



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 110256469 B

(45) 授权公告日 2022.05.17

(21) 申请号 201910645725.9

(22) 申请日 2013.10.11

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 110256469 A

(43) 申请公布日 2019.09.20

(30) 优先权数据
61/712,924 2012.10.12 US

(62) 分案原申请数据
201380053485.4 2013.10.11

(73) 专利权人 麦迪穆有限责任公司
地址 英国剑桥

(72) 发明人 菲利普·威尔逊·霍华德

(74) 专利代理机构 北京康信知识产权代理有限公司 11240

专利代理师 李海霞

(51) Int.Cl.
C07D 519/00 (2006.01)
A61K 31/551 (2006.01)
A61P 35/02 (2006.01)
A61K 47/68 (2017.01)

(56) 对比文件

CA 2795349 A1,2011.10.20

CA 2795349 A1,2011.10.20

CA 2795353 A1,2011.10.20

CN 103987718 A,2014.08.13

审查员 李磊

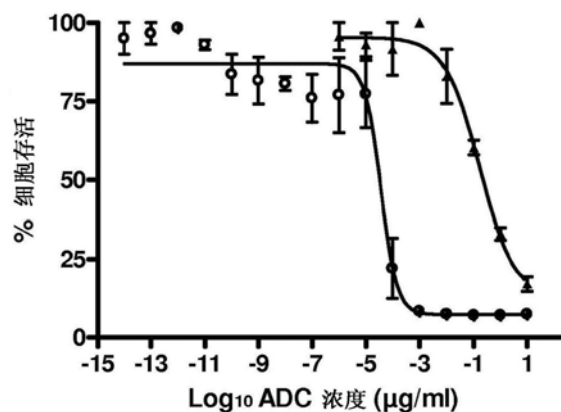
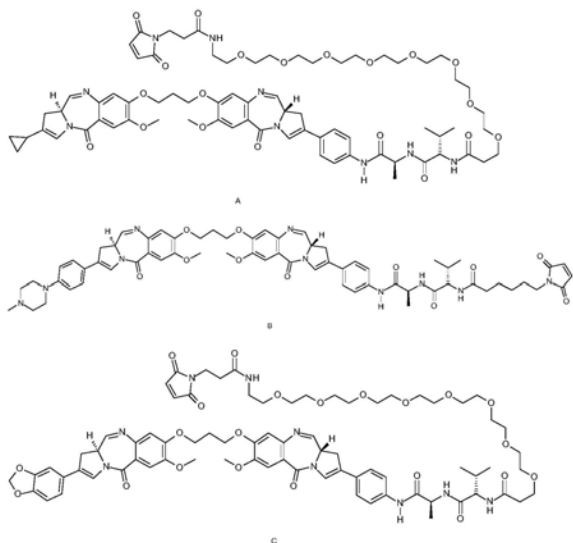
权利要求书3页 说明书109页 附图2页

(54) 发明名称

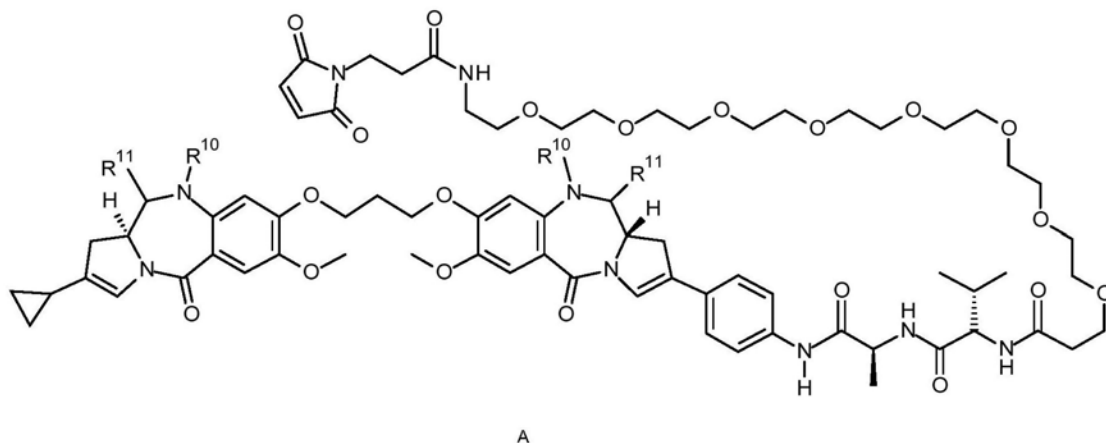
吡咯并苯并二氮杂卓及其结合物

(57) 摘要

本发明涉及吡咯并苯并二氮杂卓及其结合物。一种化合物,其选自A、B和C、以及其盐和溶剂化物,以及其与细胞结合剂的结合物。上述结合物允许释放并不保留接头的任何部分的活性PBD化合物。不存在可能影响PBD化合物的反应性的残余部分。



1. 一种化合物, 其为A, 或它的药用盐:

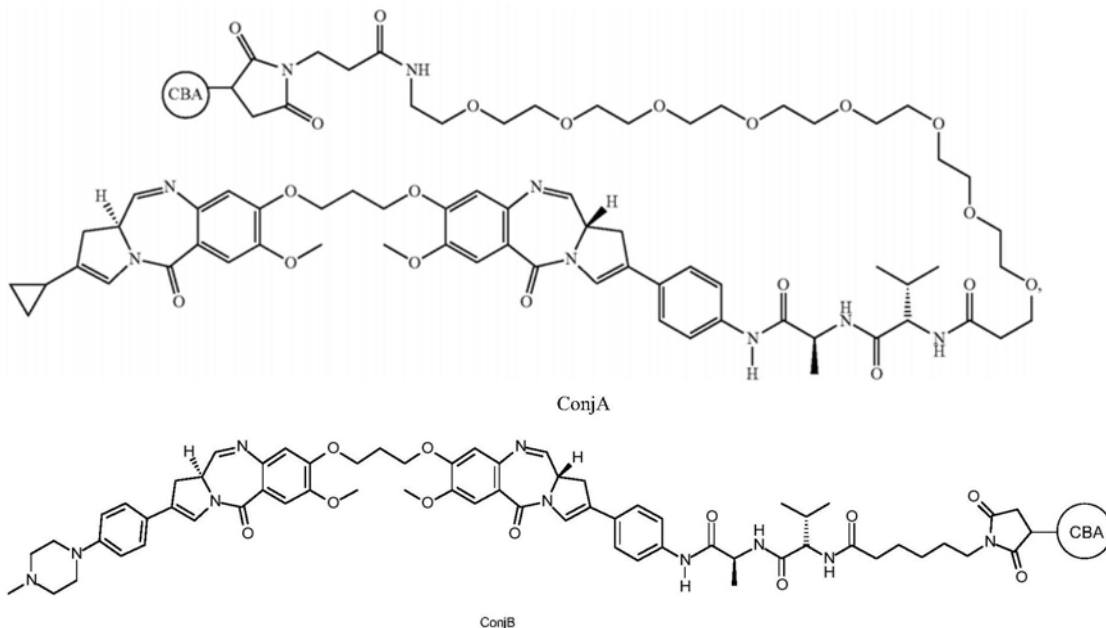


其中, R^{10} 和 R^{11}

(a) 在它们所结合的碳和氮原子之间形成双键; 或者

(b) 分别为H和 OR^A , 其中 R^A 选自H和 C_{1-4} 烷基。

2. 一种结合物, 选自由式ConjA和ConjB所构成的组:



其中CBA表示细胞结合剂。

3. 根据权利要求2所述的结合物, 其中, 所述细胞结合剂是抗体或其活性片段。

4. 根据权利要求3所述的结合物, 其中, 所述抗体或抗体片段是针对肿瘤相关抗原的抗体或抗体片段。

5. 根据权利要求3所述的结合物, 其中, 所述抗体或抗体片段是抗-Her2抗体或抗-CD25抗体。

6. 根据权利要求3所述的结合物, 其中, 所述抗体或抗体片段是半胱氨酸工程抗体。

7. 根据权利要求3所述的结合物, 其中, PBD二聚体药物(D) 对抗体(Ab) 的药物负载(p) 是1至8的整数。

8. 根据权利要求7所述的结合物, 其中, p是1、2、3、或4。

9. 根据权利要求7所述的结合物, 包含抗体-药物结合物化合物的混合物, 其中在抗体-药物结合物化合物的混合物中平均药物负载/抗体是2至5。

10. 一种药物组合物, 包含权利要求2所述的结合物, 以及药用稀释剂、载体或赋形剂。

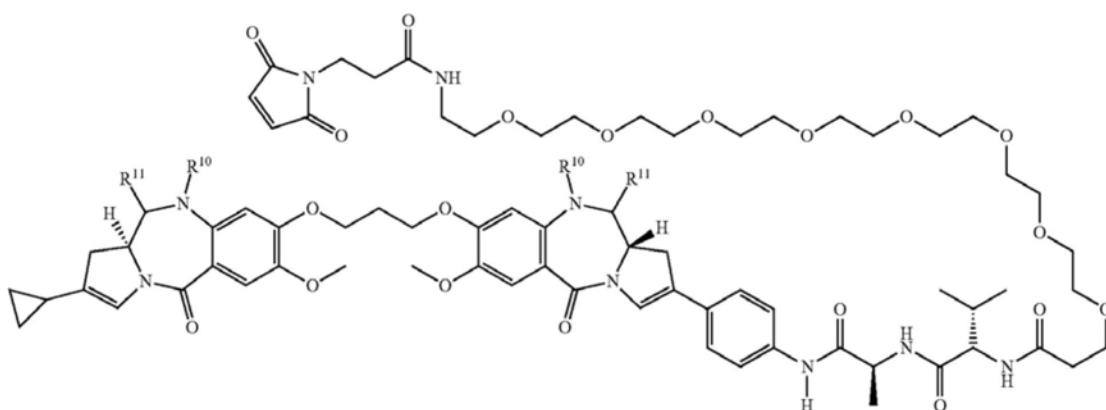
11. 根据权利要求10所述的药物组合物, 进一步包含治疗有效量的化疗剂。

12. 权利要求11所述的药物组合物在制备用于在患者中治疗癌症的药物中的用途,其中所述癌症是白血病。

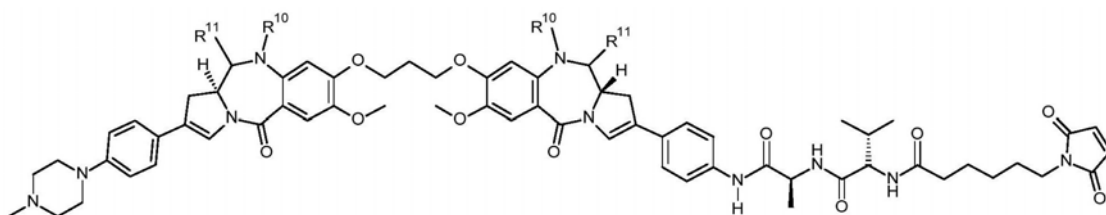
13. 根据权利要求12所述的用途, 其中, 连同所述结合物一起, 将化疗剂给予所述患者。

14. 一种制备根据权利要求2所述的结合物的方法,所述方法包括以下步骤:使细胞结合剂与如下所限定的化合物A或B反应:

A:



B:

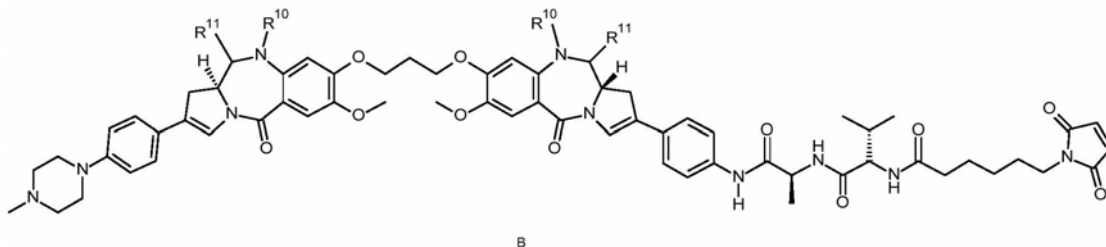


其中, R^{10} 和 R^{11}

(a) 在它们所结合的碳和氮原子之间形成双键;或者

(b) 分别为H和OR^A, 其中R^A选自H和C₁₋₄烷基。

15. 一种化合物, 其为B, 或它的药用盐:

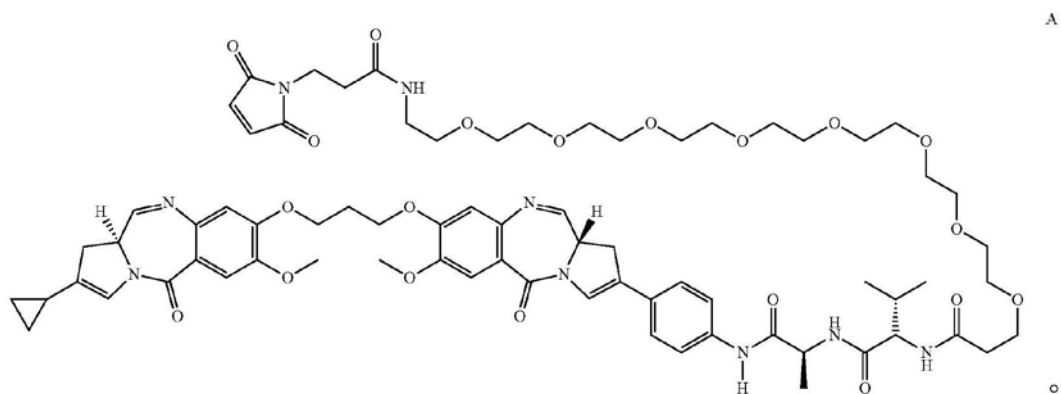


其中, R^{10} 和 R^{11}

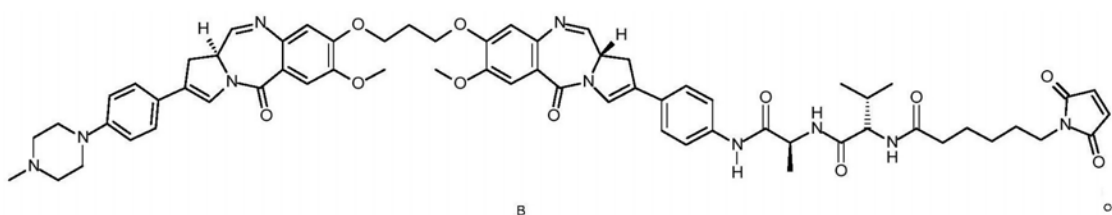
(a) 在它们所结合的碳和氮原子之间形成双键;或者

(b) 分别为H和OR^A,其中R^A选自H和C₁₋₄烷基。

16. 一种化合物, 其为A:



17. 一种化合物, 其为B:



吡咯并苯并二氮杂卓及其结合物

[0001] 本申请是申请日为2013年10月11日的题为“吡咯并苯并二氮杂卓及其结合物”的中国专利申请No.201380053485.4的分案申请。

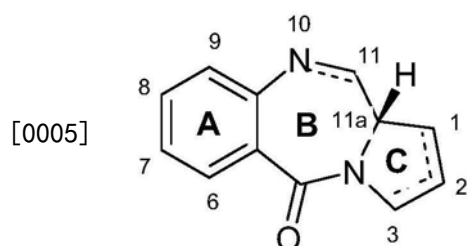
技术领域

[0002] 本发明涉及吡咯并苯并二氮杂卓 (吡咯并苯并二氮杂卓, pyrrolobenzodiazepines) (PBD), 尤其是这样的吡咯并苯并二氮杂卓, 其具有不稳定的C2保护基团, 形式为与细胞结合剂的接头。

背景技术

[0003] 吡咯并苯并二氮杂卓

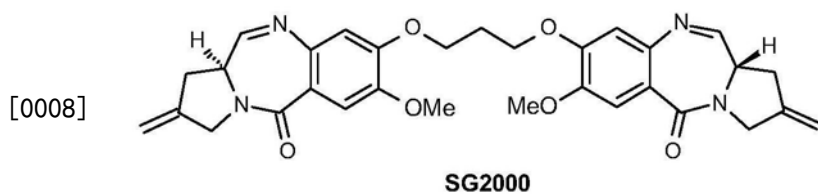
[0004] 一些吡咯并苯并二氮杂卓 (PBD) 具有识别和键合于DNA的特定序列的能力; 优选的序列是PuGpu。第一PBD抗肿瘤抗生素, 安曲霉素 (antramycin), 发现于1965年 (Leimgruber, et al., J. Am. Chem. Soc., 87, 5793-5795 (1965); Leimgruber, et al., J. Am. Chem. Soc., 87, 5791-5793 (1965))。自那以后, 已报道许多天然存在的PBD, 以及已开发用于各种类似物的10种以上的合成路线 (Thurston, et al., Chem. Rev. 1994, 433-465 (1994); Antonow, D. and Thurston, D. E., Chem. Rev. 2011 111 (4), 2815-2864)。家族成员包括修道院霉素 (abbeymycin) (Hochlowski, et al., J. Antibiotics, 40, 145-148 (1987))、契卡霉素 (chicamycin) (Konishi, et al., J. Antibiotics, 37, 200-206 (1984))、DC-81 (日本专利58-180 487; Thurston, et al., Chem. Brit., 26, 767-772 (1990); Bose, et al., Tetrahedron, 48, 751-758 (1992))、甲基氨基霉素 (Kuminoto, et al., J. Antibiotics, 33, 665-667 (1980))、新茴霉素A和B (Takeuchi, et al., J. Antibiotics, 29, 93-96 (1976))、porothramycin (Tsunakawa, et al., J. Antibiotics, 41, 1366-1373 (1988))、prothracarcin (Shimizu, et al., J. Antibiotics, 29, 2492-2503 (1982); Langley and Thurston, J. Org. Chem., 52, 91-97 (1987))、西班牙米星 (DC-102) (Hara, et al., J. Antibiotics, 41, 702-704 (1988); Itoh, et al., J. Antibiotics, 41, 1281-1284 (1988))、矛霉素 (sibiromycin) (Leber, et al., J. Am. Chem. Soc., 110, 2992-2993 (1988)) 和托马霉素 (tomamycin) (Arima, et al., J. Antibiotics, 25, 437-444 (1972))。PBD具有以下一般结构 (通式结构):



[0006] 它们的不同之处在于在它们的芳族A环和吡咯并C环中取代基的数量、类型和位置, 以及在于C环的饱和度。在B环中, 在N10-C11位置, 其是负责烷基化DNA的亲电中心, 存在

亚胺($N=C$)、甲醇胺($NH-CH(OH)$)、或甲醇胺甲基醚($NH-CH(OMe)$)。所有已知的天然产物在手性C11a位置处具有(S)-构型,当从C环向着A环观看时,其为它们提供右手扭转。这给予它们适当的三维形状,用于与B型DNA的小沟的相似的螺旋性(同螺旋性),从而导致在结合位点处的滑动配合(snug fit) (Kohn, In Antibiotics III. Springer-Verlag, New York, pp.3-11 (1975); Hurley and Needham-VanDevanter, Acc.Chem.Res., 19, 230-237 (1986))。它们在小沟(minor groove)中形成加合物的能力使得它们能够干扰DNA加工,因而使得它们可以用作抗肿瘤剂。

[0007] 描述了特别有利的吡咯并苯并二氮杂萘化合物:Gregson et al. (Chem.Comm.1999, 797-798) 作为化合物1,以及Gregson et al. (J.Med.Chem.2001, 44, 1161-1174) 作为化合物4a。此化合物,还被称为SG2000,被示于以下:



[0009] WO 2007/085930描述了二聚体PBD化合物的制备,其中上述二聚体PBD化合物具有连接基团,用于连接于细胞结合剂,如抗体。接头存在于连接二聚体的单体PBD单元的桥中。

[0010] 在WO 2011/130613和WO 2011/130616中,本发明人已经描述了二聚体PBD化合物,其具有连接基团,用于连接于细胞结合剂,如抗体。在这些化合物中的接头经由C2位置连接于PBD核心,并通常通过在连接基团上的酶的作用被切割。

[0011] 抗体-药物结合物(conjugate)

[0012] 抗体疗法已建立用于靶向治疗患有癌症、免疫疾病和和血管生成疾病的患者(Carter, P. (2006) Nature Reviews Immunology 6:343-357)。抗体-药物结合物(ADC),即免疫结合物,用于局部递送细胞毒性剂或细胞抑制剂,即药物以在癌症的治疗中杀死或抑制肿瘤细胞的应用,靶向递送药物部分到肿瘤,以及在其中的细胞内积累,而这些非结合(nonconjugated)药剂的全身给予可以导致不可接受水平的对正常细胞的毒性(Xie et al (2006) Expert Opin. Biol. Ther. 6 (3) :281-291; Kovtun et al (2006) Cancer Res. 66 (6) :3214-3121; Law et al (2006) Cancer Res. 66 (4) :2328-2337; Wu et al (2005) Nature Biotech. 23 (9) :1137-1145; Lambert J. (2005) Current Opin. in Pharmacol. 5:543-549; Hamann P. (2005) Expert Opin. Ther. Patents 15 (9) :1087-1103; Payne, G. (2003) Cancer Cell 3:207-212; Trail et al (2003) Cancer Immunol. Immunother. 52:328-337; Syrigos and Epenetos (1999) Anticancer Research 19:605-614)。

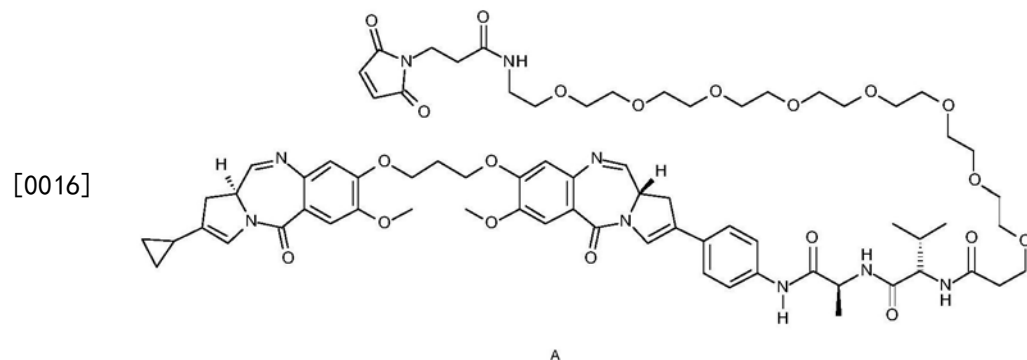
[0013] 因而寻求具有最小毒性的最大疗效。设计和完善ADC的努力已集中于单克隆抗体(mAb)的选择性、药物作用机制、药物连接、药物/抗体比率(负载)、和药物释放性能(Junutula, et al., 2008b Nature Biotech., 26 (8) :925-932; Dornan et al (2009) Blood 114 (13) :2721-2729; US 7521541; US 7723485; W02009/052249; McDonagh (2006) Protein Eng. Design & Sel. 19 (7) :299-307; Doronina et al (2006) Bioconj. Chem. 17:114-124; Erickson et al (2006) Cancer Res. 66 (8) :1-8; Sanderson et al (2005) Clin. Cancer Res. 11:843-852; Jeffrey et al (2005) J. Med. Chem. 48:1344-1358; Hamblett et al

(2004) Clin. Cancer Res. 10:7063-7070)。通过机制,包括微管蛋白结合、DNA结合、蛋白酶体和/或拓扑异构酶抑制,药物部分可以赋予它们的细胞毒性和细胞抑制效应。当结合于较大抗体或蛋白质受体配体时,一些细胞毒性药物倾向于是无活性或低活性的。

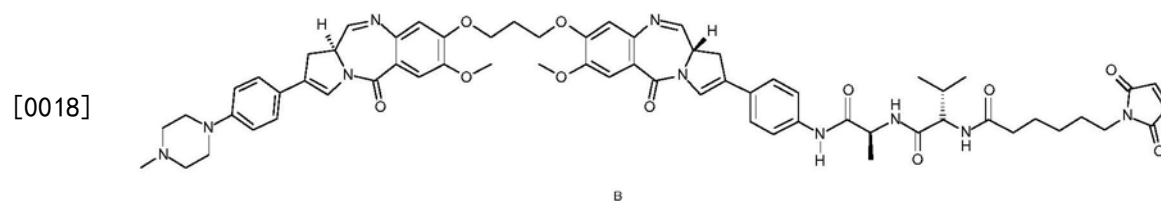
[0014] 本发明人已开发了特定的PBD二聚体,其具有连接基团,用于与细胞结合剂形成PBD结合物,以及尤其是PBD抗体结合物。

发明内容

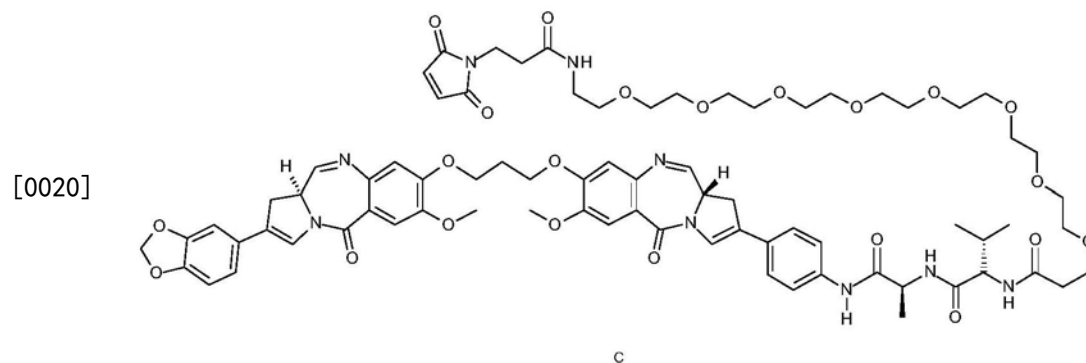
[0015] 在第一方面,本发明提供了化合物,其选自A:



[0017] B:

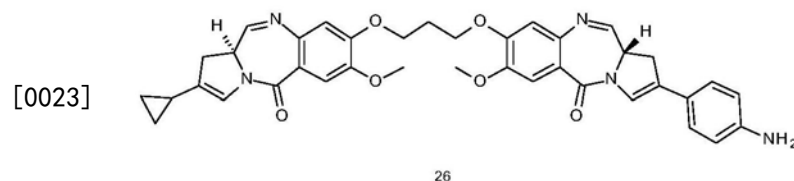


[0019] 和C:



[0021] 以及其盐和溶剂化物。

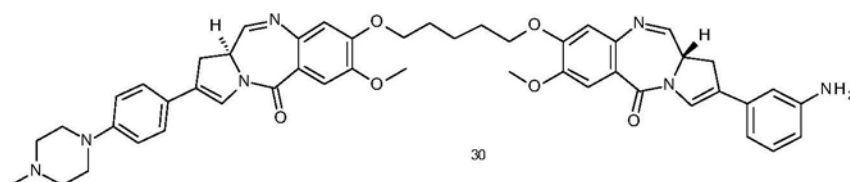
[0022] WO 2011/130615披露了化合物26:



[0024] 其是A的母体化合物。化合物A包含这种PBD,其具有用于连接于细胞结合剂的接头。细胞结合剂提供若干乙二醇部分以提供可用于结合物的合成的可溶性。

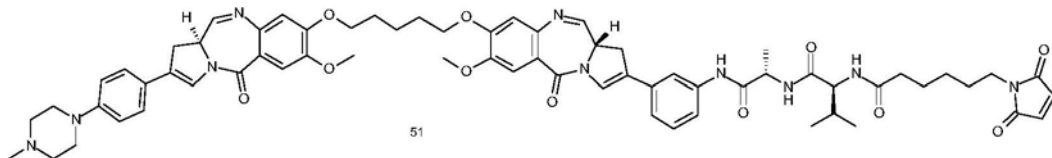
[0025] WO 2010/043380和WO 2011/130613披露了化合物30:

[0026]



[0027] WO 2011/130613还披露了化合物51:

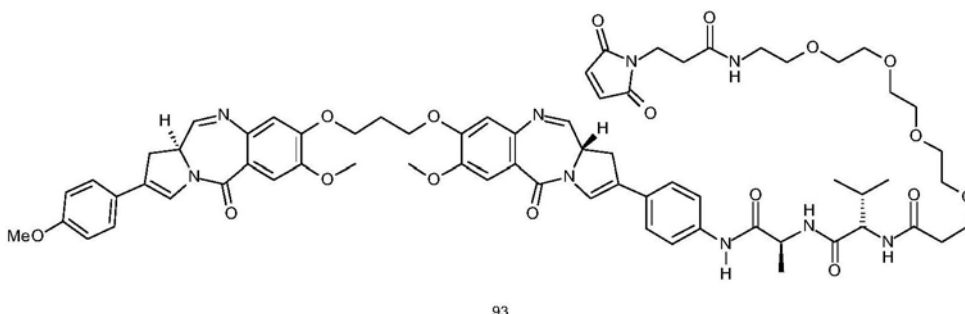
[0028]



[0029] 化合物B与化合物30的不同在于仅具有在PBD部分之间的 $(CH_2)_3$ 系链(tether),而不是 $(CH_2)_5$ 系链,其降低了释放的PBD二聚体的亲脂性。连接基团连接于在对位而不是在间位的C2-苯基。

[0030] WO 2011/130613披露了化合物93:

[0031]



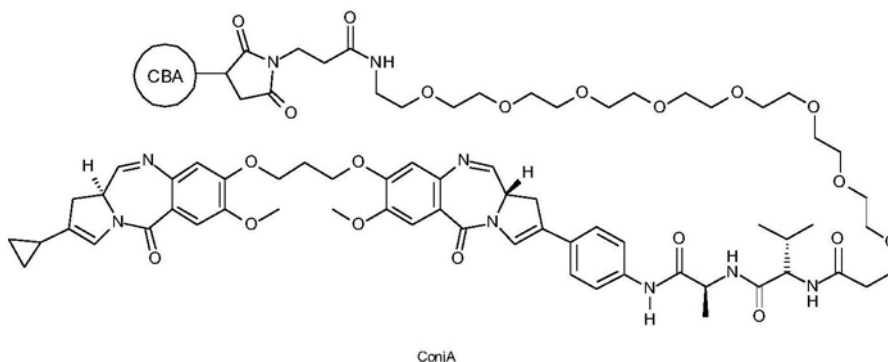
[0032] 化合物C在两个方面不同于此化合物。细胞结合剂提供增加数目的乙二醇部分以提供可用于结合物的合成的可溶性,以及苯基取代基提供两个而不是一个氧原子,其也有助于可溶性。化合物C的结构也可以意味着,它更有力地键合在小沟中(minor groove)。

[0033] 化合物A、B和C在每个C环中具有两个 sp^2 中心,相比于在每个C环中仅具有一个 sp^2 中心的化合物,其可以允许在DNA的小沟中的更强的结合。

[0034] 本发明的第二方面提供了以下化学式的结合物:

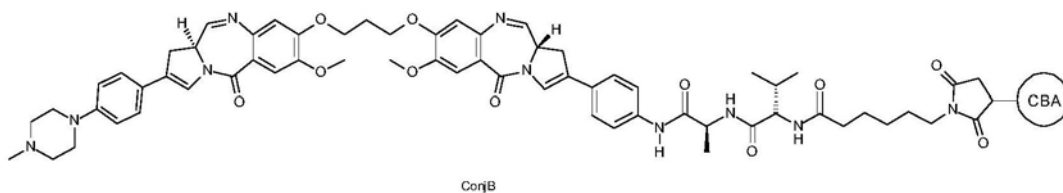
[0035] ConjA:

[0036]



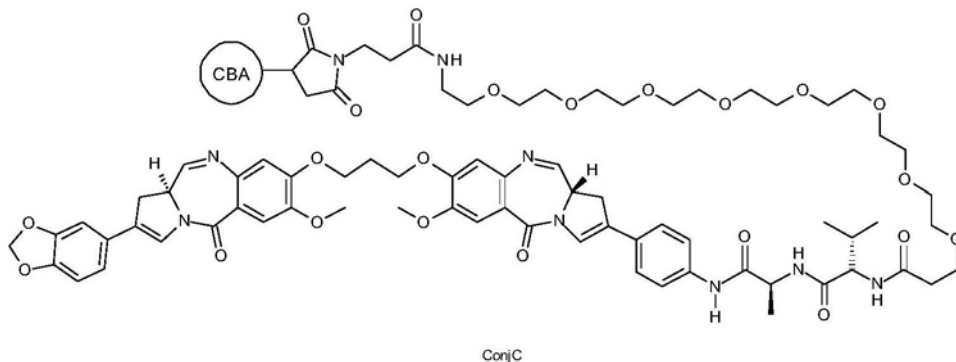
[0037] ConjB:

[0038]



[0039] 或ConjC:

[0040]



[0041] 其中CBA表示细胞结合剂。与所示部分的连接是经由在细胞结合剂上的自由S(活性巯基)。

附图说明

[0042] 图1示出了用细胞毒性测定来评估ADC2A的细胞毒性的结果。

[0043] 图2示出在10只小鼠的组中ADC1A剂量为0.3(黄色)或1.0mg/kg(紫色)对平均肿瘤体积的影响,并与载体(黑色)或裸抗体(蓝色)对照比较。

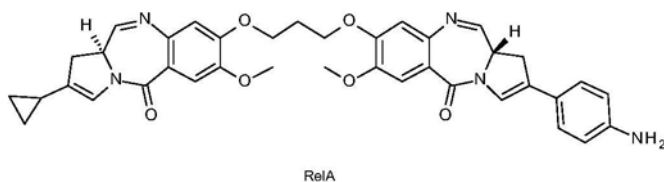
[0044] 图3示出在10只小鼠的组中ADC1B剂量为0.3(灰色)或1.0mg/kg(紫色)对平均肿瘤体积的影响,并与载体(黑色)或裸Ig(蓝色)对照比较。

具体实施方式

[0045] 本发明提供了PBD二聚体,该PBD二聚体具有接头,其是通过在PBD部分之一上的C2位置加以连接,其适合于形成经由接头结合于细胞结合剂的PBD二聚体。

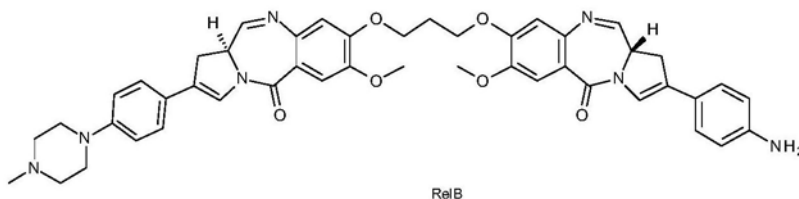
[0046] 本发明适用于向主体的优选部位提供PBD化合物。上述结合物允许释放并不保留接头的任何部分的活性PBD化合物。不存在可能影响PBD化合物的反应性的残余部分。因此,ConjA将释放化合物RelA:

[0047]

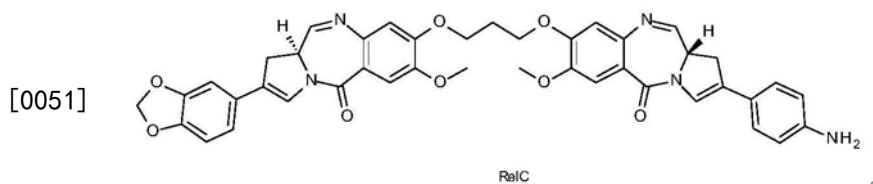


[0048] ConjB将释放化合物RelB:

[0049]



[0050] 以及ConjC将释放化合物RelC:



[0052] 本发明的进一步的方面是化合物RelB,以及其盐和溶剂化物。

[0053] 本发明的进一步的方面是化合物RelC,以及其盐和溶剂化物。

[0054] 在本发明中,在PBD二聚体和细胞结合剂(例如抗体)之间的指定的连接优选是细胞外稳定的。在转运或递送到细胞以前,抗体-药物结合物(ADC)优选是稳定的并保持完整,即抗体保持连接于药物部分。接头在靶细胞以外是稳定的并且在细胞内可以以某个有效速率被切割。有效接头将:(i)保持抗体的特异性结合特性;(ii)允许细胞内递送结合物或药物部分;(iii)保持稳定和完整,即不被切割,直到结合物已被递送或转运到它的靶向部位;以及(iv)保持PBD药物部分的细胞毒性、细胞的杀伤效应或细胞抑制效应。可以通过标准分析技术如质谱法、HPLC和分离/分析技术LC/MS,来测量ADC的稳定性。

[0055] 通过在连接基团上以及尤其是在缬氨酸-丙氨酸二肽部分上的酶(如组织蛋白酶(cathepsin))的作用,来在化学式ConjA、ConjB或ConjC的结合物的所期望的活化位点上递送化学式RelA、RelB或RelC的化合物。

[0056] 细胞结合剂

[0057] 细胞结合剂可以是任何种类,并且包括肽和非肽。它们可以包括抗体或抗体片段,其包含至少一个结合位点,淋巴因子,激素,激素模拟物,维生素,生长因子,营养物输送分子,或任何其它细胞结合分子或物质。

[0058] 肽

[0059] 在一种实施方式中,细胞结合剂是线性或环状肽,其包含4-30个,优选6-20个相邻的氨基酸残基。在本实施方式中,优选的是,一种细胞结合剂连接于一种单体或二聚体吡咯并苯并二氮杂萘化合物。

[0060] 在一种实施方式中,细胞结合剂包含结合整联蛋白 $\alpha_v\beta_6$ 的肽。相对于XYS,该肽可以对于 $\alpha_v\beta_6$ 是选择性的。

[0061] 在一种实施方式中,细胞结合剂包含A20FMDV-Cys多肽。A20FMDV-Cys具有序列:NAVPNLRGDLQVLAQKVARTC。可替换地,可以使用A20FMDV-Cys序列的变体,其中1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个氨基酸残基被另一种氨基酸残基取代。此外,多肽可以具有序列NAVXXXXXXXXXXXXXXXXXRTC。

[0062] 抗体

[0063] 术语“抗体”在本文中是在最广泛的意义上加以使用并且具体地涵盖单克隆抗体、多克隆抗体、二聚体、多聚体、多特异性抗体(例如,双特异性抗体)、和抗体片段,只要它们显示所期望的生物活性(Miller et al (2003) Jour.of Immunology 170:4854-4861)。抗体可以是鼠、人、人源化、嵌合抗体,或源于其它物种。抗体是由免疫系统生成的蛋白质,其能够识别和结合于特异性抗原(Janeway, C., Travers, P., Walport, M., Shlomchik (2001) Immuno Biology, 5th Ed., Garland Publishing, New York)。靶抗原通常具有由在多种抗体上的CDR所识别的许多结合位点,还被称为表位。特异性地结合于不同表位的每种抗体具

有不同的结构。因此,一种抗原可以具有多于一种的相应的抗体。抗体包括全长免疫球蛋白分子或全长免疫球蛋白分子的免疫活性部分,即,一种分子,其包含免疫特异性地结合感兴趣的靶的抗原或其部分的抗原结合位点,这样的靶包括但不限于癌细胞或产生与自身免疫疾病相关的自身免疫抗体的细胞。免疫球蛋白可以是任何类型(例如IgG、IgE、IgM、IgD、和IgA)、类(例如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1和IgA2)或免疫球蛋白分子的亚类。免疫球蛋白可以源自任何物种,包括人、鼠、或兔起源。

[0064] “抗体片段”包含全长抗体的一部分,通常为其抗原结合或可变区。抗体片段的实例包括Fab、Fab’、F(ab’)₂、和scFv片段;双体分子;线性抗体;由Fab表达文库产生的片段,抗独特型(抗-Id)抗体,CDR(互补决定区),和任何上述项的表位结合片段,其免疫特异性地结合于癌细胞抗原、病毒抗原或微生物抗原,单链抗体分子;以及形成自抗体片段的多特异性抗体。

[0065] 如在本文中所使用的,术语“单克隆抗体”是指获自基本上同质抗体的群体的抗体,即,除了可少量存在的可以天然发生的突变以外,构成群体的单独抗体是相同的。单克隆抗体是高度特异性的,是针对单一的抗原位点。此外,相对于多克隆抗体制剂,其包括针对不同决定子(表位)的不同抗体,每种单克隆抗体是针对在抗原上的单一决定子。除它们的特异性之外,单克隆抗体也是有利的,因为它们可以被合成而未被其它抗体污染。修饰语“单克隆”表明,抗体的特性是获自抗体的基本同质群体,而并不应当被解释为需要通过任何特定方法来生产抗体。例如,按照本发明使用的单克隆抗体可以通过首先由Kohler et al (1975) Nature 256:495描述的杂交瘤方法来制备,或可以通过重组DNA方法来制备(参见,US 4816567)。单克隆抗体还可以分离自噬菌体抗体库,其中利用在Clackson et al (1991) Nature, 352:624-628、Marks et al (1991) J.Mol.Biol., 222:581-597中描述的技术,或者可以分离自携带完全人免疫球蛋白系统的转基因小鼠(Lonberg (2008) Curr.Opinion 20(4):450-459)。

[0066] 本文中的单克隆抗体特别包括“嵌合”抗体,其中一部分的重和/或轻链相同或同源于在源自特定物种或属于特定抗体类或亚类的抗体中的相应序列,同时链的剩余部分相同于或同源于在源自另一物种或属于另一抗体类或亚类的抗体中的相应序列,以及上述抗体的片段,只要它们显示所期望的生物活性(US 4816567;and Morrison et al (1984) Proc.Natl.Acad.Sci.USA, 81:6851-6855)。嵌合抗体包括“灵长类化”抗体,其包含源自非人灵长类动物(例如旧世界猴或猿(Old World Monkey or Ape))的可变区抗原结合序列和人恒定区序列。

[0067] 本文中的“完整抗体”是一种抗体,其包含VL和VH域,以及轻链恒定区(CL)和重链恒定区,CH1、CH2和CH3。恒定区可以是天然序列恒定区(例如人天然序列恒定区)或其氨基酸序列变体。完整抗体可以具有一种或多种“效应子功能”,其是指可归因于抗体的Fc区(天然序列Fc区或氨基酸序列变体Fc区)的那些生物活性。抗体效应子功能的实例包括C1q结合;补体依赖性细胞毒性;Fc受体结合;抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC);吞噬作用;以及细胞表面受体(如B细胞受体和BCR)的下调。

[0068] 取决于它们的重链的恒定区的氨基酸序列,完整抗体可以被指定为不同的“类”。存在五大类的完整抗体:IgA、IgD、IgE、IgG、和IgM,并且这些的若干种可以进一步分为“亚类”(同型),例如,IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA、和IgA2。对应于不同种类的抗体的重链恒定

区分别被称为 α 、 δ 、 ϵ 、 γ 和 μ 。不同类别的免疫球蛋白的亚基结构和三维构型是众所周知的。

[0069] 人源化

[0070] 用于减小非人抗体或抗体片段的体内免疫原性的技术包括那些称作“人源化”的技术。

[0071] “人源化抗体”是指一种多肽，其包含人抗体的至少一部分的修饰可变区，其中一部分的可变区，优选基本上小于完整人可变域的部分已被来自非人物种的相应序列所取代，以及其中修饰可变区连接于另一种蛋白的至少另一部分，优选人抗体的恒定区。措辞“人源化抗体”包括人抗体，其中一个或多个互补决定区(“CDR”)氨基酸残基和/或一个或多个构架区(构架区, framework region) (“FW”或“FR”)氨基酸残基被来自在啮齿目动物或其它非人抗体中的类似位点的氨基酸残基取代。措辞“人源化抗体”还包括免疫球蛋白氨基酸序列变体或其片段，其包含实质上具有人免疫球蛋白的氨基酸序列的FR，以及实质上具有非人免疫球蛋白的氨基酸序列的CDR。

[0072] 非人(例如，鼠)抗体的“人源化”形式是嵌合抗体，其包含源自非人免疫球蛋白的最小序列。或，以另一种方式看，人源化抗体是人抗体，其还包含来自非人(例如鼠)抗体的选择的序列来代替人序列。人源化抗体可以包括保守氨基酸置换或非天然残基，这些非天然残基来自相同或不同物种，其并不显著改变它的结合和/或生物活性。上述抗体是嵌合抗体，其包含源自非人免疫球蛋白的最小序列。

[0073] 存在多种人源化技术，包括‘CDR移植’、‘定向选择’、‘去免疫化’、‘重铺(resurfacing)’(还被称为‘饰面(veneering)’)、‘复合抗体’、‘人字符串内容优化(Human String Content Optimisation)’和架构混杂。

[0074] CDR移植

[0075] 在此技术中，人源化抗体是人免疫球蛋白(受体抗体)，其中来自受体抗体的互补决定区(CDR)的残基被来自非人物种(供体抗体)如小鼠、大鼠、骆驼、牛、山羊、或兔的CDR的残基所替换，其具有所期望的性能(实际上，非人CDR被‘移植’到人架构上)。在一些情况下，人免疫球蛋白的构架区(FR)残基被相应非人残基替换(当例如特定FR残基对抗原结合具有显著影响时，这可能会发生)。

[0076] 此外，人源化抗体可以包含这样的残基，其既不存在于受体抗体也不存在于输入的CDR或构架序列中。进行这些修饰以进一步完善和最大化抗体性能。因此，通常，人源化抗体将均包含至少一个，以及在一个方面两个，可变域，其中所有或(基本上)所有的高变环对应于非人免疫球蛋白的那些高变环，以及所有或基本上所有的FR区是人免疫球蛋白序列的那些FR区。人源化抗体可选地还将包含至少一部分的免疫球蛋白恒定区(Fc)、或人免疫球蛋白的免疫球蛋白恒定区。

[0077] 定向选择

[0078] 这种方法包括结合对于特定表位具有特异性的给定非人抗体的 V_H 或 V_L 域和人 V_H 或 V_L 文库，并相对于感兴趣的抗原来选择特定人V域。然后这种选择的人 V_H 结合于 V_L 文库产生完全人 V_H \times V_L 组合。该方法描述于Nature Biotechnology(N.Y.) 12, (1994) 899-903。

[0079] 复合抗体

[0080] 在此方法中，在最终抗体分子内结合来自人抗体的氨基酸序列的两个或更多节

段。通过联合地结合多个人VH和VL序列片段,其限制或避免在最终复合抗体V区中的人T细胞表位,来构建它们。在需要时,通过交换有助于或编码T细胞表位的V区节段与避免T细胞表位的替代节段来限制或避免T细胞表位。这种方法描述于US 2008/0206239 A1。

[0081] 去免疫化

[0082] 此方法涉及从治疗性抗体(或其它分子)的V区除去人(或其它第二物种)T细胞表位。通过,例如,比较于MHC结合基序的数据库(如“基序”数据库,位于www.wehi.edu.au),来分析治疗性抗体V区序列中MHC类II-结合基序的存在。可替换地,可以利用计算线程方法如由Altuvia et al. (J.Mol.Biol.249 244-250 (1995))所设计的那些方法,来确定MHC类II-结合基序;在这些方法中,测试来自V区序列的连续重叠肽的与MHC II类蛋白的结合能。然后此数据可以结合于关于其它序列特征的信息,其涉及成功呈现的肽,如两亲性、Rothbard基序、和用于组织蛋白酶B和其它加工酶的切割位点。

[0083] 在已确定潜在的第二物种(例如人)T细胞表位以后,通过改变一个或多个氨基酸消除它们。修饰氨基酸通常是在T细胞表位本身内,但就蛋白质的一级或二级结构而言也可以是相邻于表位(因此,在一级结构中,可能并不是相邻的)。最典型地,改变是通过置换的方式,但在一些情况下,氨基酸添加或缺失将是更合适的。

[0084] 可以通过重组DNA技术来完成所有改变,以至通过重组宿主的表达并利用很好建立的方法如定位诱变,来制备最终分子。然而,也可以使用蛋白质化学或分子改变的任何其它方式。

[0085] 重铺

[0086] 此方法涉及:

[0087] (a) 通过构建非人抗体可变区的三维模型,确定非人(例如啮齿目动物)抗体(或其片段)的可变区的构象结构;

[0088] (b) 利用来自足够数量的非人和人抗体可变区重和轻链的X射线晶体结构的相对可达性分布,产生序列对比,以给予一组重和轻链构架位置,其中在98%的足够数量的非人抗体重和轻链中序列对比位置是相同的;

[0089] (c) 利用在步骤(b)中产生的架构位置的组,将非人抗体定义为人源化的、一组重链和轻链的表面暴露氨基酸残基;

[0090] (d) 依据人抗体氨基酸序列,确定一组重链和轻链的表面暴露氨基酸残基,其最密切相同于在步骤(c)中定义的表面暴露的氨基酸残基的组,其中来自人抗体的重链和轻链是或不是天然成对的;

[0091] (e) 在待人源化的非人抗体的氨基酸序列中,用在步骤(d)中确定的重链和轻链表面暴露的氨基酸残基的组替换在步骤(c)中定义的重链和轻链表面暴露的氨基酸残基的组;

[0092] (f) 构建产生自在步骤(e)中指定的替换的非人抗体的可变区的三维模型;

[0093] (g) 通过比较在步骤(a)和(f)中构建的三维模型,并依据在步骤(c)或(d)中确定的组,确定在待人源化的非人抗体的互补决定区的任何残基的任何原子的5埃内的任何氨基酸残基;以及

[0094] (h) 将在步骤(g)中确定的任何残基从人改变到原来非人氨基酸残基,从而定义表面暴露的氨基酸残基的非人抗体人源化组;前提条件是,无需首先进行步骤(a),但必须在

步骤(g)以前进行。

[0095] 超人源化

[0096] 该方法比较非人序列与功能性人种系基因库。选择了编码相同或密切相关于非人序列的规范结构(canonical structures)的那些人基因。那些选择的在CDR内具有最高同源性的人基因被选作FR供体。最后,将非人CDR移植到这些人FR上。这种方法描述于专利W0 2005/079479 A2。

[0097] 人字符串内容优化

[0098] 这种方法比较了非人(例如小鼠)序列与人种系基因库并且差异被评定为人字符串内容(HSC),其在潜在的MHC/T细胞表位的水平量化序列。然后通过最大化它的HSC而不是利用全局同一性措施来人源化靶序列以产生多种不同的人源化变体(描述于Molecular Immunology,44,(2007)1986-1998)。

[0099] 架构混杂

[0100] 将非人抗体的CDR框内融合于涵盖所有已知的重链和轻链人种系基因架构的cDNA池。然后通过例如淘选噬菌体展示抗体库来选择人源化抗体。这描述于Methods 36,43-60 (2005)。

[0101] 细胞结合剂的实例包括那些描述的用于并入本文中的W0 2007/085930的细胞结合剂。

[0102] 以下列出用于本发明的实施方式的肿瘤相关抗原和关联抗体。

[0103] 肿瘤相关抗原和关联抗体(cognate antibody)

[0104] (1) BMPR1B(骨形态发生蛋白受体型IB)

[0105] 核苷酸

[0106] Genbank登录号NM_001203

[0107] Genbank版本号(version)NM_001203.2 GI:169790809

[0108] Genbank记录更新日期:Sep 23,2012 02:06 PM

[0109] 多肽

[0110] Genbank登录号NP_001194

[0111] Genbank版本号NP_001194.1 GI:4502431

[0112] Genbank记录更新日期:Sep 23,2012 02:06 PM

[0113] 参考文献

[0114] ten Dijke,P.,et al Science 264(5155):101-104(1994),Oncogene 14 10 (11):1377-1382(1997);W02004/063362(权利要求2);W02003/042661(权利要求12);US2003/134790-A1(页码38-39);W02002/102235(权利要求13;页码296);W02003/055443(页码91-92);W02002/99122(实施例2;页码528-530);W02003/029421(权利要求6);W02003/024392(权利要求2;图112);W02002/98358(权利要求1;页码183);W02002/54940(页码100-101);W02002/59377(页码349-350);W02002/30268(权利要求27;页码376);15 W02001/48204(实施例;图4);NP_001194骨形态发生蛋白受体,型IB/pid=NP_001194.1.;MIM:603248;AY065994。

[0115] (2) E16(LAT1,SLC7A5)

[0116] 核苷酸

- [0117] Genbank登录号NM_003486
- [0118] Genbank版本号NM_003486.5 GI:71979931
- [0119] Genbank记录更新日期:Jun 27,2012 12:06 PM
- [0120] 多肽
- [0121] Genbank登录号NP_003477
- [0122] Genbank版本号NP_003477.4 GI:71979932
- [0123] Genbank记录更新日期:Jun 27,2012 12:06 PM
- [0124] 参考文献
- [0125] Biochem.Biophys.Res.Commun.255 (2) ,283-288 (1999) ,Nature 395 (6699) :288-291 (1998) ,Gaugitsch,H.W.,et al (1992) J.Biol.Chem.267 (16) :11267-11273) ; W02004/048938 (实施例2) ; W02004/032842 (实施例IV) ; W02003/042661 (权利要求12) ; W02003/016475 (权利要求1) ; W02002/78524 (实施例2) ; W02002/99074 (权利要求19;页码127-129) ; W02002/86443 (权利要求27;页码222,393) ; W02003/003906 (权利要求10;页码293) ; W02002/64798 (权利要求33;页码93-95) ; W02000/14228 (权利要求5;页码133-136) ; US2003/224454 (图3) ; 25 W02003/025138 (权利要求12;页码150) ; NP_003477溶质载体家族7 (阳离子氨基酸转运子,y+system) ,成员5/pid=NP_003477.3-智人;MIM:600182;;NM_015923。
- [0126] (3) STEAP1 (前列腺的六跨膜上皮抗原)
- [0127] 核苷酸
- [0128] Genbank登录号NM_012449
- [0129] Genbank版本号NM_012449.2 GI:22027487
- [0130] Genbank记录更新日期:Sep 9,2012 02:57 PM
- [0131] 多肽
- [0132] Genbank登录号NP_036581
- [0133] Genbank版本号NP_036581.1 GI:9558759
- [0134] Genbank记录更新日期:Sep 9,2012 02:57 PM
- [0135] 参考文献
- [0136] Cancer Res.61 (15) ,5857-5860 (2001) ,Hubert,R.S.,et al (1999) Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.96 (25) :14523-14528) ; W02004/065577 (权利要求6) ; W02004/027049 (图1L) ; EP1394274 (实施例11) ; W02004/016225 (权利要求2) ; W02003/042661 (权利要求12) ; US2003/157089 (实施例5) ; US2003/185830 (实施例5) ; US2003/064397 (图2) ; W02002/89747 (实施例5;页码618-619) ; W02003/022995 (实施例9;图13A,35实施例53;页码173,实施例2;图2A) ; 前列腺的六跨膜上皮抗原;MIM:604415。
- [0137] (4) 0772P (CA125,MUC16)
- [0138] 核苷酸
- [0139] Genbank登录号AF361486
- [0140] Genbank版本号AF361486.3 GI:34501466
- [0141] Genbank记录更新日期:Mar 11,2010 07:56 AM
- [0142] 多肽

- [0143] Genbank登录号AAK74120
- [0144] Genbank版本号AAK74120.3 GI:34501467
- [0145] Genbank记录更新日期:Mar 11,2010 07:56 AM
- [0146] 参考文献
- [0147] J.Biol.Chem.276 (29):27371-27375 (2001);W02004/045553 (权利要求14);W02002/92836 (权利要求6;图12);W02002/83866 (权利要求15;页码116-121);US2003/124140 (实施例16);GI:34501467。
- [0148] (5) MPF (MPF、MSLN、SMR、巨核细胞增效因子 (megakaryocyte potentiating factor)、间皮素 (mesothelin))
- [0149] 核苷酸
- [0150] Genbank登录号NM_005823
- [0151] Genbank版本号NM_005823.5 GI:293651528
- [0152] Genbank记录更新日期:Sep 2,2012 01:47 PM
- [0153] 多肽
- [0154] Genbank登录号NP_005814
- [0155] Genbank版本号NP_005814.2 GI:53988378
- [0156] Genbank记录更新日期:Sep 2,2012 01:47 PM
- [0157] 参考文献
- [0158] Yamaguchi, N., et al Biol.Chem.269 (2), 805-808 (1994), Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.96 (20):11531-11536 (1999), Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.9310 (1):136-140 (1996), J.Biol.Chem.270 (37):21984-21990 (1995);W02003/101283 (权利要求14);(W02002/102235 (权利要求13;页码287-288);W02002/101075 (权利要求4;页码308-309);W02002/71928 (页码320-321);W094/10312 (页码52-57);IM:601051。
- [0159] (6) Napi3b (NAPI-3B, NPTIIb, SLC34A2, 溶质载体家族34 (磷酸钠), 成员2, II型钠依赖性磷酸转运蛋白3b)
- [0160] 核苷酸
- [0161] Genbank登录号NM_006424
- [0162] Genbank版本号NM_006424.2 GI:110611905
- [0163] Genbank记录更新日期:Jul 22,2012 03:39 PM
- [0164] 多肽
- [0165] Genbank登录号NP_006415
- [0166] Genbank版本号NP_006415.2 GI:110611906
- [0167] Genbank记录更新日期:Jul 22,2012 03:39 PM
- [0168] 参考文献
- [0169] J.Biol.Chem.277 (22):19665-19672 (2002), Genomics 62 (2):281-284 (1999), Feild, J.A., et al (1999) Biochem.Biophys.Res.Commun.258 (3):578-582;W02004/022778 (权利要求2);EP1394274 (实施例11);W02002/102235 (权利要求13;页码20-326);EP0875569 (权利要求1;页码17-19);W02001/57188 (权利要求20;页码329);W02004/032842

(实施例IV);W02001/75177(权利要求24;页码139-140);MIM:604217。

[0170] (7)Sema 5b(FLJ10372,KIAA1445,Mm.42015,SEMA5B,SEMAG,Semaphorin 5b Hlog,25sema域,7血小板反应蛋白重复(1型和1型样),跨膜域(TM)和短胞质域(semaphorin 5B))

[0171] 核苷酸

[0172] Genbank登录号AB040878

[0173] Genbank版本号AB040878.1 GI:7959148

[0174] Genbank记录更新日期:Aug 2,2006 05:40 PM

[0175] 多肽

[0176] Genbank登录号BAA95969

[0177] Genbank版本号BAA95969.1 GI:7959149

[0178] Genbank记录更新日期:Aug 2,2006 05:40 PM

[0179] 参考文献

[0180] Nagase T.,et al(2000)DNA Res.7(2):143-150);W02004/000997(权利要求1);W02003/003984(权利要求1);W02002/06339(权利要求1;页码50);W02001/88133(权利要求1;页码41-43,48-58);W02003/054152(权利要求20);W02003/101400(权利要求11);登录号:30 Q9P283;Genew;HGNC:10737

[0181] (8)PSCA hlg(2700050C12Rik,C530008016Rik,RIKEN cDNA 2700050C12,RIKEN cDNA 2700050C12基因)

[0182] 核苷酸

[0183] Genbank登录号AY358628

[0184] Genbank版本号AY358628.1 GI:37182377

[0185] Genbank记录更新日期:Dec 1,2009 04:15 AM

[0186] 多肽

[0187] Genbank登录号AAQ88991

[0188] Genbank版本号AAQ88991.1 GI:37182378

[0189] Genbank记录更新日期:Dec 1,2009 04:15 AM

[0190] 参考文献

[0191] Ross et al(2002)Cancer Res.62:2546-2553;US2003/129192(权利要求2);US2004/044180(权利要求12);US2004/044179 35(权利要求11);US2003/096961(权利要求11);US2003/232056(实施例5);W02003/10575816(权利要求12);US2003/206918(实施例5);EP1347046(权利要求1);W02003/025148(权利要求20);GI:37182378。

[0192] (9)ETBR(内皮素B型受体)

[0193] 核苷酸

[0194] Genbank登录号AY275463

[0195] Genbank版本号AY275463.1 GI:30526094

[0196] Genbank记录更新日期:Mar 11,2010 02:26 AM

[0197] 多肽

[0198] Genbank登录号AAP32295

[0199] Genbank版本号AAP32295.1 GI:30526095

[0200] Genbank记录更新日期:Mar 11,2010 02:26 AM

[0201] 参考文献

[0202] Nakamuta M.,et al Biochem.Biophys.Res.Commun.177,34-39,1991;Ogawa Y., et al Biochem.Biophys.Res.Commun.178,248-255,1991;Arai H.,et al Jpn.Circ.J.56,1303-1307,1992;Arai H.,et al J.Biol.Chem.268,3463-3470,1993; Sakamoto A.,Yanagisawa M.,et al Biochem.Biophys.Res.Commun.178,656-663,1991; Elshourbagy N.A.,et al J.Biol.Chem.268,3873-3879,1993;Haendler B.,et al J.Cardiovasc.Pharmacol.20,s1-S4,1992;Tsutsumi M.,et al Gene 228,43-49,1999; Strausberg R.L.,et al Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.99,16899-16903,2002;Bourgeois C.,et al J.Clin.Endocrinol.Metab.82,3116-3123,1997;Okamoto Y.,et al Biol.Chem.272,21589-21596,1997;Verheij J.B.,et al Am.J.Med.Genet.108,223-225, 2002;Hofstra R.M.W.,et al Eur.J.Hum.Genet.5,180-185,1997;Puffenberger E.G.,et al Cell 79,1257-1266,1994;Attie T.,et al,Hum.Mol.Genet.4,2407-15 2409,1995; Auricchio A.,et al Hum.Mol.Genet.5:351-354,1996;Amiel J.,et al Hum.Mol.Genet.5,355-357,1996;Hofstra R.M.W.,et al Nat.Genet.12,445-447,1996; Svensson P.J.,et al Hum.Genet.103,145-148,1998;Fuchs S.,et al Mol.Med.7,115-124,2001;Pingault V.,et al (2002) Hum.Genet.111,198-206;W02004/045516 (权利要求1);W02004/048938 (实施例2);W02004/040000 (权利要求151);W02003/087768 (权利要求1);20W02003/016475 (权利要求1);W02003/016475 (权利要求1);W02002/61087 (图1); W02003/016494 (图6);W02003/025138 (权利要求12;页码144);W02001/98351 (权利要求1; 页码124-125);EP0522868 (权利要求8;图2);W02001/77172 (权利要求1;页码297-299); US2003/109676;US6518404 (图3);US5773223 (权利要求1a;Col 31-34);W02004/001004。

[0203] (10)MSG783 (RNF124,假定蛋白FLJ20315)

[0204] 核苷酸

[0205] Genbank登录号NM_017763

[0206] Genbank版本号NM_017763.4 GI:167830482

[0207] Genbank记录更新日期:Jul 22,2012 12:34 AM

[0208] 多肽

[0209] Genbank登录号NP_060233

[0210] Genbank版本号NP_060233.3 GI:56711322

[0211] Genbank记录更新日期:Jul 22,2012 12:34 AM

[0212] 参考文献

[0213] W02003/104275 (权利要求1);W02004/046342 (实施例2);W02003/042661 (权利要求12);W02003/083074 (权利要求14;页码61);W02003/018621 (权利要求1);W02003/024392 (权利要求2;图93);W02001/66689 (实施例6);LocusID:54894。

[0214] (11)STEAP2 (HGNC_8639,IPCA-1,PCANAP1,STAMP1,STEAP2,STMP,前列腺癌相关基因1,前列腺癌相关蛋白1,前列腺的六跨膜上皮抗原2,六跨膜前列腺蛋白)

[0215] 核苷酸

- [0216] Genbank登录号AF455138
- [0217] Genbank版本号AF455138.1 GI:22655487
- [0218] Genbank记录更新日期:Mar 11,2010 01:54 AM
- [0219] 多肽
- [0220] Genbank登录号AAN04080
- [0221] Genbank版本号AAN04080.1 GI:22655488
- [0222] Genbank记录更新日期:Mar 11,2010 01:54 AM
- [0223] 参考文献
- [0224] Lab.Invest.82(11):1573-1582(2002);W02003/087306;US2003/064397(权利要求1;图1);W02002/72596(权利要求13;页码54-55);W02001/72962(权利要求1;图4B);35 W02003/104270(权利要求11);W02003/104270(权利要求16);US2004/005598(权利要求22);W02003/042661(权利要求12);US2003/060612(权利要求12;图10);W02002/26822(权利要求23;图2);W02002/16429(权利要求12;图10);GI:22655488。
- [0225] (12) TrpM4(BR22450,FLJ20041,TRPM4,TRPM4B,瞬时受体电位阳离子5通道(transient receptor potential cation 5channel),亚家族M,成员4)
- [0226] 核苷酸
- [0227] Genbank登录号NM_017636
- [0228] Genbank版本号NM_017636.3 GI:304766649
- [0229] Genbank记录更新日期:Jun 29,2012 11:27 AM
- [0230] 多肽
- [0231] Genbank登录号NP_060106
- [0232] Genbank版本号NP_060106.2 GI:21314671
- [0233] Genbank记录更新日期:Jun 29,2012 11:27 AM
- [0234] 参考文献
- [0235] Xu,X.Z.,et al Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.98(19):10692-10697(2001),Cell 109(3):397-407(2002),J.Biol.Chem.278(33):30813-30820(2003);US2003/143557(权利要求4);W02000/40614(权利要求14;页码100-103);W02002/10382(权利要求1;图9A);W02003/042661(权利要求12);W02002/30268(权利要求27;页码391);US2003/219806(权利要求4);W02001/62794(权利要求10-14;图1A-D);MIM:606936。
- [0236] (13) CRIPTO(CR,CR1,CRGF,CRIPTO,TDGF1,畸胎瘤源性生长因子)
- [0237] 核苷酸
- [0238] Genbank登录号NM_003212
- [0239] Genbank版本号NM_003212.3 GI:292494881
- [0240] Genbank记录更新日期:Sep 23,2012 02:27 PM
- [0241] 多肽
- [0242] Genbank登录号NP_003203
- [0243] Genbank版本号NP_003203.1 GI:4507425
- [0244] Genbank记录更新日期:Sep 23,2012 02:27 PM
- [0245] 参考文献

[0246] Ciccodicola, A., et al EMBO J. 8 (7) :1987-1991 (1989), Am. J. Hum. Genet. 49 (3) :555-565 (1991)); US2003/224411 (权利要求1); W02003/083041 (实施例1); W02003/034984 (权利要求12); W02002/88170 (权利要求2; 页码52-53); W02003/024392 (权利要求2; 图58); W02002/16413 (权利要求1; 页码94-95, 105); W02002/22808 (权利要求2; 图1); US5854399 (实施例2; Col 17-18); US5792616 (图2); MIM:187395。

[0247] (14) CD21 (CR2 (补体受体2) 或C3DR (C3d/EB病毒受体 (Epstein Barr virus receptor)) 或Hs.73792)

[0248] 核苷酸

[0249] Genbank登录号M26004

[0250] Genbank版本号M26004.1 GI:181939

[0251] Genbank记录更新日期:Jun 23, 2010 08:47 AM

[0252] 多肽

[0253] Genbank登录号AAA35786

[0254] Genbank版本号AAA35786.1 GI:181940

[0255] Genbank记录更新日期:Jun 23, 2010 08:47 AM

[0256] 参考文献

[0257] Fujisaku et al (1989) J. Biol. Chem. 264 (4) :2118-2125; Weis J. J., et al J. Exp. Med. 167, 1047-1066, 1988; Moore M., et al Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 84, 9194-9198, 1987; Barel M., et al Mol. Immunol. 35, 1025-1031, 1998; Weis J. J., et al Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 83, 5639-5643, 1986; Sinha S. K., et al (1993) J. Immunol. 150, 5311-5320; W02004/045520 (实施例4); US2004/005538 (实施例1); W02003/062401 (权利要求9); W02004/045520 (实施例4); W091/02536 (图9.1-9.9); W02004/020595 (权利要求1); 登录号:P20023; Q13866; Q14212; EMBL; M26004; AAA35786.1。

[0258] (15) CD79b (CD79B, CD79 β , Ig β (免疫球蛋白相关 β), B29)

[0259] 核苷酸

[0260] Genbank登录号NM_000626

[0261] Genbank版本号NM_000626.2 GI:90193589

[0262] Genbank记录更新日期:Jun 26, 2012 01:53 PM

[0263] 多肽

[0264] Genbank登录号NP_000617

[0265] Genbank版本号NP_000617.1 GI:11038674

[0266] Genbank记录更新日期:Jun 26, 2012 01:53 PM

[0267] 参考文献

[0268] Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. (2003) 100 (7) :4126-4131, Blood (2002) 100 (9) :3068-3076, Muller et al (1992) Eur. J. Immunol. 22 (6) :1621-1625; W02004/016225 (权利要求2, 图140); W02003/087768, US2004/101874 (权利要求1, 页码102); W02003/062401 (权利要求9); W02002/78524 (实施例2); US2002/150573 (权利要求35 5, 页码15); US5644033; W02003/048202 (权利要求1, 页码306和309); WO 99/58658, US6534482 (权利要求13, 图17A/B); W02000/55351 (权利要求11, 页码1145-1146); MIM:147245。

[0269] (16) FcRH2 (IFGP4, IRTA4, SPAP1A (SH2域, 包含磷酸酶锚定蛋白51a), SPAP1B, SPAP1C)

[0270] 核苷酸

[0271] Genbank登录号NM_030764

[0272] Genbank版本号NM_030764.3 GI:227430280

[0273] Genbank记录更新日期:Jun 30,2012 12:30 AM

[0274] 多肽

[0275] Genbank登录号NP_110391

[0276] Genbank版本号NP_110391.2 GI:19923629

[0277] Genbank记录更新日期:Jun 30,2012 12:30 AM

[0278] 参考文献

[0279] AY358130);Genome Res.13(10):2265-2270(2003),Immunogenetics 54(2):87-95(2002),Blood 99(8):2662-2669(2002),Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.98(17):9772-9777(2001),Xu,M.J.,et al(2001)Biochem.Biophys.Res.Comm.280(3):768-775;W02004/016225(权利要求2);W02003/077836;W02001/38490(权利要求5;图18D-1-18D-2);W02003/097803(权利要求12);10 W02003/089624(权利要求25);MIM:606509。

[0280] (17) HER2 (ErbB2)

[0281] 核苷酸

[0282] Genbank登录号M11730

[0283] Genbank版本号M11730.1 GI:183986

[0284] Genbank记录更新日期:Jun 23,2010 08:47 AM

[0285] 多肽

[0286] Genbank登录号AAA75493

[0287] Genbank版本号AAA75493.1 GI:306840

[0288] Genbank记录更新日期:Jun 23,2010 08:47 AM

[0289] 参考文献

[0290] Coussens L.,et al Science(1985)230(4730):1132-1139);Yamamoto T.,et al Nature 319,230-234,1986;Semba K.,et al Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.82,6497-6501,1985;Swiercz J.M.,et al J.Cell Biol.165,869-15 880,2004;Kuhns J.J.,et al J.Biol.Chem.274,36422-36427,1999;Cho H.-S.,et al Nature 421,756-760,2003;Ehsani A.,et al(1993)Genomics 15,426-429;W02004/048938(实施例2);W02004/027049(图1I);W02004/009622;W02003/081210;W02003/089904(权利要求9);W02003/016475(权利要求1);US2003/118592;W02003/008537(权利要求1);W02003/055439(权利要求29;图1A-B);W02003/025228(权利要求37;图5C);20W02002/22636(实施例13;页码95-107);W02002/12341(权利要求68;图7);W02002/13847(页码71-74);W02002/14503(页码114-117);W02001/53463(权利要求2;页码41-46);W02001/41787(页码15);W02000/44899(权利要求52;图7);W02000/20579(权利要求3;图2);US5869445(权利要求3;Col 31-38);W09630514(权利要求2;页码56-61);EP1439393(权利要求7);W02004/043361(权利要求7);W02004/022709;W02001/00244 25(实施例3;图4);登录号:P04626;EMBL;M11767;

AAA35808.1.EMBL;M11761;AAA35808.1。

[0291] 抗体

[0292] Abbott:US20110177095

[0293] 例如,一种抗体,包含CDR,相对于具有SEQ ID NO:3 (CDR-H1)、SEQ ID NO:4 (CDR-H2)、SEQ ID NO:5 (CDR-H3)、SEQ ID NO:104和/或SEQ ID NO:6 (CDR-L1)、SEQ ID NO:7 (CDR-L2)、和SEQ ID NO:8 (CDR-L3)的氨基酸序列的CDR,其具有总体至少80%序列同一性,其中相比于具有SEQ ID NO:1的VH和SEQ ID NO:2的VL的抗体,抗HER2抗体或抗HER2结合片段具有降低的免疫原性。

[0294] Biogen:US20100119511

[0295] 例如,ATCC登录号:PTA-10355,PTA-10356,PTA-10357,PTA-10358例如,纯化的抗体分子,该分子结合于HER2,其包含来自抗体的所有6个CDR,上述抗体选自由BIIB71F10 (SEQ ID NO:11、13)、BIIB69A09 (SEQ ID NO:15、17);BIIB67F10 (SEQ ID NO:19、21);BIIB67F11 (SEQ ID NO:23、25)、BIIB66A12 (SEQ ID NO:27、29)、BIIB66C01 (SEQ ID NO:31、33)、BIIB65C10 (SEQ ID NO:35、37)、BIIB65H09 (SEQ ID NO:39、41)和BIIB65B03 (SEQ ID NO:43、45)组成的组,或这样的CDR,其相同于所述CDR或其与所述CDR没有超过两个的改变。

[0296] 赫赛汀 (Herceptin) (Genentech) -US6,054,297;ATCC登录号CRL-10463 (Genentech)

[0297] 帕妥珠单抗 (Pertuzumab) (Genentech)

[0298] US20110117097

[0299] 例如,参见SEQ ID No.15&16、SEQ ID No.17和18、SEQ ID No.23和24以及ATCC登录号HB-12215、HB-12216、CRL 10463、HB-12697。

[0300] US20090285837

[0301] US20090202546

[0302] 例如,ATCC登录号:HB-12215、HB-12216、CRL 10463、HB-12698。

[0303] US20060088523

[0304] -例如,ATCC登录号:HB-12215、HB-12216

[0305] -例如,抗体,其包含分别在SEQ ID No.3和4中的可变轻和可变重氨基酸序列。

[0306] -例如,抗体,包含轻链氨基酸序列,其选自SEQ ID No.15和23,以及重链氨基酸序列,其选自SEQ ID No.16和24

[0307] US20060018899

[0308] -例如,ATCC登录号:(7C2) HB-12215、(7F3) HB-12216、(4D5) CRL-10463、(2C4) HB-12697。

[0309] -例如,抗体,包含在SEQ ID No.23中的氨基酸序列、或其脱酰胺和/或氧化变体。

[0310] US2011/0159014

[0311] -例如,抗体,具有轻链可变域,其包含SEQ ID NO:1”的高变区。

[0312] -例如,抗体,具有重链可变域,其包含SEQ ID NO:2的高变区。

[0313] US20090187007

[0314] Glycotope:TrasGEX抗体<http://www.glycotope.com/pipeline>

[0315] 例如,参见International Joint Cancer Institute and Changhai Hospital

Cancer Cent:HMTI-Fc Ab-Gao J.,et al BMB Rep.2009 Oct 31,42(10):636-41。

[0316] Symphogen:US20110217305

[0317] Union Stem Cell&Gene Engineering,China-Liu HQ.,et al Xi Bao Yu Fen Zi Mian Yi Xue Za Zhi.2010 May;26(5):456-8。

[0318] (18)NCA (CEACAM6)

[0319] 核苷酸

[0320] Genbank登录号M18728

[0321] Genbank版本号M18728.1 GI:189084

[0322] Genbank记录更新日期:Jun 23,2010 08:48 AM

[0323] 多肽

[0324] Genbank登录号AAA59907

[0325] Genbank版本号AAA59907.1 GI:189085

[0326] Genbank记录更新日期:Jun 23,2010 08:48 AM

[0327] 参考文献

[0328] Barnett T.,et al Genomics 3,59-66,1988;Tawaragi Y.,et al Biochem.Biophys.Res.Comm.150,89-96,1988;Strausberg R.L.,et al Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.99:16899-16903,2002;W02004/063709;EP1439393(权利要求7);W02004/044178(实施例4);W02004/031238;W02003/042661(权利要求12);W02002/78524(实施例2);W02002/86443(权利要求27;页码427);W02002/60317(权利要求2);登录号:P40199;Q14920;EMBL;M29541;AAA59915.1。

[0329] EMBL;M18728。

[0330] (19)MDP (DPEP1)

[0331] 核苷酸

[0332] Genbank登录号BC017023

[0333] Genbank版本号BC017023.1 GI:16877538

[0334] Genbank记录更新日期:Mar 6,2012 01:00 PM

[0335] 多肽

[0336] Genbank登录号AAH17023

[0337] Genbank版本号AAH17023.1 GI:16877539

[0338] Genbank记录更新日期:Mar 6,2012 01:00 PM

[0339] 参考文献

[0340] Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.99(26):16899-16903(2002);W02003/016475(权利要求1);W02002/64798(权利要求33;页码85-87);JP05003790(图6-8);W099/46284(图9);MIM:179780。

[0341] (20)IL20R- α (IL20Ra,ZCYTOR7)

[0342] 核苷酸

[0343] Genbank登录号AF184971

[0344] Genbank版本号AF184971.1 GI:6013324

[0345] Genbank记录更新日期:Mar 10,2010 10:00 PM

[0346] 多肽

[0347] Genbank登录号AAF01320

[0348] Genbank版本号AAF01320.1 GI:6013325

[0349] Genbank记录更新日期:Mar 10,2010 10:00 PM

[0350] 参考文献

[0351] Clark H.F., et al Genome Res.13,2265-2270,2003;Mungall A.J., et al Nature 425,805-811,2003;Blumberg H., et al Cell 104,9-19,2001;Dumoutier L., et al J.Immunol.167,3545-3549,2001;Parrish-Novak J., et al J.Biol.Chem.277,47517-47523,2002;Pletnev S., et al (2003) 10Biochemistry 42:12617-12624;Sheikh F., et al (2004) J.Immunol.172,2006-2010;EP1394274 (实施例11);US2004/005320 (实施例5);W02003/029262 (页码74-75);W02003/002717 (权利要求2;页码63);W02002/22153 (页码45-47);US2002/042366 (页码20-21);W02001/46261 (页码57-59);W02001/46232 (页码63-65);W098/37193 (权利要求1;页码55-59);登录号:Q9UHF4;Q6UWA9;Q96SH8;EMBL;AF184971;AAF01320.1。

[0352] (21) 短小蛋白聚糖 (Brevican) (BCAN,BEHAB)

[0353] 核苷酸

[0354] Genbank登录号AF229053

[0355] Genbank版本号AF229053.1 GI:10798902

[0356] Genbank记录更新日期:Mar 11,2010 12:58 AM

[0357] 多肽

[0358] Genbank登录号AAG23135

[0359] Genbank版本号AAG23135.1 GI:10798903

[0360] Genbank记录更新日期:Mar 11,2010 12:58 AM

[0361] 参考文献

[0362] Gary S.C., et al Gene 256,139-147,2000;Clark H.F., et al Genome Res.13,2265-2270,2003;Strausberg R.L., et al Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.99,16899-16903,2002;US2003/186372 (权利要求11);US2003/186373 (权利要求11);US2003/119131 (权利要求1;图52);US2003/119122 (权利要求1;20图52);US2003/119126 (权利要求1);US2003/119121 (权利要求1;图52);US2003/119129 (权利要求1);US2003/119130 (权利要求1);US2003/119128 (权利要求1;图52);US2003/119125 (权利要求1);W02003/016475 (权利要求1);W02002/02634 (权利要求1)

[0363] (22) EphB2R (DRT,ERK,Hek5,EPHT3,Tyro5)

[0364] 核苷酸

[0365] Genbank登录号NM_004442

[0366] Genbank版本号NM_004442.6 GI:111118979

[0367] Genbank记录更新日期:Sep 8,2012 04:43 PM

[0368] 多肽

[0369] Genbank登录号NP_004433

[0370] Genbank版本号NP_004433.2 GI:21396504

[0371] Genbank记录更新日期:Sep 8,2012 04:43 PM

[0372] 参考文献

[0373] Chan,J.and Watt,V.M.,Oncogene 6(6),1057-1061(1991)Oncogene 10(5):897-905(1995),Annu.Rev.Neurosci.21:309-345(1998),Int.Rev.Cytol.196:177-244(2000);W02003042661(权利要求12);W0200053216(权利要求1;页码41);W02004065576(权利要求1);W02004020583(权利要求9);W02003004529(页码128-132);W0200053216(权利要求1;页码42);MIM:600997。

[0374] (23) ASLG659 (B7h)

[0375] 核苷酸

[0376] Genbank登录号AX092328

[0377] Genbank版本号AX092328.1 GI:13444478

[0378] Genbank记录更新日期:Jan 26,2011 07:37 AM

[0379] 参考文献

[0380] US2004/0101899(权利要求2);W02003104399(权利要求11);W02004000221(图3);US2003/165504(权利要求1);US2003/124140(实施例2);US2003/065143(图60);W02002/102235(权利要求13;页码299);US2003/091580(实施例2);W02002/10187(权利要求6;图10);W02001/94641(权利要求12;图7b);W02002/02624(权利要求13;图1A-1B);US2002/034749(权利要求54;页码45-46);W02002/06317(实施例2;页码320-321,权利要求34;页码321-322);W02002/71928(页码468-469);W02002/02587(实施例1;图1);W02001/40269(实施例3;页码190-192);W02000/36107(实施例2;页码205-207);W02004/053079(权利要求12);W02003/004989(权利要求1);W02002/71928(页码233-234,452-453);WO 01/16318。

[0381] (24) PSCA(前列腺干细胞抗原前体)

[0382] 核苷酸

[0383] Genbank登录号AJ297436

[0384] Genbank版本号AJ297436.1 GI:9367211

[0385] Genbank记录更新日期:Feb 1,2011 11:25 AM

[0386] 多肽

[0387] Genbank登录号CAB97347

[0388] Genbank版本号CAB97347.1 GI:9367212

[0389] Genbank记录更新日期:Feb 1,2011 11:25 AM

[0390] 参考文献

[0391] Reiter R.E.,et al Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.95,1735-1740,1998;Gu Z.,et al Oncogene 19,1288-1296,2000;Biochem.Biophys.Res.Commun.(2000)275(3):783-788;W02004/022709;EP1394274(实施例11);US2004/018553(权利要求17);W02003/008537(权利要求1);W02002/81646(权利要求1;页码164);W02003/003906(权利要求10;页码288);W02001/40309(实施例1;图17);US2001/055751(实施例1;图1b);W02000/32752(权利要求18;图1);W098/51805(权利要求17;页码97);W098/51824(权利要求10;页码94);W098/40403(权利要求2;图1B);登录号:043653;EMBL;AF043498;AAC39607.1

[0392] (25) GEDA

- [0393] 核苷酸
- [0394] Genbank登录号AY260763
- [0395] Genbank版本号AY260763.1 GI:30102448
- [0396] Genbank记录更新日期:Mar 11,2010 02:24 AM
- [0397] 多肽
- [0398] Genbank登录号AAP14954
- [0399] Genbank版本号AAP14954.1 GI:30102449
- [0400] Genbank记录更新日期:Mar 11,2010 02:24 AM
- [0401] 参考文献
- [0402] AP14954 lipoma HMGIC fusion-partnerlike protein/pid=AAP14954.1-智人(人);W02003/054152(权利要求20);W02003/000842(权利要求1);W02003/023013(实施例3,权利要求20);US2003/194704(权利要求45);GI:30102449;
- [0403] (26) BAFF-R(B细胞活化因子受体,BLyS受体3,BR3)
- [0404] 核苷酸
- [0405] Genbank登录号AF116456
- [0406] Genbank版本号AF116456.1 GI:4585274
- [0407] Genbank记录更新日期:Mar 10,2010 09:44 PM
- [0408] 多肽
- [0409] Genbank登录号AAD25356
- [0410] Genbank版本号AAD25356.1 GI:4585275
- [0411] Genbank记录更新日期:Mar 10,2010 09:44 PM
- [0412] 参考文献
- [0413] BAFF受体/pid=NP_443177.1-智人:Thompson,J.S.,et al Science 293(5537), 2108-2111(2001);W02004/058309;W02004/011611;W02003/045422(实施例;页码32-33);W02003/014294(权利要求35;图6B);W02003/035846(权利要求70;页码615-616);W02002/94852(Col136-137);W02002/38766 25(权利要求3;页码133);W02002/24909(实施例3;图3);MIM:606269;NP_443177.1;NM_052945_1;AF132600
- [0414] (27) CD22(B细胞受体CD22-B同种型,BL-CAM,Lyb-8,Lyb8,SIGLEC-2,FLJ22814)
- [0415] 核苷酸
- [0416] Genbank登录号AK026467
- [0417] Genbank版本号AK026467.1 GI:10439337
- [0418] Genbank记录更新日期:Sep 11,2006 11:24 PM
- [0419] 多肽
- [0420] Genbank登录号BAB15489
- [0421] Genbank版本号BAB15489.1 GI:10439338
- [0422] Genbank记录更新日期:Sep 11,2006 11:24 PM
- [0423] 参考文献
- [0424] Wilson et al(1991)J.Exp.Med.173:137-146;30 W02003/072036(权利要求1;图1);IM:107266;NP_001762.1;NM_001771_1。

- [0425] (27a) CD22 (CD22分子)
- [0426] 核苷酸
- [0427] Genbank登录号X52785
- [0428] Genbank版本号X52785.1 GI:29778
- [0429] Genbank记录更新日期:Feb 2,2011 10:09 AM
- [0430] 多肽
- [0431] Genbank登录号CAA36988
- [0432] Genbank版本号CAA36988.1 GI:29779
- [0433] Genbank记录更新日期:Feb 2,2011 10:09 AM
- [0434] 参考文献
- [0435] Stamenkovic I.et al.,Nature 345 (6270) ,74-77 (1990) ??
- [0436] 其它信息
- [0437] 官方符号:CD22
- [0438] 其它别名:SIGLEC-2,SIGLEC2
- [0439] 其它名称:B细胞受体CD22;B淋巴细胞细胞粘附分子;BL-CAM;CD22抗原;T细胞表面抗原亮氨酸-14;唾液酸结合Ig样凝集素2;唾液酸结合Ig样凝集素2
- [0440] 抗体
- [0441] G5/44 (Inotuzumab) :DiJoseph JF.,et al Cancer Immunol Immunother.2005 Jan;54(1) :11-24。
- [0442] 依帕珠单抗-Goldenberg DM.,et al Expert Rev Anticancer Ther.6(10) :1341-53,2006。
- [0443] (28) CD79a (CD79A,CD79a) ,免疫球蛋白相关的 α 、B细胞特异性蛋白,其共价相互作用于Ig β (CD79B) 并在表面上形成与Ig M 35个分子的复合物,转导涉及B细胞分化的信号, pI:4.84,MW:25028 TM:2
- [0444] [P]基因染色体:19q13.2) 。
- [0445] 核苷酸
- [0446] Genbank登录号NM_001783
- [0447] Genbank版本号NM_001783.3 GI:90193587
- [0448] Genbank记录更新日期:Jun 26,2012 01:48 PM
- [0449] 多肽
- [0450] Genbank登录号NP_001774
- [0451] Genbank版本号NP_001774.1 GI:4502685
- [0452] Genbank记录更新日期:Jun 26,2012 01:48 PM
- [0453] 参考文献
- [0454] W02003/088808,US2003/0228319;W02003/062401 (权利要求9) ;US2002/150573 (权利要求4,页码13-14) ;W099/58658 (权利要求13,图16) ;W092/07574 (图1) ;US5644033; Ha et al (1992) J.Immunol.148 (5) :1526-1531;Müller et al (1992) Eur.J.Immunol..22: 1621-1625;Hashimoto et al (1994) Immunogenetics 40 (4) :287-295;Preud'homme et al (1992) Clin.Exp.5 Immunol.90 (1) :141-146;Yu et al (1992) J.Immunol.148 (2) 633-637;

Sakaguchi et al (1988) EMBO J.7 (11):3457-3464

[0455] (29) CXCR5 (伯基特淋巴瘤受体1,G蛋白偶联受体,其被CXCL13趋化因子激活,在淋巴细胞迁移和体液性防御中起作用,在HIV-2感染中以及也许在AIDS、淋巴瘤、骨髓瘤、和白血病的发展中起作用);372aa,pI:8.54 MW:41959 TM:7[P]基因染色体:11q23.3,

[0456] 核苷酸

[0457] Genbank登录号NM_001716

[0458] Genbank版本号NM_001716.4 GI:342307092

[0459] Genbank记录更新日期:Sep 30,2012 01:49 PM

[0460] 多肽

[0461] Genbank登录号NP_001707

[0462] Genbank版本号NP_001707.1 GI:4502415

[0463] Genbank记录更新日期:Sep 30,2012 01:49 PM

[0464] 参考文献

[0465] W02004/040000;W02004/015426;US2003/105292 (实施例2);US6555339 (实施例2);W02002/61087 (图1);W02001/57188 (权利要求20,页码269);W02001/72830 (页码12-13);W02000/22129 (实施例1,页码152-153,15实施例2,页码254-256);W099/28468 (权利要求1,页码38);US5440021 (实施例2,col 49-52);W094/28931 (页码56-58);W092/17497 (权利要求7,图5);Dobner et al (1992) Eur.J.Immunol.22:2795-2799;Barella et al (1995) Biochem.J.309:773-779

[0466] (30) HLA-DOB (MHC II类分子的 β 亚基(Ia抗原),其结合肽并20将它们呈递到CD4+T淋巴细胞);273aa,pI:6.56,MW:30820.TM:1[P]基因染色体:6p21.3)

[0467] 核苷酸

[0468] Genbank登录号NM_002120

[0469] Genbank版本号NM_002120.3 GI:118402587

[0470] Genbank记录更新日期:Sep 8,2012 04:46 PM

[0471] 多肽

[0472] Genbank登录号NP_002111

[0473] Genbank版本号NP_002111.1 GI:4504403

[0474] Genbank记录更新日期:Sep 8,2012 04:46 PM

[0475] 参考文献

[0476] Tonnelie et al (1985) EMBO J.4 (11):2839-2847;Jonsson et al (1989) Immunogenetics 29 (6):411-413;Beck et al (1992) J.Mol.Biol.228:433-441;Strausberg et al (2002) Proc.Natl.Acad.Sci USA 99:16899-16903;Serenius et al (1987) J.Biol.Chem.262:8759-8766;Beck et al (1996) J.Mol.Biol.25255:1-13;Naruse et al (2002) Tissue Antigens 59:512-519;W099/58658 (权利要求13,图15);US6153408 (Col 35-38);US5976551 (col 168-170);US6011146 (col 145-146);Kasahara et al (1989) Immunogenetics 30 (1):66-68;Larhammar et al (1985) J.Biol.Chem.260 (26):14111-14119

[0477] (31) P2X5 (嘌呤能受体P2X配体门控离子通道5,由细胞外ATP门控的离子通道,可

能涉及突触传递和神经发生,缺乏可能有助于特发性逼尿肌不稳定的病理生理学);422aa),pI:7.63,MW:47206TM:1[P]基因染色体:17p13.3)。

[0478] 核苷酸

[0479] Genbank登录号NM_002561

[0480] Genbank版本号NM_002561.3 GI:325197202

[0481] Genbank记录更新日期:Jun 27,2012 12:41 AM

[0482] 多肽

[0483] Genbank登录号NP_002552

[0484] Genbank版本号NP_002552.2 GI:28416933

[0485] Genbank记录更新日期:Jun 27,2012 12:41 AM

[0486] 参考文献

[0487] Le et al (1997) FEBS Lett.418 (1-2):195-199;W02004/047749;W02003/072035 (权利要求10);Touchman et al (2000) Genome Res.10:165-173;W02002/22660 (权利要求20);W02003/093444 (权利要求1);W02003/087768 (权利要求1);W02003/029277 (页码82)

[0488] (32) CD72 (B细胞分化抗原CD72, Lyb-2);359aa,pI:8.66,MW:40225,TM:1 5[P]基因染色体:9p13.3)。

[0489] 核苷酸

[0490] Genbank登录号NM_001782

[0491] Genbank版本号NM_001782.2 GI:194018444

[0492] Genbank记录更新日期:Jun 26,2012 01:43 PM

[0493] 多肽

[0494] Genbank登录号NP_001773

[0495] Genbank版本号NP_001773.1 GI:4502683

[0496] Genbank记录更新日期:Jun 26,2012 01:43 PM

[0497] 参考文献

[0498] W02004042346 (权利要求65);W02003/026493 (页码51-52,57-58);W02000/75655 (页码105-106);Von Hoegen et al (1990) J.Immunol.144 (12):4870-4877;Strausberg et al (2002) Proc.Natl.Acad.Sci USA 99:16899-16903。

[0499] (33) LY64 (淋巴细胞抗原64 (RP105),富含亮氨酸重复 (LRR) 家族的I型膜蛋白,调节B细胞活化和细胞凋亡,在患有系统性红斑狼疮的患者中功能的消失相关于增加的疾病活性);661aa,pI:6.20,MW:74147 TM:1[P]基因染色体:5q12)。

[0500] 核苷酸

[0501] Genbank登录号NM_005582

[0502] Genbank版本号NM_005582.2 GI:167555126

[0503] Genbank记录更新日期:Sep 2,2012 01:50 PM

[0504] 多肽

[0505] Genbank登录号NP_005573

[0506] Genbank版本号NP_005573.2 GI:167555127

[0507] Genbank记录更新日期:Sep 2,2012 01:50 PM

[0508] 参考文献

[0509] US2002/193567;W097/07198(权利要求11,页码39-42);Miura et al(1996)15 Genomics 38(3):299-304;Miura et al(1998)Blood 92:2815-2822;W02003/083047;W097/44452(权利要求8,页码57-61);W02000/12130(页码24-26)。

[0510] (34)FcRH1(Fc受体样蛋白1,假定受体,用于免疫球蛋白Fc域,其包含C2型Ig样和ITAM域,在B淋巴细胞(20)分化中可以具有作用);429aa,pI:5.28,MW:46925 TM:1[P]基因染色体:1q21-1q22)

[0511] 核苷酸

[0512] Genbank登录号NM_052938

[0513] Genbank版本号NM_052938.4 GI:226958543

[0514] Genbank记录更新日期:Sep 2,2012 01:43 PM

[0515] 多肽

[0516] Genbank登录号NP_443170

[0517] Genbank版本号NP_443170.1 GI:16418419

[0518] Genbank记录更新日期:Sep 2,2012 01:43 PM

[0519] 参考文献

[0520] W02003/077836;W02001/38490(权利要求6,图18E-1-18-E-2);Davis et al(2001)Proc.Natl.Acad.Sci USA 98(17):9772-9777;W02003/089624(权利要求8);EP1347046(权利要求1);W02003/089624(权利要求7)。

[0521] (35)IRTA2(免疫球蛋白超家族受体易位相关的2,假定的免疫受体,其在B细胞的发育和淋巴瘤发生中具有可能的作用;在一些B细胞恶性疾病中发生基因的去调节(通过易位));977aa,pI:6.88,MW:106468,TM:1[P]基因染色体(Gene Chromosome):1q21)

[0522] 核苷酸

[0523] Genbank登录号AF343662

[0524] Genbank版本号AF343662.1 GI:13591709

[0525] Genbank记录更新日期:Mar 11,2010 01:16 AM

[0526] 多肽

[0527] Genbank登录号AAK31325

[0528] Genbank版本号AAK31325.1 GI:13591710

[0529] Genbank记录更新日期:Mar 11,2010 01:16 AM

[0530] 参考文献

[0531] AF343663,AF343664,AF343665,AF369794,AF397453,AK090423,AK090475,AL834187,AY358085;小鼠:AK089756,AY158090,AY506558;NP_112571.1;W02003/024392(权利要求2,图97);Nakayama et al(2000)Biochem.Biophys.Res.Commun.277(1):124-127;W02003/077836;W02001/38490(权利要求3,图18B-1-18B-2)。

[0532] (36)TENB2(TMEFF2,tomoregulin,TPEF,HPP1,TR,推定的跨膜(35)蛋白多糖,涉及到生长因子和卵泡抑素的EGF/调蛋白(heregulin)家族);374aa)

[0533] 核苷酸

[0534] Genbank登录号AF179274

- [0535] Genbank版本号AF179274.2 GI:12280939
- [0536] Genbank记录更新日期:Mar 11,2010 01:05 AM
- [0537] 多肽
- [0538] Genbank登录号AAD55776
- [0539] Genbank版本号AAD55776.2 GI:12280940
- [0540] Genbank记录更新日期:Mar 11,2010 01:05 AM
- [0541] 参考文献
- [0542] NCBI登录号:AAD55776,AAF91397,AAG49451,NCBI RefSeq:NP_057276;NCBI Gene:23671;OMIM:605734;SwissProt Q9UIK5;AY358907,CAF85723,CQ782436;W02004/074320;JP2004113151;W02003/042661;W02003/009814;EP1295944(页码69-70);W02002/30268(页码329);W02001/90304;US2004/249130;US2004/022727;W02004/063355;US2004/197325;US2003/232350;5US2004/005563;US2003/124579;Horie et al(2000)Genomics 67:146-152;Uchida et al(1999)Biochem.Biophys.Res.Commun.266:593-602;Liang et al(2000)Cancer Res.60:4907-12;Glynne-Jones et al(2001)Int J Cancer.Oct 15;94(2):178-84。
- [0543] (37) PSMA-FOLH1(叶酸水解酶(前列腺特异性膜抗原)1)
- [0544] 核苷酸
- [0545] Genbank登录号M99487
- [0546] Genbank版本号M99487.1 GI:190663
- [0547] Genbank记录更新日期:Jun 23,2010 08:48 AM
- [0548] 多肽
- [0549] Genbank登录号AAA60209
- [0550] Genbank版本号AAA60209.1 GI:190664
- [0551] Genbank记录更新日期:Jun 23,2010 08:48 AM
- [0552] 参考文献
- [0553] Israeli R.S.,et al Cancer Res.53(2),227-230(1993)
- [0554] 其它信息
- [0555] 官方符号:FOLH1
- [0556] 其它别名:GIG27、FGCP、FOLH、GCP2、GCPII、NAALAD1、NAALAdase、PSM、PSMA、mGCP
- [0557] 其它名称:N-乙酰化 α -连接的酸性二肽酶1;N-乙酰化- α -连接的酸性二肽酶I;NAALADase I;细胞生长抑制基因27蛋白;叶酰多- γ -谷氨酸羧肽酶;谷氨酸羧化酶II;谷氨酸羧肽酶2;谷氨酸羧肽酶II;膜谷氨酸羧肽酶;前列腺特异性膜抗原变体F;蝶酰多- γ -谷氨酸羧肽酶
- [0558] 抗体
- [0559] US 7,666,425:
- [0560] 抗体是通过杂交瘤所产生,其具有以下ATCC参考:ATCC登录号HB-12101、ATCC登录号HB-12109、ATCC登录号HB-12127和ATCC登录号HB-12126。
- [0561] Proscan:单克隆抗体,其选自由8H12、3E11、17G1、29B4、30C1和20F2组成的组(US 7,811,564;Moffett S.,et al Hybridoma(Larchmt).2007Dec;26(6):363-72)。

[0562] Cytogen:单克隆抗体7E11-C5(ATCC登录号HB 10494)和9H10-A4(ATCC登录号HB11430)-US 5,763,202

[0563] GlycoMimetics:NUH2-ATCC登录号HB 9762(US 7,135,301)

[0564] 人类基因组科学(Human Genome Science):HPRAJ70-ATCC登录号97131(US 6,824,993);由cDNA克隆(HPRAJ70)编码的氨基酸序列,保藏于美国典型培养物保藏中心(American Type Culture Collection)("ATCC"),保藏号97131

[0565] Medarex:抗PSMA抗体,其缺乏岩藻糖基残基-US 7,875,278

[0566] 小鼠抗PSMA抗体包括3F5.4G6、3D7.1.1、4E10-1.14、3E11、4D8、3E6、3C9、2C7、1G3、3C4、3C6、4D4、1G9、5C8B9、3G6、4C8B9、和单克隆抗体。分泌3F5.4G6、3D7.1.1、4E10-1.14、3E11、4D8、3E6、3C9、2C7、1G3、3C4、3C6、4D4、1G9、5C8B9、3G6或4C8B9的杂交瘤已公开保藏并描述于美国专利号6,159,508。有关的杂交瘤已公开保藏并描述于美国专利号6,107,090。此外,人源化抗PSMA抗体,包括J591的人源化形式,进一步详细描述于PCT申请公开WO 02/098897。

[0567] 在本领域中已描述了其它小鼠抗人PSMA抗体,如mAb107-1A4(Wang,S.et al.(2001)Int.J.Cancer 92:871-876)和mAb 2C9(Kato,K.et al.(2003)Int.J.Urol.10:439-444)。

[0568] 人抗PSMA单克隆抗体的实例包括4A3、7F12、8C12、8A11、16F9、2A10、2C6、2F5和1C3抗体,其分离和结构表征最初描述于PCT申请公开WO 01/09192和WO 03/064606以及美国临时申请序列号60/654,125,题为"Human Monoclonal Antibodies to Prostate Specific Membrane Antigen(PSMA)",于2005年2月18日提交。4A3、7F12、8C12、8A11、16F9、2A10、2C6、2F5和1C3的V.sub.H(重链可变)氨基酸序列分别示于SEQ ID NO:1-9。4A3、7F12、8C12、8A11、16F9、2A10、2C6、2F5和1C3的V.sub.L(轻链可变)氨基酸序列分别示于SEQ ID NO:10-18。

[0569] 其它人抗PSMA抗体包括在PCT申请公开WO 03/034903和美国申请号2004/0033229中披露的抗体。

[0570] NW Biotherapeutics:杂交瘤细胞系选自由ATCC登录号为HB12060的3F5.4G6、ATCC登录号为HB12309的3D7-1.I、ATCC登录号为HB12310的4E10-1.14、3E11(ATCC HB12488)、4D8(ATCC HB12487)、3E6(ATCC HB12486)、3C9(ATCC HB12484)、2C7(ATCC HB12490)、1G3(ATCC HB12489)、3C4(ATCC HB12494)、3C6(ATCC HB12491)、4D4(ATCC HB12493)、1G9(ATCC HB12495)、5C8B9(ATCC HB12492)和3G6(ATCC HB12485)组成的组。参见US 6,150,508。

[0571] PSMA Development Company/Progenics/Cytogen-Seattle Genetics:mAb 3.9,其是通过杂交瘤所产生,其中上述杂交瘤保藏为ATCC登录号PTA-3258,或mAb 10.3,其是通过杂交瘤所产生,其中上述杂交瘤保藏为ATCC登录号PTA-3347-US 7,850,971

[0572] PSMA Development Company-PSMA抗体的组合物(US 20080286284,表1)

[0573] 此申请是美国专利申请序列号10/395,894的分案,其于2003年3月21日提交(US 7,850,971)

[0574] University Hospital Freiburg,德国-mAb 3/A12、3/E7、和3/F11(Wolf P.,et al Prostate.2010 Apr 1;70(5):562-9)

- [0575] (38) SST (生长抑素受体;注意:存在5种亚型)
- [0576] (38.1) SSTR2 (生长抑素受体2)
- [0577] 核苷酸
- [0578] Genbank登录号NM_001050
- [0579] Genbank版本号NM_001050.2 GI:44890054
- [0580] Genbank记录更新日期:Aug 19,2012 01:37 PM
- [0581] 多肽
- [0582] Genbank登录号NP_001041
- [0583] Genbank版本号NP_001041.1 GI:4557859
- [0584] Genbank记录更新日期:Aug 19,2012 01:37 PM
- [0585] 参考文献
- [0586] Yamada Y.,et al Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.89 (1) ,251-255 (1992) ;Susini C.,et al Ann Oncol.2006 Dec;17 (12) :1733-42
- [0587] 其它信息
- [0588] 官方符号:SSTR2
- [0589] 其它名称:SRIF-1;SS2R;生长抑素受体2型
- [0590] (38.2) SSTR5 (生长抑素受体5)
- [0591] 核苷酸
- [0592] Genbank登录号D16827
- [0593] Genbank版本号D16827.1 GI:487683
- [0594] Genbank记录更新日期:Aug 1,2006 12:45 PM
- [0595] 多肽
- [0596] Genbank登录号BAA04107
- [0597] Genbank版本号BAA04107.1 GI:487684
- [0598] Genbank记录更新日期:Aug 1,2006 12:45 PM
- [0599] 参考文献
- [0600] Yamada,Y.,et al Biochem.Biophys.Res.Commun.195 (2) ,844-852 (1993) 其它信息
- [0601] 官方符号:SSTR5
- [0602] 其它别名:SS-5-R
- [0603] 其它名称:生长抑素受体亚型5;生长抑素受体类型5
- [0604] (38.3) SSTR1
- [0605] (38.4) SSTR3
- [0606] (38.5) SSTR4
- [0607] AvB6-两种亚基 (39+40)
- [0608] (39) ITGAV (整联蛋白,αV;
- [0609] 核苷酸
- [0610] Genbank登录号M14648 J02826 M18365
- [0611] Genbank版本号M14648.1 GI:340306

- [0612] Genbank记录更新日期:Jun 23,2010 08:56 AM
- [0613] 多肽
- [0614] Genbank登录号AAA36808
- [0615] Genbank版本号AAA36808.1 GI:340307
- [0616] Genbank记录更新日期:Jun 23,2010 08:56 AM
- [0617] 参考文献
- [0618] Suzuki S.,et al Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.83 (22) ,8614-8618 (1986)
- [0619] 其它信息
- [0620] 官方符号:ITGAV
- [0621] 其它别名:CD51、MSK8、VNRA、VTNR
- [0622] 其它名称:由单克隆抗体L230确定的抗原;整联蛋白 α -V;整联蛋白 α V β 3;整联蛋白 α V(玻连蛋白受体, α 多肽、抗原CD51);玻连蛋白受体亚基 α
- [0623] (40) ITGB6(整联蛋白, β 6)
- [0624] 核苷酸
- [0625] Genbank登录号NM_000888
- [0626] Genbank版本号NM_000888.3 GI:9966771
- [0627] Genbank记录更新日期:Jun 27,2012 12:46 AM
- [0628] 多肽
- [0629] Genbank登录号NP_000879
- [0630] Genbank版本号NP_000879.2 GI:9625002
- [0631] Genbank记录更新日期:Jun 27,2012 12:46 AM
- [0632] 参考文献
- [0633] Sheppard D.J.,et al Biol.Chem.265 (20) ,11502-11507 (1990)
- [0634] 其它信息
- [0635] 官方符号:ITGB6
- [0636] 其它名称:整联蛋白 β -6
- [0637] 抗体
- [0638] Biogen:US 7,943,742-杂交瘤克隆6.3G9和6.8G6是由ATCC保藏,登录号分别为ATCC PTA-3649和-3645。
- [0639] Biogen:US7,465,449-在一些实施方式中,抗体包含和由杂交瘤6.1A8、6.3G9、6.8G6、6.2B1、6.2B10、6.2A1、6.2E5、7.1G10、7.7G5、或7.1C5产生的抗体相同的重链和轻链多肽序列。
- [0640] Centocor (J&J) :US7,550,142;US7,163,681
- [0641] 例如在US 7,550,142中,一种抗体,该抗体具有人重链和人轻链可变区,其包含示于SEQ ID NO:7和SEQ ID NO:8中的氨基酸序列。
- [0642] Seattle Genetics:15H3 (Ryan MC.,et al Cancer Res April 15,2012;72 (8Supplement) :4630)
- [0643] (41) CEACAM5(癌胚抗原相关细胞粘附分子5)
- [0644] 核苷酸

- [0645] Genbank登录号M17303
- [0646] Genbank版本号M17303.1 GI:178676
- [0647] Genbank记录更新日期:Jun 23,2010 08:47 AM
- [0648] 多肽
- [0649] Genbank登录号AAB59513
- [0650] Genbank版本号AAB59513.1 GI:178677
- [0651] Genbank记录更新日期:Jun 23,2010 08:47 AM
- [0652] 参考文献
- [0653] Beauchemin N., et al Mol.Cell.Biol.7 (9) ,3221-3230 (1987)
- [0654] 其它信息
- [0655] 官方符号:CEACAM5
- [0656] 其它别名:CD66e、CEA
- [0657] 其它名称:胎粪抗原100 (meconium antigen)
- [0658] 抗体
- [0659] AstraZeneca-MedImmune:US 20100330103;US20080057063;US20020142359
- [0660] -例如一种抗体,该抗体具有互补决定区(CDR),其具有以下序列:重链;CDR1-DNYMH、CDR2-WIDPENGDT E YAPKFRG、CDR3-LIYAGYLAMD Y;以及轻链CDR1-SASSSVTYMH、CDR2-STSNLAS、CDR3-QQRSTYPLT。
- [0661] -杂交瘤806.077,保藏于欧洲细胞培养物保藏中心(ECACC),保藏号为96022936。
- [0662] Research Corporation Technologies, Inc:US5,047,507
- [0663] Bayer Corporation:US6,013,772
- [0664] BioAlliance:US7,982,017;US7,674,605
- [0665] • US 7,674,605
- [0666] -一种抗体,其包含来自SEQ ID NO:1的氨基酸序列的重链可变区序列,以及来自SEQ ID NO:2的氨基酸序列的轻链可变区序列。
- [0667] -一种抗体,其包含来自SEQ ID NO:5的氨基酸序列的重链可变区序列,以及来自SEQ ID NO:6的氨基酸序列的轻链可变区序列。
- [0668] Celltech Therapeutics Limited:US5,877,293
- [0669] Dow Chemical Company:US5,472,693;US6,417,337;US6,333,405
- [0670] US5,472,693-例如,ATCC号CRL-11215
- [0671] US6,417,337-例如,ATCC CRL-12208
- [0672] US6,333,405-例如,ATCC CRL-12208
- [0673] Immunomedics, Inc:US7,534,431;US7,230,084;US7,300,644;US6,730,300;US20110189085
- [0674] -一种抗体,具有轻链可变区的CDR,其包括:
- [0675] CDR1,包括KASQDVGT SVA (SEQ ID NO:20);CDR2,包括WTSTRHT (SEQ ID NO:21);以及CDR3,包括QQYSLYRS (SEQ ID NO:22);
- [0676] 以及所述抗CEA抗体的重链可变区的CDR,包含:
- [0677] CDR1,包含TYWMS (SEQ ID NO:23);CDR2,包含EIHPDSSTINYAPSLKD (SEQ ID NO:

24) ;以及CDR3,包含LYFGFPWFAY (SEQ ID NO:25) 。

[0678] US20100221175;US20090092598;US20070202044;US20110064653;US20090185974;US20080069775。

[0679] (42) MET (met原癌基因;肝细胞生长因子受体)

[0680] 核苷酸

[0681] Genbank登录号M35073

[0682] Genbank版本号M35073.1 GI:187553

[0683] Genbank记录更新日期:Mar 6,2012 11:12 AM

[0684] 多肽

[0685] Genbank登录号AAA59589

[0686] Genbank版本号AAA59589.1 GI:553531

[0687] Genbank记录更新日期:Mar 6,2012 11:12 AM

[0688] 参考文献

[0689] Dean M.,et al Nature 318 (6044) ,385-388 (1985)

[0690] 其它信息

[0691] 官方符号:MET

[0692] 其它别名:AUTS9、HGFR、RCCP2、c-Met

[0693] 其它名称:HGF受体;HGF/SF受体;SF受体;肝细胞生长因子受体;met原癌基因酪氨酸激酶;原癌基因c-Met;分散因子受体 (scatter factor receptor) ;酪氨酸蛋白激酶Met

[0694] 抗体

[0695] Abgenix/Pfizer:US20100040629

[0696] 例如,由具有美国典型培养物保藏中心 (ATCC) 登录号PTA-5026的杂交瘤13.3.2产生的抗体;由具有ATCC登录号PTA-5027的杂交瘤9.1.2产生的抗体;由ATCC登录号为PTA-5028的杂交瘤8.70.2产生的抗体;或由ATCC登录号为PTA-5029的杂交瘤6.90.3产生的抗体。

[0697] Amgen/Pfizer:US20050054019

[0698] 例如,一种抗体,该抗体包含重链,其具有在SEQ ID NO:2中展示的氨基酸序列,其中X2是谷氨酸以及X4是丝氨酸,以及轻链,其具有在SEQ ID NO:4中展示的氨基酸序列,其中X8是丙氨酸,没有信号序列;一种抗体,该抗体包含重链,其具有在SEQ ID NO:6中展示的氨基酸序列,以及轻链,其具有在SEQ ID NO:8中展示的氨基酸序列,没有信号序列;一种抗体,该抗体包含重链,其具有在SEQ ID NO:10中展示的氨基酸序列,以及轻链,其具有在SEQ ID NO:12中展示的氨基酸序列,没有信号序列;或一种抗体,该抗体包含重链,其具有在SEQ ID NO:14中展示的氨基酸序列,以及轻链,其具有在SEQ ID NO:16中展示的氨基酸序列,没有信号序列。

[0699] Agouron Pharmaceuticals (Now Pfizer) :US20060035907

[0700] Eli Lilly:US20100129369

[0701] Genentech:US5,686,292;US20100028337;US20100016241;US20070129301;US20070098707;US20070092520;US20060270594;US20060134104;US20060035278;US20050233960;US20050037431

- [0702] US 5,686,292-例如,ATCC HB-11894和ATCC HB-11895
- [0703] US 20100016241-例如,ATCC HB-11894 (杂交瘤1A3.3.13) 或HB-11895 (杂交瘤5D5.11.6)
- [0704] National Defense Medical Center,Taiwan:Lu RM.,et al Biomaterials.2011 Apr;32 (12) :3265-74。
- [0705] Novartis:US20090175860
- [0706] -例如,一种抗体,该抗体包含重链4687的CDR1、CDR2和CDR3的序列,其中重链4687的CDR1、CDR2、和CDR3的序列分别是SEQ ID NO:58的残基26-35、50-65、和98-102;以及轻链5097的CDR1、CDR2、和CDR3的序列,其中轻链5097的CDR1、CDR2、和CDR3的序列分别是SEQ ID NO:37的残基24-39、55-61、和94-100。
- [0707] Pharmacia Corporation:US20040166544
- [0708] Pierre Fabre:US20110239316、US20110097262、US20100115639
- [0709] Sumsung:US 20110129481-例如产生自登录号为KCLRF-BP-00219或登录号为KCLRF-BP-00223的杂交瘤细胞的单克隆抗体。
- [0710] Samsung:US 20110104176-例如由登录号为KCLRF-BP-00220的杂交瘤细胞产生的抗体。
- [0711] University of Turin Medical School:DN-30 Pacchiana G.,et al J Biol Chem.2010 Nov 12;285 (46) :36149-57
- [0712] Van Andel Research Institute:Jiao Y.,et al Mol Biotechnol.2005 Sep;31 (1) :41-54。
- [0713] (43) MUC1 (粘蛋白1 (Mucin 1),细胞表面相关的)
- [0714] 核苷酸
- [0715] Genbank登录号J05581
- [0716] Genbank版本号J05581.1 GI:188869
- [0717] Genbank记录更新日期:Jun 23,2010 08:48 AM
- [0718] 多肽
- [0719] Genbank登录号AAA59876
- [0720] Genbank版本号AAA59876.1 GI:188870
- [0721] Genbank记录更新日期:Jun 23,2010 08:48 AM
- [0722] 参考文献
- [0723] Gendler S.J.,et al J.Biol.Chem.265 (25) ,15286-15293 (1990)
- [0724] 其它信息
- [0725] 官方符号:MUC1
- [0726] 其它别名:RP11-263K19.2、CD227、EMA、H23AG、KL-6、MAM6、MUC-1、MUC-1/SEC、MUC-1/X、MUC1/ZD、PEM、PEMT、PUM
- [0727] 其它名称:DF3抗原;H23抗原;乳腺癌相关抗原DF3;癌相关粘蛋白;episialin;krebs von den Lungen-6;粘蛋白1,跨膜;粘蛋白-1;花生反应尿粘蛋白;多形上皮粘蛋白;肿瘤相关的上皮粘蛋白;肿瘤相关上皮膜抗原;肿瘤相关粘蛋白
- [0728] 抗体

- [0729] AltaRex-Quest Pharma Tech:US 6,716,966-例如由ATCC号为PTA-975的杂交瘤产生的Alt-1抗体。
- [0730] AltaRex-Quest Pharma Tech:US7,147,850
- [0731] CRT:5E5-Sørensen AL.,et al Glycobiology vol.16no.2pp.96-107,2006; HMF2-Burchell J.,et al Cancer Res.,47,5476-5482(1987)
- [0732] Glycotope GT-MAB:GT-MAB 2.5-GEX
- [0733] (网站:<http://www.glycotope.com/pipeline/pankomab-gex>)
- [0734] Immunogen:US7,202,346
- [0735] -例如,抗体MJ-170:杂交瘤细胞系MJ-170 ATCC登录号PTA-5286单克隆抗体MJ-171:杂交瘤细胞系MJ-171 ATCC登录号PTA-5287;单克隆抗体MJ-172:杂交瘤细胞系MJ-172 ATCC登录号PTA-5288;或单克隆抗体MJ-173:杂交瘤细胞系MJ-173 ATCC登录号PTA-5302
- [0736] Immunomedics:US 6,653,104
- [0737] Ramot Tel Aviv Uni:US7,897,351
- [0738] Regents Uni.CA:US 7,183,388;US20040005647;US20030077676。
- [0739] Roche GlycArt:US8,021,856
- [0740] Russian National Cancer Research Center:Imuteran-Ivanov PK.,et al Biotechnol J.2007 Jul;2(7):863-70
- [0741] Technische Univ Braunschweig:(IIB6,HT186-B7,HT186-D11,HT186-G2,HT200-3A-C1,HT220-M-D1,HT220-M-G8)-Thie H.,et al PLoS One.2011 Jan 14;6(1):e15921
- [0742] (44) CA9 (碳酸酐酶IX)
- [0743] 核苷酸
- [0744] Genbank登录号X66839
- [0745] Genbank版本号X66839.1 GI:1000701
- [0746] Genbank记录更新日期:Feb 2,2011 10:15 AM
- [0747] 多肽
- [0748] Genbank登录号CAA47315
- [0749] Genbank版本号CAA47315.1 GI:1000702
- [0750] Genbank记录更新日期:Feb 2,2011 10:15 AM
- [0751] 参考文献
- [0752] Pastorek J.,et al Oncogene 9(10),2877-2888(1994)
- [0753] 其它信息
- [0754] 官方符号:CA9
- [0755] 其它别名:CAIX、MN
- [0756] 其它名称:CA-IX;P54/58N;RCC相关抗原G250;RCC相关蛋白G250;碳酸脱水酶IX;碳酸酐酶9;碳酸脱水酶;膜抗原MN;pMW1;肾细胞癌相关抗原G250
- [0757] 抗体
- [0758] Abgenix/Amgen:US20040018198
- [0759] Affibody:抗CAIX亲和体(affibody)分子
- [0760] (<http://www.affibody.com/en/Product-Portfolio/Pipeline/>)

- [0761] Bayer:US7,462,696
- [0762] Bayer/Morphosys:3ee9 mAb-Petrul HM.,et al Mol Cancer Ther.2012Feb;11(2):340-9
- [0763] Harvard Medical School:抗体G10、G36、G37、G39、G45、G57、G106、G119、G6、G27、G40和G125.Xu C.,et al PLoS One.2010 Mar 10;5(3):e9625
- [0764] Institute of Virology,Slovak Academy of Sciences (Bayer) -US5,955,075
- [0765] -例如,M75-ATCC登录号HB 11128或MN12-ATCC登录号HB 11647
- [0766] Institute of Virology,Slovak Academy of Sciences:US7,816,493
- [0767] -例如分泌自杂交瘤VU-M75的M75单克隆抗体,其保藏在美国典型培养物保藏中心,ATCC号为HB 11128;或分泌自杂交瘤V/10-VU的V/10单克隆抗体,其保藏在Belgian Coordinated Collection of Microorganisms (BCCM) 的国际保藏机构,在Laboratorium voor Moleculaire Biologie-Plasmidencollectie (LMBP),在Universeit Gent in Gent,比利时,登录号为LMBP 6009CB。
- [0768] Institute of Virology,Slovak Academy of Sciences:US20080177046;US20080176310;US20080176258;US20050031623
- [0769] Novartis:US20090252738
- [0770] Willex:US7,691,375-例如由杂交瘤细胞系DSM ASC 2526产生的抗体。
- [0771] Willex:US20110123537;Rencarex:Kennett RH.,et al Curr Opin Mol Ther.2003 Feb;5(1):70-5
- [0772] Xencor:US20090162382
- [0773] (45) EGFRvIII (表皮生长因子受体 (EGFR), 转录变体3,
- [0774] 核苷酸
- [0775] Genbank登录号NM_201283
- [0776] Genbank版本号NM_201283.1 GI:41327733
- [0777] Genbank记录更新日期:Sep 30,2012 01:47 PM
- [0778] 多肽
- [0779] Genbank登录号NP_958440
- [0780] Genbank版本号NP_958440.1 GI:41327734
- [0781] Genbank记录更新日期:Sep 30,2012 01:47 PM
- [0782] 参考文献
- [0783] Batra SK.,et al Cell Growth Differ 1995;6:1251-1259。
- [0784] 抗体:
- [0785] US7,628,986和US7,736,644 (Amgen)
- [0786] 例如,重链可变区氨基酸序列,其选自由SEQ ID NO:142和变体组成的组,以及轻链可变区氨基酸序列,其选自由SEQ ID NO:144和变体组成的组。
- [0787] US20100111979 (Amgen)
- [0788] 例如,一种抗体,该抗体包含重链氨基酸序列,其包含:
- [0789] 由序列组成的CDR1,上述序列选自由用于抗体13.1.2 (SEQ ID NO:138)、131 (SEQ ID NO:2)、170 (SEQ ID NO:4)、150 (SEQ ID NO:5)、095 (SEQ ID NO:7)、250 (SEQ ID NO:9)、

139 (SEQ ID NO:10)、211 (SEQ ID NO:12)、124 (SEQ ID NO:13)、318 (SEQ ID NO:15)、342 (SEQ ID NO:16)、和333 (SEQ ID NO:17)的CDR1区的氨基酸序列组成的组;

[0790] 由序列组成的CDR2,上述序列选自由用于抗体13.1.2 (SEQ ID NO:138)、131 (SEQ ID NO:2)、170 (SEQ ID NO:4)、150 (SEQ ID NO:5)、095 (SEQ ID NO:7)、250 (SEQ ID NO:9)、139 (SEQ ID NO:10)、211 (SEQ ID NO:12)、124 (SEQ ID NO:13)、318 (SEQ ID NO:15)、342 (SEQ ID NO:16)、和333 (SEQ ID NO:17)的CDR2区的氨基酸序列组成的组;以及

[0791] 由序列组成的CDR3,上述序列选自由用于抗体13.1.2 (SEQ ID NO:138)、131 (SEQ ID NO:2)、170 (SEQ ID NO:4)、150 (SEQ ID NO:5)、095 (SEQ ID NO:7)、250 (SEQ ID NO:9)、139 (SEQ ID NO:10)、211 (SEQ ID NO:12)、124 (SEQ ID NO:13)、318 (SEQ ID NO:15)、342 (SEQ ID NO:16)、和333 (SEQ ID NO:17)的CDR3区的氨基酸序列组成的组。

[0792] US20090240038 (Amgen)

[0793] 例如,具有重链或轻链多肽的至少之一的抗体包含氨基酸序列,其至少90%相同于选自由SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:142、SEQ ID NO:144、以及它们的任何组合组成的组的氨基酸序列。

[0794] US20090175887 (Amgen)

[0795] 例如,一种抗体,该抗体具有重链氨基酸序列,其选自由抗体13.1.2 (SEQ ID NO:138)、131 (SEQ ID NO:2)、170 (SEQ ID NO:4)、150 (SEQ ID NO:5)、095 (SEQ ID NO:7)、250 (SEQ ID NO:9)、139 (SEQ ID NO:10)、211 (SEQ ID NO:12)、124 (SEQ ID NO:13)、318 (SEQ ID NO:15)、342 (SEQ ID NO:16)、和333 (SEQ ID NO:17)的重链氨基酸序列组成的组。

[0796] US20090156790 (Amgen)

[0797] 例如,具有重链多肽和轻链多肽的抗体,其中重链或轻链多肽的至少之一包含氨基酸序列,其至少90%相同于选自由SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:142、SEQ ID NO:144、以及它们的任何组合组成的组的氨基酸序列。

[0798] US20090155282、US20050059087和US20050053608 (Amgen)

[0799] 例如,抗体重链氨基酸序列,其选自由抗体13.1.2 (SEQ ID NO:138)、131 (SEQ ID NO:2)、170 (SEQ ID NO:4)、150 (SEQ ID NO:5)、095 (SEQ ID NO:7)、250 (SEQ ID NO:9)、139 (SEQ ID NO:10)、211 (SEQ ID NO:12)、124 (SEQ ID NO:13)、318 (SEQ ID NO:15)、342 (SEQ ID NO:16)、和333 (SEQ ID NO:17)的重链氨基酸序列组成的组。

[0800] MR1-1 (US7,129,332;Duke)

[0801] 例如,变体抗体,其具有SEQ ID NO.18的序列,其中具有取代,在CDR3 VH中的S98P-T99Y,以及在CDR3 VL中的F92W。

[0802] L8A4,H10,Y10(Wikstrand CJ.,et al Cancer Res.1995 Jul15;55(14):3140-8;Duke)

[0803] US20090311803 (Harvard University)

[0804] 例如,用于抗体重链可变区的SEQ ID NO:9,以及用于轻链可变区氨基酸序列的SEQ ID NO:3

[0805] US20070274991 (EMD72000,还被称为马妥珠单抗;Harvard University)

[0806] 例如,分别用于轻链和重链的SEQ ID NO:3和9

[0807] US6,129,915 (Schering)

- [0808] 例如,SEQ.ID NO:1、2、3、4、5和6。
- [0809] mAb CH12-Wang H.,et al FASEB J.2012 Jan;26(1):73-80(上海肿瘤研究所)。
- [0810] RAbDMvIII-Gupta P.,et al BMC Biotechnol.2010 Oct7;10:72(Stanford University Medical Center)。
- [0811] mAb Ua30-Ohman L.,et al Tumour Biol.2002Mar-Apr;23(2):61-9(Uppsala University)。
- [0812] Han DG.,et al Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao.2010 Jan;30(1):25-9(西安交通大学)。
- [0813] (46) CD33 (CD33分子)
- [0814] 核苷酸
- [0815] Genbank登录号M_23197
- [0816] Genbank版本号NM_23197.1 GI:180097
- [0817] Genbank记录更新日期:Jun 23,2010 08:47 AM
- [0818] 多肽
- [0819] Genbank登录号AAA51948
- [0820] Genbank版本号AAA51948.1 GI:188098
- [0821] Genbank记录更新日期:Jun 23,2010 08:47 AM
- [0822] 参考文献
- [0823] Simmons D.,et al J.Immunol.141(8),2797-2800(1988)
- [0824] 其它信息
- [0825] 官方符号:CD33
- [0826] 其它别名:SIGLEC-3、SIGLEC3、p67
- [0827] 其它名称:CD33抗原(gp67);gp67;髓样细胞表面抗原CD33;唾液酸结合Ig样凝集素3;唾液酸结合Ig样凝集素
- [0828] 抗体
- [0829] H195(林妥珠单抗(Lintuzumab))-Raza A.,et al Leuk Lymphoma.2009 Aug;50(8):1336-44;US6,759,045(Seattle Genetics/Immunomedics)
- [0830] mAb OKT9:Sutherland,D.R.et al.Proc Natl Acad Sci USA 78(7):4515-4519 1981,Schneider,C.,et al J Biol Chem 257,8516-8522(1982)
- [0831] mAb E6:Hoogenboom,H.R.,et al J Immunol 144,3211-3217(1990)
- [0832] US6,590,088(人类基因组科学(Human Genome Sciences))
- [0833] 例如,SEQ ID NO:1和2以及ATCC登录号97521
- [0834] US7,557,189(Immunogen)
- [0835] 例如,抗体或其片段,包含重链可变区,其包含具有SEQ ID NO:1-3的氨基酸序列的三个CDR,以及轻链可变区,其包含具有SEQ ID NO:4-6的氨基酸序列的三个CDR。
- [0836] (47) CD19 (CD19分子)
- [0837] 核苷酸
- [0838] Genbank登录号NM_001178098
- [0839] Genbank版本号NM_001178098.1 GI:296010920

- [0840] Genbank记录更新日期:Sep 10,2012 12:43 AM
- [0841] 多肽
- [0842] Genbank登录号NP_001171569
- [0843] Genbank版本号NP_001171569.1 GI:296010921
- [0844] Genbank记录更新日期:Sep 10,2012 12:43 AM
- [0845] 参考文献
- [0846] Tedder TF.,et al J.Immunol.143 (2) :712-7 (1989)
- [0847] 其它信息
- [0848] 官方符号:CD19
- [0849] 其它别名:B4、CVID3
- [0850] 其它名称:B-淋巴细胞抗原CD19;B淋巴细胞表面抗原B4;T细胞表面抗原亮氨酸-12;分化抗原CD19
- [0851] 抗体
- [0852] Immunogen:HuB4-Al-Katib AM.,et al Clin Cancer Res.2009 Jun 15;15(12) :4038-45。
- [0853] 4G7:Kügler M.,et al Protein Eng Des Sel.2009 Mar;22(3) :135-47
- [0854] 例如,在Knappik,A.et al.J Mol Biol 2000 Feb;296(1) :57-86的图3中的序列
- [0855] AstraZeneca/MedImmune:MEDI-551-Herbst R.,et al J Pharmacol Exp Ther.2010 Oct;335(1) :213-22
- [0856] Glenmark Pharmaceuticals:GBR-401-Hou S.,et al Mol Cancer Ther November 2011 10(会议摘要补充)C164
- [0857] US7,109,304 (Immunomedics)
- [0858] 例如,一种抗体,其包含hA19Vk (SEQ ID NO:7) 的序列和hA19VH (SEQ ID NO:10) 的序列
- [0859] US7,902,338 (Immunomedics)
- [0860] 例如,抗体或其抗原结合片段,其包含SEQ ID NO:16 (KASQSVDDYDGDSYLN) 的轻链互补决定区CDR序列CDR1;SEQ ID NO:17 (DASNLVS) 的CDR2;以及SEQ ID NO:18 (QQSTEDPWT) 的CDR3,以及SEQ ID NO:19 (SYWMN) 的重链CDR序列CDR1;SEQ ID NO:20 (QIWPGDGDTNYNGKFKG) 的CDR2和SEQ ID NO:21 (RETTTVGRYYYYAMDY) 的CDR3,并且还包含人抗体架构 (FR) 和恒定区序列,其中一个或多个构架区氨基酸残基被亲本鼠抗体的相应的构架区序列所取代,以及其中所述取代的FR残基包含在重链可变区的Kabat残基91处丝氨酸替代苯丙氨酸。
- [0861] Medarex:MDX-1342-Cardarelli PM.,et al Cancer Immunol Immunother.2010 Feb;59(2) :257-65。
- [0862] MorphoSys/Xencor:MOR-208/XmAb-5574-Zalevsky J.,et al Blood.2009 Apr 16;113(16) :3735-43
- [0863] US7,968,687 (Seattle Genetics)
- [0864] 抗体或抗原结合片段,其含有包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列的重链可变域和包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的轻链可变域。
- [0865] 4G7 chim-Lang P.,et al Blood.2004 May 15;103(10) :3982-5 (University of

Tübingen)

[0866] 例如,US20120082664的图6和SEQ ID No:80

[0867] 浙江大学医学院:2E8-Zhang J.,et al J Drug Target.2010 Nov;18(9):675-8

[0868] (48) IL2RA(白细胞介素2受体, α);NCBI参考序列:NM_000417.2);

[0869] 核苷酸

[0870] Genbank登录号NM_000417

[0871] Genbank版本号NM_000417.2 GI:269973860

[0872] Genbank记录更新日期:Sep 09,2012 04:59 PM

[0873] 多肽

[0874] Genbank登录号NP_000408

[0875] Genbank版本号NP_000408.1 GI:4557667

[0876] Genbank记录更新日期:Sep 09,2012 04:59 PM

[0877] 参考文献

[0878] Kuziel W.A.,et al J.Invest.Dermatol.94(6 SUPPL),27S-32S(1990)

[0879] 其它信息

[0880] 官方符号:IL2RA

[0881] 其它别名:RP11-536K7.1、CD25、IDDM10、IL2R、TCGFR

[0882] 其它名称:FIL-2受体亚基 α ;IL-2-RA;IL-2R亚基 α ;IL2-RA;TAC抗原;白细胞介素-2受体亚基 α ;p55

[0883] 抗体

[0884] US6,383,487 (Novartis/UCL:Baxilisimab[舒莱(Simulect)])

[0885] US6,521,230 (Novartis/UCL:Baxilisimab[舒莱])

[0886] 例如,具有抗原结合位点的抗体包含至少一个域,其包含具有在SEQ.ID.NO:7中的氨基酸序列的CDR1、具有在SEQ.ID.NO:8中的氨基酸序列的CDR2、和具有在SEQ.ID.NO:9中的氨基酸序列的CDR3;或所述CDR1、CDR2和CDR3(按整体序列考虑)包含氨基酸序列,其至少90%相同于SEQ.ID.NO:7、8和9(按整体序列考虑)。

[0887] 达克珠单抗(Daclizumab)-Rech A.J.,et al Ann N Y Acad Sci.2009 Sep;1174:99-106 (Roche)

[0888] (49) AXL (AXL受体酪氨酸激酶)

[0889] 核苷酸

[0890] Genbank登录号M76125

[0891] Genbank版本号M76125.1 GI:292869

[0892] Genbank记录更新日期:Jun 23,2010 08:53 AM

[0893] 多肽

[0894] Genbank登录号AAA61243

[0895] Genbank版本号AAA61243.1 GI:29870

[0896] Genbank记录更新日期:Jun 23,2010 08:53 AM

[0897] 参考文献

[0898] O'Bryan J.P.,et al Mol.Cell.Biol.11(10),5016-5031(1991);Bergsagel

P.L.,et al J.Immunol.148 (2) ,590-596 (1992)

[0899] 其它信息

[0900] 官方符号:AXL

[0901] 其它别名:JTK11、UF0

[0902] 其它名称:AXL癌基因;AXL转化序列/基因;癌基因AXL;酪氨酸蛋白激酶受体UF0

[0903] 抗体

[0904] YW327.6S2-Ye X.,et al Oncogene.2010 Sep 23;29 (38) :5254-64。(Genentech)

[0905] BergenBio:BGB324 (<http://www.bergenbio.com/BGB324>)

[0906] (50) CD30- TNFRSF8 (肿瘤坏死因子受体超家族,成员8)

[0907] 核苷酸

[0908] Genbank登录号M83554

[0909] Genbank版本号M83554.1 GI:180095

[0910] Genbank记录更新日期:Jun 23,2010 08:53 AM

[0911] 多肽

[0912] Genbank登录号AAA51947

[0913] Genbank版本号AAA51947.1 GI:180096

[0914] Genbank记录更新日期:Jun 23,2010 08:53 AM

[0915] 参考文献

[0916] Durkop H.,et al Cell 68 (3) ,421-427 (1992)

[0917] 其它信息

[0918] 官方符号:TNFRSF8

[0919] 其它别名:CD30、D1S166E、Ki-1

[0920] 其它名称:CD30L受体;Ki-1抗原;细胞因子受体CD30;淋巴细胞活化抗原CD30;肿瘤坏死因子受体超家族成员8

[0921] (51) BCMA (B细胞成熟抗原) -TNFRSF17 (肿瘤坏死因子受体超家族,成员17)

[0922] 核苷酸

[0923] Genbank登录号Z29574

[0924] Genbank版本号Z29574.1 GI:471244

[0925] Genbank记录更新日期:Feb 02,2011 10:40 AM

[0926] 多肽

[0927] Genbank登录号CAA82690

[0928] Genbank版本号CAA82690.1 GI:471245

[0929] Genbank记录更新日期:Feb 02,2011 10:40 AM

[0930] 参考文献

[0931] Laabi Y.,et al Nucleic Acids Res.22 (7) ,1147-1154 (1994)

[0932] 其它信息

[0933] 官方符号:TNFRSF17

[0934] 其它别名:BCM、BCMA、CD269

[0935] 其它名称:B细胞成熟抗原;B细胞成熟因子;B细胞成熟蛋白;肿瘤坏死因子受体超

家族成员17

[0936] (52) CT Ags-CTA(睾丸癌抗原(Cancer Testis Antigen))

[0937] 参考文献

[0938] Fratta E., et al. Mol Oncol. 2011 Apr; 5(2):164-82; Lim SH., et al Am J Blood Res. 2012; 2(1):29-35.

[0939] (53) CD174 (Lewis Y) -FUT3 (岩藻糖基转移酶3 (半乳糖苷3(4)-L-岩藻糖基转移酶, 路易斯血型))

[0940] 核苷酸

[0941] Genbank登录号NM000149

[0942] Genbank版本号NM000149.3 GI:148277008

[0943] Genbank记录更新日期: Jun 26, 2012 04:49 PM

[0944] 多肽

[0945] Genbank登录号NP_000140

[0946] Genbank版本号NP_000140.1 GI:4503809

[0947] Genbank记录更新日期: Jun 26, 2012 04:49 PM

[0948] 参考文献

[0949] Kukowska-Latallo, J.F., et al Genes Dev. 4(8), 1288-1303 (1990)

[0950] 其它信息

[0951] 官方符号: FUT3

[0952] 其它别名: CD174、FT3B、FucT-III、LE、Les

[0953] 其它名称: Lewis FT; α -(1,3/1,4)-岩藻糖基转移酶; 路易斯血型 α -4-岩藻糖基转移酶; 岩藻糖基转移酶III; 半乳糖苷3(4)-L-岩藻糖基转移酶

[0954] (54) CLEC14A (C型凝集素域家族14, 成员A; Genbank登录号NM175060)

[0955] 核苷酸

[0956] Genbank登录号NM175060

[0957] Genbank版本号NM175060.2 GI:371123930

[0958] Genbank记录更新日期: Apr 01, 2012 03:34 PM

[0959] 多肽

[0960] Genbank登录号NP_778230

[0961] Genbank版本号NP_778230.1 GI:28269707

[0962] Genbank记录更新日期: Apr 01, 2012 03:34 PM

[0963] 其它信息

[0964] 官方符号: CLEC14A

[0965] 其它别名: UNQ236/PRO269、C14orf27、CEG1、EGFR-5

[0966] 其它名称: C型凝集素域家族14成员A; 含C1ECT和EGF样域蛋白质; 表皮生长因子受体5

[0967] (55) GRP78-HSPA5 (热休克70kDa蛋白5 (葡萄糖调节蛋白, 78kDa))

[0968] 核苷酸

[0969] Genbank登录号NM005347

- [0970] Genbank版本号NM005347.4 GI:305855105
- [0971] Genbank记录更新日期:Sep 30,2012 01:42 PM
- [0972] 多肽
- [0973] Genbank登录号NP_005338
- [0974] Genbank版本号NP_005338.1 GI:16507237
- [0975] Genbank记录更新日期:Sep 30,2012 01:42 PM
- [0976] 参考文献
- [0977] Ting J.,et al DNA 7 (4) ,275-286 (1988)
- [0978] 其它信息
- [0979] 官方符号:HSPA5
- [0980] 其它别名:BIP、GRP78、MIF2
- [0981] 其它名称:78kDa葡萄糖调节蛋白;内质网腔Ca (2+) -结合蛋白grp78;免疫球蛋白重链-结合蛋白
- [0982] (56) CD70 (CD70分子) L08096
- [0983] 核苷酸
- [0984] Genbank登录号L08096
- [0985] Genbank版本号L08096.1 GI:307127
- [0986] Genbank记录更新日期:Jun 23,2012 08:54 AM
- [0987] 多肽
- [0988] Genbank登录号AAA36175
- [0989] Genbank版本号AAA36175.1 GI:307128
- [0990] Genbank记录更新日期:Jun 23,2012 08:54 AM
- [0991] 参考文献
- [0992] Goodwin R.G.,et al Cell 73 (3) ,447-456 (1993)
- [0993] 其它信息
- [0994] 官方符号:CD70
- [0995] 其它别名:CD27L、CD27LG、TNFSF7
- [0996] 其它名称:CD27配体;CD27-L;CD70抗原;Ki-24抗原;表面抗原CD70;肿瘤坏死因子(配体)超家族,成员7;肿瘤坏死因子配体超家族成员7
- [0997] 抗体
- [0998] MDX-1411,针对CD70 (Medarex)
- [0999] h1F6 (Oflazoglu,E.,et al,Clin Cancer Res.2008 Oct 1;14 (19) :6171-80; Seattle Genetics)
- [1000] 例如,参见US20060083736 SEQ ID NO:1、2、11和12以及图1。
- [1001] (57) 干细胞特异性抗原。例如:
- [1002] ●5T4 (见以下条目 (63))
- [1003] ●CD25 (见以下条目 (48))
- [1004] ●CD32
- [1005] ○多肽

- [1006] ■Genbank登录号ABK42161
- [1007] ■Genbank版本号ABK42161.1 GI:117616286
- [1008] ■Genbank记录更新日期:Jul 25,2007 03:00 PM
- [1009] ●LGR5/GPR49
- [1010] ○核苷酸
- [1011] ■Genbank登录号NM_003667
- [1012] ■Genbank版本号NM_003667.2 GI:24475886
- [1013] ■Genbank记录更新日期:Jul 22,2012 03:38 PM
- [1014] ○多肽
- [1015] ■Genbank登录号NP_003658
- [1016] ■Genbank版本号NP_003658.1 GI:4504379
- [1017] ■Genbank记录更新日期:Jul 22,2012 03:38 PM
- [1018] ●Prominin/CD133
- [1019] ○核苷酸
- [1020] ■Genbank登录号NM_006017
- [1021] ■Genbank版本号NM_006017.2 GI:224994187
- [1022] ■Genbank记录更新日期:Sep 30,2012 01:47 PM
- [1023] ○多肽
- [1024] ■Genbank登录号NP_006008
- [1025] ■Genbank版本号NP_006008.1 GI:5174387
- [1026] ■Genbank记录更新日期:Sep 30,2012 01:47 PM
- [1027] (58) ASG-5
- [1028] 参考文献
- [1029] (Smith L.M.,et.al AACR 2010 Annual Meeting (摘要#2590);Gudas J.M., et.al.AACR 2010 Annual Meeting (摘要#4393)
- [1030] 抗体
- [1031] 抗AGS-5抗体;M6.131 (Smith,L.M.,et.al AACR 2010 Annual Meeting (摘要#2590)
- [1032] (59) ENPP3 (外核苷酸焦磷酸酶/磷酸二酯酶3)
- [1033] 核苷酸
- [1034] Genbank登录号AF005632
- [1035] Genbank版本号AF005632.2 GI:4432589
- [1036] Genbank记录更新日期:Mar 10,2010 09:41 PM
- [1037] 多肽
- [1038] Genbank登录号AAC51813
- [1039] Genbank版本号AAC51813.1 GI:2465540
- [1040] Genbank记录更新日期:Mar 10,2010 09:41 PM
- [1041] 参考文献
- [1042] Jin-Hua P.,et al Genomics 45 (2) ,412-415 (1997)

[1043] 其它信息

[1044] 官方符号:ENPP3

[1045] 其它别名:RP5-988G15.3、B10、CD203c、NPP3、PD-IBETA、PDNP3

[1046] 其它名称:E-NPP 3;dJ1005H11.3 (磷酸二酯酶I/核苷酸焦磷酸酶3);dJ914N13.3 (磷酸二酯酶I/核苷酸焦磷酸酶3);外核苷酸焦磷酸酶/磷酸二酯酶家族成员3;gp130RB13-6;磷酸二酯酶I β ;磷酸二酯酶I/核苷酸焦磷酸酶3;磷酸二酯酶-I β

[1047] (60) PRR4 (富含脯氨酸4 (泪腺的))

[1048] 核苷酸

[1049] Genbank登录号NM_007244

[1050] Genbank版本号NM_007244.2 GI:154448885

[1051] Genbank记录更新日期:Jun 28,2012 12:39 PM

[1052] 多肽

[1053] Genbank登录号NP_009175

[1054] Genbank版本号NP_009175.2 GI:154448886

[1055] Genbank记录更新日期:Jun 28,2012 12:39 PM

[1056] 参考文献

[1057] Dickinson D.P.,et al Invest.Ophthalmol.Vis.Sci.36 (10),2020-2031 (1995)

[1058] 其它信息

[1059] 官方符号:PRR4

[1060] 其它别名:LPRP、PROL4

[1061] 其它名称:泪腺富含脯氨酸蛋白;鼻咽癌相关富含脯氨酸的蛋白4;富含脯氨酸多肽4;富含脯氨酸蛋白4

[1062] (61) GCC-GUCY2C (鸟苷酸环化酶2C (热稳定肠毒素受体))

[1063] 核苷酸

[1064] Genbank登录号NM_004963

[1065] Genbank版本号NM_004963.3 GI:222080082

[1066] Genbank记录更新日期:Sep 02,2012 01:50 PM

[1067] 多肽

[1068] Genbank登录号NP_004954

[1069] Genbank版本号NP_004954.2 GI:222080083

[1070] Genbank记录更新日期:Sep 02,2012 01:50 PM

[1071] 参考文献

[1072] De Sauvage F.J.,et al J.Biol.Chem.266 (27),17912-17918 (1991);Singh S., et al Biochem.Biophys.Res.Commun.179 (3),1455-1463 (1991)

[1073] 其它信息

[1074] 官方符号:GUCY2C

[1075] 其它别名:DIAR6、GUC2C、MUCIL、STAR

[1076] 其它名称:GC-C;STA受体;鸟苷酸环化酶C;hSTAR;热稳定肠毒素受体;肠鸟苷酸环化酶

- [1077] (62) Liv-1-SLC39A6 (溶质载体家族39 (锌转运体), 成员6)
- [1078] 核苷酸
- [1079] Genbank登录号U41060
- [1080] Genbank版本号U41060.2 GI:12711792
- [1081] Genbank记录更新日期:Nov 30,2009 04:35 PM
- [1082] 多肽
- [1083] Genbank登录号AAA96258
- [1084] Genbank版本号AAA96258.2 GI:12711793
- [1085] Genbank记录更新日期:Nov 30,2009 04:35 PM
- [1086] 参考文献
- [1087] Taylor KM., et al Biochim Biophys Acta.2003 Apr 1;1611(1-2):16-30
- [1088] 其它信息
- [1089] 官方符号:SLC39A6
- [1090] 其它别名:LIV-1
- [1091] 其它名称:LIV-1蛋白, 雌激素调节的;ZIP-6;雌激素调节蛋白LIV-1;溶质载体家族39 (金属离子转运体), 成员6;溶质载体家族39成员6;锌转运体ZIP6;zrt-和Irt-样蛋白6
- [1092] (63) 5T4, 滋养层糖蛋白, TPBG-TPBG (滋养层糖蛋白)
- [1093] 核苷酸
- [1094] Genbank登录号AJ012159
- [1095] Genbank版本号AJ012159.1 GI:3805946
- [1096] Genbank记录更新日期:Feb 01,2011 10:27 AM
- [1097] 多肽
- [1098] Genbank登录号CAA09930
- [1099] Genbank版本号CAA09930.1 GI:3805947
- [1100] Genbank记录更新日期:Feb 01,2011 10:27 AM
- [1101] 参考文献
- [1102] King K.W., et al Biochim.Biophys.Acta 1445 (3), 257-270 (1999)
- [1103] 其它信息
- [1104] 官方符号:TPBG
- [1105] 其它别名:5T4、5T4AG、M6P1
- [1106] 其它名称:5T4癌胚抗原;5T4癌胚滋养层糖蛋白;5T4肿瘤滋养层糖蛋白
- [1107] (64) CD56-NCMA1 (神经细胞粘附分子1)
- [1108] 核苷酸
- [1109] Genbank登录号NM_000615
- [1110] Genbank版本号NM_000615.6 GI:336285433
- [1111] Genbank记录更新日期:Sep 23,2012 02:32 PM
- [1112] 多肽
- [1113] Genbank登录号NP_000606
- [1114] Genbank版本号NP_000606.3 GI:94420689

- [1115] Genbank记录更新日期:Sep 23,2012 02:32 PM
- [1116] 参考文献
- [1117] Dickson,G.,et al,Cell 50 (7) ,1119-1130 (1987)
- [1118] 其它信息
- [1119] 官方符号:NCAM1
- [1120] 其它别名:CD56、MSK39、NCAM
- [1121] 其它名称:由单克隆抗体5.1H1 1识别的抗原;神经细胞粘附分子,NCAM
- [1122] 抗体
- [1123] Immunogen:HuN901 (Smith SV.,et al Curr Opin Mol Ther.2005Aug;7 (4) :394-401)
- [1124] 例如,参见由鼠N901抗体的人源化。参见Roguska,M.A.,et al.Proc Natl Acad Sci USA Feb 1994;91:969-973的图1b和1e。
- [1125] (65) CanAg (肿瘤相关抗原CA242)
- [1126] 参考文献
- [1127] Haglund C.,et al Br J Cancer 60:845-851,1989;Baeckstrom D.,et al J Biol Chem 266:21537-21547,1991
- [1128] 抗体
- [1129] huC242 (Tolcher AW et al.,J Clin Oncol.2003 Jan 15;21 (2) :211-22; Immunogen)
- [1130] 例如,参见US20080138898A1 SEQ ID NO:1和2
- [1131] (66) FOLR1 (叶酸(叶酸盐,folate)受体1)
- [1132] 核苷酸
- [1133] Genbank登录号J05013
- [1134] Genbank版本号J05013.1 GI:182417
- [1135] Genbank记录更新日期:Jun 23,2010 08:47 AM
- [1136] 多肽
- [1137] Genbank登录号AAA35823
- [1138] Genbank版本号AAA35823.1 GI:182418
- [1139] Genbank记录更新日期:Jun 23,2010 08:47 AM
- [1140] 参考文献
- [1141] Elwood P.C.,et al J.Biol.Chem.264 (25) ,14893-14901 (1989)
- [1142] 其它信息
- [1143] 官方符号:FOLR1
- [1144] 其它别名:FBP、FOLR
- [1145] 其它名称:FR- α ;KB细胞FBP;成年叶酸结合蛋白;叶酸结合蛋白;叶酸盐受体 α ;叶酸受体,成年;卵巢肿瘤相关抗原M0v18
- [1146] 抗体
- [1147] M9346A-Whiteman KR.,et al Cancer Res April 15,2012;72 (8Supplement) : 4628 (Immunogen)

- [1148] (67) GPNMB (糖蛋白 (跨膜) nmb)
- [1149] 核苷酸
- [1150] Genbank登录号X76534
- [1151] Genbank版本号X76534.1 GI:666042
- [1152] Genbank记录更新日期:Feb 02,2011 10:10 AM
- [1153] 多肽
- [1154] Genbank登录号CAA54044
- [1155] Genbank版本号CAA54044.1 GI:666043
- [1156] Genbank记录更新日期:Feb 02,2011 10:10 AM
- [1157] 参考文献
- [1158] Weterman M.A., et al Int.J.Cancer 60 (1), 73-81 (1995)
- [1159] 其它信息
- [1160] 官方符号:GPNMB
- [1161] 其它别名:UNQ1725/PRO9925、HGFIN、NMB
- [1162] 其它名称:糖蛋白NMB;糖蛋白nmb样蛋白;骨活素 (osteactivin);跨膜糖蛋白HGFIN;跨膜糖蛋白NMB
- [1163] 抗体
- [1164] Celldex Therapeutics:CR011 (Tse KF., et al Clin Cancer Res.2006 Feb15; 12 (4):1373-82)
- [1165] 例如,参见EP1827492B1 SEQ ID NO:22、24、26、31、33和35
- [1166] (68) TIM-1-HAVCR1 (甲型肝炎病毒细胞受体1)
- [1167] 核苷酸
- [1168] Genbank登录号AF043724
- [1169] Genbank版本号AF043724.1 GI:2827453
- [1170] Genbank记录更新日期:Mar 10,2010 06:24 PM
- [1171] 多肽
- [1172] Genbank登录号AAC39862
- [1173] Genbank版本号AAC39862.1 GI:2827454
- [1174] Genbank记录更新日期:Mar 10,2010 06:24 PM
- [1175] 参考文献
- [1176] Feigelstock D., et al J.Virol.72 (8), 6621-6628 (1998)
- [1177] 其它信息
- [1178] 官方符号:HAVCR1
- [1179] 其它别名:HAVCR、HAVCR-1、KIM-1、KIM1、TIM、TIM-1、TIM1、TIMD-1、TIMD1
- [1180] 其它名称:T细胞免疫球蛋白域和粘蛋白域蛋白1;T细胞膜蛋白1;肾损伤分子1
- [1181] (69) RG-1/前列腺肿瘤靶Mindin-Mindin/RG-1
- [1182] 参考文献
- [1183] Parry R., et al Cancer Res.2005 Sep 15;65 (18):8397-405
- [1184] (70) B7-H4-VTCN1 (包含T细胞活化抑制剂的V-set域1 (V-set domain containing

T cell activation inhibitor 1)

[1185] 核苷酸

[1186] Genbank登录号BX648021

[1187] Genbank版本号BX648021.1 GI:34367180

[1188] Genbank记录更新日期:Feb 02,2011 08:40 AM

[1189] 参考文献

[1190] Sica GL.,et al Immunity.2003 Jun;18(6):849-61

[1191] 其它信息

[1192] 官方符号:VTCN1

[1193] 其它别名:RP11-229A19.4、B7-H4、B7H4、B7S1、B7X、B7h.5、PR01291、VCTN1

[1194] 其它名称:B7家族成员,H4;B7超家族成员1;T细胞共刺激分子B7x;T细胞共刺激分子B7x;包含T细胞活化抑制剂的V-set域1;免疫共刺激蛋白B7-H4

[1195] (71) PTK7 (PTK7蛋白酪氨酸激酶7)

[1196] 核苷酸

[1197] Genbank登录号AF447176

[1198] Genbank版本号AF447176.1 GI:17432420

[1199] Genbank记录更新日期:Nov 28,2008 01:51 PM

[1200] 多肽

[1201] Genbank登录号AAL39062

[1202] Genbank版本号AAL39062.1 GI:17432421

[1203] Genbank记录更新日期:Nov 28,2008 01:51 PM

[1204] 参考文献

[1205] Park S.K.,et al J.Biochem.119(2),235-239(1996)

[1206] 其它信息

[1207] 官方符号:PTK7

[1208] 其它别名:CCK-4、CCK4

[1209] 其它名称:结肠癌激酶4;失活酪氨酸蛋白激酶7;假酪氨酸激酶受体7;酪氨酸蛋白激酶样7

[1210] (72) CD37 (CD37分子)

[1211] 核苷酸

[1212] Genbank登录号NM_001040031

[1213] Genbank版本号NM_001040031.1 GI:91807109

[1214] Genbank记录更新日期:Jul 29,2012 02:08 PM

[1215] 多肽

[1216] Genbank登录号NP_001035120

[1217] Genbank版本号NP_001035120.1 GI:91807110

[1218] Genbank记录更新日期:Jul 29,2012 02:08 PM

[1219] 参考文献

[1220] Schwartz-Albiez R.,et al J.Immunol.140(3),905-914(1988)

- [1221] 其它信息
- [1222] 官方符号:CD37
- [1223] 其它别名:GP52-40、TSPAN26
- [1224] 其它名称:CD37抗原;细胞分化抗原37;白细胞抗原CD37;白细胞表面抗原CD37;四旋蛋白-26(tetraspanin-26);tspan-26
- [1225] 抗体
- [1226] Boehringer Ingelheim:mAb 37.1(Heider KH.,et al Blood.2011 Oct 13;118(15):4159-68)
- [1227] Trubion:CD37-SMIP(G28-1 scFv-Ig)((Zhao X.,et al Blood.2007;110:2569-2577)
- [1228] 例如,参见US20110171208A1 SEQ ID NO:253
- [1229] Immunogen:K7153A(Deckert J.,et al Cancer Res April 15,2012;72(8增补):4625)
- [1230] (73)CD138-SDC1(多配体聚糖1(syndecan 1))
- [1231] 核苷酸
- [1232] Genbank登录号AJ551176
- [1233] Genbank版本号AJ551176.1 GI:29243141
- [1234] Genbank记录更新日期:Feb 01,2011 12:09 PM
- [1235] 多肽
- [1236] Genbank登录号CAD80245
- [1237] Genbank版本号CAD80245.1 GI:29243142
- [1238] Genbank记录更新日期:Feb 01,2011 12:09 PM
- [1239] 参考文献
- [1240] O'Connell FP.,et al Am J Clin Pathol.2004 Feb;121(2):254-63
- [1241] 其它信息
- [1242] 官方符号:SDC1
- [1243] 其它别名:CD138、SDC、SYND1、多配体聚糖
- [1244] 其它名称:CD138抗原;硫酸乙酰肝素蛋白多糖成纤维细胞生长因子受体;多配体聚糖蛋白多糖1;多配体聚糖-1
- [1245] 抗体
- [1246] Biotest:嵌合MAb(nBT062)-(Jagannath S.,et al Poster ASH#3060,2010;WIPO专利申请W0/2010/128087)
- [1247] 例如,参见US20090232810 SEQ ID NO:1和2
- [1248] Immunogen:B-B4(Tassone P.,et al Blood 104_3688-3696)
- [1249] 例如,参见US20090175863A1 SEQ ID NO:1和2
- [1250] (74)CD74(CD74分子,主要组织相容性复合物,II类不变链)
- [1251] 核苷酸
- [1252] Genbank登录号NM_004355
- [1253] Genbank版本号NM_004355.1GI:343403784

- [1254] Genbank记录更新日期:Sep 23,2012 02:30 PM
- [1255] 多肽
- [1256] Genbank登录号NP_004346
- [1257] Genbank版本号NP_004346.1 GI:10835071
- [1258] Genbank记录更新日期:Sep 23,2012 02:30 PM
- [1259] 参考文献
- [1260] Kudo,J.,et al Nucleic Acids Res.13 (24) ,8827-8841 (1985)
- [1261] 其它信息
- [1262] 官方符号:CD74
- [1263] 其它别名:DHLA G、HLA DG、II、Ia-GAMMA
- [1264] 其它名称:CD74抗原(主要组织相容性复合物的不变多肽,II类抗原相关的);HLA类II组织相容性抗原 γ 链;HLA-DR抗原相关的不变链;HLA-DR- γ ;Ia-相关的不变链;MHC HLA-DR γ 链;II类抗原的 γ 链;p33
- [1265] 抗体
- [1266] Immunomedics:hLL1 (Milatuzumab,)-Berkova Z.,et al Expert Opin Investig Drugs.2010 Jan;19 (1) :141-9)
- [1267] 例如,参见US20040115193 SEQ ID NO:19、20、21、22、23和24
- [1268] Genmab:HuMax-CD74(参见网站)
- [1269] (75) Claudins (整合膜连接蛋白) -CLs (Claudins)
- [1270] 参考文献
- [1271] Offner S.,et al Cancer Immunol Immunother.2005 May;54 (5) :431-45, Suzuki H.,et al Ann N Y Acad Sci.2012 Jul;1258:65-70)
- [1272] 在人类中,已经描述了家族的24种成员-见参考文献。
- [1273] (76) EGFR (表皮生长因子受体)
- [1274] 核苷酸
- [1275] Genbank登录号NM_005228
- [1276] Genbank版本号NM_005228.3 GI:41927737
- [1277] Genbank记录更新日期:Sep 30,2012 01:47 PM
- [1278] 多肽
- [1279] Genbank登录号NP_005219
- [1280] Genbank版本号NP_005219.2 GI:29725609
- [1281] Genbank记录更新日期:Sep 30,2012 01:47 PM
- [1282] 参考文献
- [1283] Dhomen NS.,et al Crit Rev Oncog.2012;17 (1) :31-50
- [1284] 其它信息
- [1285] 官方符号:EGFR
- [1286] 其它别名:ERBB、ERBB1、HER1、PIG61、mENA
- [1287] 其它名称:禽成红细胞白血病病毒(v-erb-b) 癌基因同系物;细胞生长抑制蛋白40;细胞增殖诱导蛋白61;原癌基因c-ErbB-1;受体酪氨酸蛋白激酶erbB-1

- [1288] 抗体
- [1289] BMS:Cetuximab (Erbix) -Broadbridge VT., et al Expert Rev Anticancer Ther.2012 May;12 (5) :555-65。
- [1290] 例如,见US6217866-ATTC保藏号9764。
- [1291] Amgen:帕尼单抗 (Panitumumab) (Vectibix) -Argiles G., et al Future Oncol.2012 Apr;8 (4) :373-89
- [1292] 例如,见US6235883 SEQ ID NO:23-38。
- [1293] Genmab:扎妥木单抗 (Zalutumumab) -Rivera F., et al Expert Opin Biol Ther.2009 May;9 (5) :667-74。
- [1294] YM Biosciences:尼妥珠单抗 (Nimotuzumab) -Ramakrishnan MS., et al MAbs.2009 Jan-Feb;1 (1) :41-8。
- [1295] 例如,见US5891996 SEQ ID NO:27-34。
- [1296] (77) Her3 (ErbB3) -ERBB3 (v-erb-b2成红细胞白血病病毒癌基因同系物3 (禽))
- [1297] 核苷酸
- [1298] Genbank登录号M34309
- [1299] Genbank版本号M34309.1 GI:183990
- [1300] Genbank记录更新日期:Jun 23,2010 08:47 PM
- [1301] 多肽
- [1302] Genbank登录号AAA35979
- [1303] Genbank版本号AAA35979.1 GI:306841
- [1304] Genbank记录更新日期:Jun 23,2010 08:47 PM
- [1305] 参考文献
- [1306] Plowman,G.D., et al., Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.87 (13) ,4905-4909 (1990) 其它信息
- [1307] 官方符号:ERBB3
- [1308] 其它别名:ErbB-3、HER3、LCCS2、MDA-BF-1、c-erbB-3、c-erbB3、erbB3-S、p180-ErbB3、p45-sErbB3、p85-sErbB3
- [1309] 其它名称:原癌基因样蛋白c-ErbB-3;受体酪氨酸蛋白激酶erbB-3;酪氨酸激酶型细胞表面受体HER3
- [1310] 抗体
- [1311] Merimack Pharma:MM-121 (Schoeberl B., et al Cancer Res.2010 Mar 15;70 (6) :2485-2494)
- [1312] 例如,见US2011028129 SEQ ID NO:1、2、3、4、5、6、7和8。
- [1313] (78) RON-MST1R (巨噬细胞刺激1受体 (c-met相关酪氨酸激酶))
- [1314] 核苷酸
- [1315] Genbank登录号X70040
- [1316] Genbank版本号X70040.1 GI:36109
- [1317] Genbank记录更新日期:Feb 02,2011 10:17 PM
- [1318] 多肽

- [1319] Genbank登录号CCA49634
- [1320] Genbank版本号CCA49634.1 GI:36110
- [1321] Genbank记录更新日期:Feb 02,2011 10:17 PM
- [1322] 参考文献
- [1323] Ronsin C.,et al Oncogene 8 (5) ,1195-1202 (1993)
- [1324] 其它信息
- [1325] 官方符号:MST1R
- [1326] 其它别名:CD136、CDw136、PTK8、RON
- [1327] 其它名称:MSP受体;MST1R变体RON30;MST1R变体RON62;PTK8蛋白酪氨酸激酶8;RON变体E2E3;c-met相关酪氨酸激酶;巨噬细胞刺激蛋白受体;p185-Ron;可溶性RON变体1;可溶性RON变体2;可溶性RON变体3;可溶性RON变体4
- [1328] (79) EPHA2 (EPH受体A2)
- [1329] 核苷酸
- [1330] Genbank登录号BC037166
- [1331] Genbank版本号BC037166.2 GI:33879863
- [1332] Genbank记录更新日期:Mar 06,2012 01:59 PM
- [1333] 多肽
- [1334] Genbank登录号AAH37166
- [1335] Genbank版本号AAH37166.1 GI:22713539
- [1336] Genbank记录更新日期:Mar 06,2012 01:59 PM
- [1337] 参考文献
- [1338] Strausberg R.L.,et al Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.99 (26) ,16899-16903 (2002)
- [1339] 其它信息
- [1340] 官方符号:EPHA2
- [1341] 其它别名:ARCC2、CTPA、CTPP1、ECK
- [1342] 其它名称:ephrin A型受体2;上皮细胞受体蛋白酪氨酸激酶;可溶性EPHA2变体1;酪氨酸蛋白激酶受体ECK
- [1343] 抗体
- [1344] Medimmune:1C1 (Lee JW.,et al Clin Cancer Res.2010 May 1;16 (9) :2562-2570)
- [1345] 例如,见US20090304721A1的图7和8。
- [1346] (80) CD20-MS4A1 (跨膜4域,亚家族A,成员1)
- [1347] 核苷酸
- [1348] Genbank登录号M27394
- [1349] Genbank版本号M27394.1 GI:179307
- [1350] Genbank记录更新日期:Nov 30,2009 11:16 AM
- [1351] 多肽
- [1352] Genbank登录号AAA35581

- [1353] Genbank版本号AAA35581.1 GI:179308
- [1354] Genbank记录更新日期:Nov 30,2009 11:16 AM
- [1355] 参考文献
- [1356] Tedder T.F.,et al Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.85 (1) ,208-212 (1988)
- [1357] 其它信息
- [1358] 官方符号:MS4A1
- [1359] 其它别名:B1、Bp35、CD20、CVID5、LEU-16、MS4A2、S7
- [1360] 其它名称:B-淋巴细胞抗原CD20;B淋巴细胞细胞表面抗原B1;CD20抗原;CD20受体;白细胞表面抗原Leu-16
- [1361] 抗体
- [1362] Genentech/Roche:利妥昔单抗-Abdulla NE.,et al BioDrugs.2012 Apr1;26 (2) :71-82。
- [1363] 例如,见US5736137,ATCC保藏号为HB-69119。
- [1364] GSK/Genmab:Ofatumumab-Nightingale G.,et al Ann Pharmacother.2011 Oct; 45 (10) :1248-55。
- [1365] 例如,见US20090169550A1 SEQ ID NO:2、4和5。
- [1366] Immunomedics:Veltuzumab-Goldenberg DM.,et al Leuk Lymphoma.2010 May; 51 (5) :747-55。
- [1367] 例如,见US7919273B2 SEQ ID NO:1、2、3、4、5和6。
- [1368] (81) 腱生蛋白C (肌腱蛋白C,Tenascin C) -TNC (腱生蛋白C)
- [1369] 核苷酸
- [1370] Genbank登录号NM_002160
- [1371] Genbank版本号NM_002160.3 GI:340745336
- [1372] Genbank记录更新日期:Sep 23,2012 02:33 PM
- [1373] 多肽
- [1374] Genbank登录号NP_002151
- [1375] Genbank版本号NP_002151.2 GI:153946395
- [1376] Genbank记录更新日期:Sep 23,2012 02:33 PM
- [1377] 参考文献
- [1378] Nies D.E.,et al J.Biol.Chem.266 (5) ,2818-2823 (1991);Siri A.,et al Nucleic Acids Res.19 (3) ,525-531 (1991)
- [1379] 其它信息
- [1380] 官方符号:TNC
- [1381] 其它别名:150-225、GMEM、GP、HXB、JI、TN、TN-C
- [1382] 其它名称:GP 150-225;生腱蛋白 (cytotactin) ;胶质瘤相关细胞外基质抗原;hexabrachion (腱生蛋白) ;肌腱抗原;神经粘连蛋白;腱生蛋白;腱生蛋白-C同种型14/AD1/16
- [1383] 抗体
- [1384] Philogen:G11 (von Lukowicz T.,et al J Nucl Med.2007 Apr;48 (4) :582-7) 和

F16 (Pedretti M., et al Lung Cancer.2009 Apr;64(1):28-33)

[1385] 例如,见US7968685 SEQ ID NO:29、35、45和47。

[1386] (82) FAP (成纤维细胞活化蛋白, α)

[1387] 核苷酸

[1388] Genbank登录号U09278

[1389] Genbank版本号U09278.1 GI:1888315

[1390] Genbank记录更新日期:Jun 23,2010 09:22 AM

[1391] 多肽

[1392] Genbank登录号AAB49652

[1393] Genbank版本号AAB49652.1 GI:1888316

[1394] Genbank记录更新日期:Jun 23,2010 09:22 AM

[1395] 参考文献

[1396] Scanlan,M.J., et al Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.91(12),5657-5661(1994)

[1397] 其它信息

[1398] 官方符号:FAP

[1399] 其它别名:DPPIV、FAPA

[1400] 其它名称:170kDa黑素瘤膜结合明胶酶;整合膜丝氨酸蛋白酶;透明质酸酶(seprase)

[1401] (83) DKK-1 (Dickkopf 1同系物(光滑爪蟾Xenopus laevis))

[1402] 核苷酸

[1403] Genbank登录号NM_012242

[1404] Genbank版本号NM_012242.2 GI:61676924

[1405] Genbank记录更新日期:Sep 30,2012 01:48 PM

[1406] 多肽

[1407] Genbank登录号NP_036374

[1408] Genbank版本号NP_036374.1 GI:7110719

[1409] Genbank记录更新日期:Sep 30,2012 01:48 PM

[1410] 参考文献

[1411] Fedi P. et al J.Biol.Chem.274(27),19465-19472(1999)

[1412] 其它信息

[1413] 官方符号:DKK1

[1414] 其它别名:UNQ492/PRO1008、DKK-1、SK

[1415] 其它名称:dickkopf相关蛋白-1;dickkopf-1样;dickkopf样蛋白1;dickkopf相关蛋白1;hDkk-1

[1416] 抗体

[1417] Novartis:BHQ880 (Fulciniti M., et al Blood.2009 Jul 9;114(2):371-379) 例如,见US20120052070A1 SEQ ID NO:100和108。

[1418] (84) CD52 (CD52分子)

[1419] 核苷酸

- [1420] Genbank登录号NM_001803
- [1421] Genbank版本号NM_001803.2 GI:68342029
- [1422] Genbank记录更新日期:Sep 30,2012 01:48 PM
- [1423] 多肽
- [1424] Genbank登录号NP_001794
- [1425] Genbank版本号NP_001794.2 GI:68342030
- [1426] Genbank记录更新日期:Sep 30,2012 01:48 PM
- [1427] 参考文献
- [1428] Xia M.Q.,et al Eur.J.Immunol.21 (7) ,1677-1684 (1991)
- [1429] 其它信息
- [1430] 官方符号:CD52
- [1431] 其它别名:CDW52
- [1432] 其它名称:CAMPATH-1抗原;CD52抗原 (CAMPATH-1抗原);CDW52抗原 (CAMPATH-1抗原);剑桥病理1抗原(cambridge pathology 1 antigen);附睾分泌蛋白E5;he5;人附睾特异蛋白5
- [1433] 抗体
- [1434] 阿仑单抗 (Campath) -Skoetz N.,et al Cochrane Database Syst Rev.2012 Feb 15;2:CD008078。
- [1435] 例如,见Drugbank Acc.号DB00087 (BIOD00109,BTD00109)
- [1436] (85) CS1-SLAMF7 (SLAM家族成员7)
- [1437] 核苷酸
- [1438] Genbank登录号NM_021181
- [1439] Genbank版本号NM_021181.3 GI:1993571
- [1440] Genbank记录更新日期:Jun 29,2012 11:24 AM
- [1441] 多肽
- [1442] Genbank登录号NP_067004
- [1443] Genbank版本号NP_067004.3 GI:19923572
- [1444] Genbank记录更新日期:Jun 29,2012 11:24 AM
- [1445] 参考文献
- [1446] Boles K.S.,et al Immunogenetics 52 (3-4) ,302-307 (2001)
- [1447] 其它信息
- [1448] 官方符号:SLAMF7
- [1449] 其它别名:UNQ576/PRO1138、19A、CD319、CRACC、CS1
- [1450] 其它名称:19A24蛋白;CD2子集 (subset) 1;CD2样受体激活细胞毒性细胞;CD2样受体激活细胞毒性细胞;膜蛋白FOAP-12;新LY9 (淋巴细胞抗原9) 样蛋白;蛋白19A
- [1451] 抗体
- [1452] BMS:elotuzumab/HuLuc63 (Benson DM.,et al J Clin Oncol.2012 Jun 1;30 (16) :2013-2015)
- [1453] 例如,见US20110206701 SEQ ID NO:9、10、11、12、13、14、15和16。

- [1454] (86) 内皮糖蛋白 (Endoglin) -ENG (内皮糖蛋白)
- [1455] 核苷酸
- [1456] Genbank 登录号 AF035753
- [1457] Genbank 版本号 AF035753.1 GI:3452260
- [1458] Genbank 记录更新日期: Mar 10, 2010 06:36 PM
- [1459] 多肽
- [1460] Genbank 登录号 AAC32802
- [1461] Genbank 版本号 AAC32802.1 GI:3452261
- [1462] Genbank 记录更新日期: Mar 10, 2010 06:36 PM
- [1463] 参考文献
- [1464] Rius C., et al Blood 92 (12), 4677-4690 (1998)
- [1465] 官方符号: ENG
- [1466] 其它信息
- [1467] 其它别名: RP11-228B15.2、CD105、END、HHT1、ORW、ORW1
- [1468] 其它名称: CD105 抗原
- [1469] (87) 膜联蛋白 A1 -ANXA1 (膜联蛋白 A1)
- [1470] 核苷酸
- [1471] Genbank 登录号 X05908
- [1472] Genbank 版本号 X05908.1 GI:34387
- [1473] Genbank 记录更新日期: Feb 02, 2011 10:02 AM
- [1474] 多肽
- [1475] Genbank 登录号 CCA29338
- [1476] Genbank 版本号 CCA29338.1 GI:34388
- [1477] Genbank 记录更新日期: Feb 02, 2011 10:02 AM
- [1478] 参考文献
- [1479] Wallner B.P., et al Nature 320 (6057), 77-81 (1986)
- [1480] 其它信息
- [1481] 官方符号: ANXA1
- [1482] 其它别名: RP11-71A24.1、ANX1、LPC1
- [1483] 其它名称: 膜联蛋白 I (脂皮质蛋白 I); 膜联蛋白 -1; 依钙蛋白 II (calpactin II); 依钙蛋白 -2; 嗜铬粒结合蛋白 -9; 脂皮质蛋白 I; p35; 磷脂酶 A2 抑制蛋白
- [1484] (88) V-CAM (CD106) -VCAM1 (血管细胞粘附分子 1)
- [1485] 核苷酸
- [1486] Genbank 登录号 M60335
- [1487] Genbank 版本号 M60335.1 GI:340193
- [1488] Genbank 记录更新日期: Jun 23, 2010 08:56 AM
- [1489] 多肽
- [1490] Genbank 登录号 AAA61269
- [1491] Genbank 版本号 AAA61269.1 GI:340194

- [1492] Genbank记录更新日期:Jun 23,2010 08:56 AM
- [1493] 参考文献
- [1494] Hession C.,et al J.Biol.Chem.266(11),6682-6685(1991)
- [1495] 其它信息
- [1496] 官方符号VCAM1
- [1497] 其它别名:CD106、INCAM-100
- [1498] 其它名称:CD106抗原;血管细胞粘附蛋白1
- [1499] 抗体序列
- [1500] 抗整联蛋白 $\alpha v\beta 6$
- [1501] RHAB6.2
- [1502] QVQLVQSGSELKKPGASVKISCKASGFAFTDSYMHWRQAPGQGLEWMGWIDPENGDEYAPKFQGRFV
FSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCTRGTPTAVPNLRGDLQVLAQKVAGPYPFYDWGQGTTLTVSS
- [1503] RHCB6.2
- [1504] QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFIDSYMHWRQAPGQRLEWMGWIDPENGDEYAPKFQGRVT
ITTDTSASTAYMELSSLRSED TAVYYCARGTPTAVPNLRGDLQVLAQKVAGPYPFYDWGQGTTLTVSS
- [1505] RHF
- [1506] QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGFNFIDSYMHWRQAPGQRLEWMGWIDPENGDEYAPKFQGRVT
FTDTSASTAYMELSSLRSED TAVYYCNEGTPTGPYYFDYDWGQGTTLTVSS
- [1507] RHFB6
- [1508] QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGFNFIDSYMHWRQAPGQRLEWMGWIDPENGDEYAPKFQGRVT
FTDTSASTAYMELSSLRSED TAVYYCNEGTPTAVPNLRGDLQVLAQKVAGPYPFYDWGQGTTLTVSS
- [1509] RHAY100bP
- [1510] QVQLVQSGSELKKPGASVKISCKASGFAFTDSYMHWRQAPGQGLEWMGWIDPENGDEYAPKFQGRFV
FSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCTRGTPTGPYPFDYDWGQGTTLTVSS
- [1511] RKF
- [1512] ENVLTQSPGTLSPGERATLSCSASSSVSYMHWFQQKPGQAPRLLIYSTSNLASGIPDRFSGSGSGTD
FTLTISRLEPEDFAVYYCQQRSSYPLTFGGGTKVEIK
- [1513] RKFL36L50
- [1514] ENVLTQSPGTLSPGERATLSCSASSSVSYMHWLQQKPGQAPRLLIYLTSNLASGIPDRFSGSGSGTD
FTLTISRLEPEDFAVYYCQQRSSYPLTFGGGTKVEIK
- [1515] RKC
- [1516] EIVLTQSPGTLSPGERATLSCSASSSVSYMHWFQQKPGQAPRLLIYSTSNLASGIPDRFSGSGSGTD
FTLTISRLEPEDFAVYYCQQRSSYPLTFGGGTKVEIK
- [1517] 抗CD33
- [1518] CD33 Hum195 VH
- [1519] QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFIDYNMHWVRQAPGQGLEWIGYIYPYNGGTGYNQKFKSKAT
ITADESTNTAYMELSSLRSED TAVYYCARGRPAMDYWGQGTTLTVSS
- [1520] CD33 Hum195 VK
- [1521] DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASESDNYGISFMNWFQQKPGKAPKLLIYAASNQSGSVPSRFGSGS

GSGTDFLTITSSSLQPDDFATYYCQQSKEVPWTFGQGTKVEIK

[1522] 抗CD19

[1523] CD19 B4重铺的 (resurfaced) VH

[1524] QVQLVQPGAIEVVKPGASVKLSCKTSGYTFSTNWMHWKQRPQGQLEWIGEIDPSDSYTNYNQNFKGKAK
LTVDKSTSTAYMEVSSLRSDDTAVYYCARGSNPYYYAMDYWGQGTSTVTVSS

[1525] CD19 B4重铺的VK

[1526] EIVLTQSPAISASPGERVTMTCSASSGVNYMHWYQQKPGTSPRRWIYDTSKLASGVPARFSGSGSGTS
YSLTISSMEPEDAATYYCHQGRSYTFGGGTKLEIK

[1527] 抗Her2

[1528] 赫赛汀VH链

[1529] EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFT
ISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLLTVSS

[1530] 赫赛汀VL链

[1531] DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLLYSGVPSRFSRSGT
DFTLTITSSSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIK

[1532] 抗CD25

[1533] 舒莱 (Simulect) VK (还被称为巴利昔单抗 (Basiliximab))

[1534] QIVSTQSPAISASPGEKVTMTCSASSRSYMQWYQQKPGTSPKRWIYDTSKLASGVPARFSGSGSGTS
YSLTISSMEAEDAATYYCHQRSSYTFGGGTKLEIK

[1535] 舒莱VH

[1536] QLQQSGTVLARPGASVKMSCKASGYSFTRYWMHWIKQRPQGQLEWIGAIYPGNSDTSYNQKFEGKAKLT
AVTSASTAYMELSSLTHEDSAVYYCSRDYGYFFDFWGQGTLLTVSS

[1537] 抗PSMA

[1538] 去免疫VH '1

[1539] EVQLVQSGPEVKKPGATVKISCKTSGYTFTEYTIHWVKQAPGKGLEWIGNINPNNGGTTYNQKFEDKAT
LTVDKSTDTAYMELSSLRSEDVAVYYCAAGWNFDYWGQGTLLTVSS

[1540] 去免疫VK '1

[1541] DIQMTQSPSSLSTSVGDRVTLTKASQDVGTAVDWYQQKPGPSPKLLIYWASTRHTGIPSRFSGSGSGT
DFTLTITSSSLQPEDFADYYCQQYNSYPLTFGPGTKVDIK

[1542] 去免疫VH1 '5

[1543] EVKLVESGGGLVQPGGSMKLSVASGFTFSNYWMNWVRQAPGKGLEWVAEIRSQSNNFATHYAESVKGR
VTISRDDSKSIVYLQMNRLRAEDTGYYYCTRRWNNFWGQGTTVTVSS

[1544] 去免疫VH2 '5

[1545] EVKLVESGGGLVQPGGSLKLSCVASGFTFSNYWMNWVRQAPGKGLEWVAEIRSQSNNFATHYAESVKGR
VTISRDDSKSIVYLQMNRLRAEDTAVYYCTRRWNNFWGQGTTVTVSS

[1546] 去免疫VH3 '5

[1547] EVKLVESGGGLVQPGGSLKLSCVASGFTFSNYWMNWVRQAPGKGLEWVAEIRSQSNNFATHYAESVKGR
VTISRDDSKSIVYLQMNRLRAEDTAVYYCTRRWNNFWGQGTTVTVSS

[1548] 去免疫VH4 '5

- [1549] EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSVASGFTFSNYWMNWRQAPGKGLEWVAEIRSQSNNFATHYAESVKGR
FTISRDDSKSIVYLQMNNLRAEDTAVYYCTRRWNNFWGQGTTTVTVSS
- [1550] 去免疫VK1 '5
- [1551] NIVMTQFPSSMSASVGDRVTITCKASENVGTYSWYQQKPDQSPKMLIYGASNRFTGVPDRFTGSGSAT
DFTLTISLQTEDLADYYCGQSYTFPYTFGQGTKLEMK
- [1552] 去免疫VK2 '5
- [1553] NIVMTQFPSSMSASVGDRVTITCKASENVGTYSWYQQKPDQSPKMLIYGASNRFTGVPDRFSGSGSGT
DFTLTISLQAEDLADYYCGQSYTFPYTFGQGTKLEIK
- [1554] 去免疫VK3 '5
- [1555] NIQMTQFPSAMSASVGDRVTITCKASENVGTYSWYQQKPDQSPKMLIYGASNRFTGVPDRFSGSGSGT
DFTLTISLQAEDLADYYCGQSYTFPYTFGQGTKLEIK
- [1556] 去免疫VK4 '5
- [1557] NIQMTQFPSAMSASVGDRVTITCKASENVGTYSWYQQKPDQSPKMLIYGASNRFTGVPDRFSGSGSGT
DFTLTISLQAEDLADYYCGQSYTFPYTFGQGTKLEIK
- [1558] 去免疫VK DI '5
- [1559] NIVMTQFPKMSASAGERMTLTCKASENVGTYSWYQQKPTQSPKMLIYGASNRFTGVPDRFSGSGSGT
DFILTISVQAEDLVDDYYCGQSYTFPYTFGGGTKLEMK
- [1560] 去免疫VH DI '5
- [1561] EVKLEESGGGLVQPGGSMKISCVASGFTFSNYWMNWRQSPEKGLEWVAEIRSQSNNFATHYAESVKGR
VIISRDDSKSSVYLQMNSLRAEDTAVYYCTRRWNNFWGQGTTTVTVSS
- [1562] 人源化RHA '5
- [1563] EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFSNYWMNWRQASGKGLEWVGEIRSQSNNFATHYAESVKGR
FTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCTRRWNNFWGQGTTTVTVSS
- [1564] 人源化RHB '5
- [1565] EVKLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFSNYWMNWRQASGKGLEWVAEIRSQSNNFATHYAESVKGR
VIISRDDSKNTVYLQMNSLRTEdTAVYYCTRRWNNFWGQGTTTVTVSS
- [1566] 人源化RHC '5
- [1567] EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFSNYWMNWRQASGKGLEWVAEIRSQSNNFATHYAESVKGR
VIISRDDSKNTVYLQMNSLRTEdTAVYYCTRRWNNFWGQGTTTVTVSS
- [1568] 人源化RHD '5
- [1569] EVKLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFSNYWMNWRQASGKGLEWVGEIRSQSNNFATHYAESVKGR
VIISRDDSKNTVYLQMNSLRTEdTAVYYCTRRWNNFWGQGTTTVTVSS
- [1570] 人源化RHE '5
- [1571] EVKLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFSNYWMNWRQASGKGLEWVAEIRSQSNNFATHYAESVKGR
FTISRDDSKNTVYLQMNSLRTEdTAVYYCTRRWNNFWGQGTTTVTVSS
- [1572] 人源化RHF '5
- [1573] EVKLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFSNYWMNWRQASGKGLEWVAEIRSQSNNFATHYAESVKGR
VIISRDDSKNTAYLQMNSLRTEdTAVYYCTRRWNNFWGQGTTTVTVSS
- [1574] 人源化RHG '5

[1575] EVKLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFSNYWMNWVRQASGKGLEWVAEIRSQSNFATHYAESVKGR
VIISRDDSKNTAYLQMNSLRTEDTAVYYCTRRWNNFWGQGTTVTVSS

[1576] 人源化RKA '5

[1577] DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCKASENVGTIVSWYQQKPGTAPKLLIYGASNRFTGVPSRFSGSGSAT
DFTLTINNLQPEDFATYYCGQSYTFPYTFGQGTKVEIK

[1578] 人源化RKB '5

[1579] DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCKASENVGTIVSWYQQKPGTAPKLLIYGASNRFTGVPSRFSGSGSAT
DFTLTINNLQPEDFATYYCGQSYTFPYTFGQGTKVEIK

[1580] 人源化RKC '5

[1581] DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCKASENVGTIVSWYQQKPGTAPKMLIYGASNRFTGVPSRFSGSGSAT
DFTLTINNLQPEDFATYYCGQSYTFPYTFGQGTKVEIK

[1582] 人源化RKD '5

[1583] DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCKASENVGTIVSWYQQKPGTAPKMLIYGASNRFTGVPSRFSGSGSAT
DFTLTINNLQPEDFATYYCGQSYTFPYTFGQGTKVEIK

[1584] 人源化RKE '5

[1585] NIVMTQSPSSVSASVGDRVITITCKASENVGTIVSWYQQKPGTAPKLLIYGASNRFTGVDPDRFTGSGSAT
DFILTINNLQPEDFATYYCGQSYTFPYTFGQGTKVEIK

[1586] 人源化RKF '5

[1587] NIVMTQSPSSVSASVGDRVITITCKASENVGTIVSWYQQKPGTAPKMLIYGASNRFTGVPSRFSGSGSAT
DFILTINNLQPEDFATYYCGQSYTFPYTFGQGTKVEIK

[1588] 人源化RKG '5

[1589] NIVMTQSPSSVSASVGDRVITITCKASENVGTIVSWYQQKPGTAPKMLIYGASNRFTGVDPDRFTGSGSAT
DFTLTINNLQPEDFATYYCGQSYTFPYTFGQGTKVEIK

[1590] 亲本抗体还可以是融合蛋白,其包含白蛋白结合肽(ABP)序列(Dennis et al. (2002) "Albumin Binding As A General Strategy For Improving The Pharmacokinetics Of Proteins" J Biol Chem.277:35035-35043;WO 01/45746)。本发明的抗体包括融合蛋白,其具有由下述教导的ABP序列:(i) Dennis et al (2002) J Biol Chem.277:35035-35043,表III和IV,35038页;(ii) US 2004/0001827,在[0076]节;以及(iii) WO 01/45746,12-13页,所有上述均以引用方式结合于本文。

[1591] 在一种实施方式中,抗体已经被提升到针对肿瘤相关抗原 $\alpha_v\beta_6$ 具有靶特异性。

[1592] 可以标记细胞结合剂,例如,在加入之前,以辅助检测或纯化作为结合物或作为结合物的一部分的细胞结合剂。标记可以是生物素标记。在另一种实施方式中,可以用放射性同位素来标记细胞结合剂。

[1593] 本发明的实施方式包括ConjA,其中细胞结合剂选自相对于上面讨论的任何抗原的抗体。

[1594] 本发明的实施方式包括ConjB,其中细胞结合剂选自相对于上面讨论的任何抗原的抗体。

[1595] 本发明的实施方式包括ConjA,其中细胞结合剂选自上面讨论的任何抗体。

[1596] 本发明的实施方式包括ConjB,其中细胞结合剂选自上面讨论的任何抗体。

[1597] 本发明还可以涉及结合物,其中细胞结合剂选自相对于上面讨论的任何抗原的抗体以及上面讨论的任何抗体连接于不同的药物。

[1598] 药物负载

[1599] 药物负载是PBD药物的平均数/细胞结合剂,例如抗体。在本发明的化合物结合于半胱氨酸的情况下,药物负载可以为1至8个药物(D)/细胞结合剂,即其中1、2、3、4、5、6、7、和8个药物部分共价连接于细胞结合剂。结合物的成分包括细胞结合剂的集合,例如抗体,其结合于1至8个药物。在本发明的化合物结合于赖氨酸的情况下,药物负载可以为1至80个药物(D)/细胞结合剂,虽然40、20、10或8的上限可以是优选的。结合物的成分包括细胞结合剂的集合,例如抗体,其结合于1至80、1至40、1至20、1至10或1至8个药物。

[1600] 可以通过常规方法如UV、反相HPLC、HIC、质谱法、ELISA测定、和电泳来表征在来自结合反应的ADC的制剂中的药物/抗体的平均数。还可以确定就p而言ADC的数量分布。通过ELISA,可以确定在ADC的特定制剂中p的平均值(Hamblett et al (2004) Clin.Cancer Res.10:7063-7070;Sanderson et al (2005) Clin.Cancer Res.11:843-852)。然而,通过ELISA的抗体-抗原结合和检测限,无法辨别p(药物)值的分布。此外,用于检测抗体-药物结合物的ELISA测定并不确定在何处药物部分连接于抗体,如重链或轻链片段、或特定氨基酸残基。在一些情况下,可以通过方式如反相HPLC或电泳来实现其中p是一定值的均质ADC与具有其它药物负载的ADC的分离、纯化、和表征。这样的技术也适用于其它类型的结合物。

[1601] 对于一些抗体-药物结合物,p可以受限于在抗体上连接位点的数目。例如,抗体可以仅具有一个或数个半胱氨酸巯基,或可以仅具有一个或数个足够反应性巯基,通过其可以连接接头。较高药物负载,例如 $p > 5$,可以引起某些抗体-药物结合物的聚集、不溶性、毒性、或细胞通透性消失。

[1602] 通常,在结合反应期间,将小于理论最大值的药物部分结合于抗体。抗体可以包含,例如,许多赖氨酸残基,其并不与药物-接头中间体(D-L)或接头试剂反应。仅最具反应性的赖氨酸基团可以与胺-反应性接头试剂反应。同样,仅最具反应性的半胱氨酸巯基反应与巯基-反应性接头试剂可以。通常,抗体并不包含许多(如果有的话)可以连接于药物部分的自由和反应性半胱氨酸巯基。在化合物的抗体中的大多数半胱氨酸巯基残基存在为二硫桥,并且必须在部分或全部还原条件下借助于还原剂如二硫苏糖醇(DTT)或TCEP加以还原。可以以几种不同的方式来控制ADC的负载(药物/抗体比率),包括:(i)限制药物-接头中间体(D-L)或接头试剂相对于抗体的摩尔过量,(ii)限制结合反应时间或温度,以及(iii)用于半胱氨酸巯基修饰的部分或限制还原条件。

[1603] 某些抗体具有可还原的链间二硫键,即半胱氨酸桥。通过用还原剂如DTT(二硫苏糖醇)进行处理,可以使抗体对于与接头试剂的结合具有反应性。因此,理论上,每个半胱氨酸桥将形成两个反应性巯基亲核体。可以通过赖氨酸与2-亚氨基硫杂环戊烷(2-iminothiolane)(特劳特试剂)的反应来将另外的亲核基团引入抗体,从而导致将胺转化成硫醇(巯基)。可以通过设计一个、两个、三个、四个、或更多半胱氨酸残基(例如,制备包含一个或多个非天然半胱氨酸氨基酸残基的突变抗体)来将反应性巯基引入抗体(或其片段)。US 7521541教导了通过引入反应性半胱氨酸氨基酸来设计抗体。

[1604] 可以在抗体中的反应性位点处设计半胱氨酸氨基酸,并且其并不形成链内或分子间二硫连接(Junutula,et al.,2008b Nature Biotech.,26(8):925-932;Dornan et al

(2009) Blood 114 (13) :2721-2729;US 7521541;US 7723485;W02009/052249)。工程半胱氨酸巯基可以与接头试剂或本发明的药物-接头试剂反应,其具有巯基反应性、亲电子基团如马来酰亚胺或 α -卤代酰胺,以与半胱氨酸工程抗体(cysteine-engineered antibody)和PBD药物部分形成ADC。因此可以设计、控制、和已知药物部分的位置。可以控制药物负载,这是因为工程半胱氨酸巯基通常以高产率与巯基-反应性接头试剂或药物-接头试剂反应。通过在重链或轻链上的单个位点处的替代,设计IgG抗体以引入半胱氨酸氨基酸会产生在对称抗体上的两个新的半胱氨酸。借助于结合产物ADC的几乎均匀性,可以实现接近2的药物负载。

[1605] 在抗体的多于一个的亲核或亲电子基团与药物-接头中间体或接头试剂、接着是药物部分试剂反应的情况下,那么得到的产物是ADC化合物与连接于抗体的药物部分的分布的混合物,例如1、2、3等。液相色谱法如聚合物逆相(PLRP)和疏水性相互作用(HIC)可以按照药物负载值来分离在混合物中的化合物。可以分离具有单药物负载值(p)的ADC的制剂,然而,这些单负载值ADC可能仍然是非均匀混合物,这是因为可以经由接头在抗体上的不同位点处连接药物部分。

[1606] 因此,本发明的抗体-药物结合物组合物包括抗体-药物结合物化合物的混合物,其中抗体具有一个或多个PBD药物部分以及其中药物部分可以在不同的氨基酸残基处连接于抗体。

[1607] 在一种实施方式中,二聚体吡咯并苯并二氮杂~~草~~基团/细胞结合剂的平均数范围为1至20。在一些实施方式中,该范围选自1至8、2至8、2至6、2至4、以及4至8。

[1608] 在一些实施方式中,存在一个二聚体吡咯并苯并二氮杂~~草~~基团/细胞结合剂。

[1609] 包括其它形式

[1610] 除非另有规定,在上述中包括这些取代基的众所周知的离子、盐、溶剂化物、和受保护形式。例如,提及羧酸($-\text{COOH}$)还包括阴离子(羧酸盐)形式($-\text{COO}^-$)、其盐或溶剂化物、以及常规的受保护形式。类似地,提及氨基则包括质子化形式($-\text{N}^+\text{HR}^1\text{R}^2$)、氨基的盐或溶剂化物,例如,盐酸盐,以及氨基的常规的受保护形式。类似地,提及羟基还包括阴离子形式($-\text{O}^-$)、其盐或溶剂化物、以及常规的受保护形式。

[1611] 盐

[1612] 可以方便或期望的是,制备、纯化、和/或处理活性化合物的相应盐,例如,药用盐。药用盐的实例讨论于Berge, et al., J. Pharm. Sci., 66, 1-19 (1977) 中。

[1613] 例如,如果化合物是阴离子的,或具有可以是阴离子的官能团(例如, $-\text{COOH}$ 可以是 $-\text{COO}^-$),那么可以与适宜的阳离子形成盐。适宜的无机阳离子的实例包括但不限于碱金属离子如 Na^+ 和 K^+ ,碱土阳离子如 Ca^{2+} 和 Mg^{2+} ,以及其它阳离子如 Al^{+3} 。适宜的有机阳离子的实例包括但不限于铵离子(即 NH_4^+)和取代的铵离子(例如 NH_3R^+ 、 NH_2R_2^+ 、 NHR_3^+ 、 NR_4^+)。一些适宜的取代的铵离子的实例是那些取代的铵离子,其源自:乙胺、二乙胺、二环己胺、三乙胺、丁胺、乙二胺、乙醇胺、二乙醇胺、哌嗪、苄胺、苯基苄胺、胆碱、甲葡胺(meglumine)、和氨丁三醇(tromethamine)、以及氨基酸,如赖氨酸和精氨酸。常见季铵离子的实例是 $\text{N}(\text{CH}_3)_4^+$ 。

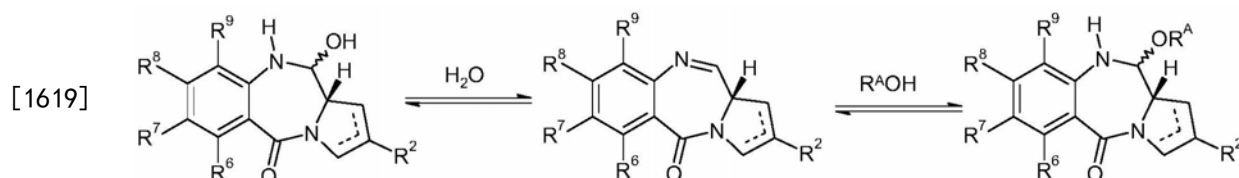
[1614] 如果化合物是阳离子的,或具有可以是阳离子的官能团(例如 $-\text{NH}_2$ 可以是 $-\text{NH}_3^+$),那么可以与适宜的阴离子形成盐。适宜的无机阴离子的实例包括但不限于那些无机阴离子,其源自以下无机酸:盐酸、氢溴酸、氢碘酸、硫酸、亚硫酸、硝酸、亚硝酸、磷酸、和亚磷酸。

[1615] 适宜的有机阴离子的实例包括但不限于那些有机阴离子,其源自以下有机酸:2-乙酰氧基苯甲酸、乙酸、抗坏血酸、天冬氨酸、苯甲酸、樟脑磺酸、肉桂酸、柠檬酸、乙二胺四乙酸(edetic)、乙烷二磺酸、乙烷磺酸、富马酸、葡庚糖酸(gluccheptonic)、葡萄糖酸、谷氨酸、乙醇酸、羟基马来酸、羟基萘羧酸、羟乙磺酸(isethionic)、乳酸、乳糖酸(lactobionic)、月桂酸、马来酸、苹果酸、甲磺酸、粘酸、油酸、~~草~~酸、棕榈酸、双羟萘酸(pamoic)、泛酸、苯乙酸、苯磺酸、丙酸、丙酮酸、水杨酸、硬脂酸、琥珀酸、磺胺酸(sulfanilic)、酒石酸、甲苯磺酸、三氟乙酸和戊酸。适宜的高分子有机阴离子的实例包括但不限于那些高分子有机阴离子,其源自以下聚合酸:单宁酸(tannic acid)、羧甲基纤维素。

[1616] 溶剂化物

[1617] 可以是方便或期望的是,制备、纯化、和/或处理活性化合物的相应溶剂化物。术语“溶剂化物”在本文中在常规意义上用来指溶质(例如活性化合物,活性化合物的盐)和溶剂的复合物。如果溶剂是水,则溶剂化物可以被方便地称为水合物,例如,一水合物、二水合物、三水合物等。

[1618] 本发明包括这样的化合物,其中溶剂添加在PBD部分的亚胺键,其在下面示出,其中溶剂是水或醇($R^A\text{OH}$,其中 R^A 是 C_{1-4} 烷基):



[1620] 这些形式可以被称为PBD的甲醇胺(carbinolamine)和甲醇胺醚形式(如在相关于上文的 R^{10} 的部分中所描述的)。这些平衡的平衡(协调,balance)取决于其中发现化合物的条件、以及部分本身的特性。

[1621] 可以以固体形式来分离这些特定化合物,例如,通过冷冻干燥。

[1622] 异构体

[1623] 本发明的某些化合物可以存在为一种或多种特定几何形状、光学形式、对映体形式、非对映体形式、差向异构形式、阿托形式、立体异构形式、互变异构形式、构象形式、或异头形式(anomeric forms),包括但不限于顺式和反式形式; E -和 Z -形式; c -、 t -、和 r -形式;内和外形式; R -、 S -、和内消旋(meso)-形式; D -和 L -形式; d -和 l -形式; $(+)$ 和 $(-)$ 形式;酮-、烯醇-、和烯醇化物-形式;顺式(syn-)和反式(anti-);向斜-(synclinal)和反错-(anticlinal)形式; α -和 β -形式;轴向和平伏形式;船-、椅-、扭转-、信封-、和半椅-形式;以及它们的组合,下文统称为“异构体”(或“异构形式”)。

[1624] 术语“手性”是指这样的分子,其具有镜像配偶体的不可重叠性,而术语“非手性”是指这样的分子,其可重叠于它们的镜像配偶体。

[1625] 术语“立体异构体”是指这样的化合物,其具有相同的化学组成,但差异在于原子或基团在空间中的排列。

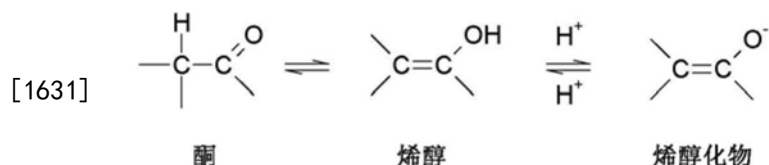
[1626] “非对映体”是指具有两个或更多手性中心的立体异构体,以及其分子不是彼此的镜像。非对映体具有不同的物理性能,例如熔点、沸点、光谱特性、和反应性。在高拆分分析操作(如电泳和层析)下,可以分开非对映体的混合物。

[1627] “对映体”是指化合物的两种立体异构体,其彼此是不能重叠的镜像。

[1628] 本文中使用的立体化学定义和惯例通常遵循S.P.Parker,Ed.,McGraw-Hill Dictionary of Chemical Terms(1984)McGraw-Hill Book Company,New York;以及Eliel,E.and Wilen,S.,“Stereochemistry of Organic Compounds”,John Wiley&Sons, Inc.,New York,1994。本发明的化合物可以包含不对称或手性中心,因而存在不同的立体异构形式。意图是,本发明的化合物的所有立体异构形式,包括但不限于非对映体、对映体和阻转异构体(阿托异构体,atropisomer)、以及它们的混合物如外消旋混合物,形成本发明的一部分。许多有机化合物存在旋光形式,即,它们具有旋转平面偏振光的平面的能力。在描述旋光化合物时,前缀D和L、或R和S用来表示分子相对于它的(一个或多个)手性中心的绝对构型。前缀d和l或(+)和(-)用来指定由化合物引起的平面偏振光的旋转符号,其中(-)或l表示化合物是左旋的。前缀为(+)或d的化合物是右旋的。对于给定的化学结构,这些立体异构体是相同的,不同之处在于,它们是彼此的镜像。特定立体异构体还可以被称为对映体,并且这样的异构体的混合物通常被称为对映体混合物。对映体的50:50混合物被称为外消旋混合物或外消旋物,在化学反应或过程中不存在立体选择性或立体专一性的情况下其可以发生。术语“外消旋混合物”和“外消旋物”是指两种对映体物质的等摩尔混合物(没有光学活性)。

[1629] 注意,除了如下面针对互变异构形式所讨论的,如在本文中所使用的,从术语“异构体”特别排除的是结构(或组成)异构体(即这样的异构体,其差别在于在原子之间的连接,而不是仅在于原子在空间中的位置)。例如,提及甲氧基, $-\text{OCH}_3$,并不应当被解释为提及它的结构异构体,羟甲基, $-\text{CH}_2\text{OH}$ 。类似地,提及邻氯苯基不应当被解释为提及它的结构异构体,间氯苯基。然而,提及一类结构可以良好包括属于上述类的结构异构形式(例如 C_{1-7} 烷基包括正丙基和异丙基;丁基包括正丁基、异丁基、仲丁基、和叔丁基;甲氧基苯基包括邻甲氧基苯基、间甲氧基苯基、和对甲氧基苯基)。

[1630] 上述排除不涉及到互变异构形式,例如,酮形式、烯醇形式、和烯醇化物(烯醇盐)形式,如在,例如,以下互变异构对中:酮/烯醇(说明如下)、亚胺/烯胺、酰胺/亚氨基醇、脒/脒、亚硝基/肟、硫酮/烯硫醇(enethiol)、N-亚硝基/羟基偶氮(hydroxyazo)、和硝基/酸式硝基(acid-nitro)。



[1632] 术语“互变异构体”或“互变异构形式”是指不同能量的结构异构体,经由低能垒,其是可互相转化的。例如,质子互变异构体(还被称为质子移变互变异构体)包括经由质子迁移的相互转化,如酮-烯醇和亚胺-烯胺异构化。价互变异构体包括相互转化,其中通过一些成键电子的重组。

[1633] 注意,在术语“异构体”中特别包括的是具有一个或多个同位素替代的化合物。例如,H可以处于任何同位素形式,包括 ^1H 、 ^2H (D)、和 ^3H (T);C可以处于任何同位素形式,包括 ^{12}C 、 ^{13}C 、和 ^{14}C ;O可以处于任何同位素形式,包括 ^{16}O 和 ^{18}O ;等等。

[1634] 可以被加入本发明的化合物的同位素的实例包括氢、碳、氮、氧、磷、氟、和氯的同

位素,如但不限于²H(氘,D)、³H(氚)、¹¹C、¹³C、¹⁴C、¹⁵N、¹⁸F、³¹P、³²P、³⁵S、³⁶Cl、和¹²⁵I。本发明的各种同位素标记的化合物,例如那些其中加入放射性同位素如³H、¹³C、和¹⁴C的化合物。这样的同位素标记化合物可以用于代谢研究,反应动力学研究,检测或成像技术,如正电子发射断层扫描(PET)或单光子发射计算机断层扫描(SPECT),包括药物或底物组织分布测定法,或用于患者的放射性治疗。本发明的氘标记或取代的治疗性化合物可以具有改善的DMPK(药物代谢和药物动力学)性能,其涉及分布、代谢、和排泄(ADME)。用较重同位素如氘进行的替代可以提供某些治疗优点,其来自更大的代谢稳定性,例如增加的体内半衰期或降低的剂量需要。¹⁸F标记化合物可以用于PET或SPECT研究。通常可以通过进行在以下描述的方案中或在实施例以及制备中披露的程序来制备本发明的同位素标记化合物以及其前药,其中通过用容易得到的同位素标记试剂取代非同位素标记试剂。另外,用较重同位素,尤其是氘(即,²H或D)进行的替代可以提供某些治疗优点,其来自更大的代谢稳定性,例如增加的体内半衰期或降低的剂量需要或治疗指数的改善。可以理解的是,在此上下文中氘被视为取代基(substituent)。可以通过同位素富集系数(isotopic enrichment factor)来定义这样的较重同位素(尤其是氘)的浓度。在本发明的化合物中,未特别指定为特定同位素的任何原子旨在表示上述原子的任何稳定的同位素。

[1635] 除非另有规定,提及特定化合物则包括所有上述异构形式,包括(完全或部分地)它们的外消旋和其它混合物。用于上述异构形式的制备(例如不对称合成)和分离(例如分级结晶和层析方式)的方法是本领域中已知的或以已知的方式通过适应本文教导的方法或已知的方法而容易获得。

[1636] 生物活性

[1637] 体外细胞增殖测定

[1638] 通常,通过以下步骤来测量抗体-药物结合物(ADC)的细胞毒性或抑制细胞活性:在细胞培养基中,将具有受体蛋白(例如HER2)的哺乳动物细胞暴露于ADC的抗体;培养细胞约6小时至约5天;然后测量细胞生存力(存活力,viability)。基于细胞的体外测定用来测量生存力(增殖)、细胞毒性、和本发明的ADC的细胞凋亡的诱导(胱冬裂酶激活(caspase activation))。

[1639] 可以通过细胞增殖测定来测量抗体-药物结合物的体外效力。**CellTiter-Glo[®]** 荧光细胞存活测定(Luminescent Cell Viability Assay)是市售的(Promega Corp., Madison,WI),基于鞘翅目(Coleoptera)荧光素酶的重组表达的均质测定方法(美国专利号5583024、5674713和5700670)。基于存在的ATP(代谢活性细胞的指标)的定量,这种细胞增殖测定确定在培养物中的活细胞的数目(Crouch et al(1993)J.Immunol.Meth.160:81-88;US6602677)。以96孔格式进行**CellTiter-Glo[®]**测定,从而使它适合于自动化高通量筛选(HTS)(Cree et al(1995)AntiCancer Drugs 6:398-404)。均相测定程序涉及将单试剂(**CellTiter-Glo[®]**试剂)直接加入在补充血清的培养基中培养的细胞。不需要细胞洗涤、除去培养基和多次移液步骤。在加入试剂并混合以后的10分钟内,此系统以384孔格式检测至少15个细胞/孔。可以用ADC来连续处理细胞,或可以处理它们,然后从ADC分离。通常,简短处理(即3小时)的细胞显示和连续处理的细胞相同的效力。

[1640] 均质“添加-混合-测量”格式(形式)导致细胞裂解和产生正比于ATP的存在量的发

光信号。ATP的量正比于在培养物中存在的细胞的数目。**CellTiter-Glo[®]**测定产生“辉光型(glow-type)”发光信号,由荧光素酶反应所产生,其具有通常大于5小时的半衰期,这取决于使用的细胞类型和培养基。以相对发光单位(RLU)来反映活细胞。通过重组萤火虫荧光素酶来氧化地脱羧底物,甲虫荧光素(Beetle Luciferin),同时具有ATP到AMP的伴随转化并生成光子。

[1641] 还可以通过细胞毒性测定来测量抗体-药物结合物的体外效力。用PBS洗涤培养的贴壁细胞,用胰蛋白酶解吸,稀释在包含10%FCS的完全培养基中,离心,再悬浮在新鲜培养基中并用血细胞计数器(haemocytometer)计数。直接计数悬浮培养物。适用于计数的单分散细胞悬液可能需要通过反复抽吸来搅拌悬液以打散细胞团块。

[1642] 将细胞悬液稀释至所期望的接种密度并分配(100 μ l/孔)到黑色96孔板。温育贴壁细胞系的板过夜以允许粘附(贴壁,adherence)。在接种的当天可以使用悬浮细胞培养物。

[1643] 在适当的细胞培养基制备ADC(20 μ g/ml)的储备溶液(1ml)。通过连续转移100 μ l至900 μ l的细胞培养基,在15ml离心管中进行储备ADC的10倍系列稀释(serial 10-fold dilution)。

[1644] 在预先平板接种有细胞悬液(100 μ l)的96孔黑色板中分配每个ADC稀释液(dilution)(100 μ l)四个重复孔,从而导致200 μ l的最终体积。对照孔接收细胞培养基(100 μ l)。

[1645] 如果细胞系的倍增时间大于30小时,则ADC温育是5天,否则进行4天培育。

[1646] 在温育期结束时,借助于Alamar蓝测定来评估细胞生存力。将AlamarBlue(Invitrogen)分配于整板(20 μ l/孔)并温育4小时。用Varioskan闪光板(flash plate)阅读器(读取器,reader),在激发570nm、发射585nm下,测量Alamar蓝荧光。细胞存活百分比计算自在ADC处理孔中的平均荧光(相比于在对照孔中的平均荧光)。

[1647] 体内效力

[1648] 可以通过在小鼠中的肿瘤异种移植研究来测量本发明的抗体-药物结合物(ADC)的体内效力。例如,可以通过高表达HER2转基因外植体小鼠模型来测量本发明的抗HER2 ADC的体内效力。同种异体移植物增殖自Fo5 mmtv转基因小鼠,其并不响应,或较差地响应**HERCEPTIN[®]**(赫赛汀)治疗。在一定的剂量水平(mg/kg)和PBD药物暴露(μ g/m²)下,用ADC,以及安慰剂缓冲对照(载体)治疗主体一次;然后监测两周或更长时间,以测量至肿瘤倍增、对数细胞杀死、和肿瘤收缩的时间。

[1649] 应用

[1650] 本发明的结合物可以用来在目标位置(靶位置,target location)提供PBD化合物。

[1651] 目标位置优选是增殖细胞群体。抗体是针对存在于增殖细胞群体上的抗原的抗体。

[1652] 在一种实施方式中,在非增殖细胞群体中,抗原是不存在的或以降低的水平存在(相比于在增殖细胞群体例如肿瘤细胞群体中存在的抗原量)。

[1653] 在目标位置处,接头可以被切割以释放化合物RelA或RelB。因此,结合物可以用来向目标位置选择性地提供化合物RelA或RelB。

[1654] 可以通过在目标位置处存在的酶来切割接头。

[1655] 目标位置可以是在体外、体内或离体。

[1656] 本发明的抗体-药物结合物(ADC)化合物包括那些具有抗癌活性利用性的化合物。尤其是,上述化合物包括这样的抗体,其结合于,即通过接头共价连接于,PBD药物部分,即毒素。当药物没有结合于抗体时,PBD药物具有细胞毒性效应。因此,通过结合于抗体来调节PBD药物部分的生物活性。本发明的抗体-药物结合物(ADC)向肿瘤组织选择性地递送有效剂量的细胞毒性剂,借此可以实现更大的选择性,即更低有效剂量。

[1657] 因此,在一个方面,本发明提供了如本文描述的用于治疗并结合化合物。

[1658] 在进一步的方面,还提供了如本文描述的用于治疗增生性疾病的结合化合物。本发明的第二方面提供了结合化合物的应用,用于制备用来治疗增生性疾病的药物。

[1659] 本领域的普通技术人员能够容易地确定候选结合物是否治疗任何特定细胞类型的增生性病症。例如,可以方便地用来评估由特定化合物提供的活性的测定描述于以下实施例。

[1660] 术语“增生性疾病”涉及过度或异常细胞的不需要的或不受控制的细胞增殖,其不是所期望的,如,肿瘤或增生性生长(无论是在体外或体内)。

[1661] 增生性病症的实例包括但不限于良性、恶化前(pre-malignant)、和恶性细胞增殖,包括但不限于赘生物(瘤,neoplasms)和肿瘤(例如组织细胞瘤、神经胶质瘤、星形细胞瘤、骨瘤)、癌症(例如肺癌、小细胞肺癌、胃肠癌、肠癌、结肠癌、乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌、睾丸癌、肝癌、肾癌、膀胱癌、胰腺癌、脑癌、肉瘤、骨肉瘤、卡波西肉瘤、黑素瘤)、淋巴瘤、白血病、银屑病(psoriasis)、骨疾病、纤维增生性疾病(例如结缔组织的纤维增生性疾病)、和动脉粥样硬化。特别受关注的癌症包括但不限于白血病和卵巢癌。

[1662] 可以治疗任何类型的细胞,包括但不限于肺、胃肠(包括,例如肠、结肠)、乳腺(乳房,mammary)、卵巢、前列腺、肝(肝脏)、肾(肾脏)、膀胱、胰腺、脑、和皮肤(细胞)。

[1663] 在一种实施方式中,治疗是针对胰腺癌。

[1664] 在一种实施方式中,治疗是针对在细胞的表面上具有 $\alpha_v\beta_6$ 整联蛋白(integrin)的肿瘤。

[1665] 可以设想,本发明的抗体-药物结合物(ADC)可以用来治疗各种疾病或病症,例如其特征是肿瘤抗原的过度表达。示例性病症或过度增生性疾病包括良性或恶性肿瘤;白血病、血液和淋巴癌(haematological, and lymphoid malignancies)。其它病症或过度增生性疾病包括神经疾病、胶质疾病、星形细胞疾病、下丘脑疾病、腺疾病、巨噬细胞疾病、上皮病症、间质疾病、囊胚腔疾病(blastocoelic)、炎症性疾病、血管生成和免疫疾病(包括自身免疫性疾病)。

[1666] 通常,待治疗的疾病或病症是过度增生性疾病(hyperproliferative disease)如癌症。本文中待治疗的癌症的实例包括但不限于癌、淋巴瘤、母细胞瘤、肉瘤、和白血病或淋巴瘤。上述癌症的更具体的实例包括鳞状细胞癌(例如上皮鳞状细胞癌),肺癌,包括小细胞肺癌、非小细胞肺癌、肺腺癌和肺鳞状癌,腹膜癌,肝细胞癌,胃癌或胃脏癌,包括胃肠癌,胰腺癌,成胶质细胞瘤,子宫颈癌,卵巢癌,肝癌,膀胱癌,肝细胞癌,乳腺癌(乳癌),结肠癌,直肠癌,结直肠癌,子宫内膜癌或子宫癌,涎腺癌(salivary gland carcinoma),肾癌或肾脏癌,前列腺癌,外阴癌,甲状腺癌,肝癌,肛门癌(anal carcinoma),阴茎癌(penile carcinoma),以及头颈部癌。

[1667] ADC化合物可用于治疗的自身免疫病包括风湿性疾病(如,例如,类风湿性关节炎,舍格伦综合征,硬皮病,狼疮如SLE和狼疮肾炎,多肌炎/皮炎,冷球蛋白血症,抗磷脂抗体综合征,和银屑病关节炎),骨关节炎,自身免疫性胃肠和肝脏疾病(如,例如,炎性肠病(例如溃疡性结肠炎和克罗恩病),自身免疫性胃炎和恶性贫血(pernicious anemia),自身免疫性肝炎,原发性胆汁性肝硬化,原发性硬化性胆管炎(cholangitis),和乳糜泻(celiac disease)),血管炎(如,例如,ANCA相关血管炎,包括丘-斯血管炎,韦格纳肉芽肿病,和多动脉炎(polyarteriitis)),自身免疫性神经系统疾病(如,例如,多发性硬化,视性眼阵挛-肌阵挛综合征(opsoclonus myoclonus syndrome),重症肌无力(myasthenia gravis),视神经脊髓炎(neuromyelitis optica),帕金森病,阿尔茨海默病,和自身免疫性多发性神经病),肾脏疾病(如,例如,肾小球肾炎,古德帕斯丘综合征,和贝尔热病),自身免疫性皮肤病(如,例如,银屑病,荨麻疹(urticaria),荨麻疹(hives),寻常性天疱疮,大疱性类天疱疮,和皮肤红斑狼疮),血液系统疾病(如,例如,血小板减少性紫癜,血栓性血小板减少性紫癜,输血后紫癜,和自身免疫性溶血性贫血),动脉粥样硬化,葡萄膜炎,自身免疫性听觉疾病(如,例如,内耳疾病和听力消失),白塞病(Behcet's disease),雷诺综合征,器官移植,和自身免疫性内分泌疾病(如,例如,糖尿病相关自身免疫病如胰岛素依赖型糖尿病(IDDM),艾迪生病,和自身免疫性甲状腺病(例如格雷夫斯病和甲状腺炎))。更优选的上述疾病包括,例如,类风湿性关节炎、溃疡性结肠炎、ANCA相关血管炎、狼疮、多发性硬化、舍格伦综合征、格雷夫斯病、IDDM、恶性贫血(pernicious anemia)、甲状腺炎、和肾小球肾炎(glomerulonephritis)。

[1668] 治疗方法

[1669] 本发明的结合物可以用于治疗方法。还提供了一种治疗方法,包括将治疗有效量的本发明的结合化合物给予需要治疗的主体。术语“治疗有效量”是足以对患者显示益处的量。这样的益处可以是至少改善至少一种症状。给予的实际量以及给予的速率和时程将取决于待治疗对象的特性和严重性。治疗处方,例如,对剂量的决定,是在一般从业者(全科医生)和其他医生的责任范围内。

[1670] 可以单独地或连同其它治疗一起来给予本发明的化合物(同时或相继地,其取决于待治疗的病症)。治疗和疗法的实例包括但不限于化疗(给予活性剂,包括,例如药物,如化疗剂);手术;以及放射疗法。

[1671] “化疗剂”是可用于治疗癌症的化合物,而不管作用机制。化疗剂的类别包括但不限于:烷基化剂、抗代谢物、纺锤体毒素植物生物碱、细胞毒性/抗肿瘤抗生素、拓扑异构酶抑制剂、抗体、光敏剂、和激酶抑制剂。化疗剂包括在“靶向疗法”和常规化疗中使用的化合物。

[1672] 化疗剂的实例包括:厄洛替尼(TARCEVA®, Genentech/OSI Pharm.)、多西他赛(TAXOTERE®, Sanofi-Aventis)、5-FU(氟尿嘧啶,5-氟尿嘧啶,CAS号51-21-8)、吉西他滨(GEMZAR®, Lilly)、PD-0325901(CAS号391210-10-9, Pfizer)、顺铂(顺式二胺,二氯铂(II),CAS号15663-27-1)、卡铂(CAS号41575-94-4)、紫杉醇(TAXOL®, Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, N.J.)、曲妥单抗(赫赛汀®, Genentech)、替莫唑胺(4-甲基-5-氧代-2,3,4,6,8-五氮杂双环[4.3.0]壬-2,7,9-三烯-9-咪唑羧酰胺,CAS号85622-93-1,

TEMODAR®, TEMODAL®, Schering Plough)、他莫昔芬((Z)-2-[4-(1,2-二苯基丁-1-烯基)苯氧基]-N,N-二甲基乙胺,NOLVADEX®, ISTUBAL®, VALODEX®)、多柔比星(ADRIAMYCIN®)、Akti-1/2、HPPD、和雷帕霉素。

[1673] 化疗剂的更多实例包括:奥沙利铂(ELOXATIN®, Sanofi)、硼替佐米(VELCADE®, Millennium Pharm.)、索坦(sutent)(SUNITINIB®, SU11248, Pfizer)、来曲唑(FEMARA®, Novartis)、甲磺酸伊马替尼(GLEEVEC®, Novartis)、XL-518(Mek抑制剂, Exelixis, WO 2007/044515)、ARRY-886(Mek抑制剂, AZD6244, Array BioPharma, Astra Zeneca)、SF-1126(PI3K抑制剂, Semafore Pharmaceuticals)、BEZ-235(PI3K抑制剂, Novartis)、XL-147(PI3K抑制剂, Exelixis)、PTK787/ZK 222584(Novartis)、氟维司群(FASLODEX®, AstraZeneca)、甲酰四氢叶酸(亚叶酸)、雷帕霉素(西罗莫司, RAPAMUNE®, Wyeth)、拉帕替尼(TYKERB®, GSK572016, Glaxo Smith Kline)、lonafarnib(SARASAR™, SCH 66336, Schering Plough)、索拉非尼(NEXAVAR®, BAY43-9006, Bayer Labs)、吉非替尼(IRESSA®, AstraZeneca)、伊立替康(CAMPTOSAR®, CPT-11, Pfizer)、tipifarnib(ZARNESTRA™, Johnson&Johnson)、ABRAXANE™(无聚氧乙烯蓖麻油)、紫杉醇的白蛋白工程纳米颗粒制剂(American Pharmaceutical Partners, Schaumburg, Il)、凡德他尼(rINN, ZD6474, ZACTIMA®, AstraZeneca)、苯丁酸氮芥(chlorambucil)、AG1478、AG1571(SU 5271; Sugen)、西罗莫司(TORISEL®, Wyeth)、帕唑帕尼(GlaxoSmithKline)、canfosfamide(TELCYTA®, Telik)、噻替哌和环磷酰胺(CYTOXAN®, NEOSAR®);烷基磺酸酯如白消安、英丙舒凡和哌泊舒凡;吡丙啶如苯佐替派(benzodopa)、卡波醌、美妥替派(meturedopa)、和乌瑞替派(uredopa);乙烯亚胺和甲基密胺类(methylamelamines),包括六甲蜜胺、曲他胺(triethylenemelamine)、三亚乙基磷酰胺、三亚乙基硫代磷酰胺和三羟甲密胺;己酸配质(acetogenins)(尤其是bullatacin和bullatacinone);喜树碱(包括合成类似物托泊替康);苔藓抑素;callystatin;CC-1065(包括它的阿多来新、卡折来新和比折来新合成类似物);cryptophycins(尤其是cryptophycin1和cryptophycin 8);多拉司他汀;duocarmycin(包括合成类似物,KW-2189和CB1-TM1);eleutherobin;pancratistatin;sarcodictyin;spongistatin;氮芥如苯丁酸氮芥、萘氮芥、氯磷酰胺、雌莫司汀、异环磷酰胺、氮芥、盐酸氧氮芥、美法仑、新氮芥、苯芥胆甾醇、泼尼莫司汀、曲磷胺、乌拉莫司汀;亚硝基脲如卡莫司汀、氯脲菌素、福莫司汀、洛莫司汀、尼莫司汀、和雷莫司汀;抗生素如烯二炔抗生素(例如刺孢霉素、刺孢霉素γ1I、刺孢霉素ω1I(Angew Chem. Intl. Ed. Engl. (1994) 33:183-186);dynemicin、dynemicin A;二磷酸盐,如氯膦酸盐;埃斯波霉素;以及新制癌菌素发色团和相关色素蛋白烯二炔抗生素生色团)、阿克拉霉素、放线菌素、氨基霉素、重氮丝氨酸、博莱霉素、放线菌素C、carabycin、洋红霉素、嗜癌菌素、chromomycinis、放线菌素D、柔红霉素、地托比星、6-重氮基-5-氧代-L-正亮氨酸、吗啉代-多柔比星、氰基吗啉代-多柔比星、2-吡咯啉并-多柔比星和脱氧多柔比星)、表柔比星、依索比星、伊达比星、奈莫柔比星、马塞罗霉素、丝裂霉素如丝裂霉素C、茵酚酸、诺加霉素、橄榄霉素、培洛霉素、泊非霉素、嘌呤霉素、三铁阿霉素、罗多比星、链黑菌素、链佐星、杀结核菌素、乌苯美司、净司他丁、佐柔比星;抗代谢物如氨甲蝶呤和5-氟尿嘧啶

(5-FU); 叶酸类似物如二甲叶酸、氨甲蝶呤、蝶罗呤、三甲曲沙; 嘌呤类似物如氟达拉滨、6-巯基嘌呤、硫咪嘌呤、硫鸟嘌呤; 嘧啶类似物如安西他滨、阿扎胞苷、6-氮杂尿苷、卡莫氟、阿糖胞苷、双脱氧尿苷、去氧氟尿苷、依诺他滨、氟尿苷; 雄激素如卡普睾酮、酸屈他雄酮、环硫雄醇、美雄烷、睾内酯; 抗肾上腺如氨鲁米特、米托坦、曲洛司坦; 叶酸补充剂如亚叶酸; 醋葡萄糖醛内酯; 醛磷酰胺糖苷; 氨基乙酰丙酸; 恩尿嘧啶; 安吡啶; bestabucil; 比生群; 依达曲沙; defofamine; 秋水仙胺; 地吡醌; 依氟鸟氨酸; 依利醋铵; 一种大环内酯类抗肿瘤药; 依托格鲁; 硝酸镓; 羟基脲; 蘑菇多糖; lonidainine; 美登素如美登素和安丝菌素; 米托胍脲; 米托蒽醌; mopidanmol; nitraerine; 喷司他丁; 蛋氨酸芥; 吡柔比星; 洛索蒽醌; 鬼臼酸; 2-乙基肼; 甲基苄肼; **PSK®** 多糖复合物 (JHS Natural Products, Eugene, OR); 雷佐生; 根霉素; 西佐喃; 锗螺胺; 细格孢氮杂酸; 三亚胺醌; 2,2',2''-三氯三乙胺; 单端孢菌素 (尤其是 T-2 毒素、verracurin A、杆孢菌素 A 和蛇形菌素); 乌拉坦; 长春地辛; 氮烯唑胺; 甘露醇氮芥; 二溴甘露醇; 二溴卫矛醇; 哌泊溴烷; gacytosine; 阿拉伯糖苷 ("Ara-C"); 环磷酰胺; 噻替哌; 6-巯鸟嘌呤; 巯基嘌呤; 氨甲蝶呤; 铂类似物如顺铂和卡铂; 长春碱; 依托泊苷 (VP-16); 异环磷酰胺; 米托蒽醌; 长春新碱; 长春瑞滨 (**NAVELBINE®**); 诺消灵; 替尼泊苷; 依达曲沙; 柔红霉素; 氨基蝶呤; 卡培他滨 (**XELODA®**, Roche); 伊班膦酸盐; CPT-11; 拓扑异构酶抑制剂 RFS 2000; 二氟甲基鸟氨酸 (DMFO); 类视色素如维甲酸; 以及任何前述项的药用盐、酸和衍生物。

[1674] 在“化疗剂”的定义中还包括: (i) 抗激素剂, 其用来调节或抑制对肿瘤的激素作用如抗雌激素和选择性雌激素受体调节剂 (SERM), 包括, 例如, 他莫昔芬 (包括 **NOLVADEX®**; 枸橼酸他莫昔芬)、雷洛昔芬、屈洛昔芬、4-羟基他莫昔芬、曲沃昔芬、keoxifene、LY117018、奥那司酮、和 **FARESTON®** (枸橼酸托瑞米芬); (ii) 芳香酶抑制剂, 它们抑制酶芳香酶, 其在肾上腺中调节雌激素的生产, 如, 例如, 4(5)-咪唑、氨鲁米特、**MEGASE®** (醋酸甲地孕酮)、**AROMASIN®** (依西美坦; Pfizer)、formestanie、法倔唑、**RIVISOR®** (伏氯唑)、**FEMARA®** (来曲唑; Novartis)、和 **ARIMIDEX®** (阿纳托唑; AstraZeneca); (iii) 抗雄激素如氟他胺、尼鲁米特、比卡鲁胺、亮丙立德、和戈舍瑞林; 以及曲沙他滨 (1,3-二氧戊环胞嘧啶核苷类似物); (iv) 蛋白激酶抑制剂如 MEK 抑制剂 (WO 2007/044515); (v) 脂质激酶抑制剂; (vi) 反义寡核苷酸, 尤其是那些反义寡核苷酸, 其在涉及异常细胞增殖的信号通路中抑制基因的表达, 例如, PKC- α 、Raf 和 H-Ras, 如 oblimersen (**GENASENSE®**; Genta Inc.); (vii) 核酶如 VEGF 表达抑制剂 (例如, **ANGIOZYME®**) 和 HER2 表达抑制剂; (viii) 疫苗如基因治疗疫苗, 例如, **ALLOVECTIN®**、**LEUVECTIN®**、和 **VAXID®**; **PROLEUKIN®** rIL-2; 拓扑异构酶 1 抑制剂如 **LURTOTECAN®**; **ABARELIX®** rmRH; (ix) 抗血管生成剂如贝伐单抗 (**AVASTIN®**; Genentech); 以及任何前述项的药用盐、酸和衍生物。

[1675] 在“化疗剂”的定义中还包括治疗性抗体如阿仑单抗 (Campath)、贝伐单抗 (**AVASTIN®**, Genentech); 西妥昔单抗 (**ERBITUX®**, Imclone); 帕尼单抗 (**VECTIBIX®**, Amgen)、利妥昔单抗 (**RITUXAN®**, Genentech/Biogen Idec)、ofatumumab (**ARZERRA®**, GSK)、帕妥珠单抗 (PERJETATM, OMNITARGTM, 2C4, Genentech)、

曲妥单抗(赫赛汀®, Genentech)、托西莫单抗(Bexxar, Corixa)、和抗体药物结合物、吉姆单抗、奥佐米星(MYLOTARG®, Wyeth)。

[1676] 连同本发明的结合物一起具有作为化疗剂的治疗潜力的人源化单克隆抗体包括: 阿仑单抗、apolizumab、aselizumab、atlizumab、bapineuzumab、贝伐单抗、比伐单抗、mertansine、cantuzumab mertansine、西利珠单抗、certolizumab pegol、cidfusituzumab、cidtuzumab、达克珠单抗、依库珠单抗、依法利珠单抗、依帕珠单抗、erlizumab、非维珠单抗、fontolizumab、吉姆单抗奥佐米星、inotuzumab奥佐米星、ipilimumab、labetuzumab、林妥珠单抗、马妥珠单抗、美泊利单抗、motavizumab、motovizumab、那他珠单抗、尼妥珠单抗、nolovizumab、numavizumab、ocrelizumab、奥马珠单抗、帕利珠单抗、pascolizumab、pecfusituzumab、pectuzumab、帕妥珠单抗、pexelizumab、ralivizumab、ranibizumab、reslivizumab、reslizumab、resyvizumab、罗维珠单抗、鲁利单抗、西罗珠单抗、siplizumab、sontuzumab、tacatuzumab tetraxetan、tadocizumab、talizumab、tefibazumab、tocilizumab、toralizumab、曲妥单抗、tucotuzumab celmoleukin、tucusituzumab、umavizumab、urtloxazumab、和visilizumab。

[1677] 按照本发明和按照本发明应用的药物组合物,除活性组分(即结合化合物)之外,还可以包含药用赋形剂、载体、缓冲剂、稳定剂或其它材料(本领域技术人员众所周知的)。这样的材料应是无毒的并且不应干扰活性组分的功效。载体或其它材料的确切特性将取决于给予途径,其可以是口服、或通过注射,例如皮肤、皮下、或静脉内注射。

[1678] 用于口服给予的药物组合物可以是片剂、胶囊剂、散剂或液体形式。片剂可以包含固体载体或佐剂。液体药物组合物通常包含液体载体如水、石油、动物或植物油、矿物油或合成油。可以包括生理盐水溶液、葡萄糖或其它糖溶液或二醇类如乙二醇、丙二醇或聚乙二醇。胶囊剂可以包含固体载体如明胶。

[1679] 对于静脉内、皮肤或皮下注射、或在痛苦部位处的注射,活性组分将具有肠胃外可接受的水溶液的形式,其是无热原的并具有适宜的pH、等渗性和稳定性。利用,例如,等渗载体如氯化钠注射液、林格氏注射液、乳酸林格氏注射液,本领域的相关技术人员完全能够制备适宜的溶液。根据需要,可以包括防腐剂、稳定剂、缓冲剂、抗氧化剂和/或其它添加剂。

[1680] 剂型

[1681] 虽然可以单独地使用(例如,给予)结合化合物,但通常优选的是,它呈现为组合物或制剂。

[1682] 在一种实施方式中,组合物是药物组合物(例如,配方、制剂、药剂),其包含如本文所描述的结合化合物,和药用载体、稀释剂、或赋形剂。

[1683] 在一种实施方式中,组合物是药物组合物,其包含至少一种结合化合物(如本文所描述的),以及一种或多种其它药用成分(本领域技术人员众所周知的),包括但不限于药用载体、稀释剂、赋形剂、佐剂、填充剂、缓冲剂、防腐剂、抗氧化剂、润滑剂、稳定剂、增溶剂、表面活性剂(例如,润湿剂)、掩蔽剂、着色剂、增香剂、和甜味剂。

[1684] 在一种实施方式中,组合物进一步包含其它活性剂,例如,其它治疗剂或预防剂。

[1685] 在标准的制药教科书中可以找到适宜的载体、稀释剂、赋形剂等。见,例如, Handbook of Pharmaceutical Additives, 2nd Edition (eds. M. Ash and I. Ash), 2001 (Synapse Information Resources, Inc., Endicott, New York, USA), Remington's

Pharmaceutical Sciences, 20th edition, pub. Lippincott, Williams & Wilkins, 2000; 以及 Handbook of Pharmaceutical Excipients, 2nd edition, 1994。

[1686] 本发明的另一个方面涉及用于制备药物组合物的方法, 该方法包括混合至少一种 [^{11}C] 放射性标记结合物或结合样化合物 (如本文中所定义的)、以及一种或多种其它药用成分 (本领域技术人员众所周知的), 例如, 载体、稀释剂、赋形剂等。如果配制成离散的单位 (例如, 片剂等), 则每个单位含有预定量 (剂量) 的活性化合物。

[1687] 如在本文中所使用的, 术语“可药用”涉及化合物、成分、材料、组合物、剂型等, 在合理的医学判断的范围内, 其适合与所考虑的主体 (例如, 人) 的组织接触, 而没有过度的毒性、刺激、变态反应、或其它问题或并发症, 并与合理的利益/风险比相应。在与制剂的其它成分相容的意义上, 载体、稀释剂、赋形剂等各自也必须是“可接受的”。

[1688] 可以通过药学领域中众所周知的任何方法来制备剂型。这样的方法包括以下步骤: 使活性化合物与载体 (其构成一种或多种辅助成分) 结合在一起。通常, 通过使活性化合物与载体 (例如, 液体载体、细分固体载体等) 均匀且紧密地结合在一起, 然后将产品成形 (如果需要的话), 来制备剂型。

[1689] 可以制备剂型以提供快速或缓慢释放; 立即、延迟、定时、或持续释放; 或它们的组合。

[1690] 适用于胃肠外给予 (例如, 通过注射) 的剂型包括水性或非水性的、等渗的、无热原的、无菌液体 (例如, 溶液、悬浮液), 其中溶解、悬浮、或以其它方式 (例如, 在脂质体或其它微颗粒中) 提供活性组分。这样的液体可以另外包含其它药用成分, 如抗氧化剂、缓冲剂、防腐剂、稳定剂、抑菌剂、悬浮剂、增稠剂、和溶质, 其使制剂与预定接受者的血液 (或其它相关体液) 等渗。赋形剂的实例包括, 例如, 水、醇 (alcohol)、多元醇、甘油、植物油等。用于上述剂型的适宜的等渗载体的实例包括氯化钠注射液、林格氏液、或乳酸林格氏注射液。通常, 在液体中活性组分的浓度是约 1ng/ml 至约 $10\mu\text{g/ml}$, 例如约 10ng/ml 至约 $1\mu\text{g/ml}$ 。可以以单位剂量或多剂量密封容器, 例如, 安瓿和小瓶, 来提供剂型, 并且可以存储在冷冻干燥 (冻干) 条件下, 从而仅需要在使用前立即添加无菌液体载体, 例如注射用水。即时注射溶液和悬浮液可以制备自无菌散剂、颗粒剂、和片剂。

[1691] 剂量

[1692] 本领域技术人员将理解的是, 结合化合物和包含结合化合物的组合物的适当剂量可以因患者而异。确定最佳剂量一般将涉及治疗效益水平相对于任何危险或有害副作用的平衡。选择的剂量水平将取决于多种因素, 包括但不限于特定化合物的活性, 给予途径, 给予时间, 化合物的排泄速率, 治疗的持续时间, 联合使用的其它药物、化合物、和/或材料, 病症的严重程度, 以及患者的物种、性别、年龄、体重、状况、一般健康、和以前的医疗史。化合物的量和给予途径最终将由医师、兽医、或临床医师决定, 虽然通常将选择剂量以在作用部位处达到局部浓度, 其达到预期的效果而没有引起实质性的有害或有毒的副作用。

[1693] 在整个治疗过程中, 可以以一次剂量、连续或间歇地 (例如, 以分开的剂量并以适当的间隔) 进行给予。用于确定给予的最有效方式和剂量的方法是本领域技术人员众所周知的并且将随用于治疗的剂型、治疗的目的、待治疗的 (一个或多个) 靶细胞、和待治疗的主体而变化。借助于由治疗医师、兽医、或临床医师选择的剂量水平和模式可以进行单次或多次给予。

[1694] 通常,活性化合物的适宜剂量为约100ng至约25mg(更通常地为约1 μ g至约10mg)/千克主体体重/天。在活性化合物是盐、酯、酰胺、前药等的情况下,基于母体化合物来计算给予的量,所以按比例增加待使用的实际重量。

[1695] 在一种实施方式中,按照以下剂量方案:约100mg,每日3次,将活性化合物给予人患者。

[1696] 在一种实施方式中,按照以下剂量方案:约150mg,每日2次,将活性化合物给予人患者。

[1697] 在一种实施方式中,按照以下剂量方案:约200mg,每日2次,将活性化合物给予人患者。

[1698] 然而,在一种实施方式中,按照以下剂量方案:约50或约75mg,每日3或4次,将结合化合物给予人患者。

[1699] 在一种实施方式中,按照以下剂量方案:约100或约125mg,每日2次,将结合化合物给予人患者。

[1700] 上文描述的剂量可以适用于结合物(包括PBD部分和与抗体的接头)或适用于有效量的提供的PBD化合物,例如在接头的切割以后可释放的化合物的量。

[1701] 对于疾病的预防或治疗,本发明的ADC的适当剂量将取决于待治疗的疾病的类型(如上文所定义的),疾病的严重程度和病程(不管出于预防或治疗的目的来给予分子),以前的治疗,患者的临床病史和对抗体的响应,以及主治医生的判断力。在某个时候或在一系列治疗中,将分子适当地给予患者。取决于疾病的类型和严重程度,约1 μ g/kg至15mg/kg(例如0.1-20mg/kg)的分子是用于给予患者的初始候选剂量,而不论,例如,通过一次或多次单独的给予、或通过连续输注。典型的每日剂量可以为约1 μ g/kg至100mg/kg或更多,其取决于上述因素。待给予患者的ADC的示例性剂量为约0.1至约10mg/kg患者体重。对于经数天或更长时间的重复给予,取决于病症,持续治疗直到发生疾病症状的所期望的抑制。示例性剂量方案包括给予约4mg/kg的初始负载剂量,接着每周、两周、或三周另外剂量的ADC。其它剂量方案可以是有益的。通过常规技术和测定,容易监测这种疗法的进展。

[1702] 治疗

[1703] 如在本文治疗病症的上下文中所使用的,术语“治疗”一般涉及治疗和疗法,而不论是人或动物(例如,在兽医应用中),其中达到一些所期望的治疗效果,例如,病症的进展的抑制,并且包括进展速率的降低、进展速率的停止、病症的消退、病症的改善、和病症的治愈。还包括作为预防措施(即,防治、预防)的治疗。

[1704] 如在本文中所使用的,术语“治疗有效量”涉及活性化合物、或材料、组合物或包含活性化合物的剂量(形式)的量,当按照所期望的治疗方案给予时,其可有效地产生一些所期望的治疗效果,并平衡合理的利益/风险比。

[1705] 类似地,如在本文中所使用的,术语“预防有效量”涉及活性化合物、或材料、组合物或包含活性化合物的剂量(形式)的量,当按照所期望的治疗方案给予时,其可有效地产生一些所期望的预防效果,并平衡合理的利益/风险比。

[1706] 药物结合物的制备

[1707] 可以通过几种途径,采用本领域技术人员已知的有机化学反应、条件、和试剂,包括抗体或细胞结合剂的亲核基团与药物-接头试剂的反应,来制备抗体药物结合物,以及具

有其它细胞结合剂的结合物。可以借助于各种抗体和细胞结合剂来采用这种方法以制备本发明的抗体-药物结合物。

[1708] 在抗体上的亲核基团包括但不限于侧链巯基,例如半胱氨酸。巯基是亲核的并且能够反应以与在接头部分(如本发明的那些接头部分)上的亲电子基团形成共价键。某些抗体具有可还原的链间二硫键,即半胱氨酸桥。通过还原剂如DTT (Cleland试剂,二硫苏糖醇)或TCEP (三(2-羧基乙基)膦盐酸盐;Getz et al (1999) Anal. Biochem. Vol 273:73-80; Soltec Ventures, Beverly, MA) 进行处理,可以使抗体对于与接头试剂结合具有反应性。因此,理论上,每个半胱氨酸二硫桥将形成两个反应性巯基亲核体。可以通过赖氨酸与2-亚氨基硫杂环戊烷(特劳特试剂)的反应来将另外的亲核基团引入抗体,从而导致胺转化成硫醇(thiol)。

[1709] 主体/患者

[1710] 主体/患者可以是动物、哺乳动物、胎盘哺乳动物、有袋目哺乳动物(例如,袋鼠、袋熊)、单孔类动物(例如,鸭嘴兽)、啮齿目动物(例如,豚鼠、仓鼠、大鼠、小鼠)、鼠(例如,小鼠)、兔类动物(例如,兔)、禽(例如,鸟)、犬科动物(例如,狗)、猫科动物(例如,猫)、马科动物(例如,马)、猪(例如,猪)、绵羊(例如,羊)、牛科动物(例如,奶牛)、灵长目动物、类人猿(例如,猴或猿猴)、猴(例如,绒、狒狒)、猿(例如,大猩猩、黑猩猩、猩猩、长臂猿)、或人。

[1711] 此外,主体/患者可以是它的任何发育形式,例如,胎儿。在一种优选的实施方式中,主体/患者是人。

[1712] 在一种实施方式中,患者是群体,其中每个患者具有肿瘤,其具有在细胞的表面上的 $\alpha_v\beta_6$ 整联蛋白。

[1713] 实施例

[1714] 一般实验方法

[1715] 用ADP 220旋光仪(Bellingham Stanley Ltd.)来测量旋光性并以g/100mL为单位来给出浓度(c)。利用数字熔点仪(Electrothermal)来测量熔点。用Perkin-Elmer Spectrum 1000 FT IR谱仪来记录IR谱。在300K下,利用Bruker Avance NMR分光计并分别在400和100MHz下获得 ^1H 和 ^{13}C NMR谱。相对于TMS ($\delta=0.0\text{ppm}$)来报告化学位移,并且信号被指定为s(单峰)、d(双重峰)、t(三重峰)、dt(双三重峰)、dd(双重峰的双重峰)、ddd(双重峰的双双重峰(double doublet of doublets))或m(多重峰),其中以赫兹(Hz)为单位来给出耦合常数。利用耦合于具有Waters 2996 PDA的Waters 2695HPLC的Waters Micromass ZQ仪器来收集质谱法(MS)数据。使用的Waters Micromass ZQ参数是:毛细管(kV),3.38;锥体(Cone) (V),35;提取器(V),3.0;源温度($^{\circ}\text{C}$),100;去溶剂化温度($^{\circ}\text{C}$),200;锥形流动速率(L/h),50;去溶剂化流动速率(L/h),250。用Waters Micromass QTOF Global并以正W模式(W-mode)来记录高分辨率质谱法(HRMS)数据,其中利用金属涂覆的硼硅酸盐玻璃尖端来将样品引入仪器。用硅胶铝板(Merck 60, F_{254})进行薄层层析(TLC),以及快速层析采用硅胶(Merck 60, 230-400目ASTM)。除了HOBt (NovaBiochem)和固体支撑试剂(Argonaut)以外,所有其它化学品和溶剂均购买自Sigma-Aldrich并以所提供的状态加以使用而没有进一步纯化。在干燥氮气氛下,并在存在适当的干燥剂的条件下,通过蒸馏来制备无水溶剂,然后经4Å分子筛或钠线(sodium wire)加以储存。石油醚是指在40-60 $^{\circ}\text{C}$ 下沸腾的馏分。

[1716] 一般的LC/MS条件:

[1717] 方法1 (使用的默认方法, 除非另有说明)

[1718] 利用水 (A) (甲酸0.1%) 和乙腈 (B) (甲酸0.1%) 的流动相来运行HPLC (Waters Alliance 2695)。梯度: 初始组成5%B, 保持1.0分钟以上, 然后从5%B增加至95%B, 经3分钟。在95%B下保持上述组成0.1分钟, 然后在0.03分钟内回到5%B并保持0.87分钟。总梯度运行时间等于5分钟。

[1719] 方法2

[1720] 利用水 (A) (甲酸0.1%) 和乙腈 (B) (甲酸0.1%) 的流动相来运行HPLC (Waters Alliance 2695)。梯度: 初始组成5%B, 保持1.0分钟以上, 然后从5%B增加至95%B, 经2.5分钟。在95%B下保持上述组成0.5分钟, 然后在0.1分钟内回到5%B并保持0.9分钟。总梯度运行时间等于5分钟。

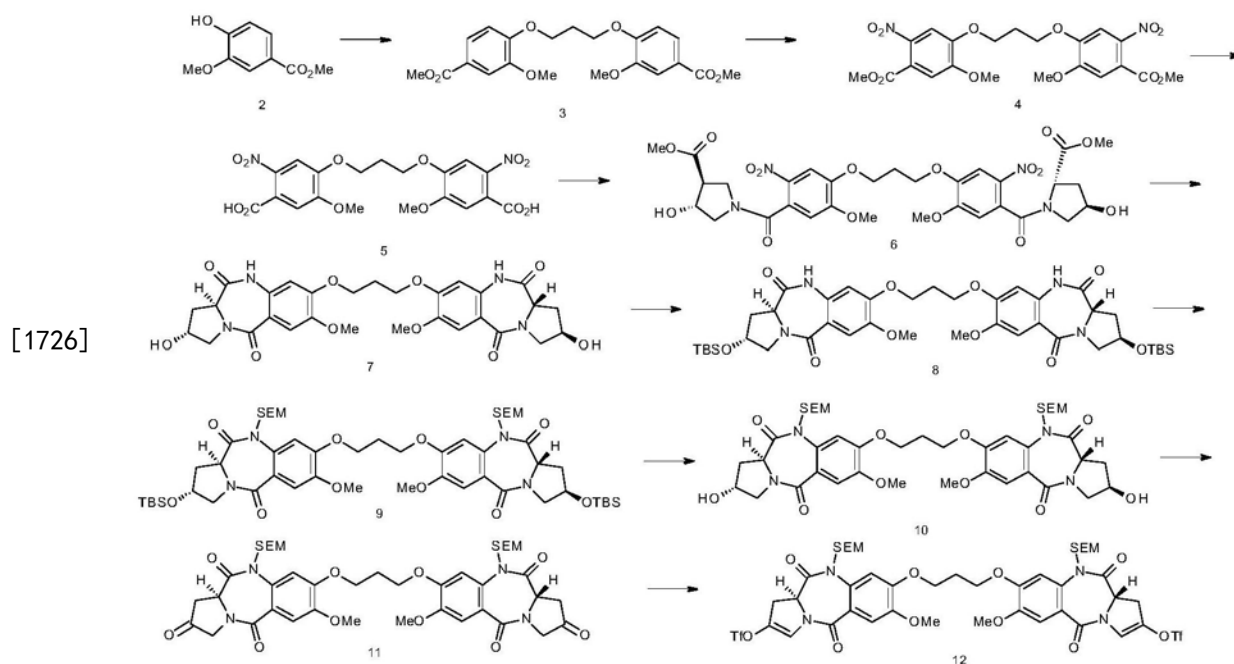
[1721] 对于两种方法

[1722] 流动速率3.0mL/分钟, 经由通入质谱仪的零死体积丁字管 (zero dead volume tee piece) 来分开400 μ L。波长检测范围: 220至400nm。功能类型: 二极管阵列 (535扫描)。柱: Phenomenex Onyx Monolithic C18 50 x 4.60mm。

[1723] 反相快速纯化条件如下: 利用水 (A) 和乙腈 (B) 的流动相运行快速纯化体系 (Varian 971-Fp)。梯度: 初始组成5%B, 经20C.V. (柱体积), 然后5%B至70%B, 在60C.V. 内。在95%B下保持组成15C.V., 然后在5C.V. 回到5%B并保持在5%B下10C.V.。总梯度运行时间等于120C.V.。流动速率6.0mL/分钟。波长检测范围: 254nm。柱: Agilent AX1372-1SF10-5.5gC8。

[1724] 制备型HPLC: 用具有以下尺寸的Phenomenex Gemini NX 5 μ C-18柱: 150 x 4.6mm, 用于分析, 以及150 x 21.20mm, 用于制备工作, 来进行反相超高效液相层析 (UPLC)。在梯度条件下进行所有UPLC实验。使用的洗脱液是溶剂A (H₂O, 包含0.1%甲酸) 和溶剂B (CH₃CN, 包含0.1%甲酸)。使用的流动速率是1.0ml/分钟 (用于分析型HPLC), 和20.0ml/分钟 (用于制备型HPLC)。在254和280nm处进行检测。

[1725] 中间体12的合成



[1727] (a) 1', 3'-二[2-甲氧基-4-(甲氧基羰基)苯氧基]丙烷(3)

[1728] 在0-5℃(冰/丙酮)和氮气氛下,经60分钟,将二异丙基偶氮二羧酸酯(71.3mL, 73.2g, 362mmol)逐滴加入香草酸甲酯(methyl vanillate)2(60.0g, 329mmol)和Ph₃P(129.4g, 494mmol)在无水THF(800mL)中的顶置(overhead)搅拌溶液。在0-5℃下允许搅拌反应混合物另外1小时,此后,经20分钟,逐滴添加1,3-丙二醇(11.4mL, 12.0g, 158mmol)在THF(12mL)中的溶液。允许反应混合物升温至室温并搅拌5天。通过真空过滤来收集得到的白色沉淀物3,用THF洗涤并在真空干燥器中干燥至恒重。产量=54.7g(84%,基于1,3-丙二醇)。LC/MS满意的纯度(3.20分钟(ES+) m/z(相对强度)427([M+Na]⁺, 10); ¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δ7.64(dd, 2H, J=1.8, 8.3Hz), 7.54(d, 2H, J=1.8Hz), 6.93(d, 2H, J=8.5Hz), 4.30(t, 4H, J=6.1Hz), 3.90(s, 6H), 3.89(s, 6H), 2.40(p, 2H, J=6.0Hz)。

[1729] (b) 1', 3'-二[2-甲氧基-4-(甲氧基羰基)-5-硝基苯氧基]丙烷(4)

[1730] 在0-5℃(冰/丙酮)下,将固体Cu(NO₃)₂·3H₂O(81.5g, 337.5mmol)缓慢加入双酯3(54.7g, 135mmol)在乙酸酐(650mL)中的顶置搅拌浆料。在0-5℃下允许搅拌反应混合物1小时,然后允许升温至室温。在此阶段,观测到温和放热(大约40-50℃),并伴随混合物的增稠和NO₂的发出。添加另外的乙酸酐(300mL),并在室温下允许搅拌反应混合物16小时。将反应混合物倒在冰(~1.5L)上,搅拌,并允许回到室温。通过真空过滤来收集产生的黄色沉淀物并在干燥器中干燥以提供所期望的二硝基化合物4,作为黄色固体。产量=66.7g(100%)。LC/MS满意的纯度(3.25分钟(ES+) m/z(相对强度)517([M+Na]⁺, 40); ¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δ7.49(s, 2H), 7.06(s, 2H), 4.32(t, 4H, J=6.0Hz), 3.95(s, 6H), 3.90(s, 6H), 2.45-2.40(m, 2H)。

[1731] (c) 1', 3'-二(4-羧基-2-甲氧基-5-硝基苯氧基)丙烷(5)

[1732] 用1N NaOH(700mL)处理甲酯4(66.7g, 135mmol)在THF(700mL)中的浆料并在室温下允许剧烈搅拌反应混合物。在搅拌4天以后,浆料变成暗色溶液,在减压下,对其进行旋转蒸发以除去THF。用浓HCl将得到的含水残留物酸化至pH1并收集无色沉淀物5然后在真空烘箱(50℃)中充分干燥。产量=54.5g(87%)。LC/MS满意的纯度(2.65分钟(ES+) m/z(相对强度)489([M+Na]⁺, 30); ¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ7.62(s, 2H), 7.30(s, 2H), 4.29(t, 4H, J=6.0Hz), 3.85(s, 6H), 2.30-2.26(m, 2H)。

[1733] (d) 1,1'-[[(丙烷-1,3-二基)二氧基]二[(5-甲氧基-2-硝基-1,4-亚苯基)羰基]]二[(2S,4R)-甲基-4-羟基吡咯烷-2-羧酸酯](6)

[1734] 将草酰氯(24.5mL, 35.6g, 281mmol)加入硝基苯甲酸5(43g, 92.3mmol)和DMF(6mL)在无水DCM(600mL)中的搅拌悬浮液。在初始起泡(泡腾)以后,反应悬浮液变成溶液,然后在室温下允许搅拌混合物16小时。通过用MeOH处理反应混合物的样品,证实了到酰基氯的转化并通过LC/MS观测到产生的二甲酯。通过在减压下的蒸发来除去大部分溶剂;将得到的浓缩溶液再溶解于最少量的无水DCM并乙醚(二乙醚, diethyl ether)研制。通过过滤来收集产生的黄色沉淀物,用冷乙醚洗涤并在真空烘箱(40℃)中干燥1小时。在-40℃(干冰/CH₃CN)下,经25分钟,将固体酰基氯分批加入(2S,4R)-甲基-4-羟基吡咯烷-2-羧酸盐(38.1g, 210mmol)和TEA(64.5mL, 463mmol)在DCM(400mL)中的搅拌悬浮液。紧接地,反应完成,如通过LC/MS(2.47分钟(ES+) m/z(相对强度)721([M+H]⁺, 100)判断的。用DCM(200mL)稀释混合物,并用1N HCl(300mL)、饱和NaHCO₃(300mL)、盐水(400mL)加以洗涤,干燥

(MgSO₄), 过滤并真空蒸发溶剂, 以产生纯产物6, 作为橙色固体 (66.7g, 100%)。[α]_D²² = -46.1° (c=0.47, CHCl₃); ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) (旋转异构体) δ7.63 (s, 2H), 6.82 (s, 2H), 4.79-4.72 (m, 2H), 4.49-4.28 (m, 6H), 3.96 (s, 6H), 3.79 (s, 6H), 3.46-3.38 (m, 2H), 3.02 (d, 2H, J=11.1Hz), 2.48-2.30 (m, 4H), 2.29-2.04 (m, 4H); ¹³C NMR (100MHz, CDCl₃) (旋转异构体) δ172.4, 166.7, 154.6, 148.4, 137.2, 127.0, 109.7, 108.2, 69.7, 65.1, 57.4, 57.0, 56.7, 52.4, 37.8, 29.0; IR (ATR, CHCl₃) 3410 (br), 3010, 2953, 1741, 1622, 1577, 1519, 1455, 1429, 1334, 1274, 1211, 1177, 1072, 1050, 1008, 871cm⁻¹; MS (ES⁺) m/z (相对强度) 721 ([M+H]⁺, 47), 388 (80); HRMS [M+H]⁺, 理论上为 C₃₁H₃₆N₄O₁₆ m/z 721.2199, 发现为 (ES⁺) m/z 721.2227。

[1735] (e) 1,1'-[[[(丙烷-1,3-二基)二氧基]二(11aS,2R)-2-(羟基)-7-甲氧基-1,2,3,10,11,11a-六氢-5H-吡咯并[2,1-c][1,4]-苯并二氮杂~~草~~5,11-二酮] (7)

[1736] 方法A: 在5L三颈圆底烧瓶中, 将硝基酯6 (44g, 61.1mmol) 在MeOH (2.8L) 中的溶液加入新鲜购买的Raney[®]镍 (~50g的在H₂O中的~50%浆料) 和防暴沸颗粒 (anti-bumping granules)。在回流下加热混合物, 然后用水合肼 (21.6mL, 22.2g, 693mmol) 在MeOH (200mL) 中的溶液逐滴处理, 此时观察到剧烈起泡。当添加完成时 (~45分钟), 小心添加另外的Raney[®]镍, 直到起泡停止并排出初始黄色的反应混合物。在回流下加热混合物另外5分钟, 此时, 通过TLC (90:10v/v CHCl₃/MeOH) 和LC/MS (2.12分钟 (ES⁺) m/z (相对强度) 597 ([M+H]⁺, 100)), 反应被认为完成。立即通过包含C盐 (celite) 的烧结漏斗并借助于真空抽吸, 热过滤反应混合物。通过真空蒸发来减少滤液体积, 此时, 形成无色沉淀物, 其通过过滤加以收集并在真空干燥器中干燥, 以提供7 (31g, 85%)。[α]_D²⁷ = +404 (c=0.10, DMF); ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ10.2 (s, 2H, NH), 7.26 (s, 2H), 6.73 (s, 2H), 5.11 (d, 2H, J=3.98Hz, OH), 4.32-4.27 (m, 2H), 4.19-4.07 (m, 6H), 3.78 (s, 6H), 3.62 (dd, 2H, J=12.1, 3.60Hz), 3.43 (dd, 2H, J=12.0, 4.72Hz), 2.67-2.57 (m, 2H), 2.26 (p, 2H, J=5.90Hz), 1.99-1.89 (m, 2H); ¹³C NMR (100MHz, DMSO-d₆) δ169.1, 164.0, 149.9, 144.5, 129.8, 117.1, 111.3, 104.5, 54.8, 54.4, 53.1, 33.5, 27.5; IR (ATR, neat) 3438, 1680, 1654, 1610, 1605, 1516, 1490, 1434, 1379, 1263, 1234, 1216, 1177, 1156, 1115, 1089, 1038, 1018, 952, 870cm⁻¹; MS (ES⁺) m/z (相对强度) 619 ([M+Na]⁺, 10), 597 ([M+H]⁺, 52), 445 (12), 326 (11); HRMS [M+H]⁺ 理论上为 C₂₉H₃₂N₄O₁₀ m/z 597.2191, 发现为 (ES⁺) m/z 597.2205。

[1737] 方法B: 将10%Pd/C (7.5g, 10%w/w) 在DMF (40mL) 中的悬浮液加入硝基酯6 (75g, 104mmol) 在DMF (360mL) 中的溶液。在帕尔氢化仪器 (Parr hydrogenation apparatus) 中氢化悬浮液8小时以上。在氢吸收已停止以后, 通过LC/MS来监测反应的进展。通过过滤来除去固体Pd/C并在真空 (低于10毫巴) 和40℃下通过旋转蒸发来浓缩滤液, 以提供包含微量DMF和残余炭 (charcoal) 的深色油。在40℃下在水浴 (旋转蒸发浴) 上, 将残留物溶解 (消化) 于EtOH (500mL) 并通过C盐来过滤产生的悬浮液, 然后用乙醇 (500mL) 加以洗涤, 以产生清晰滤液。将水合肼 (10mL, 321mmol) 加入溶液并在回流下加热反应混合物。在20分钟以后, 观察到白色沉淀物的形成并允许继续回流另外30分钟。允许混合物冷却至室温并通过过滤来回收沉淀物, 用乙醚 (沉淀物的2:1体积) 洗涤并在真空干燥器中干燥, 以提供7 (50g, 81%)。方法B的分析数据: 相同于方法A获得的那些分析数据 (旋光性, ¹H NMR, LC/MS和TLC)。

[1738] (f) 1,1'-[[[(丙烷-1,3-二基)二氧基]二(11aS,2R)-2-(叔丁基二甲基甲硅氧基)-

7-甲氧基-1,2,3,10,11,11a-六氢-5H-吡咯并[2,1-c][1,4]-苯并二氮杂~~草~~5,11-二酮]
(8)

[1739] 在0℃(冰/丙酮)下,将TBSCl(27.6g,182.9mmol)和咪唑(29.9g,438.8mmol)加入四内酰胺(tetralactam)7(21.8g,36.6mmol)在无水DMF(400mL)中的混浊溶液。在氮气氛下允许搅拌混合物3小时,此后,反应被认为完成,如通过LC/MS(3.90分钟(ES⁺)m/z(相对强度)825([M+H]⁺,100)判断的。将反应混合物倒在冰(~1.75L)上并允许升温至室温,同时搅拌。通过真空过滤来收集得到的白色沉淀,用H₂O、乙醚洗涤,并在真空干燥器中干燥,以提供纯8(30.1g,99%)、 $[\alpha]_D^{23}=+234^\circ$ (c=0.41,CHCl₃);¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ 8.65(s,2H,NH),7.44(s,2H),6.54(s,2H),4.50(p,2H,J=5.38Hz),4.21-4.10(m,6H),3.87(s,6H),3.73-3.63(m,4H),2.85-2.79(m,2H),2.36-2.29(m,2H),2.07-1.99(m,2H),0.86(s,18H),0.08(s,12H);¹³C NMR(100MHz,CDCl₃) δ 170.4,165.7,151.4,146.6,129.7,118.9,112.8,105.3,69.2,65.4,56.3,55.7,54.2,35.2,28.7,25.7,18.0,-4.82and-4.86;IR(ATR,CHCl₃)3235,2955,2926,2855,1698,1695,1603,1518,1491,1446,1380,1356,1251,1220,1120,1099,1033cm⁻¹;MS(ES⁺)m/z(相对强度)825([M+H]⁺,62),721(14),440(38);HRMS[M+H]⁺理论上为C₄₁H₆₀N₄O₁₀Si₂ m/z 825.3921,发现为(ES⁺)m/z 825.3948。

[1740] (g) 1,1'-[[(丙烷-1,3-二基) 二氧基] 二(11aS,2R)-2-(叔丁基二甲基甲硅氧基)-7-甲氧基-10-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1,2,3,10,11,11a-六氢-5H-吡咯并[2,1-c][1,4]-苯并二氮杂~~草~~5,11-二酮] (9)

[1741] 在-30℃(干冰/乙二醇)和氮气氛下,将n-BuLi(68.3mL的1.6M溶液,在己烷中,109mmol)的溶液逐滴加入四内酰胺8(30.08g,36.4mmol)在无水THF(600mL)中的搅拌悬浮液。在此温度下允许搅拌反应混合物1小时(现在为橘红色),此时滴加SEMC1(19.3mL,18.2g,109mmol)在无水THF(120mL)中的溶液。允许反应混合物缓慢升温至室温并在氮气氛下搅拌16小时。反应被认为完成,如通过TLC(EtOAc)和LC/MS(4.77分钟(ES⁺)m/z(相对强度)1085([M+H]⁺,100)判断的。通过真空蒸发来除去THF并将产生的残留物溶解于EtOAc(750mL),用H₂O(250mL)、盐水(250mL)洗涤,干燥(MgSO₄),过滤并真空蒸发,以提供粗制N10-SEM受保护的4内酰胺9,作为油(max^m 39.5g,100%)。产物用于下一步骤而没有纯化。 $[\alpha]_D^{23}=+163$ (c=0.41,CHCl₃);¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ 7.33(s,2H),7.22(s,2H),5.47(d,2H,J=9.98Hz),4.68(d,2H,J=9.99Hz),4.57(p,2H,J=5.77Hz),4.29-4.19(m,6H),3.89(s,6H),3.79-3.51(m,8H),2.87-2.81(m,2H),2.41(p,2H,J=5.81Hz),2.03-1.90(m,2H),1.02-0.81(m,22H),0.09(s,12H),0.01(s,18H);¹³C NMR(100MHz,CDCl₃) δ 170.0,165.7,151.2,147.5,133.8,121.8,111.6,106.9,78.1,69.6,67.1,65.5,56.6,56.3,53.7,35.6,30.0,25.8,18.4,18.1,-1.24,-4.73;IR(ATR,CHCl₃)2951,1685,1640,1606,1517,1462,1433,1360,1247,1127,1065cm⁻¹;MS(ES⁺)m/z(相对强度)1113([M+Na]⁺,48),1085([M+H]⁺,100),1009(5),813(6);HRMS[M+H]⁺理论上为C₅₃H₈₈N₄O₁₂Si₄ m/z 1085.5548,发现为(ES⁺)m/z 1085.5542。

[1742] (h) 1,1'-[[(丙烷-1,3-二基) 二氧基] 二(11aS,2R)-2-羟基-7-甲氧基-10-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1,2,3,10,11,11a-六氢-5H-吡咯并[2,1-c][1,4]-苯并二氮杂~~草~~5,11-二酮] (10)

[1743] 在室温下,将TBAF的溶液(150mL的在THF中的1.0M溶液,150mmol)加入粗制二甲硅烷基醚9[84.0g (max^m 56.8g), 52.4mmol]在THF(800mL)中的搅拌溶液。在搅拌1小时以后,通过TLC(95:5v/v CHCl₃/MeOH)对反应混合物的分析揭示了反应完成。在减压下并在室温下,通过蒸发来除去THF并将产生的残留物溶解于EtOAc(500mL),然后用NH₄Cl(300mL)洗涤。用盐水(60mL)洗涤合并的有机层,干燥(MgSO₄),过滤并蒸发(在减压下),以提供粗制产物。通过快速层析(梯度洗脱:100%CHCl₃至96:4v/v CHCl₃/MeOH)的纯化给出纯四内酰胺10,作为白色泡沫(36.0g,79%)。LC/MS 3.33分钟(ES⁺)m/z(相对强度)879([M+Na]⁺,100), 857([M+H]⁺,40);[α]_D²³=+202(c=0.34,CHCl₃);¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ7.28(s,2H),7.20(s,2H),5.44(d,2H,J=10.0Hz),4.72(d,2H,J=10.0Hz),4.61-4.58(m,2H),4.25(t,4H,J=5.83Hz),4.20-4.16(m,2H),3.91-3.85(m,8H),3.77-3.54(m,6H),3.01(br s,2H,OH),2.96-2.90(m,2H),2.38(p,2H,J=5.77Hz),2.11-2.05(m,2H),1.00-0.91(m,4H),0.00(s,18H);¹³C NMR(100MHz,CDCl₃) δ169.5,165.9,151.3,147.4,133.7,121.5,111.6,106.9,79.4,69.3,67.2,65.2,56.5,56.2,54.1,35.2,29.1,18.4,-1.23;IR(ATR,CHCl₃) 2956,1684,1625,1604,1518,1464,1434,1361,1238,1058,1021cm⁻¹;MS(ES⁺)m/z(相对强度)885([M+29]⁺,70),857([M+H]⁺,100),711(8),448(17);HRMS[M+H]⁺理论上为C₄₁H₆₀N₄O₁₂Si₂ m/z 857.3819,发现为(ES⁺)m/z 857.3826。

[1744] (i) 1,1'-[[(丙烷-1,3-二基) 二氧基] 二(11aS)-7-甲氧基-2-氧代-10-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1,2,3,10,11,11a-六氢-5H-吡咯并[2,1-c][1,4]-苯并二氮杂~~草~~5,11-二酮](11)

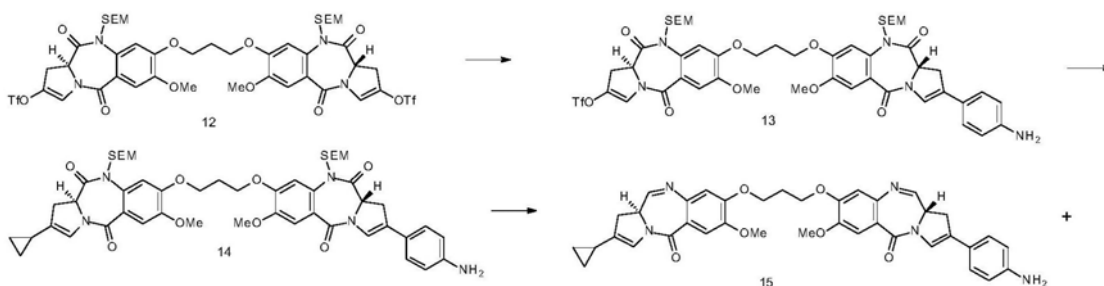
[1745] 在氩气下将二醇10(25.6g,30mmol,1当量)、NaOAc(6.9g,84mmol,2.8当量)和TEMPO(188mg,1.2mmol,0.04当量)溶解于DCM(326mL)。将它冷却至-8℃(内部温度),然后经15分钟,分批添加TCCA(9.7g,42mmol,1.4当量)。在30分钟以后,TLC(EtOAc)和LC/MS[3.60min.(ES⁺)m/z(相对强度)854.21([M+H]⁺,40),(ES⁻)m/z(相对强度)887.07([M-H+C1]⁻,10)]表明反应完成。添加冷DCM(200mL)并在用饱和碳酸氢钠/硫代硫酸钠(1:1v/v;200mL x 2)的溶液洗涤以前通过C盐垫来过滤混合物。用MgSO₄干燥有机层,过滤并真空除去溶剂,以产生黄色/橙色海绵(sponge)(25.4g,99%)。LC/MS[3.60min.(ES⁺)m/z(相对强度)854.21([M+H]⁺,40);[α]_D²⁰=+291°(c=0.26,CHCl₃);¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ7.32(s,2H),7.25(s,2H),5.50(d,2H,J=10.1Hz),4.75(d,2H,J=10.1Hz),4.60(dd,2H,J=9.85,3.07Hz),4.31-4.18(m,6H),3.89-3.84(m,8H),3.78-3.62(m,4H),3.55(dd,2H,J=19.2,2.85Hz),2.76(dd,2H,J=19.2,9.90Hz),2.42(p,2H,J=5.77Hz),0.98-0.91(m,4H),0.00(s,18H);¹³C NMR(100MHz,CDCl₃) δ206.8,168.8,165.9,151.8,148.0,133.9,120.9,111.6,107.2,78.2,67.3,65.6,56.3,54.9,52.4,37.4,29.0,18.4,-1.24;IR(ATR,CHCl₃) 2957,1763,1685,1644,1606,1516,1457,1434,1360,1247,1209,1098,1066,1023cm⁻¹;MS(ES⁺)m/z(相对强度)881([M+29]⁺,38),853([M+H]⁺,100),707(8),542(12);HRMS[M+H]⁺理论上为C₄₁H₅₆N₄O₁₂Si₂ m/z 853.3506,发现为(ES⁺)m/z 853.3502。

[1746] (j) 1,1'-[[(丙烷-1,3-二基) 二氧基] 二(11aS)-7-甲氧基-2-[[(三氟甲基) 磺酰基] 氧基]-10-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1,10,11,11a-四氢-5H-吡咯并[2,1-c][1,4]-苯并二氮杂~~草~~5,11-二酮](12)

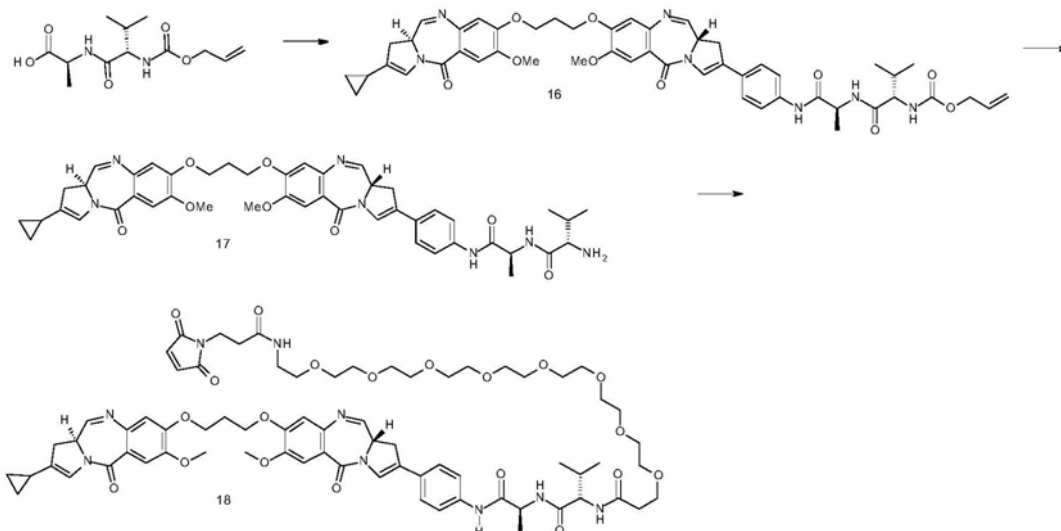
[1747] 在-45℃(干冰/乙腈)和氮气氛下,以1份,将无水2,6-二甲基吡啶(2,6-lutidine)

(5.15mL, 4.74g, 44.2mmol) 注入双酮11 (6.08g, 7.1mmol) 在无水DCM (180mL) 中的剧烈搅拌溶液。快速逐滴注射取自刚刚打开的安瓿 (7.2mL, 12.08g, 42.8mmol) 的无水三氟甲磺酸酐, 同时保持温度在-40℃或更低。在-45℃下允许搅拌反应混合物1小时, 此时, TLC (50/50v/v 正己烷/EtOAc) 揭示了起始材料的完全消耗。用DCM (200mL) 立即稀释冷反应混合物, 然后, 在剧烈摇动下, 用水 (1x 100mL)、5% 柠檬酸溶液 (1x 200mL)、饱和NaHCO₃ (200mL)、盐水 (100mL) 加以洗涤并干燥 (MgSO₄)。在减压下, 溶剂的过滤和蒸发得到粗制产物, 通过快速柱层析 (梯度洗脱: 90:10v/v 正己烷/EtOAc 至 70:30v/v 正己烷/EtOAc) 加以纯化, 以提供二烯醇三氟甲磺酸酯12, 作为黄色泡沫 (5.5g, 70%)。LC/MS 4.32分钟 (ES⁺) m/z (相对强度) 1139 ([M+Na]⁺, 20); [α]_D²⁴ = +271° (c=0.18, CHCl₃); ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 7.33 (s, 2H), 7.26 (s, 2H), 7.14 (t, 2H, J=1.97Hz), 5.51 (d, 2H, J=10.1Hz), 4.76 (d, 2H, J=10.1Hz), 4.62 (dd, 2H, J=11.0, 3.69Hz), 4.32-4.23 (m, 4H), 3.94-3.90 (m, 8H), 3.81-3.64 (m, 4H), 3.16 (ddd, 2H, J=16.3, 11.0, 2.36Hz), 2.43 (p, 2H, J=5.85Hz), 1.23-0.92 (m, 4H), 0.02 (s, 18H); ¹³C NMR (100MHz, CDCl₃) δ 167.1, 162.7, 151.9, 148.0, 138.4, 133.6, 120.2, 118.8, 111.9, 107.4, 78.6, 67.5, 65.6, 56.7, 56.3, 30.8, 29.0, 18.4, -1.25; IR (ATR, CHCl₃) 2958, 1690, 1646, 1605, 1517, 1456, 1428, 1360, 1327, 1207, 1136, 1096, 1060, 1022, 938, 913cm⁻¹; MS (ES⁺) m/z (相对强度) 1144 ([M+28]⁺, 100), 1117 ([M+H]⁺, 48), 1041 (40), 578 (8); HRMS [M+H]⁺。理论上为C₄₃H₅₄N₄O₁₆Si₂S₂F₆ m/z 1117.2491, 发现为 (ES⁺) m/z 1117.2465。

[1748] 实施例1



[1749]



[1750] (a) (S)-8-(3-(((S)-2-(4-氨基苯基)-7-甲氧基-5,11-二氧-10-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-5,10,11,11a-四氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂^草8-基)氧基)丙氧基)-7-甲氧基-5,11-二氧-10-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-5,10,

11,11a-四氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂~~草~~2-基三氟甲磺酸酯(13)

[1751] 将Pd(PPh₃)₄ (116.9mg, 0.101mmol) 加入二烯醇三氟甲磺酸酯12 (5.65g, 5.06mmol)、4-氨基苯基硼酸频哪醇酯(1g, 4.56mmol)、Na₂CO₃ (2.46g, 23.2mmol)、MeOH (37mL)、甲苯(74mL)和水(37mL)的搅拌混合物。在30℃和氮气氛围下,允许搅拌反应混合物24小时,此后,已消耗所有硼酸酯。然后在EtOAc(150mL)中吸收残留物以前,蒸发反应混合物至干燥,并用H₂O(2 x 100mL)、盐水(150mL)加以洗涤,干燥(MgSO₄),过滤并蒸发(在减压下),以提供粗制产物。通过快速层析(梯度洗脱:80:20v/v己烷/EtOAc至60:40v/v己烷/EtOAc)的纯化得到产物13,作为淡黄色泡沫(2.4g, 45%)。LC/MS 4.02分钟(ES⁺) m/z (相对强度) 1060.21 ([M+H]⁺, 100); ¹H-NMR: (CDCl₃, 400MHz) δ7.40 (s, 1H), 7.33 (s, 1H), 7.27 (bs, 3H), 7.24 (d, 2H, J=8.5Hz), 7.15 (t, 1H, J=2.0Hz), 6.66 (d, 2H, J=8.5Hz), 5.52 (d, 2H, J=10.0Hz), 4.77 (d, 1H, J=10.0Hz), 4.76 (d, 1H, J=10.0Hz), 4.62 (dd, 1H, J=3.7, 11.0Hz), 4.58 (dd, 1H, J=3.4, 10.6Hz), 4.29 (t, 4H, J=5.6Hz), 4.00-3.85 (m, 8H), 3.80-3.60 (m, 4H), 3.16 (ddd, 1H, J=2.4, 11.0, 16.3Hz), 3.11 (ddd, 1H, J=2.2, 10.5, 16.1Hz), 2.43 (p, 2H, J=5.9Hz), 1.1-0.9 (m, 4H), 0.2 (s, 18H)。¹³C-NMR: (CDCl₃, 100MHz) δ169.8, 168.3, 164.0, 162.7, 153.3, 152.6, 149.28, 149.0, 147.6, 139.6, 134.8, 134.5, 127.9, 127.5, 125.1, 123.21, 121.5, 120.5, 120.1, 116.4, 113.2, 108.7, 79.8, 79.6, 68.7, 68.5, 67.0, 66.8, 58.8, 58.0, 57.6, 32.8, 32.0, 30.3, 19.7, 0.25。

[1752] (b) (S)-2-(4-氨基苯基)-8-(3-(((S)-2-环丙基-7-甲氧基-5,11-二氧-10-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-5,10,11,11a-四氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂~~草~~8-基)氧基)丙氧基)-7-甲氧基-10-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂~~草~~5,11 (10H, 11aH)-二酮(14)

[1753] 在氩气氛围下,将三苯肿(0.24g, 0.8mmol)、氧化银(I) (1.02g, 4.4mmol)、环丙基硼酸(0.47g, 5.5mmol)和起始材料13 (1.15g, 1.1mmol)溶解于二氧杂环己烷(二噁烷)(30mL)。借助于研钵来碾碎磷酸钾(potassium phosphate tribasic) (2.8g, 13.2mmol)并快速加入反应混合物。抽空反应混合物并用氩气冲洗3次,然后加热至71℃。添加钯(II)二(苄腈氯化物) (84mg, 0.22mmol),然后抽空反应容器并用氩气冲洗3次。在10分钟以后,取少量样品,用于通过TLC(80:20v/v乙酸乙酯/己烷)和LC/MS的分析。在30分钟以后,反应已完成(LC/MS分析表明起始材料的完全消耗),然后通过C盐来过滤反应并用乙酸乙酯(400mL)来洗涤过滤垫。用水(2x 200mL)和盐水(2x 200mL)来洗涤滤液。用MgSO₄来干燥有机层,过滤并真空除去溶剂。通过硅胶柱层析(30:70v/v己烷/乙酸乙酯)的纯化得到产物14,作为橙色/黄色固体(0.66g, 63%)。方法1, LC/MS (3.85分钟(ES⁺) m/z (相对强度) 952.17 ([M+H]⁺, 100)。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ7.36 (d, 2H, J=8.4Hz), 7.30 (s, 1H), 7.25-7.19 (m, 4H), 6.68 (s, 1H), 6.62 (d, 2H, J=8.4Hz), 5.49 (dd, 2H, J=5.6, 10.0Hz), 4.73 (app. t, 2H, J=10.8Hz), 4.54 (dd, 1H, J=3.2, 10.4Hz), 4.40 (dd, 1H, J=3.2, 10.4Hz), 4.29-4.23 (m, 4H), 3.91-3.85 (m, 7H), 3.80-3.71 (m, 2H), 3.70-3.61 (m, 2H), 3.38-3.32 (m, 1H), 3.12-3.01 (m, 1H), 2.50-2.69 (m, 1H), 2.40 (q, 2H, J=5.6Hz), 1.50-1.43 (m, 1H), 0.99-0.71 (m, 6H), 0.54-0.59 (m, 2H), 0.00 (s, 18H) ppm。

[1754] (c) (S)-2-(4-氨基苯基)-8-(3-(((S)-2-环丙基-7-甲氧基-5-氧代-5,11a-二氢-

1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂~~草~~8-基)氧基)丙氧基)-7-甲氧基-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂~~草~~5(11aH)-酮(15)

[1755] 在氩气氛下,将SEM双内酰胺14(0.66g,0.69mmol)溶解于THF(23mL)并冷却至-78℃。经5分钟,逐滴添加Super-Hydride®溶液(1.7mL,1M,在THF中),同时监测温度。在20分钟以后,取少量样品并用水洗涤,用于LC/MS分析。添加水(50mL)并除去冷浴。提取有机层并用盐水(60mL)洗涤。用CH₂Cl₂/MeOH(90/10v/v)(2 x 50mL)来洗涤合并的水层。用MgSO₄干燥合并的有机层,过滤,然后真空除去溶剂。将粗制产物溶解于MeOH(48mL)、CH₂Cl₂(18mL)和水(6mL),然后添加足够的硅胶,以提供稠密的悬浮液。在搅拌5天以后,通过烧结漏斗来过滤悬浮液并用CH₂Cl₂/MeOH(9:1)(~200mL)洗涤,直到产物停止被洗脱。用盐水(2 x 70mL)洗涤有机层,用MgSO₄干燥,过滤并真空除去溶剂。通过硅胶柱层析(100%CHCl₃至96/4v/v CHCl₃/MeOH)的纯化得到产物15,作为黄色固体(302mg,66%)。方法1,LC/MS(2.42分钟(ES⁺) m/z(相对强度)660.74([M+H]⁺,30)。¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ7.86(d,1H,J=3.6Hz),7.78(d,1H,J=3.6Hz),7.58-7.44(m,3H),7.34-7.20(m,3H),6.88-6.66(m,4H),4.35-4.15(m,6H),3.95-3.75(m,7H),3.39-3.22(m,1H),3.14-3.04(m,1H),2.93-2.85(m,1H),2.46-2.36(m,2H),1.49-1.41(m,1H),0.80-0.72(m,2H),0.58-0.51(app.s,2H)ppm。

[1756] (d)((2S)-1-(((2S)-1-((4-(8-(3-((2-环丙基-7-甲氧基-5-氧代-5,11a-二氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂~~草~~8-基)氧基)丙氧基)-7-甲氧基-5-氧代-5,11a-二氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂~~草~~2-基)苯基)氨基)-1-氧基丙-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸烯丙酯(16)

[1757] 在充满有氩气的脱气圆底烧瓶中,将HO-Ala-Val-alloc(149.6mg,0.549mmol)和EEDQ(135.8mg,0.549mmol)溶解于无水CH₂Cl₂/MeOH(5mL)的9:1混合物。用铝箔包裹烧瓶,然后在添加起始材料15(302mg,0.457mmol)以前,在室温下允许搅拌反应混合物1小时。在减压下通过旋转蒸发来除去挥发物以前,在室温下,保持搅拌反应混合物另外40小时(通过LC/MS来监测反应,RT,起始材料,2.32分钟,(ES⁺660.29([M+H]⁺,100))。通过硅胶层析柱(100%CHCl₃至90/10v/v CHCl₃/MeOH)来直接纯化粗制产物以提供纯产物(16),产率为42%(174mg)。方法2,LC/MS(2.70分钟(ES⁺) m/z(相对强度)914.73([M+H]⁺,60),660.43(60),184.31(100))。

[1758] (e)(2S)-2-氨基-N-((2S)-1-((4-(8-(3-((2-环丙基-7-甲氧基-5-氧代-5,11a-二氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂~~草~~8-基)氧基)丙氧基)-7-甲氧基-5-氧代-5,11a-二氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂~~草~~2-基)苯基)氨基)-1-氧基丙-2-基)-3-甲基丁酰胺(17)

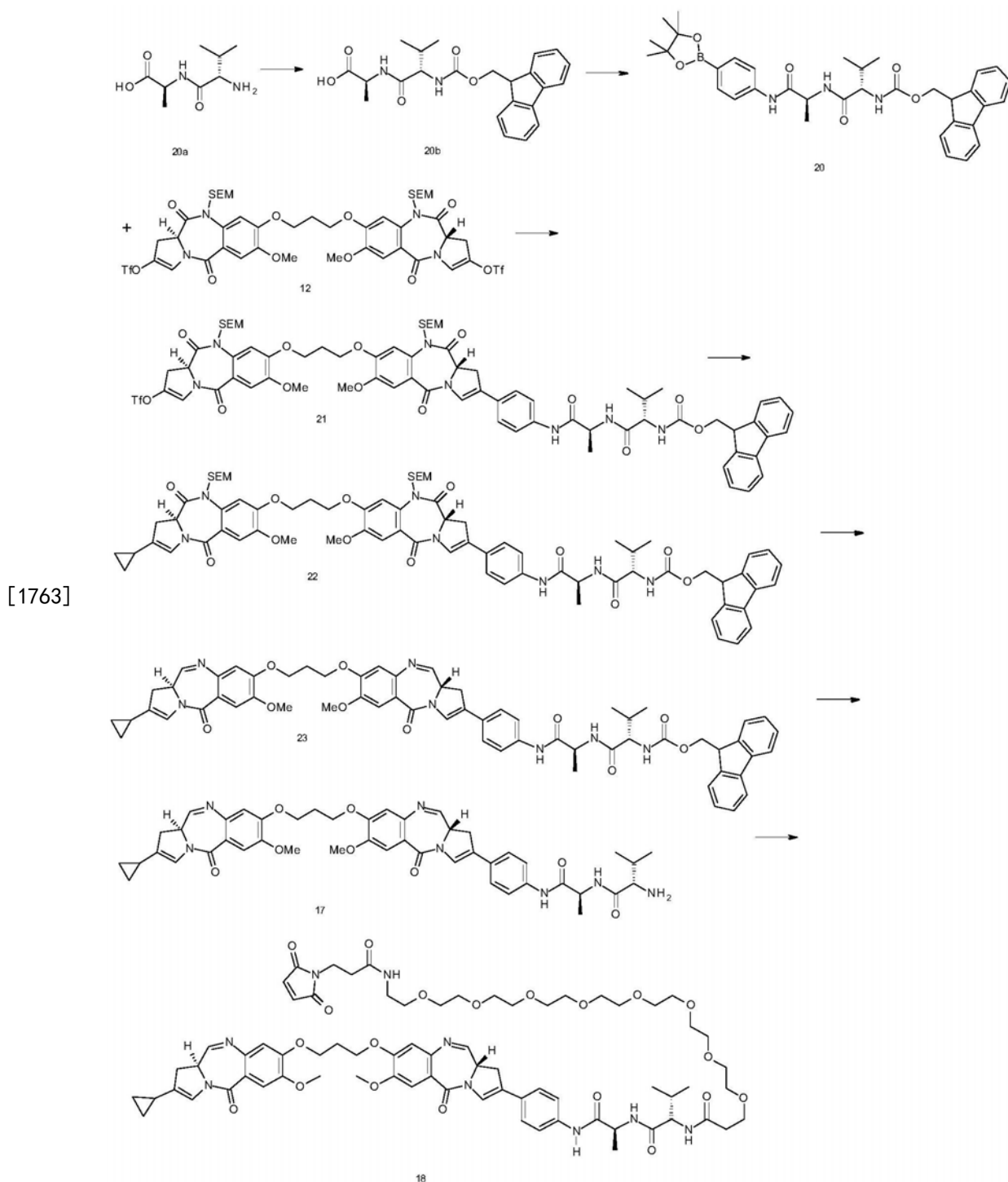
[1759] 在添加吡咯烷(41μL,0.21mmol)以前,在充满有氩气的圆底烧瓶中,将起始材料16(170mg,0.185mmol)溶解于无水CH₂Cl₂(5mL)。在添加Pd(PPh₃)₄(14mg,0.084mmol)以前用氩气清洗/再填充烧瓶三次,然后重复冲洗操作。在1小时以后,观测到起始材料的完全消耗(通过LC/MS来监测反应)并将Et₂O(50mL)加入反应混合物,允许对其进行搅拌直到所有产物析出(crash out)溶液。通过烧结漏斗来过滤固体并用Et₂O(2 x 25mL)洗涤两次。更换收集烧瓶并将分离出的固体溶解于CHCl₃(100mL或直到所有产物已通过烧结漏斗)。然后在减压下通过旋转蒸发来除去挥发物以提供粗制产物17,其直接用于下一步骤(168mg)。LC/MS

方法2 (2.70分钟 (ES+) m/z (相对强度) 830.27 ($[M+H]^+$, 50), 660.13 (80), 171.15 (100))。

[1760] (f) N-((R)-1-((S)-1-(4-(S)-8-(3-((S)-2-环丙基-7-甲氧基-5-氧代-5,11a-二氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂~~草~~8-基)氧基)丙氧基)-7-甲氧基-5-氧代-5,11a-二氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂~~草~~2-基)苯基)氨基)-1-氧基丙-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)-1-(3-(2,5-二氧-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酰氨基)-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂二十七烷-27-酰胺 (18)

[1761] 在用氩气清洗和充满的圆底烧瓶中,将起始材料17 (154mg, 0.185mmol) 和 EDCI.HCl (110mg, 0.185mmol) 溶解于无水CH₂Cl₂ (5mL)。在添加PEG₈-马来酰亚胺 (35.6mg, 0.185mmol) 以前,在室温下保持搅拌混合物1小时,然后搅拌反应混合物另外16小时(或直到反应完成,通过LC/MS加以监测)。用CH₂Cl₂ (50mL) 稀释反应溶液并在用MgSO₄干燥,过滤和在减压下通过旋转蒸发来除去溶剂以前,用H₂O (50mL) 和盐水 (50mL) 来洗涤有机物,以提供粗制产物。用硅胶柱层析(100%CHCl₃至85/15v/v CHCl₃/MeOH) 进行的纯化给出所期望的产物 (135mg),然而观测到剩下的微量未反应的PEG₈-马来酰亚胺(通过LC/MS, 2.21分钟,方法2)。自动反相硅胶层析(H₂O/CH₃CN) (参见关于条件的一般信息) 成功除去杂质,从而得到纯的最终产物 (18, 37mg的纯产物,出于110mg, 33%)。总产率=17%。方法2 LC/MS (2.58分钟 (ES+) m/z (相对强度) 1404.03 ($[M+H]^+$, 20), 702.63 (100))。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 7.91 (t, J=3.5Hz, 1H), 7.80 (d, J=4.0Hz, 1H), 7.75 (d, J=8.8Hz, 1H), 7.69 (d, J=8.7Hz, 1H), 7.54-7.50 (m, 2H), 7.45 (s, 1H), 7.39-7.31 (m, 2H), 6.87 (d, J=10.5Hz, 2H), 6.76 (s, 1H), 6.72-6.68 (m, 2H), 4.74-4.62 (m, 1H), 4.45-4.17 (m, 7H), 3.95 (s, 3H), 3.94 (s, 3H), 3.67-3.58 (m, 34H), 3.54 (m, 2H), 3.42 (dd, J=10.2, 5.2Hz, 2H), 3.16-3.07 (m, 1H), 2.92 (dd, J=16.1, 4.1Hz, 1H), 2.62-2.49 (m, 4H), 2.48-2.39 (m, 2H), 2.37-2.25 (m, 1H), 1.92 (s, 1H), 1.52-1.44 (m, 3H), 1.10-0.93 (m, 6H), 0.79 (dd, J=9.2, 5.3Hz, 2H), 0.57 (dd, J=9.2, 5.3Hz, 2H), 未观测到NH。

[1762] 实施例2



[1764] (a) (R) -2- ((R) -2- (((9H-芴-9-基) 甲氧基) 羰基) 氨基) -3-甲基丁酰氨基) 丙酸 (20b)

[1765] 将HO-Ala-Val-H 20a (350mg, 1.86mmol) 和 Na_2CO_3 (493mg, 4.65mmol) 溶解于蒸馏 H_2O (15mL), 并在添加二氧杂环己烷 (15mL) 以前将混合物冷却至 0°C (发生氨基酸盐的部分沉淀)。经10分钟, 滴加Fmoc-Cl (504mg, 1.95mmol) 在二氧杂环己烷 (15mL) 中的溶液, 同时剧烈搅拌。在除去冰浴以前, 在 0°C 下搅拌产生的混合物2小时, 然后维持搅拌16小时。在减压下通过旋转蒸发来除去溶剂并将残留物溶解于水 (150mL)。借助于1N HCl, 将pH从9调节至2, 然后用EtOAc (3x100mL) 随后提取水层。用盐水 (100mL) 洗涤合并的有机物, 用 MgSO_4 干燥,

过滤,然后在减压下通过旋转蒸发来除去挥发物,以提供纯HO-Ala-Val-Fmoc 20b (746mg, 97%产率)。LC/MS 2.85分钟(ES+) m/z (相对强度) 410.60; ^1H -NMR (400MHz, CDCl_3) δ 7.79 (d, J = 7.77Hz, 2H), 7.60 (d, J = 7.77Hz, 2H), 7.43 (d, J = 7.5Hz, 2H), 7.34 (d, J = 7.5Hz, 2H), 6.30 (bs, 1H), 5.30 (bs, 1H), 4.71-7.56 (m, 1H), 4.54-4.36 (m, 2H), 4.08-3.91 (m, 1H), 2.21-2.07 (m, 1H), 1.50 (d, J = 7.1Hz, 3H), 1.06-0.90 (m, 6H)。

[1766] (b) (9H-芴-9-基) 甲基 ((S)-3-甲基-1-氧代-1-(((S)-1-氧代-1-((4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂环戊硼-2-基) 苯基) 氨基) 丙-2-基) 氨基) 丁-2-基) 氨基甲酸酯 (20)

[1767] 在用氩气冲洗的烧瓶中,将4-氨基苯基硼酸频哪醇酯 (146.9mg, 0.67mmol) 加入 HO-Ala-Val-Fmoc 20b (330mg, 0.8mmol)、DCC (166mg, 0.8mmol) 和DMAP (5mg, cat.) 在无水 DCM (8mL) 中的溶液,其在室温下预先搅拌30分钟。然后在室温下允许搅拌反应混合物过夜。通过LCMS和TLC来监测反应。用 CH_2Cl_2 稀释反应混合物并在用 MgSO_4 干燥以前用 H_2O 和盐水来洗涤有机物,过滤并在减压下通过旋转蒸发来除去溶剂。将粗制产物干加载在硅胶层析柱 (己烷/EtOAc, 6:4) 上并分离纯产物20,作为白色固体,88%产率 (360mg)。

[1768] (c) 8-(3-((2-(4-((S)-2-((S)-2-(((9H-芴-9-基) 甲氧基) 羰基) 氨基)-3-甲基丁酰氨基) 丙酰氨基) 苯基)-7-甲氧基-5,11-二氧-10-((2-(三甲基甲硅烷基) 乙氧基) 甲基)-5,10,11,11a-四氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂~~草~~8-基) 氧基) 丙氧基)-7-甲氧基-5,11-二氧-10-((2-(三甲基甲硅烷基) 乙氧基) 甲基)-5,10,11,11a-四氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂~~草~~2-基三氟甲磺酸酯 (21)

[1769] 将双三氟甲磺酸酯12 (2.03g, 1.81mmol)、硼酸频哪醇酯 (1g, 1.63mmol) 和 Na_2CO_3 (881mg, 8.31mmol) 溶解于甲苯/MeOH/ H_2O , 2:1:1 (40mL) 的混合物。在添加四(三苯膦) 钯 (0) (41mg, 0.035mmol) 以前,用氩气清洗和充满反应烧瓶三次,并加热反应混合物至30℃过夜。在减压下除去溶剂,然后将残留物吸收于 H_2O (100mL) 并用EtOAc (3 x 100mL) 提取。用盐水 (100mL) 洗涤合并的有机物,用 MgSO_4 干燥,过滤,然后在减压下通过旋转蒸发来除去挥发物。通过硅胶层析柱 (己烷/EtOAc, 8:2至25:75) 来纯化粗制产物,以提供纯21, 33%产率 (885mg)。LC/MS 3.85分钟(ES+) m/z (相对强度) 1452.90; ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 7.78-7.16 (m, 17H), 7.13 (s, 1H), 6.51-6.24 (m, 1H), 5.51 (dd, J = 10.0, 5.1Hz, 2H), 5.36-5.11 (m, 1H), 4.74 (dd, J = 10.1, 4.4Hz, 2H), 4.70-4.53 (m, 2H), 4.47 (d, J = 6.4Hz, 1H), 4.37 (d, J = 7.2Hz, 1H), 4.27 (m, 4H), 4.20-4.14 (m, 1H), 3.90 (s, 3H), 3.89 (s, 3H), 3.77 (ddd, J = 16.7, 9.0, 6.4Hz, 3H), 3.71-3.61 (m, 2H), 3.24-2.91 (m, 3H), 2.55-2.33 (m, 2H), 2.22-2.07 (m, 1H), 1.52-1.37 (m, 3H), 1.04-0.86 (m, 10H), 0.00 (s, 18H)。

[1770] (d) (9H-芴-9-基) 甲基 ((2S)-1-(((2S)-1-((4-(8-(3-((2-环丙基-7-甲氧基-5,11-二氧-10-((2-(三甲基甲硅烷基) 乙氧基) 甲基)-5,10,11,11a-四氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂~~草~~8-基) 氧基) 丙氧基)-7-甲氧基-5,11-二氧-10-((2-(三甲基甲硅烷基) 乙氧基) 甲基)-5,10,11,11a-四氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂~~草~~2-基) 苯基) 氨基)-1-氧基丙-2-基) 氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基) 氨基甲酸酯 (22)

[1771] 在氩气氛下,将三苯膦 (42mg, 0.137mmol) 加入PBD-三氟甲磺酸酯21 (250mg, 0.172mmol)、环丙基硼酸 (73.9mg, 0.86mmol)、氧化银 (159mg, 0.688mmol) 和磷酸钾 (438mg, 2.06mmol) 在无水二氧杂环己烷 (10mL) 中的混合物。用氩气冲洗反应3次并添加二(苄膦) 钯

(II) 氯化物 (13.2mg, 0.034mmol)。在加热至75℃以前再用氩气冲洗反应3次,然后搅拌10分钟。通过C盐垫来过滤反应混合物,随后用乙酸乙酯对其加以冲洗。在减压下通过旋转蒸发来除去溶剂。对产生的残留物进行快速柱层析(硅胶:1%甲醇/氯仿)。收集和合并纯馏分,然后在减压下通过旋转蒸发来除去过量洗脱液,以提供所期望的产物22 (132mg, 50%产率)。LC/MS 3.83分钟 (ES+) m/z (相对强度) 1345.91; ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 7.88-7.14 (m, 17H), 6.69 (s, 1H), 6.45-6.25 (m, 1H), 5.57-5.41 (m, 2H), 5.34-5.14 (m, 1H), 4.78-4.67 (m, 2H), 4.62-4.55 (m, 1H), 4.50-4.45 (m, 2H), 4.51-4.44 (m, 1H), 4.31-4.21 (m, 4H), 4.16 (m, 1H), 3.92 (s, 3H), 3.86 (s, 3H), 3.82-3.71 (m, 2H), 3.66 (m, 3H), 3.40-3.28 (m, 1H), 3.07 (m, 1H), 2.70-2.57 (m, 1H), 2.47-2.36 (m, 2H), 2.15 (m, 1H), 1.51-1.40 (m, 3H), 1.03-0.87 (m, 11H), 0.77-0.71 (m, 2H), 0.60-0.54 (m, 2H), 0.00 (t, $J=3.0\text{Hz}$, 18H)。

[1772] (e) (9H-芴-9-基) 甲基 ((2S)-1-((4-(8-(3-(2-环丙基-7-甲氧基-5-氧代-5,11a-二氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂~~草~~8-基) 氧基) 丙氧基)-7-甲氧基-5-氧代-5,11a-二氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂~~草~~2-基) 苯基) 氨基)-1-氧基丙-2-基) 氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基) 氨基甲酸酯 (23)

[1773] 在-78℃和氩气氛下,将Super-Hydride®的溶液(0.5mL, 1M, 在THF中)逐滴加入SEM双内酰胺22 (265mg, 0.19mmol) 在THF (10mL) 中的溶液。经5分钟,添加完成以保持反应混合物的内部温度不变。在20分钟以后,用水骤冷等分试样,用于LC/MS分析,其揭示了反应完成。将水 (20mL) 加入反应混合物并除去冷浴。用EtOAc (3 x 30mL) 提取有机层并用盐水 (50mL) 洗涤合并的有机物,用 MgSO_4 干燥,过滤,然后在减压下通过旋转蒸发来除去溶剂。将粗制产物溶解于MeOH (12mL)、 CH_2Cl_2 (6mL)、水 (2mL) 和足够的硅胶以形成稠密的搅拌悬浮液。在5天以后,通过烧结漏斗来过滤悬浮液并用 CH_2Cl_2 /MeOH (9:1) (200mL) 洗涤,直到完成产物的洗脱。用盐水 (2 x 70mL) 洗涤有机层,用 MgSO_4 干燥,过滤,然后在减压下通过旋转蒸发来除去溶剂。通过硅胶柱层析 (100% CHCl_3 至96% CHCl_3 /4%MeOH) 的纯化得到产物23,作为黄色固体 (162mg, 78%)。LC/MS 3.02分钟 (ES+) m/z (相对强度) 1052.37。

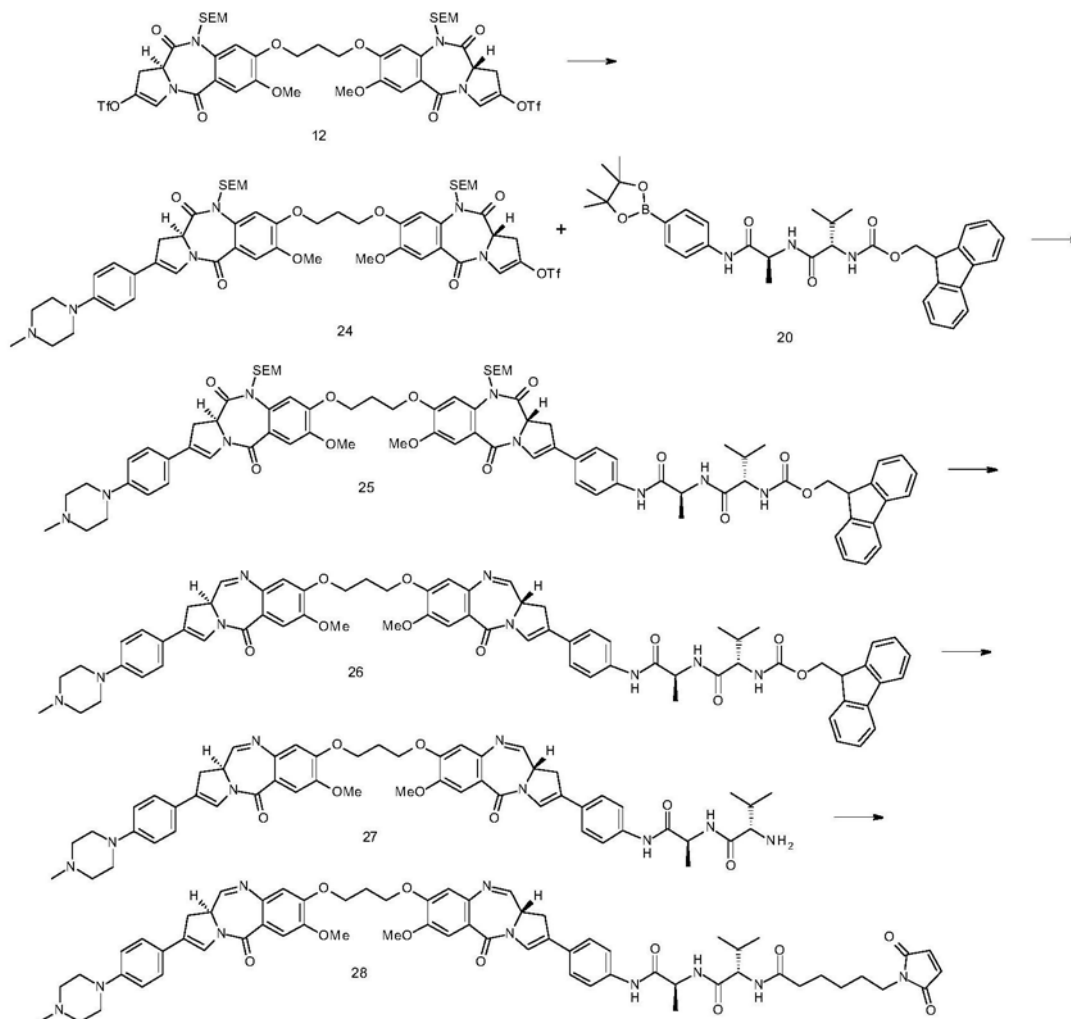
[1774] (f) (2S)-2-氨基-N-((2S)-1-((4-(8-(3-(2-环丙基-7-甲氧基-5-氧代-5,11a-二氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂~~草~~8-基) 氧基) 丙氧基)-7-甲氧基-5-氧代-5,11a-二氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂~~草~~2-基) 苯基) 氨基)-1-氧基丙-2-基)-3-甲基丁酰胺 (17)

[1775] 将过量哌啶 (0.2mL, 2mmol) 加入SEM-双内酰胺23 (76mg, 0.073mmol) 在DMF (1mL) 中的溶液。在室温下允许搅拌混合物20分钟,此时,反应已完成(如通过LC/MS监测的)。用 CH_2Cl_2 (75mL) 稀释反应混合物并用 H_2O (3x75mL) 洗涤有机相直到完全除去哌啶。经 MgSO_4 来干燥有机相,过滤并在减压下通过旋转蒸发来除去过量溶剂,以提供粗制产物17,其原样用于下一步骤。LC/MS 2.32分钟 (ES+) m/z (相对强度) 830.00。

[1776] (g) N-((2S)-1-((2S)-1-((4-(8-(3-(2-环丙基-7-甲氧基-5-氧代-5,11a-二氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂~~草~~8-基) 氧基) 丙氧基)-7-甲氧基-5-氧代-5,11a-二氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂~~草~~2-基) 苯基) 氨基)-1-氧基丙-2-基) 氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)-1-(3-(2,5-二氧-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基) 丙酰氨基)-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂二十七烷-27-酰胺 (18)

[1777] 在氩气氛下,将EDCI盐酸盐(14mg,0.0732mmol)加入马来酰亚胺-PEG₈-酸(43.4mg,0.0732mmol)在无水CH₂Cl₂(5mL)中的悬浮液。在添加PBD17(60.7mg,0.0732mmol)以前,在室温下搅拌混合物1小时。维持搅拌直到反应完成(通常5小时)。用CH₂Cl₂稀释反应,并在经MgSO₄干燥以前用H₂O和盐水洗涤有机相,过滤,然后在减压下通过旋转蒸发来除去过量溶剂。通过小心硅胶层析(缓慢洗脱,开始于100%CHCl₃,直到9:1CHCl₃/MeOH),接着反相层析以除去未反应的马来酰亚胺-PEG₈-酸,来纯化产物。分离产物18,产率为17.6%(21.8mg)。LC/MS 2.57分钟(ES+) m/z(相对强度) 1405.30; ¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ7.91(t, J=3.5Hz, 1H), 7.80(d, J=4.0Hz, 1H), 7.75(d, J=8.8Hz, 1H), 7.69(d, J=8.7Hz, 1H), 7.54-7.50(m, 2H), 7.45(s, 1H), 7.39-7.31(m, 2H), 6.87(d, J=10.5Hz, 2H), 6.76(s, 1H), 6.72-6.68(m, 2H), 4.74-4.62(m, 1H), 4.45-4.17(m, 7H), 3.95(s, 3H), 3.94(s, 3H), 3.67-3.58(m, 34H), 3.54(m, 2H), 3.42(dd, J=10.2, 5.2Hz, 2H), 3.16-3.07(m, 1H), 2.92(dd, J=16.1, 4.1Hz, 1H), 2.62-2.49(m, 4H), 2.48-2.39(m, 2H), 2.37-2.25(m, 1H), 1.92(s, 1H), 1.52-1.44(m, 3H), 1.10-0.93(m, 6H), 0.79(dd, J=9.2, 5.3Hz, 2H), 0.57(dd, J=9.2, 5.3Hz, 2H), 未观测到NH。

[1778] 实施例3



[1780] (a) (S)-7-甲氧基-8-(3-(((S)-7-甲氧基-2-(4-(4-甲基哌嗪-1-基)苯基)-5,11-二氧-10-(2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-5,10,11,11a-四氢-1H-吡咯并[2,1-c][1,

4] 苯并二氮杂~~草~~8-基) 氧基) 丙氧基) -5,11-二氧-10-((2-(三甲基甲硅烷基) 乙氧基) 甲基) -5,10,11,11a-四氢-1H-吡咯并[2,1-c][1,4] 苯并二氮杂~~草~~2-基三氟甲磺酸酯 (24)

[1781] 将Pd(PPh₃)₄ (20.6mg, 0.018mmol) 加入二烯醇三氟甲磺酸酯12 (500mg, 0.44mmol)、N-甲基哌嗪硼酸酯 (100mg, 0.4mmol)、Na₂CO₃ (218mg, 2.05mmol)、MeOH (2.5mL)、甲苯 (5mL) 和水 (2.5mL) 的搅拌混合物。在30℃和氮气氛下, 允许搅拌反应混合物24小时, 此后, 已消耗所有硼酸酯。然后在将残留物吸收于EtOAc (100mL) 以前, 蒸发反应混合物至干燥, 用H₂O (2 x 50mL)、盐水 (50mL) 洗涤, 干燥 (MgSO₄), 过滤并蒸发 (在减压下), 以提供粗制产物。通过快速层析 (梯度洗脱: 80:20v/v 己烷/EtOAc 至 60:40v/v 己烷/EtOAc) 的纯化得到产物24, 作为淡黄色泡沫 (122.6mg, 25%)。LC/MS 3.15分钟 (ES+) m/z (相对强度) 1144 ([M+H]⁺, 20%)。

[1782] (b) (9H-芴-9-基) 甲基 ((S)-1-(((S)-1-((4-((S)-7-甲氧基-8-(3-(((S)-7-甲氧基-2-(4-(4-甲基哌嗪-1-基) 苯基) -5,11-二氧-10-((2-(三甲基甲硅烷基) 乙氧基) 甲基) -5,10,11,11a-四氢-1H-吡咯并[2,1-c][1,4] 苯并二氮杂~~草~~8-基) 氧基) 丙氧基) -5,11-二氧-10-((2-(三甲基甲硅烷基) 乙氧基) 甲基) -5,10,11,11a-四氢-1H-吡咯并[2,1-c][1,4] 苯并二氮杂~~草~~2-基) 苯基) 氨基) -1-氧基丙-2-基) 氨基) -3-甲基-1-氧代丁-2-基) 氨基甲酸酯 (25)

[1783] 将PBD-三氟甲磺酸酯24 (359mg, 0.314mmol)、硼酸频哪醇酯20 (250mg, 0.408mmol) 和三乙胺 (0.35mL, 2.51mmol) 溶解于甲苯/MeOH/H₂O, 2:1:1 (3mL) 的混合物。在添加四 (三苯膦) 钯 (0) (21.7mg, 0.018mmol) 以前, 用氩气清洗和充满微波容器三次, 然后将反应混合物放置在80℃下的微波容器中10分钟。随后, 添加CH₂Cl₂ (100mL), 并在用MgSO₄干燥以前用水 (2 x 50mL) 和盐水 (50mL) 来洗涤有机物, 过滤并在减压下通过旋转蒸发来除去挥发物。通过硅胶层析柱 (CHCl₃/MeOH, 100%至9:1) 来纯化粗制产物以提供纯25 (200mg, 43%产率)。LC/MS 3.27分钟 (ES+) m/z (相对强度) 1478 ([M+H]⁺, 100%)。

[1784] (c) (9H-芴-9-基) 甲基 ((S)-1-(((S)-1-((4-((S)-7-甲氧基-8-(3-(((S)-7-甲氧基-2-(4-(4-甲基哌嗪-1-基) 苯基) -5-氧代-5,11a-二氢-1H-吡咯并[2,1-c][1,4] 苯并二氮杂~~草~~8-基) 氧基) 丙氧基) -5-氧代-5,11a-二氢-1H-吡咯并[2,1-c][1,4] 苯并二氮杂~~草~~2-基) 苯基) 氨基) -1-氧基丙-2-基) 氨基) -3-甲基-1-氧代丁-2-基) 氨基甲酸酯 (26)

[1785] 在-78℃和氩气氛下, 将Super-Hydride®的溶液 (0.34mL, 1M, 在THF) 逐滴加入SEM-双内酰胺25 (200mg, 0.135mmol) 在THF (5mL) 中的溶液。经5分钟, 添加完成以保持反应混合物的内部温度不变。在20分钟以后, 用水骤冷等分试样, 用于LC/MS分析, 其揭示了反应完全。将水 (20mL) 加入反应混合物并除去冷浴。用EtOAc (3 x 30mL) 来提取有机层并用盐水 (50mL) 洗涤合并的有机物, 用MgSO₄干燥, 过滤并在减压下通过旋转蒸发来除去溶剂。将粗制产物溶解于MeOH (6mL)、CH₂Cl₂ (3mL)、水 (1mL) 和足够的硅胶以形成稠密的搅拌悬浮液。在5天以后, 通过烧结漏斗来过滤悬浮液并用CH₂Cl₂/MeOH (9:1) (100mL) 洗涤, 直到完成产物的洗脱。用盐水 (2 x 50mL) 洗涤有机层, 用MgSO₄干燥, 过滤并在减压下通过旋转蒸发来除去溶剂。通过硅胶柱层析 (100%CHCl₃至96%CHCl₃/4%MeOH) 的纯化得到产物26, 作为黄色固体 (100mg, 63%)。LC/MS 2.67分钟 (ES+) m/z (相对强度) 1186 ([M+H]⁺, 5%)。

[1786] (d) (S)-2-氨基-N-((S)-1-((4-((R)-7-甲氧基-8-(3-((R)-7-甲氧基-2-(4-(4-甲基哌嗪-1-基) 苯基) -5-氧代-5,11a-二氢-1H-吡咯并[2,1-c][1,4] 苯并二氮杂~~草~~8-基) 氧基) 丙氧基) -5-氧代-5,11a-二氢-1H-吡咯并[2,1-c][1,4] 苯并二氮杂~~草~~2-基) 苯基) 氨基) -1-氧基丙-2-基) 氨基) -3-甲基-1-氧代丁-2-基) 氨基甲酸酯 (26)

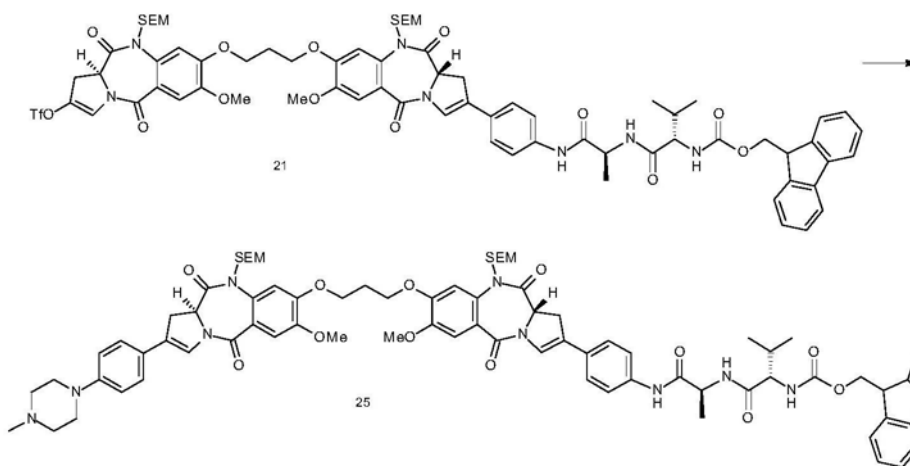
基) 氧基) 丙氧基) -5-氧代-5,11a-二氢-1H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂~~草~~2-基) 苯基) 氨基) -1-氧基丙-2-基) -3-甲基丁酰胺 (27)

[1787] 将过量哌啶 (0.1 mL, 1 mmol) 加入 PBD26 (36.4 mg, 0.03 mmol) 在 DMF (0.9 mL) 中的溶液。在室温下允许搅拌混合物 20 分钟, 此时反应已完成 (如通过 LC/MS 监测的)。用 CH_2Cl_2 (50 mL) 稀释反应混合物并用 H_2O (3x50 mL) 洗涤有机相直到完全除去哌啶。经 MgSO_4 干燥有机相, 过滤并在减压下通过旋转蒸发来除去过量溶剂, 以提供粗制产物 27, 其原样用于下一步骤。LC/MS 2.20 分钟 (ES+) m/z (相对强度) 964 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 5%)。

[1788] (e) 6-(2,5-二氧-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-N-((S)-1-(((S)-1-((4-((S)-7-甲氧基-8-(3-(((S)-7-甲氧基-2-(4-(4-甲基哌嗪-1-基) 苯基)-5-氧代-5,11a-二氢-1H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂~~草~~8-基) 氧基) 丙氧基) -5-氧代-5,11a-二氢-1H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂~~草~~2-基) 苯基) 氨基) -1-氧基丙-2-基) 氨基) -3-甲基-1-氧代丁-2-基) 己酰胺 (28)

[1789] 在氩气氛下, 将 EDCI 盐酸盐 (4.7 mg, 0.03 mmol) 加入 6-马来酰亚氨基己酸 (6.5 mg, 0.03 mmol) 在无 CH_2Cl_2 (3 mL) 中的悬浮液。在添加 PBD27 (34 mg, 粗制) 以前, 在室温下搅拌混合物 1 小时。维持搅拌直到反应完全 (6 小时)。用 CH_2Cl_2 稀释反应, 并在经 MgSO_4 干燥以前用 H_2O 和盐水来洗涤有机相, 过滤并在减压下通过旋转蒸发来除去过量溶剂。通过小心硅胶层析 (缓慢洗脱, 开始于 100% CHCl_3 直到 9:1 $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$), 接着反相层析以除去未反应的马来酰亚胺-PEG₈-酸, 来纯化产物。分离产物 28, 产率为 41%, 经两个步骤 (14.6 mg)。LC/MS 2.40 分钟 (ES+) m/z (相对强度) 1157 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 5%)

[1790] 实施例 4-化合物 25 的替代合成

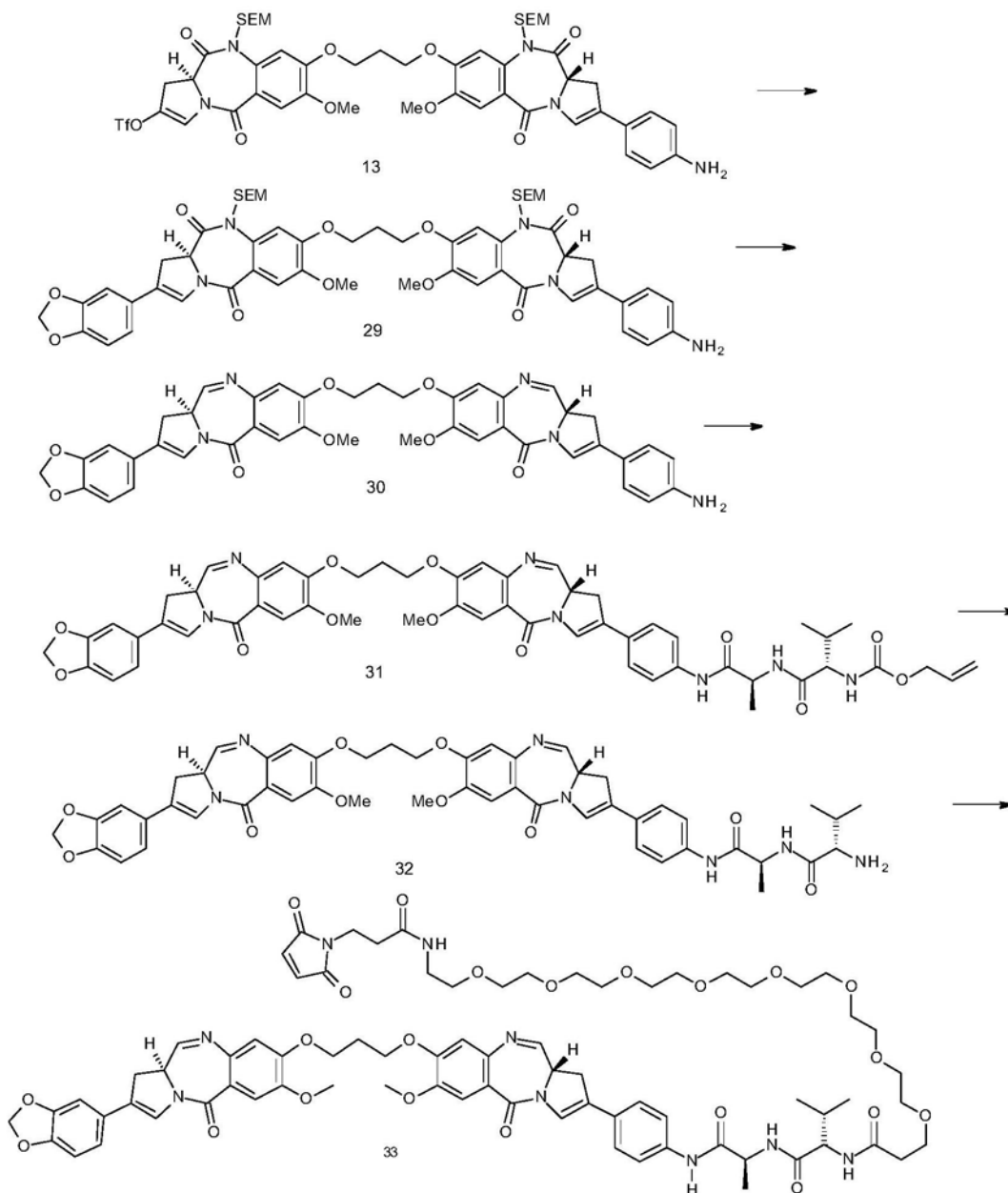


[1791]

[1792] 将 PBD-三氟甲磺酸酯 21 (469 mg, 0.323 mmol)、硼酸频哪醇酯 (146.5 mg, 0.484 mmol) 和 Na_2CO_3 (157 mg, 1.48 mmol) 溶解于甲苯/MeOH/ H_2O , 2:1:1 (10 mL) 的混合物。在添加四(三苯膦)钯 (0) (7.41 mg, 0.0064 mmol) 以前用氩气清洗反应烧瓶三次, 并加热反应混合物至 30°C 过夜。在减压下除去溶剂并将残留物吸收于 H_2O (50 mL), 然后用 EtOAc (3x 50 mL) 提取。用盐水 (100 mL) 洗涤合并的有机物, 用 MgSO_4 干燥, 过滤并在减压下通过旋转蒸发来除去挥发物。通过硅胶柱层析 (CHCl_3 100% 至 $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 95%:5%) 来纯化粗制产物以提供纯 25, 产率为 33% (885 mg)。LC/MS 3.27 分钟 (ES+) m/z (相对强度) 1478 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 100%)。

[1793] 实施例 5

[1794]



[1795] (a) (S)-2-(4-氨基苯基)-8-(3-(((S)-2-(苯并[d][1,3]二氧杂环戊烯-5-基)-7-甲氧基-5,11-二氧-10-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-5,10,11,11a-四氢-1H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂^草8-基)氧基)丙氧基)-7-甲氧基-10-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂^草-5,11(10H,11aH)-二酮(29)

[1796] 在Ar气氛下,将3,4-(亚甲二氧基)苯基硼酸(356mg,2.1mmol,1.3当量)、TEA(1.8mL,12.9mmol,8当量)和三氟甲磺酸酯/苯胺13(1.75g,1.7mmol,1当量)溶解于乙醇(7mL)、甲苯(13mL)和水(2mL)的混合物。在添加四(三苯膦)钯(0)(114mg,0.1mmol,0.06当量)以前,抽空反应混合物并用Ar冲洗3次。再次抽空烧瓶并用Ar冲洗3次,然后在80℃的微波容器(微波炉,microwave)中加热8分钟,其中具有30秒的预搅拌时间。通过TLC(80:20v/v乙酸乙酯/己烷)的分析表明起始材料的完全消耗。用二氯甲烷(50mL)稀释反应混合物并用水(50mL)洗涤。用MgSO₄干燥有机层,过滤并真空除去溶剂。通过硅胶柱层析(60:40至20:80v/v己烷/乙酸乙酯)的纯化得到产物29,作为黄色固体(1.21g,71%)。LC/MS(3.92分钟

(ES⁺) m/z (相对强度) 1032.44 ([M+H]⁺, 100)。

[1797] (b) (S)-2-(4-氨基苯基)-8-(3-(((S)-2-(苯并[d][1,3]二氧杂环戊烯-5-基)-7-甲氧基-5-氧代-5,11a-二氢-1H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂~~草~~8-基)氧基)丙氧基)-7-甲氧基-1H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂~~草~~5(11aH)-酮(30)

[1798] 在Ar气氛下,将SEM双内酰胺29(0.25g,0.24mmol,1当量)溶解于THF(8mL)并冷却至-78℃。经5分钟,逐滴添加Super-Hydride®(0.6mL,1M在THF中,2.5当量),同时监测温度。在20分钟以后,获取和处理少量样品,用于LC/MS分析。添加水(50mL),除去冷浴,然后用乙酸乙酯50mL洗涤溶液。提取有机层并用盐水(60mL)洗涤,用MgSO₄干燥,过滤并真空除去溶剂。将粗制产物溶解于EtOH(15mL)、CH₂Cl₂(7.5mL)和水(2.5mL)并添加足够的硅胶直到它是稠密的悬浮液。在搅拌5天以后,通过烧结漏斗加以过滤并用CH₂Cl₂/MeOH(9:1)(100mL)洗涤直到产物停止被洗脱。用盐水(2 x 50mL)洗涤有机层,用MgSO₄干燥,过滤并真空除去溶剂。通过硅胶柱层析(CHCl₃,具有1%至4%MeOH的梯度)的纯化得到产物30,作为黄色固体(94mg,53%)。LC/MS(2.53分钟(ES⁺) m/z (相对强度) 739.64 ([M]⁺, 70)。

[1799] (c) 烯丙基((S)-1-(((S)-1-(4-((S)-8-(3-(((S)-2-(苯并[d][1,3]二氧杂环戊烯-5-基)-7-甲氧基-5-氧代-5,11a-二氢-1H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂~~草~~8-基)氧基)丙氧基)-7-甲氧基-5-氧代-5,11a-二氢-1H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂~~草~~2-基)苯基)氨基)-1-氧基丙-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯(31)

[1800] 在Ar气氛下,用在无水CH₂Cl₂(21mL)和甲醇(1mL)中的EEDQ(163mg,0.66mmol,1.2当量)搅拌丙氨酸-缬氨酸-Alloc(180mg,0.66mmol,1.2当量)1小时。将PBD30(407mg,0.55mmol,1当量)溶解于无水CH₂Cl₂(21mL)和甲醇(1mL)并加入反应。在室温下,在搅拌5天以后,LC/MS显示大部分产物形成。在通过柱层析(CH₂Cl₂,具有1%至6%MeOH的梯度)的纯化以前真空除去溶剂以产生产物31,作为黄色固体(184mg,34%)。LC/MS(2.95分钟(ES⁺) m/z (相对强度) 994.95 ([M+H]⁺, 60)。

[1801] (d) (S)-2-氨基-N-((S)-1-(4-((S)-8-(3-(((S)-2-(苯并[d][1,3]二氧杂环戊烯-5-基)-7-甲氧基-5-氧代-5,11a-二氢-1H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂~~草~~8-基)氧基)丙氧基)-7-甲氧基-5-氧代-5,11a-二氢-1H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂~~草~~2-基)苯基)氨基)-1-氧基丙-2-基)-3-甲基丁酰胺(32)

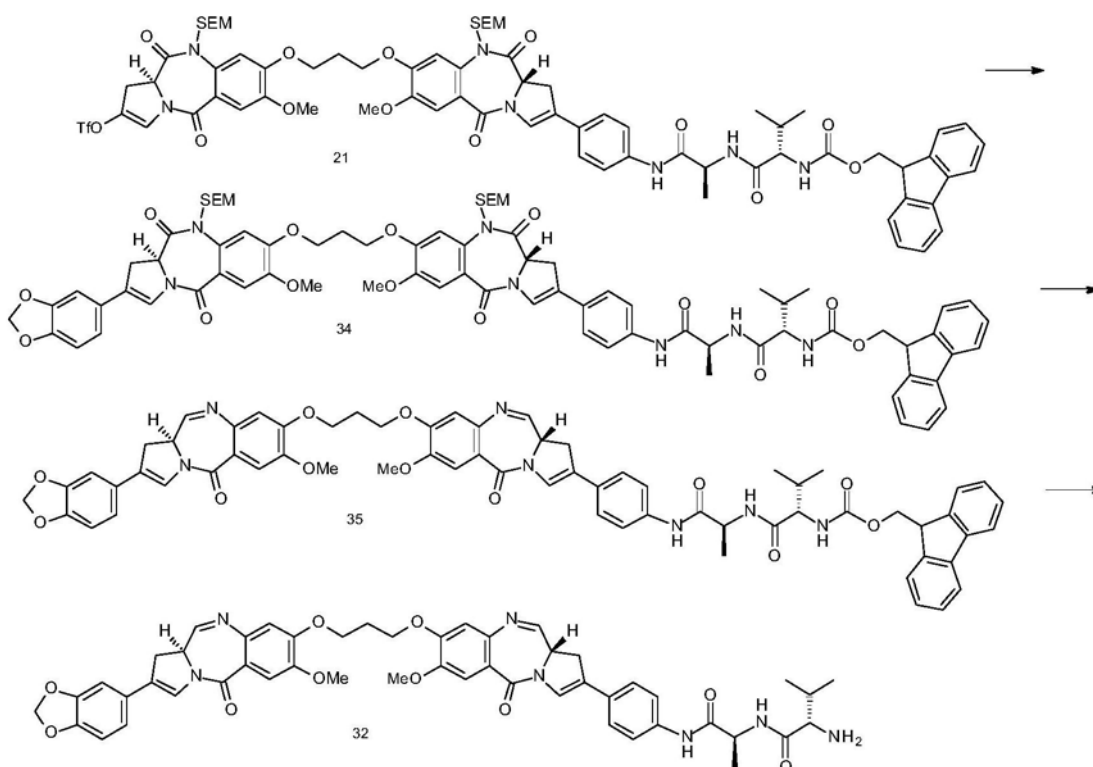
[1802] 在Ar气氛下,将亚胺31(100mg,0.1mmol,1当量)溶解于无水DCM(10mL)(借助于一滴甲醇以辅助溶解)。在抽空烧瓶以前逐滴添加吡咯烷(30μL,0.15mmol,1.5当量)并用Ar冲洗三次。添加Pd(PPh₃)₄(7mg,6μmol,0.06当量),然后抽空烧瓶并用Ar冲洗三次。在1小时以后,LC/MS分析表明产物形成以及起始材料的完全消失。将Et₂O(60mL)加入反应混合物并让它搅拌直到所有产物已析出溶液。通过烧结漏斗来过滤沉淀物并用Et₂O(2 x 20mL)洗涤两次。更换收集烧瓶并溶解分离出的固体,然后通过烧结漏斗并借助于CHCl₃(100mL)加以洗涤。真空除去溶剂以提供粗制产物32,作为黄色固体,其直接用于下一步骤。LC/MS(1.14分钟(ES⁺) m/z (相对强度) 910.40 ([M+H]⁺, 67)。

[1803] (e) N-((S)-1-(((S)-1-(4-((S)-8-(3-(((S)-2-(苯并[d][1,3]二氧杂环戊烯-5-基)-7-甲氧基-5-氧代-5,11a-二氢-1H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂~~草~~8-基)氧基)

丙氧基)-7-甲氧基-5-氧代-5,11a-二氢-1H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂~~草~~2-基)苯基)氨基)-1-氧基丙-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)-1-(3-(2,5-二氧-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酰氨基)-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂二十七烷-27-酰胺(33)

[1804] 将亚胺32(92mg,0.1mmol,1.1当量)溶解于CHCl₃(6mL),其中借助于一滴无水MeOH来辅助溶解。添加马来酰亚胺-PEG₈-酸(53mg,0.09mmol,1当量),接着EEDQ(33mg,0.14mmol,1.5当量)。在室温下并在氩气下,对其保持剧烈搅拌4天直到LC/MS分析显示大部分产物形成。真空除去溶剂并通过硅胶柱层析(CHCl₃,具有1%至10%MeOH的梯度)来部分纯化粗制产物,从而产生33(81mg)。进一步通过制备型HPLC来纯化上述材料以产生33,作为黄色固体(26.3mg,18%)。快速甲酸运行:LC/MS(1.39分钟(ES+)m/z(相对强度)1485.00([M+H]⁺,64)。

[1805] 实施例6



[1807] (a) 9H-芴-9-基)甲基((S)-1-(((S)-1-((4-((S)-8-(3-(((S)-2-(苯并[d][1,3]二氧杂环戊烯-5-基)-7-甲氧基-5,11-二氧-10-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-5,10,11,11a-四氢-1H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂~~草~~8-基)氧基)丙氧基)-7-甲氧基-5,11-二氧-10-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-5,10,11,11a-四氢-1H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂~~草~~2-基)苯基)氨基)-1-氧基丙-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯(34)

[1808] 在Ar气氛下,将三氟甲磺酸酯21(0.5g,0.35mmol,1当量)、3,4-(亚甲二氧基)苯基硼酸(75mg,0.45mmol,1.3当量)和Na₂CO₃(0.17g,1.6mmol,4.5当量)溶解于甲苯(11mL)、EtOH(5.5mL)和水(5.5mL)。抽空烧瓶并用Ar冲洗三次。添加Pd(PPh₃)₄(24mg,0.02mmol,0.06当量)并再次抽空烧瓶并用Ar冲洗三次。对其加热至30℃并留下搅拌过夜。通过LC/MS的分析显示起始材料的完全消失。真空除去溶剂并在用乙酸乙酯(60mL x3)洗涤以前将残留物

溶解于水 (60mL)。用盐水 (50mL) 洗涤合并的有机层, 用 MgSO_4 干燥, 过滤并真空除去溶剂。通过柱层析 (50:50至25:75v/v己烷/乙酸乙酯) 的纯化得到产物34, 作为黄色固体 (310mg, 64%)。LC/MS (1.44分钟 (ES^-) m/z (相对强度) 1423.35 ($[\text{M}-\text{H}]^-$, 79)。

[1809] (b) (9H-芴-9-基) 甲基 ((S)-1-((S)-1-((4-((S)-8-(3-((S)-2-(苯并[d][1,3]二氧杂环戊烯-5-基)-7-甲氧基-5-氧代-5,11a-二氢-1H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂~~草~~-8-基)氧基)丙氧基)-7-甲氧基-5-氧代-5,11a-二氢-1H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂~~草~~-2-基)苯基)氨基)-1-氧基丙-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯 (35)

[1810] 在Ar气氛下, 将SEM双内酰胺34 (0.31g, 0.22mmol, 1当量) 溶解于THF (10mL) 并冷却至-78℃。经5分钟, 逐滴添加Super-Hydride® (0.5mL, 1M, 在THF中, 2.5当量), 同时监测温度。在30分钟以后, 获取和处理少量样品, 用于LC/MS分析。添加水 (50mL), 除去冷浴, 并用乙酸乙酯 (50mL) 洗涤溶液。提取有机层并用盐水 (60mL) 洗涤, 用 MgSO_4 干燥, 过滤并真空除去溶剂。将粗制产物溶解于EtOH (13.2mL)、 CH_2Cl_2 (6.6mL) 和水 (2.2mL), 并添加足够的硅胶直到它是稠密的悬浮液。在搅拌5天以后, 通过烧结漏斗来过滤它并用 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (9:1) (100mL) 洗涤直到产物停止被洗脱。用盐水 (2 x 50mL) 洗涤有机层, 用 MgSO_4 干燥, 过滤并真空除去溶剂。通过硅胶柱层析 (CHCl_3 , 具有1%至4%MeOH的梯度) 的纯化得到纯产物35, 作为黄色固体 (185mg, 75%)。LC/MS (1.70分钟 (ES^+) m/z (相对强度) 1132.85 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 60)。

[1811] (c) (S)-2-氨基-N-((S)-1-((4-((S)-8-(3-((S)-2-(苯并[d][1,3]二氧杂环戊烯-5-基)-7-甲氧基-5-氧代-5,11a-二氢-1H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂~~草~~-8-基)氧基)丙氧基)-7-甲氧基-5-氧代-5,11a-二氢-1H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂~~草~~-2-基)苯基)氨基)-1-氧基丙-2-基)-3-甲基丁酰胺 (32)

[1812] 在缓慢添加哌啶 (0.2mL, 2mmol, 过量) 以前, 将亚胺35 (82mg, 0.07mmol, 1当量) 溶解于DMF (1mL)。在室温下保持搅拌此溶液20分钟直到LC/MS分析显示起始材料的完全消耗。用 CH_2Cl_2 (50mL) 稀释反应混合物, 用水 (50mL x 4) 洗涤, 用 MgSO_4 干燥, 过滤并真空除去溶剂。在没有进一步纯化的情况下产物33用于下一步骤。LC/MS (1.15分钟 (ES^+) m/z (相对强度) 910.60 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 58)。

[1813] 用于实施例7的一般实验方法

[1814] 通过薄层层析 (TLC), 利用Merck Kieselgel 60 F254硅胶, 并借助于在铝板上的荧光指示剂, 来监测反应进展。除非另有说明, 借助于UV光或碘蒸气来实现TLC的可视化。利用Merck Kieselgel 60 F254硅胶进行快速层析。提取和层析溶剂购买自Fisher Scientific, U.K. 并加以使用而没有进一步纯化。所有化学品购买自Aldrich、Lancaster或BDH。

[1815] 用Bruker Avance 400分光计来获得 ^1H 和 ^{13}C NMR谱。以赫兹 (Hz) 为单位来引述耦合常数。以来自四甲基硅烷的百万分之一份 (ppm) 低磁场为单位来记录化学位移。自旋多重性 (spin multiplicities) 被描述为s (单峰)、bs (宽单峰)、d (双重峰)、t (三重峰)、q (四重峰)、p (五重峰) 和m (多重峰)。用Perkin-Elmer FT/IR模范 (paragon) 1000分光光度计, 通过施加在氯仿溶液中的样品, 并利用ATR“金门 (golden gate)”系统, 来记录IR谱。在环境温度下利用Bellingham和Stanley ADP 220旋光仪来测量旋光性。用来自Thermo Electron的ThermoQuest Navigator进行质谱测量。在20至30V下获得电雾化 (ES) 谱。利用Micromass

Q-TOF全局串联(global tandem)来进行精确质量测量。以电喷雾离子化模式来运行所有样品,其中使用50%乙腈(在水中)和0.1%甲酸作为溶剂。用W模式,其给出在FWHH下19000的典型分辨率,来运行样品。紧接着在测量之前用[Glu]-Fibrinopeptide B来校准仪器。

[1816] LCMS

[1817] LC/MS (Shimadzu LCMS-2020),使用水(A)(甲酸0.1%)和乙腈(B)(甲酸0.1%)的流动相。

[1818] 梯度:初始组成5%B,保持0.25分钟以上,然后,经2分钟,从5%B增加至100%B。保持上述组成在100%B下0.50分钟,然后在0.05分钟内回到5%B并保持0.05分钟。总梯度运行时间等于3分钟。流动速率0.8mL/分钟。波长检测范围:190至800nm。烘箱温度:50℃。柱:Waters Acquity UPLC BEH Shield RP18 1.7 μ m 2.1x50mm。

[1819] 制备型HPLC

[1820] 用于制备型HPLC的条件如下:使用水(0.1%甲酸)A和乙腈(0.1%甲酸)B的流动相运行HPLC(Shimadzu UPLC)。

[1821] 波长检测范围:254nm。

[1822] 柱:Phenomenex Gemini 5 μ C18 150x21-20mm。

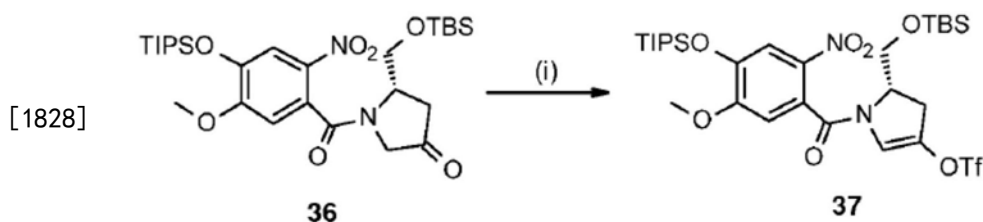
[1823] 梯度:

	B
t=0	13%
t=15.00	95%
t=17.00	95%
t=17.10	13%
t=20.00	13%

[1825] 总梯度运行时间是20分钟;流动速率20.00mL/分钟。

[1826] 实施例7

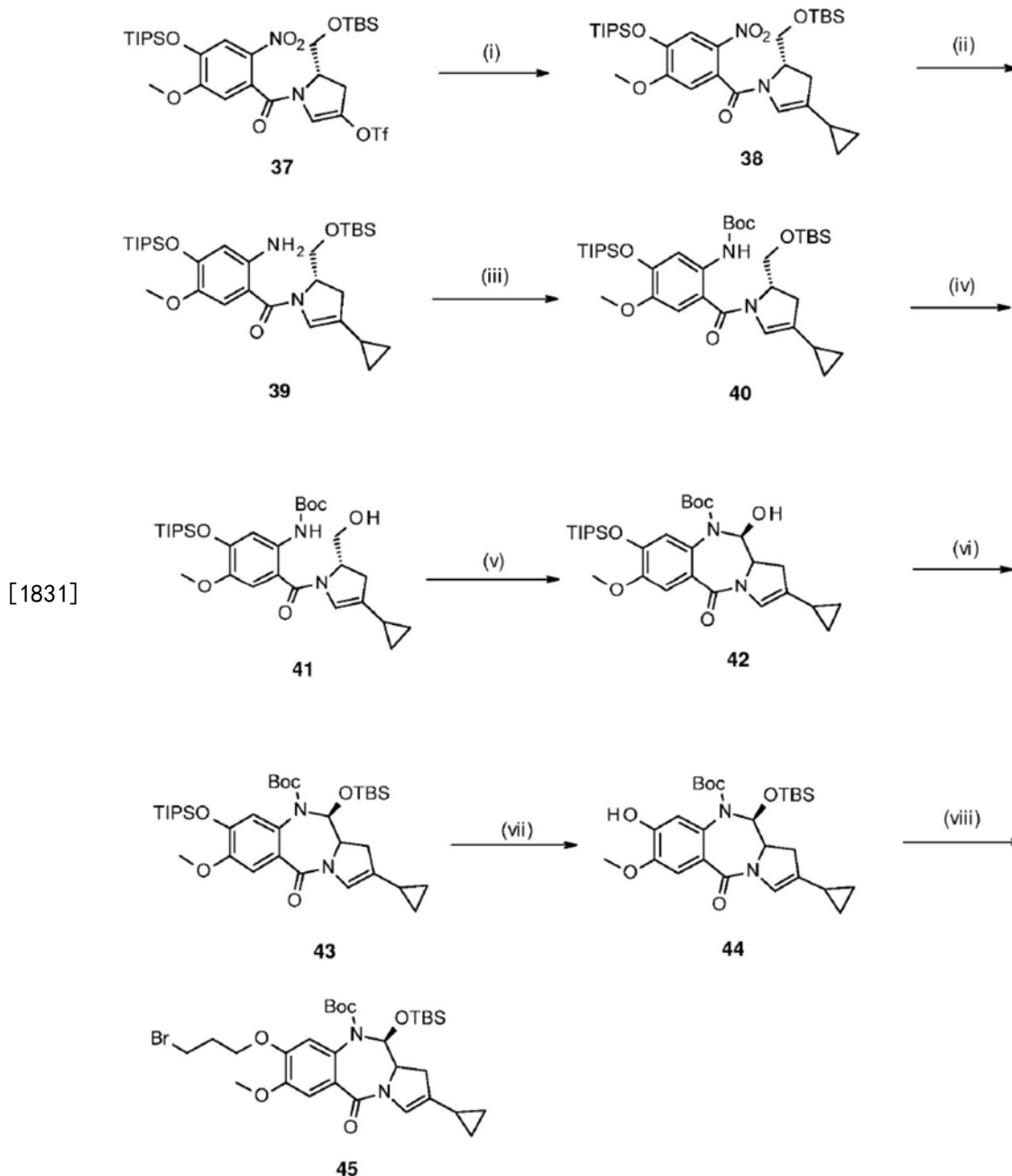
[1827] (a) (S)-5-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-1-(5-甲氧基-2-硝基-4-((三异丙基甲硅烷基)氧基)苯甲酰基)-4,5-二氢-1H-吡咯-3-基三氟甲磺酸酯(37)



[1829] 在-45℃(干冰/乙腈)和氩气氛下,以1份,将无水2,6-二甲基吡啶(16.06mL, 0.137mol)注入酮36(20g, 0.034mol)在无水CH₂Cl₂(350mL)中的剧烈搅拌溶液。快速注射取自新开瓶的无水三氟甲磺酸酐(17.37mL, 0.1mol),同时保持温度在-40℃以下。在-45℃下允许搅拌反应混合物1小时,此时TLC(己烷/EtOAc; 95/5)揭示起始材料的完全消耗。用CH₂Cl₂(400mL)立即稀释冷反应混合物,然后,借助于剧烈摇动,用冰冷水(1x 200mL)、冰冷5%柠檬酸溶液(1 x 300mL)、饱和NaHCO₃(300mL)、盐水(200mL)加以洗涤。经MgSO₄干燥有机

物,过滤并在减压下蒸发溶剂。通过硅胶层析(己烷/EtOAc;100%至90:10)来纯化粗制材料以提供烯醇-三氟甲磺酸酯37,作为黄色泡沫(22.06g,89%)。 $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 7.72 (s, 1H), 7.26 (s, 1H), 6.75 (s, 1H), 6.06 (bm, 1H), 5.75 (d, $J=5.7\text{Hz}$, 0.5H), 4.78 (m, 1H), 4.59 (d, $J=8.2\text{Hz}$, 0.5H), 3.92 (s, 3H), 3.18 (dd, $J=15.2, 3.2\text{Hz}$, 4H), 2.99 (dd, $J=15.7, 3.2\text{Hz}$, 4H), 1.36-1.22 (m, 3H), 1.11 (d, $J=7.3\text{Hz}$, 18H), 0.92 (s, 9H), 0.12 (s, 6H); $\text{ES}^+ = 2.39\text{min}$, m/z 1447.05 $[2\text{M}+\text{Na}]^+$ 。

[1830] (b) 叔丁基(11S)-8-(3-溴丙氧基)-11-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-2-环丙基-7-甲氧基-5-氧代-11,11a-二氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂草-10(5H)-羧酸酯(45)



[1832] (i) (S) - (2 - (((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基) - 4 - 环丙基 - 2,3 - 二氢 - 1H - 吡咯 - 1 - 基) (5 - 甲氧基 - 2 - 硝基 - 4 - ((三异丙基甲硅烷基)氧基)苯基) 甲酮 (38)

[1833] 在氩气氛下,将三苯肿(0.343g,1.12mmol)、氧化银(I)(1.3g,5.6mmol)、环丙基硼酸(0.6g,7.01mmol)和三氟甲磺酸酯37(1g,1.4mmol)溶解于二氧杂环己烷(20mL)。借助于研钵来碾碎磷酸钾(3.6g,16.8mmol)并快速加入反应混合物。抽空反应混合物并用氩气冲洗三次,然后加热至71℃。添加二(苄腈)钼(II)氯化物(107mg,0.28mmol)并抽空反应容器然后用氩气冲洗三次。在10分钟以后,获取少量样品,用于通过TLC(己烷/EtOAc;80:20)的分析,其揭示了反应完成。通过C盐来过滤反应混合物并用EtOAc(200mL)洗涤过滤垫。用水(200mL)和盐水(200mL)来洗涤滤液。用MgSO₄干燥有机层,过滤并真空除去溶剂。通过硅胶层析(己烷/EtOAc;100%至80:20)的纯化得到产物38,作为黄色固体(0.663g,78%)。¹H-NMR(400MHz,CDCl₃) δ7.70(s,1H),7.33(s,1H),6.77(s,1H),4.64(m,1H),3.90(s,3H),3.70(s,2H),2.64(dd,J=16.2,2.42Hz,1H),2.42(dd,J=16.2,2.4Hz,1H),1.35-1.22(m,3H),1.19(m,1H),1.10(d,J=7.3Hz,18H),0.91(s,9H),0.61(m,2H),0.40(dd,J=7.2,3.4Hz,2H),0.10(d,J=1.9Hz,6H);ES⁺=2.39min,m/z 605.30[M+H]⁺。

[1834] (ii) (S)-(2-氨基-5-甲氧基-4-(((三异丙基甲硅烷基)氧基)苯基)-(2-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-4-环丙基-2,3-二氢-1H-吡咯-1-基)甲酮(39)

[1835] 在先前用氩气冲洗并配有温度计的干燥的双颈圆底烧瓶中,将硝基苯基38(3.03g 5mmol)溶解于甲酸在甲醇(25mL)中的5%溶液。将锌(1.64g,25mmol)快速倒入上述溶液。温度瞬间上升到45℃并缓慢冷却回到室温,此时,反应完成(≈15分钟,通过LCMS来监测反应)。然后通过C盐来过滤反应混合物并用EtOAc(2 x 100mL)进一步洗涤垫。随后在经MgSO₄干燥以前用饱和NaHCO₃(水溶液)(100mL)、H₂O(100mL)和盐水(100mL)来洗涤合并的有机物,过滤并真空除去挥发物。通过硅胶层析(己烷/EtOAc;100%至80:20)来纯化粗制材料并将纯产物39分离为浅无色油(1.35g,47%产率)。¹H-NMR(400MHz,CDCl₃) δ7.26(s,2H),6.71(s,1H),4.61(bs,1H),4.22(s,2H),3.88(s,1H),3.77(s,1H),3.71(s,3H),2.60(dd,J=16.5,3.7Hz,1H),2.43(dd,J=16.5,3.7Hz,1H),1.35(m,1H),1.22(m,3H),1.09(d,J=7.2Hz,18H),0.89(s,9H),0.68-0.58(m,2H),0.48-0.36(m,2H),0.05(d,J=5.8Hz,6H)。ES⁺=2.40min,m/z 575.30[M+H]⁺。

[1836] (iii) (S)-(2-(2-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-4-环丙基-2,3-二氢-1H-吡咯-1-羰基)-4-甲氧基-5-(((三异丙基甲硅烷基)氧基)苯基)氨基甲酸叔丁酯(40)

[1837] 在圆底烧瓶中在70℃下一起加热胺39(770mg,1.34mmol)和Boc₂O(350mg,1.6mmol)。为了有助于可溶性,添加CHCl₃(3mL),然后搅拌混合物直到反应完全(通过LCMS加以监测)。在被直接加载到硅胶层析柱(己烷/EtOAc;100%至95:5)上以前,让稠密粗制溶液冷却至室温。将产物40分离为无色泡沫(741mg,82%产率)。¹H-NMR(400MHz,CDCl₃) δ7.73(s,1H),7.26(s,2H),6.73(s,1H),4.64(s,1H),3.91(s,1H),3.78(s,1H),3.74(s,3H),2.61(dd,J=16.2,3.0Hz,1H),2.45(dd,J=16.2,3.0Hz,1H),1.47(s,9H),1.36(m,1H),1.33-1.23(m,3H),1.11(d,J=7.3Hz,18H),0.89(s,9H),0.64(m,2H),0.43(m,2H),0.05(d,J=7.2Hz,6H);ES⁺=2.56min,m/z 675.30[M+H]⁺。

[1838] (iv) (S)-(2-(4-环丙基-2-(羟甲基)-2,3-二氢-1H-吡咯-1-羰基)-4-甲氧基-5-(((三异丙基甲硅烷基)氧基)苯基)氨基甲酸叔丁酯(41)

[1839] 将甲硅烷基醚40(741mg,1.1mmol)溶解于AcOH/H₂O/MeOH/THF的7:2:1:1混合物(11mL)并在室温下搅拌混合物直到反应完全(≈3小时)。真空除去挥发物并将残留物吸收

于EtOAc (50mL)。在经MgSO₄干燥以前,用饱和NaHCO₃ (水溶液) (50mL)、H₂O (50mL) 和盐水 (50mL) 来洗涤有机相,过滤并浓缩(真空)。通过硅胶层析 (Hex/EtOAc;100%至60:40) 来纯化粗制材料并将纯产物41分离为无色泡沫 (521mg,84%产率)。¹H-NMR (400MHz,CDCl₃) 7.94 (s,1H), 7.65 (s,1H), 6.75 (s,1H), 6.17 (s,1H), 4.71 (s,1H), 4.60 (s,1H), 3.82 (t, J=8.7Hz,1H), 3.76 (s,3H), 3.72 (d, J=8.7Hz,1H), 2.76 (ddd, J=16.4,10.2,1.6Hz,1H), 2.08 (dd, J=16.3,4.4Hz,1H), 1.48 (s,9H), 1.42-1.33 (m,1H), 1.33-1.23 (m,3H), 1.11 (d, J=7.3Hz,18H), 0.67 (dd, J=5.0,3.1Hz,2H), 0.46-0.39 (m,2H); ES⁺=2.25min, m/z 561.45 [M+H]⁺。

[1840] (v) (11S)-2-环丙基-11-羟基-7-甲氧基-5-氧代-8-((三异丙基甲硅烷基)氧基)-11,11a-二氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂~~草~~10 (5H)-羧酸叔丁酯 (42)

[1841] 在-78℃下,将DMSO (163μL,2.29mmol) 加入草酰氯 (93μL,1.1mmol) 在CH₂Cl₂ (2mL) 中的冷却溶液。在15分钟以后,将醇41 (515mg,0.91mmol) 在CH₂Cl₂ (5mL) 中的溶液逐滴加入氧化混合物。在添加NEt₃ (640μL,4.59mmol) 以前在-78℃下保持搅拌反应1小时然后允许混合物升温至室温。在完成以后,用CH₂Cl₂ (40mL) 稀释反应混合物并用0.1M HCl (水溶液) (50mL)、H₂O (50mL)、饱和NaHCO₃ (水溶液) (50mL) 和盐水 (50mL) 来洗涤上述溶液。用MgSO₄干燥有机物,过滤并真空除去挥发物。通过硅胶层析 (己烷/EtOAc;100%至60:40) 来纯化粗制材料以提供纯42,作为白色泡沫 (350mg,68%)。

[1842] ¹H-NMR (400MHz,CDCl₃) 7.17 (s,1H), 6.74 (s,1H), 6.67 (s,1H), 5.65 (dd, J=8.6,2.3Hz,1H), 3.85 (s,3H), 3.77 (dt, J=13.2,6.7Hz,1H), 3.38 (s,1H), 2.88 (dd, J=17.7,9.2Hz,1H), 2.52 (d, J=14.5Hz,1H), 1.46 (m,1H), 1.39 (s,9H), 1.31-1.19 (m,3H), 1.10 (dd, J=7.4,2.1Hz,18H), 0.77-0.70 (m,2H), 0.56-0.48 (m,2H); ES⁺=1.89min, m/z 559.45 [M+H]⁺。

[1843] (vi) (11S)-11-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-2-环丙基-7-甲氧基-5-氧代-8-((三异丙基甲硅烷基)氧基)-11,11a-二氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂~~草~~10 (5H)-羧酸叔丁酯 (43)

[1844] 在先前用氩气冲洗三次的密封圆底烧瓶中将醇42 (350mg,0.62mmol) 溶解于无水CH₂Cl₂ (5mL)。在随后添加二甲基吡啶 (0.3mL,2.5mmol) 和TBS-OTf (0.43mL,1.8mmol) 以前,将溶液冷却至0℃。反应混合物升温至室温并搅拌直到完成(通过LCMS加以监测)。在完成以后,用CH₂Cl₂ (50mL) 稀释溶液,并用饱和NH₄Cl (水溶液) (50mL)、H₂O (50mL)、饱和NaHCO₃ (水溶液) (50mL) 和盐水 (50mL) 加以洗涤。用MgSO₄干燥有机物,过滤并真空除去挥发物。通过硅胶层析 (己烷/EtOAc;100%至80:20) 来纯化粗制材料以提供纯43,作为无色油 (397.3mg,94%)。¹H-NMR (400MHz,CDCl₃)

[1845] 7.16 (s,1H), 6.69 (s,1H), 6.63 (s,1H), 5.78 (d, J=9.0Hz,1H), 3.84 (s,3H), 3.65 (td, J=10.1,3.7Hz,1H), 2.82 (ddd, J=16.8,10.3,2.6Hz,1H), 2.30 (dd, J=16.8,2.6Hz,1H), 1.45-1.37 (m,1H), 1.32 (s,9H), 1.25 (dd, J=14.1,8.0Hz,3H), 1.09 (dd, J=7.4,4.1Hz,18H), 0.85 (s,9H), 0.74-0.67 (m,2H), 0.55-0.49 (m,1H), 0.47-0.40 (m,1H), 0.25 (s,3H), 0.20 (s,3H); ES⁺=2.39min, m/z 695.55 [M+Na]⁺。

[1846] (vii) (11S)-11-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-2-环丙基-8-羟基-7-甲氧基-

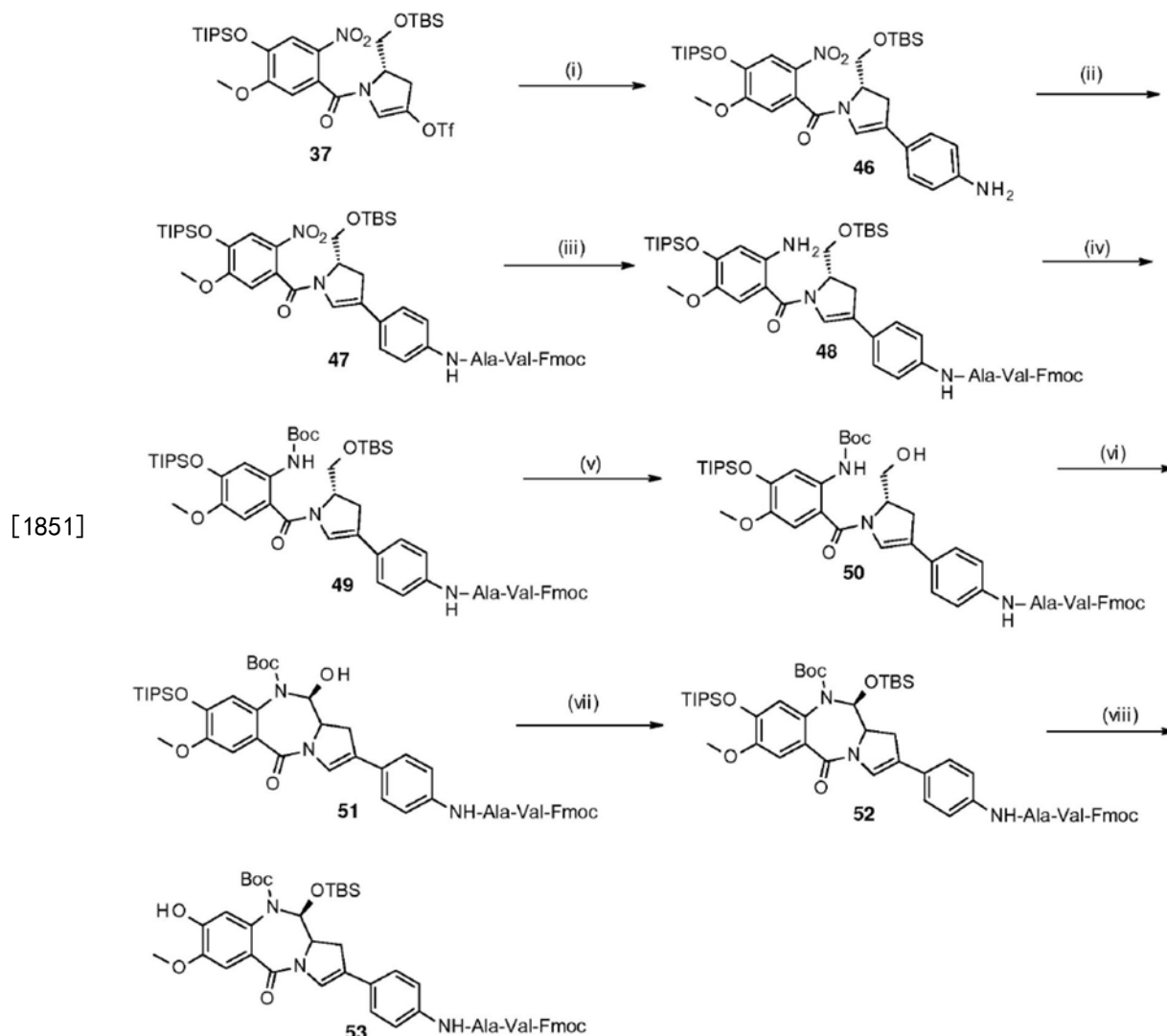
5-氧代-11,11a-二氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂~~草~~10(5H)-羧酸叔丁酯(44)

[1847] 在添加LiOAc (78.5mg, 0.77mmol) 以前将单体43 (518.8mg, 0.77mmol) 溶解于湿DMF (5mL+0.1mL H₂O), 然后在室温下保持搅拌混合物直到完成(通过LCMS加以监测)。随后用EtOAc (50mL) 稀释混合物, 用柠檬酸(水溶液) (pH=3, 40mL) 骤冷, 然后用H₂O (50mL) 和盐水 (50mL) 加以洗涤。经MgSO₄干燥有机层, 过滤并真空除去挥发物。通过硅胶层析(己烷/EtOAc; 100%至60:40) 来纯化粗制产物并将纯产物44分离为白色固体 (351mg, 88%产率)。¹H-NMR (400MHz, CDCl₃) 7.20 (s, 1H), 6.68 (s, 1H), 6.68 (s, 1H'), 5.79 (d, J=8.9Hz, 1H), 3.94 (s, 3H), 3.70 (td, J=10.1, 3.7Hz, 1H), 2.82 (ddd, J=16.9, 10.3, 2.0Hz, 1H), 2.31 (dd, J=16.9, 2.0Hz, 1H), 1.44-1.37 (m, 1H), 1.32 (s, 9H), 0.86 (s, 9H), 0.75-0.68 (m, 1H), 0.57-0.49 (m, 1H), 0.46 (m, 1H), 0.23 (d, J=6.9Hz, 6H); ES⁺=1.82min, m/z 517.35 [M+Na]⁺。

[1848] (viii) (11S)-8-(3-溴丙氧基)-11-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-2-环丙基-7-甲氧基-5-氧代-11,11a-二氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂~~草~~-10(5H)-羧酸叔丁酯(45)

[1849] 在先前用氩气冲洗三次的干燥的圆底烧瓶中, 将醇44 (300mg, 0.58mmol) 溶解于无水DMF (5mL)。随后添加K₂CO₃ (123mg, 0.58mmol) 和1,3-二溴丙烷 (0.3mL, 2.9mmol)。加热反应混合物至70℃并留下搅拌直到完成(≈1小时, 通过LCMS加以监测)。用EtOAc (50mL) 稀释反应, 在经MgSO₄干燥以前用H₂O (75mL) 和盐水 (50mL) 加以洗涤, 过滤并真空除去挥发物。通过硅胶层析(己烷/EtOAc; 100%至70:30) 来纯化粗制材料并将纯产物45分离为无色泡沫 (311mg, 84%产率)。¹H-NMR (400MHz, CDCl₃) 7.21 (s, 1H), 6.69 (s, 1H), 6.63 (s, 1H), 5.82 (d, J=8.8Hz, 1H), 4.14 (t, J=5.9Hz, 2H), 3.90 (s, 3H), 3.69 (ddd, J=10.2, 9.0, 3.7Hz, 1H), 3.63 (t, J=6.3Hz, 2H), 2.84 (ddd, J=16.7, 10.4, 1.9Hz, 1H), 2.38 (p, J=6.1Hz, 2H), 2.31 (dd, J=16.5, 2.1Hz, 1H), 1.45-1.37 (m, 1H), 1.33 (s, 9H), 0.87 (s, 9H), 0.77-0.69 (m, 2H), 0.57-0.49 (m, 1H), 0.49-0.42 (m, 1H), 0.24 (d, J=5.4Hz, 6H); ES⁺=2.16min, m/z 638.95 [M+Na]⁺。

[1850] (c) (11S)-2-(4-((S)-2-((S)-2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-3-甲基丁酰氨基)丙酰氨基)苯基)-11-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-8-羟基-7-甲氧基-5-氧代-11,11a-二氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂~~草~~10(5H)-羧酸叔丁酯(53)



[1852] (i) (S) - (4- (4-氨基苯基) -2- (((叔丁基二甲基甲硅烷基) 氧基) 甲基) -2,3-二氢-1H-吡咯-1-基) (5-甲氧基-2-硝基-4- (((三异丙基甲硅烷基) 氧基) 苯基) 甲酮 (46)

[1853] 将 $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (609mg, 0.52mmol) 加入三氟甲磺酸酯 37 (18.8g, 26.3mmol)、4-氨基苯基硼酸频哪醇酯 (8.64g, 39.4mmol)、 Na_2CO_3 (12.78g, 120mmol)、MeOH (80mL)、甲苯 (160mL) 和水 (80mL) 的搅拌混合物。在 30°C 和氮气氛围下, 允许搅拌反应混合物 24 小时, 此后所有硼酸酯已消耗。在将残留物吸收于 EtOAc (100mL) 以前将反应混合物蒸发至干燥, 并用 H_2O (100mL)、盐水 (100mL) 加以洗涤, 干燥 (MgSO_4), 过滤并蒸发 (在减压下), 以提供粗制产物。通过硅胶层析 (己烷/EtOAc; 100% 至 70:30) 的纯化得到产物 46, 作为淡黄色泡沫 (11.06g, 64%)。 ^1H -NMR (400MHz, CDCl_3) δ 7.74 (s, 1H), 7.00 (d, $J=8.3\text{Hz}$, 2H), 6.81 (s, 1H), 6.58 (d, $J=8.3\text{Hz}$, 2H), 6.06 (s, 1H), 4.77 (bm, 1H), 3.91 (d, $J=6.7\text{Hz}$, 3H), 3.68 (bs, 2H), 3.13 (bm, 1H), 2.97 (d, $J=14.5\text{Hz}$, 1H), 1.36-1.21 (m, 3H), 1.12 (d, $J=7.3\text{Hz}$, 18H), 0.89 (s, 10H), 0.10 (s, 6H); $\text{ES}^+ = 2.27\text{min}$, m/z 698 $[\text{M}+\text{CH}_3\text{CN}]^+$ 。

[1854] (ii) (9H-芴-9-基) 甲基 ((S) -1- (((S) -1- ((4- ((S) -5- (((叔丁基二甲基甲硅烷基) 氧基) 甲基) -1- (5-甲氧基-2-硝基-4- (((三异丙基甲硅烷基) 氧基) 苯基) 甲酰基) -4,5-二氢-1H-吡咯-3-基) 苯基) 氨基) -1-氧基丙-2-基) 氨基) -3-甲基-1-氧代丁-2-基) 氨基甲酸酯 (47)

[1855] 向先前用氩气冲洗的干燥的圆底烧瓶添加苯胺46 (10.05g, 15.3mmol)、二肽 (6.3g, 15.3mmol) 和无水 CH_2Cl_2 (500mL)。然后在添加EEDQ (3.79g, 15.3mmol) 以前用氩气清洗烧瓶三次并在室温下保持搅拌混合物。通过LCMS来监测反应, 并在3.5小时以后反应完成。用 H_2O (200mL) 骤冷反应并用 CH_2Cl_2 (250mL) 提取两次。用盐水 (150mL) 洗涤合并的有机物, 经 MgSO_4 干燥, 过滤并真空除去溶剂。通过硅胶层析 (己烷/ EtOAc ; 100%至55:45) 来纯化粗制产物以提供纯产物47 (13.821g, 86%)。 $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 8.26 (s, 1H), 7.64 (s+d, $J=4.9\text{Hz}$, 3H), 7.43 (t, $J=7.3\text{Hz}$, 1H), 7.36 (d, $J=7.3\text{Hz}$, 1H), 7.28 (t, $J=7.3\text{Hz}$, 1H), 7.19 (d, $J=7.7\text{Hz}$, 1H), 6.99 (d, $J=7.9\text{Hz}$, 1H), 6.71 (s, 1H), 6.27 (d, $J=6.3\text{Hz}$, 1H), 6.08 (s, 1H), 5.11 (d, $J=6.6\text{Hz}$, 1H), 4.69 (bs, 1H), 4.52 (bm, 1H), 4.36 (d, $J=6.5\text{Hz}$, 2H), 4.08 (t, $J=5.9\text{Hz}$, 1H), 3.89 (m, 1H), 3.80 (s, 3H), 3.11-2.97 (bm, 1H), 2.88 (bd, $J=15.2\text{Hz}$, 1H), 2.03 (bs, 1H), 1.33 (d, $J=6.9\text{Hz}$, 3H), 1.24-1.11 (m, 3H), 1.01 (d, $J=7.4\text{Hz}$, 18H), 0.86-0.79 (m, 6H), 0.77 (s, 9H), 0.00 (s, 6H); $\text{ES}^+=2.37$ 分钟, 没有质量。

[1856] (iii) (9H-芴-9-基) 甲基 ((S)-1-(((S)-1-((4-((S)-1-(2-氨基-5-甲氧基-4-((三异丙基甲硅烷基)氧基)苯甲酰基)-5-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-4,5-二氢-1H-吡咯-3-基)苯基)氨基)-1-氧基丙-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯 (48)

[1857] 在先前用氩气冲洗并配有温度计的干燥的双颈圆底烧瓶中, 将硝基苯基47 (2.97g, 2.8mmol) 溶解于在甲醇 (50mL) 中的5%甲酸溶液。将锌 (1.85g, 28mmol) 快速倒入上述溶液。温度瞬间上升到40℃并缓慢冷却回到室温, 此时反应完成 (≈ 15 分钟, 通过LCMS来监测反应)。然后通过C盐来过滤反应混合物, 并用 EtOAc (2 x 150mL) 进一步洗涤垫。在经 MgSO_4 干燥以前, 随后用饱和 NaHCO_3 (水溶液) (100mL)、 H_2O (100mL) 和盐水 (100mL) 来洗涤合并的有机物, 过滤并真空除去挥发物。通过硅胶层析 (己烷/ EtOAc 75:25至50:50) 来纯化粗制材料并将纯产物48分离为浅黄色油 (2.291g, 79%产率)。 $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 8.37 (s, 1H), 7.74 (s+d, $J=4.9\text{Hz}$, 3H), 7.53 (t, $J=7.4\text{Hz}$, 2H), 7.46 (d, $J=11.3\text{Hz}$, 2H), 7.39 (t, $J=7.3\text{Hz}$, 2H), 7.28 (t, $J=11.3\text{Hz}$, 2H), 7.09 (d, $J=7.9\text{Hz}$, 2H), 6.38 (d, $J=6.3\text{Hz}$, 1H), 6.18 (s, 1H), 5.21 (d, $J=2.9\text{Hz}$, 1H), 4.81 (bs, 1H), 4.72-4.57 (m, 1H), 4.47 (d, $J=6.5\text{Hz}$, 2H), 4.19 (t, $J=5.0\text{Hz}$, 1H), 4.00-3.94 (m, 1H), 3.91 (s, 3H), 3.23-3.07 (m, 1H), 2.98 (d, $J=16.8\text{Hz}$, 1H), 2.15 (s, 1H), 1.43 (d, $J=6.9\text{Hz}$, 3H), 1.36-1.18 (m, 3H), 1.12 (d, $J=7.4\text{Hz}$, 18H), 0.97-0.89 (m, 6H), 0.88 (s, 9H), 0.10 (s, 6H). $\text{ES}^+=2.37$ 分钟, m/z 没有质量。

[1858] (iv) (9H-芴-9-基) 甲基 ((S)-1-(((S)-1-((4-((S)-1-(2-((叔丁氧基羰基)氨基)-5-甲氧基-4-((三异丙基甲硅烷基)氧基)苯甲酰基)-5-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-4,5-二氢-1H-吡咯-3-基)苯基)氨基)-1-氧基丙-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯 (49)

[1859] 在圆底烧瓶中, 在70℃下, 一起加热胺48 (14.913g, 14.6mmol) 和 Boc_2O (3.83g, 17.5mmol)。为了有助于可溶性, 添加 CHCl_3 (25mL) 并搅拌混合物直到反应完成 (通过LCMS加以监测)。在被直接加载到硅胶层析柱 (己烷/ EtOAc ; 100%至65:35) 上以前, 让稠密粗制溶液冷却至室温。分离产物49, 作为奶油色泡沫 (13.2g, 80%产率)。

[1860] $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 8.40 (s, 1H), 8.21 (s, 1H), 7.74 (d, $J=7.8\text{Hz}$, 3H), 7.54 (t, $J=7.0\text{Hz}$, 2H), 7.48 (d, $J=7.7\text{Hz}$, 2H), 7.38 (t, $J=7.4\text{Hz}$, 2H), 7.31-7.25 (m, 3H), 7.14 (d, $J=7.4\text{Hz}$, 2H), 7.08 (t, $J=7.3\text{Hz}$, 1H), 7.01 (d, $J=7.3\text{Hz}$, 1H), 6.94 (d, $J=7.9\text{Hz}$, 1H), 6.71 (s, 1H), 6.27 (d, $J=6.3\text{Hz}$, 1H), 6.08 (s, 1H), 5.11 (d, $J=6.6\text{Hz}$, 1H), 4.69 (bs, 1H), 4.52 (bm, 1H), 4.36 (d, $J=6.5\text{Hz}$, 2H), 4.08 (t, $J=5.9\text{Hz}$, 1H), 3.89 (m, 1H), 3.80 (s, 3H), 3.11-2.97 (bm, 1H), 2.88 (bd, $J=15.2\text{Hz}$, 1H), 2.03 (bs, 1H), 1.33 (d, $J=6.9\text{Hz}$, 3H), 1.24-1.11 (m, 3H), 1.01 (d, $J=7.4\text{Hz}$, 18H), 0.86-0.79 (m, 6H), 0.77 (s, 9H), 0.00 (s, 6H); $\text{ES}^+=2.37$ 分钟, m/z 没有质量。

=6.7Hz, 2H), 6.84 (bs, 1H), 6.80 (s, 1H), 6.50 (d, J=6.4Hz, 1H), 5.28 (d, J=6.0Hz, 1H), 4.77 (d, J=2.6Hz, 1H), 4.70-4.58 (m, 1H), 4.47 (t, J=5.7Hz, 2H), 4.19 (t, J=6.1Hz, 1H), 4.00 (m, 2H), 3.88 (bs, 1H), 3.73 (s, 3H), 3.05 (m, 1H), 2.98 (dd, J=15.4, 3.3Hz, 1H), 2.15 (bm, 1H), 1.46 (s, 9H), 1.43 (d, J=11.7Hz, 3H), 1.36-1.22 (m, 3H), 1.12 (d, J=7.4Hz, 18H), 1.00-0.89 (m, 6H), 0.84 (s, 9H), 0.05 (d, J=6.0Hz, 6H); ES⁺=2.53分钟, 没有质量。

[1861] (v) (9H-苄-9-基) 甲基 ((S)-1-(((S)-1-((4-((S)-1-(2-((叔丁氧基羰基) 氨基)-5-甲氧基-4-((三异丙基甲硅烷基) 氧基) 苯甲酰基)-5-(羟甲基)-4,5-二氢-1H-吡咯-3-基) 苯基) 氨基)-1-氧基丙-2-基) 氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基) 氨基甲酸酯 (50)

[1862] 将甲硅烷基醚49 (13.2g, 11.8mmol) 溶解于AcOH/H₂O/MeOH/THF的7:2:1:1混合物 (220mL) 并在室温下搅拌混合物直到反应完成(留下过夜)。真空除去挥发物并将残留物吸收于EtOAc (400mL)。在经MgSO₄干燥以前用饱和NaHCO₃ (水溶液) (200mL)、H₂O (200mL) 和盐水 (10mL) 来洗涤有机相, 过滤并浓缩(在真空下)。通过硅胶层析 (Hex/EtOAc; 50:50至0:100) 来纯化粗制材料并将纯产物50分离为浅黄色泡沫 (11.168g, 94% 产率)。¹H-NMR (400MHz, CDCl₃) 8.45 (s, 1H), 7.93 (s, 1H), 7.74 (d, J=7.4Hz, 2H), 7.64 (s, 1H), 7.52 (dd, J=17.9, 8.9Hz, 4H), 7.39 (t, J=7.4Hz, 2H), 7.33-7.26 (m, 3H), 7.13 (d, J=7.4Hz, 2H), 6.81 (s, 1H), 6.45 (s, 1H), 5.26 (s, 1H), 4.84 (s, 1H), 4.69-4.58 (m, 1H), 4.47 (d, J=6.2Hz, 2H), 4.43 (s, 1H), 4.17 (d, J=14.2Hz, 1H), 3.99 (s, 1H), 3.89 (s, 2H), 3.74 (s, 3H), 3.30-3.17 (m, 1H), 2.64 (d, J=16.9Hz, 1H), 2.23-2.09 (m, 1H), 1.44 (s, 9H), 1.44 (d, J=10.9Hz, 2H), 1.29 (ddd, J=14.3, 13.0, 7.4Hz, 3H), 1.12 (d, J=7.4Hz, 18H), 0.92 (m, 6H); ES⁺=2.23分钟, 没有质量。

[1863] (vi) (11S)-2-(4-((S)-2-((S)-2-(((9H-苄-9-基) 甲氧基) 羰基) 氨基)-3-甲基丁酰氨基) 丙酰氨基) 苯基)-11-羟基-7-甲氧基-5-氧代-8-((三异丙基甲硅烷基) 氧基)-11,11a-二氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂¹⁰ (5H)-羧酸叔丁酯 (51)

[1864] 在-78℃下, 将DMSO (1.55L, 21.9mmol) 加入草酰氯 (0.89mL, 10.5mmol) 在CH₂Cl₂ (50mL) 中的冷却溶液。在15分钟以后, 将醇50 (8.8mg, 8.76mmol) 在CH₂Cl₂ (100mL) 中的溶液逐滴加入氧化混合物。在添加NEt₃ (6.11mL, 43.8mmol) 以前在-78℃下保持搅拌反应1小时并允许混合物升温至室温。在完成以后, 用CH₂Cl₂ (100mL) 稀释反应混合物, 并用0.1M HCl (水溶液) (250mL)、H₂O (250mL)、饱和NaHCO₃ (水溶液) (250mL) 和盐水 (200mL) 来洗涤上述溶液。用MgSO₄干燥有机物, 过滤并真空除去挥发物。通过硅胶层析 (CH₂Cl₂/EtOAc; 100%至50:50) 来纯化粗制材料以提供纯51, 作为黄色油 (8.8mg, 100%)。¹H-NMR (400MHz, CDCl₃) 8.71 (s, 1H), 7.74 (t, J=8.4Hz, 3H), 7.52 (d, J=7.4Hz, 5H), 7.43-7.33 (m, 4H), 7.23-7.17 (m, 2H), 6.69 (s, 1H), 6.42 (d, J=7.9Hz, 1H), 5.78 (d, J=7.8Hz, 1H), 5.62 (s, 1H), 5.23 (d, J=7.7Hz, 1H), 4.84-4.69 (m, 1H), 4.65 (d, J=22.5Hz, 1H), 4.45-4.29 (m, 2H), 3.91 (dd, J=11.3, 8.1Hz, 1H), 3.86 (s, 3H), 3.28 (q, J=11.9Hz, 1H), 2.98 (t, J=12.6Hz, 1H), 2.14 (dd, J=12.9, 10.0Hz, 1H), 1.52-1.42 (m, 3H), 1.38 (s, 9H), 1.26 (m, 3H), 1.16-1.05 (m, 18H), 0.93 (d, J=6.0Hz, 6H); ES⁺=2.19分钟, 没有质量。

[1865] (vii) (11S)-2-(4-((S)-2-((S)-2-(((9H-苄-9-基) 甲氧基) 羰基) 氨基)-3-甲基丁酰氨基) 丙酰氨基) 苯基)-11-((叔丁基二甲基甲硅烷基) 氧基)-7-甲氧基-5-氧代-8-((三异丙基甲硅烷基) 氧基)-11,11a-二氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂¹⁰

(5H)-羧酸叔丁酯(52)

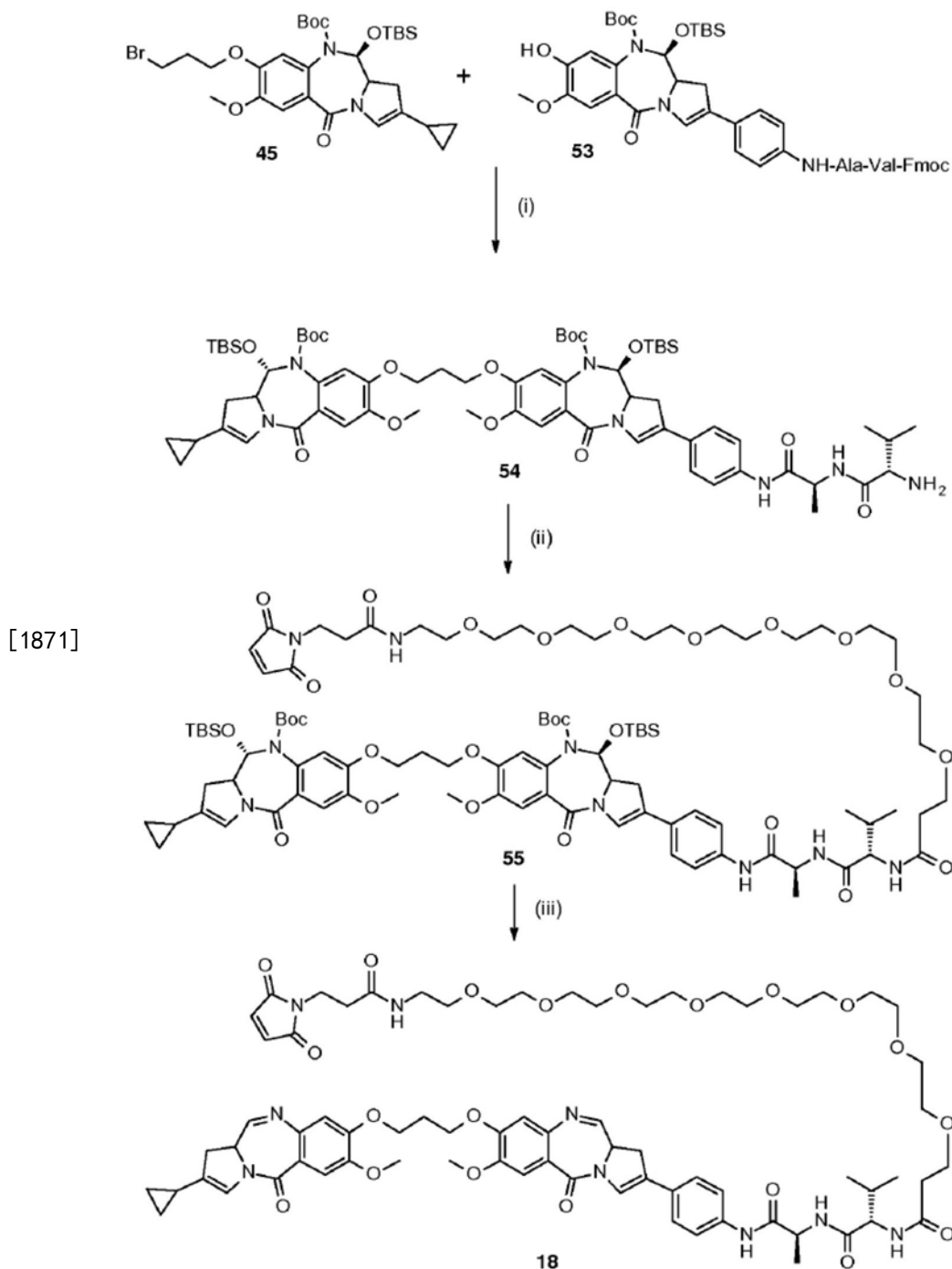
[1866] 在先前用氩气冲洗三次的密封圆底烧瓶中,将醇51(8.8g,8.78mmol)溶解于无水 CH_2Cl_2 (150mL)。在随后添加二甲基吡啶(4mL,35.1mmol)和TBS-OTf(6mL,26.3mmol)以前将溶液冷却至0℃。使反应混合物升温至室温并搅拌直到完成(通过LCMS加以监测)。在完成以后,用 CH_2Cl_2 (100mL)稀释溶液,用饱和 NH_4Cl (水溶液)(150mL)、 H_2O (100mL)、饱和 NaHCO_3 (水溶液)(100mL)和盐水(100mL)加以洗涤。用 MgSO_4 干燥有机物,过滤并真空除去挥发物。通过硅胶层析(己烷/EtOAc:100%至80:20)来纯化粗制材料以提供纯52,作为无色油(6.18mg,70%)。 $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3)

[1867] 8.40(s,1H),7.76(d, $J=7.5\text{Hz}$,2H),7.55(dd, $J=13.0,6.7\text{Hz}$,4H),7.40(t, $J=7.3\text{Hz}$,4H),7.33-7.27(m,3H),7.21(s,1H),6.67(s,1H),6.49(s,1H),5.87(d, $J=8.8\text{Hz}$,1H),5.30(d, $J=5.7\text{Hz}$,1H),4.71-4.59(m,1H),4.48(d, $J=6.8\text{Hz}$,2H),4.20(t, $J=6.7\text{Hz}$,1H),4.04-3.96(m,1H),3.86(s,3H),3.84-3.77(m,1H),3.25(m,1H),2.79(d, $J=1.5\text{Hz}$,1H),2.26-2.11(m,1H),1.46(d, $J=6.9\text{Hz}$,3H),1.33(s,9H),1.27(dd, $J=17.1,9.7\text{Hz}$,3H),1.11(dd, $J=7.4,4.0\text{Hz}$,18H),0.93(s,6H),0.89(s,9H),0.27(s,3H),0.22(s,3H); $\text{ES}^+=2.55\text{min}$, m/z 116.30 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[1868] (viii) (11S)-2-(4-((S)-2-((S)-2-(((9H-茛-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-3-甲基丁酰氨基)丙酰氨基)苯基)-11-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-8-羟基-7-甲氧基-5-氧代-11,11a-二氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂~~草~~10(5H)-羧酸叔丁酯(53)

[1869] 在添加LiOAc(91mg,0.89mmol)以前将单体52(1g,0.89mmol)溶解于湿DMF(5mL+0.5mL H_2O)并在室温下保持搅拌混合物直到完成(≈ 3 小时,通过LCMS加以监测)。随后用EtOAc(50mL)稀释混合物,用柠檬酸(水溶液)(pH=3,40mL)骤冷,然后用 H_2O (50mL)和盐水(50mL)洗涤。经 MgSO_4 干燥有机层,过滤并真空除去挥发物。通过硅胶层析(己烷/EtOAc/MeOH;60:40:0至60:30:10)来纯化粗制产物并将纯产物53分离为奶油色固体(675mg,78%产率)。 $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3) 8.36(s,1H),7.76(d, $J=7.6\text{Hz}$,2H),7.55(dd, $J=16.0,7.5\text{Hz}$,4H),7.40(t, $J=7.4\text{Hz}$,4H),7.30(ddd, $J=14.7,7.4,1.1\text{Hz}$,3H),7.24(s,1H),6.72(s,1H),6.38(d, $J=5.3\text{Hz}$,1H),5.87(s,1H),5.23(d, $J=6.2\text{Hz}$,1H),4.69-4.57(m,1H),4.49(d, $J=6.6\text{Hz}$,2H),4.20(t, $J=5.3\text{Hz}$,1H),4.04-3.96(m,1H),3.96(s,3H),3.87(dd, $J=10.1,3.5\text{Hz}$,1H),3.29(dd, $J=18.0,8.5\text{Hz}$,1H),2.80(d, $J=19.4\text{Hz}$,1H),2.24-2.08(m,1H),1.46(d, $J=10.5\text{Hz}$,3H),1.33(s,9H),1.00-0.91(m,6H),0.90(s,9H),0.25(d, $J=8.6\text{Hz}$,6H); $\text{ES}^+=2.08\text{min}$, m/z 960.35 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[1870] (d) N-((2S)-1-(((2S)-1-((4-(8-(3-((2-环丙基-7-甲氧基-5-氧代-5,11a-二氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂~~草~~-8-基)氧基)丙氧基)-7-甲氧基-5-氧代-5,11a-二氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂~~草~~-2-基)苯基)氨基)-1-氧基丙-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)-1-(3-(2,5-二氧-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酰氨基)-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂二十七烷-27-酰胺(18)



通过硅胶层析($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$; 100%至98:2)来纯化粗制材料并将纯产物54分离为白色固体(280.3mg, 46%产率)。 $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3) 8.93 (s, 1H), 7.85 (d, $J=7.6\text{Hz}$, 1H), 7.52 (d, $J=8.6\text{Hz}$, 2H), 7.40 (s, 1H), 7.28 (d, $J=8.6\text{Hz}$, 2H), 7.19 (s, 2H), 6.69 (s, 1H), 6.63 (s, 1H), 6.61 (s, 1H), 5.90 (d, $J=9.3\text{Hz}$, 1H), 5.81 (d, $J=5.5\text{Hz}$, 1H), 4.60 (p, $J=7.1\text{Hz}$, 1H), 4.20 (dd, $J=15.9, 11.1\text{Hz}$, 4H), 3.88 (s, 3H), 3.87 (s, 3H), 3.84 (dd, $J=6.3, 4.5\text{Hz}$, 1H), 3.68 (td, $J=10.2, 3.7\text{Hz}$, 1H), 3.38-3.22 (m, 2H), 2.89-2.73 (m, 2H), 2.48-2.26 (m, 4H), 1.47 (d, $J=7.0\text{Hz}$, 3H), 1.42 (m, 1H), 1.30 (s, 18H), 1.02 (d, $J=7.0\text{Hz}$, 3H), 0.89 (s, 9H), 0.86 (s, 10H), 0.84 (s, 6H), 0.72 (dd, $J=8.1, 3.3\text{Hz}$, 2H), 0.57-0.50 (m, 1H), 0.45 (m, 1H), 0.28-0.20 (m, 12H); $\text{ES}^+=2.16\text{min}$, m/z 1297.55 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。

[1874] (ii) (11S)-8-(3-(((11S)-10-(叔丁氧基羰基)-11-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-2-(4-((2S,5S)-37-(2,5-二氧-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-5-异丙基-2-甲基-4,7,35-三氧-10,13,16,19,22,25,28,31-八氧杂-3,6,34-三氮杂庚三十烷酰氨基)苯基)-7-甲氧基-5-氧代-5,10,11,11a-四氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂~~草~~8-基)氧基)丙氧基)-11-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-2-环丙基-7-甲氧基-5-氧代-11,11a-二氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂~~草~~-10(5H)-羧酸叔丁酯(55)

[1875] 在先前用氩气冲洗三次的干燥的圆底烧瓶中,将二聚体54(270mg, 0.021mmol)溶解于无水 CH_2Cl_2 (6mL)。随后将EDCI盐酸盐(40mg, 0.021mmol)和马来酰亚胺-PEG₈-OH(123mg, 0.021mmol)加入溶液,在室温下对其保持搅拌直到完成(≈ 1 小时,通过LCMS加以监测)。在完成以后,用 CH_2Cl_2 (50mL)稀释反应,并在经 MgSO_4 干燥以前用 H_2O (50mL)和盐水(50mL)来洗涤有机相,过滤并在减压下通过旋转蒸发来除去挥发物。通过硅胶层析($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 100%至97:3)来纯化粗制材料并将纯产物55分离为浅黄色泡沫(318.8mg, 82%产率)。 $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3) 8.64 (s, 1H), 7.69 (d, $J=15.0\text{Hz}$, 2H), 7.39 (s, 1H), 7.28 (d, $J=15.0\text{Hz}$, 2H), 7.26 (s, 1H), 7.22 (s, 1H), 7.20 (s, 1H), 7.03 (d, $J=4.5\text{Hz}$, 1H), 6.92 (d, $J=7.5\text{Hz}$, 1H), 6.69 (s, 2H), 6.65 (s, 1H), 6.63 (s, 1H), 6.37 (t, $J=4.7\text{Hz}$, 1H), 5.89 (d, $J=6.8\text{Hz}$, 1H), 5.81 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 1H), 4.67 (p, $J=7.2\text{Hz}$, 1H), 4.27-4.12 (m, 5H), 3.88 (s, 3H), 3.87 (s, 3H), 3.84 (t, $J=5.6\text{Hz}$, 1H), 3.73-3.56 (m, 46H), 3.53 (t, $J=5.0\text{Hz}$, 1H), 3.41 (dd, $J=10.3, 5.2\text{Hz}$, 1H), 3.35-3.22 (m, 1H), 2.90-2.74 (m, 1H), 2.67 (ddd, $J=13.6, 9.2, 4.1\text{Hz}$, 1H), 2.52 (t, $J=7.2\text{Hz}$, 1H), 2.48-2.45 (m, 1H), 2.45-2.37 (m, 1H), 2.37-2.22 (m, 1H), 2.02 (t, $J=9.0\text{Hz}$, 1H), 1.45 (d, $J=7.1\text{Hz}$, 3H), 1.42-1.37 (m, 1H), 1.30 (s, 9H), 0.99 (s, 6H), 0.89 (s, 9H), 0.86 (s, 9H), 0.78-0.67 (m, 2H), 0.58-0.49 (m, 1H), 0.48-0.42 (m, 1H), 0.28-0.20 (m, 12H); $\text{ES}^+=2.15\text{min}$, m/z 1891.60 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。

[1876] (iii) N-((2S)-1-(((2S)-1-((4-(8-(3-((2-环丙基-7-甲氧基-5-氧代-5,11a-二氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂~~草~~8-基)氧基)丙氧基)-7-甲氧基-5-氧代-5,11a-二氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂~~草~~2-基)苯基)氨基)-1-氧基丙-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)-1-(3-(2,5-二氧-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酰氨基)-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂二十七烷-27-酰胺(18)

[1877] 将二聚体55(318mg, 0.017mmol)溶解于干 H_2O (160 μL)并在添加TFA(4mL)以前将浆料冷却至0 $^\circ\text{C}$,然后搅拌混合物直到完成(≈ 20 分钟,通过LCMS加以监测)。在完成以后,用

CH_2Cl_2 (50mL) 稀释反应,并在经 MgSO_4 干燥以前用冰冷 NaHCO_3 (2 x 50mL)、 H_2O (50mL) 和盐水 (50mL) 来洗涤有机相,过滤并真空除去挥发物。通过反相制备型HPLC ($\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN}$, 见以下条件) 来直接纯化粗制材料并将纯产物18分离为黄色固体 (61mg, 26% 产率)。 $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 8.76 (s, 1H), 7.88 (d, $J=3.9\text{Hz}$, 1H), 7.78 (d, $J=4.0\text{Hz}$, 1H), 7.75 (d, $J=8.7\text{Hz}$, 2H), 7.51-7.48 (m, 2H), 7.43 (s, 1H), 7.33 (d, $J=8.6\text{Hz}$, 2H), 7.20 (s, 1H), 7.15 (s, 1H), 6.86 (s, 1H), 6.84 (s, 1H), 6.74 (s, 1H), 6.68 (s, 2H), 6.62 (s, 1H), 4.69 (p, $J=7.1\text{Hz}$, 1H), 4.41-4.24 (m, 5H), 4.24-4.16 (m, 2H), 3.93 (s, 3H), 3.92 (s, 3H), 3.83 (t, $J=7.2\text{Hz}$, 4H), 3.67-3.56 (m, 33H), 3.55-3.49 (m, 1H), 3.39 (dt, $J=14.0, 7.0\text{Hz}$, 1H), 3.10 (dd, $J=15.0, 11.6\text{Hz}$, 1H), 2.89 (dd, $J=16.9, 3.6\text{Hz}$, 1H), 2.75-2.64 (m, 1H), 2.51 (t, $J=7.2\text{Hz}$, 2H), 2.48-2.44 (m, 1H), 2.44-2.38 (m, 1H), 2.28 (dt, $J=13.3, 6.8\text{Hz}$, 1H), 1.47 (s, 1H), 1.46 (d, $J=7.1\text{Hz}$, 3H), 1.02 (dd, $J=10.7, 6.9\text{Hz}$, 6H), 0.82-0.72 (m, 2H), 0.55 (q, $J=5.2\text{Hz}$, 2H). $\text{ES}^+ = 1.39\text{min}$, m/z 1404.45 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[1878] 实施例8:释放化合物的活性

[1879] K562测定

[1880] 在37°C下并在包含5% CO_2 的加湿气氛中,将K562人慢性髓性白血病细胞维持在补充有10%胎牛血清和2mM谷氨酰胺的RPMI 1640培养基中,并在37°C下和在黑暗中用特定剂量的药物温育1小时或96小时。通过离心 (5分钟, 300g) 来终止温育,并用无药物培养基洗涤细胞一次。在适当的药物处理以后,将细胞转移到96孔微量滴定板 (10^4 个细胞/孔, 8孔/样品)。然后在37°C下在包含5% CO_2 的加湿气氛中将滴定板保持在黑暗中。上述测定是基于活细胞将黄色可溶性四唑盐, 3-(4,5-二甲基噻唑-2-基)-2,5-二苯基-2H-溴化四唑 (MTT, Aldrich-Sigma), 还原成不溶性紫色甲臞沉淀物的能力。在滴定板的温育4天 (以允许对照细胞的数目增加约10倍) 以后,将20 μL 的MTT溶液 (5mg/mL, 在磷酸盐缓冲盐水中) 加入每个孔并进一步温育滴定板5小时。然后在300g下离心滴定板5分钟并且培养基的大部分吸移自细胞沉淀物,从而留下10-20 μL /孔。将DMSO (200 μL) 加入每个孔并搅拌样品以确保完全混合。然后用Titertek Multiscan ELISA平板读数器在550nm的波长处读出光密度,并构建剂量反应曲线。对于每个曲线, IC_{50} 值读为将最终光密度减小至对照值的50%所需要的剂量。

[1881] 在此测定中,化合物RelC具有小于0.1pM的 IC_{50} 。

[1882] 实施例9:结合物的形成

[1883] 一般抗体结合程序

[1884] 在还原缓冲液 (实例:磷酸盐缓冲盐水PBS、组氨酸缓冲液、硼酸钠缓冲液、TRIS缓冲液) 中将抗体稀释至1-5mg/mL。添加新鲜制备的TCEP (三 (2-羧基乙基) 膦盐酸盐) 的溶液以选择性地减少半胱氨酸二硫桥。TCEP的量正比于减少的目标水平,在1至4摩尔当量/抗体内,从而产生2至8个反应性巯基。在37°C下减少若干小时以后,将混合物冷却至室温并添加过量药物-接头 (A、B、C), 作为稀DMSO溶液 (最终DMSO含量为高达10%体积/体积的反应混合物)。在4°C或室温下轻轻摇动混合物适当的时间,通常为1-3小时。过量反应性巯基可以与‘巯基封端试剂’反应,如在结合的末端处的N-乙基马来酰亚胺 (NEM)。利用离心旋转过滤器并借助于10kDa或更高的分子量截止来浓缩抗体-药物结合物,然后通过切向流过滤 (TFF) 或快速蛋白质液相层析 (FPLC) 加以纯化。可以通过分析,通过高效液相色谱法 (HPLC) 或超高效液相色谱法 (UHPLC) 来确定相应的抗体-药物结合物,以评估药物/抗体比率 (DAR), 其

中利用反相层析(RP)或疏水相互作用色谱(HIC),其与紫外-可见光、荧光或质谱仪检测耦合;可以通过HPLC或UHPLC来分析合计水平(聚集水平)和单体纯度,其中利用与紫外-可见光、荧光或质谱仪检测耦合的尺寸排阻色谱。通过分光镜测定(在280、214和330nm处的吸光度)和生物化学测定(二喹啉甲酸测定BCA;Smith,P.K.,et al.(1985)Anal.Biochem.150(1):76-85;利用已知浓度IgG抗体作为参比物)的组合来确定最终结合物浓度。通常利用0.2μm过滤器并在无菌条件下来无菌过滤抗体-药物结合物,并存储在+4℃、-20℃或-80℃。

[1885] 以下描述特定结合的实施例。

[1886] ADC1A

[1887] 将抗体1(15mg,100纳摩尔)稀释进入13.5mL的还原缓冲液,其包含10mM硼酸钠pH 8.4、2.5mM EDTA和1.1mg/mL的最终抗体浓度。添加TCEP的20mM溶液(2摩尔当量/抗体,200纳摩尔,10L)并在轨道恒温箱(orbital incubator)中在37℃下加热还原混合物1小时。在冷却至室温以后,添加A作为DMSO溶液(5摩尔当量/抗体,510纳摩尔,在1.2mL DMSO中)。在室温下混合溶液3小时,然后通过添加N-乙基马来酰亚胺(NEM,10摩尔当量,1000纳摩尔,100μL,10mM)加以骤冷,然后转移到15mL Amicon Ultracell 50kDa MWC0旋转过滤器,浓缩至约2.0mL并注入AKTA™FPLC,其中利用填充有Superdex 200 PG的GE Healthcare XK16/70柱,用1.5mL/分钟的无菌过滤的磷酸盐缓冲盐水(PBS)进行洗脱。汇集、分析和无菌过滤对应于ADC1A单体峰的馏分。BCA测定给出最终ADC1A的浓度为在10.0mL中的1.25mg/mL,并且获得的质量是12.5mg(83%产率)。用Shimadzu Prominence系统,其中利用Agilent PLRP-S 1000 A 8μm 150 x 2.1mm柱(用水和乙腈的梯度,对ADC1A的减少的样品进行洗脱),在280nm和330nm(药物-接头特异的)处进行的HPLC分析表明,连接于A的若干分子的轻链和重链的混合物与2.5分子A/抗体的药物/抗体比率(DAR)一致。用AKTA™FPLC对ADC1A的样品在280nm处进行的SEC分析,其中利用GE Healthcare XK16/70柱,其填充有Superdex 200 PG,并用无菌过滤的磷酸盐缓冲盐水(PBS)加以洗脱,表明99.4%的单体纯度,并具有0.6%聚集。

[1888] ADC1B

[1889] 将抗体1(15mg,100纳摩尔)稀释进入13.5mL的还原缓冲液,其包含10mM硼酸钠pH 8.4、2.5mM EDTA和1.1mg/mL的最终抗体浓度。添加TCEP的10mM溶液(3摩尔当量/抗体,300纳摩尔,30L)并在轨道恒温箱中在37℃下加热还原混合物两小时。在冷却至室温以后,添加B作为DMSO溶液(7摩尔当量/抗体,700纳摩尔,在1.0mL DMSO中)。在室温下混合溶液3小时,然后转移到15mL Amicon Ultracell 50kDa MWC0旋转过滤器,浓缩至约2.0mL并注入AKTA™FPLC,其中利用GE Healthcare XK16/70柱,其填充有Superdex 200 PG,用1.5mL/分钟的无菌过滤的磷酸盐缓冲盐水(PBS)加以洗脱。汇集、分析和无菌过滤对应于ADC1B单体峰的馏分。BCA测定给出最终ADC1B的浓度为1.57mg/mL,在6.3mL中,并且获得的质量是9.9mg(66%产率)。用Shimadzu Prominence系统,其中利用Agilent PLRP-S 1000 A 8μm 150 x 2.1mm柱,其用水和乙腈的梯度加以洗脱,对ADC1B的减少的样品,在280nm和330nm(药物-接头特异的)处的HPLC分析表明,连接于B的若干分子的轻链和重链的混合物与2.8分子B/抗体的药物/抗体比率(DAR)一致。用AKTA™FPLC,其中利用GE Healthcare XK16/70柱,其填充有Superdex200 PG,其用无菌过滤的磷酸盐缓冲盐水(PBS)加以洗脱,对ADC1B的样品在280nm处的SEC分析表明单体纯度为96.6%,并具有3.4%聚集。

[1890] ADC1C

[1891] 将抗体1 (1.0mg, 6.7纳摩尔) 稀释进入0.9mL的还原缓冲液, 其包含10mM硼酸钠pH 8.4、2.5mM EDTA和1.1mg/mL的最终抗体浓度。添加TCEP的1mM溶液 (3摩尔当量/抗体, 300纳摩尔, 30μL), 然后在轨道恒温箱中在37℃下加热还原混合物1.5小时。在冷却至室温以后, 添加C作为DMSO溶液 (10摩尔当量/抗体, 67纳摩尔, 在0.1mL DMSO中)。在室温下混合溶液3小时, 然后通过添加N-乙基马来酰亚胺 (NEM, 37摩尔当量, 250纳摩尔, 10μL, 25mM) 加以骤冷, 然后注入AKTA™FPLC, 其中利用GE Healthcare XK16/70柱, 其填充有Superdex 200 PG, 用1.5mL/分钟的无菌过滤的磷酸盐缓冲盐水 (PBS) 加以洗脱。汇集对应于ADC1C单体峰的馏分, 转移到15mL Amicon Ultracell 50KDa MWC0旋转过滤器, 浓缩至约1.0mL, 分析并无菌过滤。BCA测定给出最终ADC1C的浓度为0.63mg/mL, 在1.0mL中, 获得的质量是0.63mg (63%产率)。用Shimadzu Prominence系统, 并利用Agilent PLRP-S 1000A 8um 150x 2.1mm柱 (用水和乙腈的梯度进行洗脱), 对ADC1C的减少的样品在280nm和330nm (药物-接头特异的) 处进行的UHPLC分析表明, 连接于C的若干分子的轻链和重链的混合物与2.9分子C/抗体的药物/抗体比率 (DAR一致)。用AKTA™FPLC并利用GE Healthcare XK16/70柱, 其填充有Superdex 200 PG, 并用无菌过滤的磷酸盐缓冲盐水 (PBS) 进行洗脱, 对ADC1C的样品在280nm处的SEC分析表明, 单体纯度为99.0%并具有1.0%聚集。

[1892] ADC2A

[1893] 将抗体2 (15mg, 100纳摩尔) 稀释进入13.5mL的还原缓冲液, 其包含10mM硼酸钠pH 8.4、2.5mM EDTA和1.1mg/mL的最终抗体浓度。添加TCEP的40mM溶液 (3摩尔当量/抗体, 300纳摩尔, 7.5μL), 然后在轨道恒温箱中在37℃下加热还原混合物1小时。在冷却至室温以后, 添加A作为DMSO溶液 (7摩尔当量/抗体, 700纳摩尔, 在1.0mL DMSO中)。在室温下混合溶液2.5小时, 然后通过添加N-乙基马来酰亚胺 (NEM, 30摩尔当量, 3000纳摩尔, 100μL, 30mM) 加以骤冷, 然后转移到15mL Amicon Ultracell 50KDa MWC0旋转过滤器, 浓缩至约2.0mL并注入AKTA™FPLC, 其中利用GE Healthcare XK16/70柱, 其填充有Superdex 200 PG, 并用1.5mL/分钟的无菌过滤的磷酸盐缓冲盐水 (PBS) 进行洗脱。汇集对应于ADC2A单体峰的馏分, 利用15mL Amicon Ultracell 50KDa MWC0旋转过滤器加以浓缩, 分析并无菌过滤。BCA测定给出最终ADC2A的浓度为3.94mg/mL, 在2.7mL中, 获得的质量是10.6mg (71%产率)。用Shimadzu Prominence系统, 并利用Agilent PLRP-S 1000 A 8um 150 x 2.1mm柱 (用水和乙腈的梯度进行洗脱), 对ADC2A的减少的样品在280nm和330nm (药物-接头特异的) 处的UHPLC分析表明, 连接于A的若干分子的轻链和重链的混合物与2.4分子A/抗体的药物/抗体比率 (DAR) 一致。用Shimadzu Prominence系统并利用Waters Acquity UPLC BEH200 SEC 1.7um 4.6 x 150mm柱 (用无菌过滤的磷酸盐缓冲盐水 (PBS) 进行洗脱), 对ADC2A的样品在280nm处的UHPLC分析表明, 单体纯度为97.5%并具有1.9%聚集。

[1894] 如在本文中所使用的, “抗体1”是抗Her2抗体, 该抗体包含VH域, 其具有按照SEQ ID NO.1的序列, 以及VL域, 其具有按照SEQ ID NO.2的序列。

[1895] 如在本文中所使用的, “抗体2”是抗CD25抗体 (“Simulect”), 该抗体包含VH域, 其具有按照SEQ ID NO.3的序列, 以及VL域, 其具有按照SEQ ID NO.4的序列。

[1896] 实施例10: 体外ADC效力研究

[1897] 用如上所述的细胞毒性测定来评估ADC2A的细胞毒性, 并且结果示于图1。○表示

抗原表达细胞系 (SU-DHL-1 细胞, 来自 Leibniz Institute DSMZ-German Collection of Microorganisms and Cell Cultures), 以及 ▲ 表示抗原非表达细胞系 (Daudi 细胞, 来自美国典型培养物保藏中心), 以及误差棒表示 ± 标准差。

[1898] 实施例 11: 体内 ADC 效力研究

[1899] 对 8-12 周龄的 CB.17 SCID 小鼠的肋腹皮下注射源自 BT-474 细胞系的 1mm³ 肿瘤片段。当肿瘤达到 100-150mg 的平均尺寸时, 开始治疗。每周称重小鼠两次。每周测量肿瘤尺寸两次。单独地监测动物。实验的终点是肿瘤体积达到 1000mm³ 或 60 天, 以先到者为准。可以随访应答者更长时间。

[1900] 对 10 只异种移植小鼠的组 i.v. 注射 0.2ml 的在磷酸盐缓冲盐水 (载体) 中的抗体药物结合物 (ADC)、或裸抗体, 或注射单独的 0.2ml 载体。调节 ADC 的浓度以单剂量产生, 例如, 0.3 或 1.0mg ADC/kg 体重。可以例如 1 周的间隔将三个相同的剂量给予每只小鼠。

[1901] 图 2 示出在 10 只小鼠的组中 ADC1A 剂量为 0.3 (黄色) 或 1.0mg/kg (紫色) 对平均肿瘤体积的影响, 并与载体 (黑色) 或裸抗体 (蓝色) 对照比较。

[1902] 图 3 示出在 10 只小鼠的组中 ADC1B 剂量为 0.3 (灰色) 或 1.0mg/kg (紫色) 对平均肿瘤体积的影响, 并与载体 (黑色) 或裸 Ig (蓝色) 对照比较。

[1903] 上文提及的所有文献和其它参考文献均以引用方式结合于本文。

[1904] 缩略语 (缩写)

[1905] Ac 乙酰基

[1906] AcM 乙酰氨基甲基

[1907] Alloc 烯丙氧基羰基

[1908] Boc 二碳酸二叔丁酯

[1909] t-Bu 叔丁基

[1910] Bzl 苄基, 其中 Bzl-OMe 是甲氧基苄基以及 Bzl-Me 是甲苯

[1911] Cbz 或 Z 苄氧基-羰基, 其中 Z-Cl 和 Z-Br 分别是氯-和溴苄氧基羰基

[1912] DMF N,N-二甲基甲酰胺

[1913] Dnp 二硝基苯基

[1914] DTT 二硫苏糖醇

[1915] Fmoc 9H-芴-9-基甲氧基羰基

[1916] imp N-10 亚胺保护基团: 3-(2-甲氧基乙氧基) 丙酸酯-Val-Ala-PAB

[1917] MC-OSu 马来酰亚氨基己酰基-O-N-琥珀酰亚胺

[1918] Moc 甲氧基羰基

[1919] MP 马来酰亚氨基丙酰胺

[1920] Mtr 4-甲氧基-2,3,6-三甲基苯磺酰基

[1921] PAB 对氨基苄氧基羰基

[1922] PEG 乙烯氧基

[1923] PNZ 氨基甲酸对硝基苄酯

[1924] Psec 2-(苯基磺酰基) 乙氧基羰基

[1925] TBDMS 叔丁基二甲基甲硅烷基

[1926] TBDPS 叔丁基二苯基甲硅烷基

- [1927] Teoc 2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基羰基
- [1928] Tos 甲苯磺酰基
- [1929] Troc 2,2,2-三氯乙氧基羰基氯化物
- [1930] Trt 三苯甲基
- [1931] Xan 咕吨基
- [1932] 序列
- [1933] SEQ ID NO.1 (Her VH) :
- [1934] EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFT
ISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSS
- [1935] SEQ ID NO.2 (Her VL) :
- [1936] DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGRSGT
DFTLTISLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIK
- [1937] SEQ ID NO.3 (舒莱VH) :
- [1938] QLQQSGTVLARPGASVKMSCKASGYSFTRYWMHWIKRPGQGLEWIGAIYPGNSDTSYNQKFEGKAKLT
AVTSASTAYMELSSLTHEDSAVYYCSRDYGYFFDFWGQGTTLTVS
- [1939] SEQ ID NO.4 (舒莱VL) :
- [1940] QIVSTQSPAISASPGEKVTMTCSASSRSYMQWYQQKPGTSPKRWIYDTSKLASGVPARFSGSGSGT
SYSLTISSMEAEDAATYYCHQRSSYTFGGGTKLEIK。

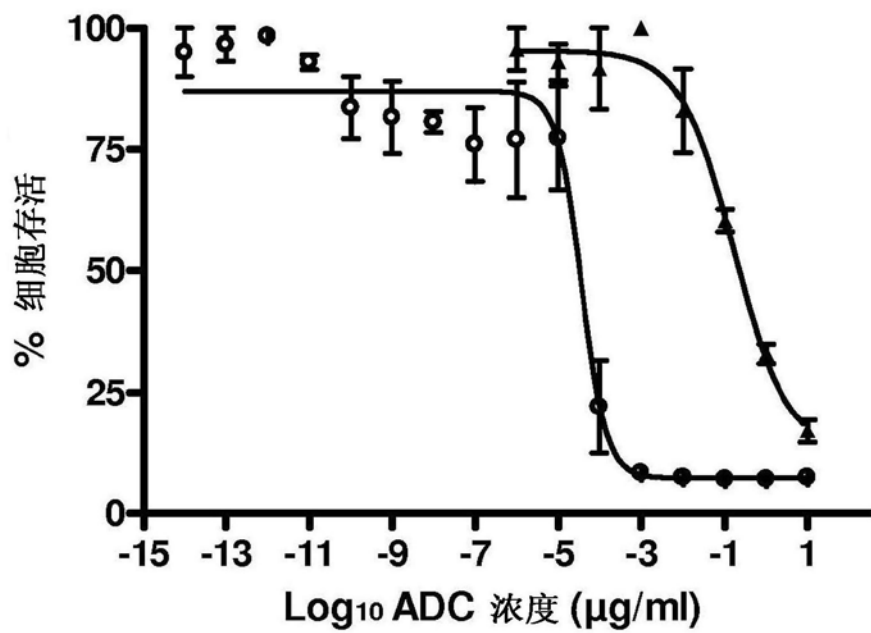


图1

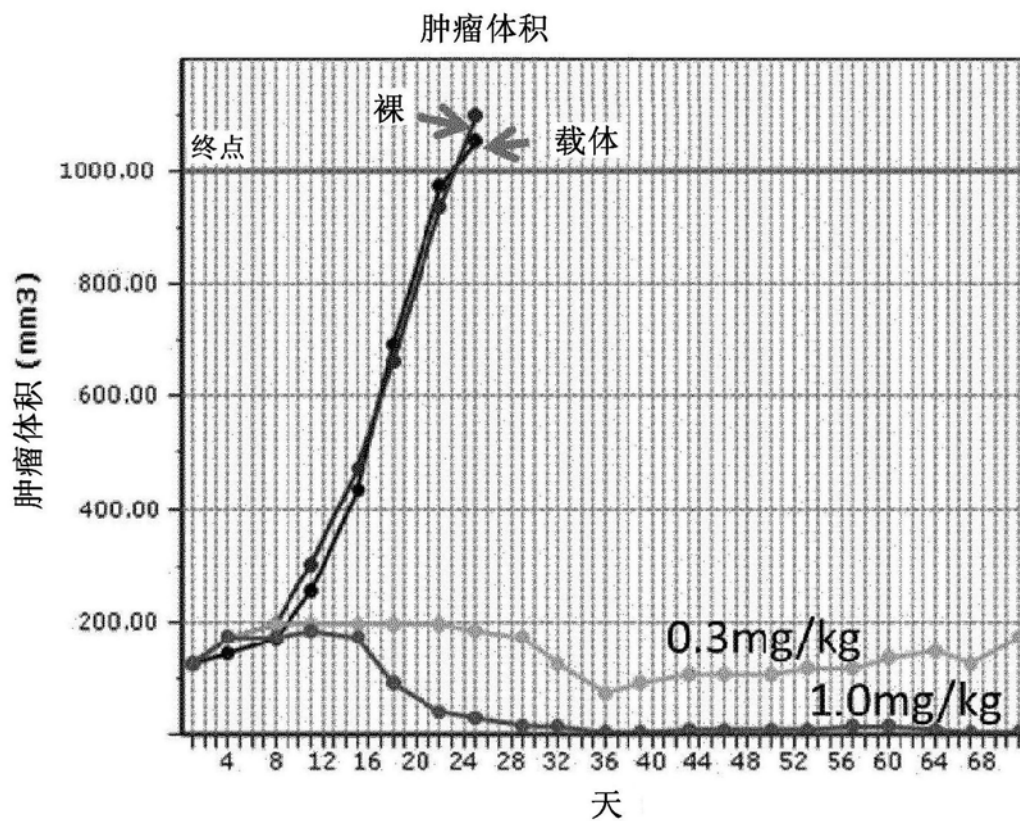


图2

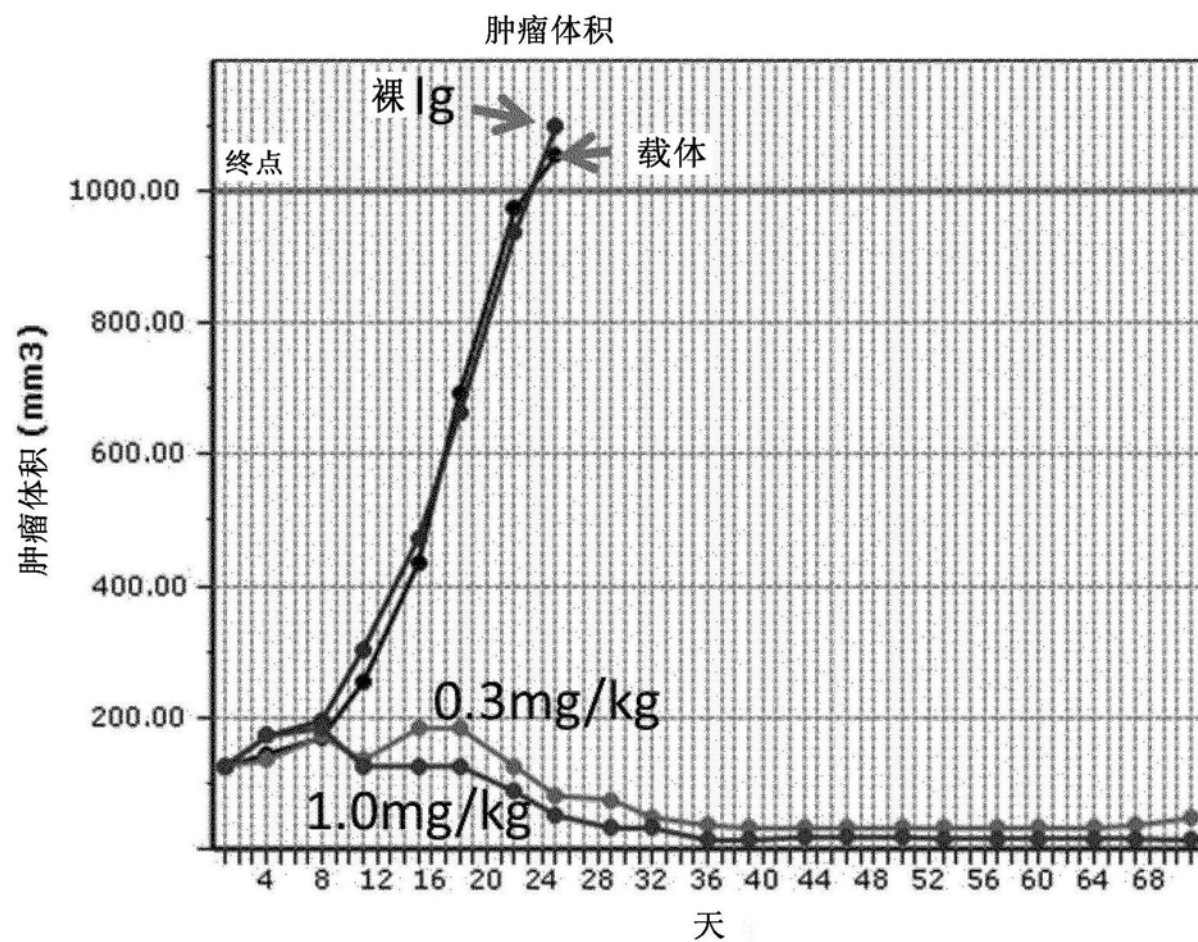


图3