(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 119613486 A
(43)申请公布日 2025.03.14

(21)申请号 202411876882.8

(22)申请日 2020.05.19

(30)优先权数据
62/850,094 2019.05.20 US

(62)分案原申请数据
202080036837.5 2020.05.19

(71)申请人 诺华股份有限公司
地址 瑞士

(72)发明人 陈卓亮 中岛胜正 M·T·伯格 J·A·达莱西奥 E·麦克尼尔 M·G·巴勒莫 余冰 Q·张

(74)专利代理机构 北京市中咨律师事务所 11247
专利代理师 张朔 黄革生

(51)Int.Cl.
C07K 5/062(2006.01)
A61K 47/68(2017.01)
A61K 47/60(2017.01)
A61K 47/61(2017.01)
A61P 35/00(2006.01)
A61K 47/54(2017.01)
C07K 16/28(2006.01)

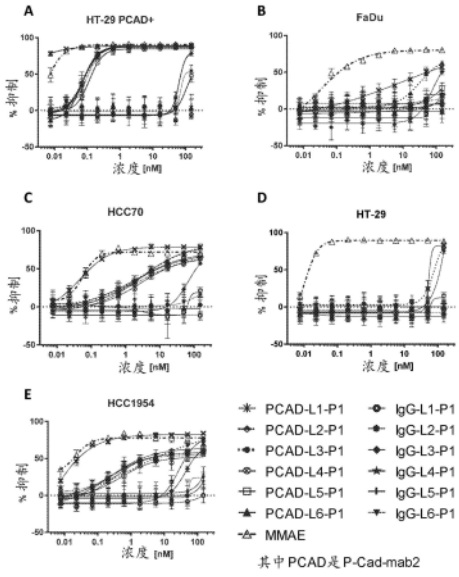
权利要求书47页 说明书239页
序列表（电子公布） 附图4页

(54)发明名称

具有包含亲水性基团的接头的抗体药物缀合物

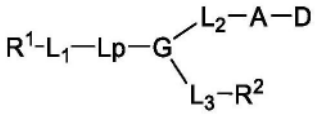
(57)摘要

本文提供了包含亲水性基团的接头、接头-药物基团和抗体-药物缀合物。



CN 119613486 A

1.一种具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐：



式(I)

其中：

R^1是反应性基团；

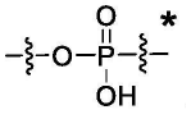
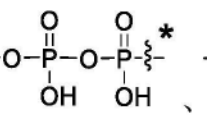
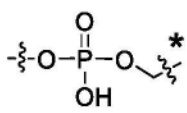
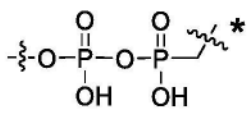
L_1是桥联间隔子；

Lp是二价肽间隔子；

G-L_2-A是自杀式间隔子；

R^2是亲水性部分；

L_2是键、亚甲基、新亚戊基或C_2-C_3亚烯基；

A是键、-OC(=O)-*、、、、、-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-*或-OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-*，其中每个R^a独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基并且所述A的*指示与D的附接点；

L_3是间隔子部分；

并且

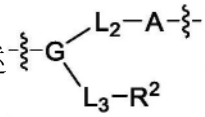
D是包含N或O的药物部分，其中D经由从A到所述药物部分的N或O的直接键连接至A。

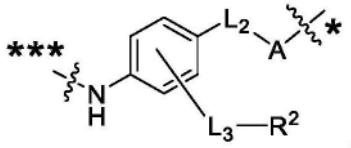
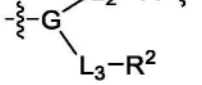
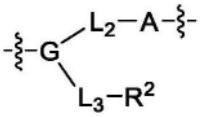
2.如权利要求1所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐，其中：

R^1是反应性基团；

L_1是桥联间隔子；

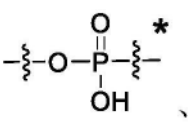
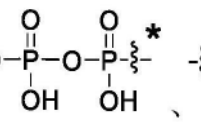
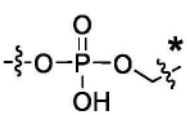
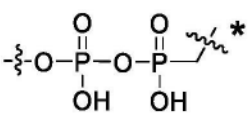
Lp是包含一个至四个氨基酸残基的二价肽间隔子；

所述基团选自：

，其中的*指示与所述药物部分的N或O的附接点，的***指示与Lp的附接点；

R^2是亲水性部分；

L_2是键、亚甲基、新亚戊基或C_2-C_3亚烯基；

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

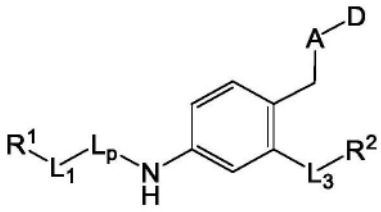
中每个R^a独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基并且所述A的*指示与D的附接点；

L_3是间隔子部分；

并且

D是包含N或O的药物部分，其中D经由从A到所述药物部分的N或O的直接键连接至A。

3.一种具有式(II)的化合物或其药学上可接受的盐，其为具有式(II)的结构的化合物或其药学上可接受的盐，



式(II)

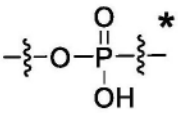
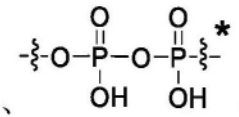
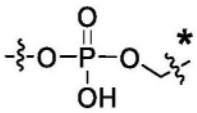
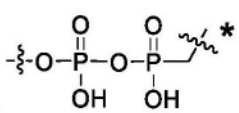
其中：

R^1是反应性基团；

L_1是桥联间隔子；

Lp是包含一个至四个氨基酸残基的二价肽间隔子；

R^2是亲水性部分；

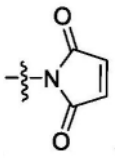
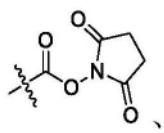
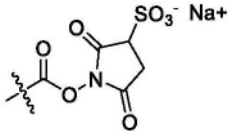
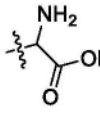
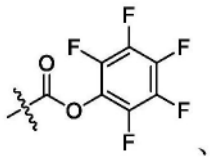
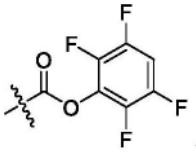
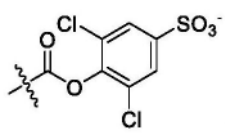
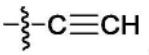
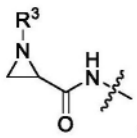
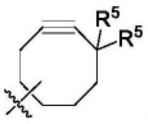
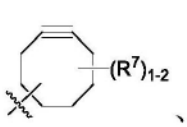
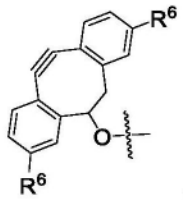
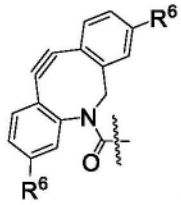
A是键、-OC(=O)-*、、、、、-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-*或-OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-*，其中每个R^a独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基并且所述A的*指示与D的附接点；

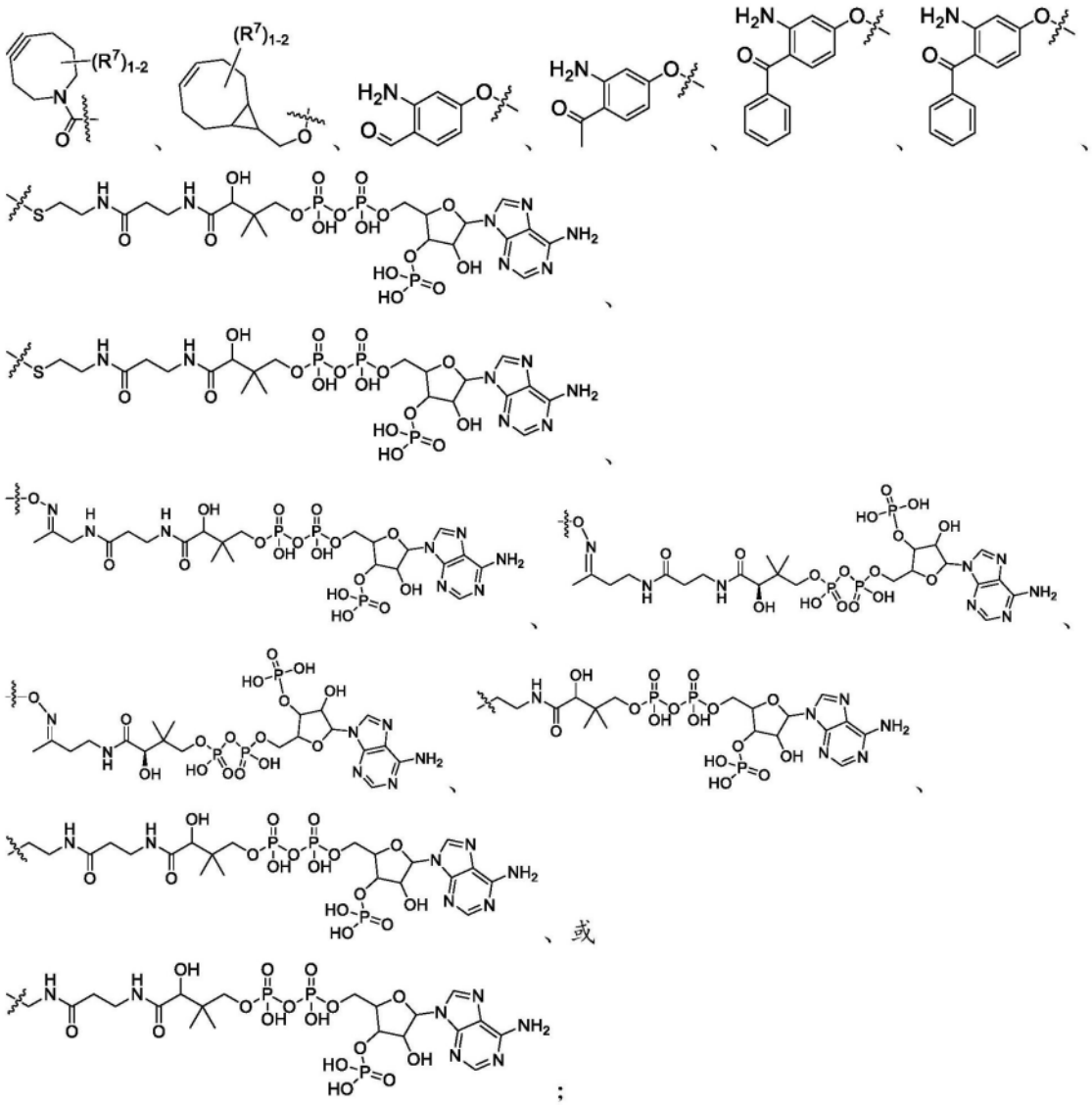
L_3是间隔子部分；

并且

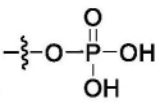
D是包含N或O的药物部分，其中D经由从A到所述药物部分的N或O的直接键连接至A。

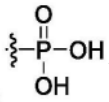
4.如权利要求1至3中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐，其中：

R^1是、-ONH$_2$、-NH$_2$、、、、、、、-N_3、、-SH、-SR^3、-SSR^4、-S(=O)$_2$(CH=CH_2)、-(CH_2)$_2$S(=O)$_2$(CH=CH_2)、-NHS(=O)$_2$(CH=CH_2)、-NHC(=O)CH_2Br、-NHC(=O)CH_2I、、-C(O)$NHNH_2$、、、、、



L_1是*-C(=O)$(CH_2)_m$O$(CH_2)_m$-**;*-C(=O)$((CH_2)_m$O$)_t(CH_2)_n$-**;*-C(=O)$(CH_2)_m$-**;*-C(=O)NH$((CH_2)_m$O$)_t(CH_2)_n$-**;*-C(=O)O$(CH_2)_m$SSC$(R^3)_2(CH_2)_m$C(=O)N$R^3(CH_2)_m$NR^3C(=O)$(CH_2)_m$-**;*-C(=O)O$(CH_2)_m$C(=O)NH$(CH_2)_m$-**;*-C(=O)$(CH_2)_m$NH$(CH_2)_m$-**;*-C(=O)$(CH_2)_m$NH$(CH_2)_n$C(=O)-**;*-C(=O)$(CH_2)_m$$X_1(CH_2)_m$-**;*-C(=O)$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$$X_1(CH_2)_n$-**;*-C(=O)$(CH_2)_m$NHC(=O)$(CH_2)_n$-**;*-C(=O)$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$NHC(=O)$(CH_2)_n$-**;*-C(=O)$(CH_2)_m$NHC(=O)$(CH_2)_n$$X_1(CH_2)_n$-**;*-C(=O)$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$NHC(=O)$(CH_2)_n$$X_1(CH_2)_n$-**;*-C(=O)$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$C(=O)NH$(CH_2)_m$-**;*-C(=O)$(CH_2)_mC(R^3)_2$-**或*-C(=O)$(CH_2)_m$C(=O)NH$(CH_2)_m$-**,其中所述$L_1$的*指示与Lp的附接点,并且所述$L_1$的**指示与$R^1$的附接点;

R^2是选自聚乙二醇、聚亚烷基二醇、糖、寡糖、多肽、聚肌氨酸、或被1至3个基团取代的C_2-C_6烷基的亲水性部分;

或

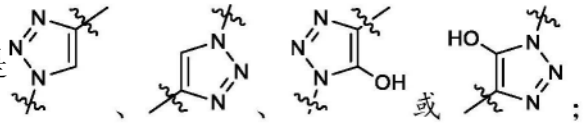
每个R^3独立地选自H和C_1-C_6烷基;

R^4是2-吡啶基或4-吡啶基；

每个R^5独立地选自H、C_1-C_6烷基、F、Cl、和-OH；

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

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

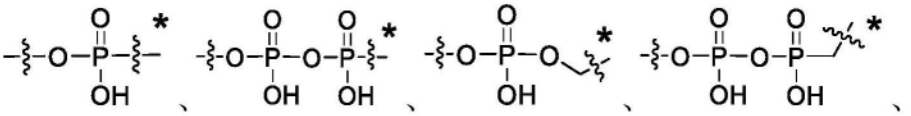
X_1是；

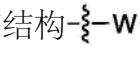
每个m独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10；

每个n独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10；

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

Lp是包含一个至四个氨基酸残基的二价肽间隔子，所述氨基酸残基独立地选自甘氨酸、缬氨酸、瓜氨酸、赖氨酸、异亮氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸、天冬酰胺、脯氨酸、丙氨酸、亮氨酸、色氨酸、和酪氨酸；

A是键、-OC(=O)-*、、-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-*或-OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-*，其中每个R^a独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基并且所述A的*指示与D的附接点；

L_3是具有结构的间隔子部分，

其中

(i)W是-CH_2O-**、-CH_2N(R^b)C(=O)O-**、-NHC(=O)C(R^b)$_2$NHC(=O)O-**、-NHC(=O)C(R^b)$_2$NH-**、-NHC(=O)C(R^b)$_2$NHC(=O)-**、-CH_2N(X-R^2)C(=O)O-**、-C(=O)N(X-R^2)-**、-CH_2N(X-R^2)C(=O)-**、-C(=O)NR^b-**、-C(=O)NH-**、-CH_2NR^bC(=O)-**、-CH_2NR^bC(=O)NH-**、-CH_2NR^bC(=O)NR^b-**、-NHC(=O)-**、-NHC(=O)O-**、-NHC(=O)NH-**、-OC(=O)NH-**、-S(O)$_2$NH-**、-NHS(O)$_2$-**、-C(=O)-、-C(=O)O-**、-NH-、或-CH_2N(R^b)C(=O)CH_2-**，其中每个R^b独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基并且其中所述W的**指示与X的附接点；

X是键、三唑基或***-CH_2-三唑基-*，其中所述X的***指示与W的附接点并且所述X的*指示与R^2的附接点；或

(ii)W是-CH_2O-**、-CH_2N(R^b)C(=O)O-**、-NHC(=O)C(R^b)$_2$NHC(=O)O-**、-NHC(=O)C(R^b)$_2$NH-**、NHC(=O)C(R^b)$_2$NHC(=O)-**、-CH_2N(X-R^2)C(=O)O-**、-C(=O)N(X-R^2)-**、-CH_2N(X-R^2)C(=O)-**、-C(=O)NR^b-**、-C(=O)NH-**、-CH_2NR^bC(=O)-**、-CH_2NR^bC(=O)NH-**、-CH_2NR^bC(=O)NR^b-**、-NHC(=O)-**、-NHC(=O)O-**、-NHC(=O)NH-**、-OC(=O)NH-**、-S(O)$_2$NH-**、-NHS(O)$_2$-**、-C(=O)-、-C(=O)O-**或-NH-，其中每个R^b独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基并且其中所述W的**指示与X的附接点；

X是***-CH_2-三唑基-C_{1-4}亚烷基-OC(O)NHS(O)$_2$NH-*、***-C_{4-6}亚环烷基

-OC(O)NHS(O)$_2$NH-*、***-(CH_2CH_2O)$_n$-C(O)NHS(O)$_2$NH-*、***-(CH_2CH_2O)$_n$-C(O)NHS(O)

$_2$NH-(CH$_2$CH$_2$O)$_n$-*、或***-CH$_2$-三唑基-C$_{1-4}$亚烷基-OC(O)NHS(O)$_2$NH-(CH$_2$CH$_2$O)$_n$-*,其中每个n独立地是1、2、或3,所述X的***指示与W的附接点并且所述X的*指示与R^{2}的附接点;

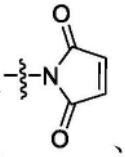
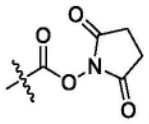
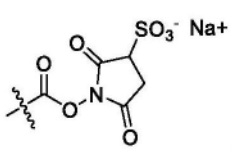
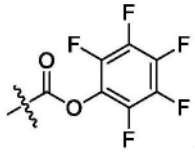
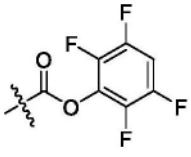
并且

所述L$_3$的*指示与R^{2}的附接点;

并且

D是包含N或O的药物部分,其中D经由从A到所述药物部分的N或O的直接键连接至A。

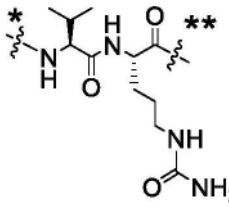
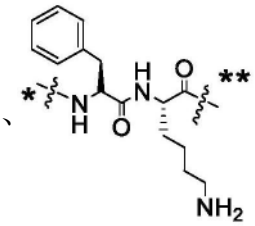
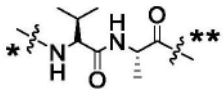
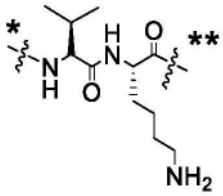
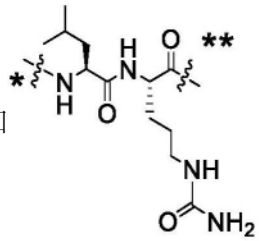
5.如权利要求1至4中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中:

R$_1$是、-ONH$_2$、、、或;

L$_1$是*-C(=O)(CH$_2$)$_m$O(CH$_2$)$_m$-**;*-C(=O)((CH$_2$)$_m$O)$_t$(CH$_2$)$_n$-**;*-C(=O)(CH$_2$)$_m$-**;或*-C(=O)NH((CH$_2$)$_m$O)$_t$(CH$_2$)$_n$-,其中所述L$_1$的*指示与Lp的附接点,并且所述L$_1$的**指示与R^{1}的附接点;

每个m独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10;

每个n独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10;

每个t独立地选自6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29和30;Lp是选自(ValCit)、(PheLys)、(ValAla)、(ValLys)和(LeuCit)的二价肽间隔子,其中所述Lp的*指示与L$_1$的附接点并且所述Lp的**指示与G的-NH-基团的附接点;

L$_3$是具有结构-W—X-*的间隔子部分,

其中

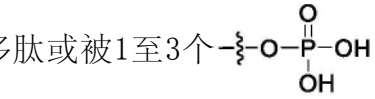
W是-CH$_2$O-**、-CH$_2$N(R^b)C(=O)O-**、-NHC(=O)CH$_2$NHC(=O)O-**、-CH$_2$N(X-R^2)C(=O)O-**、-C(=O)N(X-R^2)-**、-CH$_2$N(X-R^2)C(=O)-**、-C(=O)NR^b-**、-C(=O)NH-**、-CH$_2$NR^{b}C(=O)-**、-CH$_2$NR^{b}C(=O)NH-**、-CH$_2$NR^{b}C(=O)NR^b-**、-NHC(=O)-**、-NHC(=O)O-**、-NHC(=O)NH-**、-OC(=O)NH-**、-S(O)$_2$NH-**、-NHS(O)$_2$-**、-C(=O)-、-C(=O)O-**或-NH-,其中每个R^{b}独立地选自H、C$_1$-C$_6$烷基或C$_3$-C$_8$环烷基并且其中所述W的**指示与X的附接点;

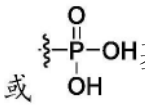
X是键、三唑基或***-CH$_2$-三唑基-*,其中所述X的***指示与W的附接点并且所述X的*指

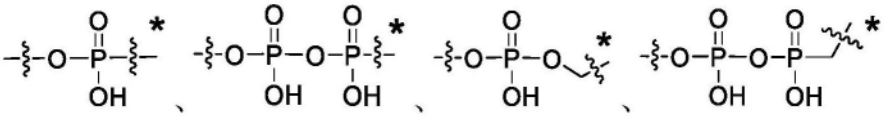
示与R^2的附接点；

并且

所述L_3的*指示与R^2的附接点；

R^2是选自聚乙二醇、聚亚烷基二醇、糖、寡糖、聚肌氨酸、多肽或被1至3个

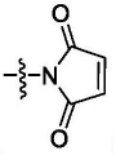
或基团取代的C_2-C_6烷基的亲水性部分；

A是键、-OC(=O)-*、

-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-*或-OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-*，其中每个R^a独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基并且所述A的*指示与D的附接点；并且

D是包含N或O的药物部分，其中D经由从A到所述药物部分的N或O的直接键连接至A。

6.如权利要求1至5中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐，其中：

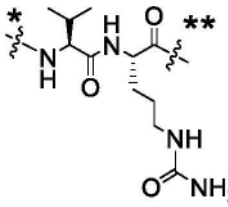
R^1是；

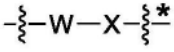
L_1是*-C(=O)(CH_2)$_m$O(CH_2)$_m$-**；*-C(=O)((CH_2)$_m$O)$_t$(CH_2)$_n$-**；*-C(=O)(CH_2)$_m$-**；或*-C(=O)NH((CH_2)$_m$O)$_t$(CH_2)$_n$-，其中所述L_1的*指示与Lp的附接点，并且所述L_1的**指示与R^1的附接点；

每个m独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10；

每个n独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10；

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

Lp是选自(ValCit)的二价肽间隔子，其中所述Lp的*指示与L_1的附接点并且所述Lp的**指示与G的-NH-基团的附接点；

L_3是具有结构的间隔子部分，

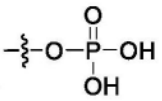
其中

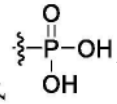
W是-CH_2O-**、-CH_2N(R^b)C(=O)O-**、-NHC(=O)CH_2NHC(=O)O-**、-CH_2N(X-R^2)C(=O)O-**、-C(=O)N(X-R^2)-**、-CH_2N(X-R^2)C(=O)-**、-C(=O)NR^b-**、-C(=O)NH-**、-CH_2NR^bC(=O)-**、-CH_2NR^bC(=O)NH-**、-CH_2NR^bC(=O)NR^b-**、-NHC(=O)-**、-NHC(=O)O-**、-NHC(=O)NH-**、-OC(=O)NH-**、-S(O)$_2$NH-**、-NHS(O)$_2$-**、-C(=O)-、-C(=O)O-**或-NH-，其中每个R^b独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基并且其中所述W的**指示与X的附接点；

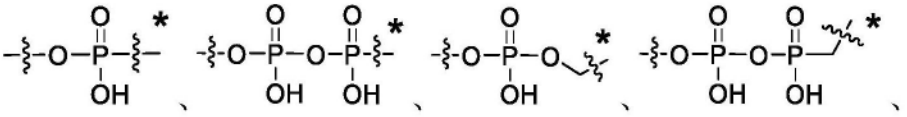
X是键、三唑基或***-CH_2-三唑基-*,其中所述X的***指示与W的附接点并且所述X的*指示与R^2的附接点;

并且

所述L_3的*指示与R^2的附接点;

R^2是选自聚乙二醇、聚亚烷基二醇、糖、寡糖、聚肌氨酸、多肽或被1至3个

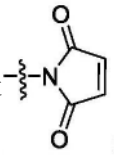
或基团取代的C_2-C_6烷基的亲水性部分;

A是键、-OC(=O)-*、

-OC(=O)$N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)$C(=O)-*或-OC(=O)$N(CH_3)C(R^a)_2C(R^a)_2N(CH_3)$C(=O)-*,其中每个$R^a$独立地选自H、$C_1$-$C_6$烷基或$C_3$-$C_8$环烷基并且所述A的*指示与D的附接点;并且

D是包含N或O的药物部分,其中D经由从A到所述药物部分的N或O的直接键连接至A。

7.如权利要求1至6中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中:

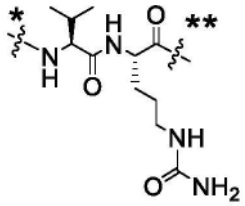
R^1是;

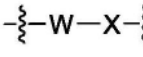
L_1是*-C(=O)$(CH_2)_mO(CH_2)_n$-**;*-C(=O)$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$-**;*-C(=O)$(CH_2)_m$-**;或*-C(=O)NH$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$-,其中所述L_1的*指示与Lp的附接点并且所述L_1的**指示与R^1的附接点;

每个m独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10;

每个n独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10;

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

Lp是选自(ValCit)的二价肽间隔子,其中所述Lp的*指示与L_1的附接点并且所述Lp的**指示与G的-NH-基团的附接点;

L_3是具有结构的间隔子部分,

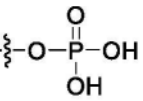
其中

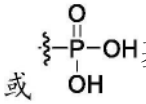
W是-CH_2O-**、-$CH_2N(R^b)$C(=O)O-**、-NHC(=O)CH_2NHC(=O)O-**、-$CH_2N(X-R^2)$C(=O)O-**、-C(=O)$N(X-R^2)$-**、-C(=O)NR^b-**、-C(=O)NH-**、-CH_2NR^bC(=O)-**、-CH_2NR^bC(=O)NH-**、-CH_2NR^bC(=O)NR^b-**、-NHC(=O)-**、-NHC(=O)O-**、或-NHC(=O)NH-**,其中每个R^b独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基并且其中所述W的**指示与X的附接点;

X是键、三唑基或***-CH_2-三唑基-*,其中所述X的***指示与W的附接点并且所述X的*指示与R^2的附接点;

并且

所述L_3的*指示与R^2的附接点;

R^2是选自聚乙二醇、聚亚烷基二醇、糖、寡糖、聚肌氨酸、多肽或被1至3个

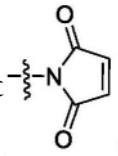
或基团取代的C_2-C_6烷基的亲水性部分;

A是键或-OC(=O)*,其中*指示与D的附接点;

并且

D是包含N或O的药物部分,其中D经由从A到所述药物部分的N或O的直接键连接至A。

8.如权利要求1至7中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中:

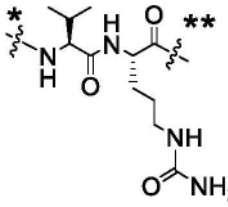
R^1是;

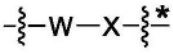
L_1是*-C(=O)$(CH_2)_m$O$(CH_2)_m$-**;*-C(=O)$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$-**;*-C(=O)$(CH_2)_m$-**;或*-C(=O)NH$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$-,其中所述L_1的*指示与Lp的附接点并且所述L_1的**指示与R^1的附接点;

每个m独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10;

每个n独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10;

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

Lp是选自(ValCit)的二价肽间隔子,其中所述Lp的*指示与L_1的附接点并且所述Lp的**指示与G的-NH-基团的附接点;

L_3是具有结构的间隔子部分,

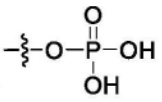
其中

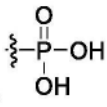
W是-CH_2O-**、-CH_2N(R^b)C(=O)O-**、-NHC(=O)CH_2NHC(=O)O-**、-CH_2N(X-R^2)C(=O)O-**、或-C(=O)N(X-R^2)-**,其中每个R^b独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基并且其中所述W的**指示与X的附接点;

X是***-CH_2-三唑基-*,其中所述X的***指示与W的附接点并且所述X的*指示与R^2的附接点;

并且

所述L_3的*指示与R^2的附接点;

R^2是选自聚乙二醇、聚亚烷基二醇、糖、寡糖、聚肌氨酸、多肽或被1至3个

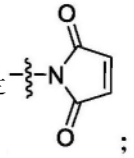
或基团取代的C_2-C_6烷基的亲水性部分；

A是键或-OC(=O)*,其中*指示与D的附接点；

并且

D是包含N或O的药物部分,其中D经由从A到所述药物部分的N或O的直接键连接至A。

9.如权利要求1至8中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中：

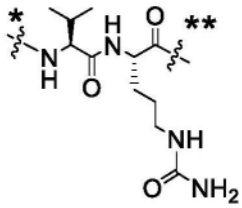
R^1是；

L_1是*-C(=O)$(CH_2)_m$O$(CH_2)_m$-**;*-C(=O)$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$-**;*-C(=O)$(CH_2)_m$-**;或*-C(=O)NH$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$-,其中所述L_1的*指示与Lp的附接点并且所述L_1的**指示与R^1的附接点；

每个m独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10；

每个n独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10；

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

Lp是选自(ValCit)的二价肽间隔子,其中所述Lp的*指示与L_1的附接点并且所述Lp的**指示与G的-NH-基团的附接点；

L_3是具有结构的间隔子部分,

其中

W是-CH_2O-**、-CH_2N(R^b)C(=O)O-**、-NHC(=O)CH_2NHC(=O)O-**、-CH_2N(X-R^2)C(=O)O-**、或-C(=O)N(X-R^2)-**,其中每个R^b独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基并且其中所述W的**指示与X的附接点；

X是***-CH_2-三唑基-*,其中所述X的***指示与W的附接点并且所述X的*指示与R^2的附接点；

并且

所述L_3的*指示与R^2的附接点；

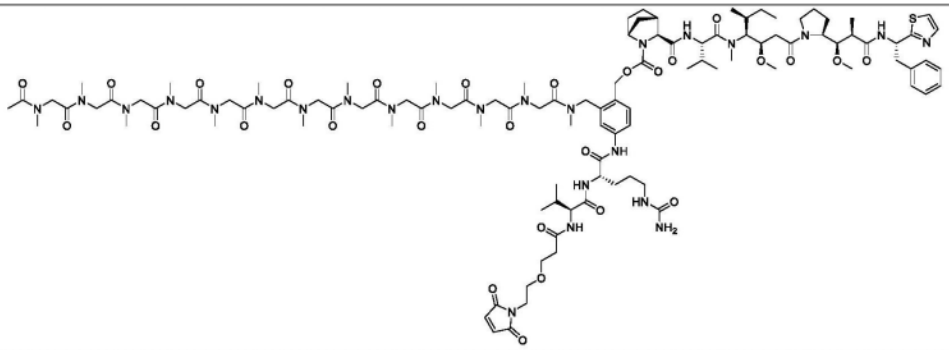
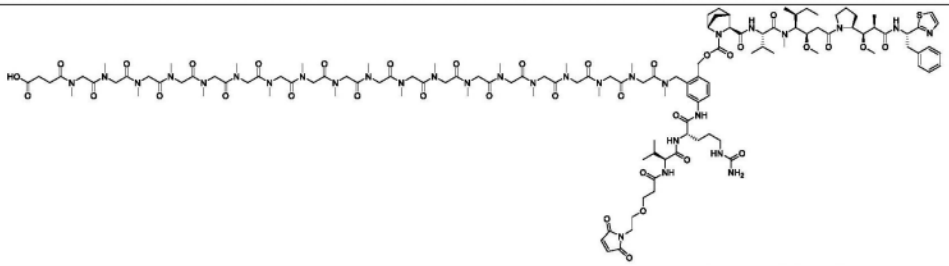
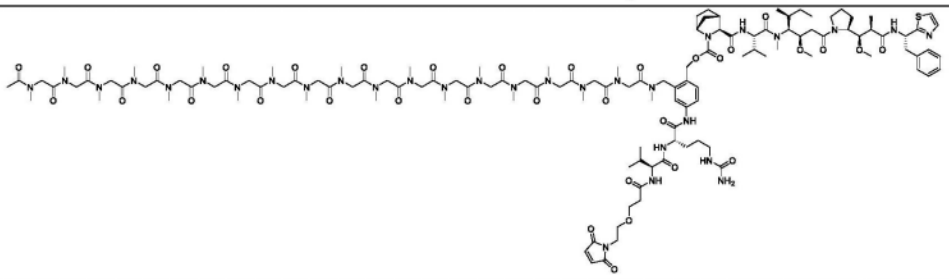
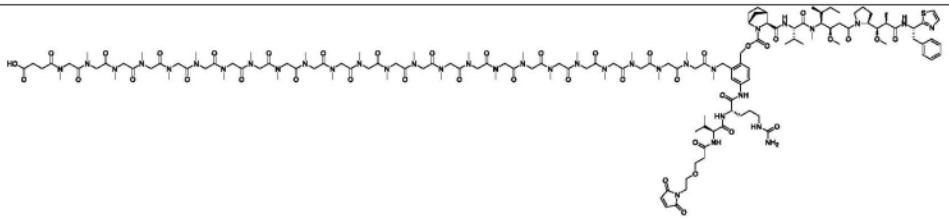
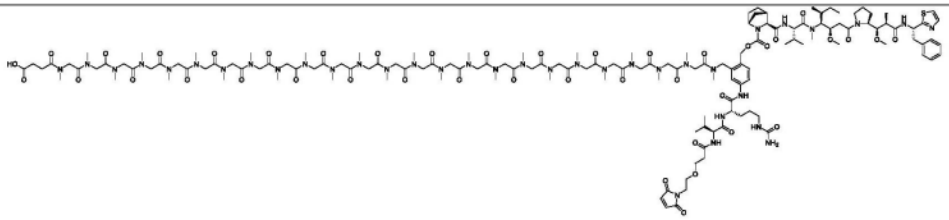
R^2是聚乙二醇；

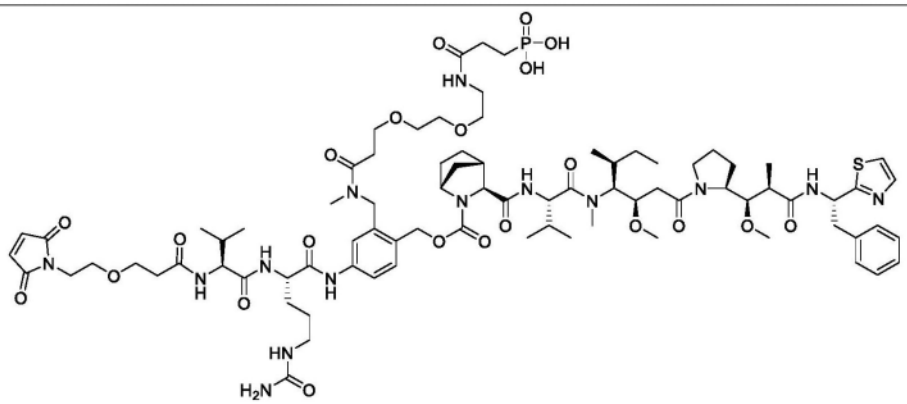
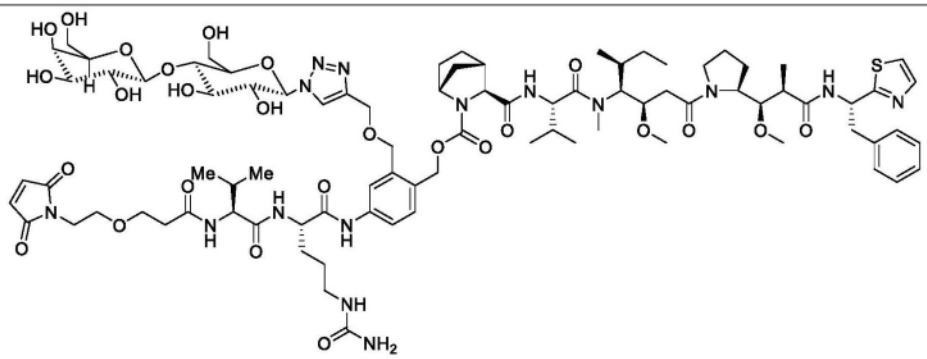
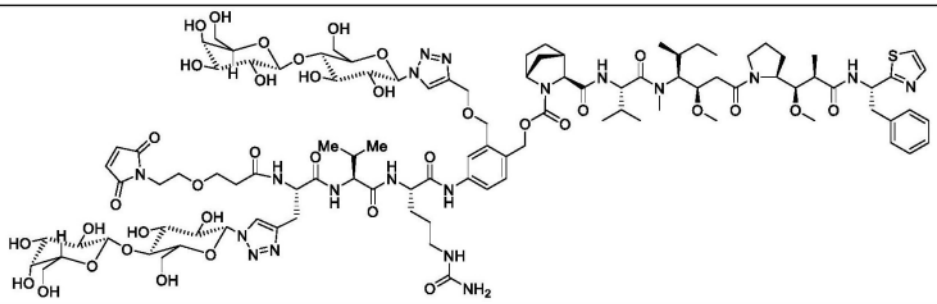
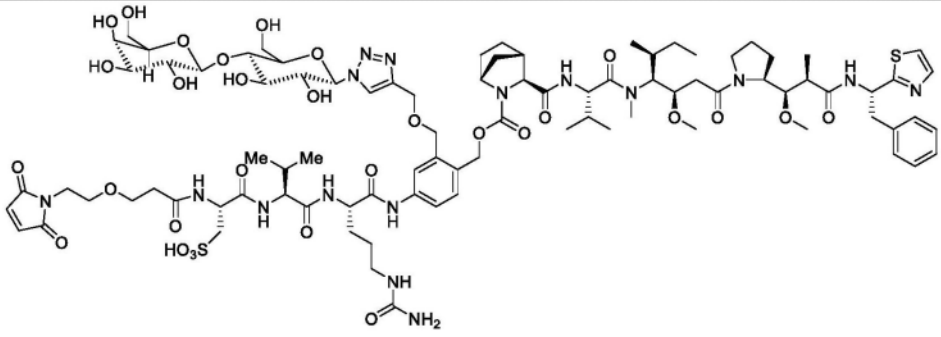
A是键或-OC(=O)*,其中*指示与D的附接点；

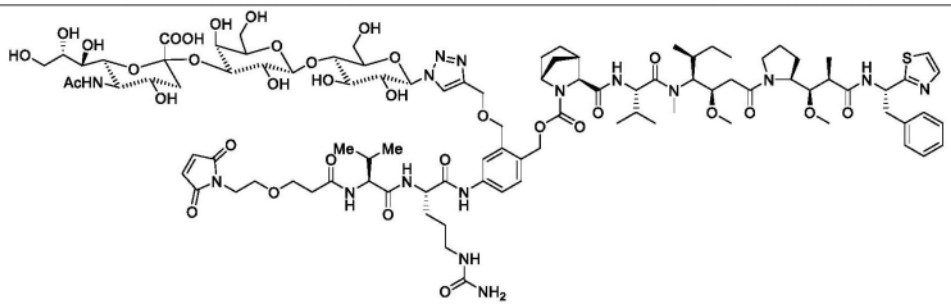
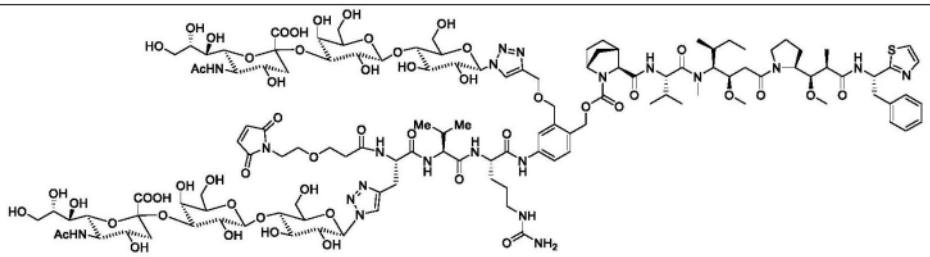
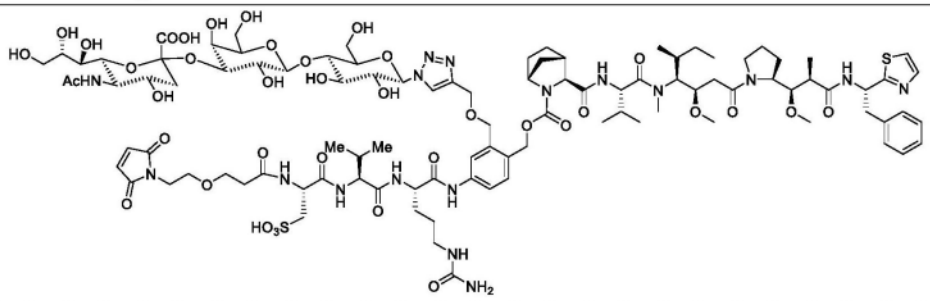
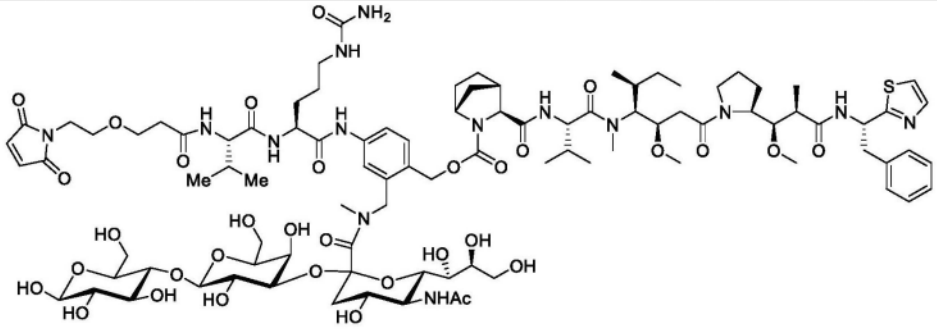
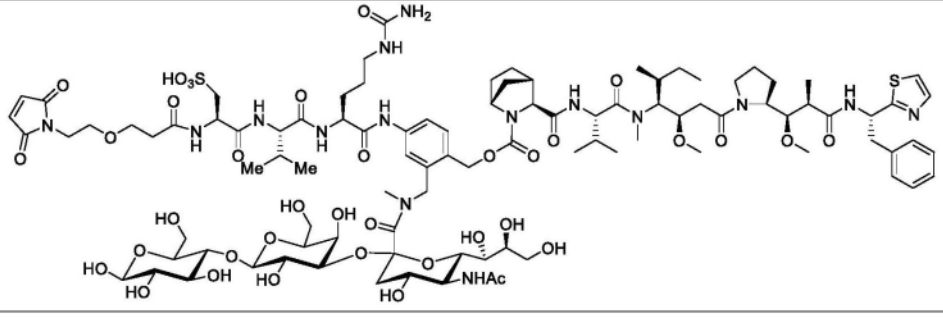
并且

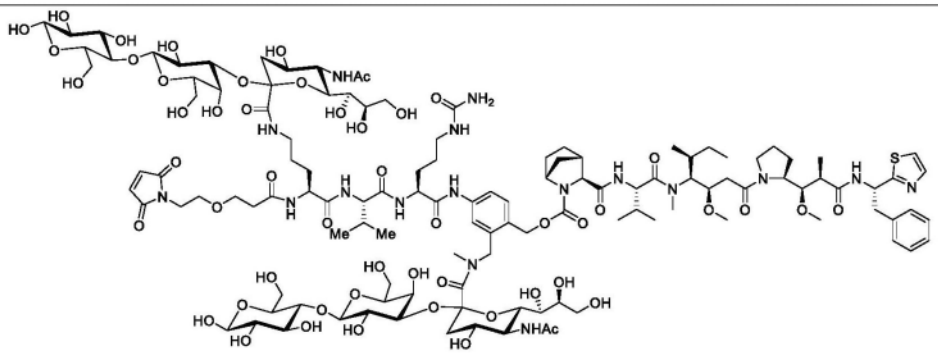
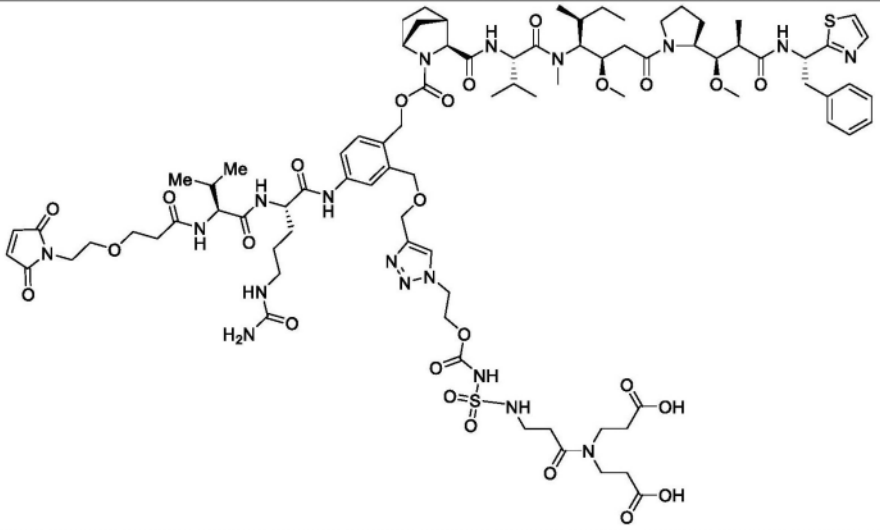
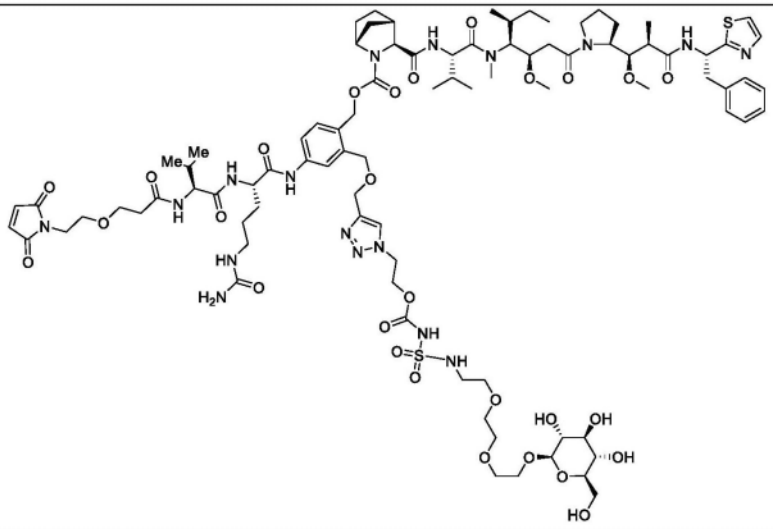
D是包含N或O的药物部分,其中D经由从A到所述药物部分的N或O的直接键连接至A。

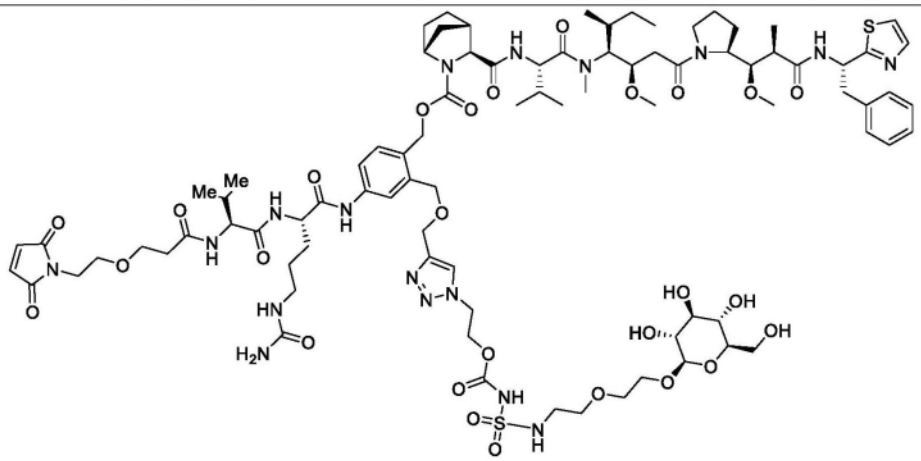
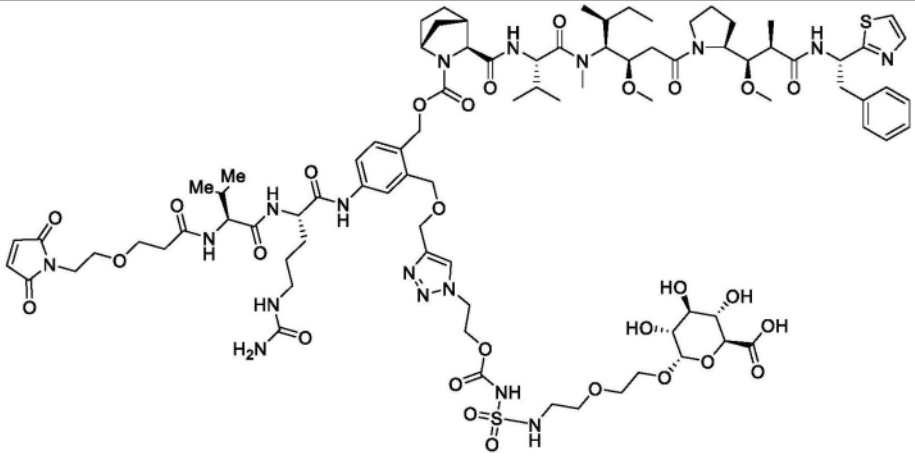
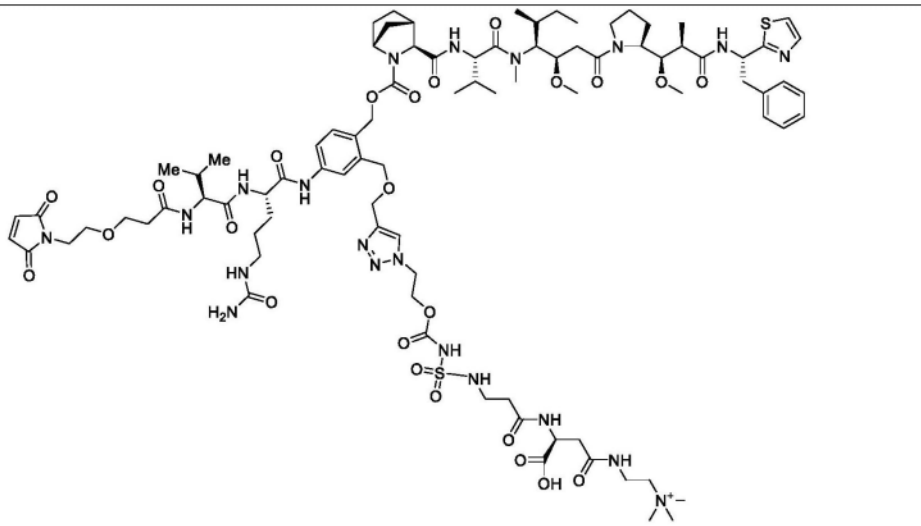
10.权利要求1所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中所述化合物选自:

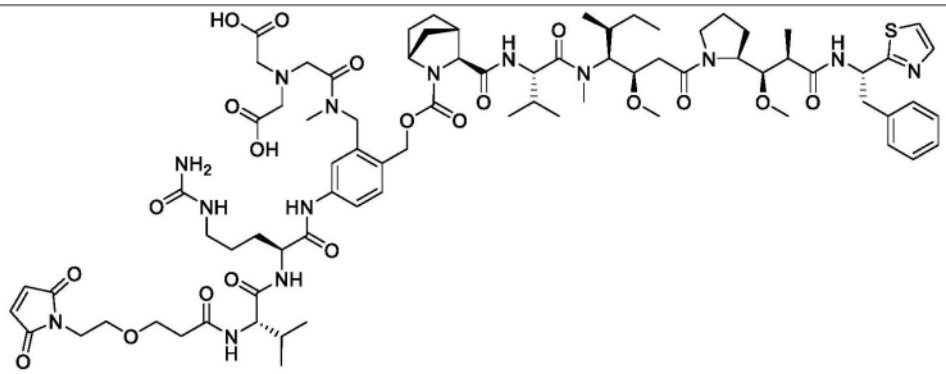
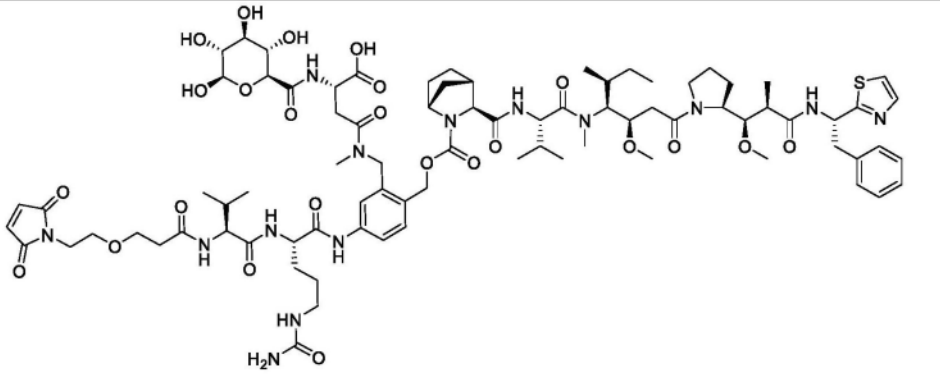
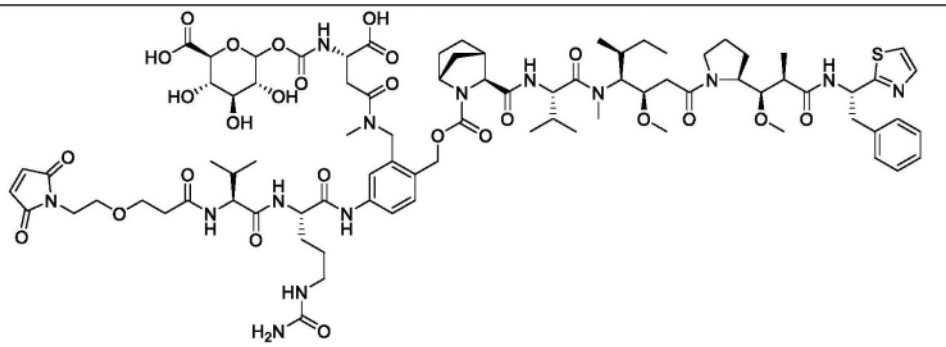
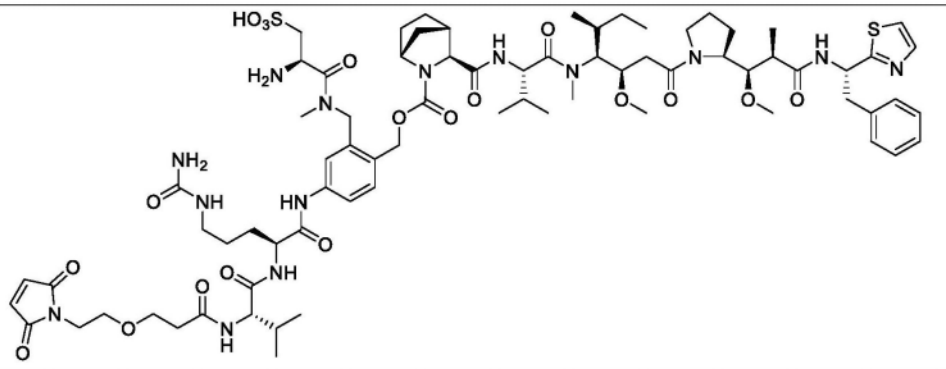
编号	结构
L71-P1	
L72-P1	
L73-P1	
L74-P1	
L75-P1	

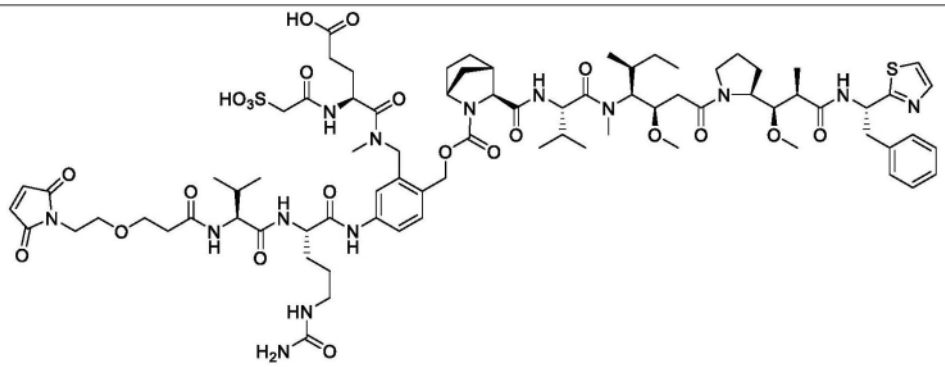
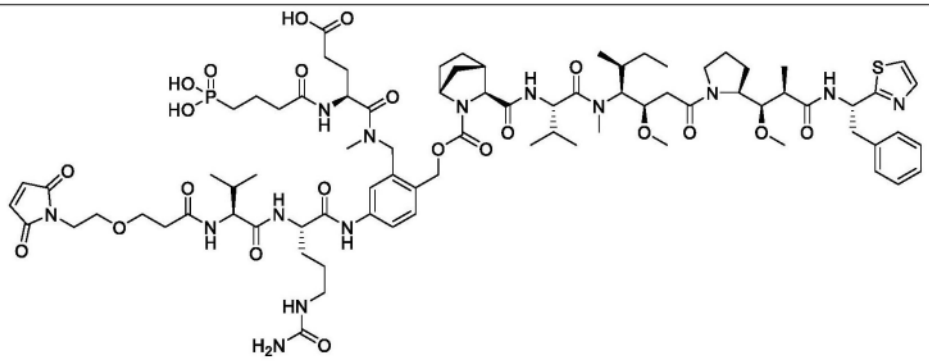
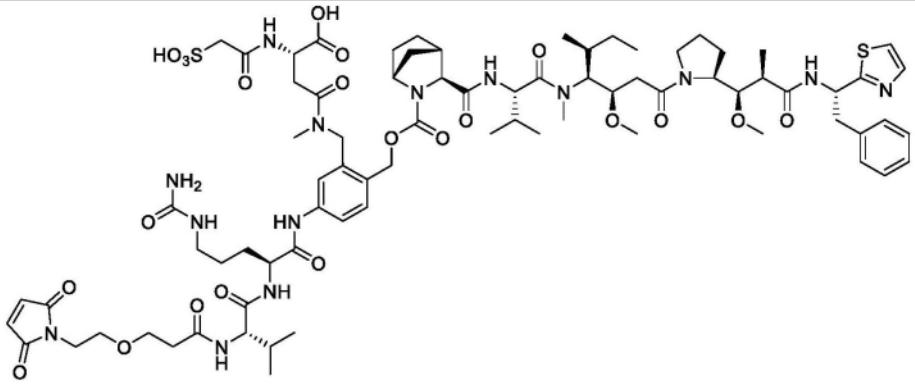
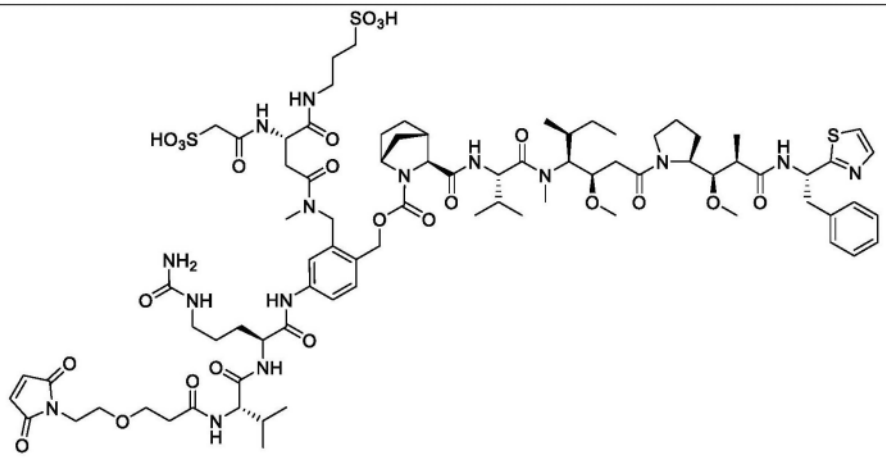
L76-P1	
L81-P1	
L82-P1	
L83-P1	

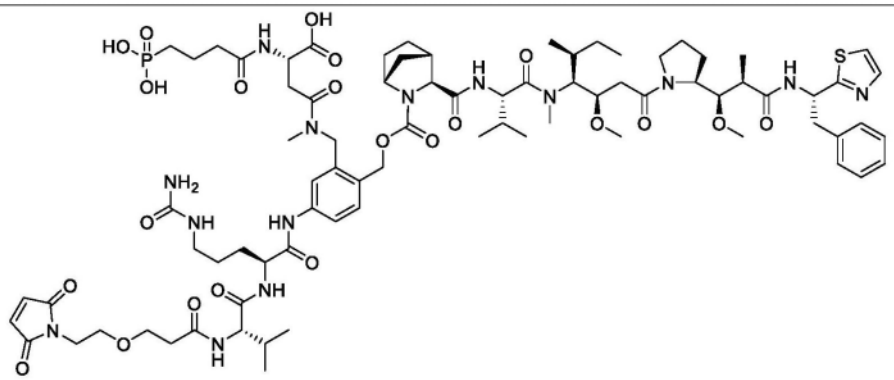
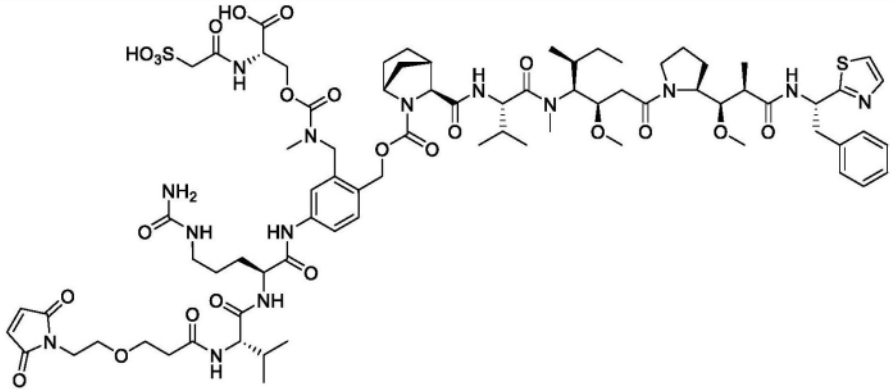
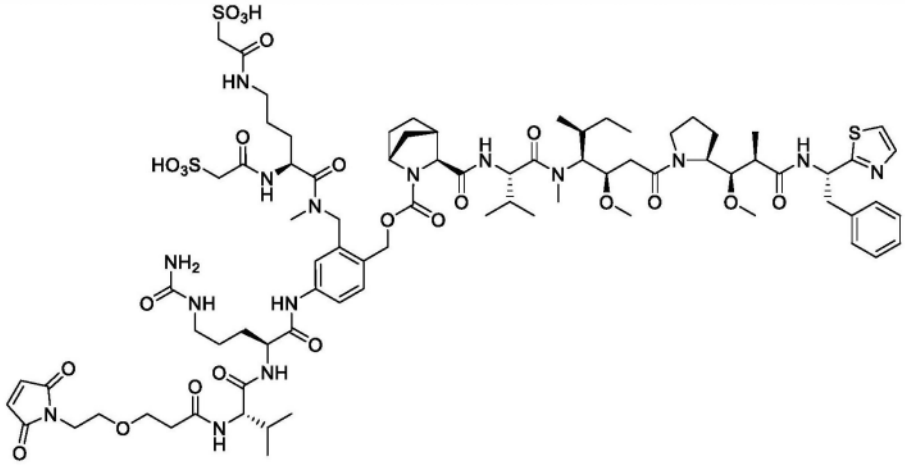
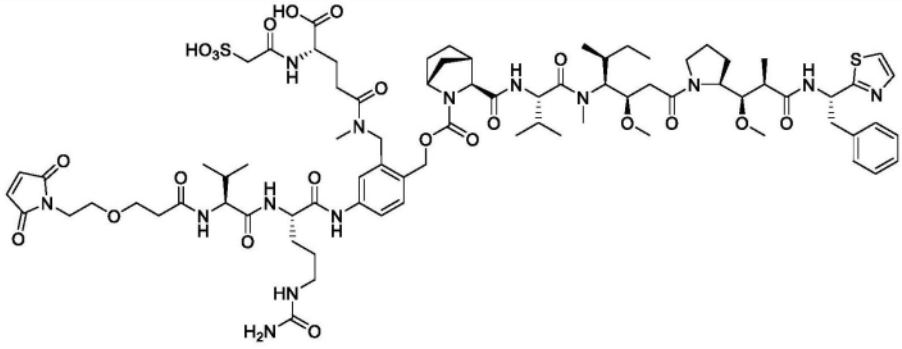
L84-P1	
L85-P1	
L86-P1	
L87-P1	
L88-P1	

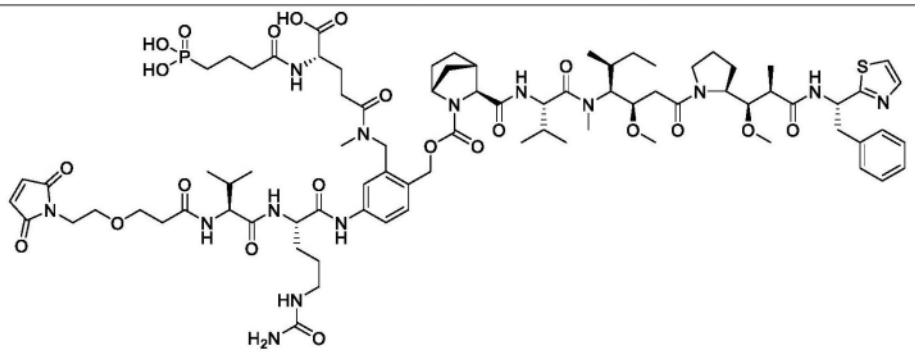
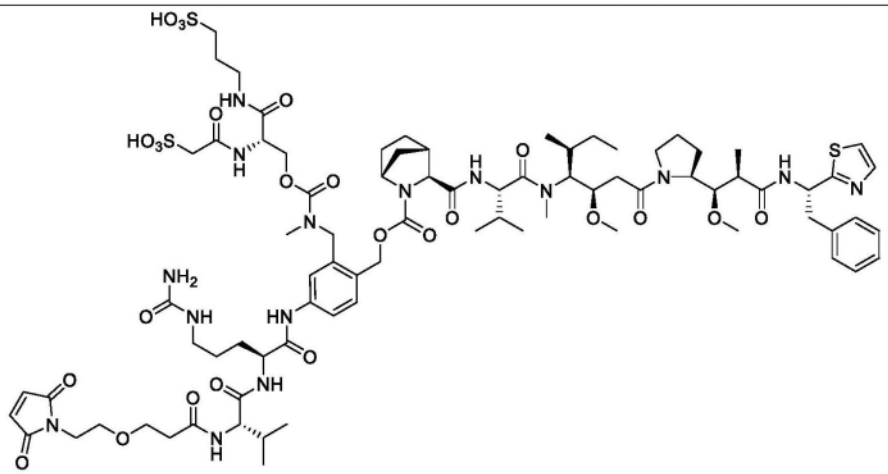
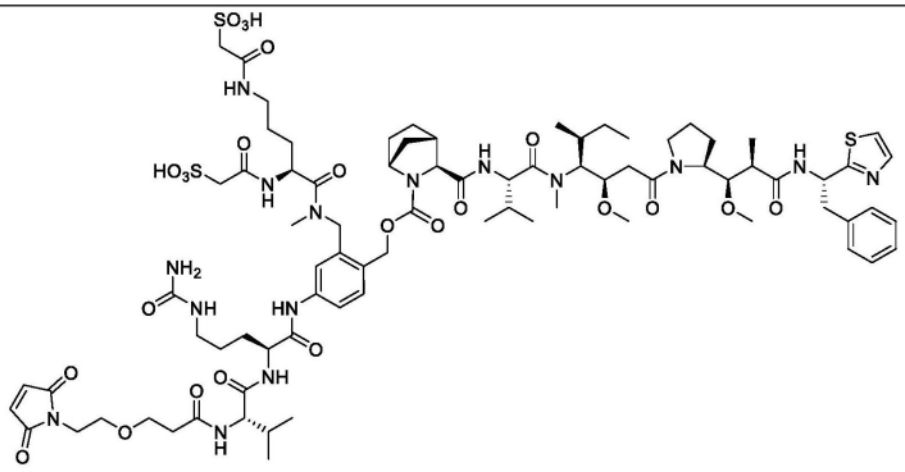
L89-P1	
L96-P1	
L97-P1	

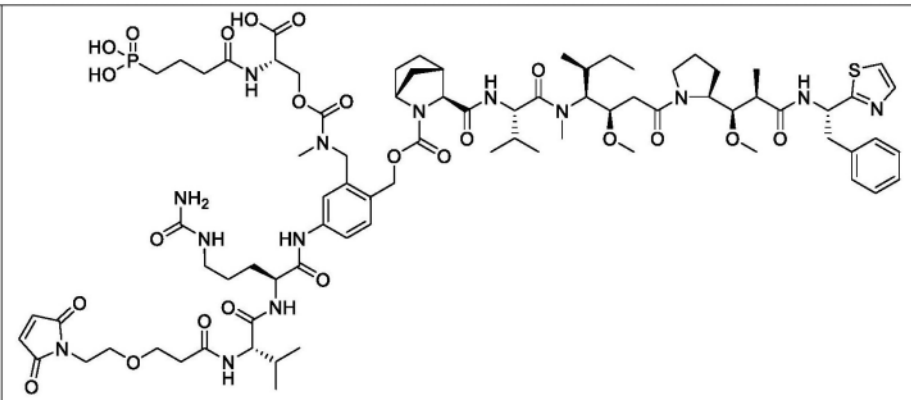
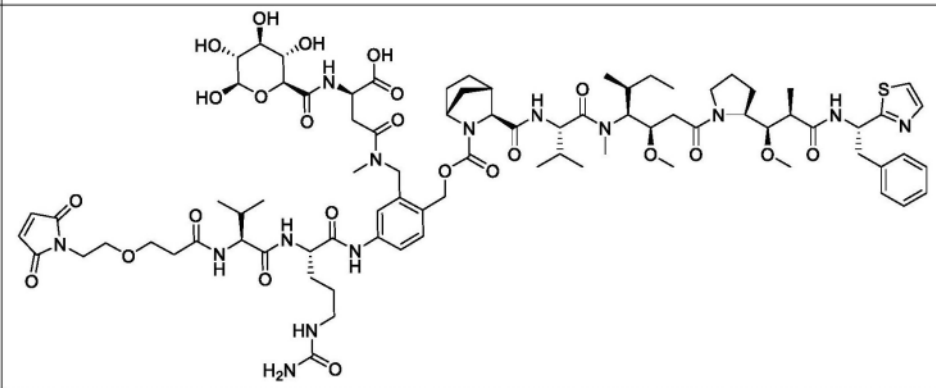
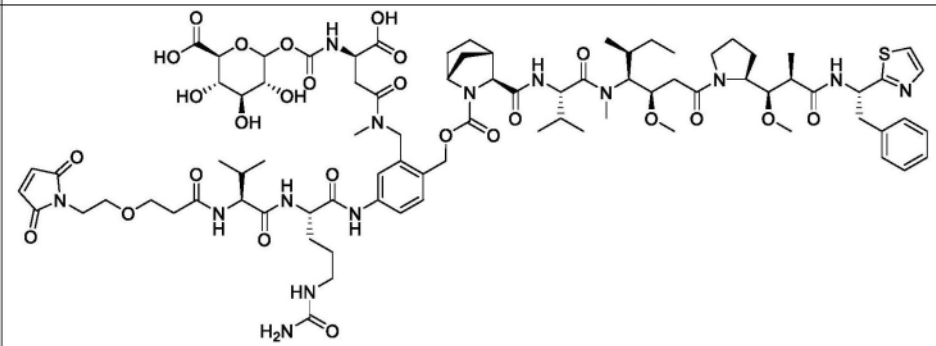
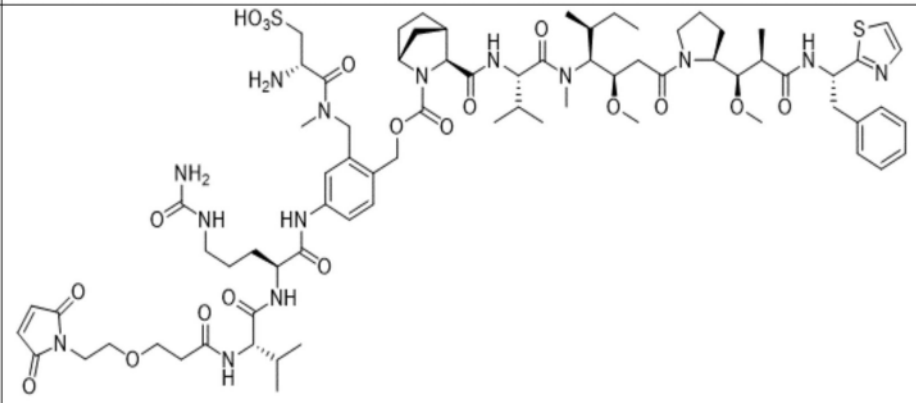
L98-P1	
L99-P1	
L101-P1	

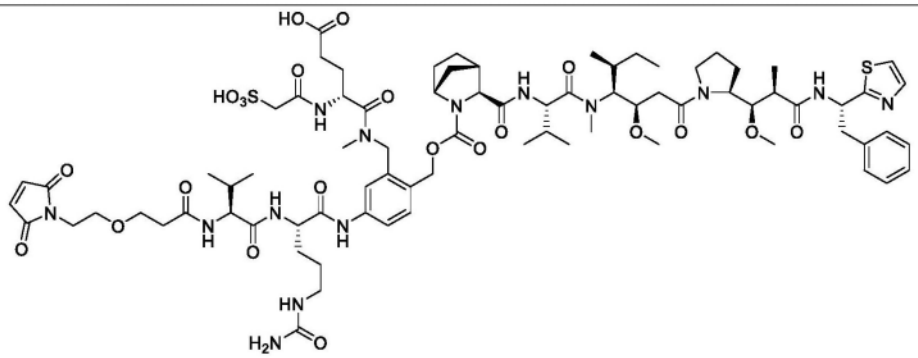
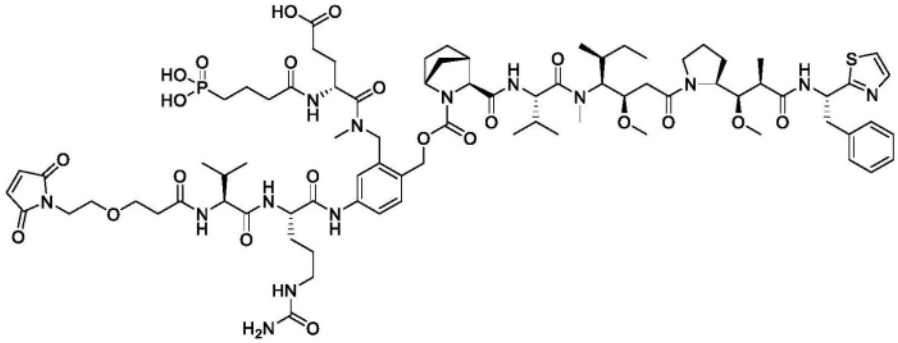
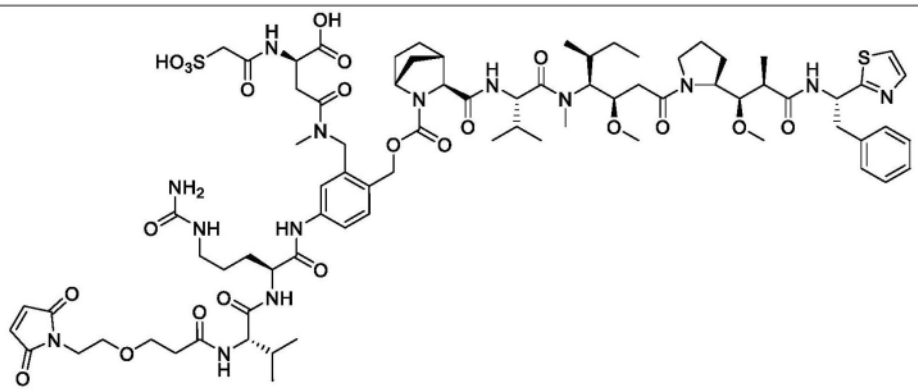
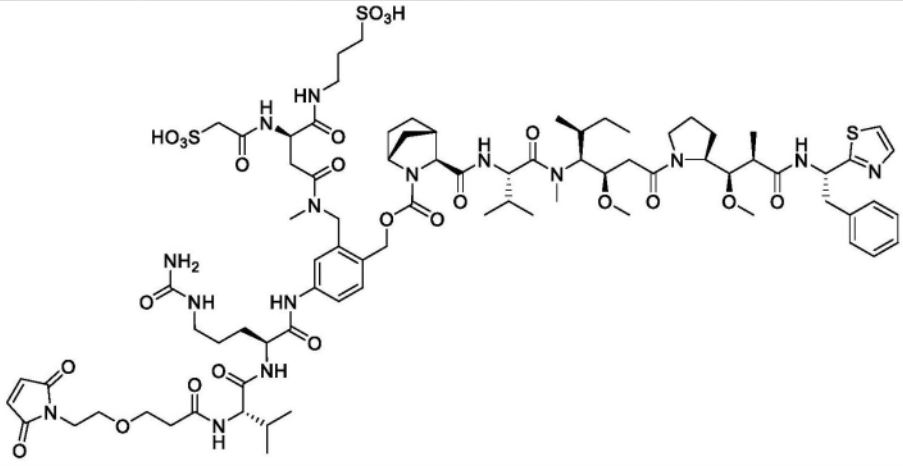
L102-P1	
L103-P1	
L104-P1	
L105-P1	

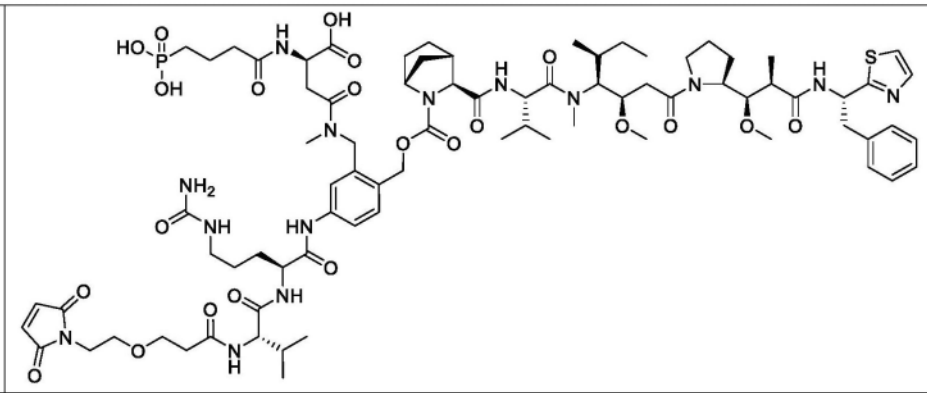
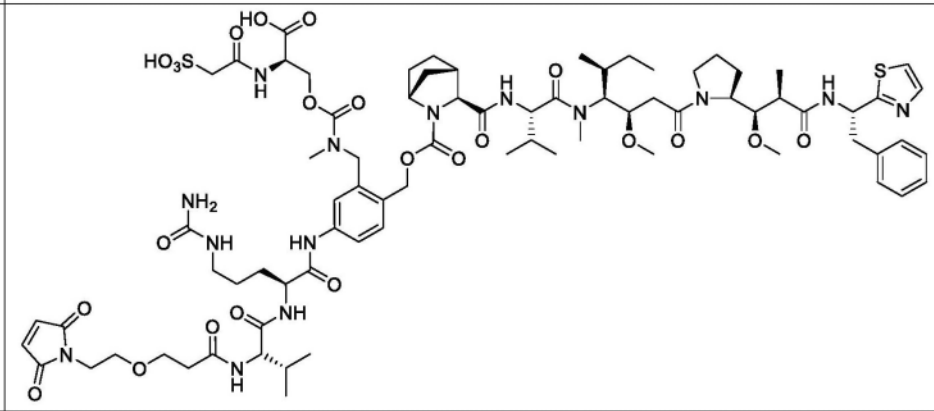
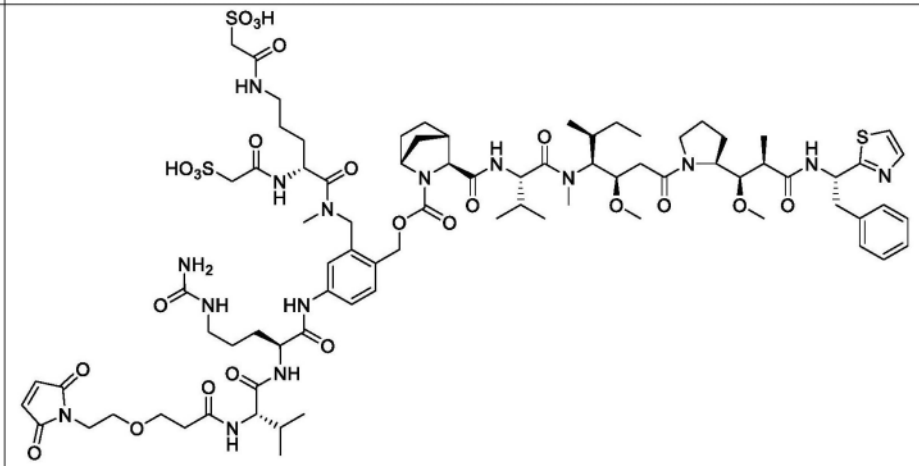
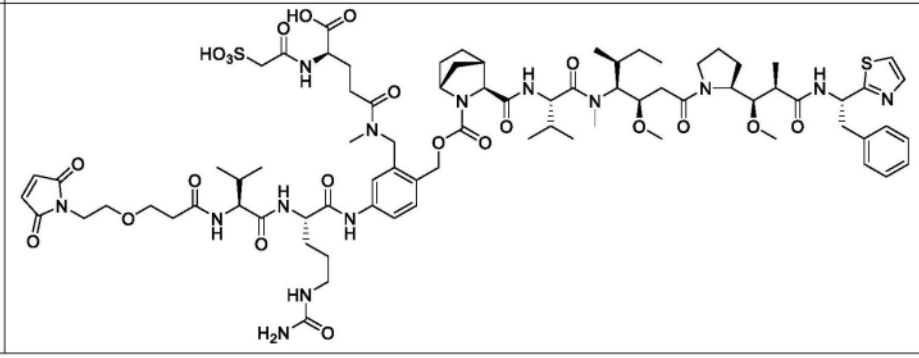
L106-P1	
L108-P1	
L109-P1	
L110-P1	

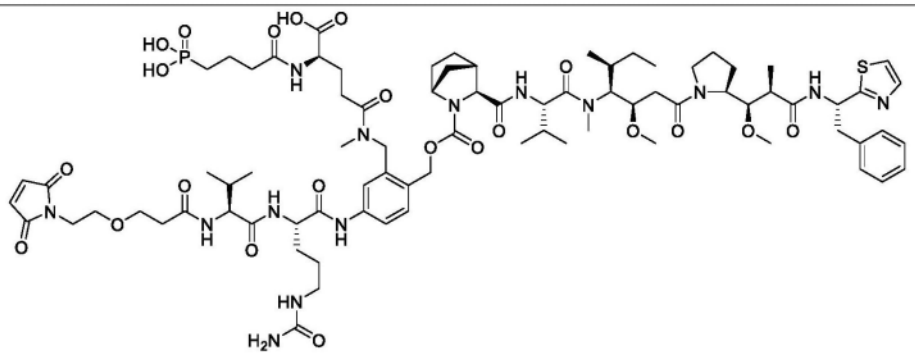
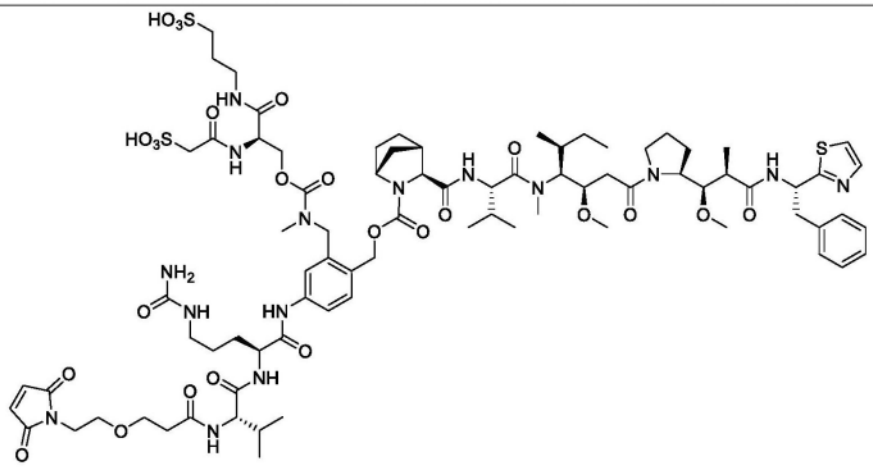
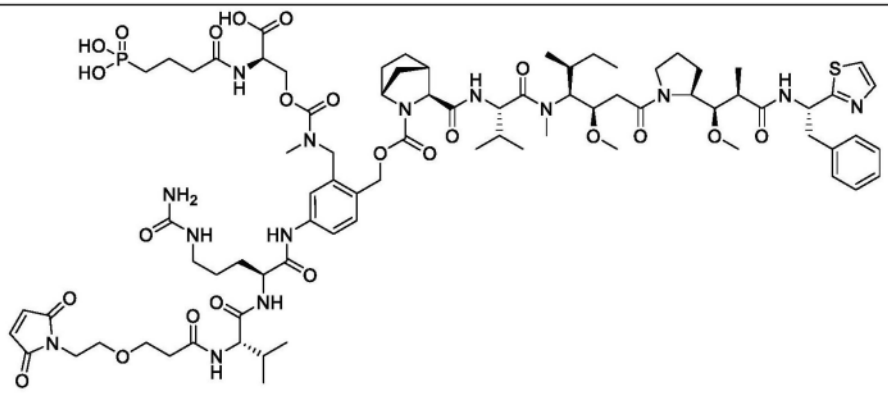
L111-P1	
L112-P1	
L113-P1	
L114-P1	

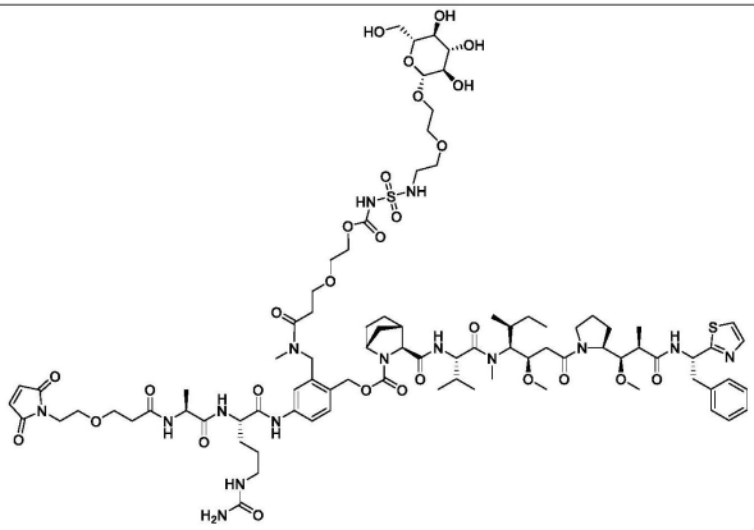
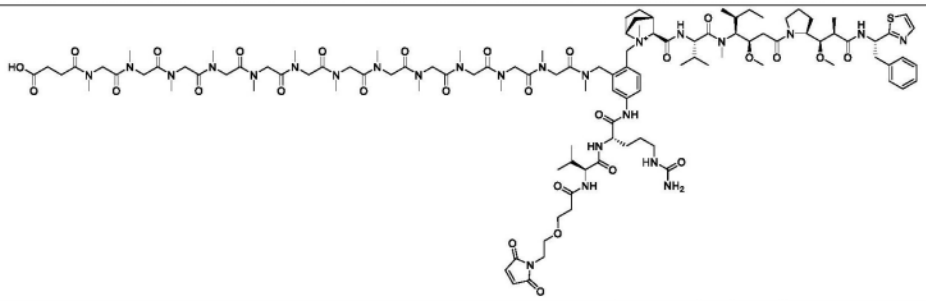
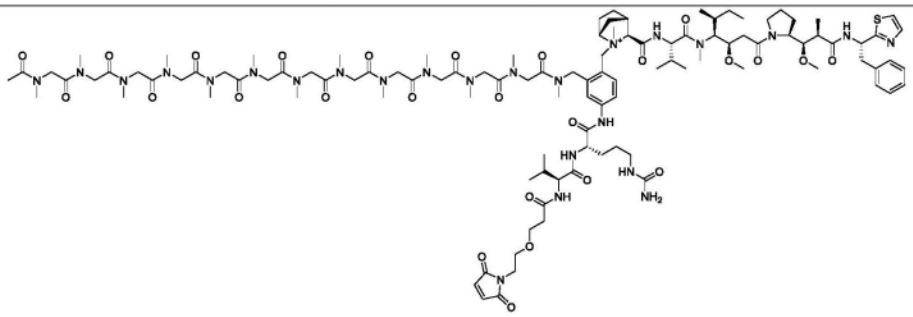
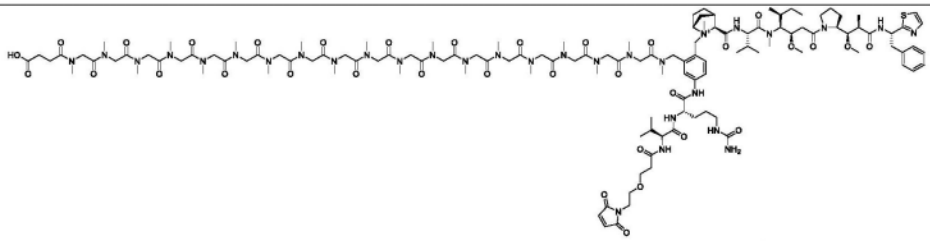
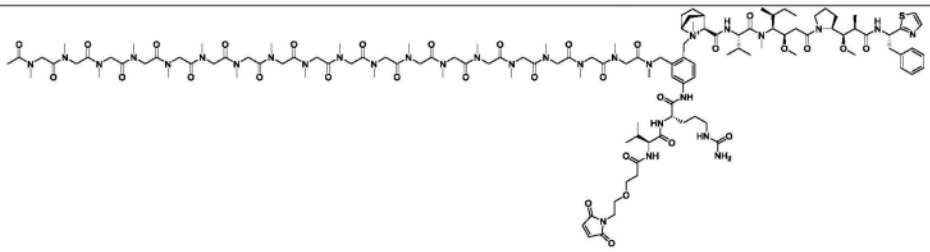
L115-P1	
L116-P1	
L117-P1	

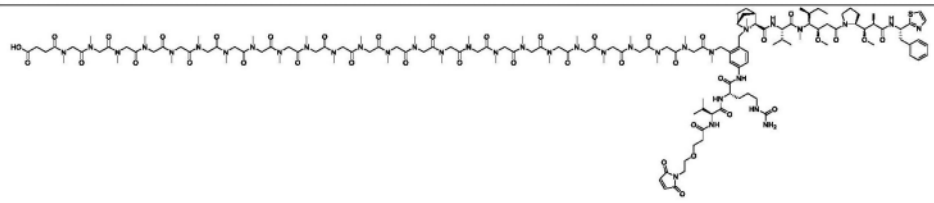
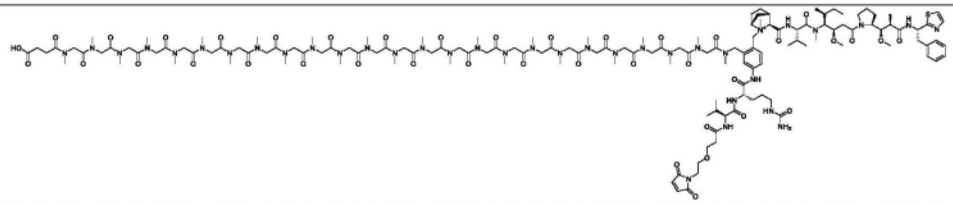
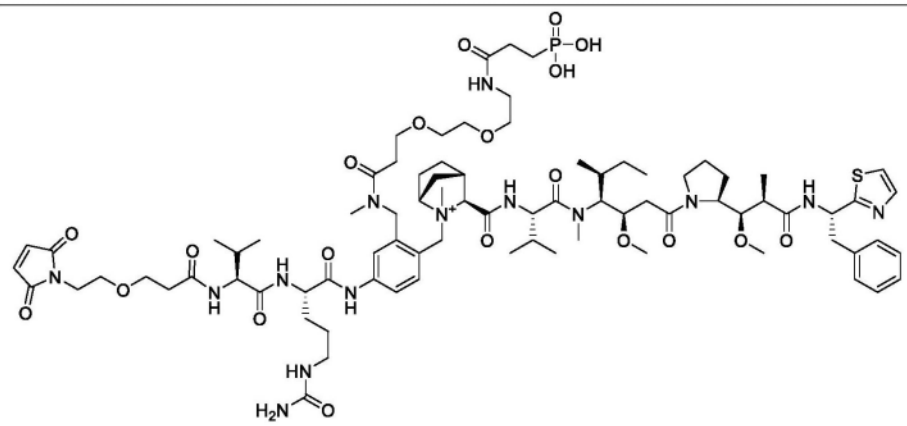
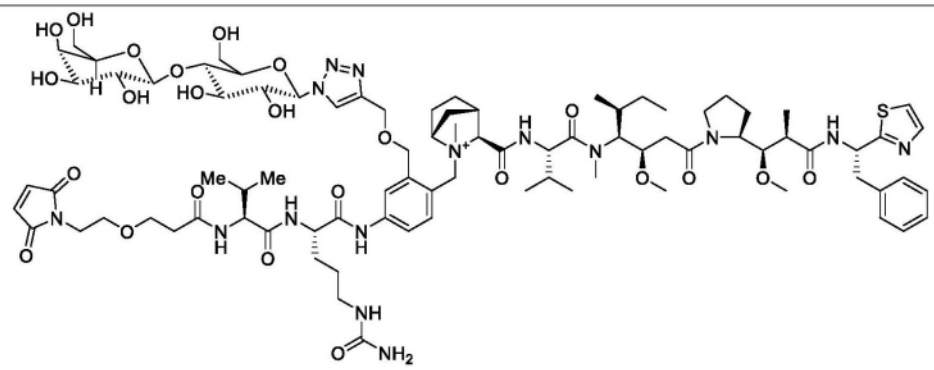
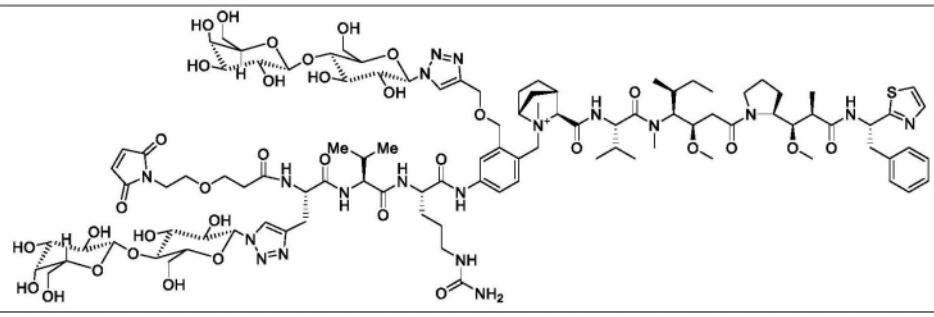
L118-P1	
L119-P1	
L120-P1	
L121-P1	

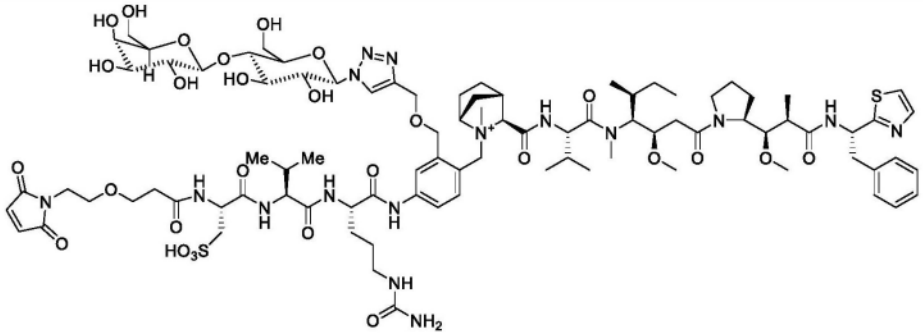
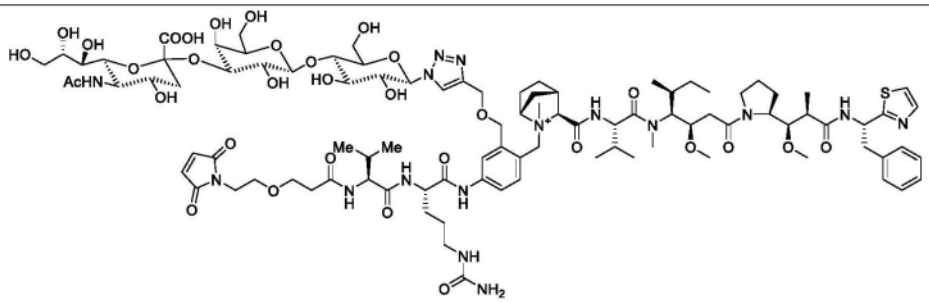
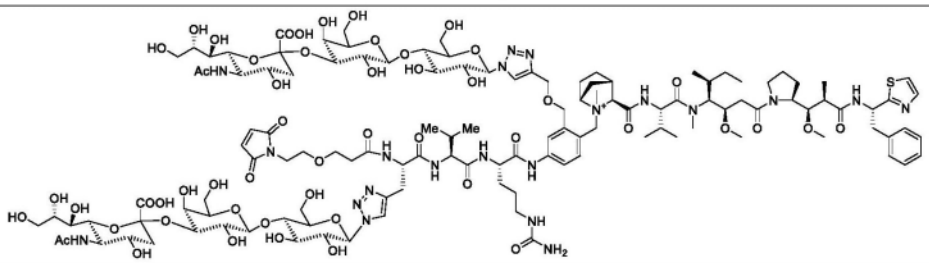
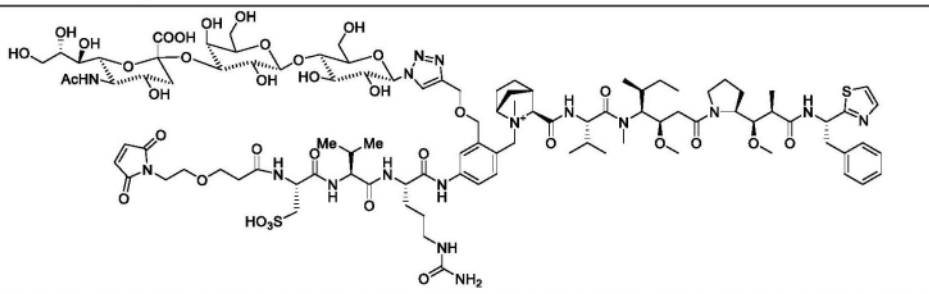
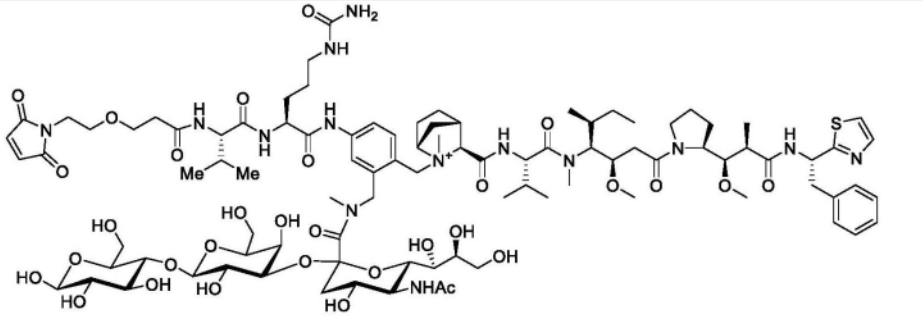
L122-P1	
L124-P1	
L125-P1	
L126-P1	

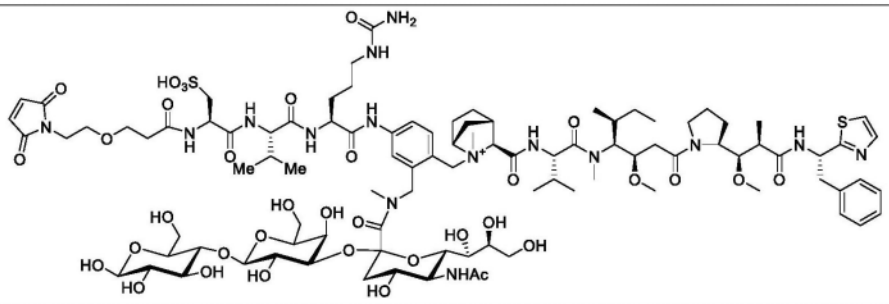
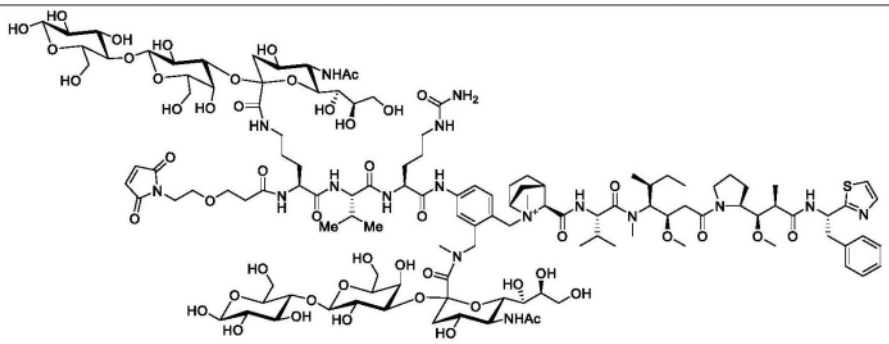
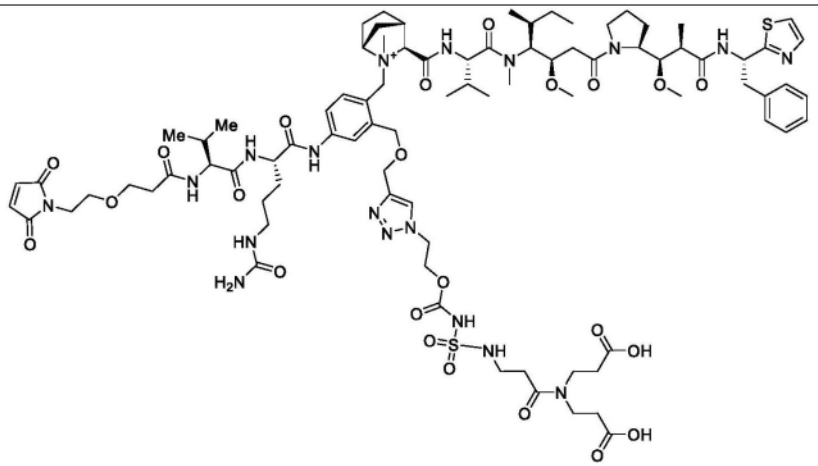
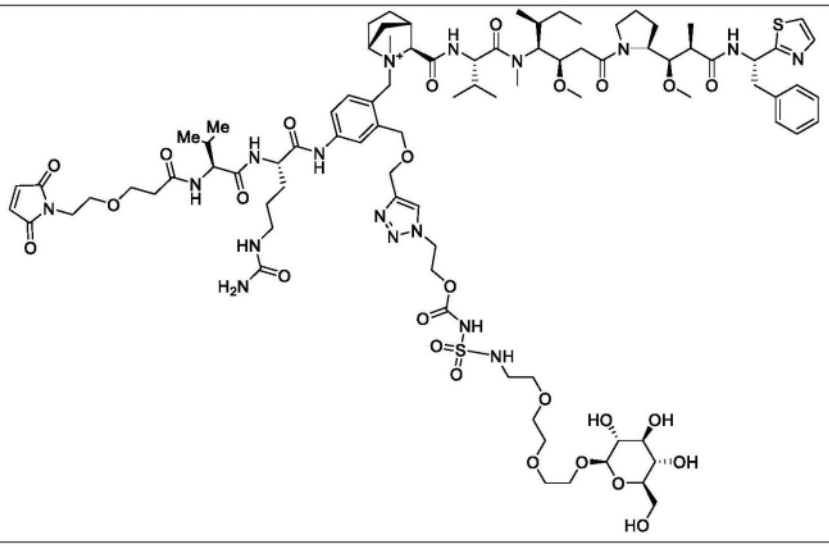
L127-P1	
L128-P1	
L129-P1	
L130-P1	

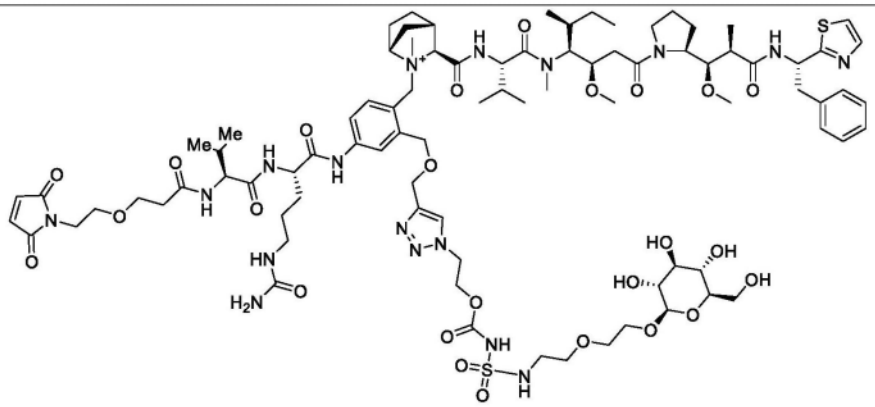
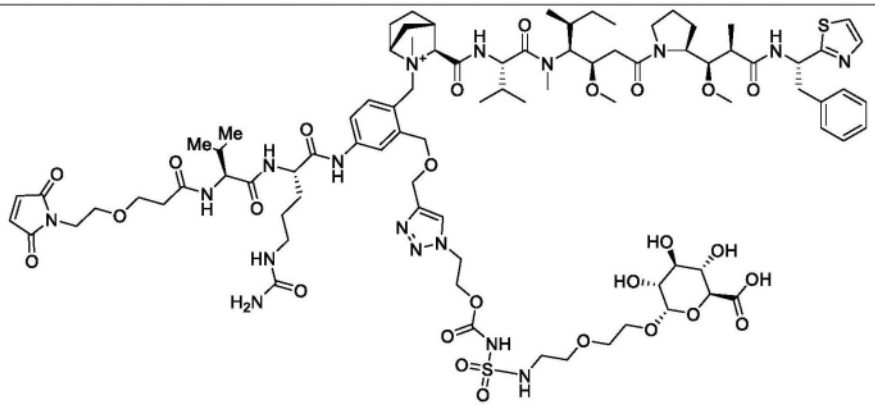
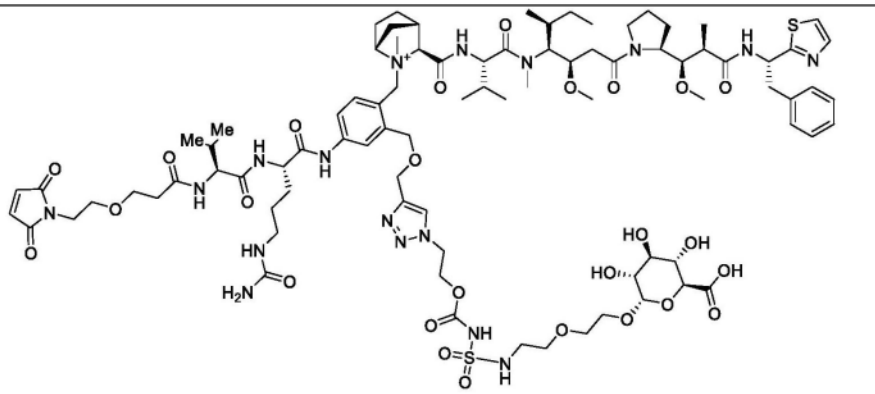
L131-P1	
L132-P1	
L133-P1	

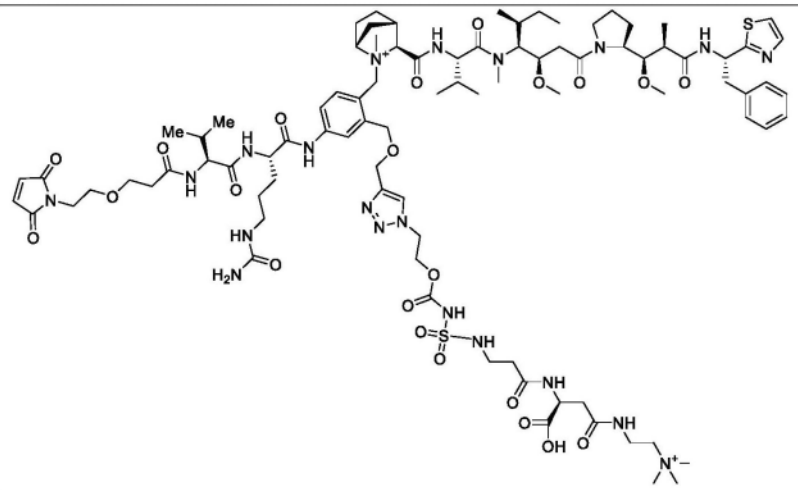
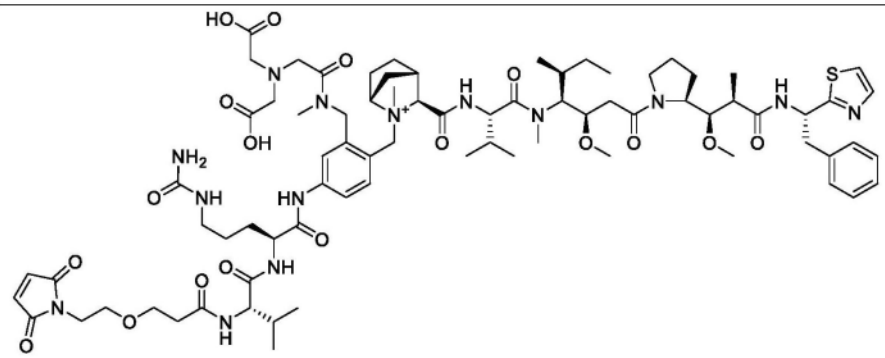
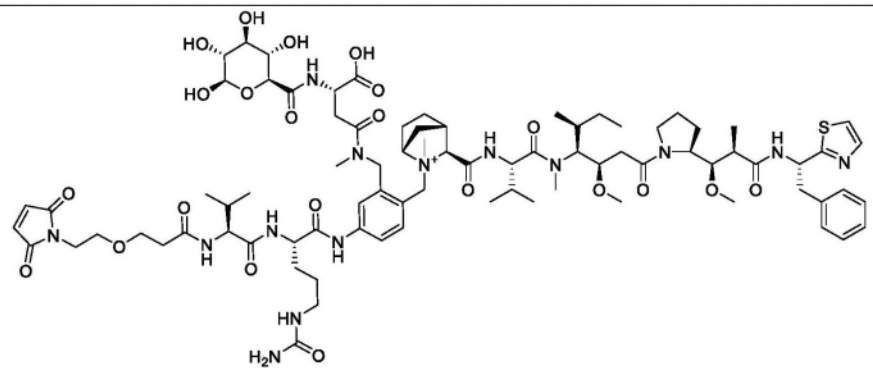
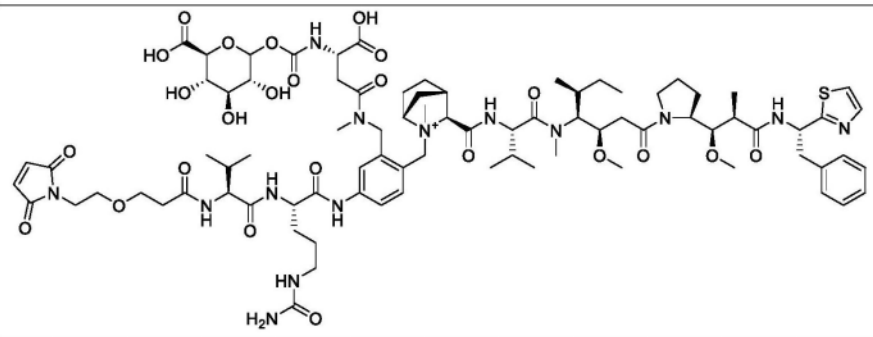
L134-P1	
L142-P2	
L143-P2	
L144-P2	
L145-P2	

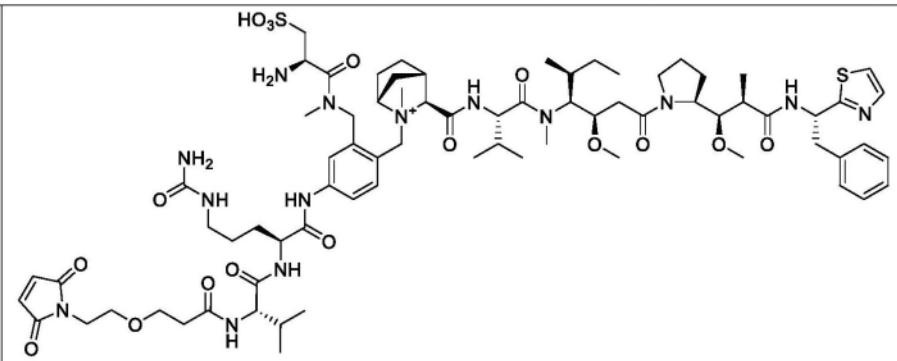
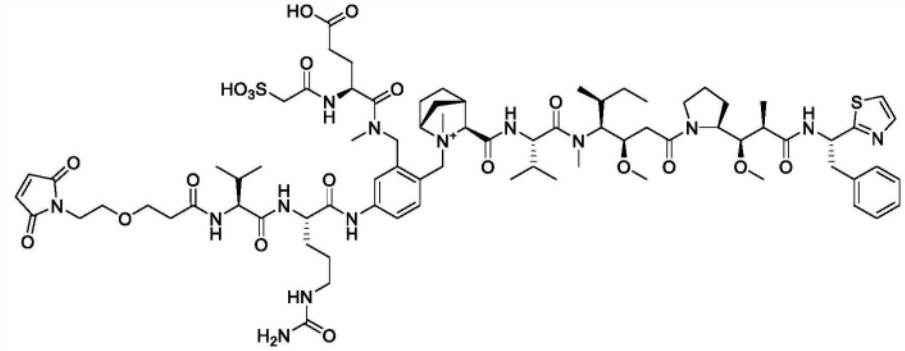
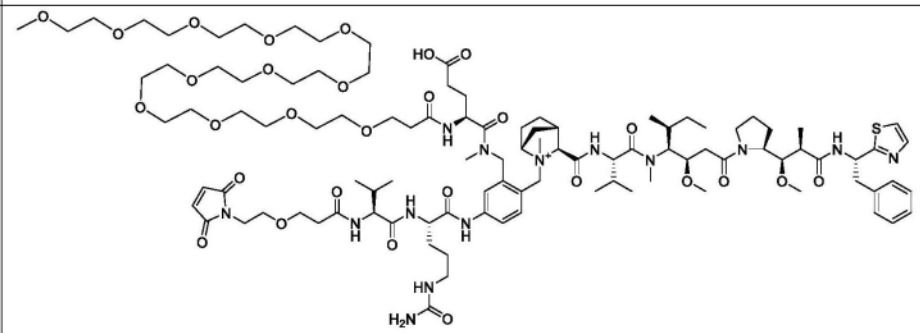
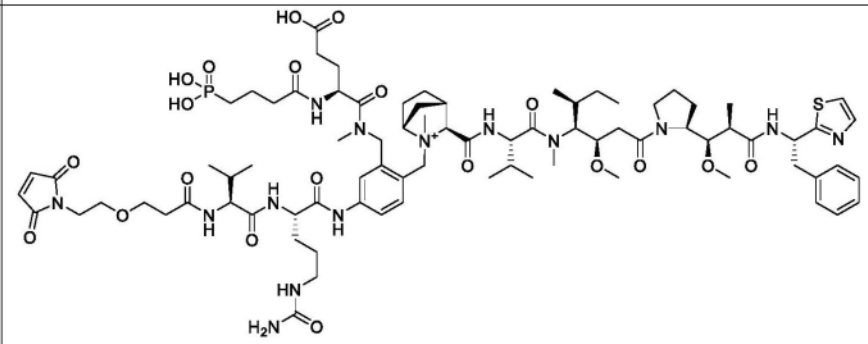
L146-P2	
L147-P2	
L148-P2	
L153-P2	
L154-P2	

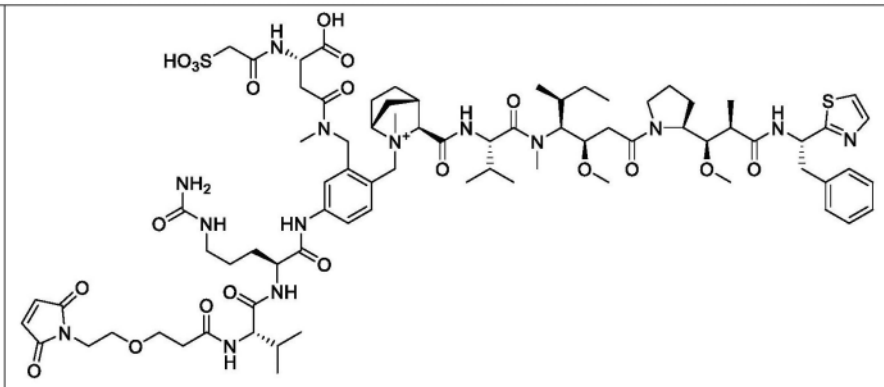
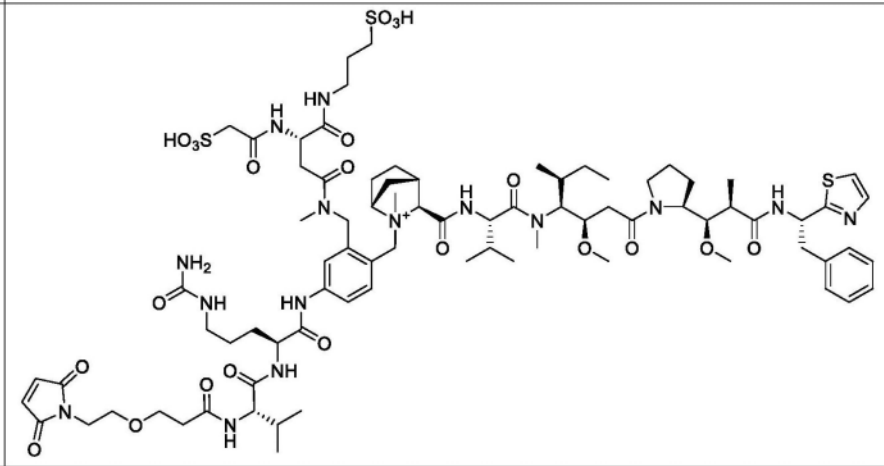
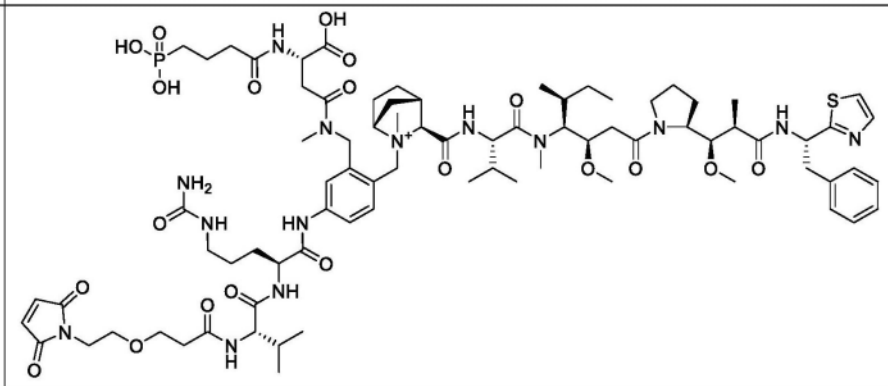
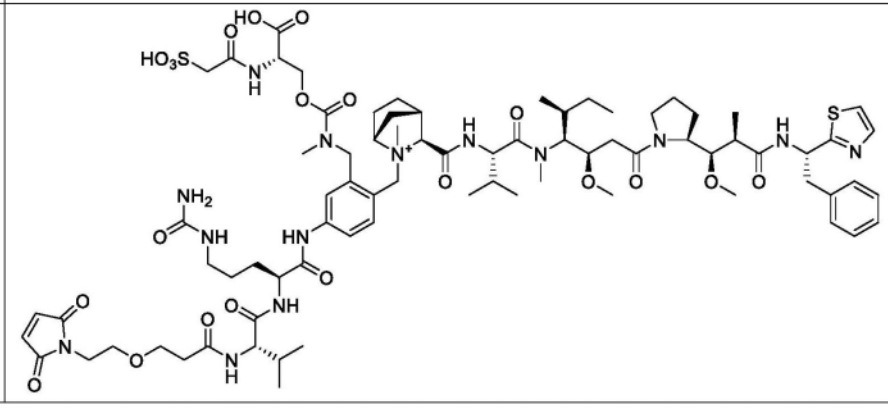
L155-P2	
L156-P2	
L157-P2	
L158-P2	
L159-P2	

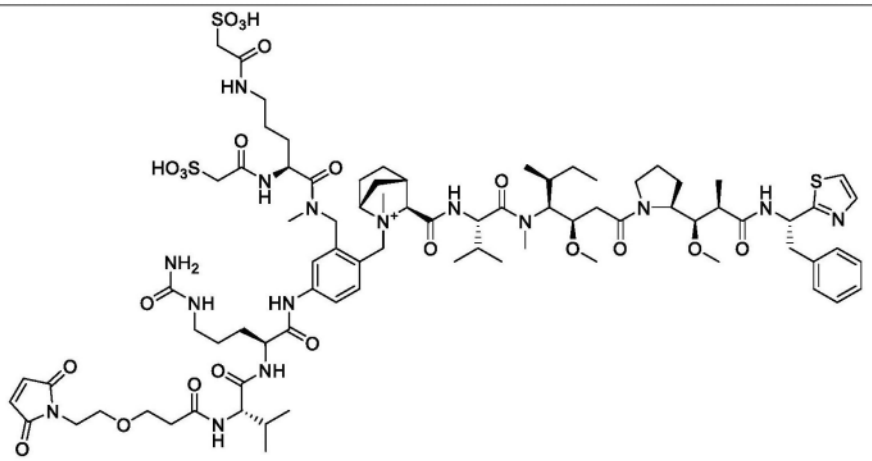
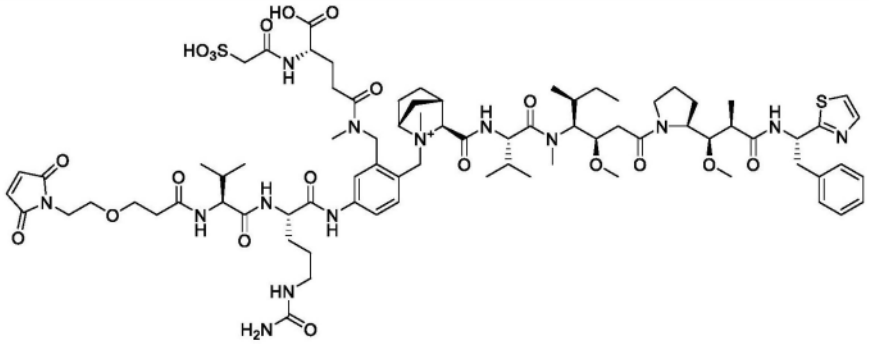
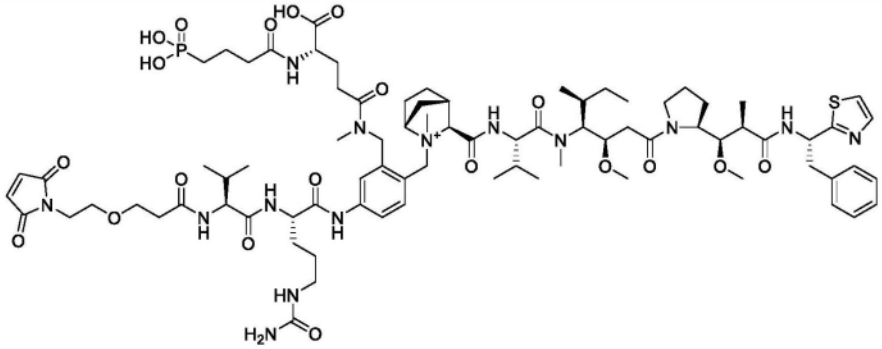
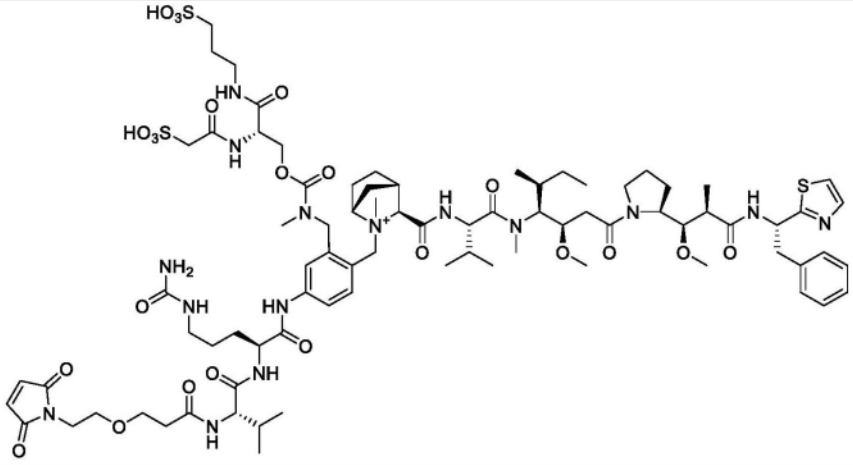
L160-P2	
L161-P2	
L168-P2	
L169-P2	

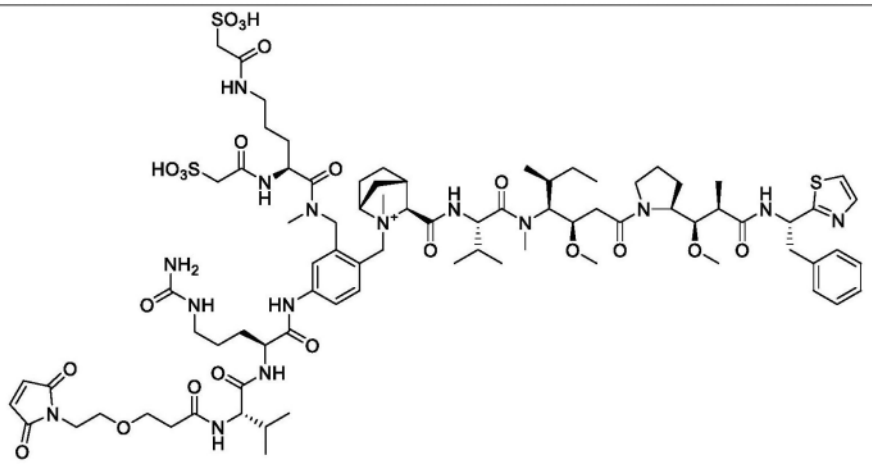
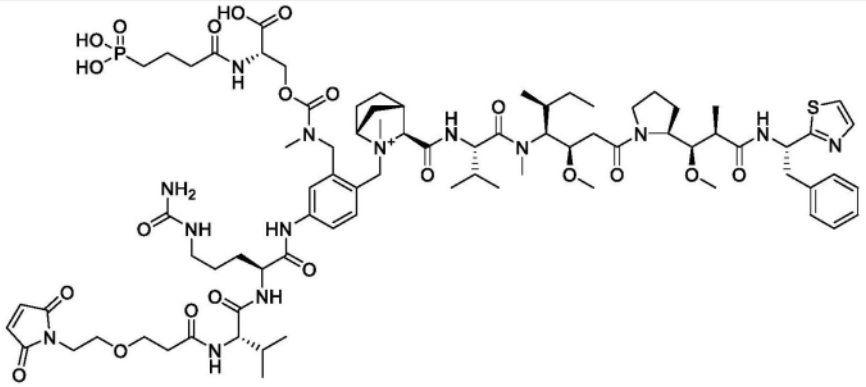
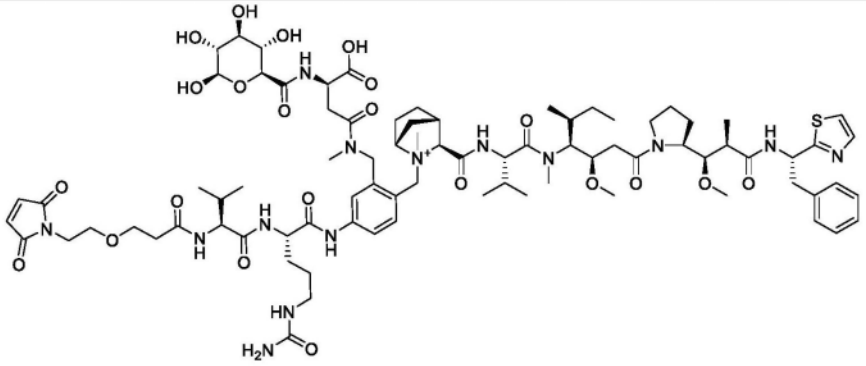
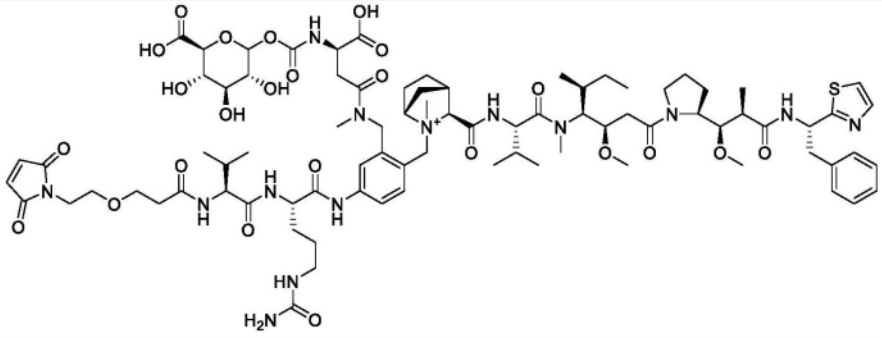
L170-P2	
L171-P2	
L172-P2	

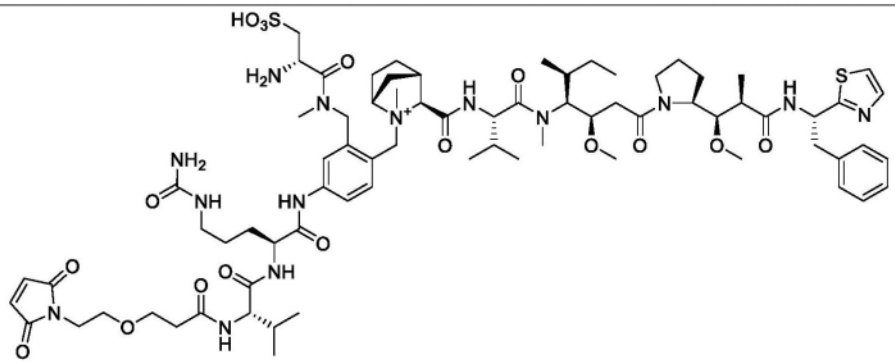
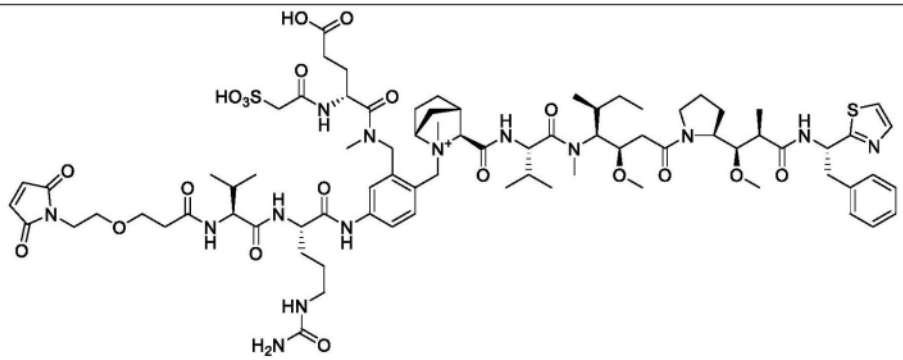
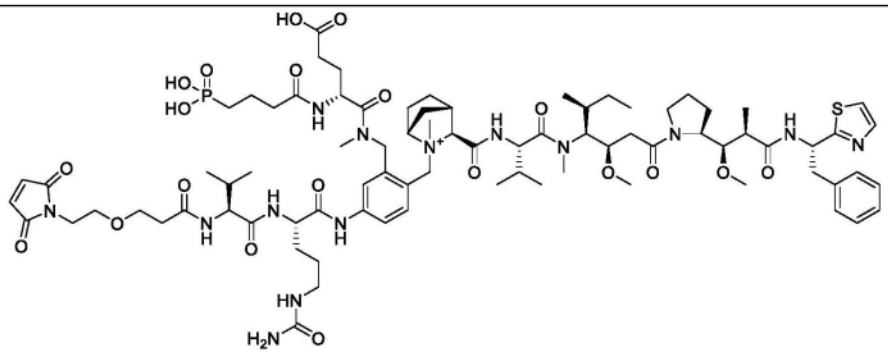
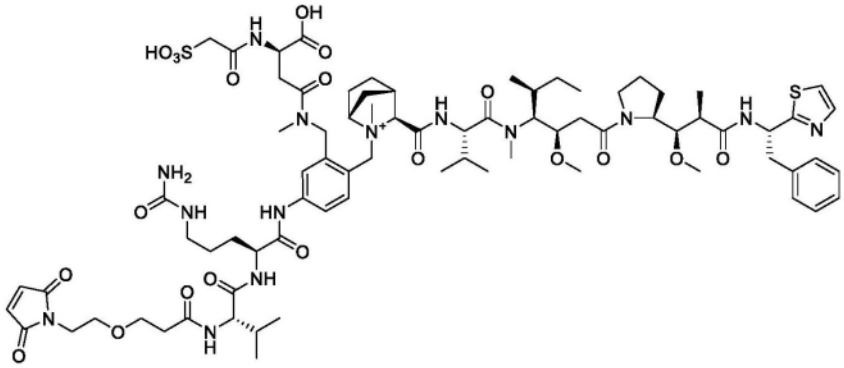
L173-P2	
L174-P2	
L175-P2	
L176-P2	

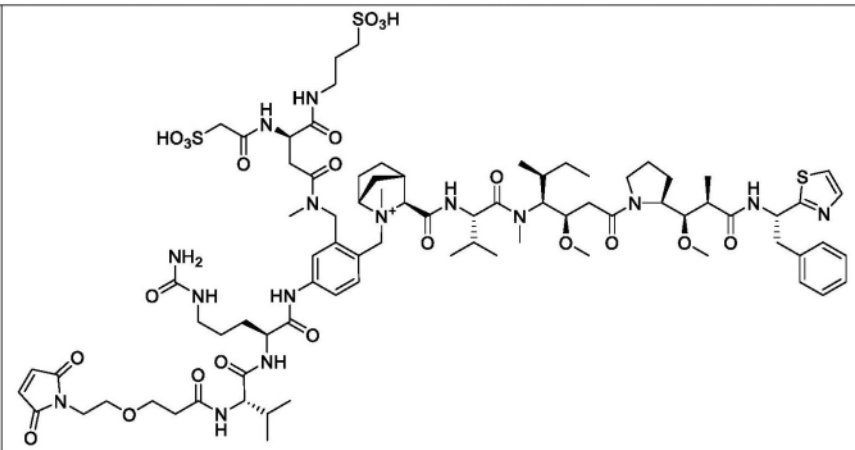
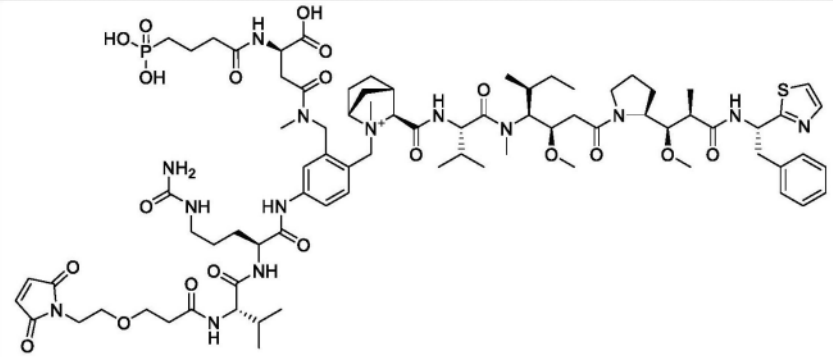
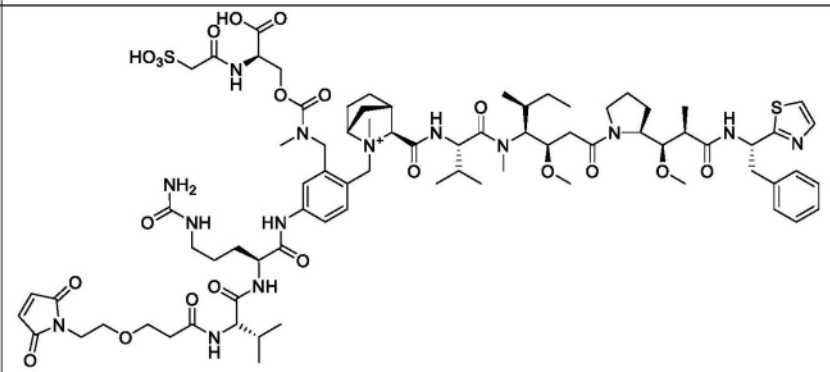
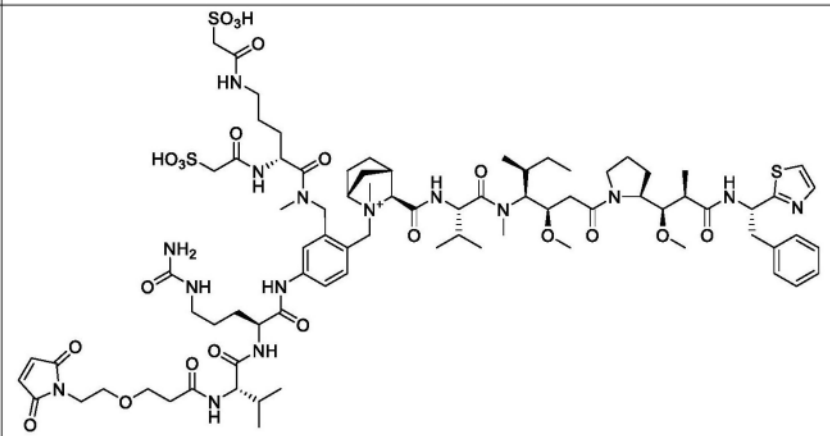
L177-P2	
L178-P2	
L179-P2	
L180-P2	

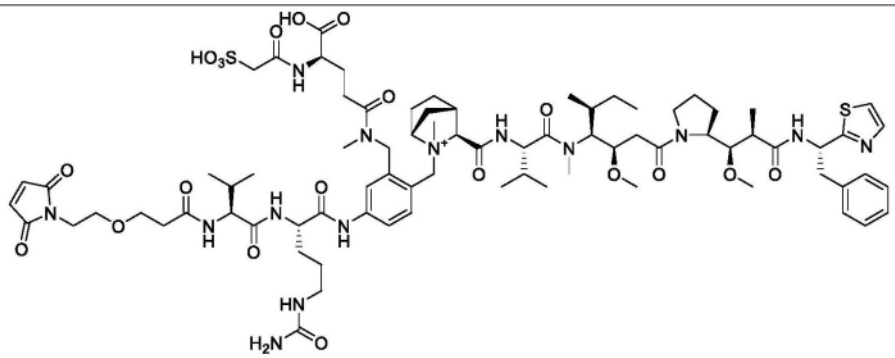
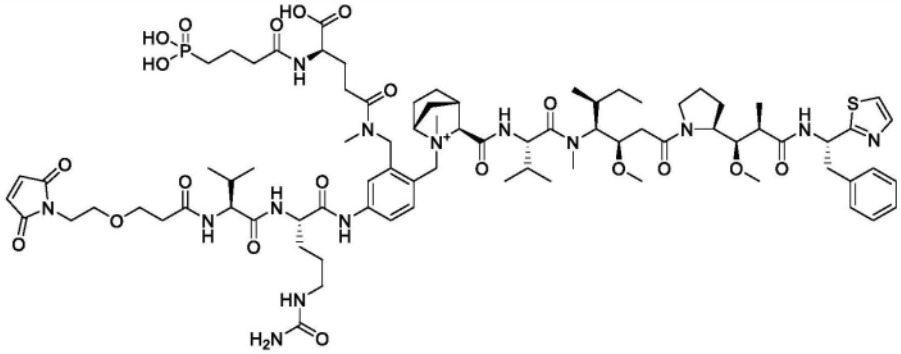
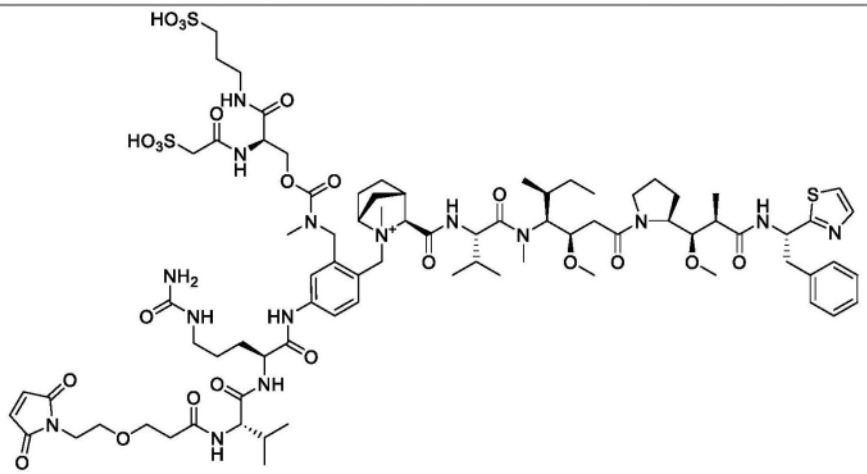
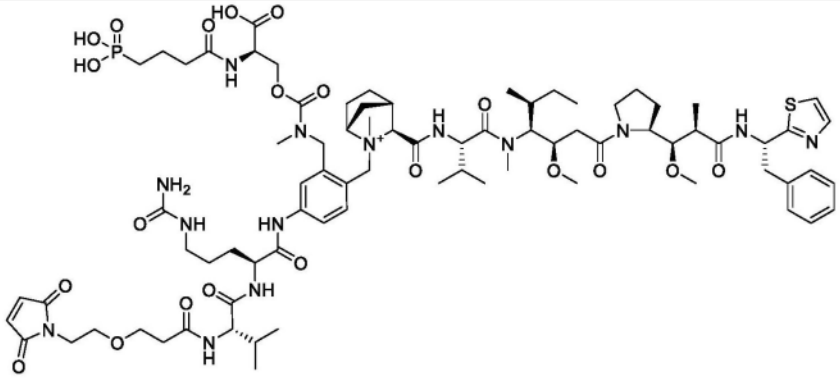
L181-P2	
L182-P2	
L183-P2	
L184-P2	

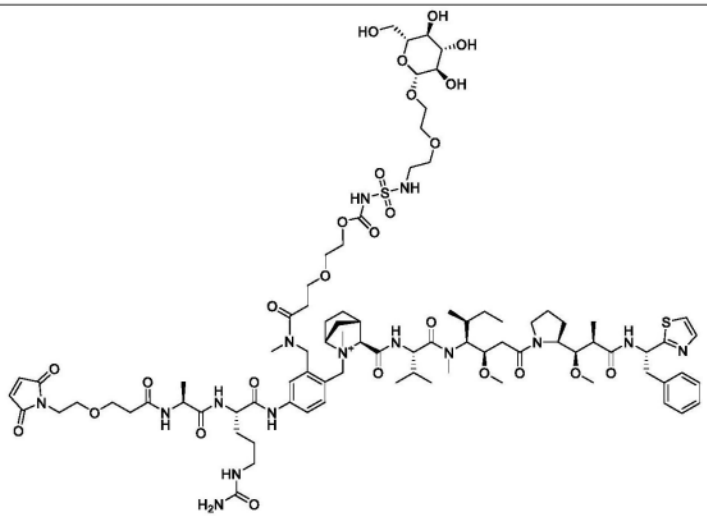
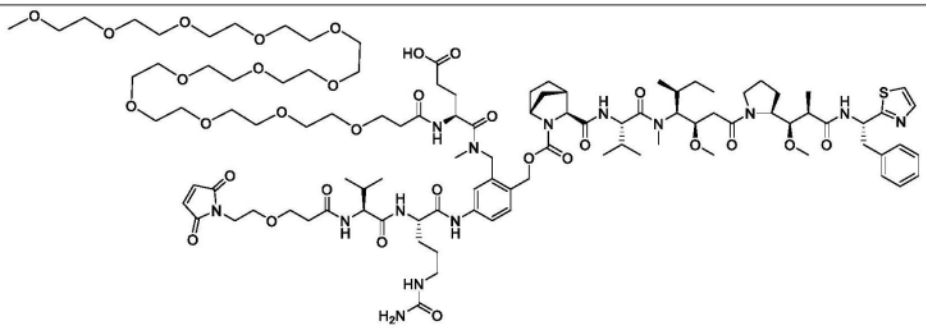
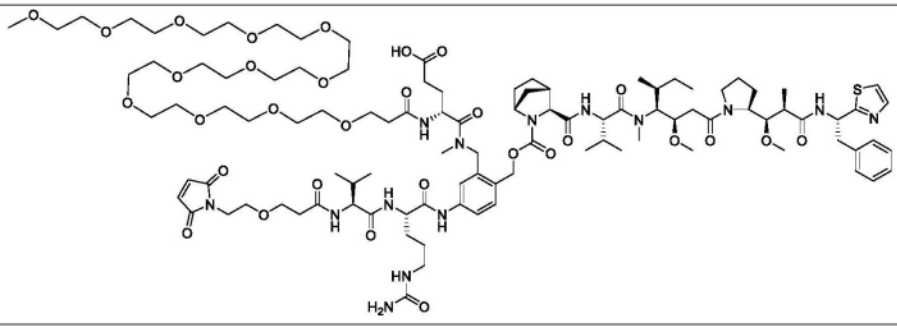
L185-P2	
L186-P2	
L187-P2	
L188-P2	

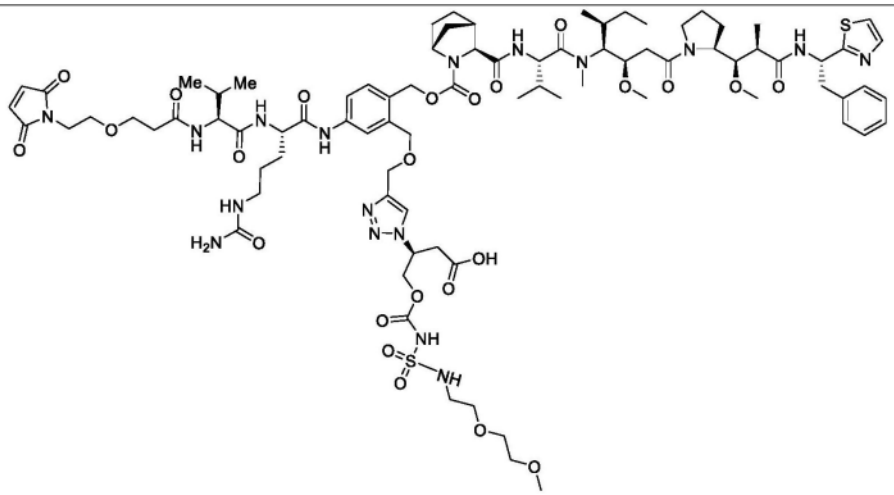
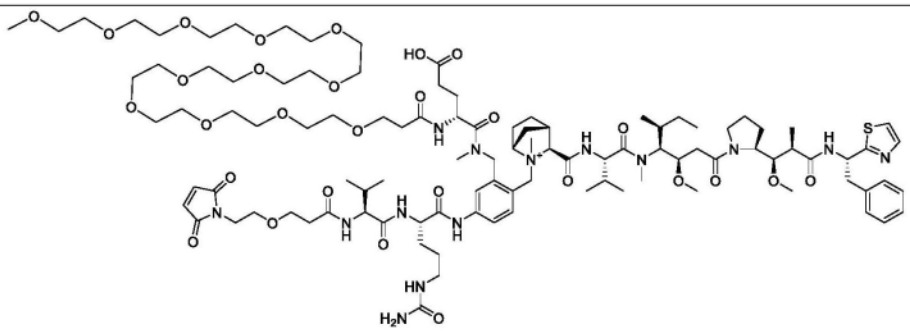
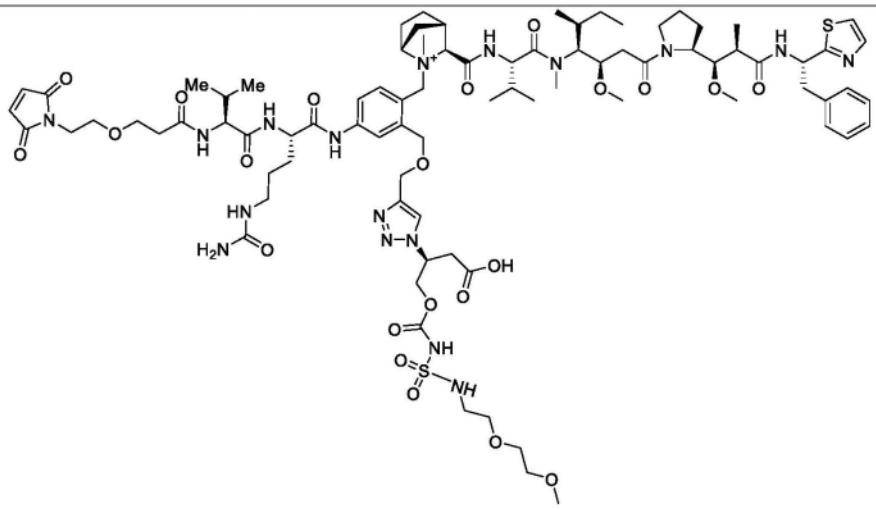
L189-P2	
L190-P2	
L191-P2	
L192-P2	

L193-P2	
L194-P2	
L196-P2	
L197-P2	

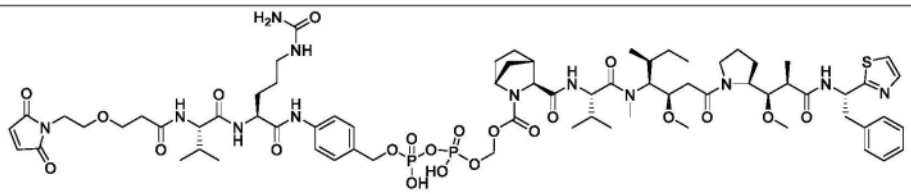
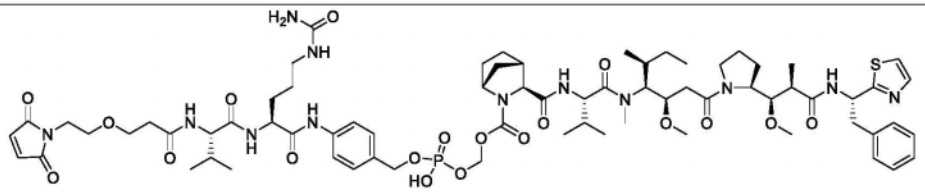
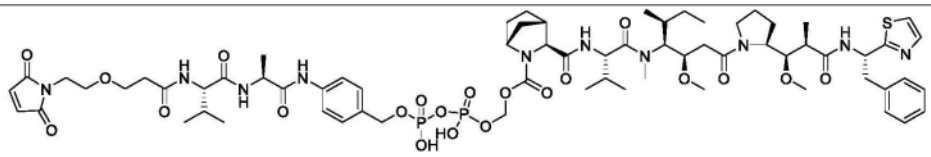
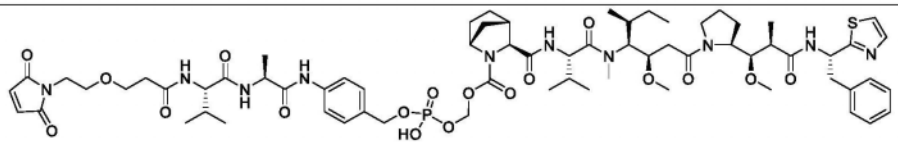
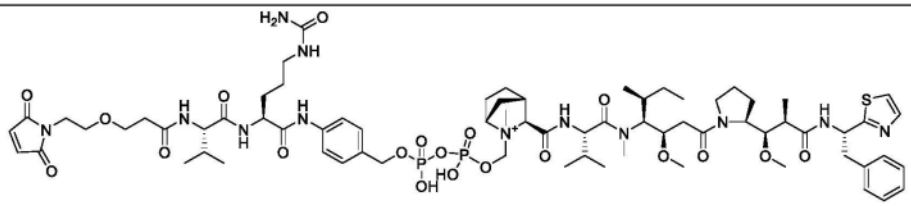
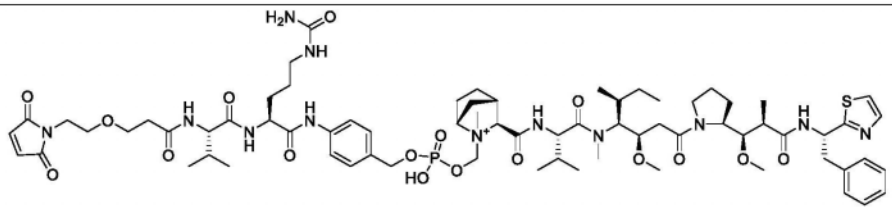
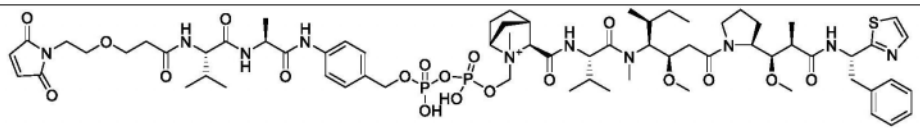
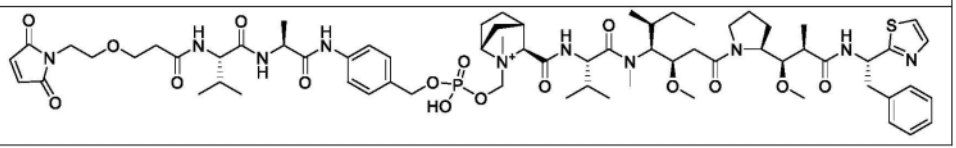
L198-P2	
L199-P2	
L200-P2	
L201-P2	

L202-P2	
L203-P2	
L204-P2	
L205-P2	

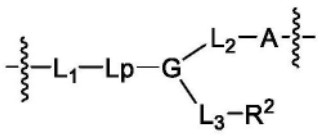
L206-P2	
L107-P1	
L123-P1	

L136-P1	
L195-P2	
L208-P2	

11.化合物或其药学上可接受的盐,其中所述化合物选自

编号	结构
L90-P1	
L91-P1	
L92-P1	
L93-P1	
L162-P2	
L163-P2	
L164-P2	
L165-P2	

12.一种具有式(V)的结构的接头，



式(V)

其中

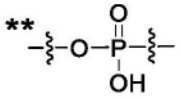
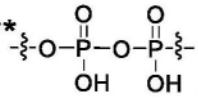
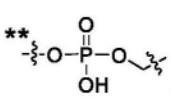
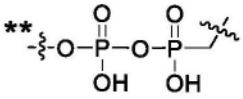
L_1是桥联间隔子；

Lp是二价肽间隔子；

G-L_2-A是自杀式间隔子;

R^2是亲水性部分;

L_2是键、亚甲基、新亚戊基或C_2-C_3亚烯基;

A是键、**-OC(=O)-、、、、、**-OC(=O)$N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)$C(=O)-或**-OC(=O)$N(CH_3)C(R^a)_2C(R^a)_2N(CH_3)$C(=O)-,其中每个$R^a$独立地选自H、$C_1$-$C_6$烷基或$C_3$-$C_8$环烷基并且其中所述A的**指示与$L_2$的附接点,

并且

L_3是间隔子部分。

13.如权利要求12所述的接头,其中:

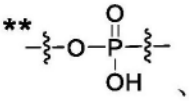
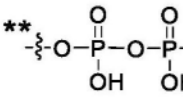
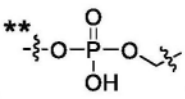
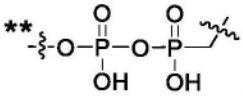
L_1是桥联间隔子;

Lp是包含一个至四个氨基酸残基的二价肽间隔子;

G-L_2-A是自杀式间隔子;

R^2是亲水性部分;

L_2是键、亚甲基、新亚戊基或C_2-C_3亚烯基;

A是键、**-OC(=O)-、、、、、**-OC(=O)$N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)$C(=O)-或**-OC(=O)$N(CH_3)C(R^a)_2C(R^a)_2N(CH_3)$C(=O)-,其中每个$R^a$独立地选自H、$C_1$-$C_6$烷基或$C_3$-$C_8$环烷基并且其中所述A的**指示与$L_2$的附接点,

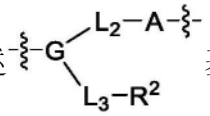
并且

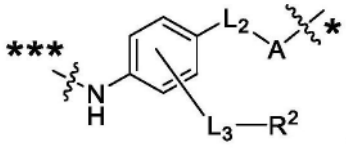
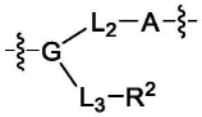
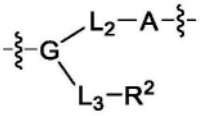
L_3是间隔子部分。

14.如权利要求12或权利要求13所述的接头,其中:

L_1是桥联间隔子;

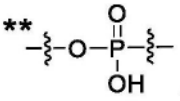
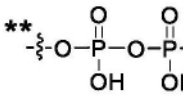
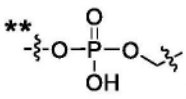
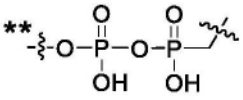
Lp是包含一个至四个氨基酸残基的二价肽间隔子;

所述基团选自:

,其中的*指示与所述药物部分的N或O的附接点,的***指示与Lp的附接点;

R^2是亲水性部分;

L_2是键、亚甲基、新亚戊基或C_2-C_3亚烯基;

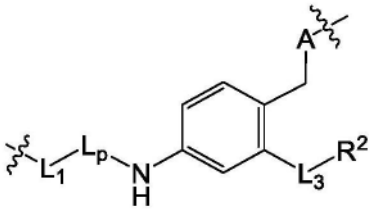
A是键、**-OC(=O)-、、、、、

-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-或-OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-，其中每个R^a独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基并且其中所述A的**指示与L_2的附接点，

并且

L_3是间隔子部分。

15.如权利要求12至14中任一项所述的接头，其具有式(VI)的结构，



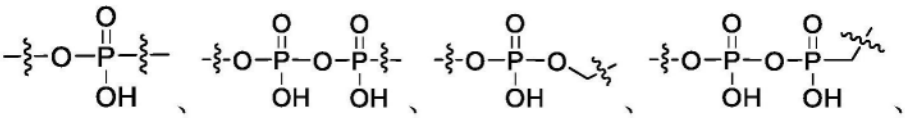
式(VI)

其中

L_1是桥联间隔子；

Lp是二价肽间隔子；

R^2是亲水性部分；

A是键、-OC(=O)-、、-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-或-OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-，其中每个R^a独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基，

并且

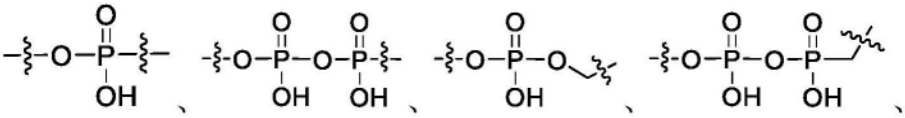
L_3是间隔子部分。

16.如权利要求12至15中任一项所述的接头，其中：

L_1是桥联间隔子；

Lp是包含一个至四个氨基酸残基的二价肽间隔子；

R^2是亲水性部分；

A是键、-OC(=O)-、、-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-或-OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-，其中每个R^a独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基，

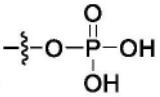
并且

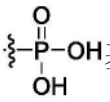
L_3是间隔子部分。

17.如权利要求12至16中任一项所述的接头，其中：

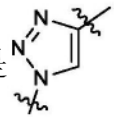
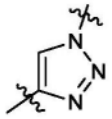
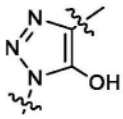
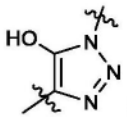
L_1是*-C(=O)(CH_2)$_m$O(CH_2)$_m$-**;*-C(=O)((CH_2)$_m$O)$_t$(CH_2)$_n$-**;*-C(=O)(CH_2)$_m$-**;*-C(=O)NH((CH_2)$_m$O)$_t$(CH_2)$_n$-**;*-C(=O)O(CH_2)$_m$SSC(R^3)$_2$(CH_2)$_m$C(=O)NR^3(CH_2)$_m$NR^3C(=O)(CH_2)$_m$-**;*-C(=O)O(CH_2)$_m$C(=O)NH(CH_2)$_m$-**;*-C(=O)(CH_2)$_m$NH(CH_2)$_m$-**;*-C(=O)(CH_2)$_m$NH(CH_2)$_n$C(=O)-**;*-C(=O)(CH_2)$_m$$X_1$($CH_2$)$_m$-**;*-C(=O)(($CH_2$)$_m$O)$_t$($CH_2$)$_n$$X_1$($CH_2$)$_n$-**;*-C(=O)($CH_2$)$_m$NHC(=O)($CH_2$)$_n$-**;*-C(=O)(($CH_2$)$_m$O)$_t$($CH_2$)$_n$NHC(=O)

$(CH_2)_n$-**;*-C(=O)$(CH_2)_m$NHC(=O)$(CH_2)_n$$X_1$$(CH_2)_n$-**;*-C(=O)$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$NHC(=O)$(CH_2)_n$$X_1$$(CH_2)_n$-**;*-C(=O)$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$C(=O)NH$(CH_2)_m$-**;*-C(=O)$(CH_2)_mC(R^3)_2$-**或*-C(=O)$(CH_2)_m$C(=O)NH$(CH_2)_m$-**,其中所述$L_1$的*指示与Lp的附接点;

R^2是选自聚乙二醇、聚亚烷基二醇、糖、寡糖、聚肌氨酸、多肽或被1至3个基团取代的C_2-C_6烷基的亲水性部分;

或

每个R^3独立地选自H和C_1-C_6烷基;

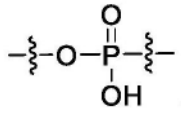
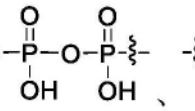
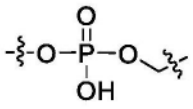
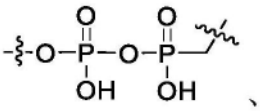
X_1是、、或;

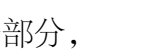
每个m独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10;

每个n独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10;

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

Lp是包含一个至四个氨基酸残基的二价肽间隔子,所述氨基酸残基独立地选自甘氨酸、缬氨酸、瓜氨酸、赖氨酸、异亮氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸、天冬酰胺、脯氨酸、丙氨酸、亮氨酸、色氨酸、和酪氨酸;

A是键、-OC(=O)-、、、、、-OC(=O)N$(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)$C(=O)-或-OC(=O)N(CH_3)C$(R^a)_2$C$(R^a)_2$N(CH_3)C(=O)-,其中每个R^a独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基;

L_3是具有结构的间隔子部分,

其中

(i)W是-CH_2O-**、-CH_2N(R^b)C(=O)O-**、-NHC(=O)C$(R^b)_2$NHC(=O)O-**、-NHC(=O)C$(R^b)_2$NH-**、-NHC(=O)C$(R^b)_2$NHC(=O)-**、-CH_2N(X-R^2)C(=O)O-**、-C(=O)N(X-R^2)-**、-CH_2N(X-R^2)C(=O)-**、-C(=O)NR^b-**、-C(=O)NH-**、-CH_2NR^bC(=O)-**、-CH_2NR^bC(=O)NH-**、-CH_2NR^bC(=O)NR^b-**、-NHC(=O)-**、-NHC(=O)O-**、-NHC(=O)NH-**、-OC(=O)NH-**、-S(O)$_2$NH-**、-NHS(O)$_2$-**、-C(=O)-、-C(=O)O-**、-NH-、或-CH_2N(R^b)C(=O)CH_2-**,其中每个R^b独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基并且其中所述W的**指示与X的附接点;

X是键、或***-CH_2-三唑基-*,其中所述X的***指示与W的附接点并且所述X的*指示与R^2的附接点;或

(ii)W是-CH_2O-**、-CH_2N(R^b)C(=O)O-**、-NHC(=O)C$(R^b)_2$NHC(=O)O-**、-NHC(=O)C$(R^b)_2$NH-**、NHC(=O)C$(R^b)_2$NHC(=O)-**、-CH_2N(X-R^2)C(=O)O-**、-C(=O)N(X-R^2)-**、-CH_2N(X-R^2)C(=O)-**、-C(=O)NR^b-**、-C(=O)NH-**、-CH_2NR^bC(=O)-**、-CH_2NR^bC(=O)NH-**、-CH_2NR^bC(=O)NR^b-**、-NHC(=O)-**、-NHC(=O)O-**、-NHC(=O)NH-**、-OC(=O)

NH-**、-S(O)$_2$NH-**、-NHS(O)$_2$-**、-C(=O)-、-C(=O)O-**或-NH-,其中每个R^b独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基并且其中所述W的**指示与X的附接点;

X是***-CH_2-三唑基-C_{1-4}亚烷基-OC(O)NHS(O)$_2$NH-*、***-C_{4-6}亚环烷基-OC(O)NHS(O)$_2$NH-*、***-$(CH_2CH_2O)_n$-C(O)NHS(O)$_2$NH-*、***-$(CH_2CH_2O)_n$-C(O)NHS(O)$_2$NH-$(CH_2CH_2O)_n$-*、或***-CH_2-三唑基-C_{1-4}亚烷基-OC(O)NHS(O)$_2$NH-$(CH_2CH_2O)_n$-*,其中每个n独立地是1、2、或3,所述X的***指示与W的附接点并且所述X的*指示与R^2的附接点;

并且

所述L_3的*指示与R^2的附接点。

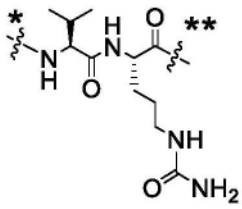
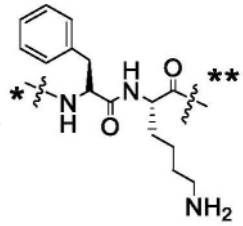
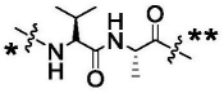
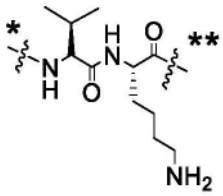
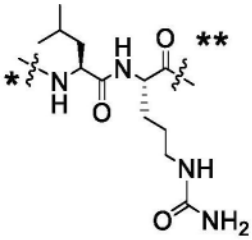
18.如权利要求12至17中任一项所述的接头,其中:

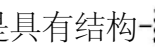
L_1是*-C(=O)$(CH_2)_m$O$(CH_2)_m$-**;*-C(=O)$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$-**;*-C(=O)$(CH_2)_m$-**;或*-C(=O)NH$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$-,其中所述L_1的*指示与Lp的附接点;

每个m独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10;

每个n独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10;

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

Lp是选自(ValCit)、(PheLys)、(ValAla)、(ValLys)和(LeuCit)的二价肽间隔子,其中所述Lp的*指示与L_1的附接点并且所述Lp的**指示与-NH-基团的附接点;

L_3是具有结构的间隔子部分,

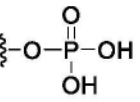
其中

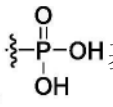
W是-CH_2O-**、-CH_2N(R^b)C(=O)O-**、-NHC(=O)CH_2NHC(=O)O-**、-CH_2N(X-R^2)C(=O)O-**、-C(=O)N(X-R^2)-**、-CH_2N(X-R^2)C(=O)-**、-C(=O)NR^b-**、-C(=O)NH-**、-CH_2NR^bC(=O)-**、-CH_2NR^bC(=O)NH-**、-CH_2NR^bC(=O)NR^b-**、-NHC(=O)-**、-NHC(=O)O-**、-NHC(=O)NH-**、-OC(=O)NH-**、-S(O)$_2$NH-**、-NHS(O)$_2$-**、-C(=O)-、-C(=O)O-**或-NH-,其中每个R^b独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基并且其中所述W的**指示与X的附接点;

X是键、三唑基或***-CH_2-三唑基-*,其中所述X的***指示与W的附接点并且所述X的*指示与R^2的附接点;

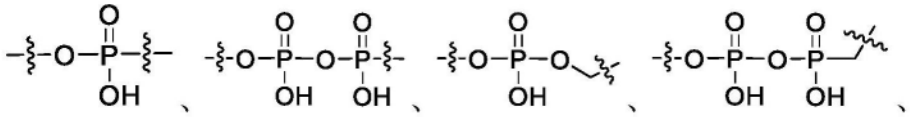
并且

所述L_3的*指示与R^2的附接点;

R^2是选自聚乙二醇、聚亚烷基二醇、糖、寡糖、聚肌氨酸、多肽或被1至3个

或基团取代的C_2-C_6烷基的亲水性部分；

并且

A是键、-OC(=O)-、

OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-或-OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-,其中每个R^a独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基。

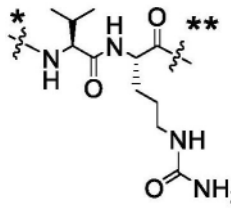
19.如权利要求12至18中任一项所述的接头,其中:

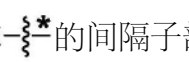
L_1是*-C(=O)(CH_2)$_m$O(CH_2)$_m$-**;*-C(=O)((CH_2)$_m$O)$_t$(CH_2)$_n$-**;*-C(=O)(CH_2)$_m$-**;或*-C(=O)NH((CH_2)$_m$O)$_t$(CH_2)$_n$-,其中所述L_1的*指示与Lp的附接点;

每个m独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10;

每个n独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10;

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

Lp是选自(ValCit)的二价肽间隔子,其中所述Lp的*指示与L_1的附接点并且所述Lp的**指示与-NH-基团的附接点;

L_3是具有结构的间隔子部分,

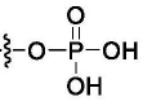
其中

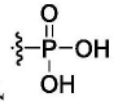
W是-CH_2O-**、-CH_2N(R^b)C(=O)O-**、-NHC(=O)CH_2NHC(=O)O-**、-CH_2N(X-R^2)C(=O)O-**、-C(=O)N(X-R^2)-**、-CH_2N(X-R^2)C(=O)-**、-C(=O)NR^b-**、-C(=O)NH-**、-CH_2NR^bC(=O)-**、-CH_2NR^bC(=O)NH-**、-CH_2NR^bC(=O)NR^b-**、-NHC(=O)-**、-NHC(=O)O-**、-NHC(=O)NH-**、-OC(=O)NH-**、-S(O)$_2$NH-**、-NHS(O)$_2$-**、-C(=O)-、-C(=O)O-**或-NH-,其中每个R^b独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基并且其中所述W的**指示与X的附接点;

X是键、三唑基或***-CH_2-三唑基-*,其中所述X的***指示与W的附接点并且所述X的*指示与R^2的附接点;

并且

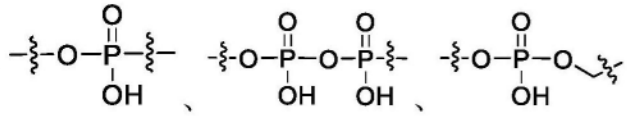
所述L_3的*指示与R^2的附接点;

R^2是选自聚乙二醇、聚亚烷基二醇、糖、寡糖、聚肌氨酸、多肽或被1至3个

基团取代的C_2-C_6烷基的亲水性部分；

或

并且

A是键、-OC(=O)-、-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-或-OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-，其中每个R^a独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基。

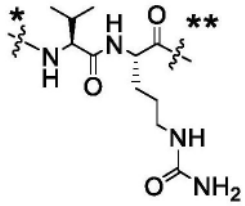
20.如权利要求12至19中任一项所述的接头，其中：

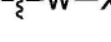
L_1是*-C(=O)(CH_2)$_m$O(CH_2)$_m$-**;*-C(=O)((CH_2)$_m$O)$_t$(CH_2)$_n$-**;*-C(=O)(CH_2)$_m$-**;或*-C(=O)NH((CH_2)$_m$O)$_t$(CH_2)$_n$-，其中所述L_1的*指示与Lp的附接点；

每个m独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10；

每个n独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10；

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

Lp是选自(ValCit)的二价肽间隔子，其中所述Lp的*指示与L_1的附接点并且所述Lp的**指示与-NH-基团的附接点；

L_3是具有结构的间隔子部分，

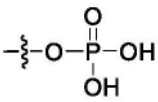
其中

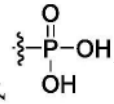
W是-CH_2O-**、-CH_2N(R^b)C(=O)O-**、-NHC(=O)CH_2NHC(=O)O-**、-CH_2N(X-R^2)C(=O)O-**、-C(=O)N(X-R^2)-**、-C(=O)NR^b-**、-C(=O)NH-**、-CH_2NR^bC(=O)-**、-CH_2NR^bC(=O)NH-**、-CH_2NR^bC(=O)NR^b-**、-NHC(=O)-**、-NHC(=O)O-**、或-NHC(=O)NH-**，其中每个R^b独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基并且其中所述W的**指示与X的附接点；

X是键、或***-CH_2-三唑基-*，其中所述X的***指示与W的附接点并且所述X的*指示与R^2的附接点；

并且

所述L_3的*指示与R^2的附接点；

R^2是选自聚乙二醇、聚亚烷基二醇、糖、寡糖、聚肌氨酸、多肽或被1至3个

基团取代的C_2-C_6烷基的亲水性部分；

或

并且

A是键或-OC(=O)-。

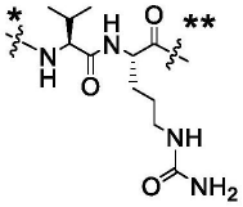
21.如权利要求12至20中任一项所述的接头，其中：

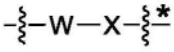
L_1是*-C(=O)$(CH_2)_m$O$(CH_2)_m$-**;*-C(=O)$((CH_2)_m O)_t(CH_2)_n$-**;*-C(=O)$(CH_2)_m$-**;或*-C(=O)NH$((CH_2)_m O)_t(CH_2)_n$-,其中所述L_1的*指示与Lp的附接点;

每个m独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10;

每个n独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10;

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

Lp是选自(ValCit)的二价肽间隔子,其中所述Lp的*指示与L_1的附接点并且所述Lp的**指示与-NH-基团的附接点;

L_3是具有结构的间隔子部分,

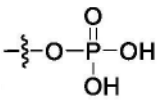
其中

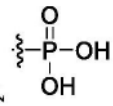
W是-CH_2O-**、-CH_2N(R^b)C(=O)O-**、-NHC(=O)CH_2NHC(=O)O-**、-CH_2N(X-R^2)C(=O)O-**、或-C(=O)N(X-R^2)-**,其中每个R^b独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基并且其中所述W的**指示与X的附接点;

X是***-CH_2-三唑基-*,其中所述X的***指示与W的附接点并且所述X的*指示与R^2的附接点;

并且

所述L_3的*指示与R^2的附接点;

R^2是选自聚乙二醇、聚亚烷基二醇、糖、寡糖、聚肌氨酸、多肽或被1至3个

或基团取代的C_2-C_6烷基的亲水性部分;

并且

A是键或-OC(=O)-。

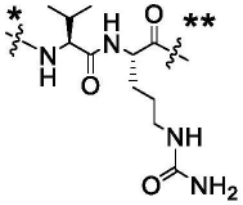
22.如权利要求12至21中任一项所述的接头,其中:

L_1是*-C(=O)$(CH_2)_m$O$(CH_2)_m$-**;*-C(=O)$((CH_2)_m O)_t(CH_2)_n$-**;*-C(=O)$(CH_2)_m$-**;或*-C(=O)NH$((CH_2)_m O)_t(CH_2)_n$-,其中所述L_1的*指示与Lp的附接点;

每个m独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10;

每个n独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10;

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

Lp是选自  (ValCit)的二价肽间隔子,其中所述Lp的*指示与L_1的附接点并且所述Lp的**指示与-NH-基团的附接点;

L_3是具有结构-~~W—X~~-的间隔子部分,

其中

W是-CH_2O-**、-$CH_2N(R^b)C(=O)O$-**、-$NHC(=O)CH_2NHC(=O)O$-**、

-$CH_2N(X\text{-}R^2)C(=O)O$-**、或-$C(=O)N(X\text{-}R^2)$-**,其中每个$R^b$独立地选自H、$C_1$-$C_6$烷基或$C_3$-$C_8$环烷基并且其中所述W的**指示与X的附接点;

X是***-CH_2-三唑基-*,其中所述X的***指示与W的附接点并且所述X的*指示与R^2的附接点;

并且

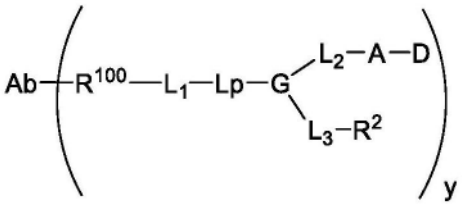
所述L_3的*指示与R^2的附接点;

R^2是聚乙二醇;

并且

A是键或-OC(=O)-。

23.一种具有式(III)的缀合物:



式(III)

其中:

Ab是抗体或其片段;

R^{100}是偶联基团;

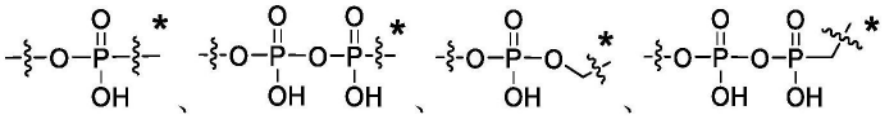
L_1是桥联间隔子;

Lp是二价肽接头;

G-L_2-A是自杀式间隔子;

R^2是亲水性部分;

L_2是键、亚甲基、新亚戊基或C_2-C_3亚烯基;

A是键、-OC(=O)-*、、-OC(=O)$N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)$-*或-OC(=O)$N(CH_3)C(R^a)_2C(R^a)_2N(CH_3)C(=O)$-*,其中每个$R^a$独立地选自H、$C_1$-$C_6$烷基或$C_3$-$C_8$环烷基并且所述A的*指示与D的附接点;

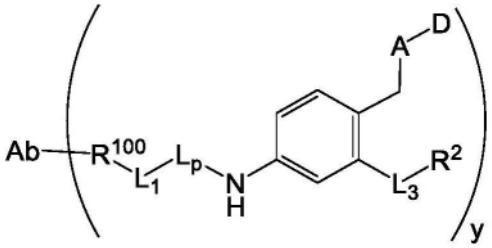
L_3是间隔子部分;

D是包含N或O的药物部分,其中D经由从A到所述药物部分的N或O的直接键连接至A,

并且

y是1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15或16。

24.一种具有式(IV)的缀合物:



式(IV)

其中:

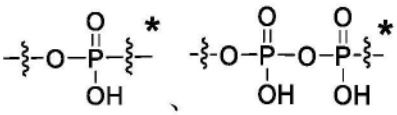
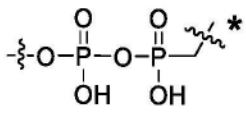
Ab是抗体或其片段;

R^{100}是偶联基团;

L_1是桥联间隔子;

Lp是包含一至四个氨基酸残基的二价肽接头;

R^2是亲水性部分;

A是键、-OC(=O)-*、、、、、-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-*或-OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-*,其中每个R^a独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基并且所述A的*指示与D的附接点;

L_3是间隔子部分;

D是包含N或O的药物部分,其中D经由从A到所述药物部分的N或O的直接键连接至A,

并且

y是1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15或16。

具有包含亲水性基团的接头的抗体药物缀合物

[0001] 本申请是申请日为2020年5月19日、优先权日为2019年5月20日、发明名称为“具有包含亲水性基团的接头的抗体药物缀合物”的中国专利申请202080036837.5的分案申请。

[0002] 相关申请的交叉引用

[0003] 本申请要求2019年5月20日提交的美国临时申请号62/850,094的权益和优先权，将其内容通过引用以其全文特此并入。

技术领域

[0004] 本发明提供了用于改善包含一个或多个疏水性药物化合物的抗体药物缀合物(ADC)的溶解性的接头。

背景技术

[0005] 抗体药物缀合物(ADC)设计的一个方面是化学接头的设计，其将药物部分连接至靶向部分。典型地，ADC使用疏水性药物部分，但是当此类药物部分与相对疏水性接头组合使用时，会出现溶解性问题，这会影响ADC的生物相容性和药物功效。

[0006] 据报道，有接头策略试图克服这些挑战，特别是并入聚乙二醇的亲水性接头(参见R.P.Lyon,T.D.Bovee,S.O.Doronina,P.J.Burke,J.H.Hunter,H.D.Neff-LaFord,M.Jonas,M.E.Anderson,J.R.Setter,P.D.Senter,Nat.Biotechnol.[自然生物技术],2015,33,733-735和WO 2015057699)、并入磺酸酯的接头(R.Y.Zhao,S.D.Wilhelm,C.Audette,G.Jones,B.A.Leece,A.C.Lazar,V.S.Goldmacher,R.Singh,Y.Kovtun,W.C.Widdison,J.M.Lambert,R.V.J.Chari,J.Med.Chem.[药物化学杂志],2011,54,3606-3623)和具有碳水化合物骨架的接头(F.S.Ekholm,H.Pynnönen,A.Vilkman,V.Pitkänen,J.Helin,J.Saarinen,T.Satomaa,ChemMedChem.[化学药物化学],2016,11(22):2501-2505)的设计。然而，仍然需要允许靶向递送具有改善的药代动力学和药效学性质的疏水性药物的抗体药物缀合物形式。

发明内容

[0007] 本发明提供了用于在改善接头-药物缀合物的溶解性中使用的接头，其中此类缀合物包含一个或多个疏水性药物化合物，其中所述接头包含一个或多个亲水性基团。本文描述了本发明的各种实施例。

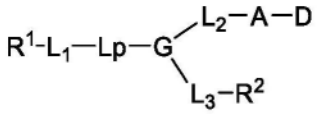
[0008] 本发明进一步地提供了用于在改善抗体药物缀合物(ADC)的溶解性中使用的接头，其中所述ADC包含一个或多个疏水性药物化合物，其中所述接头包含一个或多个亲水性基团。本文描述了本发明的各种实施例。

[0009] 在一个实施例中，本文披露了包含一个或多个自杀式基团的接头，其中所述一个或多个自杀式基团各自被一个或多个亲水性部分取代。

[0010] 在一个实施例中，本文披露了接头-药物基团，其中所述接头包含偶联至药物的一个或多个自杀式基团，并且其中所述一个或多个自杀式基团中各自被一个或多个亲水性部分取代。

[0011] 在一个实施例中,本文披露了包含一个或多个接头-药物基团的抗体药物缀合物,其中所述接头包含偶联至药物的一个或多个自杀式基团,并且其中所述一个或多个自杀式基团各自被一个或多个亲水性部分取代。

[0012] 在一个实施例中,是具有式(I)的接头-药物基团,或其药学上可接受的盐:

[0013] 

式(I)

[0014] 其中:

[0015] R^1是反应性基团;

[0016] L_1是桥联间隔子;

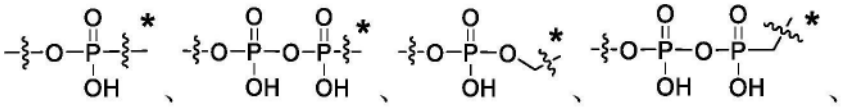
[0017] Lp是二价肽间隔子;

[0018] G-L_2-A是自杀式间隔子;

[0019] R^2是亲水性部分;

[0020] L_2是键、亚甲基、新亚戊基或C_2-C_3亚烯基;

[0021] A是键、-OC(=O)-*、



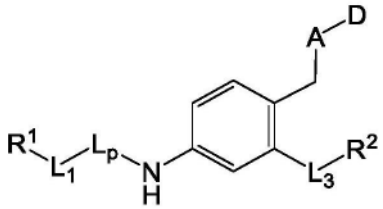
-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-*或-OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-*,其中每个R^a独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基并且所述A的*指示与D的附接点;

[0022] L_3是间隔子部分;

[0023] 并且

[0024] D是包含N或O的药物部分,其中D经由从A到所述药物部分的N或O的直接键连接至A。

[0025] 在具有式(I)的接头-药物基团的实施例中,是具有式(II)的接头-药物基团,或其药学上可接受的盐:

[0026] 

式(II)

[0027] 其中:

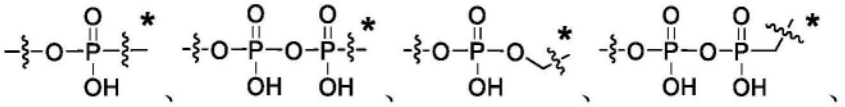
[0028] R^1是反应性基团;

[0029] L_1是桥联间隔子;

[0030] Lp是包含一至四个氨基酸残基的二价肽接头;

[0031] R^2是亲水性部分;

[0032] A是键、-OC(=O)-*、



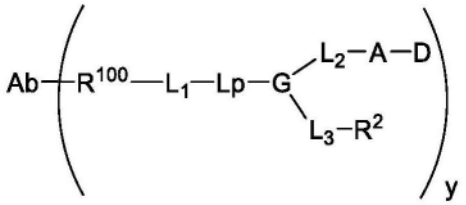
-OC(=O)N(CH$_3$)CH$_2$CH$_2$N(CH$_3$)C(=O)-*或-OC(=O)N(CH$_3$)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH$_3$)C(=O)-*,其中每个R^{a}独立地选自H、C$_1$-C$_6$烷基或C$_3$-C$_8$环烷基并且所述A的*指示与D的附接点;

[0033] L$_3$是间隔子部分;

[0034] 并且

[0035] D是包含N或O的药物部分,其中D经由从A到所述药物部分的N或O的直接键连接至A。

[0036] 在一个实施例中,是具有式(III)的抗体药物缀合物:

[0037] 

式(III)

[0038] 其中:

[0039] Ab是抗体或其片段;

[0040] R^{100}是偶联基团;

[0041] L$_1$是桥联间隔子;

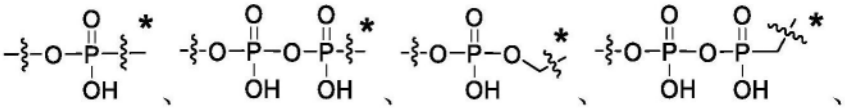
[0042] Lp是二价肽接头;

[0043] G-L$_2$-A是自杀式间隔子;

[0044] R^{2}是亲水性部分;

[0045] L$_2$是键、亚甲基、新亚戊基或C$_2$-C$_3$亚烯基;

[0046] A是键、-OC(=O)-*、



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

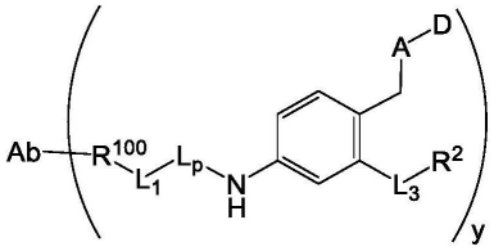
[0047] L$_3$是间隔子部分;

[0048] D是包含N或O的药物部分,其中D经由从A到所述药物部分的N或O的直接键连接至A,

[0049] 并且

[0050] y是1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15或16。

[0051] 在具有式(III)的抗体药物缀合物的实施例中,是具有式(IV)的抗体药物缀合物:

[0052] 

式(IV)

[0053] 其中：

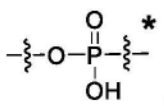
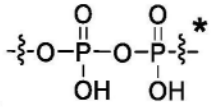
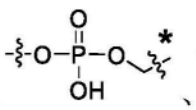
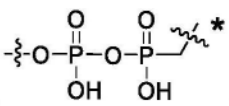
[0054] Ab是抗体或其片段；

[0055] R^{100}是偶联基团；

[0056] L_1是桥联间隔子；

[0057] Lp是包含一至四个氨基酸残基的二价肽接头；

[0058] R^2是亲水性部分；

[0059] A是键、-OC(=O)-*、、、、、-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-*或-OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-*，其中每个R^a独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基并且所述A的*指示与D的附接点；

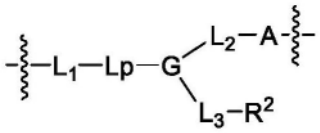
[0060] L_3是间隔子部分；

[0061] D是包含N或O的药物部分，其中D经由从A到所述药物部分的N或O的直接键连接至A，

[0062] 并且

[0063] y是1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15或16。

[0064] 本发明的另一方面是具有式(V)的结构的接头，

[0065] 

式(V)

[0066] 其中

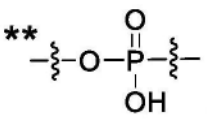
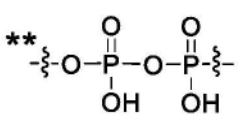
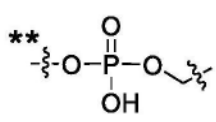
[0067] L_1是桥联间隔子；

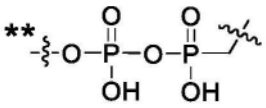
[0068] Lp是二价肽间隔子；

[0069] G-L_2-A是自杀式间隔子；

[0070] R^2是亲水性部分；

[0071] L_2是键、亚甲基、新亚戊基或C_2-C_3亚烯基；

[0072] A是键、**-OC(=O)-、、、、

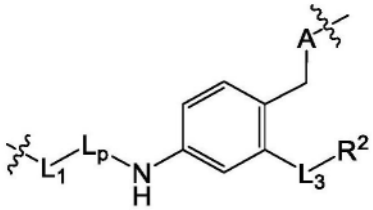


、**-OC(=O)N(CH$_3$)CH$_2$CH$_2$N(CH$_3$)C(=O)-或**-OC(=O)N(CH$_3$)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH$_3$)C(=O)-,其中每个R^{a}独立地选自H、C$_1$-C$_6$烷基或C$_3$-C$_8$环烷基并且其中所述A的**指示与L$_2$的附接点,

[0073] 并且

[0074] L$_3$是间隔子部分。

[0075] 在具有式(V)的接头的实施例中,是具有式(VI)的结构的接头,

[0076] 

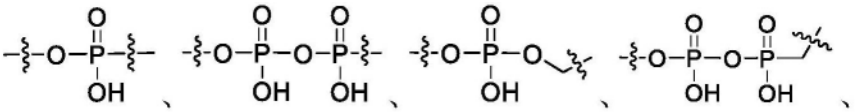
式(VI)

[0077] 其中

[0078] L$_1$是桥联间隔子;

[0079] Lp是二价肽间隔子;

[0080] R^{2}是亲水性部分;

[0081] A是键、-OC(=O)-、、-OC(=O)N(CH$_3$)CH$_2$CH$_2$N(CH$_3$)C(=O)-或-OC(=O)N(CH$_3$)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH$_3$)C(=O)-,其中每个R^{a}独立地选自H、C$_1$-C$_6$烷基或C$_3$-C$_8$环烷基,

[0082] 并且

[0083] L$_3$是间隔子部分。

[0084] 本文所述的接头包含亲水性部分,有助于抗体-药物缀合物(ADC)的总体亲水性并改善所述ADC的水溶性。本文所述的接头还出人意料地减少ADC聚集并改善ADC的药代动力学和药效学性质。此外,本文所述的亲水性接头允许改善本文所述的接头-药物基团的水溶性,从而允许改善抗体与接头-药物基团缀合,这改善了ADC(特别是包含疏水性药物部分的ADC)的纯化和总体合成产率。

附图说明

[0085] 图1在选定的细胞系(A:HT-29PCAD+;B:FaDu;C:HCC70;D:HT-29;和E:HCC1954)中滴定的抗体药物缀合物的细胞活性的线图。

[0086] 图2A:24小时和B:48小时后,在HCC1954细胞系中滴定的抗体药物缀合物的半胱天冬酶-3/7活性的线图。

[0087] 图3PCAD-ADC和huIgG1同种型匹配对照ADC在SCID-米色雌性小鼠的HCC70人TNBC异种移植模型中的功效和耐受性。A)抗肿瘤应答;B)和C)与治疗开始时的体重相比的体重的变化。数据呈现为平均值±SEM。*p<0.05,与第20天时的未治疗组相比(单因素方差分析和事后邓尼特(Dunnett)检验)。

具体实施方式

[0088] 本文描述了本发明的各种列举的实施例。应认识到,每个实施例中指定的特征可以与其他指定的特征组合以提供本发明的另外的实施例。

[0089] 在本申请的全文中,如果说明书文本(例如,表3)与序列表之间存在差异,则以说明书文本为准。

[0090] 定义

[0091] 如本文所使用的,术语“烷基”是指仅由碳和氢原子组成的直链或支链烃链基团,所述基团中不存在不饱和。如本文所使用的,术语“C_1-C_6烷基”是指仅由碳和氢原子组成的直链或支链烃链基团,所述基团中不存在不饱和,具有从一个至六个碳原子,并且通过单键附接到分子的其余部分。“C_1-C_6烷基”基团的非限制性实例包括甲基(C_1烷基)、乙基(C_2烷基)、1-甲基乙基(C_3烷基)、正丙基(C_3烷基)、异丙基(C_3烷基)、正丁基(C_4烷基)、异丁基(C_4烷基)、仲丁基(C_4烷基)、叔丁基(C_4烷基)、正戊基(C_5烷基)、异戊基(C_5烷基)、新戊基(C_5烷基)和己基(C_6烷基)。

[0092] 如本文所使用的,术语“烯基”是指仅由碳和氢原子组成的直链或支链烃链基团,所述基团包含至少一个双键。如本文所使用的,术语“C_2-C_e烯基”是指仅由碳和氢原子组成的直链或支链烃链基团,所述基团包含至少一个双键,具有从两个至六个碳原子,通过单键附接到分子的其余部分。“C_2-C_6烯基”基团的非限制性实例包括乙烯基(C_2烯基)、丙-1-烯基(C_3烯基)、丁-1-烯基(C_4烯基)、戊-1-烯基(C_5烯基)、戊-4-烯基(C_5烯基)、戊-1,4-二烯基(C_5烯基)、己-1-烯基(C_6烯基)、己-2-烯基(C_6烯基)、己-3-烯基(C6烯基)、己-1-,4-二烯基(C_6烯基)、己-1-,5-二烯基(C_6烯基)和己-2-,4-二烯基(C_6烯基)。如本文所使用的,术语“C_2-C_3烯基”是指仅由碳和氢原子组成的直链或支链烃链基团,所述基团包含至少一个双键,具有从两个至三个碳原子,通过单键附接到分子的其余部分。“C_2-C_3烯基”基团的非限制性实例包括乙烯基(C_2烯基)和丙-1-烯基(C_3烯基)。

[0093] 如本文所使用的,术语“亚烷基”是指仅由碳和氢原子组成的二价直链或支链烃链基团,并且所述基团中不存在不饱和。如本文所使用的,术语“C_1-C_6亚烷基”是指仅由碳和氢原子组成的二价直链或支链烃链基团,所述基团中不存在不饱和,具有从一个至六个碳原子。“C_1-C_6亚烷基”基团的非限制性实例包括亚甲基(C_1亚烷基)、亚乙基(C_2亚烷基)、1-甲基亚乙基(C_3亚烷基)、正亚丙基(C_3亚烷基)、异亚丙基(C_3亚烷基)、正亚丁基(C_4亚烷基)、异亚丁基(C_4亚烷基)、仲亚丁基(C_4亚烷基)、叔亚丁基(C_4亚烷基)、正亚戊基(C_5亚烷基)、异亚戊基(C_5亚烷基)、新亚戊基(C_5亚烷基)、和亚己基(C_6亚烷基)。

[0094] 如本文所使用的,术语“亚烯基”是指仅由碳和氢原子组成的二价直链或支链烃链基团,并且所述基团包含至少一个双键。如本文所使用的,术语“C_2-C_6亚烯基”是指仅由碳和氢原子组成的二价直链或支链烃链基团,所述基团包含至少一个双键,并且具有从两个至六个碳原子。“C_2-C_6亚烯基”基团的非限制性实例包括亚乙烯基(C_2亚烯基)、亚丙-1-烯基(C_3亚烯基)、亚丁-1-烯基(C_4亚烯基)、亚戊-1-烯基(C_5亚烯基)、亚戊-4-烯基(C_5亚烯基)、亚戊-1,4-二烯基(C_5亚烯基)、亚己-1-烯基(C_6亚烯基)、亚己-2-烯基(C_6亚烯基)、亚己-3-烯基(C_6亚烯基)、亚己-1-,4-二烯基(C_6亚烯基)、亚己-1-,5-二烯基(C_6亚烯基)和亚己-2-,4-二烯基(C_6亚烯基)。如本文所使用的,术语“C_2-C_6亚烯基”是指仅由碳和氢原子组成的二价直链或支链烃链基团,所述基团包含至少一个双键,并且具有从两个至三个碳原子。“C_2-

C_3亚烯基”基团的非限制性实例包括亚乙烯基(C_2亚烯基)和亚丙-1-烯基(C_3亚烯基)。

[0095] 如本文所使用的,术语“环烷基”、或“C_3-C_8环烷基”是指饱和、单环、稠合双环、稠合三环或桥接多环形环系统。稠合双环或桥接多环形环系统的非限制性实例包括双环[1.1.1]戊烷、双环[2.1.1]己烷、双环[2.2.1]庚烷、双环[3.1.1]庚烷、双环[3.2.1]辛烷、双环[2.2.2]辛烷和金刚烷基。单环C_3-C_8环烷基基团的非限制性实例包括环丙基、环丁基、环戊基、环已基、环庚基和环辛基基团。

[0096] 如本文所使用的,术语“聚乙二醇”或“PEG”是指由(OCH_2CH_2)基团构成的线性链、支链或星形构象。在某些实施例中,聚乙烯或PEG基团是-$(OCH_2CH_2)_t$*-,其中t是4-40,并且其中“-”指示指向自杀式间隔子的末端并且“*-”指示与终末端基团R’的附接点,其中R’是OH、OCH_3或$OCH_2CH_2C(=O)OH$。在其他实施例中,聚乙烯或PEG基团是-$(CH_2CH_2O)_t$*-,其中t是4-40,并且其中“-”指示指向自杀式间隔子的末端并且“*-”指示与终末端基团R”的附接点,其中R”是H、CH_3或$CH_2CH_2C(=O)OH$。

[0097] 如本文所使用的,术语“聚乙二醇”是指由$(O(CH_2)_m)_t$基团构成的线性链、支链或星形构象。在某些实施例中,聚乙烯或PEG基团是-$(O(CH_2)_m)_t$*-,其中m是1-10,t是4-40,并且其中“-”指示指向自杀式间隔子的末端并且“*-”指示与终末端基团R’附接点,其中R’是OH、OCH_3或$OCH_2CH_2C(=O)OH$。在其他实施例中,聚乙烯或PEG基团是-$((CH_2)_mO)_t$*-,其中m是1-10,t是4-40,并且其中“-”指示指向自杀式间隔子的末端并且“*-”指示与终末端基团R”的附接点,其中R”是H、CH_3或$CH_2CH_2C(=O)OH$。

[0098] 如本文所使用的,术语“药物部分”、“D”、或“药物”是指具有所希望的生物活性和反应性官能团的任何化合物,该反应性官能团可用于将药物并入到本发明的接头-药物基团中。所希望的生物活性包括诊断、治愈、缓解、治疗、或预防人或其他动物的疾病。所述反应性官能团与具有式(I)和式(II)的化合物以及具有式(III)和式(IV)的缀合物中的“A”形成键。在一些实施例中,所述药物部分具有可以与“A”形成键的氮原子。在其他实施例中,所述药物部分具有可以与“A”形成键的羟基基团。在其他实施例中,所述药物部分具有可以与“A”形成键的羧酸。在其他实施例中,所述药物部分具有可以与“A”形成键的羰基基团。在又其他实施例中,所述药物部分具有可以与“A”形成键的巯基基团。

[0099] 如果存在所需的反应性官能团,则术语“药物部分”、“D”或“药物”进一步地是指美国官方药典(official United States Pharmacopeia)、美国官方顺势疗法药典(official Homeopathic Pharmacopeia of the United States)、或官方国家处方集(official National Formulary)认定为药物的化学品或其任何补充剂。示例性药物在医师案头参考(Physician’sDesk Reference,PDR)和由美国食品和药物管理局(FDA)维护的橙皮书中提供。

[0100] 在一个实施例中,所述药物部分(D)可以是细胞毒性药物、细胞生长抑制药物或免疫抑制药物。此类细胞毒性药物或免疫抑制药物包括,例如,抗微管蛋白剂、微管蛋白抑制剂、DNA小沟结合剂、DNA复制抑制剂、烷化剂、抗生素、抗叶酸剂、抗代谢剂、化疗增敏剂、拓扑异构酶抑制剂、长春花生物碱等。此类细胞毒性药物的实例包括,例如,奥瑞他汀(auristatin)、喜树碱、多卡米星(duocarmycins)、依托泊苷、美登素(maytansine)和美登木素生物碱(maytansinoid)、紫杉烷、苯二氮卓类或含苯二氮卓类药物(例如,吡咯并[1,4]-苯二氮卓类(PBD)、吲哚啉并苯二氮卓类、和恶唑烷并苯二氮卓类)和长春花生物碱。

[0101] 在所述药物部分为疏水性的实施例中,本发明的效果将更加显著。因此,本发明的药物部分优选地是疏水的,其SlogP值为1.5或更大、2.0或更大、或2.5或更大。在一些方面,用于本发明的药物具有(a)从约1.5、约2、或2.5至约7,(b)从约1.5、约2、或2.5至约6,(c)从约1.5、约2或约2.5至约5,(d)从约1.5、约2、或2.5至约4,或(e)从约1.5、约2或约2.5至约3的SlogP值。

[0102] 疏水性可以使用SlogP来测量。SlogP定义为辛醇/水分配系数(包括隐式氢)的对数,并且可以使用来自化学计算集团的MOE™程序计算(使用Wildman,25S.A.,Crippen,G.M.;Prediction of Physiochemical Parameters by Atomic Contributions[通过原子贡献预测物理化学参数];J.Chern.lnf Comput.Sci.[化学信息计算科学杂志]39No.5(1999)868-873计算SlogP值)。

[0103] 如本文所使用的,术语“反应性基团”是能够与抗体或抗体片段的官能团形成共价键的官能团。此类官能团的非限制性实例包括本文提供的表1的反应性基团。

[0104] 如本文所使用的,术语“偶联基团”是指将桥联间隔子连接至抗体或其片段的二价部分。所述偶联基团是通过反应基团与抗体或其片段的官能团之间的反应形成的二价部分。此类二价部分的非限制性实例包括本文提供的表1和表2中给出的二价化学部分。

[0105] 如本文所使用的,术语“桥联间隔子”是指一个或多个接头组分,它们共价附接在一起以形成二价部分,所述二价部分将二价肽间隔子连接至反应性基团或将二价肽间隔子连接至偶联基团。在某些实施例中,所述“桥联间隔子”包含通过酰胺键附接到二价肽间隔子的N末端的羧基基团。

[0106] 如本文所使用的,术语“间隔子部分”是指一个或多个接头组分,它们共价附接在一起以形成将自杀式间隔子连接至亲水性部分的部分。

[0107] 如本文所使用的,术语“二价肽间隔子”是指包含一个或多个氨基酸残基的二价接头,所述氨基酸残基共价附接在一起以形成将桥联间隔子连接至自杀式间隔子的部分。所述一个或多个氨基酸残基可以是选自以下的氨基酸的残基:丙氨酸(Ala)、半胱氨酸(Cys)、天门冬氨酸(Asp)、谷氨基酸(Glu)、苯丙氨酸(Phe)、甘氨酸(Gly)、组氨酸(His)、异亮氨酸(Ile)、赖氨酸(Lys)、亮氨酸(Leu)、甲硫氨酸(Met)、天冬酰胺(Asn)、脯氨酸(Pro)、谷氨酰胺(Gln)、精氨酸(Arg)、丝氨酸(Ser)、苏氨酸(Thr)、缬氨酸(Val)、色氨酸(Trp)、酪氨酸(Tyr)、瓜氨酸(Cit)、戊氨酸(Nva)、正亮氨酸(Nle)、硒代半胱氨酸(Sec)、吡咯赖氨酸(Pyl)、高丝氨酸、高半胱氨酸、和去甲基吡咯赖氨酸。

[0108] 在某些实施例中,“二价肽间隔子”是2个至四个氨基酸残基的组合,其中每个残基独立地选自选自以下氨基酸的残基,所述氨基酸选自:丙氨酸(Ala)、半胱氨酸(Cys)、天门冬氨酸(Asp)、谷氨基酸(Glu)、苯丙氨酸(Phe)、甘氨酸(Gly)、组氨酸(His)、异亮氨酸(Ile)、赖氨酸(Lys)、亮氨酸(Leu)、甲硫氨酸(Met)、天冬酰胺(Asn)、脯氨酸(Pro)、谷氨酰胺(Gln)、精氨酸(Arg)、丝氨酸(Ser)、苏氨酸(Thr)、缬氨酸(Val)、色氨酸(Trp)、酪氨酸(Tyr)、瓜氨酸(Cit)、戊氨酸(Nva)、正亮氨酸(Nle)、硒代半胱氨酸(Sec)、吡咯赖氨酸(Pyl)、高丝氨酸、高半胱氨酸、和去甲基吡咯赖氨酸,例如-ValCit*;-CitVal*;-AlaAla*;-AlaCit*;-CitAla*;-AsnCit*;-CitAsn*;-CitCit*;-ValGlu*;-GluVal*;-SerCit*;-CitSer*;-LysCit*;-CitLys*;-AspCit*;-CitAsp*;-AlaVal*;-ValAla*;-PheAla*;-AlaPhe*;-PheLys*;-LysPhe*;-ValLys*;-LysVal*;-AlaLys*;-LysAla*;-PheCit*;-

CitPhe*;-LeuCit*;-CitLeu*;-IleCit*;-CitIle*;-PheArg*;-ArgPhe*;-CitTrp*;-TrpCit*;-PhePheLys*;-LysPhePhe*;-DPhePheLys*;-DLysPhePhe*;-GlyPheLys*;-LysPheGly*;-GlyPheLeuGly-[SEQ ID NO:160];-GlyLeuPheGly-[SEQ ID NO:161];-AlaLeuAlaLeu-[SEQ ID NO:162],-GlyGlyGly*;-GlyGlyGlyGly-[SEQ ID NO:163];-GlyPheValGly-[SEQ ID NO:164];以及-GlyValPheGly-[SEQ ID NO:165],其中“-”指示与桥联间隔子的附接点并且“*”指示与自杀式间隔子的附接点。

[0109] 如本文所使用的,术语“接头组分”是指以下各项:

[0110] a)亚烷基基团:-$(CH_2)_n$-,其可以是线性的或支链的(其中在此情况下,n是1-18);

[0111] b)亚烯基基团;

[0112] c)亚炔基基团;

[0113] d)烯基基团;

[0114] e)炔基基团;

[0115] f)乙二醇单元:-OCH_2CH_2或-CH_2CH_2O;

[0116] g)聚乙二醇单元:(-CH_2CH_2O-)$_x$(其中在这种情况下x是2-20);

[0117] h)-O;

[0118] i)-S;

[0119] j)羰基:-C(=O);

[0120] k)酯:-C(=O)-O-或-O-C(=O);

[0121] l)碳酸酯:-OC(=O)O;

[0122] m)胺:-NH;

[0123] n)叔胺

[0124] o)酰胺:-C(=O)-NH-、-NH-C(=O)-或-C(=O)N(C_{1-6}烷基);

[0125] p)氨基甲酸酯:-OC(=O)NH-或-NHC(=O)O;

[0126] q)尿素:-NHC(=O)NH;

[0127] r)磺胺:-S$(O)_2$NH-或-NHS$(O)_2$;

[0128] s)醚:-CH_2O-或-OCH_2;

[0129] t)被一个或多个独立地选自羧基、磺酸酯、羟基、胺、氨基酸、糖、磷酸和膦酸酯的基团取代的亚烷基;

[0130] u)被一个或多个独立地选自羧基、磺酸酯、羟基、胺、氨基酸、糖、磷酸和膦酸酯的基团取代的亚烯基;

[0131] v)被一个或多个独立地选自羧基、磺酸酯、羟基、胺、氨基酸、糖、磷酸和膦酸酯的基团取代的亚炔基;

[0132] w)C_1-C_{10}亚烷基,其中一个或多个亚甲基被一个或多个-S-、-NH-或-O-部分替换;

[0133] x)具有两个可用的附接点的环系统,例如选自如下的二价环:苯基(包括1,2-、1,3-和1,4-二取代的苯基)、C_5-C_6杂芳基、C_3-C_8环烷基(包括1,1-二取代的环丙基、环丁基、环戊基或环己基,和1,4-二取代的环己基)、和C_4-C_8杂环烷基;

[0134] y)选自如下氨基酸的残基:丙氨酸(Ala)、半胱氨酸(Cys)、天门冬氨酸(Asp)、谷氨基酸(Glu)、苯丙氨酸(Phe)、甘氨酸(Gly)、组氨酸(His)、异亮氨酸(Ile)、赖氨酸(Lys)、亮氨酸(Leu)、甲硫氨酸(Met)、天冬酰胺(Asn)、脯氨酸(Pro)、谷氨酰胺(Gln)、精氨酸(Arg)、

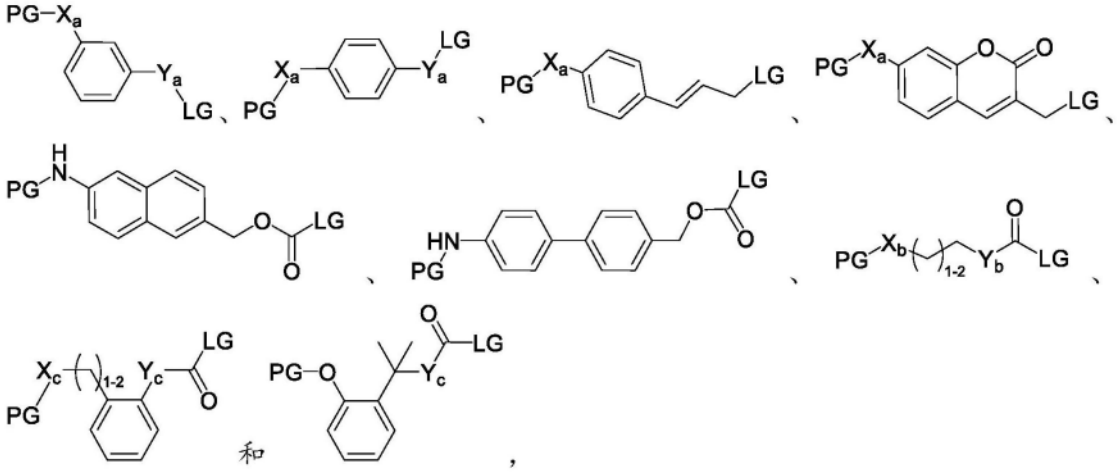
丝氨酸(Ser)、苏氨酸(Thr)、缬氨酸(Val)、色氨酸(Trp)、酪氨酸(Tyr)、瓜氨酸(Cit)、戊氨酸(Nva)、正亮氨酸(Nle)、硒代半胱氨酸(Sec)、吡咯赖氨酸(Pyl)、高丝氨酸、高半胱氨酸和去甲基吡咯赖氨酸;

[0135] 2个或更多个氨基酸残基的组合,其中每个残基独立地选自选自如下氨基酸的残基:丙氨酸(Ala)、半胱氨酸(Cys)、天门冬氨酸(Asp)、谷氨基酸(Glu)、苯丙氨酸(Phe)、甘氨酸(Gly)、组氨酸(His)、异亮氨酸(Ile)、赖氨酸(Lys)、亮氨酸(Leu)、甲硫氨酸(Met)、天冬酰胺(Asn)、脯氨酸(Pro)、谷氨酰胺(Gln)、精氨酸(Arg)、丝氨酸(Ser)、苏氨酸(Thr)、缬氨酸(Val)、色氨酸(Trp)、酪氨酸(Tyr)、瓜氨酸(Cit)、戊氨酸(Nva)、正亮氨酸(Nle)、硒代半胱氨酸(Sec)、吡咯赖氨酸(Pyl)、高丝氨酸、高半胱氨酸和去甲基吡咯赖氨酸,例如Val-Cit;Cit-Val;Ala-Ala;Ala-Cit;Cit-Ala;Asn-Cit;Cit-Asn;Cit-Cit;Val-Glu;Glu-Val;Ser-Cit;Cit-Ser;Lys-Cit;Cit-Lys;Asp-Cit;Cit-Asp;Ala-Val;Val-Ala;Phe-Lys;Lys-Phe;Val-Lys;Lys-Val;Ala-Lys;Lys-Ala;Phe-Cit;Cit-Phe;Leu-Cit;Cit-Leu;Ile-Cit;Cit-Ile;Phe-Arg;Arg-Phe;Cit-Trp;和Trp-Cit;

[0136] 以及

[0137] z)自杀式间隔子,其中所述自杀式间隔子包含一个或多个保护(触发)基团,所述保护(触发)基团易受酸诱导的裂解、肽酶诱导的裂解、酯酶诱导的裂解、糖苷酶诱导的裂解、磷酸二酯酶诱导的裂解、磷酸酶诱导的裂解、蛋白酶诱导的裂解、脂肪酶诱导的裂解或二硫键裂解

[0138] 此类自杀式间隔子的非限制性实例包括:

[0139] 

[0140] 其中:

[0141] PG是保护(触发)基团;

[0142] X_a是O、NH或S;

[0143] X_b是O、NH、NCH_3或S;

[0144] X_c是O或NH;

[0145] Y_a是CH_2、CH_2O或CH_2NH;

[0146] Y_b是CH_2、O或NH;

[0147] Y_c是键、CH_2、O或NH,并且

[0148] LG是离去基团,如本发明的接头-药物基团的药物部分(D)。

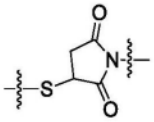
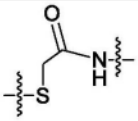
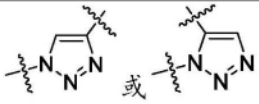
[0149] 此类自杀式间隔子的另外的非限制性实例描述于Angew.Chem.Int.Ed.[应用化

学-国际版]2015,54,7492-7509中。

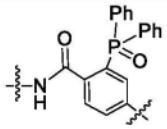
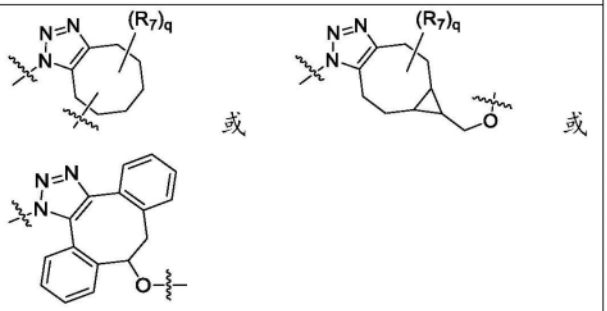
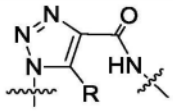
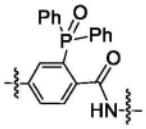
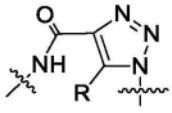
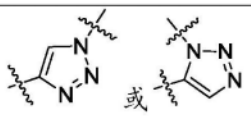
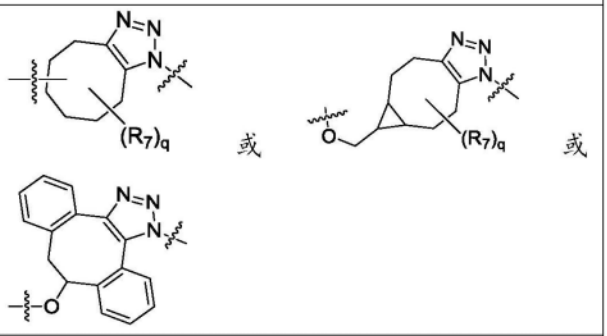
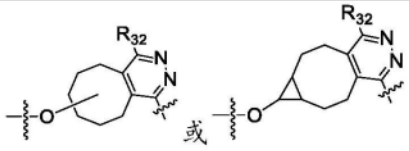
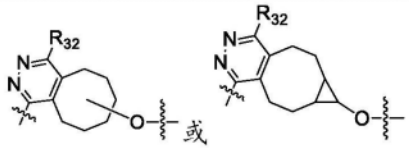
[0150] 另外,接头组分可以是易于通过两个反应性基团之间的反应形成的化学部分。此类化学部分的非限制性实例在表1中给出。

[0151] 表1

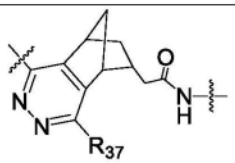
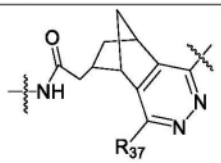
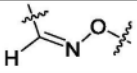
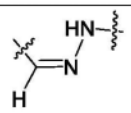
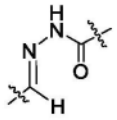
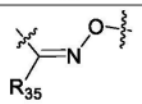
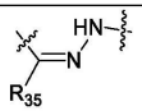
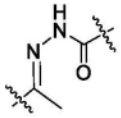
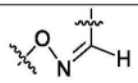
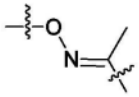
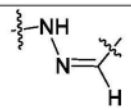
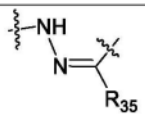
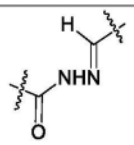
[0152]

反应性基团 1 (RG1)	反应性基团 2 (RG2)	化学部分
硫醇	硫醇	-S-S-
硫醇	马来酰亚胺	
硫醇	卤乙酰胺	
叠氮化物	炔	

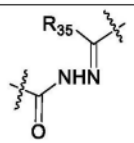
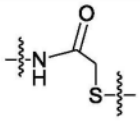
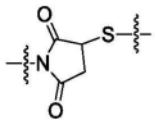
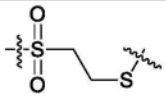
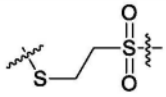
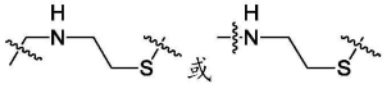
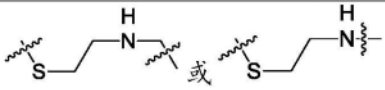
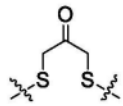
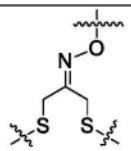
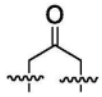
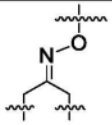
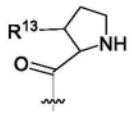
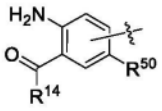
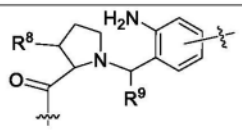
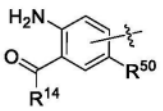
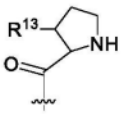
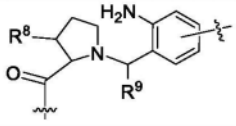
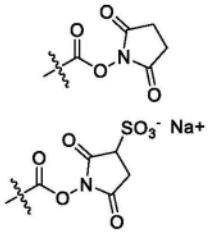
[0153]

反应性基团 1（RG1）	反应性基团 2（RG2）	化学部分
叠氮化物	三芳基膦	
叠氮化物	环辛炔	
叠氮化物	氧杂降冰片二烯	
三芳基膦	叠氮化物	
氧杂降冰片二烯	叠氮化物	
炔	叠氮化物	
环辛炔	叠氮化物	
环辛烯	二芳基四嗪	
二芳基四嗪	环辛烯	

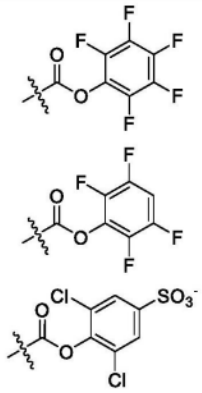
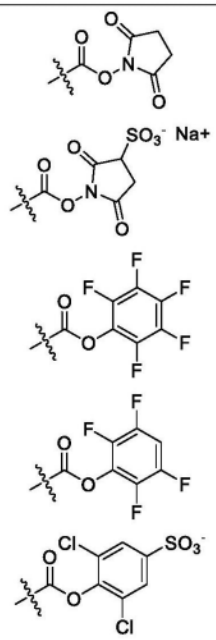
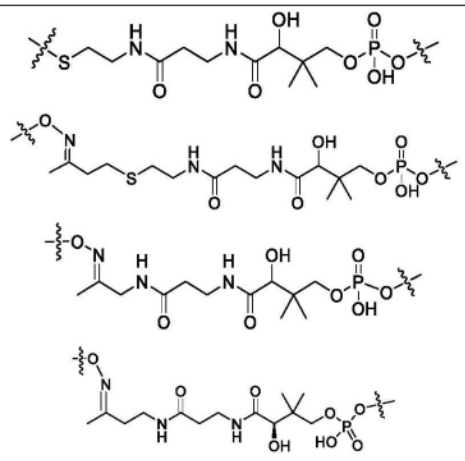
[0154]

反应性基团 1（RG1）	反应性基团 2（RG2）	化学部分
单芳基四嗪	降冰片烯	
降冰片烯	单芳基四嗪	
醛	羟胺	
醛	肼	
醛	NH_2-NH-C(=O)-	
酮	羟胺	
酮	肼	
酮	NH_2-NH-C(=O)-	
羟胺	醛	
羟胺	酮	
肼	醛	
肼	酮	
NH_2-NH-C(=O)-	醛	

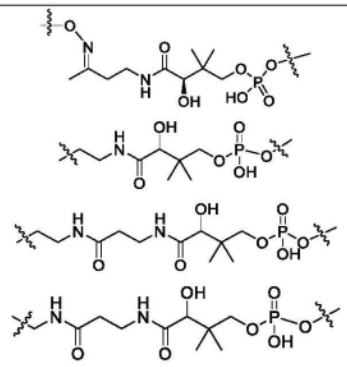
[0155]

反应性基团 1（RG1）	反应性基团 2（RG2）	化学部分
NH_2-NH-C(=O)-	酮	
卤乙酰胺	硫醇	
马来酰亚胺	硫醇	
乙烯砜	硫醇	
硫醇	乙烯砜	
氮杂环丙烷	硫醇	
硫醇	氮杂环丙烷	
	羟胺	
	羟胺	
		
		
	-NH_2、	酰胺

[0156]

反应性基团 1（RG1）	反应性基团 2（RG2）	化学部分
		
-NH_2、		酰胺
CoA 或 CoA 类似物	丝氨酸残基	

[0157]

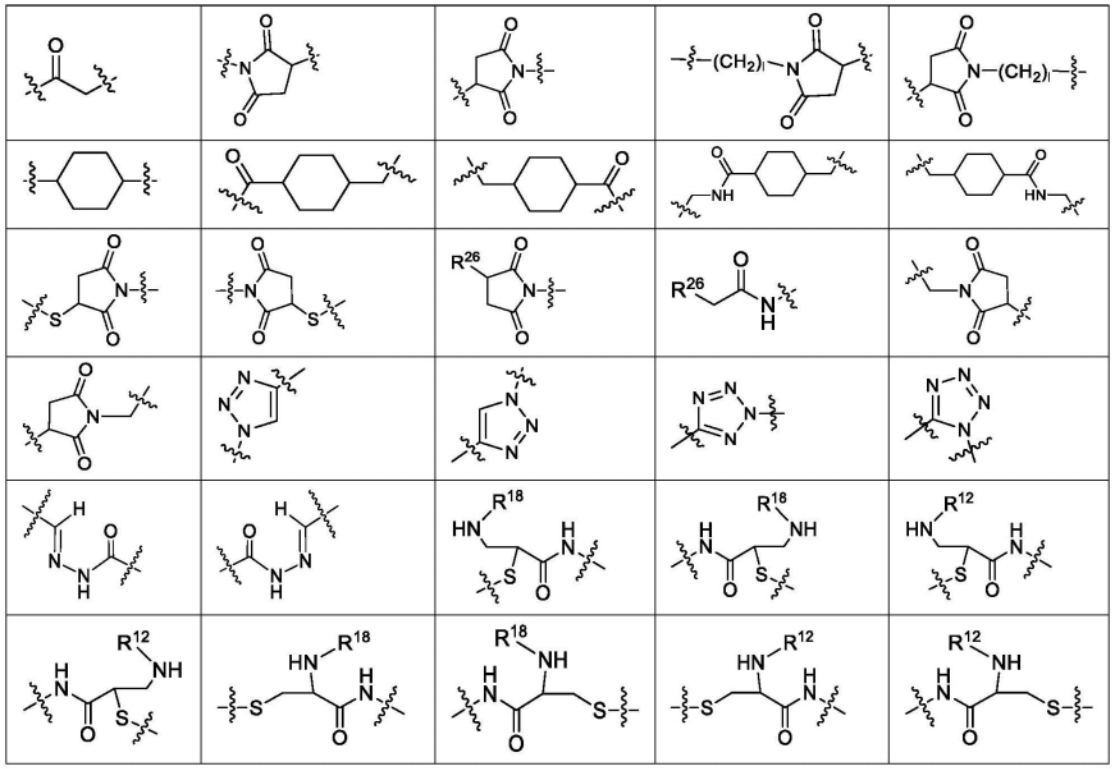
反应性基团 1（RG1）	反应性基团 2（RG2）	化学部分
		
吡啶基二硫醇	硫醇	二硫键

[0158] 其中:表1中的R^{32}是H、C_{1-4}烷基、苯基、嘧啶或吡啶;表1中的R^{35}是H、C_{1-6}烷基、苯基或被1至3个-OH基团取代的C_{1-4}烷基;表1中的每个R^{7}独立地选自H、C_{1-6}烷基、氟、被-C(=O)OH取代的苄氧基、被-C(=O)OH取代的苄基、被-C(=O)OH取代的C_{1-4}烷氧基和被-C(=O)OH取代的C_{1-4}烷基;表1中的R^{37}独立地选自H、苯基和吡啶;表1中的q是0、1、2或3;表1中的R^{8}或R^{13}是H或甲基;且表1中的R^{9}或R^{14}是H、-CH_3或苯基;并且表1中的R是H或合适的取代基,例如,烷基。

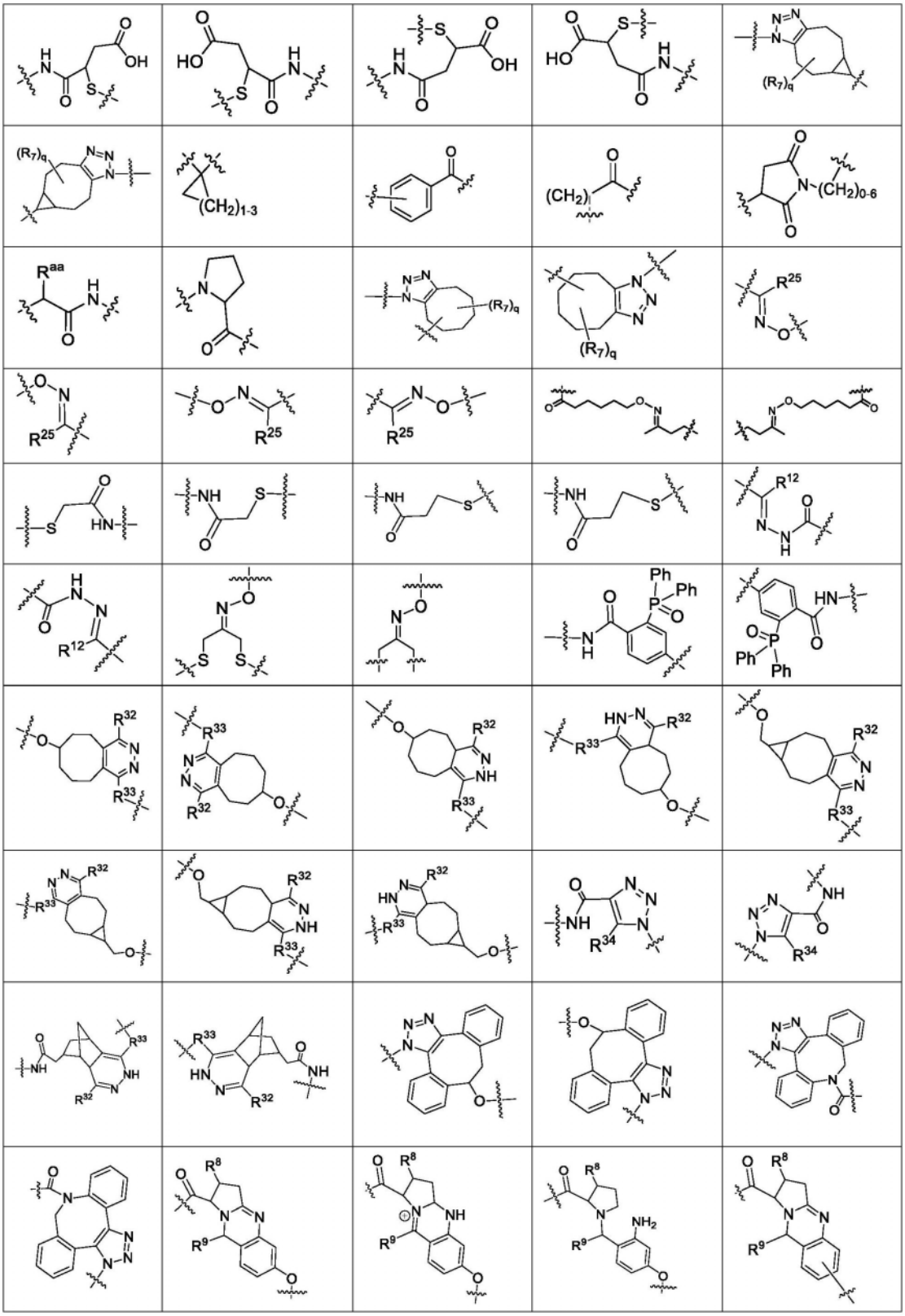
[0159] 此外,接头组分可以是下表2中给出的基团。

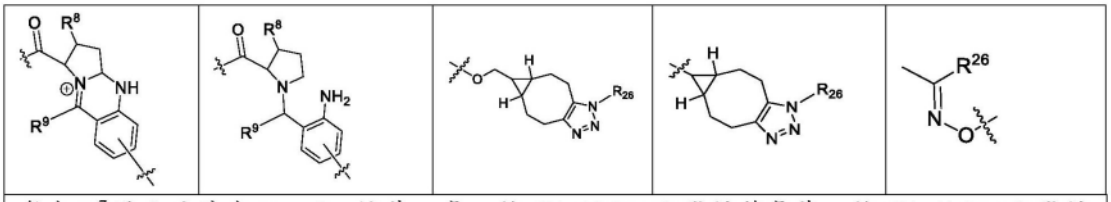
[0160] 表2

[0161]



[0162]





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

每个 R^{12} 独立地选自 H 和 C_1-C_6 烷基

R^8 是 H 或甲基；

R^9 是 H、$-CH_3$ 或苯基；

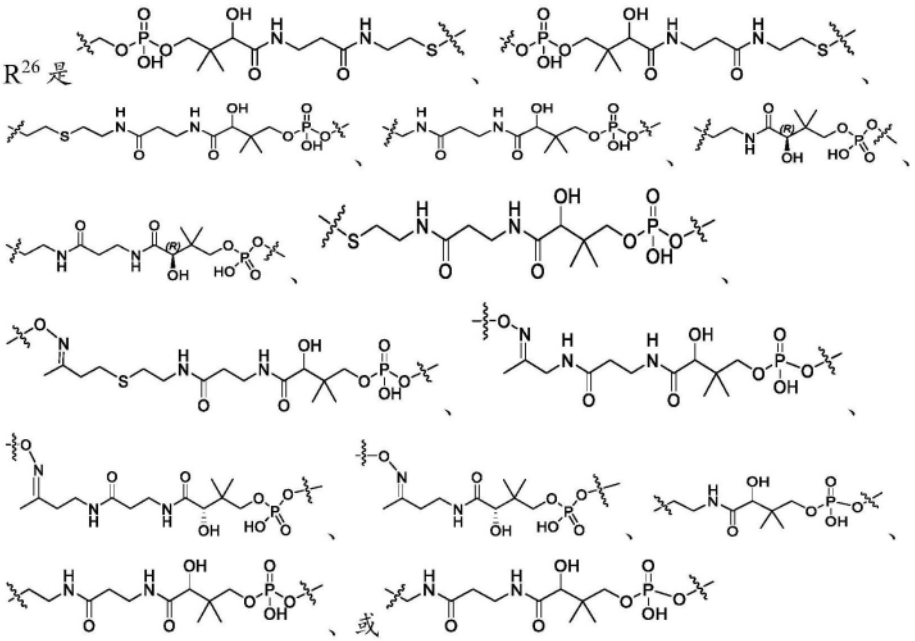
每个 R^{25} 独立地选自 H 或 C_{1-4} 烷基；

每个 R^{18} 独立地选自 C_1-C_6 烷基、被叠氮基取代的 C_1-C_6 烷基和被 1 至 5 个羟基取代的 C_1-C_6 烷基；

q 是 0、1、2 或 3；

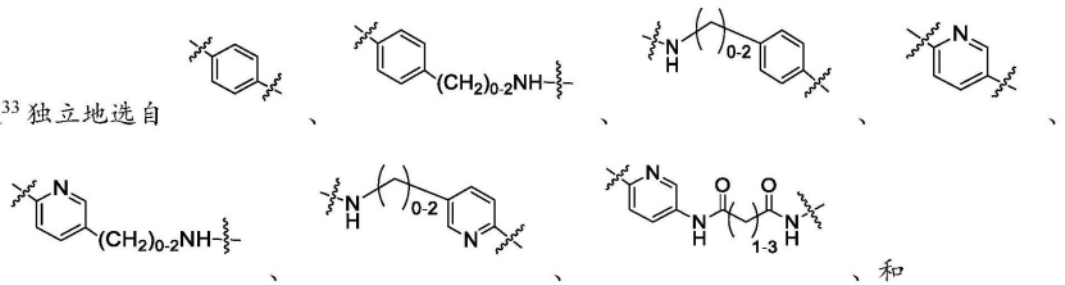
l 是 1、2、3、4、5 或 6；

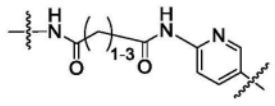
[0163] R^{26} 是



R^{32} 独立地选自 H、C_{1-4} 烷基、苯基、嘧啶和吡啶；

R^{33} 独立地选自



[0164] ；

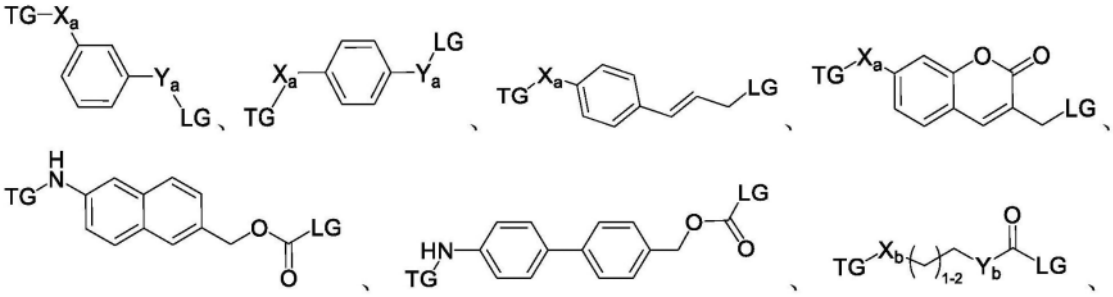
R^{34}独立地选自H、C_{1-4}烷基、和C_{1-6}卤代烷基，并且

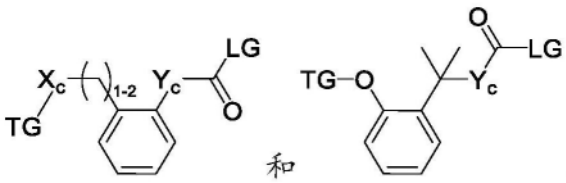
R^{aa}是氨基酸侧链。

[0165] 如本文所使用的，当展示化合物的部分结构时，波浪线( )指示所述部分结构与分子其余部分的附接点。

[0166] 如本文所使用的，术语“自杀式间隔子”是指包含一个或多个触发基团(TG)的部分，所述触发基团通过酸诱导的裂解、肽酶诱导的裂解、酯酶诱导的裂解、糖苷酶诱导的裂解、磷酸二酯酶诱导的裂解、磷酸酶诱导的裂解、蛋白酶诱导的裂解、脂肪酶诱导的裂解或二硫键裂解而活化，并且在活化后，保护基团被去除，产生级联的分解反应，导致离去基团的暂时性顺序释放。此类级联反应可以是但不限于1,4-、1,6-或1,8-消除反应。

[0167] 此类自杀式间隔子的非限制性实例包括：

[0168] 

[0169] 和，其中此类基团可以任选地被取代，并且

[0170] 其中：

[0171] TG是触发基团；

[0172] X_a是O、NH或S；

[0173] X_b是O、NH、NCH_3或S；

[0174] X_c是O或NH；

[0175] Y_a是CH_2、CH_2O或CH_2NH；

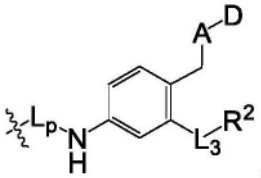
[0176] Y_b是CH_2、O或NH；

[0177] Y_c是键、CH_2、O或NH，并且

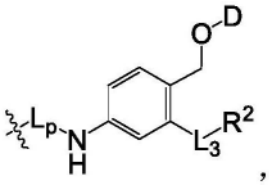
[0178] LG是离去基团，如本发明的接头-药物基团的药物部分(D)。

[0179] 此类自杀式间隔子的另外的非限制性实例描述于Angew.Chem.Int.Ed.[应用化学-国际版]2015,54,7492-7509中。

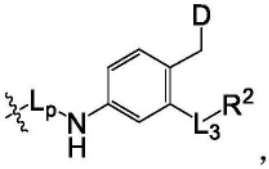
[0180] 在某些实施例中，所述自杀式间隔子是具有以下结构的部分：

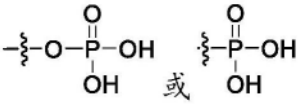
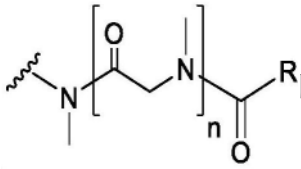
[0181] ，其中Lp是可酶促裂解的二价肽间隔子，并且A、D、L_3和R^2如本文所定义。

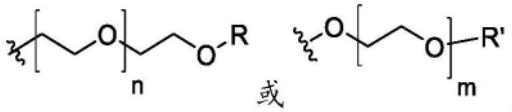
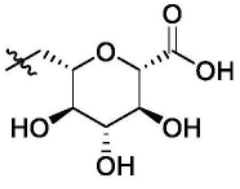
[0182] 在优选地实施例中，所述自杀式间隔子是具有以下结构的部分：

[0183] ，其中Lp是可酶促裂解的二价肽间隔子，并且D、L_3和R^2如本文所定义。

[0184] 在其他优选的实施例中，所述自杀式间隔子是具有以下结构的部分：

[0185] ，其中Lp是可酶促裂解的二价肽间隔子，并且D、L_3和R^2如本文所定义。在一些实施例中，D是含季铵化叔胺的药物部分，其中铵阳离子任选地以两性离子形式存在或具有一价阴离子抗衡离子。

[0186] 如本文所使用的，术语“亲水性部分”是指具有亲水性质的部分，当药物部分(D)附接至本发明的接头基团时，其增加药物部分(D)的水溶性。此类亲水性基团的实例包括但不限于聚乙二醇、聚亚烷基二醇、糖、寡糖、多肽、被1至3个基团取代的C_2-C_6烷基和聚肌氨酸，如具有式的那些，其中n是在2与25之间的整数；并且R是H、-CH_3或-$CH_2CH_2C(=O)OH$。

[0187] 在一些实施例中，所述亲水性部分包含具有以下式的聚乙二醇：，其中R是H、-CH_3、-$CH_2CH_2NHC(=O)OR_a$、-$CH_2CH_2NHC(=O)R_a$、或-$CH_2CH_2C(=O)OR_a$，R’是OH、-OCH_3、-$CH_2CH_2NHC(=O)OR_a$、-$CH_2CH_2NHC(=O)R_a$、或-$OCH_2CH_2C(=O)OR_a$，其中R_a是H或任选地被OH或C_{1-4}烷氧基取代的C_{1-4}烷基，并且m和n各自是在2与25之间的整数(例如，在3与25之间)。在一些实施例中，所述亲水性部分包含。

[0188] 如本文所使用的,术语“抗体”是指源自特异性结合抗原的免疫球蛋白分子的蛋白、或多肽序列。抗体可以是多克隆或单克隆、多链或单链、或完整免疫球蛋白,并且可以源自天然来源或来自重组来源。天然存在的“抗体”是包含通过二硫键相互连接的至少两条重(H)链和两条轻(L)链的糖蛋白。每条重链由重链可变区(本文中缩写为VH)和重链恒定区构成。重链恒定区由三个结构域(CH1、CH2和CH3)构成。每条轻链由轻链可变区(本文中缩写为VL)和轻链恒定区构成。所述轻链恒定区由一个结构域CL构成。VH区和VL区可进一步细分为高变区,称为互补决定区(CDR),其间穿插有称为框架区(FR)的较保守区。每个VH和VL由从氨基末端到羧基末端按以下顺序排列的三个CDR和四个FR构成:FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。重链和轻链的可变区含有与抗原相互作用的结合结构域。抗体的恒定区可以介导免疫球蛋白与宿主组织或因子(包括免疫系统的各种细胞(例如,效应细胞)和经典补体系统的第一组分(C1q))的结合。抗体可以是单克隆抗体、人抗体、人源化抗体、骆驼源化(camelised)抗体、或嵌合抗体。这些抗体可以具有任何同种型(例如,IgG、IgE、IgM、IgD、IgA和IgY)、类别(例如,IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1和IgA2)或亚类。

[0189] 术语“抗体片段”或“抗原结合片段”或“功能片段”是指抗体的至少一部分,所述至少一部分保留与抗原表位特异性地相互作用(例如,通过结合、空间位阻、稳定/去稳定、空间分布)的能力。抗体片段的实例包括但不限于,Fab、Fab’、F(ab’)2、Fv片段、scFv抗体片段、二硫键连接的Fv(sdFv)、由VH和CH1结构域组成的Fd片段、线性抗体、单结构域抗体如sdAb(VL或VH)、骆驼科VHH结构域、由抗体片段(如包含在铰链区通过二硫键连接的两个Fab片段的二价片段)形成的多特异性抗体、和分离的CDR或抗体的其他表位结合片段。抗原结合片段还可以并入到单结构域抗体、大型抗体(maxibodies)、微型抗体(minibodies)、纳米抗体、细胞内抗体、双体抗体、三体抗体、四体抗体、v-NAR和双-scFv中(参见例如,Hollinger和Hudson,Nature Biotechnology[自然生物技术]23:1126-1136,2005)。还可以将抗原结合片段移植到基于多肽如纤连蛋白III型(Fn3)的支架中(参见美国专利号6,703,199,其描述了纤连蛋白多肽微型抗体)。术语“scFv”是指融合蛋白,所述融合蛋白包含至少一个包含轻链可变区的抗体片段和至少一个包含重链可变区的抗体片段,其中所述轻链可变区和重链可变区例如通过合成接头(例如,短柔性多肽接头)是连续连接的并且能够表达为单链多肽,并且其中scFv保留了它所来源的完整抗体的特异性。除非另有说明,否则如本文所使用的,scFv可以例如相对于多肽的N末端和C末端以任何顺序具有VL和VH可变区,所述scFv可以包含VL-接头-VH或者可以包含VH-接头-VL。

[0190] 如本文所使用的,术语“互补性决定区”或“CDR”是指抗体可变区内的赋予抗原特异性和结合亲和力的氨基酸的序列。例如,一般来说,每个重链可变区中存在三个CDR(例如,HCDR1、HCDR2、和HCDR3),并且每个轻链可变区中存在三个CDR(LCDR1、LCDR2、和LCDR3)。给定CDR的精确氨基酸序列边界可以使用许多众所周知的方案中的任一种来确定,这些方案包括由以下文献描述的那些:Kabat等人,(1991),“Sequences of Proteins of Immunological Interest[具有免疫学重要性的蛋白序列]”,第5版,Public Health Service,National Institutes of Health[美国国立卫生研究院,公共卫生事业部],马里兰州贝塞斯达市(Bethesda,MD)(“卡巴特(Kabat)”编号方案);Al-Lazikani等人,(1997)JMB[微生物学和生物技术杂志]273,927-948(“乔西亚(Chothia)”编号方案)、或它们的组合,以及免疫遗传学(IMGT)编号(Lefranc,M.-P.,The Immunologist[免疫学家],7,132-

136(1999);Lefranc,M.-P.等人,Dev.Comp.Immunol.[发育免疫学与比较免疫学],27,55-77(2003)(“IMGT”编号方案)。在针对给定CDR区(例如,HC CDR1、HC CDR2、HC CDR3、LC CDR1、LC CDR2或LC CDR3)的组合卡巴特和乔西亚编号方案中,在一些实施例中,这些CDR对应于被定义为卡巴特CDR的一部分的氨基酸残基,以及被定义为乔西亚CDR的一部分的氨基酸残基。如本文所使用的,根据“乔西亚”编号方案定义的CDR有时也称为“高变环”。

[0191] 例如,根据卡巴特,重链可变结构域(VH)中的CDR氨基酸残基编号为31-35(HCDR1)(例如,在位置35后的一个或多个插入)、50-65(HCDR2)、和95-102(HCDR3);并且轻链可变结构域(VL)中的CDR氨基酸残基编号为24-34(LCDR1)(例如,在位置27后的一个或多个插入)、50-56(LCDR2)、和89-97(LCDR3)。作为另一个实例,根据乔西亚,VH中的CDR氨基酸编号为26-32(HCDR1)(例如,在位置31后的一个或多个插入)、52-56(HCDR2)、和95-102(HCDR3);并且VL中的氨基酸残基编号为26-32(LCDR1)(例如,在位置30后的一个或多个插入)、50-52(LCDR2)、和91-96(LCDR3)。通过结合卡巴特和乔西亚的CDR定义,CDR包含例如人VH中的氨基酸残基26-35(HCDR1)、50-65(HCDR2)、和95-102(HCDR3)以及人VL中的氨基酸残基24-34(LCDR1)、50-56(LCDR2)、和89-97(LCDR3)或由其组成。根据IMGT,VH中的CDR氨基酸残基编号为大约26-35(CDR1)、51-57(CDR2)和93-102(CDR3),并且VL中的CDR氨基酸残基编号为大约27-32(CDR1)、50-52(CDR2)、和89-97(CDR3)(根据“卡巴特”编号)。在IMGT下,可以使用程序IMGT/DomainGap Align确定抗体的CDR区。

[0192] 术语“表位”包括能够特异性结合免疫球蛋白或以其他方式与分子相互作用的任何蛋白决定簇。表位决定簇通常由分子的化学活性表面基团组成,如氨基酸或碳水化合物或糖侧链,并且可以具有特定的三维结构特征以及特定的电荷特征。表位可以是“线性的”或“构象的”。构象表位和线性表位的差别在于:在变性溶剂的存在下,对构象表位(而不是线性表位)的结合丧失。

[0193] 如本文所使用的,短语“单克隆抗体”或“单克隆抗体组合物”是指具有基本上相同的氨基酸序列或源自相同的遗传来源的多肽(包括抗体、双特异性抗体等)。此术语还包括具有单分子组成的抗体分子的制剂。单克隆抗体组合物表现出对特定表位的单一结合特异性和亲和力。

[0194] 如本文所使用的,短语“人抗体”包括具有可变区的抗体,其中框架区和CDR区两者均源自人来源的序列。此外,如果抗体含有恒定区,则恒定区还源自此类人序列,例如,人种系序列、或突变形式的人种系序列或含有源自人框架序列分析的共有框架序列的抗体,例如,如描述于Knappik等人(2000.J Mol Biol[分子生物学杂志]296,57-86)中。免疫球蛋白可变结构域(例如,CDR)的结构和位置可使用众所周知的编号方案来定义,例如,卡巴特编号方案、乔西亚编号方案、或卡巴特和乔西亚的组合、和ImMunoGenTics(IMGT)编号(参见,例如,Sequences of Proteins of Immunological Interest[具有免疫学重要性的蛋白序列],U.S.Department of Health and Human Services[美国卫生与公众服务部](1991),编辑.Kabat等人;Al Lazikani等人,(1997)J.Mol.Bio.[分子生物学杂志]273:927948);Kabat等人,(1991)Sequences of Proteins of Immunological Interest[具有免疫学重要性的蛋白序列],第5版,NIH公开号91-3242美国卫生与公众服务部;Chothia等人,(1987)J.Mol.Biol.[分子生物学杂志]196:901-917;Chothia等人,(1989)Nature[自然]342:877-883;Al-Lazikani等人,(1997)J.Mal.Biol.[分子生物学杂志]273:927-948;和Lefranc,

M.-P.,The Immunologist[免疫学家],7,132-136(1999);Lefranc,M.-P.等人,Dev.Comp.Immunol.[发育与比较免疫学],27,55-77(2003))。

[0195] 本发明的人抗体可以包括不是由人序列编码的氨基酸残基(例如,通过在体外随机诱变或位点特异性诱变、或通过在体内体细胞突变、或保守取代来引入突变以促进稳定性或生产)。然而,如本文所使用的,术语"人抗体"不旨在包括其中源自另一哺乳动物物种(如小鼠)种系的CDR序列已被移植到人框架序列中的抗体。

[0196] 如本文所使用的,短语"重组人抗体"包括通过重组方式制备、表达、产生或分离的所有人抗体,如从动物(例如,小鼠)(所述动物对于人免疫球蛋白基因是转基因的或转染色体的)或由其制备的杂交瘤中分离的抗体;从转化以表达人抗体的宿主细胞中(例如,从转染瘤中)分离的抗体;从重组组合的人抗体文库中分离的抗体;以及通过涉及将全部或部分的人免疫球蛋白基因、序列剪接到其他DNA序列的任何其他方式制备、表达、产生或分离的抗体。此类重组人抗体具有可变区,其中框架区和CDR区均源自人种系免疫球蛋白序列。然而,在某些实施例中,可以对此类重组人抗体进行体外诱变(或,当使用转基因人Ig序列的动物时,进行体内体细胞诱变),并因此重组抗体的VH和VL区的氨基酸序列是源自人种系VH和VL序列的并且与其相关的序列,但这些序列在体内可能不天然存在于人抗体种系库中。

[0197] 如本文所使用的,术语"Fc区"是指包含抗体的恒定结构域的CH3、CH2和铰链区的至少一部分的多肽。任选地,Fc区可以包括存在于一些抗体类别中的CH4结构域。Fc区可以包含抗体恒定结构域的整个铰链区。在一个实施例中,本发明包含抗体的Fc区和CH1区。在一个实施例中,本发明包含抗体的Fc区和CH3区。在另一实施例中,本发明包含来自抗体恒定结构域的Fc区、CH1区和Cκ/λ区。在一个实施例中,本发明的结合分子包含恒定区,例如,重链恒定区。在一个实施例中,与野生型恒定区相比,此类恒定区是经修饰的。也就是说,本文披露的本发明的多肽可以包含对三个重链恒定结构域(CH1、CH2或CH3)和/或对轻链恒定区结构域(CL)中的一个或多个的改变或修饰。实例修饰包括一个或多个结构域中一个或多个氨基酸的添加、缺失或取代。可以包括此类变化以优化效应子功能、半衰期等。

[0198] 如本文所使用的,术语"结合特异性"是指单个抗体结合位点与一种抗原决定簇而不与不同的抗原决定簇反应的能力。抗体的组合位点位于分子的Fab部分并且从重链和轻链的超变区构建。抗体的结合亲和力是单个抗原决定簇与抗体上的单个组合位点之间的反应的强度。它是在抗原决定簇与抗体的组合位点之间运行的吸引力和排斥力的总和。

[0199] 如本文所使用的,术语"亲和力"是指抗体与抗原之间在单个抗原位点处相互作用的强度。在每个抗原位点内,抗体"臂"的可变区通过弱非共价力在许多位点处与抗原相互作用;相互作用越多,亲和力越强。

[0200] 术语"保守序列修饰"是指不显著影响或改变含有氨基酸序列的抗体或抗体片段的结合特征的氨基酸修饰。此类保守修饰包括氨基酸取代、添加和缺失。可以通过本领域已知的标准技术(如定点诱变和PCR介导的诱变)将修饰引入本发明的抗体或抗体片段中。保守氨基酸取代是其中氨基酸残基被具有类似侧链的氨基酸残基替代的取代。具有类似侧链的氨基酸残基的家族已在本领域中进行了定义。这些家族包括具有碱性侧链的氨基酸(例如,赖氨酸、精氨酸、组氨酸),具有酸性侧链的氨基酸(例如,天冬氨酸、谷氨酸),具有不带电极性侧链的氨基酸(例如,甘氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、丝氨酸、苏氨酸、酪氨酸、半胱氨酸、色氨酸),带有非极性侧链的氨基酸(例如,丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、脯氨酸、

苯丙氨酸、甲硫氨酸),带有β分支侧链的氨基酸(例如,苏氨酸、缬氨酸、异亮氨酸)以及带有芳香族侧链的氨基酸(例如,酪氨酸、苯丙氨酸、色氨酸、组氨酸)。因此,抗体内的一个或多个氨基酸残基可以被来自相同侧链的家族的其他氨基酸残基替代,并且可以使用本文描述的功能测定法测试改变的抗体。

[0201] 术语"同源的"或"同一性"是指两个聚合分子之间,例如两个核酸分子(如两个DNA分子或两个RNA分子)之间或两个多肽分子之间的亚基序列同一性。当这两个分子中的亚基位置被相同的单体亚基占据时;例如,如果两个DNA分子的每一个中的位置被腺嘌呤占据,则它们在所述位置是同源的或同一的。两个序列之间的同源性是匹配位置或同源位置的数量的直接函数;例如,如果两个序列中一半的位置(例如,长度为十个亚基的聚合物中的五个位置)是同源的,则这两个序列是50%同源的;如果90%的位置(例如,10个中的9个)是匹配的或同源的,则这两个序列是90%同源的。可以通过在比较窗口上比较两个最佳比对的序列来确定"序列同一性"的百分比,其中比较窗口中的氨基酸序列的片段可以包含与参考序列(其不包含添加或缺失)相比的添加或缺失(例如,空位或突出端)以使两个序列最佳比对。可以通过以下方法计算百分比:确定在两个序列中出现相同氨基酸残基的位置的数目以产生匹配位置数,将匹配位置数除以比较窗口中的位置总数,并将结果乘以100,从而得到序列同一性的百分比。输出是主题序列关于查询序列的同一性百分比。将空位的数量和每个空位的长度考虑在内,两个序列之间的同一性百分比是这些序列共有的相同位置的数量的函数,需要引入这些空位以进行两个序列的最佳比对。

[0202] 两个序列之间的序列比较和同一性百分比的确定可以使用数学算法来完成。在优选的实施例中,使用Needleman和Wunsch((1970)J.Mol.Biol.[分子生物学杂志]48:444-453)算法(所述算法已并入GCG软件包中的GAP程序中(可从www.gcg.com获取)),使用Blossum 62矩阵或PAM250矩阵以及16、14、12、10、8、6、或4的空位权重和1、2、3、4、5、或6的长度权重来确定两个氨基酸序列之间的同一性百分比。在又另一个优选的实施例中,使用GCG软件包中的GAP程序(可从www.gcg.com获取),使用NWSgapdna.CMP矩阵以及40、50、60、70、或80的空位权重和1、2、3、4、5、或6的长度权重来确定两个核苷酸序列之间的同一性百分比。一组特别优选的参数(以及除非另外指定否则应该使用的参数)是Blossum 62评分矩阵,其中空位罚分为12,空位延伸罚分为4,并且移码空位罚分为5。

[0203] 可以使用E.Meyers和W.Miller((1989)CABIOS[生物科学中的计算机应用]4:11-17)的算法(所述算法已并入ALIGN程序(版本2.0)中),使用PAM120权重残基表、12的空位长度罚分和4的空位罚分来确定两个氨基酸序列或核苷酸序列之间的同一性百分比。

[0204] 本文描述的核酸序列和蛋白序列可以用作"查询序列"来对公共数据库进行搜索,从而例如鉴定其他家族成员或相关序列。可以使用Altschul等人(1990)J.Mol.Biol.[分子生物学杂志]215:403-10的NBLAST和XBLAST程序(版本2.0)来进行这些搜索。可以用NBLAST程序(得分=100,字长=12)来进行BLAST核苷酸搜索,以获得与本发明的核酸分子同源的核苷酸序列。可以用XBLAST程序(得分=50,字长=3)来进行BLAST蛋白搜索,以获得与本发明的蛋白分子同源的氨基酸序列。为了获得用于比较目的的空位比对,可以如Altschul等人,(1997)Nucleic Acids Res.[核酸研究]25:3389-3402中所述使用空位BLAST(Gapped BLAST)。当使用BLAST和空位BLAST程序时,可以使用相应程序(例如,XBLAST和NBLAST)的默认参数。参见www.ncbi.nlm.nih.gov。

[0205] 如本文所使用的,术语“组合物”或“药物组合物”是指本发明的化合物与至少一种及任选地多于一种其他药学上可接受的化学组分(如载剂、稳定剂、稀释剂、分散剂、悬浮剂、增稠剂、和/或赋形剂)的混合物。

[0206] 如本文所使用的,术语“光学异构体”或“立体异构体”是指本发明的给定化合物可存在的各种立体异构构象中的任一种并且包括几何异构体。应理解,取代基可以附接在碳原子的手性中心。术语“手性”是指在其镜像配偶体上具有非重叠性性质的分子,而术语“非手性”是指在其镜像配偶体上是可重叠的分子。因此,本发明包括所述化合物的对映异构体、非对映异构体或外消旋物。“对映异构体”是彼此为不能重叠镜像的一对立体异构体。对映异构体对的1:1混合物是“外消旋”混合物。所述术语用于在适当的情况下表示外消旋混合物。“非对映异构体”是具有至少两个非对称原子、但其彼此非镜像的立体异构体。绝对立体化学是根据Cahn-lngold-Prelog R-S系统规定的。当化合物是纯对映异构体时,每一手性碳处的立体化学可以通过R或S来说明。未知绝对构象的拆分化合物可以取决于其使波长为钠D线的平面偏振光旋转的方向(右旋或左旋)来指定(+)或(-)。本文所述的某些化合物含有一个或多个不对称中心或轴并且由此可以产生对映异构体、非对映异构体、和其他可以根据绝对立体化学定义为(R)-或(S)-的立体异构体形式。

[0207] 如本文所使用的,术语“药学上可接受的载剂”包括任何及所有溶剂、分散体介质、包衣、表面活性剂、抗氧化剂、防腐剂(例如,抗细菌剂、抗真菌剂)、等渗剂、吸收延迟剂、盐、防腐剂、药物稳定剂、粘合剂、赋形剂、崩解剂、润滑剂、甜味剂、调味剂、染料等以及它们的组合,如本领域普通技术人员已知的(参见,例如,Remington'sPharmaceutical Sciences[雷明顿制药科学],第18版,Mack Printing Company[Mack出版公司],1990,第1289-1329页)。除了任何常规载体与活性成分均不相容的情况外,考虑其在治疗或药物组合物中的用途。

[0208] 如本文所使用的,术语“药学上可接受的盐”是指不消除本发明的化合物的生物活性和性质、且对所施用的受试者不引起显著刺激的盐。

[0209] 如本文所使用的,术语“受试者”涵盖哺乳动物和非哺乳动物。哺乳动物的实例包括但不限于人、黑猩猩、猿、猴、牛、马、绵羊、山羊、猪;兔、狗、猫、大鼠、小鼠、豚鼠等。非哺乳动物的实例包括但不限于鸟、鱼等。通常,所述受试者是人。

[0210] 术语“需要这种治疗的受试者”是指将在生物学上、在医学上或在生活质量上从这种治疗中获益的受试者。

[0211] 如本文所用,术语任何疾病或障碍的“治疗(treat、treating或treatment)”在一个实施例中,是指减轻疾病或障碍(即,减慢或停滞或减少疾病或其至少一种临床症状的发展)。在另一实施例中,“治疗(treat、treating、或treatment)”是指缓解或减轻至少一种身体参数,包括不能被患者辨别的那些。在又另一实施例中,“治疗(treat、treating、或treatment)”是指在身体方面(例如,可辨别的症状的稳定化)、在生理方面(例如,身体参数的稳定化)、或二者方面调节疾病或障碍。

[0212] 如本文所使用的,术语任何疾病或障碍的“预防(prevent、preventing或prevention)”是指疾病或障碍的预防性治疗;或延迟疾病或障碍的发作或进展

[0213] 术语“治疗有效量”或“治疗有效剂量”可互换地指足以实现所期望结果(即,减少或抑制酶或蛋白活性,减轻症状,缓解症状或病症,延迟疾病进展,减小肿瘤尺寸,抑制肿瘤

生长,防止转移,抑制或防止病毒、细菌、真菌或寄生虫感染)的量。在一些实施例中,治疗有效量不诱导或不引起不期望的副作用。在一些实施例中,治疗有效量诱导或引起副作用,但仅是由医疗服务提供者就患者的病症而言可接受的那些。可以通过首先施用低剂量并且然后递增地增加所述剂量直至实现所期望的效果来确定治疗有效量。本发明分子的"预防有效剂量"或"预防有效量"可以防止疾病症状的发作,这些疾病症状包括与癌症相关的症状。本发明分子的"治疗有效剂量"或"治疗有效量"可以导致疾病症状的严重性下降,这些疾病症状包括与癌症相关的症状。

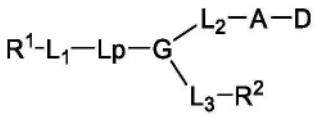
[0214] 本文提供的化合物名称使用ChemBioDraw Ultra(版本14.0)获得。

[0215] 如本文所使用的,术语"一个/种(a、an)"、"所述(the)"以及在本发明的上下文中(尤其是在权利要求的上下文中)使用的类似术语应解释为涵盖单数和复数两者,除非本文中另有指示或与上下文明显相矛盾。

[0216] 本文中给出的任何式还旨在代表化合物的非标记形式以及同位素标记形式。除了一个或多个原子被具有选定原子量或质量数的原子替代以外,同位素标记的化合物具有本文中给出的式所描述的结构。可以并入本发明化合物中的同位素包括例如氢的同位素。

[0217] 接头-药物基团

[0218] 本发明的接头-药物基团是具有式(I)结构的化合物或其药学上可接受的盐:

[0219] 

式(I)

[0220] 其中:

[0221] R^1是反应性基团;

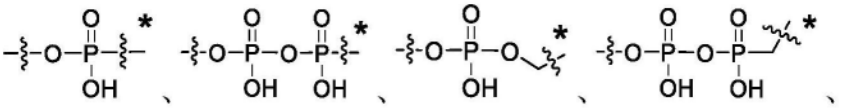
[0222] L_1是桥联间隔子;

[0223] Lp是二价肽间隔子;

[0224] G-L_2-A是自杀式间隔子;

[0225] R^2是亲水性部分;

[0226] L_2是键、亚甲基、新亚戊基或C_2-C_3亚烯基;

[0227] A是键、-OC(=O)-*、、-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-*或-OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-*,其中每个R^a独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基并且所述A的*指示与D的附接点;

[0228] L_3是间隔子部分;

[0229] 并且

[0230] D是包含N或O的药物部分,其中D经由从A到所述药物部分的N或O的直接键连接至A。

[0231] 本发明的接头-药物基团的某些方面及实例提供在下列枚举的实施例的列表中。应认识到,每个实施例中指定的特征可以与其他指定的特征组合以提供本发明的另外的实施例。

[0232] 实施例1.具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐,其中:

[0233] R^1是反应性基团;

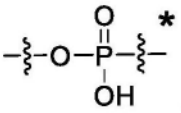
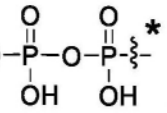
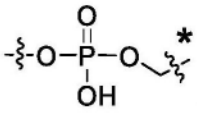
[0234] L_1是桥联间隔子;

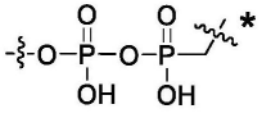
[0235] Lp是包含一个至四个氨基酸残基的二价肽间隔子;

[0236] G-L_2-A是自杀式间隔子;

[0237] R^2是亲水性部分;

[0238] L_2是键、亚甲基、新亚戊基或C_2-C_3亚烯基;

[0239] A是键、-OC(=O)-*、、、、

[0240] 、-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-*或

[0241] -OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-*,其中每个R^a独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基并且所述A的*指示与D的附接点;

[0242] L_3是间隔子部分;

[0243] 并且

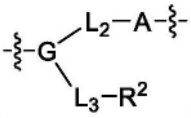
[0244] D是包含N或O的药物部分,其中D经由从A到所述药物部分的N或O的直接键连接至A。

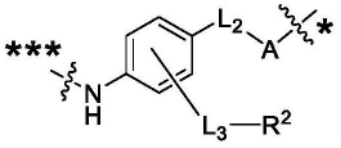
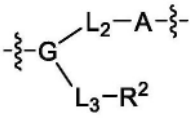
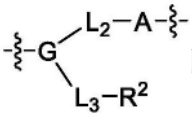
[0245] 实施例2.具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐,其中:

[0246] R^1是反应性基团;

[0247] L_1是桥联间隔子;

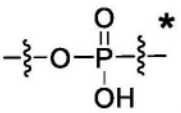
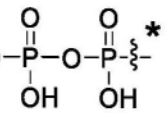
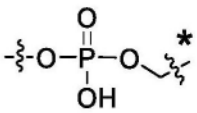
[0248] Lp是包含一个至四个氨基酸残基的二价肽间隔子;

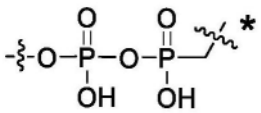
[0249] 所述基团选自:

[0250] ,其中的*指示与所述药物部分的N或O的附接点,的***指示与Lp的附接点;

[0251] R^2是亲水性部分;

[0252] L_2是键、亚甲基、新亚戊基或C_2-C_3亚烯基;

[0253] A是键、-OC(=O)-*、、、、

[0254] 、-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-*或

[0255] -OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-*,其中每个R^a独立地选自H、C_1-C_6烷基

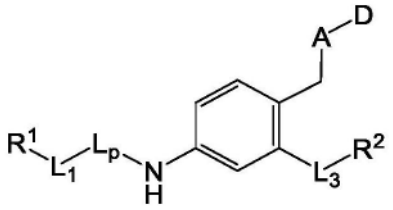
或C_3-C_8环烷基并且所述A的*指示与D的附接点；

[0256] L_3是间隔子部分；

[0257] 并且

[0258] D是包含N或O的药物部分，其中D经由从A到所述药物部分的N或O的直接键连接至A。

[0259] 实施例3.具有式(I)的化合物，其具有式(II)的结构：

[0260] 

式(II)

[0261] 或其药学上可接受的盐，

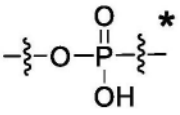
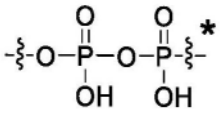
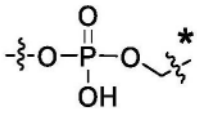
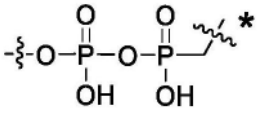
[0262] 其中：

[0263] R^1是反应性基团；

[0264] L_1是桥联间隔子；

[0265] Lp是包含一个至四个氨基酸残基的二价肽间隔子；

[0266] R^2是亲水性部分；

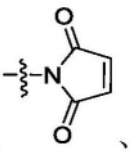
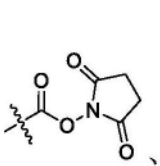
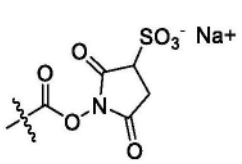
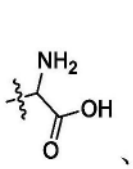
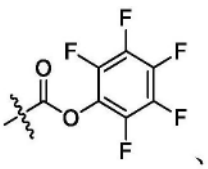
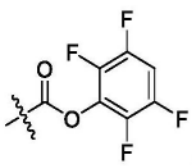
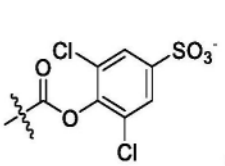
[0267] A是键、-OC(=O)-*、、、、-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-*或-OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-*，其中每个R^a独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基并且所述A的*指示与D的附接点；

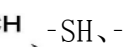
[0268] L_3是间隔子部分；

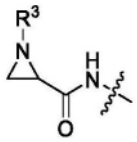
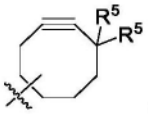
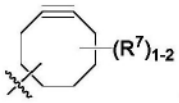
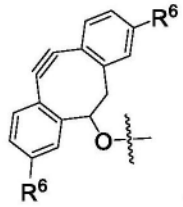
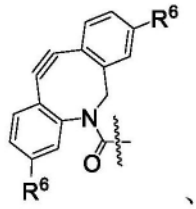
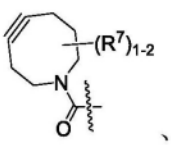
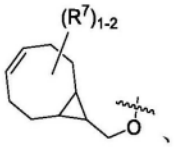
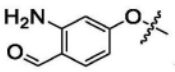
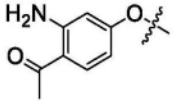
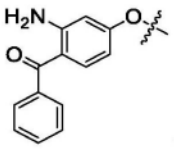
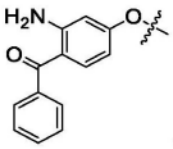
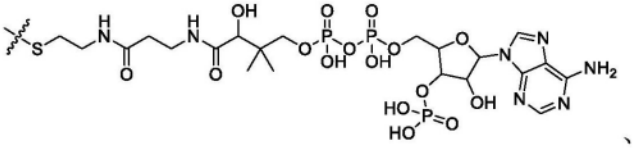
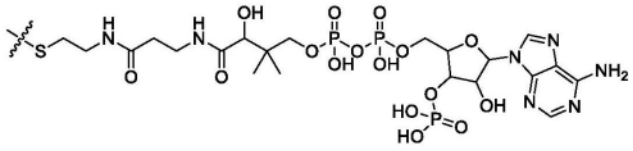
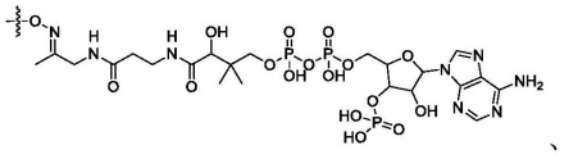
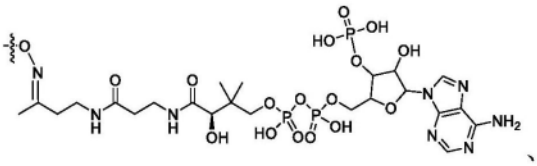
[0269] 并且

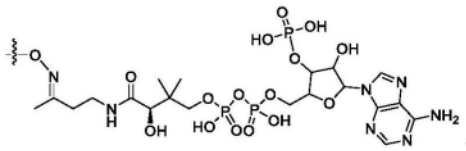
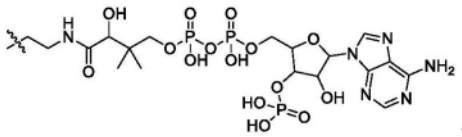
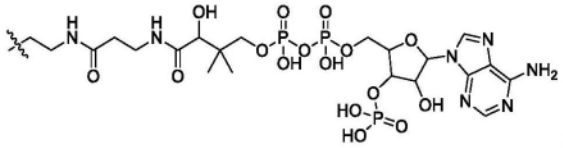
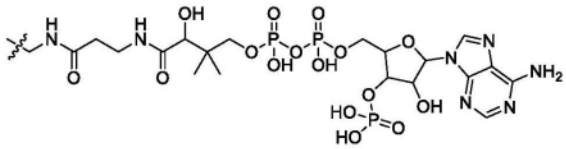
[0270] D是包含N或O的药物部分，其中D经由从A到所述药物部分的N或O的直接键连接至A。

[0271] 实施例4.如实施例1至3中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐，其中：

[0272] R^1是-ONH$_2$、-NH$_2$、、、、、、、

-N_3、、-SH、-SR^3、-SSR^4、-S(=O)$_2$(CH=CH_2)、-$(CH_2)_2$S(=O)$_2$(CH=CH_2)、-NHS(=O)$_2$(CH=CH_2)、-NHC(=O)CH_2Br、-NHC(=O)CH_2I、

[0273] 、-C(O)$NHNH_2$、、、、、、、、、、、、、、、

[0274] 、、、或;

[0275] L_1是*-C(=O)$(CH_2)_m$O$(CH_2)_m$-**;*-C(=O)$((CH_2)_m O)_t(CH_2)_n$-**;*-C(=O)$(CH_2)_m$-**;

[0276] *-C(=O)NH$((CH_2)_m O)_t(CH_2)_n$-**;

[0277] *-C(=O)O$(CH_2)_m$SSC$(R^3)_2(CH_2)_m$C(=O)$NR^3(CH_2)_m NR^3$C(=O)$(CH_2)_m$-**;

[0278] *-C(=O)O$(CH_2)_m$C(=O)NH$(CH_2)_m$-**;*-C(=O)$(CH_2)_m$NH$(CH_2)_m$-**;

[0279] *-C(=O)$(CH_2)_m$NH$(CH_2)_n$C(=O)-**;*-C(=O)$(CH_2)_m X_1(CH_2)_m$-**;

[0280] *-C(=O)$((CH_2)_m O)_t(CH_2)_n X_1(CH_2)_n$-**;*-C(=O)$(CH_2)_m$NHC(=O)$(CH_2)_n$-**;

[0281] *-C(=O)((CH$_2$)$_m$O)$_t$(CH$_2$)$_n$NHC(=O)(CH$_2$)$_n$-**;*-C(=O)(CH$_2$)$_m$NHC(=O)(CH$_2$)$_n$X$_1$(CH$_2$)$_n$-**;

[0282] *-C(=O)((CH$_2$)$_m$O)$_t$(CH$_2$)$_n$NHC(=O)(CH$_2$)$_n$X$_1$(CH$_2$)$_n$-**;

[0283] *-C(=O)((CH$_2$)$_m$O)$_t$(CH$_2$)$_n$C(=O)NH(CH$_2$)$_m$-**;*-C(=O)(CH$_2$)$_m$C(R^3)$_2$-**或

[0284] *-C(=O)(CH$_2$)$_m$C(=O)NH(CH$_2$)$_m$-**,其中所述L$_1$的*指示与Lp的附接点,并且所述L$_1$的**指示与R^{1}的附接点;

[0285] R^{2}是选自聚乙二醇、聚亚烷基二醇、糖、寡糖、多肽或被1至3个基团取代的C$_2$-C$_6$烷基的亲水性部分;

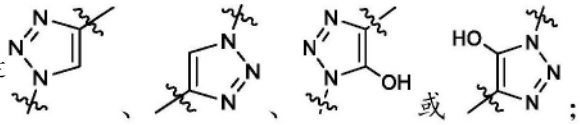
[0286] 每个R^{3}独立地选自H和C$_1$-C$_6$烷基;

[0287] R^{4}是2-吡啶基或4-吡啶基;

[0288] 每个R^{5}独立地选自H、C$_1$-C$_6$烷基、F、Cl、和-OH;

[0289] 每个R^{6}独立地选自H、C$_1$-C$_6$烷基、F、Cl、-NH$_2$、-OCH$_3$、-OCH$_2$CH$_3$、-N(CH$_3$)$_2$、-CN、-NO$_2$和-OH;

[0290] 每个R^{7}独立地选自H、C$_{1-6}$烷基、氟、被-C(=O)OH取代的苄氧基、被-C(=O)OH取代的苄基、被-C(=O)OH取代的C$_{1-4}$烷氧基和被-C(=O)OH取代的C$_{1-4}$烷基;

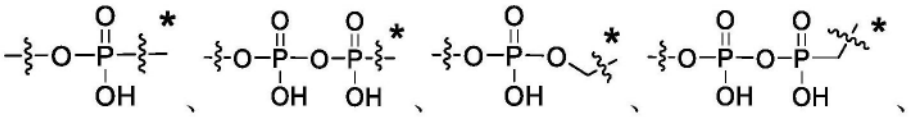
[0291] X$_1$是;

[0292] 每个m独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10;

[0293] 每个n独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10;

[0294] 每个t独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29和30;

[0295] Lp是包含氨基酸残基的二价肽间隔子,所述氨基酸残基选自甘氨酸、缬氨酸、瓜氨酸、赖氨酸、异亮氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸、天冬酰胺、脯氨酸、丙氨酸、亮氨酸、色氨酸、和酪氨酸;

[0296] A是键、-OC(=O)-*、-OC(=O)N(CH$_3$)CH$_2$CH$_2$N(CH$_3$)C(=O)-*或-OC(=O)N(CH$_3$)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH$_3$)C(=O)-*,其中每个R^{a}独立地选自H、C$_1$-C$_6$烷基或C$_3$-C$_8$环烷基并且所述A的*指示与D的附接点;

[0297] L$_3$是具有结构的间隔子部分,

[0298] 其中

[0299] (i)W是-CH$_2$O-**、-CH$_2$N(R^b)C(=O)O-**、-NHC(=O)C(R^b)$_2$NHC(=O)O-**、-NHC(=O)C(R^b)$_2$NH-**、NHC(=O)C(R^b)$_2$NHC(=O)-**、-CH$_2$N(X-R^2)C(=O)O-**、-C(=O)N(X-R^2)-**、-CH$_2$N(X-R^2)C(=O)-**、-C(=O)NR^b-**、-C(=O)NH-**、-CH$_2$NR^{b}C(=O)-**、-CH$_2$NR^{b}C(=O)NH-**、-CH$_2$NR^{b}C(=O)NR^b-**、-NHC(=O)-**、-NHC(=O)O-**、-NHC(=O)NH-**、-OC

(=O)NH-**、-S(O)$_2$NH-**、-NHS(O)$_2$-**、-C(=O)-、-C(=O)O-**、-NH-、或-CH$_2$N(R^b)C(=O)CH$_2$-**,其中每个R^{b}独立地选自H、C$_1$-C$_6$烷基或C$_3$-C$_8$环烷基并且其中所述W的**指示与X的附接点;

[0300] X是键、三唑基或***-CH$_2$-三唑基-*,其中所述X的***指示与W的附接点并且所述X的*指示与R^{2}的附接点;或

[0301] (ii)W是-CH$_2$O-**、-CH$_2$N(R^b)C(=O)O-**、-NHC(=O)C(R^b)$_2$NHC(=O)O-**、-NHC(=O)C(R^b)$_2$NH-**、NHC(=O)C(R^b)$_2$NHC(=O)-**、-CH$_2$N(X-R^2)C(=O)O-**、-C(=O)N(X-R^2)-**、-CH$_2$N(X-R^2)C(=O)-**、-C(=O)NR^b-**、-C(=O)NH-**、-CH$_2$NR^{b}C(=O)-**、-CH$_2$NR^{b}C(=O)NH-**、-CH$_2$NR^{b}C(=O)NR^b-**、-NHC(=O)-**、-NHC(=O)O-**、-NHC(=O)NH-**、-OC(=O)NH-**、-S(O)$_2$NH-**、-NHS(O)$_2$-**、-C(=O)-、-C(=O)O-**或-NH-,其中每个R^{b}独立地选自H、C$_1$-C$_6$烷基或C$_3$-C$_8$环烷基并且其中所述W的**指示与X的附接点;

[0302] X是***-CH$_2$-三唑基-C$_{1-4}$亚烷基-OC(O)NHS(O)$_2$NH-*、***-C$_{4-6}$亚环烷基-OC(O)NHS(O)$_2$NH-*、***-(CH$_2$CH$_2$O)$_n$-C(O)NHS(O)$_2$NH-*、***-(CH$_2$CH$_2$O)$_n$-C(O)NHS(O)$_2$NH-(CH$_2$CH$_2$O)$_n$-*、或***-CH$_2$-三唑基-C$_{1-4}$亚烷基-OC(O)NHS(O)$_2$NH-(CH$_2$CH$_2$O)$_n$-*,其中每个n独立地是1、2、或3,所述X的***指示与W的附接点并且所述X的*指示与R^{2}的附接点;

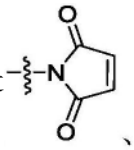
[0303] 并且

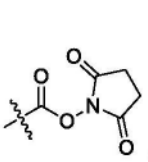
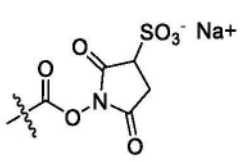
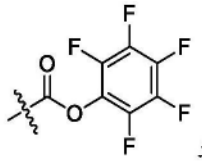
[0304] 所述L$_3$的*指示与R^{2}的附接点;

[0305] 并且

[0306] D是包含N或O的药物部分,其中D经由从A到所述药物部分的N或O的直接键连接至A。

[0307] 实施例5.如实施例1至4中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐,其中:

[0308] R^{1}是、-ONH$_2$、

、、或;

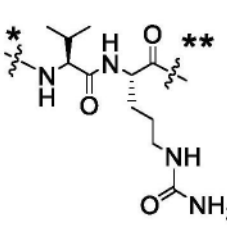
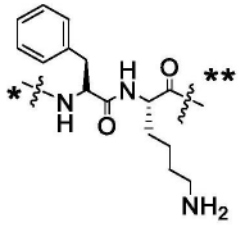
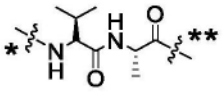
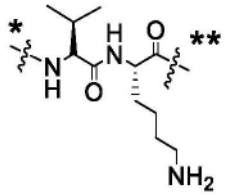
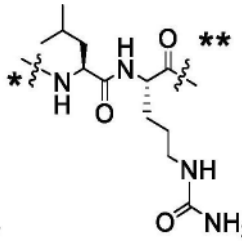
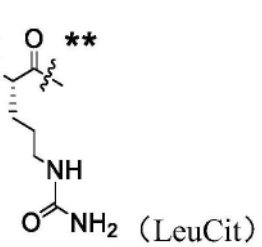
[0309] L$_1$是*-C(=O)(CH$_2$)$_m$O(CH$_2$)$_m$-**;*-C(=O)((CH$_2$)$_m$O)$_t$(CH$_2$)$_n$-**;*-C(=O)(CH$_2$)$_m$-**;或*-C(=O)NH((CH$_2$)$_m$O)$_t$(CH$_2$)$_n$-,其中所述L$_1$的*指示与Lp的附接点,并且所述L$_1$的**指示与R^{1}的附接点;

[0310] 每个m独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10;

[0311] 每个n独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10;

[0312] 每个t独立地选自6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29和30;

[0313] Lp是选自


（ValCit）、
（PheLys）、

（ValAla）、
（ValLys）和
（LeuCit）的二价肽间隔子，

其中所述Lp的*指示与L_1的附接点并且所述Lp的**指示与G的-NH-基团的附接点；

[0314] L_3是具有结构的间隔子部分，

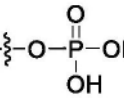
[0315] 其中

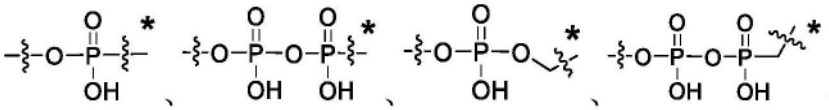
[0316] W是$-CH_2O-$**、$-CH_2N(R^b)C(=O)O-$**、$-NHC(=O)CH_2NHC(=O)O-$**、$-CH_2N(X-R^2)C(=O)O-$**、$-C(=O)N(X-R^2)-$**、$-CH_2N(X-R^2)C(=O)-$**、$-C(=O)NR^b-$**、$-C(=O)NH-$**、$-CH_2NR^bC(=O)-$**、$-CH_2NR^bC(=O)NH-$**、$-CH_2NR^bC(=O)NR^b-$**、$-NHC(=O)-$**、$-NHC(=O)O-$**、$-NHC(=O)NH-$**、$-OC(=O)NH-$**、$-S(O)_2NH-$**、$-NHS(O)_2-$**、$-C(=O)-$、$-C(=O)O-$**或-NH-，其中每个R^b独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基并且其中所述W的**指示与X的附接点；

[0317] X是键、三唑基或***-CH2-三唑基-*，其中所述X的***指示与W的附接点并且所述X的*指示与R^2的附接点；

[0318] 并且

[0319] 所述L_3的*指示与R^2的附接点；

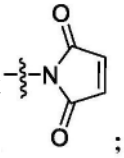
[0320] R^2是选自聚乙二醇、聚亚烷基二醇、糖、寡糖、多肽或被1至3个基团取代的C_2-C_6烷基的亲水性部分；

[0321] A是键、$-OC(=O)-$*、、$-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-$*或$-OC(=O)N(CH_3)C(R^a)_2C(R^a)_2N(CH_3)C(=O)-$*，其中每个$R^a$独立地选自H、$C_1-C_6$烷基或$C_3-C_8$环烷基并且所述A的*指示与D的附接点；

[0322] 并且

[0323] D是包含N或O的药物部分，其中D经由从A到所述药物部分的N或O的直接键连接至A。

[0324] 实施例6.如实施例1至5中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐，其中：

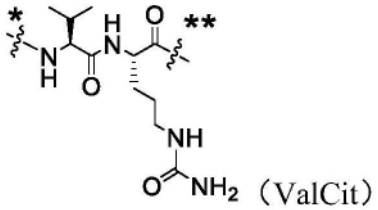
[0325] R^1是；

[0326] L_1是*-C(=O)$(CH_2)_m$O$(CH_2)_m$-**;*-C(=O)$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$-**;*-C(=O)$(CH_2)_m$-**;或*-C(=O)NH$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$-,其中所述L_1的*指示与Lp的附接点,并且所述L_1的**指示与R^1的附接点;

[0327] 每个m独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10;

[0328] 每个n独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10;

[0329] 每个t独立地选自6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29和30;

[0330] Lp是选自（ValCit）的二价肽间隔子,其中所述Lp的*指示与L_1的附接点并且所述Lp的**指示与G的-NH-基团的附接点;

[0331] L_3是具有结构的间隔子部分,

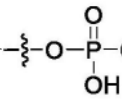
[0332] 其中

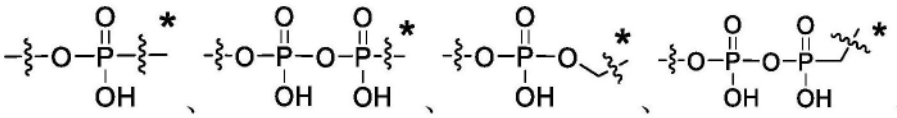
[0333] W是-CH_2O-**、-CH_2N(R^b)C(=O)O-**、-NHC(=O)CH_2NHC(=O)O-**、-CH_2N(X-R^2)C(=O)O-**、-C(=O)N(X-R^2)-**、-CH_2N(X-R^2)C(=O)-**、-C(=O)NR^b-**、-C(=O)NH-**、-CH_2NR^bC(=O)-**、-CH_2NR^bC(=O)NH-**、-CH_2NR^bC(=O)NR^b-**、-NHC(=O)-**、-NHC(=O)O-**、-NHC(=O)NH-**、-OC(=O)NH-**、-S(O)$_2$NH-**、-NHS(O)$_2$-**、-C(=O)-、-C(=O)O-**或-NH-,其中每个R^b独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基并且其中所述W的**指示与X的附接点;

[0334] X是键、三唑基或***-CH2-三唑基-*,其中所述X的***指示与W的附接点并且所述X的*指示与R^2的附接点;

[0335] 并且

[0336] 所述L_3的*指示与R^2的附接点;

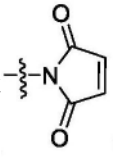
[0337] R^2是选自聚乙二醇、聚亚烷基二醇、糖、寡糖、多肽或被1至3个基团取代的C_2-C_6烷基的亲水性部分;

[0338] A是键、-OC(=O)-*、-OC(=O)N$(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)$C(=O)-*或-OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-*,其中每个R^a独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基并且所述A的*指示与D的附接点;

[0339] 并且

[0340] D是包含N或O的药物部分,其中D经由从A到所述药物部分的N或O的直接键连接至A。

[0341] 实施例7.如实施例1至6中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐,其中:

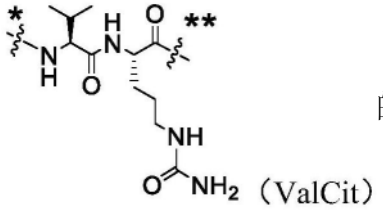
[0342] R^1是;

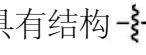
[0343] L_1是*-C(=O)$(CH_2)_m$O$(CH_2)_m$-**;*-C(=O)$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$-**;*-C(=O)$(CH_2)_m$-**;或*-C(=O)NH$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$-,其中所述L_1的*指示与Lp的附接点并且所述L_1的**指示与R^1的附接点;

[0344] 每个m独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10;

[0345] 每个n独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10;

[0346] 每个t独立地选自6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29和30;

[0347] Lp是选自(ValCit)的二价肽间隔子,其中所述Lp的*指示与L_1的附接点并且所述Lp的**指示与G的-NH-基团的附接点;

[0348] L_3是具有结构的间隔子部分,

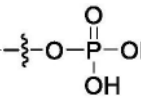
[0349] 其中

[0350] W是-CH_2O-**、-$CH_2N(R^b)$C(=O)O-**、-NHC(=O)CH_2NHC(=O)O-**、-$CH_2N(X-R^2)$C(=O)O-**、-C(=O)N$(X-R^2)$-**、-C(=O)NR^b-**、-C(=O)NH-**、-CH_2NR^bC(=O)-**、-CH_2NR^bC(=O)NH-**、-CH_2NR^bC(=O)NR^b-**、-NHC(=O)-**、-NHC(=O)O-**、或-NHC(=O)NH-**,其中每个R^b独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基并且其中所述W的**指示与X的附接点;

[0351] X是键、三唑基或***-CH2-三唑基-*,其中所述X的***指示与W的附接点并且所述X的*指示与R^2的附接点;

[0352] 并且

[0353] 所述L_3的*指示与R^2的附接点;

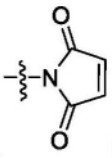
[0354] R^2是选自聚乙二醇、聚亚烷基二醇、糖、寡糖、多肽或被1至3个基团取代的C_2-C_6烷基的亲水性部分;

[0355] A是键或-OC(=O)*,其中*指示与D的附接点;

[0356] 并且

[0357] D是包含N或O的药物部分,其中D经由从A到所述药物部分的N或O的直接键连接至A。

[0358] 实施例8.如实施例1至7中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐,其中:

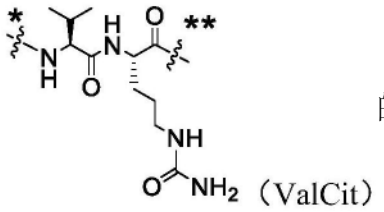
[0359] R^1是;

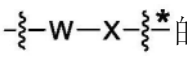
[0360] L_1是*-C(=O)$(CH_2)_m$O$(CH_2)_m$-**;*-C(=O)$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$-**;*-C(=O)$(CH_2)_m$-**;或*-C(=O)NH$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$-,其中所述L_1的*指示与Lp的附接点并且所述L_1的**指示与R^1的附接点;

[0361] 每个m独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10;

[0362] 每个n独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10;

[0363] 每个t独立地选自6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29和30;

[0364] Lp是选自(ValCit)的二价肽间隔子,其中所述Lp的*指示与L_1的附接点并且所述Lp的**指示与G的-NH-基团的附接点;

[0365] L_3是具有结构的间隔子部分,

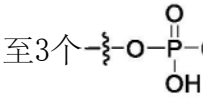
[0366] 其中

[0367] W是-CH_2O-**、-CH_2N(R^b)C(=O)O-**、-NHC(=O)CH_2NHC(=O)O-**、-CH_2N(X-R^2)C(=O)O-**、或-C(=O)N(X-R^2)-**,其中每个R^b独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基并且其中所述W的**指示与X的附接点;

[0368] X是***-CH_2-三唑基-*,其中所述X的***指示与W的附接点并且所述X的*指示与R^2的附接点;

[0369] 并且

[0370] 所述L_3的*指示与R^2的附接点;

[0371] R^2是选自聚乙二醇、聚亚烷基二醇、糖、寡糖、多肽或被1至3个基团取代的C_2-C_6烷基的亲水性部分;

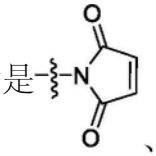
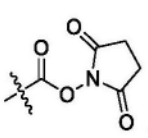
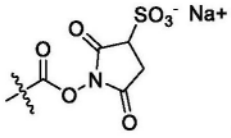
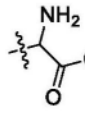
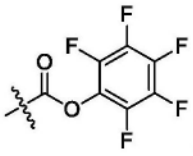
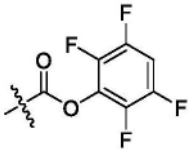
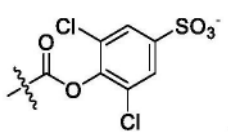
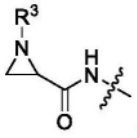
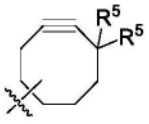
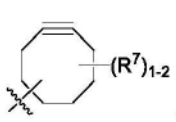
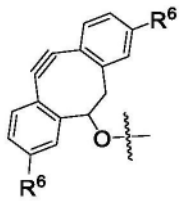
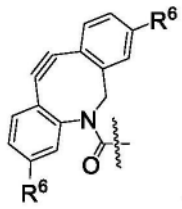
[0372] A是键或-OC(=O)*,其中*指示与D的附接点;

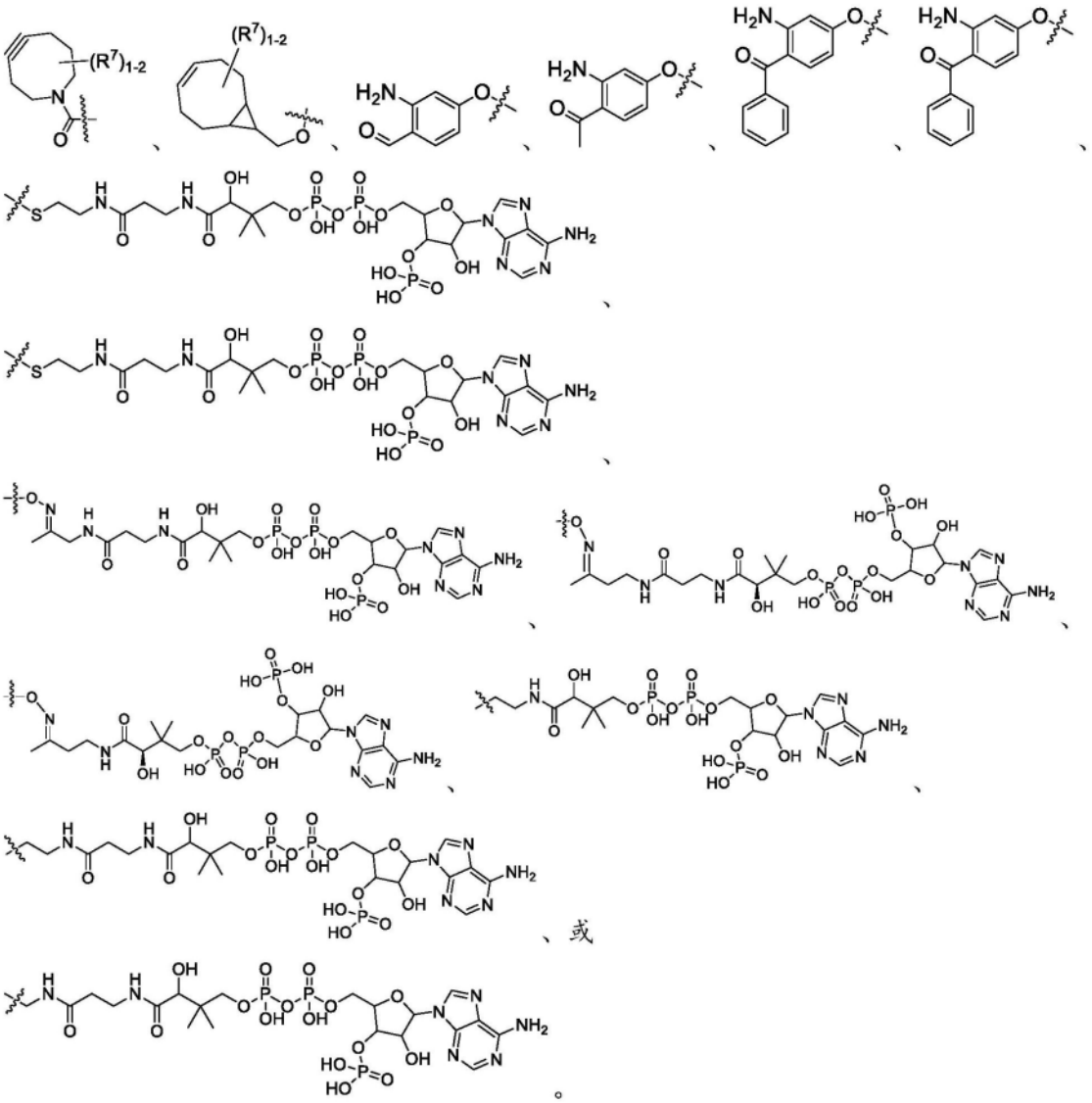
[0373] 并且

[0374] D是包含N或O的药物部分,其中D经由从A到所述药物部分的N或O的直接键连接至A。

[0375] 实施例9.如实施例1至8中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐,其中R^1是选自表1或表2的反应性基团。

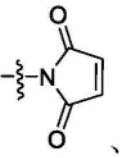
[0376] 实施例10.如实施例1至9中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐,其中:

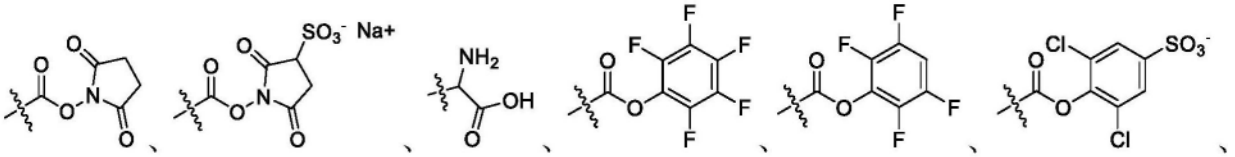
[0377] R^1是、$-ONH_2$、$-NH_2$、、、、、、、$-N_3$、、$-SH$、$-SR^3$、$-SSR^4$、$-S(=O)_2(CH=CH_2)$、$-(CH_2)_2S(=O)_2(CH=CH_2)$、$-NHS(=O)_2(CH=CH_2)$、$-NHC(=O)CH_2Br$、$-NHC(=O)CH_2I$、、$-C(O)NHNH_2$、、、、、

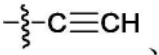
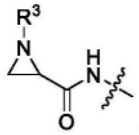


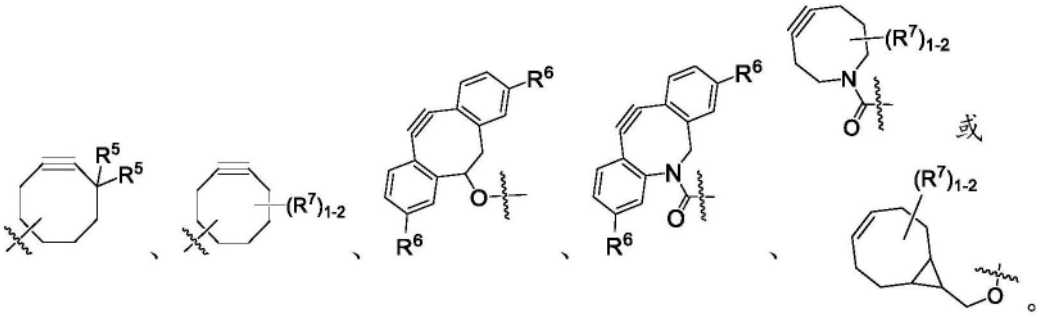
[0378] 实施例11.如实施例1至9中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐，

[0379] 其中：

[0380] R^1是、$-ONH_2$、$-NH_2$、

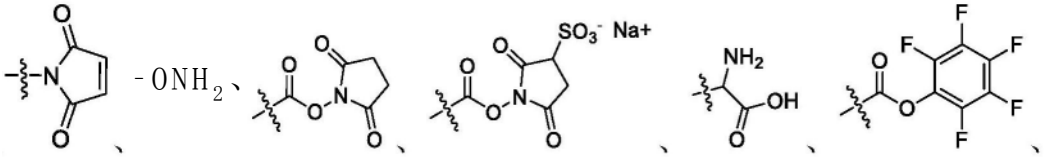


$-N_3$、、$-SH$、$-SR^3$、$-SSR^4$、$-S(=O)_2(CH=CH_2)$、$-(CH_2)_2S(=O)_2(CH=CH_2)$、$-NHS(=O)_2(CH=CH_2)$、$-NHC(=O)CH_2Br$、$-NHC(=O)CH_2I$、、$-C(O)NHNH_2$、



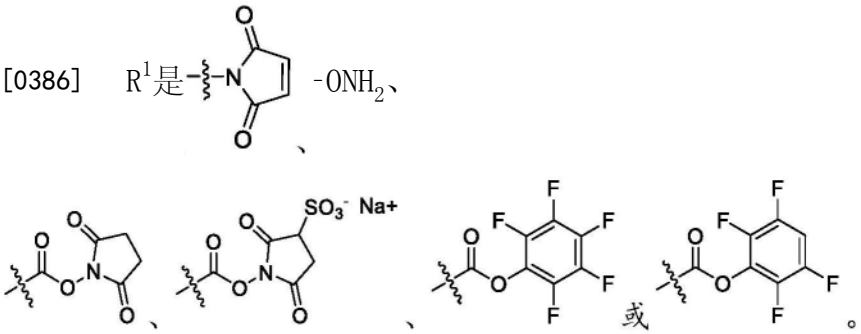
[0381] 实施例12.如实施例1至9中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐，

[0382] 其中：

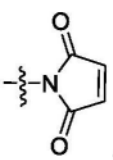
[0383] R^1是

[0384] 实施例13.如实施例1至9中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐，

[0385] 其中：

[0386] R^1是

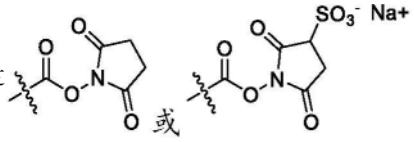
[0387] 实施例14.如实施例1至9中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐，

[0388] 其中R_1是。

[0389] 实施例15.如实施例1至9中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受

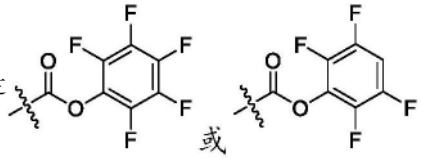
的盐,其中R^1是-ONH_2。

[0390] 实施例16.如实施例1至9中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐,

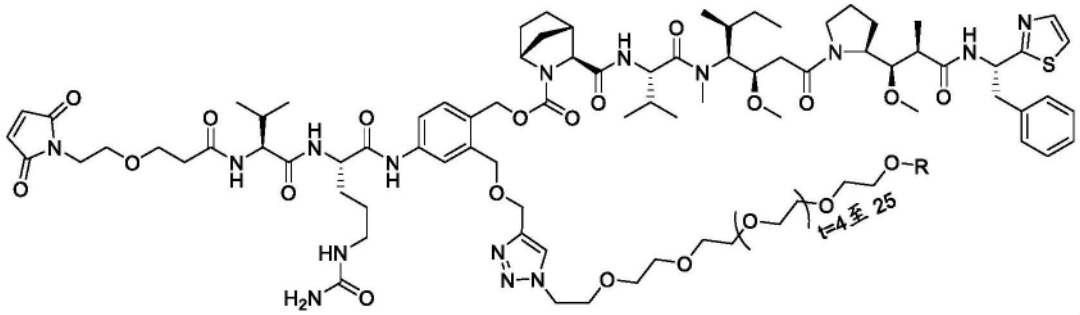
[0391] 其中:R^1是。

[0392] 实施例17.如实施例1至9中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐,

[0393] 其中:

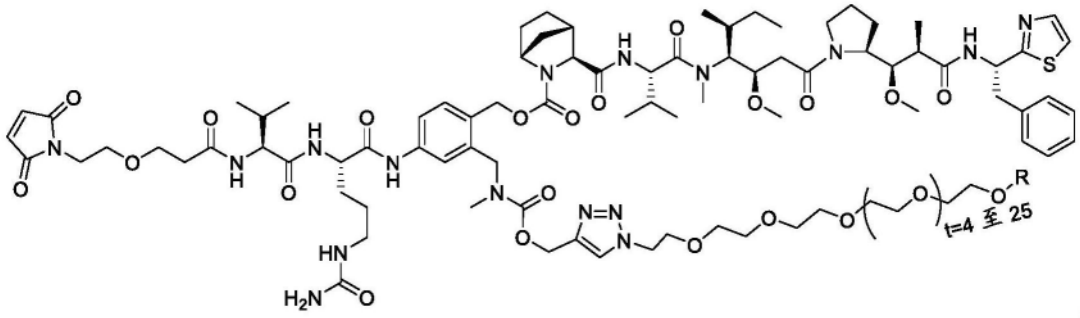
[0394] R^1是。

[0395] 实施例18.如实施例1至8中任一项所述的具有式(I)的化合物,其具有结构:

[0396] ,

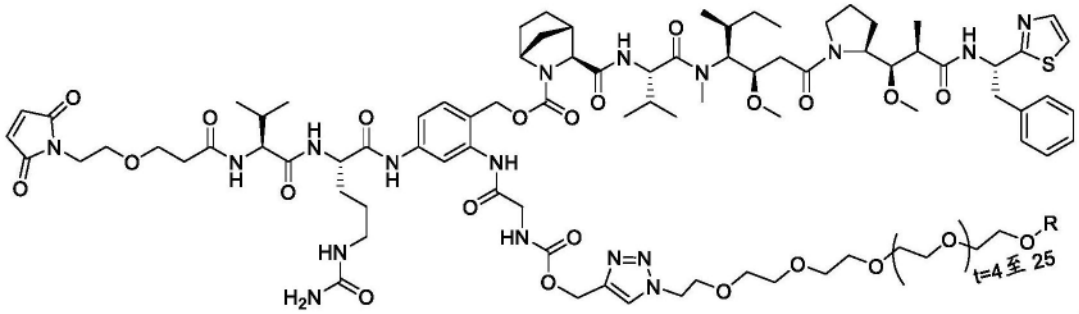
或其药学上可接受的盐,其中R是H、-CH_3或-CH_2CH_2C(=O)OH。

[0397] 实施例19.如实施例1至8中任一项所述的具有式(I)的化合物,其具有结构:

[0398] ,

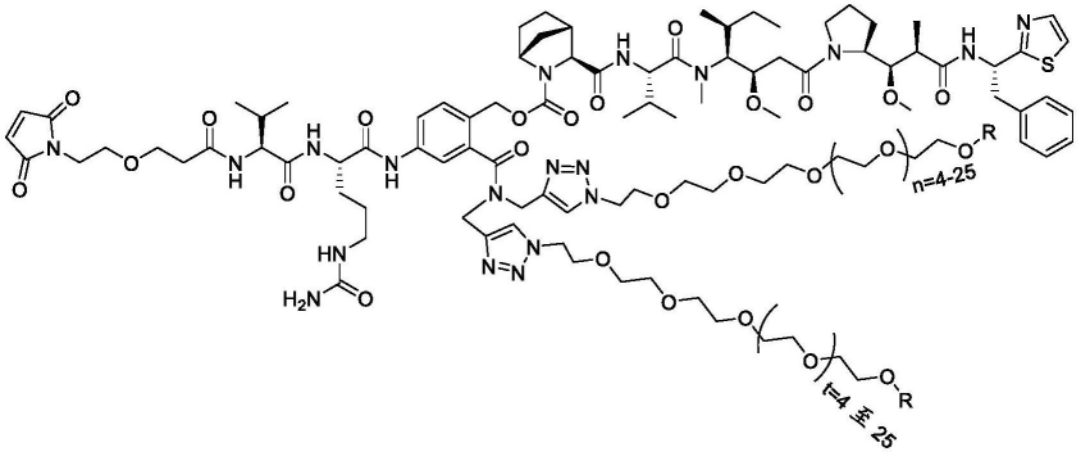
或其药学上可接受的盐,其中R是H、-CH_3或-CH_2CH_2C(=O)OH。

[0399] 实施例20.如实施例1至8中任一项所述的具有式(I)的化合物,其具有结构:

[0400] 

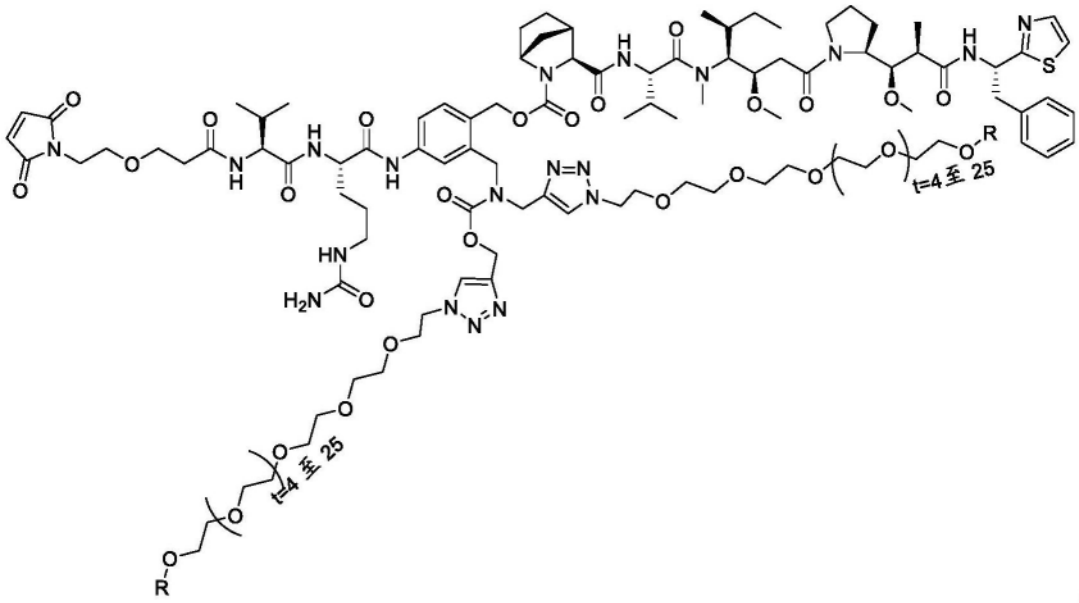
或其药学上可接受的盐,其中R是H、-CH_3或-CH_2CH_2C(=O)OH。

[0401] 实施例21.如实施例1至8中任一项所述的具有式(I)的化合物,其具有结构:

[0402] 

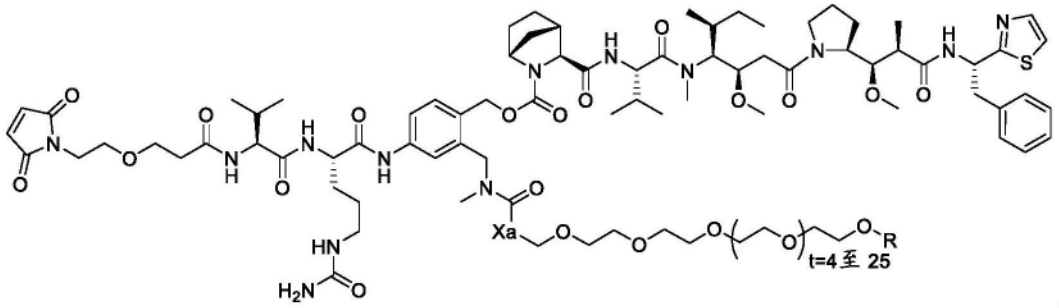
或其药学上可接受的盐,其中每个R独立地选自H、-CH_3或-CH_2CH_2C(=O)OH。

[0403] 实施例22.如实施例1至8中任一项所述的具有式(I)的化合物,其具有结构:

[0404] 

或其药学上可接受的盐,其中每个R独立地选自H、-CH_3或-CH_2CH_2C(=O)OH。

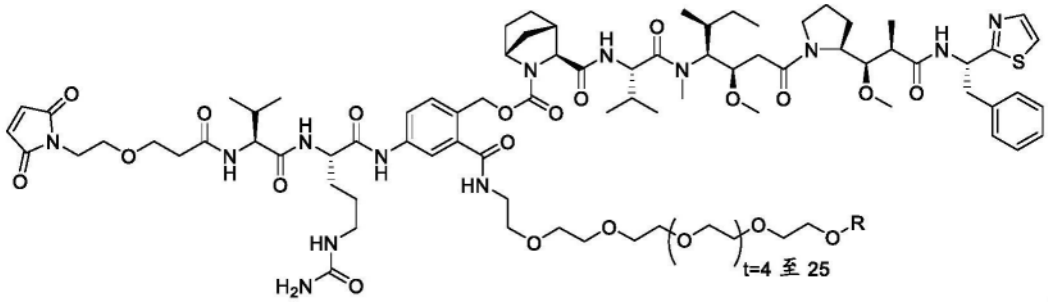
[0405] 实施例23.如实施例1至8中任一项所述的具有式(I)的化合物,其具有结构:

[0406] 

或

其药学上可接受的盐,其中Xa是-CH_2-、-OCH_2-、-$NHCH_2$-或-$NRCH_2$-并且每个R独立地是H、-CH_3或-$CH_2CH_2C(=O)OH$。

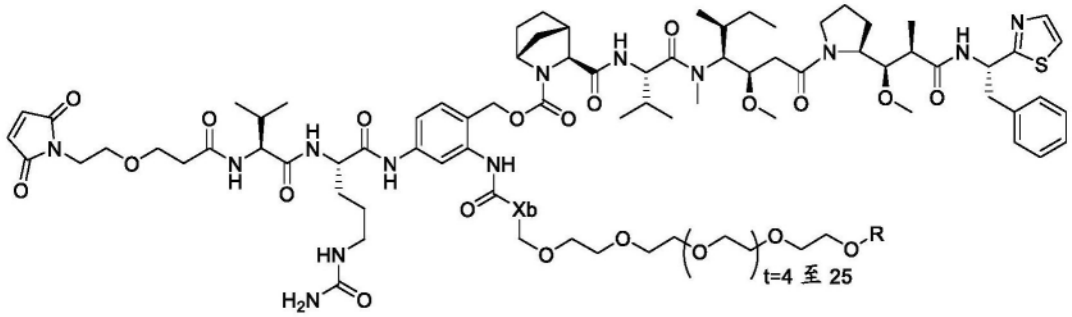
[0407] 实施例24.如实施例1至8中任一项所述的具有式(I)的化合物,其具有结构:

[0408] 

或

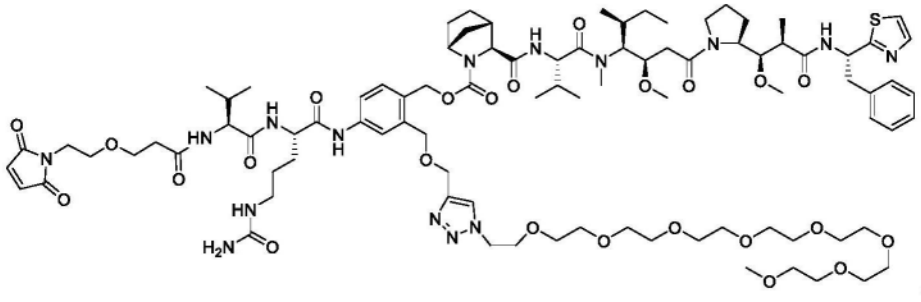
其药学上可接受的盐,其中R是H、-CH_3或-$CH_2CH_2C(=O)OH$。

[0409] 实施例25.如实施例1至8中任一项所述的具有式(I)的化合物,其具有结构:

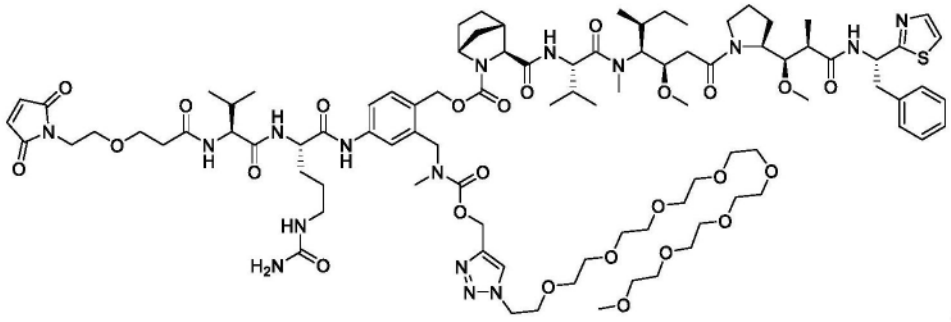
[0410] 

或其药学上可接受的盐,其中Xb是-CH_2-、-OCH_2-、-$NHCH_2$-或-$NRCH_2$-并且每个R独立地是H、-CH_3或-$CH_2CH_2C(=O)OH$。

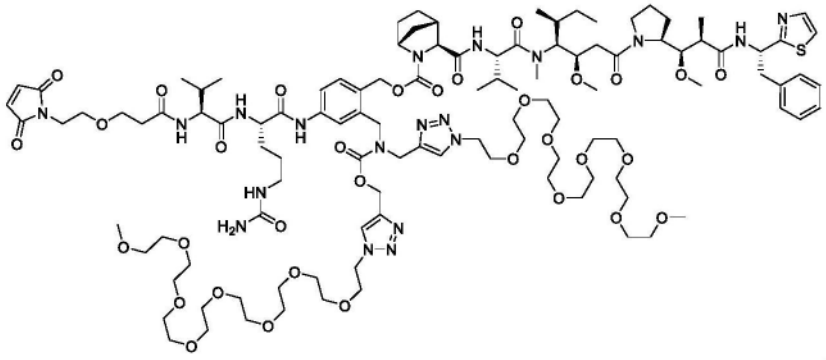
[0411] 实施例26.如实施例1至8中任一项所述的具有式(I)的化合物,其具有结构:

[0412] 
或其药学上可接受的盐。

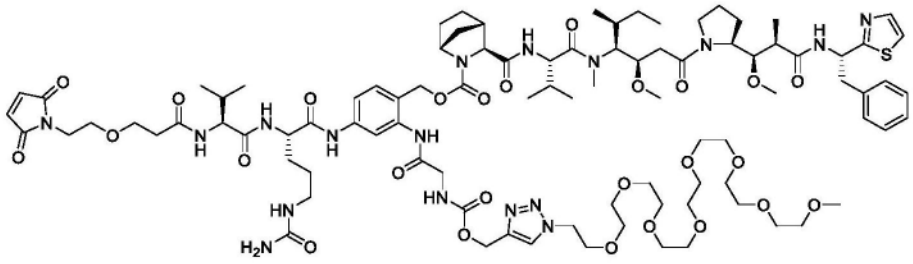
[0413] 实施例27.如实施例1至8中任一项所述的具有式(I)的化合物,其具有结构:

[0414]  或其药学上可接受的盐。

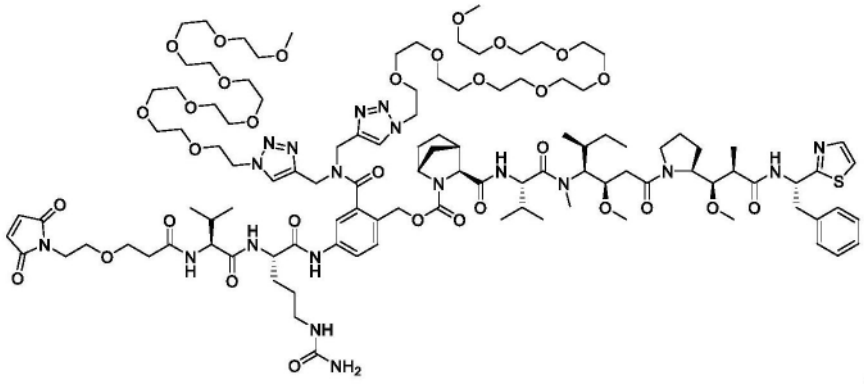
[0415] 实施例28.如实施例1至8中任一项所述的具有式(I)的化合物,其具有结构:

[0416]  或其药学上可接受的盐。

[0417] 实施例29.如实施例1至8中任一项所述的具有式(I)的化合物,其具有结构:

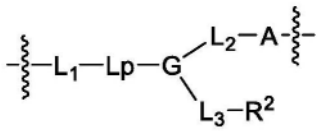
[0418]  或其药学上可接受的盐。

[0419] 实施例30.如实施例1至8中任一项所述的具有式(I)的化合物,其具有结构:

[0420]  或其药学上可接受的盐。

[0421] 实施例31.如实施例1至8中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐,其具有在本文包括的表4A-4C的任一个表中的化合物的结构。

[0422] 实施例32.一种具有式(I)的接头-药物基团的接头,所述接头具有式(V)的结构,

[0423] 

式(V)

[0424] 其中

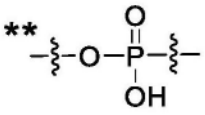
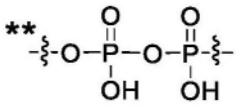
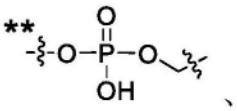
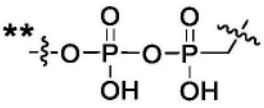
[0425] L_1是桥联间隔子;

[0426] Lp是二价肽间隔子;

[0427] G-L_2-A是自杀式间隔子;

[0428] R^2是亲水性部分;

[0429] L_2是键、亚甲基、新亚戊基或C_2-C_3亚烯基;

[0430] A是键、**-OC(=O)-、、、、、**-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-或**-OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-,其中每个R^a独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基并且其中所述A的**指示与L_2的附接点,

[0431] 并且

[0432] L_3是间隔子部分。

[0433] 实施例33.如实施例32所述的接头,其中:

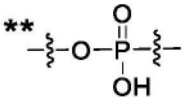
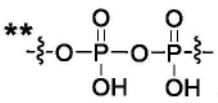
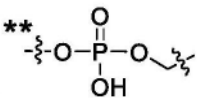
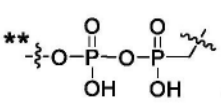
[0434] L_1是桥联间隔子;

[0435] Lp是包含一个至四个氨基酸残基的二价肽间隔子;

[0436] G-L_2-A是自杀式间隔子;

[0437] R^2是亲水性部分;

[0438] L_2是键、亚甲基、新亚戊基或C_2-C_3亚烯基;

[0439] A是键、**-OC(=O)-、、、、、**-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-或**-OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-,其中每个R^a独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基并且其中所述A的**指示与L_2的附接点,

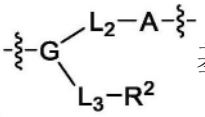
[0440] 并且

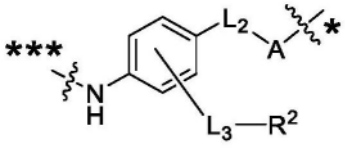
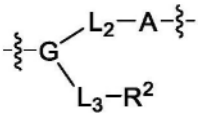
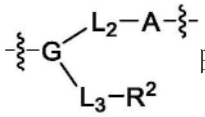
[0441] L_3是间隔子部分。

[0442] 实施例34.如实施例32或33所述的接头,其中:

[0443] L_1是桥联间隔子;

[0444] Lp是包含一个至四个氨基酸残基的二价肽间隔子;

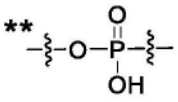
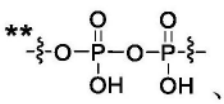
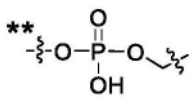
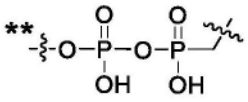
[0445] 所述  基团选自：

[0446]  其中  的*指示与所述药物部分的N或O的附接点， 的***指示与Lp的附接点；

[0447] R^2是亲水性部分；

[0448] L_2是键、亚甲基、新亚戊基或C_2-C_3亚烯基；

[0449] A是键、**-OC(=O)-、

    **-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-或**-OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-，其中每个R^a独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基并且其中所述A的**指示与L_2的附接点，

[0450] 并且

[0451] L_3是间隔子部分。

[0452] 实施例35.如实施例32至34中任一项所述的接头，其中：

[0453] L_1是*-C(=O)$(CH_2)_m$O$(CH_2)_m$-**；*-C(=O)$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$-**；*-C(=O)$(CH_2)_m$-**；

[0454] *-C(=O)NH$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$-**；

[0455] *-C(=O)O$(CH_2)_m$SSC$(R^3)_2(CH_2)_m$C(=O)N$R^3(CH_2)_m$NR^3C(=O)$(CH_2)_m$-**；

[0456] *-C(=O)O$(CH_2)_m$C(=O)NH$(CH_2)_m$-**；*-C(=O)$(CH_2)_m$NH$(CH_2)_m$-**；

[0457] *-C(=O)$(CH_2)_m$NH$(CH_2)_n$C(=O)-**；*-C(=O)$(CH_2)_mX_1(CH_2)_m$-**；

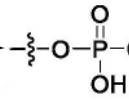
[0458] *-C(=O)$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_nX_1(CH_2)_n$-**；*-C(=O)$(CH_2)_m$NHC(=O)$(CH_2)_n$-**；

[0459] *-C(=O)$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$NHC(=O)$(CH_2)_n$-**；*-C(=O)$(CH_2)_m$NHC(=O)$(CH_2)_nX_1(CH_2)_n$-**；

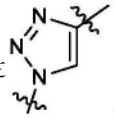
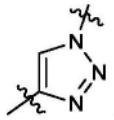
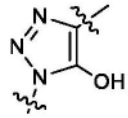
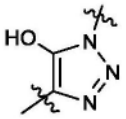
[0460] *-C(=O)$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$NHC(=O)$(CH_2)_nX_1(CH_2)_n$-**；

[0461] *-C(=O)$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$C(=O)NH$(CH_2)_m$-**；*-C(=O)$(CH_2)_mC(R^3)_2$-**或

[0462] *-C(=O)$(CH_2)_m$C(=O)NH$(CH_2)_m$-**，其中所述L_1的*指示与Lp的附接点；

[0463] R^2是选自聚乙二醇、聚亚烷基二醇、糖、寡糖、多肽或被1至3个  基团取代的C_2-C_6烷基的亲水性部分；

[0464] 每个R^3独立地选自H和C_1-C_6烷基；

[0465] X_1是    或 ；

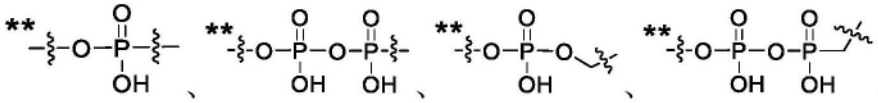
[0466] 每个m独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10;

[0467] 每个n独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10;

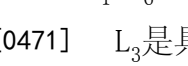
[0468] 每个t独立地选自6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29和30;

[0469] Lp是包含氨基酸残基的二价肽间隔子,所述氨基酸残基选自甘氨酸、缬氨酸、瓜氨酸、赖氨酸、异亮氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸、天冬酰胺、脯氨酸、丙氨酸、亮氨酸、色氨酸、和酪氨酸;

[0470] A是键、**-OC(=O)-、



-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-或-OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-,其中每个R^a独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基并且其中所述A的**指示与L_2的附接点;

[0471] L_3是具有结构的间隔子部分,

[0472] 其中

[0473] (i)W是-CH_2O-**、-CH_2N(R^b)C(=O)O-**、-NHC(=O)C(R^b)$_2$NHC(=O)O-**、-NHC(=O)C(R^b)$_2$NH-**、NHC(=O)C(R^b)$_2$NHC(=O)-**、-CH_2N(X-R^2)C(=O)O-**、-C(=O)N(X-R^2)-**、-CH_2N(X-R^2)C(=O)-**、-C(=O)NR^b-**、-C(=O)NH-**、-CH_2NR^bC(=O)-**、-CH_2NR^bC(=O)NH-**、-CH_2NR^bC(=O)NR^b-**、-NHC(=O)-**、-NHC(=O)O-**、-NHC(=O)NH-**、-OC(=O)NH-**、-S(O)$_2$NH-**、-NHS(O)$_2$-**、-C(=O)-、-C(=O)O-**、-NH-、或-CH_2N(R^b)C(=O)CH_2-**,其中每个R^b独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基并且其中所述W的**指示与X的附接点;

[0474] X是键、三唑基或***-CH_2-三唑基-*,其中所述X的***指示与W的附接点并且所述X的*指示与R^2的附接点;或

[0475] (ii)W是-CH_2O-**、-CH_2N(R^b)C(=O)O-**、-NHC(=O)C(R^b)$_2$NHC(=O)O-**、-NHC(=O)C(R^b)$_2$NH-**、NHC(=O)C(R^b)$_2$NHC(=O)-**、-CH_2N(X-R^2)C(=O)O-**、-C(=O)N(X-R^2)-**、-CH_2N(X-R^2)C(=O)-**、-C(=O)NR^b-**、-C(=O)NH-**、-CH_2NR^bC(=O)-**、-CH_2NR^bC(=O)NH-**、-CH_2NR^bC(=O)NR^b-**、-NHC(=O)-**、-NHC(=O)O-**、-NHC(=O)NH-**、-OC(=O)NH-**、-S(O)$_2$NH-**、-NHS(O)$_2$-**、-C(=O)-、-C(=O)O-**或-NH-,其中每个R^b独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基并且其中所述W的**指示与X的附接点;

[0476] X是***-CH_2-三唑基-C_{1-4}亚烷基-OC(O)NHS(O)$_2$NH-*、***-C_{4-6}亚环烷基-OC(O)NHS(O)$_2$NH-*、***-(CH_2CH_2O)$_n$-C(O)NHS(O)$_2$NH-*、***-(CH_2CH_2O)$_n$-C(O)NHS(O)$_2$NH-(CH_2CH_2O)$_n$-*、或***-CH_2-三唑基-C_{1-4}亚烷基-OC(O)NHS(O)$_2$NH-(CH_2CH_2O)$_n$-*,其中每个n独立地是1、2、或3,所述X的***指示与W的附接点并且所述X的*指示与R^2的附接点;

[0477] 并且

[0478] 所述L_3的*指示与R^2的附接点。

[0479] 实施例36.如实施例32至35中任一项所述的接头,其中:

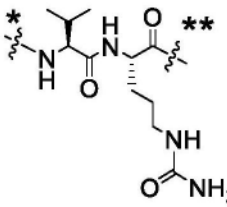
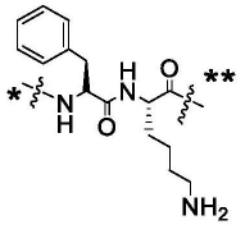
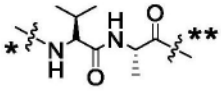
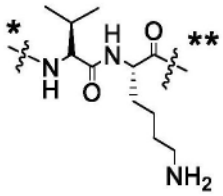
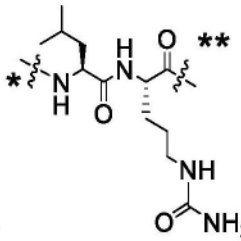
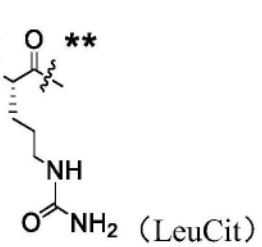
[0480] L_1是*-C(=O)(CH_2)$_m$O(CH_2)$_m$-**;*-C(=O)((CH_2)$_m$O)$_t$(CH_2)$_n$-**;*-C(=O)(CH_2)$_m$-**;或*-C(=O)NH((CH_2)$_m$O)$_t$(CH_2)$_n$-,其中所述L_1的*指示与Lp的附接点;

[0481] 每个m独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10；

[0482] 每个n独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10；

[0483] 每个t独立地选自6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29和30；

[0484] Lp是选自


（ValCit）、

（PheLys）、


（ValAla）、

（ValLys）和

（LeuCit）的二价肽间隔子，

其中所述Lp的*指示与L_1的附接点并且所述Lp的**指示与G的-NH-基团的附接点；

[0485] L_3是具有结构的间隔子部分，

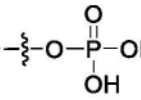
[0486] 其中

[0487] W是$-CH_2O-$**、$-CH_2N(R^b)C(=O)O-$**、$-NHC(=O)CH_2NHC(=O)O-$**、$-CH_2N(X-R^2)C(=O)O-$**、$-C(=O)N(X-R^2)-$**、$-CH_2N(X-R^2)C(=O)-$**、$-C(=O)NR^b-$**、$-C(=O)NH-$**、$-CH_2NR^bC(=O)-$**、$-CH_2NR^bC(=O)NH-$**、$-CH_2NR^bC(=O)NR^b-$**、$-NHC(=O)-$**、$-NHC(=O)O-$**、$-NHC(=O)NH-$**、$-OC(=O)NH-$**、$-S(O)_2NH-$**、$-NHS(O)_2-$**、$-C(=O)-$、$-C(=O)O-$**或-NH-，其中每个R^b独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基并且其中所述W的**指示与X的附接点；

[0488] X是键、三唑基或***-CH2-三唑基-*，其中所述X的***指示与W的附接点并且所述X的*指示与R^2的附接点；

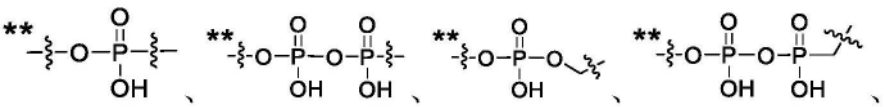
[0489] 并且

[0490] 所述L_3的*指示与R^2的附接点；

[0491] R^2是选自聚乙二醇、聚亚烷基二醇、糖、寡糖、多肽或被1至3个基团取代的C_2-C_6烷基的亲水性部分；

[0492] 并且

[0493] A是键、**-OC(=O)-、


-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-或-OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-，其中每个R^a独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基并且其中所述A的**指示与L_2的附接点。

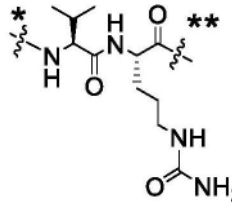
[0494] 实施例37.如实施例32至36中任一项所述的接头,其中:

[0495] L_1是*-C(=O)$(CH_2)_m$O$(CH_2)_m$-**;*-C(=O)$((CH_2)_m O)_t(CH_2)_n$-**;*-C(=O)$(CH_2)_m$-**;或*-C(=O)NH$((CH_2)_m O)_t(CH_2)_n$-,其中所述L_1的*指示与Lp的附接点;

[0496] 每个m独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10;

[0497] 每个n独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10;

[0498] 每个t独立地选自6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29和30;

[0499] Lp是选自的二价肽间隔子,其中所述Lp的*指示与L_1的附接点并且所述Lp的**指示与G的-NH-基团的附接点;

[0500] L_3是具有结构的间隔子部分,

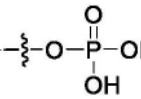
[0501] 其中

[0502] W是-CH_2O-**、-CH_2N(R^b)C(=O)O-**、-NHC(=O)CH_2NHC(=O)O-**、-CH_2N(X-R^2)C(=O)O-**、-C(=O)N(X-R^2)-**、-CH_2N(X-R^2)C(=O)-**、-C(=O)NR^b-**、-C(=O)NH-**、-CH_2NR^bC(=O)-**、-CH_2NR^bC(=O)NH-**、-CH_2NR^bC(=O)NR^b-**、-NHC(=O)-**、-NHC(=O)O-**、-NHC(=O)NH-**、-OC(=O)NH-**、-S(O)$_2$NH-**、-NHS(O)$_2$-**、-C(=O)-、-C(=O)O-**或-NH-,其中每个R^b独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基并且其中所述W的**指示与X的附接点;

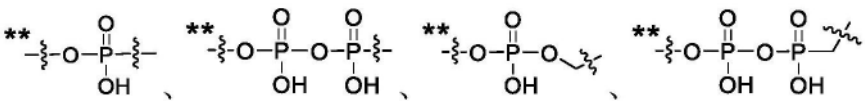
[0503] X是键、三唑基或***-CH2-三唑基-*,其中所述X的***指示与W的附接点并且所述X的*指示与R^2的附接点;

[0504] 并且

[0505] 所述L_3的*指示与R^2的附接点;

[0506] R^2是选自聚乙二醇、聚亚烷基二醇、糖、寡糖、多肽或被1至3个基团取代的C_2-C_6烷基的亲水性部分;

[0507] 并且

[0508] A是键、**-OC(=O)-、**-OC(=O)N$(CH_3)CH_2CH_2$N(CH_3)C(=O)-或**-OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-,其中每个R^a独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基并且其中所述A的**指示与L_2的附接点。

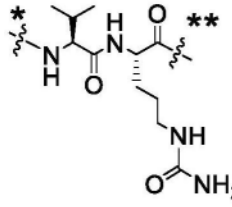
[0509] 实施例38.如实施例32至37中任一项所述的接头,其中:

[0510] L_1是*-C(=O)$(CH_2)_m$O$(CH_2)_m$-**;*-C(=O)$((CH_2)_m O)_t(CH_2)_n$-**;*-C(=O)$(CH_2)_m$-**;或*-C(=O)NH$((CH_2)_m O)_t(CH_2)_n$-,其中所述L_1的*指示与Lp的附接点;

[0511] 每个m独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10;

[0512] 每个n独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10；

[0513] 每个t独立地选自6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29和30；

[0514] Lp是选自（ValCit）的二价肽间隔子，其中所述Lp的*指示与L_1的附接点并且所述Lp的**指示与G的-NH-基团的附接点；

[0515] L_3是具有结构-§-W—X-§*的间隔子部分，

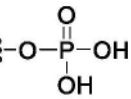
[0516] 其中

[0517] W是-CH_2O-**、-CH_2N(R^b)C(=O)O-**、-NHC(=O)CH_2NHC(=O)O-**、-CH_2N(X-R^2)C(=O)O-**、-C(=O)N(X-R^2)-**、-C(=O)NR^b-**、-C(=O)NH-**、-CH_2NR^bC(=O)-**、-CH_2NR^bC(=O)NH-**、-CH_2NR^bC(=O)NR^b-**、-NHC(=O)-**、-NHC(=O)O-**、或-NHC(=O)NH-**，其中每个R^b独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基并且其中所述W的**指示与X的附接点；

[0518] X是键、三唑基或***-CH2-三唑基-*，其中所述X的***指示与W的附接点并且所述X的*指示与R^2的附接点；

[0519] 并且

[0520] 所述L_3的*指示与R^2的附接点；

[0521] R^2是选自聚乙二醇、聚亚烷基二醇、糖、寡糖、多肽或被1至3个基团取代的C_2-C_6烷基的亲水性部分；

[0522] 并且

[0523] A是键或**-OC(=O)-，其中所述A的**指示与L_2的附接点。

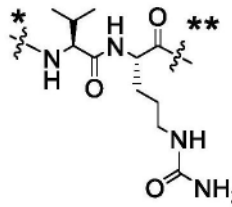
[0524] 实施例39.如实施例32至38中任一项所述的接头，其中：

[0525] L_1是*-C(=O)$(CH_2)_m$O$(CH_2)_m$-**；*-C(=O)$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$-**；*-C(=O)$(CH_2)_m$-**；或*-C(=O)NH$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$-，其中所述L_1的*指示与Lp的附接点；

[0526] 每个m独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10；

[0527] 每个n独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10；

[0528] 每个t独立地选自6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29和30；

[0529] Lp是选自（ValCit）的二价肽间隔子，其中所述Lp的*指示与L_1的附接点并且所述Lp的**指示与G的-NH-基团的附接点；

[0530] L_3是具有结构-§-W—X-§*的间隔子部分，

[0531] 其中

[0532] W是-CH_2O-**、-CH_2N(R^b)C(=O)O-**、-NHC(=O)CH_2NHC(=O)O-**、-CH_2N(X-R^2)C(=O)O-**、或-C(=O)N(X-R^2)-**，其中每个R^b独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基并且其中所述W的**指示与X的附接点；

[0533] X是***-CH_2-三唑基-*，其中所述X的***指示与W的附接点并且所述X的*指示与R^2的附接点；

[0534] 并且

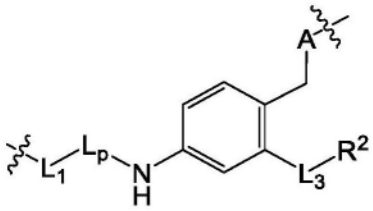
[0535] 所述L_3的*指示与R^2的附接点；

[0536] R^2是选自聚乙二醇、聚亚烷基二醇、糖、寡糖、多肽或被1至3个-§-O-P(=O)(OH)-OH基团取代的C_2-C_6烷基的亲水性部分；

[0537] 并且

[0538] A是键或**-OC(=O)-，其中所述A的**指示与L_2的附接点。

[0539] 实施例40.具有式(V)的接头，其具有式(VI)的结构，

[0540] 

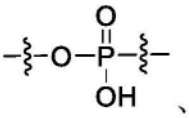
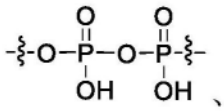
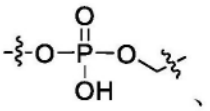
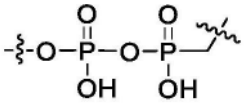
式(VI)

[0541] 其中

[0542] L_1是桥联间隔子；

[0543] Lp是二价肽间隔子；

[0544] R^2是亲水性部分；

[0545] A是键、-OC(=O)-、、、、-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-或-OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-，其中每个R^a独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基，

[0546] 并且

[0547] L_3是间隔子部分。

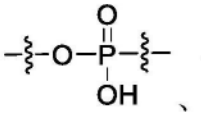
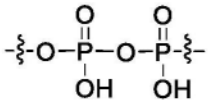
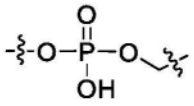
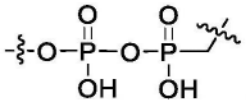
[0548] 实施例41.如实施例40所述的接头，其中：

[0549] L_1是桥联间隔子；

[0550] Lp是包含一个至四个氨基酸残基的二价肽间隔子；

[0551] R^2是亲水性部分；

[0552] A是键、-OC(=O)-、

、、、、-OC(=O)N(CH$_3$)CH$_2$CH$_2$N(CH$_3$)C(=O)-或-OC(=O)N(CH$_3$)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH$_3$)C(=O)-,其中每个R^{a}独立地选自H、C$_1$-C$_6$烷基或C$_3$-C$_8$环烷基,

[0553] 并且

[0554] L$_3$是间隔子部分。

[0555] 实施例42.如实施例40或41所述的接头,其中:

[0556] L$_1$是*-C(=O)(CH$_2$)$_m$O(CH$_2$)$_m$-**;*-C(=O)((CH$_2$)$_m$O)$_t$(CH$_2$)$_n$-**;*-C(=O)(CH$_2$)$_m$-**;

[0557] *-C(=O)NH((CH$_2$)$_m$O)$_t$(CH$_2$)$_n$-**;

[0558] *-C(=O)O(CH$_2$)$_m$SSC(R^3)$_2$(CH$_2$)$_m$C(=O)NR^3(CH$_2$)$_m$NR^{3}C(=O)(CH$_2$)$_m$-**;

[0559] *-C(=O)O(CH$_2$)$_m$C(=O)NH(CH$_2$)$_m$-**;*-C(=O)(CH$_2$)$_m$NH(CH$_2$)$_m$-**;

[0560] *-C(=O)(CH$_2$)$_m$NH(CH$_2$)$_n$C(=O)-**;*-C(=O)(CH$_2$)$_m$X$_1$(CH$_2$)$_m$-**;

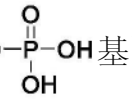
[0561] *-C(=O)((CH$_2$)$_m$O)$_t$(CH$_2$)$_n$X$_1$(CH$_2$)$_n$-**;*-C(=O)(CH$_2$)$_m$NHC(=O)(CH$_2$)$_n$-**;

[0562] *-C(=O)((CH$_2$)$_m$O)$_t$(CH$_2$)$_n$NHC(=O)(CH$_2$)$_n$-**;*-C(=O)(CH$_2$)$_m$NHC(=O)(CH$_2$)$_n$X$_1$(CH$_2$)$_n$-**;

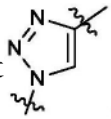
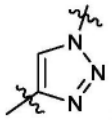
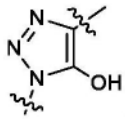
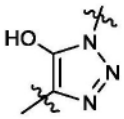
[0563] *-C(=O)((CH$_2$)$_m$O)$_t$(CH$_2$)$_n$NHC(=O)(CH$_2$)$_n$X$_1$(CH$_2$)$_n$-**;

[0564] *-C(=O)((CH$_2$)$_m$O)$_t$(CH$_2$)$_n$C(=O)NH(CH$_2$)$_m$-**;*-C(=O)(CH$_2$)$_m$C(R^3)$_2$-**或

[0565] *-C(=O)(CH$_2$)$_m$C(=O)NH(CH$_2$)$_m$-**,其中所述L$_1$的*指示与Lp的附接点;

[0566] R^{2}是选自聚乙二醇、聚亚烷基二醇、糖、寡糖、多肽、被1至3个基团取代的C$_2$-C$_6$烷基、或聚肌氨酸的亲水性部分;

[0567] 每个R^{3}独立地选自H和C$_1$-C$_6$烷基;

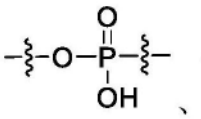
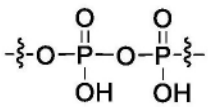
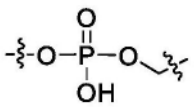
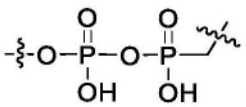
[0568] X$_1$是、、或;

[0569] 每个m独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10;

[0570] 每个n独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10;

[0571] 每个t独立地选自6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29和30;

[0572] Lp是包含氨基酸残基的二价肽间隔子,所述氨基酸残基选自甘氨酸、缬氨酸、瓜氨酸、赖氨酸、异亮氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸、天冬酰胺、脯氨酸、丙氨酸、亮氨酸、色氨酸、和酪氨酸;

[0573] A是键、-OC(=O)-、、、、、-OC(=O)N(CH$_3$)CH$_2$CH$_2$N(CH$_3$)C(=O)-或-OC(=O)N(CH$_3$)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH$_3$)C(=O)-,其中每个R^{a}独立地选自H、C$_1$-

C_6烷基或C_3-C_8环烷基;

[0574] L_3是具有结构-⁂-W—X-⁂*的间隔子部分,

[0575] 其中

[0576] (i)W是-CH_2O-**、-CH_2N(R^b)C(=O)O-**、-NHC(=O)CH_2NHC(=O)O-**、-CH_2N(X-R^2)C(=O)O-**、-C(=O)N(X-R^2)-**、-CH_2N(X-R^2)C(=O)-**、-C(=O)NR^b-**、-C(=O)NH-**、-CH_2NR^bC(=O)-**、-CH_2NR^bC(=O)NH-**、-CH_2NR^bC(=O)NR^b-**、-NHC(=O)-**、-NHC(=O)O-**、-NHC(=O)NH-**、-OC(=O)NH-**、-S(O)$_2$NH-**、-NHS(O)$_2$-**、-C(=O)-、-C(=O)O-**、-NH-、或-CH_2N(R^b)C(=O)CH_2-**,其中每个R^b独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基并且其中所述W的**指示与X的附接点;

[0577] X是键、三唑基或***-CH_2-三唑基-*,其中所述X的***指示与W的附接点并且所述X的*指示与R^2的附接点;或

[0578] (ii)W是-CH_2O-**、-CH_2N(R^b)C(=O)O-**、-NHC(=O)C(R^b)$_2$NHC(=O)O-**、-NHC(=O)C(R^b)$_2$NH-**、NHC(=O)C(R^b)$_2$NHC(=O)-**、-CH_2N(X-R^2)C(=O)O-**、-C(=O)N(X-R^2)-**、-CH_2N(X-R^2)C(=O)-**、-C(=O)NR^b-**、-C(=O)NH-**、-CH_2NR^bC(=O)-**、-CH_2NR^bC(=O)NH-**、-CH_2NR^bC(=O)NR^b-**、-NHC(=O)-**、-NHC(=O)O-**、-NHC(=O)NH-**、-OC(=O)NH-**、-S(O)$_2$NH-**、-NHS(O)$_2$-**、-C(=O)-、-C(=O)O-**或-NH-,其中每个R^b独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基并且其中所述W的**指示与X的附接点;

[0579] X是***-CH_2-三唑基-C_{1-4}亚烷基-OC(O)NHS(O)$_2$NH-*、***-C_{4-6}亚环烷基-OC(O)NHS(O)$_2$NH-*、***-(CH_2CH_2O)$_n$-C(O)NHS(O)$_2$NH-*、***-(CH_2CH_2O)$_n$-C(O)NHS(O)$_2$NH-(CH_2CH_2O)$_n$-*、或***-CH_2-三唑基-C_{1-4}亚烷基-OC(O)NHS(O)$_2$NH-(CH_2CH_2O)$_n$-*,其中每个n独立地是1、2、或3,所述X的***指示与W的附接点并且所述X的*指示与R^2的附接点;

[0580] 并且

[0581] 所述L_3的*指示与R^2的附接点。

[0582] 实施例43.如实施例40至42中任一项所述的接头,其中:

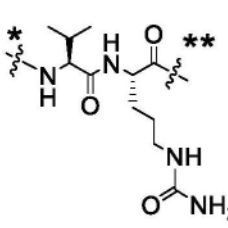
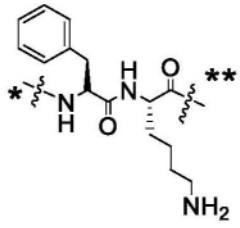
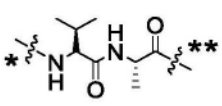
[0583] L_1是*-C(=O)(CH_2)$_m$O(CH_2)$_m$-**;*-C(=O)((CH_2)$_m$O)$_t$(CH_2)$_n$-**;*-C(=O)(CH_2)$_m$-**;或*-C(=O)NH((CH_2)$_m$O)$_t$(CH_2)$_n$-,其中所述L_1的*指示与Lp的附接点;

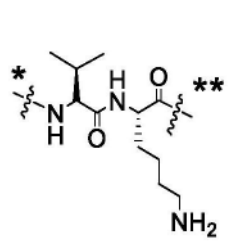
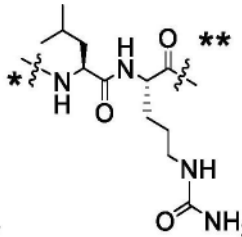
[0584] 每个m独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10;

[0585] 每个n独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10;

[0586] 每个t独立地选自6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29和30;

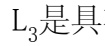
[0587] Lp是选自


(ValCit)、

(PheLys)、


的二价肽间隔子，（ValAla）、（ValLys）和（LeuCit）

其中所述Lp的*指示与L_1的附接点并且所述Lp的**指示与-NH-基团的附接点；

[0588] L_3是具有结构的间隔子部分，

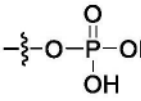
[0589] 其中

[0590] W是$-CH_2O-$**、$-CH_2N(R^b)C(=O)O-$**、$-NHC(=O)CH_2NHC(=O)O-$**、$-CH_2N(X-R^2)C(=O)O-$**、$-C(=O)N(X-R^2)-$**、$-CH_2N(X-R^2)C(=O)-$**、$-C(=O)NR^b-$**、$-C(=O)NH-$**、$-CH_2NR^bC(=O)-$**、$-CH_2NR^bC(=O)NH-$**、$-CH_2NR^bC(=O)NR^b-$**、$-NHC(=O)-$**、$-NHC(=O)O-$**、$-NHC(=O)NH-$**、$-OC(=O)NH-$**、$-S(O)_2NH-$**、$-NHS(O)_2-$**、$-C(=O)-$、$-C(=O)O-$**或-NH-，其中每个R^b独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基并且其中所述W的**指示与X的附接点；

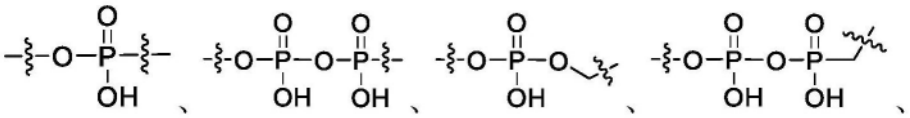
[0591] X是键、三唑基或***-CH2-三唑基-*，其中所述X的***指示与W的附接点并且所述X的*指示与R^2的附接点；

[0592] 并且

[0593] 所述L_3的*指示与R^2的附接点；

[0594] R^2是选自聚乙二醇、聚亚烷基二醇、糖、寡糖、多肽、被1至3个基团取代的C_2-C_6烷基、或聚肌氨酸的亲水性部分；

[0595] 并且

[0596] A是键、$-OC(=O)-$、$-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-$或$-OC(=O)N(CH_3)C(R^a)_2C(R^a)_2N(CH_3)C(=O)-$，其中每个$R^a$独立地选自H、$C_1$-$C_6$烷基或$C_3$-$C_8$环烷基。

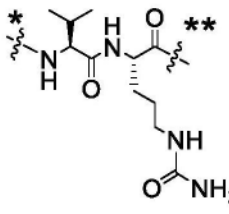
[0597] 实施例44.如实施例40至43中任一项所述的接头，其中：

[0598] L_1是*-C(=O)$(CH_2)_m$O$(CH_2)_m$-**；*-C(=O)$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$-**；*-C(=O)$(CH_2)_m$-**；或*-C(=O)NH$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$-，其中所述L_1的*指示与Lp的附接点；

[0599] 每个m独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10；

[0600] 每个n独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10；

[0601] 每个t独立地选自6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29和30；

[0602] Lp是选自  的二价肽间隔子,其中所述Lp的*指示与L_1的附接点并且所述Lp的**指示与-NH-基团的附接点;

[0603] L_3是具有结构-W—X-的间隔子部分,

[0604] 其中

[0605] W是-CH_2O-**、-$CH_2N(R^b)C(=O)O$-**、-$NHC(=O)CH_2NHC(=O)O$-**、-$CH_2N(X-R^2)C(=O)O$-**、-$C(=O)N(X-R^2)$-**、-$CH_2N(X-R^2)C(=O)$-**、-$C(=O)NR^b$-**、-$C(=O)NH$-**、-$CH_2NR^bC(=O)$-**、-$CH_2NR^bC(=O)NH$-**、-$CH_2NR^bC(=O)NR^b$-**、-$NHC(=O)$-**、-$NHC(=O)O$-**、-$NHC(=O)NH$-**、-$OC(=O)NH$-**、-$S(O)_2NH$-**、-$NHS(O)_2$-**、-$C(=O)$-、-$C(=O)O$-**或-NH-,其中每个R^b独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基并且其中所述W的**指示与X的附接点;

[0606] X是键、三唑基或***-CH2-三唑基-*,其中所述X的***指示与W的附接点并且所述X的*指示与R^2的附接点;

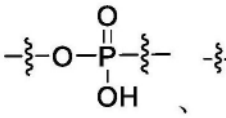
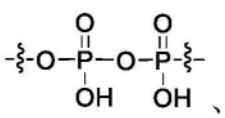
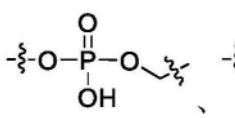
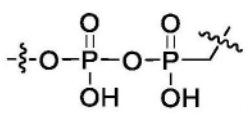
[0607] 并且

[0608] 所述L_3的*指示与R^2的附接点;

[0609] R^2是选自聚乙二醇、聚亚烷基二醇、糖、寡糖、多肽、被1至3个-O-P(=O)(OH)-OH基团取代的C_2-C_6烷基或聚肌氨酸的亲水性部分;

[0610] 并且

[0611] A是键、-$OC(=O)$-、

、、、、-$OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)$-或-$OC(=O)N(CH_3)C(R^a)_2C(R^a)_2N(CH_3)C(=O)$-,其中每个$R^a$独立地选自H、$C_1$-$C_6$烷基或$C_3$-$C_8$环烷基。

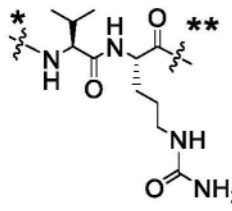
[0612] 实施例45.如实施例40至44中任一项所述的接头,其中:

[0613] L_1是*-$C(=O)(CH_2)_mO(CH_2)_m$-**;*-$C(=O)((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$-**;*-$C(=O)(CH_2)_m$-**;或*-$C(=O)NH((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$-,其中所述$L_1$的*指示与Lp的附接点;

[0614] 每个m独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10;

[0615] 每个n独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10;

[0616] 每个t独立地选自6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29和30;

[0617] Lp是选自的二价肽间隔子,其中所述Lp的*指示与L_1的附接点并且所述Lp的**指示与-NH-基团的附接点;

[0618] L_3是具有结构-~~W—X~~-*的间隔子部分,

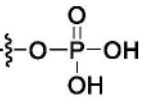
[0619] 其中

[0620] W是-CH_2O-**、-$CH_2N(R^b)C(=O)O$-**、-$NHC(=O)CH_2NHC(=O)O$-**、-$CH_2N(X-R^2)C(=O)O$-**、-$C(=O)N(X-R^2)$-**、-$C(=O)NR^b$-**、-$C(=O)NH$-**、-$CH_2NR^bC(=O)$-**、-$CH_2NR^bC(=O)NH$-**、-$CH_2NR^bC(=O)NR^b$-**、-$NHC(=O)$-**、-$NHC(=O)O$-**、或-$NHC(=O)NH$-**,其中每个R^b独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基并且其中所述W的**指示与X的附接点;

[0621] X是键、三唑基或***-CH2-三唑基-*,其中所述X的***指示与W的附接点并且所述X的*指示与R^2的附接点;

[0622] 并且

[0623] 所述L_3的*指示与R^2的附接点;

[0624] R^2是选自聚乙二醇、聚亚烷基二醇、糖、寡糖、多肽、被1至3个基团取代的C_2-C_6烷基、或聚肌氨酸的亲水性部分;

[0625] 并且

[0626] A是键或-OC(=O)-。

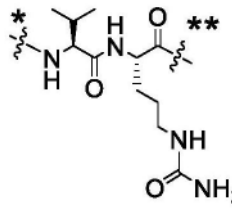
[0627] 实施例46.如实施例40至45中任一项所述的接头,其中:

[0628] L_1是*-$C(=O)(CH_2)_mO(CH_2)_m$-**;*-$C(=O)((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$-**;*-$C(=O)(CH_2)_m$-**;或*-$C(=O)NH((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$-,其中所述$L_1$的*指示与Lp的附接点;

[0629] 每个m独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10;

[0630] 每个n独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10;

[0631] 每个t独立地选自6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29和30;

[0632] Lp是选自的二价肽间隔子,其中所述Lp的*指示与L_1的附接点并且所述Lp的**指示与-NH-基团的附接点;

[0633] L_3是具有结构-~~W—X~~-*的间隔子部分,

[0634] 其中

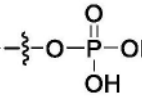
[0635] W是-CH_2O-**、-$CH_2N(R^b)C(=O)O$-**、-$NHC(=O)CH_2NHC(=O)O$-**、-$CH_2N(X-R^2)C$

(=O)O-**、或-C(=O)N(X-R^2)-**,其中每个R^b独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基并且其中所述W的**指示与X的附接点;

[0636] X是***-CH_2-三唑基-*,其中所述X的***指示与W的附接点并且所述X的*指示与R^2的附接点;

[0637] 并且

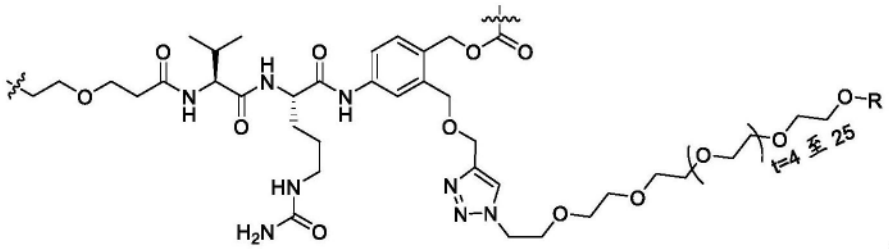
[0638] 所述L_3的*指示与R^2的附接点;

[0639] R^2是选自聚乙二醇、聚亚烷基二醇、糖、寡糖、多肽、被1至3个基团取代的C_2-C_6烷基、或聚肌氨酸的亲水性部分;

[0640] 并且

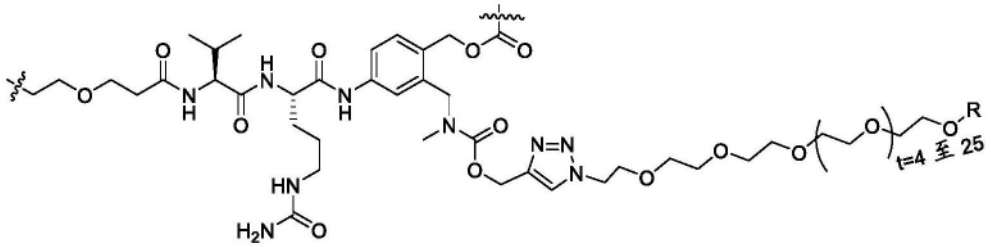
[0641] A是键或-OC(=O)-。

[0642] 实施例47.如实施例32至46中任一项所述的接头,其具有结构:

[0643] 其中,

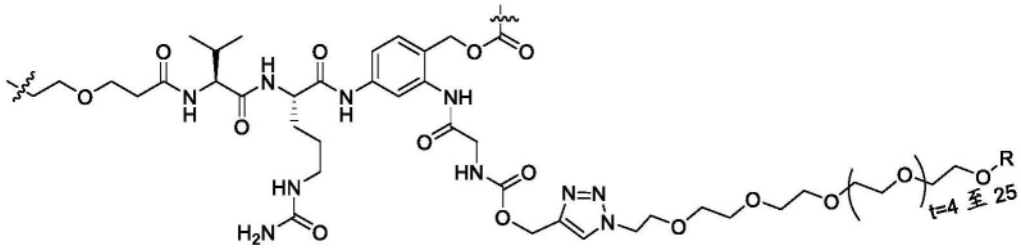
[0644] R是H、-CH_3或-CH_2CH_2C(=O)OH。

[0645] 实施例48.如实施例32至46中任一项所述的接头,其具有结构:

[0646] 其中,

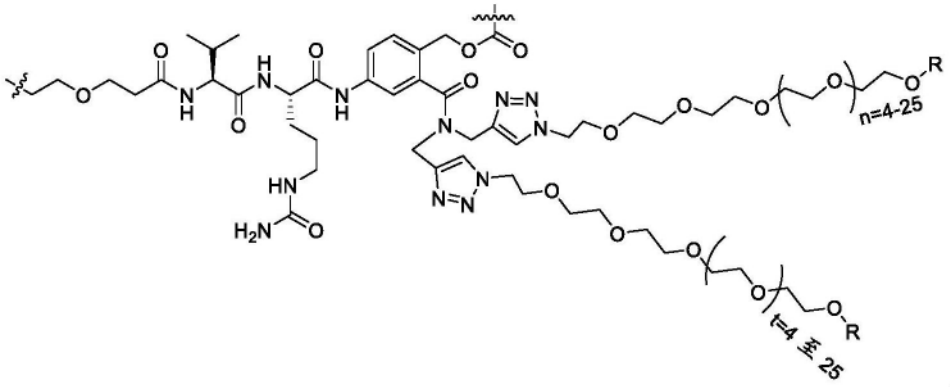
[0647] R是H、-CH_3或-CH_2CH_2C(=O)OH。

[0648] 实施例49.如实施例32至46中任一项所述的接头,其具有结构:

[0649] 其中,

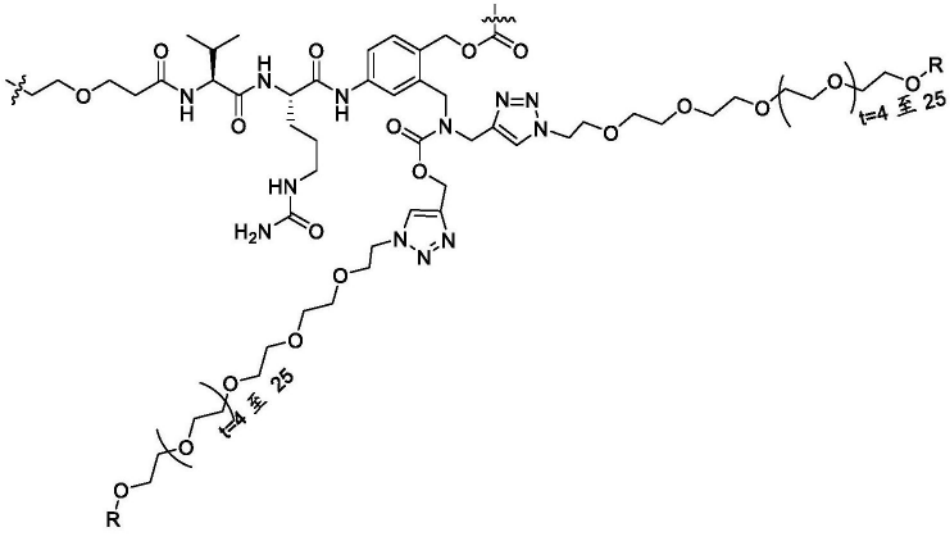
[0650] R是H、-CH_3或-CH_2CH_2C(=O)OH。

[0651] 实施例50.如实施例32至46中任一项所述的接头,其具有结构:

[0652] 

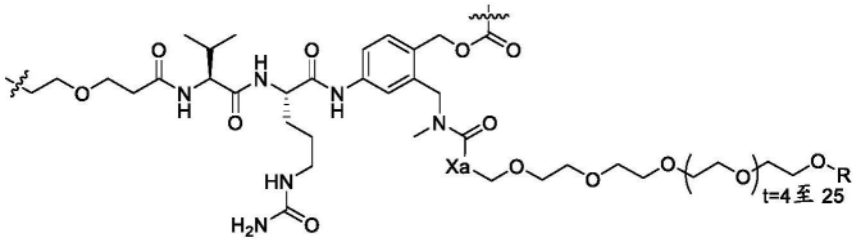
其中每个R独立地选自H、-CH_3或-$CH_2CH_2C(=O)OH$。

[0653] 实施例51.如实施例32至46中任一项所述的接头,其具有结构:

[0654] 

其中每个R独立地选自H、-CH_3或-$CH_2CH_2C(=O)OH$。

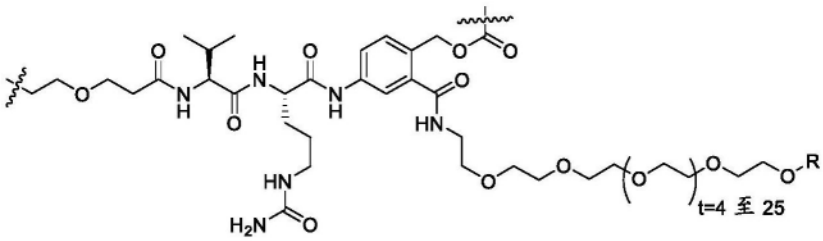
[0655] 实施例52.如实施例32至46中任一项所述的接头,其具有结构:

[0656] 

其中

[0657] Xa是-CH_2-、-OCH_2-、-$NHCH_2$-或-$NRCH_2$-并且每个R独立地是H、-CH_3或-$CH_2CH_2C(=O)OH$。

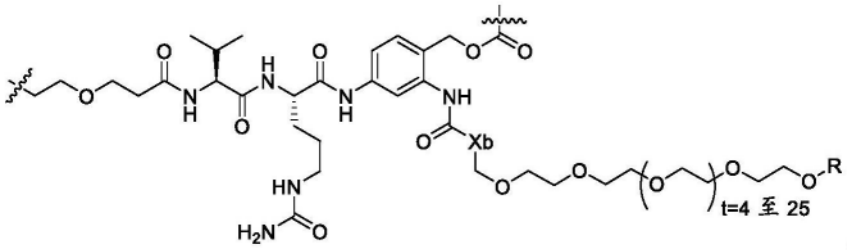
[0658] 实施例53.如实施例32至46中任一项所述的接头,其具有结构:

[0659] 

其中

[0660] R是H、-CH_3或-CH_2CH_2C(=O)OH。

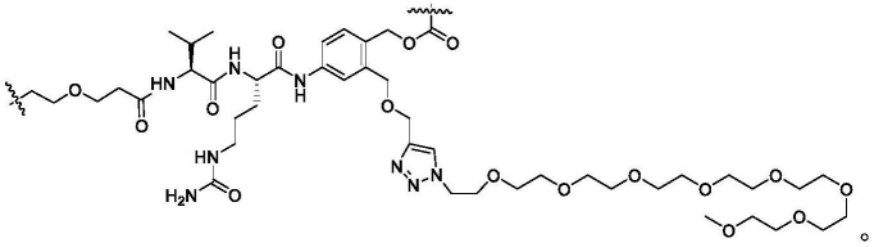
[0661] 实施例54.如实施例32至46中任一项所述的接头,其具有结构:

[0662] 

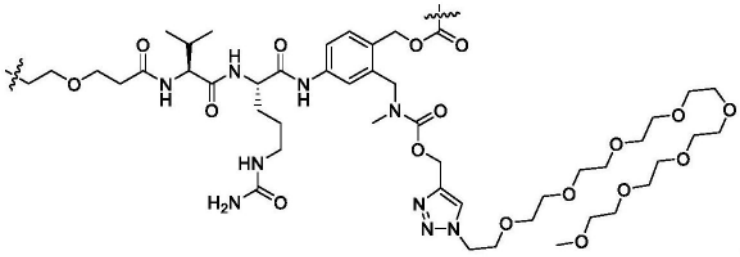
其中

[0663] Xb是-CH_2-、-OCH_2-、-$NHCH_2$-或-$NRCH_2$-并且每个R独立地是H、-CH_3或-CH_2CH_2C(=O)OH。

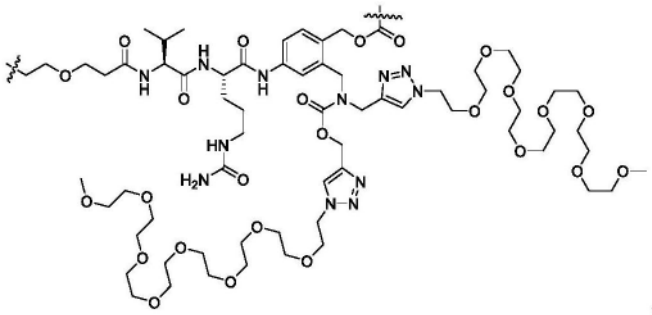
[0664] 实施例55.如实施例32至46中任一项所述的接头,其具有结构:

[0665] 

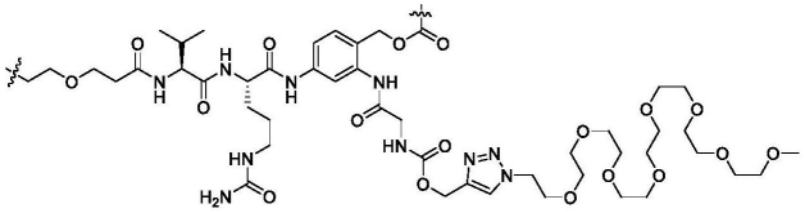
[0666] 实施例56.如实施例32至46中任一项所述的接头,其具有结构:

[0667] 

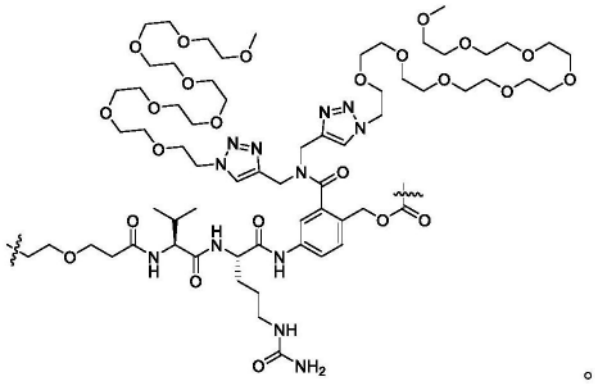
[0668] 实施例57.如实施例32至46中任一项所述的接头,其具有结构:

[0669] 

[0670] 实施例58.如实施例32至46中任一项所述的接头,其具有结构:

[0671] 

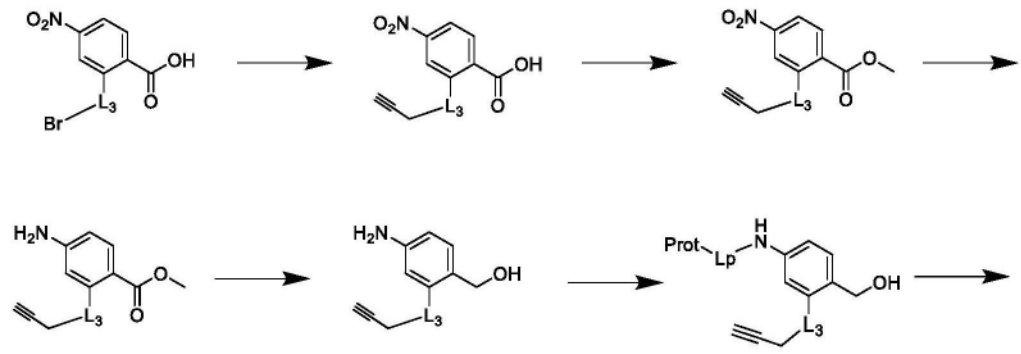
[0672] 实施例59.如实施例32至46中任一项所述的接头,其具有结构:

[0673] 

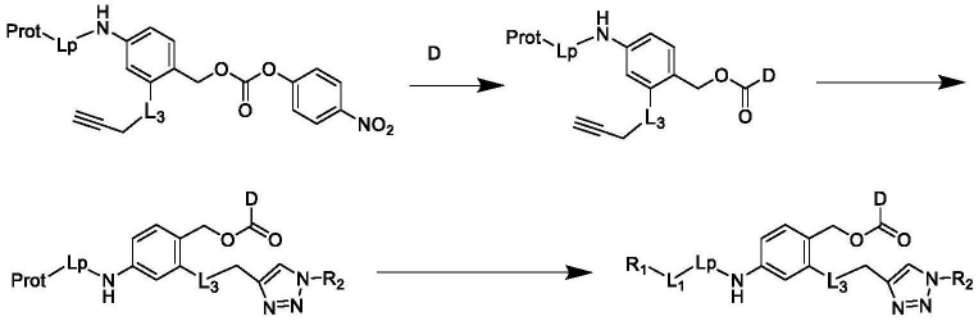
[0674] 为了说明的目的,本文所述的一般反应方案提供了合成本发明的化合物以及关键中间体的可能途径。有关各个反应步骤的更详细说明,参见下面的实例部分。尽管在方案中描述了具体的起始材料和试剂,并在下面进行了讨论,但是可以容易地替换其他起始材料和试剂以提供各种衍生物和/或反应条件。另外,根据本披露,可以使用本领域技术人员熟知的常规化学进一步修饰通过下述方法制备的许多化合物。

[0675] 举例来说,具有式(II)的化合物的一般合成在下面的方案1中示出。

[0676] 方案1



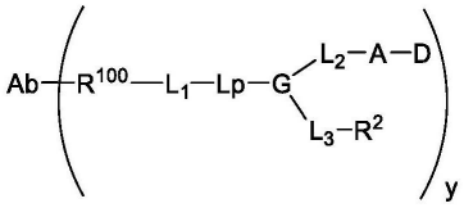
[0677]



[0678] 本发明的抗体药物缀合物

[0679] 本发明提供了抗体药物缀合物,在本文中也称为免疫缀合物,其包含含有一个或多个亲水性部分的接头。

[0680] 本发明的抗体药物缀合物具有式(III)的结构:

[0681] 

[0682] 式(III)

[0683] 其中：

[0684] Ab是抗体或其片段；

[0685] R^{100}是偶联基团；

[0686] L_1是桥联间隔子；

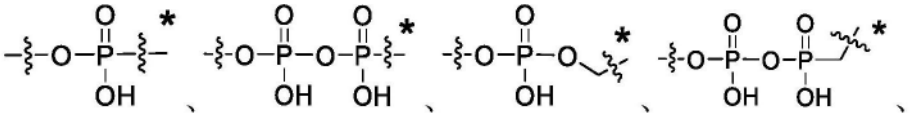
[0687] Lp是二价肽间隔子；

[0688] G-L_2-A是自杀式间隔子；

[0689] R^2是亲水性部分；

[0690] L_2是键、亚甲基、新亚戊基或C_2-C_3亚烯基；

[0691] A是键、-OC(=O)-*、



-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-*或-OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-*，其中每个R^a独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基并且所述A的*指示与D的附接点；

[0692] L_3是间隔子部分；

[0693] D是包含N或O的药物部分，其中D经由从A到所述药物部分的N或O的直接键连接至A，

[0694] 并且

[0695] y是1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15或16。

[0696] 本发明的抗体药物缀合物的某些方面及实例提供在下列枚举的实施例的列表中。应认识到，每个实施例中指定的特征可以与其他指定的特征组合以提供本发明的另外的实施例。

[0697] 实施例60.一种具有式(III)的免疫缀合物，其中：

[0698] Ab是抗体或其片段；

[0699] R^{100}是偶联基团；

[0700] L_1是桥联间隔子；

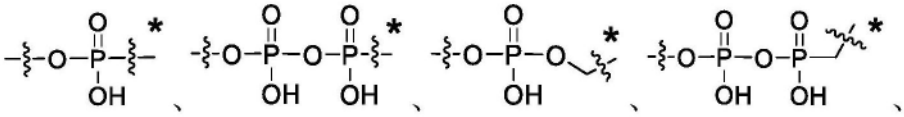
[0701] Lp是包含一个至四个氨基酸残基的二价肽间隔子；

[0702] G-L_2-A是自杀式间隔子；

[0703] R^2是亲水性部分；

[0704] L_2是键、亚甲基、新亚戊基或C_2-C_3亚烯基；

[0705] A是键、-OC(=O)-*、



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

[0706] L$_3$是间隔子部分;

[0707] D是包含N或O的药物部分,其中D经由从A到所述药物部分的N或O的直接键连接至A,

[0708] 并且

[0709] y是1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15或16。

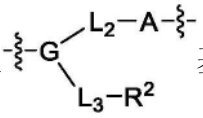
[0710] 实施例61.如实施例60所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中:

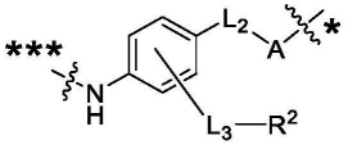
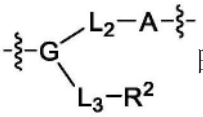
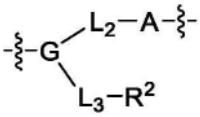
[0711] Ab是抗体或其片段;

[0712] R^{100}是偶联基团;

[0713] L$_1$是桥联间隔子;

[0714] Lp是包含一个至四个氨基酸残基的二价肽间隔子;

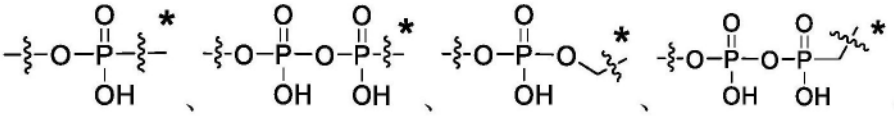
[0715] 所述基团选自:

[0716] ,其中的*指示与所述药物部分的N或O的附接点,的***指示与Lp的附接点;

[0717] R^{2}是亲水性部分;

[0718] L$_2$是键、亚甲基、新亚戊基或C$_2$-C$_3$亚烯基;

[0719] A是键、-OC(=O)-*、



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

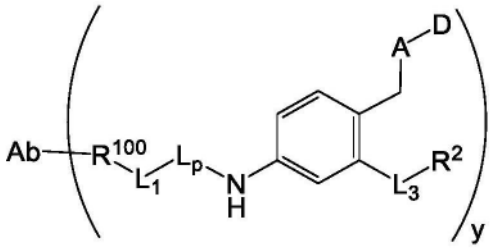
[0720] L$_3$是间隔子部分;

[0721] D是包含N或O的药物部分,其中D经由从A到所述药物部分的N或O的直接键连接至A,

[0722] 并且

[0723] y是1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15或16。

[0724] 实施例62.如实施例60至61中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其具有式(IV)的结构,

[0725] 

式(IV)

[0726] 其中：

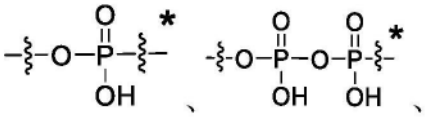
[0727] Ab是抗体或其片段；

[0728] R^{100}是偶联基团；

[0729] L_1是桥联间隔子；

[0730] Lp是包含一个至四个氨基酸残基的二价肽间隔子；

[0731] R^2是亲水性部分；

[0732] A是键、-OC(=O)-*、、-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-*或-OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-*，其中每个R^a独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基并且所述A的*指示与D的附接点；

[0733] L_3是间隔子部分；

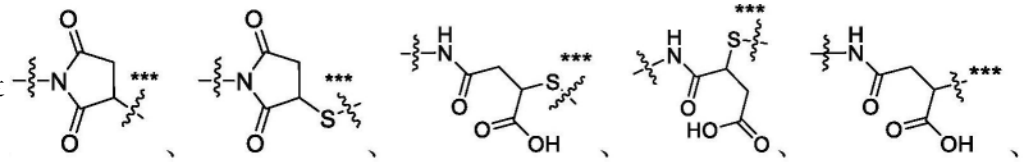
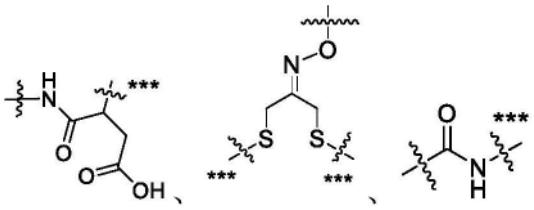
[0734] D是包含N或O的药物部分，其中D经由从A到所述药物部分的N或O的直接键连接至A，

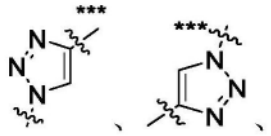
[0735] 并且

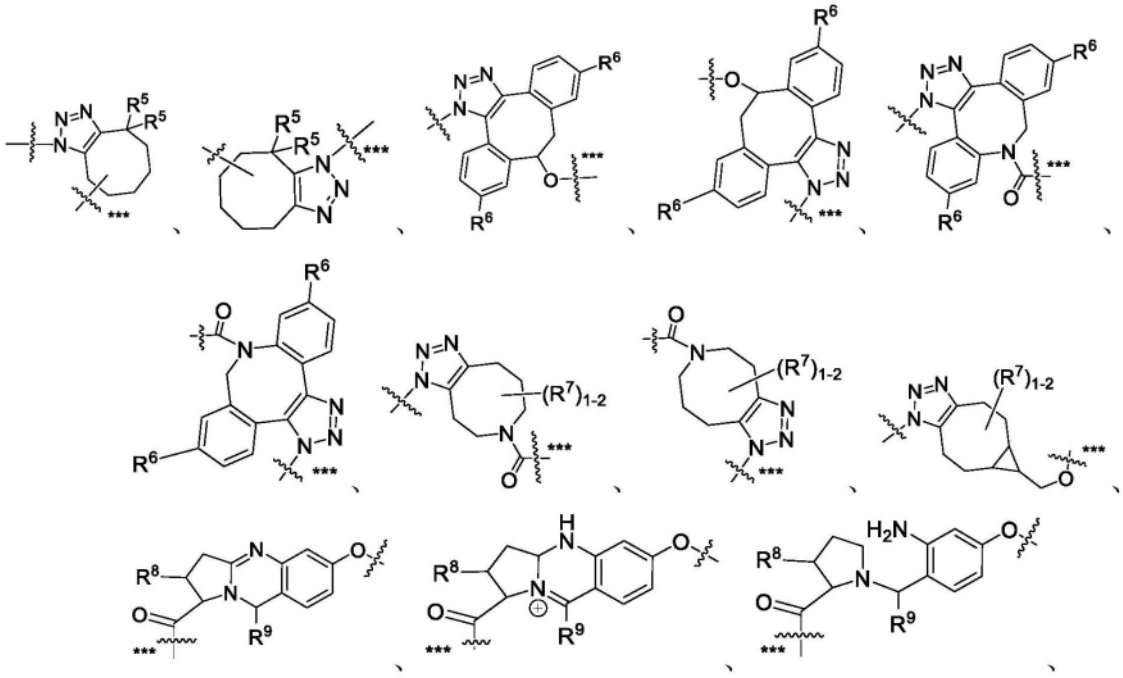
[0736] y是1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15或16。

[0737] 实施例63.如实施例60至62中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物，其中：

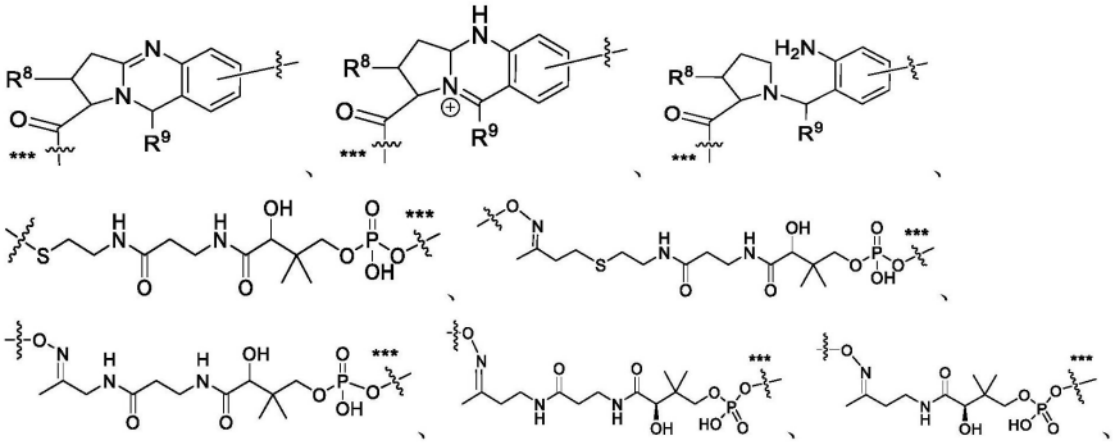
[0738] Ab是抗体或其片段；

[0739] R^{100}是、、-S-、-C(=O)-、-ON=***、-NHC(=O)CH_2-***、-S(=O)$_2CH_2CH_2$-***、-(CH_2)$_2$S(=O)$_2CH_2CH_2$-***、-NHS(=O)$_2CH_2CH_2$-***、

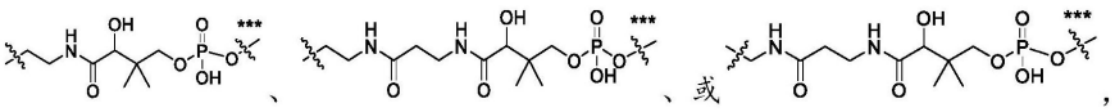
[0740] -NHC(=O)CH_2CH_2-***、-CH_2NHCH_2CH_2-***、-NHCH_2CH_2-***、、



[0741]



[0742]



其中所述R^{100}的***指示与Ab的附接点;

[0743] L_1是*-C(=O)$(CH_2)_m$O$(CH_2)_m$-**;*-C(=O)$((CH_2)_m O)_t(CH_2)_n$-**;*-C(=O)$(CH_2)_m$-**;

[0744] *-C(=O)NH$((CH_2)_m O)_t(CH_2)_n$-**;

[0745] *-C(=O)O$(CH_2)_m$SSC$(R^3)_2(CH_2)_m$C(=O)N$R^3(CH_2)_m$NR^3C(=O)$(CH_2)_m$-**;

[0746] *-C(=O)O$(CH_2)_m$C(=O)NH$(CH_2)_m$-**;*-C(=O)$(CH_2)_m$NH$(CH_2)_m$-**;

[0747] *-C(=O)$(CH_2)_m$NH$(CH_2)_n$C(=O)-**;*-C(=O)$(CH_2)_m X_1(CH_2)_m$-**;

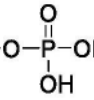
[0748] *-C(=O)$((CH_2)_m O)_t(CH_2)_n X_1(CH_2)_n$-**;*-C(=O)$(CH_2)_m$NHC(=O)$(CH_2)_n$-**;

[0749] *-C(=O)$((CH_2)_m O)_t(CH_2)_n$NHC(=O)$(CH_2)_n$-**;*-C(=O)$(CH_2)_m$NHC(=O)$(CH_2)_n X_1(CH_2)_n$-**;

[0750] *-C(=O)$((CH_2)_m O)_t(CH_2)_n$NHC(=O)$(CH_2)_n X_1(CH_2)_n$-**;

[0751] *-C(=O)$((CH_2)_m O)_t(CH_2)_n$C(=O)NH$(CH_2)_m$-**;*-C(=O)$(CH_2)_m C(R^3)_2$-**或

[0752] *-C(=O)$(CH_2)_m$C(=O)NH$(CH_2)_m$-**,其中所述L_1的*指示与Lp的附接点,并且所述L_1的**指示与R^{100}的附接点;

[0753] R^2是选自聚乙二醇、聚亚烷基二醇、糖、寡糖、多肽、被1至3个基团取代的C_2-C_6烷基、和聚肌氨酸的亲水性部分;

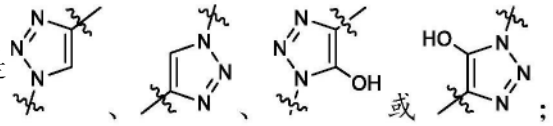
[0754] 每个R^3独立地选自H和C_1-C_6烷基;

[0755] R^4是2-吡啶基或4-吡啶基;

[0756] 每个R^5独立地选自H、C_1-C_6烷基、F、Cl、和-OH;

[0757] 每个R^6独立地选自H、C_1-C_6烷基、F、Cl、-NH_2、-OCH_3、-OCH_2CH_3、-$N(CH_3)_2$、-CN、-NO_2和-OH;

[0758] 每个R^7独立地选自H、C_{1-6}烷基、氟、被-C(=O)OH取代的苄氧基、被-C(=O)OH取代的苄基、被-C(=O)OH取代的C_{1-4}烷氧基和被-C(=O)OH取代的C_{1-4}烷基;

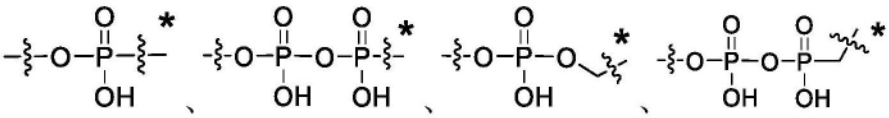
[0759] X_1是;

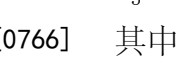
[0760] 每个m独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10;

[0761] 每个n独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10;

[0762] 每个t独立地选自6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29和30;

[0763] Lp是包含氨基酸残基的二价肽间隔子,所述氨基酸残基选自缬氨酸、瓜氨酸、赖氨酸、异亮氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸、天冬酰胺、脯氨酸、丙氨酸、亮氨酸、色氨酸、和酪氨酸;

[0764] A是键、-OC(=O)-*、-OC(=O)N$(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)$C(=O)-*或-OC(=O)N(CH_3)C$(R^a)_2$C$(R^a)_2$N(CH_3)C(=O)-*,其中每个R^a独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基并且所述A的*指示与D的附接点;

[0765] L_3是具有结构的间隔子部分,

[0766] 其中

[0767] (i)W是-CH_2O-**、-CH_2N(R^b)C(=O)O-**、-NHC(=O)C$(R^b)_2$NHC(=O)O-**、-NHC(=O)C$(R^b)_2$NH-**、NHC(=O)C$(R^b)_2$NHC(=O)-**、-CH_2N(X-R^2)C(=O)O-**、-C(=O)N(X-R^2)-**、-CH_2N(X-R^2)C(=O)-**、-C(=O)NR^b-**、-C(=O)NH-**、-CH_2NR^bC(=O)-**、-CH_2NR^bC(=O)NH-**、-CH_2NR^bC(=O)NR^b-**、-NHC(=O)-**、-NHC(=O)O-**、-NHC(=O)NH-**、-OC(=O)NH-**、-S$(O)_2$NH-**、-NHS$(O)_2$-**、-C(=O)-、-C(=O)O-**、-NH-、或-CH_2N(R^b)C(=O)CH_2-**,其中每个R^b独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基并且其中所述W的**指示与X的附接点;

[0768] X是键、三唑基或***-CH_2-三唑基-*,其中所述X的***指示与W的附接点并且所述X的*指示与R^2的附接点;或

[0769] (ii)W是-CH_2O-**、-$CH_2N(R^b)C(=O)O$-**、-$NHC(=O)C(R^b)_2NHC(=O)O$-**、-$NHC(=O)C(R^b)_2NH$-**、$NHC(=O)C(R^b)_2NHC(=O)$-**、-$CH_2N(X-R^2)C(=O)O$-**、-$C(=O)N(X-R^2)$-**、-$CH_2N(X-R^2)C(=O)$-**、-$C(=O)NR^b$-**、-$C(=O)NH$-**、-$CH_2NR^bC(=O)$-**、-$CH_2NR^bC(=O)NH$-**、-$CH_2NR^bC(=O)NR^b$-**、-$NHC(=O)$-**、-$NHC(=O)O$-**、-$NHC(=O)NH$-**、-$OC(=O)NH$-**、-$S(O)_2NH$-**、-$NHS(O)_2$-**、-$C(=O)$-、-$C(=O)O$-**或-NH-,其中每个R^b独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基并且其中所述W的**指示与X的附接点;

[0770] X是***-CH_2-三唑基-C_{1-4}亚烷基-OC(O)NHS(O)$_2$NH-*、***-C_{4-6}亚环烷基-OC(O)NHS(O)$_2$NH-*、***-$(CH_2CH_2O)_n$-C(O)NHS(O)$_2$NH-*、

[0771] ***-$(CH_2CH_2O)_n$-C(O)NHS(O)$_2$NH-$(CH_2CH_2O)_n$-*、或***-CH_2-三唑基-C_{1-4}亚烷基-OC(O)NHS(O)$_2$NH-$(CH_2CH_2O)_n$-*,其中每个n独立地是1、2、或3,所述X的***指示与W的附接点并且所述X的*指示与R^2的附接点;

[0772] 并且

[0773] 所述L_3的*指示与R^2的附接点;

[0774] D是包含N或O的药物部分,其中D经由从A到所述药物部分的N或O的直接键连接至A,

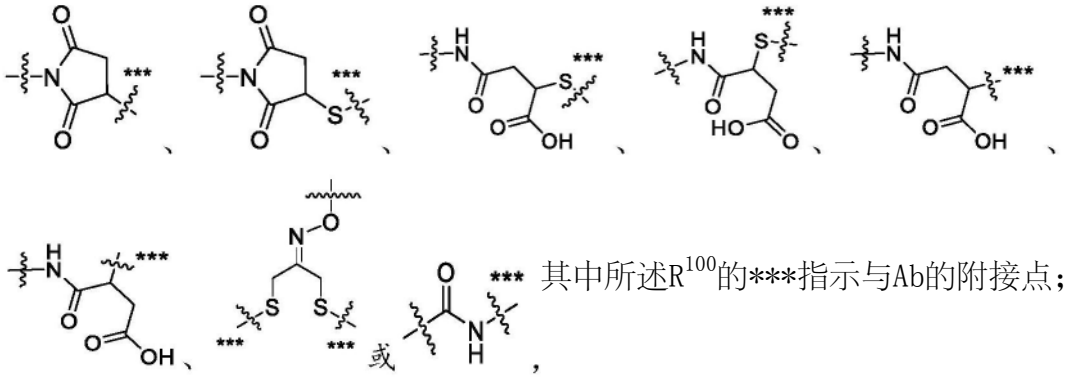
[0775] 并且

[0776] y是1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15或16。

[0777] 实施例64.如实施例60至63中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中:

[0778] Ab是抗体或其片段;

[0779] R^{100}是



其中所述R^{100}的***指示与Ab的附接点;

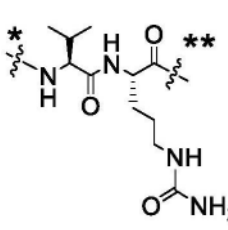
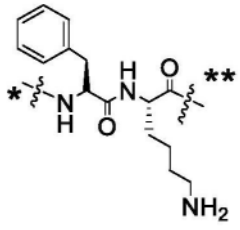
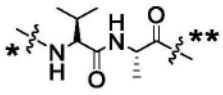
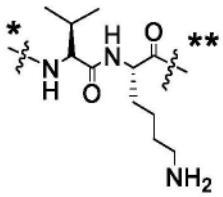
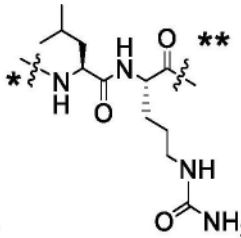
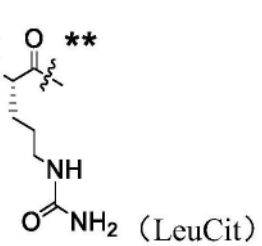
[0780] L_1是*-$C(=O)(CH_2)_mO(CH_2)_m$-**;*-$C(=O)((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$-**;*-$C(=O)(CH_2)_m$-**;或*-C(=O)NH$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$-,其中所述$L_1$的*指示与Lp的附接点,并且所述$L_1$的**指示与$R^{100}$的附接点;

[0781] 每个m独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10;

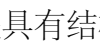
[0782] 每个n独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10;

[0783] 每个t独立地选自6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29和30;

[0784] Lp是选自


（ValCit）、
（PheLys）、

（ValAla）、
（ValLys）和
（LeuCit）的二价肽间隔子，

其中所述Lp的*指示与L_1的附接点并且所述Lp的**指示与G的-NH-基团的附接点；

[0785] L_3是具有结构的间隔子部分，

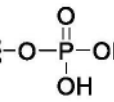
[0786] 其中

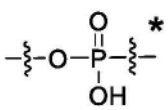
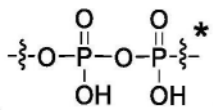
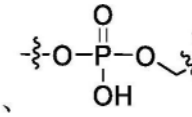
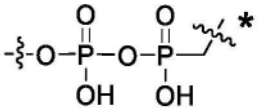
[0787] W是-CH_2O-**、-$CH_2N(R^b)C(=O)O$-**、-$NHC(=O)CH_2NHC(=O)O$-**、-$CH_2N(X-R^2)C(=O)O$-**、-$C(=O)N(X-R^2)$-**、-$CH_2N(X-R^2)C(=O)$-**、-$C(=O)NR^b$-**、-$C(=O)NH$-**、-$CH_2NR^bC(=O)$-**、-$CH_2NR^bC(=O)NH$-**、-$CH_2NR^bC(=O)NR^b$-**、-$NHC(=O)$-**、-$NHC(=O)O$-**、-$NHC(=O)NH$-**、-$OC(=O)NH$-**、-$S(O)_2NH$-**、-$NHS(O)_2$-**、-$C(=O)$-、-$C(=O)O$-**或-NH-，其中每个R^b独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基并且其中所述W的**指示与X的附接点；

[0788] X是键、三唑基或***-CH2-三唑基-*，其中所述X的***指示与W的附接点并且所述X的*指示与R^2的附接点；

[0789] 并且

[0790] 所述L_3的*指示与R^2的附接点；

[0791] R^2是选自聚乙二醇、聚亚烷基二醇、糖、寡糖、多肽、被1至3个基团取代的C_2-C_6烷基、和聚肌氨酸的亲水性部分；

[0792] A是键、-$OC(=O)$-*、、、、、-$OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)$-*或-$OC(=O)N(CH_3)C(R^a)_2C(R^a)_2N(CH_3)C(=O)$-*，其中每个$R^a$独立地选自H、$C_1$-$C_6$烷基或$C_3$-$C_8$环烷基并且所述A的*指示与D的附接点；

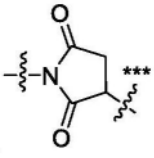
[0793] D是包含N或O的药物部分，其中D经由从A到所述药物部分的N或O的直接键连接至A，

[0794] 并且

[0795] y是1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15或16。

[0796] 实施例65.如实施例60至64中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物，其中：

[0797] Ab是抗体或其片段；

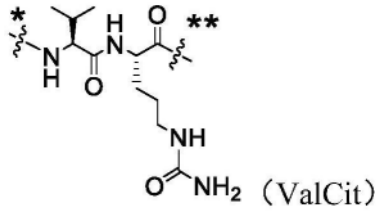
[0798] R^{100}是 其中所述R^{100}的***指示与Ab的附接点；

[0799] L_1是*-C(=O)$(CH_2)_m$O$(CH_2)_m$-**；*-C(=O)$((CH_2)_m O)_t(CH_2)_n$-**；*-C(=O)$(CH_2)_m$-**；或*-C(=O)NH$((CH_2)_m O)_t(CH_2)_n$-，其中所述L_1的*指示与Lp的附接点，并且所述L_1的**指示与R^{100}的附接点；

[0800] 每个m独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10；

[0801] 每个n独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10；

[0802] 每个t独立地选自6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29和30；

[0803] Lp是选自（ValCit）的二价肽间隔子，其中所述Lp的*指示与L_1的附接点并且所述Lp的**指示与G的-NH-基团的附接点；

[0804] L_3是具有结构-W-X-*的间隔子部分，

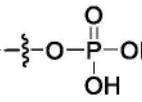
[0805] 其中

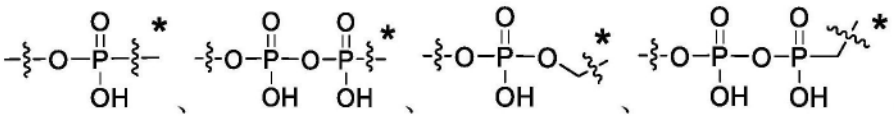
[0806] W是-CH_2O-**、-CH_2N(R^b)C(=O)O-**、-NHC(=O)CH_2NHC(=O)O-**、-CH_2N(X-R^2)C(=O)O-**、-C(=O)N(X-R^2)-**、-CH_2N(X-R^2)C(=O)-**、-C(=O)NR^b-**、-C(=O)NH-**、-CH_2NR^bC(=O)-**、-CH_2NR^bC(=O)NH-**、-CH_2NR^bC(=O)NR^b-**、-NHC(=O)-**、-NHC(=O)O-**、-NHC(=O)NH-**、-OC(=O)NH-**、-S(O)$_2$NH-**、-NHS(O)$_2$-**、-C(=O)-、-C(=O)O-**或-NH-，其中每个R^b独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基并且其中所述W的**指示与X的附接点；

[0807] X是键、三唑基或***-CH2-三唑基-*，其中所述X的***指示与W的附接点并且所述X的*指示与R^2的附接点；

[0808] 并且

[0809] 所述L_3的*指示与R^2的附接点；

[0810] R^2是选自聚乙二醇、聚亚烷基二醇、糖、寡糖、多肽或被1至3个基团取代的C_2-C_6烷基、和聚肌氨酸的亲水性部分；

[0811] A是键、-OC(=O)-*、-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-*或-OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-*，其中每个R^a独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基并且所述A的*指示与D的附接点；

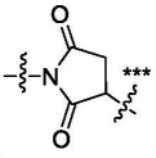
[0812] D是包含N或O的药物部分,其中D经由从A到所述药物部分的N或O的直接键连接至A,

[0813] 并且

[0814] y是1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15或16。

[0815] 实施例66.如实施例60至65中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中:

[0816] Ab是抗体或其片段;

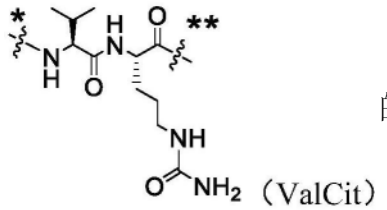
[0817] R^{100}是 其中所述R^{100}的***指示与Ab的附接点;

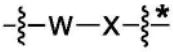
[0818] L_1是*-C(=O)$(CH_2)_m$O$(CH_2)_m$-**;*-C(=O)$((CH_2)_m O)_t(CH_2)_n$-**;*-C(=O)$(CH_2)_m$-**;或*-C(=O)NH$((CH_2)_m O)_t(CH_2)_n$-,其中所述L_1的*指示与Lp的附接点并且所述L_1的**指示与R^{100}的附接点;

[0819] 每个m独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10;

[0820] 每个n独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10;

[0821] 每个t独立地选自6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29和30;

[0822] Lp是选自
(ValCit)
的二价肽间隔子,其中所述Lp的*指示与L_1的附接点并且所述Lp的**指示与G的-NH-基团的附接点;

[0823] L_3是具有结构的间隔子部分,

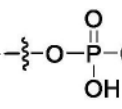
[0824] 其中

[0825] W是-CH_2O-**、-CH_2N(R^b)C(=O)O-**、-NHC(=O)CH_2NHC(=O)O-**、-CH_2N(X-R^2)C(=O)O-**、-C(=O)N(X-R^2)-**、-C(=O)NR^b-**、-C(=O)NH-**、-CH_2NR^bC(=O)-**、-CH_2NR^bC(=O)NH-**、-CH_2NR^bC(=O)NR^b-**、-NHC(=O)-**、-NHC(=O)O-**、或-NHC(=O)NH-**,其中每个R^b独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基并且其中所述W的**指示与X的附接点;

[0826] X是键、三唑基或***-CH2-三唑基-*,其中所述X的***指示与W的附接点并且所述X的*指示与R^2的附接点;

[0827] 并且

[0828] 所述L_3的*指示与R^2的附接点;

[0829] R^2是选自聚乙二醇、聚亚烷基二醇、糖、寡糖、多肽、被1至3个基团取代的C_2-C_6烷基、和聚肌氨酸的亲水性部分;

[0830] A是键或-OC(=O)*,其中*指示与D的附接点;

[0831] D是包含N或O的药物部分,其中D经由从A到所述药物部分的N或O的直接键连接至

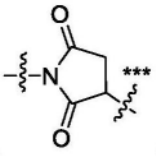
A，

[0832] 并且

[0833] y是1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15或16。

[0834] 实施例67.如实施例60至66中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物，其中：

[0835] Ab是抗体或其片段；

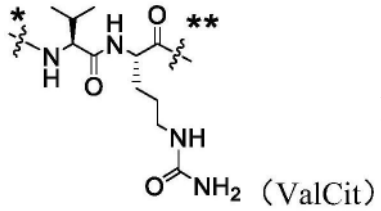
[0836] R^{100}是 其中所述R^{100}的***指示与Ab的附接点；

[0837] L_1是*-C(=O)$(CH_2)_m$O$(CH_2)_m$-**;*-C(=O)$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$-**;*-C(=O)$(CH_2)_m$-**;或*-C(=O)NH$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$-，其中所述L_1的*指示与Lp的附接点并且所述L_1的**指示与R^{100}的附接点；

[0838] 每个m独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10；

[0839] 每个n独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10；

[0840] 每个t独立地选自6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29和30；

[0841] Lp是选自

的二价肽间隔子，其中所述Lp的*指示与L_1的附接点并且所述Lp的**指示与G的-NH-基团的附接点；

[0842] L_3是具有结构的间隔子部分，

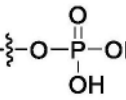
[0843] 其中

[0844] W是-CH_2O-**、-CH_2N(R^b)C(=O)O-**、-NHC(=O)CH_2NHC(=O)O-**、-CH_2N(X-R^2)C(=O)O-**、或-C(=O)N(X-R^2)-**，其中每个R^b独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基并且其中所述W的**指示与X的附接点；

[0845] X是***-CH_2-三唑基-*，其中所述X的***指示与W的附接点并且所述X的*指示与R^2的附接点；

[0846] 并且

[0847] 所述L_3的*指示与R^2的附接点；

[0848] R^2是选自聚乙二醇、聚亚烷基二醇、糖、寡糖、多肽、被1至3个基团取代的C_2-C_6烷基、和聚肌氨酸的亲水性部分；

[0849] A是键或-OC(=O)*，其中*指示与D的附接点；

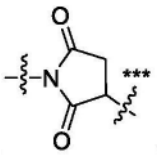
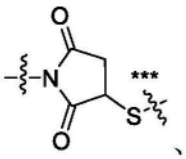
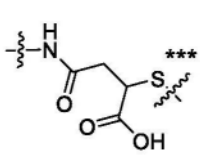
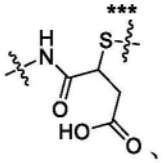
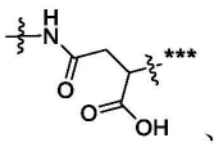
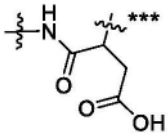
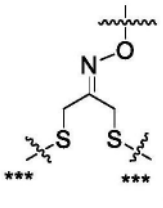
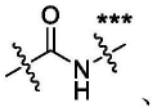
[0850] D是包含N或O的药物部分，其中D经由从A到所述药物部分的N或O的直接键连接至A，

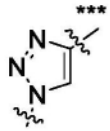
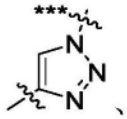
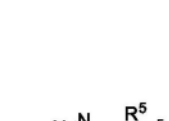
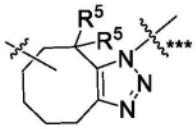
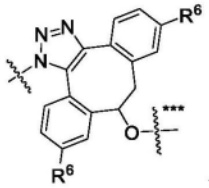
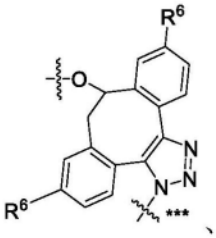
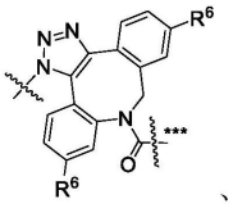
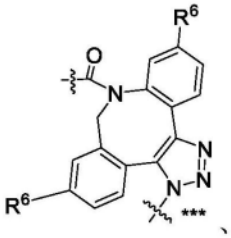
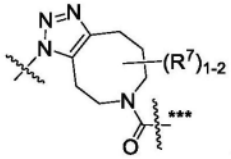
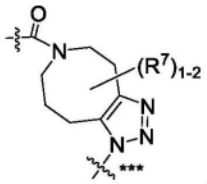
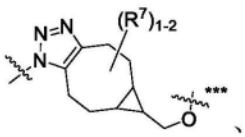
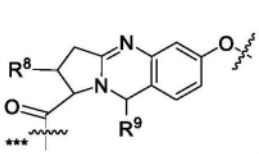
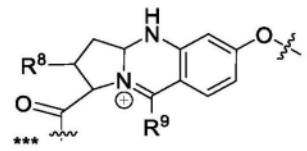
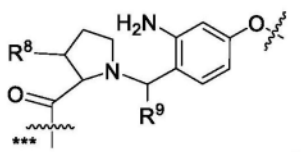
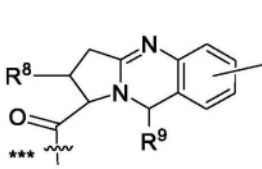
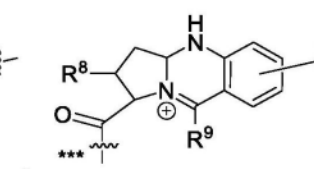
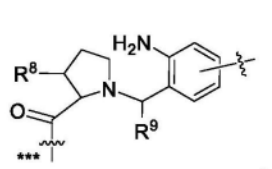
[0851] 并且

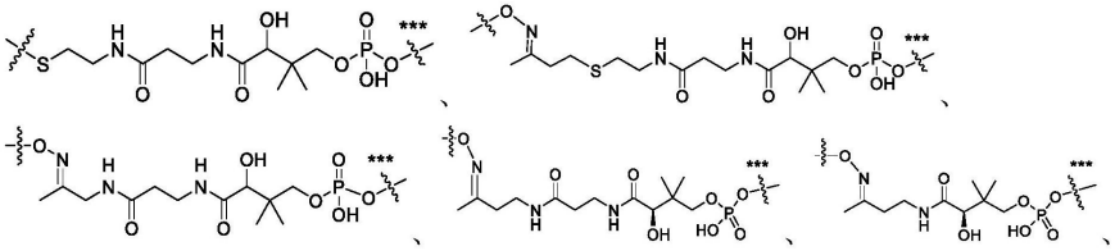
[0852] y是1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15或16。

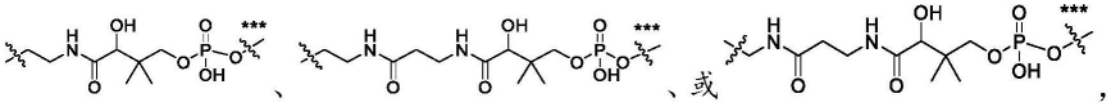
[0853] 实施例68.如实施例60至62中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中R^{100}是偶联基团。

[0854] 实施例69.如实施例60至63中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中

[0855] R^{100}是、、、、、、、、-S-、-C(=O)-、-ON=***、-NHC(=O)CH_2-***、-S(=O)$_2CH_2CH_2$-***、-$(CH_2)_2$S(=O)$_2CH_2CH_2$-***、-NHS(=O)$_2CH_2CH_2$-***、

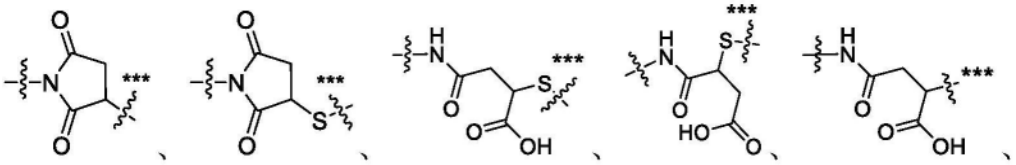
[0856] -NHC(=O)CH_2CH_2-***、-$CH_2NHCH_2CH_2$-***、-$NHCH_2CH_2$-***、、、、、、、、、、、、、、、、、

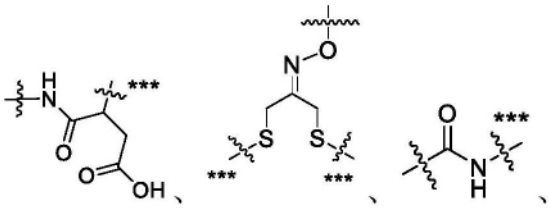
[0857] 

[0858] 

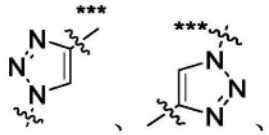
其中R^{100}的***指示与Ab的附接点。

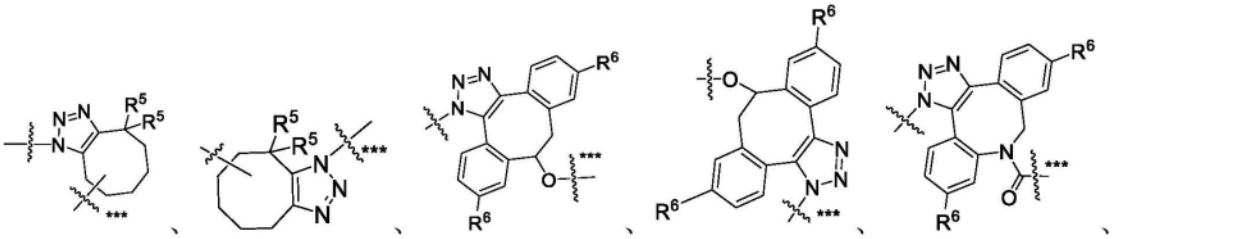
[0859] 实施例70.如实施例60至63中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中

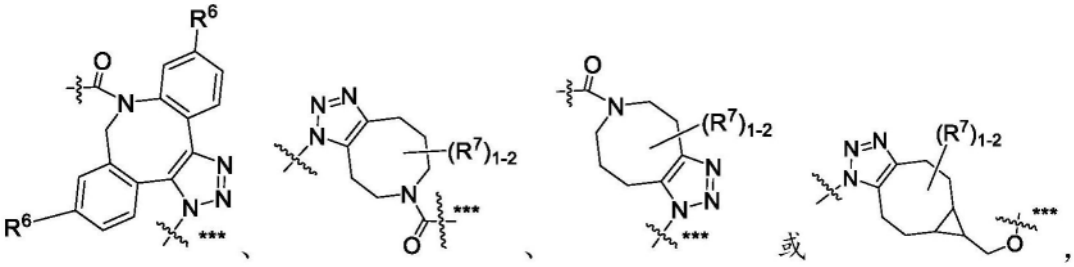
[0860] R^{100}是



-S-、-C(=O)-、-ON=***、-NHC(=O)CH_2-***、-S(=O)$_2CH_2CH_2$-***、-$(CH_2)_2$S(=O)$_2CH_2CH_2$-***、-NHS(=O)$_2CH_2CH_2$-***、

[0861] -NHC(=O)CH_2CH_2-***、-$CH_2NHCH_2CH_2$-***、-$NHCH_2CH_2$-***、

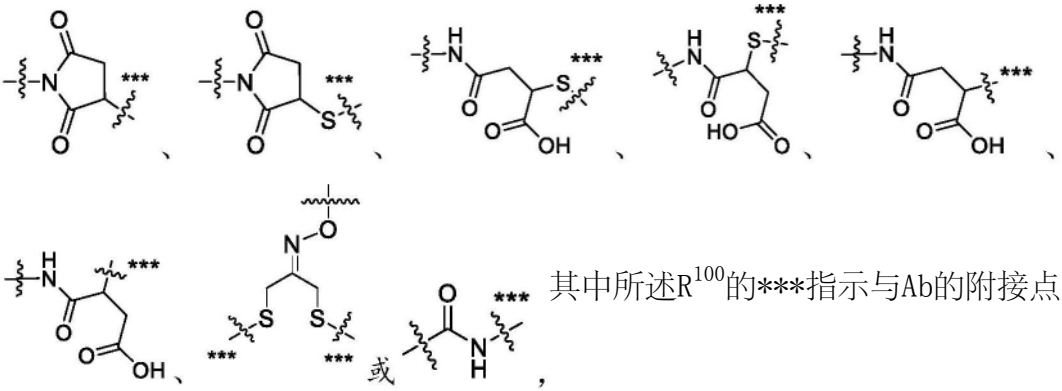


[0862] 

其中R^{100}的***指示与Ab的附接点。

[0863] 实施例71.如实施例60至63中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中

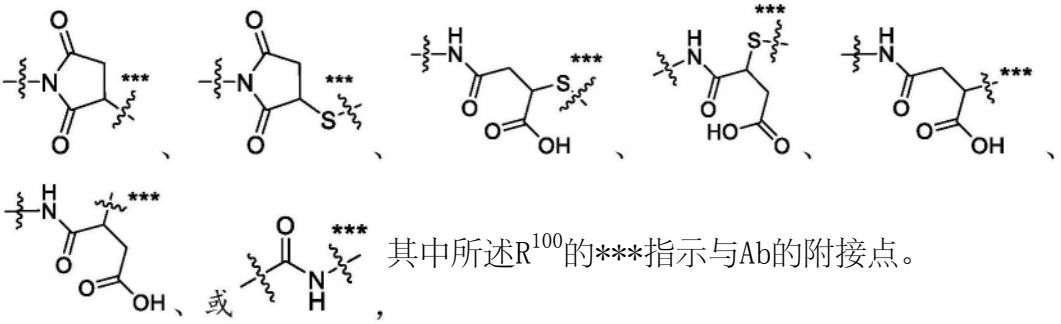
[0864] R^{100}是



其中所述R^{100}的***指示与Ab的附接点。

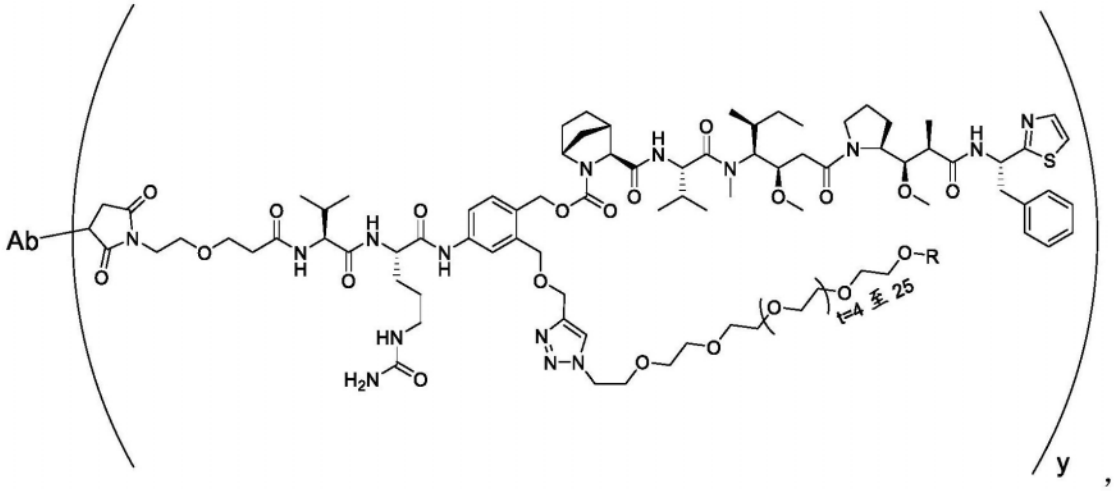
[0865] 实施例72.如实施例60至63中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中

[0866] R^{100}是



其中所述R^{100}的***指示与Ab的附接点。

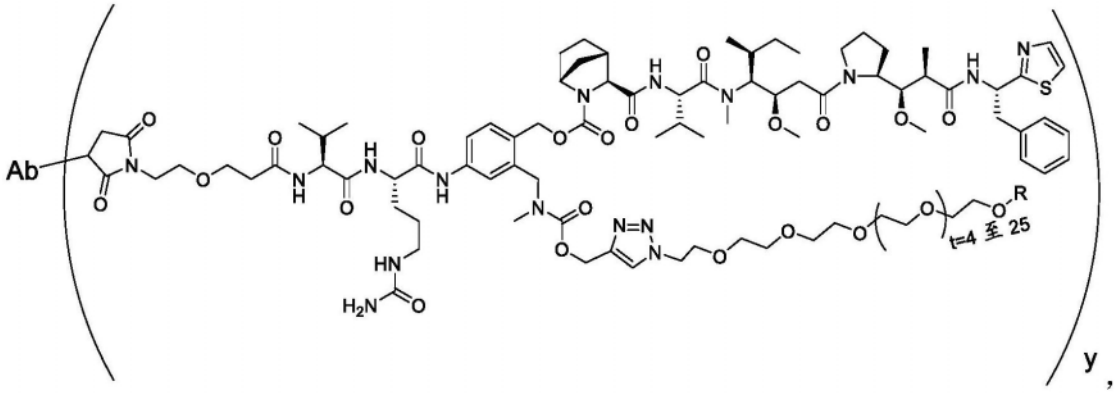
[0867] 实施例73.如实施例60至72中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其具有结构:

[0868] 

其中

[0869] R是H、-CH_3或-CH_2CH_2C(=O)OH并且y是1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15或16。

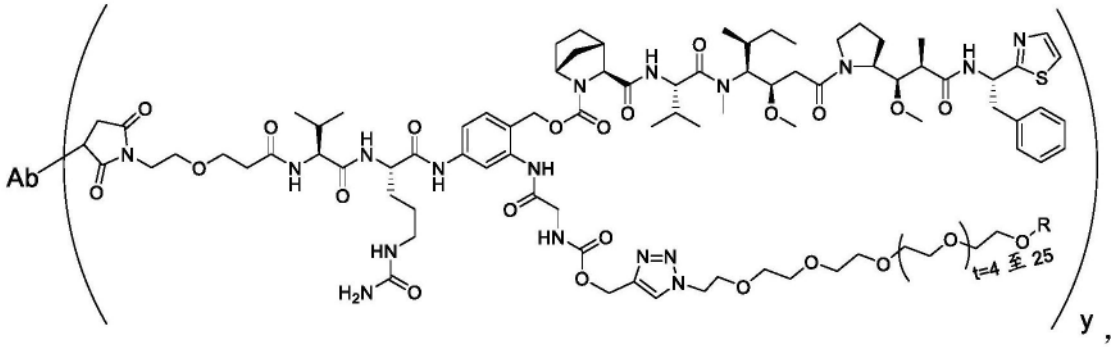
[0870] 实施例74.如实施例60至72中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其具有结构:

[0871] 

其中

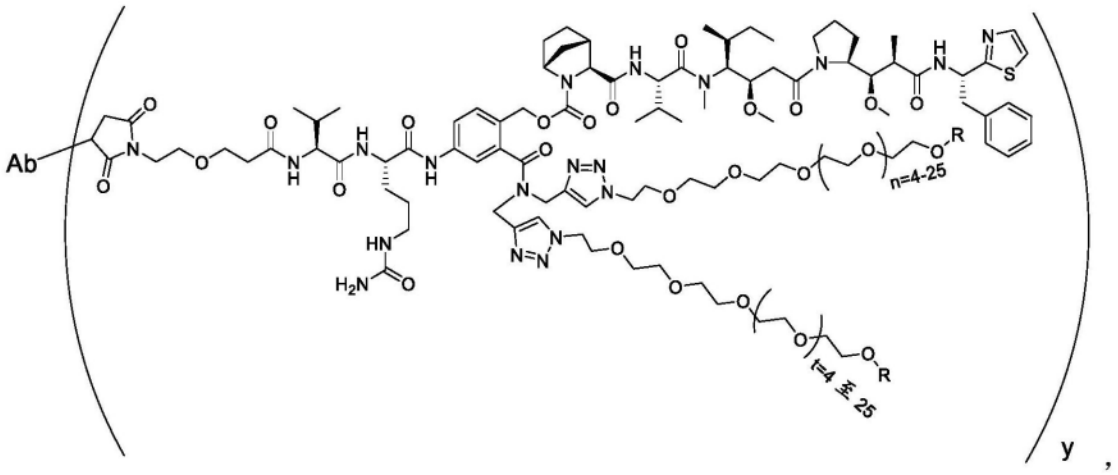
[0872] R是H、-CH_3或-CH_2CH_2C(=O)OH并且y是1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15或16。

[0873] 实施例75.如实施例60至72中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其具有结构:

[0874] 

其中R是H、-CH_3或-CH_2CH_2C(=O)OH并且y是1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15或16。

[0875] 实施例76.如实施例60至72中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其具有结构:

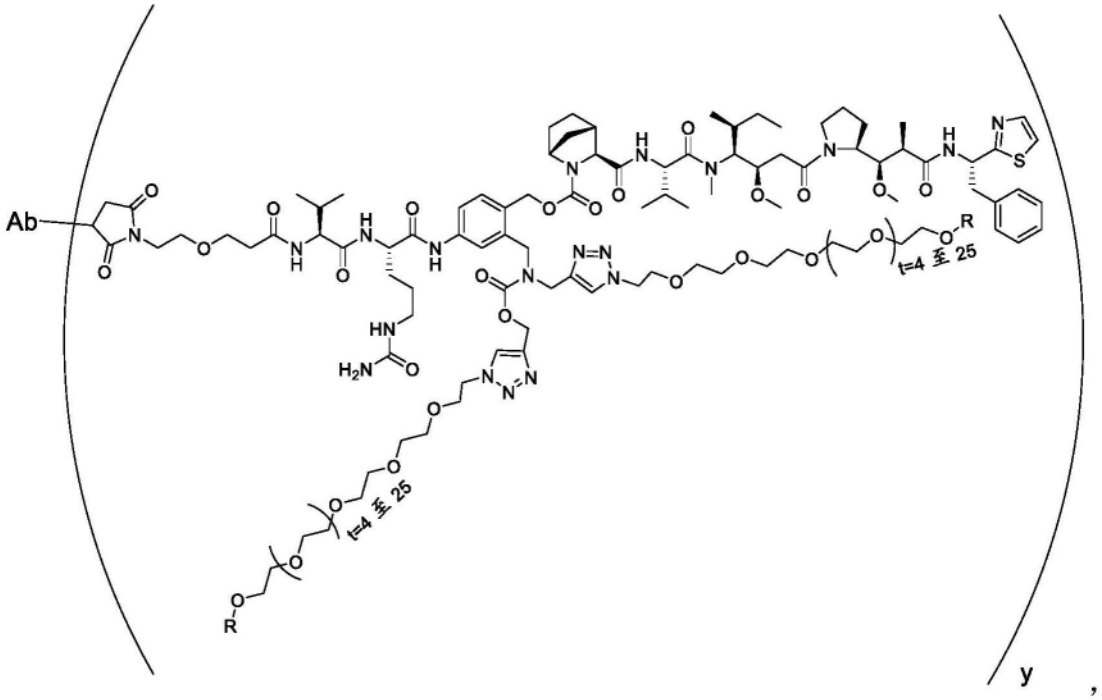
[0876] 

[0877] 其中

[0878] 每个R独立地选自H、-CH_3或-CH_2CH_2C(=O)OH并且y是1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15或16。

[0879] 实施例77.如实施例60至72中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其具有结

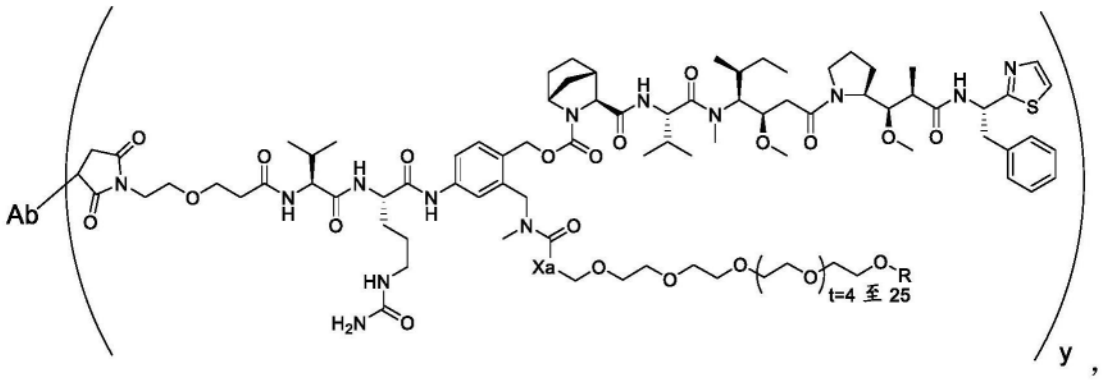
构：

[0880] 

其中

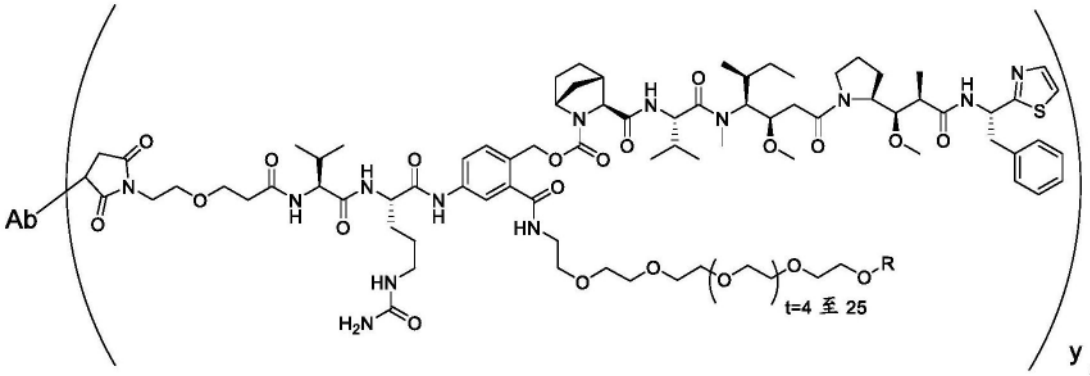
[0881] 每个R独立地选自H、-CH_3或-CH_2CH_2C(=O)OH并且y是1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15或16。

[0882] 实施例78.如实施例60至72中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其具有结构：

[0883] 

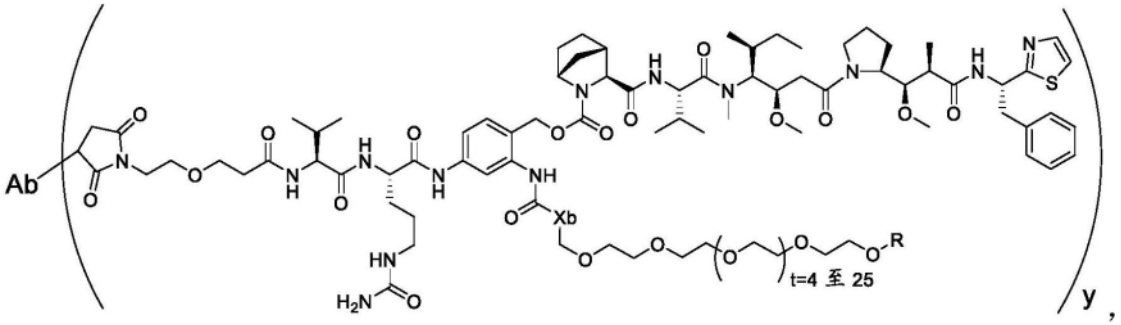
其中Xa是-CH_2-、-OCH_2-、-$NHCH_2$-或-$NRCH_2$-并且每个R独立地是H、-CH_3或-CH_2CH_2C(=O)OH并且y是1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15或16。

[0884] 实施例79.如实施例60至72中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其具有结构：

[0885] 

其中R是H、-CH_3或-CH_2CH_2C(=O)OH并且y是1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15或16。

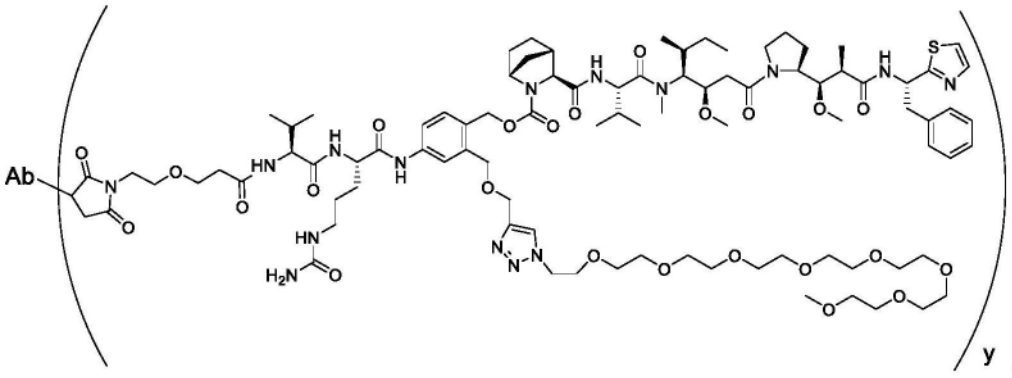
[0886] 实施例80.如实施例60至72中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其具有结构:

[0887] 

其中

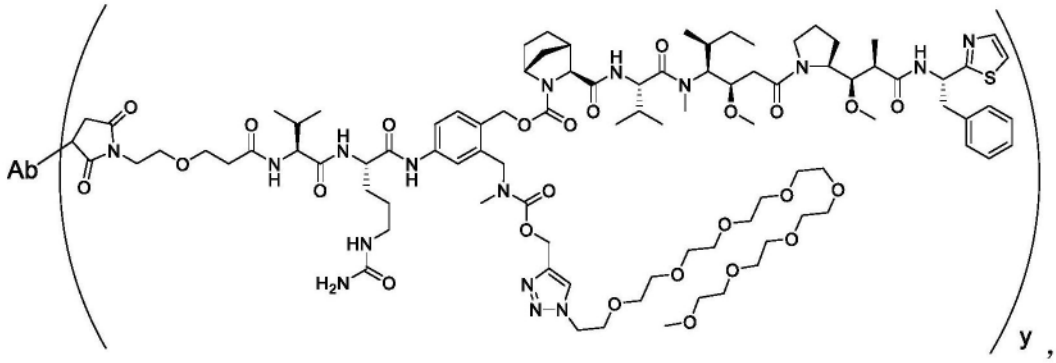
[0888] Xb是-CH_2-、-OCH_2-、-$NHCH_2$-或-$NRCH_2$-并且每个R独立地是H、-CH_3或-CH_2CH_2C(=O)OH并且y是1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15或16。

[0889] 实施例81.如实施例60至72中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其具有结构:

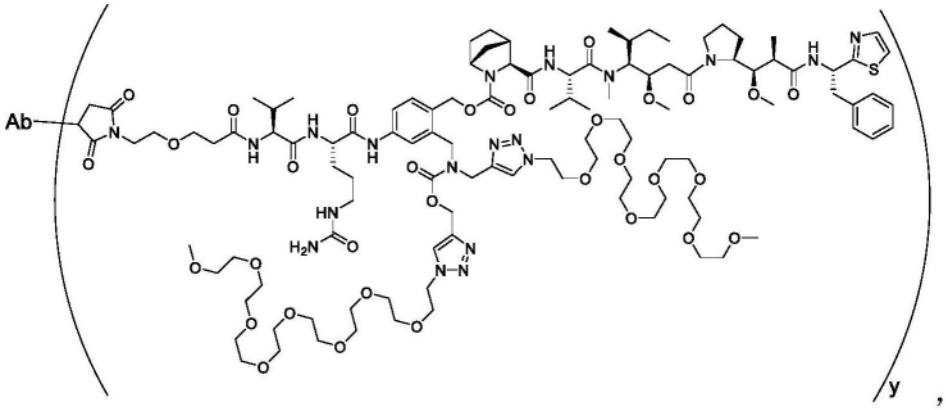
[0890] 

其中y是1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15或16。

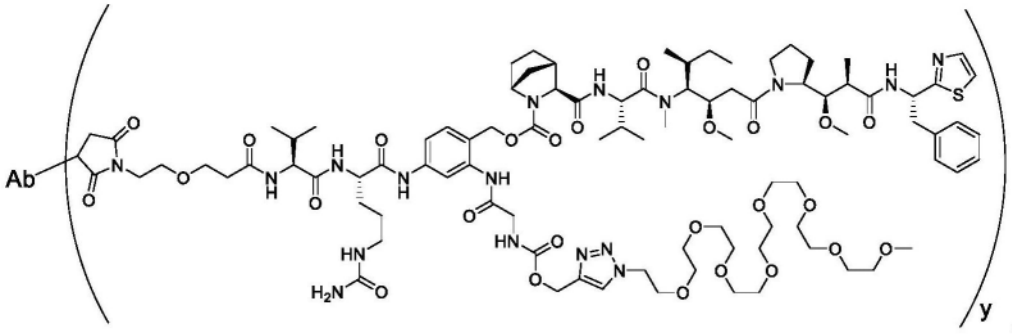
[0891] 实施例82.如实施例60至72中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其具有结

构：其中y是1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15或16。

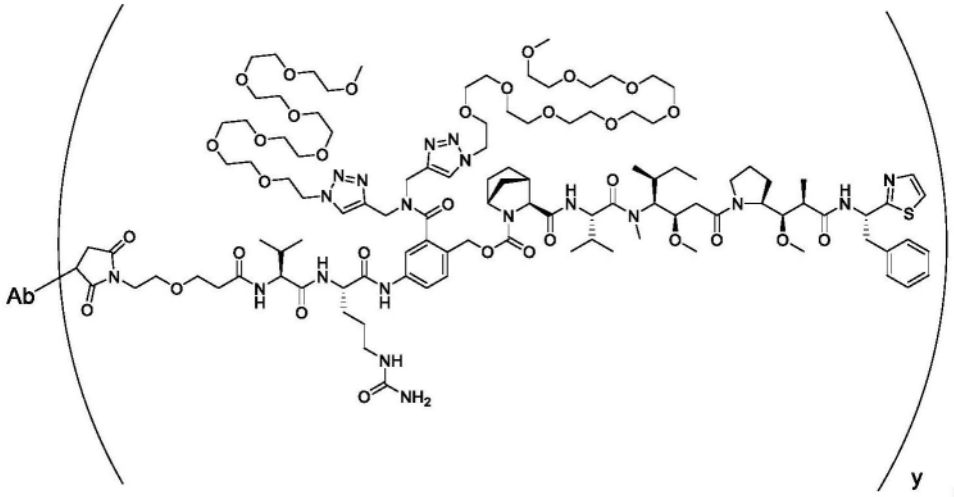
[0892] 实施例83.如实施例60至72中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其具有结构：

[0893] 其中y是1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15或16。

[0894] 实施例84.如实施例60至72中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其具有结构：

[0895] 其中y是1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15或16。

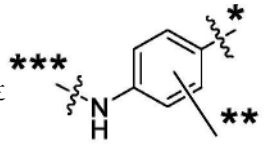
[0896] 实施例85.如实施例60至72中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其具有结构：

[0897] 

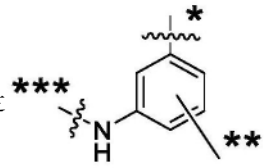
，其中y是1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15或16。

[0898] 本发明的接头-药物基团、接头和抗体药物缀合物的某些方面及实例提供在下列另外枚举的实施例的列表中。应认识到，每个实施例中指定的特征可以与其他指定的特征组合以提供本发明的另外的实施例。

[0899] 实施例86.如实施例1至2中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、如实施例32至39中任一项所述的具有式(V)的接头、和如实施例60至61中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物，其中：

[0900] G是
，其中所述G的*指示与L_2的附接点，并且所述G的**指示与L_3的附接点，并且所述G的***指示与Lp的附接点。

[0901] 实施例87.如实施例1至2中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、如实施例32至39中任一项所述的具有式(V)的接头、和如实施例60至61中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物，其中：

[0902] G是
，其中所述G的*指示与L_2的附接点，并且所述G的**指示与L_3的附接点，并且所述G的***指示与Lp的附接点。

[0903] 实施例88.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、如实施例32至46中任一项所述的具有式(V)的接头、和如实施例60至72中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物，其中：

[0904] L_1是*-C(=O)$(CH_2)_m$O$(CH_2)_m$-**;*-C(=O)$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$-**;*-C(=O)$(CH_2)_m$-**;

[0905] *-C(=O)NH$((CH_2)_mO)_t(CH_2)_n$-**;

[0906] *-C(=O)O$(CH_2)_m$SSC$(R^3)_2(CH_2)_m$C(=O)N$R^3(CH_2)_m$NR^3C(=O)$(CH_2)_m$-**;

[0907] *-C(=O)O$(CH_2)_m$C(=O)NH$(CH_2)_m$-**;*-C(=O)$(CH_2)_m$NH$(CH_2)_m$-**;

[0908] *-C(=O)$(CH_2)_m$NH$(CH_2)_n$C(=O)-**;*-C(=O)$(CH_2)_m$$X_1$$(CH_2)_m$-**;

[0909] *-C(=O)$((CH_2)_m O)_t(CH_2)_n X_1(CH_2)_n$-**;*-C(=O)$(CH_2)_m$NHC(=O)$(CH_2)_n$-**;

[0910] *-C(=O)$((CH_2)_m O)_t(CH_2)_n$NHC(=O)$(CH_2)_n$-**;*-C(=O)$(CH_2)_m$NHC(=O)$(CH_2)_n X_1(CH_2)_n$-**;

[0911] *-C(=O)$((CH_2)_m O)_t(CH_2)_n$NHC(=O)$(CH_2)_n X_1(CH_2)_n$-**;

[0912] *-C(=O)$((CH_2)_m O)_t(CH_2)_n$C(=O)NH$(CH_2)_m$-**;*-C(=O)$(CH_2)_m C(R^3)_2$-**或

[0913] *-C(=O)$(CH_2)_m$C(=O)NH$(CH_2)_m$-**,其中所述L_1的*指示与Lp的附接点,并且所述L_1的**指示与R^1(若存在)的附接点或所述L_1的**指示与R^{100}(若存在)的附接点。

[0914] 实施例89.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、如实施例32至46中任一项所述的具有式(V)的接头、和如实施例60至72中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中:

[0915] L_1是*-C(=O)$(CH_2)_m O(CH_2)_m$-**;*-C(=O)$((CH_2)_m O)_t(CH_2)_n$-**;*-C(=O)$(CH_2)_m$-**;

[0916] *-C(=O)NH$((CH_2)_m O)_t(CH_2)_n$-**;*-C(=O)$(CH_2)_m$NH$(CH_2)_m$-**;

[0917] *-C(=O)$(CH_2)_m$NH$(CH_2)_n$C(=O)-**;*-C(=O)$(CH_2)_m$NHC(=O)$(CH_2)_n$-**;

[0918] *-C(=O)$((CH_2)_m O)_t(CH_2)_n$NHC(=O)$(CH_2)_n$-**;*-C(=O)$((CH_2)_m O)_t(CH_2)_n$C(=O)NH$(CH_2)_m$-**;

[0919] *-C(=O)$(CH_2)_m C(R^3)_2$-**或*-C(=O)$(CH_2)_m$C(=O)NH$(CH_2)_m$-**,其中所述L_1的*指示与Lp的附接点,并且所述L_1的**指示与R^1(若存在)的附接点或所述L_1的**指示与R^{100}(若存在)的附接点。

[0920] 实施例90.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、如实施例32至46中任一项所述的具有式(V)的接头、和如实施例60至72中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中:

[0921] L_1是*-C(=O)$(CH_2)_m O(CH_2)_m$-**;*-C(=O)$((CH_2)_m O)_t(CH_2)_n$-**;*-C(=O)$(CH_2)_m$-**;

[0922] *-C(=O)NH$((CH_2)_m O)_t(CH_2)_n$-**;*-C(=O)$(CH_2)_m$NH$(CH_2)_m$-**;

[0923] *-C(=O)$(CH_2)_m$NH$(CH_2)_n$C(=O)-**;或*-C(=O)$(CH_2)_m$NHC(=O)$(CH_2)_n$-**,其中所述L_1的*指示与Lp的附接点,并且所述L_1的**指示与R^1(若存在)的附接点或所述L_1的**指示与R^{100}(若存在)的附接点。

[0924] 实施例91.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、如实施例32至46中任一项所述的具有式(V)的接头、和如实施例60至72中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中:

[0925] L_1是*-C(=O)$(CH_2)_m O(CH_2)_m$-**;*-C(=O)$((CH_2)_m O)_t(CH_2)_n$-**;*-C(=O)$(CH_2)_m$-**或*-C(=O)NH$((CH_2)_m O)_t(CH_2)_n$-**,其中所述L_1的*指示与Lp的附接点,并且所述L_1的**指示与R^1(若存在)的附接点或所述L_1的**指示与R^{100}(若存在)的附接点。

[0926] 实施例92.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、如实施例32至46中任一项所述的具有式(V)的接头、和如实施例60至72中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中L_1是*-C(=O)$(CH_2)_m O(CH_2)_m$-**,其中所述L_1的*指示与Lp的附接点,并且所述L_1的**指示与R^1(若存在)的附接点或所述L_1的**指示与R^{100}(若存在)

的附接点。

[0927] 实施例93.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、如实施例32至46中任一项所述的具有式(V)的接头、和如实施例60至72中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中L_1是*-C(=O)$((CH_2)_m O)_t(CH_2)_n$-**,其中所述L_1的*指示与Lp的附接点,并且所述L_1的**指示与R^1(若存在)的附接点或所述L_1的**指示与R^{100}(若存在)的附接点。

[0928] 实施例94.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、如实施例32至46中任一项所述的具有式(V)的接头、和如实施例60至72中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中L_1是*-C(=O)$(CH_2)_m$-**,其中所述L_1的*指示与Lp的附接点,并且所述L_1的**指示与R^1(若存在)的附接点或所述L_1的**指示与R^{100}(若存在)的附接点。

[0929] 实施例95.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、如实施例32至46中任一项所述的具有式(V)的接头、和如实施例60至72中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中L_1是*-C(=O)NH$((CH_2)_m O)_t(CH_2)_n$-**,其中所述L_1的*指示与Lp的附接点,并且所述L_1的**指示与R^1(若存在)的附接点或所述L_1的**指示与R^{100}(若存在)的附接点。

[0930] 实施例96.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、如实施例32至46中任一项所述的具有式(V)的接头、和如实施例60至72中任一项或实施例86至95中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中Lp是二价肽间隔子,例如,可酶促裂解的间隔子。

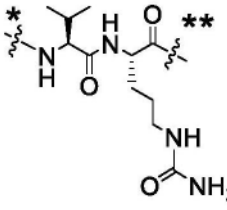
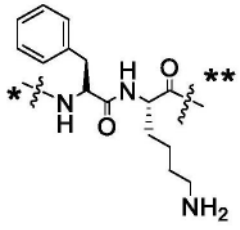
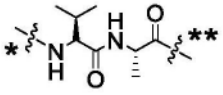
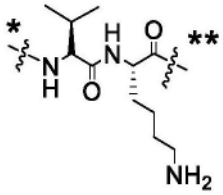
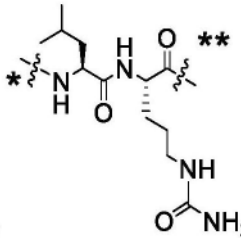
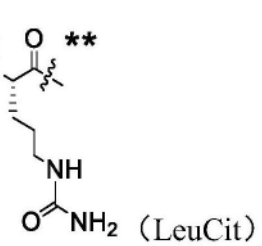
[0931] 实施例97.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、如实施例32至46中任一项所述的具有式(V)的接头、和如实施例60至72中任一项或实施例86至95中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中Lp是包含氨基酸残基的二价肽间隔子,所述氨基酸残基选自甘氨酸、缬氨酸、瓜氨酸、赖氨酸、异亮氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸、天冬酰胺、脯氨酸、丙氨酸、亮氨酸、色氨酸、和酪氨酸。

[0932] 实施例98.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、如实施例32至46中任一项所述的具有式(V)的接头、和如实施例60至72中任一项或实施例86至95中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中Lp是包含一个至四个氨基酸残基(例如,两个至四个氨基酸残基)的二价肽间隔子。

[0933] 实施例99.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、如实施例32至46中任一项所述的具有式(V)的接头、和如实施例60至72中任一项或实施例86至95中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中Lp是包含一个至四个氨基酸残基的二价肽间隔子,所述氨基酸残基各自独立地选自甘氨酸、缬氨酸、瓜氨酸、赖氨酸、异亮氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸、天冬酰胺、脯氨酸、丙氨酸、亮氨酸、色氨酸、和酪氨酸。

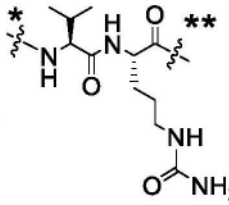
[0934] 实施例100.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、如实施例32至46中任一项所述的具有式(V)的接头、和如实施例60至72中任一项或实施例86至95中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中:

[0935] Lp是选自

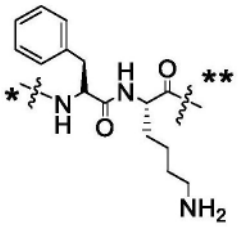

（ValCit）、
（PheLys）、

（ValAla）、
（ValLys）和
（LeuCit）的二价肽间隔子，

其中所述Lp的*指示与L_1的附接点并且所述Lp的**指示与式(II)的-NH-基团的附接点或所述Lp的**指示与式(I)的G的附接点。

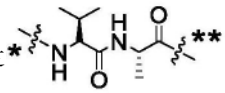
[0936] 实施例101.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、如实施例32至46中任一项所述的具有式(V)的接头、和如实施例60至72中任一项或实施例86至95中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中：

[0937] Lp是
（ValCit），其中所述Lp的*指示与L_1的附接点并且所述Lp的**指示与式(II)的-NH-基团的附接点或所述Lp的**指示与式(I)的G的附接点。

[0938] 实施例102.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、如实施例32至46中任一项所述的具有式(V)的接头、和如实施例60至72中任一项或实施例86至95中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中：

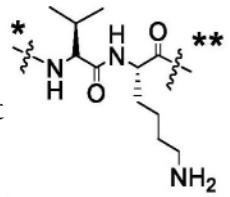
[0939] Lp是
（PheLys），其中所述Lp的*指示与L_1的附接点并且所述Lp的**指示与式(II)的-NH-基团的附接点或所述Lp的**指示与式(I)的G的附接点。

[0940] 实施例103.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、如实施例32至46中任一项所述的具有式(V)的接头、和如实施例60至72中任一项或实施例86至95中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中：

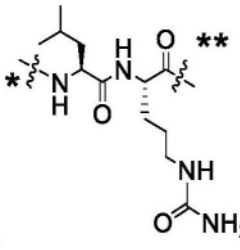
[0941] Lp是
（ValAla），其中所述Lp的*指示与L_1的附接点并且所述Lp的**指示与式(II)的-NH-基团的附接点或所述Lp的**指示与式(I)的G的附接点。

[0942] 实施例104.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接

受的盐、如实施例32至46中任一项所述的具有式(V)的接头、和如实施例60至72中任一项或实施例86至95中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中:

[0943] Lp是  其中所述Lp的*指示与L_1的附接点并且所述Lp的**指示与式(II)的-NH-基团的附接点或所述Lp的**指示与式(I)的G的附接点。

[0944] 实施例105.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、如实施例32至46中任一项所述的具有式(V)的接头、和如实施例60至72中任一项或实施例86至95中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中:

[0945] Lp是  其中所述Lp的*指示与L_1的附接点并且所述Lp的**指示与式(II)的-NH-基团的附接点或所述Lp的**指示与式(I)的G的附接点。

[0946] 实施例106.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、如实施例32至46中任一项所述的具有式(V)的接头、和如实施例60至72中任一项或实施例86至105中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中L_2是键、亚甲基、新亚戊基或C_2-C_3亚烯基。

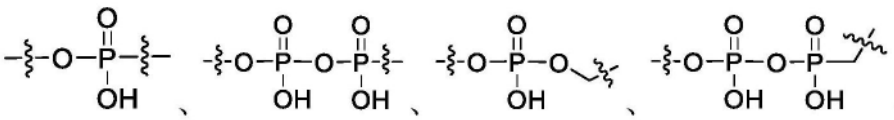
[0947] 实施例107.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、如实施例32至46中任一项所述的具有式(V)的接头、和如实施例60至72中任一项或实施例86至105中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中L_2是键或亚甲基。

[0948] 实施例108.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、如实施例32至46中任一项所述的具有式(V)的接头、和如实施例60至72中任一项或实施例86至105中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中L_2是键。

[0949] 实施例109.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、如实施例32至46中任一项所述的具有式(V)的接头、和如实施例60至72中任一项或实施例86至105中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中L_2是亚甲基。

[0950] 实施例110.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、如实施例32至46中任一项所述的具有式(V)的接头、和如实施例60至72中任一项或实施例86至109中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中:

[0951] A是键、-OC(=O)-、

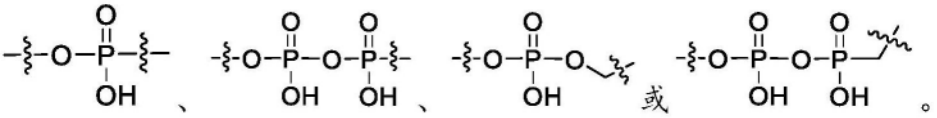
 -OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-或-OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-,其中每个R^a独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基。

[0952] 实施例111.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、如实施例32至46中任一项所述的具有式(V)的接头、和如实施例60至72中任一项或实施例86至109中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中A是键或-OC(=O)。

[0953] 实施例112.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、如实施例32至46中任一项所述的具有式(V)的接头、和如实施例60至72中任一项或实施例86至109中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中A是键。

[0954] 实施例113.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、如实施例32至46中任一项所述的具有式(V)的接头、和如实施例60至72中任一项或实施例86至109中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中A是-OC(=O)。

[0955] 实施例114.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、如实施例32至46中任一项所述的具有式(V)的接头、和如实施例60至72中任一项或实施例86至109中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中:

[0956] A是。

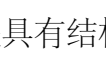
[0957] 实施例115.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、如实施例32至46中任一项所述的具有式(V)的接头、和如实施例60至72中任一项或实施例86至109中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中:

[0958] A是-OC(=O)N(CH_3)CH_2CH_2N(CH_3)C(=O)-或

[0959] -OC(=O)N(CH_3)C(R^a)$_2$C(R^a)$_2$N(CH_3)C(=O)-,其中每个R^a独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基。

[0960] 实施例116.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、如实施例32至46中任一项所述的具有式(V)的接头、和如实施例60至72中任一项或实施例86至115中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中L_3是间隔子部分。

[0961] 实施例117.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、如实施例32至46中任一项所述的具有式(V)的接头、和如实施例60至72中任一项或实施例86至115中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中:

[0962] L_3是具有结构的间隔子部分,

[0963] 其中

[0964] W是-CH_2O-**、-CH_2N(R^b)C(=O)O-**、-NHC(=O)CH_2NHC(=O)O-**、-NHC(=O)C(R^b)$_2$NH-**、NHC(=O)C(R^b)$_2$NHC(=O)-**、-CH_2N(X-R^2)C(=O)O-**、-C(=O)N(X-R^2)-**、-CH_2N(X-R^2)C(=O)-**、-C(=O)NR^b-**、-C(=O)NH-**、-$CH_2$$NR^b$C(=O)-**、-$CH_2$$NR^b$C(=O)NH-**、-$CH_2$$NR^b$C(=O)$NR^b$-**、-NHC(=O)-**、-NHC(=O)O-**、-NHC(=O)NH-**、-OC(=O)NH-**、-S(O)$_2$NH-**、-NHS(O)$_2$-**、-C(=O)-、-C(=O)O-**或-NH-,其中每个R^b独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基并且其中所述W的**指示与X的附接点;

[0965] X是键、三唑基或***-CH_2-三唑基-*,其中所述X的***指示与W的附接点并且所述X的*指示与R^2的附接点;

[0966] 并且

[0967] 所述L_3的*指示与R^2的附接点。

[0968] 实施例118.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、如实施例32至46中任一项所述的具有式(V)的接头、和如实施例60至72中任一项或实施例86至115中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中:

[0969] L_3是具有结构-§-W-X-§*的间隔子部分,

[0970] 其中

[0971] W是-CH_2O-**、-CH_2N(R^b)C(=O)O-**、-NHC(=O)CH_2NHC(=O)O-**、-NHC(=O)CH_2NH-**、NHC(=O)CH_2NHC(=O)-**、-CH_2N(X-R^2)C(=O)O-**、-C(=O)N(X-R^2)-**、-CH_2N(X-R^2)C(=O)-**、-C(=O)NR^b-**、-C(=O)NH-**、-CH_2NR^bC(=O)-**、-CH_2NR^bC(=O)NH-**、-CH_2NR^bC(=O)NR^b-**、-NHC(=O)-**、-NHC(=O)O-**、-NHC(=O)NH-**、-OC(=O)NH-**、-S(O)$_2$NH-**、-NHS(O)$_2$-**、-C(=O)-、-C(=O)O-**或-NH-,其中每个R^b独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基并且其中所述W的**指示与X的附接点;

[0972] X是键;

[0973] 并且

[0974] 所述L_3的*指示与R^2的附接点。

[0975] 实施例119.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、如实施例32至46中任一项所述的具有式(V)的接头、和如实施例60至72中任一项或实施例86至115中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中:

[0976] L_3是具有结构-§-W-X-§*的间隔子部分,

[0977] 其中

[0978] W是-CH_2O-**、-CH_2N(R^b)C(=O)O-**、-NHC(=O)CH_2NHC(=O)O-**、-CH_2N(X-R^2)C(=O)O-**、-C(=O)N(X-R^2)-**、-CH_2N(X-R^2)C(=O)-**、-C(=O)NR^b-**、-C(=O)NH-**、-CH_2NR^bC(=O)-**、-CH_2NR^bC(=O)NH-**、-CH_2NR^bC(=O)NR^b-**、-NHC(=O)-**、-NHC(=O)O-**、-NHC(=O)NH-**、-OC(=O)NH-**、-S(O)$_2$NH-**、-NHS(O)$_2$-**、-C(=O)-、-C(=O)O-**或-NH-,其中每个R^b独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基并且其中所述W的**指示与X的附接点;

[0979] X是三唑基,其中所述X的***指示与W的附接点并且所述X的*指示与R^2的附接点;

[0980] 并且

[0981] 所述L_3的*指示与R^2的附接点。

[0982] 实施例120.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、如实施例32至46中任一项所述的具有式(V)的接头、和如实施例60至72中任一项或实施例86至115中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中:

[0983] L_3是具有结构-§-W-X-§*的间隔子部分,

[0984] 其中

[0985] W是-CH_2O-**、-CH_2N(R^b)C(=O)O-**、-NHC(=O)CH_2NHC(=O)O-**、-CH_2N(X-R^2)C(=O)O-**、-C(=O)N(X-R^2)-**、-CH_2N(X-R^2)C(=O)-**、-C(=O)NR^b-**、-C(=O)NH-**、-CH_2NR^bC(=O)-**、-CH_2NR^bC(=O)NH-**、-CH_2NR^bC(=O)NR^b-**、-NHC(=O)-**、-NHC(=O)O-**、-NHC(=O)NH-**、-OC(=O)NH-**、-S(O)$_2$NH-**、-NHS(O)$_2$-**、-C(=O)-、-C(=O)O-**或-NH-,其中每个R^b独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基并且其中所述W的**指示与X的附

接点；

[0986] X是***-CH_2-三唑基-*，其中所述X的***指示与W的附接点并且所述X的*指示与R^2的附接点；

[0987] 并且

[0988] 所述L_3的*指示与R^2的附接点。

[0989] 实施例121.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、如实施例32至46中任一项所述的具有式(V)的接头、和如实施例60至72中任一项或实施例86至115中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物，其中：

[0990] L_3是具有结构-§-W—X-§*的间隔子部分，

[0991] 其中

[0992] W是-CH_2O-**、-$CH_2N(R^b)C(=O)O$-**、-$NHC(=O)CH_2NHC(=O)O$-**、-$CH_2N(X-R^2)C(=O)O$-**、-$C(=O)N(X-R^2)$-**，其中每个R^b独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基并且其中所述W的**指示与X的附接点；

[0993] X是键、三唑基或***-CH_2-三唑基-*，其中所述X的***指示与W的附接点并且所述X的*指示与R^2的附接点；

[0994] 并且

[0995] 所述L_3的*指示与R^2的附接点。

[0996] 实施例122.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、如实施例32至46中任一项所述的具有式(V)的接头、和如实施例60至72中任一项或实施例86至115中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物，其中：

[0997] L_3是具有结构-§-W—X-§*的间隔子部分，

[0998] 其中

[0999] W是-CH_2O-**、-$CH_2N(R^b)C(=O)O$-**、-$NHC(=O)CH_2NHC(=O)O$-**、-$CH_2N(X-R^2)C(=O)O$-**、-$C(=O)N(X-R^2)$-**，其中每个R^b独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基并且其中所述W的**指示与X的附接点；

[1000] X是键；

[1001] 并且

[1002] 所述L_3的*指示与R^2的附接点。

[1003] 实施例123.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、如实施例32至46中任一项所述的具有式(V)的接头、和如实施例60至72中任一项或实施例86至115中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物，其中：

[1004] L_3是具有结构-§-W—X-§*的间隔子部分，

[1005] 其中

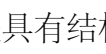
[1006] W是-CH_2O-**、-$CH_2N(R^b)C(=O)O$-**、-$NHC(=O)CH_2NHC(=O)O$-**、-$CH_2N(X-R^2)C(=O)O$-**、-$C(=O)N(X-R^2)$-**，其中每个R^b独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基并且其中所述W的**指示与X的附接点；

[1007] X是三唑基，其中所述X的***指示与W的附接点并且所述X的*指示与R^2的附接点；

[1008] 并且

[1009] 所述L_3的*指示与R^2的附接点。

[1010] 实施例124.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、如实施例32至46中任一项所述的具有式(V)的接头、和如实施例60至72中任一项或实施例86至115中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中:

[1011] L_3是具有结构的间隔子部分,

[1012] 其中

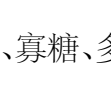
[1013] W是-CH_2O-**、-CH_2N(R^b)C(=O)O-**、-NHC(=O)CH_2NHC(=O)O-**、-CH_2N(X-R^2)C(=O)O-**、-C(=O)N(X-R^2)-**,其中每个R^b独立地选自H、C_1-C_6烷基或C_3-C_8环烷基并且其中所述W的**指示与X的附接点;

[1014] X是***-CH_2-三唑基-*,其中所述X的***指示与W的附接点并且所述X的*指示与R^2的附接点;

[1015] 并且

[1016] 所述L_3的*指示与R^2的附接点。

[1017] 实施例125.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、如实施例32至46中任一项所述的具有式(V)的接头、和如实施例60至72中任一项或实施例86至124中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中R^2是亲水性部分。

[1018] 实施例126.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、如实施例32至46中任一项所述的具有式(V)的接头、和如实施例60至72中任一项或实施例86至124中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中R^2是选自聚乙二醇、聚亚烷基二醇、糖、寡糖、多肽、被1至3个基团取代的C_2-C_6烷基、和聚肌氨酸的亲水性部分。

[1019] 实施例127.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、如实施例32至46中任一项所述的具有式(V)的接头、和如实施例60至72中任一项或实施例86至124中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中R^2是糖。

[1020] 实施例128.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、如实施例32至46中任一项所述的具有式(V)的接头、和如实施例60至72中任一项或实施例86至124中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中R^2是寡糖。

[1021] 实施例129.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、如实施例32至46中任一项所述的具有式(V)的接头、和如实施例60至72中任一项或实施例86至124中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中R^2是多肽。

[1022] 实施例130.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、如实施例32至46中任一项所述的具有式(V)的接头、和如实施例60至72中任一项或实施例86至124中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中R^2是聚亚烷基二醇。

[1023] 实施例131.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、如实施例32至46中任一项所述的具有式(V)的接头、和如实施例60至72中任一项或实施例86至124中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中R^2是具有结构-(O(CH_2)$_m$)$_t$R'的聚亚烷基二醇,其中R'是OH、OCH_3或OCH_2CH_2C(=O)OH,m是1-10并且t是4-40。

[1024] 实施例132.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、如实施例32至46中任一项所述的具有式(V)的接头、和如实施例60至72中任一项或实施例86至124中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中R^2是具有结构-$((CH_2)_mO)_tR''$-的聚亚烷基二醇,其中R”是H、CH_3或$CH_2CH_2C(=O)OH$,m是1-10并且t是4-40。

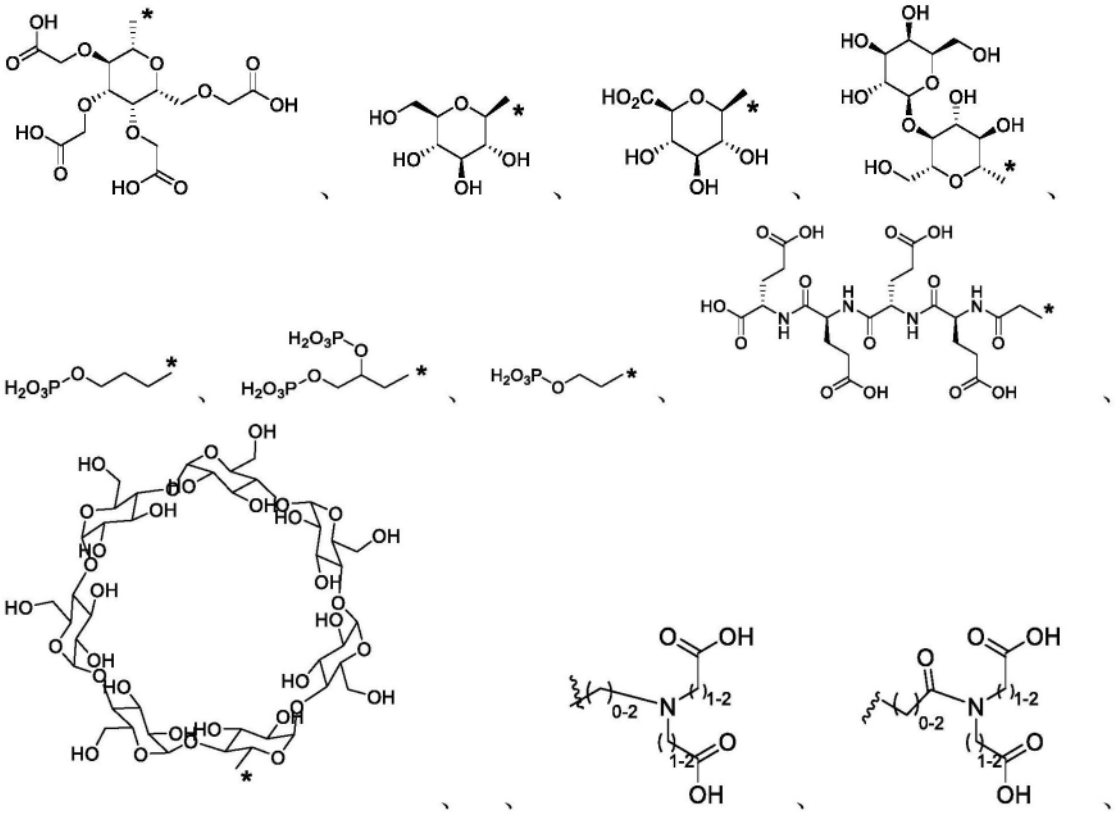
[1025] 实施例133.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、如实施例32至46中任一项所述的具有式(V)的接头、和如实施例60至72中任一项或实施例86至124中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中R^2是聚乙二醇。

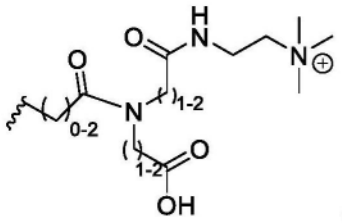
[1026] 实施例134.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、如实施例32至46中任一项所述的具有式(V)的接头、和如实施例60至72中任一项或实施例86至124中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中R^2是具有结构-$(OCH_2CH_2)_tR'$的聚乙二醇,其中R’是OH、OCH_3或$OCH_2CH_2C(=O)OH$并且t是4-40。

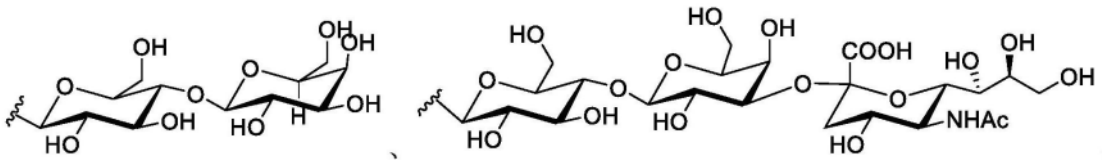
[1027] 实施例135.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、如实施例32至46中任一项所述的具有式(V)的接头、和如实施例60至72中任一项或实施例86至124中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中R^2是具有结构-$(CH_2CH_2O)_tR''$-的聚乙二醇,其中R”是H、CH_3或$CH_2CH_2C(=O)OH$并且t是4-40。

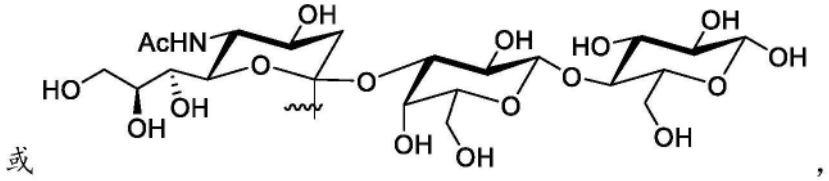
[1028] 实施例136.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、如实施例32至46中任一项所述的具有式(V)的接头、和如实施例60至72中任一项或实施例86至124中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中:

[1029] R^2是



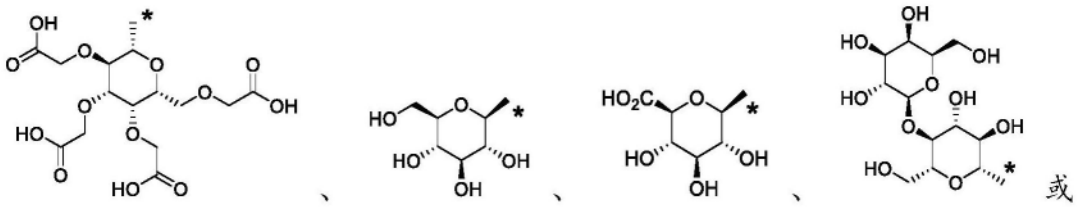
[1030]  (其中n是在1与6之间的整数)、

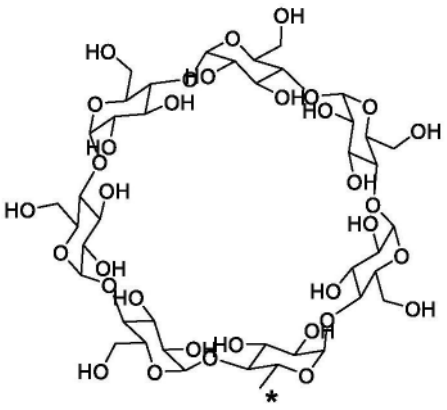
[1031] 

[1032]  其中所述R^2的*或波浪线指示与X或L_3的附接点。

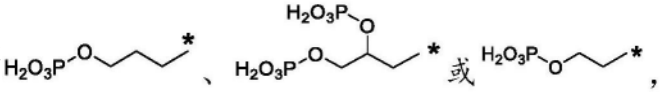
[1033] 实施例137.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、如实施例32至46中任一项所述的具有式(V)的接头、和如实施例60至72中任一项或实施例86至124中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中:

[1034] R^2是



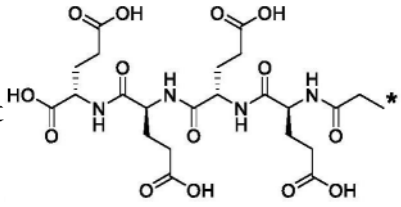
 其中所述R^2的*指示与X或L_3的附接点。

[1035] 实施例138.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、如实施例32至46中任一项所述的具有式(V)的接头、和如实施例60至72中任一项或实施例86至124中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中:

[1036] R^2是 其中R^2的*指示与X或L_3的附接点。

[1037] 实施例139.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接

受的盐、如实施例32至46中任一项所述的具有式(V)的接头、和如实施例60至72中任一项或实施例86至124中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中:

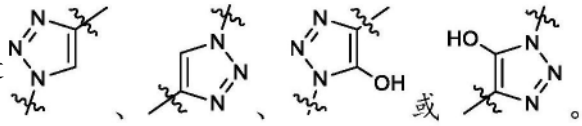
[1038] R^2是其中R^2的*指示与X或L_3的附接点。

[1039] 实施例140.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、如实施例32至46中任一项所述的具有式(V)的接头、和如实施例60至72中任一项或实施例86至139中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中每个R^3独立地选自H和C_1-C_6烷基。

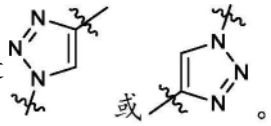
[1040] 实施例141.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、如实施例32至46中任一项所述的具有式(V)的接头、和如实施例60至72中任一项或实施例86至139中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中每个R^3是H。

[1041] 实施例142.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、如实施例32至46中任一项所述的具有式(V)的接头、和如实施例60至72中任一项或实施例86至139中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中每个R^3独立地选自C_1-C_6烷基。

[1042] 实施例143.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、如实施例32至46中任一项所述的具有式(V)的接头、和如实施例60至72中任一项或实施例86至142中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中:

[1043] X_1是。

[1044] 实施例144.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、如实施例32至46中任一项所述的具有式(V)的接头、和如实施例60至72中任一项或实施例86至142中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中:

[1045] X_1是。

[1046] 实施例145.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、如实施例32至46中任一项所述的具有式(V)的接头、和如实施例60至72中任一项或实施例86至144中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中:

[1047] 每个m独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10。

[1048] 实施例146.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、如实施例32至46中任一项所述的具有式(V)的接头、和如实施例60至72中任一项或实施例86至144中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中:

[1049] 每个m独立地选自1、2、3、4、和5。

[1050] 实施例147.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接

受的盐、如实施例32至46中任一项所述的具有式(V)的接头、和如实施例60至72中任一项或实施例86至144中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中:

[1051] 每个m独立地选自1、2和3。

[1052] 实施例148.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、如实施例32至46中任一项所述的具有式(V)的接头、和如实施例60至72中任一项或实施例86至147中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中:

[1053] 每个n独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10。

[1054] 实施例149.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、如实施例32至46中任一项所述的具有式(V)的接头、和如实施例60至72中任一项或实施例86至147中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中:

[1055] 每个n独立地选自1、2、3、4和5。

[1056] 实施例150.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、如实施例32至46中任一项所述的具有式(V)的接头、和如实施例60至72中任一项或实施例86至147中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中:

[1057] 每个n独立地选自1、2和3。

[1058] 实施例151.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、如实施例32至46中任一项所述的具有式(V)的接头、和如实施例60至72中任一项或实施例86至150中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中:

[1059] 每个t独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29和30。

[1060] 实施例152.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、如实施例32至46中任一项所述的具有式(V)的接头、和如实施例60至72中任一项或实施例86至150中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中:

[1061] 每个t独立地选自6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29和30。

[1062] 实施例153.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、如实施例32至46中任一项所述的具有式(V)的接头、和如实施例60至72中任一项或实施例86至150中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中:

[1063] 每个t独立地选自4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25。

[1064] 实施例154.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、如实施例32至46中任一项所述的具有式(V)的接头、和如实施例60至72中任一项或实施例86至150中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中:

[1065] 每个t独立地选自1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17和18。

[1066] 实施例155.如实施例60至72中任一项或实施例86至154中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中y是1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15或16。

[1067] 实施例156.如实施例60至72中任一项或实施例86至154中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中y是1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14。

[1068] 实施例157.如实施例60至72中任一项或实施例86至154中任一项所述的具有式

(III)的免疫缀合物,其中y是1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11或12。

[1069] 实施例158.如实施例60至72中任一项或实施例86至154中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中y是1、2、3、4、5、6、7、8、9或10。

[1070] 实施例159.如实施例60至72中任一项或实施例86至154中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中y是1、2、3、4、5、6、7或8。

[1071] 实施例160.如实施例60至72中任一项或实施例86至154中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中y是1、2、3、4、5或6。

[1072] 实施例161.如实施例60至72中任一项或实施例86至154中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中y是1、2、3或4。

[1073] 实施例162.如实施例60至72中任一项或实施例86至154中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中y是1或2。

[1074] 实施例163.如实施例60至72中任一项或实施例86至154中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中y是2。

[1075] 实施例164.如实施例60至72中任一项或实施例86至154中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中y是4。

[1076] 实施例165.如实施例60至72中任一项或实施例86至154中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中y是6。

[1077] 实施例166.如实施例60至72中任一项或实施例86至154中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中y是8。

[1078] 实施例167.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、或如实施例60至72中任一项或实施例86至166中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中D是药物部分。

[1079] 实施例168.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、或如实施例60至72中任一项或实施例86至166中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中

[1080] D是包含N或O的药物部分,其中D经由从A到所述药物部分的N或O的直接键连接至A。

[1081] 实施例169.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、或如实施例60至72中任一项或实施例86至166中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中D是疏水性药物部分。

[1082] 实施例170.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、或如实施例60至72中任一项或实施例86至166中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中

[1083] D是包含N或O的疏水性药物部分,其中D经由从A到所述药物部分的N或O的直接键连接至A(例如,当连接至A时,D可以是季铵)。

[1084] 实施例171.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、或如实施例60至72中任一项或实施例86至166中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中D是具有1.5至7的SlogP值的疏水性药物部分。

[1085] 实施例172.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接

受的盐、或实施例60至72中任一项或实施例86至166中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中D是具有1.5至6的SlogP值的疏水性药物部分。

[1086] 实施例173.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、或如实施例60至72中任一项或实施例86至166中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中D是具有1.5至5的SlogP值的疏水性药物部分。

[1087] 实施例174.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、或如实施例60至72中任一项或实施例86至166中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中D是具有1.5至4的SlogP值的疏水性药物部分。

[1088] 实施例175.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、或如实施例60至72中任一项或实施例86至166中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中D是具有1.5至3的SlogP值的疏水性药物部分。

[1089] 实施例176.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、或如实施例60至72中任一项或实施例86至166中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中D是具有1.5至2的SlogP值的疏水性药物部分。

[1090] 实施例177.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、或如实施例60至72中任一项或实施例86至166中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中D是具有2至7的SlogP值的疏水性药物部分。

[1091] 实施例178.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、或如实施例60至72中任一项或实施例86至166中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中D是具有2至6的SlogP值的疏水性药物部分。

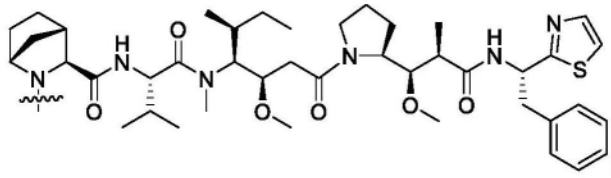
[1092] 实施例179.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、或如实施例60至72中任一项或实施例86至166中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中D是具有2至5的SlogP值的疏水性药物部分。

[1093] 实施例180.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、或如实施例60至72中任一项或实施例86至166中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中D是具有2至4的SlogP值的疏水性药物部分。

[1094] 实施例181.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、或如实施例60至72中任一项或实施例86至166中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中D是具有2至3的SlogP值的疏水性药物部分。

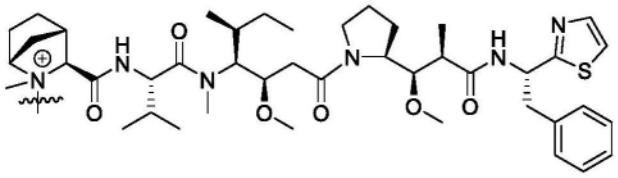
[1095] 实施例182.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、或如实施例60至72中任一项或实施例86至166中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中D是奥瑞他汀。

[1096] 实施例183.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、或如实施例60至72中任一项或实施例86至166中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中D是



(P1) 或

[1097]



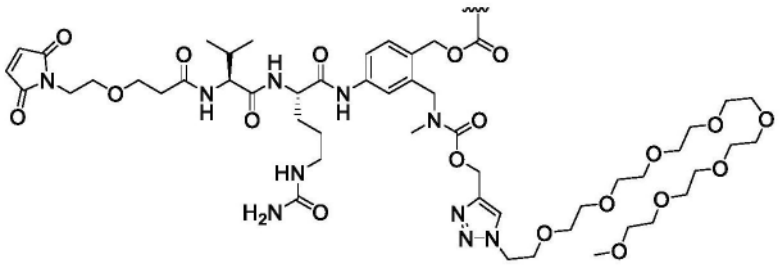
(P2)。

[1098] 实施例184.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、或如实施例60至72中任一项或实施例86至166中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中D不是MCL-1抑制剂。

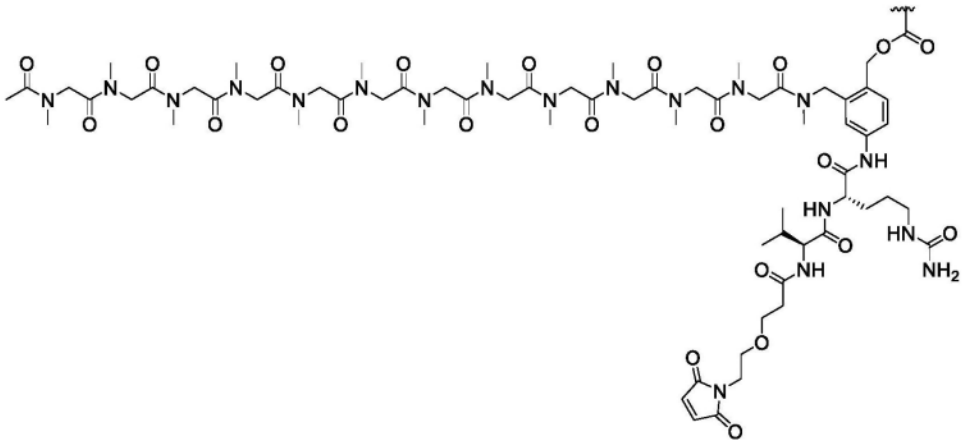
[1099] 实施例185.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、或如实施例60至72中任一项或实施例86至166中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中D不是BCL-2抑制剂。

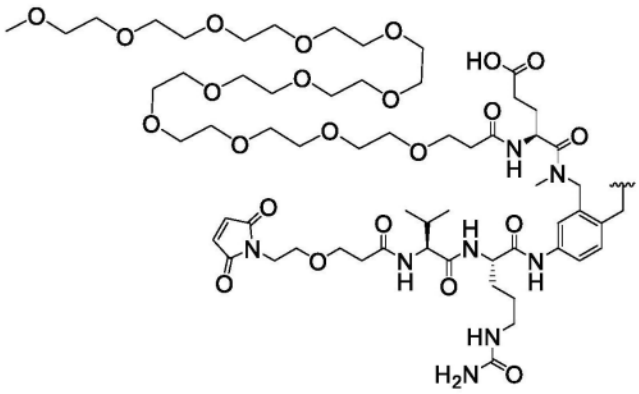
[1100] 实施例186.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、或如实施例60至72中任一项或实施例86至166中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中D不是BCL-XL抑制剂。

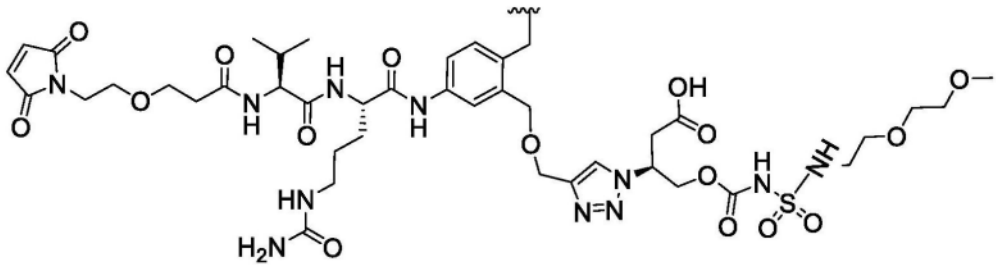
[1101] 实施例187.如实施例1至17中任一项所述的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、或如实施例60至72中任一项或实施例86至166中任一项所述的具有式(III)的免疫缀合物,其中式(I)中的接头(即,无D的部分)或式(III)中的接头(即,连接Ab和D的部分)是选自本文(例如,在表4A-4C中)所披露的从L2至L208的接头,如



(L2) 、

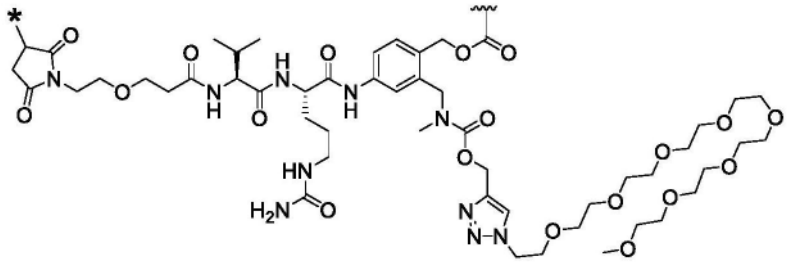
[1102]  (L71) 、

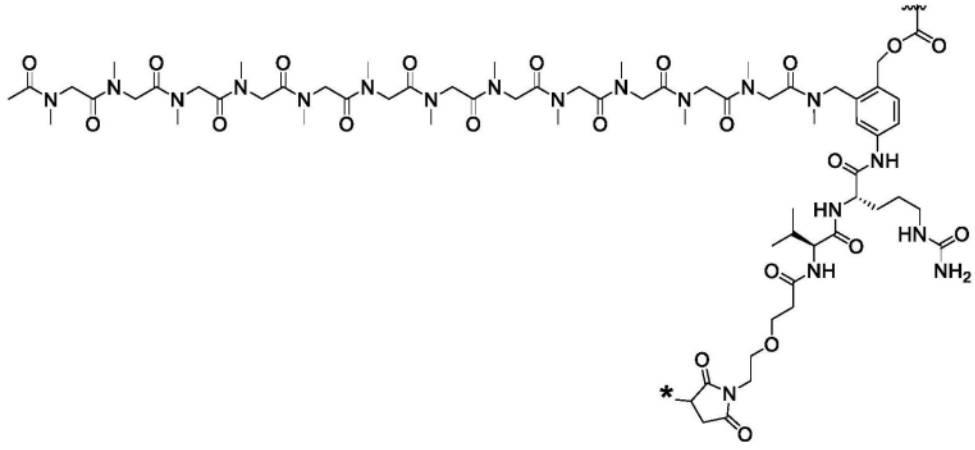
 (L179) 、 和

[1103]  (L208),

其中波浪线指示与D的附接点。

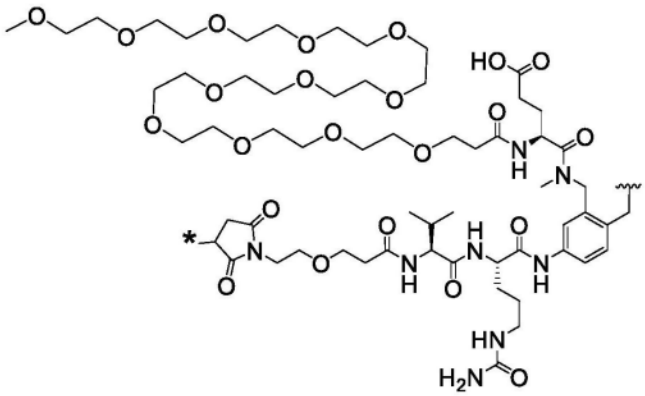
[1104] 实施例188.如实施例32至46中任一项所述的具有具有式(V)结构的具有式(I)的接头-药物基团的接头,其源自选自本文所述的从L2至L208的任何接头,例如,如

 (源自 L2) 、

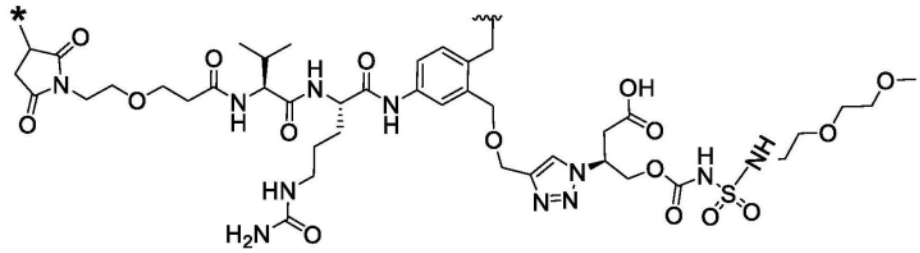


（源自

[1105]



L71）、



（源自 L179）、和（源自 L208），

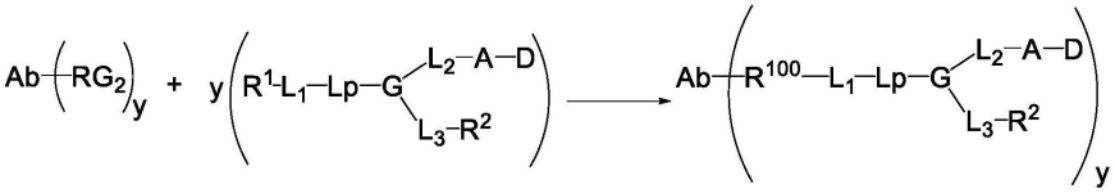
[1106] 其中波浪线指示与D的附接点并且*指示与抗体或其片段的附接点。

[1107] 缀合方法

[1108] 本发明提供了将本发明的接头-药物基团与抗体或抗体片段缀合以产生包含具有一个或多个亲水性部分的接头的抗体药物缀合物的各种方法。

[1109] 用于形成具有式(III)的抗体药物缀合物的一般反应方案示出在以下方案2中：

[1110] 方案2

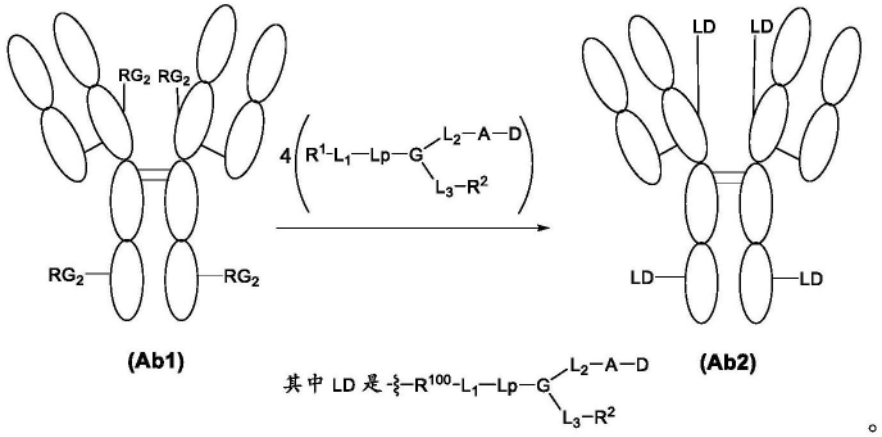
[1111] 

[1112] 其中：RG_2是反应性基团，其与相容的R^1基团反应以形成相应的R^{100}基团(此类基团展示在表1中)。D、R^1、L_1、Lp、Ab、y和R^{100}如本文所定义。

[1113] 方案3进一步说明了用于形成具有式(III)的抗体药物缀合物的这种一般方法，其中所述抗体包含与R^1基团(如本文所定义)反应的反应性基团(RG_2)，以经由R^{100}基团(如本文

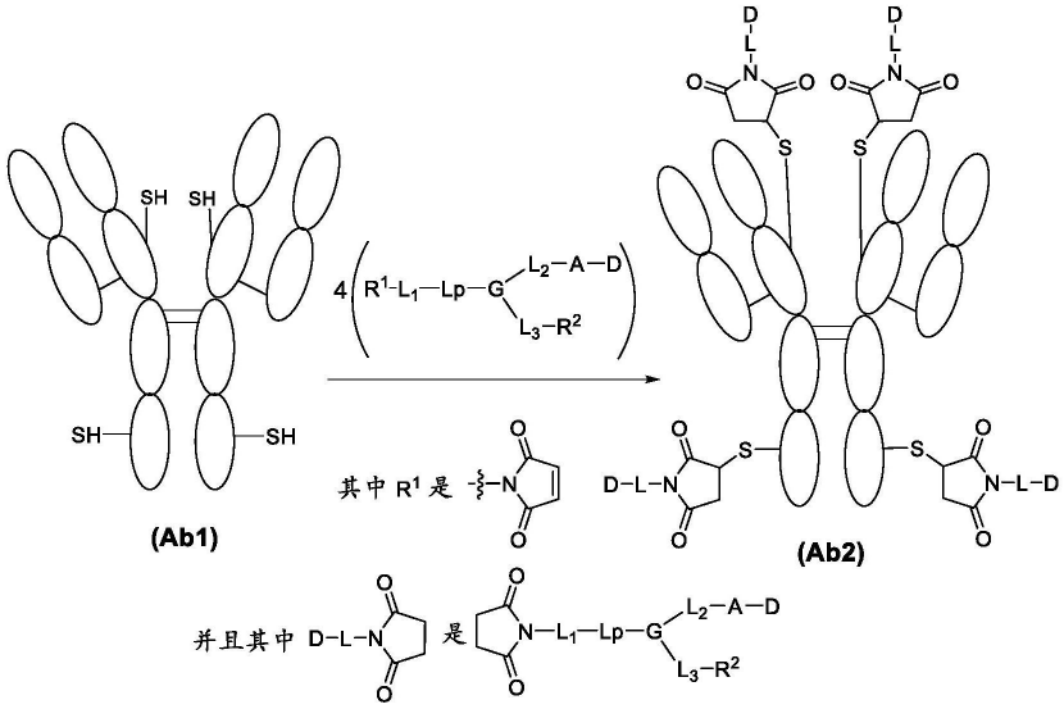
所定义)将所述接头-药物基团与所述抗体共价附接。仅出于说明的目的,方案3示出了具有四个RG_2基团的抗体。

[1114] 方案3

[1115] 

[1116] 在一个方面,接头-药物基团经由抗体中修饰的半胱氨酸残基与抗体缀合(参见例如WO2014/124316)。方案4说明了用于形成具有式(III)的抗体药物缀合物的这种方法,其中由抗体中经工程化的半胱氨酸残基产生的游离硫醇基团与R^1基团(其中R^1为马来酰亚胺)反应,以经由R^{100}基团(其中R^{100}为琥珀酰亚胺环)将所述接头-药物基团与所述抗体共价附接。仅出于说明的目的,方案4示出了具有四个游离硫醇基团的抗体。

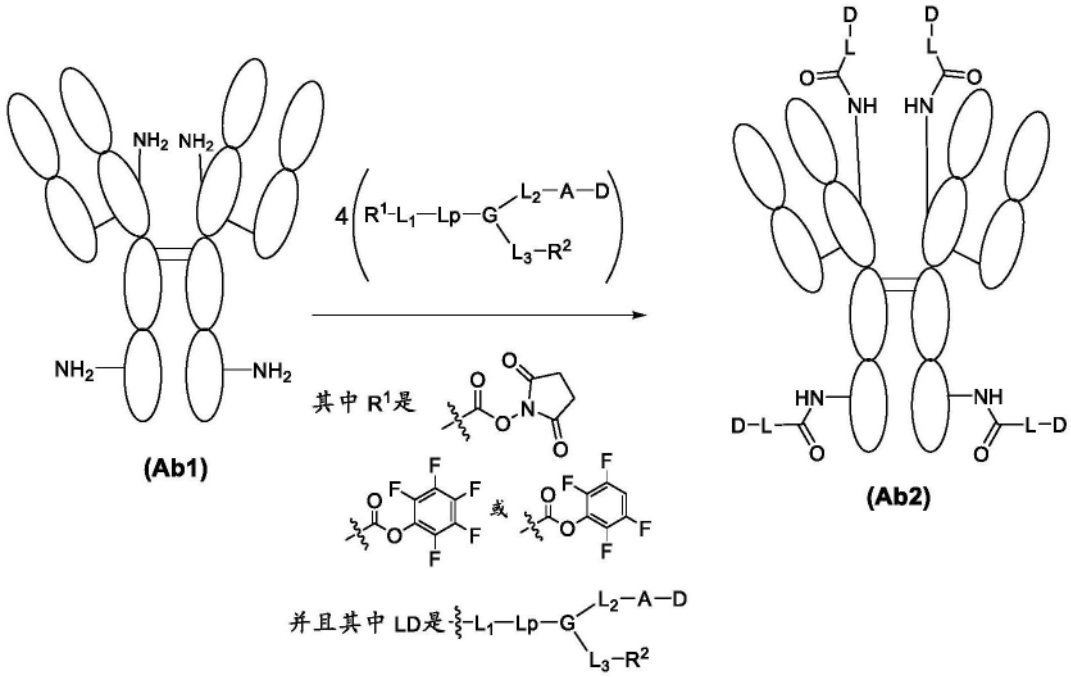
[1117] 方案4

[1118] 

[1119] 在另一方面,接头-药物基团经由抗体中的赖氨酸残基与抗体缀合。方案5说明了用于形成具有式(III)的抗体药物缀合物的这种方法,其中来自抗体中赖氨酸残基的游离胺基基团与R^1基团(其中R^1为NHS酯、五氟苯基或四氟苯基)反应,以经由R^{100}基团(其中R^{100}是酰胺)将所述接头-药物基团与所述抗体共价附接。仅出于说明的目的,方案5示出了具有四个胺基基团的抗体。

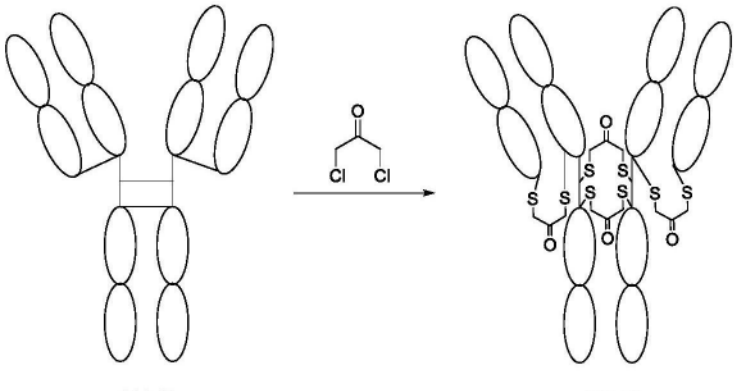
[1120] 方案5

[1121]

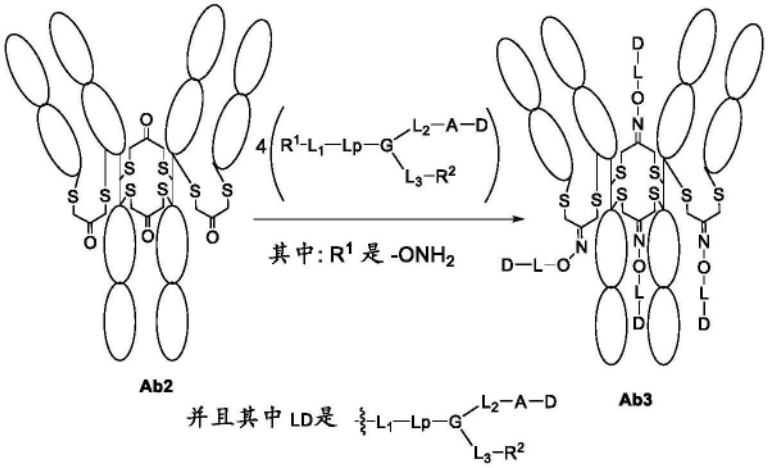


[1122] 在另一方面,经由在抗体的天然存在的二硫桥处形成肟桥而将接头-药物基团与抗体缀合。通过首先通过还原抗体的链间二硫桥并通过使用1,3-二卤代丙酮(例如1,3-二氯丙酮)再桥联来形成酮桥,从而形成肟桥。随后与包含羟胺的接头-药物基团反应,从而形成肟键(肟桥),所述肟键将接头-药物基团与所述抗体附接(参见例如WO2014/083505)。方案6示出了用于形成具有式(III)的抗体药物缀合物的这种方法。

[1123] 方案6



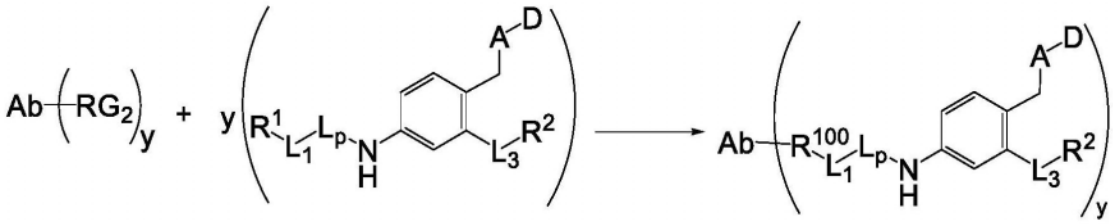
[1124]



。

[1125] 用于形成具有式(IV)的抗体药物缀合物的一般反应方案示出在以下方案7中:

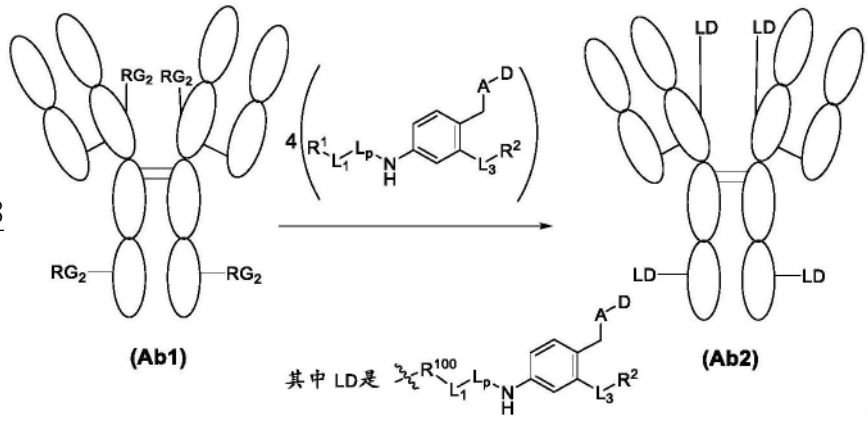
[1126] 方案7

[1127] 

[1128] 其中:RG_2是反应性基团,其与相容的R^1基团反应以形成相应的R^{100}基团(此类基团展示在表1中)。D、R^1、L_1、Lp、Ab、y和R^{100}如本文所定义。

[1129] 方案8进一步说明了用于形成具有式(IV)的抗体药物缀合物的这种一般方法,其中所述抗体包含与R^1基团(如本文所定义)反应的反应性基团(RG_2),以经由R^{100}基团(如本文所定义)将所述接头-药物基团与所述抗体共价附接。仅出于说明的目的,方案8示出了具有四个RG_2基团的抗体。

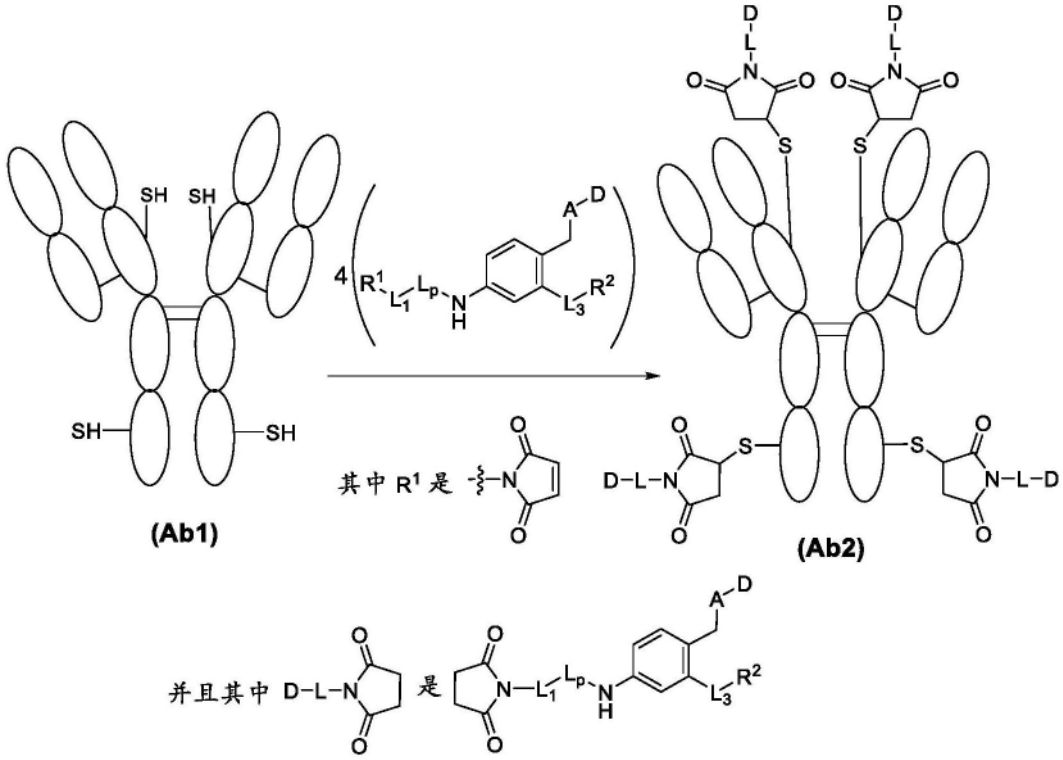
[1130] 方案8



[1131] 在一个方面,接头-药物基团经由抗体中修饰的半胱氨酸残基与抗体缀合(参见例如WO2014/124316)。方案9说明了用于形成具有式(IV)的抗体药物缀合物的这种方法,其中由抗体中经工程化的半胱氨酸残基产生的游离硫醇基团与R^1基团(其中R^1为马来酰亚胺)反应,以经由R^{100}基团(其中R^{100}为琥珀酰亚胺环)将所述接头-药物基团与所述抗体共价附接。仅出于说明的目的,方案9示出了具有四个游离硫醇基团的抗体。

[1132] 方案9

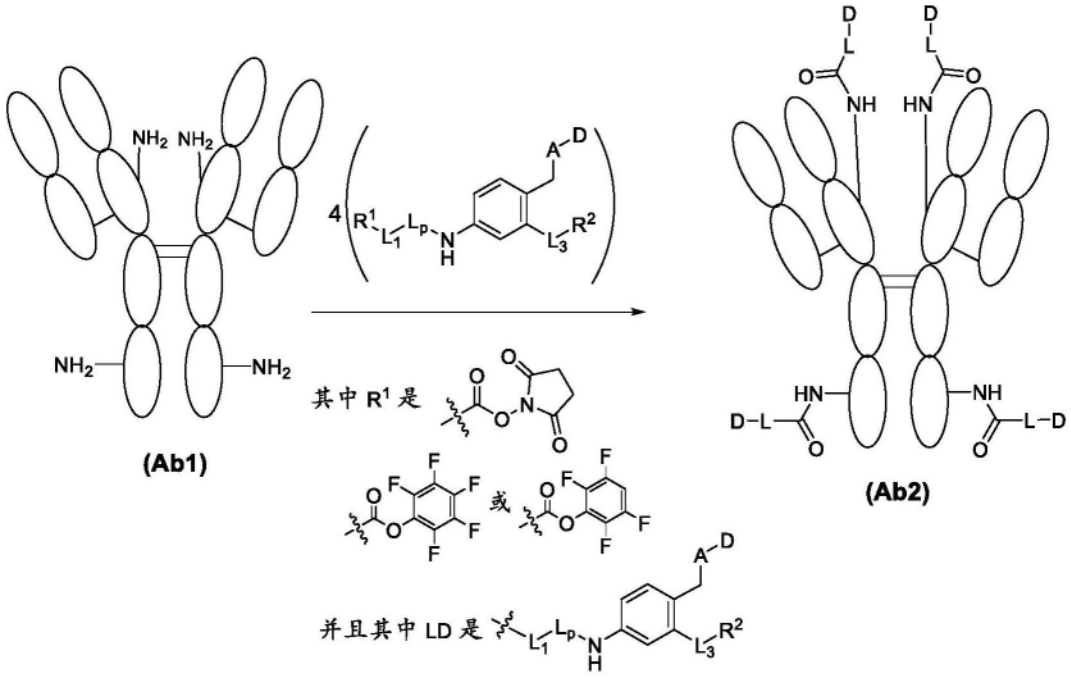
[1133]



[1134] 在另一方面,接头-药物基团经由抗体中的赖氨酸残基与抗体缀合。方案10说明了用于形成具有式(IV)的抗体药物缀合物的这种方法,其中来自抗体中赖氨酸残基的游离胺基基团与R^1基团(其中R^1为NHS酯、五氟苯基或四氟苯基)反应,以经由R^{100}基团(其中R^{100}是酰胺)将所述接头-药物基团与所述抗体共价附接。仅出于说明的目的,方案10示出了具有四个胺基基团的抗体。

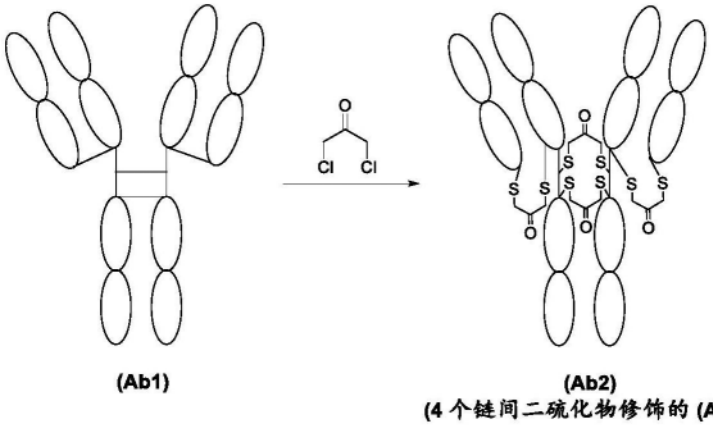
[1135] 方案10

[1136]

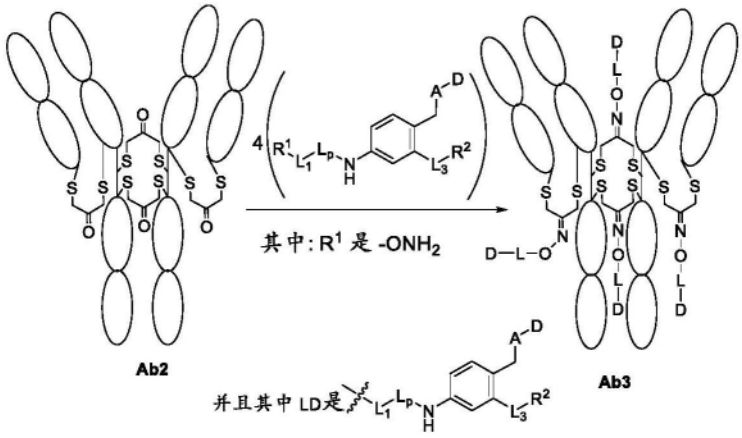


[1137] 在另一方面,经由在抗体的天然存在的二硫桥处形成肟桥而将接头-药物基团与抗体缀合。通过首先通过还原抗体的链间二硫桥并通过使用1,3-二卤代丙酮(例如1,3-二氯丙酮)再桥联来形成酮桥,从而形成肟桥。随后与包含羟胺的接头-药物基团反应,从而形成肟键(肟桥),所述肟键将接头-药物基团与所述抗体附接(参见例如WO2014/083505)。方案11说明了用于形成具有式(IV)的抗体药物缀合物的这种方法。

[1138] 方案11



[1139]



。

[1140] 还提供了用于评价本发明抗体缀合物的分析方法学的某些方面的方案。这种分析方法学和结果可以证明缀合物具有有利的性质,例如使它们更容易制造、更容易施用至患者、对患者更有效和/或潜在更安全的性质。一个实例是通过尺寸排阻色谱法(SEC)确定分子大小,其中样品中所期望的抗体种类的量相对于样品中存在的高分子量污染物(例如,二聚体、多聚体、或聚集抗体)或低分子量污染物(例如,抗体片段、降解产物、或单独抗体链)的量来确定。通常,期望具有更高量的单体和更低量的例如聚集抗体,这是由于例如聚集体对抗体样品的其他性质的影响,这些其他性质如但不限于清除率、免疫原性、和毒性。进一步的实例是通过疏水相互作用色谱法(HIC)确定疏水性,其中相对于一组已知性质的标准抗体来评估样品的疏水性。通常,期望具有低疏水性,这是由于疏水性对抗体样品的其他性质的影响,这些其他性质如但不限于聚集性、随时间的聚集性、对表面的粘附性、肝毒性、清除率、和药代动力学暴露。参见Damle,N.K.,Nat Biotechnol.[自然生物技术]2008;26(8):884-885;Singh,S.K.,Pharm Res.[药物研究]2015;32(11):3541-71。当通过疏水相互作用色谱法测量时,较高的疏水性指数得分(即,更快地从HIC柱洗脱)反映了缀合物的较低的疏水性。如以下实例中所示,大多数测试的抗体缀合物显示出大于0.8的疏水性指数。在一些实施例中,提供了如通过疏水相互作用色谱法确定的具有0.8或更大的疏水性指数的抗体缀合物。

[1141] 抗体

[1142] 本发明提供了包括特异性结合抗原(例如,肿瘤抗原)的抗体或抗体片段(例如,抗原结合片段)的抗体缀合物。本发明的抗体或抗体片段(例如,抗原结合片段)包括但不限于如实例中所述那样分离的人单克隆抗体或其片段。

[1143] 在某些实施例中,本发明提供了包括特异性结合P-钙粘蛋白的抗体或抗体片段(例如,抗原结合片段)的抗体缀合物,所述抗体或抗体片段(例如,抗原结合片段)包含具有SEQ ID NO:7、27、47、67、87、107、或154的氨基酸序列的VH结构域。在某些实施例中,本发明还提供了包括特异性结合P-钙粘蛋白的抗体或抗体片段(例如,抗原结合片段)的抗体缀合物,所述抗体或抗体片段(例如,抗原结合片段)包含具有下文表3中列出的任一个VH CDR的氨基酸序列的VH CDR。在特定的实施例中,本发明提供了包括特异性结合P-钙粘蛋白的抗体或抗体片段(例如,抗原结合片段)的抗体缀合物,所述抗体包含(或可替代地,由以下组成)一个、两个、三个、四个、五个或更多个具有下文表3中列出的任一VH CDR的氨基酸序列的VH CDR。

[1144] 本发明提供了包括特异性结合P-钙粘蛋白的抗体或抗体片段(例如,抗原结合片段)的抗体缀合物,所述抗体或抗体片段(例如,抗原结合片段)包含具有SEQ ID NO:17、37、57、77、97、117、或166的氨基酸序列的VL结构域。本发明还提供了包括特异性结合P-钙粘蛋白的抗体或抗体片段(例如,抗原结合片段)的抗体缀合物,所述抗体或抗体片段(例如,抗原结合片段)包含具有下文表3中列出的任一个VL CDR的氨基酸序列的VL CDR。特别地,本发明提供了包括特异性结合P-钙粘蛋白的抗体或抗体片段(例如,抗原结合片段)的抗体缀合物,所述抗体或抗体片段(例如,抗原结合片段)包含(或可替代地,由以下组成)一个、两个、三个或更多个具有下文表3中列出的任一VL CDR的氨基酸序列的VL CDR。

[1145] 本发明的其他抗体或抗体片段(例如,抗原结合片段)包括如下氨基酸,这些氨基酸已经突变,但在CDR区中与表3中所述序列中描绘的CDR区具有至少60%、70%、80%、90%或95%同一性。在一些实施例中,所述抗体包含突变氨基酸序列,其中当与表3中所述序列中描绘的CDR区相比时,CDR区中不超过1、2、3、4或5个氨基酸已经突变。

[1146] 本发明还提供了包括抗体或其抗原结合片段的抗体缀合物,所述抗体或其抗原结合片段在重链、轻链、或重链和轻链两者的恒定区中包含修饰,其中特定氨基酸残基已突变成半胱氨酸,在本文中也称为“CysMab”或“Cys”抗体。如上文所讨论的,可以以位点特异性方式并控制药物部分的数量(“DAR控制的”)而将药物部分缀合至抗体上的半胱氨酸残基。例如,在WO2014/124316中披露了出于位点特异性控制免疫缀合的目的对抗体进行的半胱氨酸修饰,所述文献以其全文并入本文。

[1147] 在一些实施例中,所述抗体已经在重链的位置152和375处被修饰,其中所述位置是根据EU编号系统定义的。即,所述修饰是E152C和S375C。在其他实施例中,所述抗体已经在重链的位置360处和κ轻链的位置107处被修饰,其中所述位置是根据EU编号系统定义的。即,所述修饰是K360C和K107C。例如,在表3的SEQ ID NO:148-150中的人IgG1重链和κ轻链恒定区的上下文中说明了这些突变的位置。贯穿表3,用下划线示出了来自野生型序列的半胱氨酸修饰。

[1148] 本发明还提供了编码特异性结合P-钙粘蛋白的抗体的VH、VL、全长重链、和全长轻链的核酸序列。此类核酸序列可以针对哺乳动物细胞中的表达进行优化。

[1149] 表3.本发明的抗P-钙粘蛋白抗体的实例

[1150]

P-Cad Mab2		
SEQ ID NO.	说明	序列
SEQ ID NO: 1	HCDR1（卡巴特）	SQSAAWN
SEQ ID NO: 2	HCDR2（卡巴特）	RIYYRSKWYNDYALSVKS
SEQ ID NO: 3	HCDR3（卡巴特）	GEGYGREGFAI
SEQ ID NO: 4	HCDR1（乔西亚）	GDSVSSQSA
SEQ ID NO: 5	HCDR2（乔西亚）	YYRSKWY
SEQ ID NO: 6	HCDR3（乔西亚）	GEGYGREGFAI
SEQ ID NO: 7	VH	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSVSSQSAAWN WIRQSPSRGLEWLGRIYYRSKWYNDYALSVKSRITINP DTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCARGEGYGREGFAI WGQGTLVTVSS
SEQ ID NO: 8	DNA VH	CAGGTGCAGCTGCAGCAGTCAGGCCCTGGCCTGGTC

[1151]

		AAGCCTAGTCAGACCCTGAGCCTGACCTGCGCTATT AGCGGCGATAGTGTGTCTAGTCAGTCAGCCGCCTGG AACTGGATTAGACAGTCACCCTCTAGGGGCCTGGAG TGGCTGGGTAGAATCTACTATAGGTCTAAGTGGTAT AACGACTACGCCCTGAGCGTGAAGTCTAGGATCACT ATTAACCCCGACACCTCTAAGAATCAGTTTAGCCTG CAGCTGAATAGCGTGACCCCCGAGGACACCGCCGTC TACTACTGCGCTAGAGGCGAGGGCTACGGTAGAGA GGGCTTCGCTATCTGGGGTCAGGGCACCCTGGTCAC CGTGTCTAGC
SEQ ID NO: 151	DNA VH	CAGGTGCAATTGCAGCAGAGCGGTCCGGGCCTGGT GAAACCGAGCCAGACCCTGAGCCTGACCTGCGCGA TTTCCGGAGATAGCGTGAGCTCTCAGTCTGCTGCTT GGAACTGGATTCGTCAGAGCCCGAGCCGTGGCCTCG AGTGGCTGGGCCGTATCTACTACCGTAGCAAATGGT ACAACGACTATGCCTTGAGCGTGAAAAGCCGCATTA CCATTAACCCGGATACTTCGAAAAACCAGTTTAGCC TGCAACTGAACAGCGTGACCCCGGAAGATACGGCC GTGTATTATTGCGCGCGTGGTGAAGGTTACGGTCGT GAAGGTTTCGCTATCTGGGGCCAAGGCACCCTGGTG ACTGTTAGCTCA
SEQ ID NO: 9	重链	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSVSSQSAAWN WIRQSPSRGLEWLGRIYYRSKWYNDYALSVKSRITINP DTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCARGEGYGREGFAI WGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKS CDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSPGK
SEQ ID NO: 10	DNA 重链	CAGGTGCAGCTGCAGCAGTCAGGCCCTGGCCTGGTC AAGCCTAGTCAGACCCTGAGCCTGACCTGCGCTATT AGCGGCGATAGTGTGTCTAGTCAGTCAGCCGCCTGG AACTGGATTAGACAGTCACCCTCTAGGGGCCTGGAG TGGCTGGGTAGAATCTACTATAGGTCTAAGTGGTAT AACGACTACGCCCTGAGCGTGAAGTCTAGGATCACT ATTAACCCCGACACCTCTAAGAATCAGTTTAGCCTG CAGCTGAATAGCGTGACCCCCGAGGACACCGCCGTC

[1152]

		TACTACTGCGCTAGAGGCGAGGGCTACGGTAGAGA GGGCTTCGCTATCTGGGGTCAGGGCACCCTGGTCAC CGTGTCTAGCGCTAGCACTAAGGGCCCAAGTGTGTT TCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGTCTACTTCCGGCGG AACTGCTGCCCTGGGTTGCCTGGTGAAGGACTACTT CCCCGAGCCCGTGACAGTGTCCTGGAACTCTGGGGC TCTGACTTCCGGCGTGCACACCTTCCCCGCCGTGCT GCAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTGAGCAGCGTGG TGACAGTGCCCTCCAGCTCTCTGGGAACCCAGACCT ATATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACC AAGGTGGACAAGAGAGTGGAGCCCAAGAGCTGCGA CAAGACCCACACCTGCCCCCCCTGCCCAGCTCCAGA ACTGCTGGGAGGGCCTTCCGTGTTCCTGTTCCCCCCC AAGCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCAGGACCCC CGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCCACGA GGACCCAGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGACG GCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCCAGA GAGGAGCAGTACAACAGCACCTACAGGGTGGTGTC CGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGG CAAAGAATACAAGTGCAAAGTCTCCAACAAGGCCC TGCCAGCCCCAATCGAAAAGACAATCAGCAAGGCC AAGGGCCAGCCACGGGAGCCCCAGGTGTACACCCT GCCCCCCAGCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGG TGTCCCTGACCTGTCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCA GCGATATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAG CCCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCCAGTGCTG GACAGCGACGGCAGCTTCTTCCTGTACAGCAAGCTG ACCGTGGACAAGTCCAGGTGGCAGCAGGGCAACGT GTTCAGCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAA CCACTACACCCAGAAGTCCCTGAGCCTGAGCCCCGG CAAG
SEQ ID NO: 130	E152C/S375C CysMab 突变的重链	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSVSSQSAAWN WIRQSPSRGLEWLGRIYYRSKWYNDYALSVKSRITINP DTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCARGEGYGREGFAI WGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFP**C**PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKS CDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCL VKGFYP**C**DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF

[1153]

		LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK
SEQ ID NO: 152	DNA E152C/S375C CysMab 突变的重链	CAGGTGCAATTGCAGCAGAGCGGTCCGGGCCTGGT GAAACCGAGCCAGACCCTGAGCCTGACCTGCGCGA TTTCCGGAGATAGCGTGAGCTCTCAGTCTGCTGCTT GGAACTGGATTCGTCAGAGCCCGAGCCGTGGCCTCG AGTGGCTGGGCCGTATCTACTACCGTAGCAAATGGT ACAACGACTATGCCTTGAGCGTGAAAAGCCGCATTA CCATTAACCCGGATACTTCGAAAAACCAGTTTAGCC TGCAACTGAACAGCGTGACCCCGGAAGATACGGCC GTGTATTATTGCGCGCGTGGTGAAGGTTACGGTCGT GAAGGTTTCGCTATCTGGGGCCAAGGCACCCTGGTG ACTGTTAGCTCAGCCTCTACGAAAGGCCCAAGCGTA TTTCCCCTGGCTCCTTCTAGTAAATCAACCTCAGGTG GTACAGCAGCCCTTGGCTGCCTGGTCAAAGACTATT TCCCCTGTCCGGTGACCGTCTCATGGAACTCAGGTG CTTTGACATCTGGTGTGCATACATTCCCAGCTGTGCT GCAAAGTAGTGGACTGTACAGCCTTTCCAGCGTGGT CACGGTGCCAAGTAGCTCCTTGGGTACTCAGACTTA TATCTGCAATGTGAACCACAAGCCCTCTAACACGAA GGTGGACAAGCGCGTGGAGCCCAAATCTTGCGATA AGACGCATACTTGTCCCCCATGCCCTGCTCCTGAGC TGTTGGGAGGCCCGTCAGTGTTCTTGTTCCCTCCGA AGCCTAAGGACACTTTGATGATAAGTAGGACACCA GAGGTGACTTGCGTGGTGGTTGATGTGTCCCATGAA GATCCCGAGGTCAAATTTAATTGGTACGTAGATGGT GTCGAAGTTCACAATGCTAAGACTAAGCCAAGGGA AGAGCAGTACAACAGTACATATAGGGTAGTCTCCGT GCTGACAGTCCTCCACCAGGACTGGTTGAACGGCAA GGAATACAAATGTAAGGTGTCAAACAAAGCTCTGC CTGCTCCCATTGAGAAAACAATCTCTAAAGCCAAAG GCCAGCCGAGAGAGCCCCAAGTCTACACTTTGCCCC CGAGCAGGGAGGAAATGACCAAGAATCAGGTGAGT CTGACGTGCCTCGTCAAAGGATTTTATCCATGCGAT ATTGCAGTTGAATGGGAGAGCAATGGCCAGCCAGA GAACAACTATAAAACCACACCACCCGTGCTCGACTC TGATGGCAGCTTCTTCCTCTATAGCAAGCTGACAGT CGATAAATCTCGCTGGCAGCAAGGCAATGTGTTCTC CTGCTCCGTCATGCACGAGGCTTTGCATAACCATTA TACTCAAAAATCTCTGTCCCTGTCACCTGGTAAA
SEQ ID NO: 131	K360C CysMab 突	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSVSSQSAAWN WIRQSPSRGLEWLGRIYYRSKWYNDYALSVKSRITINP

[1154]

	变的重链	DTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCARGEGYGREGFAI WGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKS CDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTCNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSPGK
SEQ ID NO: 11	LCDR1（卡巴特）	RASQTISNTLA
SEQ ID NO: 12	LCDR2（卡巴特）	AASNLQS
SEQ ID NO: 13	LCDR3（卡巴特）	QQYLSWFT
SEQ ID NO: 14	LCDR1（乔西亚）	SQTISNT
SEQ ID NO: 15	LCDR2（乔西亚）	AAS
SEQ ID NO: 16	LCDR3（乔西亚）	YLSWF
SEQ ID NO: 17	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQTISNTLAWYQQ KPGKAPKLLIYAASNLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISS LQPEDFATYYCQQYLSWFTFGQGTKVEIK
SEQ ID NO: 18	DNA VL	GATATTCAGATGACTCAGTCACCTAGTAGCCTGAGC GCTAGTGTGGGCGATAGAGTGACTATCACCTGTAGA GCCTCTCAGACTATCTCTAACACCCTGGCCTGGTAT CAGCAGAAGCCCGGTAAAGCCCCTAAGCTGCTGATC TACGCCGCCTCTAACCTGCAGTCAGGCGTGCCCTCT AGGTTTAGCGGTAGCGGTAGTGGCACCGACTTCACC CTGACTATTAGTAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCT ACCTACTACTGTCAGCAGTACCTGAGCTGGTTCACC TTCGGTCAGGGCACTAAGGTCGAGATTAAG
SEQ ID NO: 153	DNA VL	GATATCCAGATGACCCAGAGCCCGAGCAGCCTGAG CGCCAGCGTGGGCGATCGCGTGACCATTACCTGCAG AGCCAGCCAGACTATTTCTAACACTCTGGCTTGGTA CCAGCAGAAACCGGGCAAAGCGCCGAAACTATTAA TCTACGCTGCTTCTAACCTGCAAAGCGGCGTGCCGA GCCGCTTTAGCGGCAGCGGATCCGGCACCGATTTCA

[1155]

		CCCTGACCATTAGCTCTCTGCAACCGGAAGACTTTG CGACCTATTATTGCCAGCAGTACCTGTCTTGGTTCAC CTTTGGCCAGGGCACGAAAGTTGAAATTAAA
SEQ ID NO: 19	轻链	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQTISNTLAWYQQ KPGKAPKLLIYAASNLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISS LQPEDFATYYCQQYLSWFTFGQGTKVEIKRTVAAPSV FIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN ALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHK VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 20：	DNA 轻链	GATATTCAGATGACTCAGTCACCTAGTAGCCTGAGC GCTAGTGTGGGCGATAGAGTGACTATCACCTGTAGA GCCTCTCAGACTATCTCTAACACCCTGGCCTGGTAT CAGCAGAAGCCCGGTAAAGCCCCTAAGCTGCTGATC TACGCCGCCTCTAACCTGCAGTCAGGCGTGCCCTCT AGGTTTAGCGGTAGCGGTAGTGGCACCGACTTCACC CTGACTATTAGTAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCT ACCTACTACTGTCAGCAGTACCTGAGCTGGTTCACC TTCGGTCAGGGCACTAAGGTCGAGATTAAGCGTACG GTGGCCGCTCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCCCAGC GACGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGT GTGCCTGCTGAACAACTTCTACCCCCGGGAGGCCAA GGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGCG GCAACAGCCAGGAGAGCGTCACCGAGCAGGACAGC AAGGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTGACC CTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCATAAGGTGTA CGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCC CGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGCGAGTGC
SEQ ID NO: 154	DNA 轻链	GATATCCAGATGACCCAGAGCCCGAGCAGCCTGAG CGCCAGCGTGGGCGATCGCGTGACCATTACCTGCAG AGCCAGCCAGACTATTTCTAACACTCTGGCTTGGTA CCAGCAGAAACCGGGCAAAGCGCCGAAACTATTAA TCTACGCTGCTTCTAACCTGCAAAGCGGCGTGCCGA GCCGCTTTAGCGGCAGCGGATCCGGCACCGATTTCA CCCTGACCATTAGCTCTCTGCAACCGGAAGACTTTG CGACCTATTATTGCCAGCAGTACCTGTCTTGGTTCAC CTTTGGCCAGGGCACGAAAGTTGAAATTAAACGTAC GGTGGCCGCTCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCCCAG CGACGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGG TGTGCCTGCTGAACAACTTCTACCCCCGGGAGGCCA AGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGC GGCAACAGCCAGGAAAGCGTCACCGAGCAGGACAG CAAGGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTGAC

		CCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGT ACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCC CCGTGACCAAGAGCTTCAACCGGGGCGAGTGT
SEQ ID NO: 132	K107C CysMab 突变的轻链	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQTISNTLAWYQQ KPGKAPKLLIYAASNLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISS LQPEDFATYYCQQYLSWFTFGQGTKVEI**C**RTVAAPSV FIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN ALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHK VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[1156]

P-Cad Mab1		
SEQ ID NO: 21	HCDR1（卡巴特）	DHTIH
SEQ ID NO: 22	HCDR2（卡巴特）	YIYPRSGSINYNEKFKG
SEQ ID NO: 23	HCDR3（卡巴特）	RNLFLPMEY
SEQ ID NO: 24	HCDR1（乔西亚）	GYTFTDH
SEQ ID NO: 25	HCDR2（乔西亚）	YPRSGS
SEQ ID NO: 26	HCDR3（乔西亚）	RNLFLPMEY
SEQ ID NO: 27	VH	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKVSGYTFTDHTIHWM RQMPGKGLEWMGYIYPRSGSINYNEKFKGQVTISADK SSSTAYLQWSSLKASDTAMYYCARRNLFLPMEYWGQ GTLVTVSS
SEQ ID NO: 28	DNA VH	GAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTGAA GAAGCCCGGCGAGTCACTGAAGATTAGCTGTAAAG TCTCAGGCTACACCTTCACCGATCACACTATTCACT GGATGAGACAGATGCCCGGTAAAGGCCTGGAGTGG ATGGGCTATATCTACCCTAGATCAGGCTCTATTAAC TATAACGAGAAGTTTAAGGGTCAGGTCACAATTAGC GCCGATAAGTCTAGCTCTACCGCCTACCTGCAGTGG TCTAGCCTGAAGGCTAGTGACACCGCTATGTACTAC TGCGCTAGACGTAACCTGTTCCTGCCTATGGAATAC TGGGGTCAGGGCACCCTGGTCACCGTGTCTAGC
SEQ ID NO: 29	重链	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKVSGYTFTDHTIHWM RQMPGKGLEWMGYIYPRSGSINYNEKFKGQVTISADK SSSTAYLQWSSLKASDTAMYYCARRNLFLPMEYWGQ GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK

[1157]

[1158]

		DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 30	DNA 重链	GAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTGAA GAAGCCCGGCGAGTCACTGAAGATTAGCTGTAAAG TCTCAGGCTACACCTTCACCGATCACACTATTCACT GGATGAGACAGATGCCCGGTAAAGGCCTGGAGTGG ATGGGCTATATCTACCCTAGATCAGGCTCTATTAAC TATAACGAGAAGTTTAAGGGTCAGGTCACAATTAGC GCCGATAAGTCTAGCTCTACCGCCTACCTGCAGTGG TCTAGCCTGAAGGCTAGTGACACCGCTATGTACTAC TGCGCTAGACGTAACCTGTTCCTGCCTATGGAATAC TGGGGTCAGGGCACCCTGGTCACCGTGTCTAGCGCT AGCACTAAGGGCCCAAGTGTGTTTCCCCTGGCCCCC AGCAGCAAGTCTACTTCCGGCGGAACTGCTGCCCTG GGTTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTG ACAGTGTCCTGGAACTCTGGGGCTCTGACTTCCGGC GTGCACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGC CTGTACAGCCTGAGCAGCGTGGTGACAGTGCCCTCC AGCTCTCTGGGAACCCAGACCTATATCTGCAACGTG AACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAG AGTGGAGCCCAAGAGCTGCGACAAGACCCACACCT GCCCCCCCTGCCCAGCTCCAGAACTGCTGGGAGGGC CTTCCGTGTTCCTGTTCCCCCCCAAGCCCAAGGACA CCCTGATGATCAGCAGGACCCCCGAGGTGACCTGCG TGGTGGTGGACGTGTCCCACGAGGACCCAGAGGTG AAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCA CAACGCCAAGACCAAGCCCAGAGAGGAGCAGTACA ACAGCACCTACAGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGC TGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAATACAAG TGCAAAGTCTCCAACAAGGCCCTGCCAGCCCCAATC GAAAAGACAATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCACG GGAGCCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCCAGCCGGGA GGAGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCT GGTGAAGGGCTTCTACCCCAGCGATATCGCCGTGGA GTGGGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGAACAACTACA AGACCACCCCCCCAGTGCTGGACAGCGACGGCAGC

[1159]

		TTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGTCC AGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCAGCTGCAGCGT GATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGA AGTCCCTGAGCCTGAGCCCCGGCAAG
SEQ ID NO: 133	E152C/S375C CysMab 突变的重链	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKVSGYTFTDHTIHWM RQMPGKGLEWMGYIYPRSGSINYNEKFKGQVTISADK SSSTAYLQWSSLKASDTAMYYCARRNLFLPMEYWGQ GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFP**C**PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY P**C**DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 134	K360C CysMab 突变的重链	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKVSGYTFTDHTIHWM RQMPGKGLEWMGYIYPRSGSINYNEKFKGQVTISADK SSSTAYLQWSSLKASDTAMYYCARRNLFLPMEYWGQ GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT**C**NQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 31	LCDR1（卡巴特）	RSSQSLLSSGDQKNYLT
SEQ ID NO: 32	LCDR2（卡巴特）	WASTRES
SEQ ID NO: 33	LCDR3（卡巴特）	QNDYRYPLT
SEQ ID NO: 34	LCDR1（乔西亚）	SQSLLSSGDQKNY
SEQ ID NO: 35	LCDR2（乔西亚）	WAS
SEQ ID NO: 36	LCDR3（乔西亚）	DYRYPL
SEQ ID NO: 37	VL	DIVMTQTPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLSSGDQKNYL

[1160]

		TWYLQKPGQSPQLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDF TLKISRVEAEDVGVYYCQNDYRYPLTFGQGTKLEIK
SEQ ID NO: 38	DNA VL	GATATCGTGATGACTCAGACCCCCCTGAGCCTGCCC GTGACCCCTGGCGAGCCTGCCTCTATTAGCTGTAGA TCTAGTCAGTCACTGCTGTCTAGCGGCGATCAGAAG AACTACCTGACCTGGTATCTGCAGAAGCCCGGTCAG TCACCTCAGCTGCTGATCTACTGGGCCTCTACTAGA GAATCAGGCGTGCCCGATAGGTTTAGCGGTAGCGGT AGTGGCACCGACTTCACCCTGAAGATCTCTAGGGTG GAAGCCGAGGACGTGGGCGTCTACTACTGTCAGAA CGACTATAGATACCCCCTGACCTTCGGTCAGGGCAC TAAGCTGGAGATTAAG
SEQ ID NO: 39	轻链	DIVMTQTPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLSSGDQKNYL TWYLQKPGQSPQLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDF TLKISRVEAEDVGVYYCQNDYRYPLTFGQGTKLEIKR TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKV QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 40：	DNA 轻链	GATATCGTGATGACTCAGACCCCCCTGAGCCTGCCC GTGACCCCTGGCGAGCCTGCCTCTATTAGCTGTAGA TCTAGTCAGTCACTGCTGTCTAGCGGCGATCAGAAG AACTACCTGACCTGGTATCTGCAGAAGCCCGGTCAG TCACCTCAGCTGCTGATCTACTGGGCCTCTACTAGA GAATCAGGCGTGCCCGATAGGTTTAGCGGTAGCGGT AGTGGCACCGACTTCACCCTGAAGATCTCTAGGGTG GAAGCCGAGGACGTGGGCGTCTACTACTGTCAGAA CGACTATAGATACCCCCTGACCTTCGGTCAGGGCAC TAAGCTGGAGATTAAGCGTACGGTGGCCGCTCCCAG CGTGTTCATCTTCCCCCCCAGCGACGAGCAGCTGAA GAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAACA ACTTCTACCCCCGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAG GTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGA GAGCGTCACCGAGCAGGACAGCAAGGACTCCACCT ACAGCCTGAGCAGCACCCTGACCCTGAGCAAGGCC GACTACGAGAAGCATAAGGTGTACGCCTGCGAGGT GACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGA GCTTCAACAGGGGCGAGTGC
SEQ ID NO: 135	K107C CysMab 突 变的轻链	DIVMTQTPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLSSGDQKNYL TWYLQKPGQSPQLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDF TLKISRVEAEDVGVYYCQNDYRYPLTFGQGTKLEI**C**R TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKV QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSK

[1161]

		ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[1162]

P-Cad Mab3		
SEQ ID NO: 41	HCDR1（卡巴特）	DHTIH
SEQ ID NO: 42	HCDR2（卡巴特）	YIYPRSGSINYNEKFKG
SEQ ID NO: 43	HCDR3（卡巴特）	RNLFLPMEY
SEQ ID NO: 44	HCDR1（乔西亚）	GYTFTDH
SEQ ID NO: 45	HCDR2（乔西亚）	YPRSGS
SEQ ID NO: 46	HCDR3（乔西亚）	RNLFLPMEY
SEQ ID NO: 47	VH	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKVSGYTFTDHTIHWM RQMPGKGLEWMGYIYPRSGSINYNEKFKGQVTISADK SSSTAYLQWSSLKASDTAMYYCARRNLFLPMEYWGQ GTLVTVSS
SEQ ID NO: 48	DNA VH	GAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTGAA GAAGCCCGGCGAGTCACTGAAGATTAGCTGTAAAG TCTCAGGCTACACCTTCACCGATCACACTATTCACT GGATGAGACAGATGCCCGGTAAAGGCCTGGAGTGG ATGGGCTATATCTACCCTAGATCAGGCTCTATTAAC TATAACGAGAAGTTTAAGGGTCAGGTCACAATTAGC GCCGATAAGTCTAGCTCTACCGCCTACCTGCAGTGG TCTAGCCTGAAGGCTAGTGACACCGCTATGTACTAC TGCGCTAGACGTAACCTGTTCCTGCCTATGGAATAC TGGGGTCAGGGCACCCTGGTCACCGTGTCTAGC
SEQ ID NO: 49	重链	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKVSGYTFTDHTIHWM RQMPGKGLEWMGYIYPRSGSINYNEKFKGQVTISADK SSSTAYLQWSSLKASDTAMYYCARRNLFLPMEYWGQ GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[1163]

SEQ ID NO: 50	DNA 重链	GAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTGAA GAAGCCCGGCGAGTCACTGAAGATTAGCTGTAAAG TCTCAGGCTACACCTTCACCGATCACACTATTCACT GGATGAGACAGATGCCCGGTAAAGGCCTGGAGTGG ATGGGCTATATCTACCCTAGATCAGGCTCTATTAAC TATAACGAGAAGTTTAAGGGTCAGGTCACAATTAGC GCCGATAAGTCTAGCTCTACCGCCTACCTGCAGTGG TCTAGCCTGAAGGCTAGTGACACCGCTATGTACTAC TGCGCTAGACGTAACCTGTTCCTGCCTATGGAATAC TGGGGTCAGGGCACCCTGGTCACCGTGTCTAGCGCT AGCACTAAGGGCCCAAGTGTGTTTCCCCTGGCCCCC AGCAGCAAGTCTACTTCCGGCGGAACTGCTGCCCTG GGTTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTG ACAGTGTCCTGGAACTCTGGGGCTCTGACTTCCGGC GTGCACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGC CTGTACAGCCTGAGCAGCGTGGTGACAGTGCCCTCC AGCTCTCTGGGAACCCAGACCTATATCTGCAACGTG AACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAG AGTGGAGCCCAAGAGCTGCGACAAGACCCACACCT GCCCCCCCTGCCCAGCTCCAGAACTGCTGGGAGGGC CTTCCGTGTTCCTGTTCCCCCCCAAGCCCAAGGACA CCCTGATGATCAGCAGGACCCCCGAGGTGACCTGCG TGGTGGTGGACGTGTCCCACGAGGACCCAGAGGTG AAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCA CAACGCCAAGACCAAGCCCAGAGAGGAGCAGTACA ACAGCACCTACAGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGC TGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAATACAAG TGCAAAGTCTCCAACAAGGCCCTGCCAGCCCCAATC GAAAAGACAATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCACG GGAGCCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCCAGCCGGGA GGAGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCT GGTGAAGGGCTTCTACCCCAGCGATATCGCCGTGGA GTGGGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGAACAACTACA AGACCACCCCCCCAGTGCTGGACAGCGACGGCAGC TTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGTCC AGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCAGCTGCAGCGT GATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGA AGTCCCTGAGCCTGAGCCCCGGCAAG
SEQ ID NO: 136	E152C/S375C CysMab 突变的重链	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKVSGYTFTDHTIHWM RQMPGKGLEWMGYIYPRSGSINYNEKFKGQVTISADK SSSTAYLQWSSLKASDTAMYYCARRNLFLPMEYWGQ GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK

[1164]

		DYFPCPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PCDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 137	K360C CysMab 突变的重链	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKVSGYTFTDHTIHWM RQMPGKGLEWMGYIYPRSGSINYNEKFKGQVTISADK SSSTAYLQWSSLKASDTAMYYCARRNLFLPMEYWGQ GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTCNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 51	LCDR1（卡巴特）	RSSQSLLSSGNQKNYLT
SEQ ID NO: 52	LCDR2（卡巴特）	WASTRES
SEQ ID NO: 53	LCDR3（卡巴特）	QNDYSYPLT
SEQ ID NO: 54	LCDR1（乔西亚）	SQSLLSSGNQKNY
SEQ ID NO: 55	LCDR2（乔西亚）	WAS
SEQ ID NO: 56	LCDR3（乔西亚）	DYSYPL
SEQ ID NO: 57	VL	DIVMTQTPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLSSGNQKNYL TWYLQKPGQSPQLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDF TLKISRVEAEDVGVYYCQNDYSYPLTFGQGTKLEIK
SEQ ID NO: 58	DNA VL	GATATCGTGATGACTCAGACCCCCCTGAGCCTGCCC GTGACCCCTGGCGAGCCTGCCTCTATTAGCTGTAGA TCTAGTCAGTCACTGCTGTCTAGCGGTAATCAGAAG AACTACCTGACCTGGTATCTGCAGAAGCCCGGTCAG TCACCTCAGCTGCTGATCTACTGGGCCTCTACTAGA GAATCAGGCGTGCCCGATAGGTTTAGCGGTAGCGGT

[1165]

		AGTGGCACCGACTTCACCCTGAAGATCTCTAGGGTG GAAGCCGAGGACGTGGGCGTCTACTACTGTCAGAA CGACTATAGCTACCCCCTGACCTTCGGTCAGGGCAC TAAGCTGGAGATTAAG
SEQ ID NO: 59	轻链	DIVMTQTPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLSSGNQKNYL TWYLQKPGQSPQLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDF TLKISRVEAEDVGVYYCQNDYSYPLTFGQGTKLEIKRT VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 60：	DNA 轻链	GATATCGTGATGACTCAGACCCCCCTGAGCCTGCCC GTGACCCCTGGCGAGCCTGCCTCTATTAGCTGTAGA TCTAGTCAGTCACTGCTGTCTAGCGGTAATCAGAAG AACTACCTGACCTGGTATCTGCAGAAGCCCGGTCAG TCACCTCAGCTGCTGATCTACTGGGCCTCTACTAGA GAATCAGGCGTGCCCGATAGGTTTAGCGGTAGCGGT AGTGGCACCGACTTCACCCTGAAGATCTCTAGGGTG GAAGCCGAGGACGTGGGCGTCTACTACTGTCAGAA CGACTATAGCTACCCCCTGACCTTCGGTCAGGGCAC TAAGCTGGAGATTAAGCGTACGGTGGCCGCTCCCAG CGTGTTCATCTTCCCCCCCAGCGACGAGCAGCTGAA GAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAACA ACTTCTACCCCCGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAG GTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGA GAGCGTCACCGAGCAGGACAGCAAGGACTCCACCT ACAGCCTGAGCAGCACCCTGACCCTGAGCAAGGCC GACTACGAGAAGCATAAGGTGTACGCCTGCGAGGT GACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGA GCTTCAACAGGGGCGAGTGC
SEQ ID NO: 138	K107C CysMab 突变的轻链	DIVMTQTPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLSSGNQKNYL TWYLQKPGQSPQLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDF TLKISRVEAEDVGVYYCQNDYSYPLTFGQGTKLEI**C**RT VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[1166]

P-Cad Mab4		
SEQ ID NO: 61	HCDR1（卡巴特）	DHTLH
SEQ ID NO: 62	HCDR2（卡巴特）	YIYPRSGSTKYNENFRG
SEQ ID NO: 63	HCDR3（卡巴	RLLFLPLDY

[1167]

	特）	
SEQ ID NO: 64	HCDR1（乔西亚）	GYTFTDH
SEQ ID NO: 65	HCDR2（乔西亚）	YPRSGS
SEQ ID NO: 66	HCDR3（乔西亚）	RLLFLPLDY
SEQ ID NO: 67	VH	QIQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKVSGYTFTDHTLHW MRQAPGQGLEWMGYIYPRSGSTKYNENFRGRVTITA DTSSSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRLLFLPLDYW GQGTLVTVSS
SEQ ID NO: 68	DNA VH	CAGATTCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTGAA GAAACCCGGCTCTAGCGTGAAAGTCAGCTGTAAAG TCTCAGGCTACACCTTCACCGATCACACCCTGCAC TGGATGAGACAGGCCCCAGGTCAGGGCCTGGAGT GGATGGGCTATATCTACCCTAGATCAGGCTCTACT AAGTATAACGAGAACTTTAGGGGTAGAGTGACTAT CACCGCCGACACTAGCTCTAGCACCGCCTATATGG AACTGTCTAGCCTGAGATCAGAGGACACCGCCGTC TACTACTGCGCTAGACGGCTGCTGTTCCTGCCCCTG GACTACTGGGGTCAGGGCACCCTGGTCACCGTGTC TAGC
SEQ ID NO: 69	重链	QIQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKVSGYTFTDHTLHW MRQAPGQGLEWMGYIYPRSGSTKYNENFRGRVTITA DTSSSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRLLFLPLDYW GQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEP KSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 70	DNA 重链	CAGATTCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTGAA GAAACCCGGCTCTAGCGTGAAAGTCAGCTGTAAAG TCTCAGGCTACACCTTCACCGATCACACCCTGCAC TGGATGAGACAGGCCCCAGGTCAGGGCCTGGAGT GGATGGGCTATATCTACCCTAGATCAGGCTCTACT AAGTATAACGAGAACTTTAGGGGTAGAGTGACTAT

[1168]

		CACCGCCGACACTAGCTCTAGCACCGCCTATATGG AACTGTCTAGCCTGAGATCAGAGGACACCGCCGTC TACTACTGCGCTAGACGGCTGCTGTTCCTGCCCCTG GACTACTGGGGTCAGGGCACCCTGGTCACCGTGTC TAGCGCTAGCACTAAGGGCCCAAGTGTGTTTCCCC TGGCCCCCAGCAGCAAGTCTACTTCCGGCGGAACT GCTGCCCTGGGTTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCC CGAGCCCGTGACAGTGTCCTGGAACTCTGGGGCTC TGACTTCCGGCGTGCACACCTTCCCCGCCGTGCTG CAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTGAGCAGCGTGGT GACAGTGCCCTCCAGCTCTCTGGGAACCCAGACCT ATATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACC AAGGTGGACAAGAGAGTGGAGCCCAAGAGCTGCG ACAAGACCCACACCTGCCCCCCCTGCCCAGCTCCA GAACTGCTGGGAGGGCCTTCCGTGTTCCTGTTCCC CCCCAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCAGG ACCCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTC CCACGAGGACCCAGAGGTGAAGTTCAACTGGTAC GTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCA AGCCCAGAGAGGAGCAGTACAACAGCACCTACAG GGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGACT GGCTGAACGGCAAAGAATACAAGTGCAAAGTCTC CAACAAGGCCCTGCCAGCCCCAATCGAAAAGACA ATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCACGGGAGCCCC AGGTGTACACCCTGCCCCCCAGCCGGGAGGAGATG ACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTGGTGAA GGGCTTCTACCCCAGCGATATCGCCGTGGAGTGGG AGAGCAACGGCCAGCCCGAGAACAACTACAAGAC CACCCCCCCAGTGCTGGACAGCGACGGCAGCTTCT TCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCAGG TGGCAGCAGGGCAACGTGTTCAGCTGCAGCGTGAT GCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGT CCCTGAGCCTGAGCCCCGGCAAG
SEQ ID NO: 139	E152C/S375C CysMab 突变的重链	QIQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKVSGYTFTDHTLHW MRQAPGQGLEWMGYIYPRSGSTKYNENFRGRVTITA DTSSSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRLLFLPLDYW GQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFP**C**PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEP KSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN

[1169]

		KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPCDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVL DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 140	K360C CysMab 突变的重链	QIQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKVSGYTFTDHTLHW MRQAPGQGLEWMGYIYPRSGSTKYNENFRGRVTITA DTSSSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRLLFLPLDYW GQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEP KSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTCNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 71	LCDR1（卡巴特）	RSSQSLLSSGNQKSYLT
SEQ ID NO: 72	LCDR2（卡巴特）	WASTRES
SEQ ID NO: 73	LCDR3（卡巴特）	QNDYSYPFT
SEQ ID NO: 74	LCDR1（乔西亚）	SQSLLSSGNQKSY
SEQ ID NO: 75	LCDR2（乔西亚）	WAS
SEQ ID NO: 76	LCDR3（乔西亚）	DYSYPF
SEQ ID NO: 77	VL	EIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSQSLLSSGNQKSY LTWYQQKPGQAPRLLIYWASTRESGIPARFSGSGSGT DFTLTISSLQPEDFAVYYCQNDYSYPFTFGQGTKLEIK
SEQ ID NO: 78	DNA VL	GAGATCGTGATGACTCAGTCACCCGCTACCCTGAG CCTGAGCCCTGGCGAGAGAGCTACACTGAGCTGTA GATCTAGTCAGTCACTGCTGTCTAGCGGTAATCAG AAGTCCTACCTGACCTGGTATCAGCAGAAGCCCGG TCAGGCCCCTAGACTGCTGATCTACTGGGCCTCTA CTAGAGAGTCAGGGATCCCCGCTAGGTTTAGCGGT AGCGGTAGTGGCACCGACTTCACCCTGACTATCTC TAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCGTCTACTACT GTCAGAACGACTATAGCTACCCCTTCACCTTCGGT

[1170]

		CAGGGCACTAAGCTGGAGATTAAG
SEQ ID NO: 79	轻链	EIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSQSLLSSGNQKSY LTWYQQKPGQAPRLLIYWASTRESGIPARFSGSGSGT DFTLTISSLQPEDFAVYYCQNDYSYPFTFGQGTKLEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREA KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 80：	DNA 轻链	GAGATCGTGATGACTCAGTCACCCGCTACCCTGAG CCTGAGCCCTGGCGAGAGAGCTACACTGAGCTGTA GATCTAGTCAGTCACTGCTGTCTAGCGGTAATCAG AAGTCCTACCTGACCTGGTATCAGCAGAAGCCCGG TCAGGCCCCTAGACTGCTGATCTACTGGGCCTCTA CTAGAGAGTCAGGGATCCCCGCTAGGTTTAGCGGT AGCGGTAGTGGCACCGACTTCACCCTGACTATCTC TAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCGTCTACTACT GTCAGAACGACTATAGCTACCCCTTCACCTTCGGT CAGGGCACTAAGCTGGAGATTAAGCGTACGGTGG CCGCTCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCCCAGCGAC GAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGT GCCTGCTGAACAACTTCTACCCCCGGGAGGCCAAG GTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGCG GCAACAGCCAGGAGAGCGTCACCGAGCAGGACAG CAAGGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTGA CCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCATAAGGT GTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCCA GCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGCGAGTG C
SEQ ID NO: 141	K107C CysMab 突变的轻链	EIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSQSLLSSGNQKSY LTWYQQKPGQAPRLLIYWASTRESGIPARFSGSGSGT DFTLTISSLQPEDFAVYYCQNDYSYPFTFGQGTKLEI**C** RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREA KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[1171]

P-Cad Mab5		
SEQ ID NO: 81	HCDR1（卡巴特）	DHTLH
SEQ ID NO: 82	HCDR2（卡巴特）	YIYPRSGSTKYNENFRG
SEQ ID NO: 83	HCDR3（卡巴特）	RLLFLPLDY

[1172]

SEQ ID NO: 84	HCDR1（乔西亚）	GYTFTDH
SEQ ID NO: 85	HCDR2（乔西亚）	YPRSGS
SEQ ID NO: 86	HCDR3（乔西亚）	RLLFLPLDY
SEQ ID NO: 87	VH	QIQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKVSGYTFTDHTLHW MRQAPGQGLEWMGYIYPRSGSTKYNENFRGRVTITA DTSSSTAYMELSSLRSEDTAVYYCVRRLLFLPLDYW GQGTLVTVSS
SEQ ID NO: 88	DNA VH	CAGATTCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTGAA GAAACCCGGCTCTAGCGTGAAAGTCAGCTGTAAAG TCTCAGGCTACACCTTCACCGATCACACCCTGCAC TGGATGAGACAGGCCCCAGGTCAGGGCCTGGAGT GGATGGGCTATATCTACCCTAGATCAGGCTCTACT AAGTATAACGAGAACTTTAGGGGTAGAGTGACTAT CACCGCCGACACTAGCTCTAGCACCGCCTATATGG AACTGTCTAGCCTGAGATCAGAGGACACCGCCGTC TACTACTGCGTCAGACGGCTGCTGTTCCTGCCCCTG GACTACTGGGGTCAGGGCACCCTGGTCACCGTGTC TAGC
SEQ ID NO: 89	重链	QIQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKVSGYTFTDHTLHW MRQAPGQGLEWMGYIYPRSGSTKYNENFRGRVTITA DTSSSTAYMELSSLRSEDTAVYYCVRRLLFLPLDYW GQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEP KSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 90	DNA 重链	CAGATTCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTGAA GAAACCCGGCTCTAGCGTGAAAGTCAGCTGTAAAG TCTCAGGCTACACCTTCACCGATCACACCCTGCAC TGGATGAGACAGGCCCCAGGTCAGGGCCTGGAGT GGATGGGCTATATCTACCCTAGATCAGGCTCTACT AAGTATAACGAGAACTTTAGGGGTAGAGTGACTAT CACCGCCGACACTAGCTCTAGCACCGCCTATATGG AACTGTCTAGCCTGAGATCAGAGGACACCGCCGTC

[1173]

		TACTACTGCGTCAGACGGCTGCTGTTCCTGCCCCTG GACTACTGGGGTCAGGGCACCCTGGTCACCGTGTC TAGCGCTAGCACTAAGGGCCCAAGTGTGTTTCCCC TGGCCCCCAGCAGCAAGTCTACTTCCGGCGGAACT GCTGCCCTGGGTTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCC CGAGCCCGTGACAGTGTCCTGGAACTCTGGGGCTC TGACTTCCGGCGTGCACACCTTCCCCGCCGTGCTG CAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTGAGCAGCGTGGT GACAGTGCCCTCCAGCTCTCTGGGAACCCAGACCT ATATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACC AAGGTGGACAAGAGAGTGGAGCCCAAGAGCTGCG ACAAGACCCACACCTGCCCCCCCTGCCCAGCTCCA GAACTGCTGGGAGGGCCTTCCGTGTTCCTGTTCCC CCCCAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCAGG ACCCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTC CCACGAGGACCCAGAGGTGAAGTTCAACTGGTAC GTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCA AGCCCAGAGAGGAGCAGTACAACAGCACCTACAG GGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGACT GGCTGAACGGCAAAGAATACAAGTGCAAAGTCTC CAACAAGGCCCTGCCAGCCCCAATCGAAAAGACA ATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCACGGGAGCCCC AGGTGTACACCCTGCCCCCCAGCCGGGAGGAGATG ACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTGGTGAA GGGCTTCTACCCCAGCGATATCGCCGTGGAGTGGG AGAGCAACGGCCAGCCCGAGAACAACTACAAGAC CACCCCCCCAGTGCTGGACAGCGACGGCAGCTTCT TCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCAGG TGGCAGCAGGGCAACGTGTTCAGCTGCAGCGTGAT GCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGT CCCTGAGCCTGAGCCCCGGCAAG
SEQ ID NO: 142	E152C/S375C CysMab 突变的重链	QIQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKVSGYTFTDHTLHW MRQAPGQGLEWMGYIYPRSGSTKYNENFRGRVTITA DTSSSTAYMELSSLRSEDTAVYYCVRRLLFLPLDYW GQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFP**C**PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEP KSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYP**C**DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVL

[1174]

		DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 143	K360C CysMab 突变的重链	QIQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKVSGYTFTDHTLHW MRQAPGQGLEWMGYIYPRSGSTKYNENFRGRVTITA DTSSSTAYMELSSLRSEDTAVYYCVRRLLFLPLDYW GQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEP KSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTCNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 91	LCDR1（卡巴特）	RSSQSLLSSGNQKSYLT
SEQ ID NO: 92	LCDR2（卡巴特）	WASTRES
SEQ ID NO: 93	LCDR3（卡巴特）	QNDYSYPFT
SEQ ID NO: 94	LCDR1（乔西亚）	SQSLLSSGNQKSY
SEQ ID NO: 95	LCDR2（乔西亚）	WAS
SEQ ID NO: 96	LCDR3（乔西亚）	DYSYPF
SEQ ID NO: 97	VL	EIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSQSLLSSGNQKSY LTWYQQKPGQAPRLLIYWASTRESGIPARFSGSGSGT DFTLTISSLQPEDFAVYYCQNDYSYPFTFGQGTKLEIK
SEQ ID NO: 98	DNA VL	GAGATCGTGATGACTCAGTCACCCGCTACCCTGAG CCTGAGCCCTGGCGAGAGAGCTACACTGAGCTGTA GATCTAGTCAGTCACTGCTGTCTAGCGGTAATCAG AAGTCCTACCTGACCTGGTATCAGCAGAAGCCCGG TCAGGCCCCTAGACTGCTGATCTACTGGGCCTCTA CTAGAGAGTCAGGGATCCCCGCTAGGTTTAGCGGT AGCGGTAGTGGCACCGACTTCACCCTGACTATCTC TAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCGTCTACTACT GTCAGAACGACTATAGCTACCCCTTCACCTTCGGT CAGGGCACTAAGCTGGAGATTAAG

[1175]

SEQ ID NO: 99	轻链	EIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSQSLLSSGNQKSY LTWYQQKPGQAPRLLIYWASTRESGIPARFSGSGSGT DFTLTISSLQPEDFAVYYCQNDYSYPFTFGQGTKLEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREA KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 100	DNA 轻链	GAGATCGTGATGACTCAGTCACCCGCTACCCTGAG CCTGAGCCCTGGCGAGAGAGCTACACTGAGCTGTA GATCTAGTCAGTCACTGCTGTCTAGCGGTAATCAG AAGTCCTACCTGACCTGGTATCAGCAGAAGCCCGG TCAGGCCCCTAGACTGCTGATCTACTGGGCCTCTA CTAGAGAGTCAGGGATCCCCGCTAGGTTTAGCGGT AGCGGTAGTGGCACCGACTTCACCCTGACTATCTC TAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCGTCTACTACT GTCAGAACGACTATAGCTACCCCTTCACCTTCGGT CAGGGCACTAAGCTGGAGATTAAGCGTACGGTGG CCGCTCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCCCAGCGAC GAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGT GCCTGCTGAACAACTTCTACCCCCGGGAGGCCAAG GTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGCG GCAACAGCCAGGAGAGCGTCACCGAGCAGGACAG CAAGGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTGA CCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCATAAGGT GTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCCA GCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGCGAGTG C
SEQ ID NO: 144	K107C CysMab 突变的轻链	EIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSQSLLSSGNQKSY LTWYQQKPGQAPRLLIYWASTRESGIPARFSGSGSGT DFTLTISSLQPEDFAVYYCQNDYSYPFTFGQGTKLEI**C** RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREA KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[1176]

P-Cad Mab6		
SEQ ID NO: 101	HCDR1（卡巴特）	DHTLH
SEQ ID NO: 102	HCDR2（卡巴特）	YIYPRSGSTKYNENFKG
SEQ ID NO: 103	HCDR3（卡巴特）	RLLFLPLDY
SEQ ID NO: 104	HCDR1（乔西	GYTFTDH

	亚）	
SEQ ID NO: 105	HCDR2（乔西亚）	YPRSGS
SEQ ID NO: 106	HCDR3（乔西亚）	RLLFLPLDY
SEQ ID NO: 107	VH	QIQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKVSGYTFTDHTLHW MRQAPGQGLEWMGYIYPRSGSTKYNENFKGRVTITA DTSSSTAYMELSSLRSEDTAVYYCVRRLLFLPLDYW GQGTLVTVSS
SEQ ID NO: 108	DNA VH	CAGATTCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTGAA GAAACCCGGCTCTAGCGTGAAAGTCAGCTGTAAAG TCTCAGGCTACACCTTCACCGATCACACCCTGCACT GGATGAGACAGGCCCCAGGTCAGGGCCTGGAGTG GATGGGCTATATCTACCCTAGATCAGGCTCTACTA AGTATAACGAGAACTTTAAGGGTAGAGTGACTATC ACCGCCGACACTAGCTCTAGCACCGCCTATATGGA ACTGTCTAGCCTGAGATCAGAGGACACCGCCGTCT ACTACTGCGTCAGACGGCTGCTGTTCCTGCCCCTG GACTACTGGGGTCAGGGCACCCTGGTCACCGTGTC TAGC
SEQ ID NO: 109	重链	QIQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKVSGYTFTDHTLHW MRQAPGQGLEWMGYIYPRSGSTKYNENFKGRVTITA DTSSSTAYMELSSLRSEDTAVYYCVRRLLFLPLDYW GQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPK SCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 110	DNA 重链	CAGATTCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTGAA GAAACCCGGCTCTAGCGTGAAAGTCAGCTGTAAAG TCTCAGGCTACACCTTCACCGATCACACCCTGCACT GGATGAGACAGGCCCCAGGTCAGGGCCTGGAGTG GATGGGCTATATCTACCCTAGATCAGGCTCTACTA AGTATAACGAGAACTTTAAGGGTAGAGTGACTATC ACCGCCGACACTAGCTCTAGCACCGCCTATATGGA ACTGTCTAGCCTGAGATCAGAGGACACCGCCGTCT ACTACTGCGTCAGACGGCTGCTGTTCCTGCCCCTG

[1177]

[1178]

		GACTACTGGGGTCAGGGCACCCTGGTCACCGTGTC TAGCGCTAGCACTAAGGGCCCAAGTGTGTTTCCCC TGGCCCCCAGCAGCAAGTCTACTTCCGGCGGAACT GCTGCCCTGGGTTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCC CGAGCCCGTGACAGTGTCCTGGAACTCTGGGGCTC TGACTTCCGGCGTGCACACCTTCCCCGCCGTGCTGC AGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTGAGCAGCGTGGTG ACAGTGCCCTCCAGCTCTCTGGGAACCCAGACCTA TATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACCA AGGTGGACAAGAGAGTGGAGCCCAAGAGCTGCGA CAAGACCCACACCTGCCCCCCCTGCCCAGCTCCAG AACTGCTGGGAGGGCCTTCCGTGTTCCTGTTCCCCC CCAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCAGGACC CCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCCA CGAGGACCCAGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGG ACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCC CAGAGAGGAGCAGTACAACAGCACCTACAGGGTG GTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGCT GAACGGCAAAGAATACAAGTGCAAAGTCTCCAAC AAGGCCCTGCCAGCCCCAATCGAAAAGACAATCA GCAAGGCCAAGGGCCAGCCACGGGAGCCCCAGGT GTACACCCTGCCCCCCAGCCGGGAGGAGATGACCA AGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTGGTGAAGGGC TTCTACCCCAGCGATATCGCCGTGGAGTGGGAGAG CAACGGCCAGCCCGAGAACAACTACAAGACCACC CCCCCAGTGCTGGACAGCGACGGCAGCTTCTTCCT GTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCAGGTGGC AGCAGGGCAACGTGTTCAGCTGCAGCGTGATGCAC GAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCT GAGCCTGAGCCCCGGCAAG
SEQ ID NO: 145	E152C/S375C CysMab 突变的重链	QIQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKVSGYTFTDHTLHW MRQAPGQGLEWMGYIYPRSGSTKYNENFKGRVTITA DTSSSTAYMELSSLRSEDTAVYYCVRRLLFLPLDYW GQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFP**C**PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEP KSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYP**C**DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVL DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN

		HYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 146	K360C CysMab 突变的重链	QIQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKVSGYTFTDHTLHW MRQAPGQGLEWMGYIYPRSGSTKYNENFKGRVTITA DTSSSTAYMELSSLRSEDTAVYYCVRRLLFLPLDYW GQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPK SCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTCNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 111	LCDR1（卡巴特）	RSSQSLLSSGNQKSYLT
SEQ ID NO: 112	LCDR2（卡巴特）	WASTRES
SEQ ID NO: 113	LCDR3（卡巴特）	QNDYSYPFT
SEQ ID NO: 114	LCDR1（乔西亚）	SQSLLSSGNQKSY
SEQ ID NO: 115	LCDR2（乔西亚）	WAS
SEQ ID NO: 116	LCDR3（乔西亚）	DYSYPF
SEQ ID NO: 117	VL	EIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSQSLLSSGNQKSY LTWYQQKPGQAPRLLIYWASTRESGIPARFSGSGSGT DFTLTISSLQPEDFAVYYCQNDYSYPFTFGQGTKLEIK
SEQ ID NO: 118	DNA VL	GAGATCGTGATGACTCAGTCACCCGCTACCCTGAG CCTGAGCCCTGGCGAGAGAGCTACACTGAGCTGTA GATCTAGTCAGTCACTGCTGTCTAGCGGTAATCAG AAGTCCTACCTGACCTGGTATCAGCAGAAGCCCGG TCAGGCCCCTAGACTGCTGATCTACTGGGCCTCTA CTAGAGAGTCAGGGATCCCCGCTAGGTTTAGCGGT AGCGGTAGTGGCACCGACTTCACCCTGACTATCTC TAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCGTCTACTACT GTCAGAACGACTATAGCTACCCCTTCACCTTCGGT CAGGGCACTAAGCTGGAGATTAAG
SEQ ID NO: 119	轻链	EIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSQSLLSSGNQKSY LTWYQQKPGQAPRLLIYWASTRESGIPARFSGSGSGT

[1179]

[1180]

		DFTLTISSLQPEDFAVYYCQNDYSYPFTFGQGTKLEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREA KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 120	DNA 轻链	GAGATCGTGATGACTCAGTCACCCGCTACCCTGAG CCTGAGCCCTGGCGAGAGAGCTACACTGAGCTGTA GATCTAGTCAGTCACTGCTGTCTAGCGGTAATCAG AAGTCCTACCTGACCTGGTATCAGCAGAAGCCCGG TCAGGCCCCTAGACTGCTGATCTACTGGGCCTCTA CTAGAGAGTCAGGGATCCCCGCTAGGTTTAGCGGT AGCGGTAGTGGCACCGACTTCACCCTGACTATCTC TAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCGTCTACTACT GTCAGAACGACTATAGCTACCCCTTCACCTTCGGT CAGGGCACTAAGCTGGAGATTAAGCGTACGGTGGC CGCTCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCCCAGCGACG AGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTG CCTGCTGAACAACTTCTACCCCCGGGAGGCCAAGG TGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGCGG CAACAGCCAGGAGAGCGTCACCGAGCAGGACAGC AAGGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTGAC CCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCATAAGGTG TACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCCAG CCCCGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGCGAGTGC
SEQ ID NO: 147	K107C CysMab 突变的轻链	EIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSQSLLSSGNQKSY LTWYQQKPGQAPRLLIYWASTRESGIPARFSGSGSGT DFTLTISSLQPEDFAVYYCQNDYSYPFTFGQGTKLEI**C** RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREA KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[1181]

对抗体恒定区的 Cys Mab 突变		
SEQ ID NO: 148	对野生型重链恒定区的 E152C/S375C Cys Mab 突变	SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP**C**P VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF YP**C**DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK
SEQ ID NO:	对野生型重	SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP

[1182]

149	链恒定区的 K360C Cys Mab 突变	VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTCNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK
SEQ ID NO: 150	对野生型轻链恒定区的 K107C Cys Mab 突变	CRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTL TLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[1183] 本发明的其他抗体包括如下那些抗体,其中所述氨基酸或编码所述氨基酸的核酸已经突变,但与表3中所述的序列具有至少60%、70%、80%、90%或95%同一性。在一些实施例中,当与表3中所述序列中描绘的可变区相比时,在可变区中1、2、3、4或5个氨基酸已经突变,但同时保留与表3中列出的抗体基本上相同的治疗活性。

[1184] 在一些实施例中,可用于本发明的免疫缀合物的抗体或抗体片段(例如,抗原结合片段)包括经修饰或经工程化的抗体,如经修饰以引入一个或多个半胱氨酸残基作为用于缀合至药物部分的位点的抗体(Junutula JR等人:Nat Biotechnol[自然生物技术]2008,26:925-932)。在一个实施例中,本发明提供了经修饰的抗体或其抗体片段,所述经修饰的抗体或其抗体片段包含在本文所述的位置处用半胱氨酸对一个或多个氨基酸的取代。用于半胱氨酸取代的位点是在抗体的恒定区中并且因此适用于多种抗体,并且选择位点以提供稳定且均质的缀合物。经修饰的抗体或片段可以具有两个或更多个半胱氨酸取代,并且这些取代可以与如本文所述的其他抗体修饰和缀合方法组合使用。用于将半胱氨酸插入在抗体的特定位置处的方法是本领域已知的,参见例如Lyons等人,(1990)Protein Eng.[蛋白质工程],3:703-708;WO 2011/005481;WO 2014/124316。在某些实施例中,经修饰的抗体或抗体片段包含在其选自以下位置的恒定区上用半胱氨酸对一个或多个氨基酸的取代:所述抗体或抗体片段的重链的位置117、119、121、124、139、152、153、155、157、164、169、171、174、189、205、207、246、258、269、274、286、288、290、292、293、320、322、326、333、334、335、337、344、355、360、375、382、390、392、398、400和422,并且其中所述位置是根据EU系统编号的。在一些实施例中,经修饰的抗体或抗体片段包含在其选自以下位置的恒定区上用半胱氨酸对一个或多个氨基酸的取代:所述抗体或抗体片段的轻链的位置107、108、109、114、129、142、143、145、152、154、156、159、161、165、168、169、170、182、183、197、199、和203,其中所述位置是根据EU系统编号的,并且其中所述轻链是人κ轻链。在某些实施例中,经修饰的抗体或其抗体片段包含在其恒定区上用半胱氨酸对两个或更多个氨基酸的取代的组合,其中组合包含在抗体重链的位置375、抗体重链的位置152、抗体重链的位置360、或抗体轻链的位置107处的取代,并且其中所述位置是根据EU系统编号的。在某些实施例中,经修饰的抗体或其抗体片段包含在其恒定区上用半胱氨酸对一个氨基酸的取代,其中所述取代是抗体重链的位置375、抗体重链的位置152、抗体重链的位置360、抗体轻链的位置107、抗体轻链的位置165或抗体轻链的位置159并且其中所述位置是根据EU系统编号的,并且其中所

述轻链是κ链。在特定的实施例中,经修饰的抗体或其抗体片段包含在其恒定区上用半胱氨酸对两个氨基酸的取代的组合,其中组合包含在抗体重链的位置375和抗体重链的位置152处的取代,其中所述位置是根据EU系统编号的。在特定的实施例中,经修饰的抗体或其抗体片段包含在抗体重链的位置360处用半胱氨酸对一个氨基酸的取代,其中所述位置是根据EU系统编号的。在其他特定的实施例中,经修饰的抗体或其抗体片段包含在抗体轻链的位置107处用半胱氨酸对一个氨基酸的取代,并且其中所述位置是根据EU系统编号的,并且其中所述轻链是κ链。这些位置的示例性实施例在SEQ ID NO:148、149、和150披露的恒定区序列中展示。这些位置的特定实施例针对SEQ ID NO:130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、141、142、143、144、145、146、和147中的抗P-钙粘蛋白抗体序列而披露。

[1185] 由于这些抗体中的每一种都可以结合P-钙粘蛋白,因此VH、VL、全长轻链、和全长重链序列(氨基酸序列和编码所述氨基酸序列的核苷酸序列)可以是"混合且匹配的"以产生本发明的其他P-钙粘蛋白结合抗体。可以使用本领域已知的结合测定(例如,ELISA、和实例部分中描述的其他测定)来测试此类"混合且匹配的"P-钙粘蛋白结合抗体。当这些链被混合且匹配时,来自特定VH/VL配对的VH序列应当用结构上类似的VH序列替代。同样,来自特定全长重链/全长轻链配对的全长重链序列应当用结构上类似的全长重链序列替代。同样,来自特定VH/VL配对的VL序列应当用结构上类似的VL序列替代。同样,来自特定全长重链/全长轻链配对的全长轻链序列应当用结构上类似的全长轻链序列替代。因此,在一个方面,本发明提供了包括分离的单克隆抗体或其抗原结合区的抗体缀合物,所述单克隆抗体或其抗原结合区具有:重链可变区,所述重链可变区包含选自由SEQ ID NO:7、27、47、67、87、和107组成的组的氨基酸序列;和轻链可变区,所述轻链可变区包含选自由SEQ ID NO:17、37、57、77、97、和117组成的组的氨基酸序列;其中所述抗体特异性结合P-钙粘蛋白。

[1186] 在另一方面,本发明提供了抗体缀合物,其包括(i)分离的单克隆抗体,所述分离的单克隆抗体具有:全长重链,所述全长重链包含选自由SEQ ID NO:9、29、49、69、89、和109组成的组、已针对在哺乳动物表达系统的细胞中的表达进行优化的氨基酸序列;和全长轻链,所述全长轻链包含选自由SEQ ID NO:19、39、59、79、99、和119组成的组、已针对在哺乳动物细胞中的表达进行优化的氨基酸序列;或(ii)包含其抗原结合部分的功能性蛋白。

[1187] 在另一方面,本发明提供了包括P-钙粘蛋白结合抗体的抗体缀合物,所述P-钙粘蛋白结合抗体包含如表3中所述的重链和轻链CDR1、CDR2和CDR3、或它们的组合。所述抗体的VH CDR1的氨基酸序列在SEQ ID NO:1、21、41、61、81、和101中示出。所述抗体的VH CDR2的氨基酸序列在SEQ ID NO:2、22、42、62、82、和102中示出。所述抗体的VH CDR3的氨基酸序列在SEQ ID NO:3、23、43、63、83、和103中示出。所述抗体的VL CDR1的氨基酸序列在SEQ ID NO:11、31、51、71、91、和111中示出。所述抗体的VL CDR2的氨基酸序列在SEQ ID NO:12、32、52、72、92、和112中示出。所述抗体的VL CDR3的氨基酸序列在SEQ ID NO:13、33、53、73、93、和113中示出。

[1188] 鉴于这些抗体中的每一种都可以结合P-钙粘蛋白并且抗原结合特异性主要由CDR1、2和3区提供,因此VH CDR1、CDR2和CDR3序列以及VL CDR1、CDR2和CDR3序列可以是"混合且匹配的"(即,来自不同抗体的CDR可以被混合且匹配)。可以使用本领域已知的结合测定和实例中描述的那些结合测定(例如,ELISA)来测试此类"混合且匹配的"P-钙粘蛋白结合抗体。当混合并匹配VH CDR序列时,来自特定VH序列的CDR1、CDR2和/或CDR3序列应当用

一种或多种结构上类似的CDR序列替代。同样,当混合并匹配VL CDR序列时,来自特定VL序列的CDR1、CDR2和/或CDR3序列应当用一种或多种结构上类似的CDR序列替代。对于普通技术人员来说容易清楚的是,可以通过用来自本文针对本发明单克隆抗体所示出的CDR序列的结构上类似的序列取代一个或多个VH和/或VL CDR区序列来产生新颖的VH和VL序列。

[1189] 因此,本发明提供了分离的单克隆抗体或其抗原结合区,所述分离的单克隆抗体或其抗原结合区包含:重链CDR1,其包含选自由SEQ ID NO:1、21、41、61、81、和101组成的组的氨基酸序列;重链CDR2,其包含选自由SEQ ID NO:2、22、42、62、82、和102组成的组的氨基酸序列;重链CDR3,其包含选自由SEQ ID NO:3、23、43、63、83、和103组成的组的氨基酸序列;轻链CDR1,其包含选自由SEQ ID NO:11、31、51、71、91、和111组成的组的氨基酸序列;轻链CDR2,其包含选自由SEQ ID NO:12、32、52、72、92、和112组成的组的氨基酸序列;和轻链CDR3,其包含选自由SEQ ID NO:13、33、53、73、93、和113组成的组的氨基酸序列;其中所述抗体特异性结合P-钙粘蛋白。

[1190] 在特定的实施例中,特异性结合P-钙粘蛋白的抗体或抗体片段(例如,抗原结合片段)包含SEQ ID NO:1的重链CDR1;SEQ ID NO:2的重链CDR2;SEQ ID NO:3的重链CDR3;SEQ ID NO:11的轻链CDR1;SEQ ID NO:12的轻链CDR2;和SEQ ID NO:13的轻链CDR3。

[1191] 在另一特定的实施例中,特异性结合P-钙粘蛋白的抗体或抗体片段(例如,抗原结合片段)包含SEQ ID NO:21的重链CDR1;SEQ ID NO:22的重链CDR2;SEQ ID NO:23的重链CDR3;SEQ ID NO:31的轻链CDR1;SEQ ID NO:32的轻链CDR2;和SEQ ID NO:33的轻链CDR3。

[1192] 在又另一实施例中,特异性结合P-钙粘蛋白的抗体或抗体片段(例如,抗原结合片段)包含SEQ ID NO:41的重链CDR1;SEQ ID NO:42的重链CDR2;SEQ ID NO:43的重链CDR3;SEQ ID NO:51的轻链CDR1;SEQ ID NO:52的轻链CDR2;和SEQ ID NO:53的轻链CDR3。

[1193] 在另外的实施例中,特异性结合P-钙粘蛋白的抗体或抗体片段(例如,抗原结合片段)包含SEQ ID NO:61的重链CDR1;SEQ ID NO:62的重链CDR2;SEQ ID NO:63的重链CDR3;SEQ ID NO:71的轻链CDR1;SEQ ID NO:72的轻链CDR2;和SEQ ID NO:73的轻链CDR3。

[1194] 在另一特定的实施例中,特异性结合P-钙粘蛋白的抗体或抗体片段(例如,抗原结合片段)包含SEQ ID NO:81的重链CDR1;SEQ ID NO:82的重链CDR2;SEQ ID NO:83的重链CDR3;SEQ ID NO:91的轻链CDR1;SEQ ID NO:92的轻链CDR2;和SEQ ID NO:93的轻链CDR3。

[1195] 在另外的特定的实施例中,特异性结合P-钙粘蛋白的抗体或抗体片段(例如,抗原结合片段)包含SEQ ID NO:101的重链CDR1;SEQ ID NO:102的重链CDR2;SEQ ID NO:103的重链CDR3;SEQ ID NO:111的轻链CDR1;SEQ ID NO:112的轻链CDR2;和SEQ ID NO:113的轻链CDR3。

[1196] 在某些实施例中,特异性结合P-钙粘蛋白的抗体是表3所述的抗体或抗体片段(例如,抗原结合片段)。

[1197] 2.对Fc区框架的进一步改变

[1198] 本发明的免疫缀合物可以包含经修饰的抗体或其抗原结合片段,所述经修饰的抗体或其抗原结合片段进一步在VH和/或VL内包含对框架残基的修饰,例如以改善抗体的性质。在一些实施例中,进行这种框架修饰以降低抗体的免疫原性。例如,一种方法是将一个或多个框架残基“回复突变”为相应的种系序列。更具体地,已经历体细胞突变的抗体可以含有与衍生出抗体的种系序列不同的框架残基。可以通过将抗体框架序列与衍生抗体的种

系序列进行比较来鉴定此类残基。为了使框架区序列恢复为其种系构象,可以通过例如定点诱变将体细胞突变“回复突变”为种系序列。此类“回复突变的”抗体也旨在为本发明所涵盖。

[1199] 另一类型的框架修饰涉及使框架区内或甚至一个或多个CDR区内的一个或多个残基突变以去除T细胞表位,从而降低抗体的潜在免疫原性。此方法也称为“去免疫化”,并且在Carr等人的美国专利公开号20030153043中有进一步详细描述。

[1200] 除了在框架或CDR区内进行的修饰之外或在框架或CDR区内进行的修饰的替代方案中,可以将本发明的抗体工程化以包含Fc区内的修饰,典型地是为了改变抗体的一种或多种功能性质,如血清半衰期、补体结合、Fc受体结合、和/或抗原依赖性细胞毒性。此外,本发明的抗体可以经化学修饰(例如,一个或多个化学部分可以附接至抗体)或经修饰以改变其糖基化,从而再次改变抗体的一种或多种功能性质。以下更详细地描述了这些实施例中的每一个。

[1201] 在一个实施例中,修饰CH1的铰链区,使得所述铰链区中半胱氨酸残基的数目改变,例如,增加或减少。此方法在Bodmer等人的美国专利号5,677,425中进一步描述。改变CH1铰链区中半胱氨酸残基的数目,以例如促进轻链和重链的组装或增加或降低抗体的稳定性。

[1202] 在另一实施例中,使抗体的Fc铰链区突变以缩短抗体的生物半衰期。更具体地,将一个或多个氨基酸突变引入Fc-铰链片段的CH2-CH3结构域界面区中,使得抗体具有相对于天然Fc-铰链结构域SpA结合而言受损的葡萄球菌蛋白A(SpA)结合。此方法在Ward等人的美国专利号6,165,745中进一步详细描述。

[1203] 在又其他实施例中,通过用不同的氨基酸残基替代至少一个氨基酸残基来改变Fc区,以改变抗体的效应子功能。例如,可以用不同的氨基酸残基替代一个或多个氨基酸,使得抗体对效应配体具有改变的亲和力,但保留亲本抗体的抗原结合能力。改变亲和力的效应配体可以是例如Fc受体或补体的C1组分。此方法在例如Winter等人的美国专利号5,624,821和5,648,260中得到描述。

[1204] 在另一实施例中,选自氨基酸残基的一个或多个氨基酸可以用不同的氨基酸残基替代,使得抗体具有改变的C1q结合和/或降低或消除的补体依赖性细胞毒性(CDC)。此方法在例如Idusogie等人的美国专利号6,194,551中得到描述。

[1205] 在另一实施例中,改变一个或多个氨基酸残基,从而改变抗体固定补体的能力。此方法在例如Bodmer等人的PCT公开WO 94/29351中得到描述。在特定的实施例中,本发明的抗体或其抗原结合片段的一个或多个氨基酸被一个或多个异型氨基酸残基替代。异型氨基酸残基也包括但不限于IgG1、IgG2、和IgG3亚类的重链的恒定区以及κ同种型的轻链的恒定区,如由Jefferis等人,MAbs.[单克隆抗体]1:332-338(2009)所述的。

[1206] 在又另一实施例中,修饰Fc区以增加抗体介导抗体依赖性细胞毒性(ADCC)的能力和/或通过修饰一个或多个氨基酸来增加抗体对Fcγ受体的亲和力。此方法在例如Presta的PCT公开WO 00/42072中得到描述。此外,已经绘制了人IgG1上针对FcγRl、FcγRII、FcγRIII和FcRn的结合位点,并且已经描述了具有改善的结合的变体(参见Shields等人,J.Biol.Chem.[生物化学杂志]276:6591-6604,2001)。

[1207] 在仍另一实施例中,修饰抗体的糖基化。例如,可以制备无糖基化的抗体(即,抗体

缺乏糖基化)。可以改变糖基化以例如增加抗体对“抗原”的亲和力。此类碳水化合物修饰可以通过例如改变抗体序列内的一个或多个糖基化位点来实现。例如,可以进行一个或多个氨基酸取代,这导致消除一个或多个可变区框架糖基化位点,从而消除在所述位点处的糖基化。此类无糖基化可以增加抗体对抗原的亲和力。此种方法描述于例如Co等人的美国专利号5,714,350和6,350,861中。

[1208] 另外地或可替代地,可以制备具有改变的糖基化类型的抗体,如具有减少量的岩藻糖基残基的低岩藻糖基化抗体或具有增加的二等分GlcNac结构的抗体。已经证明此类改变的糖基化模式增加了抗体的ADCC能力。此类糖类修饰可以通过例如在具有改变的糖基化机制的宿主细胞中表达抗体来实现。具有改变的糖基化机制的细胞已在本领域中描述,并且可用作宿主细胞,在所述宿主细胞中表达本发明的重组抗体,从而产生具有改变的糖基化的抗体。例如,Hang等人的EP 1,176,195描述了具有功能破坏的编码岩藻糖基转移酶的FUT8基因的细胞系,使得在此种细胞系中表达的抗体表现出低岩藻糖基化。Presta在PCT公开WO 03/035835中描述了变体CHO细胞系Lec13细胞,其将岩藻糖附接至Asn(297)连接的碳水化合物的能力降低,还导致在所述宿主细胞中表达的抗体的低岩藻糖基化(还参见Shields等人,(2002),J.Biol.Chem.[生物化学杂志]277:26733-26740)。Umana等人在PCT公开WO 99/54342中描述了如下细胞系,所述细胞系被工程化以表达糖蛋白修饰性糖基转移酶(例如,β(1,4)-N乙酰基葡糖胺基转移酶III(GnTIII)),使得在经工程化的细胞系中表达的抗体表现出增加的二等分GlcNac结构,这导致抗体的ADCC活性增加(还参见Umana等人,Nat.Biotech.[自然生物技术]17:176-180,1999)。

[1209] 在另一实施例中,修饰抗体以增加其生物半衰期。可以采用各种方法。例如,可以引入以下突变中的一种或多种:如在美国专利号6,277,375中由Ward所述的T252L、T254S、T256F。可替代地,为了增加生物半衰期,可以在CH1或CL区内改变抗体,以含有取自IgG的Fc区的CH2结构域的两个环的补救受体结合表位,如Presta等人的美国专利号5,869,046和6,121,022中所述。

[1210] 3.抗体的产生

[1211] 可以通过本领域已知的任何手段产生抗体及其抗体片段(例如,抗原结合片段),这些手段包括但不限于重组表达、化学合成、和酶促消化抗体四聚体,而全长单克隆抗体可以通过例如杂交瘤或重组产生获得。重组表达可以来自本领域已知的任何适当的宿主细胞,例如,哺乳动物宿主细胞、细菌宿主细胞、酵母宿主细胞、昆虫宿主细胞等。

[1212] 本披露进一步提供了编码本文所述的抗体的多核苷酸,例如,编码包含如本文所述的互补决定区的重链或轻链可变区或区段的多核苷酸。在一些实施例中,编码重链可变区的多核苷酸与选自由SEQ ID NO:8、28、48、68、88、108、和151组成的组的多核苷酸具有至少85%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、或100%核酸序列同一性。在一些实施例中,编码轻链可变区的多核苷酸与选自由SEQ ID NO:18、38、58、78、98、118、和153组成的组的多核苷酸具有至少85%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、或100%核酸序列同一性。

[1213] 在一些实施例中,编码重链的多核苷酸与SEQ ID NO:10、30、50、70、90、110、或152的多核苷酸具有至少85%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、或100%核酸序列同一性。在一些实施例中,编码轻链的多核苷酸与SEQ ID NO:20、

40、60、80、100、120、或154的多核苷酸具有至少85％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％、或100％核酸序列同一性。

[1214] 本发明的多核苷酸可以仅编码抗体的可变区序列。它们还可以编码抗体的可变区和恒定区。一些多核苷酸序列编码包含一种示例性抗P-钙粘蛋白抗体的重链和轻链的可变区的多肽。一些其他多核苷酸编码分别与一种抗体的重链和轻链的可变区基本上相同的两个多肽区段。

[1215] 多核苷酸序列可以通过从头固相DNA合成或通过PCR诱变编码抗体或其结合片段的现有序列(例如,如下文实例中所述的序列)来产生。核酸的直接化学合成可以通过本领域已知的方法完成,如Narang等人,Meth.Enzymol.[酶学方法]68:90,1979的磷酸三酯法;Brown等人,Meth.Enzymol.[酶学方法]68:109,1979的磷酸二酯法;Beaucage等人,Tetra.Lett.[四面体快报],22:1859,1981的二乙基亚磷酰胺法;和美国专利号4,458,066的固体支持物法。通过PCR向多核苷酸序列引入突变可以如以下文献中所述进行,例如,PCR Technology:Principles and Applications for DNA Amplification[PCR技术:DNA扩增的原理和应用],H.A.Erlich(编辑),Freeman Press[弗里曼出版社],纽约州纽约市(NY,NY),1992;PCR Protocols:A Guide to Methods and Applications[PCR方案:方法和应用指南],Innis等人(编辑),Academic Press[学术出版社],加利福尼亚州圣地亚哥(San Diego,CA),1990;Mattila等人,Nucleic Acids Res.[核酸研究]19:967,1991;以及Eckert等人,PCR Methods and Applications[PCR方法和应用]1:17,1991。

[1216] 本发明中还提供了用于产生本文描述的抗体的表达载体和宿主细胞。多种表达载体可以用来表达编码抗体链或结合片段的多核苷酸。基于病毒的载体和非病毒表达载体均可用于在哺乳动物宿主细胞中产生抗体。非病毒载体和系统包括质粒、附加型载体(典型地具有用于表达蛋白或RNA的表达盒)、以及人类人工染色体(参见,例如,Harrington等人,Nat Genet.[自然遗传学]15:345,1997)。例如,可用于哺乳动物(例如人)细胞中表达抗P-钙粘蛋白多核苷酸和多肽的非病毒载体包括pThioHis A、B和C、pcDNA™3.1/His、pEBVHis A、B和C(英杰公司(Invitrogen),圣地亚哥,加利福尼亚州)、MPSV载体、和本领域已知用于表达其他蛋白的许多其他载体。有用的病毒载体包括基于逆转录病毒、腺病毒、腺相关病毒、疱疹病毒的载体,基于SV40、乳头瘤病毒、HBP EB病毒、牛痘病毒载体和塞姆利基森林病毒(Semliki Forest virus)(SFV)的载体。参见,Brent等人,同上;Smith,Annu.Rev.Microbiol.[微生物学年度评论]49:807,1995;和Rosenfeld等人,Cell[细胞]68:143,1992。

[1217] 表达载体的选择取决于要表达所述载体的预期宿主细胞。典型地,表达载体含有与编码抗P-钙粘蛋白抗体链或片段的多核苷酸可操作地连接的启动子和其他调节序列(例如,增强子)。在一些实施例中,采用诱导型启动子以防止插入的序列在诱导条件之外的条件下表达。诱导型启动子包括例如阿拉伯糖、lacZ、金属硫蛋白启动子或热激启动子。可以在非诱导条件下、而不在偏向宿主细胞更好耐受其表达产物的编码序列的群体的情况下扩大经转化的生物体的培养。除了启动子之外,还可能需要或期望其他调节元件以高效表达抗体链或片段。这些元件典型地包括ATG起始密码子和相邻的核糖体结合位点或其他序列。此外,通过包含适合于使用中的细胞系统的增强子,可以提高表达效率(参见,例如,Scharf等人,Results Probl.Cell Differ.[细胞分化中的结果和问题]20:125,1994;和Bittner

等人,Meth.Enzymol.[酶学方法],153:516,1987)。例如,SV40增强子或CMV增强子可以用于增加哺乳动物宿主细胞中的表达。

[1218] 表达载体还可以提供分泌信号序列位置,以与通过插入的抗体序列编码的多肽形成融合蛋白。更常见的是,所述插入的抗体序列在包含在载体中之前与信号序列连接。用于接收编码抗P-钙粘蛋白抗体轻链和重链可变结构域的序列的载体有时也编码恒定区或其部分。此类载体允许将可变区表达为具有恒定区的融合蛋白,从而导致产生完整的抗体或其片段。典型地,此类恒定区是人的。

[1219] 用于携带并表达抗体链的宿主细胞可以是原核或真核的。大肠杆菌(E.coli)是一种可用于克隆并表达本发明的多核苷酸的原核宿主。适合使用的其他微生物宿主包括杆菌(如枯草杆菌(Bacillus subtilis))和其他肠杆菌科(如沙门氏菌属(Salmonella)、沙雷氏菌属(Serratia))以及各种假单胞菌属(Pseudomonas)物种。在这些原核宿主中,还可以制备表达载体,其典型地含有与宿主细胞相容的表达控制序列(例如,复制起点)。此外,将存在任何数目的多种熟知的启动子,如乳糖启动子系统、色氨酸(trp)启动子系统、β-内酰胺酶启动子系统、或来自噬菌体λ的启动子系统。启动子典型地任选使用操纵子序列控制表达,并且具有核糖体结合位点序列等,以用于启动和完成转录和翻译。其他微生物如酵母也可用于表达本发明的抗体多肽。也可以使用与杆状病毒载体组合的昆虫细胞。

[1220] 在一些优选的实施例中,哺乳动物宿主细胞用于表达和产生本发明的抗体多肽。例如,它们可以是表达内源性免疫球蛋白基因的杂交瘤细胞系(例如,如实例中所述的骨髓瘤杂交瘤克隆)或携带外源表达载体的哺乳动物细胞系(例如,下文例举的SP2/0骨髓瘤细胞)。这些包括任何正常的必死或正常或异常的永生的动物或人细胞。例如,已经开发了许多能够分泌完整免疫球蛋白的合适宿主细胞系,包括CHO细胞系、各种Cos细胞系、HeLa细胞、骨髓瘤细胞系、转化的B细胞和杂交瘤。利用哺乳动物组织细胞培养表达多肽一般在例如Winnacker,From Genes to Clones[从基因到克隆],VCH Publishers[VCH出版商],纽约州纽约市,1987中讨论。用于哺乳动物宿主细胞的表达载体可包含表达控制序列,如复制起点、启动子、和增强子(参见,例如,Queen等人,Immunol.Rev.[免疫学评论]89:49-68,1986),和必要的处理信息位点,如核糖体结合位点、RNA剪接位点、多腺苷酸化位点、和转录终止子序列。这些表达载体通常含有源自哺乳动物基因或源自哺乳动物病毒的启动子。合适的启动子可以是组成型的、细胞类型特异性的、阶段特异性的、和/或可调控的或可调节的。有用的启动子包括但不限于金属硫蛋白启动子、组成型腺病毒主要晚期启动子、地塞米松诱导型MMTV启动子、SV40启动子、MRP polIII启动子、组成型MPSV启动子、四环素诱导型CMV启动子(如人CMV立即早期启动子)、组成型CMV启动子、和本领域已知的启动子-增强子组合。

[1221] 用于引入含有目的多核苷酸序列的表达载体的方法根据细胞宿主的类型而变化。例如,氯化钙转染通常用于原核细胞,而磷酸钙处理或电穿孔可以用于其他细胞宿主(通常参见Sambrook等人,2012,MOLECULAR CLONING:A LABORATORY MANUAL[分子克隆:实验室手册],第1-4卷,Cold Spring Harbor Press[冷泉港实验出版社],纽约)。其他方法包括例如电穿孔、磷酸钙处理、脂质体介导的转化、注射和显微注射、弹击法、病毒体、免疫脂质体、聚阳离子:核酸缀合物、裸DNA、人工病毒粒体、与疱疹病毒结构蛋白VP22的融合物(Elliot和O'Hare,Cell[细胞]88:223,1997)、药剂增强的DNA摄取、和离体转导。对于重组蛋白的长期

高产量产生,通常期望稳定的表达。例如,可以使用含有病毒复制起点或内源性表达元件和选择性标记基因的本发明表达载体来制备稳定表达抗体链或结合片段的细胞系。在引入载体之后,可以使细胞在富集培养基中生长1-2天,之后将它们转换至选择性培养基。选择性标记的目的是赋予选择抗性,并且它的存在允许成功表达引入的序列的细胞在选择性培养基中的生长。可以使用适合于细胞类型的组织培养技术来增殖抗性、稳定转染的细胞。

[1222] 治疗用途和治疗方法

[1223] 提供的抗体缀合物可用于多种应用中,包括但不限于癌症的治疗。在某些实施例中,本文提供的抗体缀合物可用于抑制肿瘤生长、减小肿瘤体积、诱导分化、和/或降低肿瘤的致瘤性。使用方法可以是体外、离体、或体内方法。

[1224] 在一些实施例中,本文提供了通过向受试者施用本文所述的任一抗体缀合物来治疗、防止、或减轻有需要的受试者(例如,人类患者)的疾病(例如,癌症)的方法。还提供了本发明的抗体缀合物用于治疗或防止受试者(例如,人类患者)的疾病的用途。另外提供了抗体缀合物在治疗或防止受试者的疾病中的用途。在一些实施例中,提供了用于制备用于治疗或防止受试者的疾病的药物的抗体缀合物。在某些实施例中,用抗体缀合物治疗的疾病是癌症。

[1225] 在一个方面,本文所述的免疫缀合物可用于治疗实体瘤。实体瘤的实例包括各种器官系统的恶性肿瘤,例如,肉瘤、腺癌、胚细胞瘤、和癌,如影响肝、肺、乳腺、淋巴、胆肠(例如,结肠)、泌尿生殖道(例如,肾、尿路上皮细胞)、前列腺和咽的那些。腺癌包括如大多数结肠癌、直肠癌、肾细胞癌、肝癌、小细胞肺癌、非小细胞肺癌、小肠癌和食道癌的恶性肿瘤。在一个实施例中,癌症是黑色素瘤,例如,晚期黑色素瘤。可以治疗的其他癌症的实例包括:骨癌、胰腺癌、皮肤癌、头颈癌、皮肤或眼内恶性黑色素瘤、子宫癌、卵巢癌、直肠癌、结直肠癌、肛门区癌、腹膜癌、胃癌(stomach cancer或gastric cancer)、食管癌、唾液腺癌、睾丸癌、子宫癌、输卵管癌、子宫内膜癌、宫颈癌、阴道癌、外阴癌、阴茎癌、恶性胶质瘤、成神经细胞瘤、宫颈癌、霍奇金病、非霍奇金淋巴瘤、食道癌、小肠癌、内分泌系统癌、甲状腺癌、甲状旁腺癌、肾上腺癌、软组织肉瘤、尿道癌、阴茎癌、慢性或急性白血病(包括急性髓细胞性白血病、慢性髓细胞性白血病、急性成淋巴细胞性白血病、慢性淋巴细胞白血病)、儿童实体瘤、淋巴细胞性淋巴瘤、膀胱癌、肾癌或输尿管癌、肾盂癌、中枢神经系统(CNS)肿瘤、原发性CNS淋巴瘤、肿瘤血管生成、脊髓轴肿瘤、脑干胶质细胞瘤、垂体腺瘤、卡波济氏肉瘤、神经内分泌瘤(包括类癌瘤、胃泌素瘤、和胰岛细胞癌)、间皮瘤、神经鞘瘤(包括听神经瘤)、脑膜瘤、表皮样癌、鳞状细胞癌、T细胞淋巴瘤、环境诱发的癌症(包括由石棉诱导的癌症)、以及所述癌症的组合。

[1226] 在另一方面,本文所述的免疫缀合物可用于治疗血液学癌症。血液学癌症包括白血病、淋巴瘤、以及影响血液、骨髓和淋巴系统的恶性淋巴组织增生性病症。

[1227] 白血病可以分类为急性白血病和慢性白血病。急性白血病可以进一步分类为急性骨髓性白血病(AML)和急性淋巴细胞白血病(ALL)。慢性白血病包括慢性骨髓性白血病(CML)和慢性淋巴细胞白血病(CLL)。其他相关病症包括骨髓增生异常综合征(MDS,以前称为“白血病前期”),其是由骨髓血细胞的无效产生(或发育异常)和转化为AML的风险联合的血液学病症的多样化集合。

[1228] 淋巴瘤是一组从淋巴细胞发展的血细胞肿瘤。示例性淋巴瘤包括非霍奇金淋巴瘤

和霍奇金淋巴瘤。

[1229] 在一些实施例中,癌症是血液学癌症,包括但不限于例如急性白血病,包括但不限于例如B细胞急性淋巴细胞白血病(“BALL”)、T细胞急性淋巴细胞白血病(“TALL”)、急性淋巴细胞白血病(“ALL”);一种或多种慢性白血病,包括但不限于例如慢性骨髓性白血病(CML)、慢性淋巴细胞白血病(CLL);另外的血液癌症或血液病状包括但不限于,例如B细胞幼淋巴细胞白血病、母细胞性浆细胞样树突状细胞肿瘤、伯基特氏淋巴瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、毛细胞白血病、小细胞-或大细胞滤泡性淋巴瘤、恶性淋巴组织增生性疾病、MALT淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、边缘区淋巴瘤、多发性骨髓瘤、骨髓发育不良和骨髓增生异常综合征、非霍奇金淋巴瘤、浆母细胞性淋巴瘤、浆细胞样树突状细胞瘤、华氏巨球蛋白血症、和为由骨髓血细胞的无效产生(或发育异常)联合在一起的各种血液病状集合的“白血病前期”等。与肿瘤抗原表达相关的另外的疾病包括但不限于例如非典型和/或非经典癌症、恶性肿瘤、癌前病症或表达如本文描述的肿瘤抗原的增生性疾病。还可以使用本发明的方法和组合物来治疗或防止上述癌症的转移性病灶。

[1230] 在某些实施例中,癌症的特征在于表达靶肿瘤抗原的细胞,抗体缀合物的抗体、或抗体片段(例如,抗原结合片段)结合所述靶肿瘤抗原。在一些实施例中,如本文所述的免疫缀合物可以包含结合肿瘤抗原(例如,如本文所述的肿瘤抗原)的抗原结合结构域(例如,抗体或抗体片段)。检测此类肿瘤抗原的存在或过表达的方法是本领域技术人员已知的,并且包括如使用特异性结合肿瘤抗原的抗体的免疫组织相容性(IHC)测定,检测肿瘤抗原的RNA表达水平等方法。

[1231] 在一些实施例中,所述肿瘤抗原选自以下靶标中的一种或多种:受体酪氨酸-蛋白激酶ERBB2(Her2/neu);受体酪氨酸-蛋白激酶ERBB3(Her3);受体酪氨酸-蛋白激酶ERBB4(Her4);表皮生长因子受体(EGFR);E-钙粘蛋白;P-钙粘蛋白;钙粘蛋白6;组织蛋白酶D;雌激素受体;黄体酮受体;CA125;CA15-3;CA19-9;P-糖蛋白(CD243);CD2;CD19;CD20;CD22;CD24;CD27;CD30;CD37;CD38;CD40;CD44v6;CD45;CD47;CD52;CD56;CD70;CD71;CD79a;CD79b;CD72;CD97;CD179a;CD123;CD137;CD171;CS-1(也称为CD2亚群1、CRACC、SLAMF7、CD319、以及19A24);C型凝集素样分子-1(CLL-1或CLECL1);表皮生长因子受体变体III(EGFRvIII);神经节苷脂G2(GD2);神经节苷脂GD3(aNeu5Ac(2-8)aNeu5Ac(2-3)bDGalp(1-4)bDGlcp(1-1)Cer);TNF受体家族成员B细胞成熟(BCMA);Tn抗原((Tn Ag)或(GalNAcα-Ser/Thr));前列腺特异性膜抗原(PSMA);受体酪氨酸激酶样孤儿受体1(ROR1);Fms样酪氨酸激酶3(FLT3);肿瘤相关糖蛋白72(TAG72);癌胚抗原(CEA);上皮细胞粘附分子(EPCAM);B7H3(CD276);KIT(CD117);白细胞介素-13受体亚基α-2(IL-13Ra2或CD213A2);间皮素;白细胞介素11受体α(IL-11Ra);前列腺干细胞抗原(PSCA);蛋白酶丝氨酸21(睾蛋白或PRSS21);血管内皮生长因子受体2(VEGFR2);Lewis(Y)抗原;血小板来源的生长因子受体β(PDGFR-β);阶段特异性胚胎抗原-4(SSEA-4);叶酸受体α;神经细胞粘附分子(NCAM);前列腺酶;前列腺酸性磷酸酶(PAP);突变的延伸因子2(ELF2M);肝配蛋白B2;成纤维细胞活化蛋白α(FAP);胰岛素样生长因子1受体(IGF-I受体),碳酸酐酶IX(CAIX);蛋白酶体(Prosome,Macropain)亚基,β型,9(LMP2);糖蛋白100(gp100);由断裂点簇集区(BCR)和Abelson鼠白血病病毒致癌基因同源物1(Abl)组成的致癌基因融合蛋白(bcr-abl);酪氨酸酶;肝配蛋白A型受体2(EphA2);岩藻糖基GM1;唾液酸Lewis粘附分子(sLe);神经节苷脂GM3(aNeu5Ac(2-

3)bDGalp(1-4)bDGlcp(1-1)Cer);转谷氨酰胺酶5(TGS5);高分子量黑色素瘤相关抗原(HMWMAA);邻乙酰基-GD2神经节苷脂(OAcGD2);叶酸受体β;肿瘤内皮标志物1(TEM1/CD248);肿瘤内皮标志物7相关的(TEM7R);促甲状腺激素受体(TSHR);G蛋白偶联受体C类5组,成员D(GPRC5D);染色体X可读框61(CXORF61);间变性淋巴瘤激酶(ALK);聚唾液酸;胎盘特异性1(PLAC1);globoH糖基神经酰胺(GloboH)的六糖部分;乳腺分化抗原(NY-BR-1);肾上腺素受体β3(ADRB3);泛连接蛋白3(PANX3);G蛋白偶联受体20(GPR20);嗅觉受体51E2(OR51E2);TCRγ替代性阅读框蛋白(TARP);肾母细胞瘤蛋白(WT1);癌/睾丸抗原1(NY-ESO-1);癌/睾丸抗原2(LAGE-1a);黑色素瘤相关抗原1(MAGE-A1);ETS易位变异基因6,位于染色体12p上(ETV6-AML);精子蛋白17(SPA17);X抗原家族,成员1A(XAGE1);血管生成素结合细胞表面受体2(Tie 2);黑色素瘤癌睾丸抗原-1(MAD-CT-1);黑色素瘤癌睾丸抗原-2(MAD-CT-2);Fos相关的抗原1;肿瘤蛋白p53(p53);p53突变体;前列腺特异性蛋白;存活蛋白(surviving);端粒酶;前列腺癌肿瘤抗原-1(PCTA-1或半乳糖蛋白8)、T细胞1识别的黑色素瘤抗原(MelanA或MART1);大鼠肉瘤(Ras)突变体;人端粒酶逆转录酶(hTERT);肉瘤易位断点;黑色素瘤细胞凋亡抑制剂(ML-IAP);ERG(跨膜蛋白酶、丝氨酸2(TMPRSS2)ETS融合基因);N-乙酰葡糖胺基转移酶V(NA17);配对盒蛋白Pax-3(PAX3);雄激素受体;细胞周期蛋白B1;v-myc禽类骨髓细胞瘤病毒致癌基因神经母细胞瘤来源的同源物(MYCN);Ras同源物家族成员C(RhoC);酪氨酸酶相关蛋白2(TRP-2);细胞色素P450 1B1(CYP1B1);CCCTC-结合因子(锌指蛋白)样(BORIS或印记位点调节因子样蛋白(Brother of the Regulator of Imprinted Sites)),T细胞3识别的鳞状细胞癌抗原(SART3);配对盒蛋白Pax-5(PAX5);前顶体蛋白结合蛋白sp32(OY-TES1);淋巴细胞特异性蛋白酪氨酸激酶(LCK);激酶锚蛋白4(AKAP-4);滑膜肉瘤,X断点2(SSX2);晚期糖基化终产物受体(RAGE-1);肾遍在蛋白1(RU1);肾遍在蛋白2(RU2);Legumain;人乳头状瘤病毒E6(HPV E6);人乳头状瘤病毒E7(HPV E7);肠羧酸酯酶;突变的热休克蛋白70-2(mut hsp70-2);白细胞相关的免疫球蛋白样受体1(LAIR1);IgA受体的Fc片段(FCAR或CD89);白细胞免疫球蛋白样受体亚家族A成员2(LILRA2);CD300分子样家族成员f(CD300LF);C型凝集素结构域家族12成员A(CLEC12A);骨髓基质细胞抗原2(BST2);含EGF样模块的粘蛋白样激素受体样2(EMR2);淋巴细胞抗原75(LY75);磷脂酰肌醇蛋白聚糖-3(GPC3);和免疫球蛋白λ样多肽1(IGLL1);CD184;LGR5;AXL;RON;CD352/SLAMf6;KAAG-1;5T4;c-Met;ITGA3;内皮唾液酸蛋白;CD166;SAIL(c15orf54);NaPi2b;DLL3;CD133;FZD7;抗黏附素;PD-L1;SLITRK6;连接素-4;FGFR2;FGFR3;FGFR4;CEACAM1;CEACAM5;CD74;STEAP-1;PMEL17;Muc16;FcRH5;TENB2;Ly6E;ETBR;158P1D7;161P2F10B;191p4d12;162p1e6;Notch3;PTK7;和EFNA4。

[1232] 支持肿瘤的抗原

[1233] 在一些实施例中,如本文所述的免疫缀合物可包含结合支持肿瘤的抗原(例如,如本文所述的支持肿瘤的抗原)的抗原结合结构域(例如,抗体或抗体片段)。

[1234] 在一些实施例中,所述支持肿瘤的抗原是存在于基质细胞、抗原呈递细胞、或骨髓源性抑制细胞(MDSC)上的抗原。基质细胞可以分泌生长因子以促进微环境中的细胞分裂。MDSC细胞可以抑制T细胞增殖和活化。在一些实施例中,所述基质细胞抗原选自以下的一种或多种:骨髓基质细胞抗原2(BST2)、成纤维细胞活化蛋白(FAP)和腱生蛋白。在实施例中,MDSC抗原选自以下中的一种或多种:CD33、CD11b、C14、CD15、和CD66b。因此,在一些实施例

中,所述支持肿瘤的抗原选自以下中的一种或多种:骨髓基质细胞抗原2(BST2)、成纤维细胞活化蛋白(FAP)或腱生蛋白、CD33、CD11b、C14、CD15、以及CD66b。

[1235] 还设想到了本文所述的抗体缀合物可用于治疗多种非恶性疾病或障碍,如炎症性肠病(IBD),胃肠道溃疡,梅内特里耶氏病(Menetrier's disease),乙型肝炎,丙型肝炎,分泌性腺瘤或蛋白损失综合征,肾障碍,血管生成障碍,眼部疾病(如年龄相关性黄斑变性、假定的眼组织胞浆菌病综合征、或年龄相关性黄斑变性),骨相关性病变(如骨关节炎、佝偻病和骨质疏松症),全身性高粘滞综合征、奥斯勒—韦伯—朗迪病(Osler Weber-Rendu disease),慢性阻塞性肺病(chronic occlusive pulmonary disease),或烧伤、外伤、辐射、中风、缺氧或局部缺血后的水肿,糖尿病性肾病,佩吉特氏病(Paget's disease),光老化(例如,由人皮肤的紫外线辐射引起),良性前列腺肥大,包括微生物病原体(选自腺病毒、汉坦病毒、伯氏疏螺旋体(Borrelia burgdorferi)、耶尔森氏菌属物种(Yersinia spp.)、和百日咳杆菌(Bordetella pertussis))的某些微生物感染,由血小板聚集引起的血栓,生殖病症(如子宫内膜异位、卵巢过度刺激综合征、先兆子痫、功能失调性子宫出血、或月经过多),急性和慢性肾病(包括增生性肾小球肾炎),肥厚性瘢痕形成,内毒素休克和真菌感染,家族性腺瘤息肉病,骨髓增生异常综合症,再生障碍性贫血,缺血性损伤,肺、肾或肝的纤维化,婴儿肥厚性幽门狭窄,尿路阻塞综合症,银屑病关节炎。

[1236] 此类抗体缀合物的施用方法包括但不限于肠胃外(例如,静脉内)施用,例如,经一段时间推注注射或连续输注、口服施用、肌内施用、肿瘤内施用、肌内施用、腹膜内施用、脑脊髓内施用、皮下施用、关节内施用、滑膜内施用、淋巴结注射、或鞘内施用。

[1237] 为了治疗疾病,本发明抗体缀合物的合适剂量取决于各种因素,如待治疗的疾病类型、疾病的严重性和病程、疾病的反应性、先前的疗法、患者的临床病史等。抗体缀合物可以一次性或经一系列治疗施用,持续几日至几个月、或直至实现治愈或实现疾病状态的减轻(例如,肿瘤尺寸减小)。最佳给药方案可以从患者体内的药物累积测量值计算出并且将根据特定抗体缀合物的相对效力而变化。在一些实施例中,剂量是从0.01mg至20mg(例如,0.01mg、0.02mg、0.03mg、0.04mg、0.05mg、0.06mg、0.07mg、0.08mg、0.09mg、0.1mg、0.2mg、0.3mg、0.4mg、0.5mg、0.6mg、0.7mg、0.8mg、0.9mg、1mg、2mg、3mg、4mg、5mg、6mg、7mg、8mg、9mg、10mg、11mg、12mg、13mg、14mg、15mg、16mg、17mg、18mg、19mg、或20mg)/kg体重,并且可以每天、每周、每月或每年给予一次或多次。在某些实施例中,本发明的抗体缀合物每两周给予一次或每三周给予一次。在某些实施例中,本发明的抗体缀合物仅给予一次。治疗医师可以基于药物在体液或组织中的所测停留时间和浓度,估计重复给药率。

[1238] 药物组合物

[1239] 为了制备包含一种或多种本文所述的抗体缀合物的药物或无菌组合物,可以将提供的抗体缀合物与药学上可接受的载剂或赋形剂混合。

[1240] 治疗剂和诊断剂的配制品可以通过与生理学上可接受的载剂、赋形剂、或稳定剂以例如冻干粉末、浆液、水性溶液、洗剂、或悬浮液的形式混合来制备(参见,例如,Hardman等人,Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics[Goodman和Gilman的治疗的药理学基础],McGraw-Hill[麦格劳-希尔集团],纽约州纽约市,2001;Gennaro,Remington:The Science and Practice of Pharmacy[雷明顿:药学科学与实践],Lippincott,Williams,and Wilkins[利平科特·威廉斯和威尔金斯出版公司],纽约

州纽约市,2000;Avis等人(编辑),Pharmaceutical Dosage Forms:Parenteral Medications[药物剂型:肠胃外药物],Marcel Dekke[马塞尔德克尔公司],纽约,1993;Lieberman等人(编辑),Pharmaceutical Dosage Forms:Tablets[药物剂型:片剂],Marcel Dekke[马塞尔德克尔公司],纽约,1990;Lieberman等人(编辑)Pharmaceutical Dosage Forms:Disperse Systems[药物剂型:分散系统],Marcel Dekker[马塞尔·德克尔公司],纽约,1990;Weiner和Kotkoskie,Excipient Toxicity and Safety[赋形剂毒性和安全性],Marcel Dekker,Inc.[马塞尔德克尔公司],纽约州纽约市,2000)。

[1241] 在一些实施例中,包含本发明的抗体缀合物的药物组合物是冻干物制剂。在某些实施例中,包含抗体缀合物的药物组合物是在小瓶中的含有抗体缀合物、组氨酸、蔗糖、和聚山梨酯20的冻干物。在某些实施例中,包含抗体缀合物的药物组合物是在小瓶中的含有抗体缀合物、琥珀酸钠、和聚山梨酯20的冻干物。在某些实施例中,包含抗体缀合物的药物组合物是在小瓶中的含有抗体缀合物、海藻糖、柠檬酸盐、和聚山梨酯8的冻干物。冻干物可以例如用水、盐水重构用于注射。在特定的实施例中,溶液包含pH为约5.0的抗体缀合物、组氨酸、蔗糖、和聚山梨酯20。在另一特定的实施例中,溶液包含抗体缀合物、琥珀酸钠、和聚山梨酯20。在另一特定的实施例中,溶液包含pH为约6.6的抗体缀合物、脱水海藻糖、柠檬酸盐脱水物、柠檬酸、和聚山梨酯8。为了静脉内施用,通常将获得的溶液进一步稀释于载剂溶液中。

[1242] 为治疗剂选择施用方案取决于若干种因素,包括实体的血清或组织周转速率、症状水平、实体的免疫原性、和生物基质中的靶细胞的可及性。在某些实施例中,施用方案使递送至患者的治疗剂的量最大化,与可接受水平的副作用一致。因此,递送的生物制品的量部分地取决于特定的实体和正在治疗的病症的严重程度。选择适当剂量的抗体、细胞因子、和小分子的指南是可获得的(参见,例如,Wawrzynczak,Antibody Therapy[抗体疗法],Bios Scientific Pub.Ltd[Bios科学出版社有限公司],英国牛津郡,1996;Kresina(编辑),Monoclonal Antibodies,Cytokines and Arthritis[单克隆抗体、细胞因子和关节炎],Marcel Dekker[马塞尔德克尔公司],纽约州纽约市,1991;Bach(编辑),Monoclonal Antibodies and Peptide Therapy in Autoimmune Diseases[自身免疫疾病中的单克隆抗体和肽疗法],Marcel Dekker[马塞尔德克尔公司],纽约州纽约市,1993;Baert等人,New Engl.J.Med.[新英格兰医学杂志]348:601-608,2003;Milgrom等人,New Engl.J.Med.[新英格兰医学杂志]341:1966-1973,1999;Slamon等人,New Engl.J.Med.[新英格兰医学杂志]344:783-792,2001;Beniaminovitz等人,New Engl.J.Med.[新英格兰医学杂志]342:613-619,2000;Ghosh等人,New Engl.J.Med.[新英格兰医学杂志]348:24-32,2003;Lipsky等人,New Engl.J.Med.[新英格兰医学杂志]343:1594-1602,2000)。

[1243] 由临床医生,例如,使用本领域已知或疑似影响治疗或预计影响治疗的参数或因素确定适当的剂量。通常,剂量始于稍微小于最佳剂量的量并在此后以小增量增加,直至相对于任何不良副作用,实现所期望的或最佳的效果。重要的诊断测量值包括症状(例如炎症)的那些测量值或产生的炎性细胞因子的水平。

[1244] 可以改变本发明药物组合物中活性成分的实际剂量水平,以便获得活性成分的量,所述活性成分的量有效地实现对于特定的患者、组合物、和施用方式的所期望的治疗应答,而对患者没有毒性。所选的剂量水平取决于多种药代动力学因素,包括所用的本发明特

定组合物或其酯、盐或酰胺的活性,施用途径,施用时间,正在使用的特定化合物的排泄速率,治疗的持续时间,与所用特定组合物组合使用的其他药物、化合物和/或材料,正在治疗的患者的年龄、性别、体重、病症、总体健康和既往病史,以及医学领域中已知的类似因素。

[1245] 包含本发明的抗体缀合物的组合物可通过连续输注提供,或通过例如一天、一周、或每周1-7次、隔周一次、每三周一次、每四周一次、每五周一次、每六周一次、每七周一次、或每八周一次的时间间隔的剂量来提供。可通过静脉内、皮下、局部、口、鼻、直肠、肌内、脑内、或通过吸入来提供剂量。特定剂量方案是涉及避免显著的不期望的副作用的最大剂量或给药频率的方案。

[1246] 对于本发明的抗体缀合物,施用至患者的剂量可以是0.0001mg/kg至100mg/kg患者体重。所述剂量可以在0.001mg/kg患者体重与50mg/kg患者体重之间、在0.005mg/kg患者体重与20mg/kg患者体重之间、在0.01mg/kg患者体重与20mg/kg患者体重之间、在0.02mg/kg患者体重与10mg/kg患者体重之间、在0.05mg/kg患者体重与5mg/kg患者体重之间、在0.1mg/kg患者体重与10mg/kg患者体重之间、在0.1mg/kg患者体重与8mg/kg患者体重之间、在0.1mg/kg患者体重与5mg/kg患者体重之间、在0.1mg/kg患者体重与2mg/kg患者体重之间、在0.1mg/kg患者体重与1mg/kg患者体重之间。可以使用以千克(kg)计的患者体重乘以按mg/kg计的待施用的剂量,计算抗体缀合物的剂量。

[1247] 可以重复本发明的抗体缀合物的剂量并且各次施用可以相隔少于1天、至少1天、2天、3天、5天、10天、15天、30天、45天、2个月、75天、3个月、4个月、5个月、或至少6个月。在一些实施例中,本发明的抗体缀合物每周施用两次、每周施用一次、每两周施用一次、每三周施用一次、每四周施用一次、或以较低频率施用。在特定的实施例中,本发明的免疫缀合物的剂量每2周重复一次。

[1248] 特定患者的有效量可以根据如以下的因素而改变:待治疗的病症,患者的总体健康状况,施用的方法、途径和剂量,和副作用的严重程度(参见,例如,Maynard等人,A Handbook of SOPs for Good Clinical Practice[用于良好临床实践的SOP手册],Interpharm Press[国际药物出版社],佛罗里达州波卡拉顿(Boca Raton,Fla.),1996;Dent,Good Laboratory and Good Clinical Practice[良好实验和良好临床实践],Urch Publ.[厄奇出版社],英国伦敦,2001)。

[1249] 施用途径可以是通过例如局部或皮肤应用,通过皮下、静脉内、腹膜内、脑内、肌内、眼内、动脉内、脑脊内、病灶内施用进行的注射或输注,或通过持续释放系统或植入物(参见,例如,Sidman等人,Biopolymers[生物聚合物]22:547-556,1983;Langer等人,J.Biomed.Mater.Res.[生物医学材料研究杂志]15:167-277,1981;Langer,Chem.Tech.[化学技术]12:98-105,1982;Epstein等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA[美国国家科学院院刊]82:3688-3692,1985;Hwang等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA[美国国家科学院院刊]77:4030-4034,1980;美国专利号6,350,466和6,316,024)。必要时,组合物也可以包括增溶剂或用于减轻注射部位疼痛的局部麻醉药如利多卡因,或二者。此外,也可以采用肺部施用,例如,通过使用吸入器或雾化器、以及含有雾化剂的配制品。参见例如,美国专利号6,019,968、5,985,320、5,985,309、5,934,272、5,874,064、5,855,913、5,290,540、和4,880,078;以及PCT公开号WO 92/19244、WO 97/32572、WO 97/44013、WO 98/31346、和WO 99/66903,将这些专利中的每一个通过引用以其全文并入本文。

[1250] 此类另外的成分的实例是本领域熟知的。

[1251] 与第二治疗剂(例如,细胞因子、类固醇、化学治疗剂、抗生素、或放射)共同施用或治疗的方法在本领域中是已知的(参见例如,Hardman等人,(编辑)(2001)Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics[Goodman和Gilman的治疗的药理学基础],第10增版,McGraw-Hill[麦格劳-希尔集团],纽约州纽约市;Poole和Peterson(编辑)(2001)Pharmacotherapeutics for Advanced Practice:A Practical Approach[用于先进实践的药物治疗学:实用方法],Lippincott,Williams&Wilkins[利平科特、威廉姆斯和威尔金斯出版社],宾夕法尼亚州费城市(Phila.,Pa.);Chabner和Longo(编辑)(2001)Cancer Chemotherapy and Biotherapy[癌症化学疗法和生物疗法],Lippincott,Williams&Wilkins[利平科特、威廉姆斯和威尔金斯出版公司],宾夕法尼亚州费城市)。治疗剂的有效量可以将症状减少至少10%;至少20%;至少约30%;至少40%、或至少50%。

[1252] 可以与本发明的抗体缀合物组合施用的另外的疗法(例如,预防剂或治疗剂)可以与本发明的抗体缀合物相隔少于5分钟、相隔少于30分钟、相隔1小时、相隔约1小时、相隔约1小时至约2小时、相隔约2小时至约3小时、相隔约3小时至约4小时、相隔约4小时至约5小时、相隔约5小时至约6小时、相隔约6小时至约7小时、相隔约7小时至约8小时、相隔约8小时至约9小时、相隔约9小时至约10小时、相隔约10小时至约11小时、相隔约11小时至约12小时、相隔约12小时至18小时、相隔18小时至24小时、相隔24小时至36小时、相隔36小时至48小时、相隔48小时至52小时、相隔52小时至60小时、相隔60小时至72小时、相隔72小时至84小时、相隔84小时至96小时、或相隔96小时至120小时进行施用。两种或更多种疗法可以在同一患者访视中施用。

[1253] 在某些实施例中,可以配制本发明的抗体缀合物以确保适当的体内分布。示例性的靶向部分包括叶酸或生物素(参见,例如,Low等人的美国专利号5,416,016);甘露糖苷(Umezawa等人,(1988),Biochem.Biophys.Res.Commun.[生物化学与生物物理研究通讯]153:1038);抗体(Bloeman等人,(1995)FEBS Lett.[欧洲生化学会联合会快报]357:140);Owais等人,(1995)Antimicrob.Agents Chemother.[抗微生物剂化学疗法]39:180);表面活性剂蛋白A受体(Briscoe等人,(1995)Am.J.Physiol.[美国生理学杂志]1233:134);p120(Schreier等人,(1994)J.Biol.Chem.[生物化学杂志]269:9090);还参见K.Keinanen;M.L.Laukkanen(1994)FEBS Lett.[欧洲生化学会联合会快报]346:123);J.J.Killion;I.J.Fidler(1994)Immunomethods[免疫方法]4:273。

[1254] 本发明提供了用于向有需要的受试者单独或与其他疗法组合施用包含本发明的抗体缀合物的药物组合物的方案。本发明的组合疗法的疗法(例如,预防剂或治疗剂)可以同时或依序施用于受试者。本发明的组合疗法的疗法(例如,预防剂或治疗剂)也可以循环施用。循环疗法涉及施用第一疗法(例如,第一预防剂或治疗剂)一段时间,随后施用第二疗法(例如,第二预防剂或治疗剂)一段时间并重复这种依序施用,即,所述循环,以减少对一种疗法(例如,试剂)的抗性形成,以避免或减少一种疗法(例如,试剂)的副作用和/或以改善疗法的功效。

[1255] 本发明的组合疗法的疗法(例如,预防剂或治疗剂)可以并行施用于受试者。

[1256] 术语"并行"不限于在完全相同的时间施用疗法(例如,预防剂或治疗剂),而是意指将包含本发明抗体或其片段的药物组合物以这样的顺序并在这样的时间间隔内施用至

受试者,所述顺序和所述时间间隔使得本发明的抗体或抗体缀合物可以与一种或多种其他疗法一起发挥作用,以提供与如果另外施用它们相比增加的益处。例如,可以将每种疗法在相同的时间或以任何次序依序在不同的时间点施用于受试者;然而,如果不在相同的时间施用,则它们应当在时间上充分接近地施用,从而提供所期望的治疗或预防效果。可以将每种疗法以任何适当的形式并通过任何合适的途径分别施用于受试者。在各种实施例中,将疗法(例如,预防剂或治疗剂)相隔少于5分钟、相隔少于15分钟、相隔少于30分钟、相隔少于1小时、相隔约1小时、相隔约1小时至约2小时、相隔约2小时至约3小时、相隔约3小时至约4小时、相隔约4小时至约5小时、相隔约5小时至约6小时、相隔约6小时至约7小时、相隔约7小时至约8小时、相隔约8小时至约9小时、相隔约9小时至约10小时、相隔约10小时至约11小时、相隔约11小时至约12小时、相隔24小时、相隔48小时、相隔72小时、或相隔1周施用于受试者。在其他实施例中,将两种或更多种疗法(例如,预防剂或治疗剂)在同一患者访视中施用。

[1257] 组合疗法的预防剂或治疗剂可以在相同的药物组合物中施用于受试者。可替代地,组合疗法的预防剂或治疗剂可以在分开的药物组合物中并行施用于受试者。预防剂或治疗剂可以通过相同或不同施用途径施用于受试者。

[1258] 实例

[1259] 在以下实例中进一步描述了本发明,这些实例不旨在限制权利要求中描述的本发明的范围。

[1260] 温度以摄氏度给出。如果没有另外提及,则所有蒸发都在减压下进行,典型地在约15mm Hg与100mm Hg(=20-133毫巴)之间进行。最终产物、中间体和起始材料的结构通过标准分析方法(例如,微量分析和光谱表征(例如,MS、IR、NMR))确认。所使用的缩写是本领域常规的缩写。

[1261] 用于合成本发明的化合物的所有起始材料、结构单元、试剂、酸、碱、脱水剂、溶剂、和催化剂是可商购的或者可以通过本领域的普通技术人员已知的有机合成方法生产或可以通过如本文所述的有机合成方法生产。

[1262] 缩写:

[1263] 所使用的缩写是本领域常规的缩写或以下缩写:

[1264]

Ac:乙酰基	d:双峰;dd:双二重峰
AcOH、HOAc:乙酸	HPLC:高压液相色谱法
ACN:乙腈	h、hr:小时
AIBN:偶氮二异丁腈	HRMS:高分辨质谱法
DCM:二氯甲烷	Isco、ISCO:由特利丹伊斯科公司(Teledyne

[1265]

	Isco）提供的含有硅胶的快速色谱筒
DMF：*N*,*N*-二甲基甲酰胺	LC 和 LCMS：液相色谱法和液相色谱-质谱法
DMSO：二甲亚砜	Lit：升
DIEA 或 DIPEA：*N*,*N*-二异丙基乙胺	μL、mL 和 L：微升、毫升和升
Et 和 EtOAc：乙基和乙酸乙酯	m：多重峰
EtOH：乙醇	mg：毫克
Fmoc：芴基甲氧基羰基氯	Min(s)：分钟
Fmoc-OSU：9-芴基甲氧基羰基-N-琥珀酰亚胺酯	M 和 mM：摩尔和毫摩尔
MeOH：甲醇	m/z：质荷比
NBS：*N*-溴代琥珀酰亚胺	NMR：核磁共振
TBDPS：叔丁基二苯基甲硅烷基	rt：室温
tBuOH：叔丁醇	RP：反相
TFA：三氟乙酸	s：单峰
THF：四氢呋喃	t：三重峰
	TLC：薄层色谱法

[1266] 分析方法

[1267] 使用具有以下参数的仪器获取LC/MS数据：

[1268]

泵	Waters AcQuity UPLC 二元溶剂管理器
样品管理器	Waters AcQuity UPLC 样品管理器
柱温箱	Waters AcQuity UPLC 色谱柱管理器
检测器	Waters AcQuity UPLC PDA
ELSD	Shimadzu ELSD-LTII
质谱	Waters SQD
柱	AcQuity UPLC BEH C18 1.7 μm 2.1×50 mm
洗脱剂 A1	0.1%甲酸的水溶液
洗脱剂 B1	0.1%甲酸的乙腈溶液
洗脱剂 A2	5 mM 氢氧化铵的水溶液
洗脱剂 B2	5 mM 氢氧化铵的乙腈溶液

[1269] 用于生成LC/MS数据的方法如下：

[1270] 方法A:2min酸性法

[1271] 洗脱剂A1： 0.1％甲酸的水溶液

[1272] 洗脱剂B1： 0.1％甲酸的乙腈溶液

[1273] 流速： 1.0mL/min

[1274] 停止时间： 3.00min

[1275] pH： 2.6

[1276] 柱： AcQuity UPLC BEH C18 1.7μm 2.1×50mm

[1277] 柱温： 50℃

[1278] TAC： 210-400nm

[1279] 质量范围： 120-1500Da

[1280] 扫描时间： 0.3s

[1281] 梯度：

时间	%A(洗脱剂A1)	%B(洗脱剂B1)
0.00	95	5
0.20	95	5
2.00	5	95
2.50	5	95
2.60	95	5
3.00	95	5

[1282] 方法B:2min碱性法

[1283] 洗脱剂A2： 5mM氢氧化铵的水溶液

[1284] 洗脱剂B2： 5mM氢氧化铵的乙腈溶液

[1285] 流速： 1.0mL/min

[1286] 停止时间： 3.00min

[1287] pH： 10.2

[1288] 柱： AcQuity UPLC BEH C18 1.7μm 2.1×50mm

[1289] 柱温： 50℃

[1290] TAC： 210-400nm

[1291] 质量范围： 120-1500Da

[1292] 扫描时间： 0.3s

[1293] 梯度：

时间	%A(洗脱剂A2)	%B(洗脱剂B2)
0.00	95	5
0.20	95	5
2.00	5	95
2.50	5	95
2.60	95	5
3.00	95	5

[1294] 方法C:5min酸性法

[1295] 流速： 1.0mL/min

[1296] 停止时间： 5.20min

[1297] pH： 2.6

[1298] 柱： AcQuity UPLC BEH C18 1.7μm 2.1×50mm

[1299] 柱温： 50℃

[1300] TAC： 210-400nm

[1301] 质量范围： 120-1500Da

[1302] 扫描时间： 0.3s

[1303] 梯度：

时间	%A(洗脱剂A1)	%B(洗脱剂B1)
0.00	98	2
4.40	2	98
5.15	2	98
5.19	98	2

[1304] 使用具有以下参数的仪器获取HRMS数据：

[1305]

泵	Waters AcQuity UPLC 二元溶剂管理器
样品管理器	Waters AcQuity UPLC 样品管理器
柱温箱	Waters AcQuity UPLC 色谱柱管理器
检测器	Waters AcQuity UPLC PDA
ELSD	n/a
质谱	Waters Xevo G2 Qtof
柱	AcQuity UPLC PrST C4 300Å 1.7 µm 2.1x100 mm AcQuity UPLC CSH C18 1.7 µm 2.1x50 mm ProSwift RP-3U 4.6x50 mm SS
洗脱剂 A1	0.1%甲酸的水溶液
洗脱剂 B1	0.1%甲酸的乙腈溶液
洗脱剂 A2	水中的 0.05%三氟乙酸
洗脱剂 B2	乙腈中的 0.05%三氟乙酸

[1306] 用于生成接头/有效载荷和合成中间体的HRMS数据的方法如下：

[1307] 方法D:5min酸性法

[1308] 流速： 1.0mL/min

[1309] 停止时间： 5.2min

[1310] pH： 2.6

[1311] 柱： AcQuity UPLC BEH C18 1.7µm 2.1×50mm

[1312] 柱温： 50℃

[1313] TAC： 210-400nm

[1314] 质量范围： 300-4000Da

[1315] 处理范围： n/a

[1316] 扫描时间： 0.5s

[1317] 梯度：

时间	%A(洗脱剂A2)	%B(洗脱剂B2)

0.00	98	2
4.40	2	98
5.15	2	98
5.19	98	2

[1318] 用于生成抗体-药物缀合物的HRMS数据的方法如下：

[1319] 方法E:蛋白方法

[1320] 流速： 1.0mL/min

[1321] 停止时间： 3.30min

[1322] pH： 2.6

[1323] 柱： ProSwift RP-3U 4.6x50 mm SS

[1324] 柱温： 50℃

[1325] TAC： 210-400nm

[1326] 质量范围： 600-3900Da

[1327] 处理范围： 14000-170000Da

[1328] 扫描时间： 1.5s

[1329] 梯度：

时间	%A(洗脱剂A1)	%B(洗脱剂B1)
0.00	98	2
0.70	98	2
2.00	2	98
2.10	2	98
2.30	98	2
3.30	98	2

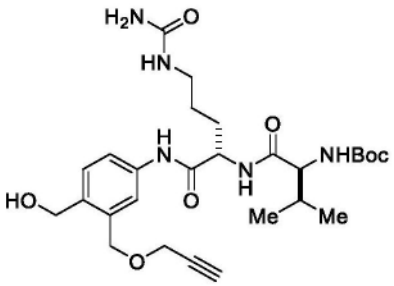
[1330] 使用具有以下参数的仪器和12分钟的运行时间来获得尺寸排阻色谱数据：

[1331]

泵	Waters bioAcQuity UPLC 四元溶剂管理器
样品管理器	Waters bioAcQuity UPLC 样品管理器 FTN
柱温箱	Waters AcQuity UPLC 30 cm 色谱柱加热器
检测器	Waters AcQuity UPLC PDA
ELSD	n/a
质谱	n/a
柱	Superdex 200 Increase 5/150 GL
洗脱剂 A1	1X PBS（磷酸盐缓冲盐水） +0.1 M NaCl + 5%异丙醇
洗脱剂 B1	n/a

[1332] 实例1:接头中间体的合成

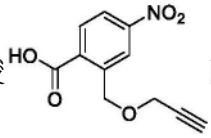
[1333] 实例1-1:叔丁基((S)-1-(((S)-1-((4-(羟甲基)-3-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯(LI-1)的合成

[1334] 

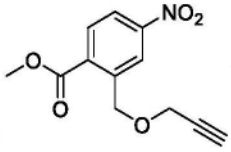
(LI-1)

[1335] 步骤1:2-(溴甲基)-4-硝基苯甲酸的合成

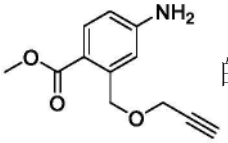
[1336] 在室温下向2-甲基-4-硝基苯甲酸(300g,1.5371mol)在CCl_4(3000mL)中的搅拌溶液添加NBS(300.93mg,1.6908mol)和AIBN(37.86mg,0.2305mmol)。将反应混合物在80℃下搅拌16h。通过TLC分析监测反应混合物。将反应混合物用饱和$NaHCO_3$溶液(2lit)稀释并用乙酸乙酯(2x2lit)萃取。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥并在减压下浓缩。使用2%-3%乙酸乙酯的石油醚溶液作为洗脱剂,将粗化合物纯化通过硅胶柱色谱法,并获得2-(溴甲基)-4-硝基苯甲酸(250g,59%产率)。^{1}H NMR(400MHz,CDCl3):δ8.35(d,J=2.0Hz,1H),8.20(q,J=8.8,2.4Hz,1H),8.12(d,J=8.8Hz,1H),4.97(s,2H),4.00(s,3H)。

[1337] 步骤2:4-硝基-2-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苯甲酸的合成

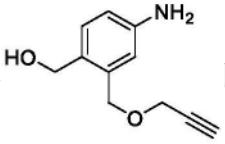
[1338] 在室温下向2-(溴甲基)-4-硝基苯甲酸(250g,0.9122mol)在ACN(5000mL)中的混合物中添加丙-2-炔-1-醇(255.68g,265.50mL,4.5609mol,d=0.963g/mL)和Cs_2CO_3(743.03g,2.2805mol)。将所得混合物加热至80℃保持16h。将反应混合物通过硅藻土垫过滤,用乙酸乙酯(2lit)洗涤。将滤液在减压下浓缩。向获得的粗化合物中添加饱和$NaHCO_3$溶液(1lit),并使用2N HCl(2lit)将水层酸化至pH 2。过滤真空干燥后,获得4-硝基-2-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苯甲酸(130g,60.6%)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO):δ13.61(brs,1H),8.37(d,J=2.4Hz,1H),8.23(dd,J=2.4,8.4Hz,1H),8.10(d,J=8.8Hz,1H),4.95(s,2H),4.37(d,J=2.4Hz,2H),3.52(t,J=2.4Hz,1H)

[1339] 步骤3:4-硝基-2-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苯甲酸甲酯的合成

[1340] 在0℃下向4-硝基-2-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苯甲酸(130g,0.5527mol)在MeOH(1300mL)中的搅拌溶液中缓慢添加$SOCl_2$(526.08g,320.78mL,4.4219mol,d=1.64g/mL)。将反应在70℃下搅拌4h。将反应溶剂在减压下蒸发。将获得的残余物溶解在乙酸乙酯(1000mL)中并用饱和$NaHCO_3$(600mL)、水(500mL)和盐水溶液(500mL)洗涤。将分离的有机层经硫酸钠干燥,过滤并在减压下蒸发,以获得4-硝基-2-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苯甲酸甲酯(110g,80%产率)。^{1}H NMR(400MHz,CDCl3):δ8.56(t,J=0.8Hz,1H),8.18-8.09(m,2H),5.03(s,2H),4.35(d,J=2.4Hz,2H),3.96(s,3H),2.49(t,J=2.4Hz,1H)。

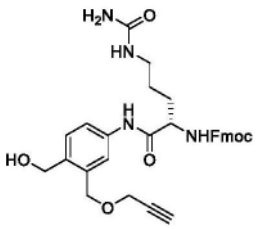
[1341] 步骤4:4-氨基-2-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苯甲酸甲酯的合成

[1342] 在室温下向4-硝基-2-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苯甲酸甲酯(110g,0.4414mol)在EtOH(1100mL)和H_2O(550mL)的混合物中的溶液中添加Fe粉(197.21g,3.5310mol)和NH_4Cl(188.88g,3.5310mol)。将所得混合物在80℃下加热16h。将反应混合物冷却至室温并通过硅藻土过滤,并用乙酸乙酯(2lit)洗涤。将滤液在减压下浓缩多达体积的一半。向残余物中添加乙酸乙酯(1.5lit)并将两层分离,并将水层用乙酸乙酯(2lit)萃取。将合并的有机层经无水硫酸钠干燥并在减压下浓缩以获得粗品。通过SiO_2柱色谱法(15%-20%乙酸乙酯的石油醚溶液)纯化得到4-氨基-2-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苯甲酸甲酯(70g,72%产率)。^1H NMR(400MHz,CDCl3):δ7.67(d,J=8.8Hz,1H),6.78(t,J=1.6Hz,1H),6.48(q,J=8.4,2.4Hz,1H),4.79(s,2H),4.25(d,J=2.4Hz,2H),3.70(d,J=4.0Hz,3H),3.42(t,J=2.4Hz,1H)。

[1343] 步骤5:(4-氨基-2-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苯基)甲醇的合成

[1344] 在0℃下向THF(1000mL)的搅拌溶液中缓慢添加$LiAlH_4$(1M,在THF中)(21.23g,798.2mmol,798.2mL)。在0℃下缓慢添加4-氨基-2-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苯甲酸甲酯(70g,319.3mmol)在THF(800mL)中的溶液。将反应在室温下搅拌4h。将反应混合物冷却至0℃,然后非常缓慢地添加水(22mL),随后添加20%NaOH(22mL)和水(66mL)。将反应混合物在0℃下搅拌30min。添加无水硫酸钠以吸收过量的水。将混合物通过硅藻土过滤。将滤饼用乙酸乙酯(1000mL)和10%MeOH/DCM(500mL)洗涤。将滤液在减压下浓缩。将所得粗化合物通过SiO_2柱色谱法(35%-40%乙酸乙酯的石油醚溶液作为洗脱剂)纯化以得到(4-氨基-2-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苯基)甲醇(50.6g,83%产率)。^1H NMR(400MHz,CDCl3):δ6.98(d,J=8.0Hz,1H),6.56(d,J=2.4Hz,1H),6.43(dd,J=2.4,8.0Hz,1H),4.98(s,2H),4.64(t,J=5.2Hz,1H),4.47(s,2H),4.34(d,J=5.6Hz,2H),4.15(d,J=2.4Hz,2H),3.46(t,J=2.4Hz,1H)。

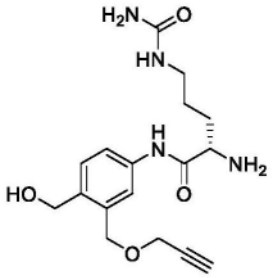
[1345] 步骤6:(9H-芴-9-基)甲基(S)-(1-((4-(羟甲基)-3-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基甲酸酯的合成

[1346] 

[1347] 向(4-氨基-2-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苯基)甲醇(1.92g,10.04mmol,1.0当量)、(9H-芴-9-基)甲基(S)-(1-氨基-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基甲酸酯(3.99g,10.04mmol,1.0当量)、和(1-[双(二甲基氨基)亚甲基]-1H-1,2,3-三唑并[4,5-b]吡啶-3-氧化物六氟磷酸盐(4.20g,11.04mmol,1.1当量)在DMF(10mL)中的溶液添加N,N-二异丙基

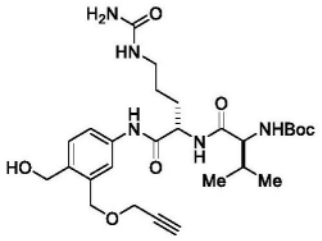
乙胺(2.62mL,15.06mmol,1.5当量)。在环境温度搅拌1小时后,将混合物倒入水(200mL)中。将所得固体过滤、用水冲洗、并真空干燥,并且获得(9H-芴-9-基)甲基(S)-(1-((4-(羟甲基)-3-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基甲酸酯(6.08g,99%)。LCMS:MH+=571.5;Rt=0.93min(2min酸性法-方法A)。

[1348] 步骤7:(S)-2-氨基-N-(4-(羟甲基)-3-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苯基)-5-脲基戊酰胺的合成

[1349] 

[1350] 向(9H-芴-9-基)甲基(S)-(1-((4-(羟甲基)-3-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基甲酸酯(6.08g,10.65mmol,1.0当量)添加二甲胺(2M,在THF中,21.31mL,42.62mmol,4当量)。在环境温度下搅拌1.5小时后,从已形成的胶样残余物中倾出上清液。用乙醚(3×50mL)研磨残余物并将所得固体过滤,用乙醚洗涤,并真空干燥。获得了(S)-2-氨基-N-(4-(羟甲基)-3-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苯基)-5-脲基戊酰胺(3.50g,10.04mmol,94%)。LCMS:MH+349.3;Rt=0.42min(2min酸性法-方法A)。

[1351] 步骤8:叔丁基((S)-1-(((S)-1-((4-(羟甲基)-3-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯(LI-1)的合成

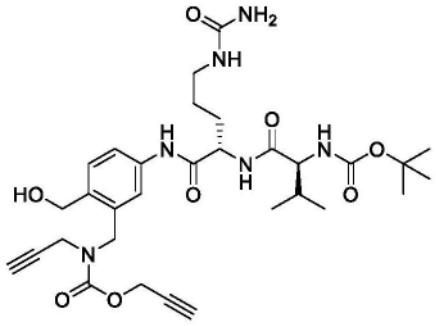
[1352] 

(LI-1)

[1353] 向(S)-2-氨基-N-(4-(羟甲基)-3-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苯基)-5-脲基戊酰胺(3.50g,10.04mmol,1.0当量)、(叔丁氧基羰基)-L-缬氨酸(2.62g,12.05mmol,1.2当量)、和(1-[双(二甲基氨基)亚甲基]-1H-1,2,3-三唑并[4,5-b]吡啶-3-氧化物六氟磷酸盐(4.58g,12.05mmol,1.2当量)在DMF(10mL)中的溶液添加N,N-二异丙基乙胺(3.50mL,20.08mmol,2.0当量)。在环境温度下搅拌2小时后,将混合物倒入水(200mL)中,并将所得悬浮液用EtOAc(3x100 mL)萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥并真空浓缩。通过ISCO SiO_2 色谱法(0-20%甲醇/二氯甲烷)纯化后,获得了叔丁基((S)-1-(((S)-1-((4-(羟甲基)-3-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯(LI-1)(2.49g,4.55mmol,45%)。1H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ10.00(s,1H),7.96(d,J=7.7Hz,1H),7.55(dq,J=4.9,2.2Hz,2H,aryl),7.32(d,J=8.9Hz,1H,aryl),6.76(d,J=8.9Hz,1H),5.95(t,J=5.8Hz,1H),5.38(s,2H),5.01(t,J=5.5Hz,1H),4.54(s,2H),4.45(dd,J=25.2,5.3Hz,3H),4.20(d,J=2.4Hz,2H),3.83(dd,J=8.9,

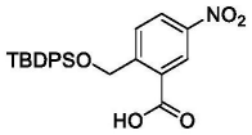
6.7Hz,1H),3.49(t,J＝2.4Hz,1H),2.97(dh,J＝26.0,6.5Hz,2H),1.96(h,J＝6.6Hz,1H),1.74-1.50(m,2H),1.39(m,11H),0.84(dd,J＝16.2,6.7Hz,6H)。LCMS:MNa+570.5;Rt＝0.79min(2min酸性法-方法A)。

[1354] 实例1-2:丙-2-炔-1-基(5-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(羟甲基)苄基)(丙-2-炔-1-基)氨基甲酸酯(LI-2)的合成

[1355] 

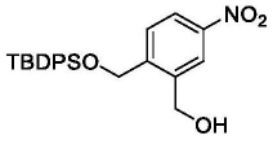
(LI-2)

[1356] 步骤1:2-(((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)-5-硝基苯甲酸的合成

[1357] 

[1358] 向6-硝基异苯并呋喃-1(3H)-酮(90g,502.43mmol,1.00当量)在MeOH(1000mL)中的溶液中添加在H_2O(150mL)中KOH(28.19g,502.43mmol,1.00当量)。将棕色混合物在25℃下搅拌1.5h。将棕色混合物在减压下浓缩以给出残余物并溶解在DCM(2000mL)中。向混合物中添加TBDPSCl(296.91g,1.08mol,277.49mL,2.15当量)和咪唑(171.03g,2.51mol,5.00当量),在25℃下搅拌12h。将混合物在减压下浓缩以给出残余物。将残余物通过硅胶色谱法(石油醚/乙酸乙酯＝1/0、1/1)纯化并获得呈白色固体的2-(((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)-5-硝基苯甲酸(34g,74.16mmol,14.76%产率)。^{1}H NMR(400MHz,甲醇-d4)δppm 1.13(s,9H)5.26(s,2H)7.34-7.48(m,6H)7.68(br d,J＝8Hz,4H)8.24(br d,J＝8Hz,1H)8.46(br d,J＝8Hz,1H)8.74(s,1H)

[1359] 步骤2:(2-(((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)-5-硝基苯基)甲醇的合成

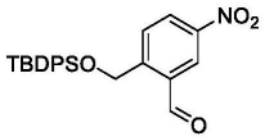
[1360] 

[1361] 向2-(((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)-5-硝基苯甲酸(41g,94.14mmol,1当量)在THF(205mL)中的混合物中添加BH_3.THF(1M,470.68mL,5当量)。将黄色混合物在60℃下搅拌2h。向混合物中添加MeOH(400mL),并在减压下浓缩以给出残余物,然后添加H_2O(200mL)和DCM(300mL),用DCM(3×200mL)萃取,用盐水(300mL)洗涤,经无水$MgSO_4$干燥,过滤,并在减压下浓缩以给出残余物。将残余物通过硅胶色谱法(石油醚/乙酸乙酯＝1/0、1/1)纯化。获得了呈白色固体的(2-(((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)-5-硝基苯基)甲醇(34g,80.65mmol,85.7%产率)。

[1362] 1H NMR(400MHz,甲醇-d4)δppm 1.10(s,9H)4.58(s,2H)4.89(s,2H)7.32-7.51(m,6H)7.68(dd,J＝8,1.38Hz,4H)7.76(d,J＝8Hz,1H)8.15(dd,J＝8 2.26Hz,1H)8.30(d,J＝

2Hz,1H)。

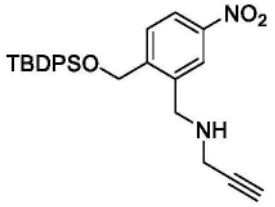
[1363] 步骤3:2-(((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)-5-硝基苯甲醛的合成

[1364] 

[1365] 向(2-(((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)-5-硝基苯基)甲醇(34g,80.65mmol,1当量)在DCM(450mL)中的溶液中添加MnO2(56.09g,645.22mmol,8当量)。将黑色混合物在25℃下搅拌36h。向混合物中添加MeOH(400mL),并在减压下浓缩以给出残余物,然后添加H_2O(200mL)和DCM(300mL),用DCM(3×200mL)萃取,用盐水(300mL)洗涤,经无水$MgSO_4$干燥,过滤,并在减压下浓缩以给出残余物。将残余物通过硅胶色谱法(CH_2Cl_2=100%)纯化。获得了呈白色固体的2-(((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)-5-硝基苯甲醛(30g,71.51mmol,88.7%产率)。

[1366] ^1H NMR(400MHz,氯仿-d)δppm 1.14(s,9H)5.26(s,2H)7.34-7.53(m,6H)7.60-7.73(m,4H)8.13(d,J=8Hz,1H)8.48(dd,J=8,2.51Hz,1H)8.67(d,J=2Hz,1H)10.16(s,1H)

[1367] 步骤4:N-(2-(((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)-5-硝基苄基)丙-2-炔-1-胺的合成

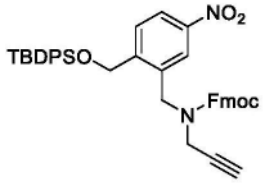
[1368] 

[1369] 向2-(((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)-5-硝基苯甲醛(12.6g,30.03mmol,1当量)在DCM(130mL)中的溶液添加丙-2-炔-1-胺(4.14g,75.08mmol,4.81mL,2.5当量)和$MgSO_4$(36.15g,300.33mmol,10当量),然后将悬浮液混合物在25℃下搅拌24h。取少量反应溶液并用$NaBH_4$处理,TLC示出形成了一个新的点。将反应混合物过滤并在减压下浓缩以给出残余物。获得了呈黄色固体的(E)-N-[[2-[[叔丁基(二苯基)甲硅烷基]氧基甲基]-5-硝基-苯基]甲基]丙-2-炔-1-亚胺(12g,粗品)。^1H NMR(400MHz,氯仿-d)δppm 1.11(s,9H)2.48(t,J=2.38Hz,1H)4.52(t,J=2.13Hz,2H)5.09(s,2H)7.35-7.49(m,6H)7.63-7.72(m,4H)7.79(d,J=8.53Hz,1H)8.25(dd,J=8.53,2.51Hz,1H)8.68(d,J=2.26Hz,1H)8.84(t,J=1.88Hz,1H)。

[1370] 将(E)-N-[[2-[[叔丁基(二苯基)甲硅烷基]氧基甲基]-5-硝基-苯基]甲基]丙-2-炔-1-亚胺(12g,26.28mmol,1当量)溶解在MeOH(100mL)和THF(50mL)中,然后添加$NaBH_4$(1.49g,39.42mmol,1.5当量)并将黄色混合物在-20℃下搅拌2h。LCMS示出了检测到所期望的化合物。通过在-20℃下添加200mL MeOH将反应混合物淬灭,然后在减压下浓缩以给出残余物。将残余物用EtOAc 500mL溶解,用盐水150mL洗涤,经无水Na_2SO_4干燥,过滤并在减压下浓缩以给出残余物。将残余物通过快速硅胶色谱法(0%-10%乙酸乙酯/石油醚梯度的洗脱剂)纯化。获得了呈淡黄色油状物的N-(2-(((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)-5-硝基苄基)丙-2-炔-1-胺(9g,18.45mmol,70%产率)。^1H NMR(400MHz,氯仿-d)δppm 1.12(s,9H)

2.13(t,J＝2.38Hz,1H)3.33(d,J＝2.51Hz,2H)3.80(s,2H)4.93(s,2H)7.36-7.49(m,6H)7.69(dd,J＝7.91,1.38Hz,4H)7.77(d,J＝8.53Hz,1H)8.16(dd,J＝8.41,2.38Hz,1H)8.24(d,J＝2.26Hz,1H)。

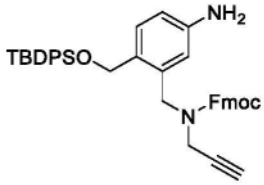
[1371] 步骤5:(9H-芴-9-基)甲基(2-(((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)-5-硝基苄基)(丙-2-炔-1-基)氨基甲酸酯的合成

[1372] 

[1373] 向N-(2-(((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)-5-硝基苄基)丙-2-炔-1-胺(9g,19.62mmol,1当量)和Fmoc-OSU(7.28g,21.59mmol,1.1当量)在二噁烷(90mL)中的溶液中添加饱和$NaHCO_3$(90mL)并将白色悬浮液在20℃下搅拌12h。将反应混合物用H_2O 150mL稀释并用EtOAc(每次150mL)萃取两次。将合并的有机层用盐水200mL洗涤,经无水Na_2SO_4干燥,过滤并在减压下浓缩以给出残余物。将残余物通过快速硅胶色谱法(0%-30%乙酸乙酯/石油醚的洗脱剂)纯化。获得了呈白色固体的(9H-芴-9-基)甲基(2-(((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)-5-硝基苄基)(丙-2-炔-1-基)氨基甲酸酯(7.7g,11.08mmol,56.48%产率,98%纯度)。

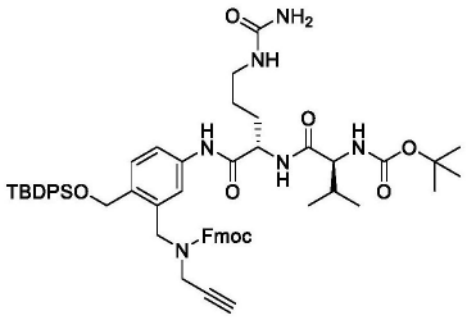
[1374] 1H NMR(400MHz,氯仿-d)δppm 1.12(s,9H)2.17(br d,J＝14.31Hz,1H)3.87-4.97(m,9H)6.98-8.28(m,21H)。

[1375] 步骤6:(9H-芴-9-基)甲基(5-氨基-2-(((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)苄基)(丙-2-炔-1-基)氨基甲酸酯的合成

[1376] 

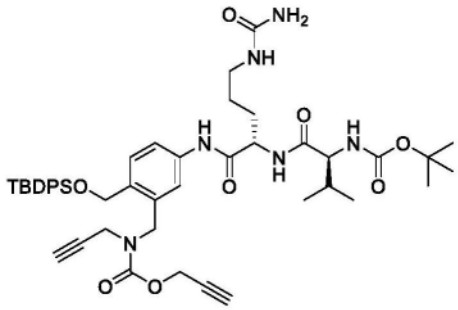
[1377] 向冰浴冷却的(9H-芴-9-基)甲基(2-(((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)-5-硝基苄基)(丙-2-炔-1-基)氨基甲酸酯(5.0g,7.34mmol,1.0当量)在10% AcOH/CH_2Cl_2(100mL)中的溶液中添加Zn(7.20g,110mmol,15当量)。去除冰浴,并将所得混合物搅拌2小时,此时通过硅藻土垫将其过滤。将挥发物在真空中去除,并将残余物溶解在EtOAc中,用$NaHCO_3$(饱和)、NaCl(饱和)洗涤,经$MgSO_4$干燥,过滤,浓缩,并在ISCO SiO_2色谱法(0%-75% EtOAc/庚烷)后,获得了(9H-芴-9-基)甲基(5-氨基-2-(((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)苄基)(丙-2-炔-1-基)氨基甲酸酯(2.99g,62%)。LCMS:MH+＝651.6;Rt＝3.77min(5min酸性法-方法C)。

[1378] 步骤7:(9H-芴-9-基)甲基(5-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)苄基)(丙-2-炔-1-基)氨基甲酸酯的合成

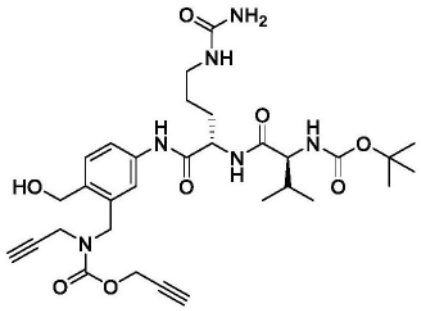
[1379] 

[1380] 向在CH_2Cl_2(40mL)中的(9H-芴-9-基)甲基(5-氨基-2-(((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)苄基)(丙-2-炔-1-基)氨基甲酸酯(2.99g,4.59mmol,1.0当量)和(S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酸(1.72g,4.59mmol,1.0当量)中添加2-乙氧基喹啉-1(2H)-羧酸乙酯(2.27g,9.18mmol,2.0当量)。搅拌10分钟后,添加MeOH(1mL),使溶液变得均质。搅拌反应16小时,在真空中去除挥发物,并在通过ISCO SiO_2色谱法(0%-15% MeOH/CH_2Cl_2)纯化后,获得了(9H-芴-9-基)甲基(5-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)苄基)(丙-2-炔-1-基)氨基甲酸酯(2.78g,60%)。LCMS:MH+=1008.8;Rt=3.77min(5min酸性法-方法C)。

[1381] 步骤8:丙-2-炔-1-基(5-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)苄基)(丙-2-炔-1-基)氨基甲酸酯的合成

[1382] 

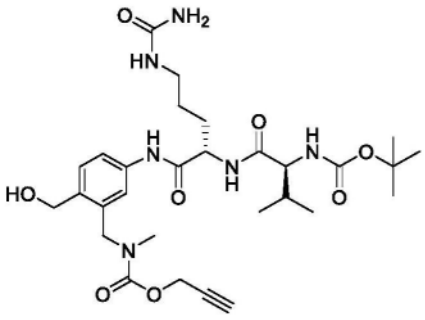
[1383] 向(9H-芴-9-基)甲基(5-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)苄基)(丙-2-炔-1-基)氨基甲酸酯(1.60g,1.588mmol,1.0当量)中添加在MeOH(30mL,60mmol,37当量)和THF(10mL)中的2M二甲胺。静置3小时后,将挥发物在真空中去除并将残余物用Et_2O研磨以去除Fmoc脱保护副产物。向所得固体中添加CH_2Cl_2(16mL)和吡啶(4mL),并向不均质溶液中添加氯甲酸炔丙酯(155μL,1.588mmol,1.0当量)。搅拌30min后,添加另外的氯甲酸炔丙酯(155μL,1.588mmol,1.0当量)。再搅拌20分钟后,添加MeOH(1mL)以淬灭剩余的氯甲酸盐,并在真空中去除挥发物。通过ISCO SiO_2色谱法(0%-15%MeOH/CH_2Cl_2)纯化后,获得了丙-2-炔-1-基(5-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)苄基)(丙-2-炔-1-基)氨基甲酸酯(984mg,71%)。LCMS:MH+=867.8;Rt=3.40min(5min酸性法-方法C)。步骤9:丙-2-炔-1-基(5-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(羟甲基)苄基)(丙-2-炔-1-基)氨基甲酸酯(LI-2)的合成

[1384] 

(LI-2)

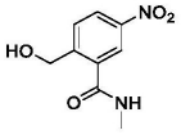
[1385] 向丙-2-炔-1-基(5-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)苄基)(丙-2-炔-1-基)氨基甲酸酯(984mg,1.135mmol,1.0当量)在THF(7.5mL)中的溶液中添加在THF中的1.0M四丁基氟化铵(2.27mL,2.27mmol,2.0当量)。静置6小时后,在真空中去除挥发物,将残余物通过ISCO SiO_2色谱法(0%-40% MeOH/CH_2Cl_2)纯化,并获得了丙-2-炔-1-基(5-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(羟甲基)苄基)(丙-2-炔-1-基)氨基甲酸酯(629mg,88%)。LCMS:MH+=629.6;Rt=1.74min(5min酸性法-方法C)。

[1386] 实例1-3:丙-2-炔-1-基(5-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(羟甲基)苄基)(甲基)氨基甲酸酯(LI-3)的合成

[1387] 

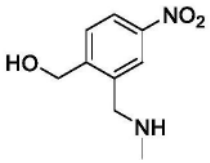
(LI-3)

[1388] 步骤1:2-(羟甲基)-N-甲基-5-硝基苯甲酰胺的合成

[1389] 

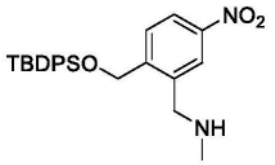
[1390] 在25℃下向6-硝基异苯并呋喃-1(3H)-酮(500g,2.79mol)在MeOH(1500mL)中的搅拌悬浮液中添加$MeNH_2$(3.00kg,29.94mol,600mL,31.0%纯度)并搅拌1h。将固体过滤并用水洗涤两次(600mL),并在高真空下干燥以获得残余物。获得了呈白色固体的产物2-(羟甲基)-N-甲基-5-硝基苯甲酰胺(560g,粗品)。LCMS:RT=0.537min,MS m/z=193.2。1H NMR:400MHz DMSO δ8.57(br d,J=4.4Hz,1H),8.31(dd,J=2.4,8.6Hz,1H),8.21(d,J=2.4Hz,1H),7.86(d,J=8.8Hz,1H),5.54(t,J=5.6Hz,1H),4.72(d,J=5.5Hz,2H),2.78(d,J=4.4Hz,3H)。

[1391] 步骤2:(2-((甲基氨基)甲基)-4-硝基苯基)甲醇的合成

[1392] 

[1393] 将2-(羟甲基)-N-甲基-5-硝基苯甲酰胺(560g,2.66mol)在THF(5000mL)中的溶液冷却至0℃,然后逐滴添加BH_3-Me_2S(506g,6.66mol)(2.0M,在THF中)持续60min,并将混合物加热至70℃保持5h。LCMS示出了起始材料被消耗。完成后,在0℃下向反应混合物中添加在甲醇中的4M HCl(1200mL),并在65℃下加热8h。将反应混合物冷却至在0℃,将固体过滤并在减压下浓缩。获得了呈白色固体的(2-((甲基氨基)甲基)-4-硝基苯基)甲醇(520g)。LCMS:RT=0.742min,MS m/z=197.1[M+H]+。^{1}H NMR:400MHz DMSOδ9.25(br s,2H),8.37(d,J=2.4Hz,1H),8.14(dd,J=2.4,8.5Hz,1H),7.63(d,J=8.4Hz,1H),5.72(br s,1H),4.65(s,2H),4.15(br s,2H),2.55-2.45(m,3H)

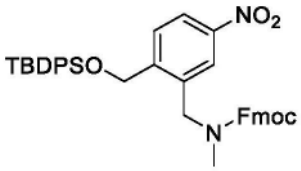
[1394] 步骤3:1-(2-(((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)-5-硝基苯基)-N-甲基甲胺的合成

[1395] 

[1396] 将(2-((甲基氨基)甲基)-4-硝基苯基)甲醇(520g,2.65mol)和咪唑(721g,10.6mol)在DCM(2600mL)中的溶液冷却至0℃,然后逐滴添加TBDPS-Cl(1.09kg,3.98mol,1.02L),并将混合物搅拌2h。将混合物倒入冰冷的水(1000mL)中并用乙酸乙酯萃取。将合并的有机层用盐水洗涤,经Na_2SO_4干燥,过滤并在真空下蒸发以给出粗产物。将粗产物通过硅胶色谱法(用乙酸乙酯:石油醚(从10/1至1)洗脱)纯化,以给出残余物。获得了呈黄色液体的1-(2-(((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)-5-硝基苯基)-N-甲基甲胺(600g)。LCMS:产物:RT=0.910min,MS m/z=435.2[M+H]+

[1397] 1H NMR:400MHz CDCl3δ8.23(d,J=2.4Hz,1H),8.15(dd,J=2.4,8.4Hz,1H),7.76(d,J=8.4Hz,1H),7.71-7.66(m,4H),7.50-7.37(m,6H),4.88(s,2H),3.65(s,2H),2.39(s,3H),1.12(s,9H)

[1398] 步骤4:(9H-芴-9-基)甲基(2-(((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)-5-硝基苄基)(甲基)氨基甲酸酯的合成

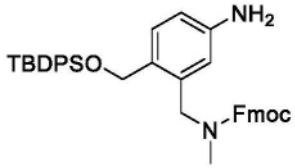
[1399] 

[1400] 向1-(2-(((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)-5-硝基苯基)-N-甲基甲胺(400g,920.3mmol)在THF(4000mL)中的溶液中添加Fmoc-OSU(341.5g,1.01mol)和Et_3N(186.2g,1.84mol,256.2mL),并将混合物在25℃下搅拌1h。将混合物倒入水(1600mL)中并用乙酸乙酯(1000mL)萃取两次。将合并的有机层用盐水洗涤,经Na_2SO_4干燥,过滤并在真空下蒸发以给出粗产物。将粗产物通过硅胶色谱法(用石油醚:乙酸乙酯(从1/0至1/1)洗脱)纯化,以给出呈白色固体的(9H-芴-9-基)甲基(2-(((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)-5-硝基苄基)(甲基)氨基甲酸酯(405g)。LCMS:RT=0.931min,MS m/z=657.2[M+H]+。

[1401] 1H NMR:400MHz CDCl3δ8.21-7.96(m,1H),7.87-7.68(m,3H),7.68-7.62(m,4H),7.62-7.47(m,2H),7.47-7.28(m,9H),7.26-7.05(m,2H),4.81(br s,1H),4.62-4.37(m,

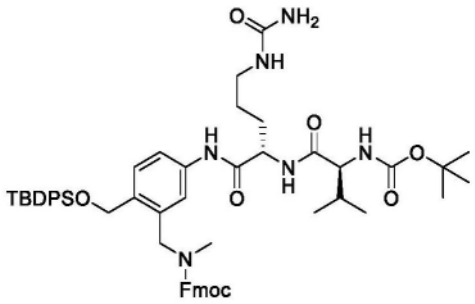
4H),4.31-4.19(m,1H),4.08-3.95(m,1H),2.87(br d,J＝5.2Hz,3H),1.12(s,9H)。

[1402] 步骤5:(9H-芴-9-基)甲基(5-氨基-2-(((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)苄基)(甲基)氨基甲酸酯的合成

[1403] 

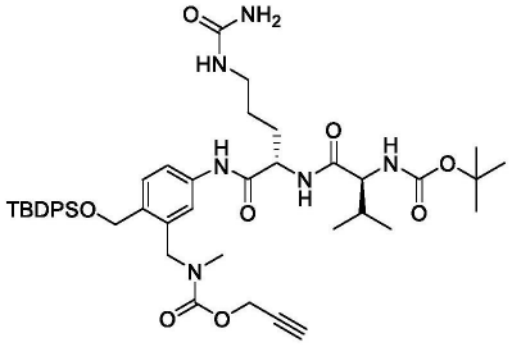
[1404] 将(9H-芴-9-基)甲基(2-(((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)-5-硝基苄基)(甲基)氨基甲酸酯(3.0g,4.57mmol,1.0当量)在MeOH(90mL)和EtOAc(30mL)中的溶液脱气,并经由三通旋塞阀吹扫至N_2的气球。重复脱气/N_2吹扫2次后,添加10％ Pd/C deGussa型(0.486g,0.457mmol,0.1当量)。将所得混合物进行脱气,并经由三通旋塞阀吹扫至2H_2的气球。在重复脱气/H_2吹扫2次后,将反应在H_2的气球压力下搅拌4小时。将反应脱气并吹扫至N_2,通过硅藻土垫过滤,进一步用MeOH洗脱。在真空中去除挥发物并在高真空中抽吸后,获得了(9H-芴-9-基)甲基(5-氨基-2-(((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)苄基)(甲基)氨基甲酸酯(2.78g,97％)。LCMS:MH+＝627.7;Rt＝1.59min(2min酸性法-方法A)。^{1}H NMR:400MHz CDCl3δ7.80(br d,J＝7.2Hz,1H),7.74-7.67(m,5H),7.64(br d,J＝6.8Hz,1H),7.49-7.30(m,10H),7.23-7.06(m,2H),6.61-6.41(m,2H),4.66(br d,J＝7.2Hz,2H),4.55(s,2H),4.51-4.34(m,2H),4.32-4.10(m,1H),3.66(br s,2H),2.96-2.78(m,3H),,1.07(s,9H)。

[1405] 步骤6:(9H-芴-9-基)甲基(5-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)苄基)(甲基)氨基甲酸酯的合成

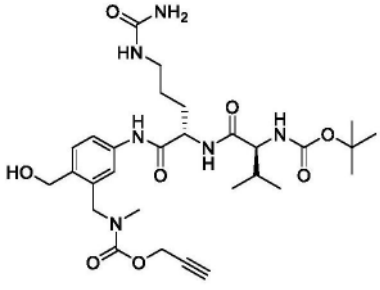
[1406] 

[1407] 向2:1CH2Cl2/MeOH(60mL)中的(9H-芴-9-基)甲基(5-氨基-2-(((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)苄基)(甲基)氨基甲酸酯(2.86g,4.56mmol,1.0当量)和(S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酸(1.71g,4.56mmol,1.0当量)中添加2-乙氧基喹啉-1(2H)-羧酸乙酯(2.256g,9.12mmol,2.0当量)。将均质溶液搅拌16小时,此时添加另外的(S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酸(0.340g,0.2当量)和2-乙氧基喹啉-1(2H)-羧酸乙酯(0.452g,0.4当量)以驱动反应完成。再搅拌5小时后,在真空中去除挥发物,并在通过ISCO SiO_2色谱法(0-5％ MeOH/CH_2Cl_2)纯化后,获得了(9H-芴-9-基)甲基(5-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)苄基)(甲基)氨基甲酸酯(2.95g,65％)。LCMS:MH+＝984.1;Rt＝1.54min(2min酸性法-方法A)。

[1408] 步骤7:丙-2-炔-1-基(5-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)苄基)(甲基)氨基甲酸酯的合成

[1409] 

[1410] 向THF(10mL)中的(9H-芴-9-基)甲基(5-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)苄基)(甲基)氨基甲酸酯(2.05g,2.085mmol,1.0当量)中添加在MeOH(10.42mL,20.85mmol,10当量)中的2.0M二甲胺。搅拌16小时后,在真空中去除挥发物。将残余物溶解在CH_2Cl_2(20mL)中,并添加DIEA(0.533mL,4.17mmol,2当量)和氯甲酸炔丙酯(0.264mL,2.71mmol,1.3当量)。在室温下搅拌16小时后,将反应用CH_2Cl_2(20mL)稀释,用$NaHCO_3$(饱和)、NaCl(饱和)洗涤,经$MgSO_4$干燥,过滤,浓缩,并通过ISCO SiO_2色谱法(0%-15% MeOH/CH_2Cl_2)纯化,以得到丙-2-炔-1-基(5-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)苄基)(甲基)氨基甲酸酯(1.04g,59%)。LCMS:MH+=843.8;Rt=1.35min(2min酸性法-方法A)。步骤8:丙-2-炔-1-基(5-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(羟甲基)苄基)(甲基)氨基甲酸酯(LI-3)的合成

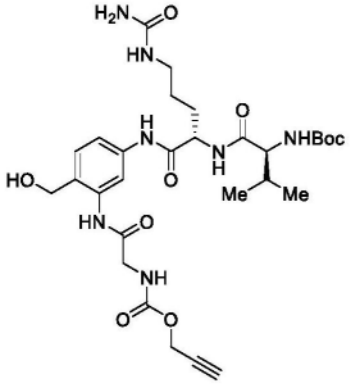
[1411] 

(LI-3)

[1412] 向丙-2-炔-1-基(5-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)苄基)(甲基)氨基甲酸酯(1.6g,1.90mmol,1.0当量)在THF(10.0mL)中的0℃溶液中添加在THF中的1.0M四丁基氟化铵(3.80mL,3.80mmol,2.0当量)。在加热至室温并搅拌16小时后,将挥发物在真空中去除,将残余物溶解在EtOAc中,用$NaHCO_3$(饱和)、NaCl(饱和)洗涤,经$MgSO_4$干燥,过滤,浓缩,并将残余物通过ISCO SiO_2色谱法(0%-30% MeOH/CH_2Cl_2)纯化,以得到丙-2-炔-1-基(5-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(羟甲基)苄基)(甲基)氨基甲酸酯(LI-3)(1.0g,87%)。LCMS:MH+=605.7;Rt=0.81min(2min酸性法-方法A)。

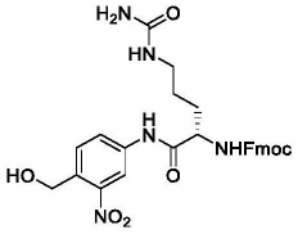
[1413] 实例1-4:叔丁基((S)-1-(((S)-1-((4-(羟甲基)-3-(2-(((丙-2-炔-1-基氧基)羰

基)氨基)乙酰胺基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯(LI-4)的合成

[1414] 

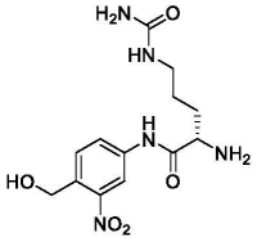
(LI-4)

[1415] 步骤1:(9H-芴-9-基)甲基(S)-(1-((4-(羟甲基)-3-硝基苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基甲酸酯的合成

[1416] 

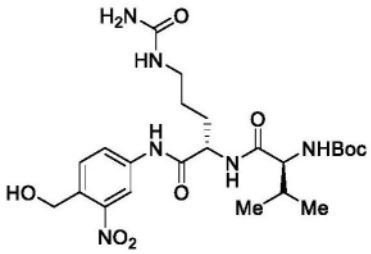
[1417] 向(4-氨基-2-硝基苯基)甲醇(10g,59.5mmol,1.0当量)、(9H-芴-9-基)甲基(S)-(1-氨基-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基甲酸酯(23.64g,59.5mmol,1.0当量)、和1-羟基-7-氮杂苯并三唑(8.50g,62.4mmol,1.05当量)在DMF(50mL)中的溶液中添加1-(3-二甲基氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺(11.97g,62.4mmol,1.05当量)。在环境温度搅拌16小时后,将混合物倒入水(4L)中并搅拌30分钟。将所得固体过滤、用水冲洗、并在真空下干燥。获得了(9H-芴-9-基)甲基(S)-(1-((4-(羟甲基)-3-硝基苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基甲酸酯(31.49g,57.5mmol,97%)。LCMS:MH+=548;Rt=2.02min(5min酸性法-方法C)。

[1418] 步骤2:(S)-2-氨基-N-(4-(羟甲基)-3-硝基苯基)-5-脲基戊酰胺的合成

[1419] 

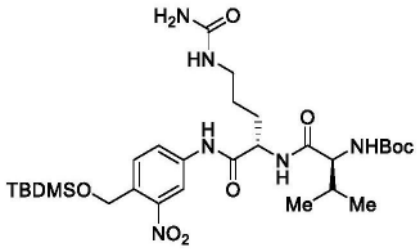
[1420] 向(9H-芴-9-基)甲基(S)-(1-((4-(羟甲基)-3-硝基苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基甲酸酯(31.49g,57.5mmol,1.0当量)在DMF(50mL)中的溶液中添加二甲胺(2M,在MeOH中,331mL,661mmol,11.5当量)。在环境温度下搅拌24小时后,将挥发物在真空下去除,并将所得残余物用乙醚(3×2L)研磨。真空干燥所得残余物并获得了(S)-2-氨基-N-(4-(羟甲基)-3-硝基苯基)-5-脲基戊酰胺(21.85g,57.5mmol,99%)。LCMS:MH+=326.4;Rt=0.35min(2min酸性法-方法A)。

[1421] 步骤3:叔丁基((S)-1-(((S)-1-((4-(羟甲基)-3-硝基苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯的合成

[1422] 

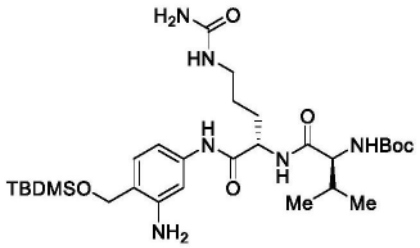
[1423] 向(S)-2-氨基-N-(4-(羟甲基)-3-硝基苯基)-5-脲基戊酰胺(10.89g,28.8mmol,1.0当量)、(叔丁氧基羰基)-L-缬氨酸(6.25g,28.8mmol,1.0当量)、和1-羟基-7-氮杂苯并三唑(3.92g,28.8mmol,1.0当量)在DMF(40mL)中的溶液中添加1-(3-二甲基氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺(5.52g,28.8mmol,1.0当量)。在环境温度下搅拌24小时后,将混合物逐滴添加到水(2L)中,搅拌30分子,并冷却至4℃过夜。用NaCl使混合物饱和,并将所得固体滤出并真空干燥。获得了叔丁基((S)-1-(((S)-1-((4-(羟甲基)-3-硝基苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯(11.96g,22.8mmol,79%)。LCMS:MH+=525.4;Rt=0.79min(2min酸性法-方法A)。

[1424] 步骤4:叔丁基((S)-1-(((S)-1-((4-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-3-硝基苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯的合成

[1425] 

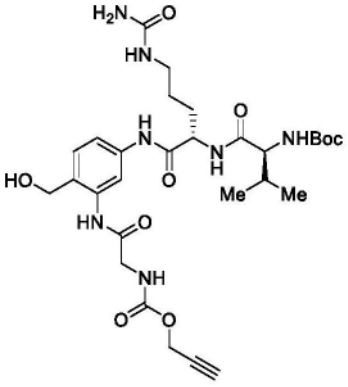
[1426] 向叔丁基((S)-1-(((S)-1-((4-(羟甲基)-3-硝基苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯(11.96g,22.8mmol,1.0当量)和咪唑(15.52g,228mmol,10当量)在DMF(31mL)中悬浮液中添加叔丁基二甲基氯硅烷(13.68g,90.76mmol,4.0当量)。将所得混合物在环境温度下搅拌48小时,然后在45℃下加热4小时。将混合物倒入水中并用搅拌96小时。将固体过滤并用水(2×100mL)洗涤并真空干燥。通过SiO_2 ISCO色谱法(0%-30%甲醇/二氯甲烷)纯化后,获得了叔丁基((S)-1-(((S)-1-((4-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-3-硝基苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯(8.02g,12.56mmol,55%)。LCMS:MH+=639.6;Rt=1.22min(2min酸性法-方法A)。

[1427] 步骤5:叔丁基((S)-1-(((S)-1-((3-氨基-4-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯的合成

[1428] 

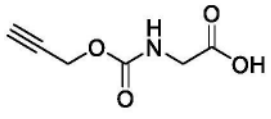
[1429] 在氮气氛围下,向叔丁基((S)-1-(((S)-1-((4-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-3-硝基苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯(8.02g,12.56mmol,1.0当量)在甲醇(250mL)中的溶液中添加钯碳(10wt%,2.00g,1.884mmol,0.15当量)。将混合物置于1atm二氢下,并将其在环境温度下搅拌18小时。将混合物通过硅藻土过滤并真空浓缩。通过SiO_2 ISCO色谱法(0%-40%甲醇/二氯甲烷)纯化后,获得了叔丁基((S)-1-(((S)-1-((3-氨基-4-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯(4.82g,7.92mmol,63%)。LCMS:MH+=609.6;Rt=2.65min(5min酸性法-方法C)。

[1430] 步骤6:叔丁基((S)-1-(((S)-1-((4-(羟甲基)-3-(2-(((丙-2-炔-1-基氧基)羰基)氨基)乙酰胺基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯(LI-4)的合成

[1431] 

(LI-4)

[1432] 步骤6a):

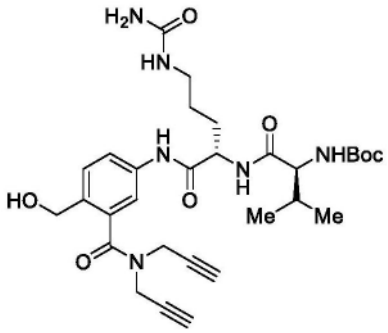
[1433] 向甘氨酸(3.19g,42.5mmol,1.0当量)在2M氢氧化钠水溶液(63.3mL,127mmol NaOH,3.0当量)中的溶液中添加氯甲酸炔丙酯(5.0g,42.5mmol,1.0当量)。将所得混合物在环境温度下搅拌3小时。将混合物用乙酸乙酯(3x250mL)萃取。将合并的有机层用硫酸镁干燥,过滤并在真空下去除挥发物。干燥后,获得了((丙-2-炔-1-基氧基)羰基)甘氨酸  (3.97g,25.3mmol,59%)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δppm 3.48(t,J=2.40Hz,1H)3.66(d,J=6.19Hz,2H)4.63(d,J=2.40Hz,2H)7.63(t,J=6.13Hz,1H)12.57(br s,1H)。

[1434] 步骤6b):

[1435] 向叔丁基((S)-1-(((S)-1-((3-氨基-4-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯(2.7g,4.43mmol,1.0当量)在DMF(5mL)中的溶液中添加((丙-2-炔-1-基氧基)羰基)甘氨酸

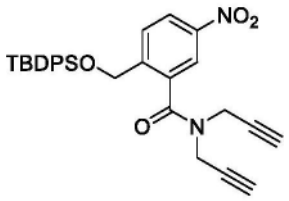
(0.732g,4.66mmol,1.05当量)、1-羟基-7-氮杂苯并三唑(0.664g,4.88mmol,1.1当量)、和1-(3-二甲基氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(0.935g,4.88mmol,1.1当量)。将所得混合物在环境温度下搅拌1小时,然后滴入水(500mL)中,并再搅拌20分钟。将所得沉淀过滤,用水洗涤,并真空干燥。通过SiO_2 ISCO色谱法(0%-50%甲醇/二氯甲烷)纯化后,获得了叔丁基((S)-1-(((S)-1-((4-(羟甲基)-3-(2-(((丙-2-炔-1-基氧基)羰基)氨基)乙酰胺基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯(LI-4)(1.52g,2.40mmol,54%)。LCMS:MH+=634.6;Rt=1.97min(5min酸性法-方法C)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δppm 0.76-0.91(m,6H)1.30-1.47(m,11H)1.51-1.73(m,2H)1.87-2.00(m,1H)2.89-3.07(m,2H)3.50(t,J=2.32Hz,1H)3.73-3.87(m,3H)4.37-4.47(m,3H)4.65(d,J=2.45Hz,2H)5.30(t,J=5.44Hz,1H)5.38(s,2H)5.96(t,J=5.81Hz,1H)6.72(br d,J=8.93Hz,1H)7.25(d,J=8.44Hz,1H)7.45(dd,J=8.25,2.02Hz,1H)7.78(br t,J=5.87Hz,1H)7.87-8.00(m,2H)9.51(s,1H)10.04(s,1H)。

[1436] 实例1-5:叔丁基((S)-1-(((S)-1-((3-(二(丙-2-炔-1-基)氨基甲酰基)-4-(羟甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯(LI-5)的合成

[1437] 

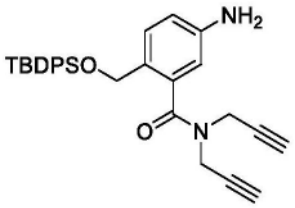
(LI-5)

[1438] 步骤1:2-(((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)-5-硝基-N,N-二(丙-2-炔-1-基)苯甲酰胺的合成

[1439] 

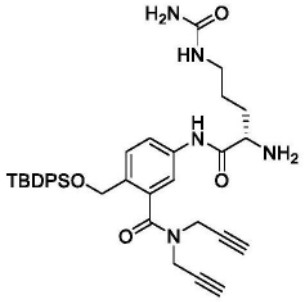
[1440] 向2-(((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)-5-硝基苯甲酸(1.00g,2.30mmol,1.0当量)和二炔丙胺(0.257g,2.76mmol,1.2当量)在二氯甲烷(6mL)中的溶液中添加(1-[双(二甲基氨基)亚甲基]-1H-1,2,3-三唑并[4,5-b]吡啶-3-氧化物六氟磷酸盐(1.048g,2.76mmol,1.2当量)和N,N-二异丙基乙胺(0.445g,3.44mmol,1.5当量)。将所得混合物在环境温度下搅拌1小时,然后用水稀释,用乙醚(3×25mL)萃取,经硫酸钠干燥并浓缩。通过SiO_2 ISCO色谱法(0%-100%乙酸乙酯/庚烷)纯化后,获得了2-(((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)-5-硝基-N,N-二(丙-2-炔-1-基)苯甲酰胺(1.08g,2.115mmol,92%)。1H NMR(400MHz,氯仿-d)δ8.35(dd,J=8.6,2.3Hz,1H),8.20(d,J=2.3Hz,1H),8.02-7.92(m,1H),7.71-7.62(m,4H),7.51-7.35(m,6H),4.87(s,2H),4.39(s,2H),3.80(s,2H),2.21(s,1H),2.08(d,J=7.7Hz,1H),1.13(s,9H)。

[1441] 步骤2:5-氨基-2-(((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)-N,N-二(丙-2-炔-1-基)苯甲酰胺的合成

[1442] 

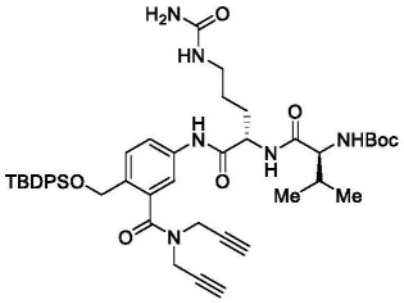
[1443] 向2-(((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)-5-硝基-N,N-二(丙-2-炔-1-基)苯甲酰胺(1.08g,2.115mmol,1.0当量)在乙醇(4mL)和水(4mL)中的搅拌悬浮液中添加锌粉(0.553g,8.46mmol,4当量)和氯化铵(0.453g,8.46mmol,4当量)。将所得混合物在环境温度下搅拌24小时,然后用水稀释并且用乙酸乙酯(3x25mL)萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥,过滤并浓缩。真空干燥后,获得了5-氨基-2-(((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)-N,N-二(丙-2-炔-1-基)苯甲酰胺(972mg,2.02mmol,96%)。LCMS:MH+=481.4;Rt=1.33min(2min酸性法-方法A)。

[1444] 步骤3:(S)-5-(2-氨基-5-脲基戊酰胺基)-2-(((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)-N,N-二(丙-2-炔-1-基)苯甲酰胺的合成

[1445] 

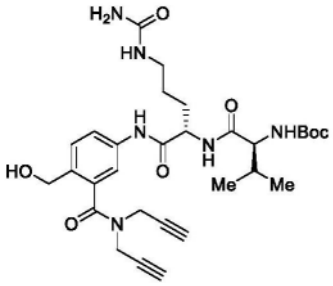
[1446] 向5-氨基-2-(((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)-N,N-二(丙-2-炔-1-基)苯甲酰胺(972mg,2.02mmol,1.0当量)、(9H-芴-9-基)甲基(S)-(1-氨基-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基甲酸酯(804mg,2.02mmol,1.0当量)、和(1-[双(二甲基氨基)亚甲基]-1H-1,2,3-三唑并[4,5-b]吡啶-3-氧化物六氟磷酸盐(846mg,2.22mmol,1.1当量)在DMF(4mL)中的溶液中添加N,N-二异丙基乙胺(0.53mL,3.03mmol,1.5当量)。将所得混合物在环境温度下搅拌18小时,然后倒入水(400mL)中并搅拌3小时。将沉淀过滤并真空干燥,然后溶解在2M二甲胺的四氢呋喃溶液(2.02mL,4.04mmol,2当量)中,并在环境温度下搅拌4小时。在真空下去除挥发物,并在通过SiO2 ISCO色谱法纯化后,获得了(S)-5-(2-氨基-5-脲基戊酰胺基)-2-(((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)-N,N-二(丙-2-炔-1-基)苯甲酰胺(1.018g,1.596mmol,79%)。LCMS:MH+=638.6;Rt=1.22min(2min酸性法-方法A)。

[1447] 步骤4:叔丁基((S)-1-(((S)-1-((4-(((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)-3-(二(丙-2-炔-1-基)氨基甲酰基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯的合成

[1448] 

[1449] 向(S)-5-(2-氨基-5-脲基戊酰胺基)-2-(((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)-N,N-二(丙-2-炔-1-基)苯甲酰胺(1.00g,1.568mmol,1.0当量)、(叔丁氧基羰基)-L-缬氨酸(0.341g,1.568mmol,1.0当量)和(1-[双(二甲基氨基)亚甲基]-1H-1,2,3-三唑并[4,5-b]吡啶-3-氧化物六氟磷酸盐(0.656g,1.725mmol,1.1当量)在DMF(3mL)中的溶液中添加N,N-二异丙基乙胺(0.41mL,2.352mmol,1.5当量)。在环境温度下搅拌1小时后,将混合物用水(30mL)和盐水(30mL)稀释,并用乙酸乙酯(3×50mL)萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥,过滤并浓缩。通过SiO_2 ISCO色谱法(0%-50甲醇/二氯甲烷)纯化后,获得了叔丁基((S)-1-(((S)-1-((4-(((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)-3-(二(丙-2-炔-1-基)氨基甲酰基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯(1.30g,1.553mmol,99%)。LCMS:MH+=837.5;Rt=1.32min(2min酸性法-方法A)。

[1450] 步骤5:叔丁基((S)-1-(((S)-1-((3-(二(丙-2-炔-1-基)氨基甲酰基)-4-(羟甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯(LI-5)的合成

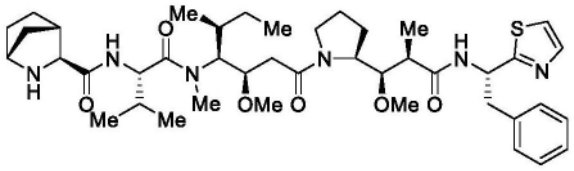
[1451] 

(LI-5)

[1452] 向叔丁基((S)-1-(((S)-1-((4-(((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)-3-(二(丙-2-炔-1-基)氨基甲酰基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯(1.30g,1.553mmol,1.0当量)在四氢呋喃(5mL)中的搅拌溶液中逐滴添加1M四丁基氟化铵在四氢呋喃中的溶液(3.11mL,3.11mmol,2.0当量)。在环境温度下搅拌18小时后,将溶剂在真空下去除。通过SiO_2 ISCO色谱法(0%-50%甲醇/二氯甲烷)纯化后,获得了叔丁基((S)-1-(((S)-1-((3-(二(丙-2-炔-1-基)氨基甲酰基)-4-(羟甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯(LI-5)(0.703g,1.174mmol,76%)。LCMS:MH+=599.4;Rt=0.76min(2min酸性法-方法A)。1H NMR(400MHz,甲醇-d4)δ7.71-7.59(m,2H),7.52-7.43(m,1H),4.51(d,J=29.4Hz,4H),4.11-4.04(m,2H),3.95-3.85(m,1H),3.28-3.06(m,2H),2.76(m,2H),2.11-2.03(m,1H),1.97-1.83(m,1H),1.75(dtd,J=14.2,9.4,5.1Hz,1H),1.70-1.51(m,3H),1.44(m,9H),1.00-0.90(m,6H)。

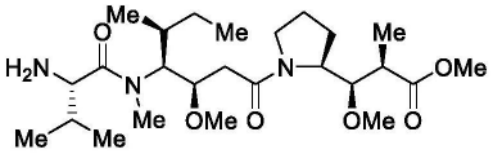
[1453] 实例2:药物组分的合成

[1454] 实例2-1:(1R,3S,4S)-N-((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚-3-甲酰胺(P1)的合成

[1455] 

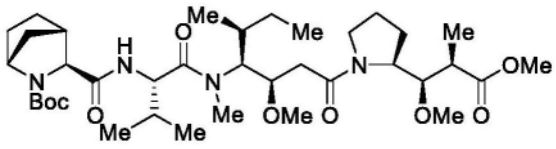
(P1)

[1456] 步骤1:甲基(2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-氨基-N,3-二甲基丁酰胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚酰基)吡咯烷-2-基)-3-甲氧基-2-甲基丙酸酯的合成

[1457] 

[1458] 向甲基(2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-(((苄氧基)羰基)氨基)-N,3-二甲基丁酰胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚酰基)吡咯烷-2-基)-3-甲氧基-2-甲基丙酸酯(2.00g,3.23mmol,1.0当量)在甲醇(50mL)中的搅拌溶液中添加钯碳(10wt%,0.343g,0.323mmol,0.1当量)。将干氮气鼓泡通过反应5min,然后将反应置于1atm的H_2下。在环境温度下搅拌1小时后,将干氮气鼓泡通过混合物5分钟。将混合物通过硅藻土过滤,用50mL甲醇冲洗。将滤液浓缩并真空干燥,并获得了甲基(2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-氨基-N,3-二甲基丁酰胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚酰基)吡咯烷-2-基)-3-甲氧基-2-甲基丙酸酯(1.55g,3.19mmol,99%)。LCMS:MH+=486.1;Rt=0.93min(2min酸性法-方法A)。

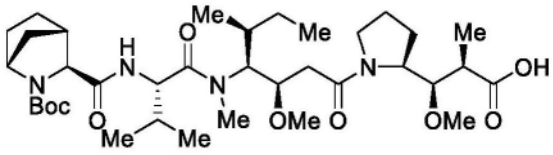
[1459] 步骤2:叔丁基(1R,3S,4S)-3-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-1,3-二甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羧酸酯的合成

[1460] 

[1461] 向甲基(2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-氨基-N,3-二甲基丁酰胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚酰基)吡咯烷-2-基)-3-甲氧基-2-甲基丙酸酯(1.55g,3.19mmol,1.00当量)、(1R,3S,4S)-2-(叔丁氧基羰基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-3-羧酸(0.77g,3.19mmol,1.00当量)、和1-羟基-7-氮杂苯并三唑(0.500g,3.67mmol,1.15当量)在DMF(6mL)中的搅拌溶液中添加1-(3-二甲基氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(0.704g,3.67mmol,1.15当量)。将所得混合物在环境温度下搅拌18小时,然后用水(100mL)稀释并且用乙酸乙酯(3x50mL)萃取。将合并的有机层用1M氢氧化钠水溶液(50mL)和盐水(50mL)洗涤,然后经硫酸钠干燥,过滤,并浓缩。真空干燥后,获得了叔丁基(1R,3S,4S)-3-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-1,3-二甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羧酸酯(2.20g,3.10mmol,97%)。LCMS:MH+=709.5;Rt=1.23min

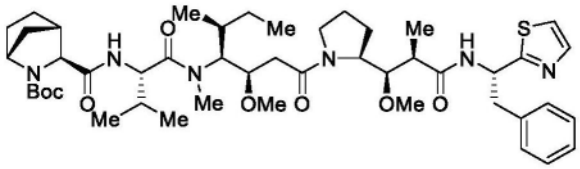
(2min碱性法-方法B)。

[1462] 步骤3:(2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((1R,3S,4S)-2-(叔丁氧基羰基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-3-甲酰胺基)-N,3-二甲基丁酰胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚酰基)吡咯烷-2-基)-3-甲氧基-2-甲基丙酸的合成

[1463] 

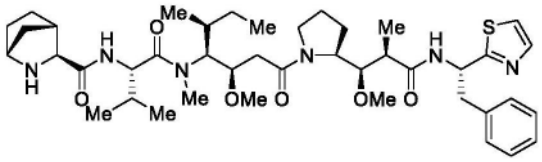
[1464] 将氢氧化锂一水合物(0.26g,6.21mmol,2.0当量)在水(5mL)中的溶液逐滴添加到叔丁基(1R,3S,4S)-3-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-1,3-二甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羧酸酯(2.20g,3.10mmol,1.0当量)在四氢呋喃(5mL)和甲醇(5mL)中的溶液中。添加完成后,将混合物在环境温度下搅拌18小时。然后用1M HCl水溶液(6.5mL)淬灭混合物,并在真空下去除挥发物。将所得残余物在乙酸乙酯(50mL)和盐水(100mL)之间分配。分离各层,并将水层用乙酸乙酯(2x50mL)萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥,过滤,并浓缩。真空干燥后,获得了(2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((1R,3S,4S)-2-(叔丁氧基羰基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-3-甲酰胺基)-N,3-二甲基丁酰胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚酰基)吡咯烷-2-基)-3-甲氧基-2-甲基丙酸(1.96g,2.82mmol,91%)。LCMS:MH+=695.5;Rt=0.73min(2min碱性法-方法B)。

[1465] 步骤4:叔丁基(1R,3S,4S)-3-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羧酸酯的合成

[1466] 

[1467] 向(2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((1R,3S,4S)-2-(叔丁氧基羰基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-3-甲酰胺基)-N,3-二甲基丁酰胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚酰基)吡咯烷-2-基)-3-甲氧基-2-甲基丙酸(250mg,0.360mmol,1.0当量)、(S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙-1-胺盐酸盐(95mg,0.396mmol,1.1当量)、和(1-[双(二甲基氨基)亚甲基]-1H-1,2,3-三唑并[4,5-b]吡啶-3-氧化物六氟磷酸盐(150mg,0.396mmol,1.1当量)在DMF(1mL)中的溶液中添加N,N-二异丙基乙胺(0.25mL,1.44mmol,4当量)。将所得混合物在环境温度下搅拌1小时。将混合物倒入盐水(50mL)中并用乙酸乙酯(3x25mL)萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥,过滤,并浓缩。通过SiO_2 ISCO色谱法(0%-20%甲醇/二氯甲烷)纯化后,获得了叔丁基(1R,3S,4S)-3-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羧酸酯(317mg,0.360mmol,99%)。LCMS:MH+=881.5;Rt=1.23min(2min碱性法-方法B)。

[1468] 步骤5:(1R,3S,4S)-N-((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚-3-甲酰胺(P1)的合成

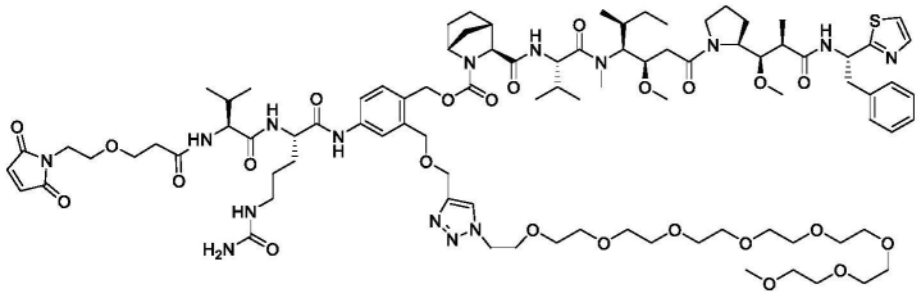
[1469] 

(P1)

[1470] 向叔丁基(1R,3S,4S)-3-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羧酸酯(317mg,0.360mmol,1.0当量)在二氯甲烷(5mL)中的溶液中添加三氟乙酸(1mL)。将所得混合物在环境温度下搅拌1.5小时,然后在真空下去除挥发物。使残余物在乙酸乙酯(25mL)和用NaCl饱和的1M NaOH水溶液(50mL)之间分配。分离各层,并将水层用乙酸乙酯(2x25mL)萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥,过滤并浓缩。通过RP-HPLC ISCO金色谱法(10%-100% MeCN/H_2O,0.1% TFA改性剂)纯化后,获得了(1R,3S,4S)-N-((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚-3-甲酰胺(P1)(268mg,0.299mmol,83%)。LCMS:MH+=781.5;Rt=1.11min(2min碱性法-方法B)。

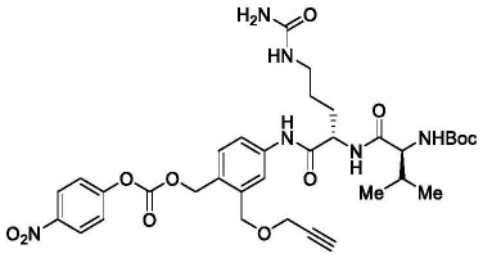
[1471] 实例3:示例性接头-药物化合物的合成

[1472] 实例3-1:2-(((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)甲基)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(1R,3S,4S)-3-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羧酸酯(L4-P1)的合成

[1473] 

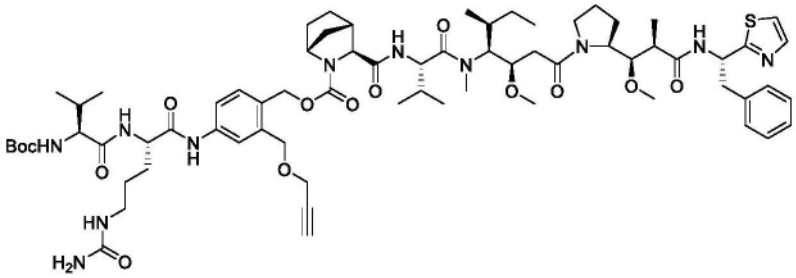
(L4-P1)

[1474] 步骤1:叔丁基((S)-3-甲基-1-(((S)-1-((4-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)-3-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯的合成

[1475] 

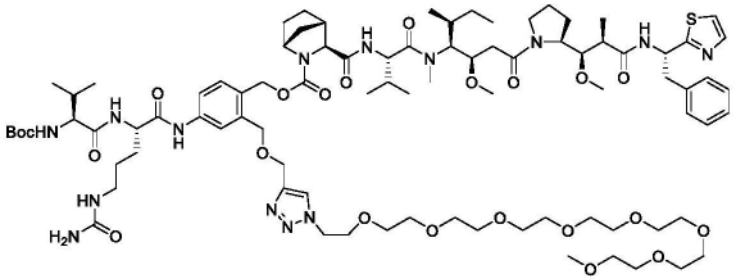
[1476] 向叔丁基((S)-1-(((S)-1-((4-(羟甲基)-3-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯(LI-1)(500mg,0.913mmol,1.0当量)在DMF(2mL)中的搅拌溶液中添加双(4-硝基苯基)碳酸酯(306mg,1.004mmol,1.1当量)和N,N-二异丙基乙胺(0.32mL,1.826mmol,2.0当量)。将所得溶液在环境温度下搅拌1小时。将反应混合物用4mL DMSO稀释,并在通过RP-HPLC ISCO金色谱法(10%-100%乙腈/水,0.1%三氟乙酸改性剂)纯化后,获得了叔丁基((S)-3-甲基-1-(((S)-1-((4-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)-3-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯(550mg,0.772mmol,85%)。LCMS:MNa+=735.4;Rt=1.05min(2min酸性法-方法A)。

[1477] 步骤2:4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苄基(1R,3S,4S)-3-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羧酸酯的合成

[1478] 

[1479] 向(1R,3S,4S)-N-((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚-3-甲酰胺(P1)(50mg,0.064mmol,1.0当量)在DMF(1mL)中的溶液中添加叔丁基((S)-3-甲基-1-(((S)-1-((4-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)-3-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯(45.6mg,0.064mmol,1.0当量)和N,N-二异丙基乙胺(0.112mL,0.640mmol,10当量)。将所得溶液在环境温度下搅拌18小时,然后用2mL DMSO稀释。通过RP-HPLC ISCO金色谱法(10%-100%乙腈/水,0.1%三氟乙酸改性剂)纯化后,获得了4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苄基(1R,3S,4S)-3-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羧酸酯(56mg,0.041mmol,

64%)。LCMS:MH+=1353.3;Rt=1.13min(2min酸性法-方法A)。步骤3:2-(((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)甲基)-4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(1R,3S,4S)-3-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羧酸酯的合成

[1480] 

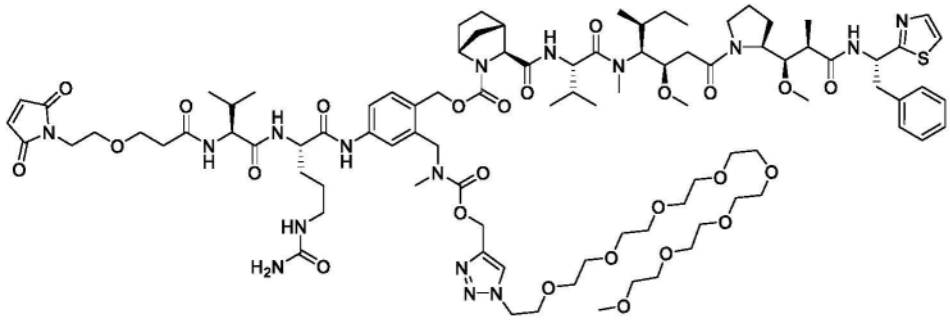
[1481] 向4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苄基(1R,3S,4S)-3-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羧酸酯(55mg,0.041mmol,1.0当量)和25-叠氮基-2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷(33mg,0.082mmol,2.0当量)中添加t-BuOH(1mL)。将混合物通过室内真空进行脱气,并经由三通旋塞阀吹扫至N_2的气球。重复脱气/吹扫3次。添加16mg/mL抗坏血酸钠水溶液(0.75mL,0.061mmol,1.5当量),并将溶液脱气并吹扫至N_2三次。添加4mg/mL硫酸铜水溶液(0.75mL,0.0123mmol,0.3当量),并将溶液脱气并吹扫至N_2三次。在N_2下搅拌3小时后,将反应用DMSO(3mL)稀释,并通过RP-HPLC ISCO金色谱法(10%-100%MeCN/H2O,0.1% TFA改性剂)纯化。冻干后,获得了2-(((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)甲基)-4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(1R,3S,4S)-3-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羧酸酯(63mg,0.036mmol,88%)。LCMS:[M+2H]2+=883.1;Rt=1.11min(2min酸性法-方法A)。

[1482] 步骤4:2-(((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)甲基)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(1R,3S,4S)-3-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羧酸酯(L4-P1)的合成

[1483] 向2-(((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)甲基)-4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(1R,3S,4S)-3-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲

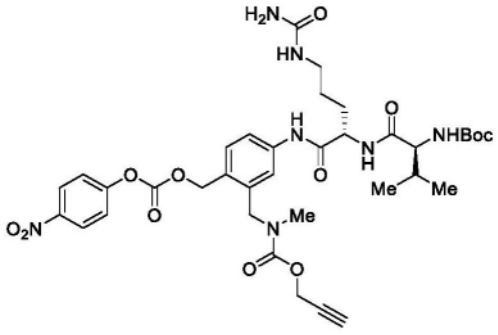
氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羧酸酯(63mg,0.036mmol,1.0当量)中添加25% TFA/CH_2Cl_2(2mL)。静置45分钟后,在真空中去除挥发物,添加CH_2Cl_2,在真空中去除挥发物,并将残余物真空干燥。将残余物溶解在DMF(1mL)中,并添加N,N-二异丙基乙胺(93μL,0.540mmol,15当量)和2,5-二氧代吡咯烷-1-基3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酸酯(22mg,0.072mmol,2当量)。在搅拌2小时后,将溶液用DMSO(2mL)稀释并通过RP-ISCO金色谱法纯化。冻干后,获得了2-(((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)甲基)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(1R,3S,4S)-3-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羧酸酯(L4-P1)(6.0mg,3.16μmol,9%)。HRMS:M+=1858.9881,Rt=2.49min(5min酸性法-方法D)。

[1484] 实例3-2:2-(((((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)羰基)(甲基)氨基)甲基)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(1R,3S,4S)-3-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羧酸酯(L2-P1)的合成

[1485] 

(L2-P1)

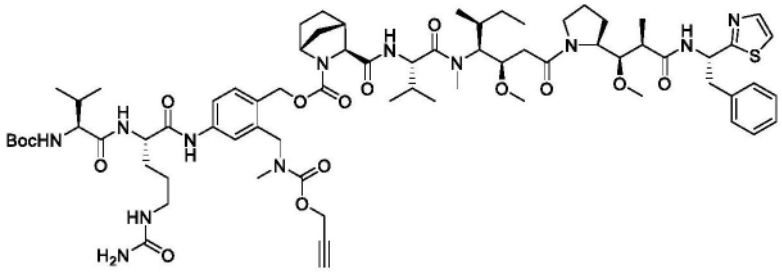
[1486] 步骤1:丙-2-炔-1-基(5-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苄基)(甲基)氨基甲酸酯的合成

[1487] 

[1488] 丙-2-炔-1-基(5-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苄基)(甲基)氨基甲酸酯使用实例3-1步骤1所述的程序获得,但叔丁基((S)-1-((S)-1-((4-(羟甲基)-3-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯(LI-1)用丙-2-炔-1-基(5-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(羟甲基)苄基)(甲基)氨基甲酸酯(LI-3)(300mg,0.496mmol,1.0当量)替代,并且省去了N,N-二异丙基乙胺。

[1489] 丙-2-炔-1-基(5-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苄基)(甲基)氨基甲酸酯:(347mg,0.451mmol,91%)。LCMS:MH+=770.3,Rt=2.39min(5min酸性法-方法C)。1H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ10.19(s,1H),8.35-8.28(m,2H),8.00(d,J=7.6Hz,1H),7.72-7.64(m,1H),7.61-7.54(m,2H),7.41(d,J=8.4Hz,2H),6.73(d,J=9.0Hz,1H),5.95(t,J=5.9Hz,1H),5.38(s,2H),5.30(s,2H),4.71(s,2H),4.59(s,2H),4.42(q,J=7.3Hz,1H),3.87-3.79(m,1H),3.51(d,J=22.1Hz,1H),3.07-2.89(m,2H),2.85(s,3H),2.00-1.88(m,1H),1.75-1.43(m,3H),1.42-1.32(m,10H),0.83(dd,J=16.0,6.7Hz,6H)。

[1490] 步骤2:4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((甲基((丙-2-炔-1-基氧基)羰基)氨基)甲基)苄基(1R,3S,4S)-3-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羧酸酯的合成

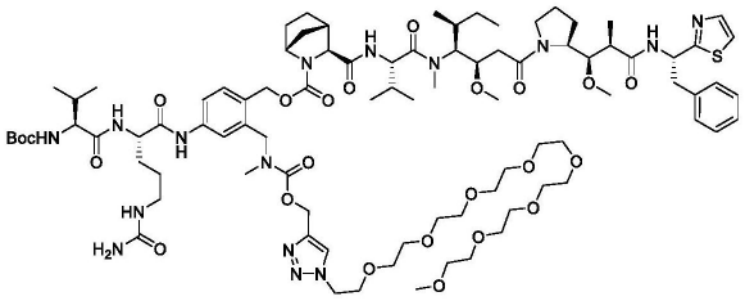
[1491] 

[1492] 4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((甲基((丙-2-炔-1-基氧基)羰基)氨基)甲基)苄基(1R,3S,4S)-3-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羧酸酯使用实例3-1步骤2所述的程序获得,但叔丁基((S)-3-甲基-1-(((S)-1-((4-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)-3-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯用丙-2-炔-1-基(5-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苄基)(甲基)氨基甲酸酯(43mg,0.056mmol,1.0当量)替代。

[1493] 4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((甲基((丙-2-炔-1-基氧基)羰基)氨基)甲基)苄基(1R,3S,4S)-3-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-

2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羧酸酯:(33.7mg,0.024mmol,43%)。LCMS:[M+2H]2+707.0,Rt=2.55min(5min酸性法-方法C)。

[1494] 步骤3:2-(((((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)羰基)(甲基)氨基)甲基)-4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(1R,3S,4S)-3-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羧酸酯的合成

[1495] 

[1496] 2-(((((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)羰基)(甲基)氨基)甲基)-4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(1R,3S,4S)-3-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羧酸酯使用实例3-1步骤3所述的程序获得,但4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苄基(1R,3S,4S)-3-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羧酸酯用4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((甲基((丙-2-炔-1-基氧基)羰基)氨基)甲基)苄基(1R,3S,4S)-3-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羧酸酯(33.7mg,0.024mmol,1.0当量)替代,

[1497] 2-(((((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)羰基)(甲基)氨基)甲基)-4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(1R,3S,4S)-3-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羧酸酯:(25.1mg,0.014mmol,57%)。LCMS:[M+2H]2+911.1,Rt=2.47min(5min酸性法-方法C)。

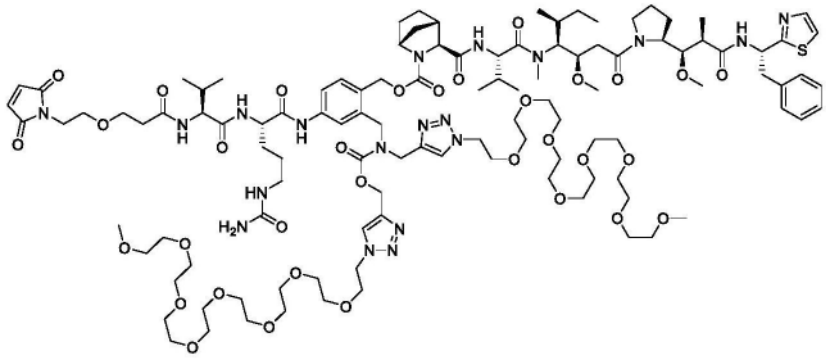
[1498] 步骤4:2-(((((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)羰基)(甲基)氨基)甲基)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(1R,3S,4S)-3-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羧酸酯(L2-P1)的合成

[1499] 2-(((((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)羰基)(甲基)氨基)甲基)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(1R,3S,4S)-3-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羧酸酯(L2-P1)使用实例3-1步骤4所述的程序获得,但2-(((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)甲基)-4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(1R,3S,4S)-3-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羧酸酯用2-(((((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)羰基)(甲基)氨基)甲基)-4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(1R,3S,4S)-3-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羧酸酯(19.9mg,0.011mmol,1.0当量)替代

[1500] 2-(((((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)羰基)(甲基)氨基)甲基)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(1R,3S,4S)-3-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羧酸酯(L2-P1):(14.5mg,7.49μmol,68%)。HRMS:M+=1916.0000,Rt=2.50min(5min酸性法-方法D)。

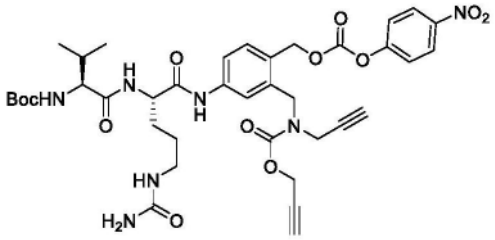
[1501] 实例3-3:2-(((((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)羰基)((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲基)氨基)甲基)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(1R,3S,4S)-3-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)

(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羧酸酯(L3-P1)的合成

[1502] 

(L3-P1)

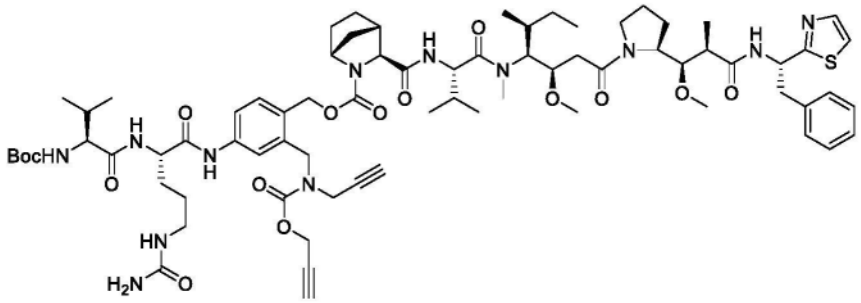
[1503] 步骤1:丙-2-炔-1-基(5-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苄基)(丙-2-炔-1-基)氨基甲酸酯的合成

[1504] 

[1505] 丙-2-炔-1-基(5-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苄基)(丙-2-炔-1-基)氨基甲酸酯使用实例3-1步骤1所述的程序获得,但叔丁基((S)-1-(((S)-1-((4-(羟甲基)-3-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯(LI-1)用丙-2-炔-1-基(5-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(羟甲基)苄基)(丙-2-炔-1-基)氨基甲酸酯(LI-2)(380mg,0.604mmol,1.0当量)替代,并且省去了N,N-二异丙基乙胺。

[1506] 丙-2-炔-1-基(5-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苄基)(丙-2-炔-1-基)氨基甲酸酯:(374mg,0.472mmol,78%)。LCMS:MH+794.8,Rt=2.46min(5min酸性法-方法C)。

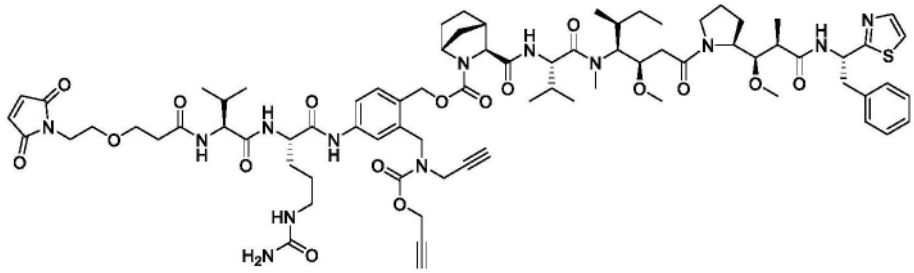
[1507] 步骤2:4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((丙-2-炔-1-基((丙-2-炔-1-基氧基)羰基)氨基)甲基)苄基(1R,3S,4S)-3-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羧酸酯的合成

[1508] 

[1509] 4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((丙-2-炔-1-基((丙-2-炔-1-基氧基)羰基)氨基)甲基)苄基(1R,3S,4S)-3-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羧酸酯使用实例3-1步骤2所述的程序获得,但叔丁基((S)-3-甲基-1-(((S)-1-((4-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)-3-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯用丙-2-炔-1-基(5-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苄基)(丙-2-炔-1-基)氨基甲酸酯(44.3mg,0.056mmol,1.0当量)替代。

[1510] 4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((丙-2-炔-1-基((丙-2-炔-1-基氧基)羰基)氨基)甲基)苄基(1R,3S,4S)-3-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羧酸酯:(71.2mg,0.050mmol,89%)。HRMS:MH+=1435.7600Rt=2.70min(5min酸性法-方法D)。

[1511] 步骤3:4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((丙-2-炔-1-基((丙-2-炔-1-基氧基)羰基)氨基)甲基)苄基(1R,3S,4S)-3-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羧酸酯的合成

[1512] 

[1513] 4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((丙-2-炔-1-基((丙-2-炔-1-基氧基)羰基)氨基)甲基)苄基(1R,3S,4S)-3-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-

5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羧酸酯使用实例3-1步骤3所述的程序获得,但4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苄基(1R,3S,4S)-3-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羧酸酯用4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((丙-2-炔-1-基((丙-2-炔-1-基氧基)羰基)氨基)甲基)苄基(1R,3S,4S)-3-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羧酸酯(71.2mg,0.050mmol,1.0当量)替代。

[1514] 4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((丙-2-炔-1-基((丙-2-炔-1-基氧基)羰基)氨基)甲基)苄基(1R,3S,4S)-3-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羧酸酯:(53.9mg,0.032mmol,64%)。HRMS:MH+=1530.7600Rt=2.63min(5min酸性法-方法D)。

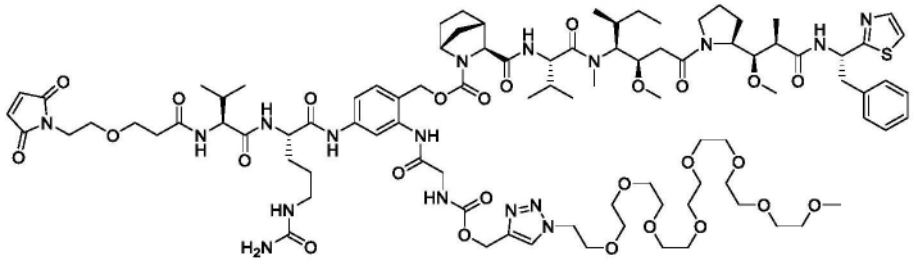
[1515] 步骤4:2-(((((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)羰基)((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲基)氨基)甲基)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(1R,3S,4S)-3-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羧酸酯(L3-P1)的合成

[1516] 2-(((((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)羰基)((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲基)氨基)甲基)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(1R,3S,4S)-3-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羧酸酯(L3-P1)使用实例3-1步骤4所述的程序获得,但2-(((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)甲基)-4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(1R,3S,4S)-3-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基

甲酰基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羧酸酯用4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((丙-2-炔-1-基((丙-2-炔-1-基氧基)羰基)氨基)甲基)苄基(1R,3S,4S)-3-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羧酸酯(26.7mg,0.017mmol,1.0当量)替代。

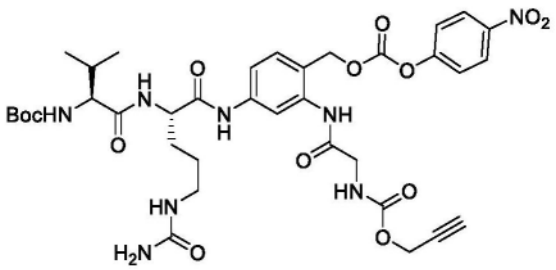
[1517] 2-(((((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)羰基)((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲基)氨基)甲基)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(1R,3S,4S)-3-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羧酸酯(L3-P1):(21.1mg,8.26μmol,47%)。HRMS:MH+=2349.2400Rt=2.51min(5min酸性法-方法D)。

[1518] 实例3-4:2-(2-((((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)羰基)氨基)乙酰胺基)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(1R,3S,4S)-3-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羧酸酯(L5-P1)的合成

[1519] 

(L5-P1)

[1520] 步骤1:叔丁基((S)-3-甲基-1-(((S)-1-((4-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)-3-(2-(((丙-2-炔-1-基氧基)羰基)氨基)乙酰胺基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯的合成

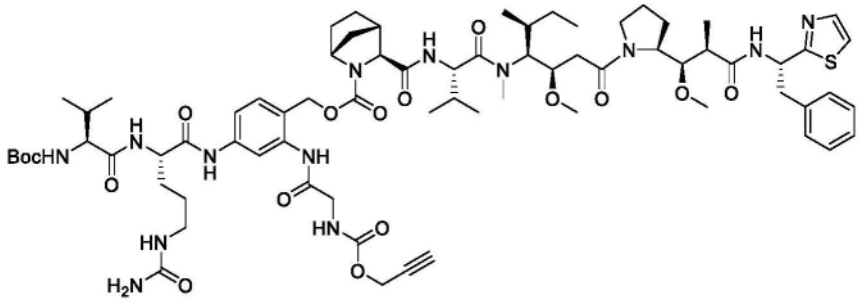
[1521] 

[1522] 叔丁基((S)-3-甲基-1-(((S)-1-((4-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)-3-(2-(((丙-2-炔-1-基氧基)羰基)氨基)乙酰胺基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨

基)-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯使用实例3-1步骤1所述的程序获得,但叔丁基((S)-1-(((S)-1-((4-(羟甲基)-3-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯(LI-1)用叔丁基((S)-1-(((S)-1-((4-(羟甲基)-3-(2-(((丙-2-炔-1-基氧基)羰基)氨基)乙酰胺基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯(LI-4)(552mg,0.871mmol,1.0当量)替代,并且省去了N,N-二异丙基乙胺。

[1523] 叔丁基((S)-3-甲基-1-(((S)-1-((4-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)-3-(2-(((丙-2-炔-1-基氧基)羰基)氨基)乙酰胺基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯:(388mg,0.486mmol,55%)。LCMS:MH+799.7,Rt=2.14min(5min酸性法-方法C)。

[1524] 步骤2:4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(2-(((丙-2-炔-1-基氧基)羰基)氨基)乙酰胺基)苄基(1R,3S,4S)-3-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羧酸酯的合成

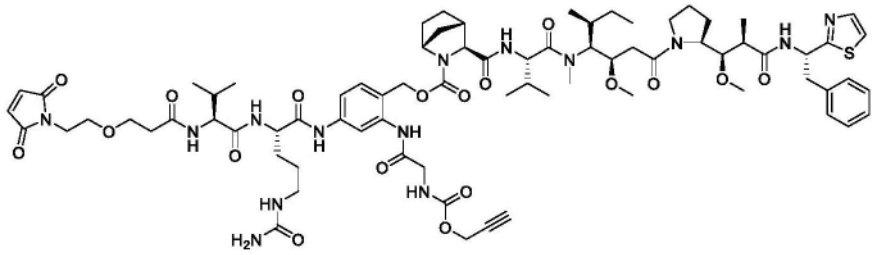
[1525] 

[1526] 4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(2-(((丙-2-炔-1-基氧基)羰基)氨基)乙酰胺基)苄基(1R,3S,4S)-3-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羧酸酯使用实例3步骤2所述的程序获得,但叔丁基((S)-3-甲基-1-(((S)-1-((4-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)-3-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯用叔丁基((S)-3-甲基-1-(((S)-1-((4-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)-3-(2-(((丙-2-炔-1-基氧基)羰基)氨基)乙酰胺基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯(44.6mg,0.056mmol,1.0当量)替代。

[1527] 4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(2-(((丙-2-炔-1-基氧基)羰基)氨基)乙酰胺基)苄基(1R,3S,4S)-3-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羧酸酯:(66.5mg,0.046mmol,83%)。HRMS:MH+=1440.7500Rt=2.70min(5min酸性法-方法D)。

[1528] 步骤3:4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)

丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(2-(((丙-2-炔-1-基氧基)羰基)氨基)乙酰胺基)苄基(1R,3S,4S)-3-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羧酸酯的合成

[1529] 

[1530] 4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(2-(((丙-2-炔-1-基氧基)羰基)氨基)乙酰胺基)苄基(1R,3S,4S)-3-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羧酸酯使用实例3-1步骤4所述的程序获得,但2-(((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)甲基)-4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(1R,3S,4S)-3-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羧酸酯用4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(2-(((丙-2-炔-1-基氧基)羰基)氨基)乙酰胺基)苄基(1R,3S,4S)-3-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羧酸酯(66.5mg,0.046mmol,1.0当量)替代。

[1531] 4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(2-(((丙-2-炔-1-基氧基)羰基)氨基)乙酰胺基)苄基(1R,3S,4S)-3-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羧酸酯:(51.4mg,0.033mmol,72%)。HRMS:MH+=1535.7500Rt=2.50min(5min酸性法-方法D)。

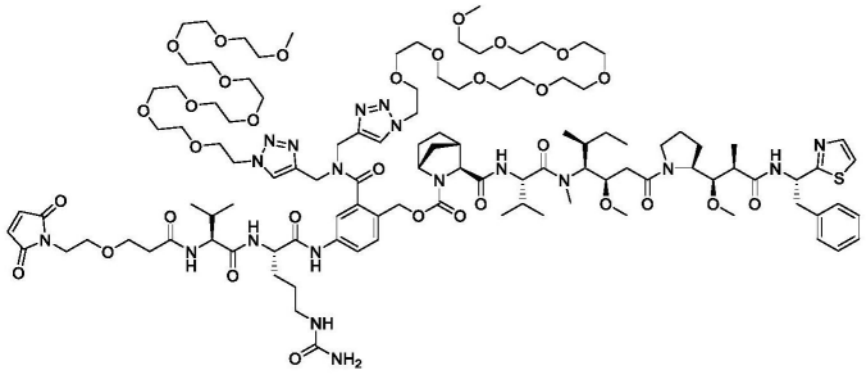
[1532] 步骤4:2-(2-((((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)羰基)氨基)乙酰胺基)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(1R,3S,4S)-3-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)

(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羧酸酯(L5-P1)的合成

[1533] 2-(2-((((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)羰基)氨基)乙酰胺基)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(1R,3S,4S)-3-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羧酸酯(L5-P1)使用实例3-1步骤3所述的程序获得,但4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苄基(1R,3S,4S)-3-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羧酸酯用4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(2-(((丙-2-炔-1-基氧基)羰基)氨基)乙酰胺基)苄基(1R,3S,4S)-3-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羧酸酯(27.3mg,0.018mmol,1.0当量)替代

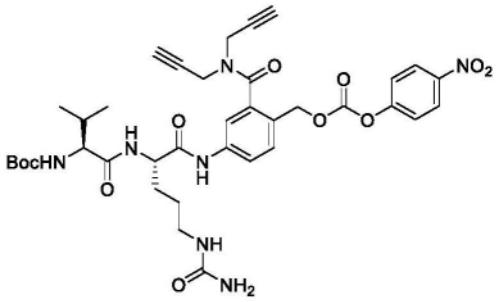
[1534] 2-(2-((((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)羰基)氨基)乙酰胺基)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(1R,3S,4S)-3-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羧酸酯(L5-P1):(18.9mg,9.33μmol,52%)。HRMS:MH+=1944.9900Rt=2.45min(5min酸性法-方法D)。

[1535] 实例3-5:2-(双((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲基)氨基甲酰基)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(1R,3S,4S)-3-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羧酸酯(L6-P1)的合成

[1536] 

(L6-P1)

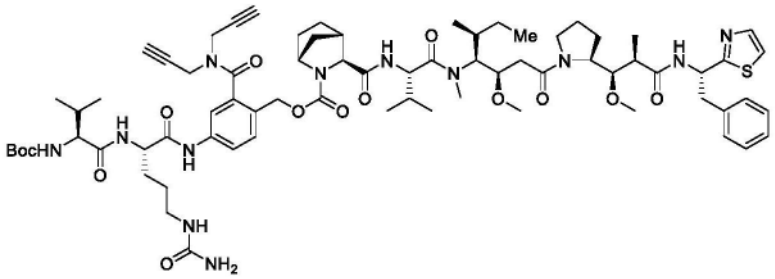
[1537] 步骤1:叔丁基((S)-1-(((S)-1-((3-(二(丙-2-炔-1-基)氨基甲酰基)-4-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯的合成

[1538] 

[1539] 叔丁基((S)-1-(((S)-1-((3-(二(丙-2-炔-1-基)氨基甲酰基)-4-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯使用实例3-1步骤1所述的程序获得,但叔丁基((S)-1-(((S)-1-((4-(羟甲基)-3-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯(LI-1)用叔丁基((S)-1-(((S)-1-((3-(二(丙-2-炔-1-基)氨基甲酰基)-4-(羟甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯(LI-5)(1.51g,2.52mmol,1.0当量)替代,并且省去了N,N-二异丙基乙胺。

[1540] 叔丁基((S)-1-(((S)-1-((3-(二(丙-2-炔-1-基)氨基甲酰基)-4-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯:(1.33g,1.741mmol,69%)。LCMS:MH+764.3,Rt=1.00min(2min酸性法-方法A)。

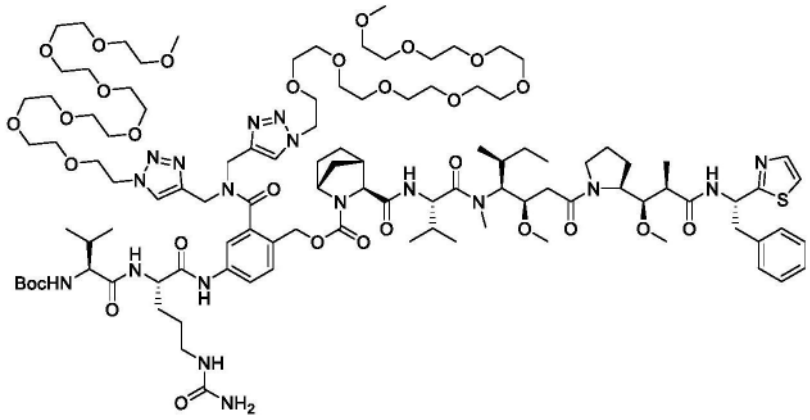
[1541] 步骤2:4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(二(丙-2-炔-1-基)氨基甲酰基)苄基(1R,3S,4S)-3-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羧酸酯的合成

[1542] 

[1543] 4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(二(丙-2-炔-1-基)氨基甲酰基)苄基(1R,3S,4S)-3-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羧酸酯使用实例3步骤2所述的程序获得,但叔丁基((S)-3-甲基-1-(((S)-1-((4-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)-3-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯用叔丁基((S)-1-(((S)-1-((3-(二(丙-2-炔-1-基)氨基甲酰基)-4-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯(42.7mg,0.056mmol,1.0当量)替代。

[1544] 4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(二(丙-2-炔-1-基)氨基甲酰基)苄基(1R,3S,4S)-3-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羧酸酯:(50.9mg,0.036mmol,64%)。LCMS:MH+1406.0,Rt=1.14min(2min碱性法-方法B)。

[1545] 步骤3:2-(双((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲基)氨基甲酰基)-4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(1R,3S,4S)-3-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羧酸酯的合成

[1546] 

[1547] 2-(双((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲基)氨基甲酰基)-4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲

基戊酰胺基)苄基(1R,3S,4S)-3-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羧酸酯使用实例3-1步骤3所述的程序获得,但4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苄基(1R,3S,4S)-3-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羧酸酯用4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(二(丙-2-炔-1-基)氨基甲酰基)苄基(1R,3S,4S)-3-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羧酸酯(50mg,0.036mmol,1.0当量)替代。

[1548] 2-(双((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲基)氨基甲酰基)-4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(1R,3S,4S)-3-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羧酸酯:(79mg,0.036mmol,99%)。LCMS:[M+2H]2+1112.8,Rt=1.04min(2min酸性法-方法A)。

[1549] 步骤4:2-(双((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲基)氨基甲酰基)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(1R,3S,4S)-3-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羧酸酯(L6-P1)的合成

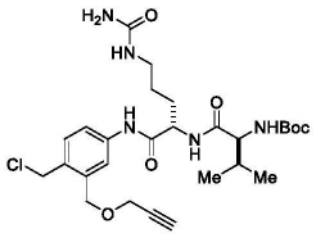
[1550] 2-(双((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲基)氨基甲酰基)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(1R,3S,4S)-3-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羧酸酯(L6-P1)使用实例3-1步骤4所述的程序获得,但2-(((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)甲基)-4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(1R,3S,4S)-3-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羧酸酯用2-(双((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂

二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲基)氨基甲酰基)-4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(1R,3S,4S)-3-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羧酸酯(79mg,0.036mmol,1.0当量)替代。

[1551] 2-(双((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲基)氨基甲酰基)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(1R,3S,4S)-3-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羧酸酯(L6-P1)(8.1mg,3.32μmol,9%)。HRMS:MH+=2319.2450Rt=2.47min(5min酸性法-方法D)。

[1552] 实例3-6:(1R,3S,4S)-2-(4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(75-甲基-74-氧代-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71-二十四氧杂-75-氮杂六十七碳-76-基)苄基)-3-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-甲基-2-氮杂双环[2.2.1]庚-2-鎓(L137-P2)或(1R,3S,4S)-2-(2-(((1-(38-羧基-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36-十二氧杂三十八烷基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)甲基)-4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)-3-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-甲基-2-氮杂双环[2.2.1]庚-2-鎓(L140-P2)的合成

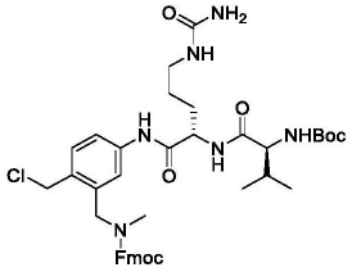
[1553] 步骤1:叔丁基((S)-1-(((S)-1-((4-(氯甲基)-3-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯的合成

[1554] 

[1555] 在0℃下向叔丁基((S)-1-(((S)-1-((4-(羟甲基)-3-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯(2.00克,3.65mmol,1.0当量)在乙腈(13.3mL)中的溶液中添加亚硫酰氯(0.53mL,7.30mmol,2.0当量)。在冰浴中搅拌一小时后,将溶液用水(40mL)稀释,并将所得白色沉淀物通过过滤收集,空气干燥并在高真空下干燥,以得到叔丁基((S)-1-(((S)-1-((4-(氯甲基)-3-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基

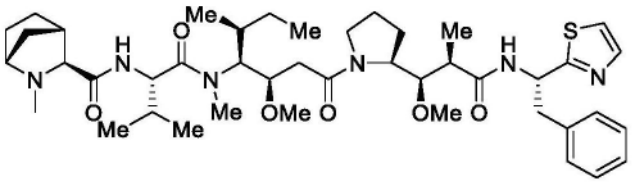
甲酸酯。LCMS:MNa+588.5;Rt＝2.17min(5min酸性法)。

[1556] 步骤2:(9H-芴-9-基)甲基(5-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(氯甲基)苄基)(甲基)氨基甲酸酯的合成

[1557] 

[1558] 向CH_2Cl_2(10mL)中的(9H-芴-9-基)甲基(5-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(羟甲基)苄基)(甲基)氨基甲酸酯(200mg,0.269mmol,1.0当量)添加吡啶(0.130mL,1.61mmol,6当量)。将不均质混合物在0℃冰浴和亚硫酰氯(0.059mL,0.806mmol,3当量)中冷却。在冰浴中短暂搅拌后,将反应边搅拌边加热至室温,持续2小时。将反应通过ISCO SiO_2色谱法(0%-30% MeOH/CH_2Cl_2)纯化,并获得了(9H-芴-9-基)甲基(5-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)-2-(氯甲基)苄基)(甲基)氨基甲酸酯。LCMS:MH+＝763.2;Rt＝1.18min(2min酸性法)。

[1559] 步骤3:(1R,3S,4S)-N-((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)-2-甲基-2-氮杂双环[2.2.1]庚-3-甲酰胺(P2)的合成

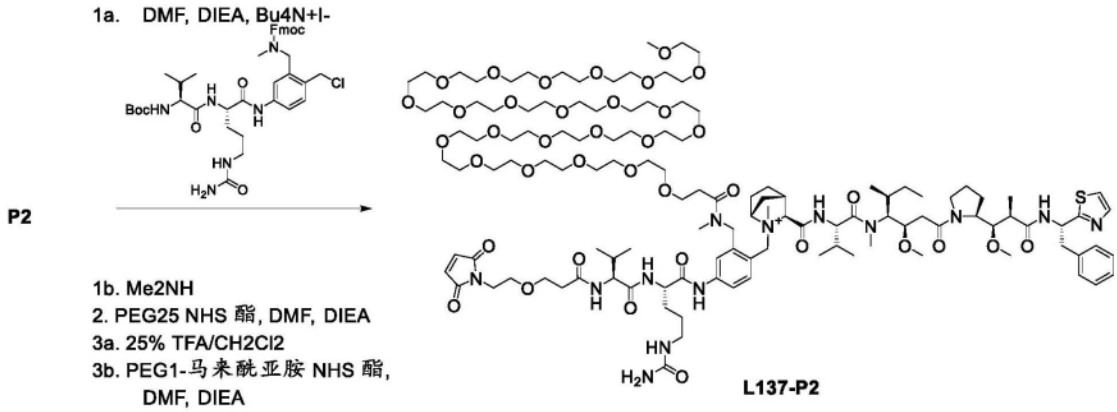


(P2)

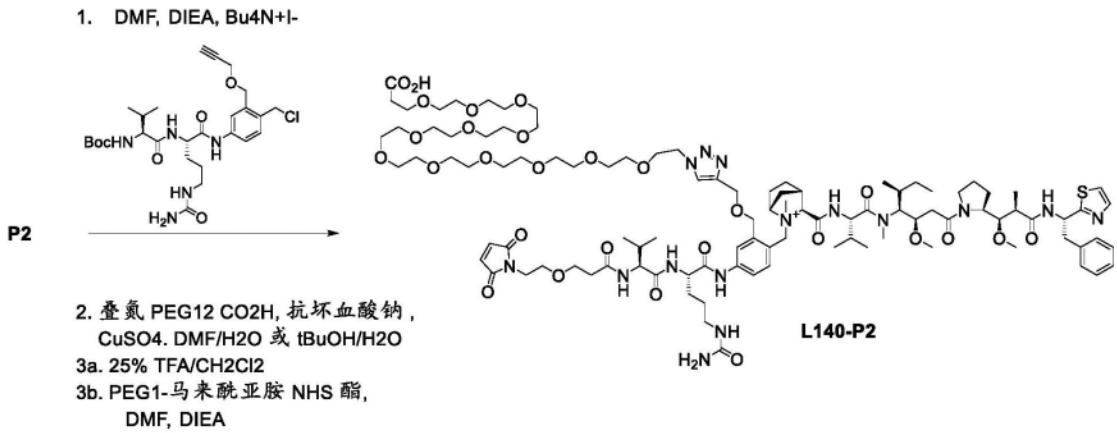
[1560] 可在标准还原胺化条件下用多聚甲醛处理(1R,3S,4S)-N-((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚-3-甲酰胺,以得到(1R,3S,4S)-N-((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)-2-甲基-2-氮杂双环[2.2.1]庚-3-甲酰胺。

[1561] 步骤4:表4C中L137-P2、L140-P2、和其他化合物的合成可按照以下方案之一进行:

[1562]



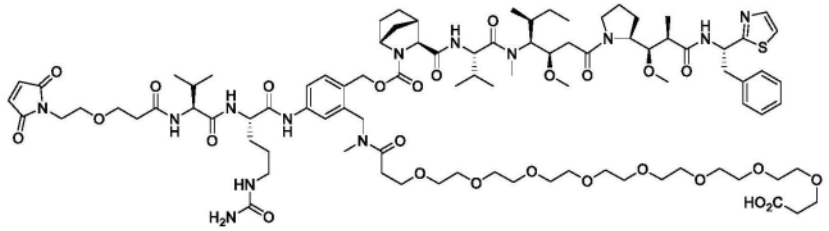
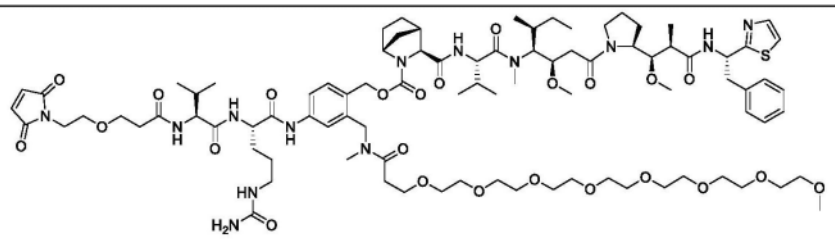
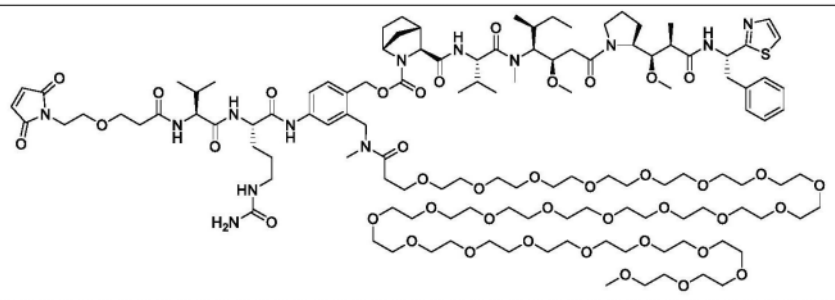
[1563]



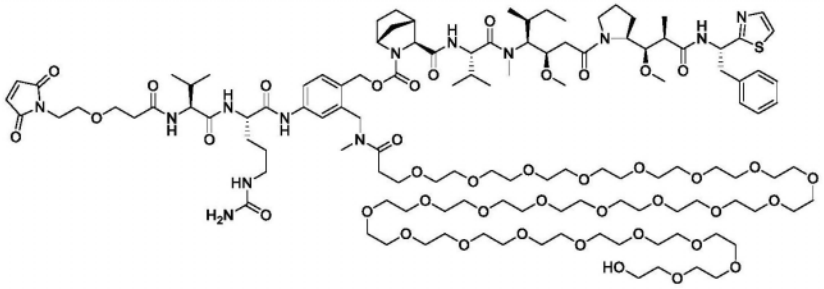
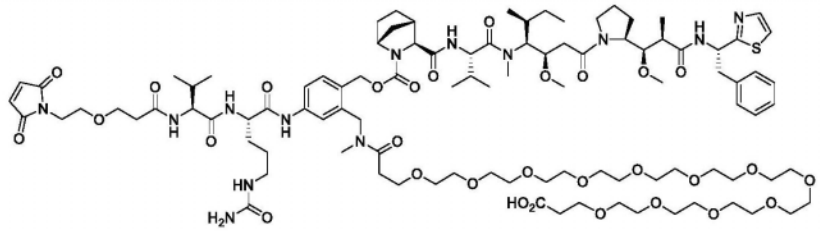
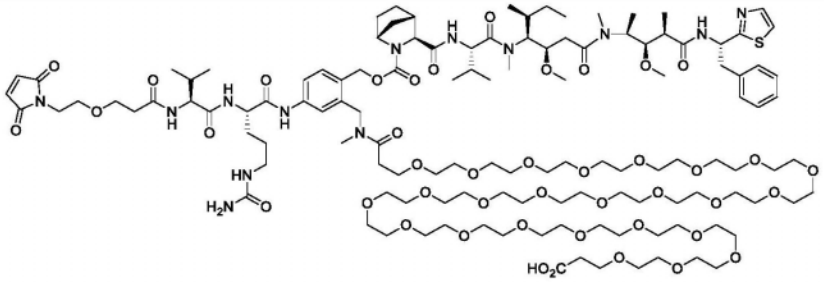
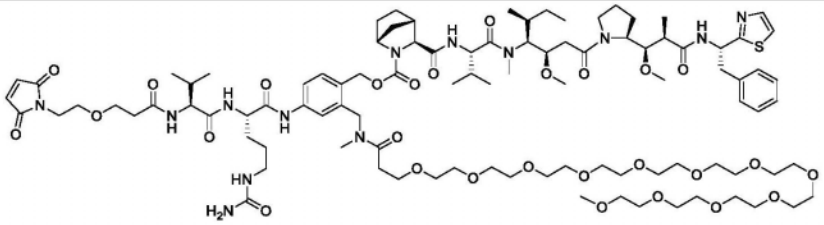
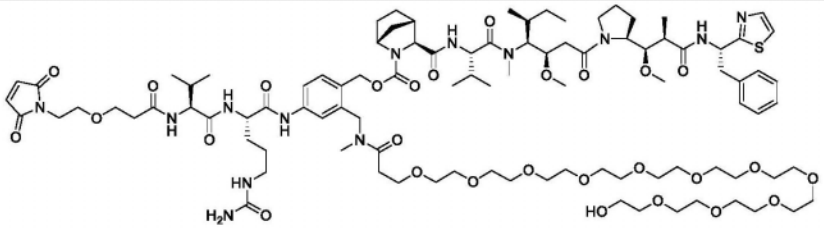
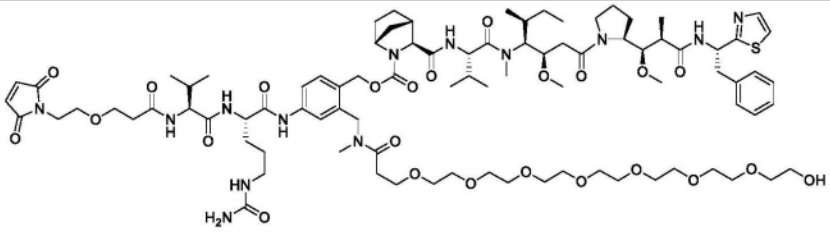
[1564] 在下表4A-4C中给出了可采用实例3-1至3-6中所述方法合成的另外的接头-药物化合物的实例。

[1565] 表4A

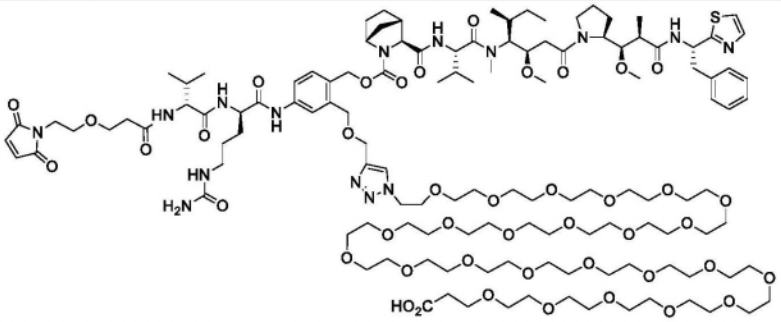
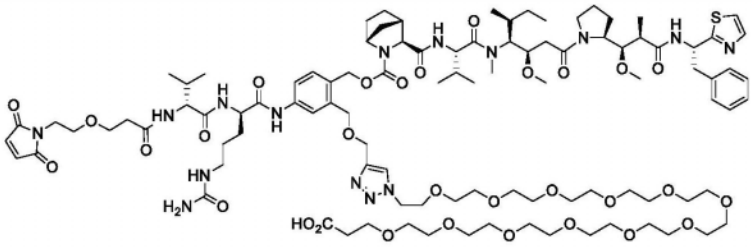
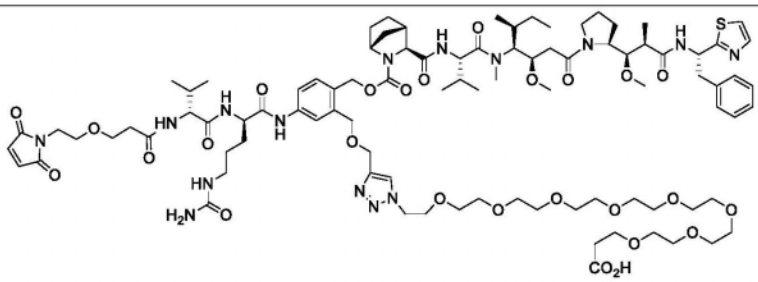
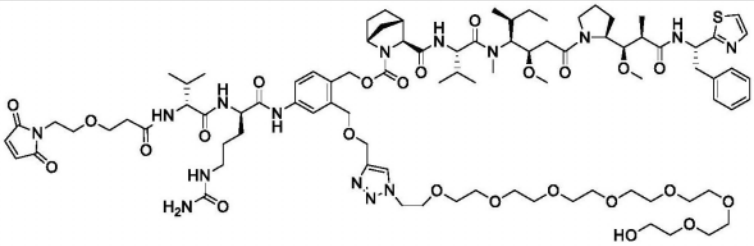
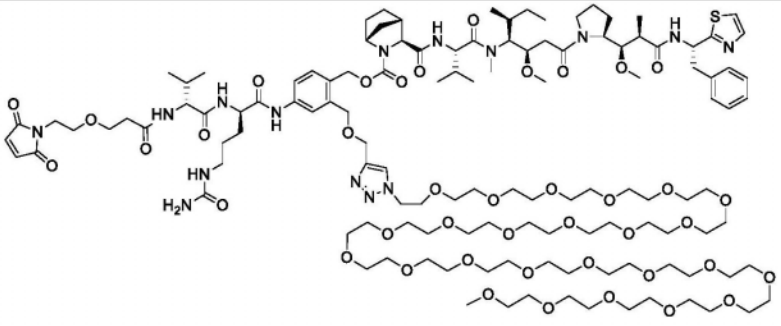
[1566]

化合物编号	
L7-P1	
L8-P1	
L9-P1	

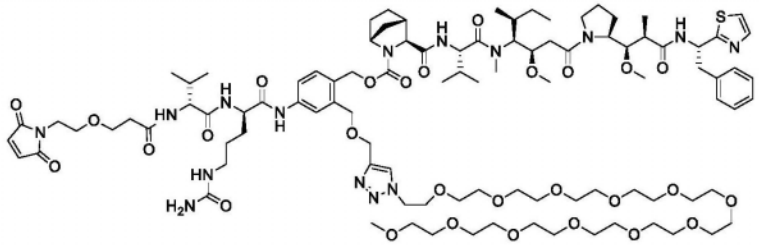
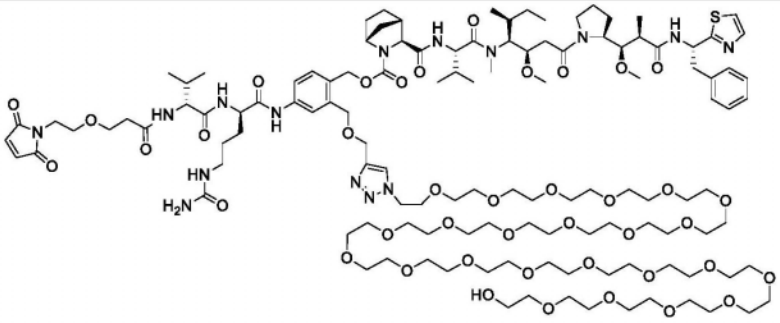
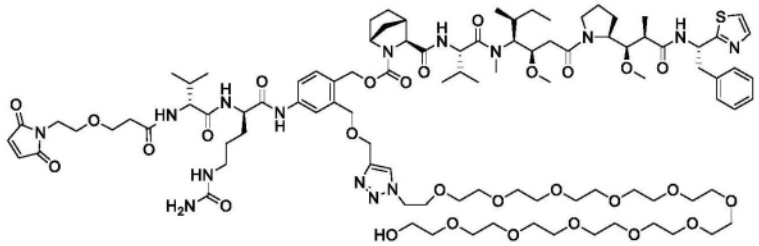
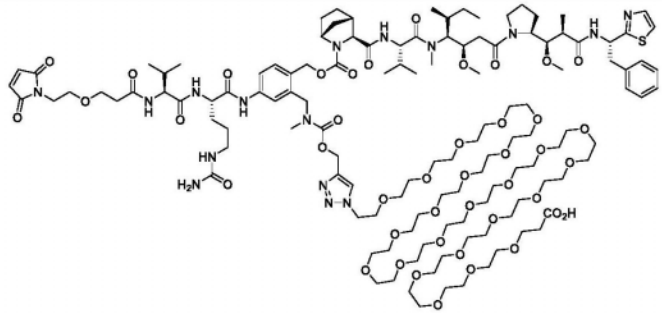
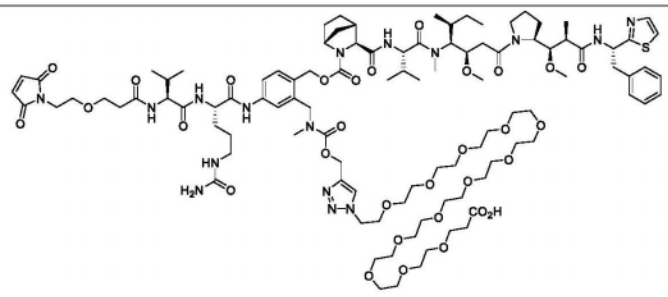
[1567]

化合物编号	
L10-P1	
L11-P1	
L12-P1	
L13-P1	
L14-P1	
L15-P1	

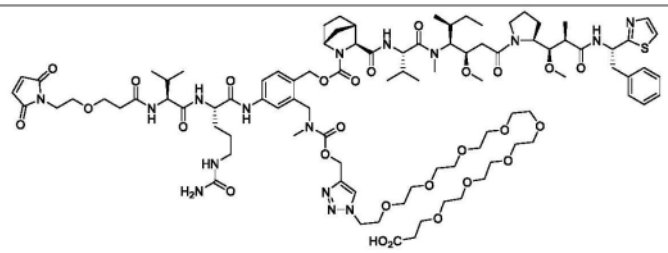
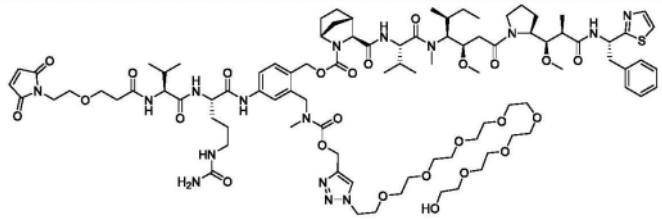
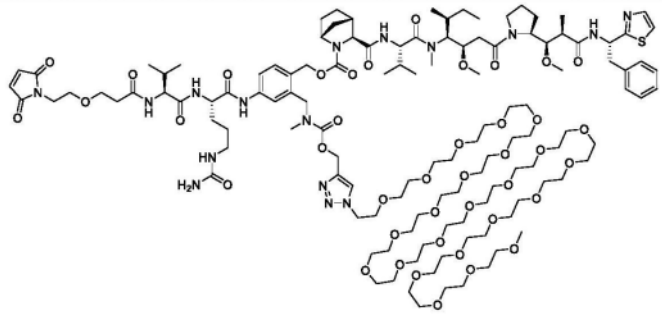
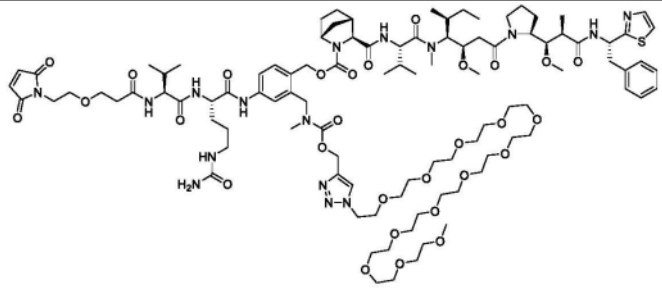
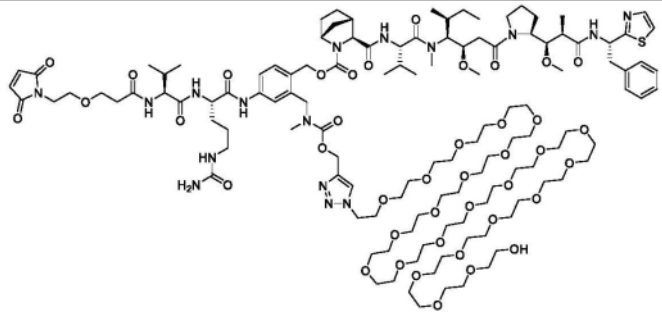
[1568]

化合物编号	
L16-P1	
L17-P1	
L18-P1	
L19-P1	
L20-P1	

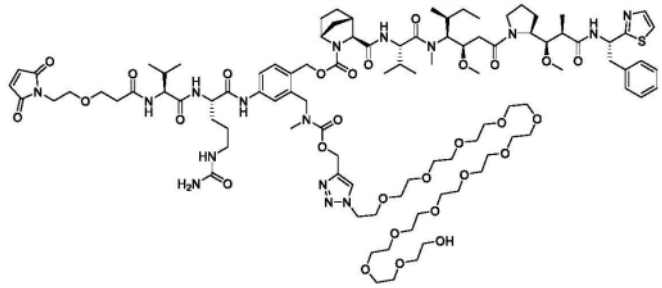
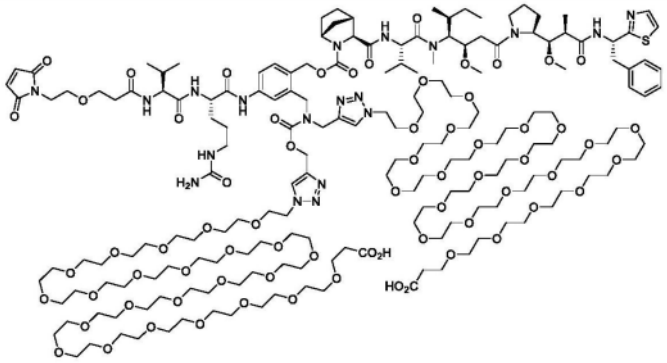
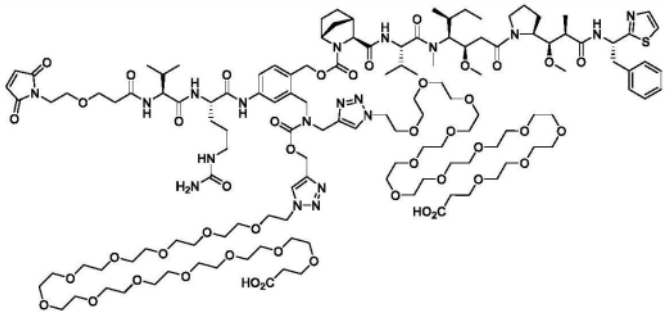
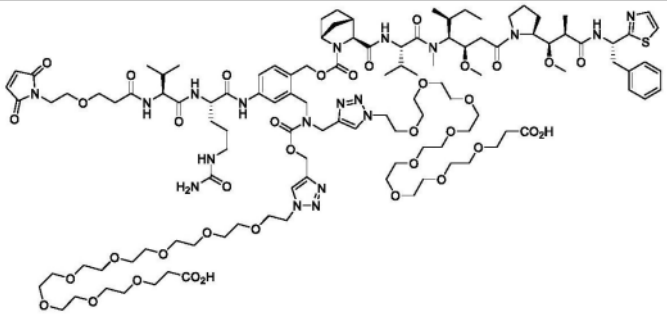
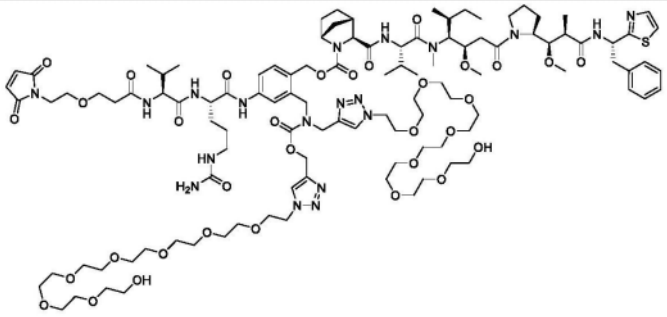
[1569]

化合物编号	
L21-P1	
L22-P1	
L23-P1	
L24-P1	
L25-P1	

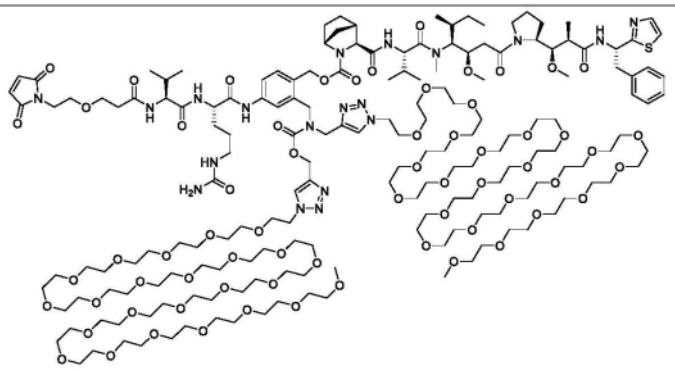
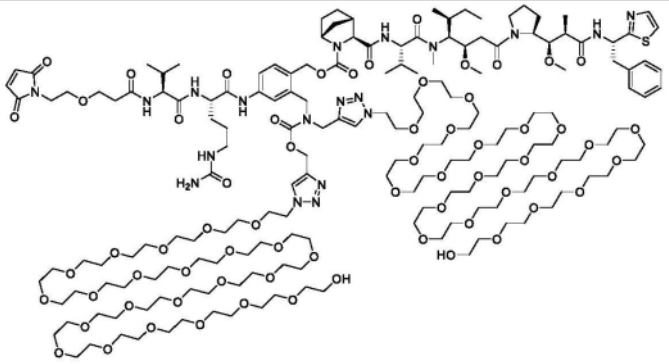
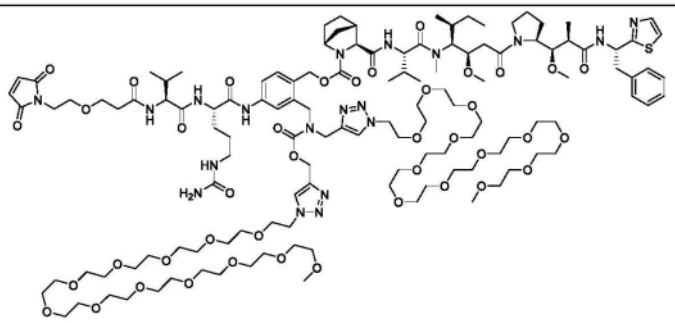
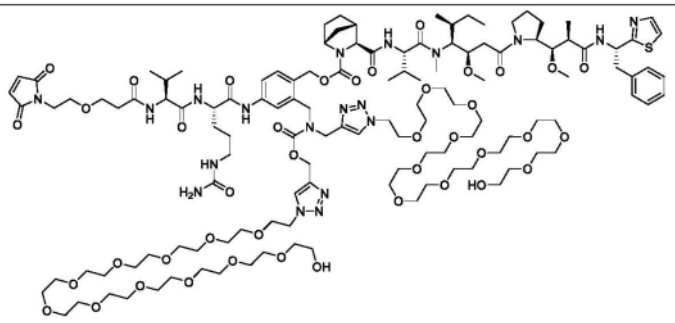
[1570]

化合物编号	
L26-P1	
L27-P1	
L28-P1	
L29-P1	
L30-P1	

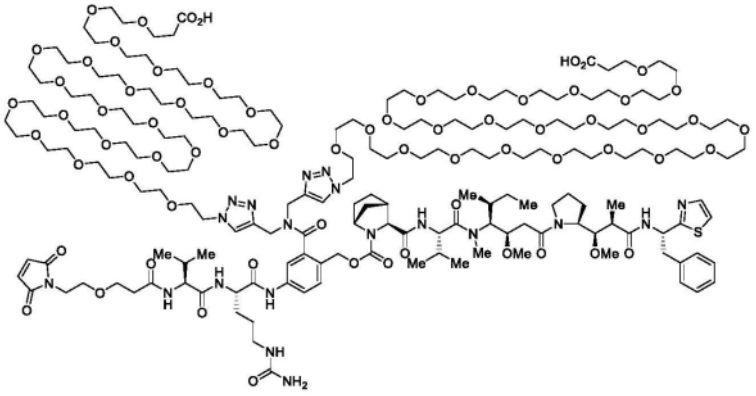
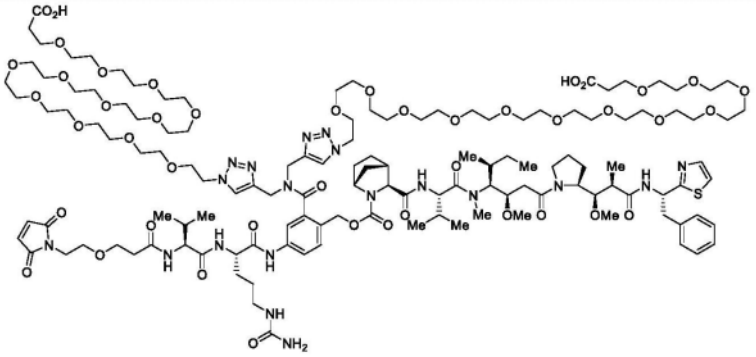
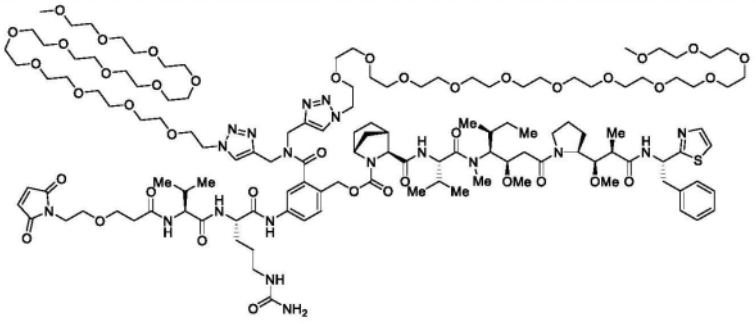
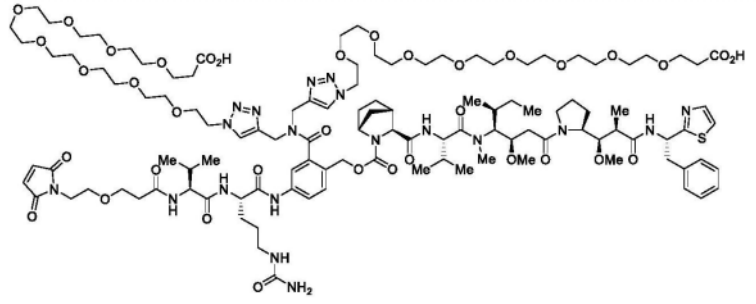
[1571]

化合物编号	
L31-P1	
L32-P1	
L33-P1	
L34-P1	
L35-P1	

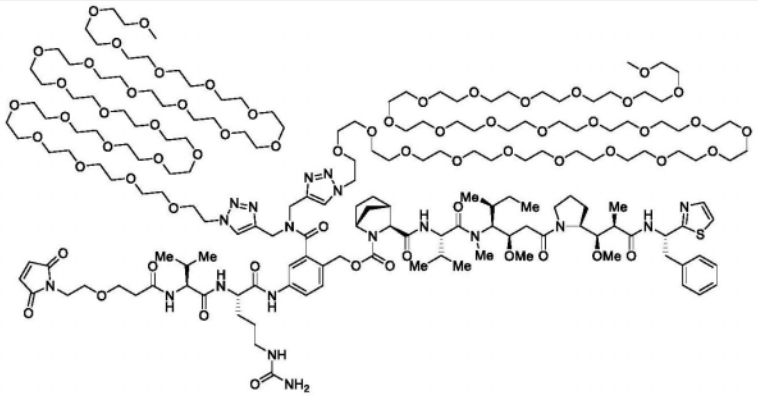
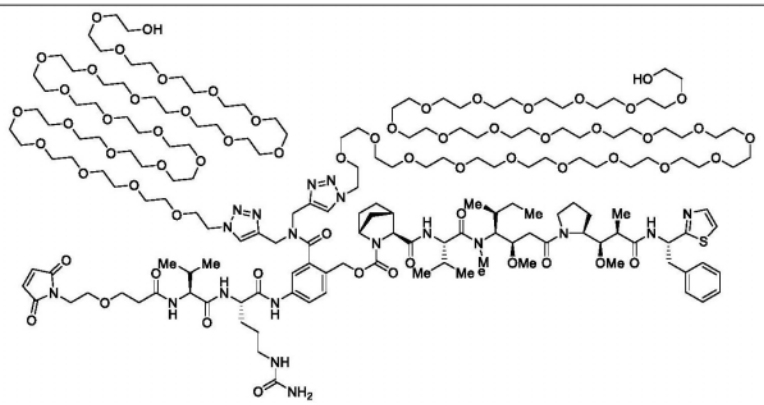
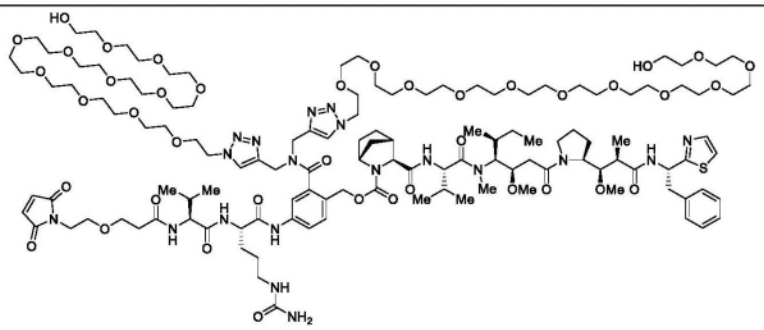
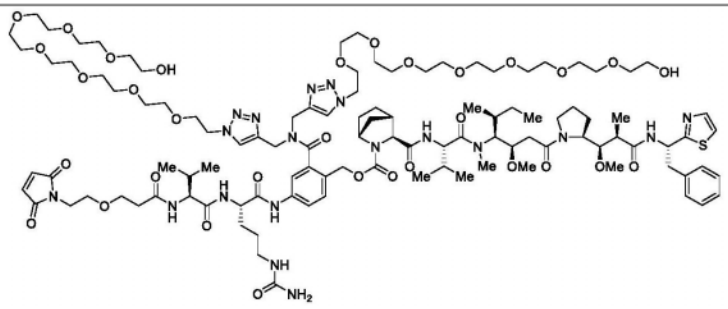
[1572]

化合物编号	
L36-P1	
L37-P1	
L38-P1	
L39-P1	

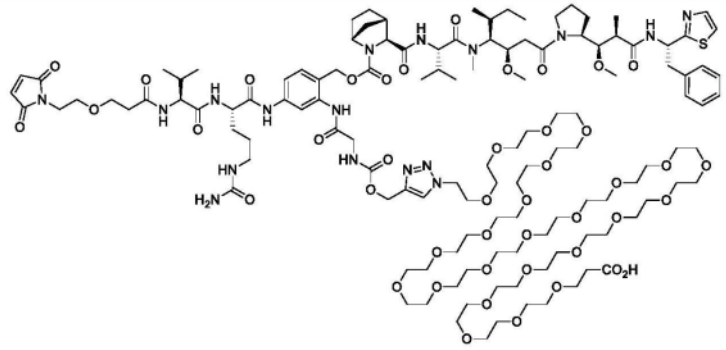
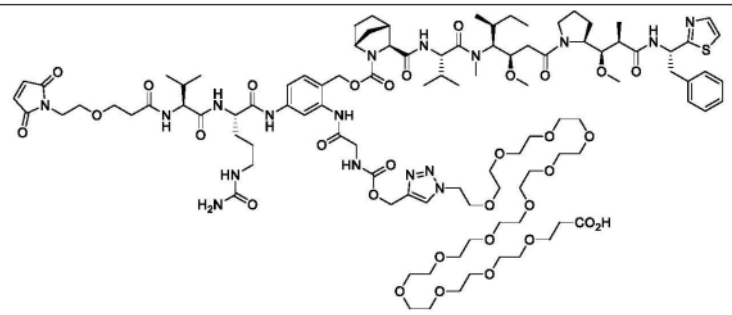
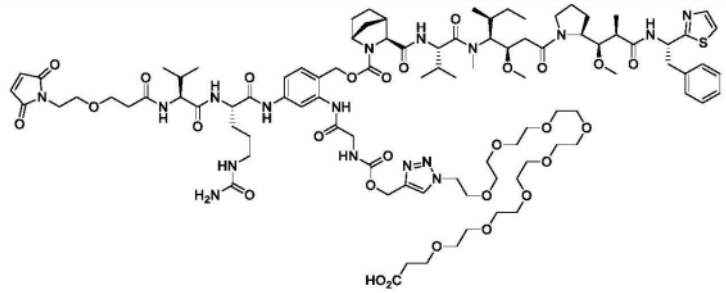
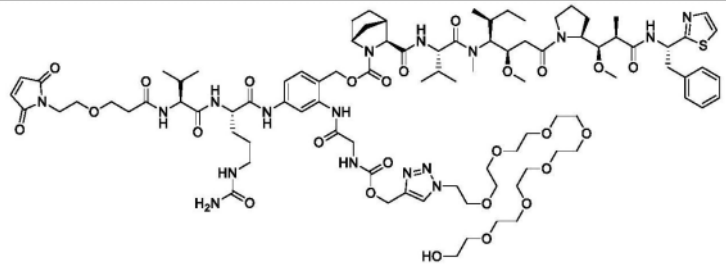
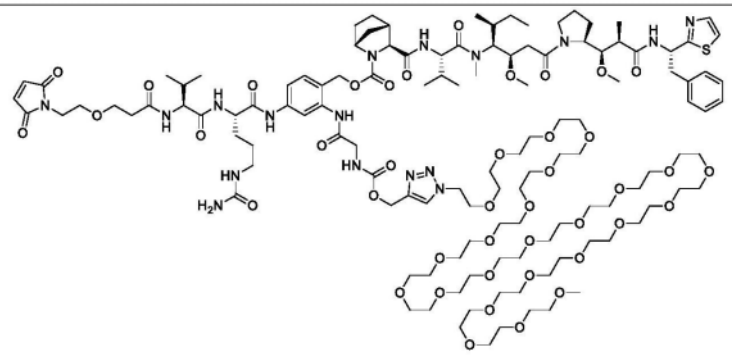
[1573]

化合物编号	
L40-P1	
L41-P1	
L42-P1	
L43-P1	

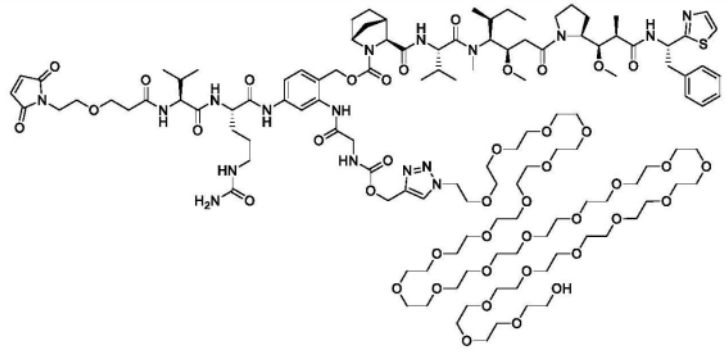
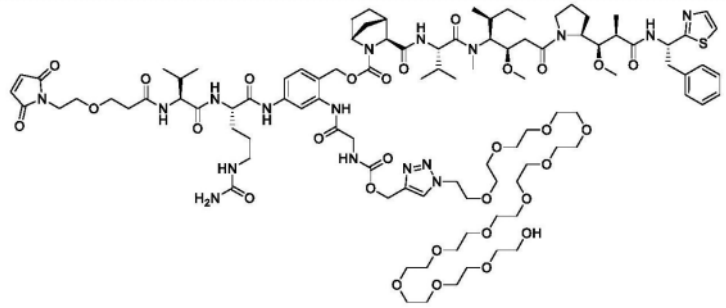
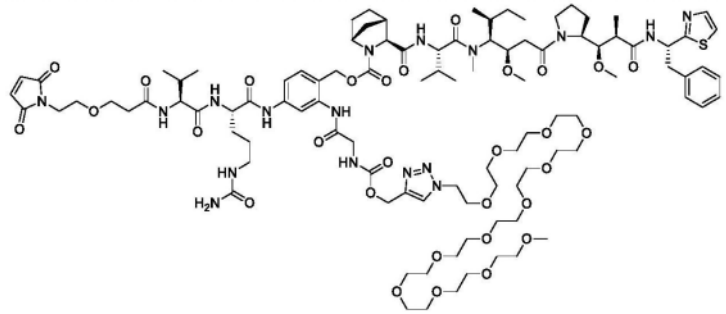
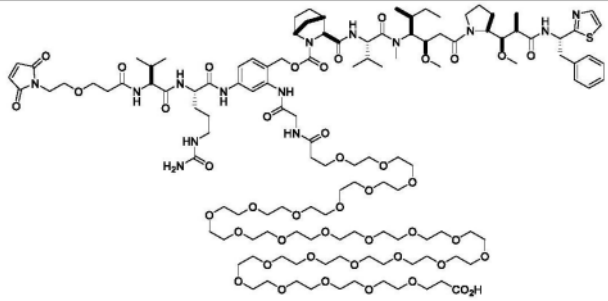
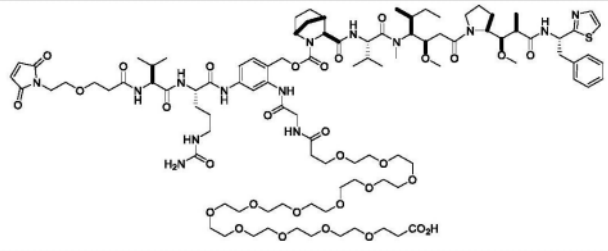
[1574]

化合物编号	
L44-P1	
L45-P1	
L46-P1	
L47-P1	

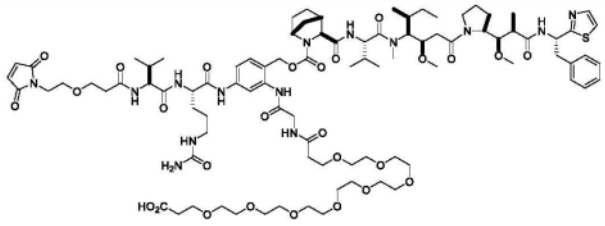
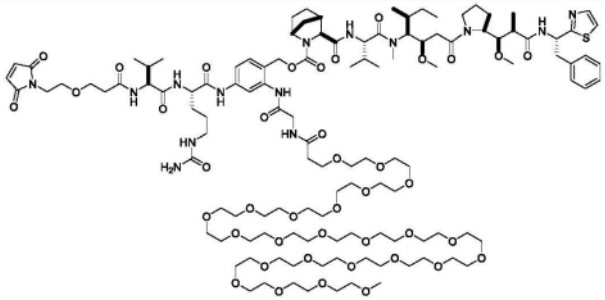
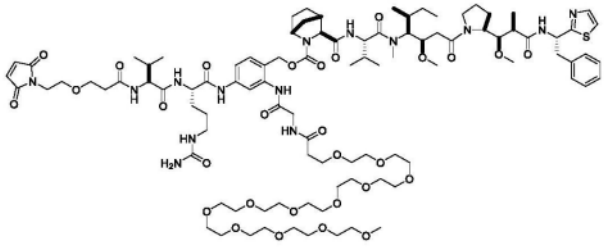
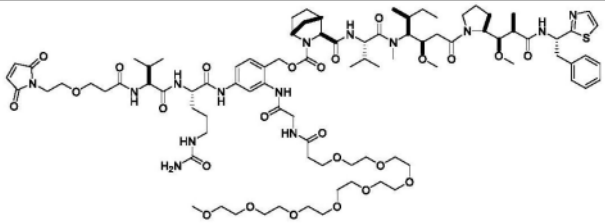
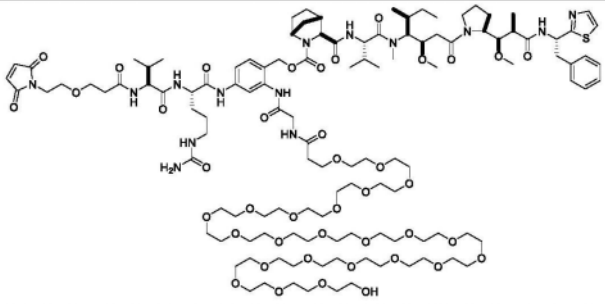
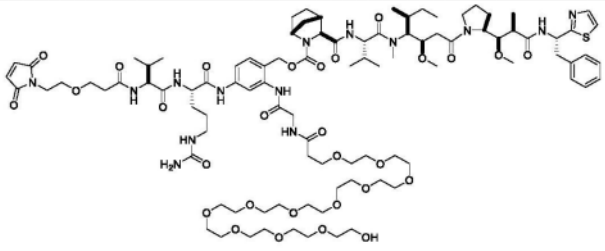
[1575]

化合物编号	
L48-P1	
L49-P1	
L50-P1	
L51-P1	
L52-P1	

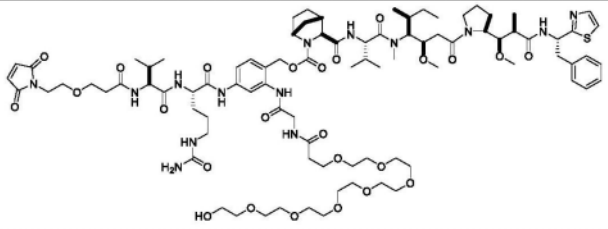
[1576]

化合物编号	
L53-P1	
L54-P1	
L55-P1	
L56-P1	
L57-P1	

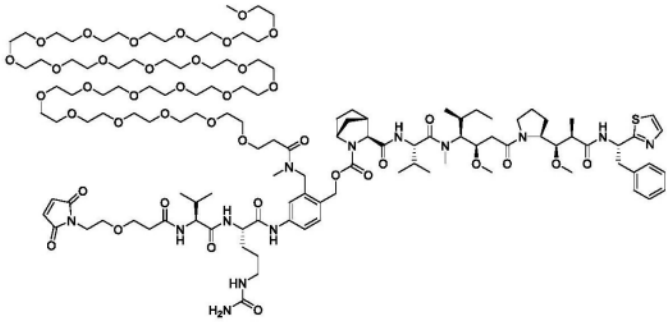
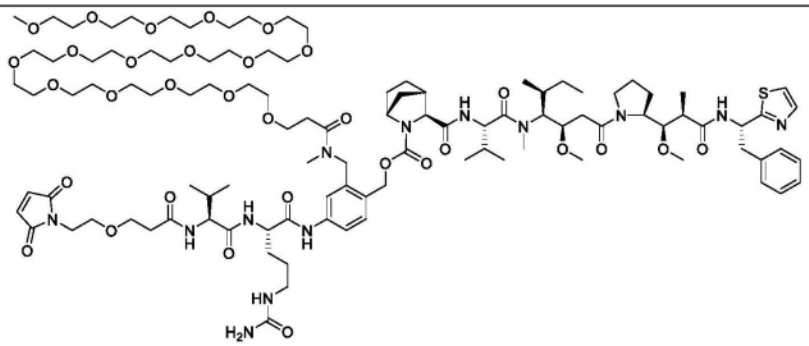
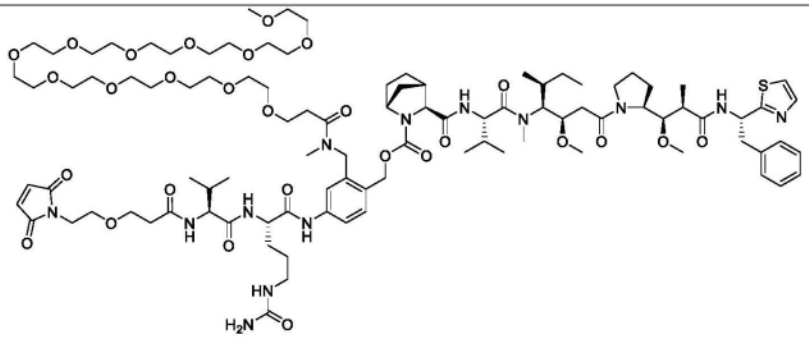
[1577]

化合物编号	
L58-P1	
L59-P1	
L60-P1	
L61-P1	
L62-P1	
L63-P1	

[1578]

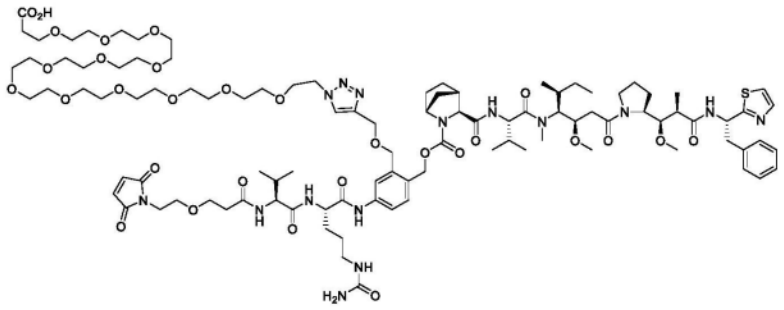
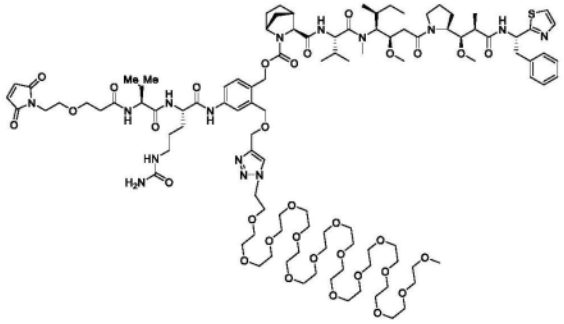
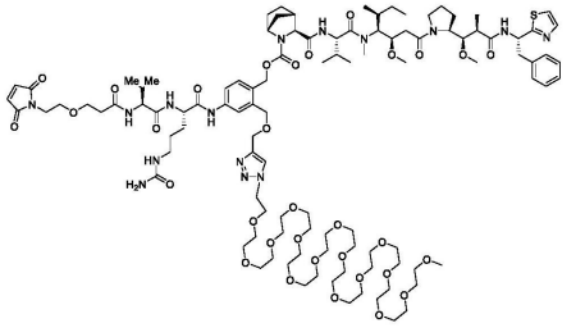
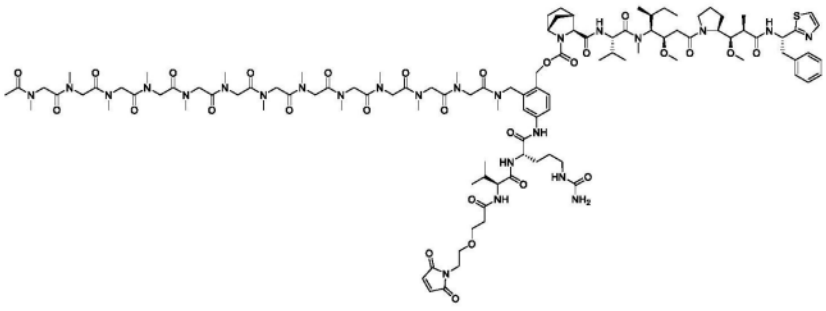
化合物编号	
L64-P1	

[1579] 表4B

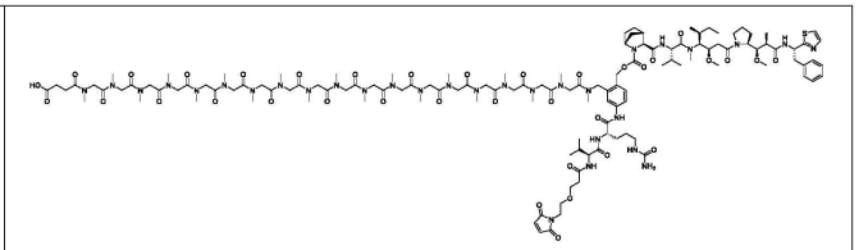
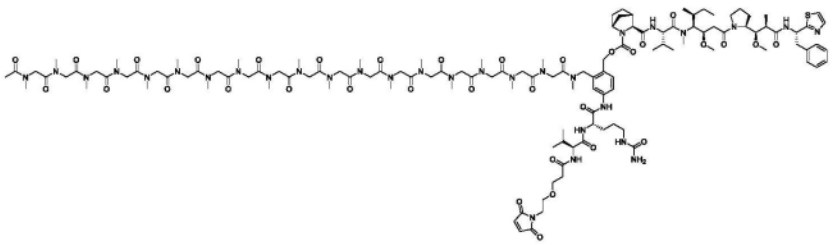
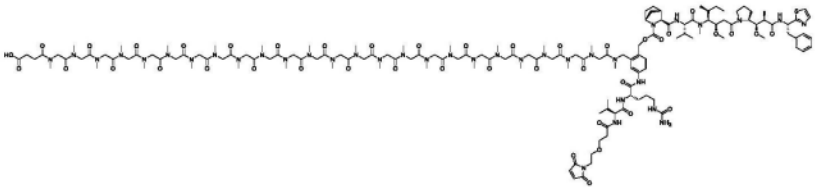
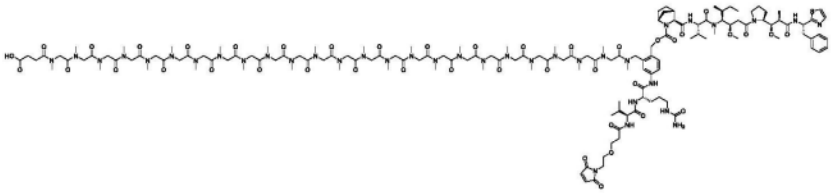
化合物编号	结构
L65-P1	
L66-P1	
L67-P1	

[1580]

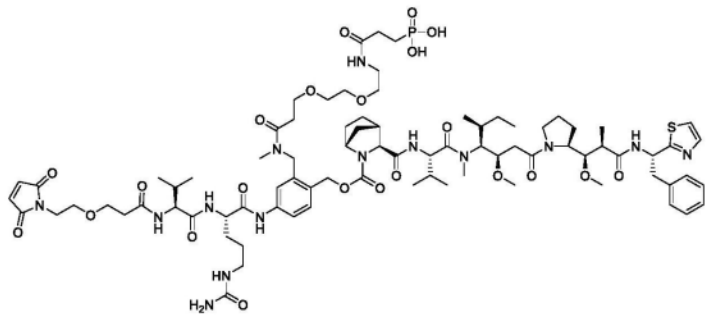
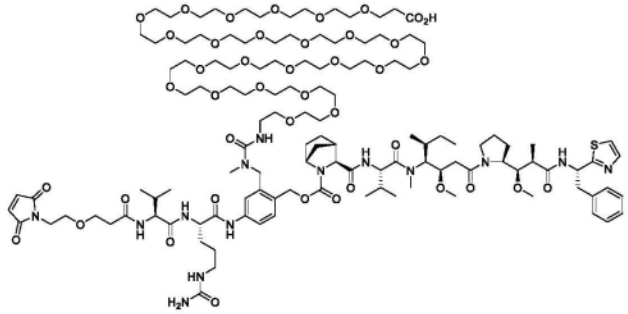
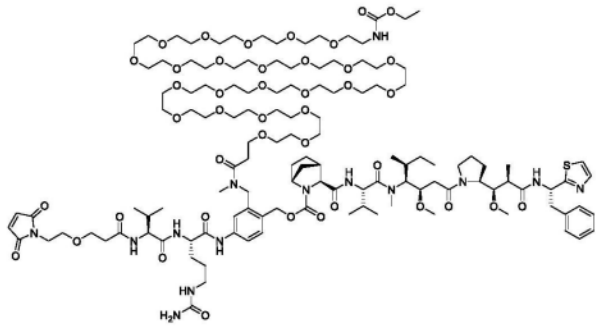
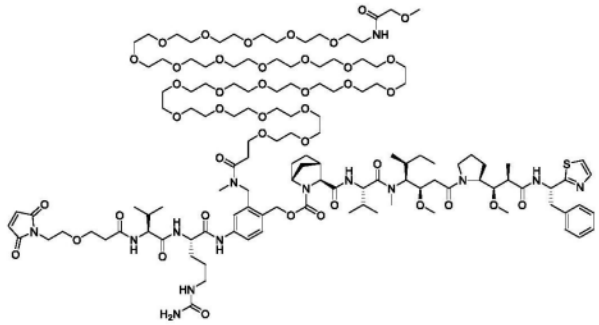
[1581]

L68-P1	
L69-P1	
L70-P1	
L71-P1	

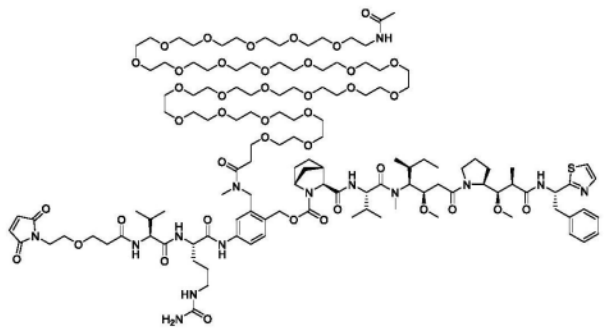
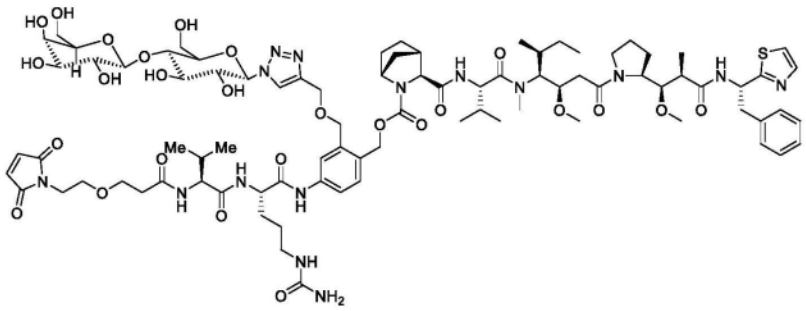
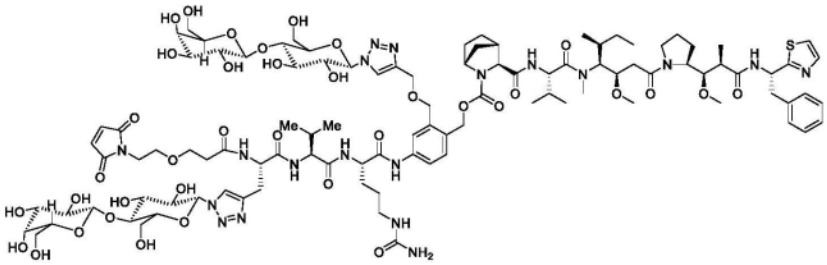
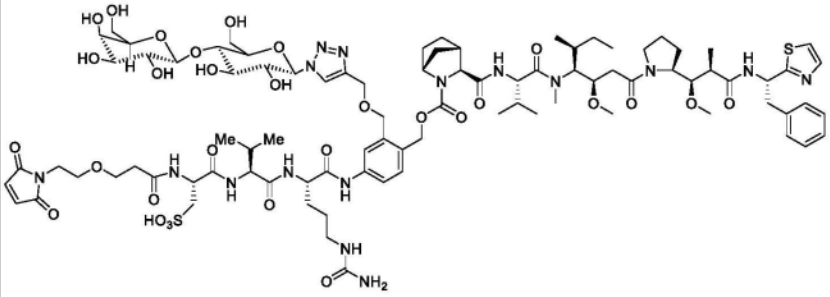
[1582]

L72-P1	
L73-P1	
L74-P1	
L75-P1	

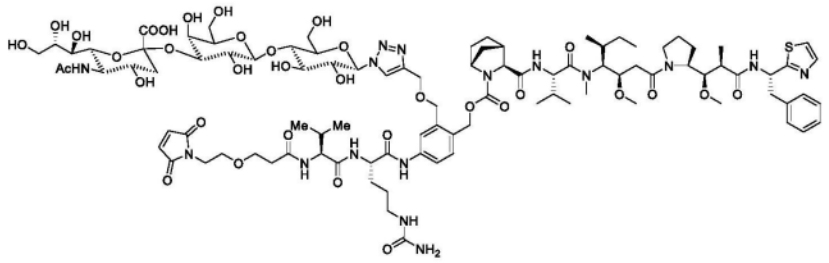
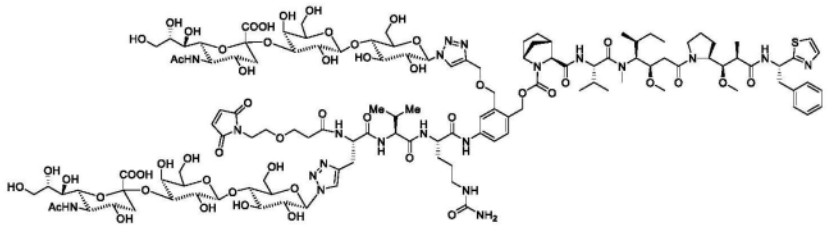
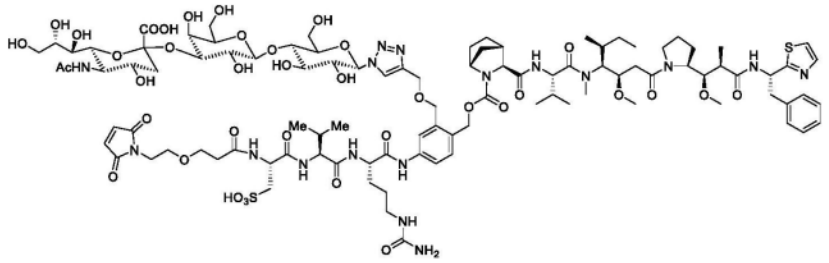
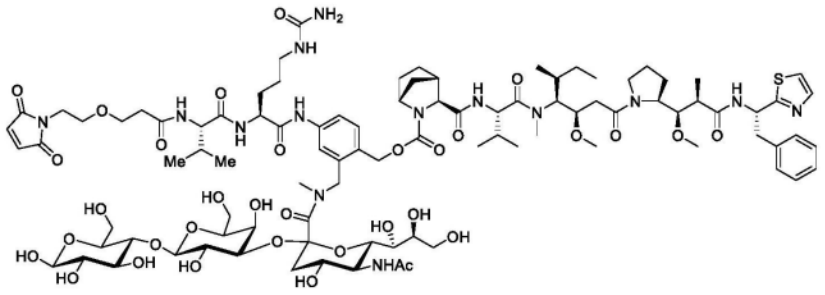
[1583]

L76-P1	
L77-P1	
L78-P1	
L79-P1	

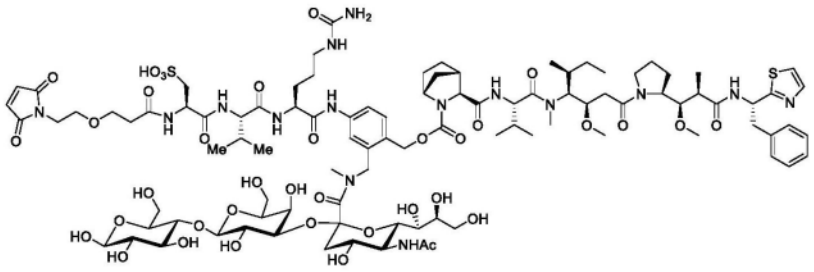
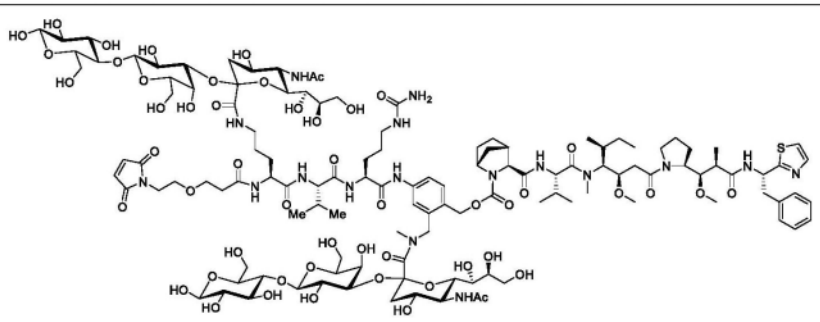
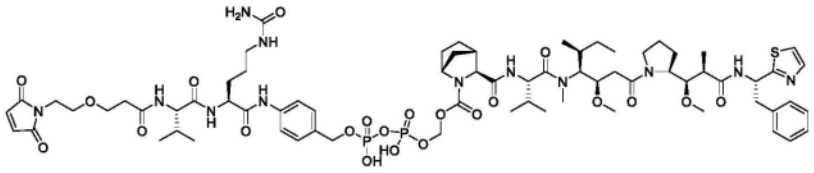
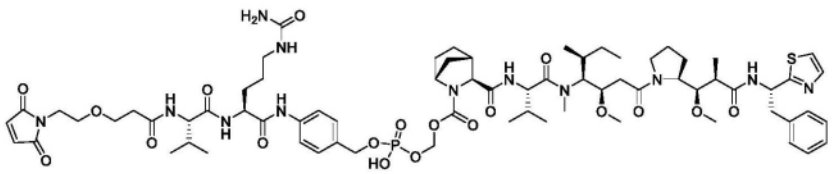
[1584]

L80-P1	
L81-P1	
L82-P1	
L83-P1	

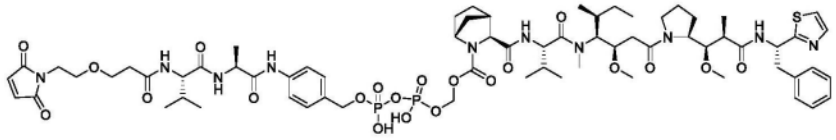
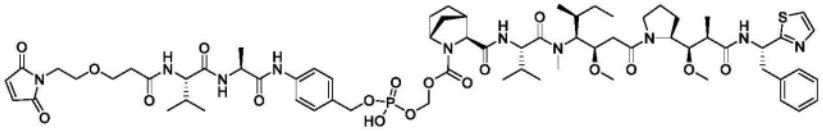
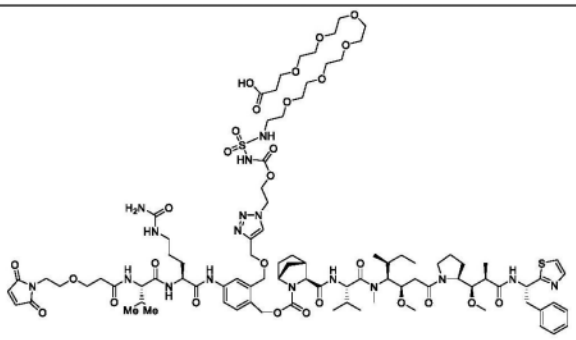
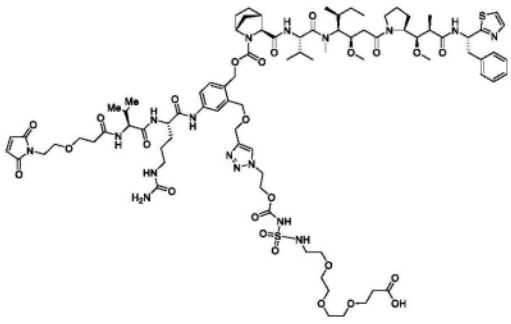
[1585]

L84-P1	
L85-P1	
L86-P1	
L87-P1	

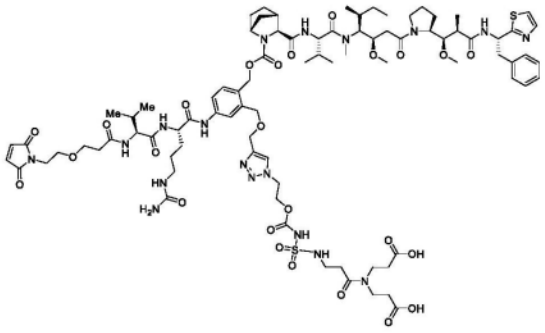
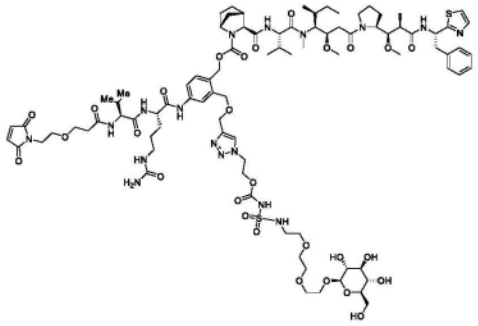
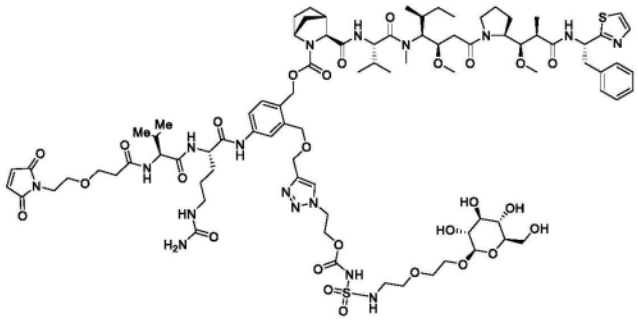
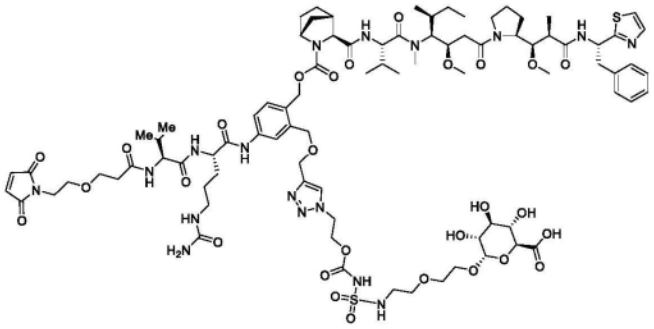
[1586]

L88-P1	
L89-P1	
L90-P1	
L91-P1	

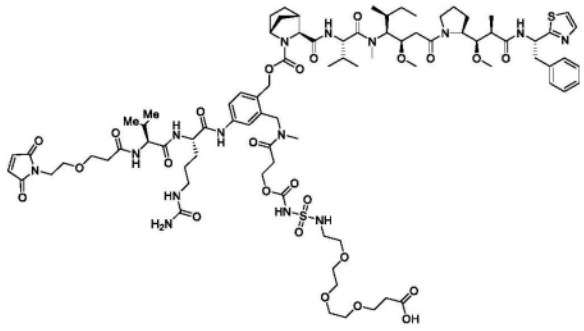
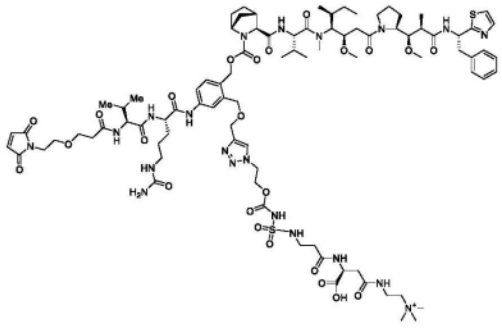
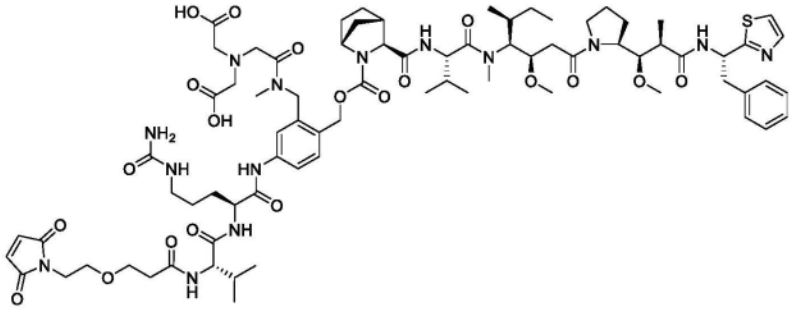
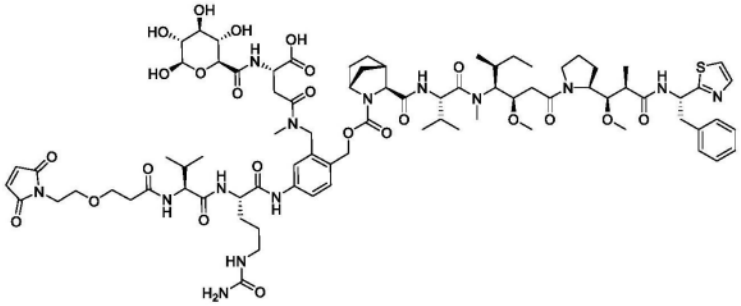
[1587]

L92-P1	
L93-P1	
L94-P1	
L95-P1	

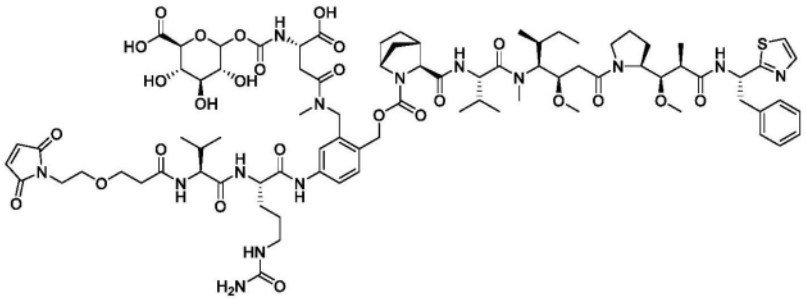
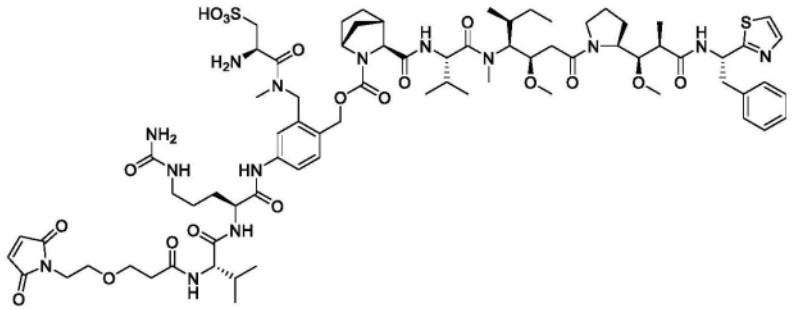
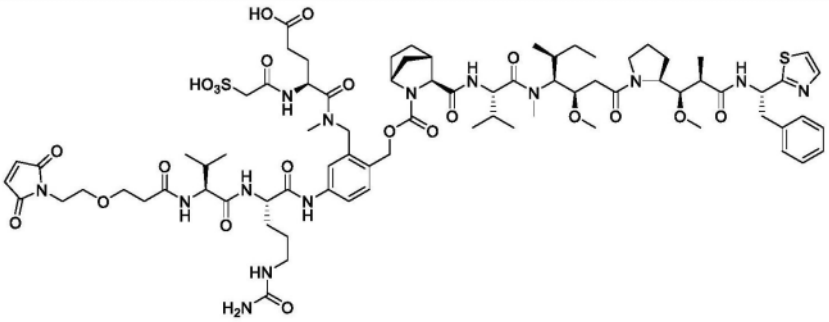
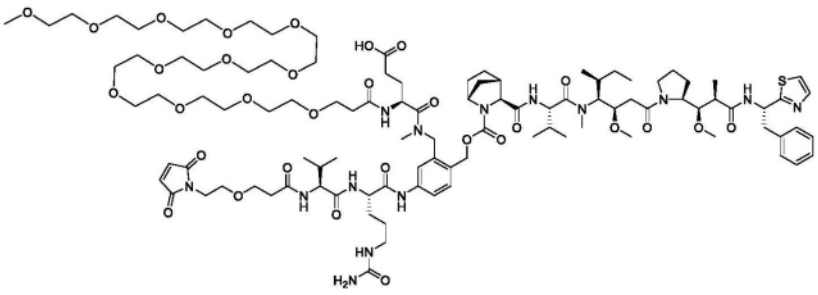
[1588]

L96-P1	
L97-P1	
L98-P1	
L99-P1	

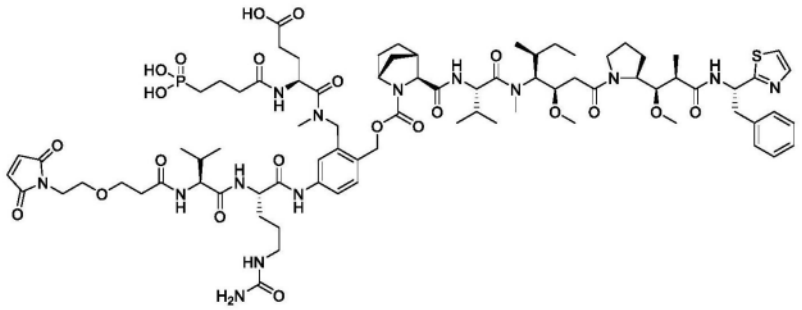
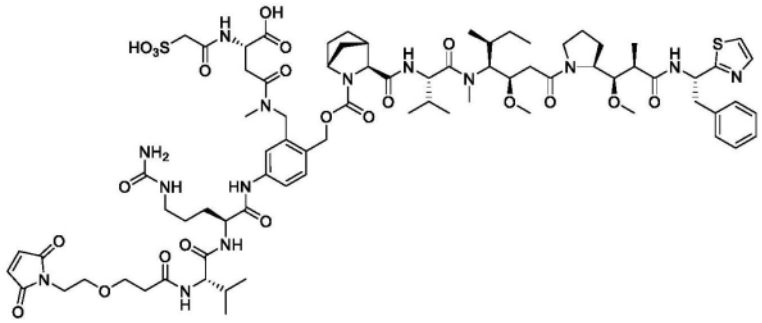
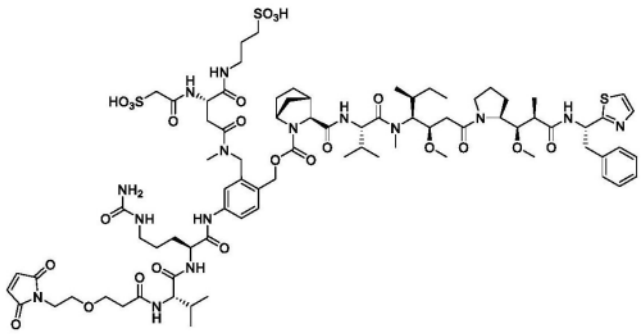
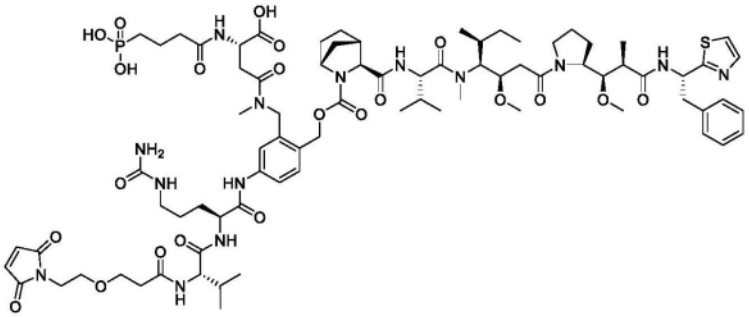
[1589]

L100-P1	
L101-P1	
L102-P1	
L103-P1	

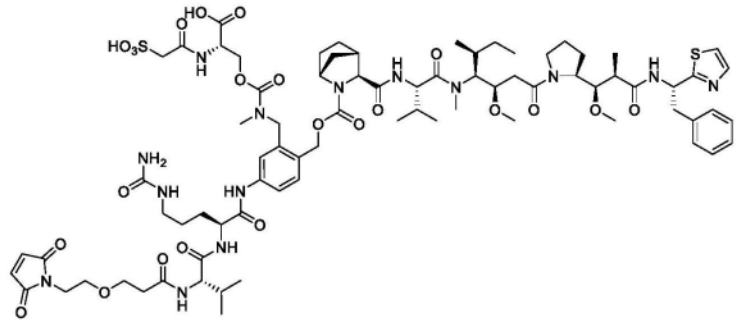
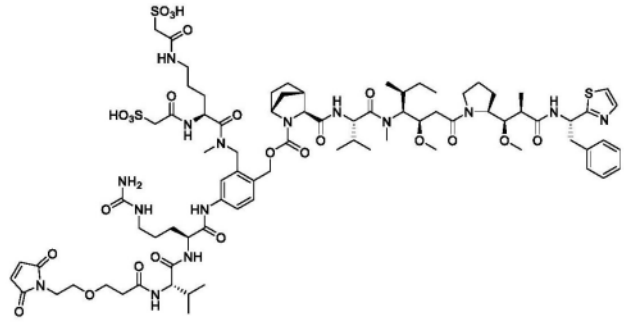
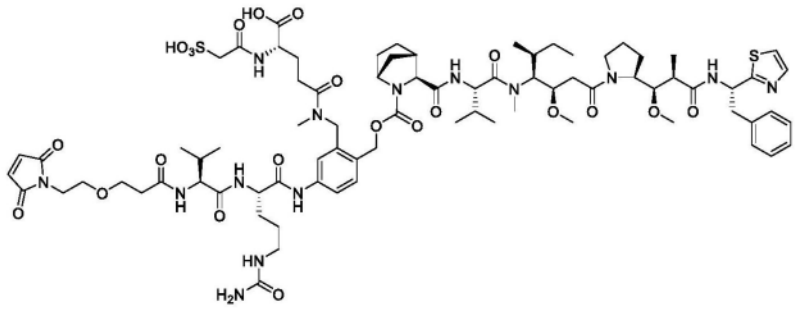
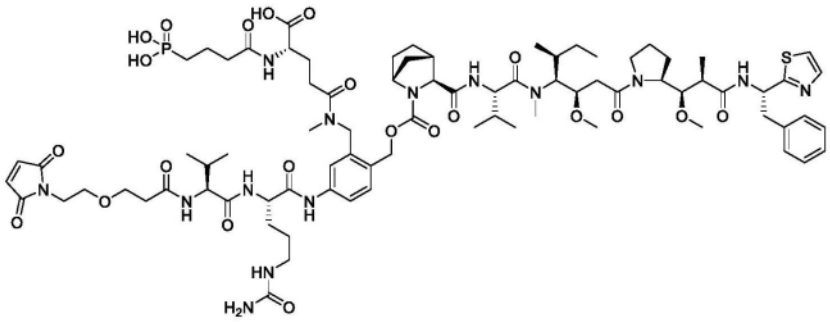
[1590]

L104-P1	
L105-P1	
L106-P1	
L107-P1	

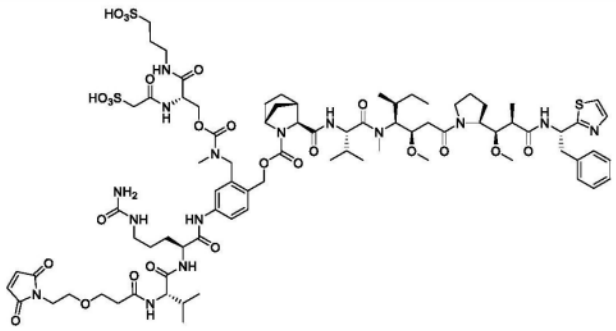
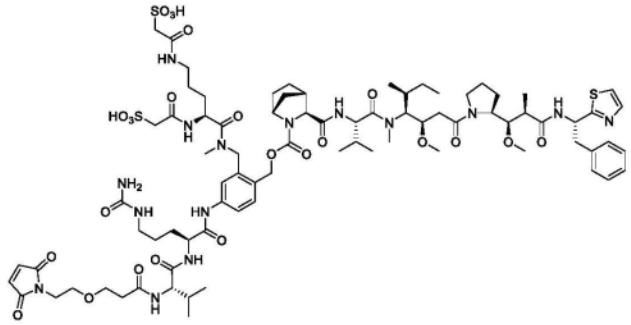
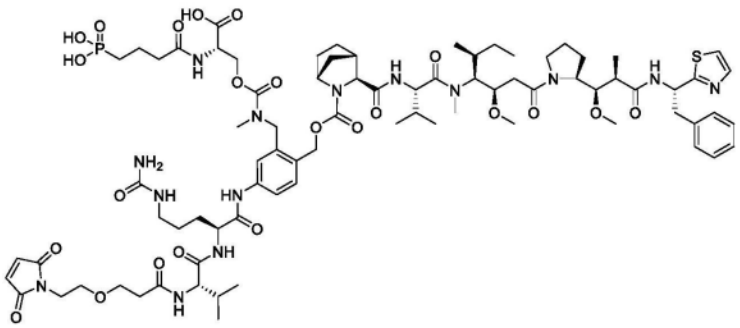
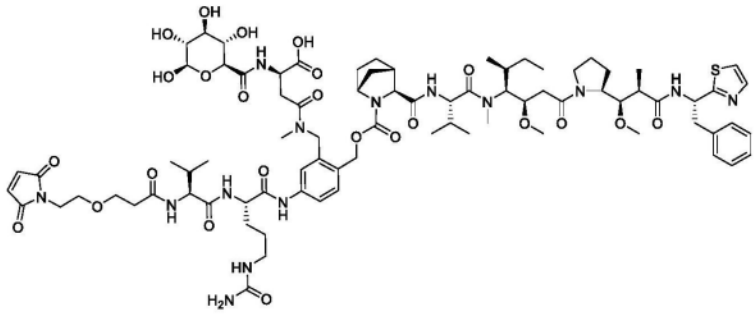
[1591]

L108-P1	
L109-P1	
L110-P1	
L111-P1	

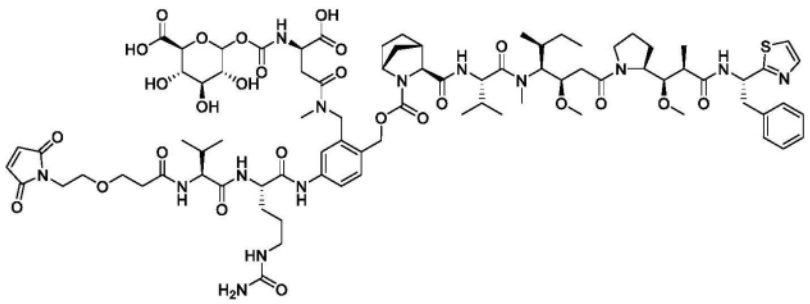
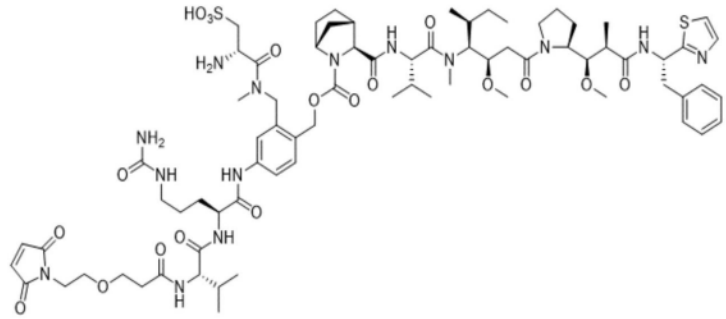
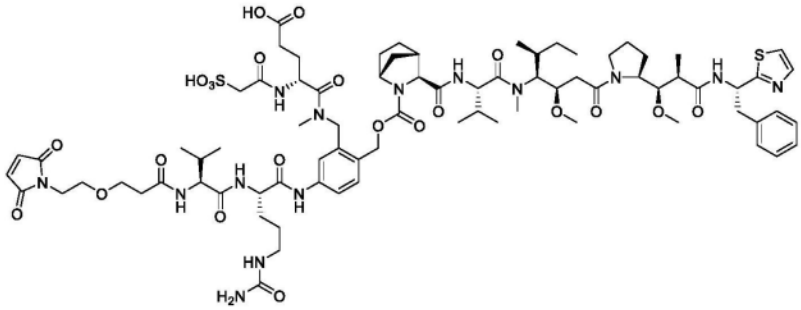
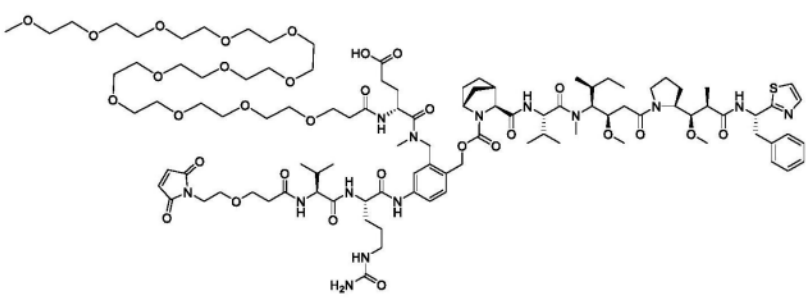
[1592]

L112-P1	
L113-P1	
L114-P1	
L115-P1	

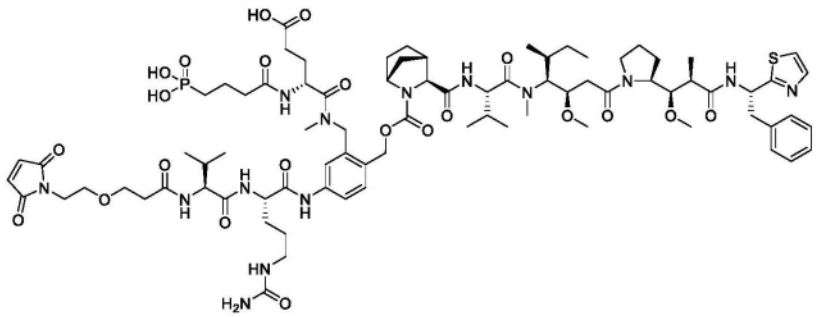
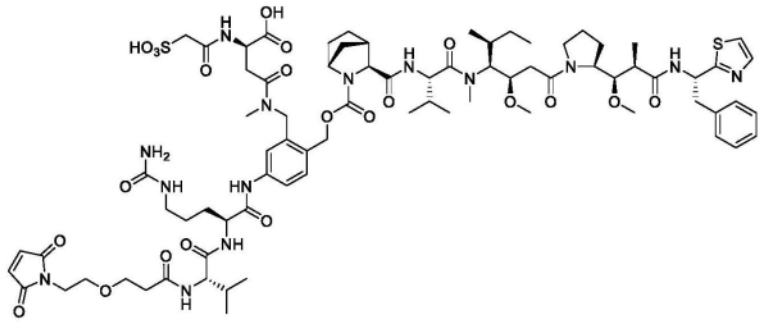
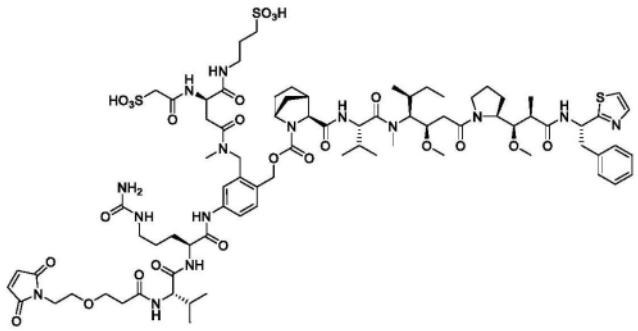
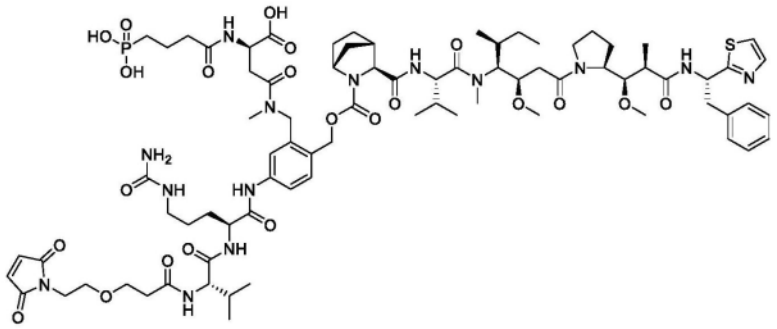
[1593]

L116-P1	
L117-P1	
L118-P1	
L119-P1	

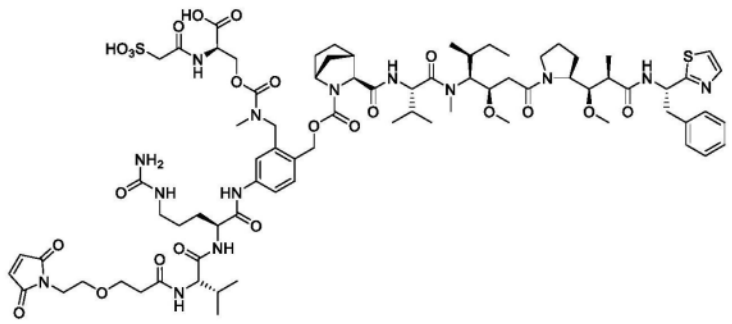
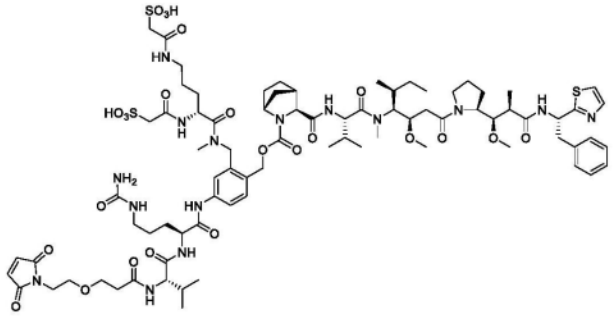
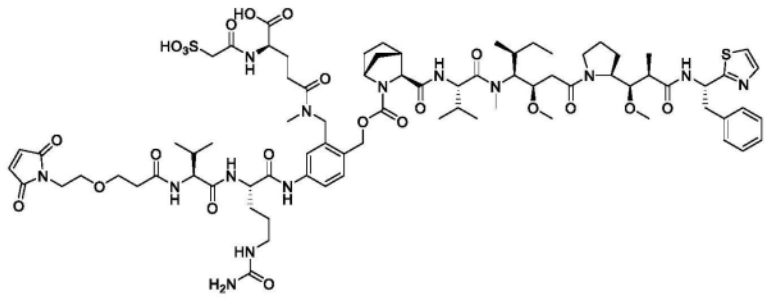
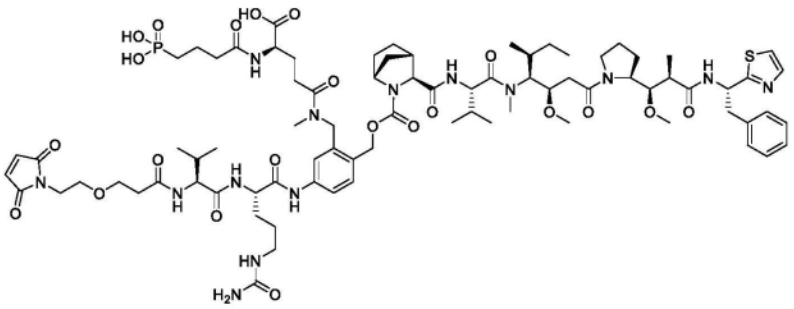
[1594]

L120-P1	
L121-P1	
L122-P1	
L123-P1	

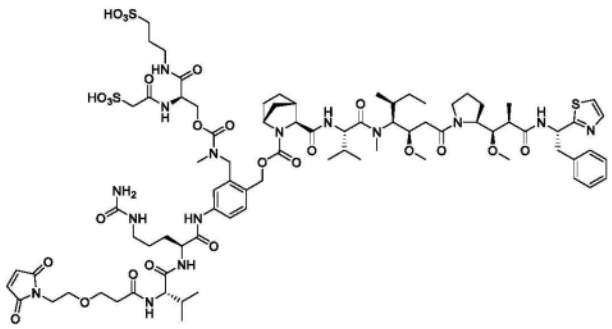
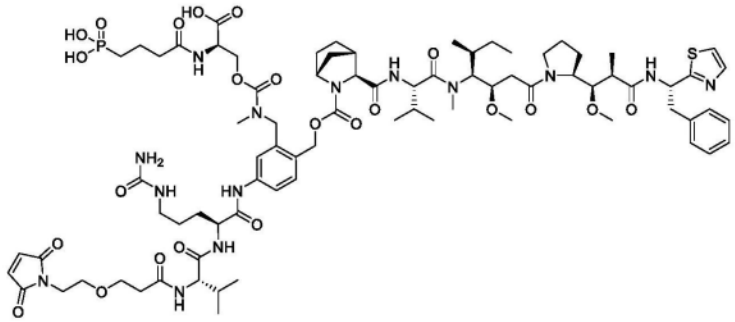
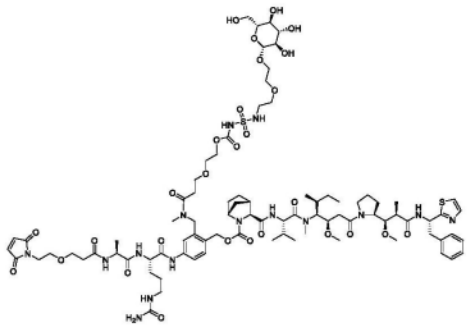
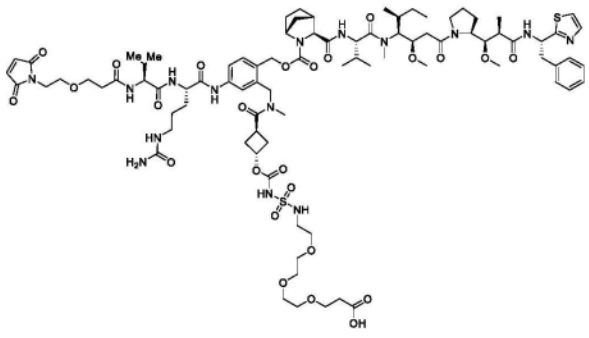
[1595]

L124-P1	
L125-P1	
L126-P1	
L127-P1	

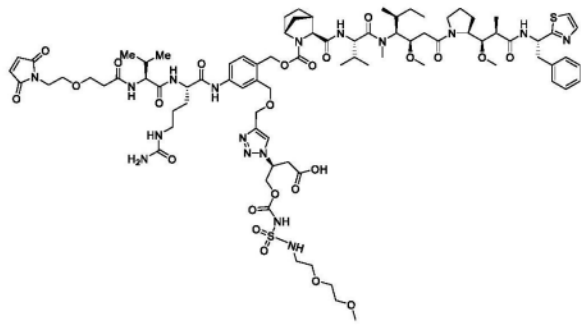
[1596]

L128-P1	
L129-P1	
L130-P1	
L131-P1	

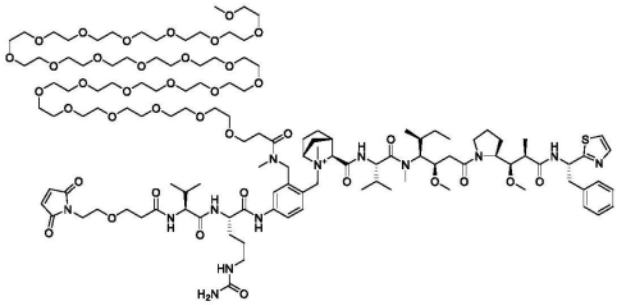
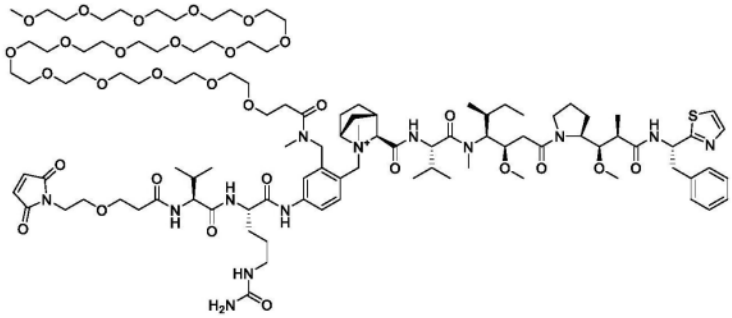
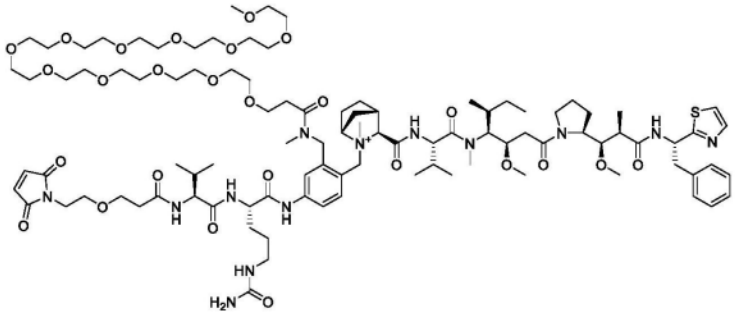
[1597]

L132-P1	
L133-P1	
L134-P1	
L135-P1	

[1598]

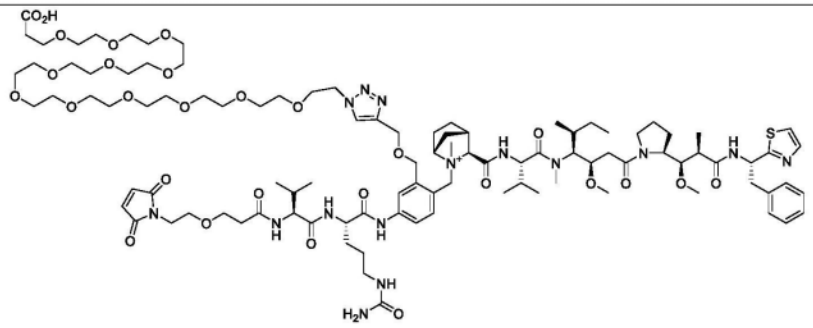
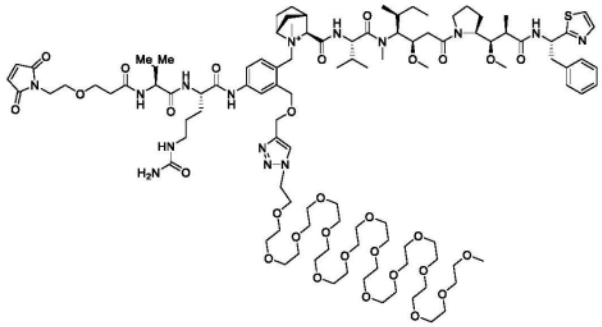
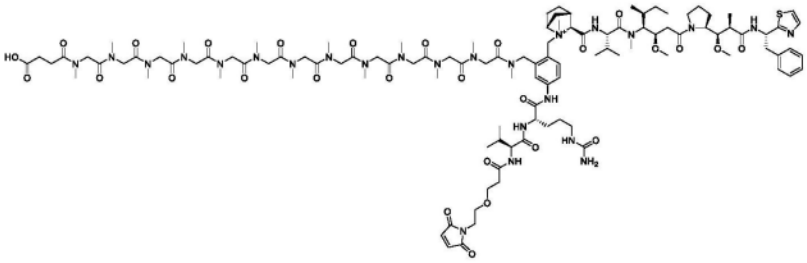
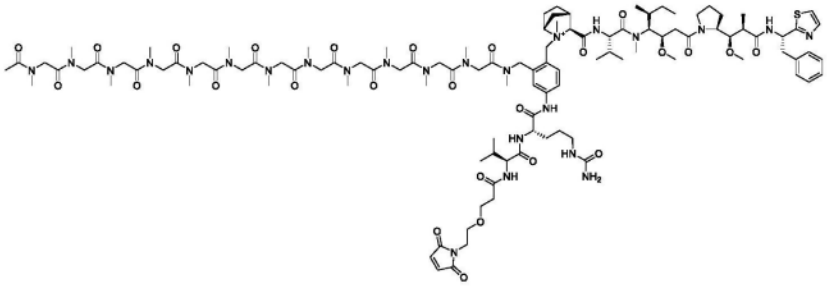
L136-P1	

[1599] 表4C

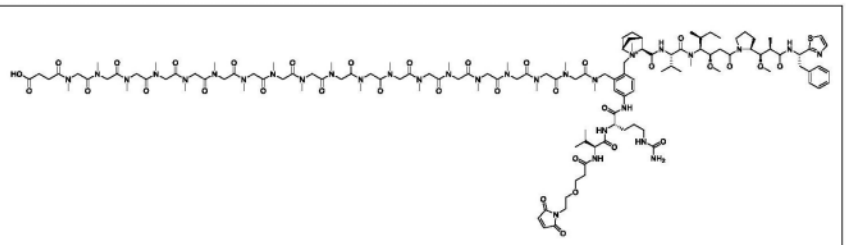
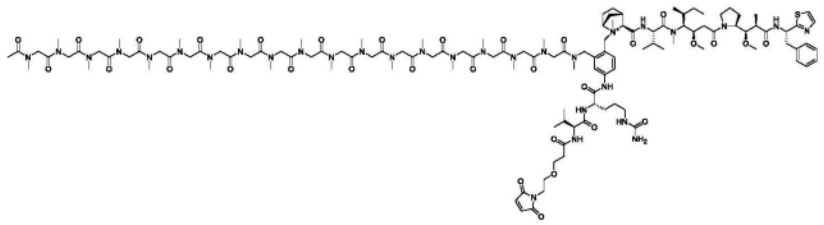
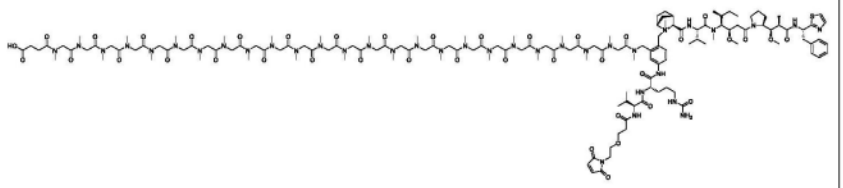
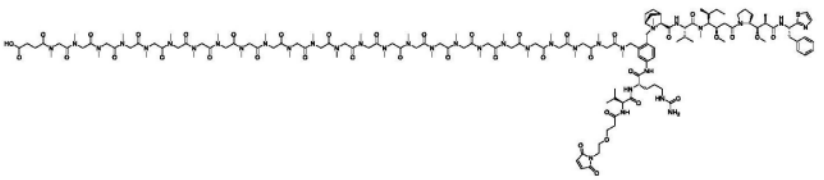
化合物编号	结构
L137-P2	
L138-P2	
L139-P2	

[1600]

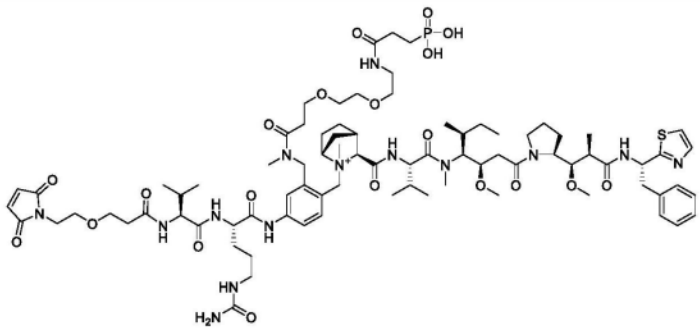
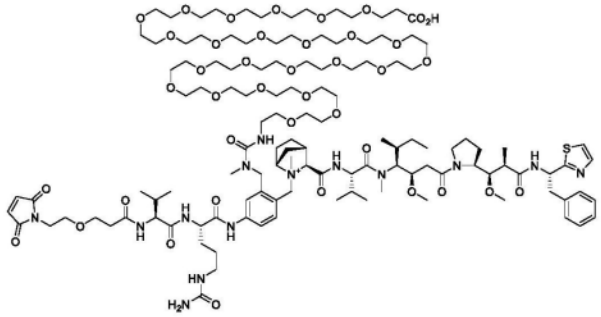
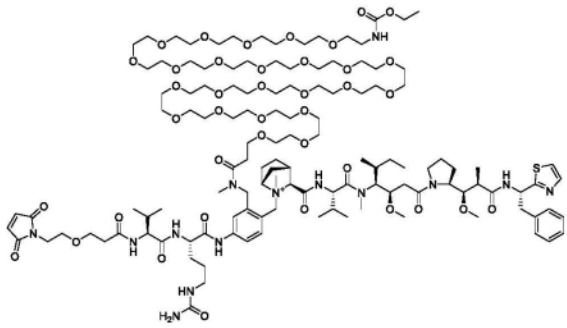
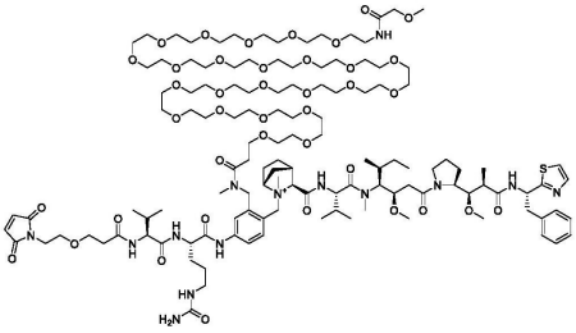
[1601]

L140-P2	
L141-P2	
L142-P2	
L143-P2	

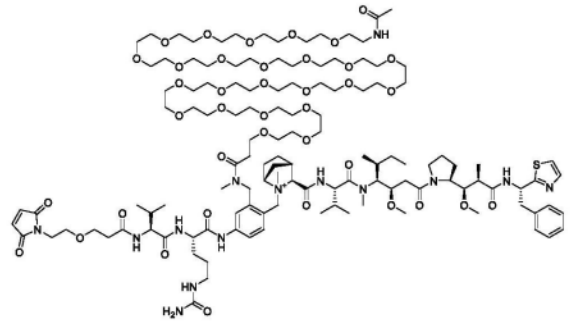
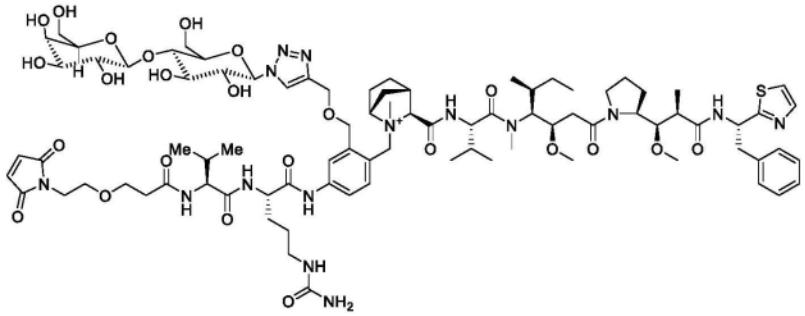
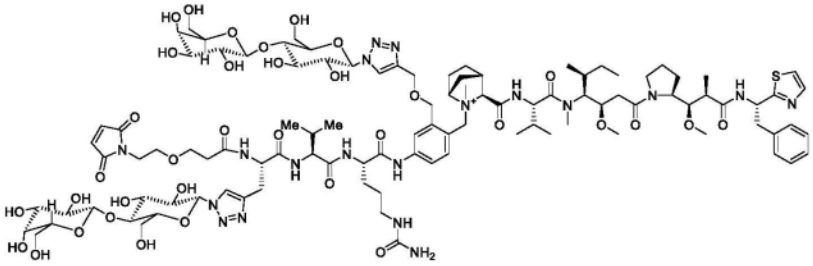
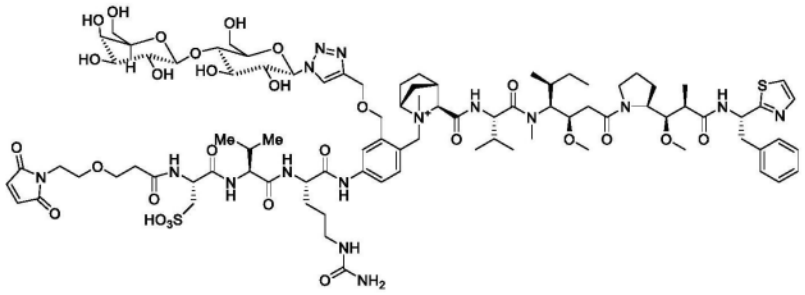
[1602]

L144-P2	
L145-P2	
L146-P2	
L147-P2	

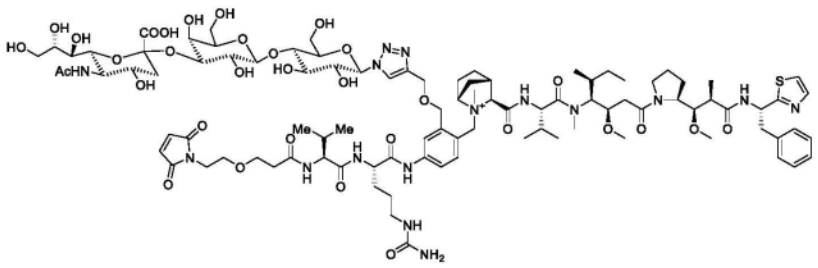
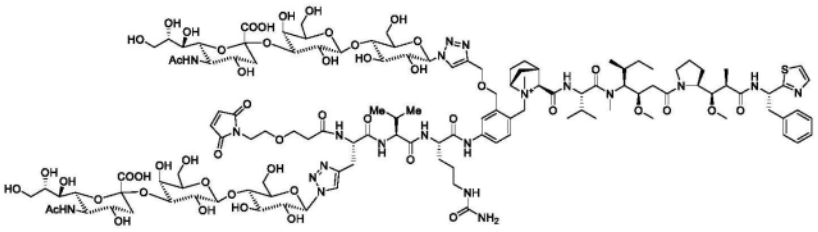
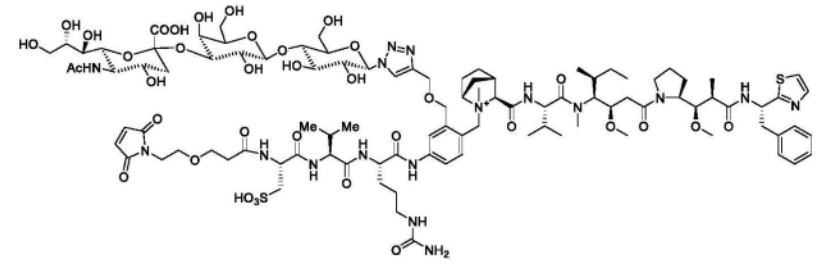
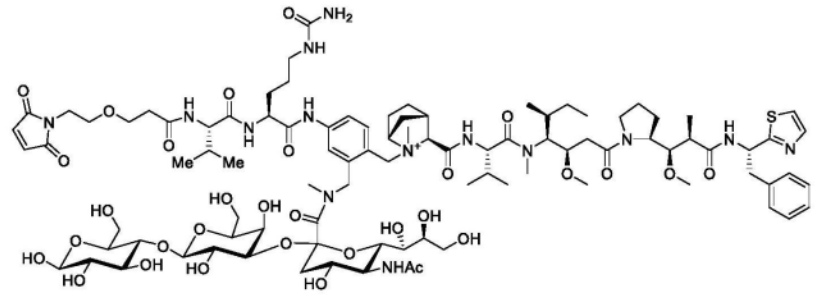
[1603]

L148-P2	
L149-P2	
L150-P2	
L151-P2	

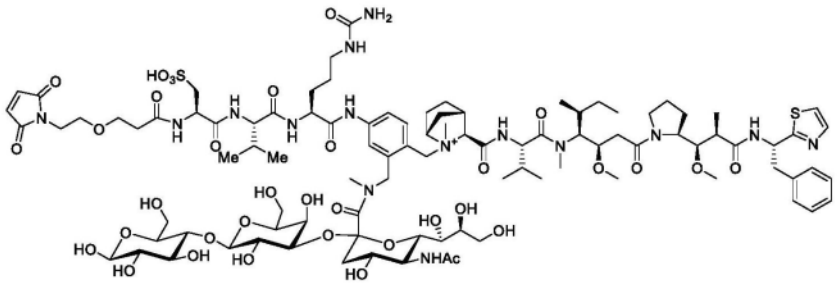
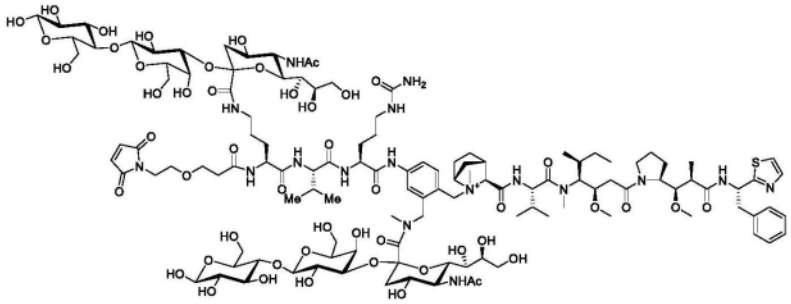
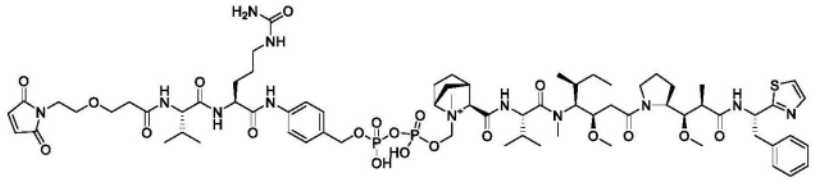
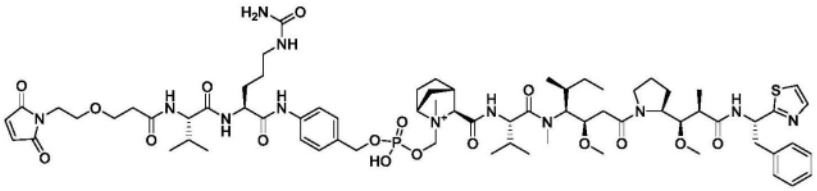
[1604]

L152-P2	
L153-P2	
L154-P2	
L155-P2	

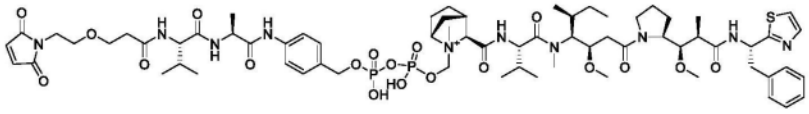
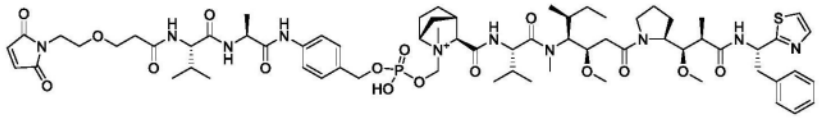
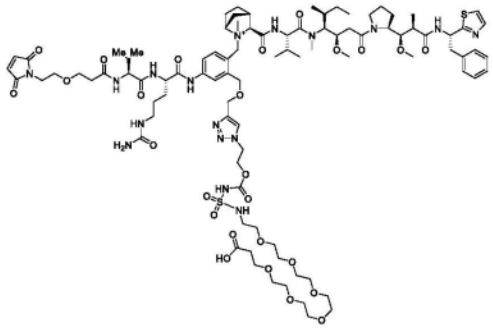
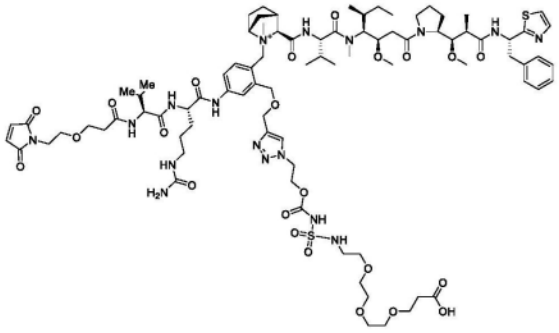
[1605]

L156-P2	
L157-P2	
L158-P2	
L159-P2	

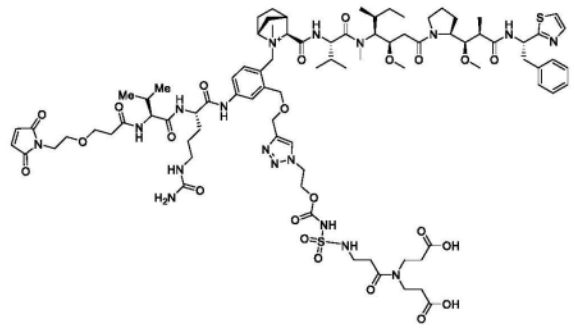
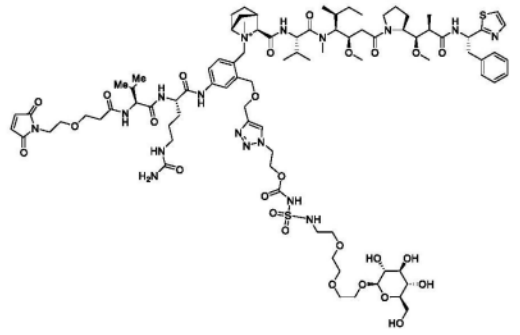
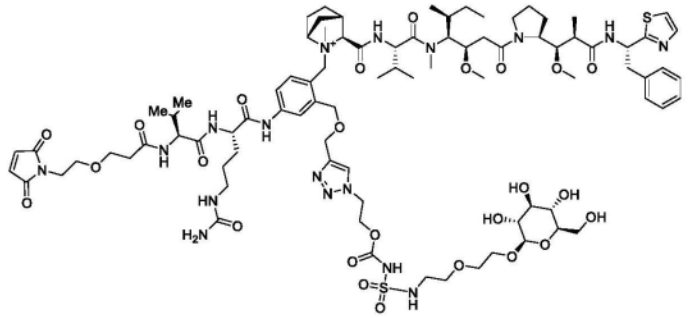
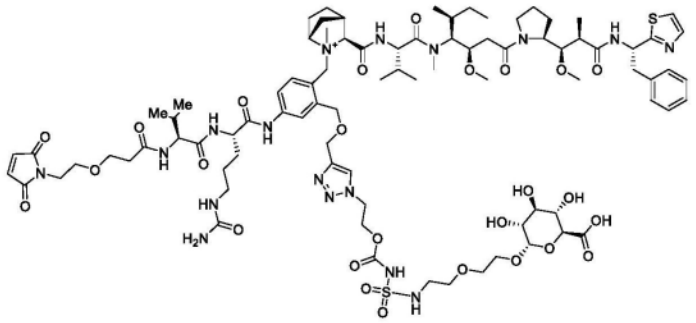
[1606]

L160-P2	
L161-P2	
L162-P2	
L163-P2	

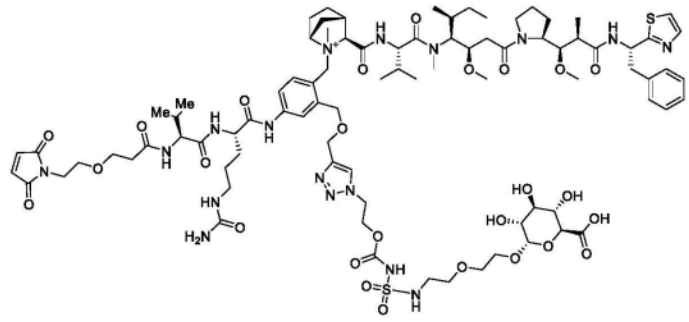
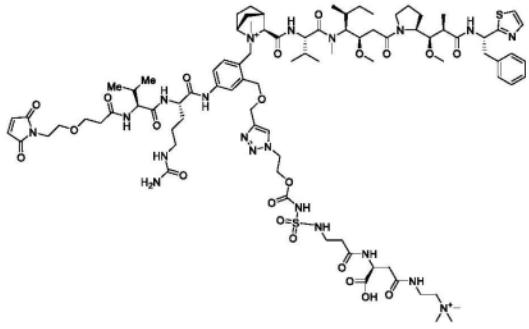
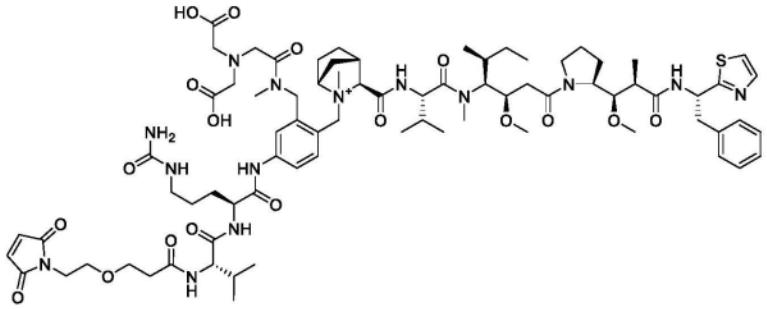
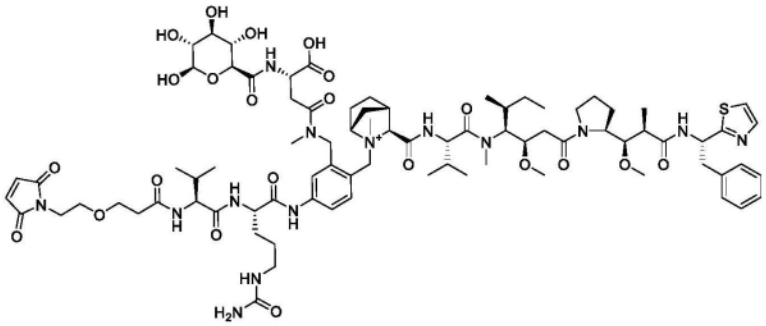
[1607]

L164-P2	
L165-P2	
L166-P2	
L167-P2	

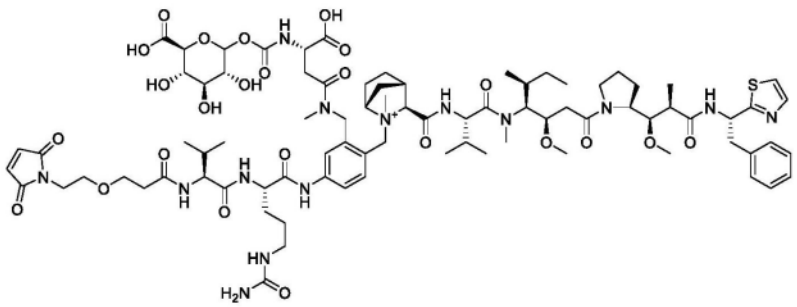
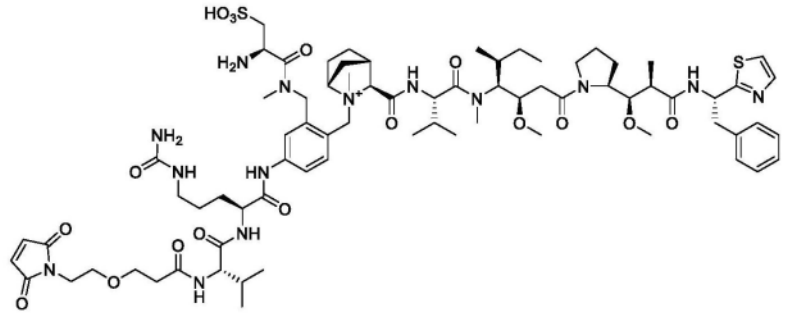
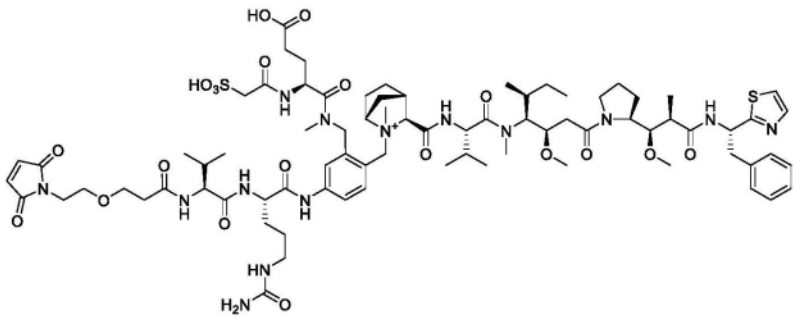
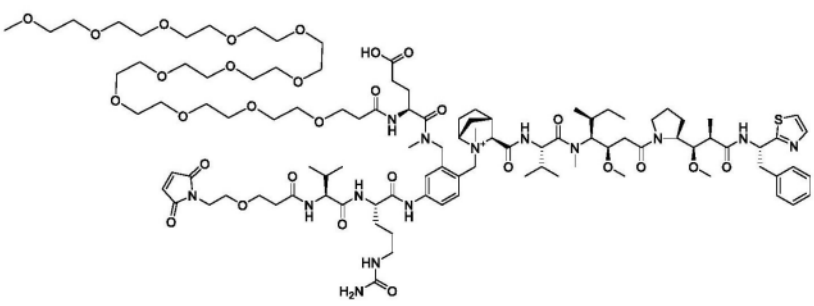
[1608]

L168-P2	
L169-P2	
L170-P2	
L171-P2	

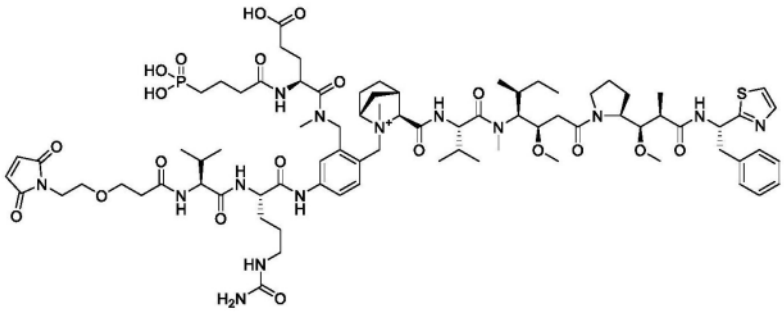
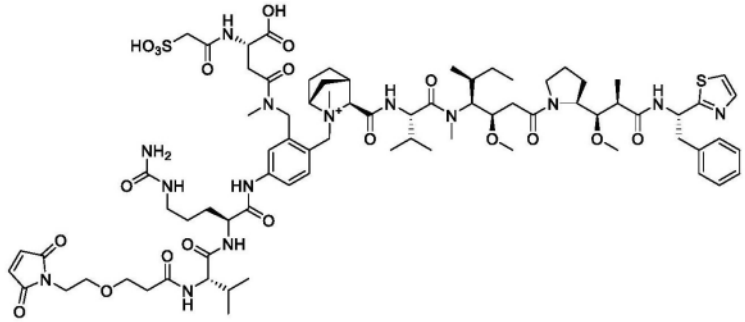
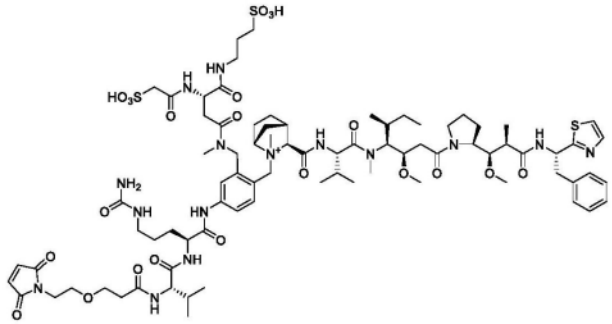
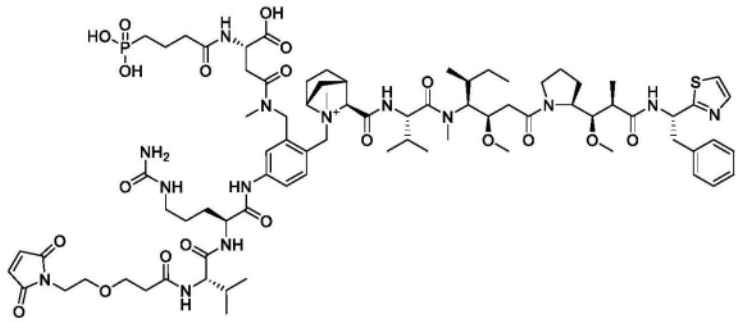
[1609]

L172-P2	
L173-P2	
L174-P2	
L175-P2	

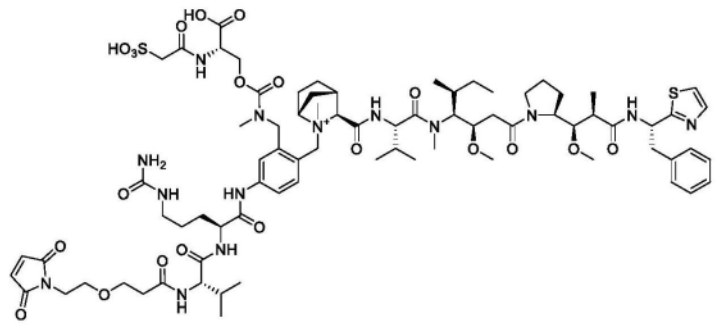
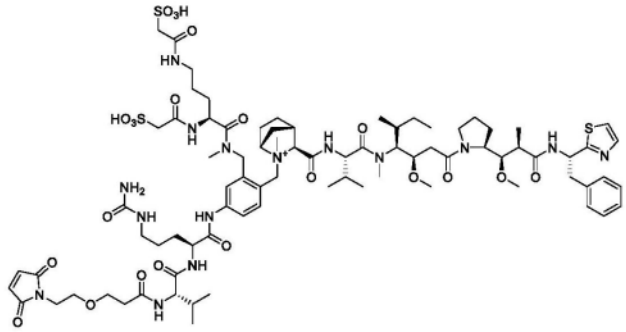
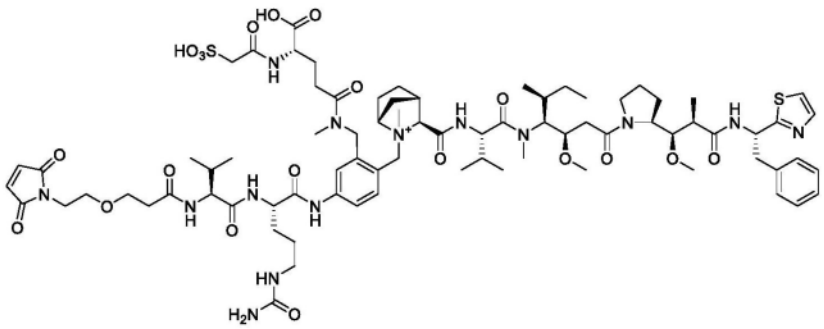
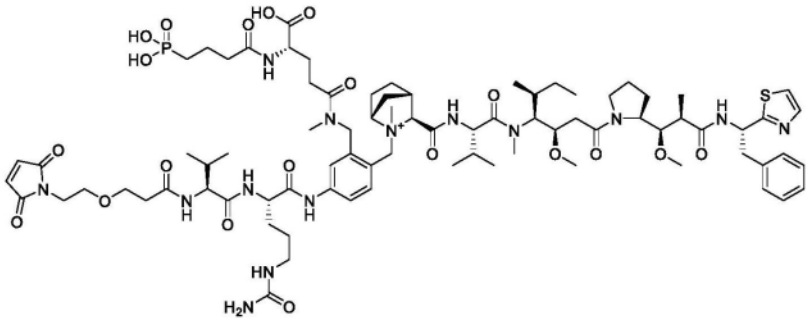
[1610]

L176-P2	
L177-P2	
L178-P2	
L179-P2	

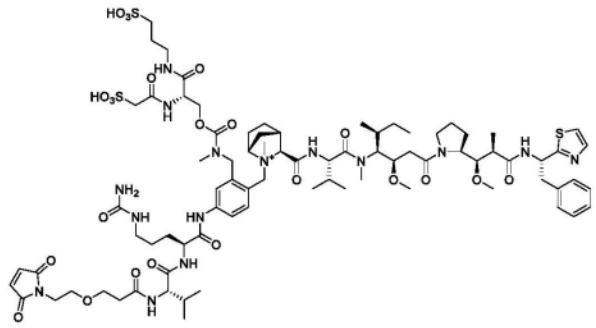
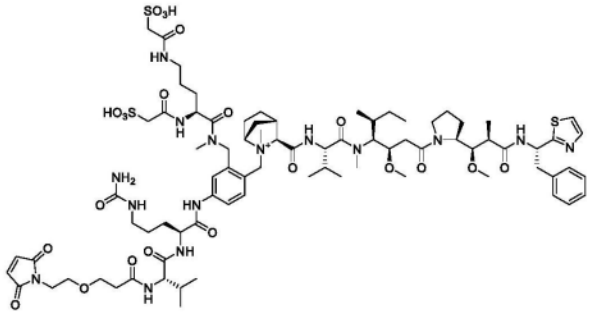
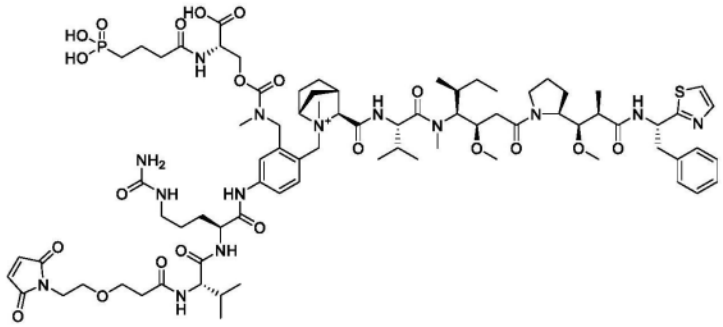
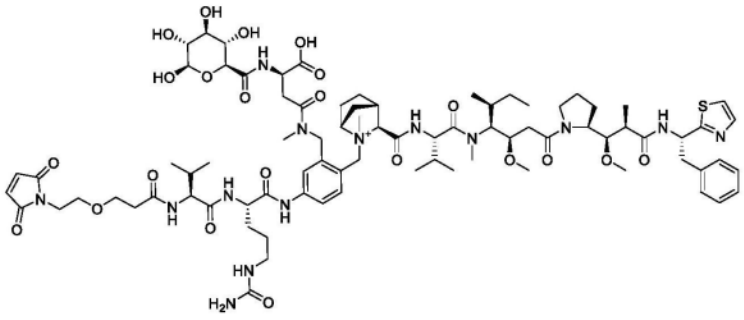
[1611]

L180-P2	
L181-P2	
L182-P2	
L183-P2	

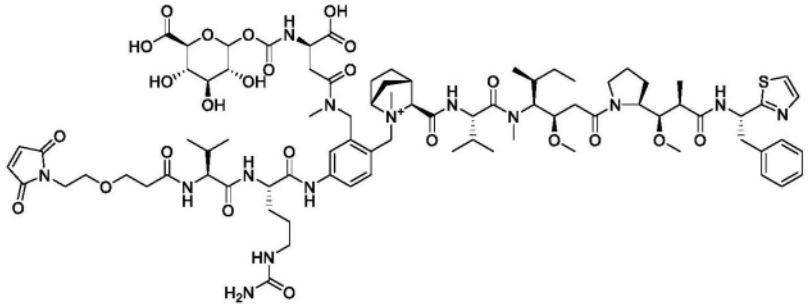
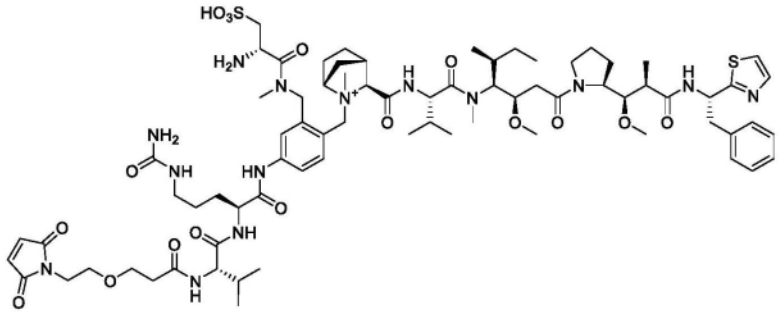
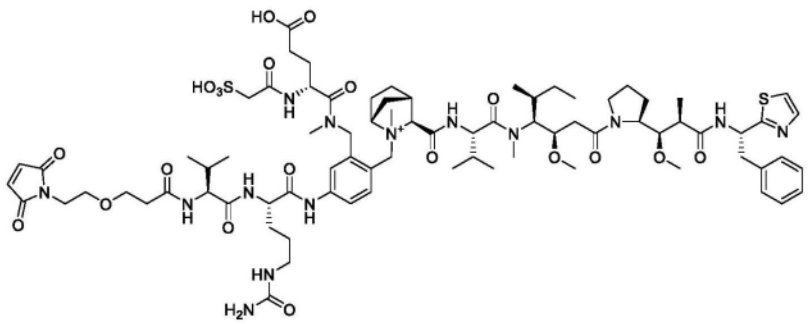
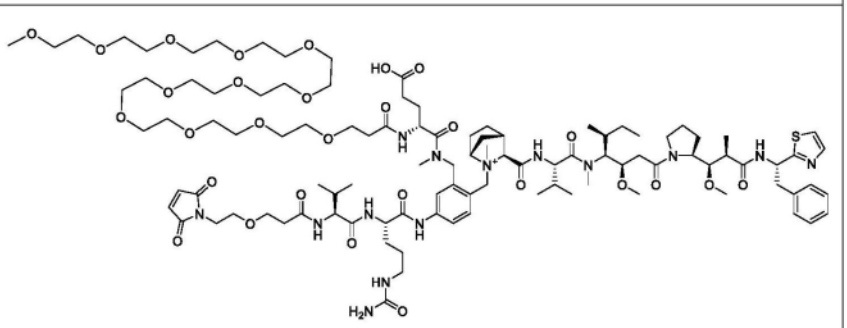
[1612]

L184-P2	
L185-P2	
L186-P2	
L187-P2	

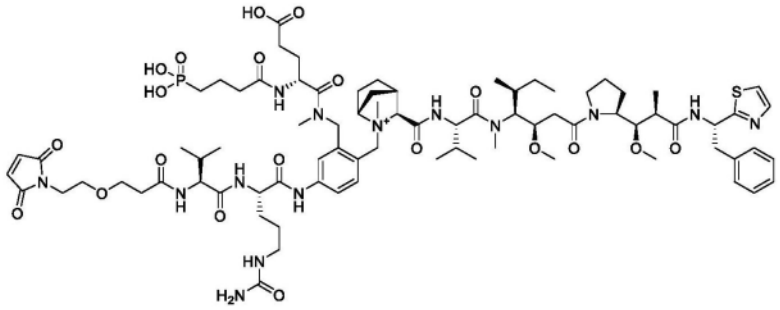
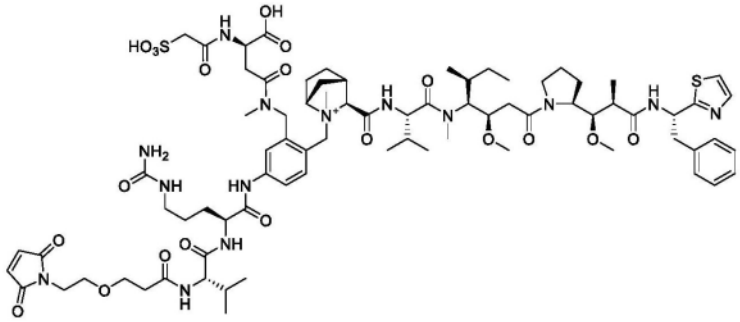
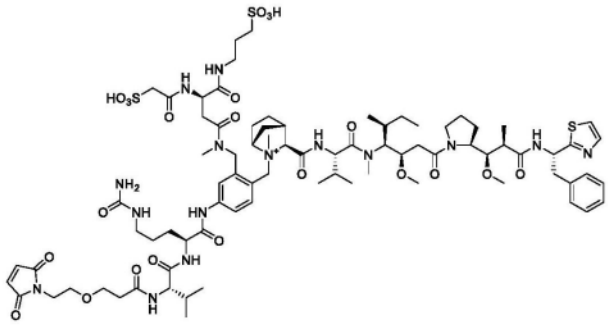
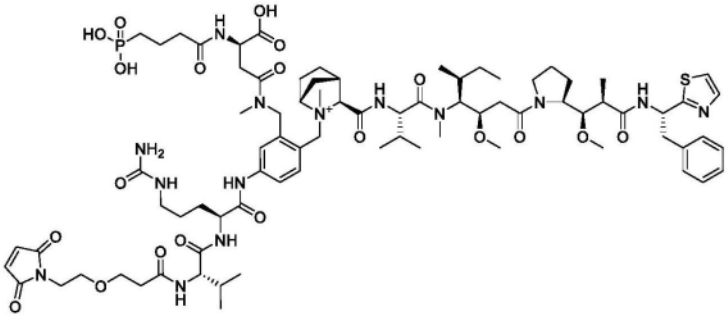
[1613]

L188-P2	
L189-P2	
L190-P2	
L191-P2	

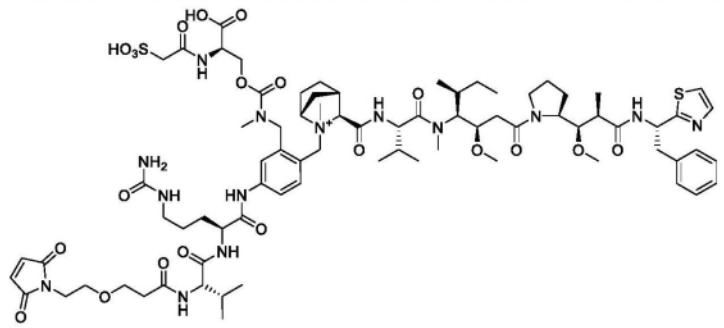
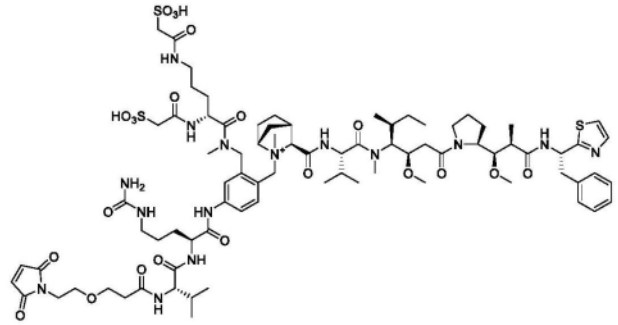
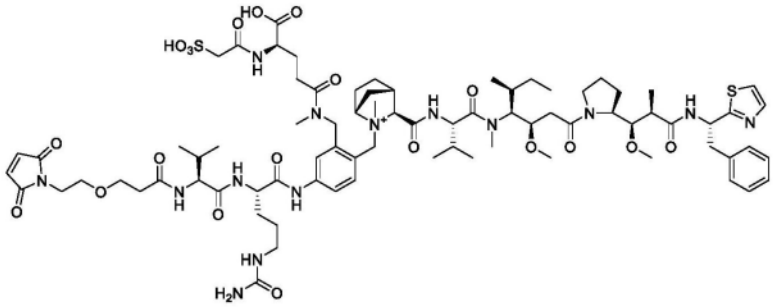
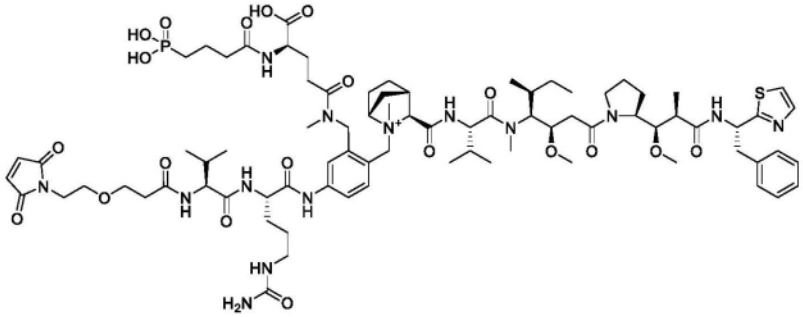
[1614]

L192-P2	
L193-P2	
L194-P2	
L195-P2	

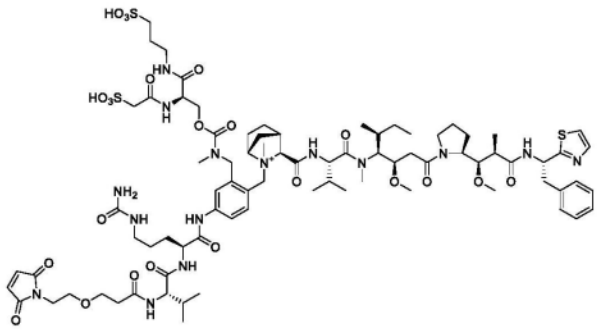
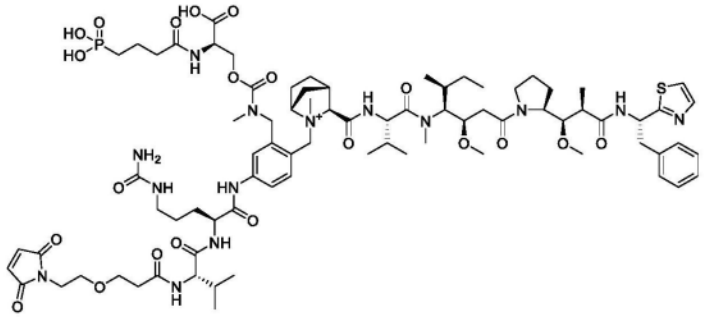
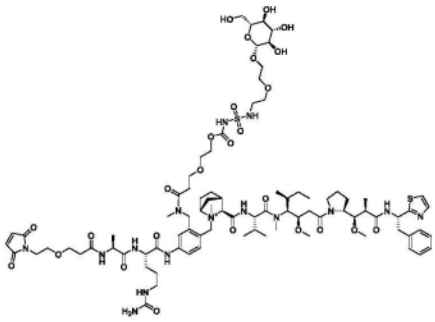
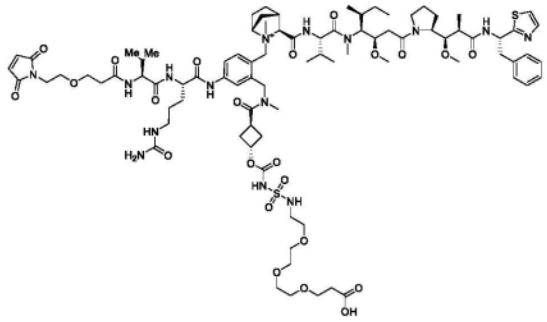
[1615]

L196-P2	
L197-P2	
L198-P2	
L199-P2	

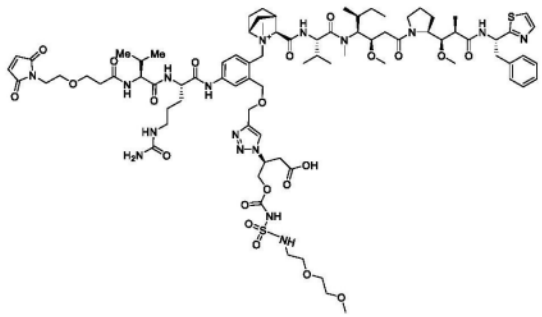
[1616]

L200-P2	
L201-P2	
L202-P2	
L203-P2	

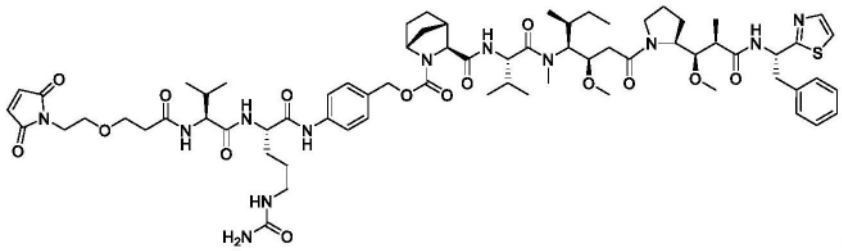
[1617]

L204-P2	
L205-P2	
L206-P2	
L207-P2	

[1618]

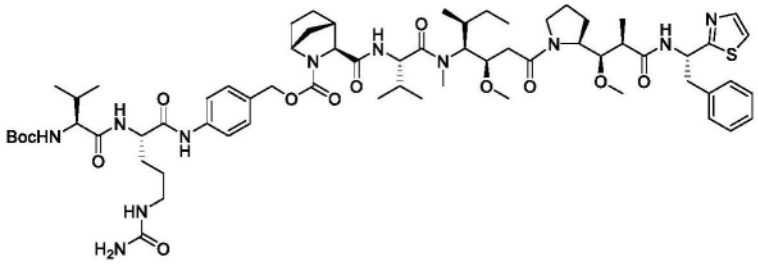
L208-P2	

[1619] 实例4:非聚乙二醇化接头-药物化合物的合成实例4-1:4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(1R,3S,4S)-3-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羧酸酯(L1-P1)的合成

[1620] 

(L1-P1)

[1621] 步骤1.4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(1R,3S,4S)-3-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羧酸酯的合成

[1622] 

[1623] 4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(1R,3S,4S)-3-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羧酸酯使用实例3-1步骤2所述的程序获得,但叔丁基((S)-3-甲基-1-(((S)-1-((4-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)-3-((丙-2-炔-1-基氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯用叔丁基((S)-3-甲基-1-(((S)-1-((4-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-1-

氧代丁-2-基)氨基甲酸酯(36mg,0.056mmol,1.0当量)替代。

[1624] 4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(1R,3S,4S)-3-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羧酸酯:(65mg,0.051mmol,91%)。LCMS:MH+=781.4(片段),Rt=2.55min(5min酸性法-方法C)。

[1625] 步骤2.4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(1R,3S,4S)-3-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羧酸酯(L1-P1)的合成

[1626] 4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(1R,3S,4S)-3-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羧酸酯(L1-P1)用实例3-1步骤4所述的程序获得,但2-(((1-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十五烷-25-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)甲基)-4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(1R,3S,4S)-3-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羧酸酯用4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(1R,3S,4S)-3-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羧酸酯(25.5mg,0.020mmol,1.0当量)替代。

[1627] 4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(1R,3S,4S)-3-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羧酸酯(L1-P1):(19mg,0.014mmol,68%)。HRMS:M+=1381.7100,Rt=2.52min(5min酸性法-方法D)。

[1628] 实例5:P-钙粘蛋白抗体药物缀合物的产生和表征

[1629] 实例5A:具有特定半胱氨酸(Cys)突变的P-钙粘蛋白抗体的制备

[1630] 具有位点特异性半胱氨酸突变的抗p-钙粘蛋白抗体的制备,特别是p-Cad mab2的制备,先前已在WO 2016/203432(作为NOV169N31Q)中进行了描述,其披露内容通过引用并入本文。

[1631] Cys突变型抗P-钙粘蛋白抗体还原、再氧化并且缀合至发明的接头-药物

[1632] 因为在哺乳动物细胞中表达的抗体中的工程化Cys残基在生物合成期间通过加合物(二硫化物)如谷胱甘肽(GSH)和/或半胱氨酸修饰(Chen等人2009),所以最初表达的经修饰的Cys对硫醇反应性试剂(如马来酰亚胺基或溴乙酰胺或碘乙酰胺基团)不起反应。为了缀合工程化的Cys残基,需要通过还原二硫化物去除谷胱甘肽或半胱氨酸加合物,这通常需要还原表达的抗体中的所有二硫化物。这可以通过首先将抗体暴露于还原剂(如二硫苏糖醇(DTT)),然后将抗体的所有天然二硫键再氧化以恢复和/或稳定功能性抗体结构来实现。因此,为了还原天然二硫键和一个或多个工程化Cys残基的半胱氨酸或GSH加合物之间的二硫键,将新鲜制备的DTT添加至先前纯化的Cys突变型抗体中,至最终浓度为10mM或20mM。在将抗体与DTT在37℃下孵育1小时后,将混合物用PBS透析三天,每天更换缓冲液以去除DTT。可替代地,可以通过凝胶过滤步骤去除DTT。去除DTT后,使抗体溶液再氧化以重新形成天然的二硫键。通过反相HPLC监测再氧化过程,所述反相HPLC能够将抗体四聚体与各个重链和轻链分子分离。在加热至80℃的PRLP-S 4000A柱(50mm×2.1mm,安捷伦(Agilent))上分析反应物,并且通过含有0.1%TFA的30%-60%乙腈的水溶液的线性梯度进行柱洗脱,流速为1.5ml/min。在280nm处监测来自柱的蛋白质的洗脱。使孵育继续直至再氧化完成。再氧化后,将含马来酰亚胺的化合物((L1-P1)、(L2-P1)、(L3-P1)、(L4-P1)或(L5-P1)或(L6-P1))以典型地为1:1、1.5:1、2.5:1、或5:1的与工程化Cys的摩尔比率添加至在PBS缓冲液(pH 7.2)中的再氧化抗体中,并且孵育5至60分钟或更长时间。典型地,通过标准方法在蛋白A树脂上纯化来去除过量的游离化合物,然后将缓冲液交换成PBS。

[1633] 可替代地,使用树脂上方法(on-resin method)将Cys突变型抗体还原并再氧化。将蛋白A琼脂糖珠(1ml/10mg抗体)在PBS(无钙或镁盐)中平衡,并且然后以分批模式添加至抗体样品中并孵育15-20分钟。将850mg半胱氨酸HCl溶解在10ml溶液(通过将3.4g NaOH添加至250ml 0.5M磷酸钠(pH 8.0)中来制备)中,制备0.5M半胱氨酸的贮液。然后将20mM半胱氨酸添加至抗体/珠浆液中,并在室温下轻轻混合持续30-60分钟。将珠加载到重力柱上并且在不到30分钟内用50个床体积的PBS洗涤,然后用重悬于一个床体积的PBS中的珠对柱封顶。为了调节再氧化速率,任选地添加50nM至1μM氯化铜。在去除25μL树脂浆液、添加1μL 20mM MC-valcit-MMAE、和将管搅拌数次的各个时间点监测再氧化进程。然后将树脂离心,去除上清液,并且然后用50μL抗体洗脱缓冲液(赛默公司(Thermo))洗脱,沉淀树脂,并使用安捷伦PLRP-S 4000A 5μm,4.6x50mm柱(缓冲液A为水、0.1%TFA,缓冲液B为乙腈、0.1%TFA,柱保持在80℃,流速1.5ml/min)通过反相色谱法分析上清液。一旦再氧化进行到所期望的完全性,可以通过添加相对于工程化半胱氨酸1-5摩尔当量的化合物((L1-P1)、(L2-P1)、(L3-P1)、(L4-P1)或(L5-P1)或(L6-P1))立即引发缀合,并且使混合物在室温下反应5-10分钟,然后用至少20个柱体积的PBS洗涤柱。用抗体洗脱缓冲液(赛默公司)洗脱抗体缀合物,并且用0.1体积0.5M磷酸钠pH 8.0中和,并且将缓冲液交换至PBS。

[1634] 可替代地,不是在树脂上引发与抗体的缀合,而是用至少20个柱体积的PBS洗涤柱,并且用IgG洗脱缓冲液洗脱抗体并用pH 8.0的缓冲液中和。然后将抗体用于缀合反应或快速冷冻以备将来使用。

[1635] 实例5B:(P-Cad mab2-L1-P1)向P-Cad mab2抗体溶液(4.0mg,800μL 5.0mg/mL的在1xPBS缓冲液中的溶液,0.027μmol,1.0当量)中添加L1-P1(10.76μL的20mM在DMSO中的溶液,0.215μmol,8.0当量)。将所得混合物在环境温度下以400rpm振荡1小时,此时通过超速

离心(4mL Amicon 10kD截留膜过滤器,用PBS缓冲液将样品稀释至4mL总体积,然后以7500xg离心10分钟,重复6次)纯化混合物。稀释至5.0mg/mL后,获得了缀合物P-Cad mab2-L1-P1(4.08mg,0.027μmol,99%)。HRMS数据(蛋白方法)指示质量为154192,其中通过比较DAR3和DAR4种类的峰的MS强度计算的DAR为3.8。如通过比较210和280nm处的高分子量峰值吸光度面积与单体ADC的峰值吸光度面积确定的,尺寸排阻色谱法(SEC)指示<1%的聚集。

[1636] 实例5C:(P-Cad mab2-L4-P1):按照实例5B所述的程序,使用P-Cad mab2抗体(2.5mg,500μL的5.0mg/mL溶液,0.017μmol,1.0当量)和L4-P1(13.45μL的在DMSO中的10mM溶液,0.135μmol,8.0当量),获得了缀合物P-Cad mab2-L4-P1(2.64mg,0.017μmol,99%)。HRMS数据(蛋白法)指示质量为156104,其中DAR为3.9。SEC指示<1%的聚集。

[1637] 实例5D:(P-Cad mab2-L2-P1):按照实例5B所述的程序,使用P-Cad mab2抗体(2.0mg,400μL的5.0mg/mL溶液,0.027μmol,1.0当量)和L2-P1(5.38μL的在DMSO中的20mM溶液,0.108μmol,8.0当量),获得了缀合物P-Cad mab2-L2-P1(2.01mg,0.013μmol,96%)。HRMS数据(蛋白法)指示质量为156333,其中DAR为3.9。SEC指示<1%的聚集。

[1638] 实例5E:(P-Cad mab2-L3-P1):按照实例5B所述的程序,使用P-Cad mab2抗体(2.5mg,500μL的5.0mg/mL溶液,0.017μmol,1.0当量)和L3-P1(5.89μL的在DMSO中的20mM溶液,0.118μmol,7.0当量),获得了缀合物P-Cad mab2-L3-P1(2.15mg,0.014μmol,81%)。HRMS数据(蛋白法)指示质量为158065,其中DAR为4.0。SEC指示1%的聚集。

[1639] 实例5F:(P-Cad mab2-L5-P1):按照实例5B所述的程序,使用P-Cad mab2抗体(2.5mg,500μL的5.0mg/mL溶液,0.017μmol,1.0当量)和L5-P1(5.89μL的在DMSO中的20mM溶液,0.118μmol,7.0当量),获得了缀合物P-Cad mab2-L5-P1(2.31mg,0.015μmol,88%)。HRMS数据(蛋白法)指示质量为156446,其中DAR为3.7。SEC指示1%的聚集。

[1640] 实例5G:(P-Cad mab2-L6-P1):按照实例5B所述的程序,使用P-Cad mab2抗体(2.5mg,500μL的5.0mg/mL溶液,0.017μmol,1.0当量)和L6-P1(13.44μL的在DMSO中的10mM溶液,0.134μmol,8.0当量),获得了缀合物P-Cad mab2-L6-P1(2.28mg,0.015μmol,86%)。HRMS数据(蛋白法)指示质量为158100,其中DAR为3.8。SEC指示<1%的聚集。

[1641] 实例6:抗P-钙粘蛋白ADC的体外评价

[1642] 细胞系

[1643] 针对四个内源性癌细胞系和一个经工程化以过表达目的靶标的等基因细胞系,测试了抗体药物缀合物。FaDu(在伊格尔氏(Eagle)最低必需培养基+10%FBS中培养的ATCC号HTB-43)、HCC70(在RPMI-1640+10%FBS中培养的ATCC号CRL-2315)、HCC1954(在RPMI-1640+10%FBS中培养的ATCC号CRL-2338)和HT-29(在McCoy氏5a改良培养基+10%FBS中培养的ATCC号HTB-38)。HT-29细胞系经转染生成表达目的外源性蛋白P-钙粘蛋白的稳定的HT-29细胞系HT-29PCAD+(在McCoy氏5a改良培养基+10%FBS中培养)。

[1644] 细胞增殖和存活的抑制

[1645] 使用普洛麦格公司(Promega)的CellTiter-Glo®增殖测定评估P-钙粘蛋白接头变体型抗体药物缀合物抑制细胞增殖和存活的能力。

[1646] 将细胞系在组织培养箱中在5%CO_2、37℃下在对其生长最佳的培养基中培养。在用于增殖测定的接种之前,在测定前至少2天分开细胞,以确保最佳生长密度。接种当天,使用0.25%胰蛋白酶从组织培养瓶中提出细胞。使用细胞计数器(Vi-Cell XR细胞活力分析

仪,贝克曼库尔特公司(Beckman Coulter))确定细胞活力和细胞密度。将活力高于85%的细胞接种在白色透明底部的384孔TC处理板(康宁公司(Corning)目录号3765)中。将HT-29细胞和HT-29PCAD+细胞以500个细胞/孔的密度接种在45μL的标准生长培养基中。将FaDu、HCC70和HCC1954细胞以1,500个细胞/孔的密度接种于45μL的标准生长培养基中。将板在组织培养箱中于5%CO_2、37℃孵育过夜。第二天,在标准生长培养基中以10X制备游离MMAE(一甲基澳瑞他汀E)、靶向P-钙粘蛋白的ADC和非靶向同种型ADC。然后将制备的药物处理物添加到细胞中,得到0.0076-150nM的最终浓度和50μL/孔的最终体积。每个药物浓度一式四份地进行测试。将板在组织培养箱中在5%CO_2、37℃下孵育5天,之后通过添加25μL的CellTiter Glo®(普洛麦格公司(Promega),目录号G7573)(一种裂解细胞并测量三磷酸腺苷(ATP)总含量的试剂)来评估细胞活力。将板在室温下孵育10分钟以稳定发光信号,然后使用发光读取器(EnVision多标记板读取器,珀金埃尔默公司(PerkinElmer))读数。为了评价药物处理的效果,使用来自含有未处理细胞(100%活力)的孔的发光计数对处理样品进行归一化。使用可变斜率模型以使非线性回归曲线与GraphPad PRISM版本7.02软件中数据相拟合。从所得曲线推算IC50和Amax值。

[1647] 五种代表性癌细胞系的剂量应答曲线示出在图1中。用表5中总结的所测试细胞系的代表性IC_{50}值计算抑制50%细胞生长或存活(IC_{50})所需的处理浓度。

[1648] 表5:在一组人癌细胞系中的抗体药物缀合物活性。在一组细胞系中,与游离美登素和同种型对照ADC相比的靶向P-钙粘蛋白的ADC的IC50(nM)值。此处报告的值是来自单个测定的值,这些测定代表多个重复。

[1649]

细胞系	HT-29		HT-29 PCAD+		FaDu		HCC-70		HCC-1954	
分析	IC50 (nM)	Amax	IC50 (nM)	Amax	IC50 (nM)	Amax	IC50 (nM)	Amax	IC50 (nM)	Amax
PCAD-mab2-L1-P1	--	--	0.077	90.03	--	--	0.237	65.09	1.598	74.97
PCAD-mab2-L2-P1	--	--	0.098	83.91	--	--	0.336	51.05	2.313	72.21
PCAD-mab2-L3-P1	78.660	93.55	0.083	86.77	32.900	68.04	1.352	105.30	3.733	85.02
PCAD-mab2-L4-P1	--	--	0.117	86.16	--	--	0.467	57.16	2.581	69.95
PCAD-mab2-L5-P1	--	--	0.075	91.61	--	--	0.320	65.88	1.879	75.72
PCAD-mab2-L6-P1	0.030	3.64	0.069	101.60	--	--	0.209	80.22	2.626	87.77
PCAD-mab2-L7-P2	--	--	--	--	8.923	104.90	0.004	170.80	0.048	83.98
IgG-L1-P1	--	--	--	--	0.013	0.30	--	--	3.739	6.43

[1650]

IgG-L2-P1	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
IgG-L3-P1	--	--	62.87	86.12	76.500	90.57	43.930	72.36	69.250	80.62
IgG-L4-P1	--	--	--	--	7.398	1.38	--	--	0.108	7.17
IgG-L5-P1	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
IgG-L6-P1	4.274	2.66	--	--	--	--	--	--	80.760	17.80
IgG-L7-P2	--	--	105.00	72.83	--	--	27.920	89.52	--	--
Free MMAE	0.012	102.30	--	--	0.032	108.80	0.022	49.22	0.056	65.26

[1651] 半胱天冬酶-3/7活性的诱导

[1652] 除了对增殖的影响外,还评价了具有接头变体的靶向P-钙粘蛋白的ADC诱导半胱天冬酶-3/7活性的能力。

[1653] 将细胞系HCC1954在组织培养箱中在5%CO_2、37℃下在对生长最佳的培养基中培养。在用于测定的接种之前,在测定前至少2天分开细胞以确保最佳生长密度。接种当天,使

用0.25％胰蛋白酶从组织培养瓶中提出细胞。使用细胞计数器(Vi-Cell XR细胞活力分析仪,贝克曼库尔特公司(Beckman Coulter))确定细胞活力和细胞密度。将活力高于85％的细胞在20μL的标准生长培养基中以3,000个细胞/孔的密度接种在白色透明底的384孔TC处理板(康宁公司(Corning)目录号3765)中。将板在组织培养箱中于5％CO_2、37℃孵育过夜。第二天,在标准生长培养基中以5X制备游离MMAE(一甲基澳瑞他汀E)、靶向P-钙粘蛋白的ADC和非靶向同种型ADC。然后将制备的药物处理物添加到细胞中,得到0.0076-300nM的最终浓度和25μL/孔的最终体积。每个药物浓度一式四份地进行测试。将板在组织培养箱中在5％CO_2、37℃下孵育24和48小时,之后通过添加25μL的Caspase-Glo®3/7(普洛麦格公司(Promega),目录号G8093)(一种裂解细胞并在半胱天冬酶裂解发光半胱天冬酶-3/7底物后生成发光信号的试剂)来评估半胱天冬酶-3/7的活性。将板在室温下、在黑暗中、在定轨振荡器上以提供足够混合的速度孵育5分钟以诱导细胞裂解。然后将板在室温下孵育30分钟以稳定发光信号,然后使用发光读取器(EnVision多标记板读取器,珀金埃尔默仪器有限公司(PerkinElmer))读数。为了评价药物处理的效果,使用来自含有未处理细胞(100％活力)的孔的发光计数对处理样品进行归一化。使用可变斜率模型以使非线性回归曲线与GraphPad PRISM版本7.02软件中数据相拟合。

[1654] HCC1954的剂量应答曲线示出在图2中。

[1655] 实例7:抗P-钙粘蛋白ADC对小鼠HCC70三阴性乳腺癌(TNBC)模型的体内功效

[1656] 由于上述体外研究已经示出了抗PCAD-ADC对HCC70细胞系中的细胞生长存在靶标依赖性和强效抑制,因此在这种TNBC模型中评价了这些ADC的体内抗肿瘤活性。

[1657] 方法

[1658] 将HCC70细胞在RPMI1640(生物概念有限公司(BioConcept Ltd.),Amimed)中在37℃、5％ CO_2的空气氛围中培养,所述RPMI1640补充有10％ FCS(生物概念有限公司(BioConcept Ltd.),Amimed,#2-01F30)、2mM L-谷氨酰胺(生物概念有限公司(BioConcept Ltd.),Amimed,#5-10K00-H)、1mM丙酮酸钠(生物概念有限公司(BioConcept Ltd.),Amimed,#5-60F00-H)、10mM HEPES(Gibco公司,#11560496)和14mM D-葡萄糖(生物技术公司(Life Technologies),#A2494001)。为了建立HCC70异种移植物,收获细胞并在HBSS(Gibco公司,#14175)中重悬,与基质胶(Matrigel)(BD生物科学公司(BD Bioscience),#354234)(1:1v/v)混合,然后向雌性SCID米色小鼠(查尔斯河实验室(Charles River),德国)的乳腺脂肪垫附近皮下注射100μL(含1×10^7个细胞)。细胞接种后定期监测肿瘤生长,并将动物随机分配至治疗组(n＝6),平均肿瘤体积为约200mm^3。对照组不进行治疗,并且其余组通过单次静脉内(iv)施用剂量为5mg/kg的同种型ADC或抗PCAD-ADC进行治疗。选择5mg/kg剂量,因为预期所述剂量提供辨别此模型中ADC候选物之间的差异的窗口。将剂量针对个体小鼠体重进行调整。iv剂量体积为10ml/kg,并且将每种ADC溶解在0.9％(w/v)NaCl的水溶液中。

[1659] 使用GraphPad Prism 7.00(GraphPad软件)对治疗后第20天的肿瘤体积数据进行统计分析。如果肿瘤体积是在第20天的任一侧的日子测量的,则将肿瘤体积推算至第20天。若数据中的方差呈正态分布,则使用单因素方差分析来分析数据,用事后邓尼特检验来进行治疗组与未治疗对照组的比较。对于同种型对照组相对于相应ADC治疗组的肿瘤体积的比较,当数据呈正态分布时采用t检验,或当数据呈非正态分布时采用Mann Whitney检验。

适用时,结果呈现为平均值±SEM。

[1660] 作为功效的量度,在实验结束时根据下式计算%T/C值:

[1661] (Δ肿瘤体积^{治疗的}/Δ肿瘤体积^{对照})*100

[1662] 根据下式计算肿瘤消退:

[1663] -(Δ肿瘤体积^{治疗的}/肿瘤体积^{治疗开始时})*100

[1664] 其中Δ肿瘤体积代表评价日的平均肿瘤体积减去实验开始时的平均肿瘤体积。

[1665] 结果:功效和耐受性

[1666] 第20天,所有抗PCAD-ADC治疗组的平均肿瘤体积与未治疗组及其相应的huIgG1同种型匹配的ADC对照组存在显著差异(单因素方差分析;Dunn方法、或t检验或Mann Whitney检验,$p \leq 0.05$)(表6,图3)。与未治疗组相比,第20天在任何组中均未观察到显著体重减轻(图3)。

[1667] 表6抗PCAD-ADC和huIgG1同种型匹配的对照ADC在SCID-米色雌性小鼠的HCC70人TNBC异种移植模型中的抗肿瘤功效和耐受性总结。计算第20天的Δ肿瘤体积,并呈现为平均值±SEM。*$p<0.05$,与未治疗对照相比,单因素方差分析和事后邓尼特检验;$^{\$}p<0.05$,与相应的同种型对照相比(t检验或Mann Whitney检验)。

[1668]

		肿瘤应答			
测试剂	剂量、时间表、途径	T/C (%)	消退 (%)	Δ肿瘤体积 (mm^3) $^{\$}$	存活(活的/总数);治疗第20天
未治疗的	-	100	-	486	6/6
3207-L1-P1	5.0 mg/kg,第0天,i.v	56		233	6/6
PCAD-mab2-L1-P1	5.0 mg/kg,第0天,i.v		25*$^{\$}$	-51	6/6
3207-L2-P1	5.0 mg/kg,第0	88		368	6/6

[1669]

	天，i.v				
PCAD-mab2-L2-P1	5.0 mg/kg，第 0 天，i.v		21*$	-43	6/6
3207- L3-P1	5.0 mg/kg，第 0 天，i.v	92	-	386	6/6
PCAD-mab2-L3-P1	5.0 mg/kg，第 0 天，i.v	22*$		93	6/6
3207-L4-P1	5.0 mg/kg，第 0 天，i.v	139		582	6/6
PCAD-mab2-L4-P1	5.0 mg/kg，第 0 天，i.v		52*$	-108	6/6
3207-L5-P1	5.0 mg/kg，第 0 天，i.v	89	-	372	6/6
PCAD-mab2-L5-P1	5.0 mg/kg，第 0 天，i.v		49*$	-101	6/6
3207-L6-P1	5.0 mg/kg，第 0 天，i.v	130	-	544	6/6
PCAD-mab2-L6-P1	5.0 mg/kg，第 0 天，i.v		84*$	-173	6/6

[1670] 应理解，本文描述的实例和实施例仅用于说明目的，其各种修饰或改变对于本领域技术人员将是明了的，并包括在本申请的精神和范围内和所附权利要求书的范围内。

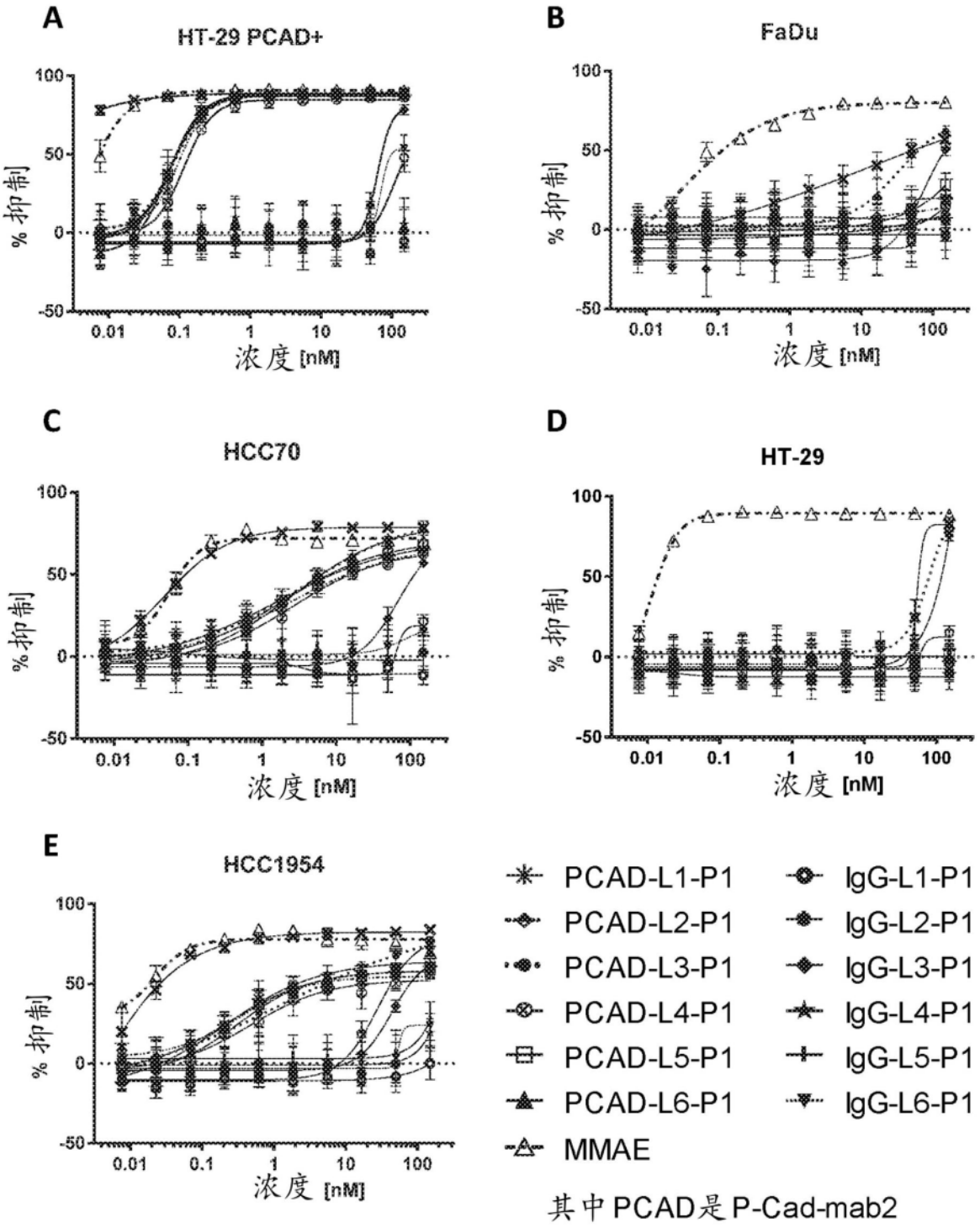

A
HT-29 PCAD+
B
FaDu
C
HCC70
D
HT-29
E
HCC1954
% 抑制
浓度 [nM]
PCAD-L1-P1
PCAD-L2-P1
PCAD-L3-P1
PCAD-L4-P1
PCAD-L5-P1
PCAD-L6-P1
MMAE
IgG-L1-P1
IgG-L2-P1
IgG-L3-P1
IgG-L4-P1
IgG-L5-P1
IgG-L6-P1
其中PCAD是P-Cad-mab2

图1

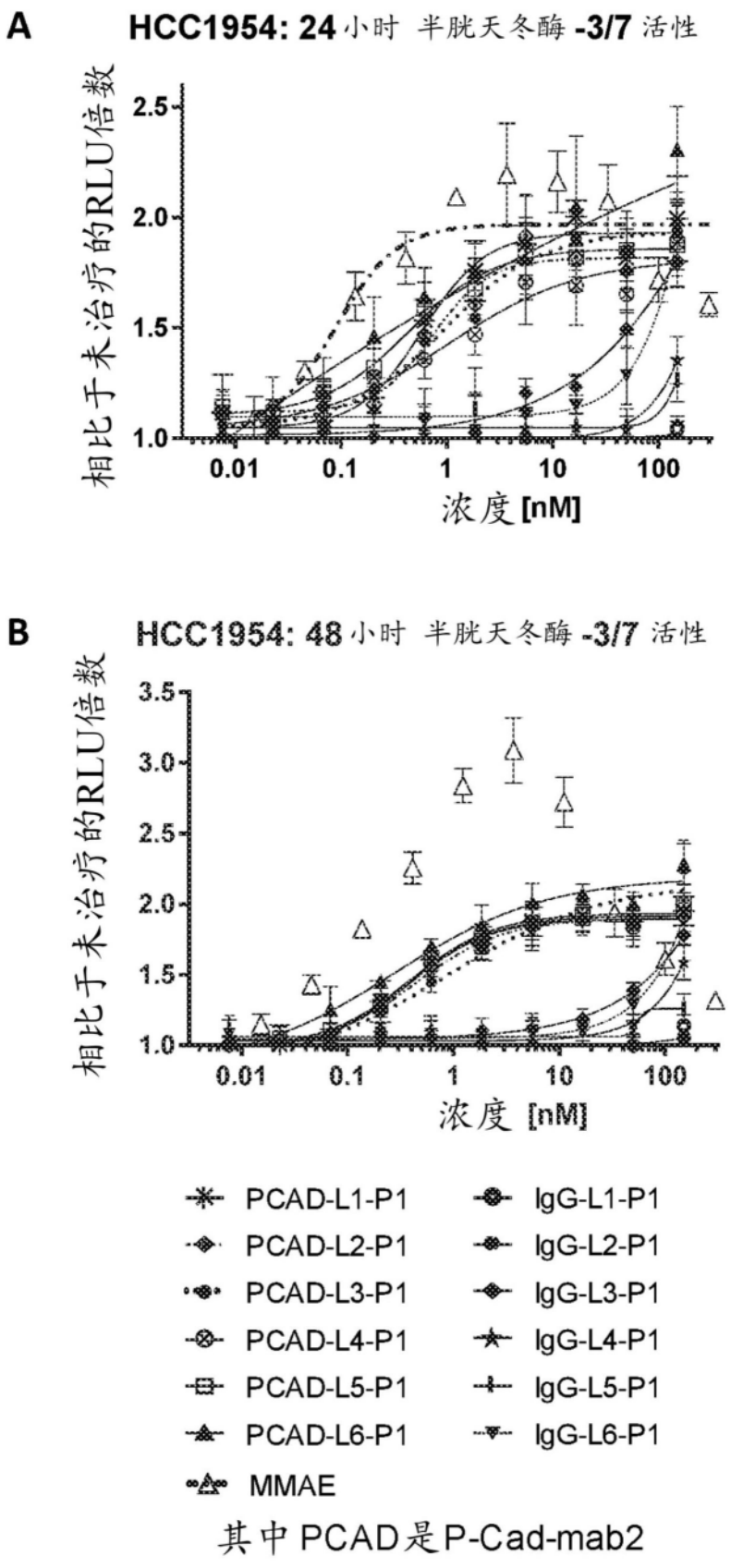

A
HCC1954: 24 小时 半胱天冬酶 -3/7 活性
相比于未治疗的RLU倍数
2.5
2.0
1.5
1.0
0.01
0.1
1
10
100
浓度 [nM]
B
HCC1954: 48 小时 半胱天冬酶 -3/7 活性
相比于未治疗的RLU倍数
3.5
3.0
2.5
2.0
1.5
1.0
0.01
0.1
1
10
100
浓度 [nM]
PCAD-L1-P1
PCAD-L2-P1
PCAD-L3-P1
PCAD-L4-P1
PCAD-L5-P1
PCAD-L6-P1
MMAE
IgG-L1-P1
IgG-L2-P1
IgG-L3-P1
IgG-L4-P1
IgG-L5-P1
IgG-L6-P1
其中 PCAD是P-Cad-mab2

图2

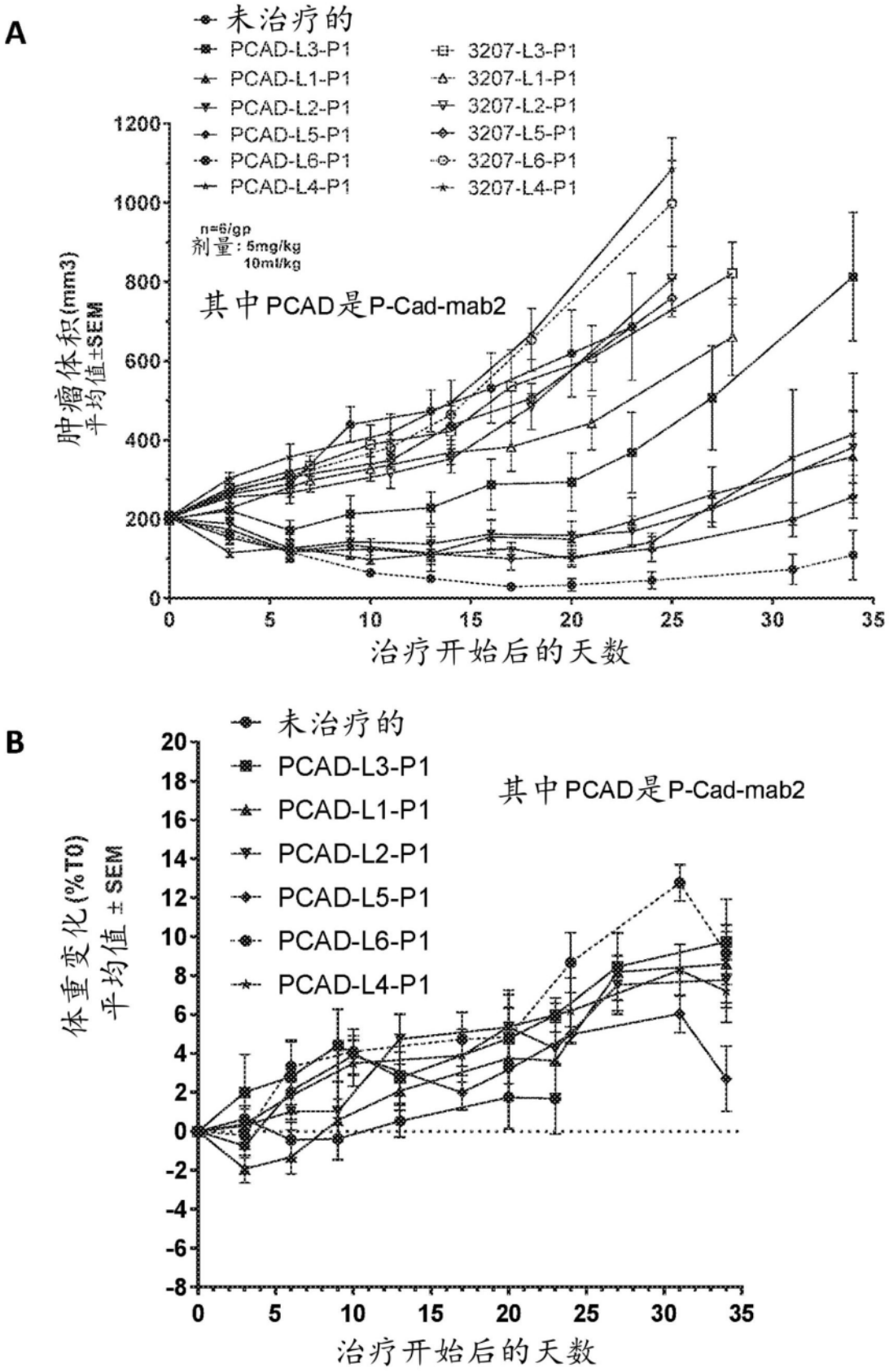

A
未治疗的
PCAD-L3-P1
PCAD-L1-P1
PCAD-L2-P1
PCAD-L5-P1
PCAD-L6-P1
PCAD-L4-P1
3207-L3-P1
3207-L1-P1
3207-L2-P1
3207-L5-P1
3207-L6-P1
3207-L4-P1
n=6/gp
剂量：5mg/kg
10ml/kg
其中PCAD是P-Cad-mab2
肿瘤体积(mm3)
平均值±SEM
治疗开始后的天数
B
未治疗的
PCAD-L3-P1
PCAD-L1-P1
PCAD-L2-P1
PCAD-L5-P1
PCAD-L6-P1
PCAD-L4-P1
其中PCAD是P-Cad-mab2
体重变化(%T0)
平均值 ± SEM
治疗开始后的天数

图3

C

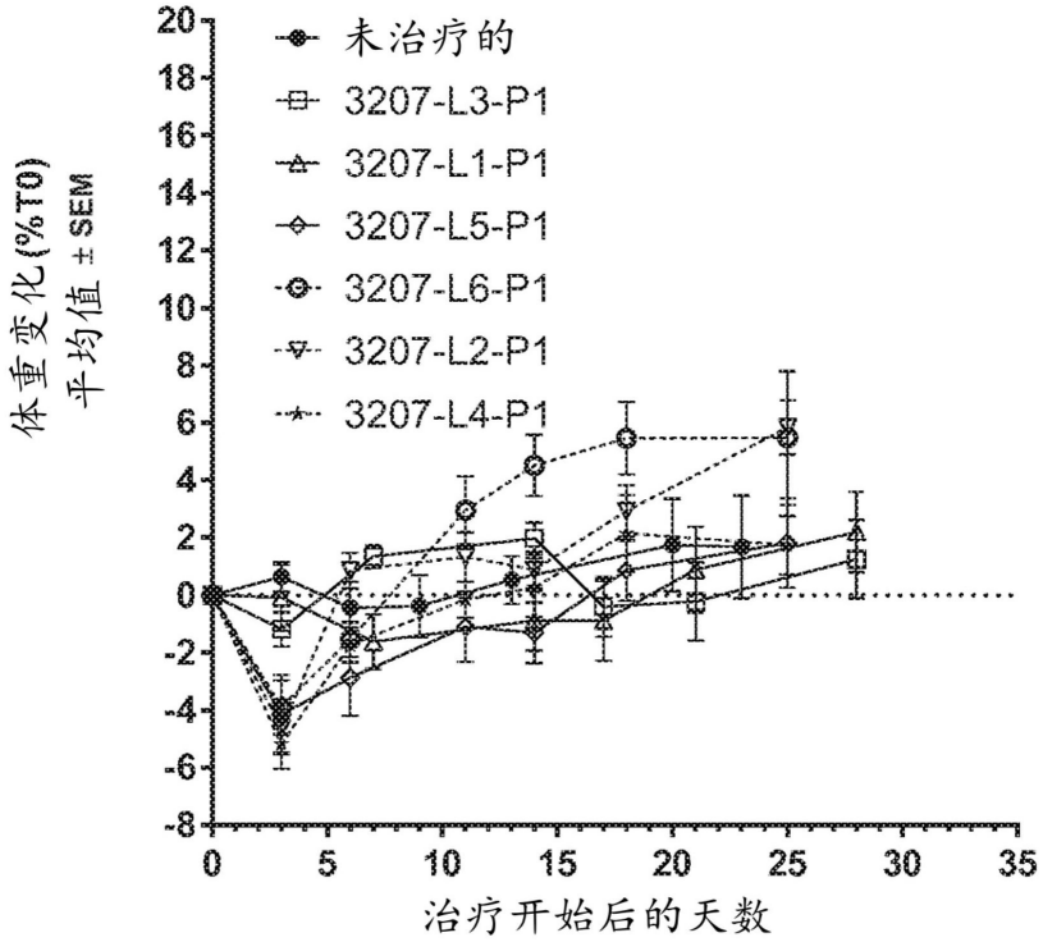

未治疗的
3207-L3-P1
3207-L1-P1
3207-L5-P1
3207-L6-P1
3207-L2-P1
3207-L4-P1
体重变化(%T0)
平均值 ±SEM
治疗开始后的天数
20
18
16
14
12
10
8
6
4
2
0
-2
-4
-6
-8
0
5
10
15
20
25
30
35

图3续