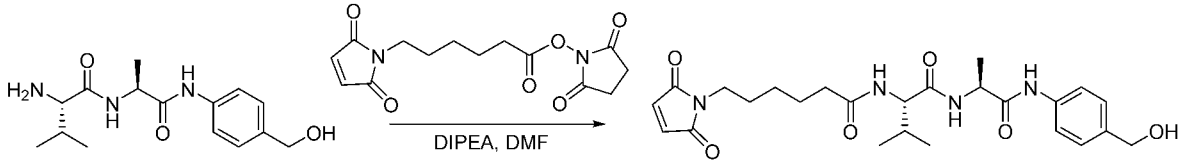
32. ***LP33****的合成和****LP3****的替代合成*

【0810】 **LP3**的合成如下所示：



。

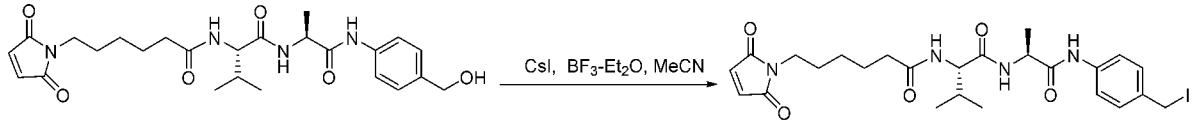
6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺的合成



【0811】 將DIPEA（1.32 g，10.2 mmol）和6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)己酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（1.58 g，5.11 mmol）添加至(2*S*)-2-胺基-*N*-[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺（1.5 g，5.1 mmol）在DMF（40 mL）中的溶液中。將所得混合物在室溫攪拌2 h。將所得混合物用EtOAc稀釋、用水洗滌並濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用CH_2Cl_2 / MeOH（10:1）洗脫）純化。這產生2.0 g呈灰白色固體的6-(2,5-二側氧基-2,5-二

氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺。LC-MS (ESI): 487 $[M+H]^+$。

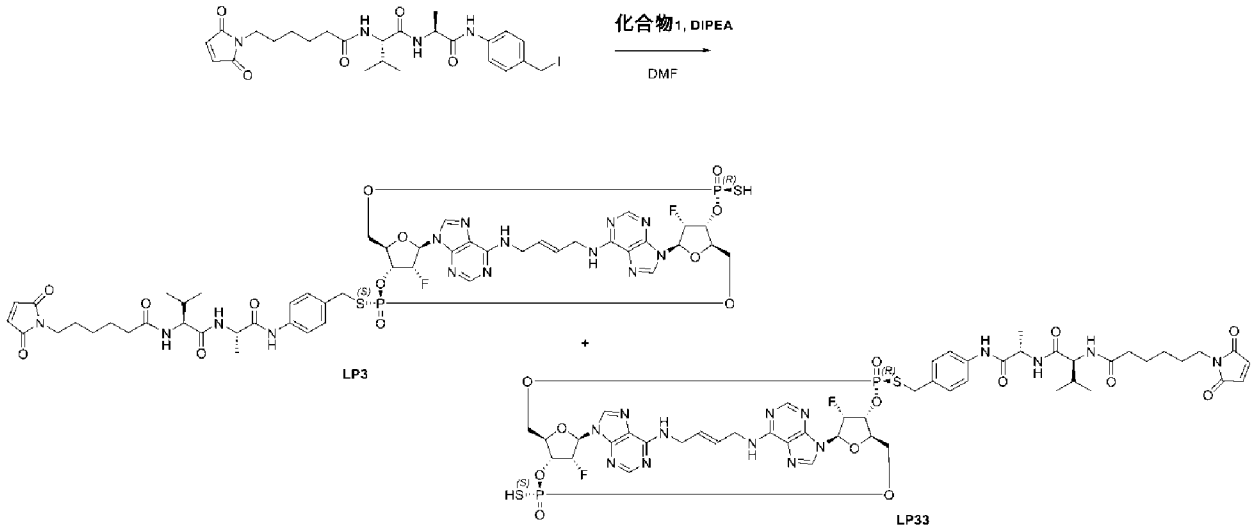
6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(碘甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺的合成



【0812】將碘化銫（801 mg，3.08 mmol）和$BF_3.Et_2O$（438 mg，3.08 mmol）添加至6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺（1.0 g，2.06 mmol）在乙腈（10 mL）中的溶液中。將所得混合物在室溫攪拌2 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用CH_2Cl_2 / ^iPrOH（10:1）洗脫）純化。這產生700 mg呈白色固體的6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(碘甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺。LC-MS (ESI): 597 $[M+H]^+$。

***N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-({[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-39-氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-34-基]氫硫基}甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)己醯胺（LP3）和*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-({[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-39-氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-34-基]氫硫基}甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}**

醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺（LP33）的合成



【0813】 將6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(碘甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺（480 mg，0.805 mmol）和DIPEA（208 mg，1.61 mmol）添加至化合物1（600 mg，0.805 mmol）在DMF（5 mL）中的溶液中。將所得混合物在室溫攪拌2小時。將粗製溶液藉由製備型HPLC用以下條件純化（柱：XBridge Prep OBD C18柱，19*250 mm，5 μm；流動相A：水（0.05%FA），流動相B：MeCN；流速：25 mL/min；梯度：在8 min內32% B至32% B，32% B；波長：254 nm；RT = 13 min）。這產生108 mg目標產物**LP3**和78.9 mg **LP33**。

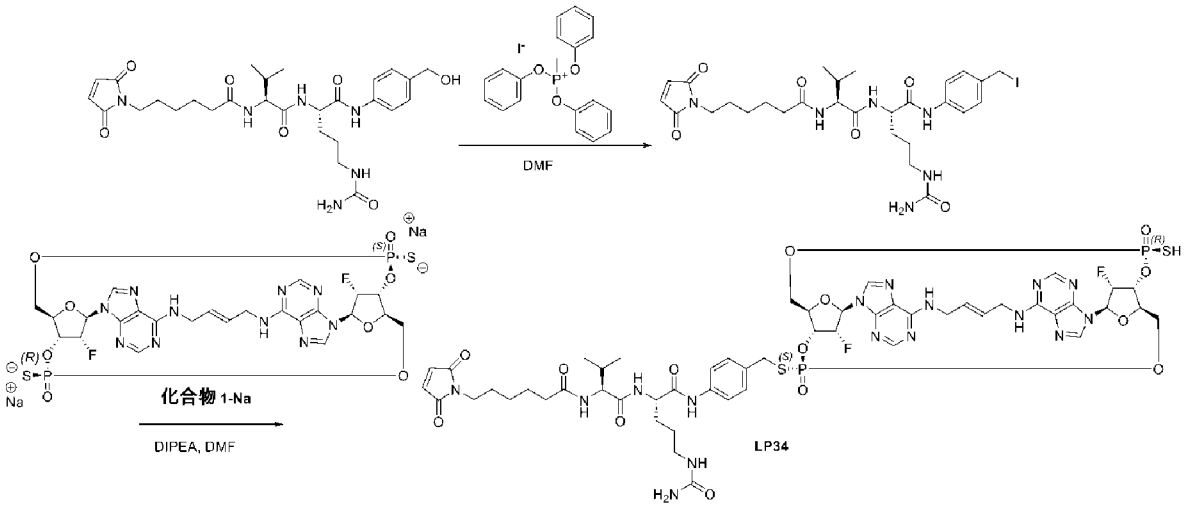
【0814】 **LP3**： LC-MS (ESI): 1215.3 $[M+H]^+$。^{1}H NMR (400 MHz, 甲醇-d_4) δ (ppm) = 8.77 - 8.46 (m, 1H), 8.30 - 7.90 (m, 6H), 7.40 (br s, 2H), 7.22 - 6.85 (m, 2H), 6.77 (s, 2H), 6.45 (br d, J = 14.5 Hz, 1H), 6.25 (br d, J = 19.9 Hz, 1H), 5.90 - 5.10 (m, 6H), 4.75 - 3.50 (m, 14H), , 3.46 (t, J = 7.0 Hz, 2H), 2.28 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 2.16 - 2.04 (m, 1H), 1.70 - 1.50 (m, 4H), 1.47 - 1.37 (m, 3H), 1.35 - 1.24 (m, 2H), 0.97 (t, J = 7.0 Hz, 6H)。分析型HPLC RT=6.74 min（儀器：Shimadzu LC20AD；柱：HALO C18（4.6 mm ID x 100 mm）；流動相A：水（0.05%

TFA），流動相B：MeCN（0.05% TFA）；流速：1.5 mL/min；溫度：40°C；梯度：10% B（t=0.01 min）、70% B（t=10 min）、95% B（t=12至14 min）；波長： 254 nm）

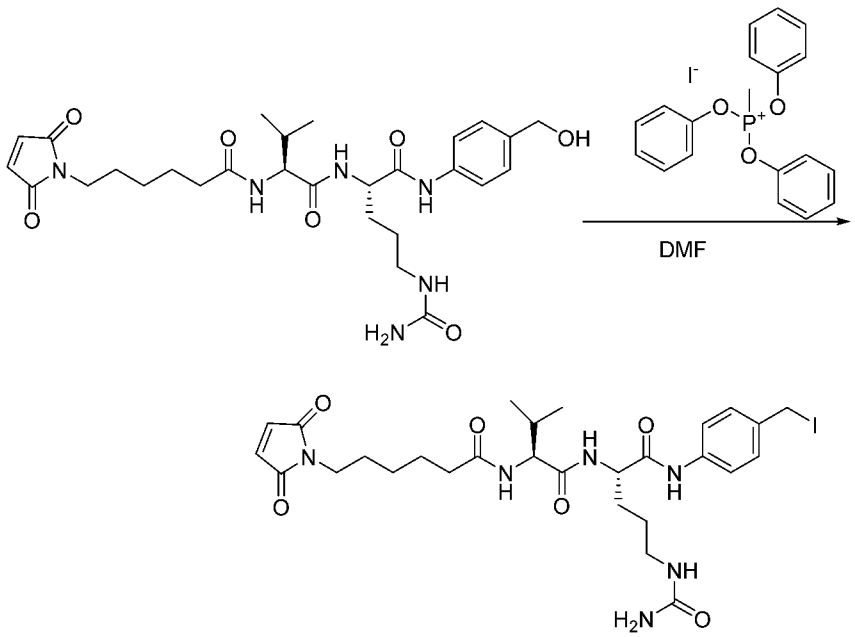
【0815】 **LP33**： LC-MS (ESI): 1215.3 $[M+H]^+$。^{1}H NMR (400 MHz, 甲醇-d4) δ 8.75 – 8.43 (m, 1H), 8.37 – 7.79 (m, 3H), 7.70 – 7.37 (m, 4H), 6.89 – 6.78 (m, 2H), 6.57 – 6.22 (m, 2H), 5.98 – 5.51 (m, 2H), 4.62 – 4.35 (m, 4H), 4.36 – 4.21 (m, 3H), 4.18 – 3.96 (m, 4H), 3.93 – 3.71 (m, 1H), 3.54 – 3.42 (m, 2H), 2.34 – 2.24 (m, 2H), 2.16 – 2.01 (m, 1H), 1.70 – 1.51 (m, 4H), 1.44 – 1.36 (m, 3H), 1.36 – 1.26 (m, 3H), 1.06 – 0.89 (m, 6H)。分析型HPLC RT=6.64 min（儀器：Shimadzu LC20AD；柱：HALO C18（4.6 mm ID x 100 mm）；流動相A：水（0.05% TFA），流動相B：MeCN（0.05% TFA）；流速：1.5 mL/min；溫度：40°C；梯度：10% B（t=0.01 min）、70% B（t=10 min）、95% B（t=12至14 min）；波長：254 nm）

*33. **LP34**的合成*

【0816】 **LP34**的合成如下所示：



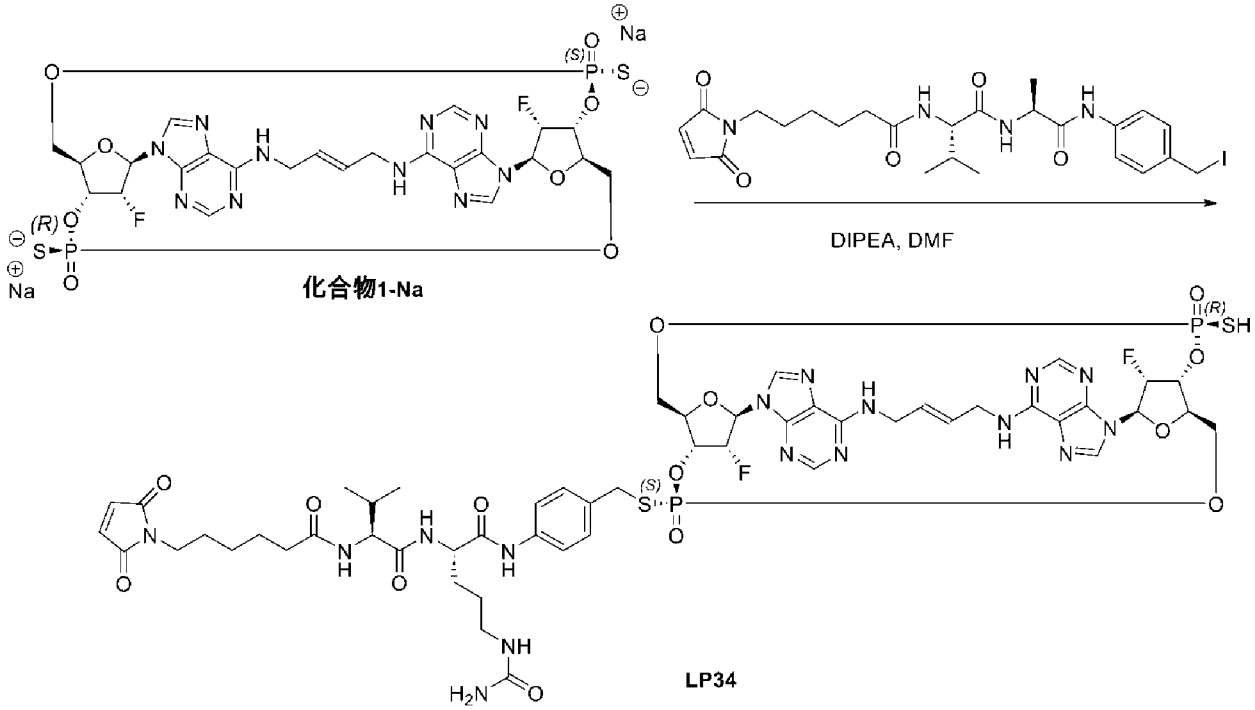
6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)-N-((S)-1-(((S)-1-((4-(碘甲基)苯基)胺基)-1-側氧基-5-脲基戊烷-2-基)胺基)-3-甲基-1-側氧基丁烷-2-基)己醯胺的合成



【0817】在室溫，向6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)-N-((S)-1-(((S)-1-((4-(羥基甲基)苯基)胺基)-1-側氧基-5-脲基戊烷-2-基)胺基)-3-甲基-1-側氧基丁烷-2-基)己醯胺（55 mg，0.096 mmol）在DMF（0.5 mL）中的溶液中添加甲基三苯氧基碘化鏻（90 mg，0.199 mmol）。將所得混合物在室溫避光攪拌過夜。添加額外的甲基三苯氧基碘化鏻（30 mg）。4 h後，將反應混合物用20 mL EtOAc稀釋並用$Na_2S_2O_3$的飽和溶液（10 mL）洗滌。將水層用EtOAc（10 mL）萃取。將合併的有機層用30% NaCl水溶液（5 mL）洗滌並經Na_2SO_4乾燥、過濾並真空濃縮。將所得固體進一步真空乾燥並且無需進一步純化即可用於下一步驟。LC-MS (ESI): 683.20 $[M+H]^+$。

N-((S)-1-(((S)-1-((4-((((19S,22R,23R,23Ar,25S,27Ar,29R,210R,210Ar,212R,214Ar,39S,E)-23,210-二氟-212-巰基-25,212-二氧化物-23,23^a,27^a,29,210,210^a,214,214^a-八氫-19H,22H,27H,39H-4,9-二氮雜-1,3(9,6)-二噁吟雜-2(2,9)-二呋喃并[3,2-d:3',2'-j][1,3,7,9]四氧雜[2,8]二磷雜環十二烷環九蕃（diphosphacyclododecinacyclononaphan）-6-烯-25-基)硫代)甲基)苯基)胺基)-

1-側氧基-5-脲基戊烷-2-基)胺基)-3-甲基-1-側氧基丁烷-2-基)-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)己醯胺（LP34）的合成

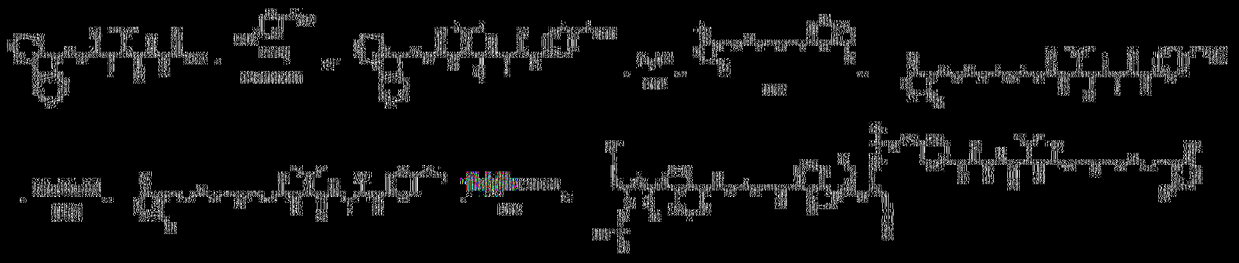


【0818】將(19S,22R,23R,23Ar,25R,27Ar,29R,210R,210Ar,212S,214Ar,39S,E)-23,210-二氟-25,212-二巯基-23,23a,27a,29,210,210a,214,214a-八氫-19H,22H,27H,39H-4,9-二氮雜-1,3(9,6)-二嘌呤雜-2(2,9)-二呋喃并[3,2-d:3',2'-j][1,3,7,9]四氧雜[2,8]二磷雜環十二烷環九蕃-6-烯 25,212-二氧化物, 二鈉鹽（50 mg，0.063 mmol）和6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)-N-((S)-1-(((S)-1-((4-(碘甲基)苯基)胺基)-1-側氧基-5-脲基戊烷-2-基)胺基)-3-甲基-1-側氧基丁烷-2-基)己醯胺（65.6 mg，0.053 mmol）在DMF（2.5 ml）中的溶液在室溫避光攪拌過夜。將所得溶液藉由製備型HPLC純化，這產生10.4 mg目標產物**LP34**。

【0819】LC-MS (ESI): 1301.38 $[M+H]^+$。

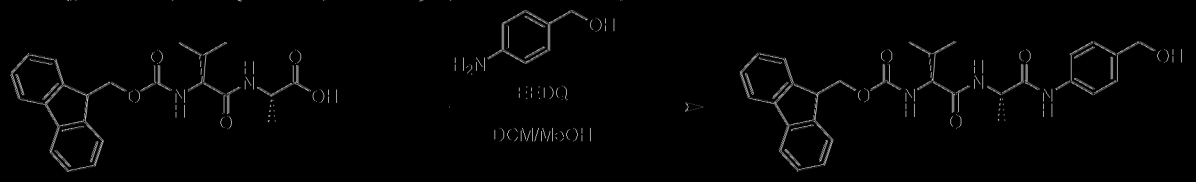
*34.　**LP35**的合成*

【0820】**LP35**的合成如下所示：



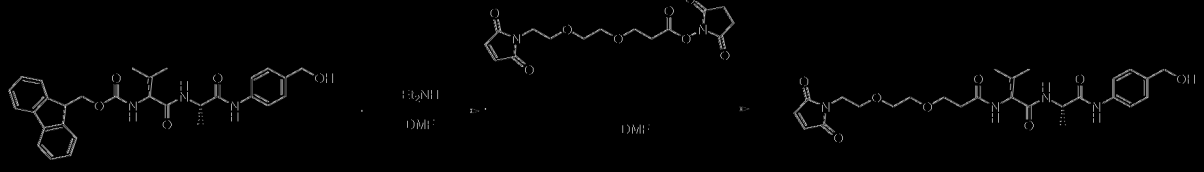
。

N-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸(9*H*-茀-9-基)甲基酯的合成



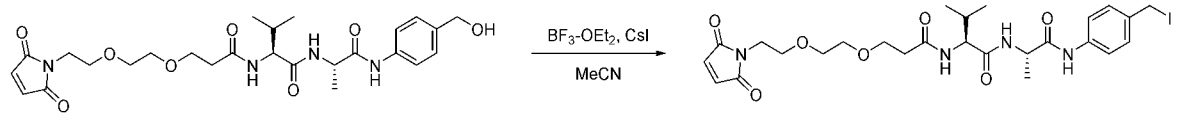
[0821] 在黑暗下向(2*S*)-2-[(2*S*)-2-({[(9*H*-茀-9-基)甲氧基]羰基}胺基)-3-甲基丁醯胺基]丙酸（5.53 g，13.472 mmol）在DCM（150 ml）和MeOH（20 ml）中的溶液中分批添加4-胺基苄醇（1.991 g，16.167 mmol）和1-乙氧基羰基-2-乙氧基-1,2-二氫喹啉（6.66 g，26.945 mmol）。將混合物在室溫攪拌16小時。收集沈澱物並將它用DCM/MeOH（200 mL，9/1）和MTBE（100 mL）洗滌，以給出*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸(9*H*-茀-9-基)甲基酯（4.57 g）。^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-*d6*) δ ppm 0.87 (br d, *J* 6.78 Hz, 3 H) 0.90 (br d, *J* 6.78 Hz, 3 H) 1.31 (d, *J* 7.03 Hz, 3 H) 1.94 - 2.06 (m, 1 H) 3.92 (br t, *J* 7.97 Hz, 1 H) 4.17 - 4.35 (m, 3 H) 4.44 (br d, *J* 5.52 Hz, 3 H) 5.11 (t, *J* 5.65 Hz, 1 H) 7.24 (d, *J* 8.41 Hz, 2 H) 7.29 - 7.37 (m, 2 H) 7.38 - 7.49 (m, 3 H) 7.54 (d, *J* 8.28 Hz, 2 H) 7.75 (br t, *J* 7.15 Hz, 2 H) 7.90 (d, *J* 7.40 Hz, 2 H) 8.18 (br d, *J* 7.03 Hz, 1 H), 9.93 (s, 1 H)

(2*S*)-2-(3-{2-[2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)乙氧基]乙氧基}丙醯胺基)-*N*-[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺的合成



【0822】 向((*S*)-1-(((*S*)-1-((4-(羥基甲基)苯基)胺基)-1-側氧基丙烷-2-基)胺基)-3-甲基-1-側氧基丁烷-2-基)胺基甲酸(9*H*-芴-9-基)甲基酯（382 mg，0.741 mmol）在DMF（10 ml）中的溶液中添加二乙胺（0.369 ml，3.528 mmol）。將反應混合物在室溫攪拌1小時。將溶劑在減壓下除去。將所獲得的殘餘物溶解於DMF（10 ml）中並添加3-{2-[2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)乙氧基]乙氧基}丙酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（250 mg，0.706 mmol）。將反應在室溫攪拌16小時。將溶劑真空除去，並將所獲得的殘餘物藉由矽膠層析法純化，以給出(2*S*)-2-(3-{2-[2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)乙氧基]乙氧基}丙醯胺基)-*N*-[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺（117 mg）。^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6) δ ppm 0.84 (br d, *J*=6.78 Hz, 3 H) 0.88 (br d, *J*=6.78 Hz, 3 H) 1.31 (d, *J*=7.15 Hz, 3 H) 1.90 – 2.02 (m, 1 H) 2.32 - 2.48 (m, 2 H) 3.40 - 3.60 (m, 10 H) 4.21 (dd, *J*=8.34, 6.96 Hz, 1 H) 4.36 - 4.45 (m, 3 H) 5.10 (t, *J*=5.71 Hz, 1 H) 7.03 (s, 2 H) 7.24 (d, *J*=8.41 Hz, 2 H) 7.54 (d, *J*=8.53 Hz, 2 H) 7.87 (br d, *J*=8.66 Hz, 1 H) 8.16 (br d, *J*=7.03 Hz, 1 H) 9.84 (s, 1 H)。

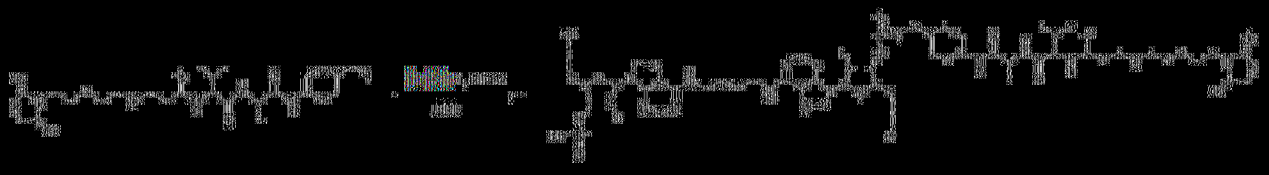
(2*S*)-2-(3-{2-[2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)乙氧基]乙氧基}丙醯胺基)-*N*-[(1*S*)-1-{[4-(碘甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺的合成



【0823】 在室溫，向(*S*)-2-(3-(2-(2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)乙氧基)乙氧基)丙醯胺基)-*N*-((*S*)-1-((4-(羥基甲基)苯基)胺基)-1-側氧基丙烷-2-基)-3-甲基丁醯胺（70 mg，0.131 mmol）在乙腈（2 ml，38.292 mmol）中的溶液中添加三氟化硼乙醚錯合物（0.021 ml，0.171 mmol），然後是碘化銫（41.0 mg，0.158 mmol）。將混合物在室溫攪拌16小時。將反應混合物用DCM（50 mL）稀釋，並將有機層用H_2O（10 mL）和飽和水性$NaHCO_3$（10 mL）洗滌。

將合併的水層利用DCM（15 ml x 2）萃取。然後將合併的有機層利用5%水性$NaHSO_3$洗滌並經Na_2SO_4乾燥。濾出固體並將溶劑在減壓下除去。所獲得的粗製材料（66.4 mg）無需進一步純化即可用於下一步驟。

(2*S*)-*N*-[(1*S*)-1-{[4-({[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-39-氨硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十-5,7,9,11,15,19,21,23,25-十烯-34-基]氨硫基}甲基)苯基]胺基}甲醯基)乙基]-2-(3-{2-[2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)乙氧基]乙氧基}丙醯胺基)-3-甲基丁醯胺（CLP35）的合成

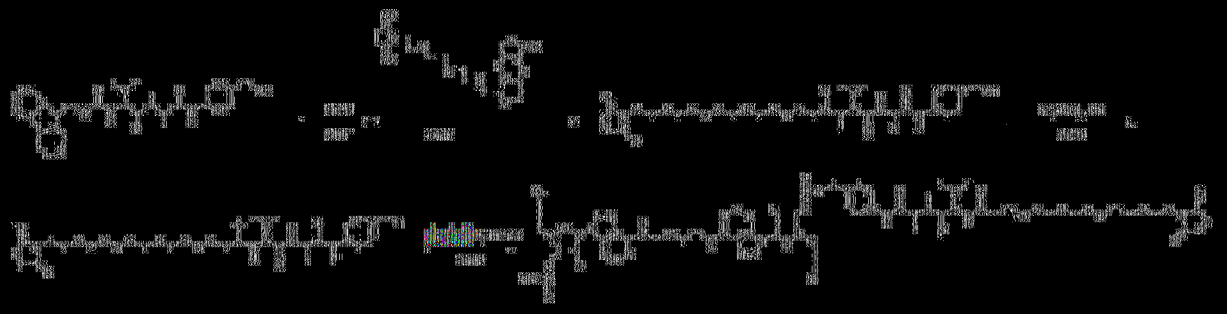


[0824] 在0°C，向化合物1（70 mg，0.094 mmol）和DIPEA（0.066 ml，0.375 mmol）在DMF（2 ml）中的懸浮液中添加DMF（2 ml）中的粗製(*S*)-2-(3-(2-(2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)乙氧基)乙氧基)丙醯胺基)-*N*-((*S*)-1-((4-(羥甲基)苯基)胺基)-1-側氧基丙烷-2-基)-3-甲基丁醯胺（60.2 mg）。使反應混合物加溫至室溫並攪拌16小時。將溶劑在減壓下除去，並將所獲得的粗製材料藉由反相HPLC純化，以給出(2*S*)-*N*-[(1*S*)-1-{[4-({[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-39-氨硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十-5,7,9,11,15,19,21,23,25-十烯-34-基]氨硫基}甲基)苯基]胺基}甲醯基)乙基]-2-(3-{2-[2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)乙氧基]乙氧基}丙醯胺基)-3-甲基丁醯胺（CLP35）（14.6 mg）。

[0825] ESI [M+H]+ 1261.03。

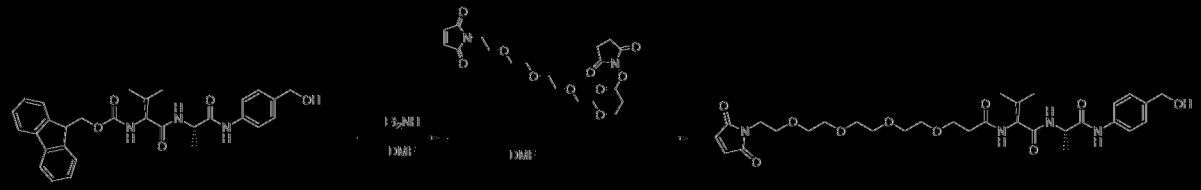
35. *LP36的合成*

[0826] LP36的合成如下所示：



。

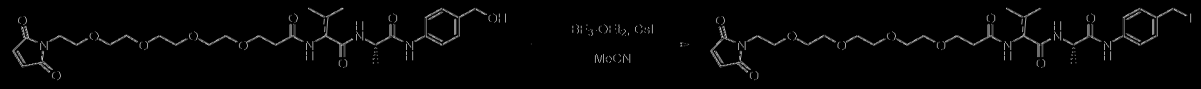
1-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-((1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥甲基)苯基]胺甲醯基}乙基]胺甲醯基}-2-甲基丙基)-3,6,9,12-四氧雜十七烷-15-醯胺的合成



[0827] 向((*S*)-1-(((*S*)-1-((4-(羥甲基)苯基)胺基)-1-側氧基丙烷-2-基)胺基)-3-甲基-1-側氧基丁烷-2-基)胺甲酸(9*H*-第-9-基)甲基酯（306 mg，0.593 mmol）在DMF（10 ml）中的溶液中添加二乙胺（0.295 ml，2.825 mmol）。將反應混合物在室溫攪拌1小時，然後將溶劑在減壓下除去。將所獲得的殘餘物溶解於DMF（10 ml）中並添加1-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-3,6,9,12-四氧雜十七烷-15-酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（250 mg，0.565 mmol）並將反應混合物在室溫攪拌16小時。將溶劑在減壓下除去，並將所獲得的殘餘物藉由矽膠層析法純化，以給出產物（223 mg）。^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-*d6*) δ ppm 0.84 (br d, *J* 6.78 Hz, 3 H) 0.88 (br d, *J* 6.65 Hz, 3 H) 1.31 (br d, *J* 7.03 Hz, 3 H) 1.91 - 2.03 (m, 1 H) 2.33 - 2.48 (m, 2 H) 3.42 - 3.62 (m, 18 H) 4.21 (br dd, *J* 8.47, 6.84 Hz, 1 H) 4.35 - 4.46 (m, 3 H) 5.10 (t, *J* 5.65 Hz, 1 H) 7.03 (s, 2

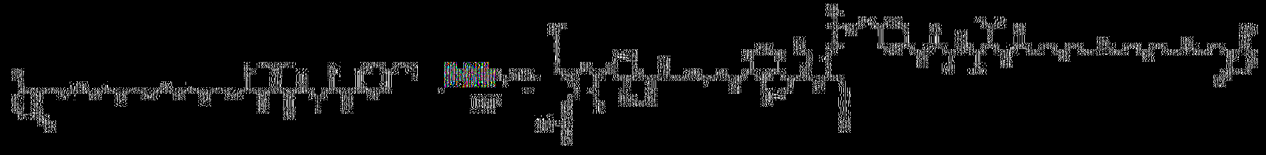
H) 7.24 (d, *J* 8.41 Hz, 2 H) 7.54 (d, *J* 8.41 Hz, 2 H) 7.89 (br d, *J* 8.53 Hz, 1 H) 8.16 (br d, *J* 6.90 Hz, 1 H) 9.84 (s, 1 H)。

1-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(碘甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-3,6,9,12-四氧雜十七烷-15-醯胺的合成



[0828] 在室溫，向1-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(溴甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-3,6,9,12-四氧雜十七烷-15-醯胺（80 mg，0.129 mmol）在乙腈（2 ml）中的溶液中添加三氟化硼乙醚錯合物（0.021 ml，0.168 mmol），然後添加碘化鈉（40.2 mg，0.155 mmol）（分批）。將反應混合物在室溫攪拌16小時、然後用DCM（50 mL）稀釋。將有機層用H_2O（10 mL）和飽和水性$NaHCO_3$（10 mL）洗滌，並將合併的水層用DCM（15 ml x 2）萃取。將合併的有機層用5%水性$NaHSO_3$洗滌並經Na_2SO_4乾燥。用抽濾器除去固體並將溶劑在減壓下除去。粗製材料無需進一步純化即可用於下一步驟。

N-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-({[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-39-氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-34-基]氫硫基}甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-1-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-3,6,9,12-四氧雜十七烷-15-醯胺（LP36）的合成

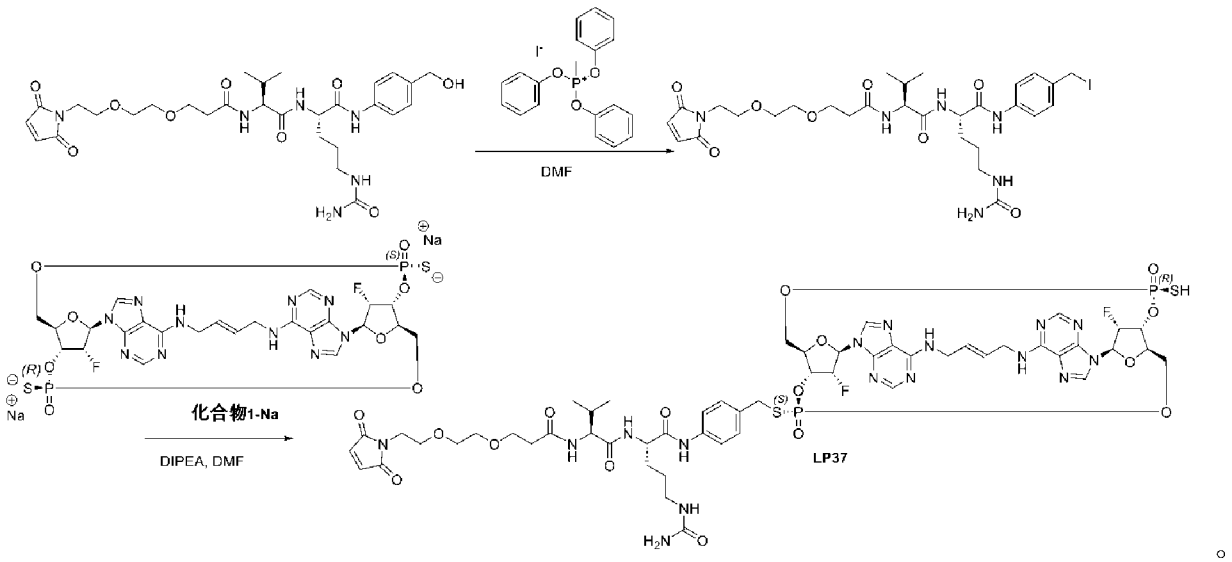


【0829】 在0ºC，向化合物1（70 mg，0.094 mmol）和DIPEA（0.066 ml，0.375 mmol）在DMF（2 ml）中的溶液中添加DMF（2 ml）中的1-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(碘甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-3,6,9,12-四氧雜十五烷-15-醯胺（68.5 mg，0.075 mmol）。使反應混合物加溫至室溫並攪拌16小時。將溶劑在減壓下除去，並將所獲得的粗製材料藉由反相HPLC純化，以給出**LP36**（14.0 mg）。

【0830】 ESI $[M+H]^+$: 1349.18。

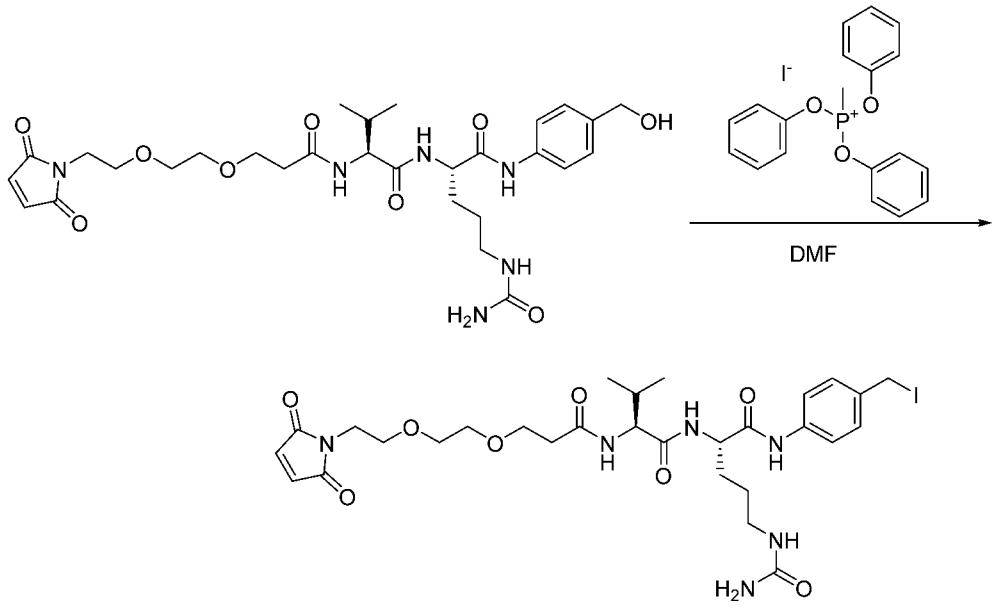
*36.　**LP37**的合成*

【0831】 **LP37**的合成如下所示：



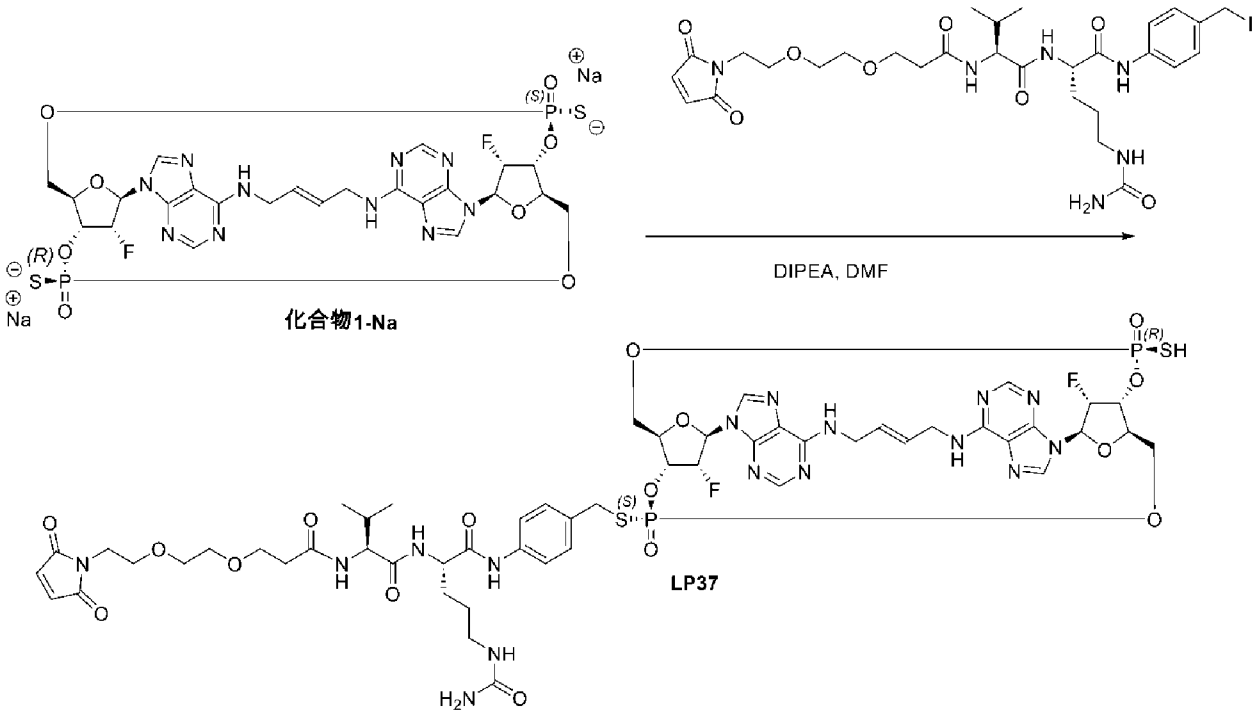
。

(S)-2-((S)-2-(3-(2-(2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)乙氧基)乙氧基)丙醯胺基)-3-甲基丁醯胺基)-N-(4-(碘甲基)苯基)-5-脲基戊醯胺的合成



【0832】在室溫，向(S)-2-((S)-2-(3-(2-(2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)乙氧基)乙氧基)丙醯胺基)-3-甲基丁醯胺基)-N-(4-(羥基甲基)苯基)-5-脲基戊醯胺（50 mg，0.081 mmol）在DMF（1 mL）中的溶液中添加甲基三苯氧基碘化鏻（110 mg，0.242 mmol）。將所得混合物在室溫避光攪拌5 h。將反應混合物用20 mL EtOAc稀釋並用$Na_2S_2O_3$的飽和溶液（5 mL）洗滌。將水層用EtOAc（10 mL）萃取。將合併的有機層用30% NaCl水溶液（5 mL）洗滌、經Na_2SO_4乾燥、過濾並真空濃縮。將所得固體進一步真空乾燥並且無需進一步純化即可用於下一步驟。LC-MS (ESI): 729.32 $[M+H]^+$。

(S)-N-(4-((((19S,22R,23R,23aR,25S,27aR,29R,210R,210aR,212R,214aR,39S,E)-23,210-二氟-212-巯基-25,212-二氧化物-23,23a,27a,29,210,210a,214,214a-八氫-19H,22H,27H,39H-4,9-二氮雜-1,3(9,6)-二嘌呤雜-2(2,9)-二呋喃并[3,2-d:3',2'-j][1,3,7,9]四氧雜[2,8]二磷雜環十二烷環九蕃-6-烯-25-基)硫代)甲基)苯基)-2-((S)-2-(3-(2-(2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)乙氧基)乙氧基)丙醯胺基)-3-甲基丁醯胺基)-5-脲基戊醯胺（LP37）的合成

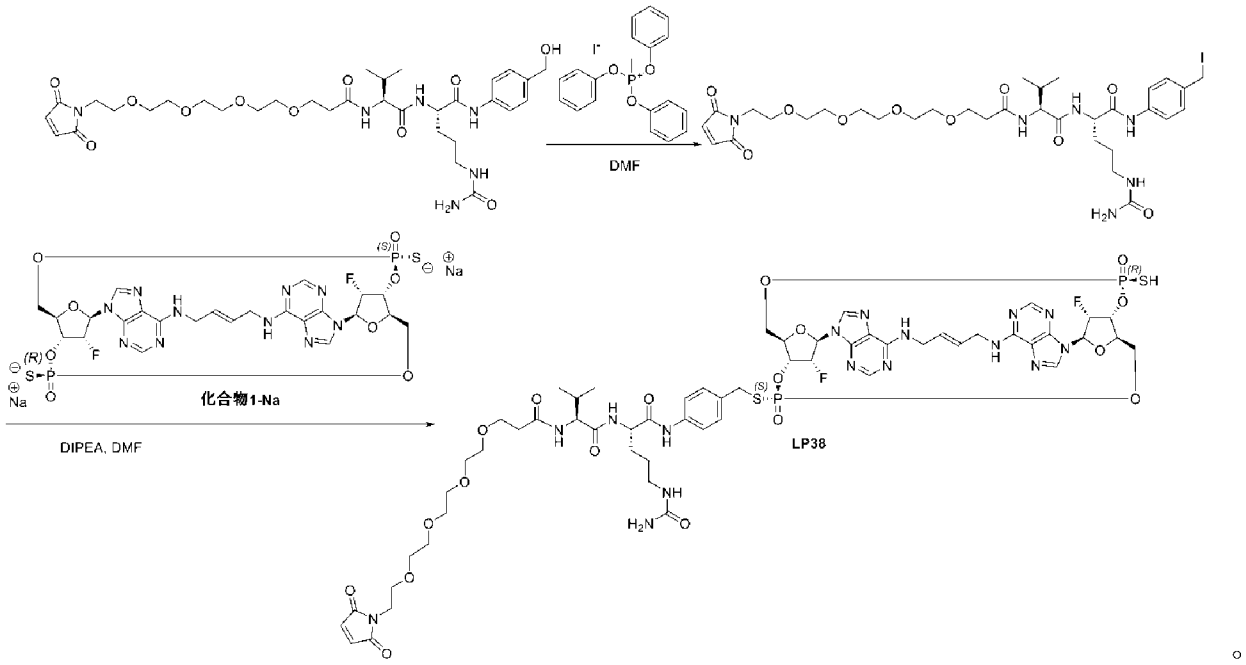


【0833】將(19S,22R,23R,23aR,25R,27aR,29R,210R,210aR,212S,214aR,39S,E)-23,210-二氟-25,212-二巯基-23,23a,27a,29,210,210a,214,214a-八氫-19H,22H,27H,39H-4,9-二氮雜-1,3(9,6)-二嘌呤雜-2(2,9)-二呋喃并[3,2-d:3',2'-j][1,3,7,9]四氧雜[2,8]二磷雜環十二烷環九蕃-6-烯 25,212-二氧化物, 二鈉鹽（70 mg，0.088 mmol）和(S)-2-((S)-2-(3-(2-(2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)乙氧基)乙氧基)丙醯胺基)-3-甲基丁醯胺基)-N-(4-(碘甲基)苯基)-5-脲基戊醯胺（57.2 mg，0.071 mmol）在DMF（2.5 ml）中的溶液在室溫避光攪拌30 min。將所得溶液保持在-20ºC過週末、加溫至室溫並用40 mL EtoAc處理。將所得固體藉由過濾收集、用EtOAc沖洗並真空乾燥。將所得固體藉由製備型HPLC進一步純化，這產生8.7 mg目標產物**LP37**。

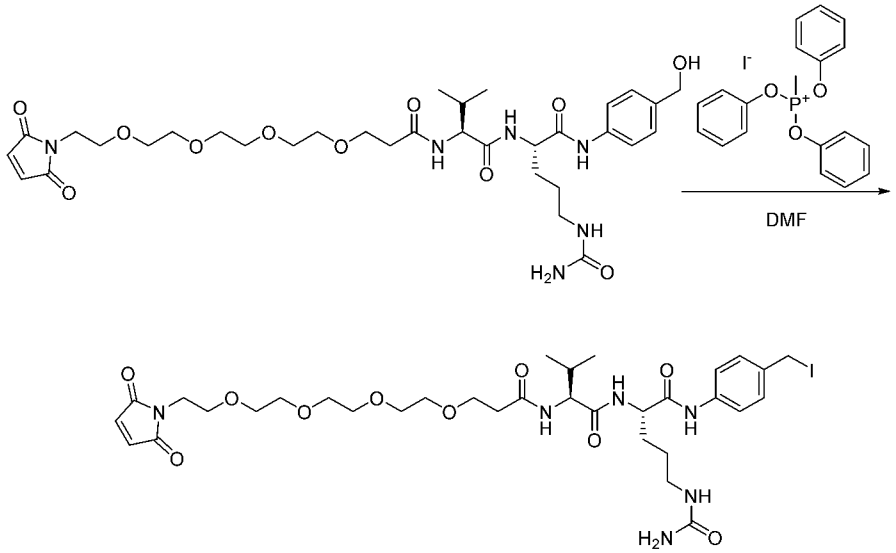
【0834】LC-MS (ESI): 1347.28 $[M+H]^+$。

37. ***LP38****的合成*

【0835】**LP38**的合成如下所示：



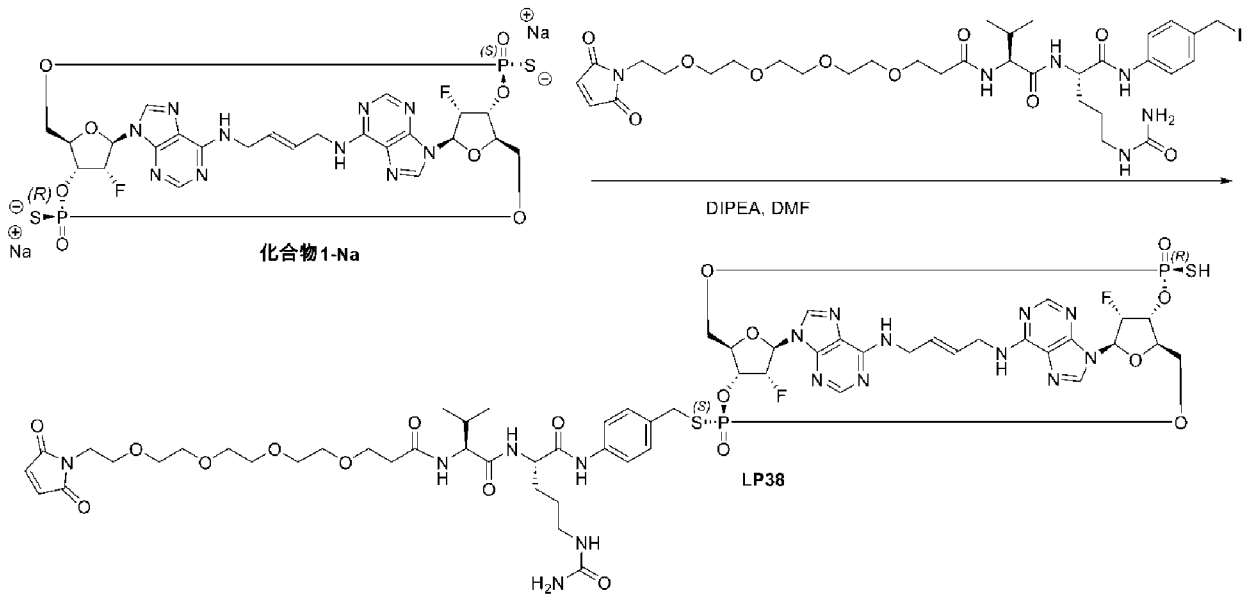
1-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)-N-((S)-1-(((S)-1-((4-(碘甲基)苯基)胺基)-1-側氧基-5-脲基戊烷-2-基)胺基)-3-甲基-1-側氧基丁烷-2-基)-3,6,9,12-四氧雜十五烷-15-醯胺的合成



【0836】在室溫，向1-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)-N-((S)-1-(((S)-1-((4-(羥基甲基)苯基)胺基)-1-側氧基-5-脲基戊烷-2-基)胺基)-3-甲基-1-側氧基丁烷-2-基)-3,6,9,12-四氧雜十五烷-15-醯胺（70 mg，0.099 mmol）在DMF（1 mL）中的溶液中添加甲基三苯氧基碘化鏻（134 mg，0.297 mmol）。將所得混合物在室溫避光攪拌過夜。將反應混合物用15 mL DCM稀釋並用$Na_2S_2O_3$的飽

和溶液（5 mL）洗滌。將水層用DCM（10 mL）萃取。將合併的有機層用30% NaCl水溶液（5 mL）洗滌、經Na_2SO_4乾燥、過濾並真空濃縮。將所得固體進一步真空乾燥並且無需進一步純化即可用於下一步驟。LC-MS (ESI): 817.22 $[M+H]^+$。

N-((S)-1-(((S)-1-((4-((((19S,22R,23R,23aR,25S,27aR,29R,210R,210aR,212R,214aR,39S,E)-23,210-二氟-212-巯基-25,212-二氧化物-23,23a,27a,29,210,210a,214,214a-八氫-19H,22H,27H,39H-4,9-二氮雜-1,3(9,6)-二嘌呤雜-2(2,9)-二呋喃并[3,2-d:3',2'-j][1,3,7,9]四氧雜[2,8]二磷雜環十二烷環九蕃-6-烯-25-基)硫代)甲基)苯基)胺基)-1-側氧基-5-脲基戊烷-2-基)胺基)-3-甲基-1-側氧基丁烷-2-基)-1-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)-3,6,9,12-四氧雜十五烷-15-醯胺（LP38）的合成



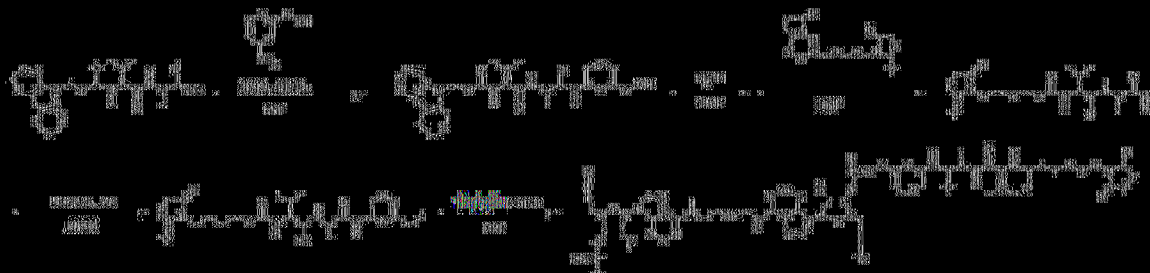
【0837】將(19S,22R,23R,23aR,25R,27aR,29R,210R,210aR,212S,214aR,39S,E)-23,210-二氟-25,212-二巯基-23,23a,27a,29,210,210a,214,214a-八氫-19H,22H,27H,39H-4,9-二氮雜-1,3(9,6)-二嘌呤雜-2(2,9)-二呋喃并[3,2-d:3',2'-j][1,3,7,9]四氧雜[2,8]二磷雜環十二烷環九蕃-6-烯 25,212-二氧化物, 二鈉鹽（80 mg，0.101 mmol）和1-(2,5-二

側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)-N-((S)-1-(((S)-1-((4-(羥甲基)苯基)胺基)-1-側氧基-5-脲基戊烷-2-基)胺基)-3-甲基-1-側氧基丁烷-2-基)-3,6,9,12-四氧雜十七烷-15-醯胺（82 mg，0.10 mmol）在DMF（2.5 ml）中的溶液在室溫避光攪拌1 h。將所得溶液用30 mL EtOAc處理。將所得固體藉由過濾收集、用EtOAc沖洗並在真空中乾燥。將所得固體藉由製備型HPLC進一步純化，這產生13.5 mg[1]標題物LP38。

[0838] LC-MS (ESI): 1435.32 [M+H]+。

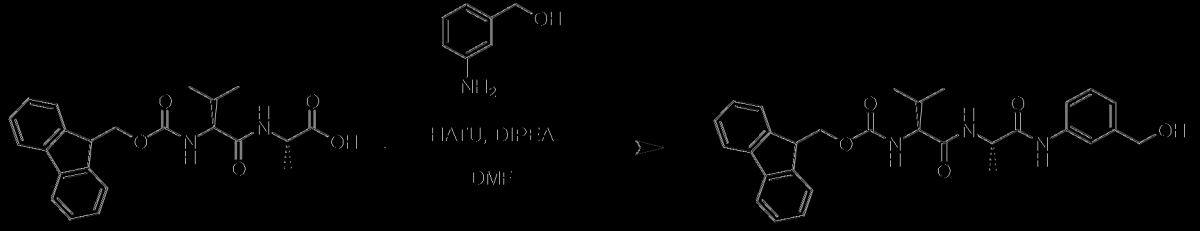
38. LP39的合成

[0839] LP39的合成如下所示：



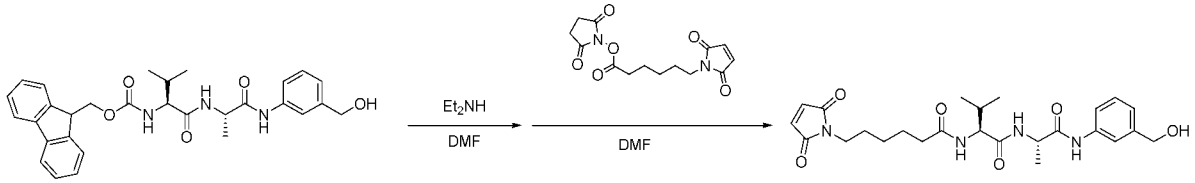
。

N-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[3-(羥甲基)苯基]胺甲醯基}乙基]胺甲醯基}-2-甲基丙基]胺甲酸(9*H*-第-9-基)甲基酯的合成



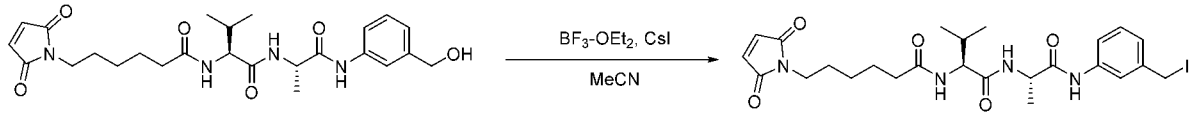
[0840] 向Fmoc-Val-Ala-OH（400 mg，0.974 mmol）和(3-胺基苯基)甲醇（180 mg，1.462 mmol）在DMF（10 mL）中的溶液中添加DIPEA（0.851 mL，4.872 mmol）和HATU（741 mg，1.949 mmol）。將反應混合物在室溫攪拌2小時，然後在減壓下除去過量的DMF。向所獲得的殘餘物中添加水（50 mL）以給出沈澱物。收集沈澱物並將它用H_2O和IMTBE洗滌，以給出呈淡棕色固體的產物（318 mg）。

6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1- {[(1*S*)-1-{[3- (羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺的合成



【0841】 向((*S*)-1-(((*S*)-1-((3-(羥基甲基)苯基)胺基)-1-側氧基丙烷-2-基)胺基)-3-甲基-1-側氧基丁烷-2-基)胺基甲酸(9*H*-芴-9-基)甲基酯（299 mg，0.579 mmol）在DMF（6 ml）中的溶液中添加二乙胺（0.288 ml，2.757 mmol）。將反應混合物在室溫攪拌1小時，然後將溶劑在減壓下除去。將所獲得的殘餘物溶解於DMF（6 ml）中並添加6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（170 mg，0.551 mmol）且在室溫攪拌2小時。將溶劑在減壓下除去，並將所獲得的殘餘物藉由反相矽膠層析法（H_2O/MeCN/HCOOH = 95/5/0.1至50/50/0.1）純化，以給出產物（85.1 mg）。

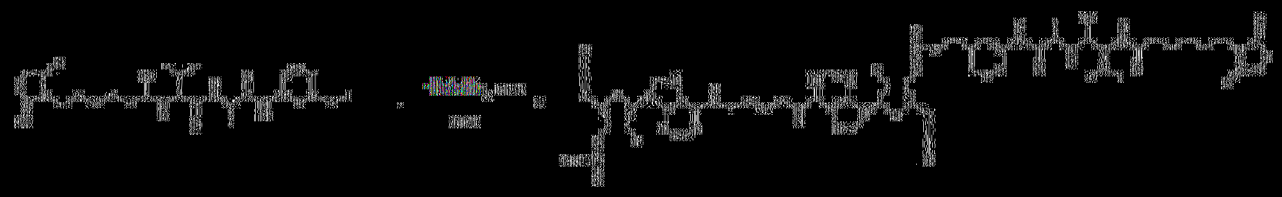
6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[3-(碘甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺的合成



【0842】 在室溫，向6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-((*S*)-1-(((*S*)-1-((3-(羥基甲基)苯基)胺基)-1-側氧基丙烷-2-基)胺基)-3-甲基-1-側氧基丁烷-2-基)己醯胺（86.1 mg，0.177 mmol）在乙腈（2 ml）中的溶液中添加三氟化硼乙醚錯合物（0.028 ml，0.23 mmol），然後是碘化銫（55.2 mg，0.212 mmol）。將混合物在室溫攪拌16小時，然後用DCM（50 mL）稀釋。將有機層用H_2O（10 mL）和飽和水性$NaHCO_3$（10 mL）洗滌。將合併的水層用DCM（15 ml x 2）萃取，並且將合併的有機層用5%水性$NaHSO_3$洗滌並經Na_2SO_4乾

燥。用過濾器除去固體並將溶劑在減壓下除去。所獲得的粗製材料無需進一步純化即可用於下一步驟。

N-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[3-({[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-39-氧硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十-5,7,9,11,15,19,21,23,25-九烯-34-基]氧基)苯基]胺基}甲基)苯基]胺基}-2-甲基內基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺（LP39）的合成



[0843] 在0°C，向化合物1（50 mg，0.067 mmol）和DIPEA（0.047 ml，.268 mmol）在DMF（2 ml，25.829 mmol）中的懸浮液中添加DMF（2 ml）中的6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[3-(偶甲基)苯基]胺基}甲基)苯基]胺基}-2-甲基內基]己醯胺（53.3 mg，0.054 mmol）。使反應混合物加溫至室溫並攪拌16小時。將溶劑在減壓下除去，並將所獲得的粗製材料藉由反相HPLC純化，以給出LP39（6.5 mg）。

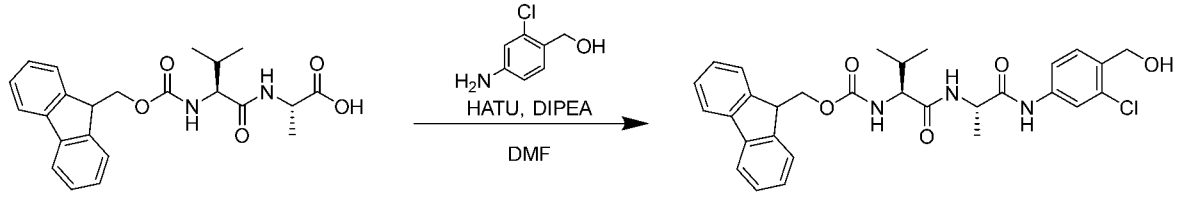
[0844] LC-MS (ESI): 1214.93 [M+H]+。

39. LP40的合成

[0845] LP40的合成如下所示：

。

_N_-[(1_S_)-1-{[(1_S_)-1-{[3-氯-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸(9_H_-茀-9-基)甲基酯的合成



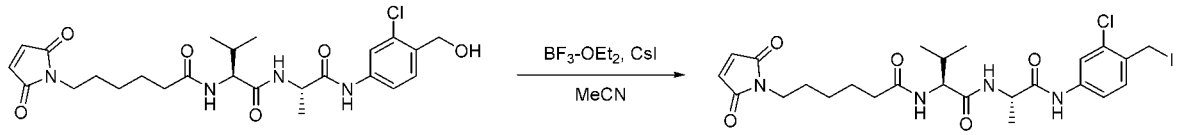
【0846】 向(2_S_)-2-[(2_S_)-2-({[(9_H_-茀-9-基)甲氧基]羰基}胺基)-3-甲基丁醯胺基]丙酸（600 mg，1.462 mmol）和(4-胺基-2-氯苯基)甲醇（346 mg，2.193 mmol）在DMF中的溶液中添加DIPEA（1277 µl，7.309 mmol），然後是HATU（1112 mg，2.923 mmol）。將反應在室溫攪拌2小時，然後在減壓下除去DMF。將水（50 mL）添加至殘餘物中並收集出現的沈澱物。將沈澱物藉由矽膠層析法（己烷/EtOAc = 50/50至0/100）純化，以給出產物（197 mg）。^{1}H NMR (400 MHz, 甲醇-_d_4) δ ppm 0.87 – 1.11 (m, 6 H) 1.11 – 1.35 (m, 3 H) 1.45 (dd, _J_=7.15, 1.88 Hz, 2 H) 1.95 – 2.14 (m, 1 H) 3.10 -3.31 (m, 1 H) 3.34 – 3.38 (m, 1 H) 3.80 (br d, _J_=8.53 Hz, 1 H) 3.96 (br d, _J_=6.90 Hz, 1 H) 4.07 – 4.31 (m, 1 H) 4.34 – 4.57 (m, 3 H) 4.61 (s, 1 H) 4.66 (s, 1 H) 7.25 – 7.50 (m, 5 H) 7.53 – 7.73 (m, 3 H) 7.76 – 7.82 (m, 2 H)。

_N_-[(1_S_)-1-{[(1_S_)-1-{[3-氯-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1_H_-吡咯-1-基)己醯胺的合成

【0847】 向((_S_)-1-(((_S_)-1-((3-氯-4-(羥基甲基)苯基)胺基)-1-側氧基丙烷-2-基)胺基)-3-甲基-1-側氧基丁烷-2-基)胺基甲酸(9_H_-茀-9-基)甲基酯（196 mg，0.357 mmol）在DMF（5 ml）中的溶液中添加二乙胺（0.169 ml，1.622 mmol）。將反應混合物在室溫攪拌1小時，然後將溶劑在減壓下除去。將所獲

得的殘餘物溶解於DMF（5 ml）中並添加6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（100 mg，0.324 mmol）且在室溫攪拌2小時。將溶劑在減壓下除去，並將所獲得的殘餘物藉由反相矽膠層析法（H_2O/MeCN/HCOOH = 95/5/0.1至50/50/0.1）純化，以給出粗製產物。將粗製產物懸浮於DCM/MeOH（9/1）中，並且收集並乾燥沈澱物，以給出呈白色固體的產物（97.0 mg）。1H NMR (400 MHz, 甲醇-*d*4) δ ppm 0.92 – 1.14 (m, 6 H) 1.14 – 1.36 (m, 4 H) 1.42 – 1.69 (m, 7 H) 2.07 (br d, *J*=16.06 Hz, 1 H) 2.22 – 2.34 (m, 2 H) 2.83 – 2.89 (m, 1 H) 3.01 (s, 1 H) 3.34 – 3.53 (m, 2 H) 3.96 (br d, *J*=8.41 Hz, 1 H) 4.18 (br s, 1 H) 4.43 – 4.58 (m, 1 H) 4.66 (s, 2 H) 6.78 (s, 1 H) 6.79 – 6.82 (m, 1 H) 7.40 – 7.51 (m, 1 H) 7.64 – 7.71 (m, 1 H) 7.79 (s, 1 H) 7.87 (s, 1 H) 8.00 (s, 1 H)。

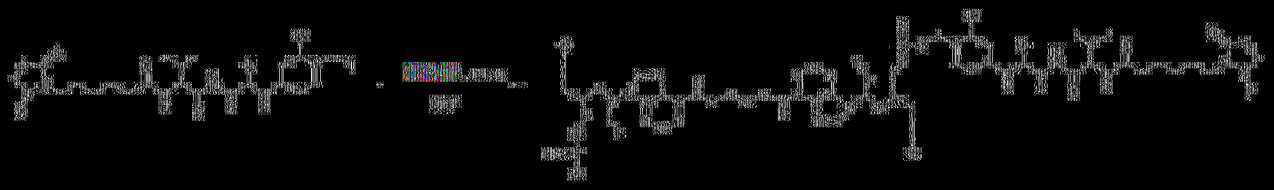
_N_-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[3-氯-4-(碘甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)己醯胺的合成



【0848】在室溫，向*N*-((*S*)-1-(((*S*)-1-((3-氯-4-(羥基甲基)苯基)胺基)-1-側氧基丙烷-2-基)胺基)-3-甲基-1-側氧基丁烷-2-基)-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺（93.4 mg，0.179 mmol）在乙腈（2 ml）中的溶液中添加三氟化硼乙醚錯合物（0.029 ml，0.233 mmol），然後是碘化銫（55.9 mg，0.215 mmol）。將混合物在室溫攪拌16小時，然後用DCM（50 mL）稀釋。將有機層用H_2O（10 mL）和飽和水性$NaHCO_3$（10 mL）洗滌。將合併的水層用DCM（15 ml x 2）萃取，並且將合併的有機層用5%水性$NaHSO_3$洗滌並經Na_2SO_4乾燥。用過濾器除去固體並將溶劑在減壓下除去。所獲得的粗製材料無需進一步

純化即可用於下一步驟（80.4 mg，藉由UPLC上的UV測得純度為58%）。LC-MS (ESI): 631.6 [M+H]+。

N-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[3-氯-4-({[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氯-34,39-二側氧基-39-氧硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十-4,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-34-基]氧硫基}甲基)苯基]胺基}甲醯基)乙基]胺基}甲醯基)-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺（LP40）的合成

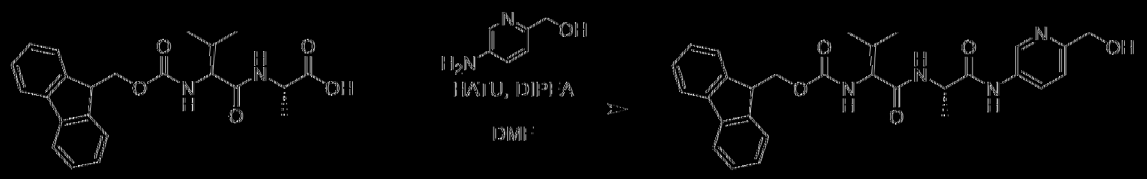


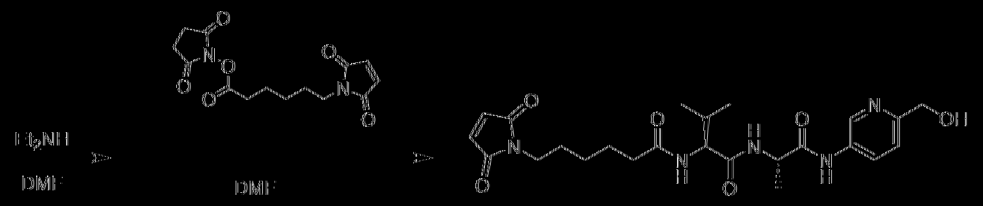
[0849] 在0°C，向化合物1（70 mg，0.094 mmol）和DIPEA（0.047 ml，.268 mmol）在DMF（2 ml）中的懸浮液中添加DMF（2 ml）中的*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[3-氯-4-(肼甲基)苯基]胺基}甲醯基)乙基]胺基}甲醯基)-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺（79.0 mg，58%純度，0.0726 mmol）。使反應混合物加溫至室溫並攪拌16小時。將溶劑在減壓下除去，並將所獲得的粗製材料藉由反相HPLC純化，以給出LP40（9.7 mg）。

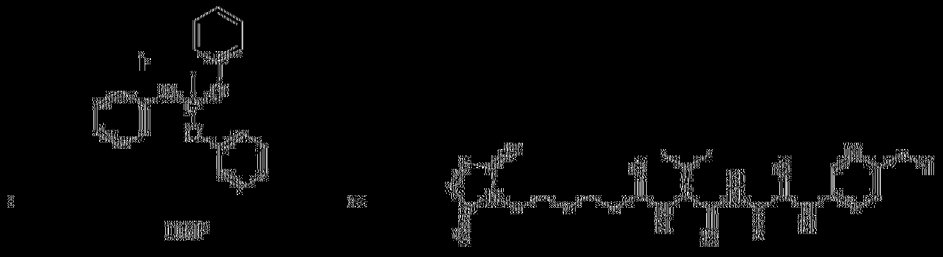
[0850] LC-MS (ESI): 1249.01 [M+H]+。

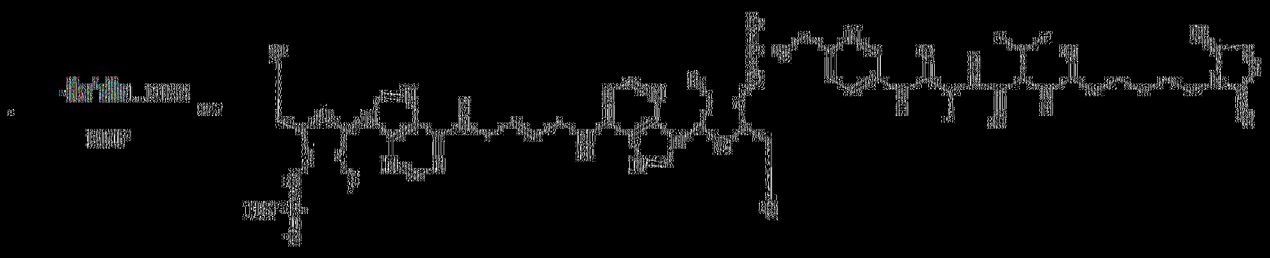
40. LP41的合成

[0851] LP41的合成如下所示：

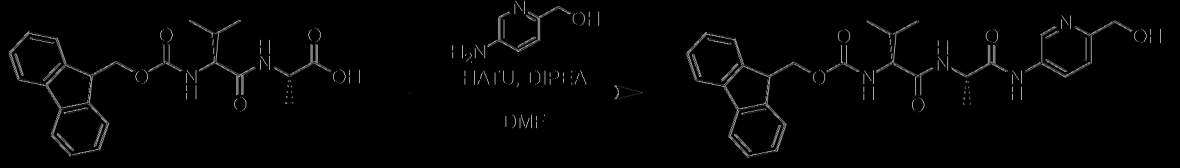








N-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[6-(羥基甲基)吡啶-3-基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸(9*H*-第-9-基)甲基酯的合成

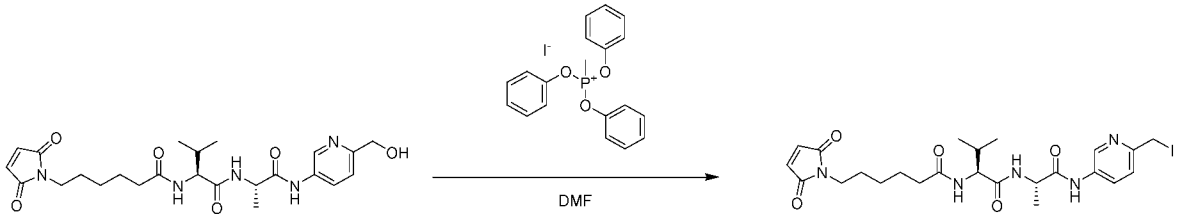


[0852] 向(2*S*)-2-[(2*S*)-2-({[(9*H*-第-9-基)甲氧基甲醯基]胺基)-3-甲基丁醯胺基]丙酸（840 mg，2.046 mmol）和(5-胺基吡啶-2-基)甲醇（381 mg，3.07 mmol）在DMF（15 ml）中的溶液中添加DIPEA（1.787 ml，10.232 mmol），然後添加HATU（1556 mg，4.093 mmol）（分批）。將反應在室溫攪拌2小時並在減壓下除去DMF。向所獲得的殘餘物中添加水（50 mL）並收集得到的沈澱物。將沈澱物用H_2O和MTBE洗滌，以給出呈淡棕色固體的產物（1.15 g）。

6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[6-(羥基甲基)吡啶-3-基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺的合成

【0853】 向((*S*)-1-(((*S*)-1-((6-(羥基甲基)吡啶-3-基)胺基)-1-側氧基丙烷-2-基)胺基)-3-甲基-1-側氧基丁烷-2-基)胺基甲酸(9*H*-芴-9-基)甲基酯（1117 mg，1.946 mmol）在DMF（20 ml）中的溶液中添加二乙胺（0.847 ml，8.109 mmol）。將反應混合物在室溫攪拌1小時，然後將溶劑在減壓下除去。將所獲得的殘餘物溶解於DMF（20 ml）中並添加6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（500 mg，1.622 mmol）且在室溫攪拌2小時。將溶劑在減壓下除去，並將所獲得的殘餘物藉由反相層析法（H_2O/MeCN/HCOOH = 95/5/0.1至50/50/0.1）純化，以給出產物。產物含有雜質，因此將材料懸浮於DCM/MeOH（9/1）中，並且收集並乾燥沈澱物，以給出白色固體（110 mg）。

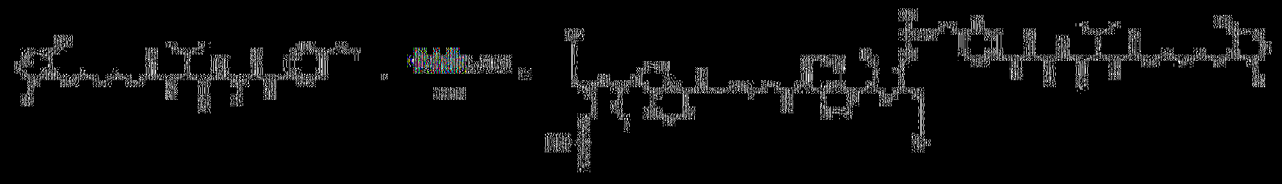
6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[6-(碘甲基)吡啶-3-基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺的合成



【0854】 在室溫，向6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-((*S*)-1-(((*S*)-1-((6-(羥基甲基)吡啶-3-基)胺基)-1-側氧基丙烷-2-基)胺基)-3-甲基-1-側氧基丁烷-2-基)己醯胺（71 mg，0.146 mmol）在DMF（2 ml）中的溶液中分批添加甲基三苯氧基碘化鏻（198 mg，0.437 mmol）。將反應攪拌2小時，然後將混合物用EtOAc（50 mL）稀釋，然後將反應藉由添加10%水性NaS_2O_3（20 mL）淬

減。分離各相，並將水層用EtOAc（20 mL）萃取一次。將合併的有機層用H2O和鹽水（每次20 mL）洗滌、然後經Na2SO4乾燥。用過濾器除去固體並將溶劑在減壓下除去，以給出所需產物。產物無需進一步純化即可用於下一步驟（253 mg，35%純度）。

N-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[6-({[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氧-34,39-二側氧基-39-氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-34-基]氫硫基}甲基)吡啶-3-基]胺基}甲醯基)乙基]胺基}甲醯基)-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺（LP41）的合成

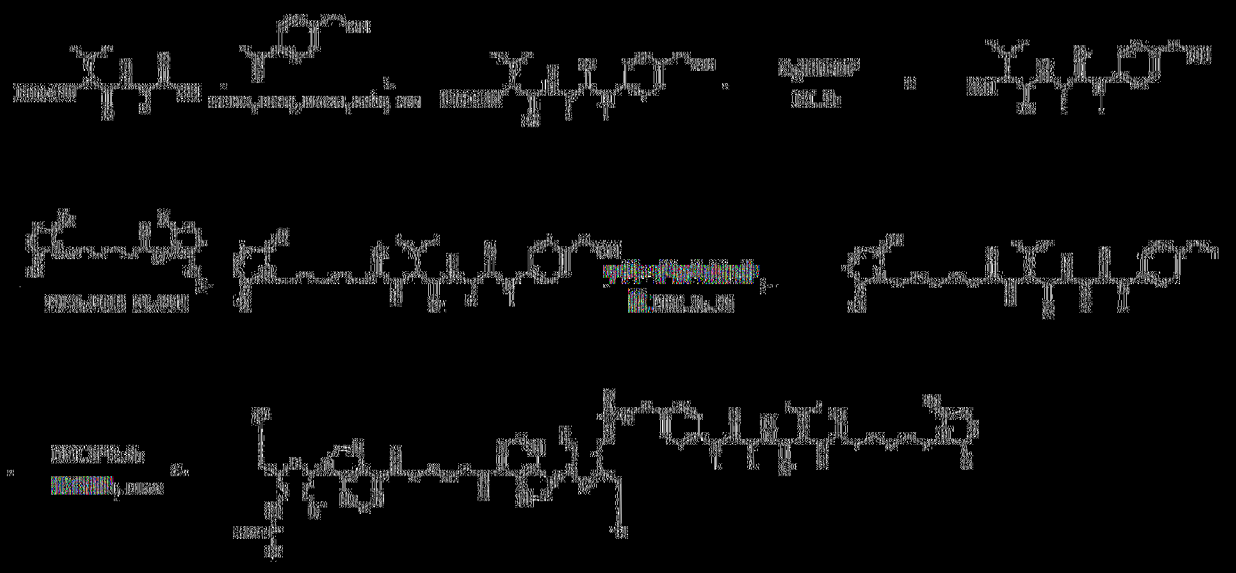


[0855] 在0°C，向化合物1（80 mg，0.107 mmol）和DIPEA（0.094 ml，0.536 mmol）在DMF（3 ml）中的溶液中添加DMF（3 ml）中的6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[6-(碘甲基)吡啶-3-基]胺基}甲醯基)乙基]胺基}甲醯基)-2-甲基丙基]己醯胺（146 mg，35%純度，0.086 mmol）。使反應混合物加溫至室溫並攪拌16小時。將溶劑在減壓下除去，並將所獲得的材料藉由反相HPLC純化，以給出LP41（3.5 mg）。

[0856] LC-MS (ESI): 1216.14 [M+H]+。

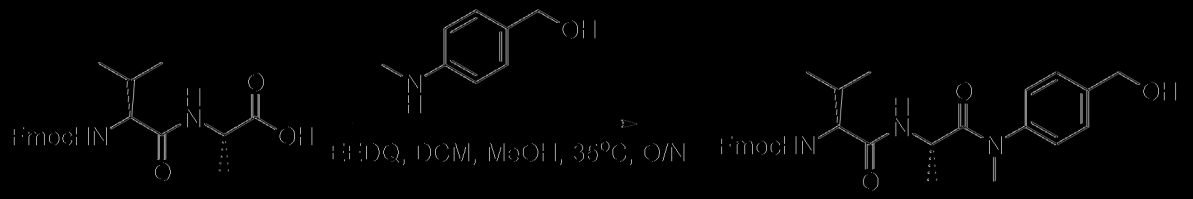
41. LP42的合成

[0857] LP42的合成如下所示：



。

N-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)苯基](甲基)胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸(9*H*-第9-基)甲基酯的合成

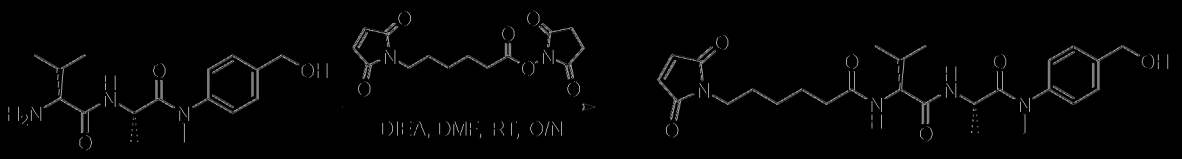


[0858] 在25°C，將2-乙氧基-1,2-二氫喹啉-1-甲酸乙基酯（1.20 g，4.872 mmol）添加至(2*S*)-2-[(2*S*)-2-{[(9*H*-第9-基甲氧基)羰基]胺基}-3-甲基丁醯胺基]丙酸（1 g，2.436 mmol）和[4-(甲基胺基)苯基]甲醇（0.33 g，2.436 mmol）在DCM（18 mL）和MeOH（3 mL）中的攪拌混合物中。將所得混合物在35°C攪拌14小時。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠層析法（用PE/EtOAc（1:9）洗脫）純化，以得到呈白色固體的*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)苯基](甲基)胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸(9*H*-第9-基)甲基酯（600 mg）。LC-MS (ESI): 530.3 [M+H]+。

(2*S*)-2-胺基-*N*-[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)苯基](甲基)胺基甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺的合成

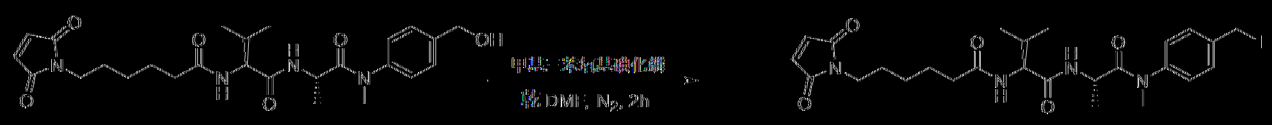
[0859] 在25°C，將二乙胺（414.27 mg，5.665 mmol）添加至*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(溴甲基)苯基](甲基)胺基甲醯基}乙基](甲基)胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸(9*H*-第-9-基)甲基酯（600 mg，1.133 mmol）在DMF（5 mL）中的攪拌混合物中。將所得混合物在25°C攪拌2 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用CH_2Cl_2 / MeOH（4:1）洗脫）純化，以得到呈無色油狀物的(2*S*)-2-胺基-*N*-[(1*S*)-1-{[4-(溴甲基)苯基](甲基)胺基甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺（300 mg）。LC-MS (ESI): 308.2 [M+H]$^+$。

6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(溴甲基)苯基](甲基)胺基甲醯基}乙基](甲基)胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺的合成



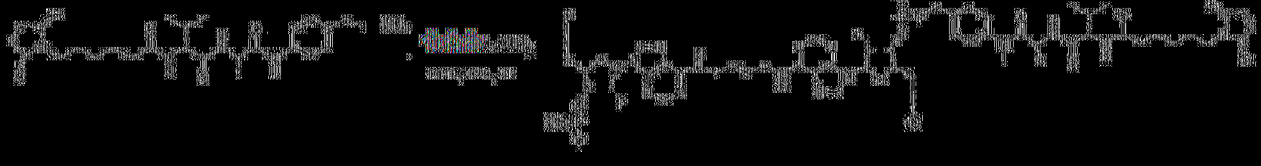
[0860] 在25°C，將DIEA（252.27 mg，1.952 mmol）添加至(2*S*)-2-胺基-*N*-[(1*S*)-1-{[4-(溴甲基)苯基](甲基)胺基甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺（300 mg，0.976 mmol）和6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己酸2,5-二側氧基吡咯烷-1-基酯（270.79 mg，0.878 mmol）在DMF（3 mL）中的攪拌混合物中。將所得混合物在25°C攪拌14 h。將所得混合物用EtOAc稀釋。將殘餘物用水洗滌。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用CH_2Cl_2 / MeOH（13:1）洗脫）純化，以得到呈白色固體的6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(溴甲基)苯基](甲基)胺基甲醯基}乙基](甲基)胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺（400 mg）。LC-MS (ESI): 501.3 [M+H]$^+$。

6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(碘甲基)苯基](甲基)胺基甲醯基}乙基](甲基)胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺的合成



[0861] 在氮氣氣氛下在25°C，將甲基 4-溴苯甲酸酯鹽（352.31 mg，0.780 mmol）添加至6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)-N-[(1S)-1-{[(1S)-1-{[4-(溴甲基)苯基](甲基)胺基}甲醯基}乙基]胺基}甲醯基]-2-甲基戊-1-醯胺（130 mg，0.260 mmol）在DMF（3 mL）中的攪拌混合物中。將所得混合物在氮氣氣氛下在25°C攪拌5小時。將所得混合物用EtOAc稀釋。將殘餘物用冰水洗滌。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由製備型LC（CH_2Cl_2 / IPA 13:1）純化，以得到呈白色固體的6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)-N-[(1S)-1-{[(1S)-1-{[4-(溴甲基)苯基](甲基)胺基}甲醯基}乙基]胺基}甲醯基]-2-甲基戊-1-醯胺（110 mg）。LC-MS (ESI): 611.2 [M+H]+。

N-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-({[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-39-(硫烷基)-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十-1(37),5,7,9,11,15,19,21,23,25-十烯-34-基]硫烷基}甲基)苯基](甲基)胺基}甲醯基]乙基]胺基}甲醯基]-2-甲基戊-1-醯胺（CLP42）的合成



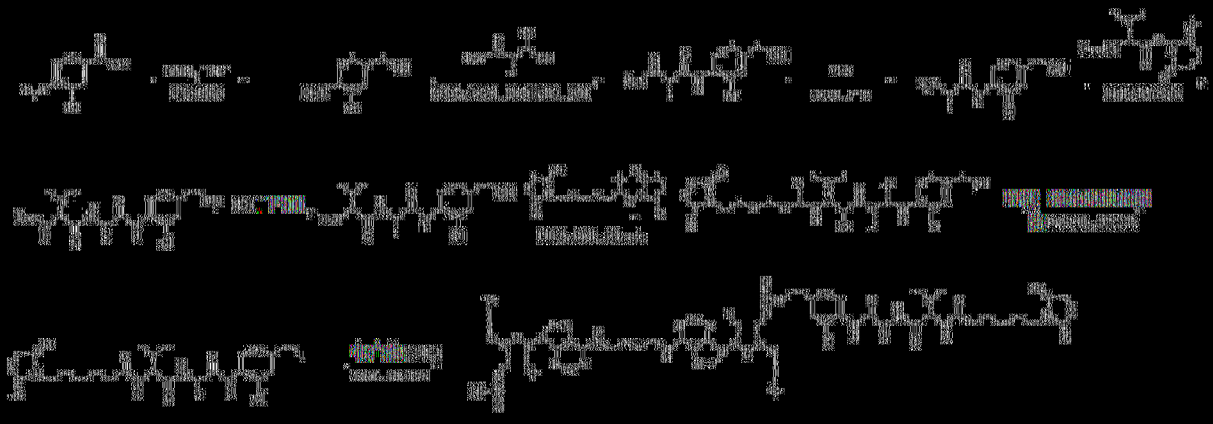
[0862] 在0°C，將6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)-N-[(1S)-1-{[(1S)-1-{[4-(溴甲基)苯基](甲基)胺基}甲醯基}乙基]胺基}甲醯基]-2-甲基戊-1-醯胺（103.03 mg，0.169 mmol）添加至化合物1（70 mg，0.094 mmol）和DIEA在DMF（3 mL）中的攪拌混合物中。將所得混合物在0°C攪拌2小時。將粗製產物藉由製備型HPLC用以下條件純化（柱：XBridge Prep OBD C18柱，19*250 mm，5 μm；流動相A：水（0.1%FA），流動相B：MeCN；流速：25

mL/min；梯度：在12 min內20% B至40% B、在12.2 min內40% B至95% B、在14 min內95% B至95% B、在14.2 min內95% B至20% B、在16 min內20% B至20%B；波長：254 nm；RT1（min）：11），以得到呈白色固體的*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-({[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氯-34,39-二側氧基-39-氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-34-基]硫烷基}甲基)苯基]甲基}胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)己醯胺（CLP42）（13.6 mg）。

[0863] LC-MS (ESI): 1229.70 [M+H]$^+$。

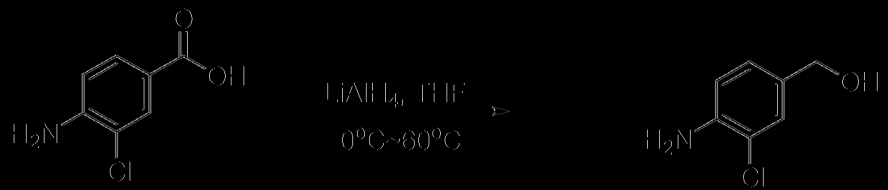
12. CLP43的合成

[0864] CL43的合成如下所示：



。

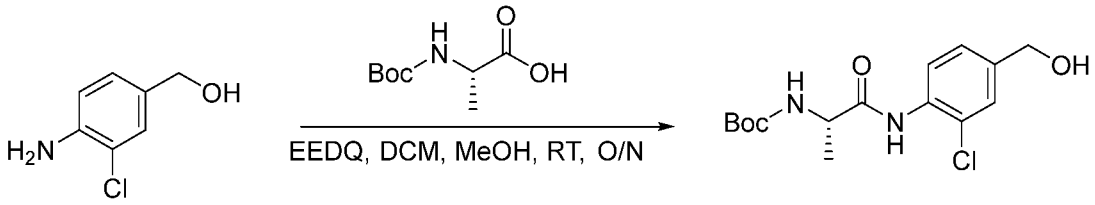
(4-胺基-3-氯苯基)甲醇的合成



[0865] 在0°C，將$LiAlH_4$（3.32 g，87.423 mmol）添加至4-胺基-3-氯苯甲酸（5 g，29.141 mmol）在THF（100 mL）中的攪拌溶液中。將所得混合物在氮氣氣氛下在60°C攪拌14 h。將反應在0°C用MeOH淬滅。將所得混合物在減

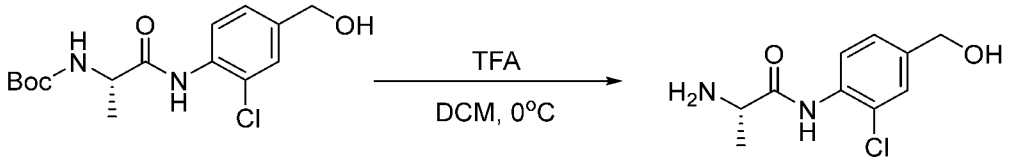
壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用PE / EtOAc（3:1）洗脫）純化，以得到呈黃色固體的(4-胺基-3-氯苯基)甲醇（1.6 g）。LC-MS (ESI): 158.03$[M+H]^+$。

_N_-[(1_S_)-1-{[2-氯-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲酸_三級丁基_酯的合成



【0866】將EEDQ（7.53 g，30.456 mmol）和(2_S_)-2-[(_三級丁氧基_羰基)胺基]丙酸（2.88 g，15.228 mmol）添加至(4-胺基-3-氯苯基)甲醇（2.4 g，15.228 mmol）在DCM（12 mL）和MeOH（2 mL）中的攪拌混合物中。將所得混合物在25ºC攪拌14 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用PE / EtOAc（2:1）洗脫）純化，以得到呈白色固體的_N_-[(1_S_)-1-{[2-氯-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲酸_三級丁基_酯（3.7 g）。LC-MS (ESI): 329.12$[M+H]^+$。

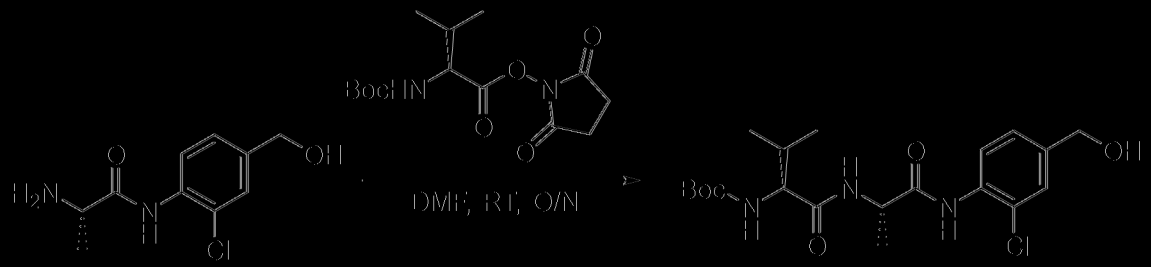
(2_S_)-2-胺基-_N_-[2-氯-4-(羥基甲基)苯基]丙醯胺的合成



【0867】在0ºC，將TFA（10.00 mL）添加至_N_-[(1_S_)-1-{[2-氯-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲酸_三級丁基_酯（3.7 g，11.253 mmol）在DCM（10 mL）中的攪拌混合物中。將所得混合物在25ºC攪拌2 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用CH_2Cl_2 / MeOH（6:1）洗脫）純

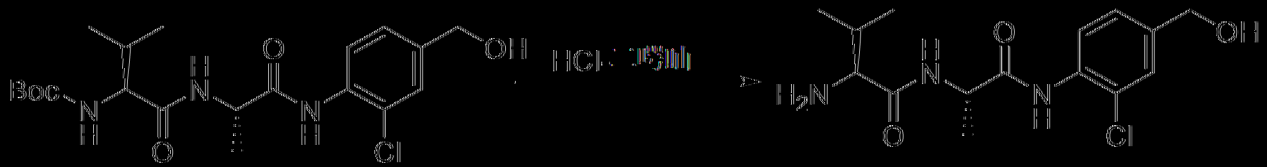
化，以得到呈白色固體的(2*S*) 2-胺基-*N*-[2-氯-4-(羥基甲基)苯基]戊醯胺（2.5 g）。LC-MS (ESI): 229.0 [M+H]+。

N-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[2-氯-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸三級丁酯的合成



[0868] 將DIEA（2.49 g，19.240 mmol）和(2*S*)-2-[(三級丁氧基羰基)胺基]-3-甲基丁酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（3.02 g，9.620 mmol）添加至(2*S*)-2-胺基-*N*-[2-氯-4-(羥基甲基)苯基]戊醯胺（2.2 g，9.620 mmol）在DMF（6 mL）中的攪拌混合物中。將所得混合物在25°C攪拌14 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用PE / EtOAc（1:1）洗脫）純化，以得到呈白色固體的*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[2-氯-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸三級丁酯（2 g）。LC-MS (ESI): 428.19 [M+H]+。

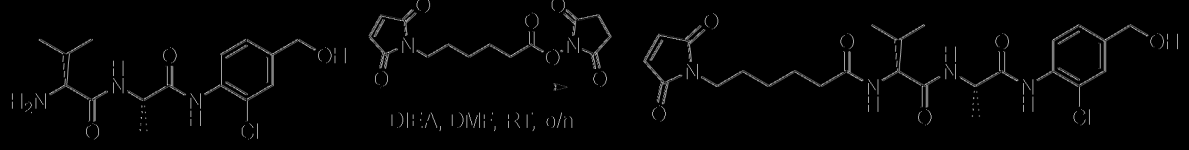
(2*S*)-2-胺基-*N*-[(1*S*)-1-{[2-氯-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺的合成



[0869] 在0°C，將*N*-[(1*S*)-1-{[2-氯-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲酸三級丁酯（2 g，6.083 mmol）添加至HCl（氣體）在1,4-二噁烷（10 mL，329.119 mmol）中的攪拌混合物中。將所得混合物在25°C攪拌2 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用CH_2Cl_2 / MeOH

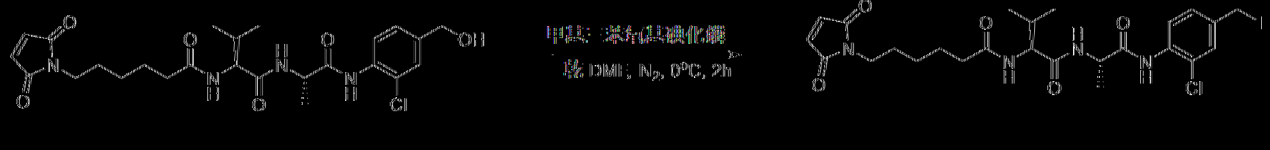
（3:1）洗脫）純化，以得到呈白色固體的(2*S*) 2-胺基-*N*-[(1*S*)-1-{[2-氯-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺（1.3 g）。LC-MS (ESI): 328.14 [M+H]+。

N-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[2-氯-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)己醯胺的合成



[08'0] 將DIEA（1.18 g，9.152 mmol）和6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（1.41 g，4.576 mmol）添加至(2*S*)-2-胺基-*N*-[(1*S*)-1-{[2-氯-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺（1.5 g，4.576 mmol）在DMF（5 mL）中的攪拌混合物中。將所得混合物在25°C攪拌2 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由反相快速層析法用以下條件純化：柱：C18；流動相A：水（0.5% FA），流動相B：MeCN；梯度：在30 min內20% B至30% B；220/254 nm。這產生呈白色固體的*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[2-氯-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺（1.2 g）。LC-MS (ESI): 521.21 [M+H]+。

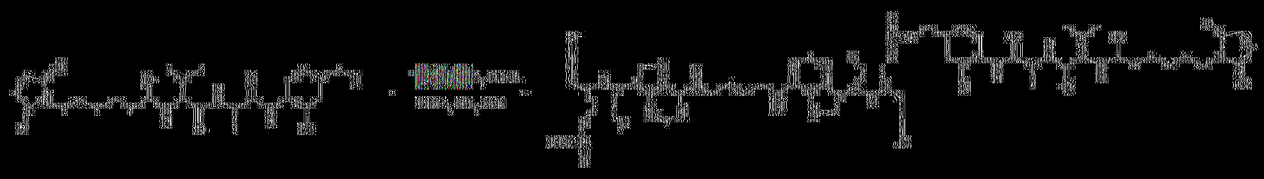
N-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[2-氯-4-(碘甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺的合成



[08'1] 將甲基二苯基膦化銅（520.78 mg，1.152 mmol）添加至*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[2-氯-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺（200 mg，0.384 mmol）在DMF（2 mL）中的攪拌混合物中。將所得混合物在氮氣氣氛下在25°C攪拌2

h。將所得混合物用EtOAc（20 mL）稀釋。將所得混合物用3x10 mL的水洗滌。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用CH_2Cl_2 / IPA（10:1）洗脫）純化，以得到呈白色固體的*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[2-氯-4-(噁唑-2-基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺（140 mg）。LC-MS (ESI): 631.11 [M+H]+。

N-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[2-氯-4-({[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氯-34,39-二側氧基-39-氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-34-基]氫硫基}甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺（CLP43）的合成



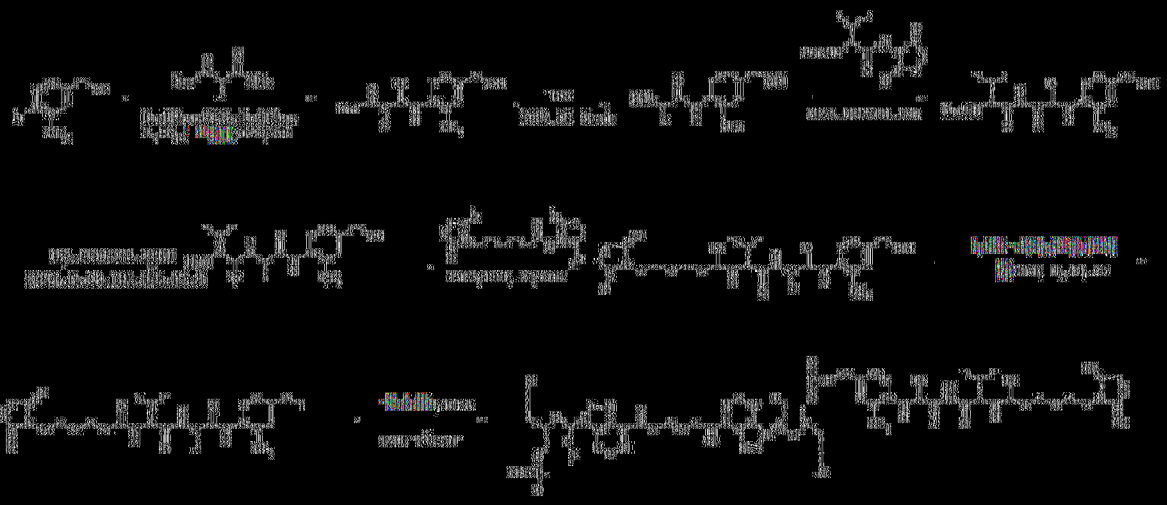
[08'2] 在0°C，將*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[2-氯-4-(噁唑-2-基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺（50.70 mg，0.080 mmol）和DIEA添加至化合物1（20 mg，0.027 mmol）在DMF（1 mL）中的攪拌混合物中。將所得混合物在0°C攪拌3 h。將粗製產物藉由製備型HPLC用以下條件純化（柱：XBridge Prep OBD C18柱，19*250 mm，5 μm；流動相A：MeCN，流動相B：水（0.1% FA）；流速：25 mL/min；梯度：在14 min內20% B至40% B，40% B；波長：254/220 nm；RT1（min）：11.65-12.5；以得到呈白色固體的*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[2-氯-4-({[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氯-34,39-二側氧基-39-

氧硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-[3]氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-34-基]氧基}甲基)苯基]甲醯基}乙基胺基甲醯基)-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)己醯胺（LP43）（7.8 mg）。

[08'3] LC-MS (ESI): 1249.35 [M+H]$^+$。

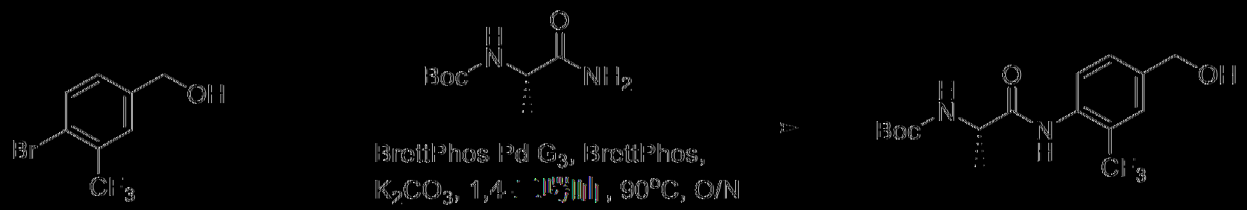
13. LP44的合成

[08'4] LP44的合成如下所示：



。

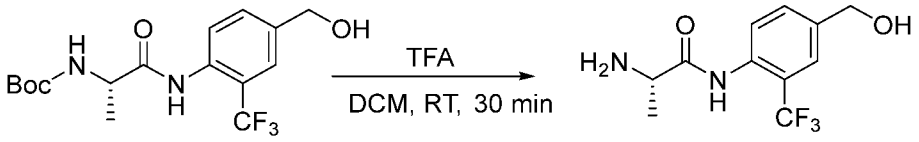
N-[(1*S*)-1-{[4-(溴甲基)-2-(三氟甲基)苯基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸三級丁酯的合成



[08'5] 在氮氣氣氛下在25°C，將BrettPhos（631.41 mg，1.176 mmol）、BrettPhos Pd G$_3$（533.16 mg，0.588 mmol）和K_2CO_3（1.63 g，11.763 mmol）添加至4-溴-3-(三氟甲基)苯甲醇（1.5 g，5.882 mmol）和*N*-[(1*S*)-1-胺基甲醯基-2-甲基丙基]胺基甲酸三級丁酯（2.21 g，11.763 mmol）在1,4-二噁烷（20 mL）中的攪拌混合物中。將所得混合物在氮氣氣氛下在90°C攪拌14 h。將所得

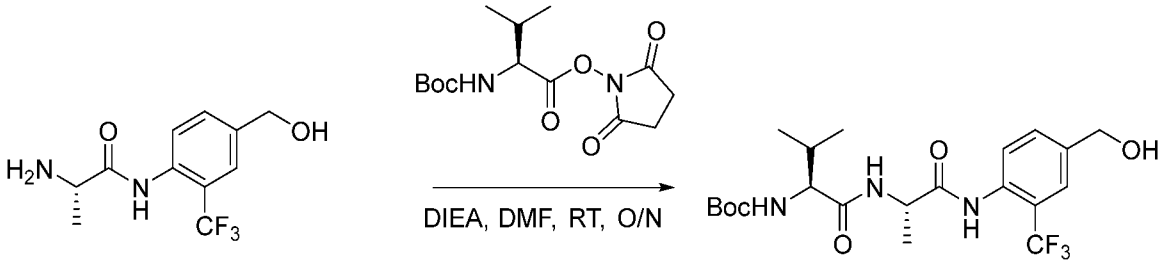
混合物在減壓下濃縮。將所得混合物用EtOAc稀釋。將所得混合物用水洗滌。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用PE / EtOAc（3:1）洗脫）純化，以得到呈白色固體的*N*-[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-2-(三氟甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲酸*三級丁基*酯（930 mg）。LC-MS (ESI): 363.2 $[M+H]^+$。

(2*S*)-2-胺基-*N*-[4-(羥基甲基)-2-(三氟甲基)苯基]丙醯胺的合成



【0876】 在0°C，將TFA（6 mL）添加至*N*-[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-2-(三氟甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲酸*三級丁基*酯（900 mg，2.484 mmol）在DCM（6 mL）中的攪拌混合物中。將所得混合物在25°C攪拌30 min。將所得混合物在減壓下濃縮。在0°C，將K_2CO_3（1.37 g，9.935 mmol）添加至MeOH（3 mL）、THF（3 mL）和H_2O（3 mL）的攪拌混合物中。將所得混合物在25°C攪拌2 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用CH_2Cl_2 / MeOH（5:1）洗脫）純化，以得到呈無色油狀物的(2*S*)-2-胺基-*N*-[4-(羥基甲基)-2-(三氟甲基)苯基]丙醯胺（530 mg）。LC-MS (ESI): 263.1 $[M+H]^+$。

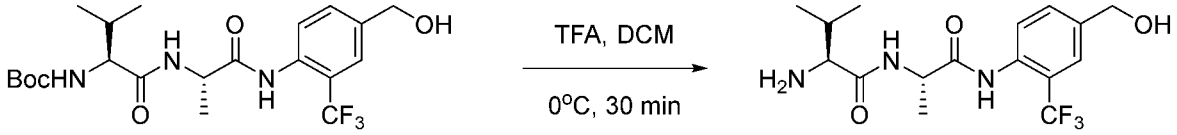
***N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-2-(三氟甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸*三級丁基*酯的合成**



【0877】 在25°C，將DIEA（1.48 g，11.442 mmol）添加至(2*S*)-2-胺基-*N*-[4-(羥基甲基)-2-(三氟甲基)苯基]丙醯胺（500 mg，1.907 mmol）和(2*S*)-2-[(*三級丁氧基*羰基)胺基]-3-甲基丁酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（599.35 mg，1.907 mmol）在DMF（5 mL）中的攪拌混合物中。將所得混合物在25°C攪拌14 h。

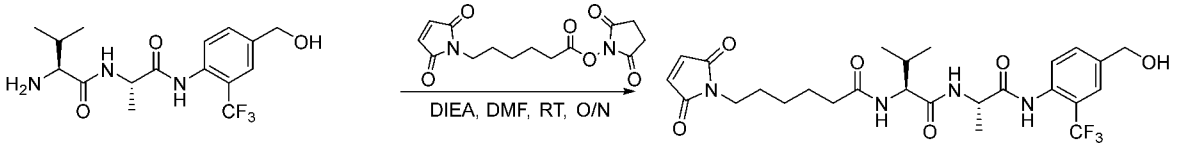
將所得混合物用EtOAc稀釋。將所得混合物用水洗滌。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用PE / EtOAc（1:1）洗脫）純化，以得到呈白色固體的*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-2-(三氟甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸*三級丁基*酯（850 mg）。LC-MS (ESI): 462.2 $[M+H]^+$。

(2*S*)-2-胺基-*N*-[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-2-(三氟甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺的合成



【0878】 在0°C，將TFA（4 mL）添加至*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-2-(三氟甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸*三級丁基*酯（830 mg，1.799 mmol）在DCM（4 mL）中的攪拌混合物中。將所得混合物在25°C攪拌30 min。將所得混合物在減壓下濃縮。然後在0°C，將K_2CO_3（994.28 mg，7.194 mmol）添加至THF（3 mL）、MeOH（3 mL）和H_2O（3 mL）的攪拌混合物中。將所得混合物在25°C攪拌2 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用CH_2Cl_2 / MeOH（5:1）洗脫）純化，以得到呈白色固體的(2*S*)-2-胺基-*N*-[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-2-(三氟甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺（500 mg）。LC-MS (ESI): 362.2 $[M+H]^+$。

6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-2-(三氟甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺的合成



【0879】 在25°C，將DIEA（357.65 mg，2.768 mmol）添加至(2*S*)-2-胺基-*N*-[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-2-(三氟甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺

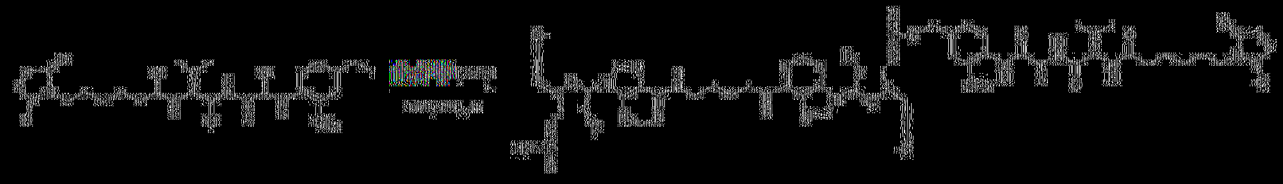
（500 mg，1.384 mmol）和6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己酸2,5-二側氧基吡咯烷-1-基酯（383.91 mg，1.246 mmol）在DMF（5 mL）中的攪拌混合物中。將所得混合物在25°C攪拌14 h。將所得混合物用EtOAc稀釋。將所得混合物用水洗滌。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠相析法（用CH_2Cl_2 / MeOH（11:1）洗脫）純化，以得到呈白色固體的6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(經由以R)-2-(三氟甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺（530 mg）。LC-MS (ESI): 555.2 [M+H]+。

6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(碘甲基)-2-(三氟甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺的合成

[(0880)] 在氮氣氣氛下在0°C，將甲基-*N*-苯氧基碘化鏻（489.76 mg，1.083 mmol）添加至6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(經由以R)-2-(三氟甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺（200 mg，0.361 mmol）在DMF（5 mL）中的攪拌混合物中。將所得混合物在氮氣氣氛下在25°C攪拌2 h。將所得混合物用EtOAc稀釋。將殘餘物用水水洗滌。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠相析法（用CH_2Cl_2 / IPA（30:1）洗脫）純化，以得到呈淡黃色固體的6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(碘甲基)-2-(三氟甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺（180 mg）。LC-MS (ESI): 665.1 [M+H]+。

N-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-({[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-39-氧硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環

[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-十烯-34-基]氨硫基}甲基)-2-(三氟甲基)苯基]胺基}甲醯基)乙基]胺基}甲醯基)-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)己醯胺（CLP44）的合成

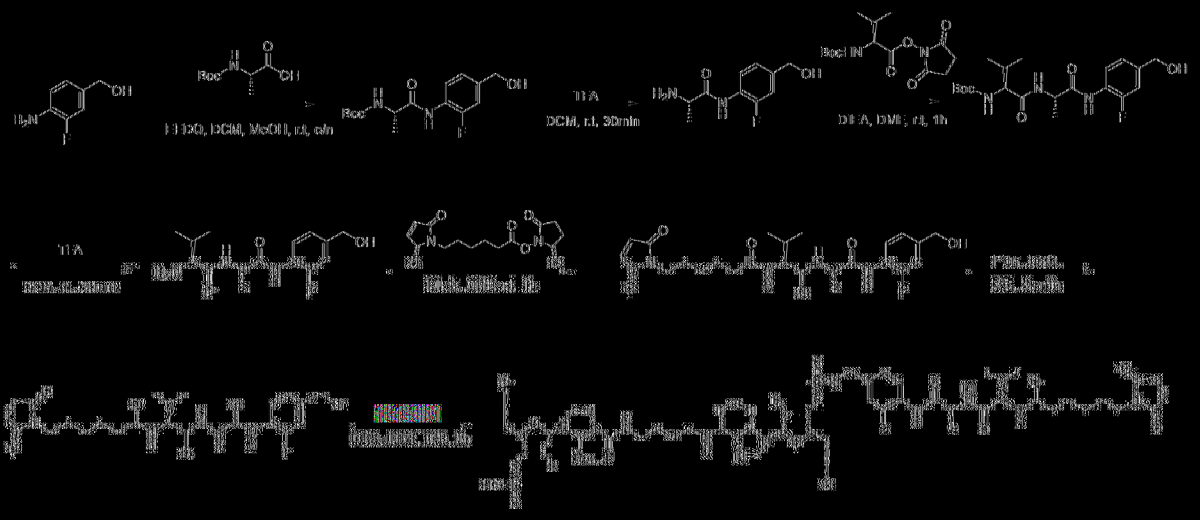


[0881] 在0°C，將DIEA（57.99 mg，0.450 mmol）添加至6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(碘甲基)-2-(三氟甲基)苯基]胺基}甲醯基]乙基]胺基}甲醯基)-2-甲基丙基]己醯胺（149.07 mg，0.225 mmol）和化合物1（67 mg，0.090 mmol）在DMF（2 mL）中的攪拌溫合物中。將所得溫合物在0°C攪拌1 h。將粗製產物藉由製備型HPLC用以下條件純化（柱：XBridge Prep OBD C18柱，19*250 mm，5 μm；流動相A：水（0.1%FA），流動相B：MeCN；流速：25 mL/min；梯度：在10 min內30% B至30% B，30% B；波長：254 nm；RT1（min）：8.9），以得到呈白色固體的*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-({[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-39-氨硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-十烯-34-基]氨硫基}甲基)-2-(三氟甲基)苯基]胺基}甲醯基)乙基]胺基}甲醯基)-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)己醯胺（CLP44）（13.6 mg）。

[0882] LC-MS (ESI): 1283.40 [M+H]$^+$。

44. LP45的合成

[0883] LP45的合成如下所示：



。

N-[(1*S*)-1-{[2-氟-4-(羥甲基)苯基]胺甲醯基}乙基]胺甲酸三級丁酯的合成

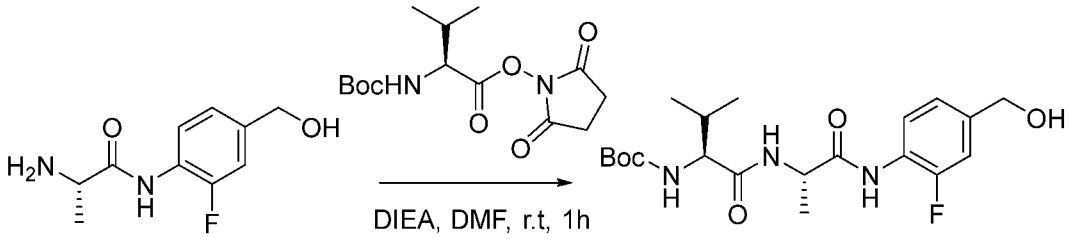
[0884] 將(4-胺基-3-氟苯基)甲醇（750 mg，5.31 mmol）、(2*S*)-2-[(三級丁氧羰基)胺基]丙酸（1.21 g，6.37 mmol）和2-乙氧基-1,2-二氫喹啉-1-甲酸乙基酯（2.63 g，10.62 mmol）在DCM（6 mL）和MeOH（1 mL）中的混合物在室溫攪拌過夜。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用PE/EtOAc（2/1）洗脫）純化，以得到呈黃色固體的*N*-[(1*S*)-1-{[2-氟-4-(羥甲基)苯基]胺甲醯基}乙基]胺甲酸三級丁酯（1.53 g）。

(2*S*)-2-胺基-*N*-(2-氟-4-(羥甲基)苯基)丙醯胺的合成

[0885] 將*N*-[(1*S*)-1-{[2-氟-4-(羥甲基)苯基]胺甲醯基}乙基]胺甲酸三級丁酯（700 mg，2.24 mmol）和TFA（1 mL）在DCM（5 mL）中的溶液

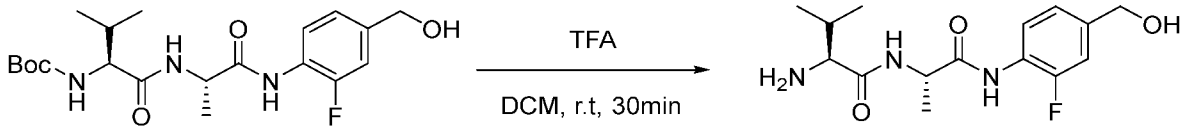
在室溫攪拌30 min。將所得混合物在減壓下濃縮，以得到呈黃色油狀物的(2*S*)-2-胺基-*N*-[2-氟-4-(羥基甲基)苯基]丙醯胺（600 mg，粗品）。

_N_-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[2-氟-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸*三級丁基*酯的合成



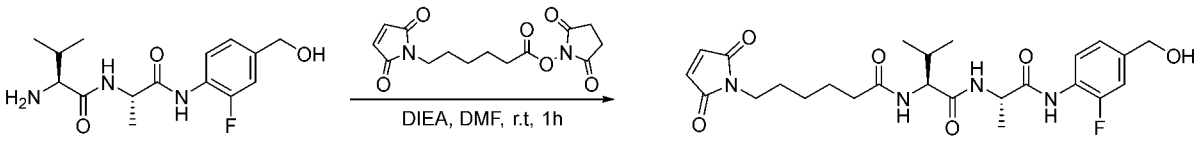
【0886】 將(2*S*)-2-胺基-*N*-[2-氟-4-(羥基甲基)苯基]丙醯胺（456 mg，2.15 mmol）和DIEA（2.78 g，21.49 mmol）在DMF（10 mL）中的混合物在室溫攪拌1 h。將反應進行處理，並將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用DCM /EtOAc（3/1）洗脫）純化，以得到呈黃色固體的*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[2-氟-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸三級丁基酯（805 mg）。

(2*S*)-2-胺基-*N*-[(1*S*)-1-{[2-氟-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺的合成



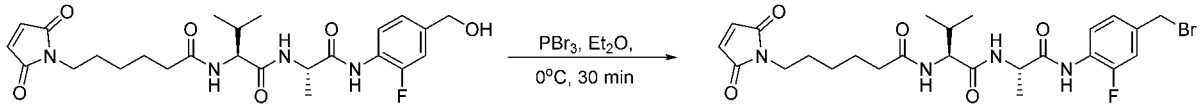
【0887】 將*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[2-氟-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸*三級丁基*酯（795 mg，1.93 mmol）和TFA（2 mL）在DCM（6 mL）中的溶液在室溫攪拌30 min。將所得混合物在減壓下濃縮，以得到呈黃色油狀物的(2*S*)-2-胺基-*N*-[(1*S*)-1-{[2-氟-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺（600 mg，粗品）。

6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[2-氟-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺的合成



【0888】將(2*S*)-2-胺基-*N*-[(1*S*)-1-{[2-氟-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺（500 mg，1.60 mmol）、6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（544.58 mg，1.76 mmol）和DIEA（2075.48 mg，16.06 mol）在DMF（5 mL）中的混合物在室溫攪拌1 h。將反應進行處理，並將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用PE/EtOAc（3/1）洗脫）純化，以得到呈白色固體的6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[2-氟-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺（340 mg）。

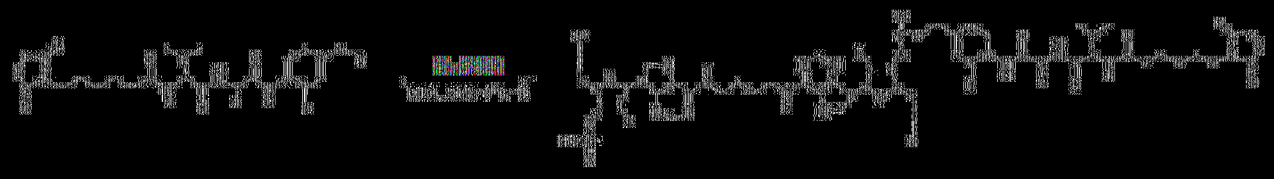
_N_-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(溴甲基)-2-氟苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺的合成



【0889】將6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[2-氟-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺（150 mg，0.29 mmol）和PBr_3（80.47 mg，0.29 mmol）在Et_2O（2 mL）中的溶液在0°C攪拌30 min。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用CH_2Cl_2/IPA（10/1）洗脫）純化，以得到呈白色固體的*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(溴甲基)-2-氟苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺（90 mg）。

_N_-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-({[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-39-氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環

[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-十烯-34-基]氧硫基}甲基)-2-氟苯基]胺基}甲醯基)-2-甲基吲哚-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺（LP45）的合成

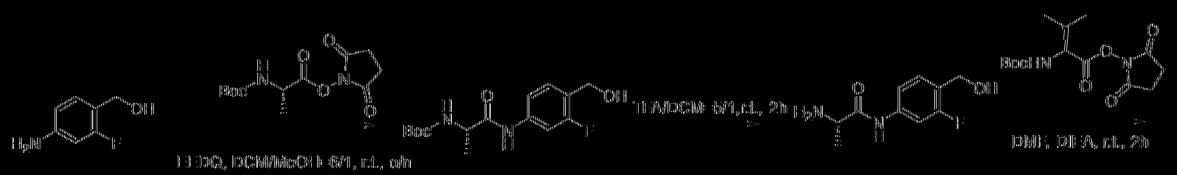


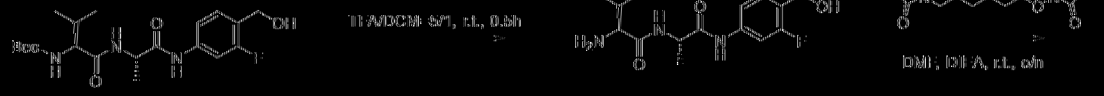
[0890] 將*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥甲基)-2-氟苯基]胺基}甲醯基}-2-甲基丙基]-2-甲基-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺（90.81 mg，0.15 mmol）、化合物1（58 mg，0.07 mmol）和DIEA（100.4 mg，0.78 mmol）在DMF（2 mL）中的混合物在氮氣氣氛下在0°C攪拌1 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將粗製產物（60 mg）藉由製備型HPLC用以下條件純化（柱：XBridge Prep Phenyl OBD柱，19*150 mm，5 μm；流動相A：水（0.1%FA），流動相B：MeCN；流速： 60 mL/min；梯度：在8 min內27% B至30% B，30% B；波長：254 nm），以得到呈白色固體的*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-({[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-39-氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-十烯-34-基]氧硫基}甲基)-2-氟苯基]胺基}甲醯基)-2-甲基丙基]-2-甲基-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺（LP45）（8.5 mg）。

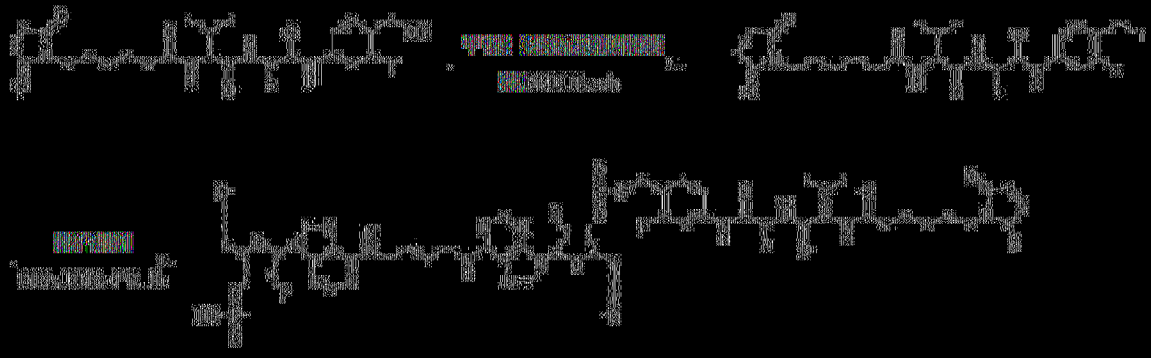
[0891] LC-MS (ESI): [M+H]$^+$：1231.45。

45. LP46的合成

[0892] LP46的合成如下所示：

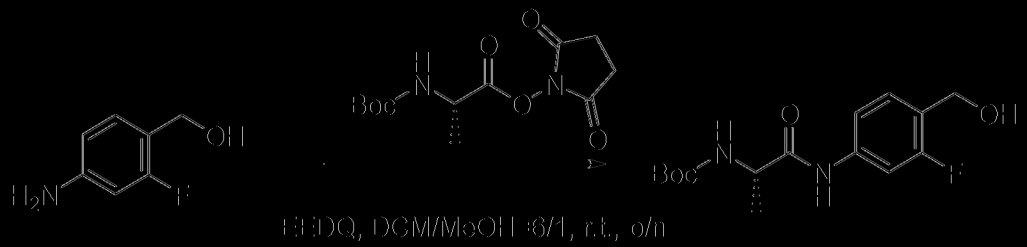






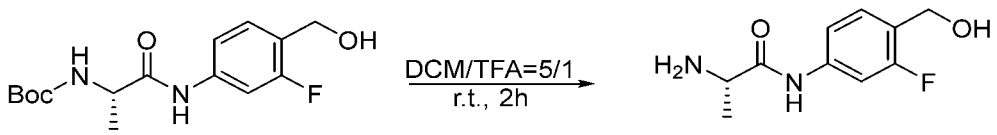
。

N-[(1*S*)-1-{[3-氟-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲酸三級丁酯的合成



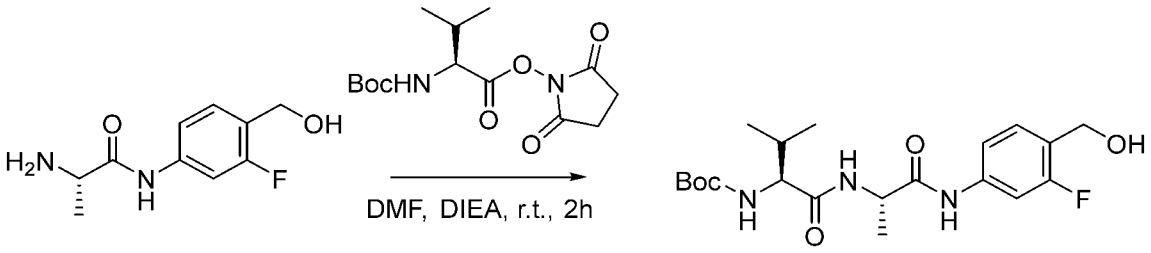
[0893] 將(4-胺基-2-氟苯基)甲醇（1 g，7.145 mmol）和(2*S*)-2-[(三級丁氧基羰基)胺基]丙酸（1.61 g，8.500 mmol）和2-乙氧基-1,2-二氫喹啉-1-甲酸乙基酯（3.54 g，15.201 mmol）在DCM（12 mL）和MeOH（2 mL）中的溶液在室溫攪拌過夜。將所得混合物在真空下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用PE/EtOAc（1/1）洗脫）純化，以得到呈白色固體的*N*-[(1*S*)-1-{[3-氟-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲酸三級丁酯（2.2 g）。

(2*S*)-2-胺基-*N*-[3-氟-4-(羥基甲基)苯基]丙醯胺的合成



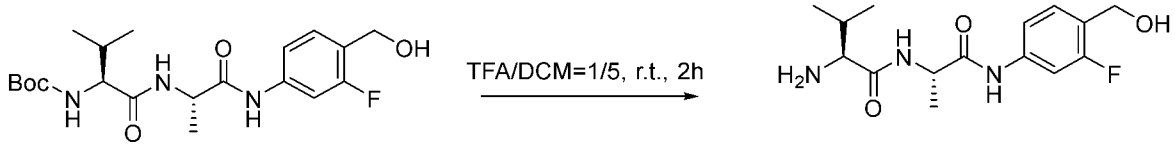
【0894】 將*N*-[(1*S*)-1-{[3-氟-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲酸*三級丁基*酯（2 g，6.404 mmol）在TFA（2 mL）和DCM（10 mL）中的溶液在室溫攪拌2 h。將所得混合物在真空下濃縮。這產生呈白色油狀物的(2*S*)-2-胺基-*N*-[3-氟-4-(羥基甲基)苯基]丙醯胺（1 g）。所得混合物無需進一步純化即可直接用於下一步驟。

_N_-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[3-氟-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸*三級丁基*酯的合成



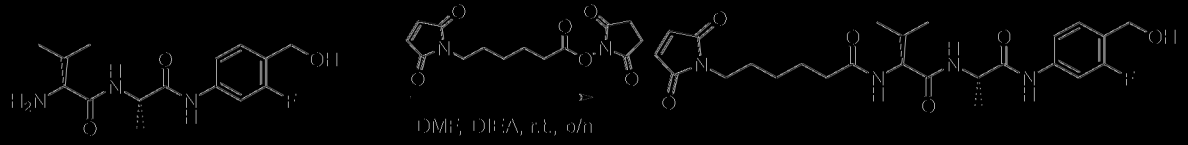
【0895】 將(2*S*)-2-胺基-*N*-[3-氟-4-(羥基甲基)苯基]丙醯胺（1 g，4.625 mmol）和(2*S*)-2-[(三級丁氧基羰基)胺基]-3-甲基丁酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（1.7 g，5.1241 mmol）在DIEA（6.8 g，49.7152 mmol）和DMF（10 mL）中的溶液在室溫攪拌2 h。將反應進行處理，並將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用DCM/EtOAc=（1/1）洗脫）純化，以得到呈白色固體的*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[3-氟-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸*三級丁基*酯（1.6 g）。

(2*S*)-2-胺基-*N*-[(1S)-1-{[3-氟-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺的合成



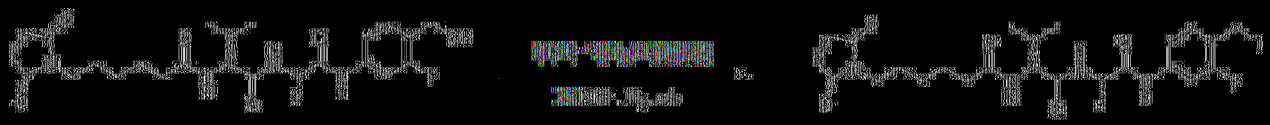
[0896] 將*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[3-氟-4-(𠰌啉-4-基)苯基]胺基}-1-側氧基-2-丙烷-2-基]胺基}-2-甲基-1-側氧基丙烷-2-基]胺基甲酸三級丁酯（1.6 g，3.96771 mmol）在TFA（2 mL）和DCM（10 mL）中的溶液在室溫攪拌2 h。將所得混合物在真空下濃縮。這產生呈白色油狀物的(2*S*)-2-胺基-*N*-[(1*S*)-1-{[3-氟-4-(𠰌啉-4-基)苯基]胺基}-1-側氧基丙烷-2-基]-3-甲基丁醯胺（1.15 g）。所得混合物無需進一步純化即可直接用於下一步驟。

6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[3-氟-4-(𠰌啉-4-基)苯基]胺基}-1-側氧基丙烷-2-基]胺基}-3-甲基-1-側氧基丁烷-2-基]己醯胺的合成



[0897] 將(2*S*)-2-胺基-*N*-[(1*S*)-1-{[3-氟-4-(𠰌啉-4-基)苯基]胺基}-1-側氧基丙烷-2-基]-3-甲基丁醯胺（1.2 g，3.5147 mmol）和6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己酸2,5-二側氧基吡咯烷-1-基酯（1.2 g，3.886 mmol）在DIEA（4.6 g，35.320 mmol）和DMF（10 mL）中的溶液在室溫攪拌過夜。將反應進行處理，並將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用DCM/MeOH（10/1）洗脫）純化，以得到呈白色固體的6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[3-氟-4-(𠰌啉-4-基)苯基]胺基}-1-側氧基丙烷-2-基]胺基}-3-甲基-1-側氧基丁烷-2-基]己醯胺（900 mg）。

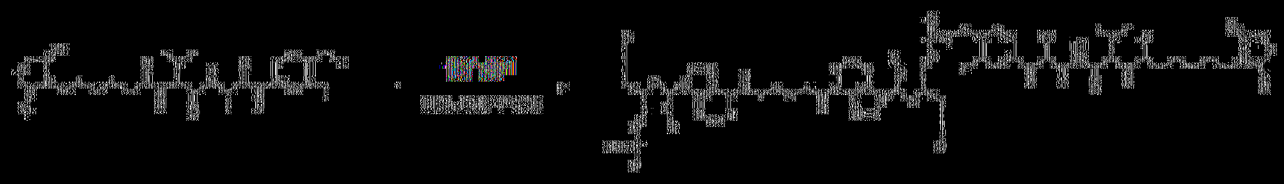
6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[3-氟-4-(碘苯基)苯基]胺基}-1-側氧基丙烷-2-基]胺基}-3-甲基-1-側氧基丁烷-2-基]己醯胺的合成



[0898] 將6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[3-氟-4-(𠰌啉-4-基)苯基]胺基}-1-側氧基丙烷-2-基]胺基}-3-甲基-1-側氧基丁烷-2-基]己醯胺（900

mg，1.798 mmol）和甲基-苯氧基膦酰氯化物（3.7 g，9.861 mmol）在DMF（9 mL）中的溶液在氮氣氣氛下在0°C攪拌過夜。將所得混合物用EtOAc萃取。將合併的有機物用H_2O洗滌、經無水Na_2SO_4乾燥。過濾後，將濾液在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用DCM/IPA（10/1）洗脫）純化，以得到呈白色固體的6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[3-氟-4-(對甲苯基)苯基]甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺（700 mg）。

N-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-({[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-39-氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十-5,7,9,11,15,19,21,23,25-十烯-34-基]氫硫基}甲基)-3-氟苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺（CLP46）的合成



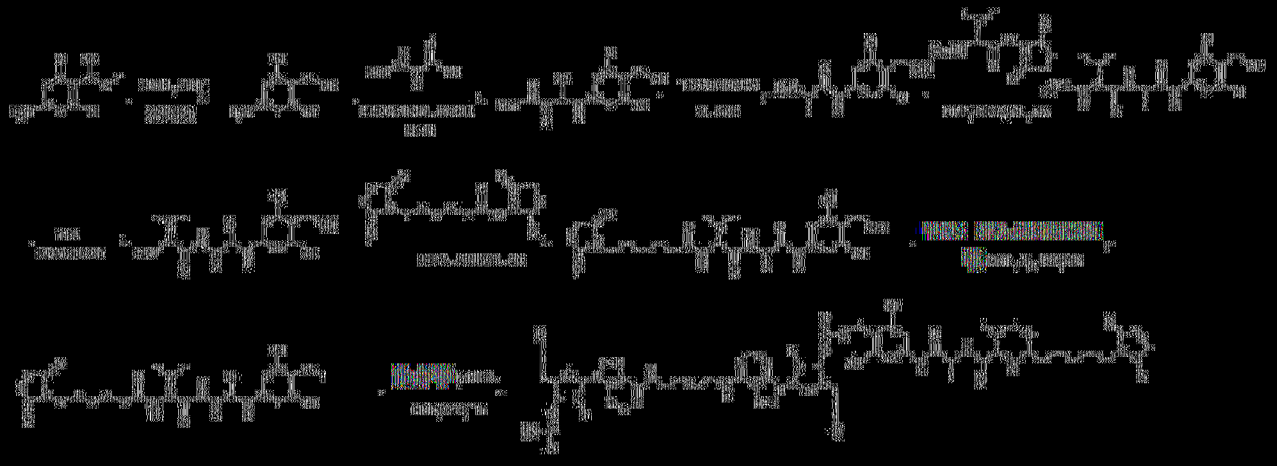
[0899] 將化合物1（55 mg，0.082 mmol）和6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[3-氟-4-(對甲苯基)苯基]甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺（95.3 mg，0.1530 mmol）在DIEA（51.93 mg，0.390 mmol）和DMF（1 mL）中的溶液在氮氣氣氛下在0°C攪拌1 h。將粗製產物藉由反相快速用以下條件純化（柱：Xselect CSH C18 OBD柱，30x150mm，5μm；流動相A：水（0.1%FA），流動相B：MeCN；流速：60 mL/min；梯度：在8 min內26% B至30% B，30% B；波長：254 nm），以得到呈白色固體的*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-({[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-

二氮-34,39-二側氧基-39-氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-十烯-34-基]氫硫基}甲基)-3-氟苯基]胺基}甲醯基}乙基]胺基}甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)己醯胺（CLP46）（3.3 mg）。

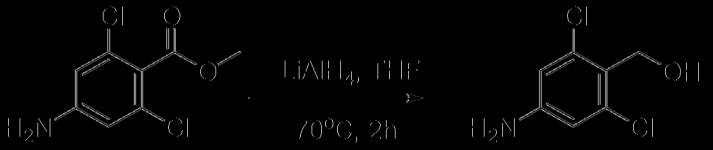
[0900] LC-MS (ESI): [M+H]$^+$：1233.2。

46. CLP47的合成

[0901] CLP47的合成如下所示：

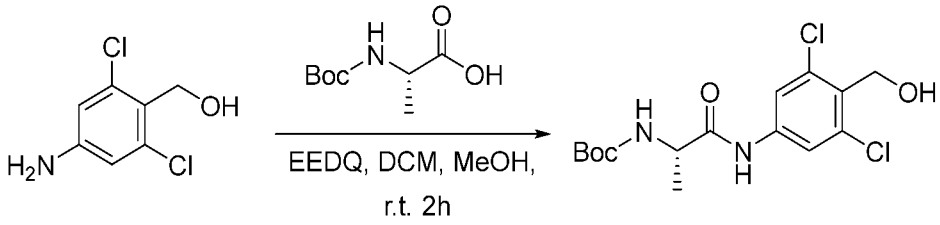


(4-胺基-2,6-二氯苯基)甲醇的合成



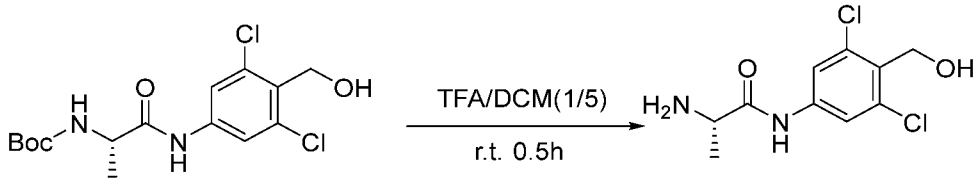
[0902] 在室溫，向4-胺基-2,6-二氯苯甲酸甲基酯（500 mg，2.272 mmol）在THF中的攪拌混合物中分批添加$LiAlH_4$（258.7 mg，6.816 mmol）。將所得混合物在70°C攪拌2 h。將反應在0°C用水/冰淬滅。將所得混合物用DCM萃取。將合併的有機層用水洗滌，經無水Na_2SO_4乾燥。過濾後，將濾液在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用PE/EtOAc（5/1）洗脫）純化，以得到呈灰白色固體的(4-胺基-2,6-二氯苯基)甲醇（202 mg）。

_N_-[(1_S_)-1-{[3,5-二氯-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲酸_三級丁基_酯的合成



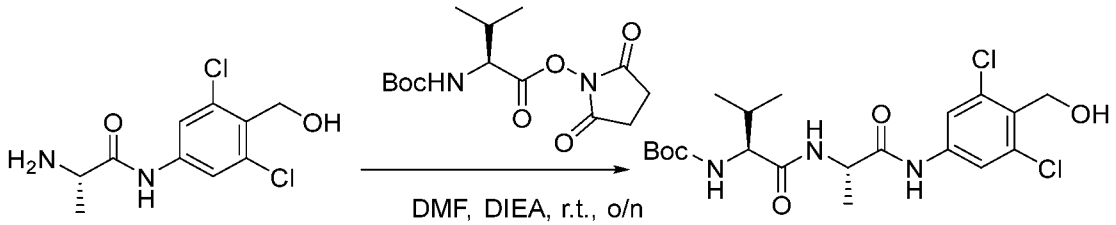
【0903】 在室溫，向(4-胺基-2,6-二氯苯基)甲醇（200 mg，1.041 mmol）和(2_S_)-2-[(三級丁氧基羰基)胺基]丙酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（745.4 mg，2.603 mmol）在DCM（2.4 mL）和MeOH（0.4 mL）中的攪拌混合物中分批添加6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1_H_-吡咯-1-基)己酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（745.4 mg，2.603 mmol）。將所得混合物在室溫攪拌2 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用PE/EtOAc（5/1）洗脫）純化，以得到呈白色固體的_N_-[(1_S_)-1-{[3,5-二氯-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲酸_三級丁基_酯（320 mg）。

(2_S_)-2-胺基-_N_-[3,5-二氯-4-(羥基甲基)苯基]丙醯胺的合成



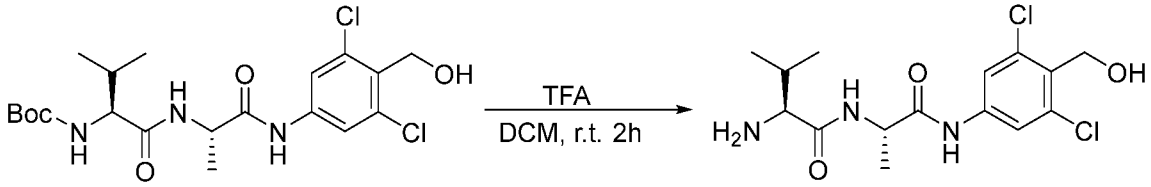
【0904】 將_N_-[(1_S_)-1-{[3,5-二氯-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲酸_三級丁基_酯（300 mg，0.826 mmol）和TFA（1 mL）在DCM（5 mL）中的混合物在室溫攪拌0.5 h。將所得混合物在減壓下濃縮，以得到呈灰色油狀物的(2_S_)-2-胺基-_N_-[3,5-二氯-4-(羥基甲基)苯基]丙醯胺（470 mg）。粗製產物無需進一步純化即可直接用於下一步驟。

_N_-[(1_S_)-1-{[(1_S_)-1-{[3,5-二氯-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸_三級丁基_酯的合成



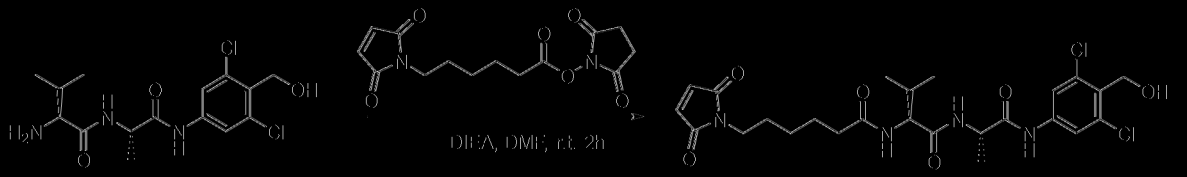
【0905】 然後在室溫，向(2*S*)-2-胺基-*N*-[3,5-二氯-4-(羥基甲基)苯基]丙醯胺（400 mg，1.520 mmol）和(2*S*)-2-[(三級丁氧基羰基)胺基]-3-甲基丁酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（14.3 mg，0.046 mmol）在DMF（5 mL）中的攪拌混合物中分批添加DIEA（1964.8 mg，15.20 mmol）。將所得混合物在室溫攪拌過夜。將反應進行處理，並將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用PE/EA（5/1）洗脫）純化，以得到呈白色固體的*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[3,5-二氯-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸*三級丁基*酯（243 mg）。

(2*S*)-2-胺基-*N*-[(1*S*)-1-{[3,5-二氯-4-(羥基甲基)苯基] 胺基甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺的合成



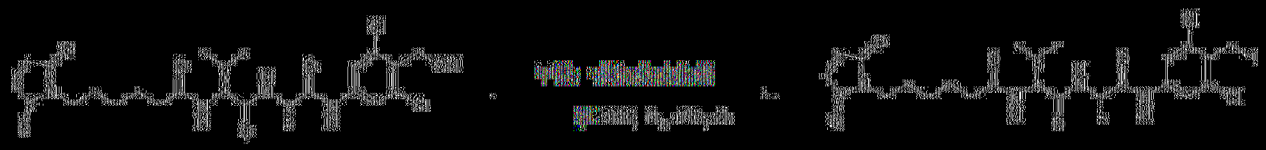
【0906】 將*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[3,5-二氯-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基] 胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸*三級丁基*酯（230 mg，0.497 mmol）和TFA（0.5 mL）在DCM（2.5 mL）中的混合物在室溫攪拌2 h。將所得混合物在減壓下濃縮，以得到呈灰色油狀物的(2*S*)-2-胺基-*N*-[(1*S*)-1-{[3,5-二氯-4-(羥基甲基)苯基] 胺基甲醯基} 乙基]-3-甲基丁醯胺（400 mg）。粗製產物無需進一步純化即可直接用於下一步驟。

***N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[3,5-二氯-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺的合成**



[0907] 在室溫，向(2*S*)-2-胺基-*N*-[(1*S*)-1-{[3,5-二氯-4-(羥甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺（400 mg，1.104 mmol）和6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（407.2 mg，1.325 mmol）在DMF（4 mL）中的攪拌混合物中滴加DIEA（1427.1 mg，11.040 mmol）。將所得混合物在室溫攪拌2 h。將反應進行處理，並將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用PE/EtOAc（5/1）洗脫）純化，以得到呈黃色固體的*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[3,5-二氯-4-(羥甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)己醯胺（271 mg）。

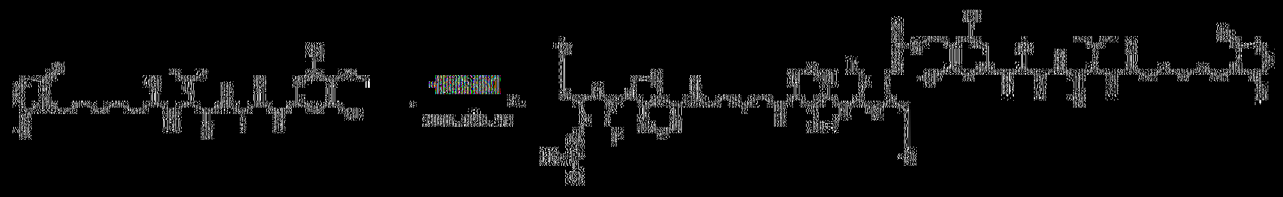
N-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[3,5-二氯-4-(碘甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺的合成



[0908] 將*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[3,5-二氯-4-(羥甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)己醯胺（80 mg，0.144 mmol）和甲基-苯磺醯碘化鏻（195.4 mg，0.432 mmol）在DMF（1 mL）中的混合物在氮氣氣氛下在0°C攪拌2 h。將反應進行處理，並將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用DCM/*i*-PrOH（10/1）洗脫）純化，以得到呈白色固體的*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[3,5-二氯-4-(碘甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺（56 mg）。

N-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[3,5-二氯-4-({[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氯-34,39-二側氧基-

39-氧硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-34-基]氧基}甲基)苯基]氧基}甲醯基)乙基]胺基}甲醯基)-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)己醯胺（CLP47）的合成

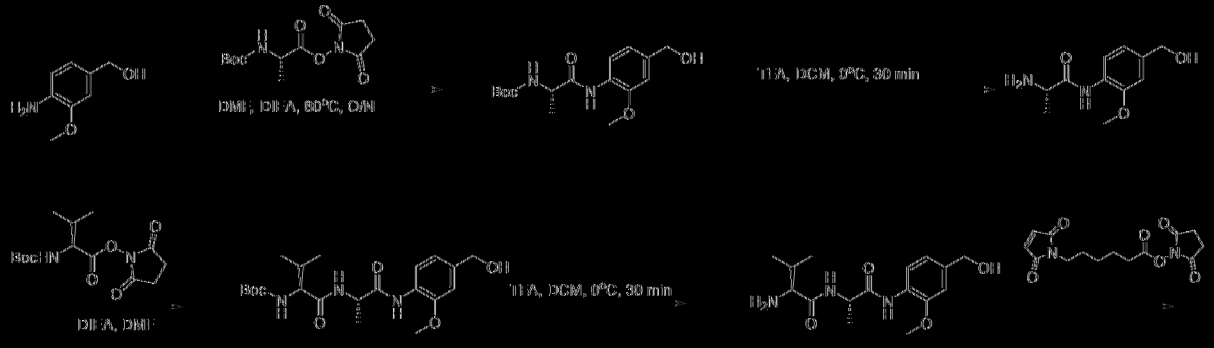


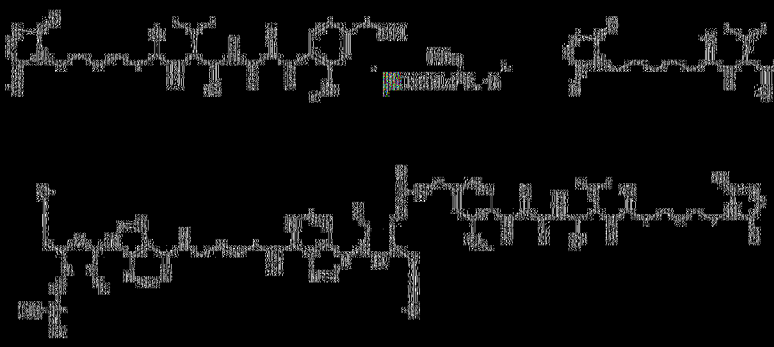
[0909] 將*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[3,5-二氯-4-(肼甲醯基)苯基]胺基}甲醯基)-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺（99.8 mg，0.150 mmol）和化合物1（56 mg，0.075 mmol）在DMF（1 mL）中的混合物在氮氣氣氛下在0°C攪拌1 h。將粗製產物（56 mg）藉由製備型HPLC用以下條件純化（柱：XBridge Prep Phenyl OBD柱，19*150 mm，5 μm；流動相A：水（0.05% TFA），流動相B：MeCN；流速：60 mL/min；梯度：在8 min內30% B至35% B，35% B；波長：254 nm），以得到呈白色固體的*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[3,5-二氯-4-({[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-39-氧硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-34-基]氧硫基}甲基)苯基]胺基}甲醯基)乙基]胺基}甲醯基)-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺（CLP47）（9.6 mg）。

[0910] LC-MS (ESI): [M+H]$^+$: 1283.00。

47. LP48的合成

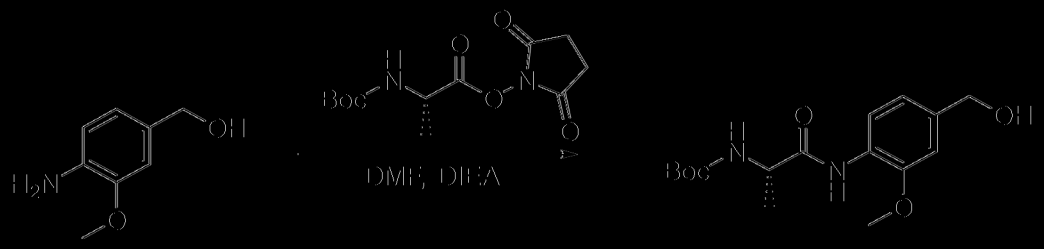
[0911] LP48的合成如下所示：





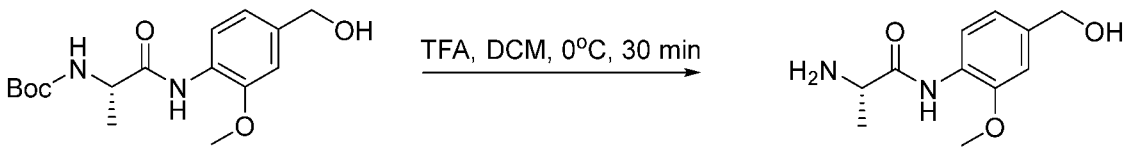
。

N-[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-2-甲氧基苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲酸三級丁酯的合成



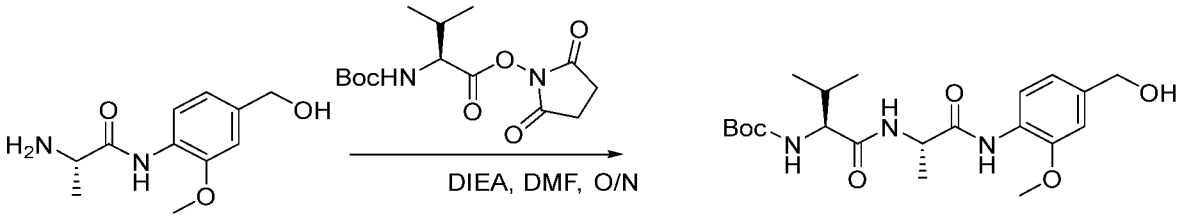
[0912] 在25°C，將DIEA（2.53 g，19.585 mmol）添加至(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}丙酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（8.41 g，29.377 mmol）和1-(4-胺基-3-甲氧基苯基)甲醇（1.5 g，9.792 mmol）在DMF（20 mL）中的攪拌混合物中。將所得混合物在80°C攪拌14 h。將所得混合物用EtOAc稀釋。將殘餘物用水洗滌。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用PE/EtOAc（3:1）洗脫）純化，以得到呈棕色油狀物的*N*-[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-2-甲氧基苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲酸三級丁酯（800 mg）。LC-MS (ESI): 325.2 [M+H]+。

(2*S*)-2-胺基-*N*-[4-(羥基甲基)-2-甲氧基苯基]丙醯胺的合成



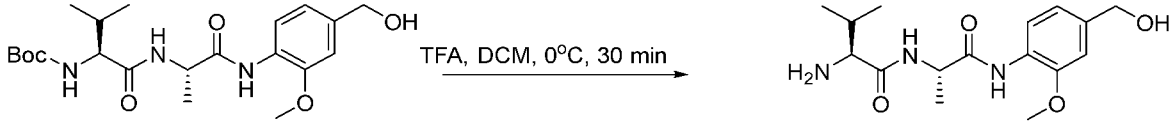
【0913】 在0°C，將TFA（3 mL）添加至*N*-[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-2-甲氧基苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲酸三級丁基酯（800 mg，2.466 mmol）在DCM（3 mL）中的攪拌混合物中。將所得混合物在25°C攪拌30 min。將所得混合物在減壓下濃縮。在0°C，將K_2CO_3（1.36 g，9.865 mmol）添加至MeOH（3 mL）、THF（3 mL）和H_2O（3 mL）的攪拌混合物中。將所得混合物在25°C攪拌2 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用DCM / MeOH（5:1）洗脫）純化，以得到呈無色油狀物的(2*S*)-2-胺基-*N*-[4-(羥基甲基)-2-甲氧基苯基]丙醯胺（420 mg）。LC-MS (ESI): 225.1 $[M+H]^+$。

_N_-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-2-甲氧基苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸*三級丁基*酯的合成



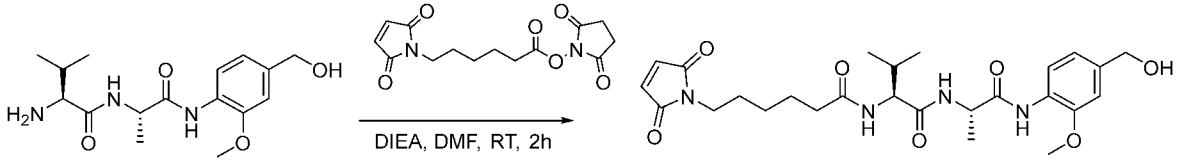
【0914】 在25°C，將DIEA（1.38 g，10.702 mmol）添加至(2*S*)-2-胺基-*N*-[4-(羥基甲基)-2-甲氧基苯基]丙醯胺（400 mg，1.784 mmol）和(2*S*)-2-[(*三級丁氧基*羰基)胺基]-3-甲基丁酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（560.67 mg，1.784 mmol）在DMF（5 mL）中的攪拌混合物中。將所得混合物在25°C攪拌14 h。將所得混合物用EtOAc稀釋。將所得混合物用水洗滌。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用PE / EtOAc（1:1）洗脫）純化，以得到呈白色固體的*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-2-甲氧基苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸*三級丁基*酯（470 mg）。LC-MS (ESI): 424.2 $[M+H]^+$。

(2*S*)-2-胺基-*N*-[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-2-甲氧基苯基]胺基甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺的合成



【0915】 在0°C，將TFA（3 mL）添加至*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-2-甲氧基苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸*三級丁基*酯（450 mg，1.063 mmol）在DCM（3 mL）中的攪拌混合物中。將所得混合物在25°C攪拌30 min。將所得混合物在減壓下濃縮。在0°C，將K_2CO_3（585.30 mg，4.252 mmol）添加至MeOH（3 mL）、THF（3 mL）和H_2O（3 mL）的攪拌混合物中。將所得混合物在25°C攪拌2 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用DCM / MeOH（6:1）洗脫）純化，以得到呈無色油狀物的(2*S*)-2-胺基-*N*-[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-2-甲氧基苯基]胺基甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺（270 mg）。LC-MS (ESI): 324.2 $[M+H]^+$。

6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-2-甲氧基苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺的合成



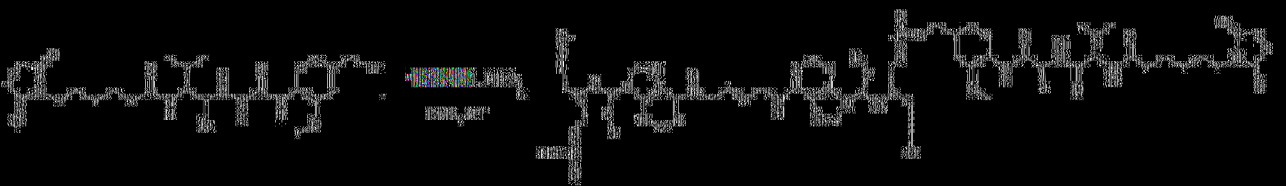
【0916】 在25°C，將DIEA（199.82 mg，1.546 mmol）添加至(2*S*)-2-胺基-*N*-[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-2-甲氧基苯基]胺基甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺（250 mg，0.773 mmol）和6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（214.49 mg，0.696 mmol）在DMF（3 mL）中的攪拌混合物中。將所得混合物在25°C攪拌2 h。將所得混合物用EtOAc稀釋。將所得混合物用水洗滌。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用DCM / MeOH（12:1）洗脫）純化，以得到呈白色固體的6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-

1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(溴甲基)-2-甲氧基苯基]氨基}-1-氧代-5-脲基戊-2-基]氨基}-3-甲基-1-氧代丁-2-基]己酰胺（250 mg）。LC-MS (ESI): 517.3 [M+H]⁺。

N-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(溴甲基)-2-甲氧基苯基]氨基}-1-氧代-5-脲基戊-2-基]氨基}-3-甲基-1-氧代丁-2-基]-6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1*H*-吡咯-1-基)己酰胺的合成

[0917] 在氮气氛下在0°C，将PBr_3（39.30 mg，0.146 mmol）添加至6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(溴甲基)-2-甲氧基苯基]氨基}-1-氧代-5-脲基戊-2-基]氨基}-3-甲基-1-氧代丁-2-基]己酰胺（50 mg，0.097 mmol）在DCM（2 mL）中的搅拌混合物中。将所得混合物在氮气氛下在0°C搅拌1 h。将残余物藉由矽胶柱层析法（用DCM / IPA（14:1）洗脱）纯化，以得到呈白色固体的*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(溴甲基)-2-甲氧基苯基]氨基}-1-氧代-5-脲基戊-2-基]氨基}-3-甲基-1-氧代丁-2-基]-6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1*H*-吡咯-1-基)己酰胺（50 mg）。LC-MS (ESI): 579.2 [M+H]⁺。

N-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-({[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氨基-34,39-二羟基-39-氧硫基-2,33,35,38,40,42-六氧杂-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮杂-34λ5,39λ5-二磷杂八环[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-十烯-34-基]氧硫基}甲基)-2-甲氧基苯基]氨基}-1-氧代-5-脲基戊-2-基]-6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1*H*-吡咯-1-基)己酰胺（CLP48）的合成

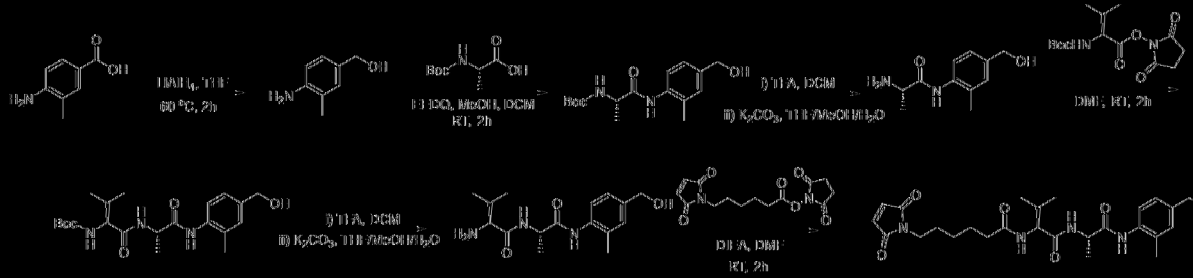


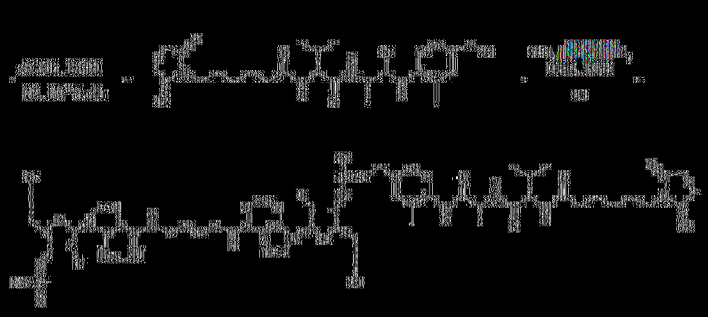
【0918】 在0°C，將DIEA（27.70 mg，0.214 mmol）添加至*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(溴甲基)-2-甲氧基苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺（49.68 mg，0.086 mmol）和化合物1（32 mg，0.043 mmol）在DMF（2 mL）中的攪拌混合物中。將所得混合物在25°C攪拌2 h。將混合物藉由製備型HPLC用以下條件純化（柱：XBridge Prep OBD C18柱，19*250 mm，5 μm；流動相A：水（0.1%FA），流動相B：MeCN；流速：25 mL/min；梯度：在12 min內20% B至40% B，40% B；波長：254 nm），以得到呈白色固體的*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-({[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-39-氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4.$1^{3,36}$.$1^{28,31}$.$0^{4,8}$.$0^{7,12}$.$0^{19,24}$.$0^{23,27}$]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-34-基]氫硫基}甲基)-2-甲氧基苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺（**LP48**）（8.9 mg）。

【0919】 LC-MS (ESI): 1245.80 $[M+H]^+$。

48. ***LP49****的合成*

【0920】 **LP49**的合成如下所示：



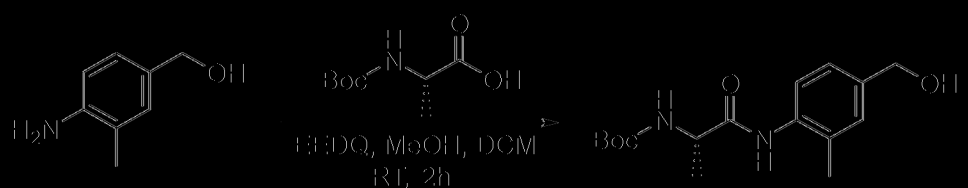


。

(4-胺基-3-甲基苯基)甲醇的合成

[0921] 在0°C，將$LiAlH_4$（59.54 mL，59.538 mmol）添加至含4-胺基-3-甲基苯甲酸（3 g，19.846 mmol）在THF（50 mL）中的攪拌混合物中。將所得混合物在氮氣氣氛下在60°C攪拌2 h。將反應在0°C藉由添加MeOH（50 mL）淬滅。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠層析法（用PE / EtOAc（1:1）洗脫）純化，以得到呈黃色固體的(4-胺基-3-甲基苯基)甲醇（680 mg）。LC-MS (ESI): 138.09 [M+H]+。

N-[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-2-甲基苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲酸*第三*丁酯的合成



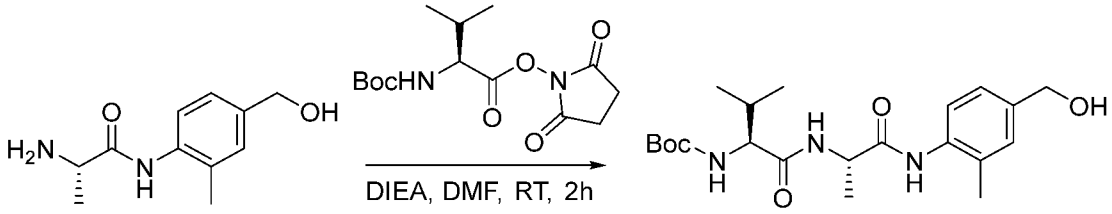
[0922] 將EEDQ（3.61 g，14.580 mmol）和(2*S*)-2-[(*第三*丁氧基羰基)胺基]丙酸（1.38 g，7.290 mmol）添加至(4-胺基-3-甲基苯基)甲醇（1 g，7.290

mmol）在MeOH（2 mL）和DCM（12 mL）中的攪拌混合物中。將所得混合物在室溫攪拌2 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用PE / EtOAc（1:1）洗脫）純化，以得到呈白色固體的*N*-[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-2-甲基苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲酸*三級丁基*酯（1.1 g）。LC-MS (ESI): 309.18[M+H]$^+$。

(2*S*)-2-胺基-*N*-[4-(羥基甲基)-2-甲基苯基]丙醯胺的合成

【0923】將TFA（3 mL）添加至*N*-[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-2-甲基苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲酸*三級丁基*酯（1.1 g，3.567 mmol）在DCM（3 mL）中的攪拌溶液中。將所得混合物在室溫攪拌30 min。將所得混合物在減壓下濃縮。然後將H_2O（1.5 mL）、THF（1.5 mL）和MeOH（1.5 mL）中的K_2CO_3（1.47 g，10.636 mmol）添加至所得混合物中。將所得混合物在室溫攪拌2 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用DCM:MeOH（2:1）洗脫）純化，以得到呈淡黃色固體的(2*S*)-2-胺基-*N*-[4-(羥基甲基)-2-甲基苯基]丙醯胺（600 mg）。LC-MS (ESI): 209.12[M+H]$^+$。

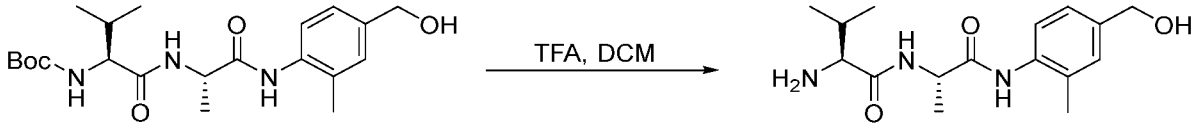
***N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-2-甲基苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸*三級丁基*酯的合成**



【0924】將DIEA（744.72 mg，5.762 mmol）、(2*S*)-2-[(三級丁氧基羰基)胺基]-3-甲基丁酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（905.61 mg，2.881 mmol）添加至(2*S*)-2-胺基-*N*-[4-(羥基甲基)-2-甲基苯基]丙醯胺（600 mg，2.881 mmol）在

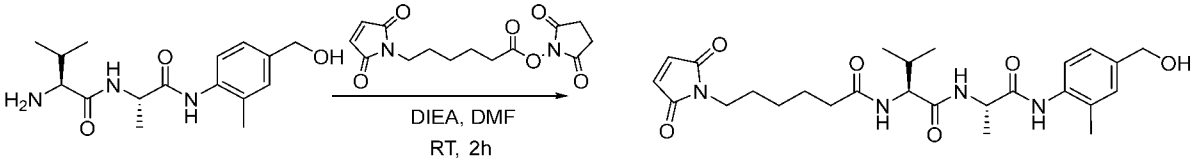
DMF（4 mL）中的攪拌混合物中。將所得混合物在室溫攪拌2 h。將所得混合物用EtOAc（100 mL）稀釋。將所得混合物用3x20 mL的水洗滌。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用PE / EtOAc（1:2）洗脫）純化，以得到呈黃色固體的*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-2-甲基苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸*三級丁基*酯（800 mg）。LC-MS (ESI): 408.25[M+H]$^+$。

(2*S*)-2-胺基-*N*-[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-2-甲基苯基]胺基甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺的合成



【0925】將TFA（4 mL）添加至*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-2-甲基苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸*三級丁基*酯（800 mg，1.963 mmol）在DCM（4 mL）中的攪拌溶液中。將所得混合物在室溫攪拌30 min。將所得混合物在減壓下濃縮。然後將H_2O（1.5 mL）、MeOH（1.5 mL）和THF（1.5 mL）中的K_2CO_3（1085.27 mg，7.852 mmol）添加至所得混合物中。將所得混合物在室溫攪拌2 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用DCM / MeOH（1:2）洗脫）純化，以得到呈白色固體的(2*S*)-2-胺基-*N*-[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-2-甲基苯基]胺基甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺（600 mg）。LC-MS (ESI): 309.19 [M+H]$^+$。

6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-2-甲基苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺的合成



【0926】將DIEA（496.13 mg，3.838 mmol）和6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（591.72 mg，1.919 mmol）添加

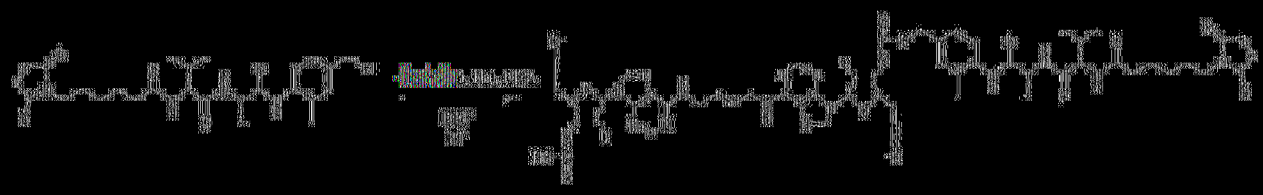
至(2*S*)-2-胺基-*N*-[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-2-甲基苯基]胺基甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺（590 mg，1.919 mmol）在DMF（3 mL）中的攪拌混合物中。將所得混合物在25°C攪拌2 h。將所得混合物用EtOAc（60 mL）稀釋。將所得混合物用3x10 mL的水洗滌。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用DCM / MeOH（17:1）洗脫）純化，以得到呈白色固體的6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-2-甲基苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺（380 mg）。LC-MS (ESI): 501.27 $[M+H]^+$。

_N_-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(氯甲基)-2-甲基苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺的合成

【0927】將$SOCl_2$（42.78 mg，0.360 mmol）添加至6-(2,5-二側氧基吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-2-甲基苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺（90 mg，0.180 mmol）在DCM（1 mL）中的攪拌混合物中。將所得混合物在氮氣氣氛下在40°C攪拌2 h。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用DCM / IPA（2:1）洗脫）純化，以得到呈白色固體的*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(氯甲基)-2-甲基苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺（90 mg）。LC-MS (ESI): 519.23$[M+H]^+$。

_N_-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-({[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-39-氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34 λ5,39 λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-34-基]

氧硫基甲基)-2-甲基苯基胺基甲醯基乙基胺基甲醯基-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺（CLP49）的合成

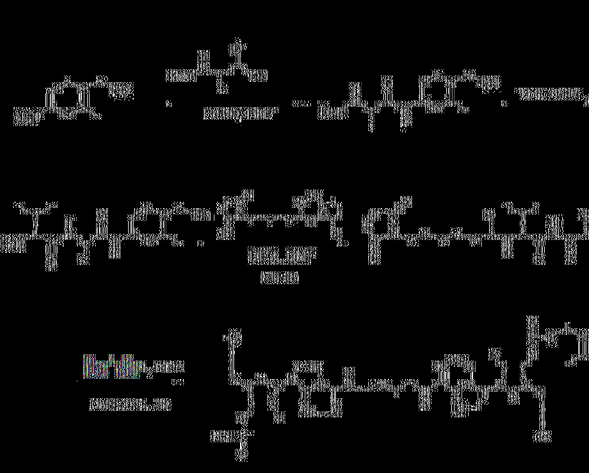


[0928] 將NaI（12.05 mg，0.080 mmol）添加至*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(氧甲基)-2-甲基苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺（65 mg，0.125 mmol）在DMF（1.5 mL）中的攪拌混合物中。將所得混合物在室溫攪拌1 h，然後添加化合物1（60 mg，0.080 mmol）和DIEA（51.93 mg，0.400 mmol）。將溶液在室溫攪拌1 h。將粗製產物藉由製備型HPLC用以下條件純化（柱：XBridge Prep OBD C18柱，19*250 mm，5 μm；流動相A：水（0.1%FA），流動相B：MeCN；流速：25 mL/min；梯度：在12 min內29% B至29% B，29% B；波長：254 nm；RT1（min）：10.8）；以得到呈白色固體的*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-({[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-39-氧硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-34-基]氧硫基}甲基)-2-甲基苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺（CLP49）（9.9 mg）。

[0929] LC-MS (ESI): 1229.15 [M+H]+。

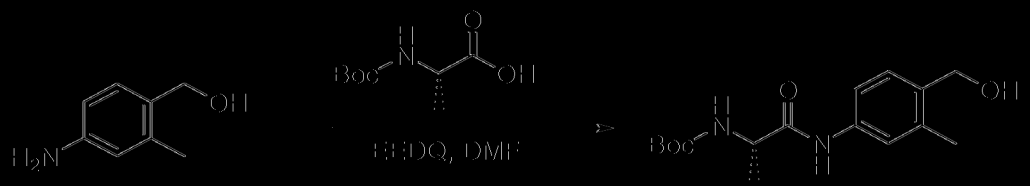
19. CLP50的合成

[0930] CLP50的合成如下所示：



。

N-[(1*S*)-1-{[4-(羥甲基)-3-甲基苯基]胺甲醯基}乙基]胺甲酸三級丁酯的合成



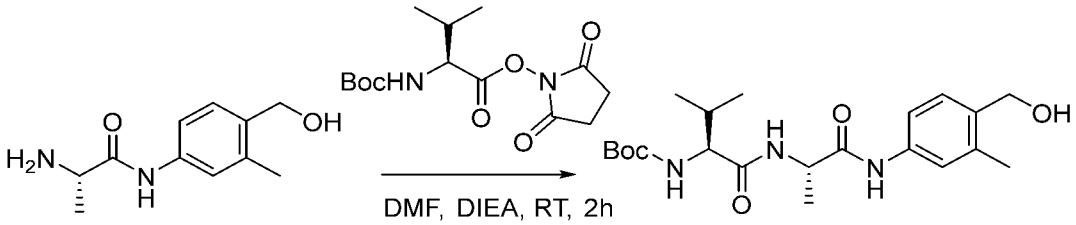
[0931] 在室溫，向(4-胺基-2-甲基苯基)甲醇（782 mg，5.700 mmol）和(2*S*)-2-[(三級丁氧羰基)胺基]丙酸（1294.3 mg，6.840 mmol）在DCM（12 mL）和MeOH（2 mL）中的攪拌溶液中分批添加EEDQ（2819.3 mg，11.400 mmol）。將所得混合物在室溫攪拌過夜。將所得混合物在真空下濃縮。將殘餘物藉由矽膠層析法（用PE / EtOAc（60/40）洗脫）純化，以得到呈白色固體的*N*-[(1*S*)-1-{[4-(羥甲基)-3-甲基苯基]胺甲醯基}乙基]胺甲酸三級丁酯（1.7 g）。

(2*S*)-2-胺基-*N*-[4-(羥甲基)-3-甲基苯基]丙醯胺的合成

[0932] 在室溫，向*N*-[(1*S*)-1-{[3-氟-4-(羥甲基)苯基]胺甲醯基}乙基]胺甲酸三級丁酯（850 mg，2.721 mmol）在DCM（10 mL）中的攪拌溶液中滴加TFA（2 mL）。將所得混合物在室溫攪拌2 h。將所得混合物在真空下濃

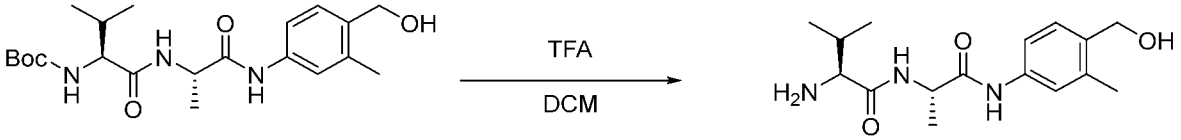
縮。這產生呈淡黃色油狀物的(2*S*)-2-胺基-*N*-[3-氟-4-(羥基甲基)苯基]丙醯胺（815 mg）。

_N_-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-3-甲基苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸*三級丁基*酯的合成



【0933】 在室溫，向(2*S*)-2-胺基-*N*-[3-氟-4-(羥基甲基)苯基]丙醯胺（448 mg，2.151 mmol）和(2*S*)-2-[(三級丁氧基羰基)胺基]-3-甲基丁酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（1328.2 mg，4.225 mmol）在DMF（5 mL）中的攪拌溶液中滴加DIEA（2780.2 mg，21.510 mmol）。將所得混合物在室溫攪拌2 h。將所得混合物用EtOAc萃取。將合併的有機層用水洗滌，經無水Na_2SO_4乾燥。過濾後，將濾液在減壓下濃縮。將所得混合物在真空下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用PE /EtOAc（70/30）洗脫）純化，以得到呈淡黃色固體的*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-3-甲基苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸*三級丁基*酯（601 mg）。

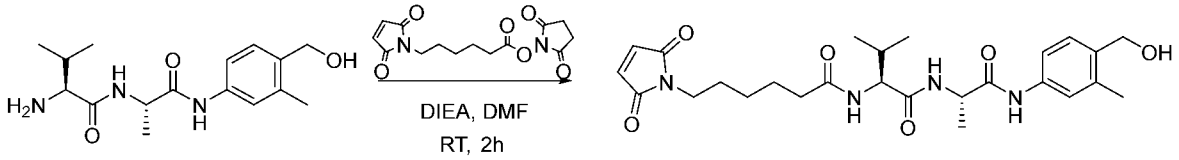
(2*S*)-2-胺基-*N*-[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-3-甲基苯基]胺基甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺的合成



【0934】 在室溫，向*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-3-甲基苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸*三級丁基*酯（601 mg，1.475 mmol）在DCM（6 mL）中的攪拌溶液中滴加TFA（2.0 mL）。將所得混合物在室溫攪拌1 h。將所得混合物在真空下濃縮。這產生呈淡黃色油狀物的(2*S*)-2-

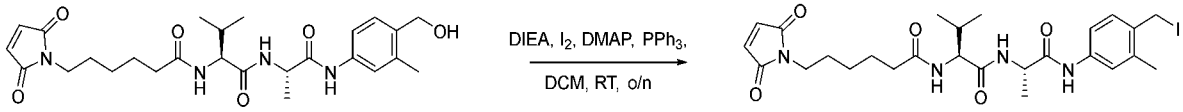
胺基-*N*-[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-3-甲基苯基]胺基甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺（245 mg）。

6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-3-甲基苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺的合成



【0935】 在氮氣氣氛下，向攪拌的DMF（5 mL）中的(2*S*)-2-胺基-*N*-[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-3-甲基苯基]胺基甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺（400 mg，1.303 mmol）中分批添加6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（441.4 mg，1.4332 mmol）和DIEA（1680.7 mg，13.0290 mmol）。將所得混合物在氮氣氣氛下攪拌2 h。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用DCM/MeOH（20/1）洗脫）純化，以得到呈白色固體的6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-3-甲基苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺（340 mg）。

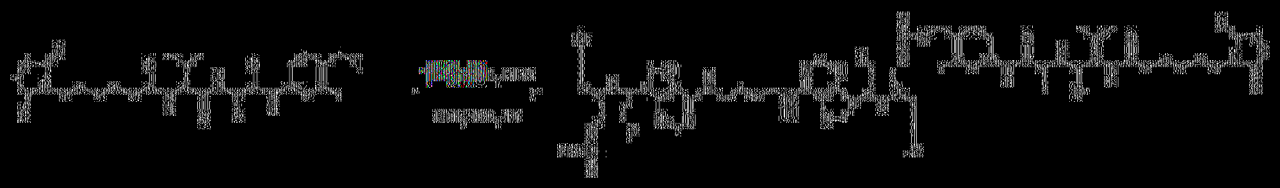
6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(碘甲基)-3-甲基苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺的合成



【0936】 在氮氣氣氛下在室溫，向6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-3-甲基苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺（120 mg，0.2400 mmol）和DMAP（11.7 mg，0.096 mmol）在DCM（1.5 mL）中的攪拌溶液中分批添加PPh_3（94.3 mg，0.3600 mmol）、I2和DIEA。將所得混合物在氮氣氣氛下在室溫攪拌過夜。將所得混合物在真空下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用DCM / IPA（95/5）洗

肽）純化，以得到呈淡黃色固體的6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(胍基)-3-[(苄氧基)羰基]丁基]胺基}-1-側氧基-3-[(苄氧基)羰基]丙-2-基]胺基}-2-甲基-1-側氧基丙-2-基]己醯胺（20 mg）。

N-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-({[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氫-34,39-二側氧基-39-氧硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十-5,7,9,11,15,19,21,23,25-十烯-34-基]氧硫基}甲基)-3-甲基苯基]胺基}甲醯基)-2-甲基丙-2-基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺（CLP50）的合成



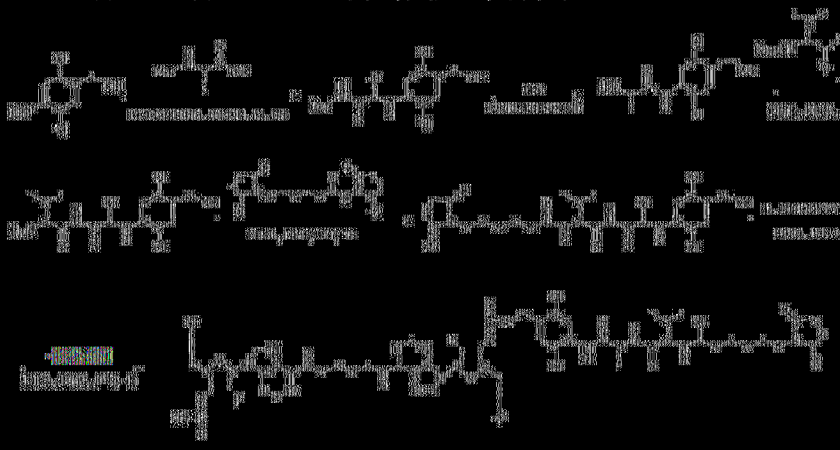
[(0937)] 在氮氣氣氛下在0°C，向6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(胍基)-3-[(苄氧基)羰基]丁基]胺基}-2-甲基-1-側氧基丙-2-基]己醯胺（81.8 mg，0.134 mmol）和DIEA（43.28 mg，0.335 mmol）在DMF（1.2 mL）中的攪拌溶液中滴加化合物1（50 mg，0.067 mmol）。將所得混合物在氮氣氣氛下在0°C攪拌1 h。將粗製產物藉由製備型HPLC用以下條件純化（柱：Xcelect CSH F-phenyl OBD柱，19*250 mm，5μm；流動相A：水（0.1%FA），流動相B：MeCN；流速：25 mL/min；梯度：在13 min內20% B至40% B，40% B；波長：254 nm；RT1（min）：11.2）。這產生呈白色固體的*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-({[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氫-34,39-二側氧基-39-氧硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十-5,7,9,11,15,19,21,23,25-十烯-34-基]

氧硫基}甲基)-3-甲氧苯基胺基甲醯基}乙基胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺（LP50）（6.8 mg）。

[0938] LC-MS (ESI): [M+H]+: 1229.10。

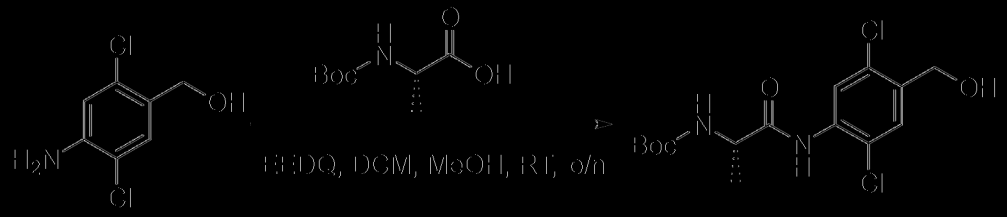
50. LP51的合成

[0939] LP51的合成如下所示：



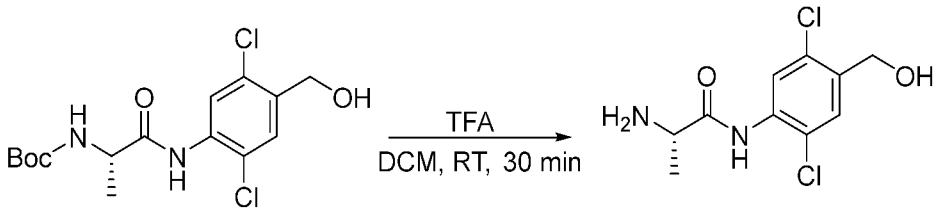
。

N-[(1*S*)-1-{[2,5-二氯-4-(羥基甲基)苯基胺基甲醯基]乙基胺基甲酸三級丁酯的合成



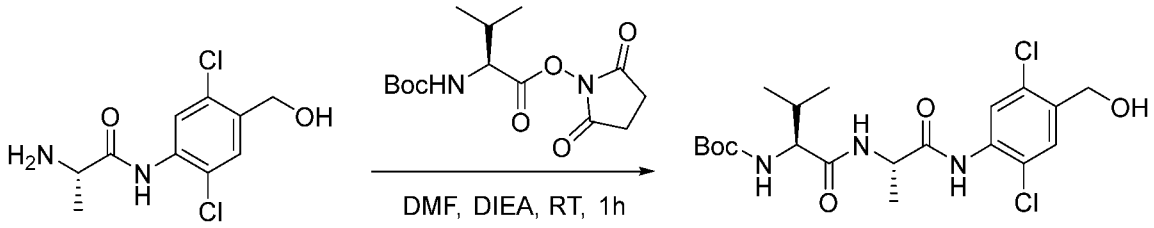
[0940] 將(4-胺基-2,5-二氯苯基)甲醇（500 mg，2.604 mmol）、EEDQ（1.29 g，5.208 mmol）和(2*S*)-2-{[(三級丁氧基)羰基]胺基}丙酸在DCM（6 mL）、MeOH（1 mL）中的混合物在室氮氣氛下在室溫攪拌過夜。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用DCM / EtOAc（3/1）洗脫）純化，以得到呈白色固體的*N*-[(1*S*)-1-{[2,5-二氯-4-(羥基甲基)苯基胺基甲醯基}乙基胺基甲酸三級丁酯（248 mg）。

(2*S*)-2-胺基-*N*-[2,5-二氯-4-(羥基甲基)苯基]戊烯醯胺的合成



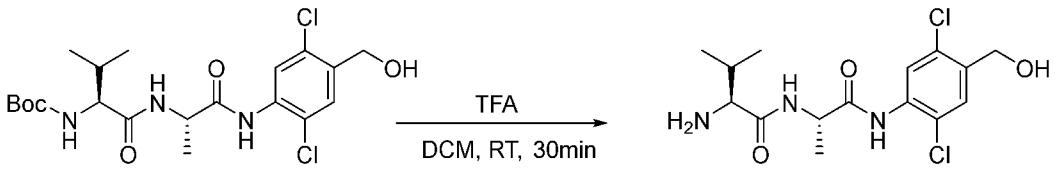
【0941】 將*N*-[(1*S*)-1-{[2,5-二氯-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲酸*三級丁基*酯（238 mg，0.655 mmol）和TFA（1 mL）在DCM（3 mL）中的溶液在室溫攪拌30 min。將所得混合物在減壓下濃縮，以得到呈黃色油狀物的(2*S*)-2-胺基-*N*-[2,5-二氯-4-(羥基甲基)苯基]丙醯胺（172 mg）。

_N_-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[2,5-二氯-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸*三級丁基*酯的合成



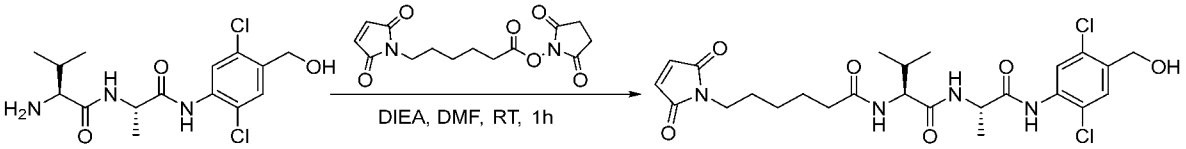
【0942】 將(2*S*)-2-胺基-*N*-[2,5-二氯-4-(羥基甲基)苯基]丙醯胺（150 mg，0.570 mmol）、DIEA（736.79 mg，5.700 mmol）和(2S)-2-{[(*三級丁氧基*)羰基]胺基}-3-甲基丁酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯在DMF（2 mL）中的混合物在室溫攪拌1 h。將反應進行處理，並將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用PE / EtOAc（5/1）洗脫）純化，以得到呈黃色油狀物的*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[2,5-二氯-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸*三級丁基*酯（171 mg）。

(2*S*)-2-胺基-*N*-[(1*S*)-1-{[2,5-二氯-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺的合成



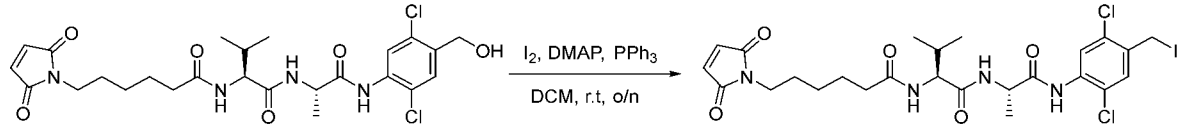
【0943】將*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[2,5-二氯-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸*三級丁基*酯（160 mg，0.346 mmol）和TFA（1 mL）在DCM（3 mL）中的溶液在室溫攪拌30 min。將所得混合物在減壓下濃縮，以得到呈黃色油狀物的(2*S*)-2-胺基-*N*-[(1*S*)-1-{[2,5-二氯-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺（100 mg）。

_N_-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[2,5-二氯-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺的合成



【0944】將(2*S*)-2-胺基-*N*-[(1*S*)-1-{[2,5-二氯-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺（90 mg，0.248 mmol）、6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（84.25 mg，0.273 mmol）和DIEA（321.10 mg，2.480 mmol）在DMF（2 mL）中的混合物在室溫攪拌1 h。將反應進行處理，並將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用DCM/MeOH（10/1）洗脫）純化，以得到呈白色固體的*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[2,5-二氯-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺（80 mg）。

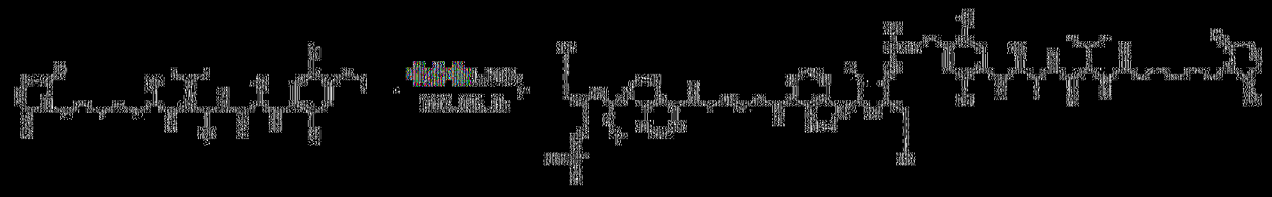
_N_-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[2,5-二氯-4-(碘甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺的合成



【0945】將*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[2,5-二氯-4-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺（40 mg，0.063 mmol）、I_2（23.93 mg，0.095 mmol）、DMAP（3.07 mg，

0.025 mmol）和PPh_3（24.73 mg，0.095 mmol）在DCM（2 mL）中的溶液在室溫攪拌過夜。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用DCM/IPA（10/1）洗脫）純化，以得到呈白色固體的*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[2,5-二氧-4-(喹唑啉-2-基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺（35 mg）。

N-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[2,5-二氧-4-({[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氧-34,39-二側氧基-39-氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-34-基]氫硫基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺（CLP51）的合成



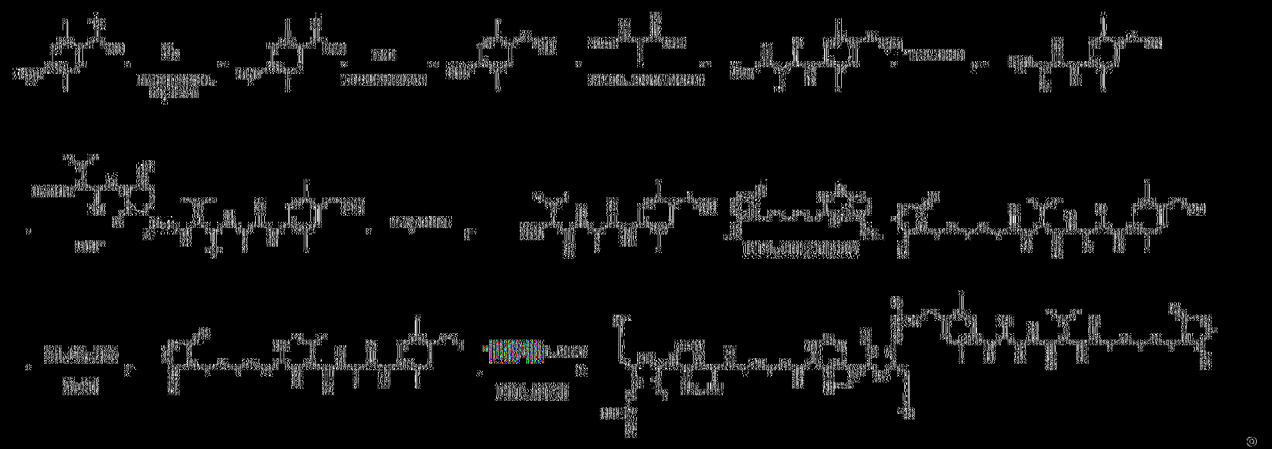
[0946] 將*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[2,5-二氧-4-(喹唑啉-2-基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺（73.12 mg，0.108 mmol）、化合物1（40 mg，0.054 mmol）和DIEA（34.62 mg，0.270 mmol）在DMF（1 mL）中的混合物在氮氣氣氛下在0°C攪拌1 h。將粗製產物藉由製備型HPLC用以下條件純化（柱：XBridge Shield RP18 OBD柱，19*250 mm，10 μm；流動相A：水（10 mmol/L NH_4HCO_3），流動相B：MeCN；流速：25 mL/min；梯度：在13 min內32% B至32% B，32% B；波長：254 nm；RT1（min）：11.5）；以得到呈白色固體的*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[2,5-二氧-4-({[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氧-34,39-二側氧

基-39-氧硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十二烷-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-34-基]甲基}苯甲醯基)乙基]胺基}甲醯基)-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)己醯胺（CLP51）（5.5 mg）。

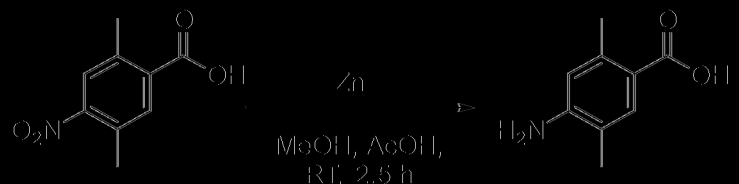
[0947] LC-MS (ESI): [M+H]$^+$: 1282.95。

51. CLP52的合成

[0948] CLP52的合成如下所示：

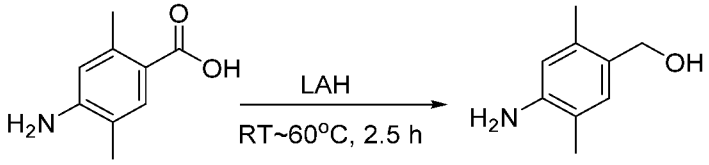


4-胺基-2,5-二甲基苯甲酸的合成



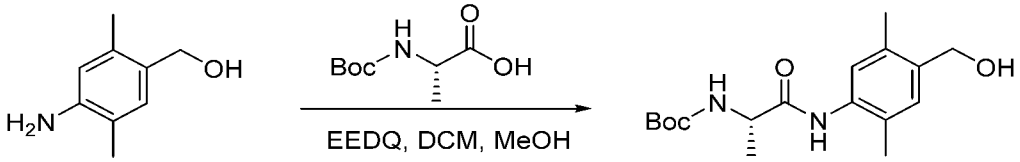
[0949] 將Zn（3.4 g，51.235 mmol）添加至2,5-二甲基-4-硝基苯甲酸（2 g，10.247 mmol）在MeOH（15 mL）和AcOH（3 mL）中的混合物中。將所得混合物在25°C攪拌16 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將所得混合物用EtOAc稀釋、用水洗滌並濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱析法（用PE/EtOAc（1:1）洗脫）純化。這產生1.1 g呈灰白色固體的4-胺基-2,5-二甲基苯甲酸。LC-MS (ESI): 166 [M+H]$^+$。

(4-胺基-2,5-二甲基苯基)甲醇的合成



【0950】在0°C，將LAH（13.3 ml，13.318 mmol）添加至4-胺基-2,5-二甲基苯甲酸（1.1 g，6.659 mmol）在THF（20 mL）中的混合物中。將所得混合物在60°C攪拌2.5 h。將反應在0°C藉由添加MeOH（10 mL）淬滅。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用CH_2Cl_2 / MeOH（10:1）洗脫）純化。這產生500 mg呈黃色固體的(4-胺基-2,5-二甲基苯基)甲醇。LC-MS (ESI): 152 $[M+H]^+$。

***N*-[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-2,5-二甲基苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲酸*三級丁基*酯的合成**

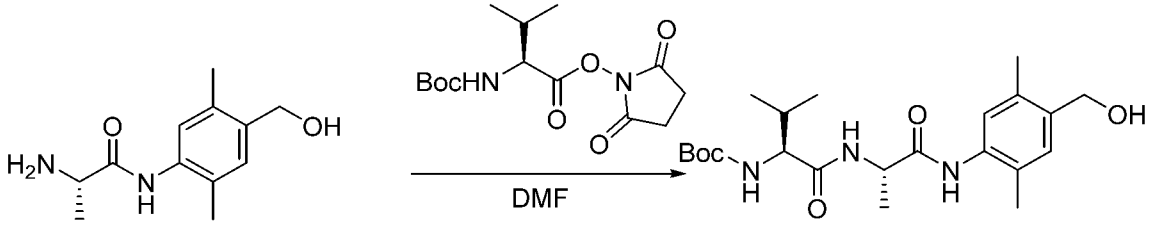


【0951】將EEDQ（1.4 g，5.820 mmol）添加至(4-胺基-2,5-二甲基苯基)甲醇（440 mg，2.910 mmol）和(2*S*)-2-[(*三級丁氧基*羰基)胺基]丙酸（551 mg，2.910 mmol）在DCM（6 mL）和MeOH（1 mL）中的混合物中。將所得混合物在25°C攪拌2 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用PE/EtOAc（1:1）洗脫）純化。這產生800 mg呈白色固體的*N*-[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-2,5-二甲基苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲酸*三級丁基*酯。LC-MS (ESI): 323 $[M+H]^+$。

(2*S*)-2-胺基-*N*-[4-(羥基甲基)-2,5-二甲基苯基]丙醯胺的合成

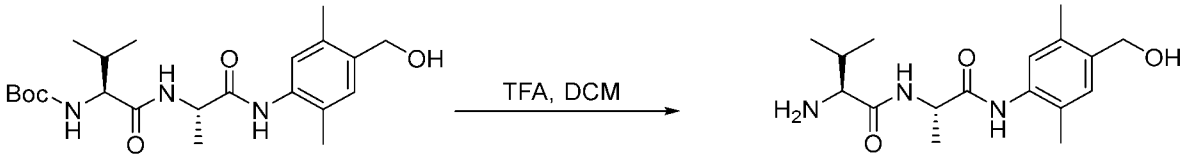
【0952】 在0ºC，將TFA（5 mL）添加至*N*-[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-2,5-二甲基苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲酸*三級丁基*酯（760 mg，2.357 mmol）在DCM（5 mL）中的混合物中。將所得混合物在25ºC攪拌2.5 h。將所得混合物在減壓下濃縮。在0ºC，向上述混合物中滴加K_2CO_3（652 mg，4.714 mmol）、MeOH（4 mL）、THF（4 mL）和H_2O（4 mL）。將所得混合物在25ºC再攪拌2 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用CH_2Cl_2 / MeOH（5:1）洗脫）純化。這產生460 mg呈黃色固體的(2S)-2-胺基-*N*-[4-(羥基甲基)-2,5-二甲基苯基]丙醯胺。LC-MS (ESI): 223 $[M+H]^+$。

_N_-[(1_S_)-1-{[(1_S_)-1-{[4-(羥基甲基)-2,5-二甲基苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸*三級丁基*酯的合成



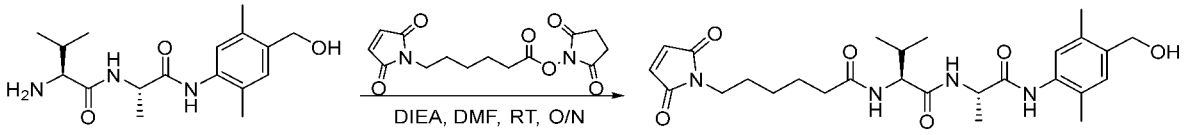
【0953】 將(2*S*)-2-[(*三級丁氧基*羰基)胺基]-3-甲基丁酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（650 mg，2.069 mmol）添加至(2*S*)-2-胺基-*N*-[4-(羥基甲基)-2,5-二甲基苯基]丙醯胺（460 mg，2.069 mmol）在DMF（5 mL）中的混合物中。將所得混合物在25ºC攪拌2 h。將所得混合物用EtOAc稀釋、用水洗滌並濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用PE/EtOAc（1:2）洗脫）純化。這產生呈黃色固體的*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-2,5-二甲基苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸*三級丁基*酯（520 mg）。LC-MS (ESI): 423 $[M+H]^+$。

(2_S_)-2-胺基-_N_-[(1_S_)-1-{[4-(羥基甲基)-2,5-二甲基苯基]胺基甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺的合成



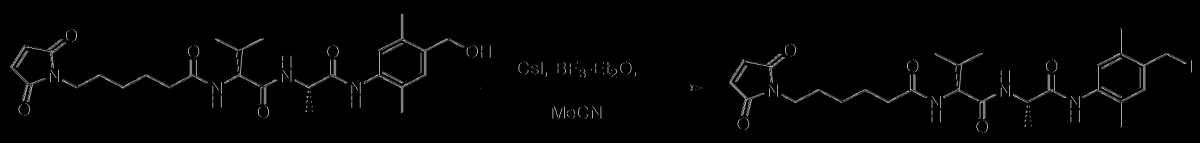
【0954】 在0ºC，將TFA（5 mL）添加至*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-2,5-二甲基苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸*三級丁基*酯（480 mg，1.139 mmol）在DCM（5 mL）中的混合物中。將所得混合物在25ºC攪拌2.5 h。將所得混合物在減壓下濃縮。在0ºC，向上述混合物中滴加K_2CO_3（472.12 mg，3.417 mmol）、MeOH（5 mL）、THF（5 mL）和H_2O（5 mL）。將所得混合物在25ºC再攪拌2 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用CH_2Cl_2 / MeOH（5:1）洗脫）純化。這產生500 mg呈黃色油狀物的(2*S*)-2-胺基-*N*-[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-2,5-二甲基苯基]胺基甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺。LC-MS (ESI): 322[M+H]$^+$。

6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-2,5-二甲基苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺的合成



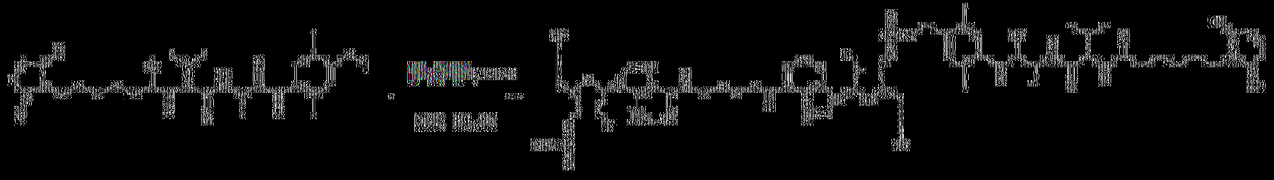
【0955】 將DIEA（386 mg，2.986 mmol）添加至(2*S*)-2-胺基-*N*-[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-2,5-二甲基苯基]胺基甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺（480 mg，1.493 mmol）和6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（460 mg，1.493 mmol）在DMF（5 mL）中的混合物中。將所得混合物在25ºC攪拌3 h。將所得混合物用EtOAc稀釋、用水洗滌並濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用CH_2Cl_2 / MeOH（10:1）洗脫）純化。這產生600 mg呈黃色固體的6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥基甲基)-2,5-二甲基苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺。LC-MS (ESI): 515 [M+H]$^+$。

6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(碘甲基)-2,5-二甲基苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺的合成



[0956] 將碘化銫（76 mg，0.291 mmol）和$BF_3.Et_2O$（42 mg，0.291 mmol）添加至6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(羥甲基)-2,5-二甲氧苯基]胺甲醯基}乙基]胺甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺（100 mg，0.194 mmol）在MeCN（3 mL）中的混合物中。將所得混合物在氮氣氣氛下在25°C攪拌2 h。將所得混合物用DCM稀釋、用水洗滌並濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用CH_2Cl_2/2-丙醇（10:1）洗脫）純化。這產生85 mg呈白色固體的6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(碘甲基)-2,5-二甲氧苯基]胺甲醯基}乙基]胺甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺。LC-MS (ESI): 625[M+H]+。

N-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-({[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-39-氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十-1(37),5,7,9,11,15,19,21,23,25-十烯-34-基]氫硫基}甲基)-2,5-二甲氧苯基]胺甲醯基}乙基]胺甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺（LP52）的合成



[0957] 將DIEA（43 mg，0.335 mmol）添加至化合物1（50 mg，0.067 mmol）和6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-(碘甲基)-2,5-二甲氧苯基]胺甲醯基}乙基]胺甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺（84 mg，0.134 mmol）在DMF（2 mL）中的混合物中。將所得混合物在25oC攪拌1 h。將粗品藉由製備型HPLC用以下條件純化（柱：Xbridge Prep Phenyl OBD

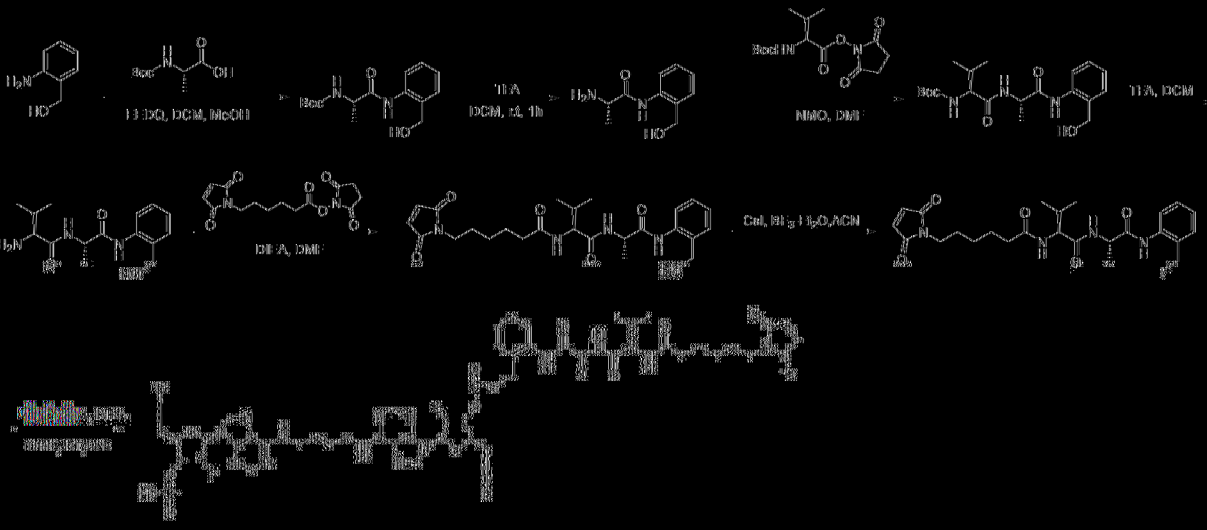
柱，19*250 mm，5 μm；流動相A：水（0.1%FA），流動相B：MeCN；流速：25 mL/min；梯度：在10 min內30% B至45% B，45% B；波長：254 nm；RT1（min）：9）。這產生8.7 mg（10.45%）呈白色固體的*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[4-({[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-39-氨硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ5,39λ5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十-3-烯-5,7,9,11,15,19,21,23,25-壬烯-34-基]氨硫基}甲基)-2,5-二甲基苯基]甲氧基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺（LP52）。

[0958] LC-MS (ESI): 1243.5[M+H]$^+$。

[0959] ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 9.15 (s, 1H), 8.66 (s, 1H), 8.39 – 7.99 (m, 4H), 7.81 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 7.24 – 7.06 (m, 2H), 7.00 (s, 3H), 6.88 – 6.64 (m, 1H), 6.57 (d, *J* = 15.8 Hz, 1H), 6.46 – 6.32 (m, 1H), 5.79 – 5.33 (m, 5H), 5.32 – 4.63 (m, 2H), 4.63 – 4.54 (m, 2H), 4.52 – 4.29 (m, 6H), 4.26 – 4.09 (m, 2H), 4.05 – 3.81 (m, 3H), 3.42 – 3.20 (m, 3H), 2.48 – 2.42 (m, 1H), 2.22 – 2.02 (m, 5H), 1.99 – 1.93 (m, 2H), 1.54 – 1.42 (m, 3H), 1.32 – 1.11 (m, 6H), 0.82 (t, *J* = 7.7 Hz, 6H)。

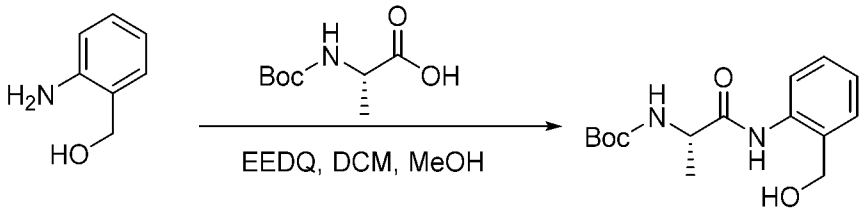
52. *LP53的合成*

[0960] LP53的合成如下所示：



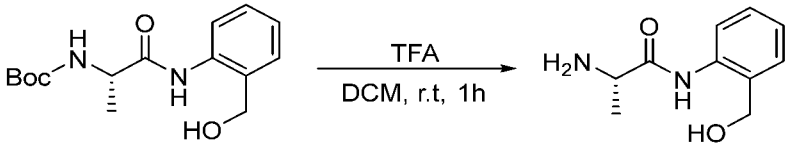
。

_N_-[(1_S_)-1-{[2-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲酸_三級丁基_酯的合成



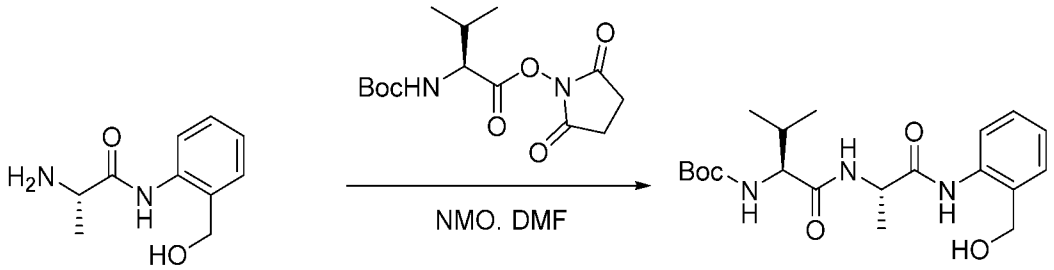
【0961】將2-乙氧基-1,2-二氫喹啉-1-甲酸乙基酯（16.1 g，64.958 mmol）添加至(2-胺基苯基)甲醇（4 g，32.479 mmol）和(2_S_)-2-[(_三級丁氧基_羰基)胺基]丙酸（6.2 g，32.479 mmol）在DCM（24 mL）和MeOH（4 mL）中的混合物中。將所得混合物在25°C攪拌2.5 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將所得混合物用EtOAc稀釋、用水洗滌並濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用PE/EtOAc（1:2）洗脫）純化。這產生9 g呈白色固體的_N_-[(1_S_)-1-{[2-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲酸_三級丁基_酯。LC-MS (ESI): 295 $[M+H]^+$。

(2_S_)-2-胺基-_N_-[2-(羥基甲基)苯基]丙醯胺的合成



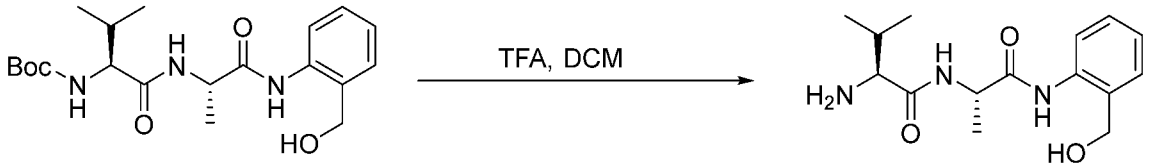
【0962】在0°C，將TFA（20 ml）添加至_N_-[(1S)-1-{[2-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲酸_三級丁基_酯（9 g，30.576 mmol）在DCM（20 mL）中的混合物中。將所得混合物在25°C攪拌2 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用CH_2Cl_2 / MeOH（5:1）洗脫）純化。這產生5 g呈黃色固體的(2_S_)-2-胺基-_N_-[2-(羥基甲基)苯基]丙醯胺。LC-MS (ESI): 195 $[M+H]^+$。

_N_-[(1_S_)-1-{[(1_S_)-1-{[2-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸_三級丁基_酯的合成：



【0963】將NMO（5.3 g，45.306 mmol）添加至(2*S*)-2-胺基-*N*-[2-(羥基甲基)苯基]丙醯胺（4.4 g，22.653 mmol）和(2*S*)-2-[(*三級丁氧基*羰基)胺基]-3-甲基丁酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（7.1 g，22.653 mmol）在DMF（20 mL）中的混合物中。將所得混合物在25°C攪拌2 h。將所得混合物用EtOAc稀釋、用水洗滌並濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用CH_2Cl_2 / MeOH（5:1）洗脫）純化。這產生5.1 g呈黃色固體的*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[2-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸*三級丁基*酯。LC-MS (ESI): 394 $[M+H]^+$。

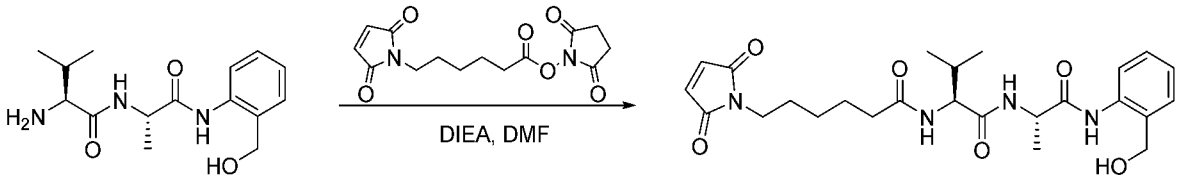
(2*S*)-2-胺基-*N*-[(1*S*)-1-{[2-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺的合成



【0964】在0°C，將TFA（15 mL）添加至*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[2-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]胺基甲酸*三級丁基*酯（5.1 g，12.961 mmol）在DCM（15 mL）中的混合物中。將所得混合物在25°C攪拌2.5 h。將所得混合物在減壓下濃縮。在0°C，向上述混合物中滴加K_2CO_3（5.4 g，38.883 mmol）、MeOH（10 mL）、THF（10 mL）和H_2O（10 mL）。將所得混合物在25°C再攪拌2 h。將所得混合物在減壓下濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用CH_2Cl_2 / MeOH（5:1）洗脫）純化。這產生2.52 g呈白色固體的(2*S*)-

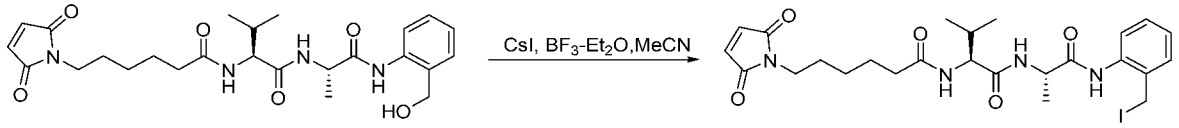
2-胺基-*N*-[(1*S*)-1-{[2-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺。LC-MS (ESI): 294[M+H]$^+$。

6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[2-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺的合成



【0965】將DIEA（2.2 g，17.044 mmol）添加至(2*S*)-2-胺基-*N*-[(1*S*)-1-{[2-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]-3-甲基丁醯胺（2.5 g，8.522 mmol）和6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯（2.63 g，8.522 mmol）在DMF（10 mL）中的混合物中。將所得混合物在25ºC攪拌2 h。將所得混合物用EtOAc稀釋、用水洗滌並濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用PE/EtOAc（1:1）洗脫）純化。這產生1.65 g呈黃色固體的6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[2-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺。LC-MS (ESI): 487 [M+H]$^+$。

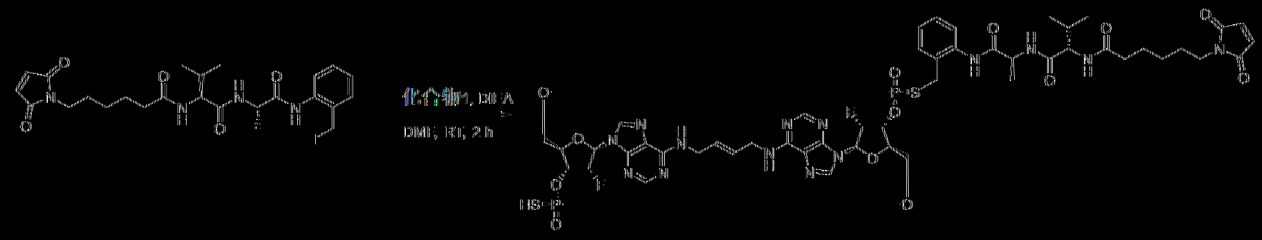
6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[2-(碘甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺的合成



【0966】將碘化銫（400 mg，1.542 mmol）和$BF_3.Et_2O$（219 mg，1.542 mmol）添加至6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[2-(羥基甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺（500 mg，1.028 mmol）在MeCN（5 mL）中的混合物中。將所得混合物在氮氣氣氛下在25ºC攪拌2 h。將所得混合物用DCM稀釋、用水洗滌並濃縮。將殘餘物藉由矽膠柱層析法（用CH_2Cl_2 / 2-丙醇（7:1）洗脫）純化。這產生300 mg呈白色固體

的6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[2-(碘甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺。LC-MS (ESI): 597 [M+H]$^+$。

N-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[2-({[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-39-氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ^5,39λ^5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十-5,7,9,11,15,19,21,23,25-十烯-34-基]氫硫基}甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺（CLP53）的合成



[0967] 將DIEA（43 mg，0.335 mmol）添加至化合物1（50 mg，0.067 mmol）和6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)-*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[2-(碘甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]己醯胺（80 mg，0.134 mmol）在DMF（2 mL）中的混合物中。將所得混合物在25°C攪拌1 h。將粗品藉由製備型HPLC用以下條件純化：柱：XSelect CSH Prep C18 OBD柱，19*250 mm，5μm；流動相A：水（10 mmol/L NH_4HCO_3），流動相B：MeCN；流速：25 mL/min；梯度：在13 min內30% B至30% B，30% B；波長：254 nm；RT1（min）：11.2。這產生12.7 mg呈白色固體的*N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-1-{[2-({[(1*R*,3*R*,15*E*,28*R*,29*R*,30*R*,31*R*,34*S*,36*R*,39*R*,41*R*)-29,41-二氟-34,39-二側氧基-39-氫硫基-2,33,35,38,40,42-六氧雜-4,6,9,11,13,18,20,22,25,27-十氮雜-34λ^5,39λ^5-二磷雜八環[28.6.4.1^{3,36}.1^{28,31}.0^{4,8}.0^{7,12}.0^{19,24}.0^{23,27}]四十-5,7,9,11,15,19,21,23,25-十

烯-34-基]氫硫基}甲基)苯基]胺基甲醯基}乙基]胺基甲醯基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)己醯胺（**LP53**）。LC-MS (ESI): 1215.30[M+H]$^+$。

實例2. J591的人源化

1 方法

1.1 電腦建模

【0968】使用抗體預測工具在薛定諤的BioLuminate中對J591進行建模。將J591與最接近的人種系IGHV1-2*06和IGKV1-13*02進行比對。分析該等亞家族在人群中的流行率，該等亞家族的代表性或相互配對程度不高。參見，例如Tiller等人 (2013) mAbs [單株抗體] 5:3, 445-470。因此，使用非常相似的亞家族IGHV1-69-2*01和IGKV1-39*01。

【0969】小鼠的可變結構域和CDR移植序列用於生成電腦結構模型。遵循同源結構域方案，使用薛定諤的BioLuminate軟體生成模型。

1.2 基因合成與選殖

1.2.1 InFusion選殖

【0970】人源化重可變結構域和輕可變結構域針對在HEK293細胞中的表現進行了密碼子優化，並由賽默飛世爾科技公司（Thermo Fisher Scientific）合成。可變結構域被合成為具有Kozak翻譯起始序列和Ig分泌前導序列，並在5'和3'端處包括與亞選殖載體內的選殖位點同源的15個鹼基對。使用InFusion HD選殖套組（選殖技術公司（Clontech））將基因藝術公司（GeneArt）合成的PCR片段亞選殖到含有人γ或κ恒定區的表現質體中。對所有殖株進行定序以證實插入序列的存在和保真性。

1.2.2 定點誘變

【0971】根據製造商的方案，使用安捷倫公司（Agilent）的QuikChange Lightning生成突變。藉由DNA定序證實了所需突變。

1.3 細胞培養

1.3.1 轉染和穩定細胞系生成

【0972】對於待用ExpiFectamine（賽默飛世爾公司（ThermoFisher））轉染的每毫升細胞，將333.3 ng HC質體和333.3 ng LC質體在50 μL Opti-MEM（賽默飛世爾公司）中孵育5-10 min。同樣，將2.67 μL ExpiFectamine在50 μL Opti-MEM中孵育。將ExpiFectamine溶液添加至DNA混合物中並在室溫孵育20-30 min。在渦旋的同時將DNA:ExpiFectamine混合物添加至細胞中並在37°C、8% CO_2、125 rpm振盪下孵育。第二天，添加5 μL增強子1和50 μL增強子2/mL細胞至轉染中，並且再繼續孵育7-10天。

【0973】表現抗體的穩定池藉由如下進行選擇：轉染後一到三天，將1 mL轉染子添加至T75燒瓶中的含10%胎牛血清的14 mL DMEM（具有5 μg/mL殺稻瘟菌素（賽默飛世爾公司）和400 μg/mL博萊黴素（英維健公司（Invivogen））中。在耐藥細胞生長至匯合後，將培養基更換為FreeStyle 293表現培養基，培養24至48 h。藉由敲擊燒瓶將細胞物理移出（胰蛋白酶消化（trypsinization）導致低活力，數據未顯示），然後以6 x 10^5個細胞/mL接種到125 mL搖瓶中的30 mL FreeStyle 293表現培養基中。將培養物在37°C、8% CO_2、125 rpm振盪下孵育。

1.3.2 MAb和Fab生產

【0974】將穩定轉染的細胞系池以0.6 x 10^6至1 x 10^6個細胞/mL接種在FreeStyle 293表現培養基中。將細胞在37°C、8% CO_2、125 rpm振盪下孵育。在培養物密度達到1 x 10^6個細胞/mL兩天後，用最終濃度10 g/L精選大豆胰（BD生物科學公司（BD Biosciences））、5 mM戊酸（西格瑪奧德里奇公司（Sigma

Aldrich））和1:100 CD脂質濃縮物（賽默飛世爾公司）對培養物進行補料。當細胞活力低於50%（7-10天）時，將培養物在Beckman JLA8.1000轉子中以8000 rpm離心30 min。然後將上清液通過0.2 μm PES過濾器過濾並儲存在4°C或-20°C直到純化。

1.4 MAb和Fab純化

【0975】 使用兩種方法之一純化MAb。對於少於10 mL的mAb和Fab上清液，分別使用蛋白A樹脂或抗κ樹脂的批量純化方法進行親和層析法。分別使用預填充蛋白A柱或抗κ柱純化大於25 mL的MAb和Fab上清液。

1.4.1 批量純化

【0976】 使用DPBS平衡Prosep-vA高容量蛋白A樹脂（密理博公司（Millipore））或CaptureSelect™ KappaSelect LC-κ樹脂（賽默飛世爾公司），並將100 μL添加至3至6 mL樣本中。在4°C孵育1小時至過夜後，將樹脂用1 mL DPBS洗滌三次並以15,000 x *g*離心30 s。藉由添加400 μL 0.1 M甘胺酸（pH 2.9），隨後以15,000 x *g*離心30 s，將樣本從樹脂洗脫下來。將樣本用40 μL的1 M Tris（pH 8.0）中和。使用0.5 mL Amicon Ultra、10k截留過濾器（密理博公司），藉由以15,000 x *g*離心3至5分鐘將樣本濃縮至約100 μL，從而更換緩衝液。將濃縮的樣本在400 μL DPBS中稀釋，隨後進行離心。該過程總共重複四次。

1.4.2 柱純化

【0977】 蛋白A或HiTrap KappaSelect柱（通用電氣醫療集團（GE Healthcare））用10個柱體積（CV）的20 mM磷酸鈉、10 mM EDTA，pH 7.2進行平衡。然後載入樣本，隨後用10 CV的平衡緩衝液洗滌未結合的材料。使用5 CV的0.1 M甘胺酸（pH 2.9）洗脫樣本。合併含有mAb的級分，並使用MWCO 20K Slide-A-Lyzer（賽默飛世爾公司）在DPBS中進行透析。

1.5 ELISA篩選

【0978】 ELISA板（384孔高結合，格雷納公司（Greiner）編號781061）用50 mM碳酸鹽-碳酸氫鹽（pH 9.4）（皮爾斯公司（Pierce）編號28382）中的1 μg/mL抗原包被，並在4°C孵育過夜。使用BioTek ELX405洗板機用洗滌緩衝液將板洗滌三次。洗滌緩衝液由PBS（康寧公司（Corning）編號46-013-CM）和0.05% Tween20（塞拉凱公司（SeraCare）編號5460-0020）製成。用含有0.05% Tween20和1% BSA（西格瑪公司（Sigma）A7906）的PBS製成的測定緩衝液封閉板，並在4°C孵育過夜。吸乾板後添加樣本，然後在4°C孵育過夜。將板洗滌三次，然後添加在測定緩衝液中以1:10,000稀釋的HRP軛合的山羊抗兔IgG H+L抗體（傑克遜免疫研究公司（Jackson ImmunoResearch）編號111-035-144），並在室溫孵育1小時。將板洗滌三次並添加TMB底物（塞拉凱公司編號5120-0078），並且在室溫孵育20分鐘。在BMG CLARIOstar讀板器上在370 nm處讀取板。

1.6 用於結合分析的BIAcore方法

方法概述

【0979】 抗PSMA抗體樣本與人PSMA的親和力藉由表面電漿共振使用捕獲測定形式測定，藉由該捕獲測定形式，抗體配體首先被BIAcore CM5晶片上固定的抗人Fc捕獲。使用多循環結合測定形式並注射一系列濃度的人PSMA來測定抗體樣本的親和力。使用BIA評估、使用1:1 Langmuir模型進行數據擬合。

抗人抗體晶片固定

【0980】 採用標準偶聯方案藉由暴露的伯胺固定Fc特異性IgG。使用10 mM乙酸鈉（pH 5.0）（思蒂瓦公司（Cytiva），BR1008390）將抗Fc IgG儲備溶液（思蒂瓦公司，BR100839）稀釋至25 μg/mL。使用1X HBS-P+（思蒂瓦公司，BR100671）作為運行緩衝液在25°C進行固定。藉由注入新鮮製備的1:1

NHS:EDC（思蒂瓦公司，BR100050）7 min（10 µL/min）來活化CM5生物感測器晶片（思蒂瓦公司，29149603）上所有四個流動池的CM-葡聚糖表面。然後以5 µl/min的流速注射25 µg/mL抗Fc IgG溶液持續6 min。此偶聯後注射7 min（10 µl/min）的1 M乙醇胺（思蒂瓦公司，BR100050），使殘留反應性位點失活。通常，使用此方法偶聯6,000 RU的抗Fc IgG。

進一步之方法細節

【0981】篩選分析在BIAcore T-200儀器（思蒂瓦公司）上於25°C和10 Hz數據收集速率下進行。在運行緩衝液（1X HBS-P+中的0.2% BSA（BSA來自VWR公司，9048-46-8））中製備配體和分析物儲備溶液，並在環境溫度以18,000 x rcf離心5分鐘。

【0982】隨後將配體溶液稀釋至最終濃度5 µg/mL，並將人PSMA分析物（R&D系統公司（R and D Systems））稀釋至最終濃度50、12.5、3.125、0.781、0.195、0.049、0.012和0 nM。晶片調理（conditioning）重複5次，其中在流動池2、3、4上注射5 µg/mL抗PSMA抗體持續1 min（5 µL/min）。使用3 M $MgCl_2$（思蒂瓦公司，BR100839）將表面再生30 sec（30 µL/min），隨後穩定180 sec。為了評估動力學結合，流動池1作為參考對照，並將配體溶液注射到流動池2、3、4上持續1 min（5 µL/min）。人PSMA樣本以隨機順序以10 µl/min的流速注射到四個表面上。與抗原注射液相同的緩衝液注射液係隨機散佈的，以達到雙重參考的目的。結合和解離階段分別監測5 min和10 min。如調理步驟中所提及的，對表面進行再生。為了確定相互作用的動力學參數，對每個數據集進行雙重參考並全域擬合到1:1相互作用模型（使用BIA評估的Langmuir模型）。

1.7 差示掃描量熱法（DSC）分析

【0983】PEAQ差示掃描量熱儀（瑪律文儀器公司（Malvern Instruments），PEAQ-DSC，s/n MAL1223867，帶有MicroCal PEAQ-DSC軟體v.1.53）用於解密和比較各個F(ab')$_2$片段和對照的高階結構和熱穩定性。使樣本適應環境溫度30分鐘，隨後進行渦旋。將樣本（0.325 mL，0.85 mg/ml）添加至測定板（微量分析用品公司（Microliter Analytical Supply），96孔，500 µL，圓孔和圓底，目錄號07-2100；新蘇瑞公司（Sun Suri）板蓋目錄號300-005）的適當孔中。將0.325 mL的20% Contrad溶液和0.325 mL水添加至測定板的適當孔中。將密封板放入自動進樣器中，保持4°C溫度。

【0984】使用以下測定參數對運行進行程式設計和啟動：

DSC控制：

起始溫度 = 20°C

最終溫度 = 100°C

掃描速率 = 60°C/hr

掃描前恒溫器 = 10分鐘

掃描後恒溫器 = 0分鐘

回饋模式/增益 = 無

樣本參數：

孔板體積 = 0.325 mL

清除補充物的數目 = 5

樣本濃度 = 0.85 mg/ml

分子量（道耳頓） = 150,000

清潔設置 = 掃描

溶劑儲罐 = 1號，20% Contrad

沖洗體積 = 10 mL

使用Contrad/20°C-70°C的Contrad（60°C//小時），隨後使用兩種緩衝液/緩衝液注射液進行線上清潔

樣本分析參數：

Y軸刻度單位 = mCal/分鐘

減去緩衝液

基線擬合 = 樣條曲線

擬合 = 非兩種狀態擬合模型

迭代 = 是

2 結果

2.1 人源化和親和力表徵

【0985】 通常，人源化過程涉及將最接近的人種系序列與動物源性抗體序列進行匹配，然後將CDR區移植到人種系框架上。非人殘基可能引發免疫原性反應，導致患者產生抗藥物抗體反應，從而中和抗體的治療性效果。使用IGBLAST（圖1，https://www.ncbi.nlm.nih.gov/igblast/），使用小鼠源性J591序列來搜索最接近的人種系序列。選擇人VH種系家族IGVH1-69-2*01和人VL種系IGKV1-39*01作為種系框架。人源化變體係根據CDR的線性位置（由Kabat和IMGT兩者定義）生成的。J591 CDR被移植到該等人框架上，由此小鼠源性CDR替代了人CDR。由於CDR長度有幾種定義，因此所移植的CDR序列涵蓋IMGT和Kabat定義兩者（Vhzu1和Vkzu1）。這增加了將整個互補位移植到人框架上的可能性。取代了整個可變序列中額外的小鼠或人殘基，以增加人性化（humanness），而不影響對PSMA的親和力。

【0986】 生成了J591的電腦模型，並鑒定了與CDR相鄰的、小鼠以及Vhzu1和Vkzu1人源化序列之間不同的框架殘基（圖2）。隨後的人源化Vh變體

2至10係藉由在整個框架中添加小鼠殘基生成的。未鑒定出額外的小鼠Vk殘基對抗原結合有潛在影響。

【0987】 人源化HC 1至10與人源化LCzu1配對，並藉由ELISA測試了PSMA結合（圖3）。將PSMA包被在板上，用封閉溶液封閉，然後與不同濃度的抗體一起孵育。洗滌板以除去未結合的抗體後，添加HRP軛合的檢測抗體。除去未結合的檢測抗體後，將TMB添加至板中。用H_2SO_4終止HRP和TMB之間的反應，並對板進行分析。除zu4之外的所有HC變體與PSMA的結合類似於或優於J591。HCzu4-LCzu1抗體表現較差，並且缺乏結合可能是由於蛋白質數量不足而不是HC序列所致。

【0988】 藉由SPR分析抗體-PSMA相互作用的KD。測定了每種抗體的KD，並且每種人源化變體、deJ591和J591的KD的差異很小（2.5倍內）（表17）。使用BIAcore T-200儀器藉由SPR分析J591抗體變體和PSMA之間的結合動力學。

【表**17**】.所有人源化HC均以與J591和deJ591類似的親和力結合PSMA

	k_a	k_d	K_D	備註
HCzu1LCzu1	3.24E+04	6.88E-05	2.12E-09	
HCzu2LCzu1	2.90E+04	6.28E-05	2.17E-09	
HCzu3LCzu1	3.45E+04	7.72E-05	2.24E-09	
HCzu4LCzu1	6.95E+04	2.39E-04	3.45E-09	抗體捕獲不良
HCzu5LCzu1	3.85E+04	1.19E-04	3.10E-09	
HCzu6LCzu1	3.94E+04	1.07E-04	2.72E-09	
HCzu7LCzu1	5.82E+04	1.00E-04	1.72E-09	
HCzu8LCzu1	6.14E+04	9.38E-05	1.53E-09	
HCzu9LCzu1	7.33E+04	1.01E-04	1.38E-09	
HCzu10LCzu1	5.99E+04	1.05E-04	1.74E-09	
J591	1.03E+05	1.27E-04	1.22E-09	
de J591	7.81E+04	1.43E-04	1.82E-09	

【0989】第一組中人源化程度最高的HC-LC組合係HCzu1-LCzu1，證明了人框架中不需要額外的小鼠殘基來支持抗原結合。然後藉由在CDRH2中Kabat定義的位置60和61，CDRL1中殘基24、33和34，以及CDRL2中殘基56處反向添加（add back）更多的人殘基，對序列進行超人源化（圖1）。每個HC與每個LC配對，並藉由ELISA分析了PSMA結合。藉由對與各個LC配對的單獨的HC進行比較，HC的變化對抗原結合的影響很小（圖4）。LCzu3和LCzu6配對往往表現出比其他超人源化變體更弱的結合。兩種LC變體分別在位置33和34處含有Leu和Asn殘基，表明該區域的小鼠殘基改進了PSMA結合。選擇該等抗體變體中的幾種進行進一步表徵。

【0990】HCzu1、HCzu2、HCzu3和HCzu14各自與LCzu1配對。藉由SPR分析該等抗體對PSMA的親和力。與LCzu1配對的人源化HC變體之間的KD幾乎沒有差異（表18）。HCzu14係最人性化的序列（the most human sequence），並且被選為主要HC變體。HCzu14與每個人源化LC變體配對，並藉由SPR測量對PSMA的親和力（表19）。與J591類似，與LCzu1、2、4和5配對的HCzu14保留了對PSMA的親和力。正如ELISA篩選所見，與LCzu3和LCzu6配對導致親和力降低，再次證明了CDRL2殘基33和34的作用。

【表**18**】.人源化程度最高的變體Hczu14-LCzu5保留與J591類似的PSMA親和力

	k_a	k_d	K_D
J591-HCzu1LCzu1	5.29E+04	1.05E-04	1.98E-09
J591-HCzu2LCzu1	2.84E+04	7.71E-05	2.71E-09
J591-HCzu3LCzu1	3.89E+04	8.45E-05	2.17E-09
J591-HCzu14LCzu1	3.50E+04	1.42E-04	4.07E-09
J591-HCzu14LCzu5	4.14E+04	1.30E-04	3.13E-09
J591	1.06E+05	1.21E-04	1.14E-09

【表19】.人源化程度最高的變體Hczu14-LCzu5保留與J591類似的PSMA親和力

配體	k_a	k_d	K_D
J591	5.69E+04	6.56E-05	1.14E-09
Hzu14-Lzu1	3.79E+04	5.06E-05	1.34E-09
Hzu14-Lzu2	2.82E+04	5.84E-05	2.07E-09
Hzu14-Lzu3	2.62E+04	9.01E-05	3.44E-09
Hzu14-Lzu4	3.05E+04	5.19E-05	1.70E-09
Hzu14-Lzu5	2.73E+04	5.06E-05	1.85E-09
Hzu14-Lzu6	2.15E+04	1.34E-04	6.23E-09

2.2 J591和人源化變體的熱穩定性

【0991】 藉由差示掃描量熱法分析人源化抗體的熱穩定性。首先在完整抗體的上下文中分析Fab結構域的轉變中點（Tm）。對三批deJ591進行了分析，Fab顯示出兩個重疊峰，其中平均Tm為67.3和70.37（圖5A）。對於抗體來說，這種特徵非常不尋常。Fab通常會顯示Tm在mid-70s至mid-80s °C的單個峰。該等數據表明deJ591 Fab區域非常不穩定。藉由DSC分析人源化變體HCzu1-LCzu1、HCzu2-LCzu1、HCzu3-LCzu1、HCzu14-LCzu1和HCzu14-LCzu5並與deJ591進行比較（圖5B）。所有人源化變體均顯示出抗體穩定性的顯著改進。正如對HCzu14-LCzu1和HCzu14-LCzu5進行比較時所見，LCzu1和LCzu5在抗體穩定性方面沒有顯示出差異。HC變體之間的熱穩定性存在微小差異。HCzu3係最穩定的變體，Tm為85.3°C。HCzu1和HCzu2非常相似，Tm分別為83.93°C和83.43°C。當與LCzu1和LCzu4配對時，HCzu14顯示出最低的Tm，分別為82.36°C和82.25°C。該等數據表明Ile 48、Asn 60和Gln 61（由Kabat定義）在一定程度上有助於Fab穩定性。鑒於1) HCzu3和HCzu14的Tm差異僅為

3°C，2) HCzu14-LCzu5的Tm較高，以及3) HCzu14-LCzu5係人源化程度最高的序列，因此選擇人源化變體HCzu14-LCzu5進行進一步開發。

【0992】 HCzu14-LCzu5-IgG1抗體被修飾為包括位點特異性軛合殘基。將用於轉麩醯胺酸酶介導的軛合的兩個醯基受體位點和兩個未配對的馬來醯亞胺反應性半胱胺酸摻入IgG1主鏈中，並分析了Fab的穩定性。IgRH2在CH1中含有T135K突變，用於生成DAR 2軛合物。IgRH6在CH1中含有T135K和L193K突變，以生成DAR 4軛合物。IgG1-C80將Vκ中的Pro 80突變為Cys，以生成DAR 2軛合物。IgG1-A118C-C80將Vκ中的Pro 80突變為Cys，將CH1中的Ala 118突變為Cys，以生成DAR 4軛合物。所有突變均在Fab片段內，並分析了每個Fab片段的Tm。對完整抗體進行酶促消化以生成Fab'2和Fc片段後，除去Fc，並藉由DSC分析Fab'2。正如在完整IgG1的上下文中所見（圖5B），deJ591 Fab顯示出具有低Tm的兩個峰（圖5C）。J591 Fab的Tm為單個峰，但顯著（約8°C）低於HCzu14-LCzu5 Fab片段。儘管IgG1-C80-A118C顯示出比其他三個略高的Tm，但位點特異性軛合位點對熱穩定性的影響很小。

實例3.J591和人源化變體的電腦免疫原性預測

1 J591和人源化變體的電腦免疫原性預測方法

【0993】 阿布澤納公司（Abzena）的iTope-AI係一個電腦免疫原性風險評估平臺，使用機器學習預測演算法來預測與代表最常見HLA等位基因的46種HLA-DR、DP和DQ同種型結合的重疊9mer肽。與人蛋白質組完全同源的肽序列通常被排除在分析之外。總體風險評分或頭寸風險評分（Position Risk Score）係藉由對於每個HLA同種異型，為單獨的肽提供0至3的結合評分來計算的，其中將所有HLA-DR、DP和DQ等位基因的評分相加在一起。評分為1-2、3-5或6+的肽的頭寸風險評分分別被認為係弱、中或強混雜MHC II類結合物。藉由計算所有單獨的肽的頭寸風險評分的總和，為整個蛋白質序列分配一個總

評分。具有頭寸風險評分的肽與阿布澤納公司的TCED™數據庫進行交叉引用，該數據庫包含> 10,000種肽，該等肽在阿布澤納公司的離體EpiScreen™研究中刺激了T細胞反應。阿布澤納公司聲稱「該演算法能夠準確預測先前藉由X射線晶體學3D結構鑒定的95%的肽結合核心模體。」阿布澤納公司使用iTope-AI分析了來自嵌合小鼠J591Vh-huIgG1、小鼠J591Vκ-huκ、deJ591-huIgG1、deJ591-huκ、zuJ591-H14-huIgG1和zuJ591-L5-huκ的重疊9mer序列的潛在免疫原性。

2 J591和人源化變體的電腦免疫原性預測結果

【0994】嵌合小鼠J591Vh-huIgG1含有17個弱、中、和強親和力的非種系9mer肽，產生了69的總評分和16的熱點最大值（Hotspot Max）（即最高評分表位的值）（圖6）。該等肽中的七種肽與先前鑒定的T細胞表位部分匹配。潛在的免疫原性肽涵蓋CDRH1、CDRH2和CDRH3，其中大部分與FWRH3至FWRH4的Vh區的C末端一半重疊。「去免疫」deJ591-huIgG1除去了該等肽中的8種肽，並含有9個弱、中、和強親和力的非種系肽，產生了35的總評分和9的熱點最大值。該等肽中的五種肽與先前鑒定的T細胞表位部分匹配。該等肽涵蓋CDRH1-FWRH2和CDRH3-FWRH4。zuJ591-H14-huIgG1的人源化進一步將潛在的免疫原性肽的數量減少到4個弱親和力和強親和力的非種系肽，產生了23的總評分和14的熱點最大值。鑒定出與先前鑒定的T細胞表位的三個部分匹配。該等肽與CDRH1-FWRH2重疊。

【0995】嵌合小鼠J591Vκ-huκ含有23個弱、中、和強親和力的非種系肽，產生了207的總評分和50的熱點最大值（圖7）。四種肽與先前鑒定的T細胞表位部分匹配。所鑒定的肽幾乎遍佈整個序列。「去免疫」deJ591-huκ將潛在的免疫原性肽的數量減少到7個弱、中、和強親和力的非種系肽，產生了94的總評分和50的熱點最大值。沒有肽與先前鑒定的T細胞表位部分匹配。該等

肽位於CDRL1、CDRL2和FWRL3-CDRL3中。zuJ591-L5-huκ的人源化顯示出所鑒定的7個弱、中、和強親和力的非種系肽，與先前鑒定的T細胞表位沒有部分匹配。deJ591-huκ和zuJ591-L5-huκ之間CDRL1和CDRL2中的肽係相同的。然而，增加的zuJ591-L4人源化降低了CDRL2中肽的熱點評分，除去了deJ591-huκ中的FWR3-CDRL3肽，並在CDRL3-FWRL4中產生了新的弱結合肽。zuJ591-huκ的總評分係88且熱點最大值係48。

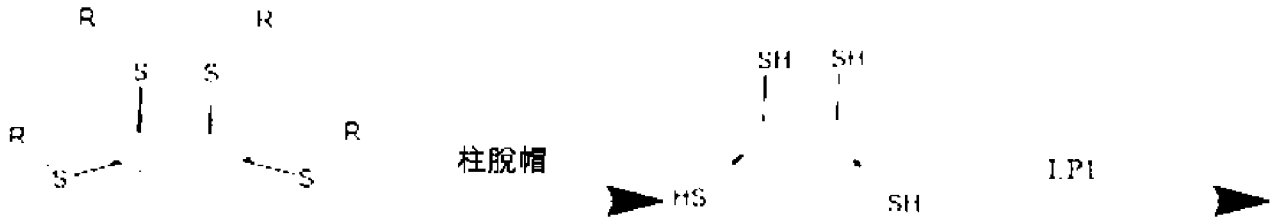
實例4.ADC軛合和表徵

抗PSMA ADC軛合方法

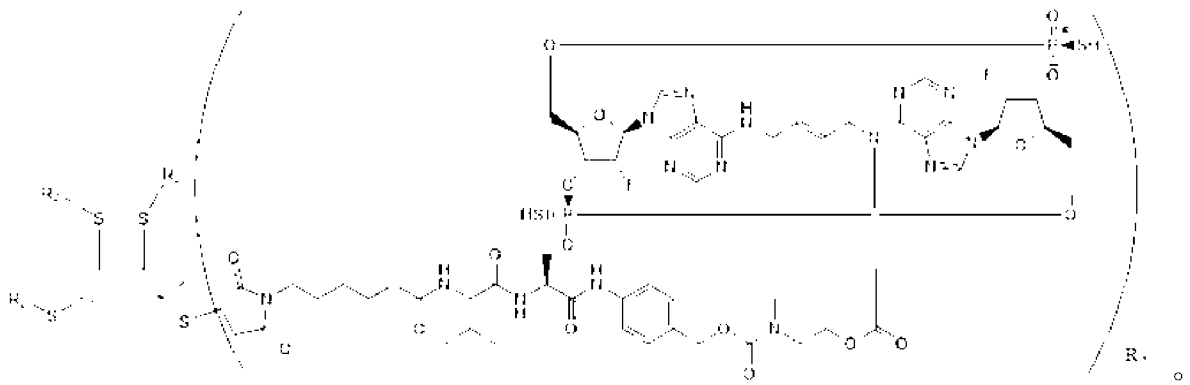
【0996】 抗PSMA ADC被製備為與未配對的半胱胺酸軛合的位點特異性DAR4（抗PSMA-LP1和抗PSMA-LP2），同時抗體保持完整，並且被製備為與抗體部分還原產生的半胱胺酸軛合的隨機DAR4（抗PSMA-LP3）。LP4 – LP29評估了對連接子的修飾，並且LP30 – LP32評估了對有效載荷的修飾。

1.1 抗PSMA-LP1部分和抗PSMA-LP2部分，位點特異性軛合的製備

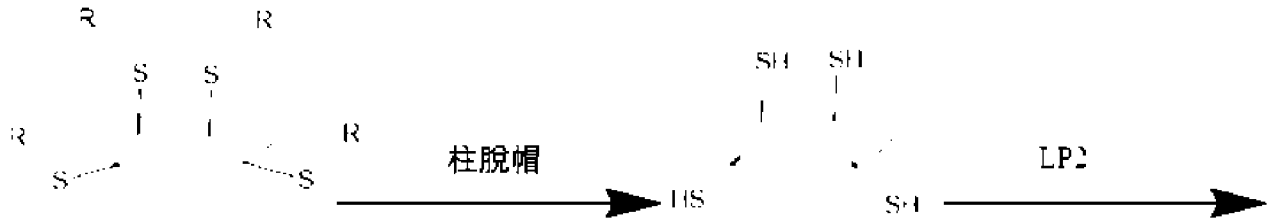
【0997】 抗PSMA-LP1部分軛合的製備方案如下所示：



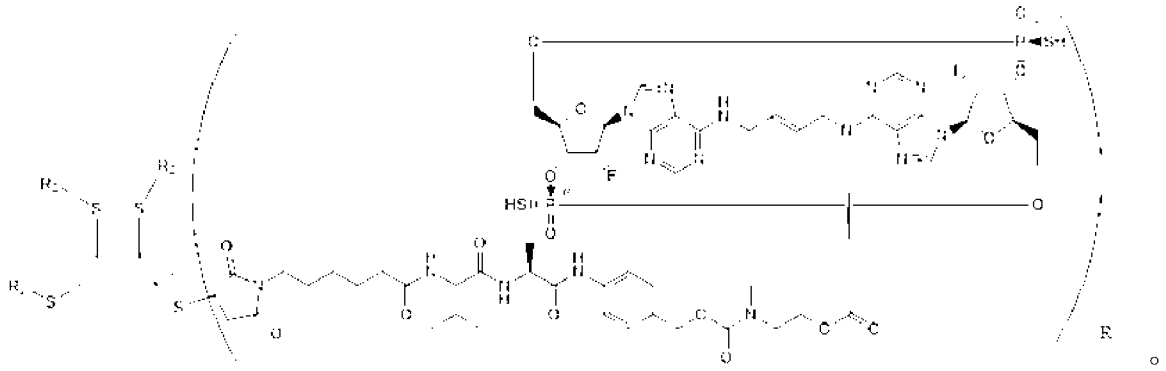
R=加帽的半胱胺酸



【0998】 抗PSMA-LP2部分軛合的製備方案如下所示：



R=加帽的半胱胺酸



1.2 方法

【0999】 抗體脫帽：抗hPSMA-zuJ591-H14L5-hIgG1-A118C-C80用於軛合。抗體在輕鏈C80和重鏈A118C處含有未配對的半胱胺酸，兩者在抗體生產過程中均被半胱胺酸化。為了使半胱胺酸能夠軛合，使用ÄKTA Explorer純化平臺（通用電氣醫療集團）進行純化。適當尺寸的Mabselect sure柱（思蒂瓦公司）用6個柱體積（CV）的20 mM磷酸鈉、10 mM EDTA，pH 7.2進行平衡。將含有抗體的條件培養基通過0.2 μm膜過濾，然後載入到柱上，隨後用10 CV的平衡緩衝液洗滌未結合的材料。然後進行以下兩者之一：

A. 然後用含有10 mM EDTA、10 mM半胱胺酸的20 mM磷酸鈉緩衝液，pH 7.2以低流速洗滌柱16小時。此步驟之後用20 mM Tris（pH 7.5）以低流速再次洗滌60小時。使用5 CV的0.1 M甘胺酸（pH 2.9）洗脫樣本。將洗脫的材料載入到在1X磷酸鹽緩衝鹽水（PBS）中平衡的26/10 HiPrep脫鹽柱（通用電氣醫療

集團）上，並在相同緩衝液中洗脫。合併峰級分並過濾。也可以使用1X PBS透析代替脫鹽。使用BCA（二辛可寧酸）測定來測定抗體濃度。

B. 使用5 CV的0.1 M甘胺酸（pH 2.9）洗脫樣本。將洗脫的材料添加到在1x磷酸鹽緩衝鹽水（PBS）中平衡的26/10 HiPrep脫鹽柱（通用電氣醫療集團）上，並在相同緩衝液中洗脫。合併峰級分並過濾。也可以使用1x PBS透析代替脫鹽。使用BCA測定來測定抗體濃度。向抗體（10 mg/mL）在1x DPBS/2 mM EDTA中的溶液中添加等體積的TCEP溶液（10 mM，在1x DPBS/2 mM EDTA中，pH 7.5）。將溶液混合90分鐘，然後使用Hitrap脫鹽藉由FPLC（快速蛋白質液相層析法）純化到1x DPBS/2 mM EDTA中。然後，將脫氫抗壞血酸（DHAA）添加至抗體溶液中，最終濃度為1 mM DHAA。將溶液混合1小時，然後使用Hitrap脫鹽藉由FPLC純化到1x DPBS/2 mM EDTA中。使用BCA測定來測定抗體濃度。

【1000】軛合和純化：向脫帽的抗體（5.8 mg/mL，3.5 mL；或7.5 mg/mL，2 mL）在1X PBS、2 mM EDTA中的溶液中添加連接子-有效載荷（4.29莫耳當量，來自LP1或LP2或其鹽的10 mM DMSO儲備溶液；或5莫耳當量，來自LP4 – LP32或其鹽的10 mM DMSO儲備溶液）。立即充分混合軛合反應，並使軛合在室溫進行0.5小時的時間段，然後使用Hitrap脫鹽（2 x 5 mL）柱藉由FPLC純化到25 mM檸檬酸鈉、100 mM蔗糖，pH 6.0中。將洗脫物合併，過濾滅菌（Whatman Puradisc 13，目錄號6791-1302），並儲存在4°C。分析純化的ADC的總蛋白質含量（二辛可寧酸測定，Pierce BCA方案，目錄號23225）。藉由HPLC-HIC（高效液相層析法-疏水相互作用層析法）、SEC（尺寸排阻層析法）和RP-UPLC-MS（反相超高效層析法-質譜法）對ADC產物進行表徵。平均DAR（藥物與抗體比率）和藥物分佈來源於HIC和LC-MS數據的說明。

1.3 結果

【1001】 抗PSMA-LP2：2.44 mg/mL，8 mL。總計19.52 mg。產率百分比：96.2%。平均DAR（HIC-HPLC）= 4.12。產率百分比計算為 [最終ADC產率] / [起始mAb]。起始mAb = 5.8 mg / ml x 3.5 ml = 20.3 mg；最終ADC產率 = 2.44 mg/ml x 8 ml = 19.52 mg。

【1002】 抗PSMA-LP1：1.87 mg/mL，8 mL。總計14.96 mg。產率：73.7%，平均DAR（HIC-HPLC）= 4.07。計算產率百分比：起始mAb = 5.8 mg / ml x 3.5 ml = 20.3 mg，最終ADC = 1.87 mg / ml x 8 ml = 14.96 mg。

【1003】 表20中總結了抗PSMA-LP1和-LP2的軛合結果，以及LP4 – LP32的軛合結果。

【表**20**】.ADC軛合結果

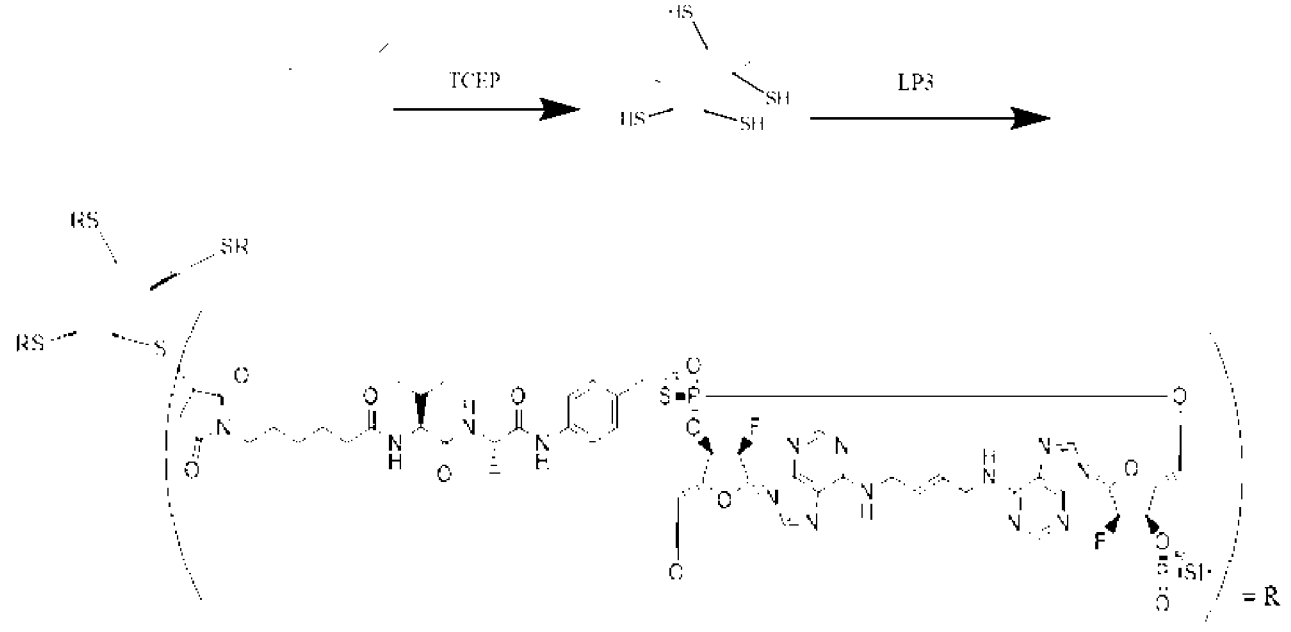
抗PSMA-LP$_x$	**濃度（mg/mL）**	**體積（mL）**	**總計（mg）**	**產率%**	**DAR（HIC-HPLC）**
LP2	2.44	8.0	19.52	96.2	4.12
LP1	1.87	8.0	14.96	73.7	4.07
LP4	2.42	5.25	12.71	73.1	3.90
LP5	2.80	5.50	15.40	88.7	3.90
LP6	2.79	5.50	15.35	88.3	3.92
LP7	2.91	5.50	16.01	92.1	4.02
LP8	1.25	5.25	6.56	37.8	4.06
LP9	2.93	5.50	16.12	92.8	3.96
LP10	2.10	5.00	10.50	60.4	3.85
LP11	2.24	4.00	8.96	51.6	2.50
LP12	1.66	5.50	9.13	52.6	3.96
LP13	2.10	4.75	9.98	57.4	3.78
LP14	1.89	4.50	8.51	49.0	3.81
LP15	3.09	5.50	17.00	97.8	4.04
LP16	2.43	5.50	13.37	76.9	4.02
LP17	1.61	5.00	8.05	53.7	3.98
LP18	1.79	5.00	8.95	59.7	3.92

LP19	1.75	5.00	8.75	58.2	3.87
LP20	2.87	5.25	15.07	86.7	3.78
LP21	1.68	5.00	8.40	55.8	4.17
LP22	1.18	6.00	7.08	47.1	3.35
LP23	1.71	5.00	8.55	56.8	3.22
LP24	1.14	5.00	5.70	37.9	3.82
LP25	3.11	5.00	15.55	定量	3.84
LP26	2.81	5.00	14.05	93.7	3.88
LP27	2.04	5.00	10.20	68.0	4.02
LP28	2.93	5.50	16.12	92.8	3.93
LP29	1.61	5.00	8.05	53.5	3.90
LP30	2.37	5.50	13.04	75.0	3.96
LP31	2.13	5.00	10.65	70.8	3.76
LP32	1.88	5.00	9.40	62.5	3.94

2.1 抗PSMA-LP3部分，隨機軛合的製備

【1004】 PSMA-STING ADC被製備為與抗體部分還原產生的半胱胺酸軛合的隨機DAR4（抗PSMA-LP33、LP35 – LP36和LP39 – LP53）。

【1005】 製備PSMA S附接（例如抗PSMA-LP3（LP3）部分）的示例方案如下所示：



2.2 方法

【1006】檸檬酸鹽緩衝液的製備：向1 L DI（去離子）水中添加34.2 g蔗糖和7.35 g檸檬酸鈉二水合物。攪拌混合物，然後用1 M HCl將pH調節至6.0。

【1007】軛合和純化：抗hPSMA-zu591-H14L5-IgG1抗體用於軛合。使用ÄKTA Explorer純化平臺（通用電氣醫療集團）進行抗體純化。適當尺寸的Mabselect sure柱（思蒂瓦公司）用6個柱體積（CV）的20 mM磷酸鈉，pH 7.2進行平衡。將含有抗體的條件培養基通過0.2 μm膜過濾，然後載入到柱上，隨後用10 CV的平衡緩衝液洗滌未結合的材料。使用5 CV的0.1 M甘胺酸（pH 2.9）洗脫樣本。將洗脫的材料載入到在1X磷酸鹽緩衝鹽水（PBS）中平衡的26/10 HiPrep脫鹽柱（通用電氣醫療集團）上，並在相同緩衝液中洗脫。合併峰級分並過濾。也可以使用1X PBS透析代替脫鹽。使用如下所述之BCA測定來測定抗體濃度。

【1008】向抗體（5 mg/mL，2.5 mL）在1X DPBS緩衝液中的溶液中添加0.5 M EDTA儲備溶液至最終EDTA濃度為2 mM。以1:3.336莫耳當量（mAb:TCEP）添加相同緩衝液中新鮮製備的儲備液（1 mM）的TCEP溶液。將溶液充分混合並在室溫（21°C）孵育1小時。將還原的抗體溶液用等體積的50:50 1X DPBS:丙二醇進一步稀釋，與LP3（7.44莫耳當量，來自10 mM DMSO儲備溶液）預混合，以獲得最終蛋白質濃度為約2.315 mg/mL的溶液。立即充分混合軛合反應，並使軛合在室溫進行大約0.5小時的時間段，然後使用Hitrap脫鹽（2 x 5 mL）柱藉由FPLC純化到25 mM檸檬酸鈉緩衝液（含有100 mM蔗糖，pH 6.0）中。將洗脫物合併，過濾滅菌（Whatman Puradisc 13，目錄號6791-1302），並儲存在4°C。分析純化的ADC的總蛋白質含量（二辛可寧酸測定，Pierce BCA方案，目錄號23225）。藉由HPLC-HIC、SEC和RP-UPLC-MS對ADC產物進行表徵。平均DAR和藥物分佈來源於HIC和LC-MS數據的說明。

【1009】 陰性對照ADC抗SEB-LP3部分係根據上述方案製備的。抗SEB單株抗體79G9用於軛合。將0.5 M EDTA儲備溶液添加至抗SEB 79G9抗體（6 mg/mL，1 mL）在1X DPBS緩衝液中的溶液中至最終EDTA濃度為2 mM。以1:3.75莫耳當量（mAb:TCEP）添加相同緩衝液中新鮮製備的儲備液（1 mM）的TCEP溶液。將溶液充分混合並在室溫（21°C）孵育1小時。將還原的抗體溶液用等體積的50:50 1X DPBS:丙二醇進一步稀釋，與LP3（7.44莫耳當量，來自10 mM DMSO儲備溶液）預混合，以獲得最終蛋白質濃度為約2.5 mg/mL的溶液。立即充分混合軛合反應，並使軛合在室溫進行大約0.5小時的時間段，然後使用Hitrap脫鹽（2 x 5 mL）柱藉由FPLC純化到25 mM檸檬酸鈉緩衝液（含有100 mM蔗糖，pH 6.0）中。將洗脫物合併，過濾滅菌（Whatman Puradisc 13，目錄號6791-1302），並儲存在4°C。

2.3 結果

【1010】 抗PSMA-LP3：製備為1.16 mg/mL，6 mL，總計6.96 mg，DAR 3.95，55.7%產率。計算產率百分比：起始mAb量 = 5 mg /ml x 2.5 ml = 12.5 mg；ADC產率 = 1.16 ng/ml x 6 ml = 6.96 mg。

【1011】 表21中總結了抗PSMA-LP3的軛合結果，以及LP33 – LP53的軛合結果。

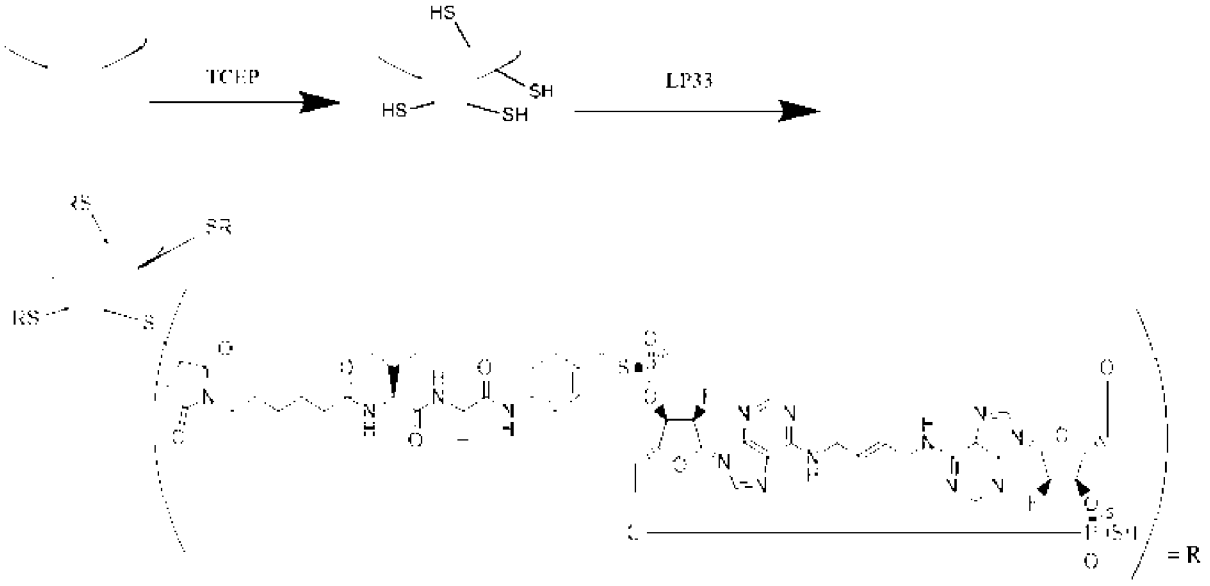
【表**21**】.S附接ADC軛合結果

抗PSMA-LP_x	**濃度（mg/mL）**	**體積（mL）**	**總計（mg）**	**產率%**	**DAR（HIC-HPLC）**
LP3	1.16	6.0	6.96	55.7	3.95
LP33	1.70	9.0	15.30	97.1	4.00
LP35	2.04	4.2	8.57	定量	3.75
LP36	1.81	4.0	7.24	96.5	3.87
LP39	2.32	7.5	17.40	定量	3.67
LP40	6.17	1.5	9.26	定量	3.69

抗PSMA-LP_x	濃度（mg/mL）	體積（mL）	總計（mg）	產率%	DAR（HIC-HPLC）
LP41	4.13	1.5	6.20	82.7	4.20
LP42	1.20	3.0	3.60	72.0	4.16
LP43	1.98	7.5	14.85	定量	4.31
LP44	1.58	7.5	11.85	94.8	3.96
LP45	1.72	8.0	13.76	定量	4.03
LP46	1.48	7.5	11.10	88.8	4.40
LP47	1.89	8.0	15.12	定量	4.03
LP48	1.84	8.5	15.64	定量	4.17
LP49	1.30	7.5	9.75	77.9	3.83
LP50	1.22	8.0	9.76	78.0	3.67
LP51	1.33	8.0	10.64	85.0	3.60
LP52	1.15	6.0	6.90	55.2	3.88
LP53	1.15	6.0	6.90	55.2	3.82

3 抗PSMA-LP33，隨機軛合的製備

【1012】抗PSMA-LP33部分的製備方案如下所示：



【1013】軛合和純化：向抗體（4 mg/mL，3.5 mL）在1x DPBS緩衝液中的溶液中添加0.5 M EDTA儲備溶液至最終EDTA濃度為2 mM。以1:4.18莫耳當

量（mAb:TCEP）添加相同緩衝液中新鮮製備的儲備液（1 mM）的TCEP溶液。將溶液充分混合並在室溫（21°C）孵育80分鐘。將還原的抗體溶液用等體積的50:50 1x DPBS:丙二醇進一步稀釋，與LP33連接子-藥物軛合物（4.18莫耳當量，來自10 mM DMSO儲備溶液）預混合，以獲得最終蛋白質濃度為約1.79 mg/mL的溶液。立即充分混合軛合反應，並使軛合在室溫進行大約0.5小時的時間段，然後使用Hitrap脫鹽（4x5 mL）柱藉由FPLC純化到1x DPBS中。將洗脫物合併，過濾滅菌（Whatman Puradisc 13，目錄號6791-1302），並儲存在4°C。分析純化的ADC的總蛋白質含量（二辛可寧酸測定，Pierce BCA方案，目錄號23225）。藉由HPLC-HIC、SEC和RP-UPLC-MS對ADC產物進行表徵。

【1014】結果：抗PSMA-LP33：1.70 mg/mL，8 mL。總計15.3 mg。產率百分比：97.1%，DAR 4.00。計算產率百分比：起始mAb = 4 mg/ml x 3.5 ml = 14 mg；最終ADC = 1.7 mg/ml x 8 ml = 13.6 mg。

4 ADC表徵方法

4.1 蛋白質濃度- BCA測定

【1015】使用UV/Vis 96孔板，使用BCA測定（賽默科技公司（Thermo Scientific），目錄號23225或23227）來測定蛋白質濃度。向20 µl連續稀釋的ADC樣本或牛丙種球蛋白2 mg/ml標準品中添加160 µl製備的BCA試劑（新鮮混合的200 µL試劑B和10 mL試劑A），並將樣本充分混合。將樣本在37°C孵育30 min。在SpectraMax M5讀板器（分子裝置公司（Molecular Devices），S/N MV05371）上在562 nm處讀取板。使用SoftMax Pro軟體和4參數擬合模型對數據進行分析。

4.2 HIC-HPLC

【1016】抗體藥物軛合物於室溫在連接到安捷倫公司1260系列HPLC的TSKgel® Butyl-NPR柱（東曹生物科學公司（Tosoh Bioscience）；4.6 mm x 35

mm i.d.；2.5 μm粒徑）上經受疏水相互作用層析法（HIC）。以1 mg/mL或以上濃度注入樣本（10 μL）（所有穩定性樣本均為1 mg/mL）。採用線性梯度洗脫，以100%流動相A/0%流動相B開始，在15 min的時間段內以0.7 mL/min或0.6 mL/min過渡到0%流動相A/100%流動相B（流動相A：1.5 M硫酸銨、25 mM磷酸鈉，pH 7.0，流動相B：25%異丙醇、25 mM磷酸鈉，pH 7.0）。注射未修飾的抗體提供了一種鑒定DAR = 0的峰之方法。根據280 nm處的吸光度檢測抗體。使用安捷倫公司化學工作站軟體分析峰面積。

【1017】 DAR（藥物與抗體比率）計算如下：

平均DAR=$\sum_0^8 F(DAR的峰面積\%\ n * n/100)$

實例：

DAR 0：10%

DAR 2：25%

DAR 4：25%

DAR 6：25%

DAR 8：15%

平均DAR= (10 * 0 / 100) + (25 * 2 / 100) + (25 * 4 / 100) + (25 * 6 / 100) + (15 * 8 / 100) = 4.20

4.3 SEC-HPLC

【1018】 在配備DAD（二極體陣列檢測器）的安捷倫公司1200 HPLC系統上使用SEC分析抗體藥物軛合物的聚集和片段化。保護型柱（安捷倫公司AdvanceBio SEC 300 A，2.7 um，7.8x50 mm，PL1180-1301）和分析型柱（安捷倫公司AdvanceBio SEC 300 A，2.7 um，7.8x300 mm，PL1180-5301）在流動相（0.1 M磷酸鈉、0.15 M氯化鈉、5% IPA，pH 7.4）中以3個柱體積進行平衡。純注入8 μL ADC，並以0.5 mL/min運行36分鐘。ADC在280 nm處檢測，參

考波長為360 nm。使用安捷倫公司化學工作站軟體（BC.01.07版）分析數據，並根據峰積分結果將數據包告為聚集%、單體%和片段化%。

實例5. 體外研究

1 PSMA特異性結合分析

【1019】將抗PSMA抗體、抗PSMA-LP3（ADC）和對照抗人IgG1與Alexa Fluor 647（AF647）琥珀醯亞胺酯（賽默公司（Thermo），目錄號A20006）以mAb:AF647 = 1:10的莫耳比在室溫軛合1小時，然後使用抗體軛合純化套組（賽默公司，目錄號A33086）按照製造商的說明進行純化。

【1020】使用BD Fortessa流動式細胞測量術測量ADC與表現PSMA的細胞的結合。將1 x 10^5個LNCaP細胞/孔進行胰蛋白酶消化，然後與直接用NHS-AF647標記的抗體、ADC或hIgG1對照一起在冰上孵育30分鐘，濃度範圍為0.003-100 nM，作為半對數連續稀釋度。使用FACS緩衝液（1 x PBS中的2% FBS，不含鈣和鎂）洗滌樣本兩次，然後將樣本用100 µL含有Fixable Viability染料的FACS緩衝液（1:5000稀釋）重懸，並藉由流動式細胞測量術進行分析。AF647-抗PSMA和AF647-PSMA-LP3顯示出與細胞的類似的結合親和力，而AF647-hIgG1不與細胞結合（圖8）。結果表明抗PSMA抗體和抗PSMA ADC均與PSMA陽性LNCaP細胞結合。

2 PSMA依賴性抗體依賴性細胞吞噬作用（ADCP）活性

【1021】將新鮮的人單核細胞在M-CSF（巨噬細胞集落刺激因子）存在下培養6天，以將細胞分化為人巨噬細胞。將LNCaP（PSMA高）和DU-145（PSMA無效）細胞用羧基螢光素二乙酸琥珀醯亞胺酯（CFSE；艾博康公司（Abcam），目錄號ab113853）標記、洗滌、然後以1 x 10^5個細胞/孔接種到96孔U型底板中。以1 x 10^5個細胞/孔添加人巨噬細胞並充分混合。將測試試劑（PSMA-LP3、SEB-LP3（葡萄球菌腸毒素B-LP3）、PSMA抗體和化合物1）

連續稀釋並以0.01 - 100 nM範圍內的最終濃度添加至細胞中，如圖所示（圖9）。將板在37°C孵育2小時。然後使用流動式細胞測量術分析細胞。吞噬作用百分比分析為CFSE+ (FITC) CD14+ (APC)/ [CFSE+/CD14+和CFSE-/CD14+] X 100；CD14被用作巨噬細胞的標記物。數據包告為攝取至少一種靶細胞的巨噬細胞的百分比。

【1022】 如圖9所示，在LNCaP和巨噬細胞的共培養物中觀察到抗原依賴性吞噬作用，但在DU-145和巨噬細胞細胞的共培養物中未觀察到抗原依賴性吞噬作用。抗PSMA-LP3和抗PSMA抗體促進了相當的對腫瘤細胞的吞噬作用，而陰性對照ADC（抗SEB-LP3）沒有觀察到活性。

3 靶細胞依賴性ADC內化

【1023】 將抗PSMA-LP3 ADC與pHrodo Red琥珀醯亞胺酯（賽默公司，目錄號P36600）以mAb:pHrodo Red = 1:10的莫耳比在室溫軛合1小時，然後使用抗體軛合純化套組（賽默公司，目錄號A33086）按照製造商的說明進行純化。

【1024】 將THP1細胞、C4-2細胞和混合的C4-2/THP1細胞（C4-2 : THP1 = 1:1）進行胰蛋白酶消化，並以1 x 10^5個細胞/孔接種到96孔測定板中，然後用pHrodo軛合的抗PSMA-LP3 ADC（最終濃度範圍為0.001 - 100 nM ADC）在37°C、5% CO_2下處理2小時。將細胞離心並用無血清培養基洗滌兩次。使用NovoCyte Quanteon流式細胞儀測量內化抗體。使用ADC濃度（X軸）相對於觀察到的MFI（Y軸）繪製ADC內化（圖10）。如圖10所示，在C4-2單一培養物和C4-2/THP1共培養物中以劑量依賴性方式觀察到內化，其中對於THP1單一培養物觀察到低得多的內化速率。

4 ADCP依賴性IFNβ生產

【1025】使用96孔平底組織培養板，將C4-2細胞以1 x 10^5個細胞/孔（100 µl）接種到10% c/RPMI培養基中。將ADC的儲備溶液按稀釋系列的10x進行連續稀釋，並將20 µL的ADC溶液添加至孔中並在37°C孵育10分鐘。以1 x 10^5個細胞/孔（總計80 µL）添加THP-1細胞。

【1026】在經處理以阻斷吞噬作用的細胞中測量了用抗PSMA ADC處理後的hIFNβ生產（圖11，左分圖）。將細胞鬆弛素D（CytoD；細胞傳訊公司（Cell Signaling），目錄號94946S）溶解於DMSO中，以產生5 mM儲備溶液，然後添加至半對數稀釋的抗PSMA-LP2溶液中至最終濃度為10 µM。在室溫孵育10分鐘後，添加THP1細胞，並將板在37°C、5% CO_2下孵育6小時。然後，收穫細胞培養物上清液用於hIFNß定量。

【1027】還在用抗PSMA ADC（與抗PSMA抗體或同種型對照競爭）處理的細胞中測量了hIFNβ生產（圖11，右分圖）。將抗PSMA-LP1 ADC溶液在同種型對照（抗人IgG1）抗體或抗PSMA抗體（例如，用於生成抗PSMA-LP1 ADC的相同抗體）（均為2 µM）存在下連續稀釋，然後添加至測試板中，最終ADC濃度範圍為0.001-100 nM。將板在37°C、5% CO_2下孵育6小時。然後，收穫細胞培養物上清液用於hIFNβ定量。

【1028】使用人IFNβ Quantikine ELISA套組（R&D系統公司，目錄號DIFNB0），按照製造商的說明測量IFNβ釋放。測定結束時，使用QuantaBlu螢光過氧化物酶底物（賽默公司，目錄號15169）來探測信號。在分子裝置公司M5讀板器上在320 nM的激發和405 nM的發射處讀取板。

5 ADCP依賴性骨髓細胞活化

【1029】將新鮮的人單核細胞與M-CSF一起培養6天，以分化為人巨噬細胞，然後收穫用於研究。將LNCaP或DU-145細胞進行胰蛋白酶消化，並以1 x 10^5個細胞/孔接種到96孔板中。將人巨噬細胞細胞添加至每個孔中，然後添加

抗體和ADC，抗體和ADC的最終濃度範圍為0.01 - 30 nM，而單獨的化合物1的最終濃度範圍為0.04 - 120 nM。將細胞板在37°C、5% CO_2下孵育20小時，然後收穫細胞進行流動式細胞測量術分析。如圖12所示，巨噬細胞中的CD80表現（Y軸）相對於ADC濃度（nM）作圖。

【1030】 抗PSMA-LP3 ADC在LNCaP細胞存在的情況下活化巨噬細胞，如藉由濃度低至0.1 nM時CD80表現上調所證明的（圖12，左分圖）。用單獨的抗PSMA抗體或單獨的化合物1處理，CD80表現保持不變，並且在高濃度的抗SEB-LP3 ADC（陰性對照抗體-化合物1軛合物）下僅觀察到對CD80表現的微小影響。

【1031】 在存在不表現PSMA的DU-145細胞的情況下，在抗PSMA-LP3處理的巨噬細胞中未觀察到CD80表現的上調（圖12，右分圖）。

實例6. LNCaP異種移植模型

*1 PSMA+ LNCaP異種移植模型中抗PSMA-*化合物1 *ADC的體內抗腫瘤活性*

【1032】 6-8週齡的CB17 SCID小鼠用於本研究。將LNCaP-FGC（ECACC，目錄號891102117）細胞以與基質膠混合的0.2 ml PBS（50:50）中的10 x 10^6個細胞皮下接種於右脅部。接種後第15天對小鼠進行去勢。將小鼠分為10隻小鼠/組，總計五組。對小鼠進行單次劑量靜脈內（IV）給藥，並監測腫瘤體積和體重長達35天。

【1033】 如圖13所示，0.5 mg/kg和1.0 mg/kg的抗PSMA-LP3 ADC（「抗PSMA-LP3 VAP-Sp」）顯著減少了腫瘤生長。對照抗SEB-LP3 ADC也顯示出抗腫瘤作用，而單獨的抗PSMA抗體和媒介物之間沒有觀察到統計學顯著性。應用雙因素方差分析檢驗進行統計學分析。

2 抗PSMA-LP3 ADC對I型干擾素基因的調節

【1034】藥效學研究與上述功效研究一起進行。額外的6隻小鼠/組用於媒介物、PSMA抗體、抗PSMA-LP3 ADC和對照SEB-LP3 ADC組。將LNCaP-FGC（ECACC，目錄號891102117）細胞以與基質膠混合的0.2 ml PBS（50:50）中的10 x 10^6個細胞皮下接種於右脅部。接種後第15天對小鼠進行去勢。第23天，當平均腫瘤體積達到約400 mm^3時，對小鼠以1 mg/kg的單次靜脈內劑量的抗體或ADC給藥6小時，然後從每隻小鼠身上收集腫瘤和血液進行RNA-seq分析。

【1035】將腫瘤樣本保存在RNAlater中用於RNA分離。cDNA文庫製備、定序和原始讀取過濾方法均在BGI執行，如前所述（Ren等人, 2012）。使用STAR將異種移植模型的讀數與組合的hg19和mm10基因組進行比對（參見Dobin等人 (2013) Bioinformatics [生物資訊學] 29 (1): 15-21），並且基因異形體計數由Kallisto定量（參見Bray等人 (2016) Nature Biotechnology [自然生物技術] 34: 525-527）。基因定量以TPM（每百萬轉錄本數）為單位給出。

【1036】如圖14所示，四種STING通路特異性細胞介素（CXCL10、IFNβ、IL6、TNFα）藉由抗PSMA-LP3 ADC處理來調節（圖14A和14B）。還觀察到腫瘤微環境中巨噬細胞極化從M2轉變為M1。

實例7. 22RV1異種移植模型

1 22RV1異種移植模型：去勢條件

【1037】Balb/c去勢雄性裸鼠用於本研究。將懸浮在100 μL含有50%基質膠的1X PBS中的2.5 x 10^6個22RV1細胞皮下植入每隻小鼠的右臂，並監測腫瘤生長。將小鼠隨機分為六組（8隻小鼠/組），並在腫瘤尺寸達到約210 mm^3（212.52至216.42 mm^3）時接受如下所示的治療。每次治療對小鼠進行靜脈內治療，每週一次，持續五週（Q7D X 5），或使用單次劑量。每週兩次監測腫瘤尺寸和體重。

第1組，媒介物（IV）Q7D X 5

第2組，1 mg/kg抗PSMA抗體（IV）Q7D X 5

第3組，1 mg/kg抗SEB-LP3 ADC（IV）Q7D X 5

第4組，1 mg/kg抗PSMA-LP3 ADC（IV）Q7D X 5

第5組，1 mg/kg抗PSMA-LP3 ADC（IV）單次劑量

第6組，2 mg/kg抗PSMA-LP3 ADC（IV）單次劑量

【1038】 在第23天，在接受了單次劑量2 mg/kg PSMA-LP3 ADC治療的小鼠中觀察到顯著的抗腫瘤作用（圖15A）。在PSMA-LP3 ADC治療組中觀察到短暫的體重減輕，這種短暫的體重減輕隨時間會恢復。

2 22RV1異種移植模型：非去勢條件

【1039】 Balb/c nu/nu雄性小鼠用於本研究。將懸浮在100 μL含有50%基質膠的1X PBS中的5 x 10^6個22RV1細胞皮下植入每隻小鼠的右脅部，並監測腫瘤生長。將小鼠隨機分為五組（8隻小鼠/組），並在腫瘤尺寸達到約100 mm^3（110.4至111.4 mm^3）時接受如下所示的治療。對小鼠以1 mg/kg劑量的單次靜脈內劑量進行治療，並監測腫瘤尺寸和體重23天。

第1組，媒介物（IV）單次劑量

第2組，1 mg/kg抗PSMA抗體（IV）單次劑量

第3組，1 mg/kg抗SEB-LP3 ADC（IV）單次劑量

第4組，1 mg/kg抗PSMA-LP3 ADC（IV）單次劑量

第5組，1 mg/kg抗PSMA-LP33 ADC（IV）單次劑量

【1040】 抗PSMA-LP3 ADC治療在1 mg/kg的單次靜脈內劑量下顯示出統計學的腫瘤生長抑制（圖15B）。陰性對照抗SEB-LP3 ADC和抗PSMA抗體對腫瘤生長沒有顯示出影響。在所有條件下，在1 mg/kg下觀察到最小的體重變化。

實例8. ADC穩定性：pAB類似物

1 22RV1模型中S-連接子有效載荷的體內功效

【1041】 在攜帶皮下22RV1人前列腺癌腫瘤的Balb/c雄性裸鼠中，以2個劑量水平/ADC評估了與各種連接子改變的pAB類似物軛合的PSMA-LP3 ADC的抗腫瘤活性。

【1042】 將含有50%基質膠的1X PBS（100 μL）中的2.5 X 10^6個細胞的22RV1細胞皮下注射到每隻小鼠的右脅部。監測腫瘤生長以達到平均100-150 mm^3以進行治療。將小鼠隨機分為十一組（8隻小鼠/組）接受單次靜脈內劑量，如下所示。每週兩次測量腫瘤尺寸和體重，直到第21天。

第1組，媒介物（PBS）（IV），單次劑量

第2組，1 mg/kg抗PSMA-LP3（IV），單次劑量

第3組，2 mg/kg抗PSMA-LP3（IV），單次劑量

第4組，1 mg/kg抗PSMA-LP49（IV），單次劑量

第5組，2 mg/kg抗PSMA-LP49（IV），單次劑量

第6組，1 mg/kg抗PSMA-LP53（IV），單次劑量

第7組，2 mg/kg抗PSMA-LP53（IV），單次劑量

第8組，1 mg/kg抗PSMA LP44（IV），單次劑量

第9組，2 mg/kg抗PSMA LP44（IV），單次劑量

第10組，1 mg/kg抗PSMA-LP40（IV），單次劑量

第11組，2 mg/kg抗PSMA-LP40（IV），單次劑量

【1043】 計算研究結束時每組的平均腫瘤尺寸，並將腫瘤抑制百分比計算為 [腫瘤尺寸(媒介物) - 腫瘤尺寸(治療)] / 腫瘤尺寸(媒介物) x 100。繪製了最大體重減輕百分比（BW減輕%，X軸）相對於腫瘤抑制百分比（相對於媒介物）的圖（圖16A）。LP3、LP49和LP53的連接子-有效載荷被鑒定為十個測試

的連接子-有效載荷中的較佳的連接子-有效載荷選項，因為它們在體內表現出高腫瘤抑制活性和低體重損失。

2 S-連接子有效載荷的劑量依賴性

【1044】 上述研究中還評估了劑量反應活性。注射後六小時，從每隻小鼠尾部收集血液，轉移至肝素鋰管中，並在4°C以2000 *g*離心20 min。離心後，在-20°C收集血漿用於檢測。

【1045】 測量了小鼠TNFα和IFNβ。使用Quantikine小鼠IFNβ ELISA套組（R&D系統公司，目錄號MIFNB0）測量血漿IFNβ，測定範圍為15.6 - 1000 pg/ml。使用Quantikine小鼠TNFα ELISA套組（R&D系統公司，目錄號MTA00B），測定範圍為10.9 - 700 pg/ml，按照製造商的說明測量血漿TNFα。

【1046】 與媒介物組相比，所有抗PSMA ADC治療組均顯示TNFα和IFNβ細胞介素釋放增加（圖16B）。還觀察到劑量依賴性TNFα釋放。

3 ADC中pAB類似物的進一步表徵

3.1 連接子-有效載荷的緩衝液穩定性研究

【1047】 將如表22中所示的每個連接子-有效載荷在DMSO中的溶液（10 mM，4 μL）用新鮮製備的*N*-乙醯基半胱胺酸在DMSO中的溶液（3.3 mM，36 μL）處理。將所得混合物在37°C孵育5分鐘以完成馬來醯亞胺的封端（capping）。然後，將20 μL所得連接子-有效載荷溶液添加至在37°C預熱的980 μL D-PBS（pH 7.4）中。將所得溶液在37°C、以350 rpm孵育，同時在每個時間點（t = 0、6、24、48、120和168小時）取出125 μL等分試樣並與25 μL內標溶液混合。將所得分析樣本在-20°C儲存，隨後加溫至4°C並藉由UPLC進行分析。

系統：	Waters H class Acquity UPLC
柱：	Waters Acquity UPLC HSS T3，2.1 x 50 mm，裝有1.8 μm顆粒。

溫度：	50°C		
流速：	0.9 mL/min		
流動相A	流動相A：水中的0.1%甲酸（98%純MS規格級）		
流動相B	流動相B：乙腈中的0.1%甲酸（98%純MS規格級）		
梯度：	**時間（min）**	**%-溶劑A**	
	初始	95	
	0.75	95	
	1.00	10	
	1.01	10	
	1.5	0	
注射體積：	4 μL注射量。		
檢測：	UV最大吸光度、ELSD和MS總離子計數及提取質量		
MS掃描：	正負離子100至1800 amu		
數據獲取時間：	1.5 min		
執行時間：	1.5 min		

【1048】 然後按如下方式計算半衰期。親本連接子-有效載荷峰與內標峰相比的UV面積%（260 nm）的時間過程用於半衰期計算。繪製採樣時間點和每個時間的剩餘親本峰，並將曲線擬合到方程$N(t)/N_0 = e^{-lt}$。半衰期用衰變常數l計算，公式如下：

$$T_{1/2} = \ln(2)/\lambda$$

【1049】 內標樣本：將10 μL 4-乙醯基哌-1-甲酸4-[({[(2S,5S,6S)-6-[(2E,4E,6S)-7-[(2S,3S)-3-[(2R,3R,4R)-4-羥基-3-甲氧基戊烷-2-基]-2-甲基環氧乙烷-2-基]-6-甲基庚-2,4-二烯-2-基]-5-甲基噁-2-基]甲基}胺基甲醯基)胺基]丁基酯的10 mM DMSO溶液用990 μL 1:1 乙腈 : D-PBS（pH 7.4）稀釋。

3.2 游離有效載荷百分比的計算

【1050】 所有ADC均在37°C進行熱穩定性評估。藉由將ADC在含有100 mM蔗糖的25 mM檸檬酸鈉緩衝液（pH 6.0）中稀釋至1 mg/mL來製備樣本。然後將樣本在37°C儲存長達336小時或504小時。在每個時間點（T = 0、24、48、72、168、336、504小時），取出等分試樣並儲存在-80°C直到分析。藉由HIC-HPLC和SEC-HPLC分析樣本。DAR係根據HIC-HPLC分析報告得出的。

【1051】 使用下面的LC-MS方法對第14天（336小時）的樣本中釋放的游離有效載荷進行分析。%游離有效載荷 = 100x定量游離有效載荷濃度（T14d，37°C）/ 總有效載荷濃度，其中總有效載荷濃度係根據T = 0時的ADC濃度和DAR計算得出的。

【1052】 藉由LC-MS進行化合物1的定量。將化合物1參考標準（粉末狀試劑）溶解於LC-MS級水中。化合物1標準曲線也是在LC-MS級水中製備的。將ADC樣本在LC-MS級水中稀釋10x。 每個樣本注入10 µL進行LC-MS分析。使用TargetLynx（沃特世公司（Waters））進行定量。

【1053】 LC-MS方法參數如下所示：

儀器：

UPLC	Waters Acquity I class plus UPLC
MS	Waters Xevo TQ-XS Triple Quadrupole MS
柱	Waters Acquity UPLC BEH C18 2.1 x 50 mm，130 Å，1.7 µm，部件號186002350
流動相A	H_2O中的5 mM碳酸氫銨
流動相B	MeOH中的5 mM碳酸氫銨
注射溶劑	H_2O

LC-MS方法：

樣本製備	
溶液中的標準品	使用注射溶劑進行連續稀釋

基質中的樣本	在Waters Oasis HLB 96孔μElution板（186001828BA）上進行固相萃取（SPE） 洗滌液：5% MeOH，洗脫液： ACN/MeOH = 60/40					
進樣方法	化合物1-NH4 20210927_20%B					
柱溫	40°C					
樣本溫度	15°C					
注射體積	5 μL					
梯度	時間（min）	流速（mL/m）	%A	%B	曲線	
	0.0	0.5	95.0	5.0	6	
	2.0	0.5	80.0	20.0	6	
	2.1	0.5	10.0	90.0	6	
	4.0	0.5	10.0	90.0	6	
	4.1	0.5	95.0	5.0	6	
	6.0	0.5	95.0	5.0	6	
MRM方法	MRM化合物1和mP-化合物1，IS 20210927					
	質量	親本	子代	錐孔電壓	碰撞工程（Colli. Eng.）	駐留（Dwell）
化合物1-NH4		747.0700	171.0000	90	72	0.025
		747.0700	187.9700	90	64	0.025
D6化合物1 IS		753.2700	194.1100	100	56	0.025
事件	2.2 min時轉入廢棄物					
MS調諧文件（ES+）	調諧化合物1-NH4 20210901					
	毛細管（kV）	2.1				
	樣本錐（V）	93				
	脫溶溫度（°C）	600				
	脫溶氣體（L/h）	1000				
	錐孔氣體（L/h）	150				
	霧化器（巴）	7.0				

	LM解析度1	2.79
	HM解析度1	14.29
	離子能量1	-0.8
	LM解析度2	2.46
	HM解析度2	14.45
	離子能量2	0.2
	碰撞氣體流速（mL/min）	0.16
	碰撞	4
TargetLynx方法	TargetLynx化合物1和mP-化合物1，IS 20220105	
	保留時間（min）	
	化合物1	1.70
	D6化合物1	1.70

3.3 體外效力*測定*

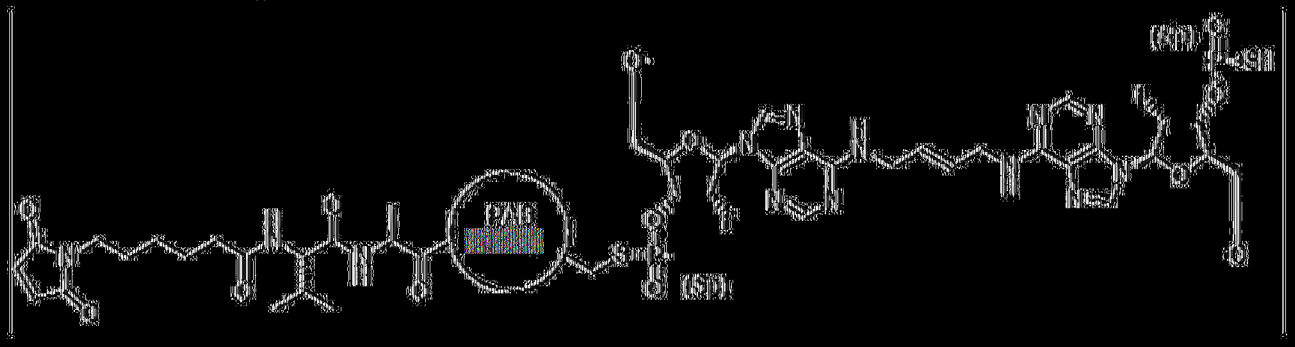
【1054】 體外IFNβ生產（報告為AUC）之方法如下。將LNCap細胞以60,000個細胞/孔接種在96孔板的100 μL細胞培養基（完全RPMI-10% FBS）中，然後以0.01-100 nM的半對數連續稀釋度添加20 μL ADC，充分混合，並在37°C、5% CO_2下孵育10分鐘，將80 μL培養基中的THP1細胞按60,000個細胞/孔添加至孔中，並將細胞板在37°C、5% CO_2下孵育20小時。將板以1500 rpm離心5分鐘，收集上清液，然後儲存在-20°C以進行hIFNβ測量。

【1055】 使用人IFNβ Quantikine套組（R&D系統公司，目錄號DIFNB0），按照製造商的說明測試hIFNβ的水平。使用1x PBS將上清液按1:5稀釋以進行測定。hIFNβ的動態範圍係7.8-500 pg/ml。 將IFNβ生產曲線繪製為濃度（X軸）相對於IFNβ釋放（Y軸），將曲線擬合為非線性回歸擬合，並使用GraphPad Prism軟體計算AUC（曲線下面積）。

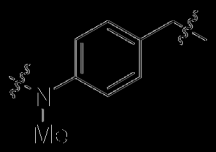
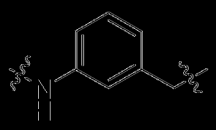
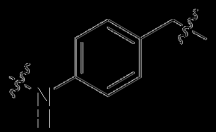
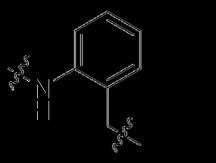
[1056] IFNβ生產比率（RIP）計算為每個ADC的IFNβ生產的AUC（曲線下面積）除以來自抗PSMA LP2的IFNβ生產的AUC。

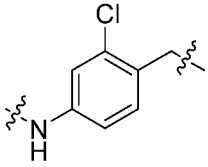
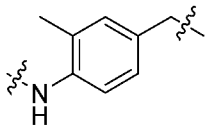
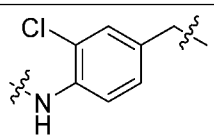
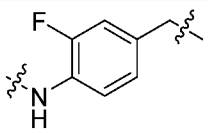
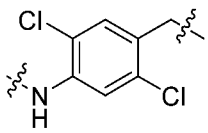
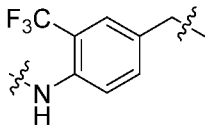
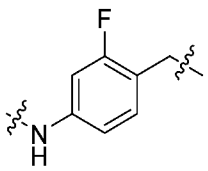
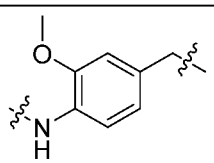
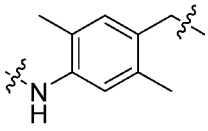
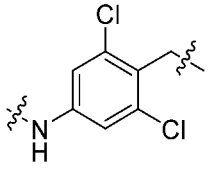
[1057] *體外效力*報告為RIP/DAR。

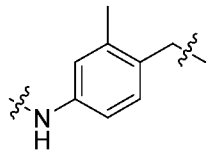
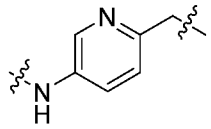
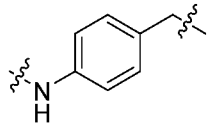
[1058] ADC中pAB類似物的進一步表徵結果顯示在表22中。連接子-LP3靶合物內的pAB類似物的結構如下所示：



[表22]。

連接子-有效載荷	PAB類似物	連接子特性	連接子附接位點	$t_{1/2}$, hr（37°C PBS）	游離有效載荷%（T_{14d} 37°C檸檬酸鹽緩衝液，pH 6.0）	*體外效力*測定 RIP[&]/（DAR）
LP42		不可切割的	Sp 硫代磷酸酯（S14）	111	12%	0.01（4.31）
LP39				161	10%	0.01（3.67）
LP3		可切割的		46	56%	1.00（3.75）*
LP53				>168	17%	0.45（3.82）

連接子-有效載荷	PAB類似物	連接子特性	連接子附接位點	$t_{1/2}$ hr（37°C PBS）	游離有效載荷%（T_{14d} 37°C檸檬酸鹽緩衝液，pH 6.0）	*體外效力* 測定 RIP[&] /（DAR）
LP40				101	未測試	0.31（3.69）
LP49				98	31%	2.48（3.83）
LP43				91	19%	1.15（4.31）
LP45				85	25%	1.42（4.03）
LP51				64	31%	1.36（3.6）
LP44				57	26%	0.75（3.96）
LP46				45	42%	1.50（4.4）
LP48				42	49%	1.26（4.17）
LP52				29	75%	1.35（3.88）
LP47				23	33%	1.08（4.03）

連接子-有效載荷	**PAB類似物**	**連接子特性**	**連接子附接位點**	**$t_{1/2}$ hr（37°C PBS）**	**游離有效載荷%（T_{14d} 37°C檸檬酸鹽緩衝液，pH 6.0）**	***體外效力*測定 RIP[&]/（DAR）**
LP50				22	81%	1.81（3.67）
LP41				6	未測試	0.74（HER2）
LP33			Rp-硫代磷酸酯（S2）	分解	未測試	0.18（4.2）

[&] RIP = IFNβ生產AUC與參考ADC（LP3）的比率。DBDE = δ鍵解離能

實例9. ADC穩定性：連接子-藥物附接

1 ADC緩衝液穩定性方法和結果

1.1 N附接的連接子

【1059】將每個ADC在含有100 mM蔗糖的25 mM檸檬酸鈉緩衝液（pH 6.0）中稀釋至1 mg/mL。然後將樣本在37°C儲存長達336小時（對於S附接的連接子）或504小時（對於N附接的連接子）。在每個時間點（T = 0、24、48、72、168、336和504小時），取出等分試樣並儲存在-80°C直到分析。藉由HIC-HPLC和SEC-HPLC分析樣本。HIC-HPLC和SEC-HPLC方法如上所述。藉由HIC-HPLC計算了DAR。DAR變化%報告如下：

DAR變化% = 100 * T_n的DAR / T_0的DAR

如圖17所示，與測試的其他連接子-有效載荷選項相比，ADC-LP3顯示出DAR隨時間的最大變化百分比。S附接的連接子的緩衝液穩定性結果顯示在圖18-20和表23中。

【表**23**】.S附接ADC緩衝液穩定性結果

抗PSMA-LP$_x$	單體% T=14天（SEC-HPLC）	DAR變化%（T14/T0）（HIC-HPLC）	T=14的游離有效載荷（ng/mL，LC-MS）
LP3	95.56（7天）	31.81	7746.8
LP39	92.55	81.50	737.4
LP42	87.74	87.21	952.6
LP43	91.85	84.52	2101.9
LP44	88.50	89.37	2627.4
LP45	89.00	78.48	2734.6
LP46	89.97	75.58	5876.9
LP47	91.00	86.58	3638.6
LP48	86.67	56.25	7437.4
LP49	86.06	54.39	4207.2
LP50	87.14	37.37	14150.0
LP51	91.28	76.12	3691.8
LP52	84.21	31.83	11250.7
LP53	92.15	73.53	1760.0

1.2 N附接的連接子

【1060】如上所述測試了N附接的連接子的緩衝液穩定性。N附接的連接子的緩衝液穩定性結果顯示在圖21-23和表24中。

【表**24**】.N附接ADC緩衝液穩定性結果

抗PSMA-LP$_x$	單體% T=21天（SEC-HPLC）	DAR變化%（T21/T0）（HIC-HPLC）	T=21的游離有效載荷（ng/mL，LC-MS）
LP1	87.11	94.62	775.10（T=14）
LP2	86.93	96.84	18.0

抗PSMA-LP$_x$	單體% T=21天（SEC-HPLC）	DAR變化%（T21/T0）（HIC-HPLC）	T=21的游離有效載荷（ng/mL，LC-MS）
LP4	88.87	100.26	53.7
LP5	90.22	81.04	32.17
LP6	89.20	100.26	5.96
LP7	93.56	88.68	7.13
LP8	87.12	98.18	23.4
LP9	87.83	66.58	46.28
LP10	89.11	100.00	50.1
LP11	85.84	98.03	9.8
LP12	88.21	98.51	37
LP13	87.51	98.71	25.5
LP14	89.58	101.03	22.2
LP15	88.08	95.51	29.7
LP16	89.78	98.45	5.74
LP17	90.46	93.72	29.0
LP18	90.22	94.13	23.7
LP19	85.88	94.83	18.5
LP20	89.14	100.51	53.3
LP21	86.07	91.61	40.2
LP22	83.26	97.31	41.2
LP23	84.59	96.58	27.7
LP24	91.47	94.24	20.0
LP25	92.14	98.18	213
LP26	90.97	97.11	466
LP27	89.95	93.28	49.9
LP28	88.46	95.13	57
LP29	85.24	95.38	39.7
LP30	88.30	98.52	4.3
LP31	88.43	95.21	76.7
LP32	88.97	97.46	47.8

2 ADC血漿穩定性

2.1 樣本製備

【1061】藉由將J591-化合物1 ADC在小鼠血漿（BioIVT，使用3.8%檸檬酸鈉作為抗凝劑製備的BALB/C小鼠血漿）中稀釋至0.3 mg/mL或0.4 mg/mL來製備血漿穩定性樣本，並等分到0.1 mL或0.2 mL時間點樣本中。將樣本放入37°C培養箱中，並在0、2、6、24、48、72、168和240小時取出等分試樣，且取出後立即冷凍在-80°C。

2.2 藉由LC-MS進行ADC結構和DAR的分析

【1062】藉由用PBS洗滌3次來製備用於免疫捕獲的磁珠（Dynabeads，英傑公司（Invitrogen），目錄號65602），每次洗滌後用DynaMag-2磁鐵（英傑公司，12321D）收集磁珠。將40 μg生物素抗人Fc（南方生物公司（Southern Biotech），9040-08）/200 μL原珠（stock bead）添加至該等珠中，並在室溫混合1 hr。用PBS洗滌珠3次，然後在PBS中恢復至原始體積。將100 μL血漿樣本添加至200 μL抗人Fc固定的磁珠中，在室溫混合2 hr，用PBS洗滌2次，並重懸於100 μL 2%乙酸中。將珠在室溫混合30 min。收集上清液並用50 μL 1 M碳酸氫銨中和。將1單位的FabRICATOR酶（吉諾維斯公司（Genovis），A0-FR1）/μg ADC添加至洗脫的/中和的樣本中並在室溫孵育1 hr，或用微波輔助的消化（快速酶消化系統，哈德遜表面技術公司（Hudson Surface Technologies））、400W、37°C消化15 min。添加4 μL 100 mM DTT以還原樣本並在37°C孵育20 min。將樣本轉移至LC樣本瓶中，並在配有Waters Acquity UPLC的Waters Synapt G2上藉由LC-MS進行分析。DAR計算為：

DAR = [(DPA cLC/(DPA cLC + DPA ucLC)) + (DPA cHC/(DPA cHC + DPA ucHC))] x 2

DPA = 解卷積峰面積

cLC = LCcys80處軛合的輕鏈

ucLC = 未軛合的輕鏈

cHC = HCcys118處軛合的重鏈

ucHC = 未軛合的重鏈

【1063】 DAR的變化百分比計算為：

100 - [(*x*時間的DAR/起始DAR) x 100]

【1064】 LC-MS方法參數顯示在下表25和26中。

【表**25**】.LC-MS方法參數：儀器

材料：	
UPLC	Waters Acquity UPLC
MS（質譜儀）	Waters Synapt G2 Q-TOF MS
柱	Waters BioResolve RP Mab polyphenol 450 Å，2.7 µm，4.6 x 50 mm，部件號186008953
MPA	水中的0.1%甲酸（FA）
MPB	ACN中的0.1% FA
弱針洗滌	水: ACN = 97:3（v:v）
強針洗滌	水: ACN = 20:80（v:v）
密封洗滌	水: ACN = 90:10（v:v）

【表**26**】.LC-MS方法參數

LC方法				
柱溫	65°C			
樣本溫度	10°C			
注射體積	5 µL			
梯度（還原的mAb）	25 min還原方法			
	時間（min）	流速（mL/min）	%A	%B
	0.0	0.5	75	25
	3.0	0.5	75	25
	18.0	0.5	60	40
	19.0	0.5	10	90
	22.0	0.5	10	90
	22.5	0.5	75	25
	25.0	0.5	75	25

MS方法		
MS調諧文件ES+	毛細管（kV）	2.50
	樣本錐	30
	萃取錐	4.0
	源溫度	80
	脫溶溫度	600
	錐孔氣體（L/h）	30
	脫溶氣體（L/h）	1000
應用流體學	流速狀態：LC	
MS方法		
還原的 mab_500_4000	MS的T（對於還原的mAb）	
方法事件	初始條件流速狀態	廢棄樣本
	4.00 流速狀態	LC 樣本
	採集時間 來源 極性 分析器模式 動態範圍 靈敏度	0 – 24 min ES 正 靈敏度 正常 正常
	TOF MS 低質量 高質量 掃描時間 數據格式	 500 Da 4000 Da 1 sec 連續體
	陷阱CE控制	預設
	轉移CE控制	預設
數據處理方法		
MaxEnt 1	減少的質量	
範圍 解析度	20,000 – 35,000 Da 0.5 Da/通道 0.5 Da	

均勻的高斯函數 – 半高寬 模擬的同位素模式 - 光譜儀模糊寬度 最小強度比	0.5 Da 左33% 右33% 迭代至收斂

2.3 藉由定量LC-MS進行游離有效載荷的分析

【1065】將化合物1和D6-化合物1內標（IS）粉末狀試劑溶解於LC-MS級水中。在小鼠血漿中製備化合物1參考標準品（標準曲線）和QC標準品（QC-低、QC-中和QC-高），並在水中製備注射用內標。將10 µL IS添加至每個標準曲線樣本、QC對照和穩定性樣本中，並且所有樣本均使用固相萃取（SPE）進行製備。對於SPE，使用真空用100 µL水洗滌固相萃取板（沃特世公司，186001828BA）。將100 µL的每個樣本施加在板上並使用真空抽吸（drawn through）。使用真空用5%甲醇（在水中）洗滌孔。用25 µL乙腈:甲醇（60:40）將樣本洗脫到乾淨的收集板中。將收集板短暫離心以將所有洗脫的材料收集至收集孔底部，然後向每個孔中添加100 µL水。然後將樣本用於定量LC-MS分析。每個洗脫的樣本注入5 µL或10 µL進行LC-MS分析。使用TargetLynx（沃特世公司）進行定量。化合物1的LOQ係0.01 ng/mL，而Rp-單磷酸鹽-化合物1和Sp-單磷酸鹽-化合物1的LOQ係0.05 ng/mL。

【1066】LC-MS參數顯示在下表27和28中。

【表**27**】.LC-MS儀器

UPLC	Waters Acquity I class plus UPLC
MS	Waters Xevo TQ-XS Triple Quadrupole MS
柱	Waters Acquity UPLC BEH C18 2.1 x 50 mm，130 Å，1.7 µm，部件號186002350
流動相A	H_2O中的5 mM碳酸氫銨
流動相BB	MeOH中的5 mM碳酸氫銨
注射溶劑	H_2O

【表28】.LC-MS方法

樣本製備					
溶液中的標準品	使用注射溶劑進行連續稀釋				
基質中的樣本	在Waters Oasis HLB 96孔μElution板（186001828BA）上進行固相萃取（SPE） 洗滌液：5% MeOH，洗脫液：ACN/MeOH = 60/40				
進樣方法	化合物1-NH4 20210927_20% B				
柱溫	40°C				
樣本溫度	15°C				
注射體積	5 μL				
梯度	時間（min）	流速（mL/m）	%A	%B	曲線
	0.0	0.5	95.0	5.0	6
	2.0	0.5	80.0	20.0	6
	2.1	0.5	10.0	90.0	6
	4.0	0.5	10.0	90.0	6
	4.1	0.5	95.0	5.0	6
	6.0	0.5	95.0	5.0	6
MRM方法	MRM化合物1和mP-化合物1，IS 20210927				
	質量	親本	子代	錐孔電壓	碰撞工程	駐留
化合物1-NH4		747.0700	171.0000	90	72	0.025
		747.0700	187.9700	90	64	0.025
D6化合物1IS		753.2700	194.1100	100	56	0.025
事件	2.2 min時轉入廢棄物				
MS調諧文件（ES+）	調諧化合物1-NH4 20210901				
	毛細管（kV）			2.1	
	樣本錐（V）			93	

	脫溶溫度（ºC）	600
	脫溶氣體（L/h）	1000
	錐孔氣體（L/h）	150
	霧化器（巴）	7.0
	LM解析度1	2.79
	HM解析度1	14.29
	離子能量1	-0.8
	LM解析度2	2.46
	HM解析度2	14.45
	離子能量2	0.2
	碰撞氣體流速（mL/min）	0.16
	碰撞	4
TargetLynx方法	TargetLynx化合物1和mP-化合物1，IS 20220105	
	保留時間（min）	
	化合物1	1.70
	D6化合物1	1.70

2.4 結果

【1067】血漿穩定性結果顯示在圖24中。與LP3相比，用抗PSMA-LP2或抗PSMA LP1處理的小鼠血清中隨時間的有效載荷釋放百分比更低（圖24A）。與S連接的ADC（LP3）相比，N連接的ADC中平均DAR隨時間的下降幅度最小（圖24B和24C）。用N連接的ADC進行處理導致血清中游離化合物1隨時間顯著減少（圖24D）。

2.4.1 S連接的抗PSMA化合物1 ADC的穩定性

【1068】在小鼠血漿中檢查了藉由化合物1中的硫代磷酸酯鍵連接的抗PSMA ADC（「S連接的ADC」）的穩定性，濃度為0.4 mg/mL。連接子-有效載荷結構顯示在表15和16中。它們藉由鏈間二硫鍵部分還原（隨機DAR4）或

藉由LC cys80（RESPECT-L）和LC A118C（RESPECT-L DAR4）產生的未配對的半胱胺酸與人源化抗人PSMA deJ591軛合。

【1069】 對血漿樣本進行SPE萃取後，使用Waters TQ-XS三重四極桿質譜儀藉由定量LC-MS對釋放的有效載荷進行分析。其結果顯示在圖25中。

【1070】 發現隨機和RESPECT-L軛合的LP3 ADC在小鼠血漿中通常不穩定，因為DAR4的0.4 mg/mL ADC樣本中的總軛合有效載荷係7957 ng/mL。還發現釋放了三種分子形式的有效載荷 – 化合物1、Rp-單磷酸鹽-化合物1和Sp-單磷酸鹽-化合物1。該等形式可能是由於代謝過程中連接子-有效載荷中的S-P或C-S鍵切割造成的，也可能是由於釋放過程中或釋放後硫代磷酸酯鍵的異構化造成的。三種釋放的有效載荷形式的結構顯示在圖26中。

【1071】 從小鼠血漿中免疫捕獲ADC後，還藉由混合LC-MS分析了抗PSMA ADC LP3穩定性樣本。其結果顯示在圖27中。AUC值係解卷積質譜的AUC，對應於每個指示的結構。所有物種在T0時的總AUC值均已歸一化。

【1072】 兩種ADC均表現出顯著的有效載荷代謝和連接子釋放（LC+連接子和HC+連接子增加）。對於隨機軛合的ADC，僅觀察到LC+1連接子和HC+1連接子；其他多重軛合形式（例如，HC+1連接子+1 LP3、HC+2連接子、HC+2連接子+1 LP3等）的豐度可能太低，無法可靠地檢測和定量。對於RESPECT-L ADC，代謝幾乎完全係由於連接子釋放有效載荷所致，而不是由於逆向邁克爾解軛合（retro-Michael deconjugation）而從抗體釋放連接子-有效載荷，這由未軛合的LC和HC沒有增加表明。對於隨機軛合的LP3 ADC，觀察到連接子有效載荷的代謝（導致游離有效載荷的釋放）和連接子-有效載荷的逆向邁克爾解軛合（導致游離LC和HC的增加）兩者。這可能解釋了LP3 ADC的RESPECT-L軛合形式的DAR損失速率較低的原因。

2.4.2 N連接的抗PSMA化合物1 ADC的穩定性

【1073】在小鼠血漿中檢查了藉由化合物1中的橋氮連接的抗PSMA ADC（「N連接的ADC」）的穩定性，濃度為0.3 mg/mL或0.4 mg/mL。該等ADC藉由RESPECT-L DAR4與LC cys80和HC A118C未配對的半胱胺酸的軛合來製備。對血漿樣本進行SPE萃取後，使用Waters TQ-XS三重四極桿質譜儀藉由定量LC-MS評估釋放的游離有效載荷。為了在ADC之間進行比較，游離有效載荷表示為時間T0時的總軛合有效載荷的百分比。該等結果顯示在圖28中。

【1074】抗PSMA ADC LP3（隨機和RESPECT-L）包含在繪製數據中（化合物1、Rp-單磷酸鹽化合物1和Sp-單磷酸鹽化合物1的總計）。通常，所有N連接的抗PSMA化合物1 ADC都比S連接的ADC更穩定。此外，化合物1係唯一檢測到的釋放的有效載荷；沒有釋放出單磷酸鹽形式。抗PSMA LP22（mcA(NMe)AN-單元9-SN-化合物1）表現出比其他間隔子、切割位點或第二間隔子變體顯著更高的有效載荷釋放。通常，L-F_2Pro和Bz第二間隔子似乎在小鼠血漿中最不穩定（游離有效載荷釋放最高），其次係L-Pro，然後是MEC。另外，無論第二間隔子結構如何（與C2和C2-PEG_2間隔子相比），馬來醯亞胺和切割位點之間的mc間隔子似乎都會導致較低的有效載荷釋放水平。

【1075】從小鼠血漿中免疫捕獲ADC後，還藉由混合LC-MS分析了抗PSMA化合物1 ADC穩定性樣本。為了比較所有ADC，數據被繪製為剩餘DAR相對於第0天的DAR的百分比。抗PSMA ADC LP3（隨機和RESPECT-L）包含在繪製數據中。繪製了第7天或第10天的數據（例如，顯示穩定性研究的最後一個時間點）。該等結果顯示在圖29中。

【1076】所有N連接的ADC均表現出比S連接的ADC更好的整體DAR保留。此外，分析表明，N連接的ADC的DAR損失係由於連接子-有效載荷的逆向邁克爾釋放所致，而不是由於連接子的有效載荷的代謝（將DAR與游離有效載荷進行比較），正如在抗PSMA ADC LP3中觀察到的那樣。具有己醯基間隔子

的ADC在穩定性方面係變動的，而C2和C2PEG$_2$間隔子變體在連接子-有效載荷釋放方面通常非常穩定，這可能是由於軛合後馬來醯亞胺水解所致。

實例10. N-連接子附接在體外和體內均表現出功效

1 C4-2 + THP1共培養物中的hIFNβ釋放

【1077】將C4-2細胞以1 x 10^5個細胞/孔接種在96孔板的100 μL細胞培養基（完全RPMI，10% FBS）中，然後以0.03 - 1000 nM的半對數連續稀釋度添加20 μL ADC試劑，充分混合，並在37°C、5% CO_2下孵育10分鐘。將1 x 10^5個細胞/孔的THP1細胞（在80 μL培養基中）添加至孔中，並將細胞板在37°C、5% CO_2下孵育6小時。將板以1500 rpm離心5分鐘，並收集上清液且儲存在-80°C以進行hIFNβ測量。

【1078】使用人IFNβ U-PLEX（MSD公司，目錄號K151VIK-2），按照製造商的說明測量hIFNβ。hIFNβ的動態範圍係3.1-100,000 pg/ml。

【1079】如圖30所示，在C4-2/THP1共培養物測定中，AB2-RL4-LP3比AB2-RL4-LP1和AB2-RL4-LP2誘導更多的IFNβ生產。AB2-RL4-LP1和AB2-RL4-LP2在C4-2/THP1共培養物測定中顯示出類似的IFNβ誘導。

2 C4-2模型中的體內功效

【1080】CB17 SCID雄性小鼠用於本研究。將懸浮在100 μL含有50%基質膠的1X PBS中的10 x 10^6個C4-2細胞皮下植入每隻小鼠的右脅部，並監測腫瘤生長。將小鼠隨機分為五組（10隻小鼠/組），並在腫瘤尺寸達到約150 mm^3時接受如下所示的治療。對小鼠以所指示的單次靜脈內劑量進行治療，並監測腫瘤尺寸和體重35天。

第1組，媒介物（PBS）（IV），單次劑量

第2組，8 mg/kg抗PSMA-LP1（IV），單次劑量

第3組，4 mg/kg抗PSMA-LP1（IV），單次劑量

第4組，8 mg/kg抗PSMA-LP2（IV），單次劑量

第5組，4 mg/kg抗PSMA-LP2（IV），單次劑量

【1081】4 mg/kg和8 mg/kg的兩個抗PSMA ADC組均顯示出腫瘤消退（圖31）。兩個ADC組均觀察到短暫的體重減輕（<20%），但最終恢復。與用包含LP2的ADC治療的組相比，用包含LP1的ADC治療的組顯示出更少的體重減輕。媒介物組在小鼠患病25天後開始體重減輕，而其他四個治療組在腫瘤生長受到抑制時開始體重增加。

實例11. ADC在C57BL/6小鼠的RM1-hPSMAg（Teton）鼠前列腺癌模型中的體內功效研究

1 方法總結

【1082】在本研究中，評估了SEB-LP3 ADC、AB2-RL4-LP2、AB2-RL4-LP3和恩雜魯胺在治療C57BL/6小鼠皮下模型RM1-hPSMAg中的功效。

【1083】將RM1-hPSMAg腫瘤細胞接種到雄性C57BL/6小鼠體內。當腫瘤達到平均腫瘤體積約84 mm^3時啟動治療。將小鼠隨機分為十組（10隻小鼠/組），如下所示。

組	動物編號	治療	劑量水平	給藥溶液（mg/ml）	給藥體積	給藥途徑	給藥頻率和持續時間
1	10	媒介物	-	-	10 μL/g	i.v.	單次劑量（隨機分組後第二天）
		多西環素	2 mg/小鼠	10	200 μL/小鼠	口服	兩次劑量（在隨機分組日當天開始且連續給藥兩天）
2	10	SEB-LP3 ADC	1 mg/kg	0.1	10 μL/g	i.v.	單次劑量（隨機分組後第二天）

		多西環素	2 mg/小鼠	10	200 μL/小鼠	口服	兩次劑量（在隨機分組日當天開始且連續給藥兩天）
3	10	AB2-RL4-LP1	4 mg/kg	0.4	10 μL/g	i.v.	單次劑量（隨機分組後第二天）
		多西環素	2 mg/小鼠	10	200 μL/小鼠	口服	兩次劑量（在隨機分組日當天開始且連續給藥兩天）
4	10	AB2-RL4-LP3	1 mg/kg	0.1	10 μL/g	i.v.	單次劑量（隨機分組後第二天）
		多西環素	2 mg/小鼠	10	200 μL/小鼠	口服	兩次劑量（在隨機分組日當天開始且連續給藥兩天）
5	10	恩雜魯胺	25 mg/kg	2.5	10 μL/g	口服	QD×21天（隨機分組後第二天開始給藥且連續給藥21天）
		多西環素	2 mg/小鼠	10	200 μL/小鼠	口服	兩次劑量（在隨機分組日當天開始且連續給藥兩天）
6	10	媒介物	-	-	10 μL/g	i.v.	單次劑量（隨機分組後3天）
		多西環素	2 mg/小鼠	10	200 μL/小鼠	口服	四次劑量（在隨機分組日當天開始且連續給藥四天）

7	10	AB2-RL4-LP1	4 mg/kg	0.4	10 μL/g	i.v.	單次劑量（隨機分組後3天）
		多西環素	2 mg/小鼠	10	200 μL/小鼠	口服	四次劑量（在隨機分組日當天開始且連續給藥四天）
8	10	AB2-RL4-LP3	1 mg/kg	0.1	10 μL/g	i.v.	單次劑量（隨機分組後3天）
		多西環素	2 mg/小鼠	10	200 μL/小鼠	口服	四次劑量（在隨機分組日當天開始且連續給藥四天）
9	10	媒介物	-	-	10 μL/g	i.v.	單次劑量（隨機分組後第二天）
10	10	AB2-RL4-LP3	1 mg/kg	0.1	10 μL/g	i.v.	單次劑量（隨機分組後第二天）

i.v.= 靜脈內

【1084】隨機分組後每週兩次測量體重和腫瘤體積。腫瘤接種日表示為第1天。多西環素治療在隨機分組日當天開始。隨機分組後第二天開始媒介物、SEB-LP3 ADC、AB2-RL4-LP1和AB2-RL4-LP3治療。

【1085】第1-4組的小鼠在隨機分組日當天和隨機分組後第二天接受多西環素治療。在隨機分組後第二天，在多西環素治療後4-6小時，給予小鼠媒介物或SEB-LP3 ADC、AB2-RL4-LP1或AB2-RL4-LP3。

【1086】第6-8組的小鼠在隨機分組日當天開始接受多西環素治療且連續治療4天。在第四次投與多西環素時，在多西環素治療後4-6小時，給予小鼠媒介物或AB2-RL4- LP1或AB2-RL4-LP3。

【1087】 第5組的小鼠在隨機分組日當天和隨機分組後第二天接受多西環素治療。在隨機分組後第二天，在多西環素治療後4-6小時，給予小鼠恩雜魯胺。

【1088】 在隨機分組後第二天，給予第9組和第10組的小鼠媒介物（第9組）或AB2-RL4-LP3。

【1089】 連續三天給予第2、3、4、7、8和10組的小鼠皮下液體補充劑，並且使用SEB-LP3 ADC、AB2-RL4- LP1或AB2-RL4-LP3治療後24小時開始補充。

【1090】 使用卡尺每週兩次在兩個維度上測量腫瘤體積，並使用以下公式以mm^3表示體積：V = (L x W x W)/2，其中V係腫瘤體積，L係腫瘤長度（最長的腫瘤尺寸），W係腫瘤寬度（垂直於L）。而且每週兩次測量體重。

【1091】 所有小鼠於第26天處死。

【1092】 為了比較不同組在預先指定的日期的腫瘤體積，使用巴特利檢驗（Bartlett's test）來檢查所有組之間的方差同質性假設。當巴特利檢驗的p值≥0.05時，運行單因素方差分析來檢驗所有組之間平均值的總體相等性。如果單因素方差分析的p值<0.05，則藉由運行針對所有成對比較的圖凱HSD（誠實顯著差異）檢驗以及針對每個治療組與媒介物組進行比較的鄧奈特檢驗來進行事後檢驗。當巴特利檢驗的p值<0.05時，運行克魯斯卡爾-沃利斯檢驗來檢驗所有組之間中位數的總體相等性。如果克魯斯卡爾-沃利斯檢驗的p值<0.05，則藉由運行針對所有成對比較或針對每個治療組與媒介物組進行比較的科諾弗非參數檢驗來進行事後檢驗，兩者均採用單步p值調整。

【1093】 此外，進行成對比較而無需多重檢驗校正，並且標稱/未校正的p值直接從韋爾奇t檢驗或曼-惠特尼U檢驗報告。具體來說，巴特利檢驗首先用於

檢查一對組的方差同質性假設。當巴特利檢驗的p值≥ 0.05時，進行韋爾奇t檢驗；否則，進行曼-惠特尼U檢驗以獲得標稱p值。

2 結果

【1094】在四個劑量的多西環素治療後，4 mg/kg單次靜脈內劑量的AB2-RL4- LP1（第7組）和1 mg/kg單次靜脈內劑量的AB2-RL4-LP3（第8組）在第26天表現出對模型RM1-hPSMAg的統計學上顯著的功效（$p < 0.05$）。在沒有任何多西環素治療的情況下，1 mg/kg單次靜脈內劑量的AB2-RL4-LP3在第26天也表現出對模型RM1-hPSMAg的統計學上顯著的功效（$p < 0.05$）。結果顯示在下表29中。

【1095】小鼠對治療的耐受性良好。給予了SEB-LP3 ADC、AB2-RL4-LP1或AB2-RL4-LP3的小鼠表現出體重減輕，在連續三天向小鼠提供飲食凝膠劑和皮下液體補充劑後體重有所恢復。對於其他小鼠治療組，沒有觀察到體重減輕。

【表**29**】.測試ADC在治療C57BL/6小鼠模型RM1-hPSMAg中的抗腫瘤活性

組	在第5天	在第26天			
	平均腫瘤尺寸（mm^3）	平均腫瘤尺寸（mm^3）	媒介物組1作為對照組		
			T/C（%）	TGI（%）	*p*值
1	84.59±1.99	578.84±204.09	-	-	-
2	84.56±2.01	256.44±64.29	44.30	65.23	0.874
3	84.57±2.00	132.41±39.51	22.88	90.32	0.073
4	84.55±1.97	142.47±47.42	24.61	88.28	0.107
5	84.58±1.98	599.41±144.67	103.55	-4.16	1.000
組	在第5天	在第26天			
	平均腫瘤尺寸（mm^3）[a]	平均腫瘤尺寸（mm^3）[a]	媒介物組6作為對照組		
			T/C（%）	TGI（%）	*p*值

6	84.57±1.99	863.76±197.56	-	-	-
7	84.55±1.97	167.26±37.15	19.36	89.39	0.005**
8	84.56±1.99	192.88±31.52	22.33	86.10	0.039*
組	**在第5天**	**在第26天**			
	平均腫瘤尺寸（mm^3）[a]	**平均腫瘤尺寸（mm^3）[a]**	**媒介物組9作為對照組**		
			T/C（%）	**TGI（%）**	***P*值**
9	84.59±1.99	1592.85±191.34	-	-	-
10	84.60±2.11	282.18±72.68	17.72	86.90	<0.001***

實例12. 抗PSMA ADC的體內抗腫瘤活性以及ADC體內治療後的細胞介素生產

【1096】 抗PSMA抗體deJ591與STING促效劑化合物1或化合物2軛合。化合物1或化合物2上的兩個不同的附接點用於連接子附接至*(S)*-硫代磷酸酯上的硫（「S連接的」）或附接至橋氮（「N連接的」）。對連接子進行了各種結構改變，以評估間隔子、切割位點和第二間隔子（第二消解有效載荷釋放步驟）修飾對所得ADC的效力、毒性和穩定性的影響。本實例顯示了抗PSMA ADC在荷瘤小鼠中的體內抗腫瘤活性，並藉由測量小鼠細胞介素生產（包括I型干擾素）來評估藥效學（PD）效果。

1 方法總結

1.1 抗PSMA-LP ADC的列表

【1097】 本實例中評估的與連接子-有效載荷（LP）軛合的抗PSMA列於下表30中。

【表**30**】.抗PSMA-LP ADC的列表

LP	**抗體**	**DAR**
LP2	a-hPSMA-zuJ591-H14L5-hIgG1-A118C C80	4
LP3	a-hPSMA-zuJ591-H14L5-hIgG1-A118C C80	3.81
LP4	a-hPSMA-zuJ591-H14L5-hIgG1-A118C C80	3.9

LP	抗體	DAR
LP5	a-hPSMA-zuJ591-H14L5-hIgG1-A118C C80	3.9
LP6	a-hPSMA-zuJ591-H14L5-hIgG1-A118C C80	3.92
LP7	a-hPSMA-zuJ591-H14L5-hIgG1-A118C C80	4.02
LP8	a-hPSMA-zuJ591-H14L5-hIgG1-A118C C80	4.06
LP9	a-hPSMA-zuJ591-H14L5-hIgG1-A118C C80	3.96
LP10	a-hPSMA-zuJ591-H14L5-hIgG1-A118C C80	3.85
LP11	a-hPSMA-zuJ591-H14L5-hIgG1-A118C C80	2.5
LP12	a-hPSMA-zuJ591-H14L5-hIgG1-A118C C80	3.96
LP13	a-hPSMA-zuJ591-H14L5-hIgG1-A118C C80	3.78
LP14	a-hPSMA-zuJ591-H14L5-hIgG1-A118C C80	3.81
LP15	a-hPSMA-zuJ591-H14L5-hIgG1-A118C C80	4.04
LP16	a-hPSMA-zuJ591-H14L5-hIgG1-A118C C80	4.02
LP17	a-hPSMA-zuJ591-H14L5-hIgG1-A118C C80	4
LP18	a-hPSMA-zuJ591-H14L5-hIgG1-A118C C80	4
LP19	a-hPSMA-zuJ591-H14L5-hIgG1-A118C C80	4
LP20	a-hPSMA-zuJ591-H14L5-hIgG1-A118C C80	3.78
LP21	a-hPSMA-zuJ591-H14L5-hIgG1-A118C C80	4
LP22	a-hPSMA-zuJ591-H14L5-hIgG1-A118C C80	3.14
LP23	a-hPSMA-zuJ591-H14L5-hIgG1-A118C C80	3.2
LP24	a-hPSMA-zuJ591-H14L5-hIgG1-A118C C80	4
LP25	a-hPSMA-zuJ591-H14L5-hIgG1-A118C C80	3.84
LP26	a-hPSMA-zuJ591-H14L5-hIgG1-A118C C80	3.88
LP27	a-hPSMA-zuJ591-H14L5-hIgG1-A118C C80	4
LP28	a-hPSMA-zuJ591-H14L5-hIgG1-A118C C80	3.93
LP29	a-hPSMA-zuJ591-H14L5-hIgG1-A118C C80	4
LP30	a-hPSMA-zuJ591-H14L5-hIgG1-A118C C80	3.96
LP31	a-hPSMA-zuJ591-H14L5-hIgG1-A118C C80	3.85
LP32	a-hPSMA-zuJ591-H14L5-hIgG1-A118C C80	4

1.2 22Rv1異種移植模型中的體內功效[群組1]

【1098】 6週齡的雄性BALB/c裸鼠（查理斯河公司（Charles River））用於本研究。22Rv1細胞（批號：RJT07NOV22p14）在含有10% HI-FBS的RPMI培養基中生長。將含有50%基質膠的1X PBS中的5x10^6個22Rv1細胞以200 μL的

體積皮下注射到小鼠的右脅部。藉由卡尺監測腫瘤生長至平均達到150-200 mm^3（約161 mm^3），然後將荷瘤小鼠隨機分為治療組和對照組，6隻小鼠/組（群組1有12組，群組2有11組，群組3有15組，如下詳述）。入選小鼠接受單次靜脈內（IV）注射100 μL媒介物或藥物。藉由頜下（面部）靜脈將血液樣本收集到血清收集管中。使血液在室溫凝結，然後藉由在4ºC以1,200 g離心15 min來分離血清。將分離的血清轉移到乾淨的聚丙烯管中並儲存在-80ºC。監測腫瘤體積和體重26天（群組1）、35天（群組2）或21天（群組3）。

【表**31**】.22Rv1給藥組 – 群組1

組	化合物	劑量（mg/kg）	途徑	方案
1	媒介物（PBS）	0	IV	單次
2	抗PSMA-LP2	1.0	IV	單次
3	抗PSMA-LP3	2.0	IV	單次
4	抗PSMA-LP8	2.0	IV	單次
5	抗PSMA-LP10	2.0	IV	單次
6	抗PSMA-LP11	3.2	IV	單次
7	抗PSMA-LP13	2.0	IV	單次
8	抗PSMA-LP14	2.0	IV	單次
9	抗PSMA-LP15	2.0	IV	單次
10	抗PSMA-LP16	2.0	IV	單次
11	抗PSMA-LP20	2.0	IV	單次
12	抗PSMA-LP28	2.0	IV	單次

【表**32**】.22Rv1給藥組 – 群組2

組	化合物	劑量（mg/kg）	途徑	方案
1	媒介物（PBS）	0	IV	單次
2	抗PSMA-LP2	1.0	IV	單次
3	抗PSMA-LP3	2.0	IV	單次
4	抗PSMA-LP4	2.0	IV	單次
5	抗PSMA-LP5	2.0	IV	單次

組	化合物	劑量（mg/kg）	途徑	方案
6	抗PSMA-LP6	2.0	IV	單次
7	抗PSMA-LP7	2.0	IV	單次
8	抗PSMA-LP9	2.0	IV	單次
9	抗PSMA-LP12	2.0	IV	單次
10	抗PSMA-LP16	2.0	IV	單次
11	抗PSMA-LP30	2.0	IV	單次

【表**33**】.22Rv1給藥組 – 群組3

組	化合物	劑量（mg/kg）	途徑	方案
1	媒介物（PBS）	0.00	IV	單次
2	抗PSMA-LP2	2.00	IV	單次
3	抗PSMA-LP17	2.00	IV	單次
4	抗PSMA-LP18	2.00	IV	單次
5	抗PSMA-LP19	2.00	IV	單次
6	抗PSMA-LP21	2.00	IV	單次
7	抗PSMA-LP22	2.50	IV	單次
8	抗PSMA-LP23	2.54	IV	單次
9	抗PSMA-LP24	2.00	IV	單次
10	抗PSMA-LP25	2.00	IV	單次
11	抗PSMA-LP26	2.00	IV	單次
12	抗PSMA-LP27	2.00	IV	單次
13	抗PSMA-LP29	2.00	IV	單次
14	抗PSMA-LP31	2.00	IV	單次
15	抗PSMA-LP32	2.00	IV	單次

1.3 C4-2異種移植模型中的體內功效

【1099】6週齡的雄性Fox Chase SCID小鼠（恩維戈公司（Envigo））用於本研究。C4-2細胞（批號：RJT07NOV22p11）在含有10% HI-FBS的RPMI培養基中生長。將含有50%基質膠的1X PBS中的$1x10^7$個C4-2細胞以200 μL的體積

皮下注射到小鼠的右脅部。藉由卡尺監測腫瘤生長至平均達到150-200 mm^3（約170 mm^3），然後將荷瘤小鼠隨機分為治療組和對照組，5隻小鼠/組（有6組，如下詳述）。入選小鼠接受單次靜脈內（IV）注射100 μL媒介物或藥物。藉由頜下（面部）靜脈將血液樣本收集到血清收集管中。使血液在室溫凝結，然後藉由在4ºC以2000 x g離心15 min來分離血清。將分離的血清轉移到乾淨的聚丙烯管中並儲存在-80ºC。監測腫瘤體積和體重35天。

【表**34**】.C4-2給藥組

組	化合物	劑量（mg/kg）	途徑	方案
1	媒介物（PBS）	0	IV	單次
2	抗PSMA-LP2	1.0	IV	單次
3	抗PSMA-LP14	2.0	IV	單次
4	抗PSMA-LP26	2.0	IV	單次
5	抗PSMA-LP29	2.0	IV	單次
6	抗PSMA-LP28	2.0	IV	單次

1.4 血清和血漿細胞介素分析

【1100】治療後六小時收集血清和血漿樣本並儲存在-80°C直到分析。使用Luminex xMAP多重套組（英傑公司編號PPX-08-MX2XANK）對樣本進行測定，該套組旨在檢測和定量以下細胞介素：IFN-β、IFN-γ、IL-6、IL-13、IP-10（CXCL10）、MCP-1（CCL2）、MIP-1α（CCL3）和MIP-1β（CCL4）。根據製造商的指導製備所有試劑。將標準品和樣本與磁珠一起孵育過夜，並且所有洗滌步驟均使用安捷倫公司的配備磁鐵外掛程式（magnet insert）的自動洗板機進行。使用Luminex xMAP Intelliflex收集數據，並使用EMD密理博公司的Belysa軟體進行分析。

1.5 統計學分析

【1101】使用雙因素方差分析對媒介物治療組和抗PSMA-LP ADC治療組之間的平均腫瘤體積差異進行統計學分析，以檢驗所有組之間平均值的總體相等性。使用鄧奈特方法檢查各組的所有成對比較。

2 結果

2.1 抗PSMA LP ADC在22Rv1異種移植小鼠模型中的抗腫瘤活性和血清細胞介素分析（群組1）

【1102】抗PSMA-LP ADC（隨機DAR2-4）以單次IV推注劑量投與至雄性BALB/c裸鼠模型中的22Rv1異種移植物。將治療組的平均腫瘤體積與對照組1（媒介物/PBS）進行比較，並測量體重變化（相對於第0天歸一化）。該分析的結果顯示在圖32中。分析表明，在給藥後第11天，抗PSMA-LP16、-LP28、-LP20和-LP10具有顯著的抗腫瘤活性。在給藥後第19天觀察到抗PSMA-LP16（mcVAPC-單元8-SN-化合物1）和-LP28（mcVAPC-單元11-SN-化合物1）的持續抗腫瘤活性。抗PSMA-LP16（mcVAPC-單元8-SN-化合物1）和-LP28（mcVAPC-單元11-SN-化合物1）治療的小鼠到第4天顯示出暫時性體重減輕超過10%，而抗PSMA-LP3（mcVAP-Sp-化合物1）和-LP20（mcVAPC-單元9-SN-化合物1）到第4天顯示出暫時性體重減輕5%。測試的其他抗PSMA-LP ADC顯示出有限的體重減輕。

【1103】為了進行血清細胞介素分析，在治療後6小時收集小鼠血清。使用Luminex xMAP多重套組測量並定量細胞介素濃度。該分析的結果顯示在圖33和表35中。分析表明，給藥後六小時產生了細胞介素。該等數據表明，具有理想的抗腫瘤活性的抗PSMA-LP16和-LP28也刺激了細胞介素的大量生產。使用抗PSMA-LP16或-LP28治療導致暫時性體重減輕超過10%。抗PSMA-LP3（mcVAP-Sp-化合物1）也刺激了細胞介素的大量生產。雖然抗PSMA-LP3組的

抗腫瘤活性較低，但也導致了體重急劇減輕。抗PSMA-LP10和-LP20 ADC顯示出抗腫瘤活性，並且還刺激了細胞介素生產。

【表35】.22Rv1異種移植模型中抗PSMA-LP ADC的抗腫瘤活性和細胞介素生產的總結（群組1）

層級*		**層級1**				**層級2**	**層級3**			**層級之外****		
LP編號		**16**	**28**	**20**	**10**	**14**	**2**	**13**	**15**	**3**	**8**	**11**
BW減輕（%）		**10**	**10**	**5**						**5**		
細胞介素	**IP10**	+++	++	++	++	++	+	+	++	+++	++	+/-
	IFN-β	+++	+++	++	+	+	+/-	+/-	+	++	+	-
	IFN-γ	++	+	+/-	+/-	+/-	-	+/-	+/-	+++	+/-	+/-
	IL-6	+++	+++	+	+/-	+/-	-	-	+/-	+++	+/-	-
	IL-13	+++	+++	++	-	-	+/-	-	-	+++	+/-	-
	MCP-1	+++	+++	+	+/-	+/-	+/-	-	+/-	+++	+/-	-
	MIP-1α	+++	+++	+	+/-	+/-	-	-	+/-	+++	+/-	-
	MIP-1β	+++	+++	++	+	+	+/-	+/-	+	+++	+	+/-
抗腫瘤活性	**D11的$p < 0.0001$**	真	真	真	真							
	D11的$p < 0.001$	真	真	真	真	真						
	D11的$p < 0.05$	真	真	真	真	真	真	真	真			
	無意義									真	真	真

*層級：根據抗腫瘤活性的分類的LP

**層級之外：層級之外，第11天（D11）沒有有意義的抗腫瘤活性

2.2 抗PSMA LP ADC在22Rv1異種移植小鼠模型中的抗腫瘤活性和血清細胞介素分析（群組2）

【1104】抗PSMA-LP ADC（隨機DAR2-4）以單次IV推注劑量投與至雄性BALB/c裸鼠模型中的22Rv1異種移植物。將治療組的平均腫瘤體積與對照組1（媒介物/PBS）進行比較，並測量體重變化（相對於第0天歸一化）。該分析的結果顯示在圖34中。分析表明，在第10天用抗PSMA-LP3、-LP9和-LP16治療的組具有統計學上顯著的抗腫瘤活性，用抗PSMA-LP2、-LP4、-LP5、-LP6、-

LP7和-LP12治療的組的統計學顯著性較弱（$p < 0.05$），而用抗PSMA-LP30治療的組則表現出較低的抗腫瘤活性。在用抗PSMA-LP3（mcVAP-Sp-化合物1）和抗PSMA-LP9（mcVAPC-SN-化合物1）治療的組中觀察到持續的抗腫瘤活性，直到給藥後第17天。抗PSMA-LP3、-LP9和-LP16治療的小鼠到第4天顯示出暫時性體重減輕超過10%。

【1105】 在治療後6小時收集小鼠血清。使用Luminex xMAP多重套組測量並定量細胞介素濃度。該分析的結果顯示在圖35和表36中。分析表明，給藥後六小時產生了細胞介素。值得注意的是，抗PSMA-LP9（mcVAPC-SN-化合物1）和LP16（與群組1相同）具有優異的抗腫瘤活性，產生的細胞介素與抗PSMA-LP3的豐度類似，但表現出體重急劇減輕。另一方面，第3層級的組（抗PSMA-LP2、-LP4、-LP5、-LP6、-LP7和-LP12）也產生細胞介素，但與第1層級和第2層級相比水平較低。

【表36】.22Rv1異種移植模型中抗PSMA-LP ADC的抗腫瘤活性和細胞介素生產的總結（群組2）

層級*		**層級1**		**層級2**	**層級3**					**層級之外****
LP編號		**16**	**9**	**3**	**2**	**4**	**5**	**6**	**7**	**12**	**30**
BW減輕（%）		**10**	**10**	**10**							
細胞介素	**IP10**	+++	+++	+++	+	++	+	++	++	+	+
	IFN-β	+++	+++	+++	+/-	+	-	+/-	+/-	+/-	+/-
	IFN-γ	++	+	+++	-	-	-	-	-	+/-	-
	IL-6	+++	+	+++	-	-	-	-	-	-	-
	IL-13	+++	+++	+++	+/-	-	-	-	-	-	-
	MCP-1	+++	+++	+++	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-
	MIP-1α	+++	+++	+++	-	+/-	-	-	-	-	-
	MIP-1β	+++	+++	+++	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-
抗腫瘤活性	**D10的$p < 0.0001$**	真	真								
	D10的$p < 0.001$	真	真	真							
	D10的$p < 0.05$	真	真	真	真	真	真	真	真	真	

	無意義										真

*層級：根據抗腫瘤活性的分類的LP

**層級之外：層級之外，第10天（D10）沒有有意義的抗腫瘤活性

2.3 抗PSMA LP ADC在22Rv1異種移植小鼠模型中的抗腫瘤活性和血清細胞介素分析（群組3）

【1106】抗PSMA-LP ADC（隨機DAR2-4）以單次IV推注劑量投與至荷瘤雄性BALB/c裸鼠中的22Rv1異種移植物。將治療組的平均腫瘤體積與對照組1（媒介物/PBS）進行比較，並測量體重變化（相對於第0天歸一化）。該分析的結果顯示在圖36中。分析表明，從第7天開始，抗PSMA-LP17和-LP27的抗腫瘤活性具有統計學上的優異性（$p < 0.0001$），並且在給藥後第21天，用抗PSMA-LP17、-LP18、-LP26、-LP27、-LP32（$p < 0.0001$）以及-LP21和-LP22（P<0.001）治療的組具有顯著的抗腫瘤活性。到給藥後第21天觀察到，用抗PSMA-LP24（mcGGFG-單元9-SN-化合物1）治療的小鼠也具有顯著的抗腫瘤活性（$p < 0.05$）。總體而言，三種抗PSMA-ADC（LP-17、-27和-26）在研究中顯示出很強的抗腫瘤活性。值得注意的是，抗PSMA-LP17和-LP27到第3天顯示出暫時性體重減輕20%或以上，而用抗PSMA-LP26、-LP19、-LP18 ADC治療的小鼠體重減輕約10%。

【1107】在治療後6小時收集小鼠血漿。使用Luminex xMAP多重套組測量並定量細胞介素濃度。該分析的結果顯示在圖37和表37中。在所有抗PSMA-LP ADC中均觀察到細胞介素生產。經抗PSMA-LP19治療的小鼠產生了更大量的所檢查的大多數細胞介素，但抗腫瘤活性有限且體重減輕相對較高。另一方面，具有較強抗腫瘤活性的三種抗PSMA-ADC（LP-17、-27和-26）也產生了較高水平的細胞介素，如IFN-γ、IL-6和IL-13，但在本研究中，與其他兩種抗PSMA-LP17和-LP27 ADC相比，抗PSMA-LP26刺激更多細胞介素生產。值得注

意的是，抗PSMA-LP26顯示出暫時性體重減輕10%，而觀察到用抗PSMA-LP17和-27 ADC治療的小鼠體重減輕超過20%。

【表37】.22Rv1異種移植模型中抗PSMA-LP ADC的抗腫瘤活性和細胞介素生產的總結（群組3）

層級*		**層級1**			**層級2**		**層級3**			**層級之外****
LP編號		17	27	26	18	32	21	22	24	19
BW減輕（%）		20	20	10	10					10
細胞介素	IP10	+	+	+++	+	+	+	+	+	+++
	IFN-β	++	++	++	++	++	++	++	++	+++
	IFN-γ	+++	+++	+++	+	+	+	+	+	+
	IL-6	+++	++	+++	+	+	+	+	+	++
	IL-13	++	+	+++	++	++	+	+++	+	+++
	MCP-1	+	+	+++	+	+	+	+	+	++
	MIP-1α	+	+	++	+	+	+	+	+	+++
	MIP-1β	+	+	+++	+	+	+	+	+	+++
抗腫瘤活性	D7的$p < 0.0001$	真	真							
	D21的P < 0.0001	真	真	真	真	真				
	D21的$p < 0.001$	真	真	真	真	真	真	真		
	D21的$p < 0.05$	真	真	真	真	真	真	真	真	
	無意義									真

*層級：根據第21天（D21）抗腫瘤活性的分類的LP

**層級之外：層級之外，D21沒有有意義的抗腫瘤活性

2.4 抗PSMA-LP ADC在C4-2異種移植SCID小鼠模型中的抗腫瘤活性

【1108】抗PSMA-LP ADC（隨機DAR2-4）以單次IV推注劑量投與至荷瘤雄性SCID小鼠中的C4-2異種移植物。將治療組的平均腫瘤體積與對照組1（媒介物/PBS）進行比較，並測量體重變化（相對於第0天歸一化）。該分析的結果顯示在圖38中。分析表明，從給藥後第10天開始，抗PSMA-LP16（mcVAPC-單元8-SN-化合物1）具有統計學上優異的抗腫瘤活性，並且其抗腫瘤活性持續到終點。到給藥後第17天，給予了抗PSMA-LP28（mcVAPC-單元

11-SN-化合物1）的小鼠也具有顯著的抗腫瘤活性（P <0.05），呈高斯分佈範圍。在此模型中，在第17天在抗PSMA-LP2、-LP14組中觀察到抗腫瘤活性，但不顯著。雖然抗PSMA-LP16、-LP20和-LP28治療的小鼠到第4天表現出暫時性體重減輕超過10%，但測試的其他抗PSMA-LP ADC在C4-2模型中表現出有限的體重減輕。

【1109】 在治療後6小時收集小鼠血清。使用Luminex xMAP多重套組測量並定量細胞介素濃度。該分析的結果顯示在圖39和表38中。在所有抗PSMA-LP ADC中均觀察到細胞介素生產，並且在此C4-2異種移植小鼠模型中對抗PSMA-LP16、LP28、-LP20、-LP2和-LP14中的細胞介素生產進行了排名。抗PSMA-LP16和-LP28顯示出統計學上顯著的抗腫瘤活性，也刺激了該模型中細胞介素的大量生產。

【表**38**】.C4-2異種移植模型中抗PSMA-LP ADC的抗腫瘤活性和細胞介素生產的總結

層級*		**層級1**	**層級2**	**層級3**		
LP編號		16	28	2	14	20
BW減輕（%）		10	10			10
細胞介素	IP10	+++	++	++	+	+
	IFN-β	+++	++	+	+	+
	IFN-γ	+++	+	+	+	+
	IL-6	+++	+	+	+	+
	IL-13	+++	++	-	-	+
	MCP-1	+++	+/-	+/-	-	+/-
	MIP-1α	+++	++	+/-	-	+/-
	MIP-1β	+++	++	+	+/-	+
抗腫瘤活性	D10的$p < 0.0001$	真	真			
	D17的$p < 0.05$	真	真			
	無意義			真	真	真

*層級：根據抗腫瘤活性的分類的LP

實例13. 抗人PSMA-LP3 ADC在小鼠體內的藥物動力學

1 方法

1.1 動物給藥和樣本採集（非荷瘤小鼠）

【1110】6週齡的雄性balb/c裸鼠（傑克遜實驗室（Jackson Labs））用於研究非荷瘤小鼠的藥物動力學（PK）。在給藥前（1 mpk最終給藥），將抗PSMA-LP3在PBS中稀釋至5 mg ADC/kg小鼠體重的濃度。給小鼠靜脈內注射200 μL的抗PSMA-LP3。用氯胺酮（0.9 mL）和賽拉唄（0.5 mL）在0.9%生理鹽水（8.6 mL）中製備麻醉混合物。在給藥後10分鐘、30分鐘、2小時、6小時、24小時、72小時、168小時和336小時（3隻小鼠/時間點），用200 μL氯胺酮/賽拉唄混合物腹膜內麻醉小鼠。使用27G針頭和3 mL注射器藉由心臟穿刺抽血，隨後藉由頸脫位立即安樂死。將收集的血液立即轉移至檸檬酸鈉管中，並在2000 g離心15 min後收集血漿。將血漿儲存在-80ºC直到使用。

1.2 動物給藥和樣本採集（荷瘤小鼠）

【1111】C4-2腫瘤（去勢抵抗性人前列腺癌LnCAP亞系）在6週齡的雄性CB17 SCID小鼠（恩維戈公司）中皮下建立。在給藥前（3 mpk和9 mpk最終給藥），將抗PSMA-LP3在PBS中稀釋至15 mg和45 mg ADC/kg小鼠體重的濃度。當平均腫瘤尺寸達到約100 mm^3時開始治療。給小鼠靜脈內注射200 μL的抗PSMA-LP3。用氯胺酮（0.9 mL）和賽拉唄（0.5 mL）在0.9%生理鹽水（8.6 mL）中製備麻醉混合物。在給藥後5分鐘、30分鐘、2小時、6小時、24小時、72小時、168小時和504小時（3隻小鼠/時間點），用200 μL氯胺酮/賽拉唄混合物腹膜內麻醉小鼠。使用27G針頭和3 mL注射器藉由心臟穿刺抽血，隨後藉由頸脫位立即安樂死。藉由解剖分離腫瘤和所選器官，快速冷凍，並儲存在-80ºC直到使用。將收集的血液立即轉移至檸檬酸鈉管中，並在2000 g離心15 min後收集血漿。將血漿儲存在-80ºC直到使用。

1.3 腫瘤組織處理

【1112】將冷凍的腫瘤與300 µL裂解緩衝液和5 µL核酸酶在2 mL螺旋蓋微量離心管中混合。添加珠並在Fast-Prep 24 5G珠攪拌器裂解系統（MP生物醫學公司（MP Biomedical））中以6 mps、30 sec/循環的設置均質化樣本，總共三個循環，循環之間在冰上休息30 sec。將裂解的樣本在4°C以12,000 x g離心10 min。取出上清液，進行等分，速凍，並儲存在-80ºC直到使用。

1.4 抗PSMA-LP3總抗體和完整ADC測定

【1113】抗PSMA-LP3總抗體和完整ADC測定在Gyros xPand納升級微流體免疫測定儀器平臺（Gyros蛋白質技術公司（Gyros Protein Technologies））上進行。將含有鏈黴親和素的BioAffy 1000 CD（Gyros蛋白質技術公司）平衡至室溫至少30 min。將測試小鼠血漿/腫瘤裂解物樣本在Rexxip HN緩衝液（Gyros蛋白質技術公司）中的2% Tween 20中以1:10（針對血漿）和1:500（針對腫瘤裂解物）進行最低限度稀釋，以進入基於估計濃度的測定的定量範圍。對於總抗體測定和完整ADC標準曲線兩者，首先將抗PSMA-LP3 ADC在Rexxip HN緩衝液中從50 µg/mL儲備液稀釋至800 ng/mL，然後以2.2倍稀釋6次（範圍為800 ng/mL – 7.06 ng/mL，總共7個標準品）。對於總抗體測定，捕獲試劑係Rexxip HN緩衝液中的2% Tween-20中的25 µg/mL生物素化的人PSMA（R&D系統公司），檢測試劑係Rexxip F緩衝液中的25 µg/mL Alexa-Fluor 647標記的小鼠抗人IgG Fc（CH2結構域）（伯樂公司（BioRad）MCA4774）。對於完整ADC測定，捕獲試劑係Rexxip HN緩衝液中的2% Tween-20中的50 µg/mL生物素化的抗化合物1 Fab（2.1A3）片段，檢測試劑係Rexxip F緩衝液中的25 µg/mL Alexa-Fluor 647標記的小鼠抗人IgG Fc（CH2結構域）（伯樂公司MCA4774）。所有樣本和標準品均以5,000 x g離心5 min。然後在Gyros xPand上運行以下方案，進行總抗體測定和完整ADC測定兩者，流速為2 nL/sec（用於洗滌和試劑處理的體積為200 nL）：

- 用Gyros洗滌緩衝液，pH 11（Gyros蛋白質技術公司，P0020096）洗滌針，然後用PBST洗滌
- 用PBST洗滌柱2次
- 使捕獲試劑通過柱
- 用PBST洗滌柱2次
- 使測試樣本和標準品通過柱
- 用PBST洗滌柱2次
- 在添加檢測試劑之前設置背景
- 使檢測試劑通過柱
- 用PBST洗滌柱4次
- 使用1% PMT設置檢測總捕獲信號
- 用Gyros洗滌緩衝液，pH 11洗滌針，然後用PBST洗滌

【1114】使用Gyros Evaluator軟體、使用具有響應加權的5參數曲線擬合，或使用Watson LIMS、使用5% PMT設置和具有標準曲線$1/y^2$加權的5參數曲線擬合來分析收集的數據。純血漿中總抗體測定和完整ADC測定的定量限（LOQ）均為10 ng/mL，最低需求血漿稀釋度（MRD）為1:10。使用Winnonlin（賽塔拉公司（Certara））對收集的數據進行藥物動力學分析。

1.5 藉由定量LC-MS進行游離有效載荷的分析

【1115】藉由定量LC-MS分析游離有效載荷之方法在上文實例9中描述。

2 結果

2.1 抗PSMA LP3 ADC（隨機DAR4）在非荷瘤小鼠中的藥物動力學

【1116】將抗PSMA LP3（隨機DAR4）以單次IV推注劑量投與至正常裸鼠，並使用總抗體、完整ADC和游離有效載荷測定來測定ADC和代謝物的濃度。對於游離化合物1，僅檢測到化合物1，並且沒有發現單磷酸鹽形式。使用

2隔室模型測定完整ADC和總抗體PK參數，並使用非隔室擬合測定游離化合物1。該分析的結果顯示在圖40中。

【1117】分析表明，ADC在循環中具有不穩定性，如藉由與總抗體相比，完整ADC的AUC和半衰期更低且清除速率增加所證明的。這與血漿穩定性研究一致，表明藉由化合物1的*(S)*硫代磷酸酯中的硫連接的化合物1的快速切割。

2.2 抗PSMA LP3 ADC（RESPECT-L DAR2）和抗PSMA LP1（RESPECT-L DAR4）在C4-2荷瘤小鼠中的藥物動力學

2.2.1 抗PSMA LP3 ADC（RESPECT-L DAR2）的血漿PK

【1118】將抗PSMA LP3（RESPECT-L DAR2）和抗PSMA LP1（RESPECT-L DAR4）以3 mg/kg和9 mg/kg單次IV推注劑量投與至C4-2荷瘤小鼠，並且使用總抗體、完整ADC和抗PSMA LP3（RESPECT-L DAR2）的游離有效載荷測定來測定ADC和代謝物的濃度。特異性研究表明，抗化合物1（抗有效載荷）試劑抗體2.1.A3不能識別化合物1藉由橋氮軛合的ADC（「N連接的」ADC）上的化合物1，因此僅測定來自抗PSMA LP1（RESPECT-L DAR4）給藥動物的樣本的游離有效載荷。對於釋放的游離有效載荷，化合物1係檢測到的主要有效載荷，儘管在給予了9 mg/kg抗PSMA LP3（RESPECT-L DAR2）的動物的早期時間點檢測到低水平的Rp-和Sp-單磷酸鹽-化合物1。使用2隔室模型測定完整ADC和總抗體PK參數，並使用非隔室擬合測定游離化合物1。該分析的結果顯示在圖41中。

【1119】在攜帶C4-2腫瘤的小鼠中觀察到抗PSMA LP3（RESPECT-L DAR2）的類似不穩定性，正如在非荷瘤動物中觀察到隨機軛合的DAR4 ADC的不穩定性。觀察到總抗體、完整ADC和釋放的化合物1的AUC明顯劑量反應。

2.2.2 抗PSMA LP3 ADC（RESPECT-L DAR2）和抗PSMA LP1 ADC（RESPECT-L DAR4）的瘤內PK

【1120】在收集並均質化所治療小鼠的C4-2腫瘤後，測定抗PSMA LP3 ADC（RESPECT-L DAR2）和抗PSMA LP1 ADC（RESPECT-L DAR4）的游離化合物1濃度。數據以ng/kg繪製，以便與腫瘤攝取進行比較。該等結果顯示在圖42中。

【1121】即使DAR增加，抗PSMA LP1 ADC（RESPECT-L DAR4）給藥動物的血漿中的游離化合物1也比給予了抗PSMA LP3 ADC（RESPECT-L DAR2）的動物低得多，其中C_{max}水平低50倍。這與LP1 ADC的改進的體外血漿穩定性（與基於LP3的形式相比）一致。相對於抗PSMA LP3 ADC（RESPECT-L DAR2），抗PSMA LP1 ADC（RESPECT-L DAR4）的C_{max}也延遲。

【1122】還測量了來自該等相同給藥動物的腫瘤裂解物中游離化合物1的水平。將濃度相對於g腫瘤重量歸一化。該等結果顯示在圖43中。

【1123】相對於抗PSMA LP3 ADC（RESPECT-L DAR2），化合物1在抗PSMA LP1 ADC（RESPECT-L DAR4）給藥動物中保留更高水平（4至5倍高的C_{max}）且更長時間，並且腫瘤C_{max}/血漿C_{max}高出3個對數單位（圖44）。

實例14. PSMA-STING ADC的有效載荷釋放測定

1 兩步有效載荷釋放測定方法

【1124】N連接的PSMA-STING ADC的LP主要分兩步釋放其有效載荷。在第一步中，在酸性條件下對可切割胺基酸單元進行酶促切割（例如，藉由半胱胺酸蛋白酶（LP21-23）或組織蛋白酶B（LP1-20、24和27-32））。對胺基苄基胺基甲酸酯（pABC）間隔子立即藉由第一自消解反應除去。結果係，釋放由有效載荷和第二間隔子組成的中間體。在第二步中，藉由第二消解反應從

中間體除去第二間隔子，並釋放有效載荷。中間體在酸性pH下相對穩定，但第二消解反應在中性pH範圍內快速進行。

【1125】 在該測定中，在pH 5下用組織蛋白酶B或半胱胺酸蛋白酶處理連接子-有效載荷以監測第一步反應，然後將溶液的pH調節至7以評估第二步反應的動力學。代表性LP2的有效載荷釋放測定的方案如圖45所示。

1.1 LP中馬來醯亞胺的失活

【1126】 在有效載荷釋放測定之前，藉由軛合*N*-乙醯基半胱胺酸（NAC）使反應性馬來醯亞胺部分失活。將每個LP用二甲基亞碸（DMSO）中的3莫耳當量的NAC處理以製備NAC-LP。

1.2 有效載荷釋放測定

【1127】 第一步反應的評估（酶促觸發物切割速率（enzymatic trigger cleavage rate））。藉由合適的條件C1、C2或L評估每個LP的第一步反應的動力學。適用於每個LP的條件顯示在下文表39、40和41中。

【1128】 條件C1：將組織蛋白酶B（西格瑪奧德里奇公司，目錄號C8571）在含有30 mM二硫蘇糖醇（DTT）和15 mM乙二胺四乙酸（EDTA）的25 mM乙酸鈉緩衝液，pH 5.5中稀釋至125 μg/mL，並在室溫活化10 min。將NAC-LP在250 μL含有20 μM NAC-LP和1 mM EDTA的25 mM乙酸鈉緩衝液，pH 5.0中稀釋至20 μM。取五十（50）μL溶液並添加50 μL含有1%甲酸的甲醇。溶液用於分析初始（t_0）樣本。將活化的酶以最終濃度1.25 ug/mL添加至剩餘的200 μL NAC-LP溶液中。

【1129】 條件C2：將組織蛋白酶B（西格瑪奧德里奇公司，目錄號C8571）在含有30 mM DTT的20 mM乙酸鈉緩衝液，pH 5.5中稀釋至125 μg/mL，並在37°C活化30 min。將NAC-LP在250 μL含有1 mM DTT的20 mM乙酸鈉緩衝液，pH 5.0中稀釋至20 μM。取50 μL溶液並添加50 μL含有1%甲酸的

甲醇。溶液用於分析初始（t_0）樣本。將活化的酶以最終濃度1.25 μg/mL添加至剩餘的200 μL NAC-LP溶液中。

【1130】 條件L：將半胱胺酸蛋白酶（飛世爾科技公司2199-CY-010）在含有100 mM NaCl的20 mM乙酸鈉緩衝液，pH 4.0中稀釋至47 μg/mL，並在37°C活化30 min。將NAC-LP在250 μL含有1 mM DTT的20 mM乙酸鈉緩衝液，pH 5.0中稀釋至20 μM。取50 μL溶液並添加50 μL含有1%甲酸的甲醇。溶液用於分析初始（t_0）樣本。將活化的酶以最終濃度1.2 μg/mL添加至剩餘的200 μL NAC-LP溶液中。

【1131】 每個測定條件的採樣時間表都是通用的。在t = 15 min、30 min和240 min（分別為t_{15}、t_{30}和t_{240}）時對30 μL溶液進行採樣，並添加30 μL含有1%甲酸的甲醇以終止反應。藉由HPLC分析該等溶液。剩餘溶液作為t'_0溶液用於第二步反應的評估。

1.3 有效載荷釋放測定：第二步反應的評估（第二間隔子的自消解速率）

【1132】 無論第一步反應的測定條件如何，程序都是通用的。在第一步反應（對t_{240}溶液進行採樣）後，立即將50 μL 200 mM磷酸鹽緩衝液，pH 7.0添加至50 μL t'_0溶液中以啟動第二步反應。在t'=15 min和30 min（分別為t'_{15}和t'_{30}）時，對30 μL溶液進行採樣，並添加30 μL含有1%甲酸的甲醇以終止反應。藉由HPLC分析該等溶液。

1.4 HPLC條件

【1133】 對於測定條件C1：

系統：Waters Acquity UPLC

柱：Waters Acquity CSH C18，2.1 x 50 mm，粒徑1.7 um

檢測： UV260 nm

流速： 0.5 mL/min

流動相A：水和甲酸銨的混合物（1000/1，w/v）

流動相B：水、乙腈和甲酸銨的混合物（100/900/1，v/v/w）

梯度程式（t，B濃度）：（0至0.2 min，5%）-（0.2至1.5 min，5%至60%）-（1.5至1.8 min，60%至95%）-（1.8至2.0 min，95%）-（2.01至2.5 min，5%）

柱溫：40°C

樣本溫度：5ºC

注射體積：5 µL

【1134】對於測定條件C2和L：

系統：Waters Acquity UPLC

柱：Waters Acquity CSH C18，2.1 x 50 mm，粒徑1.7 um

檢測：UV260 nm

流速： 0.3 mL/min

流動相A：水和甲酸銨的混合物（1000/1，w/v）

流動相B：水、乙腈和甲酸銨的混合物（100/900/1，v/v/w）

梯度程式（t，B濃度）：（0至0.2 min，5%）-（0.2至1.8 min，5%至60%）-（1.8至2.2 min，60%至95%）-（2.21至3 min，5%）

柱溫：40°C

樣本溫度：15°C

注射體積：5 µL

1.5 數據分析

【1135】第一步反應的動力學分析如下進行。

$$\boldsymbol{LP\text{的殘留比率}=\frac{A_{LP}}{A_{LP}+A_{INT}+A_{P}}}$$

$$速率常數(k, min^{-1}) = -\frac{1}{t} ln \frac{t處LP的殘留比率}{t_0處LP的殘留比率}$$

【1136】計算t_{15}和t_{30}的速率常數k，並將它們的平均值用作第一步反應的速率常數（酶促觸發物切割速率）。

【1137】第二步反應的動力學分析如下進行。

$$\boldsymbol{INT的殘留比率} = \frac{\boldsymbol{A_{INT}}}{\boldsymbol{A_{INT} + A_P}}$$

$$速率常數(k', min^{-1}) = -\frac{1}{t'} ln \frac{t'處INT的殘留比率}{t'_0處INT的殘留比率}$$

【1138】計算t'_{15}和t'_{30}的速率常數k'，並將它們的平均值用作第二步反應的速率常數（第二間隔子的自消解速率）。t'_0處的殘留比率係根據t_{240}樣本中每個峰面積計算的。

A_{LP}：NAC-LP的HPLC峰面積

A_{INT}：INT的HPLC峰面積

A_P：有效載荷的HPLC峰面積

t：第一步反應的採樣時間（min）

t'：第二步反應的採樣時間（min）（$t'_0 = t_{240}$ = 藉由添加200 mM磷酸鹽緩衝液將pH調節至7的時間點）

2 結果

【1139】在測定中評估了30個LP。結果總結在表39和40中。表39中列出的LP在測定方法C1中評估，而表40中列出的那些藉由方法C2或L評估（方法L僅適用於具有半胱胺酸蛋白酶可切割觸發物的LP21-23）。LP2的結果表明，測定方法C1和C2之間的細微差別對第一步和第二步反應的影響很小。

【表**39**】.有效載荷釋放速率的總結（1）

LP編號	**間隔子（馬來醯亞胺**	**觸發物**	**第二間隔子**	**第一步反應的**	**相對k值[b]**	**第二步反應的速率常數**	**相對k'值[c]**

	-觸發物）	序列		速率常數（k，min-1）		（k'，min-1）	
1	C6	VA	MEC	1.87E-03	1.4	1.60E-02	0.8
2				1.33E-03	1.0	1.99E-02	1
3			無間隔子	6.97E-03	5.3	NA [d]	NA [d]
4			cPrCH2羰基	2.05E-03	1.5	1.01E-02	0.5
5			MEA	2.27E-03	1.7	1.60E-03	0.1
6			cPrMEC	1.72E-03	1.3	1.38E-02	0.7
7			DMMEC	1.98E-03	1.5	2.03E-02	1.0
8			b-cPrMEC	1.41E-03	1.1	2.67E-02	1.3
9			無間隔子	9.05E-03	6.8	NA [d]	NA [d]
10			HEC	2.45E-03	1.9	1.78E-02	0.9
11	$mPEG_2$-Lys(e-PEG_8-OMe) -PEG_2		MEC	1.26E-03	1.0	2.02E-02	1.0
12	PEG_8			5.00E-04	0.4	1.98E-02	1.0
13	PEG_2			2.01E-03	1.5	1.90E-02	1.0
14	C6	VC		8.87E-03	6.7	1.96E-02	1.0
15		VK		1.26E-02	9.5	1.94E-02	1.0
16		VA	Bz	3.43E-03	2.6	在pH 5時快速轉化為有效載荷[e]	在pH 5時快速轉化為有效載荷[e]
20			(L)-脯胺醇	2.88E-03	2.2	1.15E-01	5.8
28			F2-(L)-脯胺醇	2.86E-03	2.2	在pH 5時快速轉化為有效載荷[e]	在pH 5時快速轉化為有效載荷[e]
30			MEC	8.11E-04	0.6	2.67E-02	1.3

a：此表中列出的LP都是組織蛋白酶可切割的，並藉由測定條件C1進行評估。

b：由LP2的k歸一化的每個LP的相對k值。

c：由LP2的k'歸一化的每個LP的相對k'值。

d：LP沒有第二間隔子。

e：即使在pH 5下（第一反應步驟期間），第二間隔子也被除去得太快，並且自消解速率高於該測定方法的上限。

【表**40**】.有效載荷釋放速率的總結（2）

LP編號	**間隔子（馬來醯亞胺-觸發物）**	**觸發物序列**	**第二間隔子**	**第一步反應的速率常數（k，min-1）**	**相對k值[b]**	**第二步反應的速率常數（k'，min-1）**	**相對k'值[c]**
2	C6	VA	MEC	1.63E-03	1.0	2.29E-02	1.0
17	C2		Bz	5.43E-03	3.3	在pH 5時快速轉化為有效載荷[d]	在pH 5時快速轉化為有效載荷[d]
18			(L)-脯胺醇	4.35E-03	2.7	1.36E-01	6.0
19	PEG2			3.18E-03	1.9	1.26E-01	5.5
21	C6	AAN		1.61E-01	1.0[e]	1.40E-01	6.1
22		A(NMe)AN		1.09E-01	0.7[e]	1.38E-01	6.0
23		N		8.60E-03	0.1[e]	1.71E-01	7.5
24		GGFG		5.64E-04	0.3	1.28E-01	5.6
27	C2	VA	F2-(L)-脯胺醇	5.50E-03	3.4	在pH 5時快速轉化為	在pH 5時快

						有效載荷[d]	速轉化為有效載荷[d]
29	C6		(D)-脯胺醇	6.12E-03	3.8	4.70E-02	2.1
31			MEC	3.72E-03	2.3	4.78E-02	2.1
32				2.00E-03	1.2	5.88E-02	2.6

a：LP 21-23具有半胱胺酸蛋白酶可切割觸發物並藉由方法L進行評估。其他具有組織蛋白酶B可切割觸發物並藉由方法C2進行評估。

b：由LP2的k歸一化的每個LP的相對k值（LP21-23除外，請參見下面的註腳e）。高k值表示高觸發物切割速率。

c：由LP2的k'歸一化的每個LP的相對k'值。高k'值表示高第二自消解速率。

d：即使在pH 5下（第一反應步驟期間），第二間隔子也被除去得太快，並且自消解速率高於該測定方法的上限。

e：由LP21的k歸一化的每個LP的相對k值。

【表**41**】.有效載荷釋放速率的總結（3）

LP編號	**間隔子（馬來醯亞胺-觸發物）**	**觸發物序列**	**第二間隔子**	**第一步反應的速率常數（k，min-1）**	**相對k值[b]**	**第二步反應的速率常數（k'，min-1）**	**相對k'值[c]**
2	C6	VA	MEC	1.40E-03	1.0	2.68E-02	1.0
25	C2P2		(L)-脯胺醇	9.51E-04	0.7	1.35E-01	5.0
26			F2-(L)-脯胺醇	1.69E-03	1.2	在pH 5時快速轉化為有效載荷[d]	在pH 5時快速轉化為有效載荷[d]

a：此表中列出的LP都是組織蛋白酶可切割的，並藉由測定條件C2進行評估。

b：由LP2的k歸一化的每個LP的相對k值。高k值表示高觸發物切割速率。

c：由LP2的k'歸一化的每個LP的相對k'值。高k'值表示高第二自消解速率。

d：即使在pH 5下（第一反應步驟期間），第二間隔子也被除去得太快，並且自消解速率高於該測定方法的上限。

【1140】 觸發物切割速率主要取決於觸發物肽序列，並且也可能受到第二間隔子的影響。關於第二間隔子，觀察到苯甲酸鹽（LP16和LP17）、二-F-(L)-脯胺醇（LP26、LP27和LP28）和(L)-脯胺醇（LP18-25）間隔子具有高自消解速率，這可能是提高ADC效力的重要屬性。間隔子（馬來醯亞胺和觸發物之間）和觸發物的結構對第二自消解速率的影響很小。

實例15. PSMA-STING ADC的體外干擾素-β（IFN-β）釋放測定

1 方法

【1141】 本實例中測試了LP1-32、39、42-48、50和53。

1.1 體外IFN-β釋放測定

【1142】 STING活化後，經修飾的STING會招募TBK1和IRF3基因，並最終調節促炎細胞介素（包括IFN-β）的表現和分泌。

【1143】 測量了IFN-β釋放以確定所示PSMA-STING ADC的體外效力。已廣泛用於研究單核細胞/巨噬細胞功能的PSMA陽性前列腺癌細胞系（C4-2）和人白血病單核細胞系（THP-1）用於該測定。ADC在C4-2和THP-1細胞的共培養物以及THP-1的單一培養物中進行了測試。共培養物釋放的IFN-β代表了ADC的效力，而單一培養物釋放的IFN-β僅代表了ADC對免疫細胞的作用（脫靶效應）。

1.1.1 C4-2和THP-1共培養物的體外IFN-β釋放

【1144】將C4-2細胞以15,000個細胞/孔接種在96孔平底培養板的100 μL細胞培養基（完全RPMI-10% FBS）中，並在37°C、5% CO_2下孵育過夜。第二天，添加50 μL/孔的ADC試劑並連續稀釋至0.01 - 100 nM，隨後在50 μL/孔的細胞培養基中以15,000個細胞/孔添加THP-1細胞，然後充分混合並在37°C、5% CO_2下孵育20-22小時。孵育後，將培養板以1500 rpm離心5分鐘，然後收集上清液並儲存在-80°C，然後測量人IFN-β。

1.1.2 THP-1單一培養物的體外IFN-β釋放

【1145】將THP-1細胞以30,000個細胞/孔接種在96孔平底培養板的100 μL細胞培養基（完全RPMI-10% FEBS）中。然後添加100 μL/孔的ADC試劑，從0.01 - 100 nM進行連續稀釋，充分混合，然後在37°C、5% CO_2下孵育20-22小時。孵育後，將培養板以1500 rpm離心5分鐘，收集上清液，儲存在-80°C，然後測量人IFN-β。

1.1.3 藉由ELISA進行的人IFN-β測量

【1146】除7.8 – 1,000 pg/ml的擴展標準範圍外，使用人IFN-β DuoSet ELISA（R&D系統公司，目錄號DY814-05）按照製造商的說明測量人IFN-β。測定結束時，使用QuantaBlu螢光過氧化物酶底物（賽默公司，目錄號15169）來探測信號。在BMG Labtech Clariostar讀板器上在320 nM的激發和405 nM的發射處讀取板。根據IFN-β標準曲線（7.8 - 1,000 pg/ml）對IFN-β進行定量，並使用GraphPad Prism生成數據圖。

2 結果

【1147】總共評估了42個ADC。顯示了單一培養物和共培養物的定量IFN-β。具有S附接（SP）和N附接（SN）的ADC顯示在圖46和47中。還顯示了最大IFN-β釋放。檢測低於檢測限的樣本顯示為「< LOD」。

【1148】 通常，與S附接ADC相比，N附接ADC顯示出更高水平的IFN-β釋放。連接子設計的其他變化影響了IFN-β釋放。

所選序列

SEQ ID NO	
67（人PSMA）	MWNLLHETDSAVATARRPRWLCAGALVL AGGFFLLGFLFGWFIKSSNEATNITPKHNM KAFLDELKAENIKKFLYNFTQIPHLAGTEQ NFQLAKQIQSQWKEFGLDSVELAHYDVLL SYPNKTHPNYISIINEDGNEIFNTSLFEPPPPG YENVSDIVPPFSAFSPQGMPEGDLVYVNYA RTEDFFKLERDMKINCSGKIVIARYGKVFR GNKVKNAQLAGAKGVILYSDPADYFAPGV KSYPDGWNLPGGGVQRGNILNLNGAGDPL TPGYPANEYAYRRGIAEAVGLPSIPVHPIGY YDAQKLLEKMGGSAPPDSSWRGSLKVPYN VGPGFTGNFSTQKVKMHIHSTNEVTRIYNV IGTLRGAVEPDRYVILGGHRDSWVFGGIDP QSGAAVVHEIVRSFGTLKKEGWRPRRTILF ASWDAEEFGLLGSTEWAEENSRLLQERGV AYINADSSIEGNYTLRVDCTPLMYSLVHNL TKELKSPDEGFEGKSLYESWTKKSPSPEFSG MPRISKLGSGNDFEVFFQRLGIASGRARYT KNWETNKFSGYPLYHSVYETYELVEKFYD PMFKYHLTVAQVRGGMVFELANSIVLPFD CRDYAVVLRKYADKIYSISMKHPQEMKTY SVSFDSLFSAVKNFTEIASKFSERLQDFDKS NPIVLRMMNDQLMFLERAFIDPLGLPDRPF YRHVIYAPSSHNKYAGESFPGIYDALFDIES KVDPSKAWGEVKRQIYVAAFTVQAAAETL SEVA
68（人STING）	MPHSSLHPSIPCPRGHGAQKAALVLLSACL VTLWGLGEPPEHTLRYLVLHLASLQLGLLL NGVCSLAEELRHIHSRYRGSYWRTVRACL GCPLRRGALLLLSIYFYYSLPNAVGPPFTW MLALLGLSQALNILLGLKGLAPAEISAVCE KGNFNVAHGLAWSYYIGYLRLILPELQARI RTYNQHYNNLLRGAVSQRLYILLPLDCGVP DNLSMADPNIRFLDKLPQQTGDHAGIKDR VYSNSIYELLENGQRAGTCVLEYATPLQTL FAMSQYSQAGFSREDRLEQAKLFCRTLEDI LADAPESQNNCRLIAYQEPADDSSFSLSQE

	VLRHLRQEEKEEVTVGSLKTSAVPSTSTMS QEPELLISGMEKPLPLRTDFS
69（人野生型IgG1 Fc）	TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPGK
70（人IgG1 CH2結構域）	GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAK
71（人IgG1 CH3結構域）	GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK

【符號說明】

【1149】無

【生物材料寄存】

【1150】無