



(12) 发明专利



(10) 授权公告号 CN 110944995 B

(45) 授权公告日 2024. 03. 12

(21) 申请号 201880035190.7

J • C • 卡斯特罗-帕罗米诺拉里亚

(22) 申请日 2018.05.30

(74) 专利代理机构 北京市中咨律师事务所

11247

(65) 同一申请的已公布的文献号

专利代理师 杨春刚 黄革生

申请公布号 CN 110944995 A

(43) 申请公布日 2020.03.31

(51) Int.Cl.

(66) 本国优先权数据

C07D 403/14 (2006.01)

PCT/CN2017/086624 2017.05.31 CN

A61P 35/00 (2006.01)

A61K 31/506 (2006.01)

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

(56) 对比文件

2019.11.27

W0 2017025918 A1, 2017.02.16

(86) PCT国际申请的申请数据

CN 102892761 A, 2013.01.23

PCT/IB2018/053839 2018.05.30

CN 1438890 A, 2003.08.27

(87) PCT国际申请的公布数据

US 2007208040 A1, 2007.09.06

W02018/220546 EN 2018.12.06

罗杰英等. 现代物理药剂学理论与实践. 《现代物理药剂学理论与实践》. 上海科学技术文献出版社, 2005, 第294-295页.

(73) 专利权人 诺华股份有限公司

审查员 丁超

地址 瑞士巴塞尔

专利权人 帕罗生物制药有限公司

(72) 发明人 崔凯 孔维勇

权利要求书3页 说明书49页

序列表37页 附图14页

(54) 发明名称

5-溴-2,6-二(1H-吡唑-1-基)嘧啶-4-胺和新盐的晶型

(57) 摘要

本申请涉及5-溴-2,6-二(1H-吡唑-1-基)嘧啶-4-胺和其盐的多种晶型, 以及组合物及其使用方法。在一些实施例中, 这些晶型还含有水(“水合物”)。这些材料可用于治疗多种疾病, 包括癌, 特别是肺癌, 并且更特别是非小细胞肺癌。

1. 一种5-溴-2,6-二(1H-吡唑-1-基)嘧啶-4-胺的硫酸盐的晶型,所述晶型的特征在于,当使用波长为 1.5418 \AA 的CuK α 辐射,并且在约22℃的温度下进行测量时,X射线粉末衍射(XRPD)图包括就 2θ 而言,在 $9.4 \pm 0.2^\circ 2\theta$ 、 $23.2 \pm 0.2^\circ 2\theta$ 、 $24.8 \pm 0.2^\circ 2\theta$ 和 $26.8 \pm 0.2^\circ 2\theta$ 处的峰。

2. 一种5-溴-2,6-二(1H-吡唑-1-基)嘧啶-4-胺的游离形式的晶型,所述晶型的特征在于,当使用波长为 1.5418 \AA 的CuK α 辐射,并且在约22℃的温度下进行测量时,X射线粉末衍射(XRPD)图包括在 $8.2 \pm 0.2^\circ 2\theta$ 、 $24.9 \pm 0.2^\circ 2\theta$ 、 $25.7 \pm 0.2^\circ 2\theta$ 和 $26.5 \pm 0.2^\circ 2\theta$ 处的峰。

3. 根据权利要求2所述的晶型,其中当使用波长为 1.5418 \AA 的CuK α 辐射,并且在约22℃的温度下进行测量时,所述X射线粉末衍射图进一步包括选自 $16.4 \pm 0.2^\circ 2\theta$ 、 $30.8 \pm 0.2^\circ 2\theta$ 和 $11.5 \pm 0.2^\circ 2\theta$ 的一个或多个另外的峰。

4. 根据权利要求2或3所述的晶型,其中所述晶型是F型。

5. 根据权利要求4所述的晶型,其中所述F型是基本上相纯的。

6. 一种药物组合物,所述药物组合物包含根据权利要求1至5中任一项所述的晶型,和药学上可接受的赋形剂。

7. 一种药物组合物,所述药物组合物包含根据权利要求2至4中任一项所述的5-溴-2,6-二(1H-吡唑-1-基)嘧啶-4-胺的游离形式的晶型,并且进一步包含5-溴-2,6-二(1H-吡唑-1-基)嘧啶-4-胺的游离形式的至少一种其他固态形式。

8. 一种药物组合物,所述药物组合物包含根据权利要求2至4中任一项所述的5-溴-2,6-二(1H-吡唑-1-基)嘧啶-4-胺的游离形式的晶型,并且进一步包含5-溴-2,6-二(1H-吡唑-1-基)嘧啶-4-胺的无定形形式或其药学上可接受的盐。

9. 一种药物组合,所述药物组合包含治疗有效量的根据权利要求1至5中任一项所述的晶型,和一种或多种免疫治疗剂。

10. 单独的或与一种或多种免疫治疗剂组合的治疗有效量的根据权利要求1至5中任一项所述的晶型或根据权利要求6至8中任一项所述的药物组合物在制备用于治疗有需要的受试者的癌症的药物中的用途。

11. 单独的或与一种或多种免疫治疗剂组合的根据权利要求1至5中任一项所述的晶型在制备用于治疗癌症的药物中的用途。

12. 根据权利要求1至5中任一项所述的晶型或根据权利要求6至8中任一项所述的药物组合物在制备用于治疗癌症的药物中的用途。

13. 根据权利要求1至5中任一项所述的晶型和一种或多种免疫治疗剂的一种组合在制备用于治疗癌症的药物中的用途。

14. 治疗有效量的根据权利要求1至5中任一项所述的晶型或根据权利要求6至8中任一项所述的药物组合物在制备用于抑制有需要的受试者中的腺苷A2a受体的药物中的用途。

15. 根据权利要求10-13中任何一项所述的用途,其中所述癌症选自肺癌、黑色素瘤、肾癌、肝癌、骨髓瘤、前列腺癌、乳腺癌、结肠直肠癌、胰腺癌、头颈癌、肛门癌、胃食管癌、甲状腺癌、宫颈癌、淋巴细胞增生性疾病或血液学癌症、T细胞淋巴瘤、B细胞淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤或白血病。

16. 根据权利要求15所述的用途,其中所述癌症是癌。

17. 根据权利要求15所述的用途,其中所述癌症是肺癌。

18. 根据权利要求17所述的用途,其中所述肺癌是非小细胞肺癌。

19. 根据权利要求10、11、13和16-18中任何一项所述的用途,其中一种或多种免疫治疗剂选自自由以下组成的组:抗CTLA4抗体、抗PD-1抗体和抗PD-L1抗体。

20. 根据权利要求10、11、13和16-18中任何一项所述的用途,其中所述免疫治疗剂选自自由以下组成的组:伊匹单抗、曲美利木单抗、纳武单抗、帕姆单抗、匹地利珠单抗(CT-011)、AMP-224、AMP-514(MEDI0680-英商梅迪缪思有限公司(Medimmune))、MPDL3280A(基因泰克罗氏公司(Genentech Roche))、MEDI4736、MSB0010718C(默克雪兰诺公司(Merck Serono))、YW243.55.S70和MDX-1105。

21. 根据权利要求10、11、13和16-18中任何一项所述的用途,其中所述免疫治疗剂是抗PD-1抗体。

22. 根据权利要求21所述的用途,其中所述抗PD-1抗体包含:

(a) 重链可变区(VH),所述重链可变区包含SEQ ID NO:4的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:5的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:3的VHCDR3氨基酸序列;以及轻链可变区(VL),所述轻链可变区包含SEQ ID NO:13的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:14的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:15的VLCDR3氨基酸序列;

(b) VH,所述VH包含SEQ ID NO:1的VHCDR1氨基酸序列;SEQ ID NO:2的VHCDR2氨基酸序列;和SEQ ID NO:3的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,所述VL包含SEQ ID NO:10的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:11的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:12的VLCDR3氨基酸序列;

(c) VH,所述VH包含SEQ ID NO:41的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:5的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:3的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,所述VL包含SEQ ID NO:13的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:14的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:15的VLCDR3氨基酸序列;或

(d) VH,所述VH包含SEQ ID NO:41的VHCDR1氨基酸序列;SEQ ID NO:2的VHCDR2氨基酸序列;和SEQ ID NO:3的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,所述VL包含SEQ ID NO:10的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:11的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:12的VLCDR3氨基酸序列。

23. 根据权利要求21所述的用途,其中所述抗PD-1包含VH和VL,所述VH包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列,所述VL包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列。

24. 根据权利要求21所述的用途,其中所述抗PD-1抗体包含重链和轻链,所述重链包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列,所述轻链包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列。

25. 根据权利要求21所述的用途,其中所述抗PD-1抗体包含VH和VL,所述VH包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列,所述VL包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列。

26. 根据权利要求21所述的用途,其中所述抗PD-1抗体包含重链和轻链,所述重链包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列,所述轻链包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列。

27. 根据权利要求22-26中任一项所述的用途,其中将所述抗PD-1抗体分子以约300mg的剂量施用,每三周一次。

28. 根据权利要求22-26中任一项所述的用途,其中将所述抗PD-1抗体分子以约400mg的剂量施用,每四周一次。

29. 根据权利要求10、11、13和16-18中任何一项所述的用途,其中所述免疫治疗剂是抗PD-L1抗体。

30. 根据权利要求29所述的用途,其中所述抗PD-L1抗体分子包含:

(a) 重链可变区(VH),所述重链可变区包含SEQ ID NO:47的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:48的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:46的VHCDR3氨基酸序列;以及轻链可变区(VL),所述轻链可变区包含SEQ ID NO:52的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:53的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:54的VLCDR3氨基酸序列;

(b) VH,所述VH包含SEQ ID NO:44的VHCDR1氨基酸序列;SEQ ID NO:45的VHCDR2氨基酸序列;和SEQ ID NO:46的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,所述VL包含SEQ ID NO:49的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:50的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:51的VLCDR3氨基酸序列;

(c) VH,所述VH包含SEQ ID NO:63的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:48的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:46的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,所述VL包含SEQ ID NO:52的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:53的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:54的VLCDR3氨基酸序列;或

(d) VH,所述VH包含SEQ ID NO:63的VHCDR1氨基酸序列;SEQ ID NO:45的VHCDR2氨基酸序列;和SEQ ID NO:46的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,所述VL包含SEQ ID NO:49的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:50的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:51的VLCDR3氨基酸序列。

31. 根据权利要求29所述的用途,其中所述抗PD-L1抗体分子包含重链可变结构域和轻链可变结构域,所述重链可变结构域包含SEQ ID NO:55的氨基酸序列,所述轻链可变结构域包含SEQ ID NO:58的氨基酸序列。

32. 根据权利要求22-26和30-31中任一项所述的用途,其中将免疫治疗剂以单一组合物一起施用、或以两种或更多种不同的组合物形式分开施用。

33. 根据权利要求22-26和30-31中任一项所述的用途,其中将所述免疫治疗剂与5-溴-2,6-二(1H-吡唑-1-基)嘧啶-4-胺的游离形式或硫酸盐的晶型同时、在其之前或之后施用。

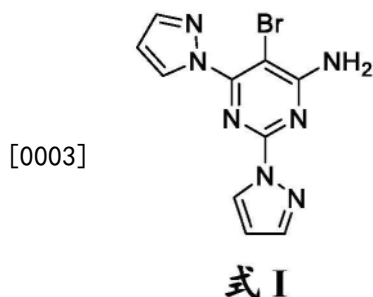
5-溴-2,6-二(1H-吡唑-1-基)嘧啶-4-胺和新盐的晶型

技术领域

[0001] 本披露总体上涉及5-溴-2,6-二(1H-吡唑-1-基)嘧啶-4-胺和新盐的晶型。本披露总体上还涉及包含所述晶型的药物组合物,以及在特定癌症的治疗中使用所述晶型的方法,以及用于获得此类晶型的方法。

背景技术

[0002] 在2011年3月29日提交的WO 2011/121418(其通过引用整体并入)中首次披露了5-溴-2,6-二(1H-吡唑-1-基)嘧啶-4-胺,并且是具有式I的结构腺苷2a受体抑制剂:



[0004] 具有式I的化合物在与抑制腺苷A2a受体的活性相关联的多种疾病状态的治疗中是有用的。这样,因此具有式I的化合物在某些癌症的治疗中是有用的,所述癌症包括例如,肺癌、黑色素瘤、肾癌、肝癌、骨髓瘤、前列腺癌、乳腺癌、结肠直肠癌、胰腺癌、头颈癌、肛门癌、胃食管癌、甲状腺癌、宫颈癌、淋巴细胞增生性疾病或血液学癌症、T细胞淋巴瘤、B细胞淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤或白血病。另外,具有式I的化合物还在神经变性疾病(例如帕金森氏病、亨廷顿病或阿尔茨海默病);神经精神障碍和功能障碍(例如抑郁症、日间过度嗜睡、不宁腿综合征、注意缺陷多动障碍和认知疲劳)的治疗中是有用。

[0005] 众所周知的是,特定药物的活性药物成分(API)的固态形式通常是药物易于制备、吸湿性、稳定性、溶解度、储存稳定性、易于配制、胃肠液中的溶解速率和体内生物利用度的重要决定因素。在相同的物质组合物以不同的晶格排列结晶的地方,出现晶型,导致特异于特定晶型的不同的热力学特性和稳定性。晶型还可以包括相同化合物的不同水合物或溶剂化物。在决定哪种形式优选时,比较了形式的许多特性并且基于许多物理特性变量选择优选的形式。完全有可能的是在一些情况下,其中某些方面如易于制备、稳定性等被认为是至关重要的,一种形式可以是优选的。在其他情况下,对于更大的溶解速率和/或优越的生物利用度而言,不同的形式可以是优选的。还不可能预测特定化合物或化合物的盐是否将形成多晶型物、任何此类多晶型物是否将适合于治疗组合物中的商业用途、或者哪种多晶型物将显示此类令人希望的特性。

发明内容

[0006] 本披露提供了5-溴-2,6-二(1H-吡唑-1-基)嘧啶-4-胺盐酸盐的晶型。在具体的实施例中,所述盐酸盐进一步包括水(本文被称为水合物)。

[0007] 本披露还提供了5-溴-2,6-二(1H-吡唑-1-基)嘧啶-4-胺硫酸盐和2种甲磺酸盐形

式的晶型。

[0008] 本披露进一步提供了处于其游离形式(或非盐形式)的5-溴-2,6-二(1H-吡唑-1-基)嘧啶-4-胺的两种晶型。这些晶型的实施例包括在本文中被指定为A型、B型、C型、D型、E型、F型和G型的那些形式。本文用于标识特定形式的名称(例如“A型”等)不应被认为对于具有相似或相同的物理和化学特征的任何其他物质的限制,而是应理解这些指定仅仅是应根据本文还呈现的特征信息而解释的标识符。

附图说明

[0009] 图1提供了具有式I的化合物的单盐酸盐水合物盐(本文被指定为A型)的说明性XRPD谱,显示了X轴上的度 2θ (2-theta)和Y轴上的相对强度。

[0010] 图2提供了具有式I的化合物的单盐酸盐水合物盐(本文被指定为A型)的说明性DSC/TGA。

[0011] 图3提供了具有式I的化合物的二盐酸盐水合物盐(本文被指定为B型)的说明性XRPD谱,显示了X轴上的度 2θ (2-theta)和Y轴上的相对强度。

[0012] 图4提供了具有式I的化合物的二盐酸盐水合物盐(本文被指定为B型)的说明性DSC/TGA。

[0013] 图5提供了具有式I的化合物的硫酸盐(本文被指定为C型)的说明性XRPD谱,显示了X轴上的度 2θ (2-theta)和Y轴上的相对强度。

[0014] 图6提供了具有式I的化合物的硫酸盐(本文被指定为C型)的说明性DSC/TGA。

[0015] 图7提供了具有式I的化合物的甲磺酸盐(变型1)(本文被指定为D型)的说明性XRPD谱,显示了X轴上的度 2θ (2-theta)和Y轴上的相对强度。

[0016] 图8提供了具有式I的化合物的甲磺酸盐(变型1)(本文被指定为D型)的说明性DSC/TGA。

[0017] 图9提供了具有式I的化合物的甲磺酸盐(变型2)(本文被指定为E型)的说明性XRPD谱,显示了X轴上的度 2θ (2-theta)和Y轴上的相对强度。

[0018] 图10提供了具有式I的化合物的甲磺酸盐(变型2)(本文被指定为E型)的说明性DSC/TGA。

[0019] 图11提供了具有式I的化合物的游离形式(变型1)(本文被指定为F型)的说明性XRPD谱,显示了X轴上的度 2θ (2-theta)和Y轴上的相对强度。

[0020] 图12提供了具有式I的化合物的游离形式(变型1)(本文被指定为F型)的说明性DSC/TGA。

[0021] 图13提供了具有式I的化合物的游离形式(变型2)(本文被指定为G型)的说明性XRPD谱,显示了X轴上的度 2θ (2-theta)和Y轴上的相对强度。

[0022] 图14提供了具有式I的化合物的游离形式(变型2)(本文被指定为G型)的说明性DSC/TGA。

[0023] 下表1到7中分别列出了A型到G型中的每种XRPD峰的更详细的列表,其中还提供了%相对强度($I/I_0 \times 100$)。应理解,由于例如仪器变化(包括仪器之间的差异),在X-射线粉末衍射谱或X射线粉末衍射图中以度 2θ ($^\circ 2\theta$)所测量的值中存在固有可变性。同样,应理解,在XRPD峰测量值中存在最高达 $\pm 0.2^\circ 2\theta$ 的可变性,然而此类峰值将仍被认为代表本文

描述的结晶材料的特定固态形式。还应理解,由于例如样品制备和/或储存和/或环境条件,来自XRPD实验和DSC/TGA实验的其他测量值(如相对强度和水含量)可能变化,然而这些测量值将仍被认为代表本文描述的结晶材料的特定固态形式。

具体实施方式

[0024] 本披露涉及5-溴-2,6-二(1H-吡唑-1-基)嘧啶-4-胺(具有式I的化合物)的多种盐的晶型,本文对其进行描述和表征。本发明还涉及5-溴-2,6-二(1H-吡唑-1-基)嘧啶-4-胺的游离形式的多种晶型,本文对其进行描述和表征。

[0025] 在实施例1中,本披露提供了5-溴-2,6-二(1H-吡唑-1-基)嘧啶-4-胺的单盐酸盐水合物盐的晶型(A型),所述晶型具有包括就 2θ 而言,在 $10.0 \pm 0.2^\circ 2\theta$ 处的代表性峰的X射线粉末衍射(XRPD)图。在另一个实施例中,XRPD图进一步包括选自 $29.1 \pm 0.2^\circ 2\theta$ 、 $28.5 \pm 0.2^\circ 2\theta$ 和 $20.8 \pm 0.2^\circ 2\theta$ 的一个或多个另外的代表性峰。因此,具有式I的化合物的单盐酸盐水合物盐的晶型的XRPD图可以包括以上的一个、两个、三个或四个代表性峰。在另一个实施例中,具有式I的化合物的单盐酸盐水合物盐的晶型具有XRPD图,所述图可以进一步包括选自 $25.3 \pm 0.2^\circ 2\theta$ 和 $15.6 \pm 0.2^\circ 2\theta$ 的一个或多个另外的代表性峰。因此,具有式I的化合物的单盐酸盐水合物盐的晶型的XRPD图可以包括在以上披露的或在表1中披露的一个、两个、三个、四个、五个或六个代表性峰。

[0026] 在另一个实施例中,单盐酸盐水合物形式的特征在于:在约 25°C 的温度以及 1.54184 \AA 的X射线波长 λ 下测量的X射线粉末衍射图包括选自由以下组成的组的四个或更多个 2θ 值($\text{CuK}\alpha \lambda = 1.54184 \text{ \AA}$): $10.0 \pm 0.2^\circ$ 、 $15.6 \pm 0.2^\circ$ 、 $20.8 \pm 0.2^\circ$ 、 $22.6 \pm 0.2^\circ$ 、 $24.5 \pm 0.2^\circ$ 、 $25.3 \pm 0.2^\circ$ 、 $28.5 \pm 0.2^\circ$ 、 $29.1 \pm 0.2^\circ$ 、 $30.7 \pm 0.2^\circ$ 。

[0027] 在又一个实施例中,具有式I的化合物的单盐酸盐水合物盐的晶型具有基本上如图1所示出的XRPD图。应理解,A型的水含量可以在约3.0%至约5.0%的范围内,并且所述A型仍被认为是具有包括以上描述的一个、两个、三个、四个、五个或六个代表性峰的XRPD图的一水合物。A型的水含量为4.87%。

[0028] 可以对5-溴-2,6-二(1H-吡唑-1-基)嘧啶-4-胺的单盐酸盐水合物盐的晶型进行热表征。在一个实施例中,具有式I的化合物的单盐酸盐水合物盐的晶型具有差示热重量曲线,所述曲线包括在约 78.16°C 开始的吸热峰,其中焓 ΔH 是 300.87 J/g (对应于脱水),以及在约 212.48°C 开始的吸热峰,其中焓 ΔH 是 86.83 J/g (对应于熔化)。

[0029] 在另一个实施例中,具有式I的化合物的单盐酸盐水合物盐的晶型具有基本上如图2所示的DSC热分析图。应理解,水合形式取决于仪器参数可产生不同的热分析图(就峰的形状和轮廓而言),因此,当在两个不同的仪器上生成数据时,相同的材料可具有看起来基本上彼此不同的热分析图。

[0030] 在另一个实施例中,具有式I的化合物的单盐酸盐水合物盐的晶型具有与图2中所示基本上相同的热重量分析(TGA)图。在 88°C 下,TGA的重量损失为约14.9%。

[0031] 仍在另一个实施例中,晶型A是基本上相纯的。

[0032] 在实施例2中,本披露提供了5-溴-2,6-二(1H-吡唑-1-基)嘧啶-4-胺的二盐酸盐水合物盐的晶型(B型),所述晶型具有包括就 2θ 而言,在 $26.4 \pm 0.2^\circ 2\theta$ 处的代表性峰的X射线粉末衍射(XRPD)图。在另一个实施例中,XRPD图进一步包括选自 $9.6 \pm 0.2^\circ 2\theta$ 、 $22.1 \pm$

$0.2^{\circ}2\theta$ 、 $28.4 \pm 0.2^{\circ}2\theta$ 和 $30.6 \pm 0.2^{\circ}2\theta$ 的一个或多个另外的代表性峰。因此,具有式I的化合物的二盐酸盐水合物盐的晶型的XRPD图可以包括以上的一个、两个、三个或四个代表性峰。在另一个实施例中,具有式I的化合物的二盐酸盐水合物盐的晶型具有XRPD图,所述图可以进一步包括选自 $22.4 \pm 0.2^{\circ}2\theta$ 、 $27.4 \pm 0.2^{\circ}2\theta$ 和 $27.9 \pm 0.2^{\circ}2\theta$ 的一个或多个另外的代表性峰。因此,具有式I的化合物的二盐酸盐一水合物盐的晶型的XRPD图可以包括在以上披露的或在表2中披露的一个、两个、三个、四个、五个或六个代表性峰。

[0033] 在实施例2的另一个方面,二盐酸盐水合物形式的特征在于:在约 25°C 的温度以及 1.54184 \AA 的X射线波长 λ 下测量的X射线粉末衍射图包括选自由以下组成的组的四个或更多个 2θ 值($\text{CuK}\alpha \lambda = 1.54184 \text{ \AA}$): $9.6 \pm 0.2^{\circ}$ 、 $16.1 \pm 0.2^{\circ}$ 、 $21.5 \pm 0.2^{\circ}$ 、 $22.1 \pm 0.2^{\circ}$ 、 $22.4 \pm 0.2^{\circ}$ 、 $23.1 \pm 0.2^{\circ}$ 、 $26.4 \pm 0.2^{\circ}$ 、 $27.4 \pm 0.2^{\circ}$ 、 $27.9 \pm 0.2^{\circ}$ 、 $28.4 \pm 0.2^{\circ}$ 、 $30.6 \pm 0.2^{\circ}$ 和 $34.8 \pm 0.2^{\circ}$ 。

[0034] 在实施例2的又另一个方面,具有式I的化合物的二盐酸盐一水合物盐的晶型具有基本上如图3中示出的XRPD图。应理解,B型的水含量可以在约3.0%至约5.0%的范围内,并且所述B型仍被认为是具有包括以上描述的一个、两个、三个、四个、五个或六个代表性峰的XRPD图的一水合物。B型的水含量为4.5%。

[0035] 可以对5-溴-2,6-二(1H-吡唑-1-基)嘧啶-4-胺的二盐酸盐水合物盐的晶型进行热表征。在一个实施例中,具有式I的化合物的二盐酸盐水合物盐的晶型具有差示热重量曲线,所述曲线包括在约 78.92°C 开始的吸热峰(其中焓 ΔH 为 399.81 J/g),以及在约 212.18°C 开始的吸热峰(其中焓 ΔH 为 81.06 J/g)。

[0036] 在实施例2的另一个方面,具有式I的化合物的二盐酸盐水合物盐的晶型具有基本上如图4中所示的DSC热分析图。应理解,水合形式取决于仪器参数可产生不同的热分析图(就峰的形状和轮廓而言),因此,当在两个不同的仪器上生成数据时,相同的材料可具有看起来基本上彼此不同的热分析图。

[0037] 在实施例2的另一个方面,具有式I的化合物的二盐酸盐水合物盐的晶型具有与图4中所示基本上相同的热重量分析(TGA)图。在 96°C 下,TGA的重量损失为约24.4%。

[0038] 仍在另一个实施例中,晶型B是基本上相纯的。

[0039] 在实施例3中,本披露提供了5-溴-2,6-二(1H-吡唑-1-基)嘧啶-4-胺的硫酸盐的晶型(C型),所述晶型具有包括就 2θ 而言,在 $9.4 \pm 0.2^{\circ}2\theta$ 处的代表性峰的X射线粉末衍射(XRPD)图。在另一个实施例中,XRPD图进一步包括选自 $23.2 \pm 0.2^{\circ}2\theta$ 、 $24.8 \pm 0.2^{\circ}2\theta$ 和 $26.8 \pm 0.2^{\circ}2\theta$ 的一个或多个另外的代表性峰。因此,具有式I的化合物的硫酸盐的晶型的XRPD图可以包括以上的一个、两个、三个或四个代表性峰。在另一个实施例中,具有式I的化合物的硫酸盐的晶型具有XRPD图,所述图可以进一步包括选自 $12.3 \pm 0.2^{\circ}2\theta$ 、 $17.1 \pm 0.2^{\circ}2\theta$ 、 $26.5 \pm 0.2^{\circ}2\theta$ 和 $26.1 \pm 0.2^{\circ}2\theta$ 的一个或多个另外的代表性峰。因此,具有式I的化合物的硫酸盐的晶型的XRPD图可以包括在以上披露的或在表3中披露的一个、两个、三个、四个、五个或六个代表性峰。

[0040] 在实施例3的另一个方面,硫酸盐形式的特征在于:在约 25°C 的温度以及 1.54184 \AA 的X射线波长 λ 下测量的X射线粉末衍射图包括选自由以下组成的组的四个或更多个 2θ 值($\text{CuK}\alpha \lambda = 1.54184 \text{ \AA}$): $9.4 \pm 0.2^{\circ}$ 、 $12.3 \pm 0.2^{\circ}$ 、 $12.7 \pm 0.2^{\circ}$ 、 $17.1 \pm 0.2^{\circ}$ 、 $23.2 \pm 0.2^{\circ}$ 、 $24.8 \pm 0.2^{\circ}$ 、 $26.1 \pm 0.2^{\circ}$ 、 $26.4 \pm 0.2^{\circ}$ 、 $26.8 \pm 0.2^{\circ}$ 和 $29.9 \pm 0.2^{\circ}$ 。

[0041] 在实施例3的又另一个方面,具有式I的化合物的硫酸盐的晶型具有基本上如图5中示出的XRPD图。

[0042] 可以对5-溴-2,6-二(1H-吡唑-1-基)-嘧啶-4-胺的硫酸盐的晶型进行热表征。在一个实施例中,具有式I的化合物的硫酸盐的晶型具有差示热重量曲线,所述曲线包括在约188.44℃开始的吸热峰(其中焓 ΔH 为117.42J/g)。

[0043] 在实施例3的另一个方面,具有式I的化合物的硫酸盐的晶型具有基本上如图6中所示的DSC热分析图。应理解,水合形式取决于仪器参数可产生不同的热分析图(就峰的形状和轮廓而言),因此,当在两个不同的仪器上生成数据时,相同的材料可具有看起来基本上彼此不同的热分析图。

[0044] 在实施例3的另一个方面,具有式I的化合物的硫酸盐的晶型具有与图6中所示基本上相同的热重量分析(TGA)图。在166℃下,TGA的重量损失为0.4%。

[0045] 在又一个实施例中,晶型C是基本上相纯的。

[0046] 在实施例4中,本披露提供了5-溴-2,6-二(1H-吡唑-1-基)嘧啶-4-胺的甲磺酸盐的晶型(变型1=D型),所述晶型具有包括就 2θ 而言,在 $24.0 \pm 0.2^\circ 2\theta$ 处的代表性峰的X射线粉末衍射(XRPD)图。在实施例4的另一个方面,XRPD图进一步包括选自 $20.3 \pm 0.2^\circ 2\theta$ 和 $10.1 \pm 0.2^\circ 2\theta$ 的一个或多个另外的代表性峰。因此,具有式I的化合物的甲磺酸盐的晶型1(还被称为变型1)的XRPD图可以包括以上的一个、两个或三个代表性峰。在另一个实施例中,具有式I的化合物的甲磺酸盐的晶型1具有XRPD图,所述图可以进一步包括选自 $17.9 \pm 0.2^\circ 2\theta$ 、 $26.4 \pm 0.2^\circ 2\theta$ 和 $33.3 \pm 0.2^\circ 2\theta$ 的一个或多个另外的代表性峰。因此,具有式I的化合物的甲磺酸盐的晶型1的XRPD图可以包括在以上披露的或在表4中披露的一个、两个、三个、四个、五个或六个代表性峰。

[0047] 在实施例4的另一个方面,甲磺酸盐形式的特征在于:在约25℃的温度以及1.54184 Å的X射线波长 λ 下测量的X射线粉末衍射图包括选自由以下组成的组的四个或更多个 2θ 值($\text{CuK}\alpha \lambda = 1.54184 \text{ \AA}$): $9.1 \pm 0.2^\circ$ 、 $10.1 \pm 0.2^\circ$ 、 $17.9 \pm 0.2^\circ$ 、 $20.3 \pm 0.2^\circ$ 、 $24.0 \pm 0.2^\circ$ 、 $25.0 \pm 0.2^\circ$ 、 $26.4 \pm 0.2^\circ$ 和 $33.3 \pm 0.2^\circ$ 。

[0048] 在实施例4的又另一个方面,具有式I的化合物的甲磺酸盐的晶型1具有基本上如图7中示出的XRPD图。

[0049] 可以对5-溴-2,6-二(1H-吡唑-1-基)-嘧啶-4-胺的甲磺酸盐的晶型1(还被称为变型1)进行热表征。在一个实施例中,具有式I的化合物的甲磺酸盐的晶型具有差示热重量曲线,所述曲线包括在约177.10℃开始的吸热峰(其中焓 ΔH 为122.19J/g)。

[0050] 在实施例4的另一个方面,具有式I的化合物的甲磺酸盐的晶型1具有基本上如图8中所示的DSC热分析图。应理解,水合形式取决于仪器参数可产生不同的热分析图(就峰的形状和轮廓而言),因此,当在两个不同的仪器上生成数据时,相同的材料可具有看起来基本上彼此不同的热分析图。

[0051] 在实施例4的另一个方面,具有式I的化合物的甲磺酸盐的晶型1具有与图8中所示基本上相同的热重量分析(TGA)图。在157℃下,TGA的重量损失为约1.7%。

[0052] 在又一个实施例中,晶型D是基本上相纯的。

[0053] 在实施例5中,本披露提供了5-溴-2,6-二(1H-吡唑-1-基)嘧啶-4-胺的甲磺酸盐的晶型(变型2=E型),所述晶型具有包括就 2θ 而言,在 $26.6 \pm 0.2^\circ 2\theta$ 处的代表性峰的X射

线粉末衍射 (XRPD) 图。在实施例5的另一个方面, XRPD图进一步包括选自 $22.1 \pm 0.2^\circ 2\theta$ 、 $23.4 \pm 0.2^\circ 2\theta$ 和 $16.6 \pm 0.2^\circ 2\theta$ 的一个或多个另外的代表性峰。因此, 具有式I的化合物的甲磺酸盐的晶型2的XRPD图可以包括以上的一个、两个、三个或四个代表性峰。在另一个实施例中, 具有式I的化合物的甲磺酸盐的晶型2具有XRPD图, 所述图可以进一步包括选自 $9.0 \pm 0.2^\circ 2\theta$ 、 $21.0 \pm 0.2^\circ 2\theta$ 、 $24.1 \pm 0.2^\circ 2\theta$ 和 $29.9 \pm 0.2^\circ 2\theta$ 的一个或多个另外的代表性峰。因此, 具有式I的化合物的甲磺酸盐的晶型2的XRPD图可以包括在以上披露的或在表5中披露的一个、两个、三个、四个、五个或六个代表性峰。

[0054] 在实施例5的另一个方面, 甲磺酸盐形式的特征在于: 在约 25°C 的温度以及 1.54184 \AA 的X射线波长 λ 下测量的X射线粉末衍射图包括选自由以下组成的组的四个或更多个 2θ 值($\text{CuK}\alpha \lambda = 1.54184 \text{ \AA}$): $9.0 \pm 0.2^\circ$ 、 $16.6 \pm 0.2^\circ$ 、 $18.0 \pm 0.2^\circ$ 、 $21.0 \pm 0.2^\circ$ 、 $22.1 \pm 0.2^\circ$ 、 $23.4 \pm 0.2^\circ$ 、 $24.1 \pm 0.2^\circ$ 、 $25.0 \pm 0.2^\circ 2\theta$ 、 $26.7 \pm 0.2^\circ 2\theta$ 和 $29.9 \pm 0.2^\circ$ 。

[0055] 在实施例5的又另一个方面, 具有式I的化合物的甲磺酸盐的晶型2具有基本上如图9中示出的XRPD图。

[0056] 可以对5-溴-2,6-二(1H-吡唑-1-基)-嘧啶-4-胺的甲磺酸盐的晶型2进行热表征。在一个实施例中, 具有式I的化合物的甲磺酸盐的晶型具有差示热重量曲线, 所述曲线包括在约 168.84°C 开始的吸热峰(其中焓 ΔH 为 113.21 J/g)。

[0057] 在实施例5的另一个方面, 具有式I的化合物的甲磺酸盐的晶型2具有基本上如图10中所示的DSC热分析图。应理解, 水合形式取决于仪器参数可产生不同的热分析图(就峰的形状和轮廓而言), 因此, 当在两个不同的仪器上生成数据时, 相同的材料可具有看起来基本上彼此不同的热分析图。

[0058] 在实施例5的另一个方面, 具有式I的化合物的甲磺酸盐的晶型2具有与图10中所示基本上相同的热重量分析(TGA)图。在 150°C 下, TGA的重量损失为约 0.7% 。

[0059] 在又一个实施例中, 晶型E是基本上相纯的。

[0060] 在实施例6中, 本披露提供了处于其游离形式的5-溴-2,6-二(1H-吡唑-1-基)嘧啶-4-胺的晶型(变型1=F型), 所述晶型具有包括就 2θ 而言, 在 $8.2 \pm 0.2^\circ 2\theta$ 处的代表性峰的X射线粉末衍射(XRPD)图。在另一个实施例中, XRPD图进一步包括选自 $24.9 \pm 0.2^\circ 2\theta$ 、 $25.7 \pm 0.2^\circ 2\theta$ 和 $26.5 \pm 0.2^\circ 2\theta$ 的一个或多个另外的代表性峰。因此, 具有式I的化合物的游离形式的晶型1(还被称为变型1)的XRPD图可以包含以上的一个、两个、三个或四个代表性峰。在另一个实施例中, 具有式I的化合物的游离形式的晶型1具有XRPD图, 所述图可以进一步包括选自 $11.5 \pm 0.2^\circ 2\theta$ 、 $16.4 \pm 0.2^\circ 2\theta$ 和 $30.8 \pm 0.2^\circ 2\theta$ 的一个或多个另外的代表性峰。因此, 具有式I的化合物的游离形式的晶型1的XRPD图可以包括在以上披露的或在表6中披露的一个、两个、三个、四个、五个或六个代表性峰。

[0061] 在实施例6的另一个方面, 游离形式的晶型1的特征在于: 在约 25°C 的温度以及 1.54184 \AA 的X射线波长 λ 下测量的X射线粉末衍射图包括选自由以下组成的组的四个或更多个 2θ 值($\text{CuK}\alpha \lambda = 1.54184 \text{ \AA}$): $8.2 \pm 0.2^\circ$ 、 $11.5 \pm 0.2^\circ$ 、 $16.4 \pm 0.2^\circ$ 、 $16.9 \pm 0.2^\circ$ 、 $18.1 \pm 0.2^\circ$ 、 $24.9 \pm 0.2^\circ$ 、 $25.6 \pm 0.2^\circ$ 、 $25.7 \pm 0.2^\circ 2\theta$ 、 $26.5 \pm 0.2^\circ 2\theta$ 和 $30.8 \pm 0.2^\circ$ 。

[0062] 在实施例6的又另一个方面, 具有式I的化合物的游离形式的晶型1具有基本上如图11中示出的XRPD图。

[0063] 可以对5-溴-2,6-二(1H-吡唑-1-基)-嘧啶-4-胺的游离形式的晶型1进行热表征。在一个实施例中,具有式I的化合物的游离形式的晶型1具有差示热重量曲线,所述曲线包括在约212.62℃开始的吸热峰(其中焓 ΔH 为104.22J/g)。

[0064] 在实施例6的另一个方面,具有式I的化合物的游离形式的晶型1具有基本上如图12中所示的DSC热分析图。应理解,水合形式取决于仪器参数可产生不同的热分析图(就峰的形状和轮廓而言),因此,当在两个不同的仪器上生成数据时,相同的材料可具有看起来基本上彼此不同的热分析图。

[0065] 在实施例6的另一个方面,具有式I的化合物的游离形式的晶型1具有与图12中所示基本上相同的热重量分析(TGA)图。在190℃下,TGA的重量损失为约0.6%。

[0066] 在又一个实施例中,晶型F是基本上相纯的。

[0067] 在实施例7中,本披露提供了处于其游离形式的5-溴-2,6-二(1H-吡唑-1-基)嘧啶-4-胺的晶型(变型2=G型),所述晶型具有包括就 2θ 而言,在 $21.8 \pm 0.2^\circ 2\theta$ 处的代表性峰的X射线粉末衍射(XRPD)图。在另一个实施例中,XRPD图进一步包括选自 $8.3 \pm 0.2^\circ 2\theta$ 、 $25.2 \pm 0.2^\circ 2\theta$ 和 $26.8 \pm 0.2^\circ 2\theta$ 的一个或多个另外的代表性峰。因此,具有式I的化合物的游离形式的晶型2(还被称为变型2)的XRPD图可以包含以上的一个、两个、三个或四个代表性峰。在另一个实施例中,具有式I的化合物的游离形式的晶型2具有XRPD图,所述图可以进一步包括选自 $14.0 \pm 0.2^\circ 2\theta$ 、 $16.7 \pm 0.2^\circ 2\theta$ 和 $30.7 \pm 0.2^\circ 2\theta$ 的一个或多个另外的代表性峰。因此,具有式I的化合物的游离形式的晶型2的XRPD图可以包括在以上披露的或在表7中披露的一个、两个、三个、四个、五个或六个代表性峰。

[0068] 在实施例7的另一个方面,游离形式的晶型2的特征在于:在约25℃的温度以及1.54184 Å的X射线波长 λ 下测量的X射线粉末衍射图包括选自由以下组成的组的四个或更多个 2θ 值($\text{CuK}\alpha \lambda = 1.54184 \text{ \AA}$): $8.3 \pm 0.2^\circ$ 、 $10.4 \pm 0.2^\circ$ 、 $14.0 \pm 0.2^\circ$ 、 $16.7 \pm 0.2^\circ$ 、 $21.8 \pm 0.2^\circ$ 、 $24.6 \pm 0.2^\circ$ 、 $25.1 \pm 0.2^\circ$ 、 $26.8 \pm 0.2^\circ$ 、 $30.7 \pm 0.2^\circ$ 、 $32.8 \pm 0.2^\circ$ 和 $42.5 \pm 0.2^\circ 2\theta$ 。

[0069] 在实施例7的又另一个方面,具有式I的化合物的游离形式的晶型2具有基本上如图13中示出的XRPD图。

[0070] 可以对5-溴-2,6-二(1H-吡唑-1-基)-嘧啶-4-胺的游离形式的晶型2进行热表征。在一个实施例中,具有式I的化合物的游离形式2的晶型具有差示热重量曲线,所述曲线包括在约202.95℃开始的吸热峰(其中焓 ΔH 为14.84J/g),以及在约212.96℃开始的吸热峰(其中焓 ΔH 为91.99J/g)。

[0071] 在实施例7的另一个方面,具有式I的化合物的游离形式的晶型2具有基本上如图14中所示的DSC热分析图。应理解,水合形式取决于仪器参数可产生不同的热分析图(就峰的形状和轮廓而言),因此,当在两个不同的仪器上生成数据时,相同的材料可具有看起来基本上彼此不同的热分析图。

[0072] 在实施例7的另一个方面,具有式I的化合物的游离形式的晶型2具有与图14中所示基本上相同的热重量分析(TGA)图。在190℃下,TGA的重量损失为约1.06%。

[0073] 在实施例8中,本发明涉及药物组合物,所述药物组合物包含治疗有效量的5-溴-2,6-二(1H-吡唑-1-基)嘧啶-4-胺的晶型(根据实施例1至7及其任何子实施例中任一项的A型至G型中的任一者),和至少一种药学上可接受的赋形剂。在具体的实施例中,本发明涉及

包含晶型F和药学上可接受的赋形剂的药物组合物。在实施例8的又另一方面,本发明涉及药物组合物,该药物组合物包含基本上纯的相的晶型F。在又一个实施例中,本发明涉及药物配制品,所述药物配制品包含晶型F,并且进一步包含5-溴-2,6-二(1H-吡唑-1-基)嘧啶-4-胺的至少一种其他的固态形式。在该实施例的一方面,所述其他的固态形式是晶型G。在又一个实施例中,所述其他的固态形式是5-溴-2,6-二(1H-吡唑-1-基)嘧啶-4-胺的无定形形式。在另外的实施例中,无定形形式是5-溴-2,6-二(1H-吡唑-1-基)嘧啶-4-胺的非盐(游离碱)。

[0074] 在实施例9中,本发明涉及组合(具体是药物组合),所述组合包含治疗有效量的5-溴-2,6-二(1H-吡唑-1-基)嘧啶-4-胺的晶型(A型至G型中的任一者,优选F型)和一种或多种免疫治疗剂。

[0075] 在实施例10中,本发明涉及在有需要的受试者中治疗癌症的方法,所述方法包括:向有需要的受试者施用单独的或以与一种或多种免疫治疗剂组合的治疗有效量的5-溴-2,6-二(1H-吡唑-1-基)嘧啶-4-胺的晶型(根据实施例1至7及其任何子实施例中任一项所述的A型至G型中的任一者,优选F型),或根据实施例8所述的药物组合物。

[0076] 在实施例11中,本发明涉及单独的或与一种或多种免疫治疗剂组合的5-溴-2,6-二(1H-吡唑-1-基)嘧啶-4-胺的晶型(根据实施例1至7及其任何子实施例中任一项的所述的A型至G型中的任一者,优选F型)的用途,或根据实施例8所述的药物组合物的用途,用于治疗癌症。

[0077] 在实施例12中,本发明涉及5-溴-2,6-二(1H-吡唑-1-基)嘧啶-4-胺的晶型(根据实施例1至7及其任何子实施例中任一项所述的A型至G型中的任一者,优选F型)或根据实施例8所述的药物组合物,用于在癌症的治疗中使用。

[0078] 在实施例13中,本发明涉及5-溴-2,6-二(1H-吡唑-1-基)嘧啶-4-胺的晶型(根据实施例1至7及其任何子实施例中任一项所述的A型至G型中的任一者,优选F型)与一种或多种免疫治疗剂的组合,用于在癌症的治疗中使用。

[0079] 在实施例14中,本发明涉及在有需要的受试者中抑制腺苷A2a受体的方法,所述方法包括:向受试者施用治疗有效量的5-溴-2,6-二(1H-吡唑-1-基)嘧啶-4-胺的晶型(根据实施例1至7及其任何子实施例中任一项所述的A型至G型中的任一者,优选F型)或根据实施例8所述的药物组合物。

[0080] 在实施例15中,本发明涉及根据实施例10所述的方法、根据实施例11所述的用途、根据实施例12所述的用于使用的化合物、或根据实施例13所述的用于使用的组合,其中所述癌症选自肺癌、黑色素瘤、肾癌、肝癌、骨髓瘤、前列腺癌、乳腺癌、结肠直肠癌、胰腺癌、头颈癌、肛门癌、胃食管癌、甲状腺癌、宫颈癌、淋巴细胞增生性疾病或血液学癌症、T细胞淋巴瘤、B细胞淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤或白血病。

[0081] 在实施例16中,本发明涉及实施例15所述的方法、用途、用于使用的晶型或组合,其中所述癌症是癌,特别是肺癌,并且更具体是非小细胞肺癌。

[0082] 在实施例17中,本发明涉及实施例10、15或16所述的方法,根据实施例11、15或16所述的用途,或根据实施例13、15或16所述的用于使用的组合,其中一种或多种免疫治疗剂选自自由以下组成的组:抗CTLA4抗体、抗PD-1抗体和抗PD-L1抗体。

[0083] 在实施例18中,本发明涉及实施例10、15或16所述的方法、根据实施例11、15或16

所述的用途,或根据实施例13、15或16所述的用于使用的组合,其中所述免疫治疗剂选自自由以下组成的组:伊匹单抗、曲美利木单抗、纳武单抗、帕姆单抗、匹地利珠单抗(CT-011)、AMP-224、AMP-514(MEDI0680-英商梅迪缪思有限公司(Medimmune))、MPDL3280A(基因泰克罗氏公司(Genentech Roche))、MEDI4736、MSB0010718C(默克雪兰诺公司(Merck Serono))、YW243.55.S70和MDX-1105。

[0084] 在实施例19中,本发明涉及实施例10、15或16所述的方法,根据实施例11、15或16所述的用途,或根据实施例13、15或16所述的用于使用的组合,其中所述免疫治疗剂是抗PD-1抗体。

[0085] 在实施例19A中,本发明涉及实施例10、15或16所述的方法,根据实施例11、15或16所述的用途,或根据实施例13、15或16所述的用于使用的组合,其中所述免疫治疗剂是选自以下的抗PD-1抗体:纳武单抗、帕姆单抗、匹地利珠单抗、MEDI0680(AMP514,英商梅迪缪思有限公司)、AMP224(英商梅迪缪思有限公司)和在US 2015/0210769中所述的抗体)。

[0086] 在实施例20中,本发明涉及根据实施例19所述的方法、用途或用于使用的组合,其中所述抗PD-1抗体包含:

[0087] (a) 重链可变区(VH),所述重链可变区包含SEQ ID NO:4的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:5的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:3的VHCDR3氨基酸序列;以及轻链可变区(VL),所述轻链可变区包含SEQ ID NO:13的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:14的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:15的VLCDR3氨基酸序列;

[0088] (b) VH,所述VH包含SEQ ID NO:1的VHCDR1氨基酸序列;SEQ ID NO:2的VHCDR2氨基酸序列;和SEQ ID NO:3的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,所述VL包含SEQ ID NO:10的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:11的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:12的VLCDR3氨基酸序列;

[0089] (c) VH,所述VH包含SEQ ID NO:41的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:5的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:3的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,所述VL包含SEQ ID NO:13的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:14的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:15的VLCDR3氨基酸序列;或

[0090] (d) VH,所述VH包含SEQ ID NO:41的VHCDR1氨基酸序列;SEQ ID NO:2的VHCDR2氨基酸序列;和SEQ ID NO:3的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,所述VL包含SEQ ID NO:10的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:11的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:12的VLCDR3氨基酸序列。

[0091] 在实施例21中,本发明涉及根据实施例19所述的方法、用途或用于使用的组合,其中该抗PD-1包含VH和VL,所述VH包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列,所述VL包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列。

[0092] 在实施例22中,本发明涉及根据实施例19所述的方法、用途、或用于使用的组合,其中该抗PD-1抗体包含重链和轻链,所述重链包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列,所述轻链包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列。

[0093] 在实施例23中,本发明涉及根据实施例19所述的方法、用途、或用于使用的组合,其中该抗PD-1抗体包含VH和VL,所述VH包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列,所述VL包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列。

[0094] 在实施例24中,本发明涉及根据实施例19所述的方法、用途、或用于使用的组合,

其中该抗PD-1抗体包含重链和轻链,所述重链包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列,所述轻链包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列。

[0095] 在实施例25中,本发明涉及根据实施例19-24中任一项所述的方法、用途、或用于使用的组合,其中将该抗PD-1抗体分子以约300mg的剂量施用,每三周一次。

[0096] 在实施例26中,本发明涉及根据实施例19-24中任一项所述的方法、用途、或用于使用的组合,其中将该抗PD-1抗体分子以约400mg的剂量施用,每四周一次。

[0097] 在实施例27中,本发明涉及实施例10、15或16所述的方法,根据实施例11、15或16所述的用途,或根据实施例13、15或16所述的用于使用的组合,其中所述免疫治疗剂是抗PD-L1抗体。

[0098] 在实施例27A中,本发明涉及根据实施例27所述的方法、用途或用于使用的组合,其中所述抗PD-L1抗体分子选自YW243.55.S70、MPDL3280A、MEDI-4736、MSB-0010718C、MDX-1105和在US2016/0108123中所述的抗PD-L1抗体。

[0099] 在实施例28中,本发明涉及根据实施例27所述的方法、用途或用于使用的组合,其中所述抗PD-L1抗体分子包含:

[0100] (a) 重链可变区(VH),所述重链可变区包含SEQ ID NO:47的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:48的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:46的VHCDR3氨基酸序列;以及轻链可变区(VL),所述轻链可变区包含SEQ ID NO:52的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:53的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:54的VLCDR3氨基酸序列;

[0101] (b) VH,所述VH包含SEQ ID NO:44的VHCDR1氨基酸序列;SEQ ID NO:45的VHCDR2氨基酸序列;和SEQ ID NO:46的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,所述VL包含SEQ ID NO:49的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:50的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:51的VLCDR3氨基酸序列;

[0102] (c) VH,所述VH包含SEQ ID NO:63的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:48的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:46的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,所述VL包含SEQ ID NO:52的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:53的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:54的VLCDR3氨基酸序列;或

[0103] (d) VH,所述VH包含SEQ ID NO:63的VHCDR1氨基酸序列;SEQ ID NO:45的VHCDR2氨基酸序列;和SEQ ID NO:46的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,所述VL包含SEQ ID NO:49的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:50的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:51的VLCDR3氨基酸序列。

[0104] 在实施例29中,本发明涉及根据实施例27所述的方法、用途或用于使用的组合,其中所述抗PD-L1抗体分子包含重链可变结构域和轻链可变结构域,所述重链可变结构域包含SEQ ID NO:55的氨基酸序列,所述轻链可变结构域包含SEQ ID NO:58的氨基酸序列。

[0105] 在实施例30中,本发明涉及根据实施例17-29中任一项所述的方法、用途或用于使用的组合,其中将免疫治疗剂以单一组合物一起施用或以两种或更多种不同的组合物形式分开施用。

[0106] 在实施例31中,本发明涉及根据实施例17-29中任一项所述的方法、用途或用于使用的组合,其中将所述免疫治疗剂与5-溴-2,6-二(1H-吡唑-1-基)嘧啶-4-胺的晶型同时、在其之前或之后施用。

[0107] 已经发现本文描述的晶型具有有利的特性。选择标准是毒理学依据、结晶性、单型性、熔点、吸湿性、散装稳定性、与赋形剂的相容性、水性溶液的pH、水和水介质中的溶解度、形态、处理和多态性行为。游离形式F已证明出优异的行为。

[0108] 鉴定了5-溴-2,6-二(1H-吡唑-1-基)嘧啶-4-胺的游离形式的两种晶型,所述两种晶型包括如本文讨论的晶型F和晶型G。在所鉴定的不同游离形式中,如与其他游离形式G相比,晶型F是热力学最稳定的。

[0109] 在室温下进行使用变型F和变型G的1:1混合物的竞争性浆料实验。平衡5天后,变型F和变型G的混合物完全转化为变型F。熔融后,变型G重结晶为变型F,因此表明F型比G型更稳定。

[0110] 而且,晶型F被示出比晶型G具有更好的化学稳定特性。特别地,当在80℃下在环境相对湿度(RH)下暴露一周时,F型被示出是在体积上物理和化学稳定的。确切的,晶型F药物物质的分析表明,在这些条件下,F型材料的降解小于1%。还证明F型在50℃下在环境相对湿度下以及在50℃下在75%相对湿度下是在体积上物理和化学稳定的持续一至两周。确切的,晶型F药物物质的分析表明在两组条件下,F型材料的降解小于1%。此外,F型在光胁迫暴露下是物理和化学稳定的。

[0111] 在pH稳定性研究中,在50℃下持续一周,F型的0.1%悬浮液/溶液在多种pH的缓冲溶液中显示出小于0.5%降解(除了在pH 1.2下,其中产生1%降解)。另外,就有机溶剂中的稳定性而言,F型显示出优于硫酸盐形式C的特性。因此,在溶液和固体状态两种条件下,晶型F已经显示出化学稳定性。

[0112] 晶型F被示出比其他披露的晶型A-E和G具有更好的热稳定特性。在加热至220℃(熔融)后,然后冷却至30℃,晶型F保持不变。进行XRPD以研究在加热和冷却时晶型的稳定性,并且结果除了在高温下有些峰移动之外,没有表明形式变化。

[0113] 晶型F被示出比其他披露的晶型(A-E和G)具有更好的物理稳定特性。用0.8cm直径的圆盘在0.5吨下压缩5分钟后,通过XRPD评估F型的结晶性。XRPD表明在压缩后无形式变化。

[0114] 在造粒模拟实验中,还评估了晶型F的物理稳定性。在这些实验中,将造粒溶剂滴加至晶型F中,直到固体充分湿润。然后在室温(25℃下,持续2-3分钟)下,在每次添加之间,将混合物在研钵/研杵中研磨。通过XRPD和DSC,重新评估材料的结晶性(研磨后)。在前述使用水或乙醇作为造粒溶剂的条件下,XRPD结果表明没有形式变化。

[0115] 在50℃/75%RH下,当与四种所选择的赋形剂共混时,游离形式F和硫酸盐形式C都显示出良好的稳定性(其中观察到约1%降解),所述四种赋形剂是:1.明胶;2HPMC;3湿法造粒混合物[添加至混合物的MCC PH101(45%);乳糖一水合物(44%);PVP K30(4%),交聚维酮XL(5%),Aerosil(0.5%);硬脂酸镁(1.5%)和20%w/w水];和4干的共混混合物[乳糖USP(73%)、淀粉1500(20%)、Explotab(5wt%)、Aerosil(0.5wt%);硬脂酸镁(1.5wt%)]。

[0116] 晶体5-溴-2,6-二(1H-吡唑-1-基)嘧啶-4-胺(F型)主要作为高度结晶材料存在。

[0117] 晶型F是非吸湿性的。在DVS(动态蒸气吸附)仪器上记录水吸附-解吸等温线为50%-90%-0%(循环1)和0%-90%-50%(循环2),在相对湿度(RH)、25℃下,在10%RH的步骤中,dm/dt=0.002%/min显示晶型F吸收小于0.2%的水分直到90%相对湿度。

[0118] F型显示在暴露于湿度时几乎没有相变。

[0119] F型显示在水性缓冲液(在pH 1至pH 10)和生物相关介质中的溶解度,在所有测试介质中为约0.1mg/mL。

[0120] 游离形式F显示在0.01N HCl pH=2 (0.0115mg/cm²/min)、乙酸盐缓冲液pH 4.7 (0.0085mg/cm²/min)和磷酸盐缓冲液pH 6.8 (0.0084mg/cm²/min)中缓慢的固有溶解。

[0121] 当相对湿度高于70%时,硫酸盐形式C极易吸湿。

[0122] 进一步确定,在0.01N HCl pH=2 (0.0592mg/cm²/min)、乙酸盐缓冲液pH 4.7 (0.0264mg/cm²/min)和磷酸盐缓冲液pH 6.8 (0.0277mg/cm²/min)中,硫酸盐(C型)的固有溶解速率略高于游离形式F的固有溶解速率。

[0123] 硫酸盐(C型)显示出更好的形态,并因此改善了流动性,但没有显示出任何比游离形式F更好的溶解度,因为它在水性介质中会解离。

[0124] 定义

[0125] 如本文所用,术语“约”和“基本上”指示对于特征如吸热、吸热峰、放热峰、基线位移等,它们的值可以变化。关于X-射线衍射峰位置,“约”或“基本上”意指考虑典型的峰位置和强度变异性。例如,本领域技术人员应当理解,峰位置(2 θ)可以显示某些装置之间的变异性,典型地多达0.2°。偶尔,变异性可能高于0.2°,这取决于装置校准的差异。此外,本领域技术人员应当理解,相对峰强度将显示装置之间的变异性以及由于结晶性、优选的取向、制备的样品表面和其他本领域技术人员已知的因素的变异性,并且应仅作为定性测量。对于DSC,观察到的温度变化将取决于温度变化的速率以及样品制备技术和所使用的特定仪器。因此,本文报告的关于DSC/TGA热分析图的吸热/熔点值可以变化 $\pm 2^{\circ}\text{C}$ (并且仍被认为是本文描述的特定晶型的特征)。当在其他特征例如像重量百分比(按重量计%)的上下文中使用时,术语“约”指示 $\pm 3\%$ 的方差。

[0126] 如本文所用的“多晶型物”是指具有相同化学组成但具有形成晶体的分子、原子、和/或离子的不同空间排列的晶型。

[0127] 如本文使用的“溶剂化物”是指进一步包含结合到晶格结构中的一种或多种溶剂的分子的分子、原子、和/或离子的晶型。溶剂化物中的溶剂分子可以规则排列和/或无序排列存在。溶剂化物可包含化学计量量或非化学计量量的溶剂分子。例如,具有非化学计量量的溶剂分子的溶剂化物可能由溶剂化物中溶剂的部分损失而产生。可替代地,溶剂化物可能作为包含多于一个分子的二聚物或低聚物或者在晶格结构中出现。

[0128] 如本文所用的“无定形”是指不是晶体的分子、原子、和/或离子的固体形式。无定形固体不显示限定的X-射线衍射图。

[0129] 如本文所用,“基本上相纯的”,当关于具有式I的化合物的任何晶型使用时,意指一种化合物,所述化合物具有基于化合物(在无水的基礎上)的重量按重量计大于约90%,包括按重量计大于约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、以及约99%,并且还按重量计等于约100%的具有式I的化合物的相纯度。术语“相纯的”或“相纯度”本文是指关于具有式I的化合物的特定固态形式的相均匀性并且在不存在对其作出明确的陈述下不一定暗示高度的化学纯度。相纯度可以根据本领域已知的方法来确定,例如,使用一种或多种本领域已知的途径使用XRPD进行定量相分析,例如,通过外标法,线(峰)特征的直接比较(这归因于特定谱中的不同相),或者通过内标法。然而,无定形材料的存在可能使相纯度的XRPD定量复杂。因此,可用于确定相纯度的其他方法包括例如固态NMR光谱法、拉曼

和/或红外光谱法。本领域技术人员将容易地理解这些方法,以及如何采用这些另外的(或替代性)方法来确定相纯度。

[0130] 如本文所用,“基本上化学纯的”,当关于具有式I的化合物的任何晶型使用时,意指一种化合物,所述化合物具有基于盐(在无水的基础上)的重量按重量计大于约90%,包括按重量计大于约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、以及约99%,并且还包括按重量计等于约100%的具有式I的化合物的化学纯度。剩余的材料通常包括其他化合物(例如像具有式I的化合物的其他立体异构体)、反应杂质、开始材料、试剂、副产物、和/或从特定晶型的制备和/或分离和/或纯化产生的其他加工杂质。例如,如果已经确定具有式I的化合物的晶型具有如通过本领域已知的标准和普遍接受的方法测量的按重量计大于约90%的化学纯度,则它可以被认为是基本上化学纯的,其中剩余的按重量计小于约10%构成其他材料,如具有式I的化合物的其他立体异构体、反应杂质、开始材料、试剂、副产物、和/或加工杂质。化学纯度可以根据本领域已知的方法来确定,例如,高效液相色谱法(HPLC)、LC-MS(液相色谱法-质谱法)、核磁共振(NMR)光谱法、或红外光谱法。本领域技术人员将容易地理解这些方法,以及如何采用这些另外的(或替代性)方法来确定化学纯度。

[0131] 术语“治疗有效量”的本发明的化合物是指将引起受试者的生物或医学反应(例如,酶或蛋白质活性的减小或抑制,或改善症状、缓解病症、或减缓或延迟疾病进展等)的本发明的化合物的量。在一个非限制性实施例中,术语“治疗有效量”是指本发明的化合物的如下量,当向受试者施用,所述量有效地(1)至少部分缓解、抑制、和/或改善(i)由腺苷A2a受体介导的,或(ii)与腺苷或腺苷A2a受体的活性相关联的,或(iii)以腺苷A2a受体的活性(正常的或异常的)为特征的病症、或障碍或疾病;或(2)降低或抑制腺苷A2a受体的活性。在另一个非限制性实施例中,术语“治疗有效量”是指本发明的化合物的如下量,当被施用于细胞、或组织、或非细胞生物材料、或介质时,所述量可有效地至少部分降低或抑制腺苷A2a受体活性;或至少部分地降低或抑制腺苷A2a受体的表达。

[0132] 如本文所用,术语“受试者”是指动物。优选地,该动物是哺乳动物。受试者指例如灵长类动物(例如人)、牛、绵羊、山羊、马、狗、猫、兔、大鼠、小鼠、鱼、鸟等。在优选的实施例中,该受试者是人。

[0133] 如本文所用,术语“一个/种(a/an)”、“该(the)”以及在本发明的上下文中使用的类似术语(特别是在权利要求的上下文中)应被解释为涵盖单数和复数二者,本文中除非另外指示或与上下文明显相矛盾。

[0134] 在本文描述的所有方法能够以任何合适顺序进行,除非本文另外指明或另外与上下文明显相矛盾。本文提供的任何和所有实例或示例性语言(例如“如”)的使用仅旨在更好地说明本发明,而不对另外要求保护的本发明范围做出限制。

[0135] 如本文所用,术语“抑制(inhibit、inhibition或inhibiting)”是指减少或抑制给定的病症、症状或障碍、或疾病,或在生物活性或过程的基线活性方面的显著降低。

[0136] 如本文所用,术语任何疾病或病症的“治疗(treat、treating或treatment)”在一个实施例中,是指减轻疾病或病症(即,减慢或阻止或减少疾病或其至少一种临床症状的发展)。在另一个实施例中,“治疗(treat、treating或treatment)”是指缓解或减轻至少一种身体参数、包括不能被患者辨别的那些。仍在另一个实施例中,“治疗(treat、treating或treatment)”是指在身体上(例如,可辨别的症状的稳定化)、在生理上(例如,身体参数的稳

定化)或二者调节疾病或病症。在一个实施例中,“治疗(treat或treating)”是指延迟疾病或病症的进展。

[0137] 如本文所使用的,术语任何疾病或障碍的“预防(prevent、preventing或prevention)”是指疾病或障碍的预防性治疗;或延迟疾病或病症的发作。

[0138] 如本文件中所用,术语癌症用于表示一组涉及异常细胞生长的疾病,有侵入或扩散到身体的其他部位的潜力。根据与肿瘤细胞类似并且因此被假定为肿瘤起源的细胞的类型对癌症进行分类。这些类型包括癌、肉瘤、淋巴瘤和白血病、生殖细胞肿瘤和母细胞瘤。

[0139] 如本文件中所用,术语癌用于表示衍生自上皮细胞的癌症。该组包括许多最常见的癌症(特别是在老年人中),并且包括几乎所有在乳腺、前列腺、肺、胰腺和结肠中发展的那些癌症。

[0140] 例如,术语“癌症”包括但不限于实体瘤、血液学癌症(例如,白血病、淋巴瘤、骨髓瘤(如多发性骨髓瘤))和转移性病灶。在一个实施例中,癌症是实体瘤。实体瘤的实例包括恶性肿瘤,例如肉瘤和癌,例如多种器官系统的腺癌,如影响肺、乳腺、卵巢、淋巴、胃肠(例如,结肠)、肛门、生殖器和泌尿生殖道(例如,肾、尿路上皮、膀胱细胞、前列腺)、咽、CNS(例如,脑细胞、神经细胞或神经胶质细胞)、头颈部、皮肤(例如,黑色素瘤)和胰腺的那些腺癌,以及包括恶性肿瘤的腺癌,例如结肠癌、直肠癌、肾细胞癌、肝癌、非小细胞肺癌、小肠癌和食道癌。癌症可以处于早期、中期、晚期或可以是转移性癌症。

[0141] 在一个实施例中,癌症选自肺癌(例如,非小细胞肺癌(NSCLC)(例如,具有鳞状组织学和/或非鳞状组织学的NSCLC,或NSCLC腺癌))、黑色素瘤(例如,晚期黑色素瘤)、肾癌(例如,肾细胞癌)、肝癌、骨髓瘤(例如,多发性骨髓瘤)、前列腺癌、乳腺癌(例如,不表达雌激素受体、孕酮受体或Her2/neu中的一者、二者或全部的乳腺癌,例如三阴性乳腺癌)、结肠直肠癌、胰腺癌、头颈癌(例如,头颈部鳞状细胞癌(HNSCC))、肛门癌、胃食管癌、甲状腺癌、宫颈癌、淋巴细胞增生性疾病(例如,移植后淋巴增生性疾病)或血液学癌症、T细胞淋巴瘤、B细胞淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤或白血病(例如,骨髓性白血病或淋巴性白血病)。

[0142] 在另一个实施例中,癌症可以是例如,本文所述的癌症,例如肺癌(鳞状)、肺癌(腺癌)、头颈癌、宫颈癌(鳞状)、胃癌、甲状腺癌、黑色素瘤、鼻咽癌(例如,分化的或未分化的转移性或局部复发的鼻咽癌)或乳腺癌。

[0143] 在另一个实施例中,癌症选自癌(例如,晚期或转移性癌)、黑色素瘤或肺癌(例如,非小细胞肺癌)。

[0144] 在一个实施例中,癌症是肺癌,例如非小细胞肺癌或小细胞肺癌。

[0145] 如本文件中所用,术语肺癌(lung cancer)(也称为肺部癌(carcinoma of the lung)或肺癌(pulmonary carcinoma))用于表示恶性肺肿瘤,其特征在于肺组织中不受控制的细胞生长。

[0146] 如本文件中所用,术语非小细胞肺癌(NSCLC)用于表示除小细胞肺癌(SCLC)之外的任何类型的肺癌。

[0147] 如本文件中所用,术语免疫治疗性治疗是指被特指用于引发免疫介导的肿瘤细胞破坏的广泛类别的疗法。在所述疗法中使用免疫治疗剂。

[0148] 如本文件中所用,术语免疫治疗剂是指用于进行癌症的免疫治疗性治疗的化合物,例如选自由以下组成的组的药剂:抗CTLA4抗体(例如伊匹单抗和曲美利木单抗)、抗PD-

1抗体(例如MDX-1106、MK3475、CT-011、AMP-224或如WO 2015/112900中所述的抗PD-1抗体分子);和抗PD-L1抗体(例如MEDI4736、MDX-1105或US 2016/0108123中所述的抗PD-L1抗体)。

[0149] 如本文所用,术语“程序性死亡1”或“PD-1”包括同种型,哺乳动物例如人PD-1,人PD-1的物种同源物,和包含至少一个与PD-1的共同表位的类似物。PD-1(例如人PD-1)的氨基酸序列是本领域已知的,例如Shinohara T等人(1994)Genomics[基因组学]23(3):704-6;Finger LR等人Gene[基因](1997)197(1-2):177-87。

[0150] 如本文所用,术语“程序性死亡配体1”或“PD-L1”包括同种型,哺乳动物例如人PD-L1,人PD-1的物种同源物,和包含至少一个与PD-L1的共同表位的类似物。PD-L1(例如人PD-1)的氨基酸序列是本领域已知的,例如Dong等人(1999)Nat Med.[自然医学]5(12):1365-9;Freeman等人(2000)J Exp Med.[实验医学杂志]192(7):1027-34)。

[0151] 如本文所用,术语“组合”是指一种剂量单位形式的固定组合,或组合施用,其中具有式I的化合物的晶型和组合配偶体(即免疫治疗剂)可以在同一时间独立地给予或在时间间隔内分开地施用,特别是在这些时间间隔允许组合配偶体显示协作,例如协同效应的情况下。单个组分可以包装在一个试剂盒中或分开包装。可在施用之前将一种或两种组分(例如粉末或液体)重构或稀释至所希望的剂量。

[0152] 如本文所使用的术语“共同施用”或“组合施用”等意在涵盖将所选择的组合配偶体施用给有需要的单个受试者(例如患者),并且旨在包括其中药剂不一定通过相同的施用途径施用或同时施用的治疗方案。

[0153] 如本文所用,术语“药物组合”和“组合产物”可互换地使用,并且是指在一个剂量单位形式中的固定组合或用于组合施用的非固定组合或试剂盒,其中两种或更多种治疗剂可以在同一时间独立地施用或在时间间隔内分开地施用,特别是在这些时间间隔允许组合配偶体显示协作,例如协同效应的情况下。术语“固定组合”意指具有式I的化合物的晶型和组合配偶体(即免疫治疗剂),以单一实体或剂量的形式同时地施用至患者。术语“非固定组合”意指具有式I的化合物的晶型和组合配偶体(即免疫治疗剂),作为分开的实体同时地、并行地或顺序地施用至患者(没有特定的时间限制),其中这种施用在患者体内提供治疗有效水平的两种化合物。后者也适用于鸡尾酒疗法,例如三种或更多种治疗剂的施用。在优选的实施例中,药物组合是非固定组合。

[0154] 术语“组合疗法”是指施用两种或更多种治疗剂以治疗如本披露内容中所述的癌症。这种施用涵盖以基本上同时的方式共同施用这些治疗剂,如以具有固定比率的活性成分的单个胶囊施用。可替代地,这种施用涵盖在多个容器中或在每种活性成分的独立容器(例如,片剂、胶囊、粉末、和液体)中共同施用。可以将粉末和/或液体在施用之前重构或稀释到所希望的剂量。此外,这种施用也涵盖在大致相同的时间或在不同的时间以依序方式使用每种类型的治疗剂。在任何一种情况下,治疗方案将在治疗本文所述的病症或障碍方面提供药物组合的有益作用。

[0155] 药物组合物、组合、剂量和施用

[0156] 在一些实施例中,本文描述的5-溴-2,6-二(1H-吡唑-1-基)嘧啶-4-胺的晶型可以单独使用或者它们可以被配制成药物组合物,所述药物组合物还含有至少一种药学上可接受的赋形剂,并且通常含有至少两种或更多种药学上可接受的赋形剂。本文披露了一些适

合的赋形剂。在不脱离本申请的目的和范围的情况下,可以使用本领域已知的其他赋形剂。

[0157] 在一些实施例中,本发明利用药物组合物,该药物组合物包含本发明的化合物和药学上可接受的赋形剂。药物组合物可以被配制用于特定的施用途径,如经口施用、肠胃外施用、和直肠施用等。此外,本发明的药物组合物可以固体形式(包括但不限于胶囊、片剂、丸剂、颗粒、粉末或栓剂)、或以液体形式(包括但不限于溶液、悬浮液或乳液)制成。药物组合物可以经受常规医药操作(如灭菌)和/或可以含有常规惰性稀释剂、润滑剂、载体或缓冲剂以及辅助剂(如溶剂、防腐剂、稳定剂、润湿剂、乳化剂以及膨胀剂等)。

[0158] 典型地,药物组合物是包含活性成分连同至少一种赋形剂的片剂或胶囊,该至少一种赋形剂如:

[0159] a) 稀释剂,例如,乳糖、右旋糖、蔗糖、甘露醇、山梨醇、纤维素和/或甘氨酸;

[0160] b) 润滑剂,例如,二氧化硅、滑石、硬脂酸、其镁盐或钙盐和/或聚乙二醇;就片剂而言还包含

[0161] c) 粘合剂,例如,硅酸镁铝、淀粉糊、明胶、黄芪胶、甲基纤维素、羧甲基纤维素钠和/或聚乙烯吡咯烷酮;如果希望的话;

[0162] d) 载体,如含有共溶剂化材料的水性媒介物,如captisol(无对应中文译文)、PEG、甘油、环糊精等;

[0163] e) 崩散剂,例如,淀粉、琼脂、海藻酸或其钠盐、或泡腾混合物;和/或

[0164] f) 吸附剂、着色剂、调味剂以及甜味剂。

[0165] 片剂可以根据本领域已知的方法添加薄膜包衣或肠溶包衣。

[0166] 优选地,将化合物或组合物制备成用于经口施用,例如像片剂或胶囊,并且任选地将其以适合于储存和/或分配单位剂量的药物产品的多剂量形式包装。适合的包装的实例包括但不限于经气密密封的箔、单位剂量容器(例如,小瓶)、泡罩包装、以及条形包装。

[0167] 片剂可以含有与适用于制造片剂的非毒性、药学上可接受的赋形剂混合的活性成分。这些赋形剂是(例如)惰性稀释剂,如碳酸钙、碳酸钠、乳糖、磷酸钙或磷酸钠;制粒剂及崩解剂,例如,玉米淀粉或海藻酸;黏结剂,例如,淀粉、明胶或阿拉伯胶;以及润滑剂,例如硬脂酸镁、硬脂酸或滑石粉。这些片剂是不添加包衣或通过已知技术添加包衣以延迟在胃肠道中的分解及吸收并且由此提供长期持续作用。例如,可以采用时间延迟材料,如甘油单硬脂酸酯或甘油二硬脂酸酯。用于经口用途的配制品可以呈现为硬质明胶胶囊,其中活性成分是与惰性固体稀释剂(例如,碳酸钙、磷酸钙或高岭土)混合,或呈现为软质明胶胶囊,其中活性成分是与水或油介质(例如,花生油、液体石蜡或橄榄油)混合。

[0168] 本发明进一步提供包含作为活性成分的本发明化合物的无水药物组合物及剂型,因为水可以促进某些化合物的降解。

[0169] 本发明的无水药物组合物及剂型可以使用无水或低含水量成分及低水分或低湿度条件进行制备。无水药物组合物可以经制备及储存使得保持其无水性质。因此,优选使用已知阻止暴露于水的材料来包装无水组合物,使得它们可以被包括在适合的配制试剂盒中。合适的包装的实例包括但不限于经气密密封的箔、塑料、单位剂量容器(例如,小瓶)、泡罩包装、以及条形包装。

[0170] 本发明进一步提供包含减小作为活性成分的本发明化合物分解的速率的一种或多种药剂的药物组合物及剂型。此类药剂(本文中称为“稳定剂”)包括但不限于抗氧化剂

(如抗坏血酸)、pH缓冲剂、或盐缓冲剂等。

[0171] 对于约50-70kg的受试者,本发明的药物组合物或组合可以处于单位剂量为约1-1000mg的一种或多种活性成分,或约1-500mg或约1-250mg或约1-150mg或约0.5-100mg或约1-50mg的活性成分。化合物、药物组合物、或其组合的治疗有效剂量取决于所述受试者的物种、体重、年龄及治疗中的个别病状、病症或疾病或其严重性。具有普通技能的医师、临床医生或兽医可以容易地确定预防、治疗或抑制病症或疾病进展所必需的每种活性成分的有效量。

[0172] 使用有利的哺乳动物(例如,小鼠、大鼠、狗、猴)或其分离的器官、组织和制品在体外和体内测试中证明上述剂量特性。本发明的化合物可以溶液的形式(例如,优选地水性溶液)体外施用,及肠内、肠胃外、有利地静脉内,例如,作为悬浮液或在水性溶液中体内施用。体外剂量可以在约 10^{-3} 摩尔浓度和 10^{-9} 摩尔浓度之间的范围内。取决于施用途径,体内治疗有效量可以在约0.1-500mg/kg之间,或约1-100mg/kg之间的范围内。

[0173] 在其他实施例中,提供了药物组合物,其包含根据以上实施例所述的至少一种化合物和至少一种载体。

[0174] 本文描述的5-溴-2,6-二(1H-吡唑-1-基)嘧啶-4-胺的晶型还可用作活性药物成分(API)以及用于制备配制品的材料,所述配制品结合一种或多种药学上可接受的赋形剂并且适合施用于人类受试者。在一些实施例中,这些配制品将是药物产品,例如像,固体口服剂型,如片剂和/或胶囊。在这些配制品的制备中,可以是以下情况:5-溴-2,6-二(1H-吡唑-1-基)嘧啶-4-胺的晶型以任何足够的量都是不可检测的。情况就是这样,其中结晶API在溶剂(例如像水)的存在下与一种或多种药学上可接受的赋形剂接触,其量足以促进API的溶解,使得其结晶特性丧失并且因此不存在于最终的药物产品中。

[0175] 如本文所用,术语“药学上可接受的赋形剂”包括任何及所有溶剂、载体、稀释剂、分散介质、包衣、表面活性剂、抗氧化剂、防腐剂(例如,抗细菌剂、抗真菌剂、抗氧化剂)、等渗剂、吸收延迟剂、盐、药物稳定剂、粘合剂、添加剂、膨胀剂、崩解剂、润滑剂、甜味剂、调味剂、染料及类似物及其组合,如本领域技术人员将已知的(参见,例如,Remington's Pharmaceutical Sciences[雷明顿药物科学],第18版,Mack出版公司(Mack Printing Company),1990,第1289-1329页)。应理解,除非常规赋形剂与活性成分不相容,否则本申请考虑在任何治疗或药物组合物中使用任何常规赋形剂。

[0176] 因此,在本披露的实施例中,以基本上相纯的形式提供5-溴-2,6-二(1H-吡唑-1-基)嘧啶-4-胺的晶型(A型至G型中的任一者)。可以将处于基本上相纯的形式的5-溴-2,6-二(1H-吡唑-1-基)嘧啶-4-胺的晶型(A型至G型中的任一者)用于制备药物组合物,所述药物组合物可以进一步包含一种或多种药学上可接受的赋形剂。在一些实施例中,5-溴-2,6-二(1H-吡唑-1-基)嘧啶-4-胺的晶型在药物组合物中可能不保持其结晶性。例如,在一些实施例中,可以将晶型A、B、C、D、E、F或G用于例如涉及喷雾干燥或湿法造粒的方法中以制备药物组合物;因此,预期所得药物组合物中将几乎检测不到晶型A、B、C、D、E、F或G。应理解,如本文使用的,术语“使...接触”明确地包括使本文描述的具有式I的化合物的晶型组合的方法,其中API的结晶度被维持或者API的结晶度由于制备药物组合物或药物产品的方法而丧失。

[0177] 治疗试剂盒

[0178] 在一个实施例中,本发明提供了试剂盒,所述试剂盒包含两种或更多种单独的药物组合,这些药物组合中至少一种含有具有式(I)的化合物的晶型(A型至G型中的任一者)。在一个实施例中,所述试剂盒包含用于分别保留所述组合物的装置(例如容器、分开的瓶子、或分开的箔包)。这种试剂盒的实例是泡罩包装,如典型地用于片剂、胶囊及类似物的包装。

[0179] 本发明的试剂盒可以用于施用不同剂型(例如,口服和肠胃外),用于以不同剂量间隔施用单独组合物或用于相对在彼此滴定单独组合物。为了有助于依从性,本发明的试剂盒典型地包含用于施用的用法说明书。

[0180] 在本发明的组合疗法中,可以由相同或不同的制造商制造和/或配制具有式(I)的化合物的晶型(即,A型至G型中的任一者)和其他免疫治疗剂。然而,具有式(I)的化合物的晶型和其他治疗剂可以一起形成组合疗法:(i)在组合产物释放至医师之前(例如在试剂盒包含具有式(I)的化合物的晶型和其他治疗剂的情况下);(ii)在施用之前不久,由医师自身(或在医师的指导下);(iii)例如,在顺序施用具有式(I)的化合物的晶型和其他治疗剂期间在患者自身中。

[0181] 因此,本发明提供了根据实施例1至7中任一项所述的晶型(A型至G型中的任一者)用于治疗癌症的用途,其中所述药物被制备用于与另一种免疫治疗剂一起施用。本发明还提供了免疫治疗剂用于治疗癌症的用途,其中将所述药物与具有式(I)的化合物的晶型一起施用。

[0182] 本发明还提供了具有式(I)的化合物的晶型(即,A型至G型中的任一者),用于在治疗癌症的方法中使用,其中具有式(I)的化合物的晶型被制备用于与另一种免疫治疗剂一起施用。本发明还提供了用于在治疗癌症的方法中使用的另一种免疫治疗剂,其中制备其他免疫治疗剂,用于与具有式(I)的化合物的晶型一起施用。本发明还提供了具有式(I)的化合物的晶型,用于在治疗癌症的方法中使用,其中具有式(I)的化合物的晶型与另一种免疫治疗剂施用。本发明还提供了用于在治疗癌症的方法中使用的另一种免疫治疗剂,其中与具有式(I)的化合物的晶型一起施用其他治疗剂。

[0183] 本发明还提供了具有式(I)的化合物的晶型用于治疗癌症的用途,其中患者已经先用另一种免疫治疗剂进行治疗(例如24小时内)。本发明还提供了另一种免疫治疗剂用于治疗癌症的用途,其中患者先前已经用具有式(I)的化合物的晶型进行治疗(例如24小时内)。

[0184] 组合疗法:

[0185] 在一个实施例中,药物组合(或组合产物)包含根据实施例1至7中任一项所述的晶型以及选自由以下组成的组的一种或多种免疫治疗剂:抗CTLA4抗体(例如伊匹单抗和曲美利木单抗)、抗PD-1抗体(例如MDX-1106(纳武单抗)、MK3475(帕姆单抗)、CT-011(匹地利珠单抗)、AMP-224、AMP-514(MEDI0680,英商梅迪缪思有限公司)或如WO 2015/112900(US 2015/0210769)中所述的抗PD-1抗体分子;以及抗PD-L1抗体(例如MPDL3280A、MEDI4736、MSB0010718C(Merck Sorono公司)、YW243.55.S70、MDX-1105或US 2016/0108123(提交于2015年10月13日,题为“Antibody Molecules to PD-L1 and Uses Thereof[PD-L1的抗体分子及其用途]”)中披露的抗PD-L1抗体分子)。

[0186] 组合产物的组分在相同的配制品中或在单独的配制品中。

[0187] 在优选的实施例中,组合产物包含根据实施例1至7中任一项所述的晶型,和在治疗癌症(特别是用于癌症的免疫治疗性治疗)中有一种或多种免疫治疗剂,这样的药剂选自由以下组成的组:抗PD-1抗体(例如MDX-1106、MK3475、CT-011、AMP-224或如WO2015/112900 (US 2015/0210769)中所述的抗PD-1抗体分子;以及抗PD-L1抗体(例如MPDL3280A、MEDI4736、MDX-1105或US 2016/0108123中披露的抗PD-L1抗体分子)。

[0188] 抗PD-1抗体分子的实例

[0189] 在优选的实施例中,组合产物包含根据实施例1至7中任一项所述的晶型和抗PD-1抗体分子(例如本文所述的那些)。

[0190] PD-1是CD28/CTLA-4家族成员,其在例如活化的CD4⁺和CD8⁺T细胞、T_{reg}和B细胞上表达。它负调节效应T细胞信号传导和功能。PD-1在肿瘤浸润性T细胞上被诱导,并且可导致功能性衰竭或功能障碍(Keir等人(2008)Annu.Rev.Immunol.[免疫学年评]26:677-704; Pardoll等人(2012)Nat Rev Cancer[癌症自然评论]12(4):252-64)。PD-1在与其两种配体(程序性死亡-配体1(PD-L1)或程序性死亡-配体2(PD-L2))之一结合时递送共抑制信号。PD-L1在许多细胞类型(包括T细胞、天然杀伤(NK)细胞、巨噬细胞、树突细胞(DC)、B细胞、上皮细胞、血管内皮细胞)以及许多类型的肿瘤上表达。PD-L1在鼠和人肿瘤上的高表达与多种癌症中的不良临床结果相关(Keir等人(2008)Annu.Rev.Immunol.[免疫学年评]26:677-704; Pardoll等人(2012)Nat Rev Cancer[癌症自然评论]12(4):252-64)。PD-L2在树突细胞、巨噬细胞和一些肿瘤上表达。已经针对癌症免疫疗法在临床前和临床上验证了阻断PD-1途径。临床前和临床研究都证明,抗PD-1阻断可以恢复效应T细胞的活性,并产生强大的抗肿瘤响应。例如,阻断PD-1途径可以恢复衰竭/功能失调的效应T细胞功能(例如,增殖、IFN- γ 分泌或细胞溶解功能)和/或抑制T_{reg}细胞功能(Keir等人(2008)Annu.Rev.Immunol.[免疫学年评]26:677-704; Pardoll等人(2012)Nat Rev Cancer[癌症自然评论]12(4):252-64)。PD-1途径的阻断可以用抗体,其抗原结合片段,免疫粘附素,融合蛋白,或PD-1、PD-L1和/或PD-L2的寡肽实现。

[0191] 在一个实施例中,所述PD-1抑制剂是抗PD-1抗体分子。在一个实施例中,所述PD-1抑制剂是抗PD-1抗体分子,如题为“PD-1的抗体分子及其用途”的2015年7月30日公布的US 2015/0210769(将其通过引用以其全文并入)中所述的。

[0192] 在一个实施例中,抗PD-1抗体分子包含来自重链和轻链可变区的至少一个、两个、三个、四个、五个或六个互补决定区(CDR)(或总体上全部CDR),所述重链和轻链可变区包含表A(例如,来自表A中披露的BAP049-克隆-E或BAP049-克隆-B的重链和轻链可变区序列)中所示的氨基酸序列,或由表A中所示的核苷酸序列编码的氨基酸序列。在一些实施例中,CDR根据卡巴特(Kabat)定义(例如,如表A中所列出的)。在一些实施例中,CDR根据乔西亚(Chothia)定义(例如,如表A中所列出的)。在一些实施例中,这些CDR根据卡巴特和乔西亚二者的组合CDR定义(例如,如表A中所列出的)。在一个实施例中,VH CDR1的卡巴特和乔西亚CDR的组合包含氨基酸序列GYTFTTYWMH(SEQ ID NO:41)。在一个实施例中,相对于表A中所示的氨基酸序列,或由表A中所示的核苷酸序列编码的氨基酸序列,CDR中的一个或多个(或总体上全部CDR)具有一个、两个、三个、四个、五个、六个或更多个变化,例如氨基酸取代(例如,保守氨基酸取代)或缺失。

[0193] 在一个实施例中,所述抗PD-1抗体分子包含:含有SEQ ID NO:1的VHCDR1氨基酸序

列、SEQ ID NO:2的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:3的VHCDR3氨基酸序列的重链可变区(VH);以及含有SEQ ID NO:10的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:11的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:12的VLCDR3氨基酸序列的轻链可变区(VL),各自披露于表A中。

[0194] 在一个实施例中,所述抗体分子包含:含有由SEQ ID NO:24的核苷酸序列编码的VHCDR1、由SEQ ID NO:25的核苷酸序列编码的VHCDR2、和由SEQ ID NO:26的核苷酸序列编码的VHCDR3的VH;以及含有由SEQ ID NO:29的核苷酸序列编码的VLCDR1、由SEQ ID NO:30的核苷酸序列编码的VLCDR2、和由SEQ ID NO:31的核苷酸序列编码的VLCDR3的VL,各自披露于表A中。

[0195] 在一个实施例中,所述抗PD-1抗体分子包含:含有SEQ ID NO:6的氨基酸序列、或与SEQ ID NO:6具有至少85%、90%、95%、或99%、或更高同一性的氨基酸序列的VH。在一个实施例中,所述抗PD-1抗体分子包含:含有SEQ ID NO:20的氨基酸序列、或与SEQ ID NO:20具有至少85%、90%、95%、或99%、或更高同一性的氨基酸序列的VL。在一个实施例中,所述抗PD-1抗体分子包含:含有SEQ ID NO:16的氨基酸序列、或与SEQ ID NO:16具有至少85%、90%、95%、或99%、或更高同一性的氨基酸序列的VL。在一个实施例中,所述抗PD-1抗体分子包含:含有SEQ ID NO:6的氨基酸序列的VH和含有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL。在一个实施例中,所述抗PD-1抗体分子包含:含有SEQ ID NO:6的氨基酸序列的VH和含有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的VL。

[0196] 在一个实施例中,所述抗体分子包含:由SEQ ID NO:7的核苷酸序列、或与SEQ ID NO:7具有至少85%、90%、95%、或99%、或更高同一性的核苷酸序列编码的VH。在一个实施例中,所述抗体分子包含:由SEQ ID NO:21或17的核苷酸序列、或与SEQ ID NO:21或17具有至少85%、90%、95%、或99%或更高同一性的核苷酸序列编码的VL。在一个实施例中,所述抗体分子包含:由SEQ ID NO:7的核苷酸序列编码的VH和由SEQ ID NO:21或17的核苷酸序列编码的VL。

[0197] 在一个实施例中,所述抗PD-1抗体分子包含:含有SEQ ID NO:8的氨基酸序列、或与SEQ ID NO:8具有至少85%、90%、95%、或99%、或更高同一性的氨基酸序列的重链。在一个实施例中,所述抗PD-1抗体分子包含:含有SEQ ID NO:22的氨基酸序列、或与SEQ ID NO:22具有至少85%、90%、95%、或99%、或更高同一性的氨基酸序列的轻链。在一个实施例中,所述抗PD-1抗体分子包含:含有SEQ ID NO:18的氨基酸序列、或与SEQ ID NO:18具有至少85%、90%、95%、或99%或更高同一性的氨基酸序列的轻链。在一个实施例中,所述抗PD-1抗体分子包含:含有SEQ ID NO:8的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:22的氨基酸序列的轻链。在一个实施例中,所述抗PD-1抗体分子包含:含有SEQ ID NO:8的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:18的氨基酸序列的轻链。

[0198] 在一个实施例中,所述抗体分子包含:由SEQ ID NO:9的核苷酸序列、或与SEQ ID NO:9具有至少85%、90%、95%、或99%、或更高同一性的核苷酸序列编码的重链。在一个实施例中,所述抗体分子包含:由SEQ ID NO:23或19的核苷酸序列、或与SEQ ID NO:23或19具有至少85%、90%、95%、或99%或更高同一性的核苷酸序列编码的轻链。在一个实施例中,所述抗体分子包含:由SEQ ID NO:9的核苷酸序列编码的重链和由SEQ ID NO:23或19的核苷酸序列编码的轻链。

[0199] 本文所述的抗体分子可以通过运载体、宿主细胞、和在US2015/0210769(将其通过

引用以其全文并入)中描述的方法制得。

[0200] 定义

[0201] VH和VL区可以细分为被称为“互补决定区”(CDR)的高变区,其间插入被称为“框架区”(FR或FW)的更保守的区域。

[0202] 框架区和CDR的范围已经通过许多方法精确定义(参见,Kabat,E.A.等人(1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest[免疫学上感兴趣的蛋白序列],第五版,U.S.Department of Health and Human Services[美国健康与人类服务部],NIH公开号91-3242;Chothia,C.等人(1987)J.Mol.Biol.[分子生物学杂志]196:901-917;以及由牛津分子AbM抗体建模软件(Oxford Molecular's AbM antibody modelling software)使用的AbM定义)。通常参见例如,Protein Sequence and Structure Analysis of Antibody Variable Domains[抗体可变结构域的蛋白质序列和结构分析]在:Antibody Engineering Lab Manual[抗体工程实验室手册](编辑:Duebel,S.和Kontermann,R.,施普林格出版社(Springer-Verlag),海德堡)中。

[0203] 如本文所用,术语“互补决定区”和“CDR”是指抗体可变区内的赋予抗原特异性和结合亲和力的氨基酸序列。通常,每个重链可变区中存在三个CDR(HCDR1、HCDR2、HCDR3),并且每个轻链可变区中存在三个CDR(LCDR1、LCDR2、LCDR3)。

[0204] 给定CDR的精确氨基酸序列边界可以使用许多熟知的方案中的任何一种来确定,这些方案包括描述于以下的那些:Kabat等人(1991)，“Sequences of Proteins of Immunological Interest[具有免疫学重要性的蛋白序列]”，第5版,Public Health Service[美国国立卫生研究院],National Institutes of Health[公共卫生事业部],Bethesda,MD[马里兰州贝塞斯达市] (“卡巴特”编号方案);Al-Lazikani等人,(1997)JMB 273,927-948 (“乔西亚”编号方案)。如本文所用,根据“乔西亚”编号方案定义的CDR有时也称为“高变环”。

[0205] 例如,根据卡巴特,将重链可变结构域(VH)中的CDR氨基酸残基编号为31-35(HCDR1)、50-65(HCDR2)和95-102(HCDR3);并将轻链可变结构域(VL)中的CDR氨基酸残基编号为24-34(LCDR1)、50-56(LCDR2)和89-97(LCDR3)。根据乔西亚,将VH中的CDR氨基酸编号为26-32(HCDR1)、52-56(HCDR2)和95-102(HCDR3);并将VL中的氨基酸残基编号为26-32(LCDR1)、50-52(LCDR2)和91-96(LCDR3)。通过结合卡巴特和乔西亚二者的CDR定义,CDR由人VH中的氨基酸残基26-35(HCDR1)、50-65(HCDR2)和95-102(HCDR3)和人VL中的氨基酸残基24-34(LCDR1)、50-56(LCDR2)和89-97(LCDR3)组成。

[0206] 通常,除非特别指示,否则抗PD-1抗体分子可包括例如如表A中所述的一种或多种卡巴特CDR和/或乔西亚CDR的任何组合。在一个实施例中,以下定义用于表A中所述的抗PD-1抗体分子:HCDR1,根据卡巴特和乔西亚二者的组合CDR定义以及HCCDR 2-3和LCCDR 1-3,根据卡巴特的CDR定义。根据所有定义,每个VH和VL典型地包括三个CDR和四个FR,从氨基末端到羧基末端按照以下顺序排列:FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。

[0207] 如下所述进行序列之间的同源性或序列同一性(这些术语在本文中可互换地使用)的计算。

[0208] 为了确定两个氨基酸序列或两个核酸序列的百分比同一性,出于最佳比较目的对序列进行比对(例如,在第一氨基酸和第二氨基酸或第一核酸序列和第二核酸序列的一者

或二者中引入空位以用于最佳比对,并且出于比较目的,非同源序列可以忽略)。在优选的实施例中,出于比较目的而比对的参考序列的长度为参考序列的长度的至少30%、优选地至少40%、更优选地至少50%、60%、并且甚至更优选地至少70%、80%、90%、100%。然后比较对应的氨基酸位置或核苷酸位置处的氨基酸残基或核苷酸。当第一序列中的位置被与第二序列中的对应位置相同的氨基酸残基或核苷酸占据时,则这些分子在所述位置是相同的(如本文所用,氨基酸或核酸“同一性”等同于氨基酸或核酸“同源性”)。

[0209] 将空位的数量和每个空位的长度考虑在内,两个序列之间的百分比同一性是这些序列共有的相同位置的数量的函数,需要引入这些空位以进行两个序列的最佳比对。

[0210] 两个序列之间的序列比较和百分比同一性确定可以使用数学算法来完成。在一个优选的实施例中,使用Needleman和Wunsch((1970) J. Mol. Biol. [分子生物学杂志] 48:444-453) 算法(所述算法已并入GCG软件包中的GAP程序中(可从www.gcg.com获取)),使用Blossum 62矩阵或PAM250矩阵以及16、14、12、10、8、6或4的空位权重和1、2、3、4、5或6的长度权重来确定两个氨基酸序列之间的百分比同一性。在又一个优选的实施例中,使用GCG软件包中的GAP程序(可从www.gcg.com获取),使用NWSgapdna.CMP矩阵以及40、50、60、70或80的空位权重和1、2、3、4、5或6的长度权重来确定两个核苷酸序列之间的百分比同一性。一组特别优选的参数(以及除非另外指定否则应该使用的参数)是Blossum 62评分矩阵,其中空位罚分为12,空位延伸罚分为4,移码空位罚分为5。

[0211] 可以使用E. Meyers和W. Miller((1989) CABIOS [生物科学中的计算机应用] 4:11-17) 的算法(所述算法已并入ALIGN程序(版本2.0)中),使用PAM120权重残基表、12的空位长度罚分和4的空位罚分来确定两个氨基酸序列或核苷酸序列之间的百分比同一性。

[0212] 本文所述的核酸序列和蛋白序列可以用作“查询序列”来对公共数据库进行搜索,从而例如鉴定其他家族成员或相关序列。可以使用Altschul等人(1990) J. Mol. Biol. [分子生物学杂志] 215:403-10的NBLAST和XBLAST程序(版本2.0)来进行这些搜索。可以用NBLAST程序(得分=100,字长=12)来进行BLAST核苷酸搜索,以获得与本发明的核酸分子同源的核苷酸序列。可以用XBLAST程序(得分=50,字长=3)来进行BLAST蛋白搜索,以获得与本发明的蛋白分子同源的氨基酸序列。为了获得用于比较目的的空位比对,可以如Altschul等人,(1997) Nucleic Acids Res. [核酸研究] 25:3389-3402中所述使用空位BLAST (Gapped BLAST)。当使用BLAST和空位BLAST程序时,可以使用相应程序(例如,XBLAST和NBLAST)的默认参数。参见www.ncbi.nlm.nih.gov。

[0213] “保守氨基酸取代”是其中氨基酸残基被具有类似侧链的氨基酸残基替换的取代。具有类似侧链的氨基酸残基的家族已在本领域中进行了定义。这些家族包括具有碱性侧链的氨基酸(例如,赖氨酸、精氨酸、组氨酸)、具有酸性侧链的氨基酸(例如,天冬氨酸、谷氨酸)、具有不带电荷的极性侧链的氨基酸(例如,甘氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、丝氨酸、苏氨酸、酪氨酸、半胱氨酸)、具有非极性侧链的氨基酸(例如,丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、脯氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸、色氨酸)、具有 β -分支侧链的氨基酸(例如,苏氨酸、缬氨酸、异亮氨酸)、以及具有芳香族侧链的氨基酸(例如,酪氨酸、苯丙氨酸、色氨酸、组氨酸)。

[0214] 表A. 示例性抗PD-1抗体分子的氨基酸和核苷酸序列

[0215]

BAP049-克隆-B HC		
SEQ ID NO: 1 (卡巴特)	HCDR1	TYWMH
SEQ ID NO: 2 (卡巴特)	HCDR2	NIYPGTGGSNFDEKFKN

SEQ ID NO: 3 (卡巴特)	HCDR3	WTTGTGAY
SEQ ID NO: 4 (乔西亚)	HCDR1	GYTFTTY
SEQ ID NO: 5 (乔西亚)	HCDR2	YPGTGG
SEQ ID NO: 3 (乔西亚)	HCDR3	WTTGTGAY

SEQ ID NO: 6	VH	EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSG YTFTTYWMHWVRQATGQGLEWMG NIYPGTGGSNFDEKFKNRVTITADKS TSTAYMELSSLRSEDVAVYYCTRWT TGTGAYWGQGTITVTVSS
--------------	----	--

SEQ ID NO: 7	DNA VH	GAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGC GCCGAAGTGAAGAAGCCCGGCGAG TCACTGAGAATTAGCTGTAAAGGT TCAGGCTACACCTTCACTACCTACT GGATGCACTGGGTCCGCCAGGCTA CCGGTCAAGGCCTCGAGTGGATGG GTAATATCTACCCCGGCACCGGCG GCTCTAACTTCGACGAGAAGTTTA AGAATAGAGTGACTATCACCGCCG ATAAGTCTACTAGCACCGCCTATAT GGAAGTGTCTAGCCTGAGATCAGA GGACACCGCCGTCTACTACTGCACT AGGTGGACTACCGGCACAGGCGCC TACTGGGGTCAAGGCACTACCGTG ACCGTGTCTAGC
--------------	--------	---

[0216]

SEQ ID NO: 8	HC	EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSG YTFTTYWMHWVRQATGQGLEWMG NIYPGTGGSNFDEKFKNRVTITADKS TSTAYMELSSLRSEDVAVYYCTRWT TGTGAYWGQGTITVTVSSASTKGPSV FPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNV DHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCP APEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT EVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPS SIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS RLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSLG
--------------	----	--

SEQ ID NO: 9	DNA HC	GAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGC GCCGAAGTGAAGAAGCCCGGCGAG TCACTGAGAATTAGCTGTAAAGGT TCAGGCTACACCTTCACTACCTACT GGATGCACTGGGTCCGCCAGGCTA CCGGTCAAGGCCTCGAGTGGATGG GTAATATCTACCCCGGCACCGGCG GCTCTAACTTCGACGAGAAGTTTA
--------------	--------	---

[0217]

		AGAATAGAGTGACTATCACCGCCG ATAAGTCTACTAGCACCGCCTATAT GGAAGTGTCTAGCCTGAGATCAGA GGACACCGCCGTCTACTACTGCACT AGGTGGACTACCGGCACAGGCGCC TACTGGGGTCAAGGCACTACCGTG ACCGTGTCTAGCGCTAGCACTAAG GGCCCGTCCGTGTTCCCCCTGGCAC CTTGTAGCCGGAGCACTAGCGAAT CCACCGCTGCCCTCGGCTGCCTGGT CAAGGATTACTTCCCGGAGCCCGT GACCGTGTCTGGAACAGCGGAGC CCTGACCTCCGGAGTGCACACCTTC CCCGCTGTGCTGCAGAGCTCCGGG CTGTACTCGCTGTCGTCGGTGGTCA CGGTGCCTTCATCTAGCCTGGGTAC CAAGACCTACACTTGCAACGTGGA CCACAAGCCTTCCAACACTAAGGT GGACAAGCGCGTCGAATCGAAGTA CGGCCACCGTGCCCGCCTTGTCCC GCGCCGGAGTTCCTCGGCGGTCCCT CGGTCTTTCTGTTCCCACCGAAGCC CAAGGACACTTTGATGATTTCCCGC ACCCCTGAAGTGACATGCGTGGTC GTGGACGTGTACAGGAAGATCCG GAGGTGCAGTTCAATTGGTACGTG GATGGCGTCGAGGTGCACAACGCC AAAACCAAGCCGAGGGAGGAGCA GTTCAACTCCACTTACCGCGTCGTG TCCGTGCTGACGGTGCTGCATCAG GACTGGCTGAACGGGAAGGAGTAC AAGTGCAAAGTGTCCAACAAGGGA CTTCTAGCTCAATCGAAAAGACC ATCTCGAAAGCCAAGGGACAGCCC CGGGAACCCCAAGTGTATACCCTG CCACCGAGCCAGGAAGAAATGACT AAGAACCAAGTCTCATTGACTTGC CTTGTGAAGGGCTTCTACCCATCGG ATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCA ACGGCCAGCCGGAACAACAATACTA AGACCACCCCTCCGGTGCTGGACT CAGACGGATCCTTCTTCTCTACTC GCGGCTGACCGTGGATAAGAGCAG ATGGCAGGAGGGAATGTGTTTCAG CTGTTCTGTGATGCATGAAGCCCTG CACAACCACTACACTCAGAAGTCC CTGTCCCTCTCCCTGGGA
BAP049-克隆-B LC		
SEQ ID NO: 10 (卡巴特)	LCDR1	KSSQSLLDSGNQKNFLT
SEQ ID NO: 11 (卡巴特)	LCDR2	WASTRES

[0218]

SEQ ID NO: 12 (卡巴特)	LCDR3	QNDYSYPYT
SEQ ID NO: 13 (乔西亚)	LCDR1	SQSLDSGNQKNF
SEQ ID NO: 14 (乔西亚)	LCDR2	WAS
SEQ ID NO: 15 (乔西亚)	LCDR3	DYSYPY
SEQ ID NO: 16	VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCKSSQ SLLDSGNQKNFLTWYQQKPGKAPKL LIYWASTRESGVPSRFSGSGSGTDFT FTISLQPEDATYYCQNDYSYPYTFG QGTVKVEIK
SEQ ID NO: 17	DNA VL	GAGATCGTCCTGACTCAGTCACCC GCTACCCTGAGCCTGAGCCCTGGC GAGCGGGCTACACTGAGCTGTAAA TCTAGTCAGTCACTGCTGGATAGCG GTAATCAGAAGAACTTCCTGACCT GGTATCAGCAGAAGCCCGGTAAAG CCCCTAAGCTGCTGATCTACTGGGC CTCTACTAGAGAATCAGGCGTGCC CTCTAGGTTTAGCGGTAGCGGTAGT GGCACCGACTTCACCTTCACTATCT CTAGCCTGCAGCCCGAGGATATCG CTACCTACTACTGTCAGAACGACTA TAGCTACCCCTACACCTTCGGTCAA GGCACTAAGGTCGAGATTAAG
SEQ ID NO: 18	LC	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCKSSQ SLLDSGNQKNFLTWYQQKPGKAPKL LIYWASTRESGVPSRFSGSGSGTDFT FTISLQPEDATYYCQNDYSYPYTFG QGTVKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLK SGTASVVCVLLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTYLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGL SSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 19	DNA LC	GAGATCGTCCTGACTCAGTCACCC GCTACCCTGAGCCTGAGCCCTGGC GAGCGGGCTACACTGAGCTGTAAA TCTAGTCAGTCACTGCTGGATAGCG GTAATCAGAAGAACTTCCTGACCT GGTATCAGCAGAAGCCCGGTAAAG CCCCTAAGCTGCTGATCTACTGGGC CTCTACTAGAGAATCAGGCGTGCC CTCTAGGTTTAGCGGTAGCGGTAGT GGCACCGACTTCACCTTCACTATCT CTAGCCTGCAGCCCGAGGATATCG CTACCTACTACTGTCAGAACGACTA TAGCTACCCCTACACCTTCGGTCAA GGCACTAAGGTCGAGATTAAGCGT ACGGTGGCCGCTCCAGCGTGTTC ATCTTCCCCCCCAGCGACGAGCAG CTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTG GTGTGCCTGCTGAACAACCTCTACC

[0219]

		CCCGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGA AGGTGGACAACGCCCTGCAGAGCG GCAACAGCCAGGAGAGCGTCACCG AGCAGGACAGCAAGGACTCCACCT ACAGCCTGAGCAGCACCTTGACCC TGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGC ATAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGA CCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCCG TGACCAAGAGCTTCAACAGGGGCG AGTGC
BAP049-克隆-E HC		
SEQ ID NO: 1 (卡巴特)	HCDR1	TYWMH
SEQ ID NO: 2 (卡巴特)	HCDR2	NIYPGTGGSNFDEKFKN
SEQ ID NO: 3 (卡巴特)	HCDR3	WTTGTGAY
SEQ ID NO: 4 (乔西亚)	HCDR1	GYTFTTY
SEQ ID NO: 5 (乔西亚)	HCDR2	YPGTGG
SEQ ID NO: 3 (乔西亚)	HCDR3	WTTGTGAY
SEQ ID NO: 6	VH	EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSG YTFTTYWMHWVRQATGQGLEWMG NIYPGTGGSNFDEKFKNRVTITADKS TSTAYMELSSLRSEDVAVYYCTRWT TGTGAYWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO: 7	DNA VH	GAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGC GCCGAAGTGAAGAAGCCCCGGCGAG TCACTGAGAATTAGCTGTAAAGGT TCAGGCTACACCTTCACTACCTACT GGATGCACTGGGTCCGCCAGGCTA CCGGTCAAGGCCTCGAGTGGATGG GTAATATCTACCCCGGCACCGGCG GCTCTAACTTCGACGAGAAGTTTA AGAATAGAGTGACTATCACCGCCG ATAAGTCTACTAGCACCGCCTATAT GGAAGTGTCTAGCCTGAGATCAGA GGACACCGCCGTCTACTACTGCACT AGGTGGACTACCGGCACAGGCGCC TACTGGGGTCAAGGCACTACCGTG ACCGTGTCTAGC
SEQ ID NO: 8	HC	EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSG YTFTTYWMHWVRQATGQGLEWMG NIYPGTGGSNFDEKFKNRVTITADKS TSTAYMELSSLRSEDVAVYYCTRWT TGTGAYWGQGTTVTVSSASTKGPSV FPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNV DHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCP APEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTP EVTCTVVDVVSQEDPEVQFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVL

[0220]

		TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPS SIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYS RLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLGLG
SEQ ID NO: 9	DNA HC	GAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGC GCCGAAGTGAAGAAGCCCGGCGAG TCACTGAGAATTAGCTGTAAAGGT TCAGGCTACACCTTCACTACCTACT GGATGCACTGGGTCCGCCAGGCTA CCGGTCAAGGCCTCGAGTGGATGG GTAATATCTACCCCGGCACCGGCG GCTCTAACTTCGACGAGAAGTTTA AGAATAGAGTGACTATCACCGCCG ATAAGTCTACTAGCACCGCCTATAT GGAAGTGTCTAGCCTGAGATCAGA GGACACCGCCGTCTACTACTGCACT AGGTGGACTACCGGCACAGGCGCC TACTGGGGTCAAGGCACTACCGTG ACCGTGTCTAGCGCTAGCACTAAG GGCCCGTCCGTGTTCCCCCTGGCAC CTTGTAGCCGGAGCACTAGCGAAT CCACCGCTGCCCTCGGCTGCCTGGT CAAGGATTACTTCCCGGAGCCCGT GACCGTGTCTGGAACAGCGGAGC CCTGACCTCCGGAGTGCACACCTTC CCCGCTGTGCTGCAGAGCTCCGGG CTGTACTCGCTGTCGTCGGTGGTCA CGGTGCCTTCATCTAGCCTGGGTAC CAAGACCTACACTTGCAACGTGGA CCACAAGCCTTCCAACACTAAGGT GGACAAGCGCGTCGAATCGAAGTA CGGCCACCGTGCCCGCCTTGTCCC GCGCCGGAGTTCCTCGGCGGTCCCT CGGTCTTTCTGTTCCCACCGAAGCC CAAGGACACTTTGATGATTTCCTGC ACCCCTGAAGTGACATGCGTGGTC GTGGACGTGTCACAGGAAGATCCG GAGGTGCAGTTCAATTGGTACGTG GATGGCGTCGAGGTGCACAACGCC AAAACCAAGCCGAGGGAGGAGCA GTTCAACTCCACTTACCGCGTCGTG TCCGTGCTGACGGTGTGTCATCAG GACTGGCTGAACGGGAAGGAGTAC AAGTGCAAAGTGTCCAACAAGGGA CTTCCTAGCTCAATCGAAAAGACC ATCTCGAAAGCCAAGGGACAGCCC CGGGAACCCCAAGTGTATACCCTG CCACCGAGCCAGGAAGAAATGACT AAGAACCAAGTCTCATTGACTTGC

[0221]

		CTTGTGAAGGGCTTCTACCCATCGG ATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCA ACGGCCAGCCGGAACAACTACA AGACCACCCCTCCGGTGCTGGACT CAGACGGATCCTTCTTCTCTACTC GCGGCTGACCGTGGATAAGAGCAG ATGGCAGGAGGGAAATGTGTTTCAG CTGTTCTGTGATGCATGAAGCCCTG CACAACCACTACACTCAGAAGTCC CTGTCCCTCTCCCTGGA
BAP049-克隆-E LC		
SEQ ID NO: 10 (卡巴特)	LCDR1	KSSQSLLDSGNQKNFLT
SEQ ID NO: 11 (卡巴特)	LCDR2	WASTRES
SEQ ID NO: 12 (卡巴特)	LCDR3	QNDYSYPYT
SEQ ID NO: 13 (乔西亚)	LCDR1	SQSLLDSGNQKNF
SEQ ID NO: 14 (乔西亚)	LCDR2	WAS
SEQ ID NO: 15 (乔西亚)	LCDR3	DYSYPY
SEQ ID NO: 20	VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCKSSQ SLLDSGNQKNFLTWYQQKPGQAPRL LIYWASTRESGVPSRFSGSGSGTDFT FTISSLEAEDAATYYCQNDYSYPYTF GQGTKVEIK
SEQ ID NO: 21	DNA VL	GAGATCGTCCTGACTCAGTCACCC GCTACCCTGAGCCTGAGCCCTGGC GAGCGGGCTACACTGAGCTGTAAA TCTAGTCAGTCACTGCTGGATAGCG GTAATCAGAAGAACTTCTGACCT GGTATCAGCAGAAGCCCGGTCAAG CCCCTAGACTGCTGATCTACTGGGC CTCTACTAGAGAATCAGGCGTGCC CTCTAGGTTTAGCGGTAGCGGTAGT GGCACCGACTTCACCTTCACTATCT CTAGCCTGGAAGCCGAGGACGCCG CTACCTACTACTGTCAGAACGACTA TAGCTACCCCTACACCTTCGGTCAA GGCACTAAGGTCGAGATTAAG
SEQ ID NO: 22	LC	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCKSSQ SLLDSGNQKNFLTWYQQKPGQAPRL LIYWASTRESGVPSRFSGSGSGTDFT FTISSLEAEDAATYYCQNDYSYPYTF GQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWK VDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYS LSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQ GLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 23	DNA LC	GAGATCGTCCTGACTCAGTCACCC GCTACCCTGAGCCTGAGCCCTGGC GAGCGGGCTACACTGAGCTGTAAA TCTAGTCAGTCACTGCTGGATAGCG

[0222]

		GTAATCAGAAGAACTTCCTGACCT GGTATCAGCAGAAGCCCGGTCAAG CCCCTAGACTGCTGATCTACTGGGC CTCTACTAGAGAATCAGGCGTGCC CTCTAGGTTTAGCGGTAGCGGTAGT GGCACCGACTTCACCTTCACTATCT CTAGCCTGGAAGCCGAGGACGCCG CTACCTACTACTGTGAGAACGACTA TAGCTACCCCTACACCTTCGGTCAA GGCACTAAGGTGCGAGATTAAGCGT ACGGTGGCCGCTCCAGCGTGTTC ATCTTCCCCCCCAGCGACGAGCAG CTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTG GTGTGCCTGCTGAACAACCTTCTACC CCCGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGA AGGTGGACAACGCCCTGCAGAGCG GCAACAGCCAGGAGAGCGTCACCG AGCAGGACAGCAAGGACTCCACCT ACAGCCTGAGCAGCACCCCTGACCC TGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGC ATAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGA CCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCCG TGACCAAGAGCTTCAACAGGGGCG AGTGC
BAP049-克隆-B HC		
SEQ ID NO: 24 (卡巴特)	HCDR1	ACCTACTGGATGCAC
		AATATCTACCCCGGCACCGGCGGC TCTAACTTCGACGAGAAGTTTAAG AAT
SEQ ID NO: 25 (卡巴特)	HCDR2	
SEQ ID NO: 26 (卡巴特)	HCDR3	TGGACTACCGGCACAGGCGCCTAC
SEQ ID NO: 27 (乔西亚)	HCDR1	GGCTACACCTTCACTACCTAC
SEQ ID NO: 28 (乔西亚)	HCDR2	TACCCCGGCACCGGCGGC
SEQ ID NO: 26 (乔西亚)	HCDR3	TGGACTACCGGCACAGGCGCCTAC
BAP049-克隆-B LC		
		AAATCTAGTCAGTCACTGCTGGAT AGCGGTAATCAGAAGAACTTCCTG ACC
SEQ ID NO: 29 (卡巴特)	LCDR1	
SEQ ID NO: 30 (卡巴特)	LCDR2	TGGGCCTCTACTAGAGAATCA
		CAGAACGACTATAGCTACCCCTAC ACC
SEQ ID NO: 31 (卡巴特)	LCDR3	
SEQ ID NO: 32 (乔西亚)	LCDR1	AGTCAGTCACTGCTGGATAGCGGT AATCAGAAGAACTTC
SEQ ID NO: 33 (乔西亚)	LCDR2	TGGGCCTCT
SEQ ID NO: 34 (乔西亚)	LCDR3	GACTATAGCTACCCCTAC
BAP049-克隆-E HC		
SEQ ID NO: 24 (卡巴特)	HCDR1	ACCTACTGGATGCAC
		AATATCTACCCCGGCACCGGCGGC TCTAACTTCGACGAGAAGTTTAAG
SEQ ID NO: 25 (卡巴特)	HCDR2	

[0223]			AAT
	SEQ ID NO: 26 (卡巴特)	HCDR3	TGGACTACCGGCACAGGCGCCTAC
	SEQ ID NO: 27 (乔西亚)	HCDR1	GGCTACACCTTCACTACCTAC
	SEQ ID NO: 28 (乔西亚)	HCDR2	TACCCCGGCACCGGCGGC
	SEQ ID NO: 26 (乔西亚)	HCDR3	TGGACTACCGGCACAGGCGCCTAC
	BAP049-克隆-E LC		
			AAATCTAGTCAGTCACTGCTGGAT
	SEQ ID NO: 29 (卡巴特)	LCDR1	AGCGGTAATCAGAAGAACTTCCTG
	SEQ ID NO: 30 (卡巴特)	LCDR2	ACC
			TGGGCCTCTACTAGAGAATCA
	SEQ ID NO: 31 (卡巴特)	LCDR3	CAGAACGACTATAGCTACCCCTAC
			ACC
	SEQ ID NO: 32 (乔西亚)	LCDR1	AGTCAGTCACTGCTGGATAGCGGT
	SEQ ID NO: 33 (乔西亚)	LCDR2	AATCAGAAGAACTTC
	SEQ ID NO: 34 (乔西亚)	LCDR3	TGGGCCTCT
			GACTATAGCTACCCCTAC

[0224] 其他示例性PD-1抑制剂

[0225] 在一个实施例中,抗PD-1抗体分子是纳武单抗(百时美施贵宝公司(Bristol-Myers Squibb)),也称为MDX-1106、MDX-1106-04、ONO-4538、BMS-936558、或**OPDIVO®**。纳武单抗(克隆5C4)和其他抗PD-1抗体披露于US 8,008,449和WO 2006/121168(将其通过引用以其全文并入)中。在一个实施例中,抗PD-1抗体分子包含以下中的一个或多个:纳武单抗的CDR序列(或总体上全部CDR序列)、重链或轻链可变区序列、或重链或轻链序列,例如,如表B中所披露的。

[0226] 在一个实施例中,抗PD-1抗体分子是帕姆单抗(默克公司(Merck&Co)),也称为兰罗利珠单抗(Lambrolizumab)、MK-3475、MK03475、SCH-900475、或**KEYTRUDA®**。帕姆单抗和其他抗PD-1抗体披露于Hamid, O.等人,(2013)New England Journal of Medicine [新英格兰医学期刊]369(2):134-44;US 8,354,509;和WO 2009/114335(将其通过引用以其全文并入)中。在一个实施例中,抗PD-1抗体分子包含以下中的一个或多个:帕姆单抗的CDR序列(或总体上全部CDR序列)、重链或轻链可变区序列、或重链或轻链序列,例如,如表B中所披露的。

[0227] 在一个实施例中,抗PD-1抗体分子是匹地利珠单抗(治疗科技公司(CureTech)),也称为CT-011。匹地利珠单抗和其他抗PD-1抗体披露于Rosenblatt, J.等人,(2011)J Immunotherapy[免疫疗法杂志]34(5):409-18;US 7,695,715;US 7,332,582;和US 8,686,119(将其通过引用以其全文并入)中。在一个实施例中,抗PD-1抗体分子包含以下中的一个或多个:匹地利珠单抗的CDR序列(或总体上全部CDR序列)、重链或轻链可变区序列、或重链或轻链序列,例如,如表B中所披露的。

[0228] 在一个实施例中,所述抗PD-1抗体分子是MEDI0680(英商梅迪缪思有限公司),也称为AMP-514。MEDI0680和其他抗PD-1抗体披露于US 9,205,148和WO 2012/145493(将其通过引用以其全文并入)中。在一个实施例中,所述抗PD-1抗体分子包含以下中的一种或多种:MEDI0680的CDR序列(或总体上全部CDR序列)、重链或轻链可变区序列、或重链或轻链序列。

[0229] 其他已知的抗PD-1抗体包括描述于例如以下中的那些:WO 2015/112800、WO

2016/092419、WO 2015/085847、WO 2014/179664、WO 2014/194302、WO 2014/209804、WO 2015/200119、US 8,735,553、US 7,488,802、US 8,927,697、US 8,993,731、和US 9,102,727 (将其通过引用以其全文并入)。

[0230] 在一个实施例中,抗PD-1抗体是与本文所述的抗PD-1抗体之一竞争与PD-1上的相同表位结合和/或结合PD-1上的相同表位的抗体。

[0231] 在一个实施例中,PD-1抑制剂是例如如US 8,907,053 (将其通过引用以其全文并入)中所述的抑制PD-1信号传导途径的肽。在一个实施例中,PD-1抑制剂是免疫粘附素(例如包含融合到恒定区(例如免疫球蛋白序列的Fc区)的PD-L1或PD-L2的细胞外或PD-1结合部分的免疫粘附素)。在一个实施例中,PD-1抑制剂是AMP-224 (B7-DCIg (安普利公司(Amplimmun))),例如,披露于WO 2010/027827和WO 2011/066342 (将其通过引用以其全文并入)中。表B.其他示例性抗PD-1抗体分子的氨基酸序列

[0232]

纳武单抗		
SEQ ID NO: 35	HC	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKAS GITFSNSGMHWVRQAPGKGLEWVA VIWYDGSKRYYADSVKGRFTISRDN SKNTLFLQMNSLRAEDTAVYYCATN DDYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPL APCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSSLGKTYTCNVDPK PSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEF LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTV DKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHY TQKSLSLSLGK
SEQ ID NO: 36	LC	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQ SVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDAS NRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSE PEDFAVYYCQSSNWPRTFGQGTKV EIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTAS VVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQ SGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLT SKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVT KSFNRGEC
派姆单抗		
SEQ ID NO: 37	HC	QVQLVQSGVEVKKPGASVKVSCKAS GTFTNYYMYWVRQAPGQGLEWM GGINPSNGGTNFNEKFKNRVTLTDS STTTAYMELKSLQFDDTAVYYCARR DYRFDMGFDYWGQGTITVTVSSAST KGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTK YTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPP CPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTL LPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSD GSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSLGK
SEQ ID NO: 38	LC	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASK GVSTSGYSYLHWYQQKPGQAPRLLI

[0233]

		YLASYLESVGPARGSGSGTDFTLTI SSLEPEDFAVYYCQHSRDLPLTFGGG TKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSG TASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN ALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLST LTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSS PVTKSFNREGC
匹地利珠单抗		
		QVQLVQSGSELKKPGASVKISCKAS GYTFTNYGMNWVRQAPGQGLQWM GWINTDSGESTYAEEFKGRFVFLDT SVNTAYLQITSLTAEDTGMVFCVRV GYDALDYWGQGLTVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCP PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 39	HC	
		EIVLTQSPSSLSASVGDRVITCSARS SVSYMHWFQQKPGKAPKLWIYRTS NLASGVPSRFSGSGSGTSYCLTINSIQ PEDFATYYCQQRSSFLTFGGGTCKLE IKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKSTYSLSTLTLS KADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTK SFNRGEC
SEQ ID NO: 40	LC	

[0234] 抗PD-L1抗体分子的实例

[0235] 在一个实施例中,组合产物包含根据实施例1至7中任一项所述的晶型和抗PD-L1抗体分子(例如本文所述的那些)。

[0236] 程序性死亡配体1 (PD-L1) 被描述为免疫抑制受体程序性死亡配体1 (PD-1) 的配体。PD-L1与PD-1的结合导致T细胞受体介导的淋巴细胞增殖和细胞因子分泌的抑制(Freeman等人, (2000) J Exp Med[实验医学杂志]192:1027-34)。因此,阻断PD-L1可以导致抗肿瘤免疫力的增强。

[0237] 若干种细胞类型表达PD-L1。例如,PD-L1在活化的T细胞、树突细胞(DC)、天然杀伤(NK)细胞、巨噬细胞、B细胞、单核细胞和血管内皮细胞上表达。PD-L1在许多癌症(包括人肺癌、卵巢癌和结肠癌以及多种骨髓瘤)中表达(Iwai等人(2002)PNAS[美国国家科学院院刊]99:12293-7;Ohigashi等人(2005)Clin Cancer Res[临床癌症研究]11:2947-53;Okazaki等人(2007)Intern.Immun.[国际免疫学]19:813-24;Thompson等人(2006)Cancer Res.[癌症研究]66:3381-5)。PD-L1表达与多种类型的癌症(包括肾脏癌、卵巢癌、膀胱癌、乳腺癌、胃癌和胰腺癌)的不利预后密切相关。

[0238] 与正常组织和外周血T淋巴细胞中的T淋巴细胞相比,许多肿瘤浸润性T淋巴细胞主要表达PD-1。这指示在肿瘤反应性T细胞上的PD-1的上调可导致抗肿瘤免疫响应受损(Ahmadzadeh等人(2009)Blood[血液]114:1537-44)。因此,由表达PD-L1的肿瘤细胞介导的PD-L1信号传导与表达PD-1的T细胞相互作用可导致T细胞活化的减弱和免疫监视的逃避(Sharpe等人(2002)Nat Rev Immunol.[自然综述免疫学]2:116-26;Keir等人(2008)Annu Rev Immunol.[免疫学年度评论]26:677-704)。PD-1阻断可通过增强效应T细胞的募集来抑制低免疫原性肿瘤细胞的血源性扩散(Iwai等人(2005)Int.Immunol.[国际免疫学]17:133-144)。

[0239] 抗PD-L1可以增强T细胞免疫,例如通过阻断其与PD-1和B7-1的抑制性相互作用。抗PD-1还可以经由PD-L2/PD-1进行免疫调节。PD-1和B7-1均在T细胞、B细胞、DC和巨噬细胞上表达,这为这些细胞类型上的B7-1和PD-L1之间的双向相互作用提供了可能性。非造血细胞上的PD-L1可以与B细胞上的B7-1以及PD-1相互作用。

[0240] 在一些实施例中,抗PD-L1抗体分子选自YW243.55.S70、MPDL3280A、MEDI-4736、MSB-0010718C、或MDX-1105。

[0241] 在一些实施例中,抗PD-L1抗体是MSB0010718C。MSB0010718C(也称为A09-246-2;默克雪兰诺公司(Merck Serono))是结合PD-L1的单克隆抗体。MSB0010718C和其他人源化抗PD-L1抗体在WO 2013/079174中披露,并且具有本文披露的序列(或与其基本上相同或相似的序列,例如与指定序列具有至少85%、90%、95%或更高同一性的序列)。MSB0010718C的重链和轻链氨基酸序列包括至少以下:

[0242] 重链(如WO 2013/079174中所披露的SEQ ID NO:24)

[0243] EVQLLESGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYIMMWVRQAPGKGLEWVSSIYPSGGITFYADKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARIKLGTVTTVDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:42)

[0244] 轻链(如WO 2013/079174中所披露的SEQ ID NO:25)

[0245] QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMYDVSNRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYTSSSTRVFGTGKVTVL(SEQ ID NO:43)

[0246] 在一个实施例中,PD-L1抑制剂是YW243.55.S70。YW243.55.S70抗体是在WO 2010/077634中描述(分别在SEQ ID NO:20和21中显示的重链和轻链可变区序列)中并且具有其中披露的序列(或与其基本上相同或相似的序列,例如与指定序列具有至少85%、90%、95%或更高同一性的序列)的抗PD-L1。

[0247] 在一个实施例中,PD-L1抑制剂是MDX-1105。MDX-1105(也称为BMS-936559)是在WO 2007/005874中描述并且具有其中披露的序列(或与其基本上相同或相似的序列,例如与指定序列具有至少85%、90%、95%或更高同一性的序列)的抗PD-L1抗体。

[0248] 在一个实施例中,PD-L1抑制剂是MDPL3280A(基因泰克公司/罗氏公司(Genentech/Roche))。MDPL3280A是与PD-L1结合的人Fc优化的IgG1单克隆抗体。MDPL3280A和针对PD-L1的其他人单克隆抗体披露于美国专利号:7,943,743和美国公开号:20120039906中。

[0249] 在另一个实施例中,PD-L1抑制剂是US 2016/0108123(提交于2015年10月13日,题为“Antibody Molecules to PD-L1 and Uses Thereof[PD-L1的抗体分子及其用途]”) (将其通过引用以其全文并入)中披露的抗PD-L1抗体分子。

[0250] 在一个实施例中,抗PD-L1抗体分子包含至少一个或两个重链可变结构域(任选地包含恒定区)、至少一个或两个轻链可变结构域(任选地包含恒定区)、或二者,其包含BAP058-hum01、BAP058-hum02、BAP058-hum03、BAP058-hum04、BAP058-hum05、BAP058-hum06、BAP058-hum07、BAP058-hum08、BAP058-hum09、BAP058-hum10、BAP058-hum11、BAP058-hum12、BAP058-hum13、BAP058-hum14、BAP058-hum15、BAP058-hum16、BAP058-hum17、BAP058-克隆-K、BAP058-克隆-L、BAP058-克隆-M、BAP058-克隆-N、或BAP058-克隆-O中任一项的氨基酸序列;或者如US 2016/0108123的表1中所述的氨基酸序列,或由表1中的核苷酸序列编码的氨基酸序列;或与前述序列中任一项基本上相同(例如具有至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更高同一性)的序列。

[0251] 在又一个实施例中,抗PD-L1抗体分子来自包含本文所述的抗体(例如,选自BAP058-hum01、BAP058-hum02、BAP058-hum03、BAP058-hum04、BAP058-hum05、BAP058-hum06、BAP058-hum07、BAP058-hum08、BAP058-hum09、BAP058-hum10、BAP058-hum11、BAP058-hum12、BAP058-hum13、BAP058-hum14、BAP058-hum15、BAP058-hum16、BAP058-hum17、BAP058-克隆-K、BAP058-克隆-L、BAP058-克隆-M、BAP058-克隆-N、或BAP058-克隆-O中任一项的抗体)的重链可变区和/或轻链可变区的至少一个、两个或三个互补决定区(CDR);或者如US 2016/0108123的表1中所述,或者由US 2016/0108123的表1中的核苷酸序列编码,或与前述序列中任一项基本上相同(例如具有至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更高同一性)的序列。

[0252] 在又一个实施例中,抗PD-L1抗体分子包含来自重链可变区的至少一个、两个或三个CDR(或总体上全部CDR),所述重链可变区包含如US 2016/0108123的表1中所示的氨基酸序列或由US 2016/0108123的表1中所示的核苷酸序列编码的氨基酸序列。在一个实施例中,相对于US 2016/0108123的表1中所示的氨基酸序列,或由US 2016/0108123的表1中所示的核苷酸序列编码的氨基酸序列,CDR中的一个或多个(或总体上全部CDR)具有一个、两个、三个、四个、五个、六个或更多个变化,例如氨基酸取代或缺失。

[0253] 在又一个实施例中,抗PD-L1抗体分子包含来自轻链可变区的至少一个、两个或三个CDR(或总体上全部CDR),所述轻链可变区包含如US 2016/0108123的表1中所示的氨基酸序列或由表1中所示的核苷酸序列编码的氨基酸序列。在一个实施例中,相对于US 2016/0108123的表1中所示的氨基酸序列,或由US 2016/0108123的表1中所示的核苷酸序列编码的氨基酸序列,CDR中的一个或多个(或总体上全部CDR)具有一个、两个、三个、四个、五个、六个或更多个变化,例如氨基酸取代或缺失。在某些实施例中,抗PD-L1抗体分子包含轻链CDR中的取代,例如轻链的CDR1、CDR2和/或CDR3中的一个或多个取代。

[0254] 在另一个实施例中,抗PD-L1抗体分子包括来自重链和轻链可变区的至少一个、两个、三个、四个、五个或六个CDR(或总体上全部CDR),所述重链和轻链可变区包含表1中所示的氨基酸序列,或由US2016/0108123的表1中所示的核苷酸序列编码的氨基酸序列。在一个实施例中,相对于US 2016/0108123的表1中所示的氨基酸序列,或由US2016/0108123的表1中所示的核苷酸序列编码的氨基酸序列,CDR中的一个或多个(或总体上全部CDR)具有一个、两个、三个、四个、五个、六个或更多个变化,例如氨基酸取代或缺失。

[0255] 在一个实施例中,抗PD-L1抗体分子包含来自本文所述的抗体(例如选自BAP058-hum01、BAP058-hum02、BAP058-hum03、BAP058-hum04、BAP058-hum05、BAP058-hum06、

BAP058-hum07、BAP058-hum08、BAP058-hum09、BAP058-hum10、BAP058-hum11、BAP058-hum12、BAP058-hum13、BAP058-hum14、BAP058-hum15、BAP058-hum16、BAP058-hum17、BAP058-克隆-K、BAP058-克隆-L、BAP058-克隆-M、BAP058-克隆-N、或BAP058-克隆-O中任一项的抗体)的重链可变区的根据卡巴特和乔西亚定义的至少一个、两个或三个CDR或高变环(例如,根据如US 2016/0108123的表1中所列出的卡巴特和乔西亚定义的至少一个、两个或三个CDR或高变环);或者由US 2016/0108123的表1中的核苷酸序列编码;或者与前述序列中任一项基本上相同(例如具有至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更高同一性)的序列;或者相对于US 2016/0108123的表1中所示的根据卡巴特和/或乔西亚的一个、两个、或三个CDR或高变环具有至少一个氨基酸改变但不多于两个、三个或四个改变(例如取代、缺失、或插入,例如保守取代)的序列。

[0256] 在一个实施例中,抗PD-L1抗体分子可以包含VH CDR1(根据Kabat等人.(1991),“Sequences of Proteins of Immunological Interest[具有免疫学重要性的蛋白序列]”第5版Public Health Service[美国国立卫生研究院],National Institutes of Health[公共卫生事业部],Bethesda,MD[马里兰州贝塞斯达市])或VH高变环1(Chothia等人(1992)J.Mol.Biol.[分子生物学杂志]227:799-817),或其组合(例如,如US 2016/0108123的表1中所示)。在一个实施例中,VH CDR1的卡巴特和乔西亚CDR的组合包含氨基酸序列GYTFTSYWY(SEQ ID NO:63),或与其基本上相同的氨基酸序列(例如,具有至少一个氨基酸改变但不超过两个、三个或四个改变(例如,取代、缺失或插入,如保守取代))。抗PD-L1抗体分子可以进一步包含例如根据Kabat等人的VH CDR 2-3和根据Kabat等人的VL CDR 1-3,例如,如US 2016/0108123的表1中所示。

[0257] 在优选的实施例中,用于在本发明中使用的抗PD-L1抗体分子包含:

[0258] (a)重链可变区(VH),所述重链可变区包含SEQ ID NO:47的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:48的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:46的VHCDR3氨基酸序列;以及轻链可变区(VL),所述轻链可变区包含SEQ ID NO:52的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:53的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:54的VLCDR3氨基酸序列;

[0259] (b)VH,所述VH包含SEQ ID NO:44的VHCDR1氨基酸序列;SEQ ID NO:45的VHCDR2氨基酸序列;和SEQ ID NO:46的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,所述VL包含SEQ ID NO:49的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:50的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:51的VLCDR3氨基酸序列;

[0260] (c)VH,所述VH包含SEQ ID NO:63的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:48的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:46的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,所述VL包含SEQ ID NO:52的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:53的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:54的VLCDR3氨基酸序列;或

[0261] (d)VH,所述VH包含SEQ ID NO:63的VHCDR1氨基酸序列;SEQ ID NO:45的VHCDR2氨基酸序列;和SEQ ID NO:46的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,所述VL包含SEQ ID NO:52的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:53的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:54的VLCDR3氨基酸序列。

[0262] 在前述实施例的一个方面,用于在本发明中使用的抗PD-L1抗体分子包含重链可变结构域和轻链可变结构域,所述重链可变结构域包含SEQ ID NO:55的氨基酸序列,所述

轻链可变结构域包含SEQ ID NO:58的氨基酸序列。

[0263] 在前述实施例的一个方面,用于在本发明中使用的抗PD-L1抗体分子包含重链和轻链,所述重链包含SEQ ID NO:62的氨基酸序列,所述轻链包含SEQ ID NO:60的氨基酸序列。

[0264] 表C.人源化抗PD-L1 mAb BAP058-hum013的氨基酸和核苷酸序列。显示了重链和轻链CDR、重链和轻链可变区以及重链和轻链的氨基酸和核苷酸序列。

[0265] 表C:

[0266]	BAP058-hum13-HC	
	SEQ ID NO: 63 (卡巴特和乔西亚组合)	HCDR1 GYTFTSYWMY
	SEQ ID NO: 44 (卡巴特)	HCDR1 SYWMY
	SEQ ID NO: 45 (卡巴特)	HCDR2 RIDPNSGSTKYNEKFKN

[0267]

SEQ ID NO: 46 (卡巴特)	HCDR3	DYRKGLYAMDY
SEQ ID NO: 47 (乔西亚)	HCDR1	GYTFTSY
SEQ ID NO: 48 (乔西亚)	HCDR2	DPNSGS
SEQ ID NO: 46 (乔西亚)	HCDR3	DYRKGLYAMDY
SEQ ID NO: 55	VH	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGYT FTSYWMYWVRQARGQRLEWIGRIDPNS GSTKYNEKFKNRFTISRDN SKNTLYLQM NSLRAEDTAVYYCARDYRKGLYAMDY WGQGT TVTVSS
SEQ ID NO: 56	DNA VH	GAGGTCCAGCTGGTACAGTCTGGGGCT GAGGTGAAGAAGCCTGGGGCTACAGT GAAAATCTCCTGCAAGGTTTCTGGCTA CACCTTCACCAGTTACTGGATGTACTG GGTGCGACAGGCTCGTGGACAACGCCT TGAGTGGATAGGTAGGATTGATCCTAA TAGTGGGAGTACTAAGTACAATGAGAA GTTCAAGAACAGATTCACCATCTCCAG AGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCT TCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGG ACACGGCCGTGTATTACTGTGCAAGGG ACTATAGAAAGGGGCTCTATGCTATGG ACTACTGGGGCCAGGGCACCACCGTGA CCGTGTCCTCC
SEQ ID NO: 62	重链	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGYT FTSYWMYWVRQARGQRLEWIGRIDPNS GSTKYNEKFKNRFTISRDN SKNTLYLQM NSLRAEDTAVYYCARDYRKGLYAMDY WGQGT TVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRST SESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSST LGTKYTCNV D HKPSNTKVDKRVESKY GPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQE GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLK
SEQ ID NO: 57	DNA 重链	GAGGTCCAGCTGGTACAGTCTGGGGCT GAGGTGAAGAAGCCTGGGGCTACAGT GAAAATCTCCTGCAAGGTTTCTGGCTA CACCTTCACCAGTTACTGGATGTACTG GGTGCGACAGGCTCGTGGACAACGCCT TGAGTGGATAGGTAGGATTGATCCTAA TAGTGGGAGTACTAAGTACAATGAGAA GTTCAAGAACAGATTCACCATCTCCAG AGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCT TCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGG ACACGGCCGTGTATTACTGTGCAAGGG

[0268]

		ACTATAGAAAGGGGCTCTATGCTATGG ACTACTGGGGCCAGGGCACCACCGTGA CCGTGTCTCCGCTTCCACCAAGGGCC CATCCGTCTTCCCCCTGGCGCCCTGCTC CAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCCGC CCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTT CCCC GAACCGGTGACGGTGTCTGTGGA ACTCAGGCGCCCTGACCAGCGCGTGA CACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCA GGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTG ACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACG AAGACCTACACCTGCAACGTAGATCAC AAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAA GAGAGTTGAGTCCAAATATGGTCCCC ATGCCACCGTGGCCAGCACCTGAGTT CCTGGGGGGACCATCAGTCTTCCTGTT CCCCCAAAACCCAAGGACACTCTCAT GATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACGTG CGTGGTGGTGGACGTGAGCCAGGAAG ACCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACG TGGATGGCGTGGAGGTGCATAATGCCA AGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTTC AACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTC CTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTG AACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGT GTCCAACAAAGGCCTCCCGTCTCCAT CGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAG GGCAGCCCCGAGAGCCACAGGTGTACA CCCTGCCCCCATCCAGGAGGAGATGA CCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCC TGGTCAAAGGCTTCTACCCAGCGACA TCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGC AGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACG CCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCC TTCTTCCTCTACAGCAGGCTAACCGTG GACAAGAGCAGGTGGCAGGAGGGGAA TGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAG GCTCTGCACAACCACTACACACAGAAG AGCCTCTCCCTGTCTCTGGGTAAA
BAP058-hum13-LC		
SEQ ID NO: 49 (卡巴特)	LCDR1	KASQDVGTAVA
SEQ ID NO: 50 (卡巴特)	LCDR2	WASTRHT
SEQ ID NO: 51 (卡巴特)	LCDR3	QQYNSYPLT
SEQ ID NO: 52 (乔西亚)	LCDR1	SQDVGTA
SEQ ID NO: 53 (乔西亚)	LCDR2	WAS
SEQ ID NO: 54 (乔西亚)	LCDR3	YNSYPL
SEQ ID NO: 58	VL	AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDV GTAVAWYLQKPGQSPQLLIYWASTRHT GVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLEAEDAATY YCQQYNSYPLTFGQGTKVEIK

[0269]

SEQ ID NO: 59	DNA VL	GCCATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCT CCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAG TCACCATCACTTGCAAGGCCAGTCAGG ATGTGGGTACTGCTGTAGCCTGGTACC TGCAGAAGCCAGGGCAGTCTCCACAGC TCCTGATCTATTGGGCATCCACCCGGC ACACTGGGGTCCCCTCGAGGTTCAAGT GCAGTGGATCTGGGACAGATTTACCT TTACCATCAGTAGCCTGGAAGCTGAAG ATGCTGCAACATATTACTGTCAGCAGT ATAACAGCTATCCTCTCACGTTTCGGCC AAGGGACCAAGGTGGAAATCAAA
SEQ ID NO: 60	轻链	AIQLTQSPSSLASVGDRTITCKASQDV GTAVAWYLQKPGQSPQLLIYWASTRHT GVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLEAEDAATY YCQQYNSYPLTFGQGTKVEIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD STYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTH QGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 61	DNA 轻链	GCCATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCT CCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAG TCACCATCACTTGCAAGGCCAGTCAGG ATGTGGGTACTGCTGTAGCCTGGTACC TGCAGAAGCCAGGGCAGTCTCCACAGC TCCTGATCTATTGGGCATCCACCCGGC ACACTGGGGTCCCCTCGAGGTTCAAGT GCAGTGGATCTGGGACAGATTTACCT TTACCATCAGTAGCCTGGAAGCTGAAG ATGCTGCAACATATTACTGTCAGCAGT ATAACAGCTATCCTCTCACGTTTCGGCC AAGGGACCAAGGTGGAAATCAAACGT ACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCT TCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAAT CTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCT GAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAA AGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCT CCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGT CACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCA CCTACAGCCTCAGCAGCACCTTGACGC TGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACAC AAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCAT CAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAG AGCTTCAACAGGGGAGAGTGT

[0270] 免疫治疗剂的剂量和施用。

[0271] 免疫治疗剂(例如抗PD-1抗体分子或抗PD-L1分子抗体)能以全身方式(例如口服、肠胃外、皮下、静脉内、直肠、肌肉内、腹膜内、鼻内、透皮、或通过吸入或腔内装置)、局部方式或通过应用于粘膜(如鼻子、喉咙和支气管)向所述受试者施用。

[0272] 免疫治疗剂(例如抗PD-1抗体分子或抗PD-L1抗体分子)的剂量和治疗方案可以由技术人员确定。在某些实施例中,将免疫治疗剂(例如抗PD-1抗体分子)通过注射(例如皮下

或静脉内)以约1mg/kg至30mg/kg,例如约5mg/kg至25mg/kg、约10mg/kg至20mg/kg、约1至5mg/kg、或约3mg/kg的剂量施用。给药日程表可以从例如每周一次至每2、3、或4周一次变化。在一个实施例中,将抗PD-1抗体分子以从约10至20mg/kg的剂量施用,每两周一次。在另一个实施例中,将抗PD-1抗体分子以从约1mg/Kg至10mg/Kg或从约1mg/Kg至5mg/Kg或约3mg/kg的剂量施用,每4周一次。

[0273] 例如,将抗PD-1抗体分子以平坦或固定剂量施用或使用。在一些实施例中,将抗PD-1抗体分子通过注射(例如,皮下或静脉内)以约200mg至500mg,例如约250mg至450mg、约300mg至400mg、约250mg至350mg、约350mg至450mg、或约300mg、或约400mg的剂量(例如平坦剂量)施用。给药日程表(例如,平坦给药日程表)可以从例如每周一次到每2、3、4、5或6周一次变化。在一个实施例中,将抗PD-1抗体分子以从约300mg至400mg的剂量施用,每三周一次或每四周一次。在一个实施例中,将抗PD-1抗体分子以从约300mg的剂量施用,每三周一次。在一个实施例中,将抗PD-1抗体分子以从约400mg的剂量施用,每四周一次。在一个实施例中,将抗PD-1抗体分子以从约300mg的剂量施用,每四周一次。在一个实施例中,将抗PD-1抗体分子以从约400mg的剂量施用,每三周一次。

[0274] 在另一个实施例中,将抗PD-1抗体分子以从约300mg至400mg的平坦剂量施用,每三周一次或每四周一次。在该实施例的子集中,将抗PD-1抗体分子以约400mg的平坦剂量施用,每四周一次。在该实施例的又一个子集中,将抗PD-1抗体分子以约300mg的平坦剂量施用,每三周一次。

[0275] 以下晶型的制备

[0276] 晶型可以通过多种方法制备,包括例如从适合的溶剂中结晶或再结晶、升华、从熔体中生长、从另一相固态转化、从超临界流体中结晶、以及喷射喷雾。从溶剂混合物中结晶或再结晶晶型的技术包括,例如,蒸发溶剂、降低溶剂混合物的温度、晶体接种分子和/或盐的过饱和溶剂混合物、冷冻干燥溶剂混合物、以及向溶剂混合物中添加抗溶剂(反萃溶剂)。以下详细列出了制备本文描述的晶型的示例性方法。

[0277] 药物的晶体(包括多晶型物)、制备方法、和药物晶体的表征在Solid-State Chemistry of Drugs[药物的固态化学],S.R.Byrn,R.R.Pfeiffer,和J.G.Stowell,第2版,SSCI,印第安纳州西拉斐特(1999)中讨论。

[0278] 对于使用溶剂的结晶技术,一种或多种溶剂的选择典型地取决于一个或多个因素,如化合物的溶解度、结晶技术、以及溶剂的蒸气压。可以使用溶剂的组合,例如,可以将化合物溶解在第一溶剂中以提供溶液,然后添加抗溶剂以降低化合物在溶液中的溶解度并提供晶体的形成。抗溶剂是一种溶剂,在该溶剂中化合物具有低溶解度。

[0279] 在一种制备晶体的方法中,将化合物在适合的溶剂中悬浮和/或搅拌以提供浆料,可将该浆料加热以促进溶解。如本文所用,术语“浆料”意指化合物的饱和溶液,其还可以含有另外量的化合物,以在给定温度下提供化合物和溶剂的不均匀的混合物。这也可以称为悬浮液。

[0280] 可以将晶种添加到任何结晶混合物中以促进结晶。接种可用于控制特定多晶型物的生长或控制结晶产物的粒度分布。因此,所需种子量的计算取决于可获得的种子的尺寸以及平均产物颗粒的所希望的尺寸,如例如在“Programmed Cooling of Batch Crystallizers[分批结晶器的程序化冷却]”,J.W.Mullin和J.Nyvlt,Chemical

Engineering Science[化学工程学],1971,26,369-377中描述的。通常,需要小尺寸的种子来有效地控制批次中晶体的生长。小尺寸的种子可以通过筛分、研磨或微粉化大晶体,或者通过使溶液微结晶来产生。应注意,晶体的研磨或微粉化并不导致形成所希望的晶型的结晶性的任何变化(即,变为无定形或另一种多晶型物)。

[0281] 可以在真空下过滤冷却的结晶混合物,并且可以用适合的溶剂(如冷的再结晶溶剂)洗涤分离的固体,并在氮气吹扫下干燥分离的固体以提供所希望的晶型。分离的固体可以通过适合的光谱或分析技术来分析,如固态核磁共振、差示扫描量热法、x-射线粉末衍射等,以确保形成产物的优选晶型。所得晶型典型地以基于最初在结晶程序中使用的化合物的重量大于约70重量%的分离产率、优选大于90重量%的分离产率的量产生。如果需要,可以将产物共研磨或通过网筛以使产物破碎(delump)。

[0282] 可替代地,晶型可以直接由用于制备5-溴-2,6-二(1H-吡唑-1-基)嘧啶-4-胺的最终方法的反应介质来制备。这可以通过以下实现:例如,通过在最终方法步骤中利用溶剂或溶剂混合物,从所述溶剂或溶剂混合物中可以结晶出5-溴-2,6-二(1H-吡唑-1-基)嘧啶-4-胺或其盐。此外,晶型可通过蒸馏或溶剂添加技术获得。

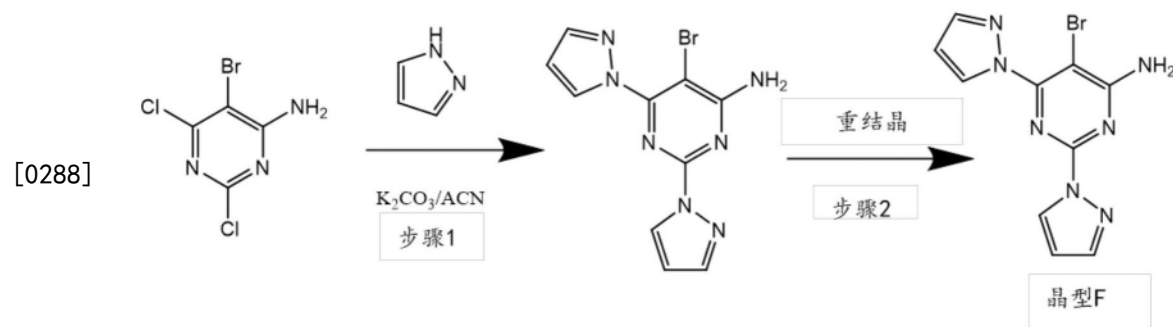
[0283] 除以下简要讨论的方法之外,应理解,多种分析方法可用于表征本文描述的任何材料。

[0284] 以下非限制性实例说明本披露。

[0285] 实例

[0286] 如下制备本文所述的5-溴-2,6-二(1H-吡唑-1-基)嘧啶-4-胺的多种晶型。应理解,这些实例是说明性的并且这些材料可以根据本文描述的其他方法或经由本领域已知的方法来制备。

[0287] (F型)5-溴-2,6-二(1H-吡唑-1-基)嘧啶-4-胺的游离形式(变型1)分离后,通过XRPD分析固体。



[0289] 步骤1的程序

[0290] 向反应器中填充吡唑(252g,9.0eq.)、乙腈(5L)和碳酸钾(860g,3.02eq.)。将混合物在65℃-75℃下加热30分钟。当在N₂保护下添加5-溴-2,6-二氯嘧啶-4-胺(500g,1.0eq.)时,将反应混合物冷却至35℃-45℃。将所得混合物在72℃-78℃下加热24h。将反应混合物冷却至40℃-50℃,并通过HPLC分析认为完成。在经2小时的期间添加水(20.2kg)。将温度控制在20℃下持续2小时。通过过滤收集粗产物,并用水(5.0kg)洗涤。在50℃-60℃下,用乙腈(0.8kg)和水(4kg)将粗材料浆化持续1小时。通过过滤获得湿饼,并用水(2.0kg)洗涤。在47℃下,将湿饼溶解于乙腈(153.0kg)和水(2.3kg),并且添加活性炭(0.075kg)。将混合物在42℃-52℃下搅拌1.5小时。通过微晶纤维素滤出固体。将滤液在真空下、在55℃下进行浓

缩,直到剩余的总体积为约2.7L。将水(4.0kg)添加至溶液中。将混合物在真空下、在55℃下进行浓缩,直到剩余的总体积为约6.0L。向混合物中添加乙腈(0.4kg)和工艺用水(4.0kg)。并且依次将温度控制在47℃下持续3小时和控制在20℃下持续2小时。通过过滤收集产物,并用工艺用水(1.5kg)洗涤。在50℃下,将湿饼在真空下干燥20小时,以给出呈灰白色固体的450g的5-溴-2,6-二(1H-吡唑-1-基)嘧啶-4-胺(71.2%产率)。

[0291] 步骤1的可替代程序:

[0292] 向反应器中填充5-溴-2,6-二氯嘧啶-4-胺(50g,1.0eq.)、吡唑(126.1g,9eq.)和DMSO(350mL)。向混合物中填充KOH(26g,2.25eq.),其中内部温度保持在35℃下。将反应再搅拌30min,其中通过调节夹套温度将内部温度保持在35℃下。然后将反应在35℃下搅拌2hr,然后在50℃下搅拌3hr,并且通过HPLC分析认为完成。在50℃下,向混合物中滴加0.5% KOH溶液(60mL)。将溶液冷却至45℃,添加5-溴-2,6-二(1H-吡唑-1-基)嘧啶-4-胺晶种(0.02g),并老化30min。经2hr,向悬浮液中添加540mL 0.5% KOH,其中内部温度保持在45℃下。添加完成后,经90分钟,将悬浮液冷却至23℃。通过过滤收集固体,用200mL H₂O冲洗,并在60℃的全真空烘箱中干燥16hr,以给出呈白色固体的56.6g 5-溴-2,6-二(1H-吡唑-1-基)嘧啶-4-胺(89.8%产率)。

[0293] 步骤2:重结晶程序:

[0294] 向反应器中添加来自以上步骤的粗5-溴-2,6-二(1H-吡唑-1-基)嘧啶-4-胺(5g)、甲醇(140g,28X)和水(20g,4X)。将混合物在50℃下加热以获得澄清溶液并过滤。将滤液在真空下浓缩至总重量为约110g(22X)。将悬浮液加热至回流直到所有固体溶解。经1h的时间,将溶液缓慢冷却至42℃。将固体沉淀出。在42℃下,缓慢添加水(160g,32X)。搅拌2小时,并冷却至20℃。伴随搅拌在20℃下保持2小时后,通过过滤收集产物,并用水(6g)洗涤。在55℃下,将湿饼在真空下干燥20小时,以给出4.55g的结晶5-溴-2,6-二(1H-吡唑-1-基)嘧啶-4-胺(91%产率)。用XRPD表征固体的多晶型物(F型)(图11,表6)。

[0295] (A型)5-溴-2,6-二(1H-吡唑-1-基)嘧啶-4-胺的单盐酸盐水合物盐

[0296] 向50mg(0.1633mmol)5-溴-2,6-二(1H-吡唑-1-基)-嘧啶-4-胺(F型)在1mL乙腈的悬浮液中滴加27.2uL HCl水溶液(6M,0.1633mmol)。在50℃下,将混合物搅拌20小时。将混合物在2小时内冷却至室温,并再继续搅拌1小时。用真空过滤收集固体,并在室温下干燥过夜。获得作为晶型A的5-溴-2,6-二(1H-吡唑-1-基)嘧啶-4-胺单盐酸盐水合物。分离后,通过XRPD分析固体。

[0297] (B型)5-溴-2,6-二(1H-吡唑-1-基)嘧啶-4-胺的二盐酸盐水合物盐

[0298] 向50mg(0.1633mmol)5-溴-2,6-二(1H-吡唑-1-基)-嘧啶-4-胺(F型)在1mL乙酸乙酯的悬浮液中滴加54.5uL HCl水溶液(6M,0.3266mmol)。在50℃下,将混合物搅拌20小时。在2小时内将混合物冷却至室温,并再维持搅拌1小时。用真空过滤收集固体,并在室温下干燥过夜。获得作为晶型B的5-溴-2,6-二(1H-吡唑-1-基)-嘧啶-4-胺二盐酸盐水合物。分离后,通过XRPD分析固体。

[0299] (C型)5-溴-2,6-二(1H-吡唑-1-基)嘧啶-4-胺的硫酸盐

[0300] 在50℃下,向3.06g(10mmol)5-溴-2,6-二(1H-吡唑-1-基)-嘧啶-4-胺(F型)在60mL丙酮的悬浮液中逐渐添加1.83mL(6mol/L,11mmol)硫酸水溶液。将所得混合物在50℃下搅拌10小时,然后在5小时内冷却至25℃,并再搅拌1小时。将固体经抽滤分离,并在真空

下、在40℃下干燥4小时。获得作为黄色结晶固体(C型)的5-溴-2,6-二(1H-吡唑-1-基)-嘧啶-4-胺硫酸盐(2.5g,6.2mmol)(62%产率)。分离后,通过XRPD分析固体。

[0301] (D型) 5-溴-2,6-二(1H-吡唑-1-基)嘧啶-4-胺的甲磺酸盐

[0302] 向50mg(0.1633mmol)5-溴-2,6-二(1H-吡唑-1-基)-嘧啶-4-胺(F型)在1mL乙酸异丙酯的悬浮液中滴加甲磺酸(0.1633mmol)IPAc溶液。将混合物在25℃下搅拌20小时。在2小时内将混合物冷却降至室温,并维持再搅拌1小时。用真空过滤收集固体,并在室温下干燥过夜。获得作为白色结晶固体(D型)的5-溴-2,6-二(1H-吡唑-1-基)-嘧啶-4-胺甲磺酸盐。分离后,通过XRPD分析固体。

[0303] (E型) 5-溴-2,6-二(1H-吡唑-1-基)嘧啶-4-胺的甲磺酸盐

[0304] 向50mg(0.1633mmol)5-溴-2,6-二(1H-吡唑-1-基)-嘧啶-4-胺(F型)在1mL丙酮的悬浮液中滴加甲磺酸(0.1633mmol)丙酮溶液。将混合物在25℃下搅拌20小时。在2小时内将混合物冷却至室温,并维持再搅拌1小时。用真空过滤收集固体,并在室温下干燥过夜。获得作为白色结晶固体(E型)的5-溴-2,6-二(1H-吡唑-1-基)-嘧啶-4-胺甲磺酸盐。分离后,通过XRPD分析固体。

[0305] (G型) 5-溴-2,6-二(1H-吡唑-1-基)嘧啶-4-胺的游离形式(变型2)

[0306] 在60℃下,制备5-溴-2,6-二(1H-吡唑-1-基)-嘧啶-4-胺(F型)的饱和的乙醇溶液(300mg),然后在easy-max中以400r/s搅拌速度快速冷却至4℃,持续若干个小时。将所得固体经真空过滤收集,并在室温下干燥过夜。以42%产率获得作为白色结晶固体(G型)的5-溴-2,6-二(1H-吡唑-1-基)-嘧啶-4-胺的游离形式(变型2)。分离后,通过XRPD分析固体。

[0307] 粉末X射线衍射

[0308] 使用Brucker™ D8 Discover衍射仪,获得X射线粉末衍射(XRPD)数据。将方法总结如下:

[0309]

XRPD	
仪器:	具有 XYZ 台的 Bruker D8 Discover
检测器	包括控制器 19" 的 VANTEC-500
辐射	CuK α (0.15406 nm)
X 射线发生器功率	40 kV, 1 mA (微型电源)
步长、分辨率	0.02 度
测量切片	0.3 mm 和 0.2 mm
扫描范围	4°至 45° (2 θ 值)
扫描时间	2 min
X 射线光学	Cu 的 I μ s MONTEL 光学
源狭缝	固定的, 1 mm
探测器距离	约 30 cm

[0310] 表1

[0311] A型的X射线粉末衍射数据

	角度 ($^{\circ}2\theta$)	d 值 (\AA)	相对强度 (%)	强度
[0312]	10.045	8.799	100.00	2436.91
	15.605	5.674	18.40	448.40
	19.609	4.523	6.25	152.27
	20.796	4.268	21.18	516.18
	22.588	3.933	15.30	372.87
	24.455	3.637	9.79	238.61
	24.501	3.630	10.64	259.17
	25.290	3.519	18.82	458.67
	26.520	3.358	5.23	127.39
	28.529	3.126	20.89	509.13
	29.097	3.066	30.91	753.18
	30.723	2.908	13.08	318.75
	33.459	2.676	6.12	149.18

[0313] 表2

[0314] B型的X射线粉末衍射数据

	角度 ($^{\circ}2\theta$)	d 值 (\AA)	相对强度 (%)	强度
[0315]	7.803	11.321	12.25	91.72
	8.225	10.742	5.81	43.48
	9.569	9.235	38.43	287.72
	14.437	6.130	11.24	84.15
	14.891	5.944	8.37	62.65
	16.126	5.492	16.34	122.33
	19.350	4.583	13.30	99.61
	21.512	4.127	14.57	109.10
	22.110	4.017	85.16	637.67
	22.369	3.971	30.47	228.17
	23.113	3.845	17.02	127.47
	23.134	3.842	17.22	128.93
	24.260	3.666	12.74	95.42
	26.435	3.369	100.00	748.79
	27.384	3.254	34.63	259.30
	27.951	3.190	29.22	218.80
	28.440	3.136	47.62	356.55
	29.749	3.001	10.75	80.48
	30.653	2.914	37.99	284.43
	31.710	2.819	7.40	55.43
	34.761	2.579	14.83	111.03
	35.529	2.525	9.77	73.17
	39.179	2.297	8.89	66.56

[0316] 表3

[0317] C型的X射线粉末衍射数据

	角度 ($^{\circ}2\theta$)	d 值 (\AA)	相对强度 (%)	强度
[0318]	9.406	9.395	100.00	1251.30
	12.291	7.196	32.11	401.76
	12.722	6.953	19.50	244.04
	17.124	5.174	37.36	467.54
	18.811	4.714	12.49	156.34
	19.323	4.590	14.78	184.98
	20.498	4.329	17.70	221.53
	23.237	3.825	70.62	883.63

	角度 ($^{\circ}2\theta$)	d 值 (\AA)	相对强度 (%)	强度
[0319]	24.843	3.581	55.71	697.07
	26.063	3.416	27.38	342.63
	26.465	3.365	32.55	407.35
	26.820	3.321	92.28	1154.66
	29.916	2.984	22.10	276.54
	31.739	2.817	16.38	204.98
	44.701	2.026	10.29	128.79

[0320] 表4

[0321] D型的X射线粉末衍射数据

	角度 ($^{\circ}2\theta$)	d 值 (\AA)	相对强度 (%)	强度
[0322]	9.092	9.719	4.98	67.76
	10.132	8.723	15.25	207.61
	17.925	4.945	11.28	153.59
	20.282	4.375	18.02	245.40
	24.005	3.704	100.00	1361.52
	25.025	3.555	5.77	78.53
	26.427	3.370	10.79	146.84
	33.355	2.684	12.52	170.50

[0323] 表5

[0324] E型的X射线粉末衍射数据

	角度 ($^{\circ}2\theta$)	d 值 (\AA)	相对强度 (%)	强度
[0325]	9.055	9.758	19.44	139.69
	16.606	5.334	34.78	249.84
	18.024	4.918	13.69	98.34
	21.045	4.218	27.71	199.08
	22.075	4.024	41.39	297.37
	23.447	3.791	34.55	248.21
	24.089	3.691	20.97	150.64
	25.031	3.555	15.49	111.25
	26.669	3.340	100.00	718.44
	29.899	2.986	17.59	126.34

[0326] 表6

[0327] F型的X射线粉末衍射数据

	角度 ($^{\circ}2\theta$)	d 值 (\AA)	相对强度 (%)	强度
[0328]	8.212	10.758	100.00	2929.96
	8.463	10.440	4.58	134.11
	11.512	7.681	9.24	270.69
	12.079	7.322	4.00	117.10
	12.140	7.285	2.91	85.26
	16.403	5.400	18.10	530.40
	16.928	5.233	8.92	261.31
	18.076	4.904	8.88	260.30
	18.930	4.684	6.76	197.96
	23.008	3.862	5.46	160.05
	24.200	3.675	7.31	214.19
	24.957	3.565	20.47	599.90
	25.662	3.469	25.22	738.79
	25.748	3.457	30.82	902.92
	26.550	3.355	28.17	825.48
	27.851	3.201	8.17	239.45
	30.820	2.899	10.56	309.47
	34.738	2.580	7.01	205.34

[0329] 表7

[0330] G型的X射线粉末衍射数据

	角度 (°2 θ)	d 值 (Å)	相对强度 (%)	强度
[0331]	8.334	10.601	69.72	2025.02
	10.405	8.495	16.42	476.97
	14.034	6.305	24.70	717.44
	16.671	5.313	26.31	764.23
	20.365	4.357	6.10	177.13
	20.838	4.260	5.48	159.14
	21.815	4.071	100.00	2904.53
	24.650	3.609	11.86	344.60
	25.164	3.536	79.43	2307.10
	26.774	3.327	46.46	1349.57
	28.759	3.102	5.30	153.82
	30.689	2.911	16.17	469.55
	32.864	2.723	12.43	360.90
[0332]	角度 (°2 θ)	d 值 (Å)	相对强度 (%)	强度
	34.693	2.584	4.52	131.33
	36.671	2.449	8.06	234.05
	41.283	2.185	7.96	231.32
	42.552	2.123	18.79	545.88

[0333] 热分析(TA)：

[0334] 使用TA仪器Discovery (DSC) 和热重量分析(TGA) 分析晶型:Discovery (DSC) 和Discovery (TGA) 具有铝盘(T150603)；加热速率10℃/min,温度范围:30至300℃。

[0335] DSC：

[0336] 用针孔准确地称量10mg的测试物质到封闭的样品盘中。将空的样品盘用作参考。将DSC热分析图记录如下:将该装置的温度调节至约30℃,并在20mL/min的氮气流下以10℃/min的加热速率加热至300℃。用铟(至少99.9999%纯)对仪器的温度和焓进行校准。用这种方法测得的样品温度的准确度在约±1℃内,并且可以在约±5%的相对误差内对熔化热进行测量。

[0337] TGA：

[0338] 准确地称量10mg的测试物质到开放的样品盘中。将TGA热分析图记录如下:将样品加载到炉中,在以20mL/min氮气流中,以加热速率为10℃/min加热至300℃。

[0339] 将仪器使用镍校准温度,并使用100mg标准品校准重量。

[0340] 使用晶型A、B、C、D、E、F和G产生的说明性DSC/TGA痕迹分别示出在图2、4、6、8、10、12和14中。

[0341] A型:熔融吸热: $T_{\text{开始}}=78.16^{\circ}\text{C}$, $\Delta H=300.87\text{J/g}$;在熔化开始之前,小的初始重量损失为14.91%;和 $T_{\text{开始}}=212.48^{\circ}\text{C}$, $\Delta H=86.83\text{J/g}$ 。

[0342] B型:熔融吸热: $T_{\text{开始}}=78.92^{\circ}\text{C}$, $\Delta H=399.81\text{J/g}$;在熔化开始之前,小的初始重量损失为24.47%;和 $T_{\text{开始}}=212.18^{\circ}\text{C}$, $\Delta H=81.02\text{J/g}$ 。

[0343] C型:熔融吸热: $T_{\text{开始}}=188.44^{\circ}\text{C}$, $\Delta H=117.42\text{J/g}$;在熔化开始之前,小的初始重量

损失为0.38%。

[0344] D型:熔融吸热: $T_{\text{开始}}=177.11^{\circ}\text{C}$, $\Delta H=122.19\text{J/g}$;在熔化开始之前,小的初始重量损失为1.72%。

[0345] E型:熔融吸热: $T_{\text{开始}}=188.44^{\circ}\text{C}$, $\Delta H=117.4\text{J/g}$;在熔化开始之前,小的初始重量损失为0.69%。

[0346] F型:熔融吸热: $T_{\text{开始}}=212.63^{\circ}\text{C}$, $\Delta H=104.22\text{J/g}$;在熔化开始之前,小的初始重量损失为0.59%。

[0347] G型:熔融吸热: $T_{\text{开始}}=202.95^{\circ}\text{C}$, $\Delta H=14.84\text{J/g}$;在熔化开始之前,小的初始重量损失为1.06%;和 $T_{\text{开始}}=212.96^{\circ}\text{C}$, $\Delta H=91.99\text{J/g}$ 。

序列表

<110> 诺华股份有限公司(NOVARTIS AG)
 <120> 5-溴-2,6-二(1H-吡唑-1-基)嘧啶-4-胺和新盐的晶型
 <130> PAT057643
 <140>
 <141>
 <150> PCT/CN2017/086624
 <151> 2017-05-31
 <160> 63
 <170> PatentIn版本3.5
 <210> 1
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 人工序列的描述: 合成肽
 <400> 1
 [0001] Thr Tyr Trp Met His
 1 5
 <210> 2
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 人工序列的描述: 合成肽
 <400> 2
 Asn Ile Tyr Pro Gly Thr Gly Gly Ser Asn Phe Asp Glu Lys Phe Lys
 1 5 10 15
 Asn
 <210> 3
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 人工序列的描述: 合成肽

<400> 3
 Trp Thr Thr Gly Thr Gly Ala Tyr
 1 5

<210> 4
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列的描述: 合成肽

<400> 4
 Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr
 1 5

<210> 5
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列的描述: 合成肽

[0002] <400> 5
 Tyr Pro Gly Thr Gly Gly
 1 5

<210> 6
 <211> 117
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列的描述: 合成多肽

<400> 6
 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr
 20 25 30

Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Thr Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45

Gly Asn Ile Tyr Pro Gly Thr Gly Gly Ser Asn Phe Asp Glu Lys Phe
 50 55 60

Lys Asn Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Arg Trp Thr Thr Gly Thr Gly Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 7

<211> 351

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成多核苷酸

<400> 7

[0003] gaggtgcagc tgggtgcagtc aggcgccgaa gtgaagaagc ccggcgagtc actgagaatt 60
agctgtaaag gttcaggcta caccttcact acctactgga tgcactgggt ccgccagget 120
accggtcaag gcctcgagtg gatgggtaat atctaccccg gcaccggcgg ctctaacttc 180
gacgagaagt ttaagaatag agtgactatc accgccgata agtctactag caccgcctat 240
atggaactgt ctagcctgag atcagaggac accgccgtct actactgcac taggtggact 300
accggcacag ggcctactg ggggtcaaggc actaccgtga ccgtgtctag c 351

<210> 8

<211> 443

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成多肽

<400> 8

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15

Ser Leu Arg Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr
20 25 30

Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Thr Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

	35					40						45					
	Gly	Asn	Ile	Tyr	Pro	Gly	Thr	Gly	Gly	Ser	Asn	Phe	Asp	Glu	Lys	Phe	
	50						55					60					
	Lys	Asn	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Ala	Asp	Lys	Ser	Thr	Ser	Thr	Ala	Tyr	
	65					70					75					80	
	Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	
					85					90					95		
	Thr	Arg	Trp	Thr	Thr	Gly	Thr	Gly	Ala	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Thr	
				100					105					110			
	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	
			115					120					125				
	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg	Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	
		130					135					140					
[0004]	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	
	145					150					155					160	
	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	
					165					170					175		
	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	
				180					185					190			
	Leu	Gly	Thr	Lys	Thr	Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His	Lys	Pro	Ser	Asn	
			195					200					205				
	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro	Pro	Cys	Pro	
		210					215					220					
	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Phe	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	
	225					230					235					240	
	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	
					245					250					255		
	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	Gln	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	

	260	265	270
	Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro 275 280 285		
	Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr 290 295 300		
	Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val 305 310 315 320		
	Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala 325 330 335		
	Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln 340 345 350		
	Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly 355 360 365		
[0005]	Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro 370 375 380		
	Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser 385 390 395 400		
	Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu 405 410 415		
	Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His 420 425 430		
	Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly 435 440		
	<210> 9 <211> 1329 <212> DNA <213> 人工序列		
	<220> <223> 人工序列的描述: 合成多核苷酸		
	<400> 9		

	gaggtgcagc tgggtgcagtc aggcgccgaa gtgaagaagc ccggcgagtc actgagaatt	60
	agctgtaaag gttcaggcta caccttcact acctactgga tgcactgggt ccgccaggct	120
	accggtcaag gcctcgagtg gatgggtaat atctaccccg gcaccggcgg ctctaacttc	180
	gacgagaagt ttaagaatag agtgactatc accgccgata agtctactag caccgcctat	240
	atggaactgt ctagcctgag atcagaggac accgccgtct actactgcac taggtggact	300
	accggcacag gcgcctactg ggggtcaaggc actaccgtga ccgtgtctag cgctagcact	360
	aagggcccggt ccgtgttccc cctggcacct tgtagccgga gcactagcga atccaccgct	420
	gccctcggct gcctgggtcaa ggattacttc ccggagcccg tgaccgtgtc ctggaacagc	480
	ggagccctga cctccggagt gcacaccttc cccgctgtgc tgcagagctc cgggctgtac	540
	tcgctgtcgt cggtgggtcac ggtgccttca tctagcctgg gtaccaagac ctacacttgc	600
	aacgtggacc acaagccttc caacactaag gtggacaagc gcgtcgaatc gaagtacggc	660
	ccaccgtgcc cgccttgtcc cgcgccggag ttcctcggcg gtccctcgggt ctttctgttc	720
	ccaccgaagc ccaaggacac tttgatgatt tcccgcaccc ctgaagtgaac atgcgtggtc	780
	gtggacgtgt cacaggaaga tccggagggtg cagttcaatt ggtacgtgga tggcgtcgag	840
[0006]	gtgcacaacg ccaaaaccaa gccgagggag gagcagttca actccactta ccgcgtcgtg	900
	tccgtgctga cggtgctgca tcaggactgg ctgaacggga aggagtacaa gtgcaaagtg	960
	tccaacaagg gacttcttag ctcaatcgaa aagaccatct cgaaagccaa gggacagccc	1020
	cgggaacccc aagtgtatac cctgccaccg agccaggaag aaatgactaa gaaccaagtc	1080
	tcattgactt gccttgtgaa gggcttctac ccatcgata tcgccgtgga atgggagtcc	1140
	aacggccagc cggaaaacaa ctacaagacc acccctccgg tgctggactc agacggatcc	1200
	ttcttctct actcgcggct gaccgtggat aagagcagat ggcaggaggg aaatgtgttc	1260
	agctgttctg tgatgcatga agccctgcac aaccactaca ctcagaagtc cctgtccctc	1320
	tccttgga	1329

<210> 10

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成肽

<400> 10

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser Gly Asn Gln Lys Asn Phe Leu
1 5 10 15

Thr

<210> 11
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽

<400> 11
Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
1 5

<210> 12
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

[0007] <220>
<223> 人工序列的描述：合成肽

<400> 12
Gln Asn Asp Tyr Ser Tyr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 13
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽

<400> 13
Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser Gly Asn Gln Lys Asn Phe
1 5 10

<210> 14
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽

<400> 14

Trp Ala Ser
1

<210> 15
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述: 合成肽

<400> 15
Asp Tyr Ser Tyr Pro Tyr
1 5

<210> 16
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述: 合成多肽

[0008] <400> 16
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
20 25 30

Gly Asn Gln Lys Asn Phe Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys
35 40 45

Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asn
85 90 95

Asp Tyr Ser Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 17
 <211> 339
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列的描述: 合成多核苷酸

<400> 17
 gagatcgtcc tgactcagtc acccgctacc ctgagcctga gccctggcga gcgggctaca 60
 ctgagctgta aatctagtcg gtcactgctg gatagcggta atcagaagaa cttcctgacc 120
 tggatcagc agaagcccgg taaagcccct aagctgctga tctactgggc ctctactaga 180
 gaatcaggcg tgccctctag gtttagcggg agcggtagtg gcaccgactt caccttcaact 240
 atctctagcc tgcagcccga ggatatcgct acctactact gtcagaacga ctatagctac 300
 ccctacacct tcggtcaagg cactaaggtc gagattaag 339

<210> 18
 <211> 220
 <212> PRT
 <213> 人工序列

[0009]

<220>
 <223> 人工序列的描述: 合成多肽

<400> 18
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
 20 25 30
 Gly Asn Gln Lys Asn Phe Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys
 35 40 45
 Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
 50 55 60
 Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr
 65 70 75 80
 Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asn
 85 90 95

Asp Tyr Ser Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110

Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
115 120 125

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
130 135 140

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
145 150 155 160

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
165 170 175

Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr
180 185 190

Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser
195 200 205

[0010]

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215 220

<210> 19

<211> 660

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成多核苷酸

<400> 19

gagatcgtcc tgactcagtc acccgctacc ctgagcctga gccctggcga gcgggctaca 60

ctgagctgta aatctagtca gtcactgctg gatagcggta atcagaagaa cttcctgacc 120

tggtatcagc agaagcccg taaagcccct aagctgctga tctactgggc ctctactaga 180

gaatcaggcg tgccctctag gtttagcggt agcggtagtg gcaccgactt caccttcaact 240

atctctagcc tgcagcccga ggatatcgct acctactact gtcagaacga ctatagctac 300

ccctacacct tcggtaagg cactaaggct gagattaagc gtacgggtggc cgctcccagc 360

gtgttcatct tcccccccag cgacgagcag ctgaagagcg gcaccgccag cgtggtgtgc 420

ctgctgaaca acttctaccc ccgggaggcc aaggtgcagt ggaaggtgga caacgccctg 480
cagagcggca acagccagga gagcgtcacc gagcaggaca gcaaggactc cacctacagc 540
ctgagcagca ccctgaccct gagcaaggcc gactacgaga agcataaggt gtacgcctgc 600
gaggtgaccc accagggcct gtccagcccc gtgaccaaga gcttcaacag gggcgagtgc 660

<210> 20
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽

<400> 20
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
20 25 30

Gly Asn Gln Lys Asn Phe Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

[0011]

Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asn
85 90 95

Asp Tyr Ser Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 21
<211> 339
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<400> 22
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
20 25 30
Gly Asn Gln Lys Asn Phe Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45
Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60
Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr
65 70 75 80
Ile Ser Ser Leu Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asn
85 90 95
Asp Tyr Ser Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110
Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
115 120 125

[0012]

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
130 135 140

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
145 150 155 160

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
165 170 175

Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr
180 185 190

Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser
195 200 205

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215 220

[0013] <210> 23
<211> 660
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成多核苷酸

<400> 23
gagatcgctc tgactcagtc acccgctacc ctgagcctga gccctggcga gcgggctaca 60
ctgagctgta aatctagtca gtcactgctg gatagcggta atcagaagaa ctctctgacc 120
tggtatcagc agaagcccgg tcaagcccct agactgctga tctactgggc ctctactaga 180
gaatcaggcg tgccctctag gtttagcggg agcggtagtg gcaccgactt caccttcact 240
atctctagcc tggaagccga ggacgccgct acctactact gtcagaacga ctatagctac 300
ccctacacct tcgggtcaagg cactaaggtc gagattaagc gtacggtggc cgctcccagc 360
gtgttcatct tccccccag cgacgagcag ctgaagagcg gcaccgccag cgtggtgtgc 420
ctgctgaaca acttctaccc ccgggaggcc aaggtgcagt ggaaggtgga caacgccctg 480
cagagcggca acagccagga gagcgtcacc gagcaggaca gcaaggactc cacctacagc 540
ctgagcagca ccctgaccct gagcaaggcc gactacgaga agcataaggt gtacgcctgc 600
gaggtgaccc accagggcct gtccagcccc gtgaccaaga gttcaacag gggcgagtgc 660

	<210> 24	
	<211> 15	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
	<400> 24	
	acctactgga tgcac	15
	<210> 25	
	<211> 51	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
	<400> 25	
	aatatctacc ccggcaccgg cggctctaac ttcgacgaga agtttaagaa t	51
	<210> 26	
	<211> 24	
	<212> DNA	
[0014]	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
	<400> 26	
	tggactaccg gcacaggegc ctac	24
	<210> 27	
	<211> 21	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
	<400> 27	
	ggctacacct tcactaccta c	21
	<210> 28	
	<211> 18	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	

	<400> 28 taccgccggca ccggcggc	18
	<210> 29 <211> 51 <212> DNA <213> 人工序列	
	<220> <223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
	<400> 29 aaatctagtc agtcactgct ggatagcggc aatcagaaga acttcctgac c	51
	<210> 30 <211> 21 <212> DNA <213> 人工序列	
	<220> <223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
	<400> 30 tgggcctcta ctagagaatc a	21
[0015]	<210> 31 <211> 27 <212> DNA <213> 人工序列	
	<220> <223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
	<400> 31 cagaacgact atagctaccc ctacacc	27
	<210> 32 <211> 39 <212> DNA <213> 人工序列	
	<220> <223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
	<400> 32 agtcagtcac tgctggatag cggtaatcag aagaacttc	39
	<210> 33 <211> 9 <212> DNA	

	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
	<400> 33	
	tgggcctct	9
	<210> 34	
	<211> 18	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
	<400> 34	
	gactatagct acccctac	18
	<210> 35	
	<211> 440	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
[0016]	<223> 人工序列的描述: 合成多肽	
	<400> 35	
	Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg	
	1 5 10 15	
	Ser Leu Arg Leu Asp Cys Lys Ala Ser Gly Ile Thr Phe Ser Asn Ser	
	20 25 30	
	Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val	
	35 40 45	
	Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Lys Arg Tyr Tyr Ala Asp Ser Val	
	50 55 60	
	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Phe	
	65 70 75 80	
	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys	
	85 90 95	
	Ala Thr Asn Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser	
	100 105 110	

Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser
115 120 125

Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
130 135 140

Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
145 150 155 160

Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr
165 170 175

Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys
180 185 190

Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
195 200 205

Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala
210 215 220

[0017]

Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
225 230 235 240

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
245 250 255

Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val
260 265 270

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
275 280 285

Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
290 295 300

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly
305 310 315 320

Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
325 330 335

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr
340 345 350

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
355 360 365

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
370 375 380

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
385 390 395 400

Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe
405 410 415

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
420 425 430

Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
435 440

[0018]

<210> 36

<211> 214

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成多肽

<400> 36

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro

65	70	75	80
Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Ser Asn Trp Pro Arg	85	90	95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala	100	105	110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly	115	120	125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala	130	135	140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln	145	150	155
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser	165	170	175
[0019] Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr	180	185	190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser	195	200	205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys	210		
<210> 37			
<211> 447			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 人工序列的描述: 合成多肽			
<400> 37			
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Val Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala	5	10	15
1			
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr	20	25	30

Tyr Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Ile Asn Pro Ser Asn Gly Gly Thr Asn Phe Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Asn Arg Val Thr Leu Thr Thr Asp Ser Ser Thr Thr Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Lys Ser Leu Gln Phe Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Arg Asp Tyr Arg Phe Asp Met Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala
130 135 140

[0020]

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro
210 215 220

Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val
225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu
260 265 270

Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile
325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
340 345 350

Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
355 360 365

[0021]

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
405 410 415

Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
435 440 445

<210> 38

<211> 218

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成多肽

<400> 38

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Lys Gly Val Ser Thr Ser
20 25 30

Gly Tyr Ser Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
35 40 45

Arg Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Tyr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ala
50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
65 70 75 80

Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His Ser Arg
85 90 95

Asp Leu Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105 110

[0022]

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
115 120 125

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
130 135 140

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
145 150 155 160

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
165 170 175

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
180 185 190

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
195 200 205

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 39
 <211> 447
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列的描述: 合成多肽

<400> 39
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
 20 25 30

Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Gln Trp Met
 35 40 45

Gly Trp Ile Asn Thr Asp Ser Gly Glu Ser Thr Tyr Ala Glu Glu Phe
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser Val Asn Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

[0023]

Leu Gln Ile Thr Ser Leu Thr Ala Glu Asp Thr Gly Met Tyr Phe Cys
 85 90 95

Val Arg Val Gly Tyr Asp Ala Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
 115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
 130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
 145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
 165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
 180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
210 215 220

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
260 265 270

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
290 295 300

[0024]

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
340 345 350

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 40

<211> 213

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成多肽

<400> 40

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Arg Ser Ser Val Ser Tyr Met
20 25 30

His Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Trp Ile Tyr
35 40 45

[0025]

Arg Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Cys Leu Thr Ile Asn Ser Leu Gln Pro Glu
65 70 75 80

Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Ser Phe Pro Leu Thr
85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
100 105 110

Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
115 120 125

Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
130 135 140

Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu

145	150	155	160
Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser	165	170	175
Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala	180	185	190
Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe	195	200	205
Asn Arg Gly Glu Cys	210		

<210> 41
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列的描述：合成肽

[0026] <400> 41
 Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr Trp Met His
 1 5 10

<210> 42
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列的描述：合成多肽

<400> 42
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

Ile Met Met Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ser Ser Ile Tyr Pro Ser Gly Gly Ile Thr Phe Tyr Ala Asp Lys Gly
 50 55 60

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln
65 70 75 80

Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
85 90 95

Ile Lys Leu Gly Thr Val Thr Thr Val Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 43

<211> 110

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成多肽

<400> 43

Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15

[0027]

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr
20 25 30

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
35 40 45

Met Ile Tyr Asp Val Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Ser Ser
85 90 95

Ser Thr Arg Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
100 105 110

<210> 44

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成肽

<400> 44

Ser Tyr Trp Met Tyr
1 5

<210> 45

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成肽

<400> 45

Arg Ile Asp Pro Asn Ser Gly Ser Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15

Asn

[0028]

<210> 46

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成肽

<400> 46

Asp Tyr Arg Lys Gly Leu Tyr Ala Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 47

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成肽

<400> 47

Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
1 5

<210> 48

<211> 6

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述: 合成肽

<400> 48
Asp Pro Asn Ser Gly Ser
1 5

<210> 49
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述: 合成肽

<400> 49
Lys Ala Ser Gln Asp Val Gly Thr Ala Val Ala
1 5 10

<210> 50
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

[0029]

<220>
<223> 人工序列的描述: 合成肽

<400> 50
Trp Ala Ser Thr Arg His Thr
1 5

<210> 51
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述: 合成肽

<400> 51
Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Leu Thr
1 5

<210> 52
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成肽

<400> 52

Ser Gln Asp Val Gly Thr Ala
1 5

<210> 53

<211> 3

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成肽

<400> 53

Trp Ala Ser
1

<210> 54

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成肽

[0030]

<400> 54

Tyr Asn Ser Tyr Pro Leu
1 5

<210> 55

<211> 120

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成多肽

<400> 55

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Trp Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Arg Gly Gln Arg Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Arg Ile Asp Pro Asn Ser Gly Ser Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Asn Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asp Tyr Arg Lys Gly Leu Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 56

<211> 360

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成多核苷酸

<400> 56

[0031] gaggtccagc tggtagcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggctac agtgaaaatc 60
tcctgcaagg tttctggcta caccttcacc agttactgga tgtactgggt gcgacaggct 120
cgtggacaac gccttgagtg gataggtagg attgataccta atagtgggag tactaagtac 180
aatgagaagt tcaagaacag attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
cttcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc aagggactat 300
agaaaggggc tctatgctat ggactactgg ggccagggca ccaccgtgac cgtgtcctcc 360

<210> 57

<211> 1341

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成多核苷酸

<400> 57

gaggtccagc tggtagcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggctac agtgaaaatc 60
tcctgcaagg tttctggcta caccttcacc agttactgga tgtactgggt gcgacaggct 120
cgtggacaac gccttgagtg gataggtagg attgataccta atagtgggag tactaagtac 180
aatgagaagt tcaagaacag attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

	cttcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc aagggactat	300
	agaaaggggc tctatgctat ggactactgg ggccagggca ccaccgtgac cgtgtcctcc	360
	gcttcacca agggcccatc cgtcttcccc ctggcgccct gctccaggag cacctccgag	420
	agcacagccg ccctgggctg cctgggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacggtgtcg	480
	tggaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc cggtgtcct acagtccctca	540
	ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcagcttggg cacgaagacc	600
	tacacctgca acgtagatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagag agttgagtcc	660
	aaatatggtc ccccatgccc accgtgcccga gcacctgagt tcctgggggg accatcagtc	720
	ttcctgttcc ccccaaaacc caaggacact ctcatgatct cccggacccc tgaggtcacg	780
	tgcgtggtgg tggacgtgag ccaggaagac cccgaggtcc agttcaactg gtacgtggat	840
	ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagttcaa cagcacgtac	900
	cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaacggcaa ggagtacaag	960
	tgcaaggtgt ccaacaaagg cctcccgctc tccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa	1020
[0032]	gggcagcccc gagagccaca ggtgtacacc ctgcccccat cccaggagga gatgaccaag	1080
	aaccaggtca gcctgacctg cctgggtcaaa ggcttctacc ccagcgacat cgccgtggag	1140
	tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgccctccgt gctggactcc	1200
	gacggctcct tcttcctcta cagcaggcta accgtggaca agagcaggtg gcaggagggg	1260
	aatgttcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac acagaagagc	1320
	ctctccctgt ctctgggtaa a	1341

<210> 58

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成多肽

<400> 58

Ala	Ile	Gln	Leu	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly
1				5				10						15	

Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Lys	Ala	Ser	Gln	Asp	Val	Gly	Thr	Ala
			20					25					30		

Val Ala Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ala
65 70 75 80

Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 59

<211> 321

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

[0033] <223> 人工序列的描述：合成多核苷酸

<400> 59

gccatccagt tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgca aggccagtc g gatgtgggt actgctgtag cctggtagct gcagaagcca 120

gggcagtctc cacagctcct gatctattgg gcatccacc ggcacactgg ggtcccctcg 180

aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcaccttta ccatcagtag cctggaagct 240

gaagatgctg caacatatta ctgtcagcag tataacagct atcctctcac gttcggccaa 300

gggaccaagg tggaaatcaa a 321

<210> 60

<211> 214

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成多肽

<400> 60

Ala Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Gly Thr Ala
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ala
65 70 75 80

Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

[0034]

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 61

<211> 642

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成多核苷酸

<400> 61

```

gccatccagt tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc      60
atcacttgca aggccagtca ggatgtgggt actgctgtag cctggtacct gcagaagcca      120
gggcagtctc cacagtcctt gatctattgg gcattcaccc ggcacactgg ggtcccctcg      180
aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttacacctta ccatcagtag cctggaagct      240
gaagatgctg caacatatta ctgtcagcag tataacagct atcctctcac gttcggccaa      300
gggaccaagg tggaaatcaa acgtacggtg gctgcaccat ctgtcttcat cttcccgcca      360
tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgtttgtg gcctgtgaa taacttctat      420
cccagagagg ccaaagtaca gtggaagggt gataacgccc tccaatcggg taactcccag      480
gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg      540
ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc      600
ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gt                        642

```

[0035]

<210> 62

<211> 447

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成多肽

<400> 62

```

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1           5           10           15

Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
          20           25           30

Trp Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Arg Gly Gln Arg Leu Glu Trp Ile
          35           40           45

Gly Arg Ile Asp Pro Asn Ser Gly Ser Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
          50           55           60

Lys Asn Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65           70           75           80

```

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asp Tyr Arg Lys Gly Leu Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

[0036]

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro
210 215 220

Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val
225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu
260 265 270

Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile
325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
340 345 350

Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
385 390 395 400

[0037]

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
405 410 415

Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
435 440 445

<210> 63

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成肽

<400> 63

Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Trp Met Tyr
1 5 10

具有式 I 的化合物的单盐酸盐水合物盐（本文中被指定为 A 型）的 XRPD 谱

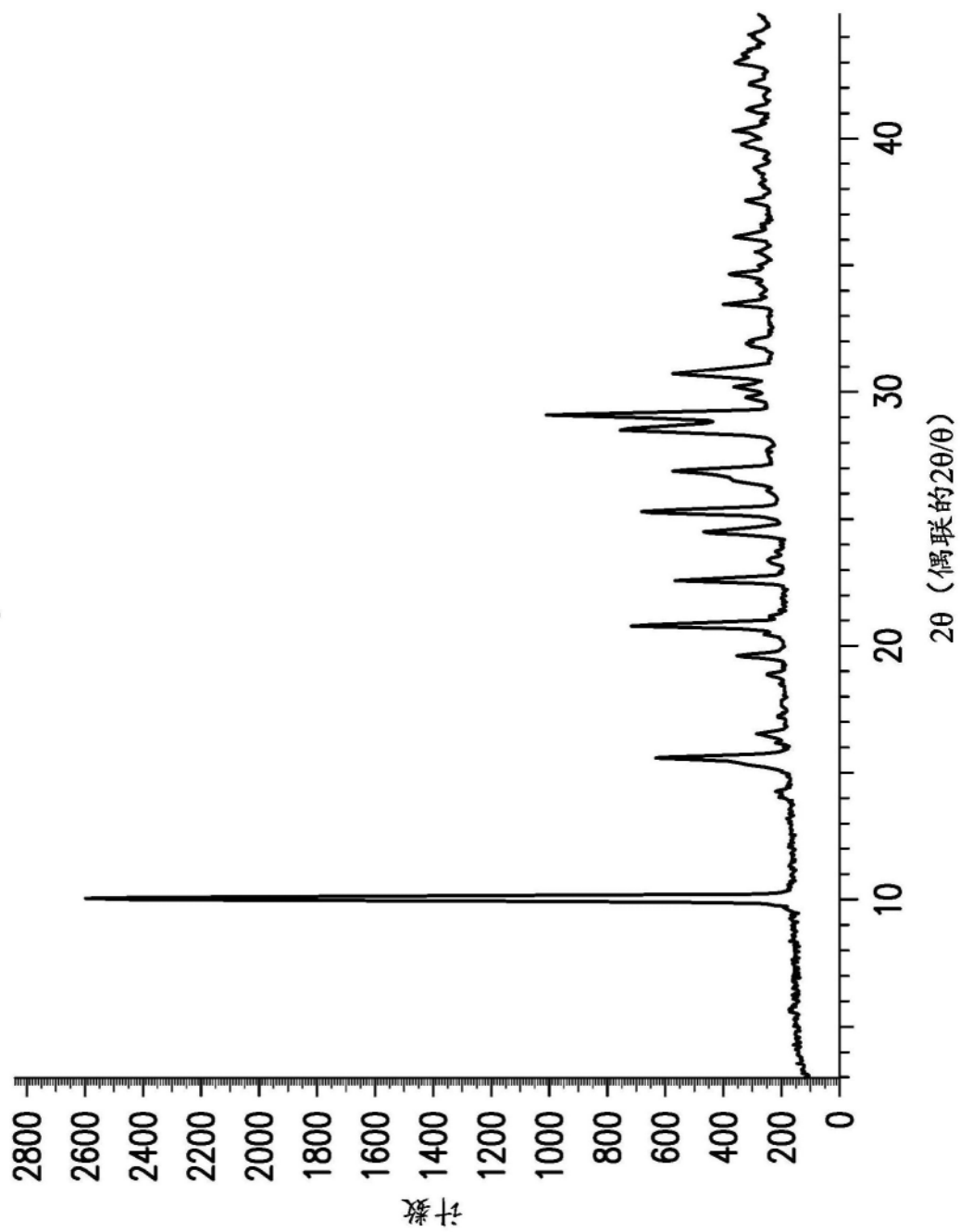


图1

具有式 I 的化合物的单盐酸盐水合物盐（本文中被指定为 A 型）的 DSC/TGA.

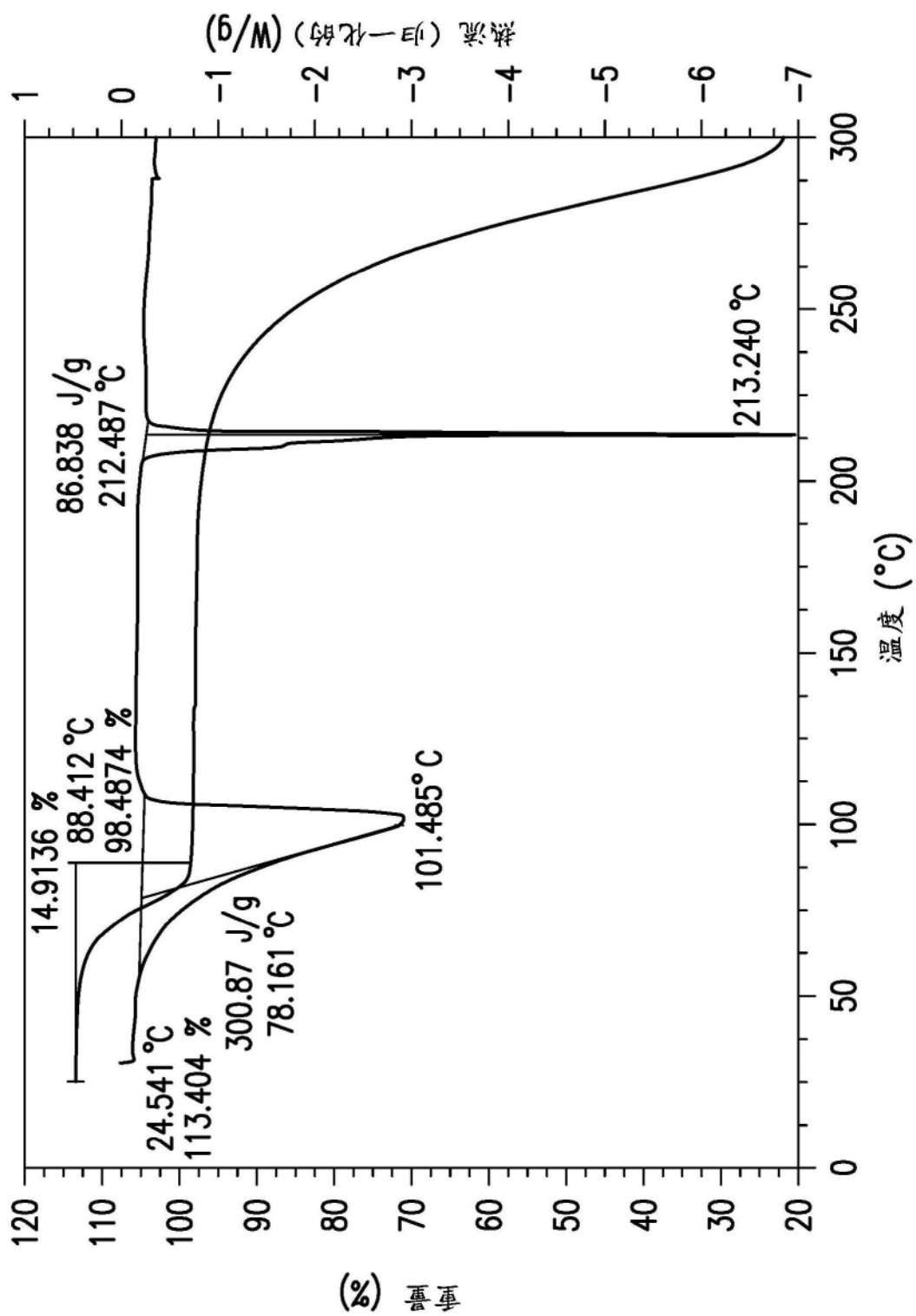


图2

具有式 I 的化合物的二盐酸盐水合物盐（本文中被指定为 B 型）的 XRPD 谱

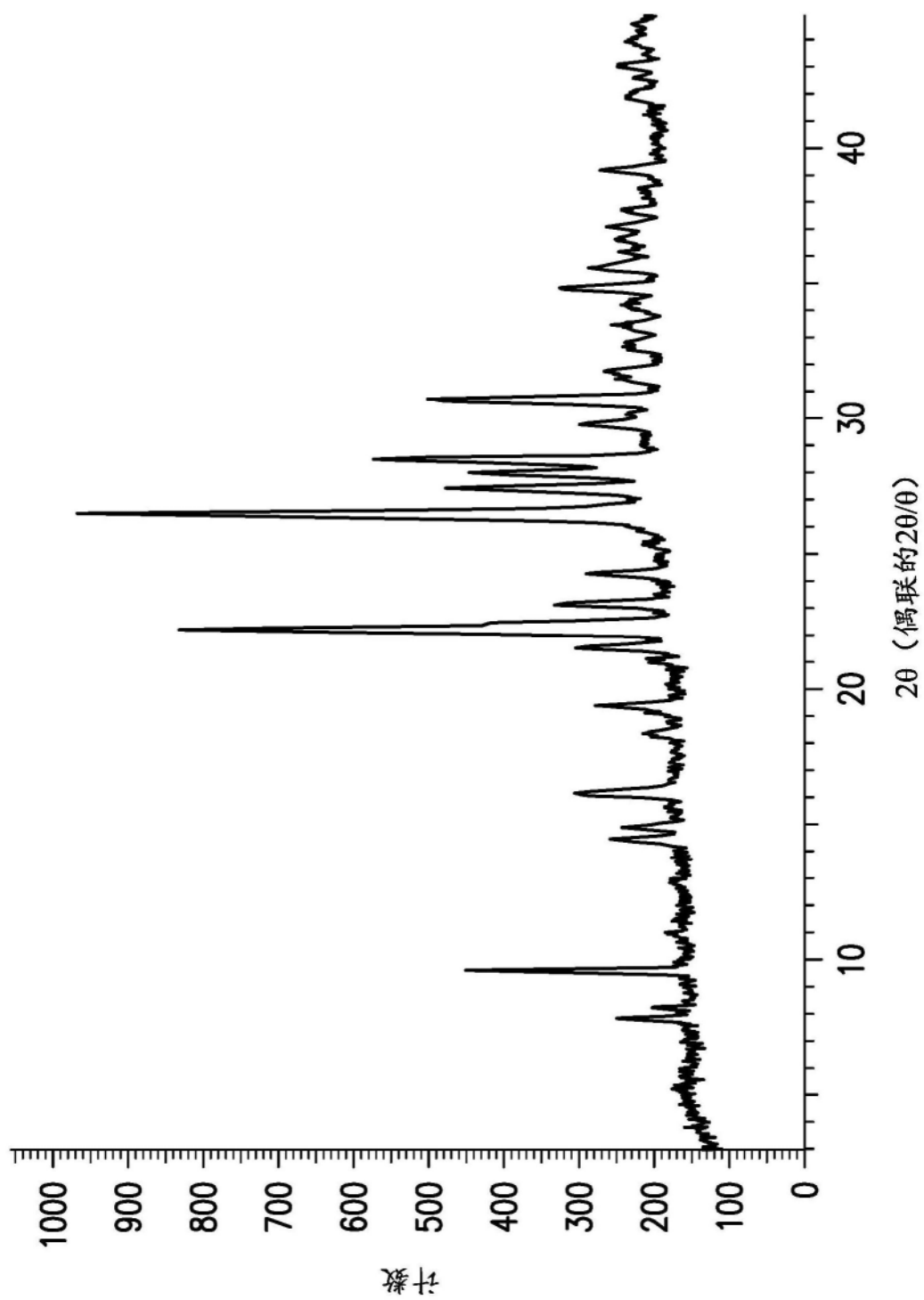


图3

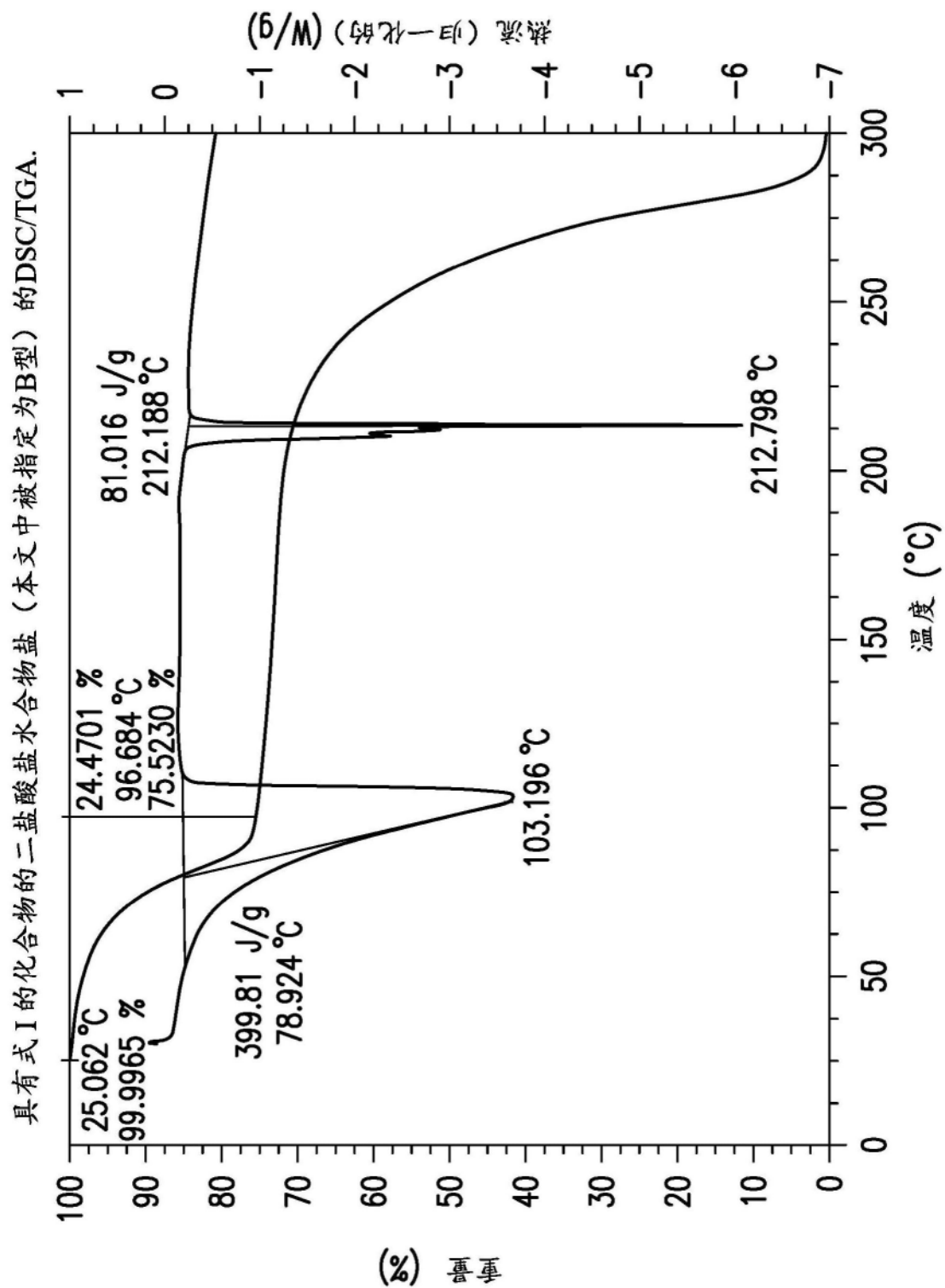


图4

具有式 I 的化合物的硫酸盐（本文中被指定为 C 型）的 XRPD 谱。

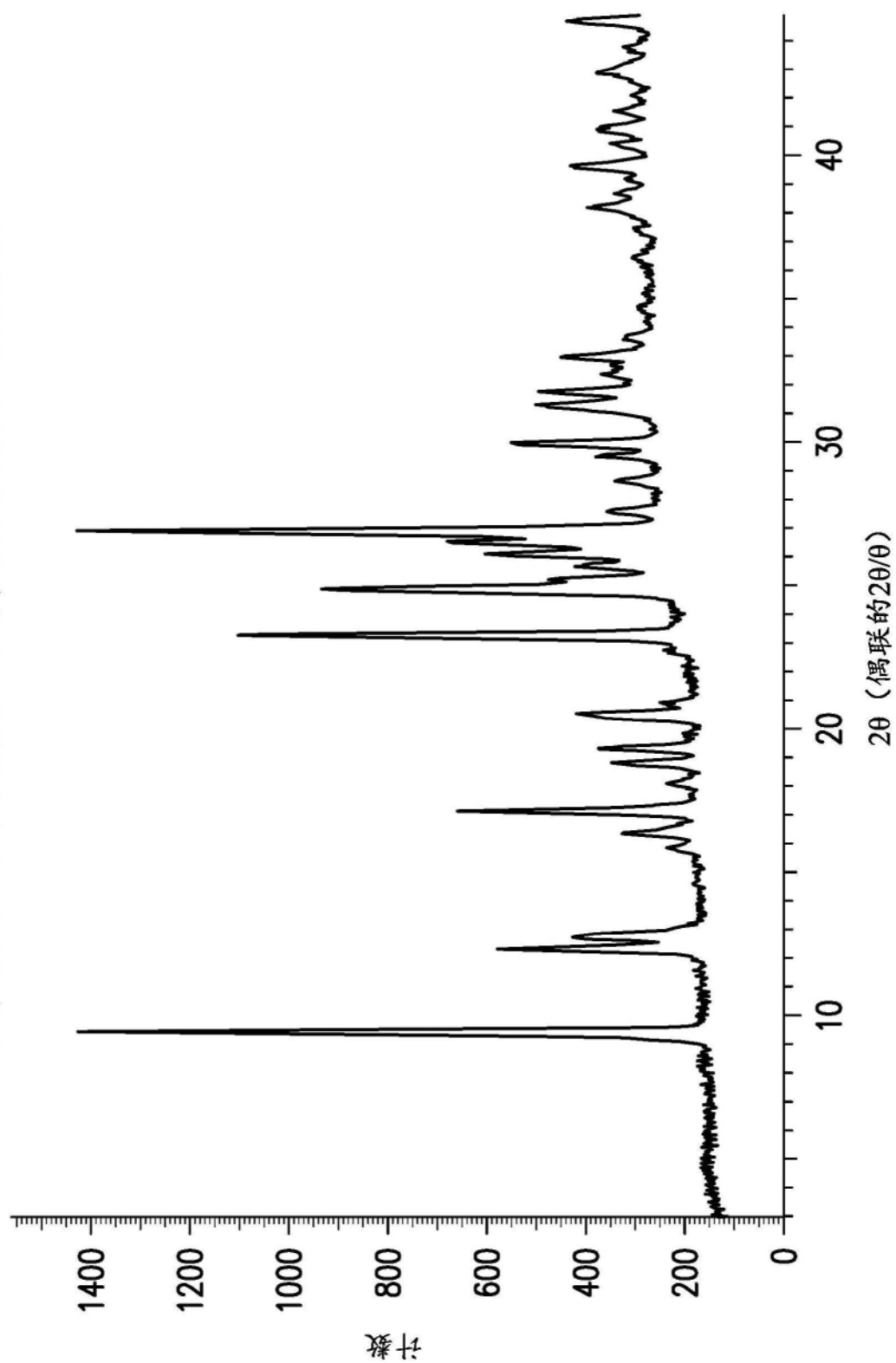


图5

提供了具有式 I 的化合物的硫酸盐 (本文中被指定为 C 型) 的说明性 DSC/TGA.

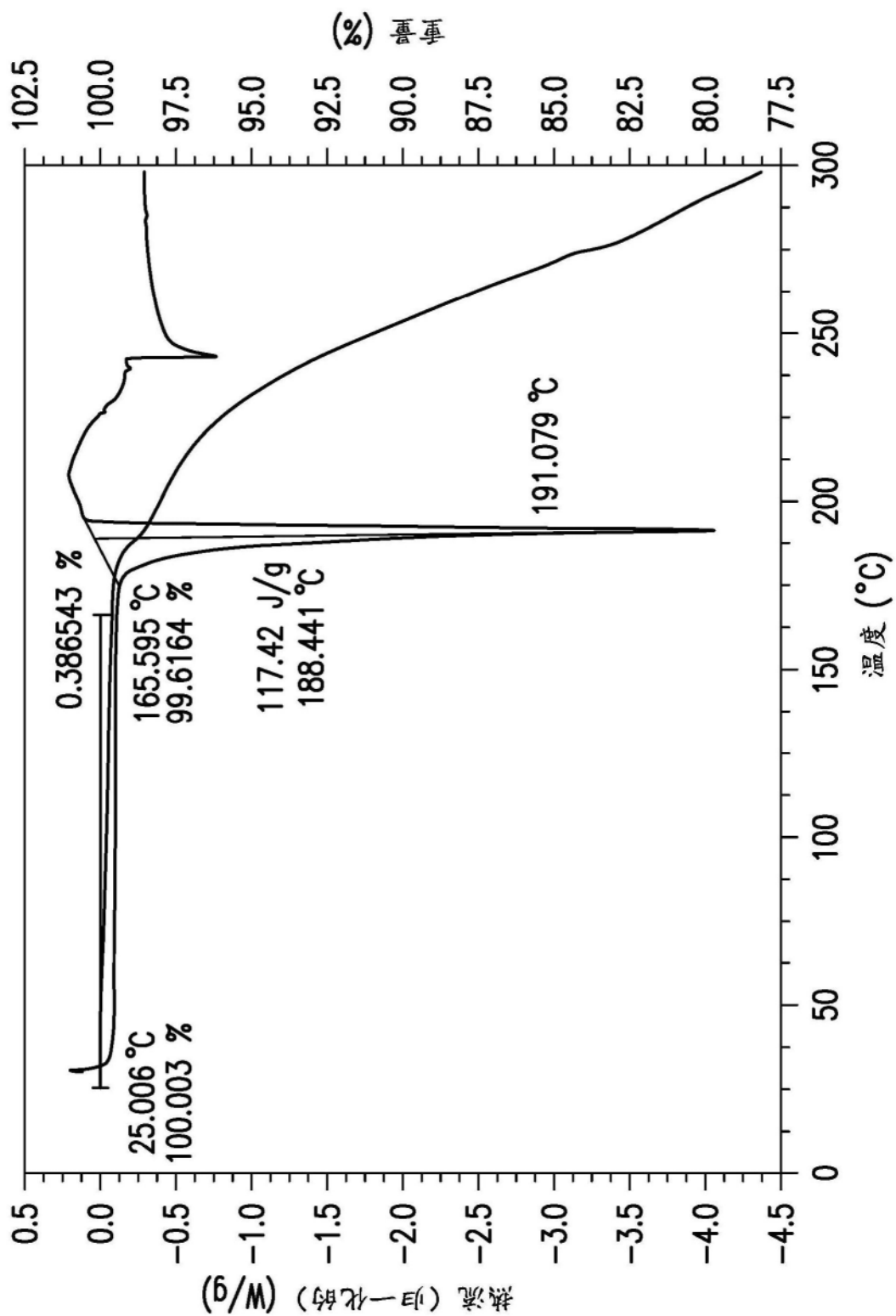


图6

提供了具有式 I 的化合物的甲磺酸盐（变型1）（本文中被指定为D型）的说明性XRPD谱。

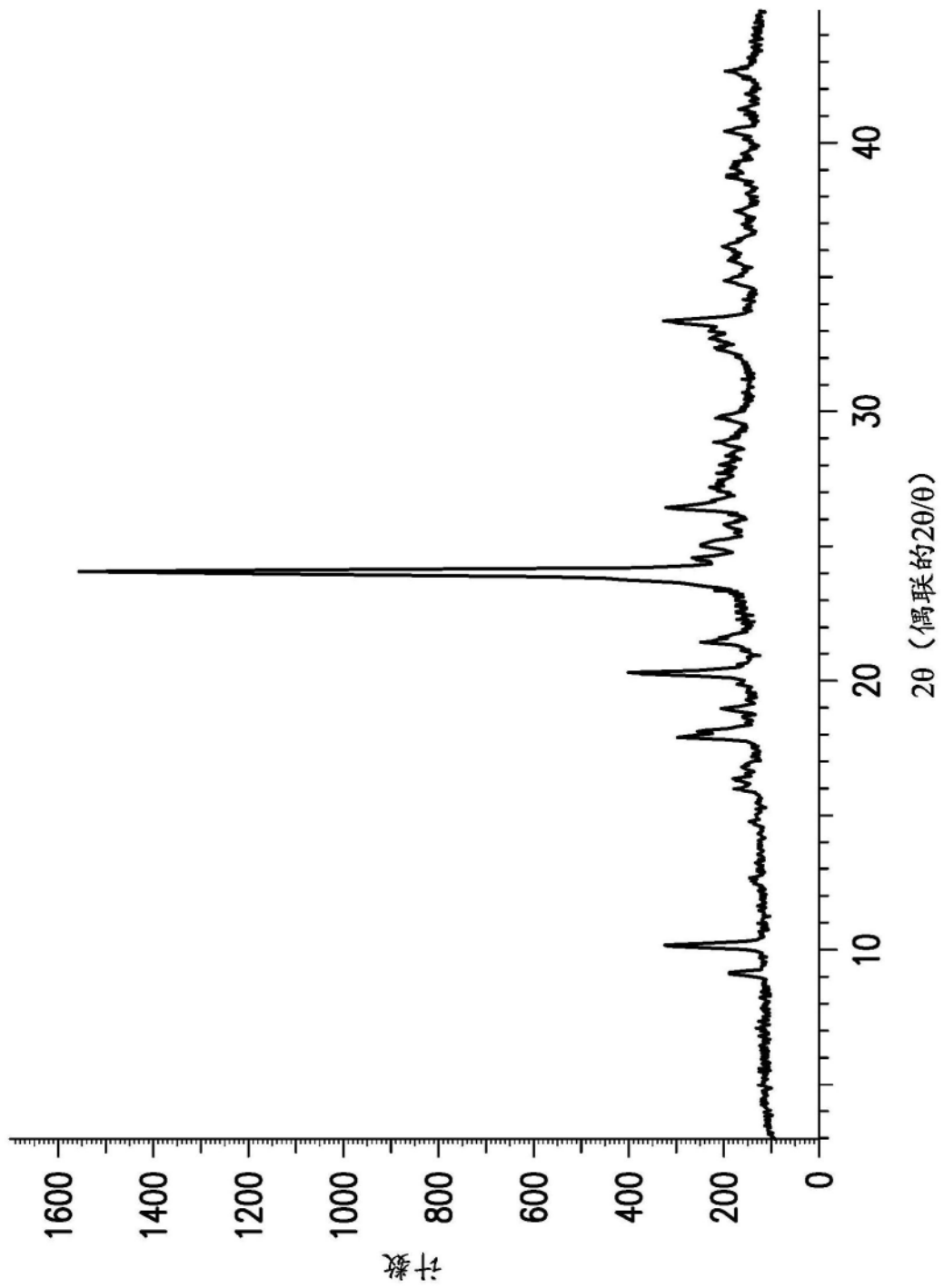


图7

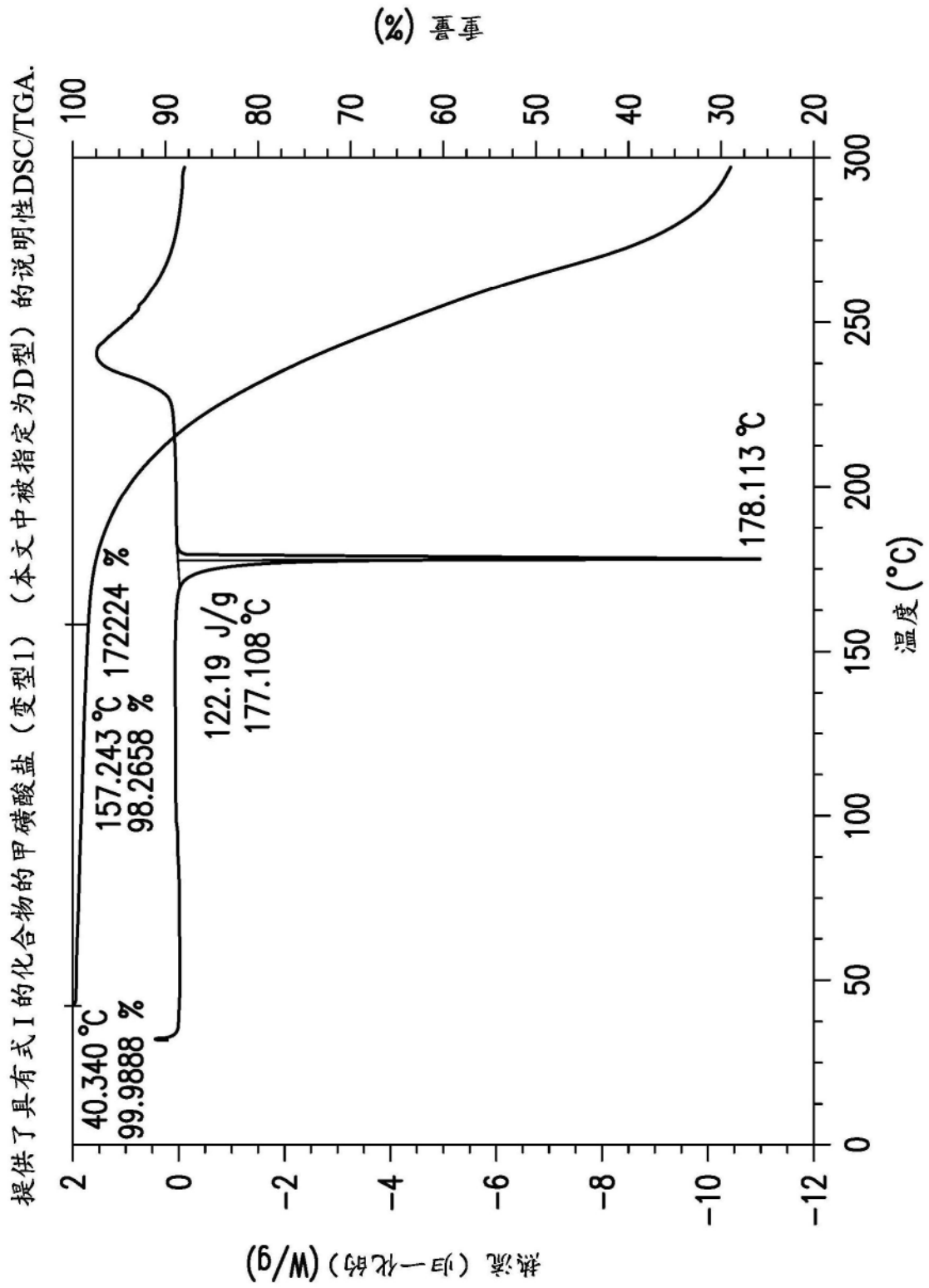


图8

提供了具有式 I 的化合物的甲磺酸盐（变型2）（本文中被指定为E型）的说明性XRPD谱。

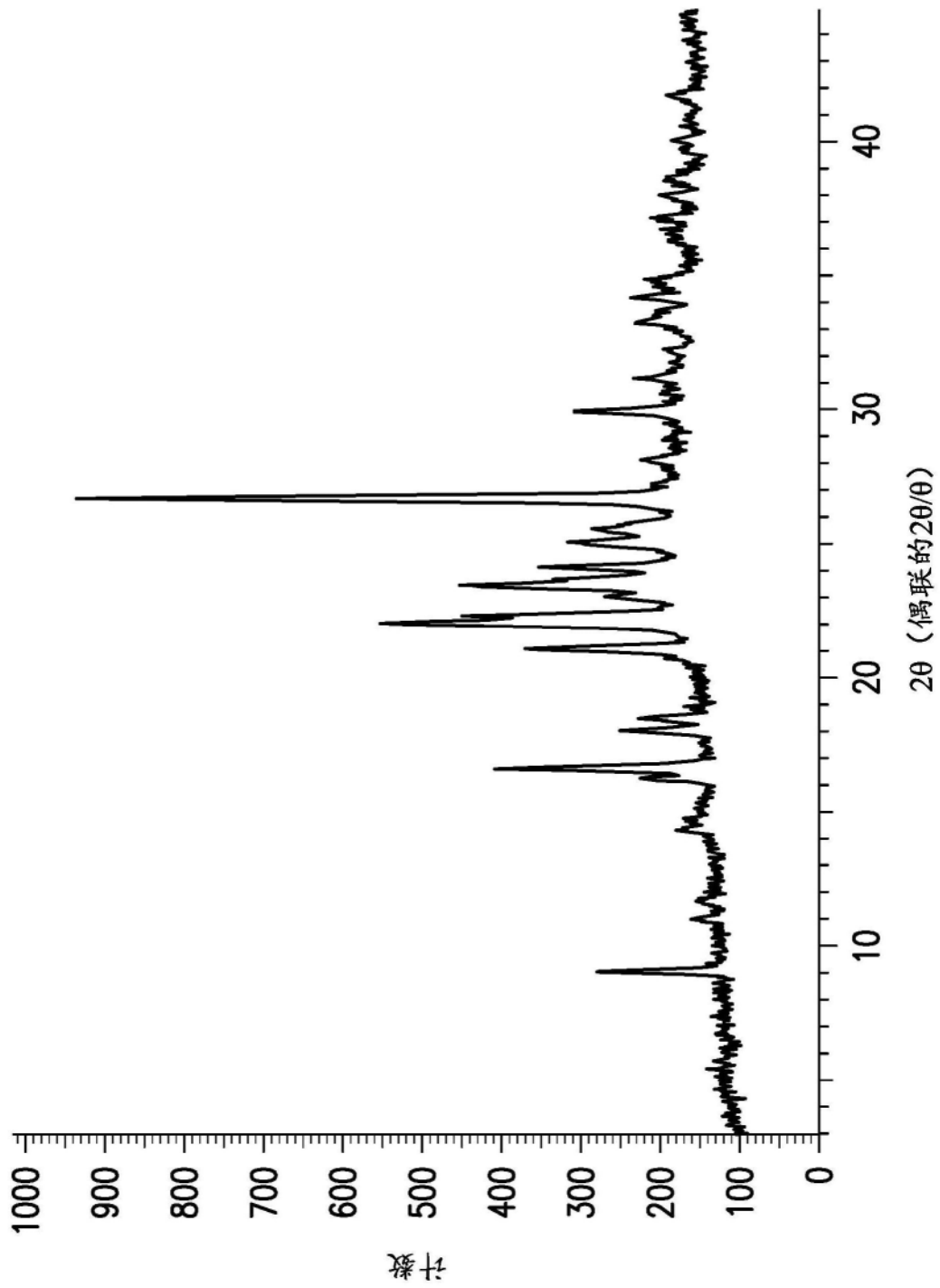


图9

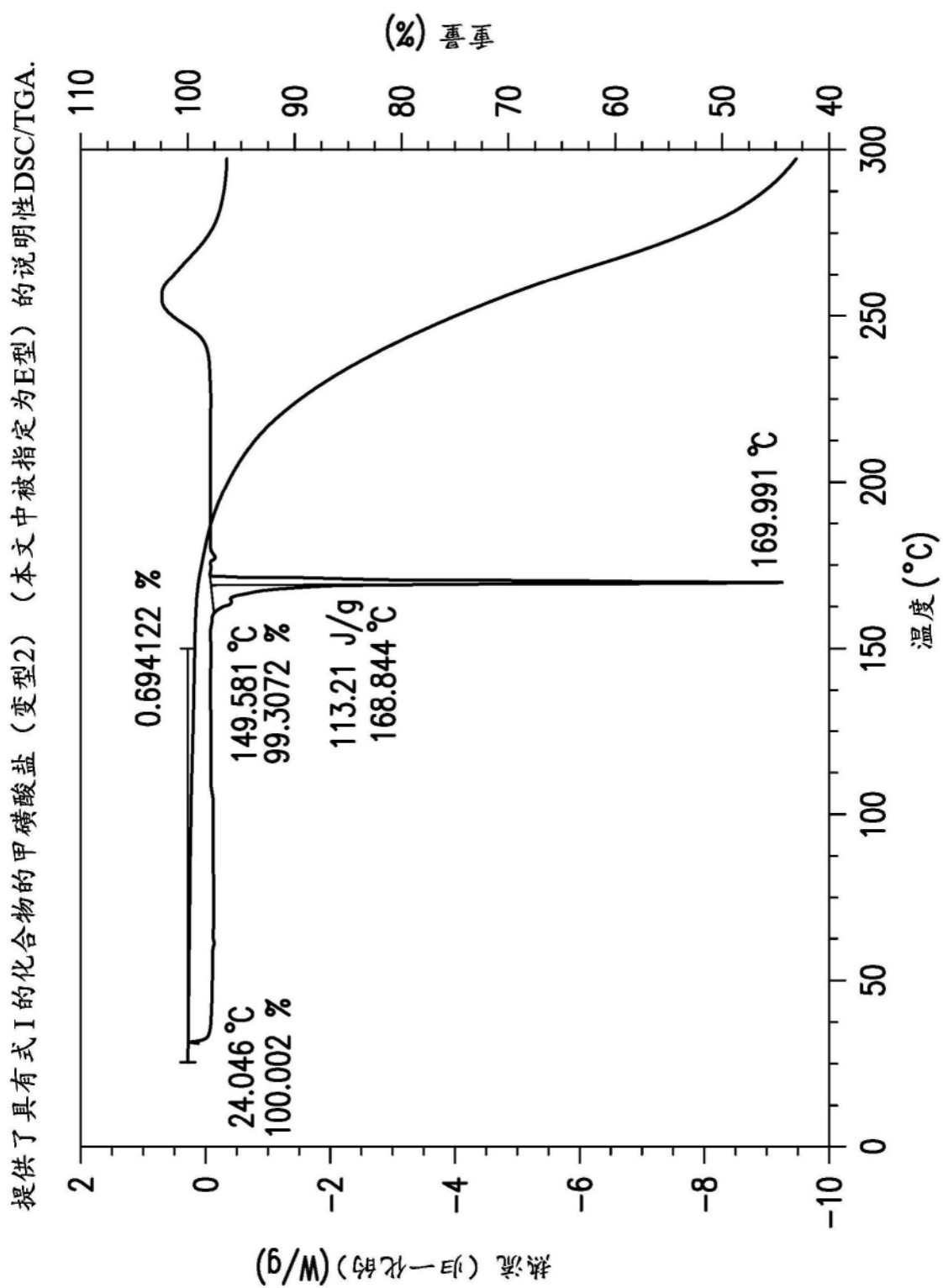


图10

提供了具有式 I 的化合物的游离形式（变型1）（本文中被指定为F型）的说明性XRPD谱。

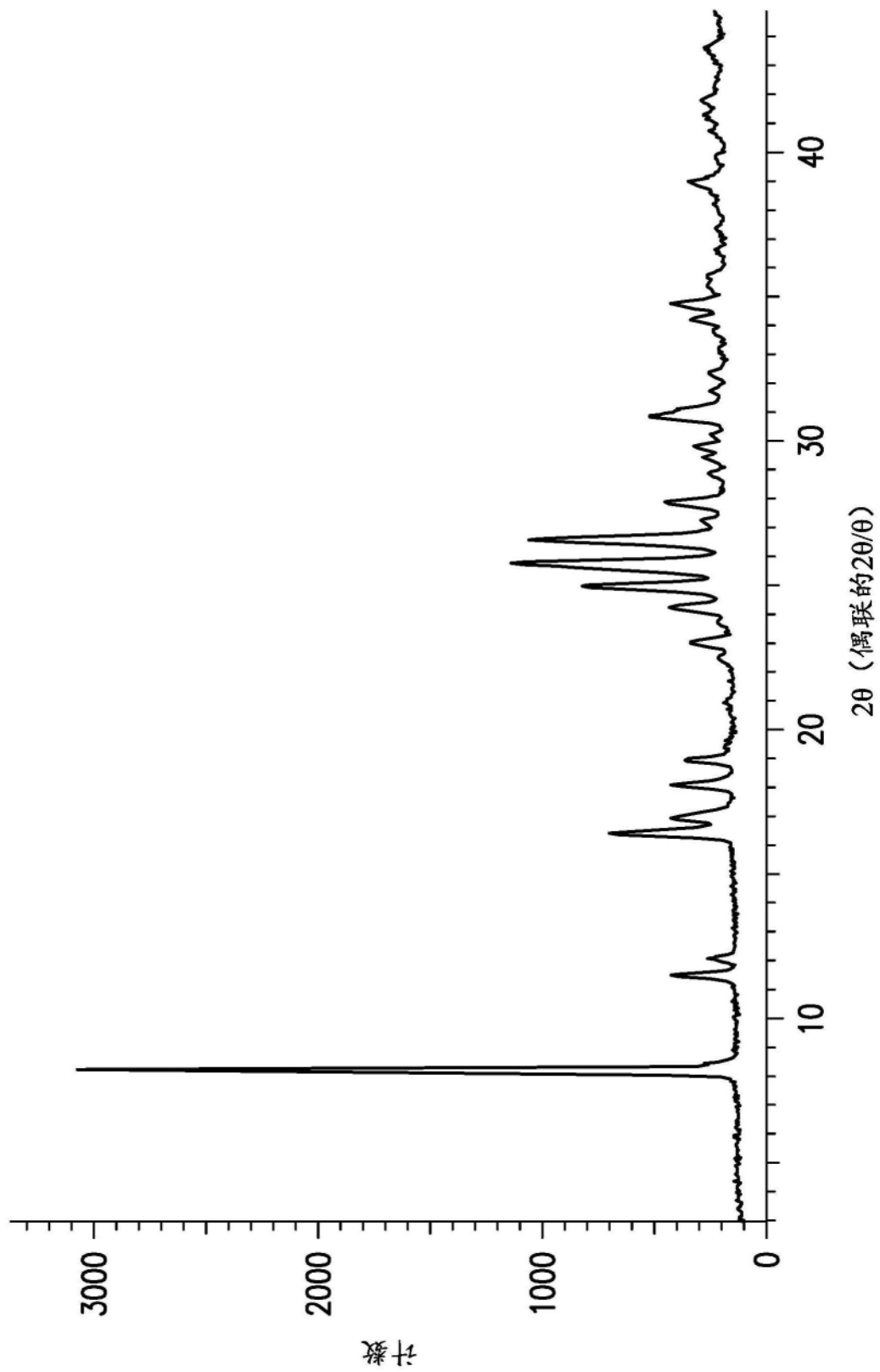


图11

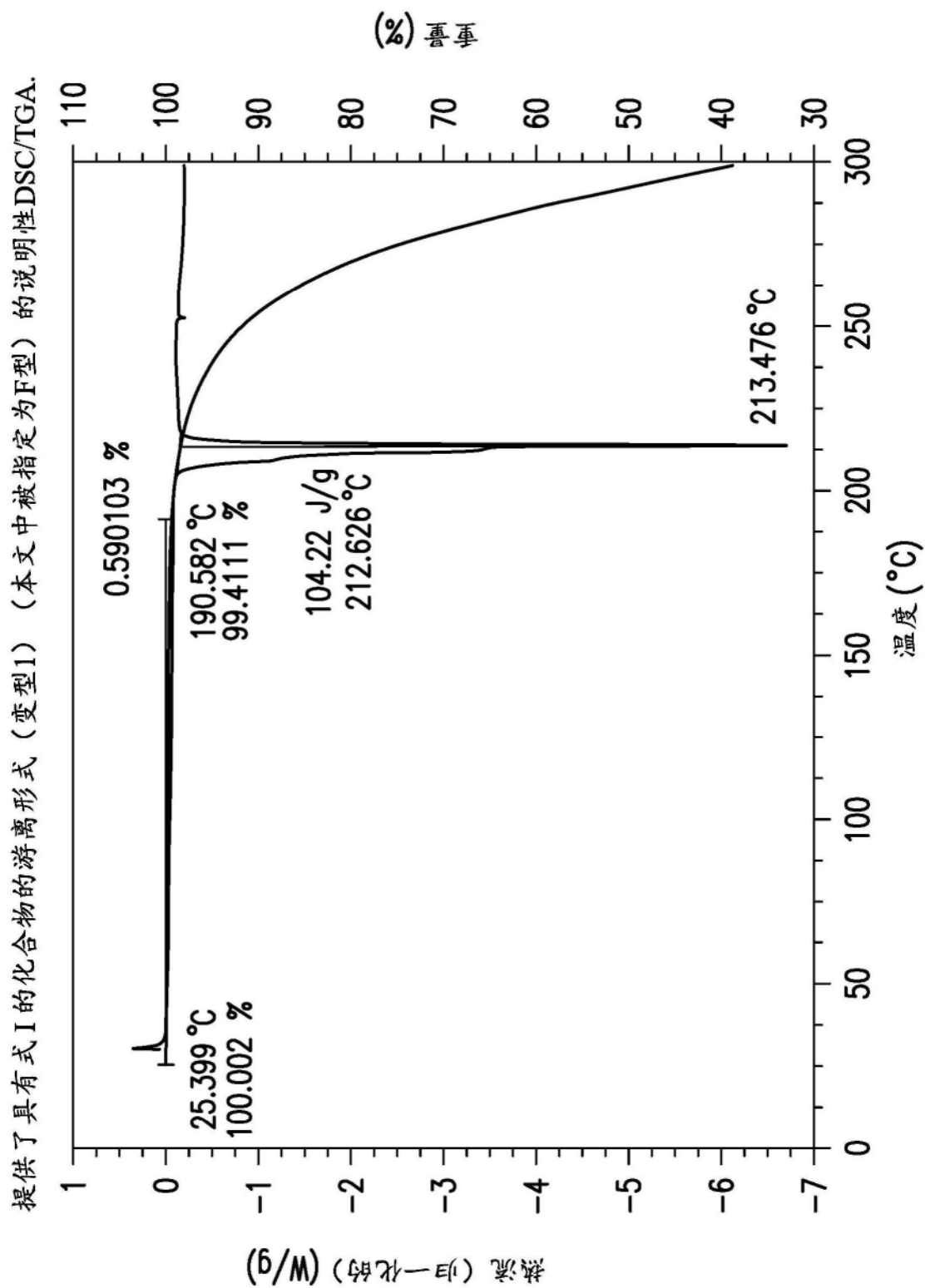


图12

提供了具有式 I 的化合物的游离形式 (变型2) (本文中被指定为 G 型) 的说明性 XRPD 谱。

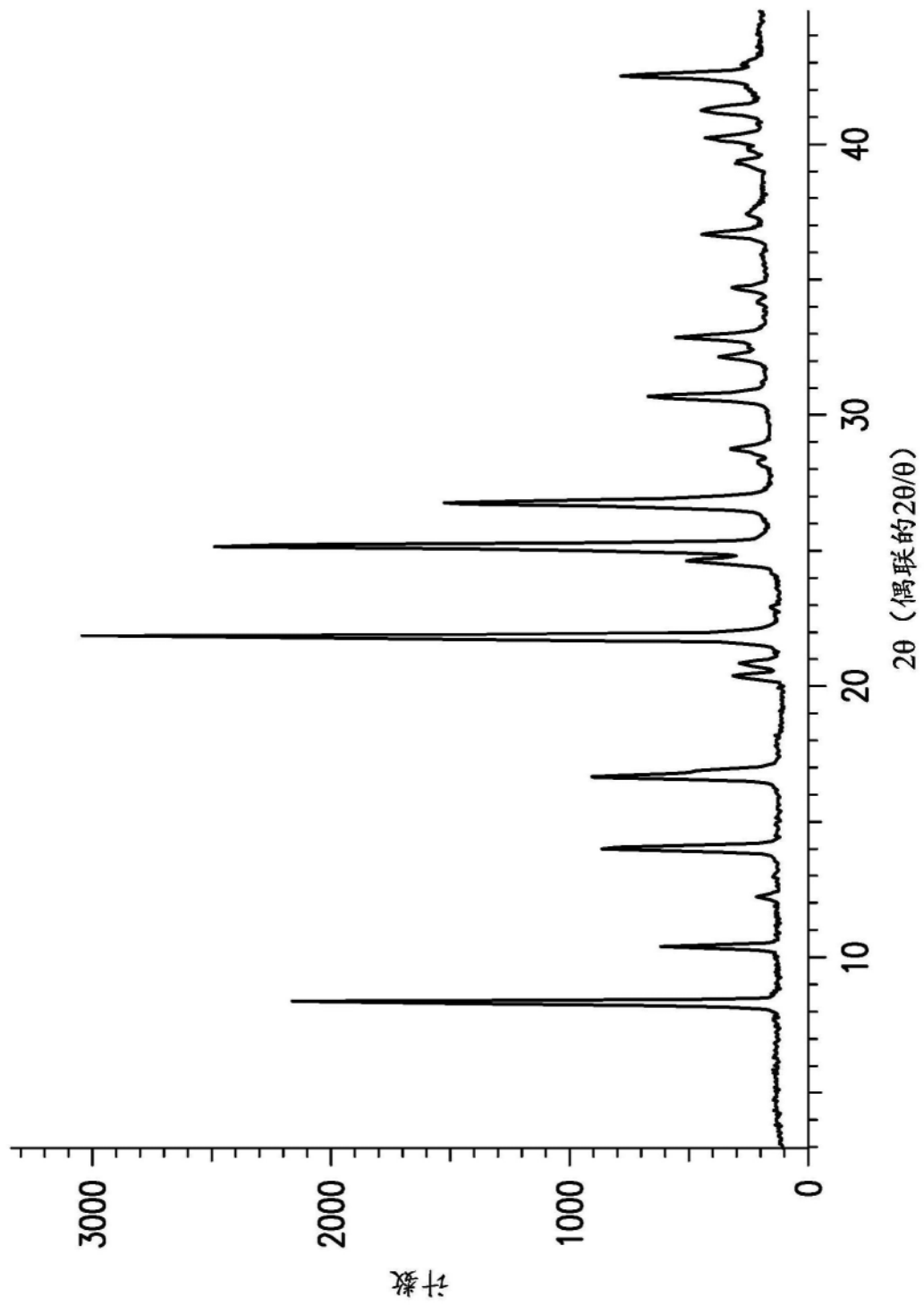


图13

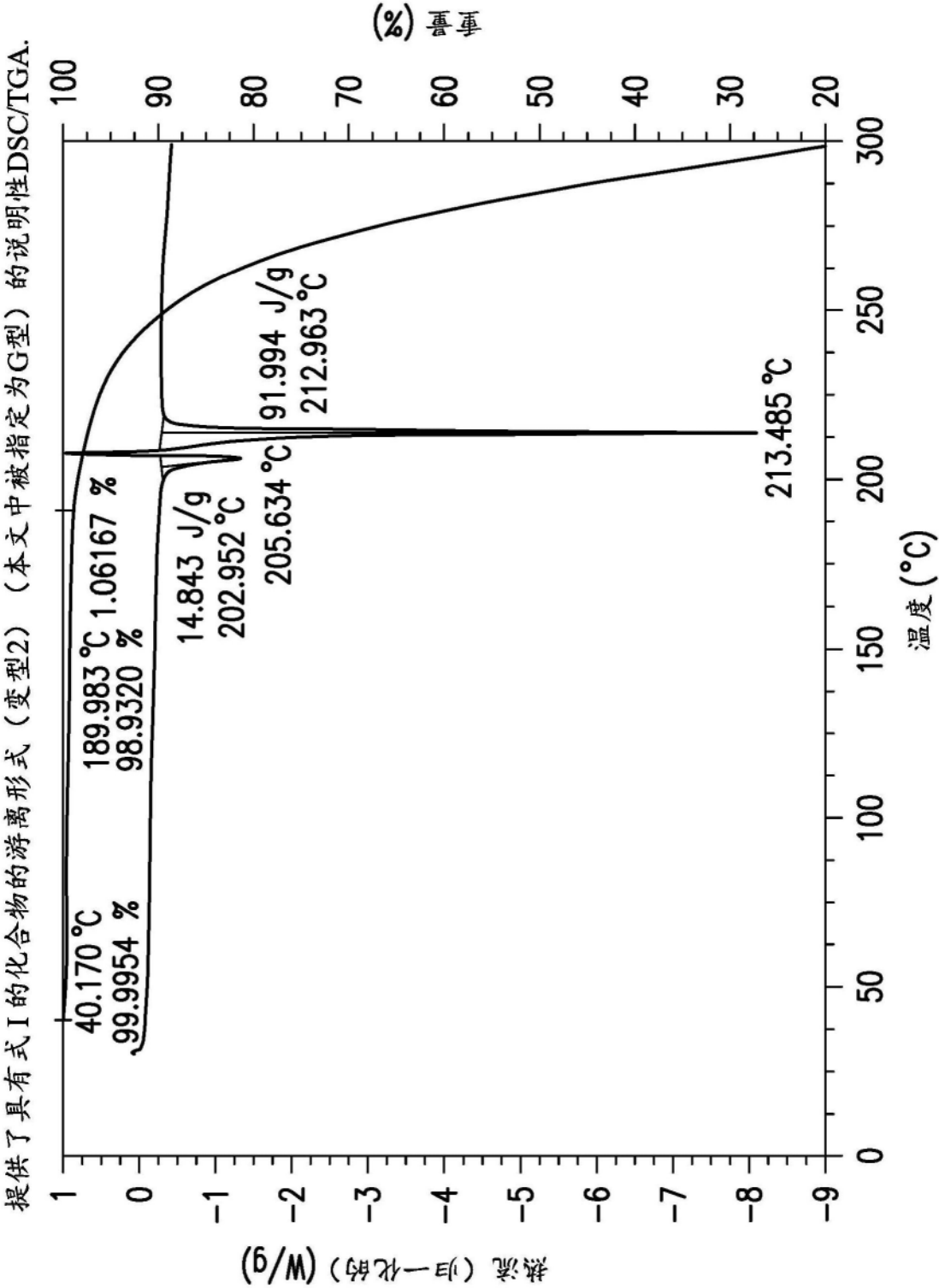


图14