



(12) **Oversettelse av
europeisk patentskrift**

(11) **NO/EP 2766048 B1**

NORGE

(19) NO
(51) Int Cl.

A61K 47/48 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
C07D 487/04 (2006.01)
C07D 519/00 (2006.01)

Patentstyret

(21)	Oversettelse publisert	2015.05.11
(80)	Dato for Den Europeiske Patentmyndighets publisering av det meddelte patentet	2014.12.10
(86)	Europeisk søknadsnr	13780100.7
(86)	Europeisk innleveringsdag	2013.10.11
(87)	Den europeiske søknadens Publiseringsdato	2014.08.20
(30)	Prioritet	2012.10.12, US, 201261712928 P
(84)	Utpekte stater	AL AT BE BG CH CY CZ DE DK EE ES FI FR GB GR HR HU IE IS IT LI LT LU LV MC MK MT NL NO PL PT RO RS SE SI SK SM TR
	Utpekte samarbeidende stater	BA ME
(73)	Innehaver	Spirogen Sàrl, Rue Saint-Pierre2, 1003 Lausanne, CH-Sveits
(72)	Oppfinner	HOWARD, Philip Wilson, Spirogen LimitedThe QMB Innovation Centre42 New Road, LondonGreater London E1 2AX, GB-Storbritannia
(74)	Fullmektig	Zacco Norway AS, Postboks 2003 Vika, 0125 OSLO, Norge

(54)	Benevnelse	Pyrrolobenzodiazepiner og konjugater derav
(56)	Anførte publikasjoner	WO-A1-2005/085251 WO-A1-2011/130598 WO-A1-2013/053872 STEPHEN C. ALLEY ET AL: "Contribution of Linker Stability to the Activities of Anticancer Immunoconjugates", BIOCONJUGATE CHEMISTRY, vol. 19, no. 3, 1 March 2008 (2008-03-01), pages 759-765, XP055037546, ISSN: 1043-1802, DOI: 10.1021/bc7004329

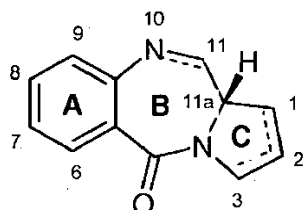
PYRROLOBENZODIAZEPINER OG KONJUGATER DERAU

[0001] Den foreliggende oppfinnelsen vedrører pyrrolobenzodiazepiner (PBD-er), særlig pyrrolobenzodiazepiner med en labil N10-beskyttelsesgruppe, i form av en linker til et cellebindemiddel.

Bakgrunn for oppfinnelsen

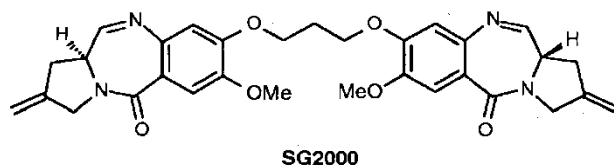
Pyrrolobenzodiazepiner

[0002] Noen pyrrolobenzodiazepiner (PBD-er) kan gjenkjenne og binde til spesifikke sekvenser av DNA; den foretrukne sekvensen er PuGpu. Det første PBD-antitumorantibiotikumet, antramycin, ble oppdaget i 1965 (Leimgruber, et al., J. Am. Chem. Soc., 87, 5793-5795 (1965); Leimgruber, et al., J. Am. Chem. Soc., 87, 5791-5793 (1965)). Siden da er et antall naturlig forekommende PBD-er rapportert, og over 10 syntetiske veier er utviklet til en rekke analoger (Thurston, et al., Chem. Rev. 1994, 433-465 (1994); Antonow, D. and Thurston, D.E., Chem. Rev. 2011 111 (4), 2815-2864). Familiemedlemmer inkluderer abbeymycin (Hochlowski, et al., J. Antibiotics, 40, 145-148 (1987)), chicamycin (Konishi, et al., J. Antibiotics, 37, 200-206 (1984)), DC-81 (japansk patent 58-180 487; Thurston, et al., Chem. Brit., 26, 767-772 (1990); Bose, et al., Tetrahedron, 48, 751-758 (1992)), mazethramycin (Kuminoto, et al., J. Antibiotics, 33, 665-667 (1980)), neothramycins A and B (Takeuchi, et al., J. Antibiotics, 29, 93-96 (1976)), porothramycin (Tsunakawa, et al., J. Antibiotics, 41, 1366-1373 (1988)), prothracarcin (Shimizu, et al., J. Antibiotics, 29, 2492-2503 (1982); Langley and Thurston, J. Org. Chem., 52, 91-97 (1987)), sibanomicin (DC-102)(Hara, et al., J. Antibiotics, 41, 702-704 (1988); Itoh, et al., J. Antibiotics, 41, 1281-1284 (1988)), sibiromycin (Leber, et al., J. Am. Chem. Soc., 110, 2992-2993 (1988)) og tomamycin (Arima, et al., J. Antibiotics, 25, 437-444 (1972)). PBD-er har den generelle strukturen:



[0003] De er forskjellige i substituentenes antall, type og posisjon i begge sine aromatiske A-ringer og pyrrol C-ringer og i C-ringens metningsgrad. I B-ringen er det enten et imin (N=C), et karbinolamin (NH-CH(OH)) eller en karbinolaminmetyleter (NH-CH(OMe)) ved N10-C11-posisjonen som er det elektrofile senteret ansvarlig for alkylering av DNA. Alle de kjente naturlige produktene har en (S)-konfigurasjon ved det kirale C11, en posisjon som gir dem en høyrevri når de ses fra C-ringen mot A-ringen. Dette gir dem den egnede tredimensjonale formen for isohelisitet med det mindre sporet av B-form-DNA, hvilket fører til en god tilpasning ved bindingsstedet (Kohn, In Antibiotics III. Springer-Verlag, New York, s. 3-11 (1975); Hurley and Needham-VanDevanter, Acc. Chem. Res., 19, 230-237 (1986)). Deres evne til å danne en addukt i det mindre sporet gjør det mulig for dem å forstyrre DNA-prosesseringen, hvilket forklarer deres anvendelse som antitumormiddel.

[0004] En særlig fordelaktig pyrrolbenzodiazepinforbindelse beskrives av Gregson et al. (Chem. Commun. 1999, 797-798) som forbindelse **1** og av Gregson et al. (J. Med. Chem. 2001, 44, 1161-1174) som forbindelse **4a**. Denne forbindelsen, også kjent som SG2000, vises nedenfor:



[0005] WO 2007/085930 beskriver fremstillingen av dimere PBD-forbindelser som har linkergrupper for kobling til et cellebindemiddel, slik som et antistoff. Linkeren er til stede i broen som binder dimerens monomere PBD-enheter.

[0006] De foreliggende oppfinnerne har beskrevet dimere PBD-forbindelser som har linkergrupper for kobling til et cellebindemiddel, slik som et antistoff, i WO 2011/130598. Linkeren i disse forbindelsene er bundet til én av de tilgjengelige N10-posisjonene, og spaltes generelt under påvirkning av et enzym på linkergruppen.

Antistofflegemiddelkonjugater

[0007] Antistoffterapi er etablert for den målrettede behandlingen av pasienter

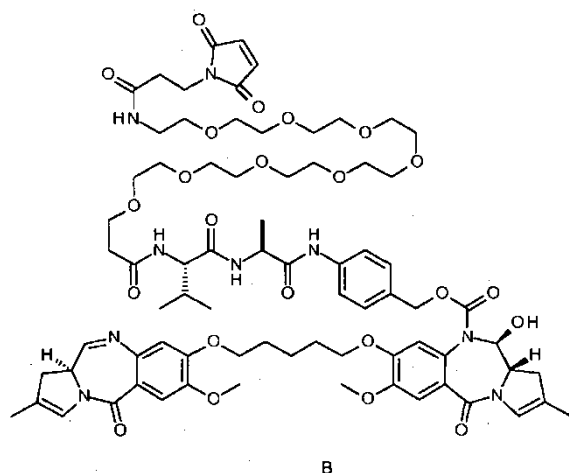
med cancer samt immunologiske og angiogene lidelser (Carter, P. (2006) Nature Reviews Immunology 6:343–357). Anvendelsen av antistofflegemiddelkonjugater (ADC), dvs. immunkonjugater, for den lokale tilførselen av cytotoksiske eller cytostatiske middel, dvs. legemiddel for å drepe eller inhibere tumorceller i behandlingen av cancer, målretter tilførsel av legemiddeldelen til tumorer, og intracellulær akkumulering deri, mens systemisk administrering av disse ukonjugerte legemidlene kan resultere i uakseptable nivåer av toksisitet for normale celler (Xie et al (2006) Expert. Opin. Biol. Ther. 6(3):281-291; Kovtun et al (2006) Cancer Res. 66(6):3214-3121; Law et al (2006) Cancer Res. 66(4):2328-2337; Wu et al (2005) Nature Biotech. 23(9):1137-1145; Lambert J. (2005) Current Opin. in Pharmacol. 5:543-549; Hamann P. (2005) Expert Opin. Ther. Patents 15(9):1087-1103; Payne, G. (2003) Cancer Cell 3:207-212; Trail et al (2003) Cancer Immunol. Immunother. 52:328-337; Syrigos and Epenetos (1999) Anticancer Research 19:605-614).

[0008] Det ønskes derved maksimal effekt med minimal toksisitet. Forsøk på å konstruere og raffinere ADC har fokusert på de monoklonale antistoffenes (mAb-enes) selektivitet samt legemiddelets virkemekanisme, legemiddelbinding, legemiddel/antistoff-forhold (mengde) og legemiddelfrisettende egenskaper (Junutula, et al., 2008b Nature Biotech., 26(8):925-932; Dornan et al (2009) Blood 114(13):2721-2729; US 7521541; US 7723485; WO2009/052249; McDonagh (2006) Protein Eng. Design & Sel. 19(7): 299-307; Doronina et al (2006) Bioconj. Chem. 17:114-124; Erickson et al (2006) Cancer Res. 66(8):1-8; Sanderson et al (2005) Clin. Cancer Res. 11:843-852; Jeffrey et al (2005) J. Med. Chem. 48:1344-1358; Hamblett et al (2004) Clin. Cancer Res. 10:7063-7070). Legemiddeldeler kan overføre sine cytotoksiske og cytostatiske effekter ved mekanismer inkludert tubulinbinding, DNA-binding, proteasom- og/eller topoisomeraseinhibering. Noen cytotoksiske legemiddel har en tendens til å være inaktive eller mindre aktive når de blir konjugert til store antistoffer eller proteinreseptorligander.

[0009] De foreliggende oppfinnerne har utviklet særlige PBD-dimere med bindingsgrupper for dannelselse av PBD-konjugater med cellebindemiddel, og særlig PBD-antistoffkonjugater.

Kort beskrivelse av oppfinnelsen

[0010] I et første aspekt tilveiebringer den foreliggende oppfinnelsen forbindelse B:

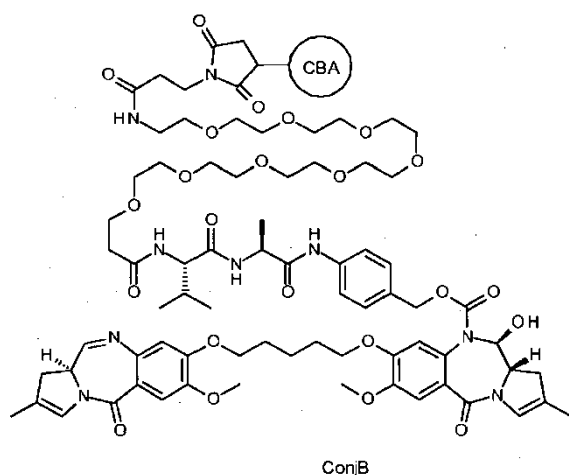


og salter og solvater derav.

[0011] Forbindelse B skiller seg fra tidligere beskrevne PBD-dimerer med en legemiddellinker som har en C2-3-endo-dobbeltbinding, ved å ha en mer beskjeden, mindre lipofil C2-substituent, f.eks. 4F-fenyl, propylen. Konjugatene av forbindelse B (se nedenfor) har som sådan mindre sannsynlighet for å aggregere når de er syntetisert. Slik aggregering av konjugater kan måles ved størrelsesutelukkeskromatografi (SEC).

[0012] Forbindelse B har to sp^2 -senter i hver C-ring, hvilket kan muliggjøre sterkere binding i det mindre DNA-sporet enn for forbindelser med bare ett sp^2 -senter i hver C-ring.

[0013] Et andre aspekt ved den foreliggende oppfinnelsen tilveiebringer et konjugat med formel ConjB:



hvor CBA representerer et cellebindemiddel. Linken til den viste delen er via et fritt S (aktivt tiol) på cellebindemiddelet.

5

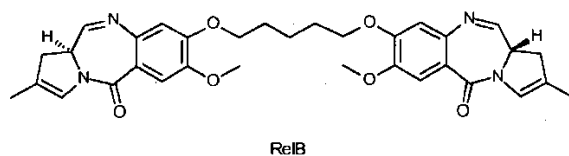
Detaljert beskrivelse av oppfinnelsen

[0014] Den foreliggende oppfinnelsen tilveiebringer en PBD-dimer med en linker koblet gjennom N10-posisjonen på én av PBD-delene som er egnet til dannelse av en PBD-dimer konjugert via linkeren til et cellebindemiddel.

10

[0015] Den foreliggende oppfinnelsen er egnet for anvendelse i tilveiebringelsen av en PBD-forbindelse til et foretrukket sted hos et individ. Konjugatet muliggjør frisetting av en aktiv PBD-forbindelse som ikke omskolerer noen del av linkeren. Det er ikke til stede noen stubb som kan påvirke PBD-forbindelsens reaktivitet. ConjB ville således frisettes forbindelsen ReIB:

15



[0016] Et ytterligere aspekt ved den foreliggende oppfinnelsen er forbindelsen ReIB, og saltene og solvatene derav.

20

[0017] Den spesifiserte bindingen mellom PBD-dimeren og cellebindemiddelet, f.eks. antistoff, i den foreliggende oppfinnelsen er foretrukket stabil ekstracellulært. Før transport eller tilførsel til en celle er antistofflegemiddelkonjugatet (ADC) foretrukket stabilt og forblir intakt, dvs. antistoffet forblir bundet til lege-

25

middeldelen. Linkerne er stabile utenfor målcellen og kan spaltes ved en effektiv rate inne i cellen. En effektiv linker vil: (i) opprettholde de spesifikke bindings-egenskapene ved antistoffet; (ii) tillate intracellulær tilførsel av konjugatet eller legemiddeldelen; (iii) forbli stabil og intakt, dvs. ikke spaltet, til konjugatet er blitt tilført eller transportert til sitt målrettede sted; og (iv) opprettholde en cytotoxisk, celledrepende effekt eller en cytostatisk effekt av PBD-legemiddeldelen. ADC-stabilitet kan måles ved standard analytiske teknikker slik som massespektroskopi, HPLC og sprednings-/analyseteknikken LC/MS.

[0018] Tilførsel av forbindelsen med formel ReIB oppnås på det ønskede aktiveringsstedet for konjugatene med formel ConjB under påvirkning av et enzym, slik som kathepsin, på bindingsgruppen, og særlig på valin-alanin-dipeptiddelen.

Cellebindemiddel

[0019] Et cellebindemiddel kan være av hvilket som helst slag og inkluderer peptider og ikke-peptider. Disse kan inkludere antistoffer eller et fragment av et antistoff som inneholder minst ett bindingssted, lymfokiner, hormoner, hormonmimetika, vitaminer, vekstfaktorer, næringsmiddeltransportmolekyler eller hvilket som helst annet cellebindingsmolekyl eller stoff.

Peptider

[0020] I én utførelsesform er cellebindemiddelet et rettkjedet eller syklisk peptid omfattende 4–30, foretrukket 6–20, tilgrensende aminosyrerester. I denne utførelsesformen er det foretrukket at ett cellebindemiddel er bundet til én monomer eller dimer pyrroløbenzodiazepinforbindelse.

[0021] I én utførelsesform omfatter cellebindemiddelet et peptid som binder integrin $\alpha_v\beta_6$. Peptidet kan være selektivt for $\alpha_v\beta_6$ over XYZ.

[0022] I én utførelsesform omfatter cellebindemiddelet A20FMDV-Cys-polypeptid. A20FMDV-Cys har sekvensen: NAVPNLRGDLQVLAQKVARTC. Det kan alternativt anvendes en variant av A20FMDV-Cys-sekvensen hvori én, to, tre,

fire, fem, seks, sju, åtte, ni eller ti aminosyrerester substitueres med en annen aminosyrerest. Polypeptidet kan videre ha sekvensen NAVXXXXXXXXXXXXXXXXXRTC.

5 **Antistoffer**

[0023] Betegnelsen "antistoff" anvendes heri i videste forstand og dekker spesifikt monoklonale antistoffer, polyklonale antistoffer, dimerer, multimerer, multispesifikke antistoffer (f.eks. bispesifikke antistoffer) og antistoffragmenter, så lenge de viser ønsket biologisk aktivitet (Miller et al (2003) Jour. of Immunology 170:4854–4861). Antistoffer kan være murine, humane, humaniserte, kimære eller avledet fra andre arter. Et antistoff er et protein generert av immunsystemet som kan gjenkjenne og binde til et spesifikt antigen. (Janeway, C., Travers, P., Walport, M., Shlomchik (2001) Immuno Biology, 5th Ed., Garland Publishing, New York). Et målantigen har generelt mange bindingssteder, også kalt epitoper, gjenkjent av CDR-er på flere antistoffer. Hvert antistoff som spesifikt binder til et annet epitop, har en annen struktur. Ett antigen kan således ha mer enn ett tilsvarende antistoff. Et antistoff inkluderer et immunglobulinmolekyl med full lengde eller en immunologisk aktiv porsjon av et immunglobulinmolekyl med full lengde, dvs. et molekyl som inneholder et antigenbindingssted som immunspesifikt binder et antigen av et mål av interesse eller en del derav, idet slike mål inkluderer, men ikke er begrenset til, cancerceller som produserer autoimmune antistoffer assosiert med en autoimmun sykdom. Immunglobulinet kan være av en hvilken som helst type (f.eks. IgG, IgE, IgM, IgD og IgA), klasse (f.eks. IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 og IgA2) eller underklasse av immunglobulinmolekyl. Immunglobulinene kan være avledet fra hvilken som helst art, inkludert menneske, mus eller kanin.

[0024] "Antistoffragmenter" omfatter en porsjon av et antistoff i full lengde, generelt antigenbindingen eller den variable regionen derav. Eksempel på antistoffragmenter inkluderer Fab-, Fab'-, F(ab')₂ og scFv-fragmenter; diastoffer; rettkjedede antistoffer; fragmenter produsert av et Fab-ekspresjonsbibliotek, anti-idiotypiske (anti-Id) antistoffer, CDR (komplementbestemmende region) og epitopbindingsfragmenter av hvilket som helst av ovennevnte som immunspesifikt binder til cancercelleantigener, virale antigener eller mikrobielle antigener, enkeltkjedede antistoffmolekyler; og multispesifikke antistoffer dannet fra antistoffragmenter.

[0025] Betegnelsen "monoklonalt antistoff" som anvendt heri betyr et antistoff oppnådd fra en populasjon av i det vesentlige homogene antistoffer, dvs. de individuelle antistoffene omfattende populasjonen er identiske bortsett fra mulige naturlig forekommende mutasjoner som kan være til stede i mindre mengder. Monoklonale antistoffer er svært spesifikke, idet de rettes mot et enkelt antigensted. I motsetning til polyklonale antistoffpreparater som inkluderer forskjellige antistoffer rettet mot forskjellige determinanter (epitoper), er hvert monoklonalt antistoff videre rettet mot en enkelt determinant på antigenet. I tillegg til deres spesifisitet er de monoklonale antistoffene fordelaktige fordi de kan syntetiseres ukontaminert av andre antistoffer. Betegnelsen "monoklonal" angir at antistoffets karakter oppnås fra en i det vesentlige homogen populasjon av antistoffer, og skal ikke tolkes som om det krever produksjon av antistoffet ved noen særlig fremgangsmåte. For eksempel kan de monoklonale antistoffene som skal anvendes i henhold til den foreliggende oppfinnelsen fremstilles ved hybridomfremgangsmåten først beskrevet av Kohler et al (1975) Nature 256:495, eller fremstilles ved rekombinante DNA-fremgangsmåter (se US 4816567). De monoklonale antistoffene kan også isoleres fra fagantistoffbiblioteker ved anvendelse av teknikkene beskrevet i Clackson et al (1991) Nature, 352:624-628; Marks et al (1991) J. Mol. Biol., 222:581-597 eller fra transgene mus som bærer et fullt humant immunglobulinsystem (Lonberg (2008) Curr. Opinion 20(4):450-459).

[0026] De monoklonale antistoffene heri inkluderer spesifikt "kimære" antistoffer der en porsjon av tung- og/eller lettkjeden er identisk eller homolog med tilsvarende sekvenser i antistoffer avledet fra en særlig art eller tilhørende en særlig antistoffklasse eller -underklasse, mens resten av kjeden(e) er identisk eller homolog med tilsvarende sekvenser i antistoffer avledet fra en annen art eller tilhørende en annet antistoffklasse eller -underklasse samt fragmenter av slike antistoffer, så lenge de viser ønsket biologisk aktivitet (US 4816567; og Morrison et al (1984) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:6851-6855). Kimære antistoffer inkluderer "primatiserte" antistoffer omfattende antigenbindingssekvenser med variable domener avledet av en ikke-human primat (f.eks. dyreape eller menneskeape) og humane sekvenser med konstante regioner.

[0027] Et "intakt antistoff" heri er ett omfattende VL- og VH-domener, samt en

lettkjedes konstante domene (CL) og en tungkjedes konstante domener, CH1, CH2 og CH3. De konstante domenene kan være konstante domener med nativ sekvens (f.eks. konstante domener med human nativ sekvens) eller aminosyresekvensvariant derav. Det intakte antistoffet kan ha én eller flere "effektorfunksjoner", som henviser til de biologiske aktivitetene som kan tilskrives Fc-regionen (en Fc-region med nativ sekvens eller en Fc-region med aminosyresekvensvariant) i et antistoff. Eksempel på antistoffeffektorfunksjoner inkluderer C1q-binding; komplementavhengig cytotoksitet; Fc-reseptorbinding; antistoffavhengig cellemediert cytotoksitet (ADCC); fagocytose; og nedregulering av celleoverflatereseptorer slik som B-cellereseptor og BCR.

[0028] Avhengig av aminosyresekvensen i det konstante domenet på deres tungkjeder kan intakte antistoffer tilordnes til forskjellige "klasser". Det er fem store klasser av intakte antistoffer: IgA, IgD, IgE, IgG og IgM, og flere av disse kan ytterligere deles i "underklasser" (isotyper), f.eks. IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA og IgA2. Tungkjedens konstante domener som tilsvarer de forskjellige antistoffklassene, kalles henholdsvis α , δ , ϵ , γ og μ . Underenhetsstrukturene og de tredimensjonale konfigurasjonene av forskjellige immunglobulinklasser er velkjent.

Humanisering

[0029] Teknikker for å redusere *in vivo*-immunogenisitet hos et ikke-humant antistoff eller antistofffragment inkluderer slike kalt "humanisering".

[0030] Et "humanisert antistoff" betyr et polypeptid omfattende minst en porsjon av en modifisert variabel region i et humant antistoff, hvori en porsjon av den variable regionen, foretrukket en porsjon i det vesentlige mindre enn det intakte humane variable domenet, er blitt substituert av den tilsvarende sekvensen fra en ikke-human art, og hvori den modifiserte variable regionen er bundet til minst en annen del av et annet protein, foretrukket den konstante regionen i et humant antistoff. Betegnelsen "humaniserte antistoffer" inkluderer humane antistoffer der én eller flere aminosyrerester i en komplementaritetsbestemmende region ("CDR") og/eller én eller flere aminosyrerester i en strukturregion ("FW" eller "FR") substitueres av aminosyrerester fra analoge steder i antistoffer fra gnagere eller andre ikke-humane antistoffer. Betegnelsen "humanisert antistoff" inkluderer også en

immunglobulin-aminosyresekvensvariant eller et fragment derav som omfatter en FR som i det vesentlig har aminosyresekvensen i et humant immunglobulin og en CDR som i det vesentlige har aminosyresekvensen i et ikke-humant immunglobulin.

5

[0031] "Humaniserte" former av ikke-humane (f.eks. murine) antistoffer er kimære antistoffer som inneholder minimal sekvens avledet fra ikke-humant immunglobulin. Eller fra et annet perspektiv er et humanisert antistoff et humant antistoff som også inneholder valgte sekvenser fra ikke-humane (f.eks. murine) antistoffer i stedet for de humane sekvensene. Et humanisert antistoff kan inkludere konservative aminosyresubstitusjoner eller ikke-naturlige rester fra samme eller forskjellige arter som ikke vesentlig endrer sin bindings- og/eller biologiske aktivitet. Slike antistoffer er kimære antistoffer som inneholder minimal sekvens avledet fra ikke-humane immunglobuliner.

10

15

[0032] Det finnes en rekke humaniseringsteknikker, inkludert "CDR-poding", "veiledet seleksjon", "deimmunisering", "overflatemodifisering" (også kalt "veneering", "kompositte antistoffer", "human strenginnholdsoptimalisering" og strukturblanding.

20

CDR-poding

[0033] I denne teknikken er de humaniserte antistoffene humane immunglobuliner (mottagerantistoff) der rester fra en komplementaritetsbestemmende region (CDR) hos mottagerantistoffet erstattes med rester fra en CDR hos en ikke-human art (donorantistoff), slik som mus, rotte, kamel, storfe, geit eller kanin med ønskede egenskaper (de ikke-humane CDR-ene "podes" da på den humane strukturen"). I noen tilfeller er strukturregion (FR)-rester av det humane immunglobulinet erstattet med tilsvarende ikke-humane rester (dette kan skje når for eksempel en særlig FR-rest har vesentlig effekt på antigenbinding).

25

30

[0034] Humaniserte antistoffer kan videre omfatte rester som finnes verken i mottagerantistoffet eller i de importerte CDR- eller strukturekvensene. Disse modifiseringene foretas for ytterligere å raffinere og maksimalisere antistoffytelsen. Et humanisert antistoff vil således generelt omfatte alle av minst ett, og i ett aspekt to, variable domener, der alle eller i det vesentlige alle

35

de hypervariable sløyfene tilsvarer sløyfene for et ikke-humant immunglobulin, og alle eller i det vesentlige alle FR-regionene er FR-regionene fra en human immunglobulinsekvens. Det humaniserte antistoffet vil eventuelt også omfatte minst en porsjon av et immunglobulins konstante region (Fc), eller den for et humant immunglobulin.

Veiledet seleksjon

[0035] Fremgangsmåten består av å kombinere V_H -eller V_L -domenet i et gitt ikke-humant antistoff som er spesifikt for et særlig epitop, med et humant V_H - eller V_L -bibliotek, og spesifikke humane V-domener velges mot antigenet av interesse. Dette valgte humane V_H -en kombineres deretter med et V_L -bibliotek for å generere en fullstendig human $V_H \times V_L$ -kombinasjon. Fremgangsmåten beskrives i Nature Biotechnology (N.Y.) 12, (1994) 899-903.

Kompositte antistoffer

[0036] I denne fremgangsmåten kombineres to eller flere segmenter av aminosyresekvens fra et humant antistoff innenfor sluttantistoffmolekylet. De er konstruert ved å kombinere flere humane V_H - og V_L -sekvenssegmenter i kombinasjoner som begrenser eller unngår humane T-celleepitoper i sluttkomposittantistoffets V-regioner. T-celleepitoper begrenses eller unngås om nødvendig ved å utveksle V-regionsegmenter som bidrar til eller koder for et T-celleepitop med alternative segmenter som unngår T-celleepitoper. Denne fremgangsmåten beskrives i US 2008/0206239 A1.

Deimmunisering

[0037] Denne fremgangsmåten involverer å fjerne humane (eller annen ny art) T-celleepitoper fra V-regionene i det terapeutiske antistoffet (eller annet molekyl). V-regionsekvensen i de terapeutiske antistoffene analyseres for nærvær av MHC klasse II-bindingsmotiver ved for eksempel sammenligning med databaser med MHC-bindingsmotiver (slik som "motiv"-databasen på www.wehi.edu.au). MHC-klasse II-bindingsmotiver kan alternativt identifiseres ved anvendelse av fremgangsmåter med regnetråder slik som dem tenkt ut av Altuvia et al. (J. Mol. Biol. 249 244-250 (1995)); i disse fremgangsmåtene testes sammenhengende overlappende peptider fra V-regionsekvenser for deres

bindingsenergier til proteiner i MHC-klasse II. Disse dataene kan deretter kombineres med informasjon om andre sekvenstrekk som vedrører vellykket presenterte peptider, slik som amfipatisitet, Rothbard-motiver og spaltingssteder for katepsin B og andre prosesseringsenzymmer.

5

[0038] Når det er identifisert potensielle T-celleepitoper fra ny art (f.eks. humane), elimineres de ved endring av én eller flere aminosyrer. De modifiserte aminosyrene er vanligvis innenfor selve T-celleepitopet, men kan også være tilgrensende epitopet med hensyn til proteinets primære eller sekundære struktur (og kan derfor ikke være tilgrensende i den primære strukturen). Endringen skjer mest typisk ved substitusjon, men under noen omstendigheter vil aminosyreaddisjon eller -delesjon være mer egnet.

10

[0039] Alle endringer kan oppnås ved rekombinant DNA-teknologi, slik at sluttmolekylet kan fremstilles ved ekspresjon fra en rekombinant vert ved anvendelse av veletablerte fremgangsmåter slik som stedsrettet mutagenese. Anvendelsen av proteinkjemi eller hvilke som helst andre middel med molekylær endring er imidlertid også mulig.

15

20

Overflatemodifisering

[0040] Denne fremgangsmåten involverer å:

(a) bestemme konformasjonsstrukturen til den variable regionen i det ikke-humane (f.eks. gnager) antistoffet (eller et fragment derav) ved konstruksjon av en tredimensjonal modell av det ikke-humane antistoffets variable region;

25

(b) generere sekvenssammenstillinger ved anvendelse av relative tilgjengelighetsdistribusjoner fra røntgenkrystallografiske strukturer med et tilstrekkelig antall tung- og lettkjeder med variabel region i ikke-humant og humant antistoff for å gi et sett av tung- og lettkjede-strukturposisjoner, hvori innrettingsposisjonene er identiske i 98 % av det tilstrekkelige antallet tung- og lettkjeder i ikke-humant antistoff;

30

(c) definere for det ikke-humane antistoffet som skal humaniseres, et sett av tung- og lettkjedeoverflateeksponerte aminosyrerester ved anvendelse av settet av strukturposisjoner generert i trinn (b);

35

(d) identifisere fra aminosyresekvenser i humant antistoff et sett av tung- og lettkjedeoverflateeksponerte aminosyrerester som er nærmest identisk

med settet av overflateeksponerte aminosyrerester definert i trinn (c),
hvor tung- og lettkjeden fra det humane antistoffet er eller ikke er
naturlig paret;

(e) substituere, i aminosyresekvensen i det ikke-humane antistoffet som
skal humaniseres, settet av tung- og lettkjedeoverflateeksponerte
aminosyrerester definert i trinn (c) med settet av tung- og
lettkjedeoverflateeksponerte aminosyrerester identifisert i trinn (d);

(f) konstruere en tredimensjonal modell av den variable regionen i det
ikke-humane antistoffet som skyldes substitusjonen spesifisert i trinn (e);

(g) identifisere, ved sammenligning av de tredimensjonale modellene
konstruert i trinn (a) og (f), hvilke som helst aminosyrerester fra settene
identifisert i trinn (c) eller (d), som er innenfor 5 ångstrøm fra hvilket
som helst atom av hvilken som helst rest i de
komplementaritetsbestemmende regionene i det ikke-humane antistoffet
som skal humaniseres; og

(h) endre hvilke som helst rester identifisert i trinn (g) fra den humane til
den opprinnelige ikke-humane aminosyreresten for derved å definere et
ikke-humant antistoff-humaniserende sett av overflateeksponerte
aminosyrerester; forutsatt at trinn (a) ikke må utføres først, men må
utføres før trinn (g).

Superhumanisering

[0041] Fremgangsmåten sammenligner den ikke-humane sekvensen med det
funksjonelle humane kjønnscelegenrepertoaret. De humane genene som koder
for kanoniske strukturer som er identiske eller nært beslektet med de ikke-
humane sekvensene, velges. De valgte humane genene med høyest homologi
innenfor CDR-ene velges som FR-donor. De ikke-humane CDR-ene podes til
slutt på disse humane FR-ene. Denne fremgangsmåten beskrives i patent WO
2005/079479 A2.

Optimalisering av humant strenginnhold

[0042] Denne fremgangsmåten sammenligner den ikke-humane (f.eks. murine)
sekvensen med repertoaret av humane kjønnscelegener, og forskjellene scores
som humant strenginnhold (HSC) som kvantifiserer en sekvens på nivået av
potensielle MHC/T-cellepitoper. Målesekvensen humaniseres deretter ved å

maksimere dens HSC i stedet for å anvende et globalt identitetsmål for å generere flere forskjellige humaniserte varianter (beskrevet i Molecular Immunology, 44, (2007) 1986–1998).

5 **Strukturblanding**

[0043] Det ikke-humane antistoffets CDR-er er fusjonert i ramme til cDNA-pooler omfattende alle kjente humane kjønnscelegenstrukturer i tung- og lett kjede. Humaniserte antistoffer velges deretter ved for eksempel panorering av det fagviste antistoffbiblioteket. Dette beskrives i Methods 36, 43–60 (2005).

[0044] Eksempel på cellebindemiddel inkluderer de midlene som beskrives for anvendelse i WO 2007/085930, som er inkorporert heri.

[0045] Tumorassosierte antigener og beslektede antistoffer for anvendelse i utførelsesformer ifølge den foreliggende oppfinnelsen angis nedenfor.

TUMORASSOSIERTE ANTIGENER OG BESLEKTEDE ANTISTOFFER

(1) BMPR1B (benmorfogenetisk proteinreseptor-type IB)

Nukleotid

[0046]

Genbank-aksesjonsnr. NM_001203

Genbank-versjonsnr. NM_001203,2 GI:169790809

Oppdateringsdato for Genbank-post: 23. september 2012 14:06:00

Polypeptid

[0047]

Genbank-aksesjonsnr. NP_001194

Genbank-versjonsnr. NP_001194,1 GI:4502431

Oppdateringsdato for Genbank-post: 23. september 2012 14:06:00

Kryssreferanser

[0048] ten Dijke,P., et al Science 264 (5155): 101-104 (1994), Oncogene 14
 10 (11):1377-1382 (1997)); WO2004/063362 (krav 2); WO2003/042661 (krav
 12);

US2003/134790-A1 (side 38-39); WO2002/102235 (krav 13; side 296);
 WO2003/055443 (side 91-92); WO2002/99122 (eksempel 2; side 528-530);
 WO2003/029421 (krav 6); WO2003/024392 (krav 2; Fig 112); WO2002/98358
 10 (krav 1; side 183); WO2002/54940 (side 100-101); WO2002/59377(side 349-
 350); WO2002/30268 (krav 27; side 376); 15 WO2001/48204 (eksempel; fig.
 4); NP_001194 benmorfogenetisk proteinreseptor, type IB /pid=NP_001194.1.;
 MIM:603248; AY065994

(2) E16 (LAT1, SLC7A5)

Nukleotid

[0049]

Genbank-aksesjonsnr. NM_003486
 Genbank-versjonsnr. NM_003486,5 GI:71979931
 Oppdateringsdato for Genbank-post: 27. juni 2012 12.06

Polypeptid

[0050]

Genbank-aksesjonsnr. NP_003477
 Genbank-versjonsnr. NP_003477,4 GI:71979932
 30 Oppdateringsdato for Genbank-post: 27. juni 2012 12.06

Kryssreferanser

Biochem. Biophys. Res.

[0051] Commun. 255 (2), 283-288 (1999), Nature 395 (6699):288-291

(1998), Gaugitsch, H.W., et al (1992) J. Biol. Chem. 267 (16):11267-11273); WO2004/048938 (eksempel 2); WO2004/032842 (eksempel IV); WO2003/042661 (krav 12); WO2003/016475 (krav 1); WO2002/78524 (eksempel 2); WO2002/99074 (krav 19; side 127-129); WO2002/86443 (krav 27; sidene 222, 393); WO2003/003906 (krav 10; side 293); WQ2002/64798 (krav 33; side 93-95); WO2000/14228 (krav 5; side 133-136); US2003/224454 (fig. 3); 25 WO2003/025138 (krav 12; side 150); NP_003477 solutbærerfamilie 7 (kationisk aminosyretransportør, y+system), medlem 5 /pid=NP_003477.3 - Homo sapiens; MIM:600182;; NM_015923.

(3) STEAP1 (seks transmembrane epitelantigen av prostata)

Nukleotid

[0052]

Genbank-aksesjonsnr. NM_012449

Genbank-versjonsnr. NM_012449,2 GI:22027487

Oppdateringsdato for Genbank-post: 9. september 2012 14:57:00

Polypeptid

[0053]

Genbank-aksesjonsnr. NP_036581

Genbank-versjonsnr. NP_036581,1 GI:9558759

Oppdateringsdato for Genbank-post: 9. september 2012 14:57:00

Kryssreferanser

[0054] Cancer Res. 61 (15), 5857-5860 (2001), Hubert, R.S., et al (1999) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 96 (25):14523-14528); WO2004/065577 (krav 6); WO2004/027049 (fig. 11); EP1394274 (eksempel 11); WO2004/016225 (krav 2); WO2003/042661 (krav 12); US2003/157089 (eksempel 5); US2003/185830 (eksempel 5); US2003/064397 (fig. 2); WO2002/89747 (eksempel 5; side 618-

619); WO2003/022995 (eksempel 9; fig. 13A, 35 eksempel 53; side 173, eksempel 2; fig. 2A); seks transmembrane epitelantigen av prostata; MIM:604415.

(4) 0772P (CA125, MUC16)

5

Nukleotid

[0055]

10

Genbank-aksesjonsnr. AF361486

Genbank-versjonsnr. AF361486.3 GI:34501466

Oppdateringsdato for Genbank-post: 11. mars 2010 07:56:00

Polypeptid

15

[0056]

Genbank-aksesjonsnr. AAK74120

Genbank-versjonsnr. AAK74120.3 GI:34501467

20

Oppdateringsdato for Genbank-post: 11. mars 2010 07:56:00

Kryssreferanser

25

[0057] J. Biol. Chem. 276 (29):27371-27375 (2001)); WO2004/045553 (krav 14); WO2002/92836 (krav 6; fig. 12); WO2002/83866 (krav 15; side 116-121); US2003/124140 (eksempel 16); GI:34501467;

(5) MPF (MPF, MSLN, SMR, megakaryocyttpotensieringsfaktor, mesotelin)

30

Nukleotid

[0058]

35

Genbank-aksesjonsnr. NM_005823

Genbank-versjonsnr. NM_005823,5 GI:293651528

Oppdateringsdato for Genbank-post: 2. september 2012 13:47:00

Polypeptid5 **[0059]**

Genbank-aksesjonsnr. NP_005814.4

Genbank-versjonsnr. NP_005814.2 GI:53988378

Oppdateringsdato for Genbank-post: 2. september 2012 13:47:00

10 **Kryssreferanser**

[0060] Yamaguchi, N., et al Biol. Chem. 269 (2), 805-808 (1994), Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 96 (20):11531-11536 (1999), Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 93 (1):136-140 (1996), J. Biol. Chem. 270 (37):21984-21990 (1995)); WO2003/101283 (krav 14); (WO2002/102235 (krav 13; side 287-288); WO2002/101075 (krav 4; side 308-309); WO2002/71928 (side 320-321); WO94/10312 (side 52-57); IM:601051.

15 **(6) *Napi3b* (*NAPI-3B*, *NPTIIb*, *SLC34A2*, solutbærerfamilie 34 (natriumfosfat), medlem 2, type II natriumavhengig fosfattransportør 3b)**

20

Nukleotid

25

[0061]

Genbank-aksesjonsnr. NM_006424

Genbank-versjonsnr. NM_006424.2 GI:110611905

Oppdateringsdato for Genbank-post: 22. juli 2012 15:39:00

30

Polypeptid**[0062]**

35

Genbank-aksesjonsnr. NP_006415

Genbank-versjonsnr. NP_006415.2 GI:110611906

Oppdateringsdato for Genbank-post: 22. juli 2012 15:39:00

Kryssreferanser

5 **[0063]** J. Biol. Chem. 277 (22):19665-19672 (2002), Genomics 62 (2):281-284
 (1999), Feild, J.A., et al (1999) Biochem. Biophys. Res. Commun. 258 (3):578-
 582); WO2004/022778 (krav 2); EP1394274 (eksempel 11); WO2002/102235
 (krav 13; side 20 326); EP0875569 (krav 1; side 17-19); WO2001/57188 (krav
 20; side 329); WO2004/032842 (eksempel IV); WO2001/75177 (krav 24; side
 10 139-140); MIM:604217.

(7) Sema 5b (FLJ10372, KIAA1445, Mm.42015, SEMA5B, SEMAG, Semaphorin 5b Hlog, 25-semadomene, sju trombospondinrepetisjoner (type 1 og type 1-lignende), transmembrant domene (TM) og kort cytoplasmatisk domene, (semaforin) 5B)

Nukleotid**[0064]**

20 Genbank-aksesjonsnr. AB040878

Genbank-versjonsnr. AB040878.1 GI:7959148

Oppdateringsdato for Genbank-post: 2. august 2006 17.40

Polypeptid**[0065]**

Genbank-aksesjonsnr. BAA95969

Genbank-versjonsnr. BAA95969.1 GI:7959149

30 Oppdateringsdato for Genbank-post: 2. august 2006 17.40

Kryssreferanser

35 **[0066]** Nagase T., et al (2000) DNA Res. 7 (2):143-150); WO2004/000997
 (krav 1); WO2003/003984 (krav 1); WO2002/06339 (krav 1; side 50);

WO2001/88133 (krav 1; side 41–43, 48–58); WO2003/054152 (krav 20);
WO2003/101400 (krav 11); aksesjon: 30 Q9P283; Genew; HGNC:10737

**(8) PSCA hlg (2700050C12Rik, C530008O16Rik, RIKEN cDNA
2700050C12, RIKEN cDNA 2700050C12gen)**

5

Nukleotid

[0067]

10

Genbank-aksesjonsnr. AY358628

Genbank-versjonsnr. AY358628.1 GI:37182377

Oppdateringsdato for Genbank-post: 1. desember 2009 04.15

Polypeptid

15

[0068]

Genbank-aksesjonsnr. AAQ88991

Genbank-versjonsnr. AAQ88991.1 GI:37182378

20

Oppdateringsdato for Genbank-post: 1. desember 2009 04.15

Kryssreferanser

25

[0069] Ross et al (2002) Cancer Res. 62:2546-2553; US2003/129192 (krav 2);
US2004/044180 (krav 12); US2004/044179 35 (krav 11); US2003/096961
(krav 11); US2003/232056 (eksempel 5); WO2003/105758 16 (krav 12);
US2003/206918 (eksempel 5); EP1347046 (krav 1); WO2003/025148 (krav
20); GI:37182378.

30

(9) ETBR (endotelin type B-reseptor)

Nukleotid

35

[0070]

Genbank-aksesjonsnr. AY275463

Genbank-versjonsnr. AY275463.1 GI:30526094

Oppdateringsdato for Genbank-post: 11. mars 2010 02:26:00

Polypeptid

5

[0071]

Genbank-aksjesjonsnr. AAP32295

Genbank-versjonsnr. AAP32295.1 GI:30526095

Oppdateringsdato for Genbank-post: 11. mars 2010 02:26:00

10

Kryssreferanser

15

20

25

30

35

[0072] Nakamuta M., et al Biochem. Biophys. Res. Commun. 177, 34-39, 1991; Ogawa Y., et al Biochem. Biophys. Res. Commun. 178, 248-255, 1991; Arai H., et al Jpn. Circ. J. 56, 1303-1307, 1992; Arai H., et al J. Biol. Chem. 268, 3463-3470, 1993; Sakamoto A., Yanagisawa M., et al Biochem. Biophys. Res. Commun. 178, 656-663, 1991; Elshourbagy N.A., et al J. Biol. Chem. 268, 3873-3879, 1993; Haendler B., et al J. Cardiovasc. Pharmacol. 20, s1-S4, 1992; Tsutsumi M., et al Gene 228, 43-49, 1999; Strausberg R.L., et al Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 99, 16899-16903, 2002; Bourgeois C., et al J. Clin. Endocrinol. Metab. 82, 3116-3123, 1997; Okamoto Y., et al Biol. Chem. 272, 21589-21596, 1997; Verheij J.B., et al Am. J. Med. Genet. 108, 223-225, 2002; Hofstra R.M.W., et al Eur. J. Hum. Genet. 5, 180-185, 1997; Puffenberger E.G., et al Cell 79, 1257-1266, 1994; Attie T., et al, Hum. Mol. Genet. 4, 2407-15 2409, 1995; Auricchio A., et al Hum. Mol. Genet. 5:351-354, 1996; Amiel J., et al Hum. Mol. Genet. 5, 355-357, 1996; Hofstra R.M.W., et al Nat. Genet. 12, 445-447, 1996; Svensson P.J., et al Hum. Genet. 103, 145-148, 1998; Fuchs S., et al Mol. Med. 7, 115-124, 2001; Pingault V., et al (2002) Hum. Genet. 111, 198-206; WO2004/045516 (krav 1); WO2004/048938 (eksempel 2); WO2004/040000 (krav 151); WO2003/087768 (krav 1); 20 WO2003/016475 (krav 1); WO2003/016475 (krav 1); WO2002/61087 (fig. 1); WO2003/016494 (fig. 6); WO2003/025138 (krav 12; side 144); WO2001/98351 (krav 1; side 124-125); EP0522868 (krav 8; fig. 2); WO2001/77172 (krav 1; side 297-299); US2003/109676; US6518404 (fig. 3); US5773223 (krav 1a; kol. 31-34); WO2004/001004.

(10) MSG783 (RNF124, hypotetisk protein FLJ20315)

Nukleotid5 **[0073]**

Genbank-aksesjonsnr. NM_017763

Genbank-versjonsnr. NM_017763,4 GI:167830482

Oppdateringsdato for Genbank-post: 22. juli 2012 00.34

10 **Polypeptid****[0074]**

Genbank-aksesjonsnr. NP_060233

15 Genbank-versjonsnr. NP_060233,3 GI:56711322

Oppdateringsdato for Genbank-post: 22. juli 2012 00.34

Kryssreferanser

20

[0075] WO2003/104275 (krav 1); WO2004/046342 (eksempel 2);
 WO2003/042661 (krav 12); WO2003/083074 (krav 14; side 61);
 WO2003/018621 (krav 1); WO2003/024392 (krav 2; fig. 93); WO2001/66689
 (eksempel 6); LocusID:54894.

25 **(11) *STEAP2 (HGNC_8639, IPCA-1, PCANAP1, STAMP1, STEAP2, STMP, prostatacancerassosiert gen 1, prostatacancerassosiert protein 1, seks transmembrane epitelantigen av prostata 2, seks transmembrane prostataproteiner)***

30 **Nukleotid****[0076]**

Genbank-aksesjonsnr. AF455138

35 Genbank-versjonsnr. AF455138.1 GI:22655487

Oppdateringsdato for Genbank-post: 11. mars 2010 01:54:00

Polypeptid**[0077]**

5 Genbank-aksesjonsnr. AAN04080
Genbank-versjonsnr. AAN04080.1 GI:22655488
Oppdateringsdato for Genbank-post: 11. mars 2010 01:54:00

Kryssreferanser

10

[0078] Lab. Invest. 82 (11):1573-1582 (2002)); WO2003/087306;
US2003/064397 (krav 1; fig. 1); WO2002/72596 (krav 13; side 54-55);
WO2001/72962 (krav 1; fig. 4B); 35 WO2003/104270 (krav 11);
15 WO2003/104270 (krav 16); US2004/005598 (krav 22); WO2003/042661 (krav
12); US2003/060612 (krav 12; fig. 10); WO2002/26822 (krav 23; fig. 2);
WO2002/16429 (krav 12; fig. 10); GI:22655488.

**(12) TrpM4 (BR22450, FLJ20041, TRPM4, TRPM4B, transient reseptor-
potensiell kation 5-kanal, underfamilie M, medlem 4)**

20

Nukleotid**[0079]**

25 Genbank-aksesjonsnr. NM_017636
Genbank-versjonsnr. NM_017636,3 GI:304766649
Oppdateringsdato for Genbank-post: 29. juni 2012 11:27:00

Polypeptid

30

[0080]

Genbank-aksesjonsnr. NP_060106
Genbank-versjonsnr. NP_060106,2 GI:21314671
35 Oppdateringsdato for Genbank-post: 29. juni 2012 11:27:00

Kryssreferanser

[0081] Xu, X.Z., et al Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 98 (19):10692-10697 (2001), Cell 109 (3):397-407 (2002), J. Biol. Chem. 278 (33):30813-30820 (2003)); US2003/143557 (krav 4); WO2000/40614 (krav 14; side 100-103); WO2002/10382 (krav 1; fig. 9A); WO2003/042661 (krav 12); WO2002/30268 (krav 27; side 391); US2003/219806 (krav 4); WO2001/62794 (krav 10 14; fig. 1A-D); MIM:606936.

(13) *CRIPTO (CR, CR1, CRGF, CRIPTO, TDGF1, teratokarsinomavledet vekstfaktor)*

Nukleotid

[0082]

Genbank-aksesjonsnr. NM_003212

Genbank-versjonsnr. NM_003212,3 GI:292494881

Oppdateringsdato for Genbank-post: 23. september 2012 14:27:00

Polypeptid

[0083]

Genbank-aksesjonsnr. NP_8003203

Genbank-versjonsnr. NP_8003203,1 GI:4507425

Oppdateringsdato for Genbank-post: 23. september 2012 14:27:00

Kryssreferanser

[0084] Ciccodicola, A., et al EMBO J. 8 (7):1987-1991 (1989), Am. J. Hum. Genet. 49 (3):555-565 (1991)); US2003/224411 (krav 1); WO2003/083041 (eksempel 1); WO2003/034984 (krav 12); WO2002/88170 (krav 2; side 52-53); WO2003/024392 (krav 2; fig. 58); WO2002/16413 (krav 1; side 94-95, 105); WO2002/22808 (krav 2; fig. 1); US5854399 (eksempel 2; kol. 17-18); US5792616 (fig. 2); MIM:187395.

(14) CD21 (CR2 (komplementær reseptor 2) eller C3DR (C3d/Epstein Barr-virusreseptor) eller Hs. 73792)

Nukleotid

5

[0085]

Genbank-aksesjonsnr. M26004

Genbank-versjonsnr. M26004.1 GI:181939

10 Oppdateringsdato for Genbank-post: 23. juni 2010 08:47:00

Polypeptid

15

[0086]

Genbank-aksesjonsnr. AAA35786

Genbank-versjonsnr. AAA35786.1 GI:181940

Oppdateringsdato for Genbank-post: 23. juni 2010 08:47:00

20

Kryssreferanser

25 **[0087]** Fujisaku et al (1989) J. Biol. Chem. 264 (4):2118-2125); Weis J.J., et al J. Exp. Med. 167, 1047-1066, 1988; Moore M., et al Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 84, 9194-9198, 1987; Barel M., et al Mol. Immunol. 35, 1025-1031, 1998; Weis J.J., et al Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 83, 5639-5643, 1986; Sinha S.K., et al (1993) J. Immunol. 150, 5311-5320; WO2004/045520 (eksempel 4); US2004/005538 (eksempel 1); WO2003/062401 (krav 9); WO2004/045520 (eksempel 4); WO91/02536 (fig. 9.1-9.9); WO2004/020595 (krav 1); aksesjon: 30 P20023; Q13866; Q14212; EMBL; M26004; AAA35786.1.

(15) CD79b (CD79B, CD79 β , Igb (immunglobulinassosiert beta), B29)

Nukleotid

35

[0088]

Genbank-aksesjonsnr. NM_000626

Genbank-versjonsnr. NM_000626,2 GI:90193589

Oppdateringsdato for Genbank-post: 26. juni 2012 13:53:00

Polypeptid

5

[0089]

Genbank-aksesjonsnr. NP_000617

Genbank-versjonsnr. NP_000617,1 GI:11038674

10

Oppdateringsdato for Genbank-post: 26. juni 2012 13:53:00

Kryssreferanser

15

[0090] Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. (2003) 100 (7):4126-4131, Blood (2002) 100 (9):3068-3076, Muller et al (1992) Eur. J. Immunol. 22 (6):1621-1625; WO2004/016225 (krav 2, fig. 140); WO2003/087768, US2004/101874 (krav 1, side 102); WO2003/062401 (krav 9); WO2002/78524 (eksempel 2); US2002/150573 (krav 35 5, side 15); US5644033; WO2003/048202 (krav 1, side 306 og 309); WO 99/58658, US6534482 (krav 13, fig. 17A/B); WO2000/55351 (krav 11, side 1145-1146); MIM:147245

20

(16) FcRH2 (IFGP4, IRTA4, SPAP9A (SH2-domene inneholdende fosfataseankerprotein 5 1a), SPAP1B, SPAP1C)

25

Nukleotid

[0091]

Genbank-aksesjonsnr. NM_030764

30

Genbank-versjonsnr. NM_030764,3 GI:227430280

Oppdateringsdato for Genbank-post: 30. juni 2012 00.30

Polypeptid

35

[0092]

Genbank-aksesjonsnr. NPO110391

Genbank-versjonsnr. NP_110391,2 GI:19923629

Oppdateringsdato for Genbank-post: 30. juni 2012 00.30

Kryssreferanser

5

[0093] AY358130); Genome Res. 13 (10):2265-2270 (2003), Immunogenetics 54 (2):87-95 (2002), Blood 99 (8):2662-2669 (2002), Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 98 (17):9772-9777 (2001), Xu, M.J., et al (2001) Biochem. Biophys. Res. Commun. 280 (3):768-775; WO2004/016225 (krav 2); WO2003/077836; WO2001/38490 (krav 5; fig. 18D-1-18D-2); WO2003/097803 (krav 12); 10 WO2003/089624 (krav 25);: MIM:606509.

(17) HER2 (ErbB2)

15

Nukleotid

[0094]

Genbank-aksesjonsnr. M11730

20

Genbank-versjonsnr. M11730.1 GI:183986

Oppdateringsdato for Genbank-post: 23. juni 2010 08:47:00

Polypeptid

25

[0095]

Genbank-aksesjonsnr. AAA75493

Genbank-versjonsnr. AAA75493.1 GI:306840

Oppdateringsdato for Genbank-post: 23. juni 2010 08:47:00

30

Kryssreferanser

[0096] Coussens L., et al Science (1985) 230(4730):1132-1139); Yamamoto T., et al Nature 319, 230-234, 1986; Semba K., et al Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 82, 6497-6501, 1985; Swiercz J.M., et al J. Cell Biol. 165, 869- 15 880, 2004; Kuhns J.J., et al J. Biol. Chem. 274, 36422-36427, 1999; Cho H.-S., et al

35

Nature 421, 756-760, 2003; Ehsani A., et al (1993) Genomics 15, 426-429; WO2004/048938 (eksempel 2); WO2004/027049 (fig. 1I); WO2004/009622; WO2003/081210;

5 WO2003/089904 (klav 9); WO2003/016475 (krav 1); US2003/118592; WO2003/008537 (krav 1); WO2003/055439 (krav 29; fig. 1A-B); WO2003/025228 (krav 37; fig. 5C); 20 WO2002/22636 (eksempel 13; side 95-107); WO2002/12341 (krav 68; fig. 7); WO2002/13847 (side 71-74); WO2002/14503 (side 114-117); WO2001/53463 (krav 2; side 41-46); WO2001/41787 (side 15); WO2000/44899 (krav 52; fig. 7); WO2000/20579
10 (krav 3; fig. 2); US5869445 (krav 3; kol. 31-38); WO9630514 (krav 2; side 56-61); EP1439393 (krav 7); WO2004/043361 (krav 7); WO2004/022709; WO2001/00244 25 (eksempel 3; fig. 4); aksesjon: P04626; EMBL; M11767; AAA35808.1. EMBL; M11761; AAA35808.1

15 **ANTISTOFFER**

Abbott: US20110177095

20 **[0097]** For eksempel et antistoff omfattende CDR-er som samlet har minst 80 % sekvensidentitet med CDR-er som har aminosyresekvenser av SEQ ID NO:3 (CDR-H1), SEQ ID NO:4 (CDR-H2), SEQ ID NO:5 (CDR-H3), SEQ ID NO:104 og/eller SEQ ID NO:6 (CDR-L1), SEQ ID NO:7 (CDR-L2) og SEQ ID NO:8 (CDR-L3), hvori anti-HER2-antistoffet eller anti-HER2-bindingsfragmentet
25 har redusert immunogenisitet sammenlignet med et antistoff som har en VH av SEQ ID NO:1 og en VL av SEQ ID NO:2.

Biogen: US20100119511

30 **[0098]** For eksempel ATCC-aksesjonsnummer: PTA-10355, PTA-10356, PTA-10357, PTA-10358

[0099] For eksempel et rensset antistoffmolekyl som binder til HER2 omfattende alle seks CDR-er fra et antistoff valgt fra gruppen bestående av BIIB71F10 (SEQ ID NO:11, 13), BIIB69A09 (SEQ ID NO:15, 17); BIIB67F10 (SEQ ID NO:19, 21); BIIB67F11 (SEQ ID NO:23, 25), BIIB66A12 (SEQ ID NO:27, 29), BIIB66C01 (SEQ ID NO:31, 33), BIIB65C10 (SEQ ID NO:35, 37), BIIB65H09 (SEQ ID
35

NO:39, 41) og BIIB65B03 (SEQ ID NO:43, 45), eller CDR-er som er identiske eller som har høyst to endringer fra CDR-ene.

[0100] Herceptin (Genentech) – US6,054,297; ATCC-aksesjonsnr. CRL-10463 (Genentech)

Pertuzumab (Genentech)

[0101] US20110117097 se for eksempel SEQ ID NO. 15 og 16, SEQ ID NO. 17 og 18, SEQ ID NO. 23 og 24 og ATCC-aksesjonsnummer HB-12215, HB-12216, CRL 10463, HB-12697.

[0102] US20090285837

[0103] US20090202546 for eksempel ATCC-aksesjonsnummer: HB-12215, HB-12216, CRL 10463, HB-12698.

[0104] US20060088523

- f.eks. ATCC-aksesjonsnummer: HB-12215, HB-12216
- for eksempel et antistoff omfattende henholdsvis de variable lette og variable tunge aminosyresekvensene i SEQ ID NO. 3 og 4.
- for eksempel et antistoff omfattende en lettkjedeaminosyresekvens valgt fra SEQ ID NO. 15 og 23, og en tungkjedeaminosyresekvens valgt fra SEQ ID NO. 16 og 24 US20060018899
- f.eks. ATCC-aksesjonsnummer: (7C2) HB-12215, (7F3) HB-12216, (4D5) CRL-10463, (2C4) HB-12697.
- for eksempel et antistoff omfattende aminosyresekvensen i SEQ ID NO. 23, eller en deamidert og/eller oksidert variant derav. US2011/0159014
- for eksempel et antistoff med et variabelt domene i lettkjeden omfattende de hypervariable regionene i SEQ ID NO: 1".
- For eksempel et antistoff med et variabelt domene i tungkjeden omfattende de hypervariable regionene i SEQ ID NO: 2.

[0105] US20090187007

Glycotope: TrasGEX-antistoff <http://www.glycotope.com/pipeline>

[0106] Se for eksempel International Joint Cancer Institute and Changhai Hospital Cancer Cent: HMTI-Fc Ab - Gao J., et al BMB Rep. 31. okt. 2009;42(10):636-41.

5 **Symphogen: US20110217305**

[0107] Union Stem Cell & Gene Engineering, China – Liu HQ., et al Xi Bao Yu Fen Zi Mian Yi Xue Za Zhi. mai 2010;26(5):456–8.

10 **(18) NCA (CEACAM6)**

Nukleotid

15 **[0108]**

Genbank-aksesjonsnr. M18728

Genbank-versjonsnr. M18728.1 GI:189084

Oppdateringsdato for Genbank-post: 23. juni 2010 08:48:00

20 **Polypeptid**

[0109]

Genbank-aksesjonsnr. AAA59907

25 Genbank-versjonsnr. AAA59907.1 GI:189085

Oppdateringsdato for Genbank-post: 23. juni 2010 08:48:00

Kryssreferanser

30

[0110] Barnett T., et al Genomics 3, 59-66, 1988; Tawaragi Y., et al Biochem. Biophys. Res. Commun. 150, 89-96, 1988; Strausberg R.L., et al Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 99:16899-16903, 2002; WO2004/063709; EP1439393 (krav 7); WO2004/044178 (eksempel 4); WO2004/031238; WO2003/042661 (krav 12); WO2002/78524 (eksempel 2); WO2002/86443 (krav 27; side 427); WO2002/60317 (krav 2); aksesjon: P40199; Q14920; EMBL; M29541;

35

AAA59915.1.

EMBL; M18728.

(19) MDP (DPEP1)

5 **Nukleotid**

[0111]

Genbank-aksesjonsnr. BC017023

10 Genbank-versjonsnr. BC017023.1 GI:16877538

Oppdateringsdato for Genbank-post: 6. mars 2012 13:00:00

Polypeptid

15

[0112]

Genbank-aksesjonsnr. AAH17023

Genbank-versjonsnr. AAH17023.1 GI:16877539

Oppdateringsdato for Genbank-post: 6. mars 2012 13:00:00

20

Kryssreferanser

[0113] Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 99 (26):16899-16903 (2002));
25 WO2003/016475 (krav 1); WO2002/64798 (krav 33; side 85-87); JP05003790
(fig. 6-8); WO99/46284 (fig. 9); MIM:179780.

(20) IL20R-alfa (IL20Ra, ZCYTOR7)

Nukleotid

30

[0114]

Genbank-aksesjonsnr. AF184971

Genbank-versjonsnr. AF184971.1 GI:6013324

35 Oppdateringsdato for Genbank-post: 10. mars 2010 22:00:00

Polypeptid**[0115]**

5 Genbank-aksjesjonsnr. AAF01320
 Genbank-versjonsnr. AAF01320.1 GI:6013325
 Oppdateringsdato for Genbank-post: 10. mars 2010 22:00:00

Kryssreferanser

10

[0116] Clark H.F., et al Genome Res. 13, 2265-2270, 2003; Mungall A.J., et al Nature 425, 805-811, 2003; Blumberg H., et al Cell 104, 9-19, 2001; Dumoutier L., et al J. Immunol. 167, 3545-3549, 2001; Parrish-Novak J., et al J. Biol. Chem. 277, 47517-47523, 2002; Pletnev S., et al (2003) 10 Biochemistry 42:12617-12624; Sheikh F., et al (2004) J. Immunol. 172, 2006-2010; EP1394274 (eksempel 11); US2004/005320 (eksempel 5); WO2003/029262 (side 74-75); WO2003/002717 (krav 2; side 63); WO2002/22153 (side 45-47); US2002/042366 (side 20-21); WO2001/46261 (side 57-59); WO2001/46232 (side 63-65); WO98/37193 (krav 1; side 55-9); aksesjon: Q9UHF4; Q6UWA9; Q96SH8; EMBL; AF184971; AAF01320.1.

20

(21) *Brevican (BCAN, BEHAB)*

25

Nukleotid**[0117]**

Genbank-aksjesjonsnr. AF229053
 30 Genbank-versjonsnr. AF229053.1 GI:10798902
 Oppdateringsdato for Genbank-post: 11. mars 2010 00.58

Polypeptid

35

[0118]

Genbank-aksjesjonsnr. AAG23135

Genbank-versjonsnr. AAG23135.1 GI:10798903

Oppdateringsdato for Genbank-post: 11. mars 2010 00.58

Kryssreferanser

5

[0119] Gary S.C., et al Gene 256, 139–147, 2000; Clark H.F., et al Genome Res. 13, 2265-2270, 2003; Strausberg R.L., et al Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 99, 16899-16903, 2002; US2003/186372 (krav 11); US2003/186373 (krav 11); US2003/119131 (krav 1; fig. 52); US2003/119122 (krav 1; 20 fig. 52); US2003/119126 (krav 1); US2003/119121 (krav 1; fig. 52); US2003/119129 (krav 1); US2003/119130 (krav 1); US2003/119128 (krav 1; fig. 52); US2003/119125 (krav 1); WO2003/016475 (krav 1); WO2002/02634 (krav 1)

10

(22) *EphB2R (DRT, ERK, Hek5, EPHT3, Tyro5)*

15

Nukleotid

[0120]

Genbank-aksjesjonsnr. NM_004442

Genbank-versjonsnr. NM_004442,6 GI:111118979

Oppdateringsdato for Genbank-post: 8. september 2012 16:43:00

20

Polypeptid

25

[0121]

Genbank-aksjesjonsnr. NP_004433

Genbank-versjonsnr. NP_004433,2 GI:21396504

Oppdateringsdato for Genbank-post: 8. september 2012 16:43:00

30

Kryssreferanser

[0122] Chan,J. and Watt, V.M., Oncogene 6 (6), 1057-1061 (1991) Oncogene 10 (5):897-905 (1995), Annu. Rev. Neurosci. 21:309-345 (1998), Int. Rev. Cytol. 196:177-244 (2000)); WO2003042661 (krav 12); WO200053216 (krav 1;

35

side 41); WO2004065576 (krav 1); WO2004020583 (krav 9); WO2003004529 (side 128–132); WO200053216 (krav 1; side 42); MIM:600997.

(23) ASLG659 (B7h)

5 **Nukleotid**

[0123]

Genbank-aksesjonsnr. AX092328

10 Genbank-versjonsnr. AX092328.1 GI:13444478

Oppdateringsdato for Genbank-post: 26. januar 2011 07:37

Kryssreferanser

15

[0124] US2004/0101899 (krav 2); WO2003104399 (krav 11); WO2004000221 (fig. 3); US2003/165504 (krav 1); US2003/124140 (eksempel 2); US2003/065143 (fig. 60); WO2002/102235 (krav 13; side 299); US2003/091580 (eksempel 2); WO2002/10187 (krav 6; fig. 10);
20 WO2001/94641 (krav 12; fig. 7b); WO2002/02624 (krav 13; fig. 1A–1B); US2002/034749 (krav 54; side 45–46); WO2002/06317 (eksempel 2; side 320–321, krav 34; side 321–322); WO2002/71928 (side 468–469); WO2002/02587 (eksempel 1; fig. 1); WO2001/40269 (eksempel 3; side 190–192);
25 WO2000/36107 (eksempel 2; side 205–207); WO2004/053079 (krav 12); WO2003/004989 (krav 1); WO2002/71928 (side 233–234, 452–453); WO 01/16318.

(24) PSCA (prostatastamcelleantigenforløper)

Nukleotid

30

[0125]

Genbank-aksesjonsnr. AJ297436

Genbank-versjonsnr. AJ297436.1 GI:9367211

35 Oppdateringsdato for Genbank-post: 1. februar 2011 11.25

Polypeptid**[0126]**

5 Genbank-aksesjonsnr. CAB97347
Genbank-versjonsnr. CAB97347.1 GI:9367212
Oppdateringsdato for Genbank-post: 1. februar 2011 11.25

Kryssreferanser

10

[0127] Reiter R.E., et al Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 95, 1735-1740, 1998;
Gu Z., et al Oncogene 19,
1288-1296, 2000; Biochem. Biophys. Res. Commun. (2000) 275(3):783-788;
15 WO2004/022709; EP1394274 (eksempel 11); US2004/018553 (krav 17);
WO2003/008537 (krav 1); WO2002/81646 (krav 1; side 164); WO2003/003906
(krav 10; side 288); WO2001/40309 (eksempel 1; fig. 17); US2001/055751
(eksempel 1; fig. 1b); WO2000/32752 (krav 18; fig. 1); WO98/51805 (krav 17;
side 97); WO98/51824 (krav 10; side 94); WO98/40403 (krav 2; fig. 1 B);
20 aksesjon: 043653; EMBL; AF043498; AAC39607.1

(25) GEDA**Nukleotid**

25

[0128]

Genbank-aksesjonsnr. AY260763
Genbank-versjonsnr. AY260763.1 GI:30102448
Oppdateringsdato for Genbank-post: 11. mars 2010 02:24:00

30

Polypeptid**[0129]**

35 Genbank-aksesjonsnr. AAP14954
Genbank-versjonsnr. AAP14954.1 GI:30102449
Oppdateringsdato for Genbank-post: 11. mars 2010 02:24:00

Kryssreferanser

5 **[0130]** AP14954 lipom HMGIC-fusjonspartnerlignende protein /pid=AAP14954.1
 - Homo sapiens (human); WO2003/054152 (krav 20); WO2003/000842
 (krav 1); WO2003/023013 (eksempel 3, krav 20); US2003/194704 (krav 45);
 GI:30102449;

(26) BAFF-R (B-celleaktiveringsfaktorreseptor, BLyS-reseptor 3, BR3)

10

Nukleotid**[0131]**

15 Genbank-aksesjonsnr. AF116456
 Genbank-versjonsnr. AF116456.1 GI:4585274
 Oppdateringsdato for Genbank-post: 10. mars 2010 21:44:00

Polypeptid

20

[0132]

Genbank-aksesjonsnr. AAD25356
 Genbank-versjonsnr. AAD25356.1 GI:4585275
 25 Oppdateringsdato for Genbank-post: 10. mars 2010 21:44:00

Kryssreferanser

30 **[0133]** BAFF-reseptor /pid=NP_443177.1 – Homo sapiens: Thompson, J.S., et
 al Science 293 (5537), 2108–2111 (2001); WO2004/058309; WO2004/011611;
 WO2003/045422 (eksempel; side 32–33); WO2003/014294 (krav 35; fig. 6B);
 WO2003/035846 (krav 70; side 615–616); WO2002/94852 (side 136–137);
 WO2002/38766 25 (krav 3; side 133); WO2002/24909 (eksempel 3; fig. 3);
 35 MIM:606269; NP_443177,1; NM_052945_1; AF132600

(27) CD22 (B-cellerreseptor CD22-B-isoform, BL-CAM, Lyb-8, Lyb8, SIGLEC-2, FLJ22814)

Nukleotid**[0134]**

Genbank-aksesjonsnr. AK026467

Genbank-versjonsnr. AK026467.1 GI:10439337

Oppdateringsdato for Genbank-post: 11. september 2006 23:24:00

Polypeptid**[0135]**

Genbank-aksesjonsnr. BAB15489

15 Genbank-versjonsnr. BAB15489.1 GI:10439338

Oppdateringsdato for Genbank-post: 11. september 2006 23:24:00

Kryssreferanser

20

[0136] Wilson et al (1991) J. Exp. Med. 173:137-146; 30 WO2003/072036
(krav 1; fig. 1); IM:107266; NP_001762.1; NM_001771_1.

(27a) CD22 (CD22-molekyl)

Nukleotid**[0137]**

Genbank-aksesjonsnr. X52785

30 Genbank-versjonsnr. X52785.1 GI:29778

Oppdateringsdato for Genbank-post: 2. februar 2011 10:09:00

Polypeptid

35

[0138]

Genbank-aksesjonsnr. CAA36988

Genbank-versjonsnr. CAA36988.1 GI:29779

Oppdateringsdato for Genbank-post: 2. februar 2011 10:09:00

Kryssreferanser

5

[0139]

Stamenkovic I. et al., Nature 345 (6270), 74–77 (1990)??

Annen informasjon

10

Offisielt symbol: CD22

Andre alias: SIGLEC-2, SIGLEC2

Andre betegnelser: B-cellereseptor CD22; B-lymfocytccelleadhesjonsmolekyl; BL-CAM; CD22-antigen; T-celleoverflateantigen Leu-14; sialsyrebindende Ig-lignende lektin 2; sialsyrebindende Ig-lignende lektin 2

15

ANTISTOFFER

20

[0140] G5/44 (inotuzumab): DiJoseph JF., et al Cancer Immunol Immunother. Jan. 2005;54(1):11–24.

[0141] Epratuzumab- Goldenberg DM., et al Expert Rev Anticancer Ther. 6(10): 1341-53, 2006.

25

(28) CD79a (CD79A, CD79alfa), immunglobulinassosiert alfa, et B-cellespesifikt protein som kovalent interagerer med Ig beta (CD79B) og danner et kompleks på overflaten med Ig M

30

[0142] 35 molekyler transduserer et signal involvert i B-celledifferensiering), pl: 4,84, MW: 25028 TM: 2

[0143] [P] Genkromosom: 19q13.2).

Nukleotid

35

[0144]

Genbank-aksesjonsnr. NM_001783

Genbank-versjonsnr. NM_001783,3 GI:90193587

Oppdateringsdato for Genbank-post: 26. juni 2012 13:48:00

Polypeptid

5

[0145]

Genbank-aksesjonsnr. NP_001774

Genbank-versjonsnr. NP_001774,1 GI:4502685

10

Oppdateringsdato for Genbank-post: 26. juni 2012 13:48:00

Kryssreferanser

15

[0146] WO2003/088808, US2003/0228319; WO2003/062401 (krav 9); US2002/150573 (krav 4, side 13–14); WO99/58658 (krav 13, fig. 16); WO92/07574 (fig. 1); US5644033; Ha et al (1992) J. Immunol. 148(5):1526-1531; Müller et al (1992) Eur. J. Immunol.. 22:1621-1625; Hashimoto et al (1994) Immunogenetics 40(4):287-295; Preud'homme et al (1992) Clin. Exp. 5 Immunol. 90(1):141-146; Yu et al (1992) J. Immunol. 148(2) 633-637; Sakaguchi et al (1988) EMBO J. 7(11):3457-3464

20

(29) CXCR5 (Burkitts lymfomreseptor 1, en G-proteinkoblet reseptor som aktiveres av CXCL 13-kjemokinet, fungerer i lymfocyttmigrering og humoralt forsvar, spiller en 10 rolle i HIV-2-infeksjon og kanskje utvikling av aids, lymfom, myelom og leukemi); 372 aa, pl: 8,54 MW: 41959 TM: 7 [P] Genkromosom: 11q23.3,

25

Nukleotid

30

[0147]

Genbank-aksesjonsnr. NM_001716

Genbank-versjonsnr. NM_001716,4 GI:342307092

Oppdateringsdato for Genbank-post: 30. september 2012 13:49:00

35

Polypeptid**[0148]**

5 Genbank-aksesjonsnr. NP_001707
 Genbank-versjonsnr. NP_001707,1 GI:4502415
 Oppdateringsdato for Genbank-post: 30. september 2012 13:49:00

Kryssreferanser

10

[0149] WO2004/040000; WO2004/015426; US2003/105292 (eksempel 2);
 US6555339 (eksempel 2); WO2002/61087 (fig. 1); WO2001/57188 (krav 20,
 side 269); WO2001/72830 (side 12–13); WO2000/22129 (eksempel 1, side
 15 152–153, 15 eksempel 2, side 254–256); WO99/28468 (krav 1, side 38);
 US5440021 (eksempel 2, kol. 49–52); WO94/28931 (side 56–58); WO92/17497
 (krav 7, fig. 5); Dobner et al (1992) Eur. J. Immunol. 22:2795-2799; Barella et
 al (1995) Biochem. J. 309:773-779

20

**(30) HLA-DOB (betaunderenhet av MHC-klasse II-molekyl (Ia-antigen)
 som binder peptider og 20 presenterer dem for CD4+ T-lymfocytter);
 273 aa, pl: 6,56, MW: 30820.TM: 1 [P] Genkromosom: 6p21.3)**

Nukleotid

25

[0150]

Genbank-aksesjonsnr. NM_002120
 Genbank-versjonsnr. NM_002120,3 GI:118402587
 Oppdateringsdato for Genbank-post: 8. september 2012 16:46:00

30

Polypeptid**[0151]**

35 Genbank-aksesjonsnr. NP_002111
 Genbank-versjonsnr. NP_002111,1 GI:4504403
 Oppdateringsdato for Genbank-post: 8. september 2012 16:46:00

Kryssreferanser

- 5 **[0152]** Tonnelle et al (1985) EMBO J. 4(11):2839-2847; Jonsson et al (1989) Immunogenetics 29(6):411-413; Beck et al (1992) J. Mol. Biol. 228:433-441; Strausberg et al (2002) Proc. Natl. Acad. Sci USA 99:16899-16903; Serenius et al (1987) J. Biol. Chem. 262:8759-8766; Beck et al (1996) J. Mol. Biol. 255:1-13; Naruse et al (2002) Tissue Antigens 59:512-519; WO99/58658 (krav 13, fig. 15); US6153408 (kol. 35-38); US5976551 (kol. 168-170); US6011146 (kol. 145-146); Kasahara et al (1989) Immunogenetics 30(1):66-68; Larhammar et al (1985) J. Biol. Chem. 260(26):14111-14119
- 10 **(31) P2X5 (purinergisk reseptor P2X-ligand-gatet ionekanal 5, en ionekanal gatet av ekstracellulær ATP, kan være involvert i synaptisk transmisjon og nevrogenese, mangel kan bidra til patofysiologien av idiopatisk detrusor-ustabilitet); 422 aa, pl: 7.63, MW: 47206 TM: 1 [P] Genkromosom: 17p13.3).**
- 15

Nukleotid

20

[0153]

Genbank-aksesjonsnr. NM_002561

Genbank-versjonsnr. NM_002561,3 GI:325197202

25

Oppdateringsdato for Genbank-post: 27. juni 2012 00.41

Polypeptid

30

[0154]

Genbank-aksesjonsnr. NP_002552

Genbank-versjonsnr. NP_002552,2 GI:28416933

Oppdateringsdato for Genbank-post: 27. juni 2012 00.41

35

Kryssreferanser

[0155] Le et al (1997) FEBS Lett. 418(1-2):195-199; WO2004/047749; WO2003/072035 (krav 10); Touchman et al (2000) Genome Res. 10:165-173; WO2002/22660 (krav 20); WO2003/093444 (krav 1); WO2003/087768 (krav 1); WO2003/029277 (side 82)

(32) CD72 (B-celledifferensieringsantigen CD72, Lyb-2); 359 aa, pI: 8,66, MW: 40225, TM: 1 5 [P] Genkromosom: 9p13.3).

Nukleotid**[0156]**

Genbank-aksesjonsnr. NM_001782

Genbank-versjonsnr. NM_001782,2 GI:194018444

Oppdateringsdato for Genbank-post: 26. juni 2012 13:43:00

Polypeptid**[0157]**

Genbank-aksesjonsnr. NP_001773

Genbank-versjonsnr. NP_001773,1 GI:4502683

Oppdateringsdato for Genbank-post: 26. juni 2012 13:43:00

Kryssreferanser

[0158] WO2004042346 (krav 65); WO2003/026493 (side 51-52, 57-58); WO2000/75655 (side 105-106); Von Hoegen et al (1990) J. Immunol. 144(12):4870-4877; Strausberg et al (2002) Proc. Natl. Acad. Sci USA 99:16899-16903.

(33) L Y64 (lymfocytantigen 64 (RP105), type I-membranprotein av leucinrik repetisjon (LRR)-familien, regulerer B-celleaktivering og apoptose, tap av funksjon er assosiert med økt sykdomsaktivitet hos

pasienter med systemisk lupus erythematosus); 661 aa, pI: 6,20, MW: 74147 TM: 1 [P] Genkromosom: 5q12).

Nukleotid

5

[0159]

Genbank-aksesjonsnr. NM_005582

Genbank-versjonsnr. NM_005582,2 GI:167555126

10 Oppdateringsdato for Genbank-post: 2. september 2012 13:50:00

Polypeptid

15

[0160]

Genbank-aksesjonsnr. NP_005573

Genbank-versjonsnr. NP_005573,2 GI:167555127

Oppdateringsdato for Genbank-post: 2. september 2012 13:50:00

20

Kryssreferanser

[0161] US2002/193567; WO97/07198 (krav 11, side 39–42); Miura et al (1996) 15 Genomics 38(3):299–304; Miura et al (1998) Blood 92:2815–2822; 25 WO2003/083047; WO97/44452 (krav 8, side 57–61); WO2000/12130 (side 24–26).

(34) FcRH1 (Fc-reseptorlignende protein 1, en antatt reseptor for 30 immunglobulin Fc-domenet som inneholder C2 type Ig-lignende og ITAM-domener, kan spille en rolle i B-lymfocyt 20-differensiering); 429 aa, pI: 5,28, MW: 46925 TM: 1 [P] Genkromosom: 1q21-1q22)

Nukleotid

35

[0162]

Genbank-aksesjonsnr. NM_052938

Genbank-versjonsnr. NM_052938,4 GI:226958543

Oppdateringsdato for Genbank-post: 2. september 2012 13:43:00

Polypeptid

5

[0163]

Genbank-aksesjonsnr. NP_443170

Genbank-versjonsnr. NP_443170,1 GI:16418419

Oppdateringsdato for Genbank-post: 2. september 2012 13:43:00

10

Kryssreferanser

15

[0164] WO2003/077836; WO2001/38490 (krav 6, fig. 18E-1-18-E-2); Davis et al (2001) Proc. Natl. Acad. Sci USA 98(17):9772-9777; WO2003/089624 (krav 8); EP1347046 (krav 1); WO2003/089624 (krav 7).

20

(35) IRTA2 (immunglobulinsuperfamilie-reseptortranslokasjonsassosiert 2, en antatt immunreseptor med mulige roller i B-celleutvikling og lymfomagenese; deregulering av genet ved translokasjon skjer i noen B-cellemaligniteter); 977 aa, pI: 6,88, MW: 106468, TM: 1 [P] Genkromosom: 1q21)

Nukleotid

25

[0165]

Genbank-aksesjonsnr. AF343662

Genbank-versjonsnr. AF343662.1 GI:13591709

Oppdateringsdato for Genbank-post: 11. mars 2010 01:16:00

30

Polypeptid

[0166]

35

Genbank-aksesjonsnr. AAK31325

Genbank-versjonsnr. AAK31325.1 GI:13591710

Oppdateringsdato for Genbank-post: 11. mars 2010 01:16:00

Kryssreferanser

5 **[0167]** AF343663, AF343664, AF343665, AF369794, AF397453, AK090423, AK090475, AL834187, AY358085; Mouse:AK089756, AY158090, AY506558; NP_112571.1; WO2003/024392 (krav 2, fig. 97); Nakayama et al (2000) Biochem. Biophys. Res. Commun. 277(1):124-127; WO2003/077836; WO2001/38490 (krav 3, fig. 18B-1-18B-2).

10 **(36) TENB2 (TMEFF2, tomoregulin, TPEF, HPP1, TR, antatt transmembrant 35-proteoglykan, knyttet til EGF/heregulinfamilien av vekstfaktorer og follistatin); 374 aa)**

Nukleotid

15

[0168]

Genbank-aksesjonsnr. AF179274

Genbank-versjonsnr. AF179274.2 GI:12280939

20 Oppdateringsdato for Genbank-post: 11. mars 2010 01:05:00

Polypeptid

25

[0169]

Genbank-aksesjonsnr. AAD55776

Genbank-versjonsnr. AAD55776.2 GI:12280940

Oppdateringsdato for Genbank-post: 11. mars 2010 01:05:00

30

Kryssreferanser

35 **[0170]** NCBI-aksesjon: AAD55776, AAF91397, AAG49451, NCBI RefSeq: NP_057276; NCBI-gen: 23671; OMIM: 605734; SwissProt Q9UIK5; AY358907, CAF85723, CQ782436; WO2004/074320; JP2004113151; WO2003/042661; WO2003/009814; EP1295944 (side 69-70); WO2002/30268 (side 329); WO2001/90304; US2004/249130; US2004/022727; WO2004/063355;

US2004/197325; US2003/232350; 5 US2004/005563; US2003/124579; Horie et al (2000) Genomics 67:146-152; Uchida et al (1999) Biochem. Biophys. Res. Commun. 266:593-602; Liang et al (2000) Cancer Res. 60:4907-12; Glynne-Jones et al (2001) Int J Cancer. Oct 15; 94(2):178-84.

5 **(37) PSMA – FOLH1 (folathydrolase (prostata-spesifikk membranantigen) 1)**

Nukleotid

10

[0171]

Genbank-aksesjonsnr. M99487

Genbank-versjonsnr. M99487.1 GI:190663

Oppdateringsdato for Genbank-post: 23. juni 2010 08:48:00

15

Polypeptid

[0172]

20

Genbank-aksesjonsnr. AAA60209

Genbank-versjonsnr. AAA60209.1 GI:190664

Oppdateringsdato for Genbank-post: 23. juni 2010 08:48:00

Kryssreferanser

25

[0173]

Israeli R.S., et al Cancer Res. 53 (2), 227-230 (1993)

Annen informasjon

30

Offisielt symbol: FOLH1

Andre alias: GIG27, FGCP, FOLH, GCP2, GCPII, NAALAD1, NAALAdase, PSM, PSMA, mGCP

35

[0174] Andre betegnelser: N-acetyllert alfa-bundet sur dipeptidase 1; N-acetyllert alfa-bundet sur dipeptidase I; NAALADase I; cellevekstinhiberende gen 27-protein; folylpoly-gamma-glutamat-karboksy-peptidase; glutamatkarboksy-

lase II; glutamatkarboksypeptidase 2; glutamatkarboksypeptidase II; membranglutamatkarboksypeptidase; prostataspesifikk membranantigenvariant F; pteroylpoly-gamma-glutamat-karboksypeptidase

5 **ANTISTOFFER**

US 7,666,425:

10 **[0175]** Antistoffer produsert av hybridomer med følgende ATCC-referanser: ATCC-aksesjonsnr. HB-12101, ATCC-aksesjonsnr. HB-12109, ATCC-aksesjonsnr. HB-12127 og ATCC-aksesjonsnr. HB-12126.

Proscan: et monoklonalt antistoff valgt fra gruppen bestående av 8H12, 3E11, 17G1, 29B4, 30C1 og 20F2 (US 7,811,564; Moffett S., et al Hybridoma (Larchmt). Des. 2007;26(6):363-72).

15 Cytogen: monoklonale antistoffer 7E11-C5 (ATCC-aksesjonsnr. HB 10494) og 9H10-A4 (ATCC aksesjonsnr. HB11430) - US 5,763,202

GlycoMimetics: NUH2 – ATCC-aksesjonsnr. HB 9762 (US 7,135,301)

20 **[0176]** Human Genome Science: HPRAJ70 – ATCC-aksesjonsnr. 97131 (US 6,824,993); aminosyresekvens kodet av cDNA-klonet (HPRAJ70) deponert som American Type Culture Collection ("ATCC")-depotnr. 97131

Medarex: Anti-PSMA-antistoffer som mangler fukosylrester – US 7,875,278

25 **[0177]** Murine anti-PSMA-antistoffer inkluderer 3F5.4G6, 3D7.1.1, 4E10-1.14, 3E11, 4D8, 3E6, 3C9, 2C7, 1 G3, 3C4, 3C6, 4D4, 1 G9, 5C8B9, 3G6, 4C8B9 og monoklonale antistoffer. Hybridomer som utskiller 3F5.4G6, 3D7.1.1, 4E10-1.14, 30 3E11, 4D8, 3E6, 3C9, 2C7, 1G3, 3C4, 3C6, 4D4, 1G9, 5C8B9, 3G6 eller 4C8B9, er offentlig deponert og beskrives i US-patentnr. 6,159,508. Relevante hybridomer er offentlig deponert og beskrives i US-patentnr. 6,107,090. Humaniserte anti-PSMA-antistoffer, inkludert en humanisert versjon av J591, beskrives i ytterligere detalj i PCT-publikasjon WO 02/098897.

35 **[0178]** Andre murine anti-humane PSMA-antistoffer er beskrevet i teknikken,

slik som mAb 107-1A4 (Wang, S. et al. (2001) Int. J. Cancer 92:871-876) og mAb 2C9 (Kato, K. et al. (2003) Int. J. Urol. 10:439-444).

[0179] Eksempel på humane monoklonale anti-PSMA-antistoffer inkluderer antistoffene 4A3, 7F12, 8C12, 8A11, 16F9, 2A10, 2C6, 2F5 og 1 C3, isolert og strukturelt karakterisert som opprinnelig beskrevet i PCT-publikasjonene WO 01/09192 og WO 03/064606 og i provisorisk US-søknadsnr. 60/654,125, kalt "Human Monoclonal Antibodies to Prostate Specific Membrane Antigen (PSMA)", inngitt 18. februar 2005. V.sub.H-aminosyresekvensene i 4A3, 7F12, 8C12, 8A11, 16F9, 2A10, 2C6, 2F5 og 1 C3 vises i henholdsvis SEQ ID NOs: 1-9. V.sub.L-aminosyresekvensene i 4A3, 7F12, 8C12, 8A11, 16F9, 2A10, 2C6, 2F5 og 1C3 vises i henholdsvis SEQ ID NO: 10-18.

[0180] Andre humane anti-PSMA-antistoffer inkluderer antistoffene beskrevet i PCT-publikasjon WO 03/034903 og US-søknadsnr. 2004/0033229.

[0181] NW Biotherapeutics: En hybridomcellelinje valgt fra gruppen bestående av 3F5.4G6 med ATCC-aksesjonsnummer HB12060, 3D7-1.I. med ATCC-aksesjonsnummer HB12309, 4E10-1.14 med ATCC-aksesjonsnummer HB12310, 3E11 (ATCC HB12488), 4D8 (ATCC HB12487), 3E6 (ATCC HB12486), 3C9 (ATCC HB12484), 2C7 (ATCC HB12490), 1G3 (ATCC HB12489), 3C4 (ATCC HB12494), 3C6 (ATCC HB12491), 4D4 (ATCC HB12493), 1G9 (ATCC HB12495), 5C8B9 (ATCC HB12492) og 3G6 (ATCC HB12485) – se US 6,150,508

[0182] PSMA Development Company / Progenics / Cytogen - Seattle Genetics: mAb 3,9, produsert av hybridomet deponert under ATCC-aksesjonsnr. PTA-3258 eller mAb 10,3, produsert av hybridomet deponert under ATCC-aksesjonsnr. PTA-3347 - US 7,850,971

PSMA Development Company- Sammensetninger av PSMA-antistoffer (US 20080286284, tabell 1)

[0183] Denne patentsøknaden er en del av US-patentsøknadsnr. 10/395,894, inngitt 21. mars 2003 (US 7,850,971) Universitetssykehuset i Freiburg i Tyskland – mAbs 3/A12, 3/E7 og 3/F11 (Wolf P., et al Prostate. Apr. 2010;70(5):562-9).

(38) SST (somatostatinreseptor; merk at det er 5 undertyper)

(38,1) SSTR2 (somatostatinreseptor 2)**Nukleotid**

5

[0184]

Genbank-aksesjonsnr. NM_001050

Genbank-versjonsnr. NMR_001050,2 GI:44890054

10

Oppdateringsdato for Genbank-post: 19. august 2012 13:37:00

Polypeptid

15

[0185]

Genbank-aksesjonsnr. NP_001041

Genbank-versjonsnr. NP_001041,1 GI:4557859

Oppdateringsdato for Genbank-post: 19. august 2012 13:37:00

20

Kryssreferanser**[0186]** Yamada Y., et al Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 89 (1), 251-255 (1992);

Susini C., et al Ann Oncol. 2006 Dec;17(12):1733-42

25

Annen informasjon**[0187]**

Offisielt symbol: SSTR2

30

Andre betegnelser: SRIF-1; SS2R; somatostatinreseptor type 2

(38,2) SSTR5 (somatostatinreseptor 5)**Nukleotid**

35

[0188]

Genbank-aksesjonsnr. D16827

Genbank-versjonsnr. D16827.1 GI:487683

Oppdateringsdato for Genbank-post: 1. august 2006 12.45

5 **Polypeptid**

[0189]

Genbank-aksesjonsnr. BAA04107

10 Genbank-versjonsnr. BAA04107.1 GI:487684

Oppdateringsdato for Genbank-post: 1. august 2006 12.45

Kryssreferanser

15

[0190] Yamada,Y., et al Biochem. Biophys. Res. Commun. 195 (2), 844-852 (1993)

Annen informasjon

20

[0191]

Offisielt symbol: SSTR5

Andre alias: SS-5-R

25 Andre betegnelser: Somatostatinreseptor undertype 5; somatostatinreseptor type 5

(38,3) SSTR1

(38,4)SSTR3

(38,5) SSTR4

30

AvB6 – Begge underenheter (39 + 40)

(39) ITGAV (integrin, alfa V;

35

Nukleotid**[0192]**

5 Genbank-aksesjonsnr. M14648 J02826 M18365
 Genbank-versjonsnr. M14648.1 GI:340306
 Oppdateringsdato for Genbank-post: 23. juni 2010 08:56:00

Polypeptid

10

[0193]

Genbank-aksesjonsnr. AAA36808
 Genbank-versjonsnr. AAA36808.1 GI:340307
 15 Oppdateringsdato for Genbank-post: 23. juni 2010 08:56:00

Kryssreferanser

20 **[0194]** Suzuki S., et al Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 83 (22), 8614-8618 (1986)

Annen informasjon

25

[0195]

Offisielt symbol: ITGAV

Andre alias: CD51, MSK8, VNRA, VTNR

Andre betegnelser: antigen identifisert av monoklonalt antistoff L230; integrin
 alfa-V; integrin alpha-V beta 3; integrin, alfa-V (vitronektinreseptor, alfa-
 30 polypeptid, antigen CD51); vitronektinreseptor underenhet alfa

(40) *ITGB6 (integrin, beta 6)*

Nukleotid

35

[0196]

Genbank-aksesjonsnr. NM_000888

Genbank-versjonsnr. NM_000888,3 GI:9966771

Oppdateringsdato for Genbank-post: 27. juni 2012 00.46

5 **Polypeptid**

[0197]

Genbank-aksesjonsnr. NP_000879

10 Genbank-versjonsnr. NP_000879,2 GI:9625002

Oppdateringsdato for Genbank-post: 27. juni 2012 00.46

Kryssreferanser

15

[0198] Sheppard D.J., et al Biol. Chem. 265 (20), 11502-11507 (1990)

Annen informasjon

20

[0199]

Offisielt symbol: ITGB6

Andre betegnelser: integrin beta-6

25

ANTISTOFFER

[0200] Biogen: US 7,943,742 - hybridomkloner 6.3G9 og 6.8G6 ble deponert hos ATCC, med henholdsvis aksesjonsnummer ATCC PTA-3649 og -3645.

30

[0201] Biogen: US7,465,449 – I noen utførelsesformer omfatter antistoffet samme lett- og tungkjedepolypeptidsekvenser som et antistoff produsert av hybridom 6.1A8, 6.3G9, 6.8G6, 6.2B1, 6.2B10, 6.2A1, 6.2E5, 7.1G10, 7.7G5 eller 7.1C5.

35

Centocor (J&J): US7,550,142; US7,163,681

[0202] For eksempel i US 7,550,142 – et antistoff som har variable regioner i human tung- og lettkjede omfattende aminosyresekvensene vist i SEQ ID NO: 7 og SEQ ID NO: 8.

5

[0203] Seattle Genetics: 15H3 (Ryan MC., et al Cancer Res April 15, 2012; 72(8 Supplement): 4630)

(41) CEACAMS (karsinoembryonisk antigenrelatert celleadhesjonsmolekyl 5)

10

Nukleotid

[0204]

15

Genbank-aksesjonsnr. M17303

Genbank-versjonsnr. M17303.1 GI:178676

Oppdateringsdato for Genbank-post: 23. juni 2010 08:47:00

Polypeptid

20

[0205]

Genbank-aksesjonsnr. AAB59513

Genbank-versjonsnr. AAB59513.1 GI:178677

25

Oppdateringsdato for Genbank-post: 23. juni 2010 08:47:00

Kryssreferanser

30

[0206] Beauchemin N., et al Mol. Cell. Biol. 7 (9), 3221-3230 (1987)

Annen informasjon

35

[0207]

Offisielt symbol: CEACAM5

Andre alias: CD66e, CEA

Andre betegnelser: mekoniumantigen 100

ANTISTOFFER

5

[0208] AstraZeneca-MedImmune:US 20100330103; US20080057063; US20020142359

- for eksempel et antistoff med komplementaritetsbestemmende regioner (CDR-er) med følgende sekvenser: tungkjede; CDR1 – DNYMH, CDR2 – WIDPENGDT E YAPKFRG, CDR3 – LIYAGYLAMD Y; og lettkjede CDR1 – SASSSVTYMH, CDR2 – STSNLAS, CDR3 – QQRSTYPLT.
- Hybridom 806.077 deponert som European Collection of Cell Cultures (ECACC), deponeringsnr. 96022936.

15

[0209] Research Corporation Technologies, Inc.:US5,047,507

[0210] Bayer Corporation: US6,013,772

20

[0211] BioAlliance: US7,982,017; US7,674,605

- US 7 674 605
 - o et antistoff omfattende sekvensen i tungkjedens variable region fra aminosyresekvensen med SEQ ID NO: 1, og sekvensen i lettkjedens variable region fra aminosyresekvensen med SEQ ID NO:2.
 - o et antistoff omfattende sekvensen i tungkjedens variable region fra aminosyresekvensen angitt i SEQ ID NO:5, og sekvensen i lettkjedens variable region fra aminosyresekvensen angitt i SEQ ID NO:6.

30

[0212] Celltech Therapeutics Limited: US5,877,293

[0213] The Dow Chemical Company: US5,472,693; US6,417,337; US6,333,405
 US5,472,693 – for eksempel ATCC-nr. CRL-11215
 US6,417,337 – for eksempel ATCC CRL-12208
 US6,333,405 – for eksempel ATCC CRL-12208

35

[0214] Immunomedics, Inc: US7,534,431; US7,230,084; US7,300,644; US6,730,300;

5 US20110189085

- et antistoff med CDR-er i lettkjedens variable region omfatter: CDR1 omfatter KASQDVGTSVA (SEQ ID NO: 20); CDR2 omfatter WTSTRHT (SEQ ID NO: 21); og CDR3 omfatter QQYSLYRS (SEQ ID NO: 22); og CDR-ene i tungkjedens variable region i anti-CEA-antistoffet omfatter: CDR1 omfatter TYWMS (SEQ ID NO: 23); CDR2 omfatter EIHPDSSTINYAPSLKD (SEQ ID NO: 24); og CDR3 omfatter LYFGFPWFAY (SEQ ID NO: 25).

10

US20100221175; US20090092598; US20070202044; US20110064653; US20090185974; US20080069775.

15

(42) MET (met-*proto-onkogen*; hepatocyttevekstfaktorreseptor)

Nukleotid

20

[0215]

Genbank-aksesjonsnr. M35073

Genbank-versjonsnr. M35073.1 GI:187553

Oppdateringsdato for Genbank-post: 6. mars 2012 11:12:00

25

Polypeptid

[0216]

Genbank-aksesjonsnr. AAA59589

30

Genbank-versjonsnr. AAA59589.1 GI:553531

Oppdateringsdato for Genbank-post: 6. mars 2012 11:12:00

Kryssreferanser

35

[0217] Dean M., et al Nature 318 (6044), 385–388 (1985)

Annen informasjon**[0218]**

5

Offisielt symbol: MET

Andre alias: AUTS9, HGFR, RCCP2, c-Met

Andre betegnelser: HGF-reseptor; HGF/SF-reseptor; SF-reseptor; hepatocyttevekstfaktorreseptor; met-proto-onkogentyrosinkinase; proto-onkogen-c-Met; spredningsfaktorreseptor; tyrosin-proteinkinase-Met

10

ANTISTOFFER**Abgenix/Pfizer: US20100040629**

15

[0219] for eksempel antistoffet produsert av hybridom 13.3.2 med American Type Culture Collection (ATCC)-aksesjonsnummer PTA-5026; antistoffet produsert av hybridom 9.1.2 med ATCC-aksesjonsnummer PTA-5027; antistoffet produsert av hybridom 8.70.2 med ATCC-aksesjonsnummer PTA-5028; eller antistoffet produsert av hybridom 6.90.3 med ATCC-aksesjonsnummer PTA-5029.

20

Amgen/Pfizer: US20050054019

25

[0220] for eksempel et antistoff omfattende en tungkjede med aminosyresekvensene angitt i SEQ ID NO: 2 hvor X2 er glutamat og X4 er serin, og en lettkjede med aminosyresekvensen angitt i SEQ ID NO: 4 hvor X8 er alanin, uten signalsekvensene; et antistoff omfattende en tungkjede med aminosyresekvensene angitt i SEQ ID NO: 6, og en lettkjede med aminosyresekvensen angitt i SEQ ID NO: 8, uten signalsekvensene; et antistoff omfattende en tungkjede med aminosyresekvensene angitt i SEQ ID NO: 10, og en lettkjede med aminosyresekvensen angitt i SEQ ID NO: 12, uten signalsekvensene; eller et antistoff omfattende en tungkjede som har aminosyresekvensene angitt i SEQ ID NO: 14, og en lettkjede med aminosyresekvensen angitt i SEQ ID NO: 16, uten signalsekvensene.

30

35

[0221] Agouron Pharmaceuticals (nå Pfizer): US20060035907

[0222] Eli Lilly: US20100129369

[0223] Genentech: US5,686,292; US20100028337; US20100016241;
 5 US20070129301; US20070098707; US20070092520, US20060270594;
 US20060134104; US20060035278; US20050233960; US20050037431
 US 5,686,292 - for eksempel ATCC HB-11894 og ATCC HB-11895
 US 20100016241 - for eksempel ATCC HB-11894 (hybridom 1A3.3.13) eller HB-
 11895 (hybridom 5D5.11.6)

[0224] National Defense Medical Center, Taiwan: Lu RM., et al Biomaterials.
 Apr. 2011;32(12):3265-74.

[0225] Novartis: US20090175860

- for eksempel et antistoff omfattende sekvensene i CDR1, CDR2 og CDR3 i
 tungkjede 4687, hvori sekvensene i CDR1, CDR2 og CDR3 i tungkjede
 4687 henholdsvis er restene 26-35, 50-65 og 98-102 angitt i SEQ ID
 NO: 58; og sekvensene CDR1, CDR2 og CDR3 i lettkjede 5097, hvori
 sekvensene CDR1, CDR2 og CDR3 i lettkjede 5097 er restene 24-39, 55-
 61 og 94-100 i SEQ ID NO: 37.

[0226] Pharmacia Corporation: US20040166544

[0227] Pierre Fabre: US20110239316, US20110097262, US20100115639

[0228] Sumsung: US 20110129481 - for eksempel et monoklonalt antistoff
 produsert fra en hydridomcelle med aksesjonsnummer KCLRF-BP-00219 eller
 aksesjonsnummer KCLRF-BP-00223.

[0229] Samsung: US 20110104176 - for eksempel et antistoff produsert av en
 hydridomcelle med aksesjonsnummer: KCLRF-BP-00220.

[0230] University of Turin Medical School: DN-30 Pacchiana G., et al J Biol
 Chem. 12. nov. 2010;285(46):36149-57

[0231] Van Andel Research Institute: Jiao Y., et al Mol Biotechnol. Sep. 2005;31(1):41-54.

(43) MUC1 (Mucin 1, celleoverflateassosiert)

5

Nukleotid

[0232]

10

Genbank-aksesjonsnr. J05581

Genbank-versjonsnr. J05581.1 GI:188869

Oppdateringsdato for Genbank-post: 23. juni 2010 08:48:00

Polypeptid

15

[0233]

Genbank-aksesjonsnr. AAA59876

Genbank-versjonsnr. AAA59876.1 GI:188870

20

Oppdateringsdato for Genbank-post: 23. juni 2010 08:48:00

Kryssreferanser

25

[0234] Gendler S.J., et al J. Biol. Chem. 265 (25), 15286-15293 (1990)

Annen informasjon

[0235]

30

Offisielt symbol: MUC1

Andre alias: RP11-263K19.2, CD227, EMA, H23AG, KL-6, MAM6, MUC-1, MUC-1/SEC, MUC-1/X, MUC1/ZD, PEM, PEMT, PUM

Andre betegnelser: DF3-antigen; H23-antigen; brystkarsinomassosiert antigen DF3; karsinomassosiert mucin; episialin; krebs von den Lungen-6; mucin 1, transmembran; mucin-1; peanøttreaktivt urinært mucin; polymorf epitelialt mucin; tumorassosiert epitelialt mucin; tumorassosiert epitelialt membranantigen; tumorassosiert mucin

35

ANTISTOFFER

- 5 **[0236]** AltaRex- Quest Pharma Tech: US 6,716,966 – for eksempel et Alt-1-antistoff produsert av hybridomet ATCC-nr. PTA-975.
- [0237]** AltaRex- Quest Pharma Tech: US7,147,850
- 10 **[0238]** CRT: 5E5 – Sorensen AL., et al Glycobiologyvol. 16 nr. 2 s. 96-107, 2006; HMFG2 - Burchell J., et al Cancer Res., 47, 5476-5482 (1987)
- [0239]** Glykotope GT-MAB: GT-MAB 2,5-GEX (nettsted: <http://www.glykotope.com/pipeline/pankomab-gex>)
- 15 **[0240]** Immunogen: US7,202,346
- for eksempel antistoff MJ-170: hybridomcellelinje MJ-170 ATCC-aksesjonsnr. PTA-5286; monoklonalt antistoff MJ-171: hybridomcellelinje MJ-171 ATCC-aksesjonsnr. PTA-5287; monoklonalt antistoff MJ-172: hybridomcellelinje MJ-172 ATCC-aksesjonsnr. PTA-5288; monoklonalt antistoff MJ-173: hybridomcellelinje MJ-173 ATCC-aksesjonsnr. PTA-5302
- 20 **[0241]** Immunomedics: US 6 653 104
- 25 **[0242]** Ramot Tel Aviv Uni: US7,897,351
- [0243]** Regents Uni. CA: US 7,183,388; US20040005647; US20030077676.
- 30 **[0244]** Roche GlycArt: US8,021,856
- [0245]** Russian National Cancer Research Center: Imuteran- Ivanov PK., et al Biotechnol J. 2007 Jul;2(7):863–70
- 35 **[0246]** Technische Univ Braunschweig: (IIB6, HT186-B7, HT186-D11, HT186-G2, HT200-3A-C1, HT220-M-D1, HT220-M-G8) – Thie H., et al PLoS One. 14. jan. 2011;6(1):e15921

(44) CA9 (karbonanhydrase IX)**Nukleotid**

5

[0247]

Genbank-aksesjonsnr. X66839

Genbank-versjonsnr. X66839.1 GI:1000701

Oppdateringsdato for Genbank-post: 2. februar 2011 10:15:00

10

Polypeptid**[0248]**

15

Genbank-aksesjonsnr. CAA47315

Genbank-versjonsnr. CAA47315.1 GI:1000702

Oppdateringsdato for Genbank-post: 2. februar 2011 10:15:00

Kryssreferanser

20

[0249] Pastorek J., et al Oncogene 9 (10), 2877–2888 (1994)**Annen informasjon**

25

[0250]

Offisielt symbol: CA9

Andre alias: CAIX, MN

30

Andre betegnelser: CA-IX; P54/58N; RCC-assosiert antigen G250; RCC-assosiert protein G250; karbonatdehydratase IX; karbonanhydrase 9; karbonddehydratase; membranantigen MN; pMW1; nyrecellekarsinomassosiert antigen G250

ANTISTOFFER

35

[0251] Abgenix/Amgen: US20040018198

[0252] Affibody: Anti-CAIX Affibody-molekyler
(<http://www.affibody.com/en/Product-Portfolio/Pipeline/>)

5 **[0253]** Bayer: US7,462,696

[0254] Bayer/Morphosys: 3ee9 mAb – Petrul HM., et al Mol Cancer Ther. Feb. 2012;11 (2):340–9

10 **[0255]** Harvard Medical School: Antistoffer G10, G36, G37, G39, G45, G57, G106, G119, G6, G27, G40 og G125. Xu C., et al PLoS One. 10. mar. 2010;5(3):e9625

15 **[0256]** Institute of Virology, Slovak Academy of Sciences (Bayer) – US5,955,075

- for eksempel M75- ATCC-aksesjonsnr. HB 11128 eller MN12 – ATCC-aksesjonsnr. HB 11647

20 **[0257]** Institute of Virology, Slovak Academy of Sciences: US7,816,493

- for eksempel det monoklonale M75-antistoffet som utskilles fra hybridomet VU-M75, som ble deponert ved American Type Culture Collection under ATCC-nr. HB 11128; eller det monoklonale V/10-antistoffet som utskilles fra hybridomet V/10-VU, som ble deponert ved

25 International Depository Authority og Belgian Coordinated Collection of Microorganisms (BCCM) ved Laboratorium voor Moleculaire Biologie-Plasmidencollectie (LMBP) ved Universiteit Gent i Gent i Belgia under aksesjonsnr. LMBP 6009CB.

30 **[0258]** Institute of Virology, Slovak Academy of Sciences US20080177046; US20080176310; US20080176258; US20050031623

[0259] Novartis: US20090252738

35 **[0260]** Willex: US7,691,375 – for eksempel antistoffet produsert av hybridomcellelinjen DSM ASC 2526.

[0261] Willex: US20110123537; Rencarex: Kennett RH., et al Curr Opin Mol Ther. Feb. 2003;5(1):70–5

5 **[0262]** Xencor: US20090162382

(45) EGFRvIII (epidermal vekstfaktorreseptor (EGFR), transkriptvariant 3,

Nukleotid

10

[0263]

Genbank-aksesjonsnr. NM_201283

Genbank-versjonsnr. NM_201283,1 GI:41327733

15

Oppdateringsdato for Genbank-post: 30. september 2012 13:47:00

Polypeptid

20

[0264]

Genbank-aksesjonsnr. NP_958440

Genbank-versjonsnr. NP_958440,1 GI:41327734

Oppdateringsdato for Genbank-post: 30. september 2012 13:47:00

25

Kryssreferanser

[0265] Batra SK., et al *Cell Growth Differ* 1995;6:1251–1259.

ANTISTOFFER:

30

US7,628,986 og US7,736,644 (Amgen)

35

[0266] For eksempel en aminosyresekvens i en tungkjedes variable region valgt fra gruppen bestående av SEQ ID NO: 142 og varianter, og en aminosyresekvens i lettkjedens variable region valgt fra gruppen bestående av: SEQ ID NO: 144 og varianter.

US20100111979 (Amgen)

[0267] For eksempel et antistoff omfattende en tungkjede-aminosyresekvens omfattende:

CDR1 bestående av en sekvens valgt fra gruppen bestående av aminosyre-sekvensene for CDR1-regionen i antistoffer 13.1.2 (SEQ ID NO: 138), 131 (SEQ ID NO: 2), 170 (SEQ ID NO: 4), 150 (SEQ ID NO: 5), 095 (SEQ ID NO: 7), 250 (SEQ ID NO: 9), 139 (SEQ ID NO: 10), 211 (SEQ ID NO: 12), 124 (SEQ ID NO: 13), 318 (SEQ ID NO: 15), 342 (SEQ ID NO: 16) og 333 (SEQ ID NO: 17);

CDR2 bestående av en sekvens valgt fra gruppen bestående av aminosyre-sekvensene for CDR2-regionen i antistoffer 13.1.2 (SEQ ID NO: 138), 131 (SEQ ID NO: 2), 170 (SEQ ID NO: 4), 150 (SEQ ID NO: 5), 095 (SEQ ID NO: 7), 250 (SEQ ID NO: 9), 139 (SEQ ID NO: 10), 211 (SEQ ID NO: 12), 124 (SEQ ID NO: 13), 318 (SEQ ID NO: 15), 342 (SEQ ID NO: 16) og 333 (SEQ ID NO: 17); og

CDR3 bestående av en sekvens valgt fra gruppen bestående av aminosyre-sekvensene for CDR3-regionen i antistoffer 13.1.2 (SEQ ID NO: 138), 131 (SEQ ID NO: 2), 170 (SEQ ID NO: 4), 150 (SEQ ID NO: 5), 095 (SEQ ID NO: 7), 250 (SEQ ID NO: 9), 139 (SEQ ID NO: 10), 211 (SEQ ID NO: 12), 124 (SEQ ID NO: 13), 318 (SEQ ID NO: 15), 342 (SEQ ID NO: 16) og 333 (SEQ ID NO: 17).

US20090240038 (Amgen)

[0268] For eksempel omfatter et antistoff med minst ett av tung- eller lettkjede-polypeptidene en aminosyresekvens som er minst 90 % identisk med aminosyresekvensen valgt fra gruppen bestående av: SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 142, SEQ ID NO: 144, og hvilken som helst kombinasjon derav.

US20090175887 (Amgen)

[0269] For eksempel et antistoff med en tungkjede-aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av tungkjede-aminosyresekvensen i antistoff 13.1.2 (SEQ ID NO: 138), 131 (SEQ ID NO: 2), 170 (SEQ ID NO: 4), 150 (SEQ ID NO: 5), 095 (SEQ ID NO: 7), 250 (SEQ ID NO: 9), 139 (SEQ ID NO: 10), 211 (SEQ ID NO: 12), 124 (SEQ ID NO: 13), 318 (SEQ ID NO: 15), 342 (SEQ ID NO: 16) og 333 (SEQ ID NO: 17).

12), 124 (SEQ ID NO: 13), 318 (SEQ ID NO: 15), 342 (SEQ ID NO: 16) og 333 (SEQ ID NO: 17).

US20090156790 (Amgen)

5

[0270] For eksempel antistoff med tungkjede-polypeptid og et lettkjede-polypeptid, hvori minst ett av tung- eller lettkjede-polypeptidene omfatter en aminosyresekvens som er minst 90 % identisk med aminosyresekvensen valgt fra gruppen bestående av: SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 142, SEQ ID NO: 144, og hvilken som helst kombinasjon derav.

10

US20090155282, US20050059087 og US20050053608 (Amgen)

15

[0271] For eksempel en tungkjede-aminosyresekvens i et antistoff valgt fra gruppen bestående av tungkjede-aminosyresekvensen i antistoff 13.1.2 (SEQ ID NO: 138), 131 (SEQ ID NO: 2), 170 (SEQ ID NO: 4), 150 (SEQ ID NO: 5), 095 (SEQ ID NO: 7), 250 (SEQ ID NO: 9), 139 (SEQ ID NO: 10), 211 (SEQ ID NO: 12), 124 (SEQ ID NO: 13), 318 (SEQ ID NO: 15), 342 (SEQ ID NO: 16) og 333 (SEQ ID NO: 17).

20

MR1-1 (US7,129,332; Duke)

25

[0272] For eksempel et alternativt antistoff med sekvensen angitt i SEQ ID NO. 18 med substitusjonene S98P-T99Y i CDR3 VH og F92W i CDR3 VL.

[0273] L8A4, H10, Y10 (Wikstrand CJ., et al Cancer Res. 15. jul. 1995;55(14):3140-8; Duke)

US20090311803 (Harvard University)

30

[0274] For eksempel SEQ ID NO:9 for den variable regionen i antistoffets tungkjede, og SEQ ID NO: 3 for aminosyresekvenser i den variable regionen i lettkjeden

35

US20070274991 (EMD72000, også kjent som matuzumab; Harvard University)

[0275] For eksempel SEQ ID NO: 3 og 9 for henholdsvis lettkjeden og tungkjeden

US6,129,915 (Schering)

5

[0276] For eksempel SEQ. ID NO: 1, 2, 3, 4, 5 og 6.

[0277] mAb CH12 - Wang H., et al FASEB J. 2012 Jan;26(1):73-80 (Shanghai Cancer Institute).

10

[0278] RAbDMvIII - Gupta P., et al BMC Biotechnol. 7. okt. 2010;10:72 (Stanford University Medical Center).

[0279] mAb Ua30 - Ohman L., et al Tumour Biol. Mar.-apr. 2002;23(2):61-9 (Uppsala universitet).

15

[0280] Han DG., et al Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao. Jan. 2010;30(1):25-9 (Xi'an Jiaotong University).

20

(46) CD33 (CD33-molekyl)

Nukleotid

[0281]

Genbank-aksesjonsnr. M_23197

Genbank-versjonsnr. NM_23197,1 GI:180097

Oppdateringsdato for Genbank-post: 23. juni 2010 08:47:00

25

Polypeptid

[0282]

Genbank-aksesjonsnr. AAA51948

Genbank-versjonsnr. AAA51948.1 GI:188098

Oppdateringsdato for Genbank-post: 23. juni 2010 08:47:00

30

35

Kryssreferanser

[0283] Simmons D., et al J. Immunol. 141 (8), 2797-2800 (1988)

5 **Annen informasjon**

[0284]

Offisielt symbol: CD33

10 Andre alias: SIGLEC-3, SIGLEC3, p67

Andre betegnelser: CD33-antigen (gp67); gp67; myeloid celleoverflateantigen CD33; sialsyrebindende Ig-lignende lektin 3; sialsyrebindende Ig-lignende lektin

ANTISTOFFER

15

[0285] H195 (Lintuzumab)- Raza A., et al Leuk Lymphoma. 2009 Aug;50(8):1336-44; US6,759,045 (Seattle Genetics/Immunomedics)

20 **[0286]** mAb OKT9: Sutherland, D.R. et al. Proc Natl Acad Sci USA 78(7): 4515-4519 1981, Schneider,C., et al J Biol Chem 257, 8516-8522 (1982)

[0287] mAb E6: Hoogenboom, H.R., et al J Immunol 144, 3211-3217 (1990)

US6,590,088 (Human Genome Sciences)

25

[0288] For eksempel SEQ ID NO: 1 og 2 og ATCC-aksesjonsnr. 97521

US7,557,189 (Immunogen)

30

[0289] For eksempel et antistoff eller fragment derav omfattende en variabel region i tungkjeden, som omfatter tre CDR-er med aminosyresekvensene angitt i SEQ ID NO:1-3 og en variabel region i lett kjeden omfattende tre CDR-er med aminosyresekvensene angitt i SEQ ID NO:4-6.

35

(47) CD19 (CD19-molekyl)

Nukleotid**[0290]**

5 Genbank-aksesjonsnr. NM_001178098
 Genbank-versjonsnr. NM_001178098,1 GI:296010920
 Oppdateringsdato for Genbank-post: 10. september 2012 12.43

Polypeptid

10

[0291]

Genbank-aksesjonsnr. NP_001171569
 Genbank-versjonsnr. NP_001171569,1 GI:296010921
 15 Oppdateringsdato for Genbank-post: 10. september 2012 12.43

Kryssreferanser

20 **[0292]** Tedder TF., et al J. Immunol. 143 (2): 712-7 (1989)

Annen informasjon**[0293]**

25 Offisielt symbol: CD19
 Andre alias: B4, CVID3
 Andre betegnelser: B-lymfocytantigen CD19; B-lymfocyttoverflateantigen B4; T-celleoverflateantigen Leu-12; differensieringsantigen CD19

30 ***ANTISTOFFER***

[0294] Immunogen: HuB4 – Al-Katib AM., et al Clin Cancer Res. 15. jun. 2009;15(12):4038–45.

35

[0295] 4G7: Kügler M., et al Protein Eng Des Sel. Mar. 2009;22(3):135–47

[0296] For eksempel sekvenser i fig. 3 av av Knappik, A. et al. J Mol Biol 2000 Feb;296(1):57-86

5 **[0297]** AstraZeneca /MedImmune: MEDI-551 – Herbst R., et al J Pharmacol Exp Ther. Okt. 2010;335(1):213-22

[0298] Glenmark Pharmaceuticals: GBR-401 – Hou S., et al Mol Cancer Ther, november 2011 10 (Meeting Abstract Supplement) C164

10 **US7,109,304 (Immunomedics)**

[0299] For eksempel et antistoff omfattende sekvensen i hA19Vk (SEQ ID NO:7) og sekvensen i hA19VH (SEQ ID NO:10)

15 **US7,902,338 (Immunomedics)**

[0300] For eksempel et antistoff eller antigenbindende fragment derav som omfatter sekvensene CDR1 i lett kjedens komplementaritetsbestemmende CDR angitt i SEQ ID NO: 16 (KASQSVDYDGDSYLN); CDR2 angitt i SEQ ID NO: 17 (DASNLSV); og CDR3 angitt i SEQ ID NO: 18 (QQSTEDPWT) og tungkjedens CDR-sekvenser CDR1 angitt i SEQ ID NO: 19 (SYWMN); CDR2 angitt i SEQ ID NO: 20 (QIWPGDGDNTYNGKFKG) og CDR3 angitt i SEQ ID NO: 21 (RETTTVGRYYYAMDY), og omfatter også human antistoffstruktur (FR) og sekvenser i den konstante regionen med én eller flere struktureregion-aminosyrerester substituert fra tilsvarende struktureregion-sekvenser i det murine morantistoffet, og hvori de substituerte FR-restene omfatter substitusjon av serin for fenylalanin ved Kabat-rest 91 i tungkjedens variable region.

30 **[0301]** Medarex: MDX-1342 – Cardarelli PM., et al Cancer Immunol Immunofher. Feb. 2010;59(2):257-65.

[0302] MorphoSys /Xencor: MOR-208/XmAb-5574 – Zalevsky J., et al Blood. 16. apr. 2009;113(16):3735-43

35 **US7,968,687 (Seattle Genetics)**

[0303] Et antistoff eller antigenbindende fragment omfattende et variabelt domene fra tungkjeden omfattende aminosyresekvensen angitt i SEQ ID NO:9 og et variabelt domene fra lett kjeden omfattende aminosyresekvensen angitt i SEQ ID NO: 24.

4G7 chim – Lang P., et al Blood. 15. mai 2004;103(10):3982–5 (University of Tübingen)

[0304] For eksempel fig. 6 og SEQ ID No: 80 av US20120082664

[0305] Zhejiang University School of Medicine: 2E8 – Zhang J., et al J Drug Target. Nov. 2010;18(9):675–8

(48) IL2RA (interleukin 2-reseptor, alfa); NCBI-referansesekvens: NM_000417.2);

Nukleotid

[0306]

Genbank-aksesjonsnr. NM_000417

Genbank-versjonsnr. NM_000417.2 GI:269973860

Oppdateringsdato for Genbank-post: 9. september 2012 16.59

Polypeptid

[0307]

Genbank-aksesjonsnr. NP_000408

Genbank-versjonsnr. NP_000408.1 GI:4557667

Oppdateringsdato for Genbank-post: 9. september 2012 16.59

Kryssreferanser

[0308] Kuziel W.A., et al J. Invest. Dermatol. 94 (6 SUPPL), 27S–32S (1990)

Annen informasjon

[0309]

Offisielt symbol: IL2RA

5 Andre alias: RP11-536K7.1, CD25, IDDM10, IL2R, TCGFR

Andre betegnelser: FIL-2-reseptor underenhet alfa; IL-2-RA; IL-2R-underenhet alfa; IL2-RA; TAC-antigen; interleukin-2-reseptor underenhet alfa; p55

ANTISTOFFER

10

[0310] US6,383,487 (Novartis/UCL: Baxilisimab [Simulect])

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

15

[0311] For eksempel omfatter et antistoff med et antigenbindingssted minst ett domene som omfatter CDR1 med aminosyresekvensen i SEQ ID NO: 7, CDR2 med aminosyresekvensen i SEQ. ID. NO: 8, og CDR3 med aminosyresekvensen i SEQ. ID. NO: 9; eller CDR1, CDR2 og CDR3 tatt i sekvens som en helhet
20 omfatter en aminosyresekvens som er minst 90 % identisk med SEQ. ID. NO: 7, 8 og 9 tatt i sekvens som en helhet.

[0312] Daclizumab – Rech AJ., et al Ann N Y Acad Sci. 2009 Sep;1174:99–106 (Roche)

25

(49) AXL (AXL-reseptortyrosinkinase)

Nukleotid

30

[0313]

Genbank-aksesjonsnr. M76125

Genbank-versjonsnr. M76125.1 GI:292869

Oppdateringsdato for Genbank-post: 23. juni 2010 08:53:00

35

Polypeptid**[0314]**

5 Genbank-aksesjonsnr. AAA61243
 Genbank-versjonsnr. AAA61243.1 GI:29870
 Oppdateringsdato for Genbank-post: 23. juni 2010 08:53:00

Kryssreferanser

10

[0315] O'Bryan J.P., et al Mol. Cell. Biol. 11 (10), 5016-5031 (1991); Bergsagel P.L., et al J. Immunol. 148 (2), 590-596 (1992)

15

Annen informasjon**[0316]**

Offisielt symbol: AXL
 20 Andre alias: JTK11, UFO
 Andre betegnelser: AXL-onkogen; AXL-transformerende sekvens/gen; onkogen AXL; tyrosinproteinkinasereseptor UFO

ANTISTOFFER

25

[0317] YW327.6S2 - Ye X., et al Oncogene. 23. sep. 2010;29(38):5254-64. (Genentech)

30

[0318] BergenBio: BGB324 (<http://www.bergenbio.com/BGB324>)
(50) CD30 – TNFRSF8 (tumornekrosefaktorreseptor-superfamilie, medlem 8)

Nukleotid

35

[0319]

Genbank-aksesjonsnr. M83554

Genbank-versjonsnr. M83554.1 GI:180095

Oppdateringsdato for Genbank-post: 23. juni 2010 08:53:00

5 **Polypeptid**

[0320]

Genbank-aksesjonsnr. AAA51947

10 Genbank-versjonsnr. AAA51947.1 GI:180096

Oppdateringsdato for Genbank-post: 23. juni 2010 08:53:00

Kryssreferanser

15

[0321] Durkop H., et al Cell 68 (3), 421–427 (1992)

Annen informasjon

20

[0322]

Offisielt symbol: TNFRSF8

Andre alias: CD30, D1S166E, Ki-1

25 Andre betegnelser: CD30L-reseptor; Ki-1-antigen; cytokinreseptor CD30;
lymfocytaktiverende antigen CD30; tumornekrosefaktorreseptor-superfamilie,
medlem 8

(51) BCMA (B-cellemodningsantigen) – TNFRSF17
(tumornekrosefaktorreseptor-superfamilie, medlem 17)

30

Nukleotid

[0323]

35 Genbank-aksesjonsnr. Z29574

Genbank-versjonsnr. Z29574.1 GI:471244

Oppdateringsdato for Genbank-post: 2. februar 2011 10:40:00

Polypeptid5 **[0324]**

Genbank-aksesjonsnr. CAA82690

Genbank-versjonsnr. CAA82690.1 GI:471245

Oppdateringsdato for Genbank-post: 2. februar 2011 10:40:00

10 **Kryssreferanser**

[0325] Laabi Y., et al Nucleic Acids Res. 22 (7), 1147-1154 (1994)

15 **Annen informasjon****[0326]**

Offisielt symbol: TNFRSF17

20 Andre alias: BCM, BCMA, CD269

Andre betegnelser: B-cellemodningsantigen; B-cellemodningsfaktor; B-cellemodningsprotein; tumornekrosefaktorreseptor-superfamilie, medlem 17

(52) CT Ags – CTA (cancertestikkelantigener)

25

Kryssreferanser

[0327] Fratta E., et al. Mol Oncol. 2011 Apr;5(2):164-82; Lim SH., et al Am J Blood Res. 2012;2(1):29-35.

30

(53) CD 174 (Lewis Y) – FUT3 (fukosyltransferase 3 (galaktosid 3(4)-L-fukosyltransferase, Lewis' blodgruppe)

Nukleotid

35

[0328]

Genbank-aksesjonsnr. NM000149

Genbank-versjonsnr. NM000149.3 GI:148277008

Oppdateringsdato for Genbank-post: 26. juni 2012 16:49:00

5 **Polypeptid**

[0329]

Genbank-aksesjonsnr. NP_000140

10 Genbank-versjonsnr. NP_000140,1 GI:4503809

Oppdateringsdato for Genbank-post: 26. juni 2012 16:49:00

Kryssreferanser

15

[0330] Kukowska-Latallo, J.F., et al Genes Dev. 4 (8), 1288-1303 (1990)

Annen informasjon

20

[0331]

Offisielt symbol: FUT3

Andre alias: CD174, FT3B, FucT-III, LE, Les

Andre betegnelser: Lewis FT; alfa-(1,3/1,4)-fukosyltransferase; blodgruppe

25 Lewis alfa-4-fukosyltransferase; fukosyltransferase III; galaktosid 3(4)-L-fukosyltransferase

(54) CLEC14A (C-type lektindomenefamilie 14, medlem A; Genbank-aksesjonsnr. NM175060)

30

Nukleotid

[0332]

35 Genbank-aksesjonsnr. NM175060

Genbank-versjonsnr. NM175060.2 GI:371123930

Oppdateringsdato for Genbank-post: 1. april 2012 15:34

Polypeptid5 **[0333]**

Genbank-aksesjonsnr. NP_778230

Genbank-versjonsnr. NP_778230,1 GI:28269707

Oppdateringsdato for Genbank-post: 1. april 2012 15:34

10 **Annen informasjon****[0334]**

Offisielt symbol: CLEC14A

15 Andre alias: UNQ236/PR0269, C14orf27, CEG1, EGFR-5

Andre betegnelser: C-type lektindomenefamilie 14, medlem A; CIECT og EGF-lignende domene inneholdende protein; epidermal vekstfaktorreseptor 5

20 ***(55) GRP78 – HSPA5 (varmesjokk 70 kDa-protein 5 (glukoseregulert protein, 78 kDa)***

Nukleotid25 **[0335]**

Genbank-aksesjonsnr. NM005347

Genbank-versjonsnr. NM005347.4 GI:305855105

Oppdateringsdato for Genbank-post: 30. september 2012 13:42:00

30 **Polypeptid****[0336]**

Genbank-aksesjonsnr. NP_005338

35 Genbank-versjonsnr. NP_005338,1 GI:16507237

Oppdateringsdato for Genbank-post: 30. september 2012 13:42:00

Kryssreferanser

[0337] Ting J., et al DNA 7 (4), 275–286 (1988)

5

Annen informasjon**[0338]**

10

Offisielt symbol: HSPA5

Andre alias: BIP, GRP78, MIF2

Andre betegnelser: 78 kDa glukoseregulert protein; endoplasmisk retikulumlumenalt Ca(2+)-bindingsprotein grp78; immunglobulin-tungkjede-bindingsprotein

15

(56) CD70 (CD70-molekyl) L08096

Nukleotid

20

[0339]

Genbank-aksesjonsnr. L08096

Genbank-versjonsnr. L08096.1 GI:307127

Oppdateringsdato for Genbank-post: 23. juni 2012 08:54:00

25

Polypeptid**[0340]**

30

Genbank-aksesjonsnr. AAA36175

Genbank-versjonsnr. AAA36175.1 GI:307128

Oppdateringsdato for Genbank-post: 23. juni 2012 08:54:00

Kryssreferanser

35

[0341] Goodwin R.G., et al Cell 73 (3), 447–456 (1993)

Annen informasjon**[0342]**

5

Offisielt symbol: CD70

Andre alias: CD27L, CD27LG, TNFSF7

Andre betegnelser: CD27-ligand; CD27-L; CD70-antigen; Ki-24-antigen; overflateantigen CD70; tumornekrosefaktor(ligand)-superfamilie, komponent 7; tumornekrosefaktorligand-superfamilie, medlem 7

10

ANTISTOFFER**[0343]** MDX-1411 mot CD70 (Medarex)

15

h1 F6 (Oflazoglu, E., et al, Clin Cancer Res. 1. okt. 2008;14(19):6171–80; Seattle Genetics)

[0344] Se for eksempel US20060083736 SEQ ID NO: 1, 2, 11 og 12 og fig. 1.

20

(57) Stamcellespesifikke antigener. For eksempel:**[0345]**

25

- • 5T4 (se punkt (63) nedenfor)
- • CD25 (se punkt (48) ovenfor)
- • CD32

◦ Polypeptid

▪ Genbank-aksesjonsnr. ABK42161

▪ Genbank-versjonsnr. ABK42161.1 GI:117616286

30

▪ Oppdateringsdato for Genbank-post: 25. juli 2007 15:00:00

- • LGR5/GPR49

◦ Nukleotid

▪ Genbank-aksesjonsnr. NM_003667

▪ Genbank-versjonsnr. NM_003667,2 GI:24475886

35

▪ Oppdateringsdato for Genbank-post: 22. juli 2012 15:38:00

◦ Polypeptid

▪ Genbank-aksesjonsnr. NP_003658

- Genbank-versjonsnr. NP_003658,1 GI:4504379
- Oppdateringsdato for Genbank-post: 22. juli 2012 15:38:00
 - • Prominin/CD133

◦ Nukleotid

5

- Genbank-aksesjonsnr. NM_006017
- Genbank-versjonsnr. NM_006017,2 GI:224994187
- Oppdateringsdato for Genbank-post: 30. september 2012 13:47:00
- Polypeptid

▪ Genbank-aksesjonsnr. NP_006008

10

- Genbank-versjonsnr. NP_006008,1 GI:5174387
- Oppdateringsdato for Genbank-post: 30. september 2012 13:47:00

(58) ASG-5

15

Kryssreferanser

[0346] (Smith L.M., et.al *AACR 2010 Annual Meeting* (sammendrag nr. 2590);
Gudas J.M., et.al. *AACR 2010 Annual Meeting* (sammendrag nr. 4393))

20

ANTISTOFFER

[0347] Anti- AGS-5-antistoff: M6.131 (Smith, L.M., et.al *AACR 2010 Annual Meeting* (sammendrag nr. 2590))

25

(59) ENPP3 (ektonukleotidpyrofosfatase/fosfodiesterase 3)

Nukleotid

30

[0348]

Genbank-aksesjonsnr. AF005632

Genbank-versjonsnr. AF005632.2 GI:4432589

Oppdateringsdato for Genbank-post: 10. mars 2010 21:41:00

35

Polypeptid**[0349]**

5 Genbank-aksesjonsnr. AAC51813
 Genbank-versjonsnr. AAC51813.1 GI:2465540
 Oppdateringsdato for Genbank-post: 10. mars 2010 21:41:00

Kryssreferanser

10

[0350] Jin-Hua P., et al Genomics 45 (2), 412–415 (1997)

Annen informasjon

15

[0351]

Offisielt symbol: ENPP3

Andre alias: RP5-988G15.3, B10, CD203c, NPP3, PD-IBETA, PDNP3

20

Andre betegnelser: E-NPP 3; dJ1005H11.3 (fosfodiesterase I/nukleotidpyrofosfatase 3); dJ914N13.3 (fosfodiesterase I/nukleotidpyrofosfatase 3); ektonukleotidpyrofosfatase/fosfodiesterasefamilie, medlem 3; gp130RB13-6; fosfodiesterase I beta; fosfodiesterase I/nukleotidpyrofosfatase 3; fosfodiesterase-I beta

(60) PRR4 (prolinrik 4 (lakrimal))

25

Nukleotid**[0352]**

30 Genbank-aksesjonsnr. NM_007244
 Genbank-versjonsnr. NM_007244.2 GI:154448885
 Oppdateringsdato for Genbank-post: 28. juni 2012 12.39

Polypeptid

35

[0353]

Genbank-aksesjonsnr. NP_009175

Genbank-versjonsnr. NP_009175,2 GI:154448886

Oppdateringsdato for Genbank-post: 28. juni 2012 12.39

5 **Kryssreferanser**

[0354] Dickinson D.P., et al Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 36 (10), 2020-2031 (1995)

10 **Annen informasjon**

[0355]

Offisielt symbol: PRR4

15 Andre alias: LPRP, PROL4

Andre betegnelser: lakrimalt prolinrikt protein; nasofaryngealt karsinomassosiert prolinrikt protein 4; prolinrikt polypeptid 4; prolinrikt protein 4

20 **(61) GCC – GUCY2C (guanylatcyklase 2C (varmestabil enterotoksin-reseptor))**

Nukleotid

25 **[0356]**

Genbank-aksesjonsnr. NM_004963

Genbank-versjonsnr. NM_004963,3 GI:222080082

Oppdateringsdato for Genbank-post: 2. september 2012 13.50

30 **Polypeptid**

[0357]

Genbank-aksesjonsnr. NP_004954

35 Genbank-versjonsnr. NP_004954,2 GI:222080083

Oppdateringsdato for Genbank-post: 2. september 2012 13.50

Kryssreferanser

- 5 **[0358]** De Sauvage F.J., et al J. Biol. Chem. 266 (27), 17912-17918 (1991);
Singh S., et al Biochem. Biophys. Res. Commun. 179 (3), 1455-1463 (1991)

Annen informasjon

- 10 **[0359]**
Offisielt symbol: GUCY2C
Andre alias: DIAR6, GUC2C, MUCIL, STAR
Andre betegnelser: GC-C; STA-reseptor; guanylylsyklase C; hSTAR; varmestabil
enterotoksinreseptor; intestinal guanylatsyklase
15 **(62) *Liv-1- SLC39A6 (solutbærerfamilie 39 (sinktransportør), medlem 6)***

Nukleotid

- 20 **[0360]**
Genbank-aksesjonsnr. U41060
Genbank-versjonsnr. U41060.2 GI:12711792
25 Oppdateringsdato for Genbank-post: 30. november 2009 16:35:00

Polypeptid

- 30 **[0361]**
Genbank-aksesjonsnr. AAA96258
Genbank-versjonsnr. AAA96258.2 GI:12711793
Oppdateringsdato for Genbank-post: 30. november 2009 16:35:00
35

Kryssreferanser

[0362] Taylor KM., et al Biochim Biophys Acta. 1. apr. 2003;1611(1-2):16-30

5

Annen informasjon**[0363]**

10

Offisielt symbol: SLC39A6

Andre alias: LIV-1

Andre betegnelser: LIV-1-protein, østrogenregulert; ZIP-6; østrogenregulert protein LIV-1; solutbærerfamilie 39 (metalliontransportør), medlem 6; solutbærerfamilie 39, medlem 6; sinktransportør ZIP6; zrt- og Irt-lignende protein 6

15

(63) 5T4, trofoblastglykoprotein, TPBG – TPBG (trofoblastglykoprotein)

Nukleotid

20

[0364]

Genbank-aksesjonsnr. AJ012159

Genbank-versjonsnr. AJ012159.1 GI:3805946

25

Oppdateringsdato for Genbank-post: 1. februar 2011 10.27

Polypeptid

30

[0365]

Genbank-aksesjonsnr. CAA09930

Genbank-versjonsnr. CAA09930.1 GI:3805947

Oppdateringsdato for Genbank-post: 1. februar 2011 10.27

35

Kryssreferanser

[0366] King K.W., et al Biochim. Biophys. Acta 1445 (3), 257-270 (1999)

5

Annen informasjon**[0367]**

10

- Offisielt symbol: TPBG
- Andre alias: 5T4, 5T4AG, M6P1
- Andre betegnelser: 5T4 onkoføtalt antigen; 5T4 onkoføtalt trofoblastglykoprotein; 5T4 onkotrofoblastglykoprotein

15

(64) CD56 – NCMA1 (nevralt celleadhesjonsmolekyl 1)

Nukleotid

20

[0368]

Genbank-aksesjonsnr. NM_000615

Genbank-versjonsnr. NM_000615,6 GI:336285433

Oppdateringsdato for Genbank-post: 23. september 2012 14:32:00

25

Polypeptid**[0369]**

Genbank-aksesjonsnr. NP_000606

30

Genbank-versjonsnr. NP_000606,3 GI:94420689

Oppdateringsdato for Genbank-post: 23. september 2012 14:32:00

Kryssreferanser

35

[0370] Dickson, G., et al, Cell 50 (7), 1119–1130 (1987)

Annen informasjon**[0371]**

5

Offisielt symbol: NCAM1

Andre alias: CD56, MSK39, NCAM

Andre betegnelser: antigen gjenkjent av monoklonalt antistoff 5.1H11; nevralt celleadhesjonsmolekyl, NCAM

10

ANTISTOFFER**Immunogen: HuN901 (Smith SV., et al *Curr Opin Mol Ther.* 7. aug. 2005;7(4):394-401)**

15

[0372] Se for eksempel humanisert fra murint N901-antistoff. Se fig. 1b og 1e i Roguska, M.A., et al. *Proc Natl Acad Sci USA* Feb 1994;91:969-973.**(65) CanAg (tumorassosiert antigen CA242)**

20

Kryssreferanser**[0373]** Haglund C., et al *Br J Cancer* 60:845–851, 1989; Baeckstrom D., et al *J Biol Chem* 266:21537–21547, 1991

25

ANTISTOFFER**huC242 (Tolcher AW et al., *J Clin Oncol.* 15. jan. 2003;21(2):211–22; Immunogen)**

30

[0374] Se for eksempel US20080138898A1 SEQ ID NO: 1 og 2**(66) FOLR1 (folatreseptor 1)****Nukleotid**

35

[0375]

Genbank-aksesjonsnr. J05013

Genbank-versjonsnr. J05013.1 GI:182417

Oppdateringsdato for Genbank-post: 23. juni 2010 08:47:00

5 **Polypeptid**

[0376]

Genbank-aksesjonsnr. AAA35823

10 Genbank-versjonsnr. AAA35823.1 GI:182418

Oppdateringsdato for Genbank-post: 23. juni 2010 08:47:00

Kryssreferanser

15

[0377] Elwood P.C., et al J. Biol. Chem. 264 (25), 14893-14901 (1989)

Annen informasjon

20

[0378]

Offisielt symbol: FOLR1

Andre alias: FBP, FOLR

Andre betegnelser: FR-alfa; KB-celler FBP; adult folatbindingsprotein;
25 folatbindingsprotein; folatreseptor alfa; folatreseptor, adult;
eggstokktumorassosiert antigen MOv18

ANTISTOFFER

30

[0379] M9346A - Whiteman KR., et al Cancer Res April 15, 2012; 72(8
Supplement): 4628 (Immunogen)

(67) GPNMB (glykoprotein (transmembran) nmb)

35

Nukleotid**[0380]**

5 Genbank-aksesjonsnr. X76534
Genbank-versjonsnr. X76534.1 GI:666042
Oppdateringsdato for Genbank-post: 2. februar 2011 10:10:00

Polypeptid

10

[0381]

Genbank-aksesjonsnr. CAA54044
Genbank-versjonsnr. CAA54044.1 GI:666043
15 Oppdateringsdato for Genbank-post: 2. februar 2011 10:10:00

Kryssreferanser

20 **[0382]** Weterman M.A., et al Int. J. Cancer 60 (1), 73-81 (1995)

Annen informasjon

25

[0383]

Offisielt symbol: GPNMB
Andre alias: UNQ1725/PRO9925, HGFIN, NMB
Andre betegnelser: glykoprotein NMB; glykoprotein nmb-lignende protein;
osteoaktivin; transmembrant glykoprotein HGFIN; transmembrant glykoprotein
30 NMB

ANTISTOFFER

35

Celldex Therapeutics: CR011 (Tse KF., et al *Clin Cancer Res.* 15. feb. 2006;12(4):1373-82)

[0384] Se for eksempel EP1827492B1 SEQ ID NO: 22, 24, 26, 31, 33 og 35
(68) TIM-1 – HAVCR1 (cellulær reseptor 1 for hepatitt A-virus)

5 **Nukleotid**

[0385]

Genbank-aksesjonsnr. AF043724

10 Genbank-versjonsnr. AF043724.1 GI:2827453

Oppdateringsdato for Genbank-post: 10. mars 2010 18:24:00

Polypeptid

15

[0386]

Genbank-aksesjonsnr. AAC39862

Genbank-versjonsnr. AAC39862.1 GI:2827454

Oppdateringsdato for Genbank-post: 10. mars 2010 18:24:00

20

Kryssreferanser

[0387] Feigelsstock D., et al J. Virol. 72 (8), 6621-6628 (1998)

25

Annen informasjon

[0388]

Offisielt symbol: HAVCR1

30

Andre alias: HAVCR, HAVCR-1, KIM-1, KIM1, TIM, TIM-1, TIM1, TIMD-1, TIMD1

Andre betegnelser: T-celleimmunglobindomene og mucindomeneprotein 1; T-cellemembranprotein 1; nyreskademolekyl 1

(69) RG-1/prostatatumormål Mindin – Mindin/RG-1

35

Kryssreferanser

[0389] Parry R., et al Cancer Res. 15. sep. 2005;65(18):8397-405

5 **(70) B7-H4 – VTCN1 (V-sett-domene inneholdende T-celleaktiverings-inhibitor 1**

Nukleotid

10

[0390]

Genbank-aksesjonsnr. BX648021

Genbank-versjonsnr. BX648021.1 GI:34367180

Oppdateringsdato for Genbank-post: 2. februar 2011 08:40:00

15

Kryssreferanser

[0391] Sica GL., et al immunitet. Jun. 2003;18(6):849–61

20

Annen informasjon**[0392]**

Offisielt symbol: VTCN1

25

Andre alias: RP11-229A19.4, B7-H4, B7H4, B7S1, B7X, B7h.5, PRO1291, VCTN1

Andre betegnelser: B7-familiemedlem, H4; B7-superfamiliemedlem 1; T-celle-kostimulatorisk molekyll B7x; T-celle-kostimulatorisk molekyll B7x; V-sett-domeneholdig T-celleaktiveringsinhibitor 1; immunt kostimulatorisk protein B7-H4

30

(71) PTK7 (PTK7-proteintyrosinkinase 7)

Nukleotid

35

[0393]

Genbank-aksesjonsnr. AF447176

Genbank-versjonsnr. AF447176.1 GI:17432420

Oppdateringsdato for Genbank-post: 28. nov. 2008 13:51:00

Polypeptid

5

[0394]

Genbank-aksesjonsnr. AAL39062

Genbank-versjonsnr. AAL39062.1 GI:17432421

10

Oppdateringsdato for Genbank-post: 28. nov. 2008 13:51:00

Kryssreferanser

15

[0395] Park S.K.,et al J. Biochem. 119 (2), 235-239 (1996)

Annen informasjon

20

[0396]

Offisielt symbol: PTK7

Andre alias: CCK-4, CCK4

Andre betegnelser: tykktarmkarsinomkinase 4; inaktiv tyrosin-protein-kinase 7;
pseudo-tyrosinkinasereseptor 7; tyrosinproteinkinaselignende 7

25

(72) CD37 (CD37-molekyl)

Nukleotid

30

[0397]

Genbank-aksesjonsnr. NM_001040031

Genbank-versjonsnr. NM_001040031,1 GI:91807109

Oppdateringsdato for Genbank-post: 29. juli 2012 14:08:00

35

Polypeptid**[0398]**

5 Genbank-aksesjonsnr. NP_001035120
 Genbank-versjonsnr. NP_001035120,1 GI:91807110
 Oppdateringsdato for Genbank-post: 29. juli 2012 14:08:00

Kryssreferanser

10

[0399] Schwartz-Albiez R., et al J. Immunol. 140 (3), 905-914 (1988)

Annen informasjon

15

[0400]

Offisielt symbol: CD37

Andre alias: GP52-40, TSPAN26

20

Andre betegnelser: CD37-antigen; celledifferensieringsantigen 37;
 leukocyttantigen CD37; leukocyttoverflateantigen CD37; tetraspanin-26; tspan-
 26

ANTISTOFFER

25

[0401] Boehringer Ingelheim: mAb 37.1 (Heider KH., et al Blood. 13. okt. 2011;118(15):4159-68)

30

[0402] Trubion: CD37-SMIP (G28-1 scFv-Ig) ((Zhao X., et al Blood. 2007;110: 2569-2577)

[0403] Se for eksempel US20110171208A1 SEQ ID NO: 253

35

[0404] Immunogen: K7153A (Deckert J., et al Cancer Res April 15, 2012; 72(8 Supplement): 4625)

(73) CD138 – SDC1 (syndekan 1)

Nukleotid5 **[0405]**

Genbank-aksesjonsnr. AJ551176

Genbank-versjonsnr. AJ551176.1 GI:29243141

Oppdateringsdato for Genbank-post: 1. februar 2011 12.09

10 **Polypeptid****[0406]**

Genbank-aksesjonsnr. CAD80245

15 Genbank-versjonsnr. CAD80245.1 GI:29243142

Oppdateringsdato for Genbank-post: 1. februar 2011 12.09

Kryssreferanser

20

[0407] O'Connell FP., et al Am J Clin Pathol. Feb. 2004;121 (2):254–63

Annen informasjon

25

[0408]

Offisielt symbol: SDC1

Andre alias: CD138, SDC, SYND1, syndekan

Andre betegnelser: CD138-antigen; heparansulfatproteoglykan-fibroblastvekst-
30 faktor-reseptor; syndekanproteoglykan 1; syndekan-1

ANTISTOFFER

35

[0409] Biotest: kimerisert MAb (nBT062) – (Jagannath S., et al Poster ASH nr. 3060, 2010; WIPO-patentsøknad WO/2010/128087)

[0410] Se for eksempel US20090232810 SEQ ID NO: 1 og 2

[0411] Immunogen: B-B4 (Tassone P., et al Blood 104_3688–3696)

[0412] Se for eksempel US20090175863A1 SEQ ID NO: 1 og 2

(74) CD74 (CD74-molekyl, stort histokompatibilitetskompleks, klasse II-invariant kjede)

Nukleotid

[0413]

Genbank-aksesjonsnr. NM_004355

Genbank-versjonsnr. NM_004355,1 GI:343403784

Oppdateringsdato for Genbank-post: 23. september 2012 14:30:00

Polypeptid

[0414]

Genbank-aksesjonsnr. NP_004346

Genbank-versjonsnr. NP_004346,1 GI:10835071

Oppdateringsdato for Genbank-post: 23. september 2012 14:30:00

Kryssreferanser

[0415] Kudo,J., et al Nucleic Acids Res. 13 (24), 8827-8841 (1985)

Annen informasjon

[0416]

Offisielt symbol: CD74

Andre alias: DHLAG, HLADG, II, Ia-GAMMA

Andre betegnelser: CD74-antigen (ikke-varierende polypeptid med stort histokompatibilitetskompleks, klasse II-antigenassosiert); antigengammakjede med HLA-klasse II-histokompatibilitet; HLA-DR-antigenassosiert ikke-varierende kjede; HLA-DR-gamma; Ia-assosiert ikke-varierende kjede; MHC HLA-DR-gammakjede; gammakjede med klasse II-antigener; p33

ANTISTOFFER

10 **[0417]** Immunomedics: hLL1 (Milatuzumab,) – Berkova Z., et al Expert Opin Investig Drugs. Jan. 2010;19(1):141–9)

[0418] Se for eksempel US20040115193 SEQ ID NO: 19, 20, 21, 22, 23 og 24

15 **[0419]** Genmab: HuMax-CD74 (se nettsted)
(75) Claudiner - CL-er (claudiner)

Kryssreferanser

20 **[0420]** Offner S., et al Cancer Immunol Immunother. Mai 2005; 54(5):431–45, Suzuki H., et al Ann N Y Acad Sci. Jul. 2012;1258:65–70)

25 **[0421]** Hos mennesker er 24 medlemmer av familien blitt beskrevet – se litteraturhenvisning.
(76) EGFR (epidermal vekstfaktorreseptor)

Nukleotid

30 **[0422]**
Genbank-aksesjonsnr. NM_005228
Genbank-versjonsnr. NM_005228,3 GI:41927737
Oppdateringsdato for Genbank-post: 30. september 2012 13:47:00

35

Polypeptid**[0423]**

5 Genbank-aksesjonsnr. NP_005219
 Genbank-versjonsnr. NP_005219,2 GI:29725609
 Oppdateringsdato for Genbank-post: 30. september 2012 13:47:00

Kryssreferanser

10

[0424] Dhomen NS., et al Crit Rev Oncog. 2012;17(1):31-50

Annen informasjon

15

[0425]

Offisielt symbol: EGFR

Andre alias: ERBB, ERBB1, HER1, PIG61, mENA

20

Andre betegnelser: aviaer erytroblastisk leukemisk viral (v-erb-b)
 onkogenhomolog; cellevekstinhiberende protein 40; celleproliferasjoninduse-
 rende protein 61; proto-onkogen c-ErbB-1; reseptortyrosin-proteinkinase erbB-1

ANTISTOFFER

25

[0426] BMS: Cetuximab (Erbix) - Broadbridge VT., et al Expert Rev
 Anticancer Ther. Mai 2012;12(5):555-65.

30

[0427] Se for eksempel US6217866 - ATTC-deponeringsnr. 9764.

[0428] Amgen: Panitumumab (Vectibix) – Argiles G., et al Future Oncol. Apr.
 2012;8(4):373-89

35

[0429] Se for eksempel US6235883 SEQ ID NO: 23-38.

[0430] Genmab: Zalutumumab - Rivera F., et al Expert Opin Biol Ther. Mai 2009;9(5):667-74.

5 **[0431]** YM Biosciences: Nimotuzumab – Ramakrishnan MS., et al MAbs. Jan.-feb. 2009;1(1):41–8.

[0432] Se for eksempel US5891996 SEQ ID NO: 27-34.

10 **(77) Her3 (ErbB3) – ERBB3 (v-erb-b2 erytroblastisk leukemisk viral onkogenhomolog 3(aviær))**

Nukleotid

15 **[0433]**
Genbank-aksesjonsnr. M34309
Genbank-versjonsnr. M34309.1 GI:183990
Oppdateringsdato for Genbank-post: 23. juni 2010 20:47:00

20 **Polypeptid**

[0434]
Genbank-aksesjonsnr. AAA35979
25 Genbank-versjonsnr. AAA35979.1 GI:306841
Oppdateringsdato for Genbank-post: 23. juni 2010 20:47:00

Kryssreferanser

30 **[0435]** Plowman,G.D., et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 87 (13), 4905-4909 (1990)

Annen informasjon

35

[0436]

Offisielt symbol: ERBB3

Andre alias: ErbB-3, HER3, LCCS2, MDA-BF-1, c-erbB-3, c-erbB3, erbB3-S, p180-ErbB3, p45-sErbB3, p85-sErbB3

Andre betegnelser: proto-onkogen-lignende protein c-ErbB-3; reseptortyrosin-protein-kinase erbB-3; celleoverflatereseptor HER3 av tyrosinkinasetype

ANTISTOFFER

10 **[0437]** Merimack Pharma: MM-121 (Schoeberl B., et al Cancer Res. 15. mar. 2010;70(6):2485–2494)

[0438] Se for eksempel US2011028129 SEQ ID NO: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 og 8.

15 **(78) RON – MST1R (makrofagstimulerende 1-reseptor (c-met-relatert tyrosinkinase))**

Nukleotid

20 **[0439]**

Genbank-aksesjonsnr. X70040

Genbank-versjonsnr. X70040.1 GI:36109

Oppdateringsdato for Genbank-post: 2. februar 2011 22:17:00

25 **Polypeptid**

[0440]

Genbank-aksesjonsnr. CCA49634

30 Genbank-versjonsnr. CCA49634.1 GI:36110

Oppdateringsdato for Genbank-post: 2. februar 2011 22:17:00

Kryssreferanser

35

[0441] Ronsin C., et al Oncogene 8 (5), 1195–1202 (1993)

Annen informasjon**[0442]**

5

Offisielt symbol: MST1 R

Andre alias: CD136, CDw136, PTK8, RON

Andre betegnelser: MSP-reseptor; MST1 R-variant RON30; MST1 R-variant RON62; PTK8-proteintyrosinkinase 8; RON-variant E2E3; c-met-relatert tyrosinkinase; makrofagstimulerende proteinreseptor; p185-Ron; løselig RON-variant 1; løselig RON-variant 2; løselig RON-variant 3; løselig RON-variant 4

10

(79) *EPHA2 (EPH-reseptor A2)***Nukleotid**

15

[0443]

Genbank-aksesjonsnr. BC037166

Genbank-versjonsnr. BC037166.2 GI:33879863

20

Oppdateringsdato for Genbank-post: 6. mars 2012 13.59

Polypeptid

25

[0444]

Genbank-aksesjonsnr. AAH37166

Genbank-versjonsnr. AAH37166.1 GI:22713539

Oppdateringsdato for Genbank-post: 6. mars 2012 13.59

30

Kryssreferanser

[0445] Strausberg R.L., et al Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 99 (26), 16899-16903 (2002)

35

Annen informasjon**[0446]**

5

Offisielt symbol: EPHA2

Andre alias: ARCC2, CTPA, CTPP1, ECK

Andre betegnelser: efrin type-A-reseptor 2; epitelcellereseptor-proteintyrosinkinase; løselig EPHA2-variant 1; tyrosinproteinkinasereseptor ECK

10

ANTISTOFFER**[0447]** Medimmune: 1C1 (Lee JW., et al Clin Cancer Res. 1. mai 2010;16(9):2562–2570)

15

[0448] Se for eksempel US20090304721A1 fig. 7 og 8.**(80) CD20 – MS4A 1 (membranspennende 4-domener, underfamilie A, medlem 1)**

20

Nukleotid**[0449]**

Genbank-aksesjonsnr. M27394

25

Genbank-versjonsnr. M27394.1 GI:179307

Oppdateringsdato for Genbank-post: 30. nov. 2009 11:16:00

Polypeptid

30

[0450]

Genbank-aksesjonsnr. AAA35581

Genbank-versjonsnr. AAA35581.1 GI:179308

Oppdateringsdato for Genbank-post: 30. nov. 2009 11:16:00

35

Kryssreferanser

[0451] Tedder T.F., et al Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 85 (1), 208-212 (1988)

5

Annen informasjon**[0452]**

10

Offisielt symbol: MS4A1

Andre alias: B1, Bp35, CD20, CVID5, LEU-16, MS4A2, S7

Andre betegnelser: B-lymfocytantigen CD20; B-lymfocytcelleoverflateantigen B1; CD20-antigen; CD20-reseptor; leukocyttoverflateantigen Leu-16

15

ANTISTOFFER

[0453] Genentech/Roche: Rituximab – Abdulla NE., et al BioDrugs. 1. apr. 2012;26(2):71–82.

20

[0454] Se for eksempel US5736137, ATCC-deponeringsnr. HB-69119.

[0455] GSK/Genmab: Ofatumumab – Nightingale G., et al Ann Pharmacother. Okt. 2011;45(10):1248–55.

25

[0456] Se for eksempel US20090169550A1 SEQ ID NO: 2, 4 og 5.

[0457] Immunomedics: Veltuzumab – Goldenberg DM., et al Leuk Lymphoma. Mai 2010;51(5):747–55.

30

[0458] Se for eksempel US7919273B2 SEQ ID NO: 1, 2, 3, 4, 5 og 6.

(81) *Tenascin C – TNC (tenascin C)*

Nukleotid

35

[0459]

Genbank-aksesjonsnr. NM_002160

Genbank-versjonsnr. NM_002160,3 GI:340745336

Oppdateringsdato for Genbank-post: 23. september 2012 14:33:00

5 **Polypeptid**

[0460]

Genbank-aksesjonsnr. NP_002151

10 Genbank-versjonsnr. NP_002151,2 GI:153946395

Oppdateringsdato for Genbank-post: 23. september 2012 14:33:00

Kryssreferanser

15

[0461] Nies D.E., et al J. Biol. Chem. 266 (5), 2818-2823 (1991); Siri A., et al Nucleic Acids Res. 19 (3), 525-531 (1991)

Annen informasjon

20

[0462]

Offisielt symbol: TNC

Andre alias: 150-225, GMEM, GP, HXB, JI, TN, TN-C

25

Andre betegnelser: GP 150-225; cytotaktin; gliomassosiert antigen med ekstracellulær matrise; heksabrakion (tenascin); myotendinøst antigen; nevronektin; tenascin; tenascin-C-isoform 14/AD1/16

ANTISTOFFER

30

[0463] Philogen: G11 (von Lukowicz T., et al J Nucl Med. 2007 Apr;48(4):582-7) og F16 (Pedretti M., et al Lung Cancer. Apr. 2009;64(1):28-33)

35

[0464] Se for eksempel US7968685 SEQ ID NO: 29, 35, 45 og 47.

(82) FAP (fibroblastaktiveringsprotein, alfa)

Nukleotid**[0465]**

5 Genbank-aksesjonsnr. U09278
 Genbank-versjonsnr. U09278.1 GI:1888315
 Oppdateringsdato for Genbank-post: 23. juni 2010 09:22:00

Polypeptid

10

[0466]

Genbank-aksesjonsnr. AAB49652
 Genbank-versjonsnr. AAB49652.1 GI:1888316
 15 Oppdateringsdato for Genbank-post: 23. juni 2010 09:22:00

Kryssreferanser

20 **[0467]** Scanlan,M.J.,et al Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 91 (12), 5657-5661
 (1994)

Annen informasjon

25

[0468]

Offisielt symbol: FAP
 Andre alias: DPPIV, FAPA
 Andre betegnelser: 170 kDa melanommembranbundet gelatinase; integrert
 30 membranserinprotease; seprase

(83) DKK-1 (*dickkopf 1-homolog (Xenopus laevis)*)

Nukleotid

35

[0469]

Genbank-aksesjonsnr. NM_012242

Genbank-versjonsnr. NM_012242,2 GI:61676924

Oppdateringsdato for Genbank-post: 30. september 2012 13:48:00

5 **Polypeptid**

[0470]

Genbank-aksesjonsnr. NP_036374

10 Genbank-versjonsnr. NP_036374,1 GI:7110719

Oppdateringsdato for Genbank-post: 30. september 2012 13:48:00

Kryssreferanser

15

[0471] Fedi P. et al J. Biol. Chem. 274 (27), 19465-19472 (1999)

Annen informasjon

20

[0472]

Offisielt symbol: DKK1

Andre alias: UNQ492/PRO1008, DKK-1, SK

Andre betegnelser: dickkopf-relatert protein-1; dickkopf-1-lignende; dickkopf-
25 lignende protein 1; dickkopf-relatert protein 1; hDkk-1

ANTISTOFFER

30 **[0473]** Novartis: BHQ880 (Fulciniti M., et al Blood. 9. jul. 2009;114(2):371-379)

[0474] Se for eksempel US20120052070A1 SEQ ID NO: 100 og 108.

(84) CD52 (CD52-molekyl)

35

Nukleotid**[0475]**

5 Genbank-aksesjonsnr. NM_001803
 Genbank-versjonsnr. NM_001803,2 GI:68342029
 Oppdateringsdato for Genbank-post: 30. september 2012 13:48:00

Polypeptid

10

[0476]

Genbank-aksesjonsnr. NP_001794
 Genbank-versjonsnr. NP_001794,2 GI:68342030
 15 Oppdateringsdato for Genbank-post: 30. september 2012 13:48:00

Kryssreferanser

20 **[0477]** Xia M.Q., et al Eur. J. Immunol. 21 (7), 1677-1684 (1991)

Annen informasjon

25

[0478]

Offisielt symbol: CD52
 Andre alias: CDW52
 Andre betegnelser: CAMPATH-1-antigen; CD52-antigen (CAMPATH-1-antigen);
 CDW52-antigen (CAMPATH-1-antigen); cambridge-patologi 1-antigen;
 30 epididymalt sekretorisk protein E5; he5; humant epididymis-spesifikt protein 5

ANTISTOFFER

35

[0479] Alemtuzumab (Campath) - Skoetz N., et al Cochrane Database Syst
 Rev. 15. feb, 2012;2:CD008078.

[0480] Se for eksempel Drugbank-aks.nr. DB00087 (BIOD00109, BTD00109)
(85) CS1 - SLAMF7 (SLAM-familiemedlem 7)

5 **Nukleotid**

[0481]

Genbank-aksesjonsnr. NM_021181

10 Genbank-versjonsnr. NM_021181,3 GI:1993571

Oppdateringsdato for Genbank-post: 29. juni 2012 11:24:00

Polypeptid

15

[0482]

Genbank-aksesjonsnr. NP_067004

Genbank-versjonsnr. NP_067004,3 GI:19923572

Oppdateringsdato for Genbank-post: 29. juni 2012 11:24:00

20

Kryssreferanser

[0483] Boles K.S., et al Immunogenetics 52 (3-4), 302-307 (2001)

25

Annen informasjon

[0484]

30

Offisielt symbol: SLAMF7

Andre alias: UNQ576/PRO1138, 19A, CD319, CRACC, CS1

Andre betegnelser: 19A24-protein; CD2-undersett 1; CD2-lignende reseptoraktiverende cytotoksiske celler; CD2-lignende reseptoraktiverende cytotoksiske celler; membranprotein FOAP-12; hittil ukjent LY9 (lymfocytantigen 9)-lignende protein; protein 19A

35

ANTISTOFFER

5 **[0485]** BMS: elotuzumab/HuLuc63 (Benson DM., et al J Clin Oncol. 1. jun. 2012;30(16):2013–2015)

[0486] Se for eksempel US20110206701 SEQ ID NO: 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 og 16.

(86) Endoglin - ENG (endoglin)

10

Nukleotid

[0487]

15

Genbank-aksesjonsnr. AF035753

Genbank-versjonsnr. AF035753.1 GI:3452260

Oppdateringsdato for Genbank-post: 10. mars 2010 18:36:00

Polypeptid

20

[0488]

Genbank-aksesjonsnr. AAC32802

Genbank-versjonsnr. AAC32802.1 GI:3452261

25

Oppdateringsdato for Genbank-post: 10. mars 2010 18:36:00

Kryssreferanser

30

[0489] Rius C., et al Blood 92 (12), 4677–4690 (1998)

[0490] Offisielt symbol: ENG

Annen informasjon

35

[0491]

Andre alias: RP11-228B15.2, CD105, END, HHT1, ORW, ORW1

Andre betegnelser: CD105-antigen

(87) Anneksin A1 – ANXA1 (anneksin A1)

5

Nukleotid

[0492]

10

Genbank-aksesjonsnr. X05908

Genbank-versjonsnr. X05908.1 GI:34387

Oppdateringsdato for Genbank-post: 2. februar 2011 10:02:00

Polypeptid

15

[0493]

Genbank-aksesjonsnr. CCA29338

Genbank-versjonsnr. CCA29338.1 GI:34388

20

Oppdateringsdato for Genbank-post: 2. februar 2011 10:02:00

Kryssreferanser

25

[0494] Wallner B.P., et al Nature 320 (6057), 77–81 (1986)

Annen informasjon

30

[0495]

Offisielt symbol: ANXA1

Andre alias: RP11-71A24.1, ANX1, LPC1

Andre betegnelser: anneksin I (lipokortin I); anneksin-1; kalpaktin II; kalpaktin-2; kromobindin-9; lipokortin I; p35; fosfolipase A2-inhiberende protein

35

(88) V-CAM (CD106) – VCAM1 (vaskulær celleadhesjonsmolekyl 1)

Nukleotid**[0496]**

5 Genbank-aksesjonsnr. M60335
Genbank-versjonsnr. M60335.1 GI:340193
Oppdateringsdato for Genbank-post: 23. juni 2010 08:56:00

Polypeptid

10

[0497]

Genbank-aksesjonsnr. AAA61269
Genbank-versjonsnr. AAA61269.1 GI:340194
15 Oppdateringsdato for Genbank-post: 23. juni 2010 08:56:00

Kryssreferanser

20 **[0498]** Hession C., et al J. Biol. Chem. 266 (11), 6682-6685 (1991)

Annen informasjon

25

[0499]

Offisielt symbol VCAM1
Andre alias: CD106, INCAM-100
Andre betegnelser: CD106-antigen; vaskulært celleadhesjonsprotein 1

30

Antistoffsekvenser***Anti-integrin avβ6***

35

[0500]

RHAB6.2

QVQLVQSGSELKKPGASVKISCKASGFAFTDSYMHWVRQAPGQGLEWMGWIDPENGDE
YAPKFQGRFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCTRGTPTAVPNLRGDLQVLAQKVAG
PYPFDYWGGTLTVSS

RHCB6.2

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFIDSYMHWVRQAPGQRLEWMGWIDPENGDE
YAPKFQGRVTITTDTSASTAYMELSSLRSED TAVYYCARGTPTAVPNLRGDLQVLAQKVAG
PYPFDYWGGTLTVSS

5

RHF

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGFNFIDSYMHWVRQAPGQRLEWMGWIDPENGDT
EYAPKFQGRVFTTDTASTAYMELSSLRSED TAVYYCNEGTPTPGYFFDYWGQGT LTV
SS

RHFB6

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGFNFIDSYMHWVRQAPGQRLEWMGWIDPENGDT
EYAPKFQGRVFTTDTASTAYMELSSLRSED TAVYYCNEGTPPTAVPNLRGDLQVLAQKVA
GPYYFDYWGGTLTVSS

RHAY100bP

QVQLVQSGSELKKPGASVKISCKASGFAFTDSYMHWVRQAPGQGLEWMGWIDPENGDE
YAPKFQGRFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCTRGTPTGPYPFDYWGGTLTVSS

10

RKF

ENVLTQSPGTLSPGERATLSCSASSSVSYMHWFQQKPGQAPRLLIYSTSNLASGIPDRF
SGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQRSSYPLTFGGGTKVEIK

RKFL36L50

ENVLTQSPGTLSPGERATLSCSASSSVSYMHWLQQKPGQAPRLLIYLTSNLASGIPDRF
SGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQRSSYPLTFGGGTKVEIK

15

RKC

EIVLTQSPGTLSPGERATLSCSASSSVSYMHWFQQKPGQAPRLLIYSTSNLASGIPDRFS
GSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQRSSYPLTFGGGTKVEIK

Anti-CD33

20

[0501]CD33 Hum195 VH

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGYTFTDYNMHWVRQAPGQGLEWIGYIYPYNGGTG
YNQKFKSKATITADESTNTAYMELSSLRSED TAVYYCARGRPAMDYWGQGT LTVSS

CD33 Hum195 VK

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASESDNYGISFMNWFQQKPGKAPKLLIYAASNQSGS
VPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPDFAFYCQQSKEVPWTFGQGTKVEIK

25

Anti-CD19

[0502]CD19 B4-overflatemodifisert VH

QVQLVQPGAIEVVKPGASVKLSCKTSGYTFTSNWMHWVKQRPQGQGLEWIGEIDPSDSYTN
 YNQNFKGKAKLTVDKSTSTAYMEVSSLRSDDTAVYYCARGSNPYYYAMDYWGQGTSTVTV
 SS

5

CD19 B4-overflatemodifisert VK

EIVLTQSPAISASPGERTMTCSASSGVNYMHWYQQKPGTSPRRWIYDTSKLASGVPAR
 FSGSGSGTSYSLTISSMEPEDAATYYCHQGRGYSYTFGGGTKLEIK

Anti-Her2

10

[0503]Herceptin-VH-kjede

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFIKDTYIHVWRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRY
 ADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRADTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLLTVS
 S

Herceptin-VL-kjede

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSR
 FSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQGHYTPPTFGQGTKEIK

15

Anti-CD25

20

[0504]Simulect VK (også kjent som basiliximab)

QIVSTQSPAISASPGKVTMTCSASSRSYMQWYQQKPGTSPKRWIYDTSKLASGVPAR
 FSGSGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYCHQRSSYTFGGGTKLEIK

Simulect VH

QLQQSGTVLARGASVKMSCKASGYSFTRYWMHWIKQRPQGQGLEWIGAIYPGNSDTSYN
 QKFEGKAKLTAVTSASTAYMELSSLTHEDSAVYYCSRDYGYFDFWGQGTLLTVSS

25

Anti-PSMA**[0505]**

30

Deimmunisert VH '1

EVQLVQSGPEVKKPGATVKISCKTSGYTFTEYTIHWVKQAPGKGLEWIGNINPNNGGTTYN
 QKFEDKATLTVDKSTDTAYMELSSLRSEDVAVYYCAAGWNFDYWGQGTLLTVSS

Deimmunisert VK '1

DIQMTQSPSSLSTSVGDRVTLTCKASQDVGTAVDWYQQKPGSPKLLIYWASTRHTGIPSR
FSGSGSGTDFTLTISLQPEDFADYYCQQYNSYPLTFGPGTKVDIK

Deimmunisert VH1 '5

EVKLVESGGGLVQPGGSMKLSCVASGFTFSNYWMNWVRQAPGKGLEWVAEIRSQSNNF
ATHYAESVKGRVTISRDDSKSIVYLQMNNLRAEDTGVYYCTRRWNNFWGQGTTTVTVSS

Deimmunisert VH2 '5

EVKLVESGGGLVQPGGSLKLSCVASGFTFSNYWMNWVRQAPGKGLEWVAEIRSQSNNFA
5 THYAESVKGRVTISRDDSKSIVYLQMNNLRAEDTAVYYCTRRWNNFWGQGTTTVTVSS

Deimmunisert VH3 '5

EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCVASGFTFSNYWMNWVRQAPGKGLEWVAEIRSQSNNFA
THYAESVKGRVTISRDDSKSIVYLQMNNLRAEDTAVYYCTRRWNNFWGQGTTTVTVSS

Deimmunisert VH4 '5

EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCVASGFTFSNYWMNWVRQAPGKGLEWVAEIRSQSNNFA
THYAESVKGRFTISRDDSKSIVYLQMNNLRAEDTAVYYCTRRWNNFWGQGTTTVTVSS

Deimmunisert VK1 '5

10 NIVMTQFPSSMSASVGDRVITITCKASENVGTYSWYQQKPDQSPKMLIYGASNRFTGVDP
RFTGSGSATDFTLTISLQTEDLADYYCGQSYTFPYTFGQGTKLEMK

Deimmunisert VK2 '5

NIVMTQFPSSMSASVGDRVITITCKASENVGTYSWYQQKPDQSPKMLIYGASNRFTGVDP
RFSGSGSGTDFTLTISLQAEDLADYYCGQSYTFPYTFGQGTKLEIK

Deimmunisert VK3 '5

NIQMTQFPSAMSASVGDRVITITCKASENVGTYSWYQQKPDQSPKMLIYGASNRFTGVDP
15 RFSGSGSGTDFTLTISLQAEDLADYYCGQSYTFPYTFGQGTKLEIK

Deimmunisert VK4 '5

NIQMTQFPSAMSASVGDRVITITCKASENVGTYSWYQQKPDQSPKMLIYGASNRFTGVDP
RFSGSGSGTDFTLTISLQAEDLADYYCGQSYTFPYTFGQGTKLEIK

Deimmunisert VK DI '5

NIVMTQFPKMSASAGERMTLTCKASENVGTYSWYQQKPTQSPKMLIYGASNRFTGVDP
RFSGSGSGTDFTLTISVQAEDLDYDYCGQSYTFPYTFGGGTKLEMK

Deimmunisert VH DI '5

20 EVKLEESGGGLVQPGGSMKISCVASGFTFSNYWMNWVRQSPEKGLEWVAEIRSQSNNFA
THYAESVKGRVIISRDDSKSSVYLQMNSLRAEDTAVYYCTRRWNNFWGQGTTTVTVSS

Humanisert RHA '5

EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSNYWMNWVRQASGKGLEWVGEIRSQSNNFA
THYAESVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCTRRWNNFWGQGTTTVTVSS

Humanisert RHB '5

25 EVKLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSNYWMNWVRQASGKGLEWVAEIRSQSNNFA
THYAESVKGRVIISRDDSKNTVYLQMNSLRTEDTAVYYCTRRWNNFWGQGTTTVTVSS

Humanisert RHC '5

EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSNYWMNWVRQASGKGLEWVAEIRSQSNNFA
THYAESVKGRVIISRDDSKNTVYLQMNSLRTEDTAVYYCTRRWNNFWGQGTTTVTVSS

Humanisert RHD '5

EVKLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSNYWMNWVRQASGKGLEWVGEIRSQSNNFA
THYAESVKGRVIISRDDSKNTVYLQMNSLRTEDTAVYYCTRRWNNFWGQGTTTVTVSS

Humanisert RHE '5

30

EVKLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSNYWMNWVRQASGKGLEWVAEIRSQSNNFA
 THYAESVKGRFTISRDDSKNTVYLQMNSLRTEDTAVYYCTRRWNNFWGQGTTTVTVSS

Humanisert RHF '5

EVKLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSNYWMNWVRQASGKGLEWVAEIRSQSNNFA
 THYAESVKGRVIISRDDSKNTAYLQMNSLRTEDTAVYYCTRRWNNFWGQGTTTVTVSS

Humanisert RHG '5

EVKLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSNYWMNWVRQASGKGLEWVAEIRSQSNNFA
 THYAESVKGRVIISRDDSKNTAYLQMNSLRTEDTAVYYCTRRWNNFWGQGTTTVTVSS

5

Humanisert RKA '5

DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCKASENVGTYVSWYQQKPGTAPKLLIYGASNRFTGVPSR
 FSGSGSATDFTLTINNLQPEDFATYYCGQSYTFPYTFGQGTKVEIK

Humanisert RKB '5

DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCKASENVGTYVSWYQQKPGTAPKLLIYGASNRFTGVPSR
 FSGSGSATDFTLTINNLQPEDFATYYCGQSYTFPYTFGQGTKVEIK

10

Humanisert RKC '5

DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCKASENVGTYVSWYQQKPGTAPKMLIYGASNRFTGVPS
 RFSGSGSATDFTLTINNLQPEDFATYYCGQSYTFPYTFGQGTKVEIK

Humanisert RKD '5

DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCKASENVGTYVSWYQQKPGTAPKMLIYGASNRFTGVPS
 RFSGSGSATDFTLTINNLQPEDFATYYCGQSYTFPYTFGQGTKVEIK

Humanisert RKE '5

NIVMTQSPSSVSASVGDRVITITCKASENVGTYVSWYQQKPGTAPKLLIYGASNRFTGVPSR
 FTGSGSATDFILTINNLQPEDFATYYCGQSYTFPYTFGQGTKVEIK

15

Humanisert RKF '5

NIVMTQSPSSVSASVGDRVITITCKASENVGTYVSWYQQKPGTAPKMLIYGASNRFTGVPSR
 FSGSGSATDFILTINNLQPEDFATYYCGQSYTFPYTFGQGTKVEIK

Humanisert RKG '5

NIVMTQSPSSVSASVGDRVITITCKASENVGTYVSWYQQKPGTAPKMLIYGASNRFTGVPSR
 FTGSGSATDFTLTINNLQPEDFATYYCGQSYTFPYTFGQGTKVEIK

20

[0506] Morantistoffet kan også være et fusjonsprotein omfattende en albuminbindingspeptid (ABP)-sekvens (Dennis et al. (2002) "Albumin Binding As A General Strategy For Improving The Pharmacokinetics Of Proteins" J Biol Chem. 277:35035-35043; WO 01/45746). Antistoffer ifølge oppfinnelsen inkluderer fusjonsproteiner med ABP-sekvenser beskrevet av: (i) Dennis et al (2002) J Biol Chem. 277:35035-35043 ved tabell III og IV, side 35038; (ii) US 2004/0001827 ved [0076]; og (iii) WO 01/45746 ved side 12-13.

25

[0507] I én utførelsesform er antistoffet dannet for spesifikt å målrette det tumorrelaterte antigenet $\alpha_v\beta_6$.

30

[0508] Cellebindemiddelet kan være merket, f.eks. for å bidra til detektering eller rensing av middelet enten før inkorporering som et konjugat, eller som del av konjugatet. Merkingen kan være en biotinmarkør. I en annen utførelsesform kan cellebindemiddelet være merket med en radioisotop.

[0509] Utførelsesformer ifølge den foreliggende oppfinnelsen inkluderer ConjB, hvori cellebindemiddelet er valgt fra et antistoff mot hvilke som helst av antigenene drøftet ovenfor.

[0510] Utførelsesformer ifølge den foreliggende oppfinnelsen inkluderer ConjB, hvori cellebindemiddelet er valgt fra hvilke som helst av antistoffene drøftet ovenfor.

Legemiddelmengde

[0511] Legemiddelmengden er det gjennomsnittlige antallet av PBD-legemiddel per cellebindemiddel, f.eks. antistoff. Hvor forbindelsene ifølge oppfinnelsen er bundet til cysteiner, kan legemiddelmengden være fra 1 til 8 legemiddel (D) per cellebindemiddel, dvs. hvor 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 og 8 legemiddeldeler er kovalent bundet til cellebindemiddelet. Sammensetninger av konjugater inkluderer samlinger av cellebindemiddel, f.eks. antistoffer, konjugert med en rekke legemiddel, fra 1 til 8. Hvor forbindelsene ifølge oppfinnelsen er bundet til lysiner, kan legemiddelmengden være fra 1 til 80 legemiddel (D) per cellebindemiddel, skjønt en øvre grense på 40, 20, 10 eller 8 kan være foretrukket. Sammensetninger av konjugater inkluderer samlinger av cellebindemiddel, f.eks. antistoffer, konjugert med en rekke legemiddel, fra 1 til 80, 1 til 40, 1 til 20, 1 til 10 eller 1 til 8.

[0512] Det gjennomsnittlige antallet legemiddel per antistoff i preparater av ADC fra konjugeringsreaksjoner kan karakteriseres ved konvensjonelle middel slik som UV, reversfase-HPLC, HIC, massespektroskopi, ELISA-assay og elektroforese. Den kvantitative fordelingen av ADC med hensyn til p kan også bestemmes. Ved ELISA kan den gjennomsnittlige verdien for p i et særlig preparat av ADC bestemmes (Hamblett et al (2004) Clin. Cancer Res. 10:7063-7070; Sanderson et al (2005) Clin. Cancer Res. 11:843-852). Fordelingen av p

(legemiddel)-verdier bestemmes imidlertid ikke ved antistoff-antigen-bindingen og detekteringsbegrensningen av ELISA. ELISA-assay for detektering av antistoff-legemiddel-konjugater bestemmer heller ikke hvor legemiddeldelene er bundet til antistoffet, slik som tungkjede- eller lettkjedefragmentene, eller de særlige aminosyrerestene. I noen tilfeller kan separasjon, rensing og karakterisering av homogent ADC, hvor p er en viss verdi fra ADC med andre legemiddelforhold, oppnås ved hjelp av middel slik som reversfase-HPLC eller elektroforese. Slike teknikker gjelder også for andre typer av konjugater.

[0513] For noen antistoff-legemiddel-konjugater kan p begrenses av antallet bindingssteder på antistoffet. Et antistoff kan for eksempel bare ha én eller flere cysteintiolgrupper, eller kan bare ha én eller flere tilstrekkelig reaktive tiolgrupper gjennom hvilke en linker kan bindes. Høyere legemiddelmengde, f.eks. $p > 5$, kan forårsake aggregering, uoppløselighet, toksisitet eller tap av cellulær permeabilitet for visse antistoff-legemiddel-konjugater.

[0514] Det konjugeres typisk færre enn det teoretisk høyeste antallet legemiddeldeler til et antistoff under en konjugeringsreaksjon. Et antistoff kan for eksempel inneholde mange lysindeler som ikke reagerer med legemiddellinkermellomproduktet (D-L) eller linkerreagenset. Bare de mest reaktive lysingruppene kan reagere med et aminreaktivt linkerreagens. Bare de mest reaktive cysteintiolgruppene kan også reagere med et tiolreaktivt linkerreagens. Antistoffer inneholder generelt ikke mange, om noen, frie og reaktive cysteintiolgrupper som kan bindes til en legemiddeldel. De fleste cysteintiolrestene i forbindelsenes antistoffer finnes som disulfidbroer og må reduseres med et reduksjonsmiddel, slik som ditiotreitol (DTT) eller TCEP, under partielle eller totale reduksjonsbetingelser. Mengden (legemiddel/antistoff-forhold) for en ADC kan kontrolleres på flere forskjellige måter, inkludert: (i) begrensnig av moloverskuddet av legemiddellinkermellomproduktet (D-L) eller bindingsreagens i forhold til antistoff, (ii) begrensnig av konjugeringsreaksjonstiden eller -temperaturen, og (iii) partiell eller begrensende reduktive betingelser for cysteintiolmodifisering.

[0515] Visse antistoffer har reduserbare interkjededisulfider, dvs. cysteinbroer. Antistoffer kan gjøres reaktive for konjugering med linkerreagenser ved behandling med et reduksjonsmiddel slik som DTT (ditiotreitol). Hver cysteinbro vil således teoretisk danne to reaktive tiolnukleofiler. Ytterligere nukleofile

grupper kan introduseres i antistoffer gjennom omsetning av lysiner med 2-iminotiolan (Trauts reagens), som resulterer i konvertering av et amin til et tiol. Reaktive tiolgrupper kan introduseres i antistoffet (eller fragment derav) ved å konstruere én, to, tre, fire eller flere cysteinrester (f.eks. ved fremstilling av mutante antistoffer omfattende én eller flere ikke-native cysteinaminosyrerester). US 7521541 beskriver konstruksjon av antistoffer ved introduksjon av reaktive cysteinaminosyrer.

[0516] Cysteinaminosyrer kan konstrueres på reaktive steder i et antistoff og som ikke danner disulfidbindinger i kjeder eller mellom bindinger (Junutula, et al., 2008b Nature Biotech., 26(8):925–932; Dornan et al (2009) Blood 114(13):2721–2729; US 7521541; US 7723485; WO2009/052249). De konstruerte cysteintiolene kan omsettes med linkerreagenser eller legemiddellinkerreagensene ifølge den foreliggende oppfinnelsen, som har tiolreaktive, elektrofile grupper slik som maleimid- eller alfa-haloamider for å danne ADC med cysteinkonstruerte antistoffer og tPBD-legemiddeldelene. Legemiddeldelens posisjon kan således være konstruert, kontrollert og kjent. Legemiddelmengden kan kontrolleres siden de konstruerte cysteintiolgruppene typisk omsettes med tiolreaktive linkerreagenser eller legemiddellinkerreagenser i høyt utbytte. Konstruksjon av et IgG-antistoff for å introdusere en cysteinaminosyre ved substitusjon på et enkelt sted på tung- eller lett kjeden gir to nye cysteiner på det symmetriske antistoffet. En legemiddelmengde nær 2 kan oppnås med nær homogenitet av konjugeringsproduktet ADC.

[0517] Hvis mer enn én nukleofil eller elektrofil gruppe av antistoffet reagerer med et legemiddellinkermellomprodukt eller linkerreagens etterfulgt av legemiddeldelreagens, er det resulterende produktet en blanding av ADC-forbindelser med en fordeling av legemiddeldeler bundet til et antistoff, f.eks. 1, 2, 3, osv. Fremgangsmåter for væskechromatografi slik som polymer reversfase (PLRP) og hydrofob interaksjon (HIC) kan separere forbindelser i blandingene etter legemiddelmengdeverdi. Preparater av ADC med en enkelt legemiddelmengdeverdi (p) kan isoleres, men disse ADC-ene med enkelt mengdeverdi kan fortsatt være heterogene blandinger siden legemiddeldelene kan være bundet, via linkeren, på forskjellige steder på antistoffet.

[0518] Antistoff-legemiddel-konjugatets sammensetninger ifølge oppfinnelsen inkluderer således blandinger av antistoff-legemiddel-konjugatforbindelser hvor

antistoffet har én eller flere PBD-legemiddeldeler, og hvor legemiddeldelene kan være bundet til antistoffet ved ulike aminosyrerester.

5 **[0519]** I én utførelsesform er det gjennomsnittlige antallet av dimere pyrroløbenzodiazepingrunder per cellebindemiddel i området 1 til 20. I noen utførelsesformer er området valgt fra 1 til 8, 2 til 8, 2 til 6, 2 til 4 og 4 til 8.

[0520] I noen utførelsesformer er det én dimer pyrroløbenzodiazepingruppe per cellebindemiddel.

10

Inkluderer andre former

15 **[0521]** Med mindre noe annet er angitt, er de velkjente ioniske, salt-, solvat- og beskyttede formene over inkludert i disse substituentene. For eksempel inkluderer en henvisning til karboksylsyre (-COOH) også den anioniske (karboksylat-)formen (-COO⁻), et salt eller solvat derav, samt konvensjonelle beskyttede former. En henvisning til en aminogruppe inkluderer likeledes den protonerte formen (-N⁺HR¹R²), et salt eller solvat av aminogruppen, f.eks. et

20 hydrokloridsalt, samt konvensjonelle beskyttede former av en aminogruppe. En henvisning til en hydroksylgruppe inkluderer likeledes også den anioniske formen (-O⁻), et salt eller solvat derav, samt konvensjonelle beskyttede former.

Salter

25

[0522] Det kan være hensiktsmessig eller ønskelig å fremstille, rense og/eller behandle et solvat tilsvarende den aktive forbindelsen, for eksempel et farmasøytisk akseptabelt salt. Eksempel på farmasøytisk akseptable salter er

30 drøftet i Berge, et al., J. Pharm. Sci., 66, 1-19 (1977).

[0523] Hvis forbindelsen er anionisk eller har en funksjonell gruppe som kan være anionisk (f.eks. kan -COOH være -COO⁻), kan et salt for eksempel dannes med et egnet kation. Eksempel på egnede uorganiske kationer inkluderer alkalimetallioner slik som Na⁺ og K⁺, alkalijordkationer slik som Ca²⁺ og Mg²⁺, og

35 andre kationer slik som Al³⁺. Eksempel på egnede organiske kationer inkluderer, men er ikke begrenset til, ammoniumion (dvs. NH₄⁺) og substituerte

ammoniumioner (f.eks. NH_3R^+ , NH_2R_2^+ , NHR_3^+ , NR_4^+). Eksempel på noen egnede substituerte ammoniumioner er dem avledet fra: etylamin, dietylamin, disykloheksylamin, trietylamin, butylamin, etylendiamin, etanolamin, dietanolamin, piperazin, benzylamin, fenylbenzylamin, kolin, meglumin og trometamin, samt aminosyrer slik som lysin og arginin. Et eksempel på et vanlig kvaternært ammoniumion er $\text{N}(\text{CH}_3)_4^+$.

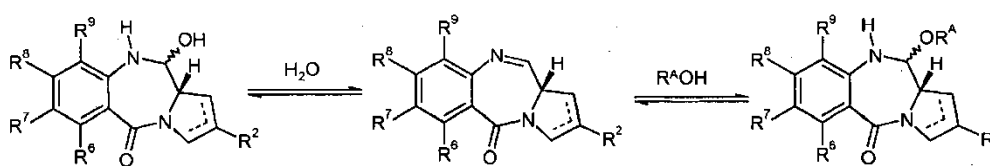
[0524] Hvis forbindelsen er kationisk eller har en funksjonell gruppe som kan være kationisk (f.eks. kan $-\text{NH}_2$ være $-\text{NH}_3^+$), kan et salt dannes med et egnet anion. Eksempel på egnede uorganiske anioner inkluderer dem avledet fra følgende uorganiske syrer: saltsyre, hydrobomsyre, hydrojodsyre, svovelsyre, svovelsyring, salpetersyre, salpetersyring, fosforsyre og fosforsyring.

[0525] Eksempel på egnede organiske anioner inkluderer, men er ikke begrenset til, dem avledet fra følgende organiske syrer: 2-acetyoksybenzo-, eddik-, askorbin-, aspargin-, benzo-, kamfersulfon-, kanel-, sitron-, edetin-, etandisulfon-, etansulfon-, fumar-, gluktepton-, glukon-, glutamin-, glykol-, hydroksymalein-, hydroksynaftalenkarboksyl-, isetion-, melke-, laktobion-, laurin-, malein-, eple-, metansulfon-, mucin-, olein-, oksalin-, palmitin-, pamo-, pantotenin-, fenyleddik-, fenylsulfon-, propionin-, pyrodrue-, salisyl-, stearin-, rav-, sulfanilin-, vin-, toluenesulfon-, trifluoreddik- og valeriansyre. Eksempel på egnede polymere organiske anioner inkluderer dem avledet fra følgende polymere syrer: garvesyre, karboksymetylcellulose.

Solvater

[0526] Det kan være hensiktsmessig eller ønskelig å fremstille, rense og/eller behandle et solvat tilsvarende den aktive forbindelsen. Betegnelsen "solvat" anvendes heri i den sedvanlige betydningen for å bety et kompleks av solut (f.eks. aktiv forbindelse, salt av aktiv forbindelse) og løsemiddel. Hvis løsemiddelet er vann, kan solvatet fordelaktig betegnes som et hydrat, f.eks. et monohydrat, et dihydrat, et trihydrat, osv.

[0527] Oppfinnelsen inkluderer forbindelser hvor et løsemiddel tilsettes på hele iminbindinger av PBD-delen, som er illustrert nedenfor hvor løsemiddelet er vann eller en alkohol (R^AOH , hvor R^A er C_{1-4} -alkyl):



[0528] Disse formene kan kalles karbinolamin og karbinolamineterformer av PBD (som beskrevet i avsnittet vedrørende R^{10} ovenfor). Balansen mellom disse likevektene avhenger av forholdene i hvilke forbindelsene finnes, samt selve delens art.

[0529] Disse særlige forbindelsene kan isoleres i fast form, for eksempel ved lyofilisering.

Isomerer

[0530] Visse forbindelser ifølge oppfinnelsen kan foreligge i én eller flere særlige geometriske, optiske, enantiomere, diastieromere, epimeriske, atropiske, stereoisomere, tautomere, konformasjonale eller anomeriske former inkludert, men ikke begrenset til, cis- og trans-former; E- og Z-former; c-, t- og r- former; endo- og ekso-former; R-, S- og meso-former; D- og L-former; d- og l-former; (+) og (-)-former; keto-, enol- og enolat-former; syn- og anti-former; synklinal- og antyklinal-former; α - og β -former; aksiale og ekvatoriale former; båt-, stol-, vri-, konvolutt- og halvstol-former og kombinasjoner derav, heretter samlet omtalt som "isomerer" (eller "isomere former").

[0531] Betegnelsen "kiral" betyr molekyler som er ulike sin speilbildepartner, mens betegnelsen "akiral" betyr molekyler som er like sin speilbildepartner.

[0532] Betegnelsen "stereoisomer" betyr forbindelser som har identisk kjemisk sammensetning, men som er forskjellige med hensyn til romarrangementet av atomer eller grupper.

[0533] "Diastereomer" betyr en stereoisomer som har to eller flere kirale senter, og hvis molekyler ikke er speilbilder av hverandre. Diastereomerer har forskjellige fysiske egenskaper, f.eks. smeltepunkt, kokepunkt, spektralegenskaper og reaktiviteter. Blandinger av diastereomerer kan separeres

under analytiske høyoppløsningsprosedyrer slik som elektroforese og kromatografi.

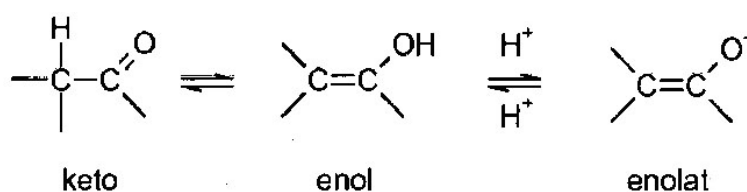
[0534] "Enantiomer" betyr stereoisomerer av en forbindelse som er ulike speilbilder av hverandre.

[0535] Stereokjemiske definisjoner og konvensjoner som anvendes heri følger generelt S. P. Parker, Ed., McGraw-Hill Dictionary of Chemical Terms (1984) McGraw-Hill Book Company, New York; og Eliel, E. and Wilen, S., "Stereochemistry of Organic Compounds", John Wiley & Sons, Inc., New York, 1994. Forbindelsene ifølge oppfinnelsen inneholder asymmetriske eller kirale senter og finnes derfor i forskjellige stereoisomere former. Det er ment at alle stereoisomere former av forbindelsene ifølge oppfinnelsen inkludert, men ikke begrenset til, diastereomerer, enantiomerer og atropisomerer, samt blandinger derav, slik som racemiske blandinger, utgjør en del av den foreliggende oppfinnelsen. Mange organiske forbindelser finnes i optisk aktive former, dvs. de har evnen til å rotere planet av planpolarisert lys. Ved beskrivelse av en optisk aktiv forbindelse anvendes prefiksene D og L, eller R og S for å betegne molekylets absolutte konfigurasjon rundt dets kirale senter. Prefiksene d og l eller (+) og (-) benyttes for å angi forbindelsens rotasjonstegn for planpolarisert lys, hvor (-) eller l betyr at forbindelsen er levorotatorisk. En forbindelse med prefikset (+) eller d er dekstrorotatorisk. For en gitt kjemisk struktur er disse stereoisomerene identiske, med unntak av at de er speilbilder av hverandre. En spesifikk stereoisomer kan også betegnes som en enantiomer, og en blanding av slike isomerer kalles ofte en enantiomer blanding. En 50:50 blanding av enantiomerer betegnes som en racemisk blanding eller et racemat, som kan oppstå hvor det ikke har vært noen stereoseleksjon eller stereospesifisitet i en kjemisk reaksjon eller prosess. Betegnelsene "racemisk blanding" og "racemat" betyr en ekvimolar blanding av to enantiomere arter frie for optisk aktivitet.

[0536] Det skal bemerkes at, med unntak av det som drøftes nedenfor for tautomere former, er strukturelle (eller konstitusjonelle) isomerer (dvs. isomerer som er forskjellige i forbindelsene mellom atomer i stedet for bare av posisjonen av atomer i rom) spesifikt utelukket fra betegnelsen "isomerer" som anvendt heri, . En henvisning til en metoksygruppe, $-OCH_3$, skal for eksempel ikke tolkes som en henvisning til dens strukturelle isomer, en hydroksymetylgruppe, $-CH_2OH$. En henvisning til orto-klorfenyl skal likeledes ikke tolkes som en

henvisning til dens strukturelle isomer, meta-klorfenyl. En henvisning til en klasse av strukturer kan imidlertid godt inkludere strukturelle isomere former som omfattes av den klassen (f.eks. inkluderer C₁₋₇-alkyl n-propyl og iso-propyl; butyl inkluderer n-, iso-, sec- og tert-butyl; metoksyfenyl inkluderer orto-, meta- og para-metoksyfenyl).

[0537] Eksklusjonen over gjelder ikke tautomere former, for eksempel, keto-, enol- og enolat-former, som i for eksempel følgende tautomere par: keto/enol (beskrevet nedenfor), imin/enamin, amid/iminalkohol, amidin/amidin, nitroso/oksim, tioketon/enetiol, N-nitroso/hydroksyazo og nitro/aci-nitro.



[0538] Betegnelsen "tautomer" eller "tautomer form" betyr strukturelle isomerer av forskjellig energi som er interkonvertible via en energisvak barriere. Protontautomerer (også kjent som prototropiske tautomerer) inkluderer for eksempel interkonverteringer via migrering av et proton, slik som isomeriseringer av keto-enol og imin-enamin. Valenstautomerer inkluderer interkonverteringer ved reorganisering av noen av bindingselektronene.

[0539] Det skal bemerkes at spesifikt inkludert i betegnelsen "isomer" er forbindelser med én eller flere isotope substitusjoner. H kan for eksempel være i en hvilken som helst isotop form, inkludert ¹H, ²H (D) og ³H (T); C kan være i en hvilken som helst isotop form, inkludert ¹²C, ¹³C og ¹⁴C; O kan være i en hvilken som helst isotop form, inkludert ¹⁶O og ¹⁸O og lignende.

[0540] Eksempel på isotoper som kan være inkorporert i forbindelser ifølge oppfinnelsen, inkluderer isotoper av hydrogen, karbon, nitrogen, oksygen, fosforsyring, fluor og klor slik som, men ikke begrenset til, ²H (deuterium, D), ³H (tritium), ¹¹C, ¹³C, ¹⁴C, ¹⁵N, ¹⁸F, ³¹P, ³²P, ³⁵S, ³⁶Cl og ¹²⁵I. Ulike isotopisk merkede forbindelser ifølge den foreliggende oppfinnelsen, f.eks. dem i hvilke radioaktive isotoper slik som ³H, ¹³C og ¹⁴C er inkorporert. Slike isotopisk merkede forbindelser kan være nyttige i metabolske studier, reaksjons-kinetiske studier, detekterings- eller bildediagnostikkteknikker, slik som positronemisjons-tomografi (PET) eller enfotonstomografi (SPECT), inkludert legemiddel- eller

substratvevsfordelingsassayer, eller i radioaktiv behandling av pasienter. Deuterium-merkede eller substituerte terapeutiske forbindelser ifølge oppfinnelsen kan ha forbedrede DMPK-egenskaper (legemiddelmetabolisme og farmakokinetikk) vedrørende fordeling, metabolisme og ekskresjon (ADME).

5 Substitusjon med tyngre isotoper slik som deuterium kan gi visse terapeutiske fordeler på grunn av større metabolsk stabilitet, for eksempel økt halveringstid in vivo eller reduserte doseringskrav. En ^{18}F -merket forbindelse kan være nyttig for PET- eller SPECT-studier. Isotopisk merkede forbindelser ifølge denne oppfinnelsen og prolegemiddel derav kan generelt fremstilles ved utførelse av

10 prosedyrene beskrevet i skjemaene eller i eksemplene og fremstillingene beskrevet nedenfor, ved substitusjon av et lett tilgjengelig isotopisk merket reagens med et ikke-isotopisk merket reagens. Ytterligere kan substitusjon med tyngre isotoper, særlig deuterium (dvs. ^2H eller D), gi visse terapeutiske fordeler på grunn av større metabolsk stabilitet, for eksempel økt halveringstid in vivo

15 eller reduserte doseringskrav eller en forbedring i terapeutisk indeks. Det er underforstått at deuterium i denne sammenhengen regnes som en substituent. Konsentrasjonen av en slik tyngre isotop, spesifikt deuterium, kan defineres av en isotopisk anrikningsfaktor. I forbindelsene ifølge denne oppfinnelse er hvilket som helst atom som ikke er spesifikt betegnet som en særlig isotop, ment å

20 representere en hvilken som helst stabil isotop av dette atomet.

[0541] Med mindre annet er spesifisert, inkluderer en henvisning til en særlig forbindelse alle slike isomere former, inkludert (helt eller delvis) racemiske og andre blandinger derav. Fremgangsmåter for fremstilling (f.eks. asymmetrisk syntese) og separasjon (f.eks. fraksjonell krystallisering og kromatografiske

25 middel) av slike isomere former er enten kjent i teknikken eller kan uten videre oppnås ved å tilpasse fremgangsmåtene beskrevet heri, eller kjente fremgangsmåter, på en kjent måte.

30 ***Biologisk aktivitet***

In vitro-celleproliferasjonsassayer

35 **[0542]** Den cytotoksiske eller cytostatiske aktivitet til et antistoff-legemiddel-konjugat (ADC) måles generelt ved: å eksponere pattedyrceller som har reseptorproteiner, f.eks. HER2, for ADC-ets antistoff i et cellekulturmedium,

dyrke cellene fra ca. 6 timer til ca. 5 dager og måle cellelevedyktigheten.. Cellebaserte *in vitro*-assayer anvendes for å måle levedyktighet (proliferasjon), cytotoksisitet og induksjon av apoptose (kaspaseaktivering) av et ADC ifølge oppfinnelsen.

5

[0543] Antistoff-legemiddel-konjugaters *in vitro*-potens kan måles ved et celleproliferasjonsassay. CellTiter-Glo® Luminescent Cell Viability Assay er en kommersielt tilgjengelig (Promega Corp., Madison, WI) homogen assayfremgangsmåte basert på den rekombinante ekspresjonen av *Coleoptera*-luciferase (US-patentnr. 5583024; 5674713 og 5700670). Dette celleproliferasjonsassayet bestemmer antallet levedyktige celler i kultur basert på kvantitering av tilstedeværende ATP, en indikator på metabolsk aktive celler (Crouch et al (1993) J. Immunol. Meth. 160:81-88; US 6602677). CellTiter-Glo®-assayet utføres i 96-brønnersformat, hvilket gjør det mottagelig for automatisk screening med høy gjennomstrømningshastighet (HTS) (Cree et al (1995) AntiCancer Drugs 6:398-404). Den homogene analyseprosedyren involverer tilsetting av det enkelte reagenset (CellTiter-Glo®-reagenset) direkte i celler dyrket i serumsupplert medium. Cellevasking, fjerning av medium og flere pipetteringsstrinn er ikke påkrevd. Systemet detekterer så få som 15 celler/brønn i et 384-brønnersformat i 10 minutter etter tilsetting av reagens og blanding. Cellene kan behandles kontinuerlig med ADC, eller de kan behandles og separeres fra ADC. Celler behandlet over kort tid, dvs. 3 timer, viste generelt de samme potente effektene som kontinuerlig behandlede celler.

10

15

20

25

30

[0544] Det homogene formatet "tilsett-bland-mål" resulterer i cellelyse og generering av et luminescerende signal som er proporsjonalt med mengden av tilstedeværende ATP. Mengden av ATP er direkte proporsjonal med antallet av celler til stede i kultur. CellTiter-Glo®-assayet genererer et "glødeaktig" luminescerende signal, produsert av luciferasereaksjonen, som har en halveringstid på generelt mer enn fem timer, avhengig av anvendt celletype og medium. Levedyktige celler gjenspeiles i relative luminescensenheter (RLU). Substratet, Beetle Luciferin, dekarboksyleres oksidativt ved rekombinant luciferase fra ildflue med samtidig konvertering av ATP til AMP og generering av fotoner.

35

[0545] Antistoff-legemiddel-konjugaters *in vitro*-potens kan også måles ved et cytotoksisitetsassay. Dyrkede adherente celler vaskes med PBS, frigjøres med

trypsin, fortynnes i komplett medium inneholdende 10 % FCS, sentrifugeres, resuspenderes i ferskt medium og telles med et hemocytometer. Suspensjonskulturer telles direkte. Monodisperse celsuspensjoner egnet til telling kan kreve risting av suspensjonen ved gjentatt aspirasjon for å bryte opp celleklumper.

5

[0546] Celsuspensjonen fortynnes til den ønskede utsåingsdensiteten og dispenseres (100 µl per brønn) i svarte 96-brønners plater. Plater med adherente cellelinjer inkuberes over natten for å tillate adherens. Suspensjonscellekulturer kan anvendes på utsåingsdagen.

10

[0547] En stamløsning (1 ml) av ADC (20 µg/ml) fremstilles i det korrekte cellekulturmediet. Serielle 10-gangers fortynninger av stam-ADC fremstilles i 15 ml sentrifugeslanger ved serielt å overføre 100 µl til 900 µl cellekulturmedium.

15

[0548] Fire replikasjonsbrønner av hver ADC-fortynning (100 µl) dispenseres i 96-brønners svarte plater, tidligere plassert med celsuspensjon (100 µl), som resulterer i et sluttvolum på 200 µl. Kontrollbrønner mottar cellekulturmedium (100 µl).

20

[0549] Hvis cellelinjens doblingstid er mer enn 30 timer, er ADC-inkuberingen 5 dager, ellers gjøres en fire-dagers inkubering.

25

[0550] I slutten av inkuberingsperioden vurderes cellelevedyktigheten med AlamarBlue-assayet. AlamarBlue (Invitrogen) dispenseres over hele platen (20 µl per brønn) og inkuberes i 4 timer. AlamarBlue-fluorescens måles ved magnetisering 570 nm, emisjon 585 nm på Varioskan-flashplateleseren. Prosentandel celleoverlevelse beregnes fra den gjennomsnittlige fluorescensen i de ADC-behandlede brønnene sammenlignet med den gjennomsnittlige fluorescensen i kontrollbrønnene.

30

In vivo-effekt

35

[0551] *In vivo*-effekten av antistoff-legemiddel-konjugater (ADC) ifølge oppfinnelsen kan måles ved tumorxenograftstudier hos mus. *In vivo*-effekten av et anti-HER2 ADC ifølge oppfinnelsen kan måles ved en modell med transgene

mus med høy HER2-ekspresjon ved eksplantasjon. En allograft forplantes fra de Fo5 mmtv-transgene musene som ikke responderer på, eller responderer dårlig på, HERCEPTIN®-behandling. Individuer behandles én gang med ADC ved visse dosenivåer (mg/kg) og PBD-legemiddeleksponering ($\mu\text{g}/\text{m}^2$); og placebobufferkontroll (vehikkel) og overvåkes i to uker eller mer for å måle tiden til tumordobling, loggcelledrap og tumorkrymping.

Anvendelse

[0552] Konjugatene ifølge oppfinnelsen kan anvendes for å tilveiebringe en PBD-forbindelse ved en målposisjon.

[0553] Målposisjonen er foretrukket en proliferativ cellepopulasjon. Antistoffet er et antistoff for et antigen som er til stede på en proliferativ cellepopulasjon.

[0554] I én utførelsesform er antigenet fraværende eller til stede ved et redusert nivå i en ikke-proliferativ cellepopulasjon sammenlignet med mengden av antigen som er til stede i den proliferative cellepopulasjonen, for eksempel en tumorcellepopulasjon.

[0555] Ved målposisjonen kan linkerens spaltes for å frisetten en forbindelse ReIA eller ReIB. Konjugatet kan således anvendes for selektivt å tilveiebringe en forbindelse ReIA eller ReIB til målposisjonen.

[0556] Linkeren kan spaltes av et enzym som er til stede ved målposisjonen.

[0557] Målposisjonen kan være *in vitro*, *in vivo* eller *ex vivo*.

[0558] Antistoff-legemiddel-konjugatforbindelsene (ADC-forbindelsene) ifølge oppfinnelsen inkluderer dem med nytte for anticanceraktivitet. Forbindelsene inkluderer særlig et antistoff som er konjugert, dvs. kovalent bundet av en linker, til en PBD-legemiddeldel, dvs. toksin. Når legemiddelet ikke er konjugert til et antistoff, har PBD-legemiddelet en cytotoxisk effekt. PBD-legemiddeldelens biologiske aktivitet moduleres således ved konjugering til et antistoff. Antistoff-legemiddel-konjugater (ADC) ifølge oppfinnelsen leverer

selektivt en virkningsfull dose av et cytotoksisk middel til tumorvev, hvorved større selektivitet, dvs. en lavere effektiv dose, kan oppnås.

5 **[0559]** I ett aspekt tilveiebringer den foreliggende oppfinnelsen således en konjugatforbindelse som beskrevet heri for anvendelse i terapi.

10 **[0560]** I et ytterligere aspekt tilveiebringes det også en konjugatforbindelse som beskrevet heri for anvendelse i behandlingen av en proliferativ sykdom. Fagmannen er uten videre i stand til å bestemme hvorvidt et kandidatkonjugat behandler en proliferativ tilstand for en særlig celletype. Assayer som praktisk kan anvendes for å vurdere aktiviteten av en særlig forbindelse, er for eksempel beskrevet i eksemplene nedenfor.

15 **[0561]** Betegnelsen "proliferativ sykdom" betyr en uønsket eller ukontrollert cellulær proliferasjon av overdrevne eller unormale celler som er uønsket, slik som neoplastisk eller hyperplastisk vekst, enten *in vitro* eller *in vivo*.

20 **[0562]** Eksempel på proliferative tilstander inkluderer godartet, pre-ondartet og ondartet cellulær proliferasjon, inkludert neoplasmer og tumorer (f.eks. histocytom, gliom, astrocyom, osteom), cancere (f.eks. lungecancer, småcellet lungecancer, gastrointestinalcancer, tarmcancer, tykktarmcancer, brystkarinom, eggstokkarsinom, prostatacancer, testikulær cancer, levercancer, nyrecancer, blærecancer, bukspyttkjertelcancer, hjernecancer, sarkom, osteosarkom, Kaposi sarkom, melanom), lymfomer, leukemier, psoriasis, bensykdommer, 25 fibroproliferative lidelser (f.eks. i bindevev) og aterosklerose. Cancere av særlig interesse inkluderer leukemier og eggstokkcancere.

30 **[0563]** Hvilken som helst celletype kan behandles inkludert, men ikke begrenset til, lunge, mage-tarm (inkludert f.eks. tarm, tykktarm), bryst (brystkjertel), eggstokk, prostata, lever (hepatisk), nyre (renal), blære, bukspyttkjertel, hjerne og hud.

35 **[0564]** I én utførelsesform er behandlingen av en bukspyttkjertelcancer. I én utførelsesform er behandlingen av en tumor som har $\alpha_v\beta_6$ -integrin på celleoverflaten.

[0565] Det er tenkt at antistoff-legemiddel-konjugater (ADC) ifølge den

foreliggende oppfinnelsen kan anvendes for å behandle ulike sykdommer eller lidelser, f.eks. karakterisert ved overekspressjon av et tumorantigen. Eksempel på tilstander eller hyperproliferative lidelser inkluderer godartede eller ondartede tumorer, leukemi, hematologiske og lymfoidondartetheter. Andre inkluderer

5 nevronale, gliale, astrocytale, hypotalamiske, kjertel-, makrofagiske, epiteliale, stromale, blastocoeliske, inflammatoriske, angiogene og immunologiske, herunder autoimmune, lidelser.

[0566] Sykdommen eller lidelsen som skal behandles er generelt en hyperproliferativ sykdom, slik som cancer. Eksempel på cancer som skal behandles heri inkluderer karsinom, lymfom, blastom, sarkom og leukemi eller lymfoidondartetheter. Mer særlige eksempler på slike cancere inkluderer plateepitelcancer, lungecancer inkludert småcellet lungecancer, ikke-småcellet lungecancer, adenokarsinom i lungen og platekarsinom i lungen, cancer i

10 bukhinnen, hepatocellulær cancer, magecancer, inkludert gastrointestinalcancer, bukspyttkjertelcancer, glioblastom, livmorhalscancer, eggstokkcancer, levercancer, blærecancer, hepatom, brystcancer, tykktarmscancer, rektalcancer, kolorektalcancer, endometrialt eller uterint karsinom, spyttkjertelkarsinom, nyrecancer, prostatacancer, vulvacancer, skjoldbruskkjertelcancer, hepatisk

15 karsinom, analkarsinom, peniskarsinom samt hode- og halscancer.

[0567] Autoimmune sykdommer for hvilke ADC-forbindelsene kan anvendes i behandling, inkluderer revmatologiske lidelser (slik som for eksempel revmatoid artritt, Sjögrens syndrom, skleroderma, lupus slik som SLE og lupus nefritt,

25 polymyositt/dermatomyositt, kryoglobulinemi, anti-fosfolipid-antistoffsyndrom og psoriasisartritt), artrose, autoimmune gastrointestinale forstyrrelser og leverforstyrrelser (slik som for eksempel inflammatoriske tarmsykdommer (f.eks. ulcerøs kolitt og Crohns sykdom), autoimmun gastritt og pernisiøs anemi, autoimmun hepatitt, primær biliær cirrhose, primær skleroserende kolangitt og

30 cøliaki), vaskulitt (slik som for eksempel ANCA-assosiert vaskulitt, herunder Churg-Strauss-vaskulitt, Wegeners granulomatose og polyangitt), autoimmune neurologiske forstyrrelser (slik som for eksempel multippel sklerose, opsoklonus-myoklonussyndrom, myasthenia gravis, neuromyelitis optica, Parkinsons sykdom, Alzheimers sykdom og autoimmune polyneuropatier), nyreforstyrrelser

35 (slik som for eksempel glomerulonefritt, Goodpastures syndrom og Bergers sykdom), autoimmune dermatologiske forstyrrelser (slik som for eksempel psoriasis, elveblest, neslefeber, pemfigus vulgaris, bulløs pemfigus og kutan

lupus erythematosus), hematologiske forstyrrelser (slik som for eksempel trombocytopen purpura, trombotisk trombocytopen purpura, posttransfusjonspurpura og autoimmun hemolytisk anemi), aterosklerose, uvetitt, autoimmune hørselssykdommer (slik som for eksempel sykdom i det indre øret og hørselstap) og Behcets sykdom, Raynauds syndrom, organtransplantasjon og autoimmune endokrine forstyrrelser (slik som for eksempel diabetesrelaterte autoimmune sykdommer slik som insulinavhengig diabetes mellitus (IDDM), Addisons sykdom og autoimmun thyroidsykdom (f.eks. Graves sykdom og tyroiditt)). Slike sykdommer inkluderer mer foretrukket for eksempel revmatoid artritt, ulcerøs kolitt, ANCA-assosiert vaskulitt, lupus, multippel sklerose, Sjögrens syndrom, Graves sykdom, IDDM, pernisiøs anemi, tyroiditt og glomerulonefritt.

Fremgangsmåter for behandling

[0568] Konjugatene ifølge den foreliggende oppfinnelsen kan anvendes for terapi. Betegnelsen "terapeutisk virkningsfull mengde" er en mengde som er tilstrekkelig til å vise nytte for en pasient. Slik nytte kan i det minste være lindring av minst ett symptom. Den faktiske mengden som blir administrert, og raten og tidsforløpet for administrering, vil avhenge av arten og alvorligheten av det som blir behandlet. Ansvarer for forskrivning av behandling, f.eks. vedtak om dosering, tilligger allmennleger og andre leger.

[0569] En forbindelse ifølge oppfinnelsen kan administreres alene eller i kombinasjon med andre behandlinger, enten samtidig eller sekvensielt, avhengig av tilstanden som skal behandles. Eksempel på behandlinger og terapier inkluderer kjemoterapi (administrering av aktive middel, inkludert f.eks. legemiddel, slik som kjemoterapeutika); kirurgi; og strålingsterapi.

[0570] Et "kjemoterapeutisk middel" er en kjemisk forbindelse som er nyttig for behandling av kreft, uavhengig av virkemekanisme. Klasser av kjemoterapeutiske middel inkluderer alkyleringsmiddel, antimetabolitter, spindelgiftplantalkaloider, cytotoksiske antibiotika/antitumorantibiotika, topoisomeraseinhibitorer, antistoffer, fotosensibiliseringsmiddel og kinaseinhibitorer. Kjemoterapeutiske middel inkluderer forbindelser anvendt i "målrettet behandling" og konvensjonell kjemoterapi.

[0571] Eksempel på kjemoterapeutiske middel inkluderer: erlotinib (TARCEVA®, Genentech/OSI Pharm.), docetaxel (TAXOTERE®, Sanofi-Aventis), 5-FU (fluoruracil, 5-fluoruracil, CAS-nr. 51-21-8), gemcitabin (GEMZAR®, Lilly), PD-0325901 (CAS-nr. 391210-10-9, Pfizer), cisplatin (cis-diamin, diklorplatina(II), CAS-nr. 15663-27-1), karboplatin (CAS-nr. 41575-94-4), paklitaxel (TAXOL®, Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, N.J.), trastuzumab (HERCEPTIN®, Genentech), temozolomid (4-metyl-5-okso-2,3,4,6,8-pentazabisyklo [4,3,0] nona-2,7,9-trien-9-karboksamid, CAS-nr. 85622-93-1, TEMODAR®, TEMODAL®, Schering Plough), tamoksifen ((Z)-2-[4-(1,2-difenylbut-1-enyl)fenoksy]-N,N-dimetyletanamin, NOLVADEX®, ISTUBAL®, VALODEX®) og doksorubicin (ADRIAMYCIN®), Akti-1/2, HPPD og rapamycin. Flere eksempel på kjemoterapeutiske middel inkluderer: oksaliplatin (ELOXATIN®, Sanofi), bortezomib (VELCADE®, Millennium Pharm.), sutent (SUNITINIB®, SU11248, Pfizer), letrozol (FEMARA®, Novartis), imatinibmesylat (GLEEVEC®, Novartis), XL-518 (Mek-inhibitor, Exelixis, WO 2007/044515), ARRY-886 (Mek-inhibitor, AZD6244, Array BioPharma, Astra Zeneca), SF-1126 (PI3K-inhibitor, Semafore Pharmaceuticals), BEZ-235 (PI3K-inhibitor, Novartis), XL-147 (PI3K-inhibitor, Exelixis), PTK787/ZK 222584 (Novartis), fulvestrant (FASLODEX®, AstraZeneca), leukovorin (folinsyre), rapamycin (sirolimus, RAPAMUNE®, Wyeth), lapatinib (TYKERB®, GSK572016, Glaxo Smith Kline), lonafarnib (SARASAR™, SCH 66336, Schering Plough), sorafenib (NEXAVAR®, BAY43-9006, Bayer Labs), gefitinib (IRESSA®, AstraZeneca), irinotekan (CAMPTOSAR®, CPT-11, Pfizer), tipifarnib (ZARNESTRA™, Johnson & Johnson), ABRAXANE™ (Cremophor-fri), albuminkonstruerte nanopartikkelformuleringer av paklitaxel (American Pharmaceutical Partners, Schaumburg, IL), vandetanib (rINN, ZD6474, ZACTIMA®, AstraZeneca), kloranmbucil, AG1478, AG1571 (SU 5271; Sugen), temsirolimus (TORISEL®, Wyeth), pazopanib (GlaxoSmithKline), kanfosamid (TELCYTA®, Telik), tiotepa og syklofosamid (CYTOXAN®, NEOSAR®); alkylsulfonater slik som busulfan, improsulfan og piposulfan; aziridiner slik som benzodopa, karbokvon, meturedopa og uredopa; etyleniminer og metylamelaminer inkludert altretamin, trietylenmelamin, trietylenfosforamid, trietylentiofosforamid og trimetylomelamin; acetogeniner (spesielt bullatacin og bullatacinon); et kamptotecin (inkludert den syntetiske analogen topotekan); bryostatin; callystatin; CC-1065 (inkludert dens adozelesin-, karzelesin- og bizelesinsyntetiske analoger); kryptofyciner (særlig kryptofycin 1 og kryptofycin 8); dolastatin; duokarmycin (inkludert de syntetiske analogene, KW-2189 og

CB1-TM1); eleuterobin; pankratistatin; et sarkodiktyin; spongistatin; nitrogensenneper slik som klorambucil, klornafazin, klorfosfamid, estramustin, ifosfamid, mekloreteramin, mekloreteraminoksidhydroklorid, melfalan, novembikin, fenesterin, prednimustin, trofosfamid, uracilsennep; nitrosoarear slik som

5 karmustin, klorzotocin, fotemustin, lomustin, nimustin og ranimnustin; antibiotika slik som enediynantibiotikaene (f.eks. kalikeamicin, kalikeamicin gamma1I, kalikeamicin omegal1 (Angew Chem. Intl. Ed. Engl. (1994) 33:183-186); dynemicin, dynemicin A; bisfosfonater, slik som klodronat; et esperamicin; samt neokarzinostatinkromofor og relaterte kromproteinenediynantibiotika-

10 kromoforer), aklacinomysiner, aktinomyociner, autramycin, azaserin, bleomyciner, kaktinomyocin, karabycin, karminomyocin, karzinofilin, kromomyocin, daktinomyocin, daunorubicin, detorubicin, 6-diazo-5-okso-L-norleucin, morfolino-doksorubicin, cyanomorfolino-doksorubicin, 2-pyrrolino-doksorubicin og deoksydoksorubicin), epirubicin, esorubicin, idarubicin, nemorubicin,

15 marcellomyocin, mitomyociner slik som mitomyocin C, mykofenolsyre, nogalamycin, olivomyociner, peplomycin, porfiromycin, puromycin, quelamycin, rodorubicin, streptonigrin, streptozocin, tubercidin, ubenimex, zinostatin, zorubicin; anti-metabolitter slik som metotreksat og 5-fluoruracil (5-FU); folsyreanaloger slik som denopterin, metotreksat, pteropterin, trimetreksat; purinanaloger slik som

20 fludarabin, 6-merkaptopurin, tiamiprin, tioguanin; pyrimidinanaloger slik som ancitabin, azacitidin, 6-azauridin, karmofur, cytarabin, dideoksyuridin, doksifluridin, enocitabin, floksuridin; androgener slik som kalusteron, dromostanolonpropionat, epitioetan, mepitioetan, testolakton; antiadrenaler slik som aminoglutetimid, mitotan, trilostan; folsyrerefill slik som folinsyre;

25 aceglaton; aldofosfamidglykosid; aminolevulinsyre; eniluracil; amsakrin; bestrabucil; bisantren; edatraksat; defofamin; demekolcin; diaziquon; eflornitin; elliptiniumacetat; et epotilon; etoglucid; galliumnitrat; hydroksyurea; lentinan; lonidainin; maytansinoider slik som maytansin og ansamitociner; mitoguazon; mitoksantron; mopidanmol; nitraerin; pentostatin; fenamet; pirarubicin;

30 losoksantron; podofyllinsyre; 2-etylhydrazid; prokarbazin; PSK®-polysakkharid-kompleks (JHS Natural Products, Eugene, OR); razoksan; rhizoksin; sizofiran; spirogermanium; tenuazonsyre; triaziquon; 2,2',2"-triklortrietylamin; trikotecener (særlig T-2 toksin, verracurin A, roridin A og anguidin); uretan; vindesin; dakarbazin; mannomustin; mitobronitol; mitolaktol; pipobroman; gacytosin;

35 arabinosid ("Ara-C"); syklofosfamid; tiotepa; 6-tioguanin; merkaptopurin; metotreksat; platinaanaloger slik som cisplatin og karboplatin; vinblastin; etoposid (VP-16); ifosfamid; mitoksantron; vinkristin; vinorelbin (NAVELBINE®);

novantron; teniposid; edatreksat; daunomycin; aminopterin; kapecitabin (XELODA®, Roche); ibandronat; CPT-11; topoisomeraseinhibitor RFS 2000; difluorometylnitritin (DMFO); retinoider slik som retinsyre og farmasøytisk akseptable salter, syrer og derivativer av hvilke som helst av ovenstående.

5

[0572] Også inkludert i definisjonen av "kjemoterapeutisk middel" er: (i) antihormoner som virker for å regulere eller inhibere hormonvirkning på tumorer slik som antiøstrogen og selektive østrogenreseptormodulatorer (SERMs), inkludert for eksempel tamoksifen (inkludert NOLVADEX®; tamoksifensitrat),
 10 raloksifen, droloksifen, 4-hydroksytamoksifen, trioksifen, keoksifen, LY117018, onapriston, og FARESTON® (toremifincitrat); (ii) aromataseinhibitorer som inhiberer enzymaromatasen, hvilket regulerer østrogenproduksjon i binyrekjertlene, slik som for eksempel 4(5)-imidazoler, aminoglutetimid, MEGASE® (megestrolacetat), AROMASIN® (eksemestan; Pfizer), formestani,
 15 fadrozol, RIVISOR® (vorozol), FEMARA® (letrozol; Novartis), og ARIMIDEX® (anastrozol; AstraZeneca); (iii) antiandrogen slik som flutamid, nilutamid, bikalutamid, leuprolid, og goserelin; samt troksacitabin (en 1,3-dioksolannukleosidcytosinanalogue); (iv) proteinkinaseinhibitorer slik som MEK inhibitorer (WO 2007/044515); (v) lipidkinaseinhibitorer; (vi) antisens-oligonukleotider, særlig de som inhiberer ekspresjon av gener i
 20 signaleringsreaksjonsveier implisert i uheldig celleproliferasjon, f.eks. PKC-alfa, Raf og H-Ras, slik som oblimersen (GENASENSE®, Genta Inc.); (vii) ribozym slik som VEGF-ekspresjonsinhibitorer (f.eks. ANGIOZYME®) og HER2 ekspresjonsinhibitorer; (viii) vaksiner slik som genterapivaksiner, f.eks. ALLOVECTIN®, LEUVECTIN® og VAXID®; PROLEUKIN® rIL-2; topoisomerase 1-inhibitorer slik som LURTOTECAN®; ABARELIX® rmRH; (ix) anti-angiogenmiddel slik som bevacizumab (AVASTIN®, Genentech); og farmasøytisk akseptable salter, syrer og derivater av hvilke som helst av ovenstående.
 Også inkludert i definisjonen av "kjemoterapeutisk middel" er terapeutiske
 30 antistoffer slik som alemtuzumab (Campath), bevacizumab (AVASTIN®, Genentech); cetuximab (ERBITUX®, Imclone); panitumumab (VECTIBIX®, Amgen), rituksimab (RITUXAN®, Genentech/Biogen Idec), ofatumumab (ARZERRA®, GSK), pertuzumab (PERJETA™, OMNITARG™, 2C4, Genentech), trastuzumab (HERCEPTIN®, Genentech), tositumomab (Bexxar, Corixa) og
 35 antistoff-legemiddel-konjugat, gemtuzumabozogamicin (MYLOTARG®, Wyeth).

[0573] Humaniserte monoklonale antistoffer med terapeutisk potensial som

kjemoterapeutiske middel i kombinasjon med konjugatene ifølge oppfinnelsen inkluderer: alemtuzumab, apolizumab, aselizumab, atlizumab, bapineuzumab, bevacizumab, bivatuzumab mertansin, kantuzumabmertansin, cedelizumab, certolizumabpegol, cidfusituzumab, cidtuzumab, daklizumab, ekulizumab, efalizumab, epratuzumab, erlizumab, felvizumab, fontolizumab, gemtuzumab ozogamicin, inotuzumab ozogamicin, ipilimumab, labetuzumab, lintuzumab, matuzumab, mepolizumab, motavizumab, motovizumab, natalizumab, nimotuzumab, nolovizumab, numavizumab, okrelizumab, omalizumab, palivizumab, paskolizumab, pekfusituzumab, pektuzumab, pertuzumab, pekselizumab, ralivizumab, ranibizumab, reslivizumab, reslizumab, resyvizumab, rovelizumab, ruplizumab, sibrotuzumab, siplizumab, sontuzumab, takatuzumab tetraksetan, tadocizumab, talizumab, tefibazumab, tocilizumab, toralizumab, trastuzumab, tukotuzumab celmoleukin, tukusituzumab, umavizumab, urtoksazumab og visilizumab.

[0574] Farmasøytiske sammensetninger ifølge den foreliggende oppfinnelsen og for anvendelse i henhold til den foreliggende oppfinnelsen kan omfatte, i tillegg til den aktive ingrediensen, dvs. en konjugatforbindelse, en farmasøytisk akseptabel eksipiens, bærer, buffer, stabilisator eller andre materialer som er velkjente for fagmannen. Slike materialer bør være ikke-toksiske og bør ikke interferere med den aktive ingrediensens effektivitet. Bærerens eller andre materialers nøyaktige art vil avhenge av administrasjonsveien, som kan være oral, eller ved injeksjon, f.eks. kutant, subkutant eller intravenøst.

[0575] Farmasøytiske sammensetninger for oral administrering kan være i tablett-, kapsel-, pulver- eller væskeform. En tablett kan omfatte en fast bærer eller en adjuvans. Flytende farmasøytiske sammensetninger omfatter generelt en væskebærer slik som vann, petroleum, animalske eller vegetabilske oljer, mineralolje eller syntetisk olje. Fysiologisk saltløsning, dekstrose eller annen sakkaridløsning eller glykoler slik som etylenglykol, propylenglykol eller polyetylenglykol, kan inkluderes. En kapsel kan omfatte en fast bærer som et gelatin.

[0576] For intravenøs, kutan eller subkutan injeksjon, eller injeksjon på det berørte stedet, vil den aktive ingrediensen være i form av en parenteralt akseptabel vandig løsning som er pyrogenfri og har passende pH, isotonisitet og stabilitet. Fagmannen er godt i stand til å fremstille egnede løsninger ved hjelp

av for eksempel isotone vehikler slik som natriumkloridinjeksjon, Ringers injeksjon, laktert Ringers injeksjon. Konserveringsmiddel, stabilisatorer, buffere, antioksidanter og/eller andre additiver kan inkluderes etter behov.

5 **Formuleringer**

10 **[0577]** Skjønt det er mulig å anvende den konjugerte forbindelsen (f.eks. administrert) alene, er det ofte foretrukket å presentere den som en sammensetning eller formulering.

15 **[0578]** I én utførelsesform er sammensetningen en farmasøytisk sammensetning (f.eks. formulering, preparat, legemiddel) omfattende en konjugert forbindelse som beskrevet heri, og en farmasøytisk akseptabel bærer, fortynner eller eksipient.

20 **[0579]** I én utførelsesform er sammensetningen en farmasøytisk sammensetning omfattende minst én konjugert forbindelse som beskrevet heri, sammen med én eller flere andre farmasøytisk akseptable ingredienser som er velkjent for fagmannen inkludert, men ikke begrenset til, farmasøytisk akseptable bærere, fortynnere, eksipienter, adjuvanser, fyllstoffer, buffere, konserveringsmiddel, antioksidanter, smøremiddel, stabilisatorer, oppløsningsmiddel, overflateaktive middel (f.eks. fuktemiddel), maskeringsmiddel, fargemiddel, smakstilsetningsmiddel og søtningsmiddel.

25 **[0580]** I én utførelse omfatter sammensetningen ytterligere andre aktive middel, for eksempel andre terapeutiske eller profylaktiske middel.

30 **[0581]** Egnede bærere, fortynnere, eksipienter, osv. er å finne i farmasøytiske standardtekster. Se for eksempel Handbook of Pharmaceutical Additives, 2. utgave (eds. M. Ash and I. Ash), 2001 (Synapse Information Resources, Inc., Endicott, New York, USA), Remington's Pharmaceutical Sciences, 20. utgave, pub. Lippincott, Williams & Wilkins, 2000; og Handbook of Pharmaceutical Excipients, 2. utgave, 1994.

35 **[0582]** Et annet aspekt ved den foreliggende oppfinnelsen vedrører fremgangsmåter for fremstilling av en farmasøytisk sammensetning omfattende

blanding av minst ett [^{11}C]-radiomerket konjugat eller en konjugatlignende forbindelse som definert heri, sammen med én eller flere andre farmasøytisk akseptable ingredienser som er velkjente for fagmannen, f.eks. bærere, fortynnere, eksipienter, osv. Hvis hver enhet formuleres som diskrete enheter (f.eks. tabletter, osv.), inneholder hver enhet en forhåndsbestemt mengde (dosering) av den aktive forbindelsen.

[0583] Betegnelsen "farmasøytisk akseptabel" vedrører som anvendt heri forbindelser, ingredienser, materialer, sammensetninger, doseringsformer, osv. som etter sunt medisinsk skjønn er egnet til anvendelse i kontakt med vevene hos det aktuelle individet (f.eks. mennesket) uten overdreven toksisitet, irritasjon, allergisk respons eller andre problemer eller komplikasjoner, i tråd med et fornuftig nytte/risiko-forhold. Hver bærer, fortynner, eksipient, osv. må også være "akseptabel" i den forstand at den er kompatibel med de andre ingrediensene i formuleringen.

[0584] Formuleringene kan fremstilles ved hvilke som helst fremgangsmåter som er velkjent i farmasiteknikken. Slike fremgangsmåter inkluderer trinnet for assosiasjon av den aktive forbindelsen med en bærer som utgjør én eller flere ytterligere ingredienser. Formuleringene fremstilles generelt ved jevnt og omhyggelig å binde den aktive forbindelsen med bærere (f.eks. væskebærere, findelt fast bærer, osv.) og deretter eventuelt forme produktet.

[0585] Formuleringen kan fremstilles for å tilrettelegge for hurtig eller langsom frisetting; umiddelbar, forsinket, tidsstyrt eller vedvarende frisetting; eller en kombinasjon derav.

[0586] Formuleringer egnet for parenteral administrering (f.eks. ved injeksjon) inkluderer vandige eller ikke-vandige, isotoniske, pyrogenfrie, sterile væsker (f.eks. løsninger, suspensjoner), hvori den aktive ingrediensen løses opp, suspenderes eller tilveiebringes på annen måte (f.eks. i et liposom eller andre mikropartikler). Slike væsker kan i tillegg inneholde andre farmasøytisk akseptable ingredienser, slik som antioksidanter, buffere, konserveringsmiddel, stabiliseringsmiddel, bakteriostater, suspensjonsmiddel, tykningsmiddel og soluter som gjør formuleringen isotonisk med blodet (eller annet relevant kroppsfluid) hos den tiltenkte mottageren. Eksempel på eksipienter inkluderer for eksempel vann, alkoholer, polyoler, glyserol, vegetabilske oljer og lignende.

Eksempel på egnede isotoniske bærere for anvendelse i slike formuleringer inkluderer natriumkloridinjeksjon, Ringers løsning eller laktert Ringers injeksjon. Konsentrasjonen av den aktive ingrediensen i væsken er typisk fra ca. 1 ng/ml til ca. 10 µg/ml, for eksempel fra ca. 10 ng/ml til ca. 1 µg/ml. Formuleringene kan presenteres i forseglede beholdere for enhetsdoser eller multidoser, for eksempel ampuller og glass, og kan oppbevares i en frysetørket (lyofilisert) tilstand, som bare krever tilsetning av den sterile væskebæreren, for eksempel injeksjonsvann, umiddelbart før anvendelse. Provisoriske injeksjonsløsninger og suspensjoner kan fremstilles fra sterile pulver, granulater og tabletter.

Dosering

[0587] Fagmannen vil forstå at egnede doseringer av konjugatforbindelsen, og sammensetninger omfattende konjugatforbindelsen, kan variere fra pasient til pasient. Bestemmelse av den optimale doseringen vil generelt involvere balansering av nivået av terapeutisk fordel mot eventuelle risikoer eller skadelige bivirkninger. Det valgte dosenivået vil avhenge av forskjellige faktorer, inkludert den særlige forbindelsens aktivitet, administreringsveien, administreringstiden, den benyttede forbindelsens ekskresjonsrate, behandlingsvarigheten, andre legemiddel, forbindelser og/eller materialer anvendt i kombinasjon, tilstandens alvorlighetsgrad og pasientens art, kjønn, alder, vekt, tilstand, allmennhelse og tidligere sykehistorie. Mengden av forbindelse og administreringsveien vil til slutt bestemmes etter legens eller veterinærens skjønn, skjønt dosen generelt vil velges for å oppnå lokale konsentrasjoner på virkningsstedet som oppnår den ønskede effekten uten å forårsake betydelige skadelige bivirkninger.

[0588] Administrering kan utføres i én dose, kontinuerlig eller intermitterende (f.eks. i delte doser ved egnede intervaller) gjennom hele behandlingsforløpet. Fremgangsmåter for bestemmelse av det mest virkningsfulle middelet og den mest virkningsfulle doseringen for administrering er velkjent for fagmannen og vil variere med formuleringen som anvendes for terapi, terapiens formål, målcellen(e) som behandles og individet som behandles. Enkelt- eller multiadministreringer kan utføres med dosenivået og -mønsteret som behandlende lege, veterinær eller kliniker velger.

[0589] En egnet dose av den aktive forbindelsen er generelt fra ca. 100 ng til

ca. 25 mg (mer typisk ca. 1 µg til ca. 10 mg) per kilogram kroppsvekt for individet per dag. Hvis den aktive forbindelse er et salt, en ester, et amid eller et prolegemiddel, beregnes den administrerte mengden på grunnlag av morforbindelsen, og den faktiske vekten som skal anvendes, økes således proporsjonalt.

5

[0590] I én utførelsesform administreres den aktive forbindelse til en human pasient ifølge følgende doseringsregime: ca. 100 mg, 3 ganger daglig.

10

[0591] I én utførelsesform administreres den aktive forbindelse til en human pasient ifølge følgende doseringsregime: ca. 150 mg, 2 ganger daglig.

[0592] I én utførelsesform administreres den aktive forbindelse til en human pasient ifølge følgende doseringsregime: ca. 200 mg, 2 ganger daglig.

15

[0593] I én utførelsesform administreres den aktive forbindelse til en human pasient ifølge følgende doseringsregime: ca. 50 eller ca. 75 mg, 3 eller 4 ganger daglig.

20

[0594] I én utførelsesform administreres konjugatforbindelsen til en human pasient ifølge følgende doseringsregime: ca. 100 eller ca. 125 mg, 2 ganger daglig.

25

[0595] Doseringsmengdene beskrevet ovenfor kan anvendes for konjugatet (inkludert PBD-delen og linkeren til antistoffet) eller for den virkningsfulle mengden av tilveiebrakt PBD-forbindelse, f.eks. mengden av forbindelse som kan frisettes etter spalting av linkeren.

30

[0596] For forebygging eller behandling av sykdom vil den egnede dosen av et ADC ifølge oppfinnelsen avhenge av typen av sykdom som skal behandles, som definert ovenfor, sykdommens alvorlighetsgrad og progresjon, hvorvidt molekylet administreres for forebyggende eller terapeutiske formål, tidligere terapi, pasientens kliniske historie og respons på antistoffet og den behandlende legens skjønn. Molekylet administreres fordelaktig til pasienten samtidig eller over en serie av behandlinger. Avhengig av sykdommens type og alvorlighetsgrad er ca. 1 µg/kg til 15 mg/kg (f.eks. 0,1–20 mg/kg) molekyl en første kandidatdosering for administrering til pasienten, enten for eksempel ved én eller flere separate

35

administreringer, eller ved kontinuerlig infusjon. En typisk daglig dose kan være fra ca. 1 µg/kg til 100 mg/kg eller mer, avhengig av faktorene nevnt ovenfor. Et eksempel på en dose av ADC som skal administreres til en pasient er i området fra ca. 0,1 til ca. 10 mg/kg pasientvekt. For gjentatte administreringer over flere dager eller lenger opprettholdes behandlingen, avhengig av tilstanden, til en ønsket undertrykkelse av sykdomssymptomer forekommer. Et eksempel på et doseringsregime omfatter et forløp med administrering av en første mengdedose på ca. 4 mg/kg, etterfulgt av ytterligere doser hver uke, annenhver uke eller hver tredje uke med et ADC. Andre doseringsregimer kan være nyttige. Progresjonen i denne behandlingen overvåkes enkelt ved konvensjonelle teknikker og assayer.

Behandling

[0597] Betegnelsen "behandling" betyr som anvendt heri i sammenheng med behandling av en tilstand generelt behandling, enten av et menneske eller et dyr (f.eks. i veterinære anvendelser), hvori noe ønsket terapeutisk virkning oppnås, f.eks. inhibering av tilstandens progresjon, og inkluderer en reduksjon i progresjonsraten, en stopp i progresjonsraten, regresjon av tilstanden, forbedring av tilstanden og tilheling av tilstanden. Behandling som et forebyggende tiltak (dvs. profylakse, forebygging) er også inkludert.

[0598] Betegnelsen "terapeutisk virkningsfull mengde" betyr som anvendt heri den mengden av en aktiv forbindelse, eller et materiale, sammensetning eller dose omfattende en aktiv forbindelse, som er virkningsfull for produksjon av noe ønsket terapeutisk virkning, sammenlignet med et fornuftig nytte/risiko-forhold, når den administreres ifølge et ønsket behandlingsregime.

[0599] Betegnelsen "profylaktisk virkningsfull mengde" betyr som anvendt heri likeledes den mengden av en aktiv forbindelse, eller et materiale, sammensetning eller dose omfattende en aktiv forbindelse som er virkningsfull for produksjon av noe ønsket forebyggende virkning, sammenlignet med et fornuftig nytte/risiko-forhold, når den administreres ifølge et ønsket behandlingsregime.

Fremstilling av legemiddelkonjugater

[0600] Antistoff-legemiddel-konjugater, samt konjugater med andre cellebindemiddel, kan fremstilles ved flere veier, benyttelse av reaksjoner, betingelser og reagenser i den organiske kjemien som er kjent for fagmannen, inkludert reaksjon av en nukleofil gruppe av et antistoff eller et cellebindemiddel med et legemiddellinkerreagens. Denne fremgangsmåten kan benyttes med en rekke antistoffer og cellebindemiddel for å fremstille antistoff-legemiddel-konjugatene ifølge oppfinnelsen.

[0601] Nukleofile grupper på antistoffer inkluderer sidekjedetiolgrupper, f.eks. cystein. Tiolgrupper er nukleofile og i stand til å reagere for å danne kovalente bindinger med elektrofile grupper på bindingsdeler slik som dem ifølge den foreliggende oppfinnelsen. Visse antistoffer har reduserbare interkjededisulfider, dvs. cysteinbroer. Antistoffer kan gjøres reaktive for konjugering med linkerreagenser ved behandling med et reduksjonsmiddel slik som DTT (Clelands reagens, ditiotreitol) eller TCEP (tris(2-karboksyetyl)fosfinhydroklorid, Getz et al (1999) Anal. Biochem. bd. 273:73-80; Soltec Ventures, Beverly, MA). Hver cysteindisulfidbro vil således teoretisk danne to reaktive tiolnukleofiler. Ytterligere nukleofile grupper kan introduseres i antistoffer gjennom omsetning av lysiner med 2-iminotiolan (Trauts reagens), som resulterer i konvertering av et amin til et tiol.

Individet/pasienten

[0602] Individet/pasienten kan være et dyr, et pattedyr, et placentalt pattedyr, et pungdyr (f.eks. kenguru, wombat), et kloakkdyr (f.eks. nebbdyr), en gnager (f.eks. marsvin, hamster, rotte, mus), mus, et haredyr (f.eks. kanin), fugl, et hundedyr (f.eks. hund), kattedyr (f.eks. katt), hestedyr (f.eks. hest), svin (f.eks. gris), sauedyr (f.eks. sau), kveg (f.eks. ku), et primat, et høyere apedyr (f.eks. menneskeape eller annen ape), en ape (f.eks. silkeape, bavian), en menneskeape (f.eks. gorilla, sjimpanse, orangutang, gibbon) eller et menneske.

[0603] Individet/pasienten kan videre være i hvilken som helst utviklingsform,

for eksempel et foster. I én foretrukket utførelsesform er individet/pasienten et menneske.

5 **[0604]** I én utførelsesform er pasienten en populasjon hvor hver pasient har en tumor som har $\alpha_v\beta_6$ -integrin på celleoverflaten.

Eksempel

Generelle forsøksfremgangsmåter for eksempel 1

10

[0605] Optiske rotasjoner ble målt på et ADP 220-polarimeter (Bellingham Stanley Ltd.), og konsentrasjoner (c) angis i g/100 ml. Smeltepunkter ble målt ved anvendelse av en digital smeltepunktanordning (Electrothermal). IR-spekter ble registrert på et Perkin-Elmer Spectrum 1000 FT IR-spektrometer. ^1H og ^{13}C NMR-spekter ble ervervet ved 300 K ved anvendelse av et Bruker Avance NMR-spektrometer ved henholdsvis 400 og 100 MHz. Kjemiske skift rapporteres i forhold til TMS ($\delta = 0,0$ ppm), og signaler betegnes som s (singlett), d (dublett), t (triplett), dt (dobbelt tripplett), dd (dublett av dubletter), ddd (dobbelt dublett av dubletter) eller m (multiplett), med koblingskonstanter angitt i hertz (Hz). Data fra massespektroskopi (MS) ble samlet ved anvendelse av et Waters Micromass ZQ-instrument koblet til en Waters 2695 HPLC med en Waters 2996 PDA. De anvendte Waters Micromass ZQ-parameterne var: Kapillær (kV), 3,38; kon (V), 35; ekstraktor (V), 3,0; kildetemperatur ($^{\circ}\text{C}$), 100; desolverings-temperatur ($^{\circ}\text{C}$), 200; konstrømningsrate (l/h), 50; desolveringsstrømningsrate (l/h), 250. Data fra høyoppløsningsmassespektroskopi (HRMS) ble registrert på en Waters Micromass QTOF Global i positiv W-modus ved anvendelse av metallbelagte borsilikatglasspisser for å introdusere prøvene i instrumentet. Tynnsjiktskromatografi (TLC) ble utført på silikagelaluminiumsplater (Merck 60, F_{254}), og flashkromatografi benyttet silikagel (Merck 60, 230–400 mesh ASTM). Bortsett fra HOBt (NovaBiochem) og faststoffstøttede reagenser (Argonaut) ble alle andre kjemikalier og løsemiddel kjøpt fra Sigma-Aldrich og anvendt som levert uten ytterligere rensing. Vannfrie løsemiddel ble fremstilt ved destillasjon under en tørr nitrogenatmosfære i nærvær av et egnet tørkemiddel og ble oppbevart over 4 Å molekylsiler eller natriumtråd. Petroleumeter betyr fraksjonskoking ved 40–60 $^{\circ}\text{C}$.

15

20

25

30

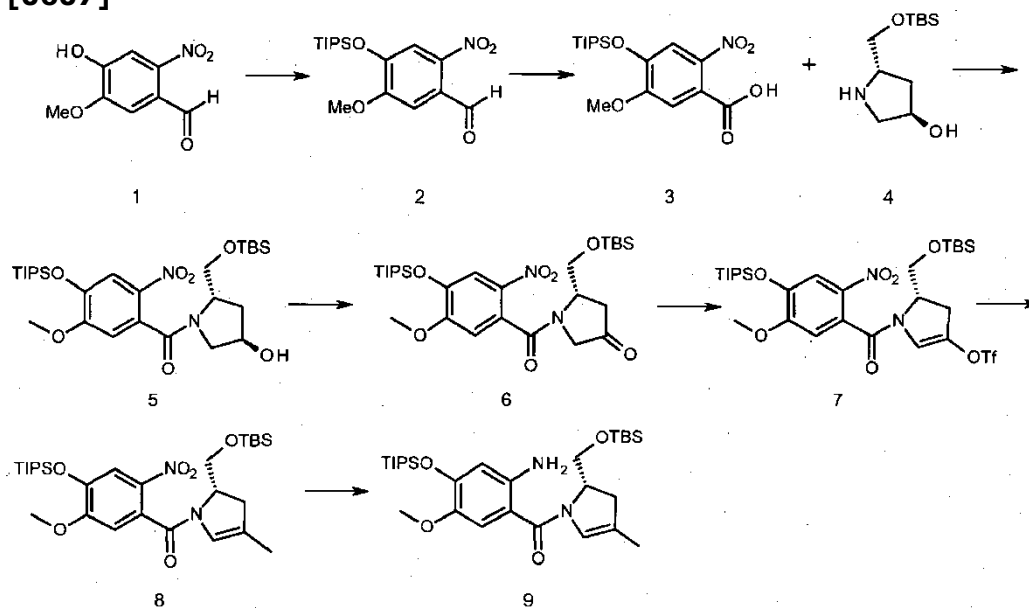
35

[0606] Generelle LC/MS-betingelser: HPLC (Waters Alliance 2695) ble kjørt ved anvendelse av en mobil fase av vann (A) (maursyre 0,1 %) og acetonitril (B) (maursyre 0,1 %). Gradient: første sammensetning 5 % B over 1,0 min, deretter 5 % B til 95 % B over 2,5 min. Sammensetningen ble holdt i 0,5 min ved 95 % B, og deretter returnert til 5 % B på 0,1 minutter og holdt der i 0,9 min. Total gradientkjøretid er lik 5 min. Strømningsrate 3,0 ml/min, 400 µl ble delt *via* et T-stykke med null dødvolume som går inn i massespektrometeret. Bølgelengdedetekteringsområde: 220 til 400 nm. Funksjonstype: diodeserie (535 skanninger). Kolonne: Phenomenex® Onyx Monolithic C18 50 x 4,60 mm

Eksempel 1

(i) (S)-(2-amino-5-metoksy-4-((triisopropylsilyl)oksy)fenyl)(2-(((tert-butyl)dimethylsilyl)oksy)metyl-4-metyl-2,3-dihydro-1H-pyrrol-1-yl)metanon (9)

[0607]



(a) 5-metoksy-2-nitro-4-((triisopropylsilyl)oksy)benzaldehyd (2)

[0608] Rent triisopropylsilylchlorid (56,4 ml, 262 mmol) ble tilsatt i en blanding av imidazol (48,7 g, 715,23 mmol) og 4-hydroksy-5-metoksy-2-nitrobenzaldehyd 1 (47 g, 238 mmol) (malt sammen). Blandingen ble varmet opp til fenolet

og imidazolet smeltet og gikk inn i løsningen (100 °C). Reaksjonsblandingen ble tillatt å omrøres i 15 minutter og ble deretter kjølt, hvorpå et faststoff ble observert å dannes i bunnen av kolben (imidazolklorid). Reaksjonsblandingen ble fortynnet med 5 % EtOAc/heksaner og lastet direkte på silikagel, og puten ble eluert med 5 % EtOAc/heksaner, etterfulgt av 10 % EtOAc/heksaner (på grunn av lavt overskudd ble det funnet svært lite ureagert TIPSCI i produktet). Det ønskede produktet ble eluert med 5 % etylacetat i heksan. Overskytende elueringsmiddel ble fjernet ved rotasjonsfordamping under redusert trykk, etterfulgt av tørking under høyt vakuum for å gi et krystallinsk lyssensitivt faststoff (74,4 g, 88 %). Renhet tilfredsstillende ved LC/MS (4,22 min (ES+) m/z (relativ intensitet) 353,88 ($[M + H]^+$, 100)); ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 10,43 (s, 1 H), 7,60 (s, 1 H), 7,40 (s, 1 H), 3,96 (s, 3 H), 1,35–1,24 (m, 3 H), 1,10 (m, 18 H).

(b) 5-metoksy-2-nitro-4-((triisopropylsilyl)oksy)benzoyre (3)

[0609] En løsning av natriumkloritt (47,3 g, 523 mmol, 80 % teknisk kvalitet) og natriumdihydrogenfosfatmonobase (35,2 g, 293 mmol) (NaH_2PO_4) i vann (800 ml) ble tilsatt i en løsning av forbindelse **2** (74 g, 209 mmol) i tetrahydrofuran (500 ml) ved romtemperatur. Hydrogenperoksid (60 % vekt/vekt, 140 ml, 2,93 mol) ble umiddelbart tilsatt i den energisk omrørte bifasiske blandingen. Reaksjonsblandingen utviklet gass (oksygen), utgangsmaterialet ble løst opp, og reaksjonsblandingsens temperatur steg til 45 °C. Etter 30 minutter viste LC/MS at reaksjonen var fullført. Reaksjonsblandingen ble kjølt i et isbad, og saltsyre (1 M) ble tilsatt for å senke pH-en til 3 (dette trinnet ble funnet å være unødvendig i mange tilfeller, idet pH-en i slutten av reaksjonen allerede er sur; kontroller pH-en før ekstraksjon). Reaksjonsblandingen ble deretter ekstrahert med etylacetat (1 l), og de organiske fasene ble vasket med saltløsning (2 x 100 ml) og tørket over magnesiumsulfat. Den organiske fasen ble filtrert, og overskytende løsemiddel ble fjernet ved rotasjonsfordamping under redusert trykk for å gi produktet **6** i kvantitativt utbytte som et gult faststoff. LC/MS (3,93 min (ES-) m/z (relativ intensitet) 367,74 ($[M - H]^-$, 100)); ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7,36 (s, 1 H), 7,24 (s, 1 H), 3,93 (s, 3 H), 1,34–1,22 (m, 3 H), 1,10 (m, 18 H).

(c) ((2*S*,4*R*)-2-(((*tert*-butyldimetylsilyl)oksy)metyl)-4-hydroksypyrrolidin-1-yl)(5-metoksy-2-nitro-4-((triisopropylsilyl)oksy)fenyl)metanon (5)

5

[0610] DCC (29,2 g, 141 mmol, 1,2 ekv.) ble tilsatt i en løsning av syre 3 (43,5 g, 117,8 mmol, 1 ekv.), og hydroksybenzotriazolhydrat (19,8 g, 129,6 mmol, 1,1 ekv.) i diklormetan (200 ml) ved 0 °C. Det kalde badet ble fjernet, og reaksjonen fortsatte i 30 min ved romtemperatur, ved hvilken tid en løsning av (2*S*,4*R*)-2-*t*-butyldimetylsilyloksymetyl-4-hydroksypyrrolidin **4** (30 g, 129,6 mmol, 1,1 ekv.) og trietylamin (24,66 ml, 176 mmol, 1,5 ekv.) i diklormetan (100 ml) ble tilsatt hurtig ved -10 °C under argon (i stor skala kan tilsetningstiden forkortes ved å kjøle reaksjonsblandingen enda ytterligere. Reaksjonsblandingen ble tillatt å omrøres ved romtemperatur i 40 minutter til 1 time og overvåket ved LC/MS og TLC (EtOAc). Faststoffene ble fjernet ved filtrering over Celite, og den organiske fasen ble vasket med kaldt vandig 0,1 M HCl inntil pH-en ble målt til 4 eller 5. Den organiske fasen ble deretter vasket med vann, etterfulgt av mettet vandig natriumbikarbonat og saltløsning. Det organiske sjiktet ble tørket over magnesiumsulfat og filtrert, og overskytende løsemiddel ble fjernet ved rotasjonsfordamping under redusert trykk. Resten ble utsatt for kolonneflashkromatografi (silikagel; gradient 40/60 etylacetat/heksan til 80/20 etylacetat/ heksan). Overskytende løsemiddel ble fjernet ved rotasjonsfordamping under redusert trykk for å gi det rene produktet **13**, (45,5 g rent produkt 66 % og 17 g litt urent produkt, 90 % i alt). LC/MS 4,43 min (ES+) *m/z* (relativ intensitet) 582,92 ($[M + H]^+$, 100); ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7,66 (s, 1 H), 6,74 (s, 1 H), 4,54 (s, 1 H), 4,40 (s, 1 H), 4,13 (s, 1 H), 3,86 (s, 3 H), 3,77 (d, $J = 9,2$ Hz, 1 H), 3,36 (dd, $J = 11,3, 4,5$ Hz, 1 H), 3,14–3,02 (m, 1 H), 2,38–2,28 (m, 1 H), 2,10 (ddd, $J = 13,3, 8,4, 2,2$ Hz, 1 H), 1,36–1,19 (m, 3 H), 1,15–1,05 (m, 18 H), 0,91 (s, 9 H), 0,17–0,05 (m, 6 H), (nærvær av rotamerer).

(d) (S)-5-(((*tert*-butyldimetylsilyl)oksy)metyl)-1-(5-metoksy-2-nitro-4-((triisopropylsilyl)oksy)benzoyl)pyrrolidin-3-on (6)

35

[0611] TCCA (8,82 g, 40 mmol, 0,7 ekv.) ble tilsatt i en omrørt løsning av **5** (31,7 g, 54 mmol, 1 ekv.) og TEMPO (0,85 g, 5,4 mmol, 0,1 ekv.) i tørt

diklormetan (250 ml) ved 0 °C. Reaksjonsblandingen ble kraftig omrørt i 20 minutter, ved hvilket punkt TLC (50/50 etylacetat/heksan) viste komplett forbruk av utgangsmaterialet. Reaksjonsblandingen ble filtrert gjennom Celite, og filtratet ble vasket med vandig mettet natriumbikarbonat (100 ml),
 5 natriumtiosulfat (9 g i 300 ml) og saltløsning (100 ml) og tørket over magnesiumsulfat. Rotasjonsfordamping under redusert trykk ga produkt **6** i kvantitativt utbytte. LC/MS 4,52 min (ES+) m/z (relativ intensitet) 581,08 ($[M + H]^+$, 100);

1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,78–7,60 (m, 1 H), 6,85–6,62 (m, 1 H), 4,94 (dd, J = 30,8, 7,8 Hz, 1 H), 4,50–4,16 (m, 1 H), 3,99–3,82 (m, 3 H), 3,80 – 3,34 (m, 3 H), 2,92–2,17 (m, 2 H), 1,40–1,18 (m, 3 H), 1,11 (t, J = 6,2 Hz, 18 H), 0,97–0,75 (m, 9 H), 0,15 – -0,06 (m, 6 H), (nærvær av rotamerer).

(e) (S)-5-(((tert-butyldimetylsilyl)oksy)metyl)-1-(5-metoksy 2-nitro-4-((triisopropylsilyl)oksy)benzoyl)-4,5-dihydro-1H-pyrrol-3-yl trifluormetansulfonat (7)

[0612] Triflisk anhydrid (27,7 ml, 46,4 g, 165 mmol, 3 ekv.) ble injisert (temperaturregulert) i en kraftig omrørt suspensjon av keton **6** (31,9 g, 55 mmol, 1 ekv.) i tørt diklormetan (900 ml) i nærvær av 2,6-lutidin (25,6 ml, 23,5 g, 220 mmol, 4 ekv., tørket over siler) ved -50 °C (aceton-/tørrisbad). Reaksjonsblandingen ble omrørt i 1,5 time når LC/MS, etterfulgt av en minimal bearbeiding (vann/diklormetan), viste at reaksjonen var fullført. Vann ble tilsatt i den fortsatt kalde reaksjonsblandingen, og det organiske sjiktet ble separert og vasket med mettet natriumbikarbonat, saltløsning og magnesiumsulfat. Den organiske fasen ble filtrert, og overskytende løsemiddel ble fjernet ved rotasjonsfordamping under redusert trykk. Resten ble utsatt for kolonneflashkromatografi (silikagel; 10/90 volum/volum etylacetat/heksan), fjerning av overskytende elueringsmiddel ga produktet **7** (37,6 g, 96 %) LC/MS, fremgangsmåte 2, 4,32 min (ES+) m/z (relativ intensitet) 712,89 ($[M + H]^+$, 100); 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,71 (s, 1 H), 6,75 (s, 1 H), 6,05 (d, J = 1,8 Hz, 1 H), 4,78 (dd, J = 9,8, 5,5 Hz, 1 H), 4,15–3,75 (m, 5 H), 3,17 (ddd, J = 16,2, 10,4, 2,3 Hz, 1 H), 2,99 (ddd, J = 16,3, 4,0, 1,6 Hz, 1 H), 1,45–1,19 (m, 3 H), 1,15–1,08 (m, 18 H), 1,05 (s, 6 H), 0,95–0,87 (m, 9 H), 0,15–0,08 (m, 6 H).

(f) (S)-(2-(((tert-butyl)dimethylsilyl)oksy)metyl)-4-metyl-2,3-dihydro-1H-pyrrol-1-yl)(5-metoksy-2-nitro-4-((triisopropylsilyl)oksy)fenyl)metanon (8)

5

[0613] Trifenylarsin (1,71 g, 5,60 mmol, 0,4 ekv.) ble tilsatt i en blanding av triflat **7** (10,00 g, 14 mmol, 1 ekv.), metylboronsyre (2,94 g, 49,1 mmol, 3,5 ekv.), sølvoksid (13 g, 56 mmol, 4 ekv.) og kaliumfosfattribase (17,8 g, 84 mmol, 6 ekv.) i tørt dioksan (80 ml) under en argonatmosfære. Reaksjonen ble skylt med argon 3 ganger, og bis(benzonitril)palladium(II)klorid (540 mg, 1,40 mmol, 0,1 ekv.) ble tilsatt. Reaksjonen ble skylt med argon 3 ganger til før den ble varmet momentant opp til 110 °C (drysvarmeblokken ble tidligere varmet opp til 110 °C før tilsetning av kolben). Etter 10 min ble reaksjonen kjølt til romtemperatur og filtrert gjennom en Celite-pute. Løsemiddelet ble fjernet ved rotasjonsfordamping under redusert trykk. Den resulterende resten ble utsatt for kolonneflashkromatografi (silikagel; 10 % etylacetat/heksan). Rene fraksjoner ble samlet opp og kombinert, og overskytende elueringsmiddel ble fjernet ved rotasjonsfordamping under redusert trykk for å gi produktet **8** (4,5 g, 55 %). LC/MS, 4,27 min (ES+) *m/z* (relativ intensitet) 579,18 ($[M + H]^+$, 100); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7,70 (s, 1 H), 6,77 (s, 1 H), 5,51 (d, *J* = 1,7 Hz, 1 H), 4,77–4,59 (m, 1 H), 3,89 (s, 3 H), 2,92–2,65 (m, 1 H), 2,55 (d, *J* = 14,8 Hz, 1 H), 1,62 (d, *J* = 1,1 Hz, 3 H), 1,40–1,18 (m, 3 H), 1,11 (s, 9 H), 1,10 (s, 9 H), 0,90 (s, 9 H), 0,11 (d, *J* = 2,3 Hz, 6 H).

10

15

20

25

(g) (S)-(2-amino-5-metoksy-4-((triisopropylsilyl)oksy)fenyl)(2-(((tert-butyl)dimethylsilyl)oksy)metyl)-4-metyl-2,3-dihydro-1H-pyrrol-1-yl)metanon (9)

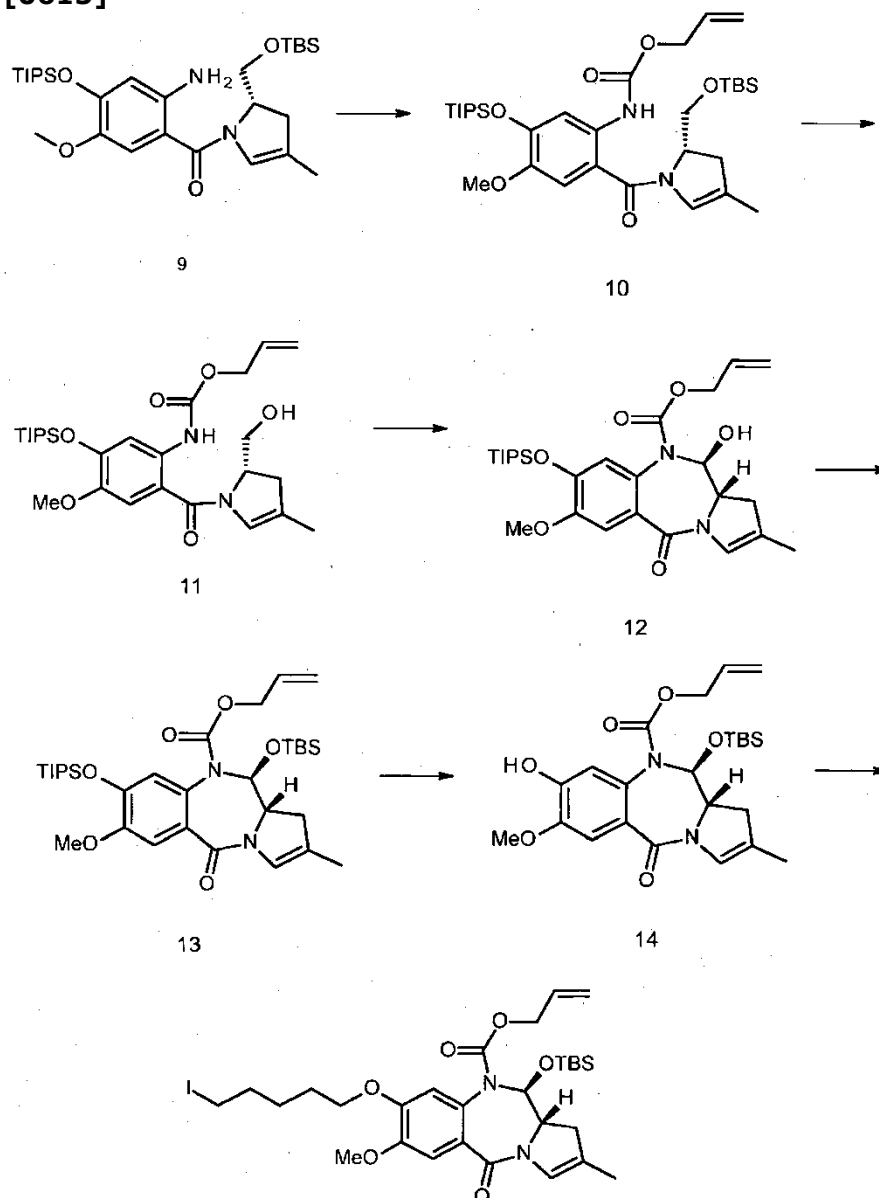
30

[0614] Sinkpulver (28 g, 430 mmol, 37 ekv.) ble tilsatt i en løsning av forbindelse **8** (6,7 g, 11,58 mmol) i 5 % maursyre i etanol vekt/vekt (70 ml) ved ca. 15 °C. Det resulterende eksotermet ble kontrollert ved anvendelse av et isbad for å holde temperaturen i reaksjonsblandingen under 30 °C. Etter 30 minutter ble reaksjonsblandingen filtrert gjennom en Celite-pute. Filtratet ble fortynnet med etylacetat, og den organiske fasen ble vasket med vann, mettet vandig natriumbikarbonat og saltløsning. Den organiske fasen ble tørket over magnesiumsulfat og filtrert, og overskytende løsemiddel ble fjernet ved

35

rotasjonsfordamping under redusert trykk. Den resulterende resten ble utsatt for flashkolonnekromatografi (silikagel; 10 % etylacetat i heksan). De rene fraksjonene ble samlet opp og kombinert, og overskytende løsemiddel ble fjernet ved rotasjonsfordamping under redusert trykk for å gi produktet **9** (5,1 g, 80 %). LC/MS, 4,23 min (ES+) m/z (relativ intensitet) 550,21 ($[M + H]^+$, 100); ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7,28 (s, 1 H), 6,67 (s, 1 H), 6,19 (s, 1 H), 4,64 - 4,53 (m, $J = 4,1$ Hz, 1 H), 4,17 (s, 1 H), 3,87 (s, 1 H), 3,77-3,69 (m, 1 H), 3,66 (s, 3 H), 2,71-2,60 (m, 1 H), 2,53-2,43 (m, 1 H), 2,04-1,97 (m, $J = 11,9$ Hz, 1 H), 1,62 (s, 3 H), 1,26-1,13 (m, 3 H), 1,08-0,99 (m, 18 H), 0,82 (s, 9 H), 0,03 - -0,03 (m, $J = 6,2$ Hz, 6 H).

(ii) (11S,11aS)-allyl 11-((tert-butyldimetylsilyl)oksy)-8-((5-jodpen-tyl)oksy)-7-metoksy-2-metyl-5-okso-11,11a-dihydro-1H-benzo[e]pyrrolo[1,2-a][1,4]diazepin-10(5H)-karboksylat

[0615]

(a) (S)-allyl (2-(2-(((tert-butyldimethylsilyl)oksy)metyl)-4-metyl-2,3-dihydro-1H-pyrrol-1-karbonyl)-4-metoksy-5-(((triisopropylsilyl)oksy)fenyl)karbamat (10)

5

[0616] Allylklorformat (0,30 ml, 3,00 mmol, 1,1 ekv.) ble tilsatt i en løsning av amin **9** (1,5 g, 2,73 mmol) i nærvær av tørt pyridin (0,48 ml, 6,00 mmol, 2,2 ekv.) i tørt diklormetan (20 ml) ved -78 °C (acetone-/tørrisbad). Etter 30 minutter ble badet fjernet, og reaksjonsblandingen ble varmet opp til romtemperatur. Reaksjonsblandingen ble fortynnet med diklormetan, og mettet

10

vandig kobbersulfat ble tilsatt. Det organiske sjiktet ble deretter vasket sekvensielt med mettet vandig natriumbikarbonat og saltløsning. Den organiske fasen ble tørket over magnesiumsulfat og filtrert, og overskytende løsemiddel ble fjernet ved rotasjonsfordamping under redusert trykk for å gi produktet **10** som ble anvendt direkte i neste reaksjon. LC/MS, 4,45 min (ES+) m/z (relativ intensitet) 632,91 ($[M + H]^+$, 100)

(b) (S)-allyl (2-(2-(hydroksymetyl)-4-metyl-2,3-dihydro-1H-pyrrol-1-karbonyl)-4-metoksy-5-((triisopropylsilyl)oksy)fenyl)karbamat (11)

[0617] Det ubearbeidede stoffet **10** ble løst opp i en 7:1:1:2-blanding av eddiksyre metanol/tetrahydrofuran/vann (28:4:4:8 ml) og tillatt å omrøres ved romtemperatur. Etter 3 timer ble det observert fullstendig forsvinning av utgangsmateriale ved LC/MS. Reaksjonsblandingen ble fortynnet med etylacetat og vasket sekvensielt med vann (2 x 500 ml), mettet vandig natriumbikarbonat (200 ml) og saltløsning. Den organiske fasen ble tørket over magnesiumsulfat og filtrert, og overskytende etylacetat ble fjernet ved rotasjonsfordamping under redusert trykk. Den resulterende resten ble utsatt for flashkolonnekromatografi (silikagel, 25 % etylacetat i heksan). Rene fraksjoner ble samlet opp og kombinert, og overskytende elueringsmiddel ble fjernet ved rotasjonsfordamping under redusert trykk for å gi det ønskede produktet **11** (1 g, 71 %). LC/MS, 3,70 min (ES+) m/z (relativ intensitet) 519,13 ($[M + H]^+$, 95); 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8,34 (s, 1 H), 7,69 (s, 1 H), 6,78 (s, 1 H), 6,15 (s, 1 H), 5,95 (ddt, $J = 17,2, 10,5, 5,7$ Hz, 1 H), 5,33 (dq, $J = 17,2, 1,5$ Hz, 1 H), 5,23 (ddd, $J = 10,4, 2,6, 1,3$ Hz, 1 H), 4,73 (tt, $J = 7,8, 4,8$ Hz, 1 H), 4,63 (dt, $J = 5,7, 1,4$ Hz, 2 H), 4,54 (s, 1 H), 3,89–3,70 (m, 5 H), 2,87 (dd, $J = 16,5, 10,5$ Hz, 1 H), 2,19 (dd, $J = 16,8, 4,6$ Hz, 1 H), 1,70 (d, $J = 1,3$ Hz, 3 H), 1,38–1,23 (m, 3 H), 1,12 (s, 10 H), 1,10 (s, 8 H).

(c) (11S,11aS)-allyl 11-hydroksy-7-metoksy-2-metyl-5-okso-8-((triisopropylsilyl)oksy)-11,11a-dihydro-1H-benzo[e]pyrrolo[1,2-a][1,4]diazepin-10(5H)-karboksylat (12)

[0618] Dimetylsulfoksid (0,35 ml, 4,83 mmol, 2,5 ekv.) ble tilsatt dråpevis i en løsning av oksalyklorid (0,2 ml, 2,32 mmol, 1,2 ekv.) i tørt diklormetan (10 ml)

ved -78 °C (tørris-/acetonbad) under en atmosfære av argon. Etter 10 minutter ble en løsning av **11** (1 g, 1,93 mmol) i tørt diklormetan (8 ml) tilsatt langsomt med temperaturen fremdeles ved -78 °C. Etter 15 min ble trietylamin (1,35 ml, tørket over 4A molekylsiler, 9,65 mmol, 5 ekv.) tilsatt dråpevis, og tørris-/acetonbad ble fjernet. Reaksjonsblandingen fikk nå romtemperatur og ble ekstrahert med kald saltsyre (0,1 M), mettet vandig natriumbikarbonat og saltløsning. Den organiske fasen ble tørket over magnesiumsulfat og filtrert, og overskytende diklormetan ble fjernet ved rotasjonsfordamping under redusert trykk for å gi produkt **12** (658 mg, 66 %).

Syntese i større skala

[0619] Dimetylsulfoksid (3,49 ml, 49,1 mmol, 2,5 ekv.) ble tilsatt dråpevis i en løsning av oksalyklorid (2 ml, 23,5 mmol, 1,2 ekv.) i tørt diklormetan (80 ml) ved -78 °C (tørris-/acetonbad) under en atmosfære av argon. Etter 15 minutter ble en løsning av **11** (10,2 g, 19,66 mmol) i tørt diklormetan (100 ml) tilsatt langsomt med temperaturen fremdeles ved -78 °C. Etter 20 minutter ble trietylamin (13,7 ml, tørket over 4A molekylsiler, 98,3 mmol, 5 ekv.) tilsatt dråpevis, og tørris-/acetonbadet ble fjernet. Reaksjonsblandingen fikk nå romtemperatur i 2 timer og ble ekstrahert med kald saltsyre (0,1 M, 400 ml), mettet vandig natriumbikarbonat (300 ml) og saltløsning (400 ml). Den organiske fasen ble tørket over magnesiumsulfat og filtrert, og overskytende diklormetan ble fjernet ved rotasjonsfordamping under redusert trykk for å gi produkt **12** som ubearbeidet stoff.

[0620] LC/MS, 3,52 min (ES+) *m/z* (relativ intensitet) 517,14 ($[M + H]^+$, 100); ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7,20 (s, 1 H), 6,75–6,63 (m, $J = 8,8, 4,0$ Hz, 2 H), 5,89–5,64 (m, $J = 9,6, 4,1$ Hz, 2 H), 5,23–5,03 (m, 2 H), 4,68–4,38 (m, 2 H), 3,84 (s, 3 H), 3,83–3,77 (m, 1 H), 3,40 (s, 1 H), 3,05–2,83 (m, 1 H), 2,59 (d, $J = 17,1$ Hz, 1 H), 1,78 (d, $J = 1,3$ Hz, 3 H), 1,33–1,16 (m, 3 H), 1,09 (d, $J = 2,2$ Hz, 9 H), 1,07 (d, $J = 2,1$ Hz, 9 H).

(d) (11*S*,11*aS*)-allyl 11-((*tert*-butyldimetylsilyl)oksy)-7-metoksy-2-metyl-5-okso-8-((*triisopropylsilyl*)oksy)-11,11*a*-dihydro-1*H*-benzo[*e*]pyrrolo[1,2-*a*][1,4]diazepin-10(5*H*)-karboksylat (13)

[0621] *Tert*-butyldimetylsilyltriflat (0,70 ml, 3,00 mmol, 3 ekv.) ble tilsatt i en løsning av forbindelse **12** (520 mg, 1,00 mmol) og 2,6-lutidin (0,46 ml, 4,00 mmol, 4 ekv.) i tørt diklormetan (40 ml) ved 0 °C under argon. Etter 10 min ble det kalde badet fjernet, og reaksjonsblandingen ble omrørt ved romtemperatur i 1 time. Reaksjonsblandingen ble ekstrahert med vann, mettet vandig natriumbikarbonat og saltløsning. Den organiske fasen ble tørket over magnesiumsulfat og filtrert, og overskudd ble fjernet ved rotasjonsfordamping under redusert trykk. Den resulterende resten ble utsatt for flashkolonnekromatografi (silikagel; gradient, 10 % etylacetat i heksan til 20 % etylacetat i heksan). Rene fraksjoner ble samlet opp og kombinert, og overskytende elueringsmiddel ble fjernet ved rotasjonsfordamping under redusert trykk for å gi produktet **13** (540 mg, 85 %).

Syntese i stor skala

[0622] *Tert*-butyldimetylsilyltriflat (12,7 ml, 55,3 mmol, 3 ekv.) ble tilsatt i en løsning av forbindelse **12** (9,40 g, 18,46 mmol) og 2,6-lutidin (8,61 ml, 72,2 mmol, 4 ekv.) i tørt diklormetan (180 ml) ved 0 °C under argon. Etter 10 minutter ble det kalde badet fjernet, og reaksjonsblandingen ble omrørt ved romtemperatur i 1 time. Reaksjonsblandingen ble ekstrahert med sitronsyre (200 ml), mettet vandig natriumbikarbonat (200 ml) og saltløsning (200 ml). Den organiske fasen ble tørket over magnesiumsulfat og filtrert, og overskudd ble fjernet ved rotasjonsfordamping under redusert trykk. Den resulterende resten ble utsatt for kolonnekromatografi (biotage 340 g med 34 g prøve). Rene fraksjoner ble samlet opp og kombinert, og overskytende elueringsmiddel ble fjernet ved rotasjonsfordamping under redusert trykk for å gi produktet **13** (7,00 g, 56 % over 2 trinn).

[0623] LC/MS, 4,42 min (ES+) m/z (relativ intensitet) 653,14 ($[M + Na]^+$, 100); 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,20 (s, 1 H), 6,71–6,64 (m, $J = 5,5$ Hz, 2 H), 5,83 (d, $J = 9,0$ Hz, 1 H), 5,80–5,68 (m, $J = 5,9$ Hz, 1 H), 5,14–5,06 (m, 2 H), 4,58 (dd, $J = 13,2, 5,2$ Hz, 1 H), 4,36 (dd, $J = 13,3, 5,5$ Hz, 1 H), 3,84 (s, 3 H), 3,71 (td, $J = 10,1, 3,8$ Hz, 1 H), 2,91 (dd, $J = 16,9, 10,3$ Hz, 1 H), 2,36 (d, $J = 16,8$ Hz, 1 H), 1,75 (s, 3 H), 1,31–1,16 (m, 3 H), 1,12–1,01 (m, $J = 7,4, 2,1$ Hz, 18 H), 0,89–0,81 (m, 9 H), 0,25 (s, 3 H), 0,19 (s, 3 H).

(e) (11S,11aS)-allyl 11-((tert-butyldimetylsilyl)oksy)-8-hydroksy-7-metoksy-2-metyl-5-okso-11,11a-dihydro-1H-benzo[e]pyrrolo[1,2-a][1,4]diazepin-10(5H)-karboksylat (14)

5

[0624] Litiumacetat (87 mg, 0,85 mmol) ble tilsatt i en løsning av forbindelse **13** (540 mg, 0,85 mmol) i vått dimetylformamid (6 ml, 50:1 DMF/vann). Etter 4 timer ble reaksjonen fullført, og reaksjonsblandingen ble fortynnet med etylacetat (25 ml) og vasket med vandig sitronsyreløsning (pH ~ 3), vann og saltløsning. Det organiske sjiktet ble tørket over magnesiumsulfat og filtrert, og overskytende etylacetat ble fjernet ved rotasjonsfordamping under redusert trykk. Den resulterende resten ble utsatt for flashkolonnekromatografi (silikagel; gradient, 25 % til 75 % etylacetat i heksan). Rene fraksjoner ble samlet opp og kombinert, og overskytende elueringsmiddel ble fjernet ved rotasjonsfordamping under redusert trykk for å gi produktet **14** (400 mg, kvantitativ).

Syntese i større skala

[0625] Litiumacetat (1,13 g, 11,09 mmol) ble tilsatt i en løsning av forbindelse **13** (7 g, 11,09 mmol) i vått dimetylformamid (80 ml, 50:1 DMF/vann). Etter 4 timer var reaksjonen fullført, og reaksjonsblandingen ble konsentrert for å fjerne størstedelen av DMF. Reaksjonsblandingen ble deretter fortynnet med etylacetat (200 ml) og vasket med vandig sitronsyreløsning (pH ~ 3, 0,1 M, 100 ml), vann (200 ml) og saltvann (100 ml). Det organiske sjiktet ble tørket over magnesiumsulfat og filtrert, og overskytende etylacetat ble fjernet ved rotasjonsfordamping under redusert trykk for å gi produkt **14** som ubearbeidet stoff.

[0626] LC/MS, (3,33 min (ES+) *m/z* (relativ intensitet) 475,26 ([M+H]⁺, 100).

(f) (11S,11aS)-allyl 11-((tert-butyldimetylsilyl)oksy)-8-((5-jodpentyloksy)-7-metoksy-2-metyl-5-okso-11,11a-dihydro-1H-benzo[e]pyrrolo[1,2-a][1,4]diazepin-10(5H)-karboksylat (15)

35

[0627] Dijodpentan (0,63 ml, 4,21 mmol, 5 ekv.) og kaliumkarbonat (116 mg,

0,84 mmol, 1 ekv.) ble tilsatt i en løsning av fenol **14** (400 mg, 0,84 mmol) i aceton (4 ml, tørket over molekylsiler). Reaksjonsblandingen ble deretter varmet opp til 60°C og omrørt i 6 timer. Aceton ble fjernet ved rotasjonsfordamping under redusert trykk. Den resulterende resten ble utsatt for flashkolonnekromatografi (silikagel; 50/50, volum/volum, heksan/etylacetat). Rene fraksjoner ble samlet opp og kombinert, og overskytende elueringsmiddel ble fjernet for å gi **15** i 90 % utbytte.

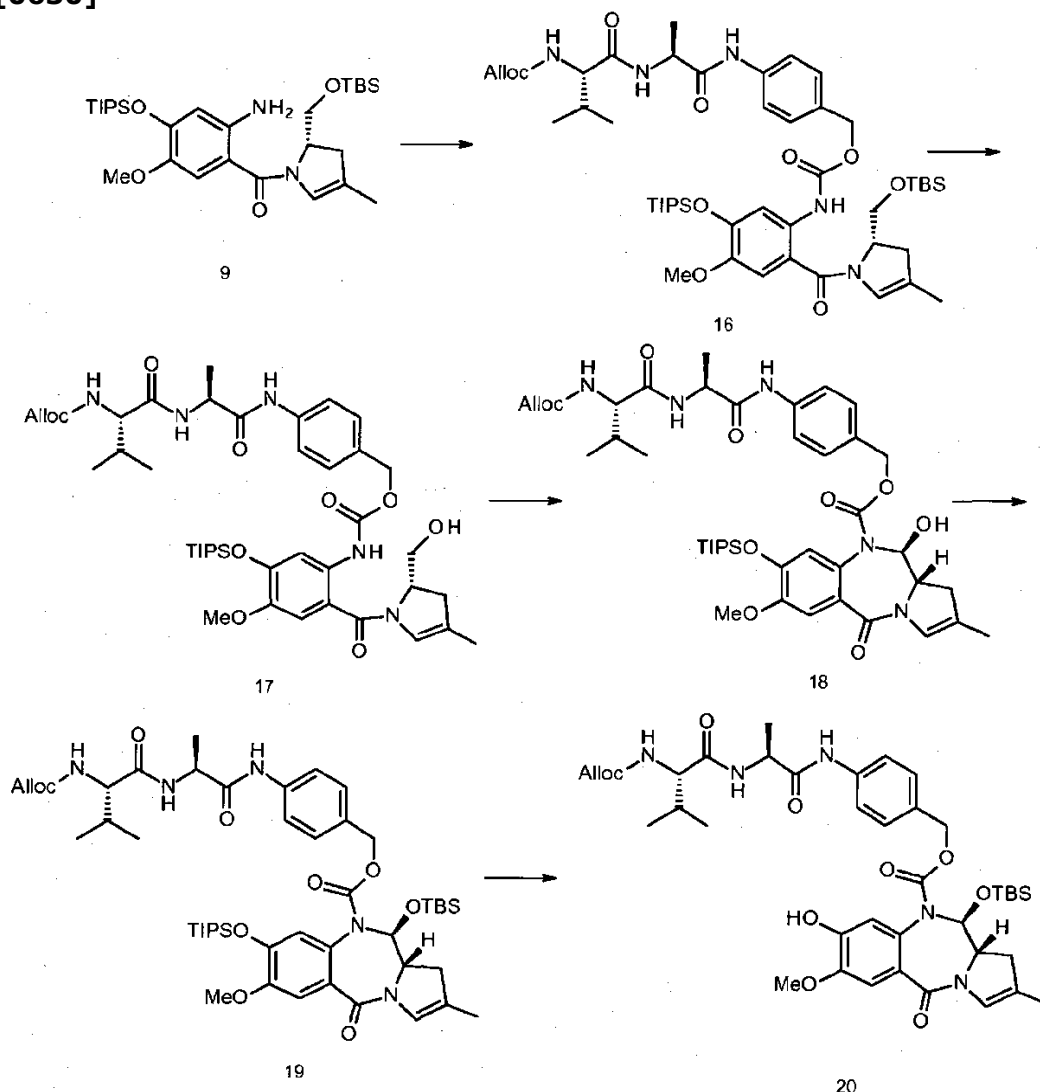
Syntese i større skala

[0628] Dijodpentan (8,26 ml, 55,46 mmol, 5 ekv.) og kaliumkarbonat (1,5 g, 11,09 mmol, 1 ekv.) ble tilsatt i en løsning av fenol **14** (5,26 g, 11,09 mmol) i 2-butanon (50 ml, tørket over molekylsiler). Reaksjonsblandingen ble deretter varmet opp til 70°C og omrørt i 5 timer. 2-butanon ble fjernet ved rotasjonsfordamping under redusert trykk. Den resulterende resten ble løst opp i etylacetat (250 ml) og vasket med vann (250 ml) og saltløsning (250 ml). Det organiske sjiktet ble tørket over magnesiumsulfat og filtrert, og overskytende etylacetat ble fjernet ved rotasjonsfordamping under redusert trykk. Resten ble utsatt for flashkolonnekromatografi (Biotage 750 g med 80 g silika for tørrfylling). Rene fraksjoner ble samlet opp og kombinert, og overskytende elueringsmiddel ble fjernet for å gi **15** (5,75 g, 77 % over 2 trinn).

[0629] LC/MS, 3,90 min (ES+) m/z (relativ intensitet) 670,91 ($[M]^+$, 100). 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,23 (s, 1 H), 6,69 (s, 1 H), 6,60 (s, 1 H), 5,87 (d, J = 8,8 Hz, 1 H), 5,83–5,68 (m, J = 5,6 Hz, 1 H), 5,15–5,01 (m, 2 H), 4,67–4,58 (m, 1 H), 4,45–4,35 (m, 1 H), 4,04–3,93 (m, 2 H), 3,91 (s, 3 H), 3,73 (td, J = 10,0, 3,8 Hz, 1 H), 3,25–3,14 (m, J = 8,5, 7,0 Hz, 2 H), 2,92 (dd, J = 16,8, 10,3 Hz, 1 H), 2,38 (d, J = 16,8 Hz, 1 H), 1,95–1,81 (m, 4 H), 1,77 (s, 3 H), 1,64–1,49 (m, 2 H), 0,88 (s, 9 H), 0,25 (s, 3 H), 0,23 (s, 3 H).

(iii) (11S,11aS)-4-(2-(1-((1-(allyloksy)-4-metyl-1,2-dioksopentan-3-yl)amino)-1-oksopropan-2-yl)hydrazinyl)benzyl 11-((tert-butyl)dimetylsilyl)oksy)-8-hydroksy-7-metoksy-2-metyl-5-okso-11,11a-dihydro-1H-benzo[e]pyrrolo[1,2-a][1,4]diazepin-10(5H)-karboksylat (20)

[0630]



(a) Allyl-3-(2-(2-(4-((((2-((S)-2-(((tert-butyldimethylsilyl)oksy)metyl)-4-metyl-2,3-dihydro-1H-pyrrol-1-karbonyl)-4-metoksy-5-(((triisopropylsilyl)oksy)fenyl)karbamoyl)oksy)metyl)fenyl)hydrazinyl)propanamid o)-4-metyl-2-oksopentanoat (**16**)

[0631] Trietylamin (2,23 ml, 18,04 mmol, 2,2 ekv.) ble tilsatt i en omrørt løsning av aminet **9** (4 g, 8,20 mmol) og trifosgen (778 mg, 2,95 mmol, 0,36 ekv.) i tørt tetrahydrofuran (40 ml) ved 5 °C (isbad). Progresjonen av isocyanatreaksjonen ble overvåket ved periodisk fjerning av alikvoter fra reaksjonsblandingen og stansing med metanol, og utførelse av LC/MS-analyse. Straks isocyanatdannelsen var fullført, ble det hurtig tilsatt en løsning av alloc-Val-Ala-PABOH (4,12 g, 12,30 mmol, 1,5 ekv.) og trietylamin (1,52 ml, 12,30 mmol, 1,5 ekv.) i tørt tetrahydrofuran (40 ml) ved injeksjon i det nylig

fremstilte isocyanatet. Reaksjonsblandingen ble tillatt å omrøres ved 40 °C i 4 timer. Overskytende løsemiddel ble fjernet ved rotasjonsfordamping under redusert trykk. Den resulterende resten ble utsatt for flashkolonnekromatografi (silikagel; gradient, 1 % metanol til 5 % metanol i diklormetan). (Alternative kromatografibetingelser ved anvendelse av EtOAc og heksan har også vært vellykket.) Rene fraksjoner ble samlet opp og kombinert, og overskytende elueringsmiddel ble fjernet ved rotasjonsfordamping under redusert trykk for å gi produktet **16** (3,9 g, 50%). LC/MS, 4,23 min (ES+) m/z (relativ intensitet) 952,36 ($[M+H]^+$, 100); 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8,62 (br s, 1 H), 8,46 (s, 1 H), 7,77 (br s, 1 H), 7,53 (d, J = 8,4 Hz, 2 H), 7,32 (d, J = 8,5 Hz, 2 H), 6,76 (s, 1 H), 6,57 (d, J = 7,6 Hz, 1 H), 6,17 (s, 1 H), 6,03–5,83 (m, 1 H), 5,26 (dd, J = 33,8, 13,5 Hz, 3 H), 5,10 (s, 2 H), 4,70–4,60 (m, 2 H), 4,58 (dd, J = 5,7, 1,3 Hz, 2 H), 4,06–3,99 (m, 1 H), 3,92 (s, 1 H), 3,82–3,71 (m, 1 H), 3,75 (s, 3 H), 2,79–2,64 (m, 1 H), 2,54 (d, J = 12,9 Hz, 1 H), 2,16 (dq, J = 13,5, 6,7 Hz, 1 H), 1,67 (s, 3 H), 1,46 (d, J = 7,0 Hz, 3 H), 1,35–1,24 (m, 3 H), 1,12 (s, 9 H), 1,10 (s, 9 H), 0,97 (d, J = 6,8 Hz, 3 H), 0,94 (d, J = 6,8 Hz, 3 H), 0,87 (s, 9 H), 0,07 – -0,02 (m, 6 H).

(b) Allyl 3-(2-(2-(4-(((2-((S)-2-(hydroksymetyl)-4-metyl-2,3-dihydro-1H-pyrrol-1-karbonyl)-4-metoksy-5-((triisopropylsilyl)oksy)fenyl)karbamoyl)oksy)metyl)fenyl)hydrazinyl)propanamido)-4-metyl-2-oksopentanoat (17)

[0632] TBS-eteren **16** (1,32 g, 1,38 mmol) ble løst opp i en 7:1:1:2-blanding av eddiksyre/metanol/tetrahydrofuran/vann (14:2:2:4 ml) og tillatt å omrøres ved romtemperatur. Etter 3 timer ble det ikke observert mer utgangsmateriale ved LC/MS. Reaksjonsblandingen ble fortynnet med etylacetat (25 ml) og vasket sekvensielt med vann, mettet vandig natriumbikarbonat og saltløsning. Den organiske fasen ble tørket over magnesiumsulfat og filtrert, og overskytende etylacetat ble fjernet ved rotasjonsfordamping under redusert trykk.

[0633] Den resulterende resten ble utsatt for flashkolonnekromatografi (silikagel, 2 % metanol i diklormetan). Rene fraksjoner ble samlet opp og kombinert, og overskytende elueringsmiddel ble fjernet ved rotasjonsfordamping under redusert trykk for å gi det ønskede produktet **17** (920 mg, 80%). LC/MS, 3,60 min (ES+) m/z (relativ intensitet) 838,18 ($[M+H]^+$, 100). 1H NMR

(400 MHz, CDCl₃) δ 8,55 (s, 1 H), 8,35 (s, 1 H), 7,68 (s, 1 H), 7,52 (d, *J* = 8,1 Hz, 2 H), 7,31 (d, *J* = 8,4 Hz, 2 H), 6,77 (s, 1 H), 6,71 (d, *J* = 7,5 Hz, 1 H), 6,13 (s, 1 H), 5,97–5,82 (m, *J* = 5,7 Hz, 1 H), 5,41–5,15 (m, 3 H), 5,10 (d, *J* = 3,5 Hz, 2 H), 4,76–4,42 (m, 5 H), 4,03 (t, *J* = 6,6 Hz, 1 H), 3,77 (s, 5 H), 2,84 (dd, *J* = 16,7, 10,4 Hz, 1 H), 2,26–2,08 (m, 2 H), 1,68 (s, 3 H), 1,44 (d, *J* = 7,0 Hz, 3 H), 1,30 (dt, *J* = 14,7, 7,4 Hz, 3 H), 1,12 (s, 9 H), 1,10 (s, 9 H), 0,96 (d, *J* = 6,8 Hz, 3 H), 0,93 (d, *J* = 6,8 Hz, 3 H).

(c) (11*S*,11*aS*)-4-(2-(1-((1-(allyloksy)-4-metyl-1,2-dioksopentan-3-yl)amino)-1-oksopropan-2-yl)hydrazinyl)benzyl-11-hydroksy-7-metoksy-2-metyl-5-okso-8-((triisopropylsilyl)oksy)-11,11*a*-dihydro-1*H*-benzo[*e*]pyrrolo[1,2-*a*][1,4]diazepin-10(5*H*)-karboksylat (18)

[0634] Dimetylsulfoksid (0,2 ml, 2,75 mmol, 2,5 ekv.) ble tilsatt dråpevis i en løsning av oksalyklorid (0,11 ml, 1,32 mmol, 1,2 ekv.) i tørt diklormetan (7 ml) ved -78 °C (tørris-/acetonbad) under en atmosfære av argon. Etter 10 minutter ble en løsning av **17** (920 mg, 1,10 mmol) i tørt diklormetan (5 ml) tilsatt langsomt med temperaturen fremdeles ved - 78 °C. Etter 15 min ble trietylamin (0,77 ml, tørket over 4A molekylsiler, 5,50 mmol, 5 ekv.) tilsatt dråpevis, og tørris-/acetonbadet ble fjernet. Reaksjonsblandingen fikk nå romtemperatur og ble ekstrahert med kald saltsyre (0,1 M), mettet vandig natriumbikarbonat og saltløsning. Den organiske fasen ble tørket over magnesiumsulfat og filtrert, og overskytende diklormetan ble fjernet ved rotasjonsfordamping under redusert trykk. Den resulterende resten ble utsatt for kolonneflashkromatografi (silikagel; gradient 2 % metanol til 5 % metanol i diklormetan). Rene fraksjoner ble samlet opp og kombinert, og fjerning av overskytende elueringsmiddel ved rotasjonsfordamping under redusert trykk ga produktet **18** (550 mg, 60 %).

30 **Syntese i større skala**

[0635] Dimetylsulfoksid (3,25 ml, 45,71 mmol, 2,5 ekv.) ble tilsatt dråpevis (7 minutter) i en løsning av oksalyklorid (1,86 ml, 21,94 mmol, 1,2 ekv.) i tørt diklormetan (120 ml) ved -78 °C (tørris-/acetonbad) under en atmosfære av argon. Etter 15 minutter ble en løsning av **17** (15,34 g, 18,28 mmol) i tørt diklormetan (80 ml) tilsatt langsomt (20 minutter) med temperaturen fremdeles

ved -78 °C. Etter 15 min ble trietylamin (12,7 ml, tørket over 4A molekylsiler, 91,40 mmol, 5 ekv.) tilsatt dråpevis (6 minutter), og tørris-/acetonbadet ble fjernet. Reaksjonsblandingen fikk nå romtemperatur (2 timer) og ble ekstrahert med kald saltsyre (0,1 M, 500 ml), mettet vandig natriumbikarbonat (400 ml) og saltløsning (400 ml). Den organiske fasen ble tørket over magnesiumsulfat og filtrert, og overskytende diklormetan ble fjernet ved rotasjonsfordamping under redusert trykk. Den resulterende resten ble utsatt for kolonneflashkromatografi (Biotage 340 g, prøve 34 g). Rene fraksjoner ble samlet opp og kombinert, og fjerning av overskytende elueringsmiddel ved rotasjonsfordamping under redusert trykk ga produktet **18** (12,8 g, 84 %) og gjenvunnet utgangsmateriale (1,57 g, 10,2 % gjenvinning).

Ytterligere syntese i stor skala

[0636] I en løsning av oksalyklorid (0,77 ml, 9,2 mmol) i diklormetan (49,5 ml) under nitrogen ved -78 °C ble det tilsatt dimetylsulfoksid (1,41 ml, 20,0 mmol) dråpevis mens temperaturen ble holdt < -65 °C, og blandingen ble omrørt ved -65 til -78 °C i 10–15 minutter. En løsning av **17** (6,5 g, 7,8 mmol) i diklormetan (35,3 ml) ble tilsatt mens reaksjonstemperaturen ble holdt ved -65 til -78°C, og blandingen ble omrørt ved -65 til -78 °C i 15–20 minutter. Trietylamin (5,4 ml) ble tilsatt dråpevis mens reaksjonstemperaturen ble holdt ved -68 til -78 °C. Reaksjonsblandingen ble deretter varmet opp til romtemperatur og omrørt inntil reaksjonen ble vurdert som fullført ved HPLC. Det organiske sjiktet ble vasket med 1 N HCl (35,3 ml), mettet natriumbikarbonat (35,3 ml) og saltløsning (35,3 ml). Det kombinerte organiske sjiktet ble tørket med magnesiumsulfat (2,15 g; 17,9 mmol) og filtrert, og kaken ble skylt med diklormetan (35,3 ml). Filtratet ble deretter konsentrert til tørrhet med en badtemperatur som ikke oversteg 23 °C. Resten ble rensset ved Biotage-kromatografi (Si, 40 + m, 2 kolonnevolum i hver fraksjon, 10 fraksjoner av 2 % metanol i diklormetan og 5 fraksjoner av 5 % metanol i diklormetan). De positive fraksjonene ble kombinert og konsentrert til tørrhet med en badtemperatur som ikke oversteg 22 °C for å gi **18** som et klebrig faststoff (5,0 g, 77%, 90 % AUC).

[0637] LC/MS, 3,43 min (ES+) m/z (relativ intensitet) 836,01 ($[M]^+$, 100). ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8,39 (s, 1 H), 7,52–7,40 (m, 2 H), 7,21–7,08 (m, $J =$

11,5 Hz, 2 H), 6,67 (s, 1 H), 6,60–6,47 (m, $J = 7,4$ Hz, 1 H), 5,97–5,83 (m, 1 H), 5,79–5,66 (m, 1 H), 5,38–4,90 (m, 6 H), 4,68–4,52 (m, $J = 18,4$, 5,5 Hz, 4 H), 4,04–3,94 (m, $J = 6,5$ Hz, 1 H), 3,87–3,76 (m, 5 H), 3,00–2,88 (m, 1 H), 2,66–2,49 (m, 2 H), 2,21–2,08 (m, 2 H), 1,76 (s, 3 H), 1,45 (d, $J = 7,0$ Hz, 3 H), 1,09–0,98 (m, $J = 8,9$ Hz, 18 H), 0,96 (d, $J = 6,7$ Hz, 3 H), 0,93 (d, $J = 6,9$ Hz, 3 H).

(d) (11*S*,11*aS*)-4-(2-(1-((1-(allyloksy)-4-metyl-1,2-dioksopentan-3-yl)amino)-1-oksopropan-2-yl)hydrazinyl)benzyl-11-((tert-butylldimetylsilyl)oksy)-7-metoksy-2-metyl-5-okso-8-((triisopropylsilyl)oksy)-11,11*a*-dihydro-1*H*-benzo[*e*]pyrrolo[1,2-*a*][1,4]diazepin-10(5*H*)-karboksylat (19)

[0638] *Tert*-butylldimetylsilyltriflat (0,38 ml, 1,62 mmol, 3 ekv.) ble tilsatt i en løsning av forbindelse **18** (450 mg, 0,54 mmol) og 2,6-lutidin (0,25 ml, 2,16 mmol, 4 ekv.) i tørt diklormetan (5 ml) ved 0 °C under argon. Etter 10 min ble det kalde badet fjernet, og reaksjonsblandingen ble omrørt ved romtemperatur i 1 time. Reaksjonsblandingen ble ekstrahert med vann, mettet vandig natriumbikarbonat og saltløsning. Den organiske fasen ble tørket over magnesiumsulfat og filtrert, og overskytende løsemiddel ble fjernet ved rotasjonsfordamping under redusert trykk. Den resulterende resten ble utsatt for kolonneflashkromatografi (silikagel; 50/50 volum/volum heksan/etylacetat). Rene fraksjoner ble samlet opp og kombinert, og overskytende elueringsmiddel ble fjernet ved rotasjonsfordamping under redusert trykk for å gi produktet **19** (334 mg, 65%).

Syntese i større skala

[0639] *Tert*-butylldimetylsilyltriflat (10,5 ml, 45,91 mmol, 3 ekv.) ble tilsatt i en løsning av forbindelse **18** (12,8 g, 15,30 mmol) og 2,6-lutidin (7,12 ml, 61,21 mmol, 4 ekv.) i tørt diklormetan (140 ml) ved 0 °C under argon. Etter 10 minutter ble det kalde badet fjernet, og reaksjonsblandingen ble omrørt ved romtemperatur i 2 time. Reaksjonsblandingen ble vasket med sitronsyre (0,1 M, 200 ml), mettet vandig natriumbikarbonat (200 ml) og saltløsning (200 ml). Den organiske fasen ble tørket over magnesiumsulfat og filtrert, og overskytende

løsemiddel ble fjernet ved rotasjonsfordamping under redusert trykk for å gi produktet **19** som ubehandlet stoff.

Ytterligere syntese

5

[0640] I en løsning av **18** (5,0 g, 6,0 mmol) i diklormetan (55,6 ml) under nitrogen ved 0–5 °C ble det tilsatt 2,6-lutidin (2,8 ml, 23,9 mmol) etterfulgt av *tert*-butyldimetylsilyltrifluormetansulfonat (4,94 ml, 21,5 mmol) dråpevis mens temperaturen ble holdt på 0–5 °C, og blandingen ble omrørt ved 0–5 °C i 15–30 minutter. Reaksjonsblandingen ble deretter tillatt å varmes opp til romtemperatur og omrørt i 2 timer inntil reaksjonen ble vurdert som fullført ved HPLC. Det organiske sjiktet ble vasket med vann (55,6 ml), mettet natriumbikarbonat (55,6 ml) og saltløsning (55,6 ml). Det kombinerte organiske sjiktet ble tørket med magnesiumsulfat (0,89 g; 7,4 mmol) og filtrert, og kaken ble skylt med diklormetan (55,6 ml). Filtratet ble deretter konsentrert til tørrhet med en badtemperatur som ikke oversteg 22 °C. Resten ble rensert ved Biotage-kromatografi (Si, 40 + m, 2 kolonnevolum i hver fraksjon, 15 fraksjoner av 50 % EtOAc i heptan. De positive fraksjonene ble kombinert og konsentrert til tørrhet med en badtemperatur som ikke oversteg 22 °C for å gi **19** som et klebrig faststoff (3,1 g, 54 %, 93 % AUC).

[0641] LC/MS, 4,18 min (ES+) *m/z* (relativ intensitet) 950,50 ($[M]^+$, 100). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8,53 (s, 1 H), 8,02 (s, 1 H), 7,44 (d, *J* = 7,6 Hz, 2 H), 7,21 (s, 1 H), 7,08 (d, *J* = 8,2 Hz, 2 H), 6,72–6,61 (m, *J* = 8,9 Hz, 2 H), 6,16 (s, 1 H), 5,97–5,79 (m, *J* = 24,4, 7,5 Hz, 2 H), 5,41–5,08 (m, 5 H), 4,86 (d, *J* = 12,5 Hz, 1 H), 4,69–4,60 (m, 1 H), 4,57 (s, 1 H), 4,03 (t, *J* = 6,7 Hz, 1 H), 3,87 (s, 3 H), 3,74 (td, *J* = 9,6, 3,6 Hz, 1 H), 2,43–2,09 (m, *J* = 34,8, 19,4, 11,7 Hz, 3 H), 1,76 (s, 3 H), 1,43 (d, *J* = 6,9 Hz, 3 H), 1,30–1,21 (m, 3 H), 0,97 (d, *J* = 6,7 Hz, 3 H), 0,92 (t, *J* = 8,4 Hz, 3 H), 0,84 (s, 9 H), 0,23 (s, 3 H), 0,12 (s, 3 H).

(e) (11*S*,11*aS*)-4-(2-(1-((1-(allyloksy)-4-metyl-1,2-dioksopentan-3-yl)amino)-1-oksopropan-2-yl)hydrazinyl)benzyl-11-((*tert*-butyldimetylsilyl)oksy)-8-hydroksy-7-metoksy-2-metyl-5-okso-11,11*a*-dihydro-1*H*-benzo[*e*]pyrrolo[1,2-*a*][1,4]diazepin-10(5*H*)-karboksylat (20)

35

[0642] Litiumacetat (50 mg, 0,49 mmol) ble tilsatt i en løsning av forbindelse **19** (470 mg, 0,49 mmol) i vått dimetylformamid (4 ml, 50:1 DMF/vann). Etter 4 timer ble reaksjonen fullført, og reaksjonsblandingen ble fortynnet med etylacetat og vasket med sitronsyre (pH ~ 3), vann og saltløsning. Det organiske sjiktet ble tørket over magnesiumsulfat og filtrert, og overskytende etylacetat ble fjernet ved rotasjonsfordamping under redusert trykk. Den resulterende resten ble utsatt for kolonneflashkromatografi (silikagel; gradient, 50/50 til 25/75 volum/volum heksan/etylacetat). Rene fraksjoner ble samlet opp og kombinert, og overskytende elueringsmiddel ble fjernet ved rotasjonsfordamping under redusert trykk for å gi produktet **20** (400 mg, kvantitativ).

Syntese i større skala

[0643] Litiumacetat (1,56 g, 15,31 mmol) ble tilsatt i en løsning av forbindelse **19** (15,31 mmol) i vått dimetylformamid (120 ml, 50:1 DMF/vann). Etter 5 timer var reaksjonen fullført, og reaksjonsblandingen ble konsentrert til å ha ca. 20 ml DMF. Reaksjonsblandingen ble deretter fortynnet med etylacetat (200 ml) og vasket med sitronsyre (0,1 M, 200 ml), saltløsning (200 ml). Det organiske sjiktet ble tørket over magnesiumsulfat og filtrert, og overskytende etylacetat ble fjernet ved rotasjonsfordamping under redusert trykk. Den resulterende resten ble utsatt for kolonneflashkromatografi (Biotage 750 g, 80 g silika for lasting). Rene fraksjoner ble samlet opp og kombinert, og overskytende elueringsmiddel ble fjernet ved rotasjonsfordamping under redusert trykk for å gi produktet **20** (7,7 g, 63% over 2 trinn).

Ytterligere syntese

[0644] I en løsning av **19** (3,1 g, 3,3 mmol) i DMF (26,4 ml) og vann (0,53 ml) under nitrogen ved 20–25 °C ble det tilsatt litiumacetat (0,33 g, 5,0 mmol), og blandingen ble omrørt inntil reaksjonen ble vurdert som fullført ved HPLC (10 timer). Etylacetat (33,0 ml) og vandig sitronsyre (33,0 ml pH 3) ble tilsatt, og sjiktene ble separert. Det organiske sjiktet ble vasket med vann (33,0 ml) og saltløsning (33,0 ml). Det kombinerte organiske sjiktet ble tørket med

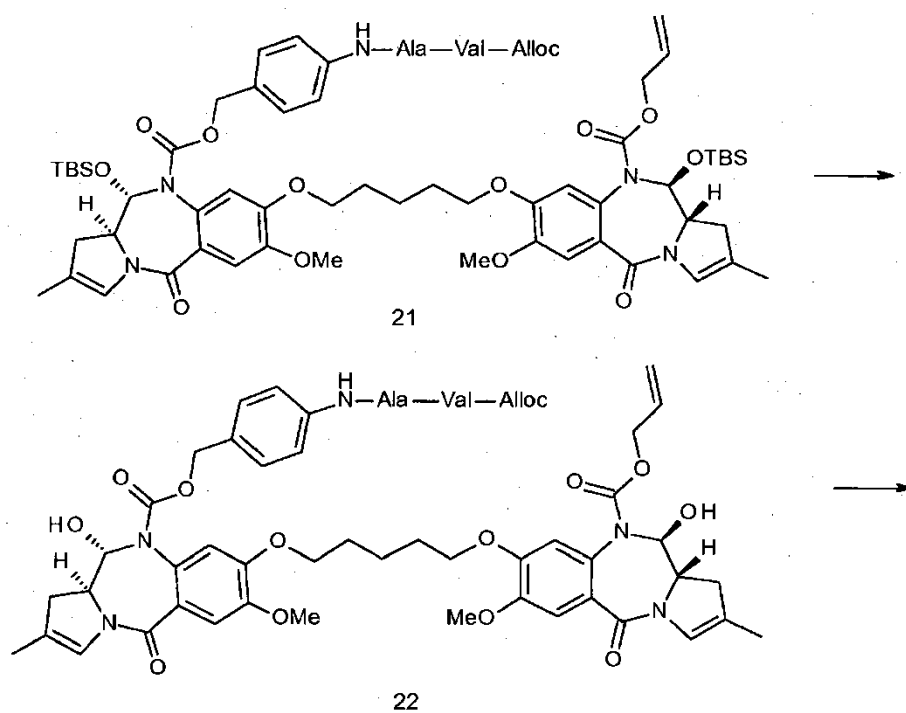
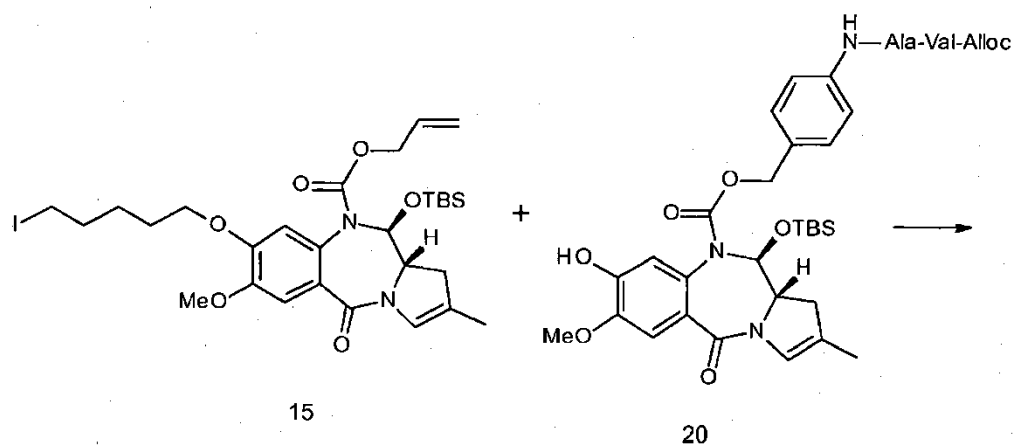
magnesiumsulfat (1,69 g; 14,0 mmol) og filtrert, og kaken ble skylt med etylacetat (33,0 ml). Filtratet ble deretter konsentrert til tørrhet med en badtemperatur som ikke oversteg 22 °C. Resten ble rensset ved Biotage-kromatografi (Si, 45 g, 3–4 kolonnevolum i hver fraksjon, produkt lastet med en minimal mengde av diklormetan, 3 fraksjoner av 50 % etylacetat i heptan etterfulgt av 75 % etylacetat i heptan, inntil det ikke lenger observeres at produktet eluerer fra kolonnen. De positive fraksjonene ble kombinert og konsentrert til tørrhet med en badtemperatur som ikke oversteg 22 °C for å gi **20** som et klebrig faststoff (1,9 g, 73%, 94% AUC).

[0645] LC/MS, 3,32 min (ES+) m/z (relativ intensitet) 794,18 ($[M+H]^+$, 100). 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8,53 (s, 1 H), 8,02 (s, 1 H), 7,44 (d, J = 7,6 Hz, 2 H), 7,21 (s, 1 H), 7,08 (d, J = 8,2 Hz, 2 H), 6,72–6,61 (m, J = 8,9 Hz, 2 H), 6,16 (s, 1 H), 5,97–5,79 (m, J = 24,4, 7,5 Hz, 2 H), 5,41–5,08 (m, 5 H), 4,86 (d, J = 12,5 Hz, 1 H), 4,69–4,60 (m, 1 H), 4,57 (s, 1 H), 4,03 (t, J = 6,7 Hz, 1 H), 3,87 (s, 3 H), 3,74 (td, J = 9,6, 3,6 Hz, 1 H), 2,43–2,09 (m, J = 34,8, 19,4, 11,7 Hz, 3 H), 1,76 (s, 3 H), 1,43 (d, J = 6,9 Hz, 3 H), 1,30–1,21 (m, 3 H), 0,97 (d, J = 6,7 Hz, 3 H), 0,92 (t, J = 8,4 Hz, 3 H), 0,84 (s, 9 H), 0,23 (s, 3 H), 0,12 (s, 3 H).

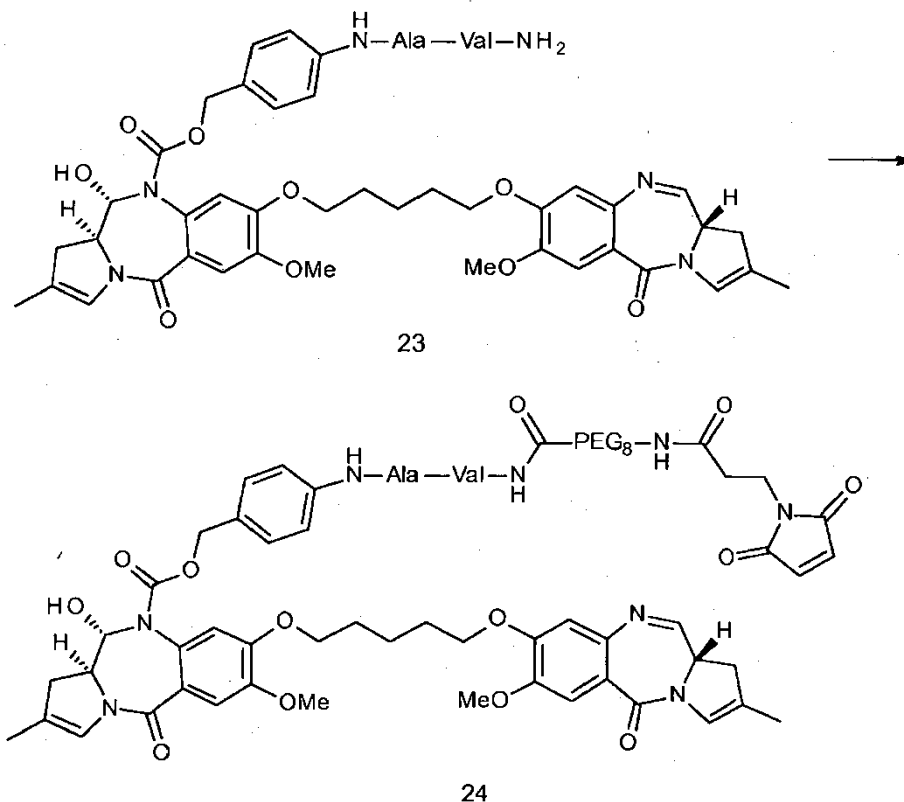
(iv) (11S,11aS)-4-((2S,5S)-37-(2,5-diokso-2,5-dihydro-1H-pyrrol-1-yl)-5-isopropyl-2-metyl-4,7,35-triokso-10,13,16,19,22,25,28,31-oktaoksa-3,6,34-triazaheptatriakontanamido)benzyl 11-hydroksy-7-metoksy-8-((5-(((S)-7-metoksy-2-metyl-5-okso-5,11a-dihydro-1H-benzo[e]pyrrolo[1,2-a][1,4]diazepin-8-yl)oksy)pentyl)oksy)-2-metyl-5-okso-11,11a-dihydro-1H-benzo[e]pyrrolo[1,2-a][1,4]diazepin-10(5H)-karboksylat (24)

[0646]

158



159



(a) (11S)-allyl 8-((5-(((11S)-10-(((4-(2-(1-((1-(allyloksy)-4-metyl-1,2-dioksopentan-3-yl)amino)-1-oksopropan-2-yl)hydrazinyl)benzyl)oksy)karbonyl)-11-((tert-butyldimetylsilyl)oksy)-7-metoksy-2-metyl-5-okso-5,10,11,11a-tetrahydro-1H-benzo[e]pyrrolo[1,2-a][1,4]diazepin-8-yl)oksy)pentyl)oksy)-11-((tert-butyldimetylsilyl)oksy)-7-metoksy-2-metyl-5-okso-11,11a-dihydro-1H-benzo[e]pyrrolo[1,2-a][1,4]diazepin-10(5H)-karboksylat (21)

[0647] Kaliumkarbonat (70 mg, 0,504 mmol, 1 ekv.) ble tilsatt i en løsning av **15** (370 mg, 0,552 mmol, 1,2 ekv.) og fenol **20** (400 mg, 0,504 mmol) i tørt aceton (25 ml). Reaksjonen ble omrørt i 8 timer ved 70 °C. LC/MS viste at alt utgangsmaterialet ikke ble brukt opp, så reaksjonen ble tillatt å omrøres over natten ved romtemperatur og omrørt i ytterligere 2 timer neste dag. Aceton ble fjernet ved rotasjonsfordamping under redusert trykk. Den resulterende resten ble utsatt for flashkolonnekromatografi (silikagel; 80 % etylacetat i heksan til 100 % etylacetat). Rene fraksjoner ble samlet opp og kombinert, og overskytende elueringsmiddel ble fjernet ved rotasjonsfordamping under redusert trykk for å gi produktet **21** (385 mg, 57%).

Syntese i større skala

[0648] Kaliumkarbonat (790 mg, 5,71 mmol, 1 ekv.) ble tilsatt i en løsning av **15** (5,75 g, 8,57 mmol, 1,5 ekv.) og fenol **20** (4,54 g, 5,71 mmol) i tørt 2-butanon (90 ml). Reaksjonen ble omrørt 40 timer ved 75 °C. Reaksjonsblandingen ble filtrert og skylt med etylacetat (90 ml). Løsemiddel ble fjernet ved rotasjonsfordamping under redusert trykk. Den resulterende resten ble utsatt for flashkolonnekromatografi (biotage 750 g). Rene fraksjoner ble samlet opp og kombinert, og overskytende elueringsmiddel ble fjernet ved rotasjonsfordamping under redusert trykk for å gi produktet **21** (6,1 g, 80%). Utgangsmateriale **15** ble også gjenvunnet.

Ytterligere syntese

[0649] I en løsning av **15** (1,8 g, 2,3 mmol) og **20** (2,27 g, 3,5 mmol) i aceton (144,0 ml) under nitrogen ved 20–25 °C ble det tilsatt kaliumkarbonat (0,31 g, 2,3 mmol), og blandingen ble varmet opp til reflux og tillatt å omrøres inntil reaksjonen ble vurdert som fullført ved HPLC (43 timer). Etter kjøling til romtemperatur ble blandingen filtrert og kaken skylt med aceton (36,0 ml). Filtratet ble deretter konsentrert til tørrhet med en badtemperatur som ikke oversteg 22 °C. Resten ble rensert ved Biotage-kromatografi (2x, 1st det ubearbeidede produktet etterfulgt av de blandede fraksjonene, 45 g Si, 2 kolonnevolum i hver fraksjon, 8 fraksjoner av 80 % EtOAc i heptan etterfulgt av 5 fraksjoner av etylacetat. De rene fraksjonene ble kombinert og konsentrert til tørrhet med en badtemperatur som ikke oversteg 22 °C for å gi **21** som et klebrig faststoff (3,0 g, 99 %, 87 % AUC).

[0650] LC/MS, 4,07 min (ES+) *m/z* (relativ intensitet) 1336,55 ([M+H]⁺, 50).

(b)(11S)-allyl 8-((5-(((11S)-10-(((4-(2-(1-((1-(allyloksy)-4-metyl-1,2-diokso-pentan-3-yl)amino)-1-okso-propan-2-yl)hydrazinyl)benzyl)oksy)karbonyl)-11-hydroksy-7-metoksy-2-metyl-5-okso-5,10,11,11a-tetrahydro-1H-benzo[e]pyrrolo[1,2-a][1,4]diazepin-8-yl)oksy)pentyl)oksy)-11-hydroksy-7-metoksy-2-

metyl-5-okso-11,11a-dihydro-1H-benzo[e]pyrrolo[1,2-a][1,4]diazepin-10(5H)-karboksylat (22)

5 **[0651]** Tetra-*n*-butylammoniumfluorid (1 M, 0,34 ml, 0,34 mmol, 2 ekv.) ble tilsatt i en løsning av **21** (230 mg, 0,172 mmol) i tørt tetrahydrofuran (3 ml). Utgangsmaterialet ble brukt helt opp etter 10 minutter. Reaksjonsblandingen ble fortynnet med etylacetat (30 ml) og vasket sekvensielt med vann og saltløsning. Den organiske fasen ble tørket over magnesiumsulfat og filtrert, og
10 overskytende etylacetat ble fjernet ved rotasjonsfordamping under redusert trykk. Den resulterende resten **22** ble anvendt som ubearbeidet blanding for den neste reaksjonen.

Syntese i større skala

15

[0652] En bufret løsning av tetra-*n*-butylammoniumfluorid (1 M, 18,2 ml, 18,2 mmol, 4 ekv.) og eddiksyre (1,04 ml, 18,2 mmol, 4 ekv.) ble tilsatt i en løsning av **21** (6,07 g, 4,54 mmol, 1 ekv.) i tørt tetrahydrofuran (40 ml).
20 Utgangsmaterialet ble brukt helt opp etter 24 timer. Reaksjonsblandingen ble fortynnet med etylacetat (140 ml) og vasket sekvensielt med vann (100 ml), vandig natriumhydrogenkarbonat (100 ml) og saltløsning (100 ml). Den organiske fasen ble tørket over magnesiumsulfat (12 g) og filtrert, og
25 overskytende etylacetat ble fjernet ved rotasjonsfordamping under redusert trykk. Den resulterende resten ble utsatt for flashkolonnekromatografi (Biotage-system, kolonne: SNAP 340 g, lasting: 34 g prøve, strømningsrate: 100 ml/min, metanol/etylacetat, ekvilibrerings 100 % etylacetat (6 CV), gradient 0 % til 8 % i 14 CV). Rene fraksjoner ble samlet opp og kombinert, og overskytende elueringsmiddel ble fjernet ved rotasjonsfordamping under redusert trykk for å gi
30 produktet **22** (3,16 g, 63%).

Ytterligere syntese

35 **[0653]** I en løsning av **21** (1,50 g, 1,12 mmol) i tetrahydrofuran (11,5 ml) under nitrogen ved 20–25 °C ble det tilsatt en blanding av TBAF (1 M i THF; 4,5 ml) og eddiksyre (0,51 ml), og blandingen ble tillatt å omrøres inntil

reaksjonen ble vurdert som fullført ved HPLC (89 h). Merk: To ytterligere mengder av en blanding av TBAF (1 M i THF; 2,5 ml) og eddiksyre (0,25 ml) ble fremstilt ved 42 og 60 timer. Etylacetat (34,6 ml) ble tilsatt. Det organiske sjiktet ble vasket med vann (11,5 ml), mettet natriumbikarbonat (11,5 ml) og saltløsning (11,5 ml). Det kombinerte organiske sjiktet ble tørket med magnesiumsulfat (1,15 g; 9,6 mmol) og filtrert, og kaken ble skylt med etylacetat (5,8 ml). Filtratet ble deretter konsentrert til tørrhet med en badtemperatur som ikke oversteg 22 °C. Resten ble rensset ved Biotage-kromatografi (Si, 2–3 kolonnevolum i hver fraksjon, produkt lastet med en minimal mengde av diklormetan og eluert med 1 % MeOH i EtOAc inntil det ikke lenger observeres at produktet eluerer fra kolonnen. De positive fraksjonene ble kombinert og konsentrert til tørrhet med en badtemperatur som ikke oversteg 22 °C for å gi **22** som et klebrig faststoff (1,17 g, 94%, 90% AUC).

[0654] LC/MS, 2,87 min (ES+) m/z (relativ intensitet) 1108,11 ($[M+H]^+$; 100).

(c)(11S)-4-(2-(1-((1-amino-3-metyl-1-oksobutan-2-yl)amino)-1-oksopropan-2-yl)hydrazinyl)benzyl 11-hydroksy-7-metoksy-8-((5-((7-metoksy-2-metyl-5-okso-5,11a-dihydro-1H-benzo[e]pyrrolo[1,2-a][1,4]diazepin-8-yl)oksy)pentyl)oksy)-2-metyl-5-okso-11,11a-dihydro-1H-benzo[e]pyrrolo[1,2-a][1,4]diazepin-10(5H)-karboksylat (23)

[0655] Tetrakis(trifenylfosfin)palladium(0) (12 mg, 0,01 mmol, 0,06 ekv.) ble tilsatt i en løsning av råstoff **22** (0,172 mmol) og pyrrolidin (36 µl, 0,43 mmol, 2,5 ekv.) i tørt diklormetan (10 ml). Reaksjonsblandingen ble omrørt i 20 minutter og fortynnet med diklormetan, og vasket sekvensielt med mettet vandig ammoniumklorid og saltløsning. Den organiske fasen ble tørket over magnesiumsulfat og filtrert, og overskytende diklormetan ble fjernet ved rotasjonsfordampning under redusert trykk. Den resulterende resten **23** ble anvendt som ubearbeidet blanding for den neste reaksjonen.

Syntese i større skala

[0656] Tetrakis(trifenylfosfin)palladium(0) (166 mg, 0,143 mmol, 0,05 ekv.) ble tilsatt i en løsning av **22** (3,16 g, 2,85 mmol) og pyrrolidin (0,59 ml,

7,18 mmol, 2,5 ekv.) i tørt diklormetan (150 ml). Reaksjonen ble skylt med argon tre ganger og omrørt 27 minutter ved romtemperatur. Reaksjonen ble deretter fortynnet med diklormetan (90 ml) og vasket suksessivt med mettet vandig ammoniumklorid (95 ml) og saltløsning (90 ml). Den organiske fasen ble tørket over magnesiumsulfat (5,4 g) og filtrert, og overskytende diklormetan ble fjernet ved rotasjonsfordamping under redusert trykk. Den resulterende ubearbeidede resten **23** (4,1 g) ble løst opp i diklormetan (310 ml) og Deloxan Metal Scavenging Resin (16,7 g) ble tilsatt, og reaksjonen ble omrørt i 20 min. Blandingen ble filtrert, og overskytende diklormetan ble fjernet ved rotasjonsfordamping under redusert trykk. Den resulterende resten **23** ble anvendt som ubearbeidet blanding for den neste reaksjonen.

Ytterligere syntese

[0657] I en løsning av **22** (1,15 g, 1,04 mmol) og pyrrolidin (0,21 ml, 2,5 mmol) i diklormetan (65,8 ml) under nitrogen ved 20–25 °C ble det tilsatt tetrakis(trifenylfosfin)palladium (0) (0,072 g; 0,06 mmol), og blandingen ble omrørt inntil reaksjonen ble vurdert som fullført ved TLC (< 1 time). Diklormetan (32,9 ml) ble lastet i reaktoren. Det organiske sjiktet ble vasket med mettet ammoniumklorid (32,9 ml) og saltløsning (32,9 ml). Det kombinerte organiske sjiktet ble tørket med magnesiumsulfat (1,31 g; 10,9 mmol) og filtrert, og kaken ble skylt med diklormetan (13,2 ml). Filtratet ble deretter konsentrert til tørrhet med en badtemperatur som ikke oversteg 22 °C for å gi **23** som et klebrig faststoff som ble anvendt direkte i neste trinn.

[0658] LC/MS, 2,38 min (ES+) m/z (relativ intensitet) 922,16 ($[M+H]^+$, 40).

(d)(11S,11aS)-4-((2S,5S)-37-(2,5-diokso-2,5-dihydro-1H-pyrrol-1-yl)-5-isopropyl-2-metyl-4,7,35-triokso-10,13,16,19,22,25,28,31-oktaoksa-3,6,34-triazaheptatriakontanamido)benzyl-11-hydroksy-7methoxy-8-((5-(((S)-7-metoksy-2-metyl-5-okso-5,11a-dihydro-1H-benzo[e]pyrrolo[1,2-a][1,4]diazepin-8-yl)oksy)pentyl)oksy)-2-metyl-5-okso-11,11a-dihydro-1H-benzo[e]pyrrolo[1,2-a][1,4]diazepin-10(5H)-karboksylat (24)

[0659] 1-etyl-3-(3'-dimetylaminopropyl)karbodiimid (EDCI, 33 mg, 0,172 mmol) ble tilsatt i en løsning av ubearbeidet stoff **23** (0,172 mmol) og

Mal-(PEG)₈-syre (100 mg, 0,172 mmol) i tørt diklormetan (10 ml). Reaksjonen ble omrørt i 2 timer, og nærvær av utgangsmaterialet ble ikke lenger observert ved LC/MS. Reaksjonen ble fortynnet med diklormetan og vasket sekvensielt med vann og saltløsning. Den organiske fasen ble tørket over magnesiumsulfat og filtrert, og overskytende diklormetan ble fjernet ved rotasjonsfordamping under redusert trykk. Den resulterende resten ble utsatt for flashkolonnekromatografi (silikagel; 100 % kloroform til 10 % metanol i kloroform). Rene fraksjoner ble samlet opp og kombinert, og overskytende elueringsmiddel ble fjernet ved rotasjonsfordamping under redusert trykk for å gi **24 (B)** (60 mg, 25 % over 3 trinn).

Syntese i større skala

[0660] 1-etyl-3-(3'-dimetylamino)propylkarbodiimid (EDCI, 550 mg, 2,85 mmol) ble tilsatt i en løsning av ubearbeidet stoff **23** (2,85 mmol) og Mal-(PEG)₈-syre (1,69 g, 2,85 mmol) i tørt diklormetan (120 ml). Reaksjonen ble avgasset tre ganger med argon og omrørt i 3 timer, og nærvær av utgangsmateriale ble fortsatt observert ved LC/MS (72 % konvertering). En ytterligere mengde av EDCI (150 mg) og Mal-(PEG)₈-syre (475 mg) ble tilsatt, og reaksjonen ble omrørt i 13 timer. Reaksjonen ble fortynnet med diklormetan (80 ml) og vasket sekvensielt med vann (142 ml) og saltløsning (80 ml). Den organiske fasen ble tørket over magnesiumsulfat (10 g) og filtrert, og overskytende diklormetan ble fjernet ved rotasjonsfordamping under redusert trykk. Den resulterende resten ble utsatt for flashkolonnekromatografi (Biotage-system, kolonne: SNAP 340 g, lasting: løst opp i 20 ml diklormetan og injisert, strømningsrate: 100 ml/min, metanol/kloroform, ekvilibriering 2 % (6 CV), gradient 2 % til 20 % i 10 CV). Rene fraksjoner ble samlet opp og kombinert, og overskytende elueringsmiddel ble fjernet ved rotasjonsfordamping under redusert trykk for å gi **24 (B)** (2,75 g, 64 % over 2 trinn, 96 % renhet). Én urenhet var imidlertid over 2 %, så en annen kolonnekromatografi ble utført for å gi **24 (B)** (1,75 g, 41 % over 2 trinn, 98 % renhet).

Ytterligere syntese

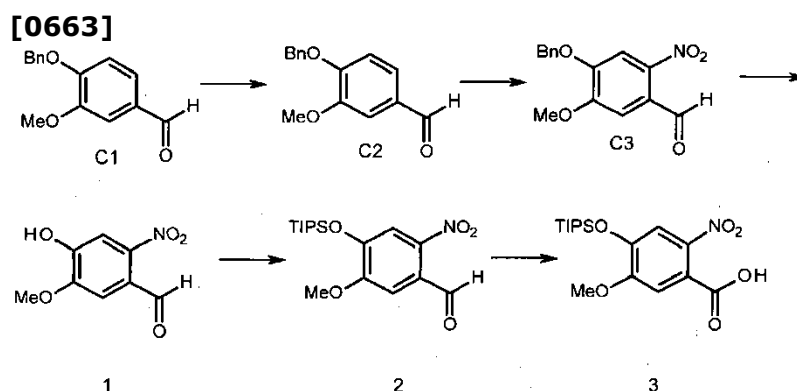
[0661] I en suspensjon av **23** (1,04 mmol), Mal-(PEG)₈-syre (0,616 g; 1,04 mmol; ChemPep; Lot 282808) og diklormetan (65,9 ml) under nitrogen ved

20–25 °C ble det tilsatt EDCI (0,199 g; 1,04 mmol; Sigma Aldrich), og blandingen ble tillatt å omrøres inntil reaksjonen ble vurdert som fullført ved HPLC (16 timer). Diklormetan (26,3 ml) ble lastet i reaktoren. Det organiske sjiktet ble vasket med vann (51,7 ml) og saltløsning (26,3 ml). Det kombinerte organiske sjiktet ble tørket med magnesiumsulfat (1,32 g; 10,9 mmol) og filtrert, og kaken ble skylt med diklormetan (13,2 ml). Filtratet ble deretter konsentrert til tørrhet med en badtemperatur som ikke oversteg 22 °C. Resten ble renses ved Biotage-kromatografi (Si, 40 + m, 2 kolonnevolum i hver fraksjon, produkt lastet med en minimal mengde av diklormetan (Sigma Aldrich) og eluert med 6–30 % MeOH (Sigma Aldrich) i diklormetan (Sigma Aldrich). Fraksjoner 1-15: 6% MeOH i DCM. Fraksjoner 16-19: 7,5% MeOH i DCM. Fraksjoner 20-23: 10% MeOH i DCM. Fraksjonskartlegging ble benyttet for å bestemme hvilke fraksjoner som skulle kombineres. De kombinerte fraksjonene ble konsentrert til tørrhet med en badtemperatur som ikke oversteg 22 °C. Metanol (10,0 ml) ble anvendt for å løse opp resten, som ble passert gjennom et 0,2 µ filter, som ble skylt med ytterligere metanol (10,0 ml). De kombinerte filtratene ble konsentrert til tørrhet med en badtemperatur som ikke oversteg 22 °C for å gi **24 (B)** som et klebrig faststoff (0,60 g, 39 %, 91 % AUC).

[0662] LC/MS, fremgangsmåte 2, 2,65 min (ES+) m/z (relativ intensitet) 1496,78 ($[M+H]^+$; 20). $[\alpha]^{24}_D = +262^\circ$ ($c = 0,056$, CHCl_3).

Eksempel 2 – Ytterligere syntese av 17

(i) 5-metoksy-2-nitro-4-((triisopropylsilyl)oksy)benzosyre (3)



(a) C2

[0664]

1. Last 500 ml vannfritt CH₃CN (analytisk reagens, 5V) i en 2 l kolbe.
2. Last 99,0 g **C1** (1,0 ekv.) i kolben.
- 5 3. Last 99,6 g pulver K₂CO₃ (analytisk reagens, 1,1 ekv.) i kolben
4. Varm opp til 40~50 °C.
5. Tilsett langsomt 123,2 g benzylbromid (kjemisk ren, 95 %, 1,1 ekv.) dråpevis.
6. Varm opp til 50~60 °C.
- 10 7. Omrør i 4 timer.
8. Prøve for IPC (fullførelsesakseptkriterier: SM ≤ 2,0 % ved HPLC).
9. Kjøøl til 20~25 °C.
10. Hell blandingen i isvann (1,5 l, 15 V).
11. Omrør i ca. 1 time.
- 15 12. Filtrer.
13. Vask filterkaken med vann (50 ml, 0,5 V).
14. Slurry filterkaken med heksan (200 ml, 2 V).
15. Filtrer og samle opp faststoffet.
16. Tørk produktet ved anvendelse av vakuumovn ved 25–30 °C i 20
- 20 timer (internt trykk ca. 20–50 mmHg).
17. Produktinformasjon (145,0 g, renhet: 99%; utbytte: 92%).

(b) C3

25

[0665]

1. Last 2,5 l konsentrert HNO₃ (70 %, 5 V) i en 5 l kolbe.
2. Kjøøl til 2~7 °C.
3. Last 500 g **C2** (1,0 ekv.) porsjonsvis mens temperaturen holdes ved 2~7 °C.
- 30 4. Omrør i 8 timer ved 2~7 °C.
5. Prøve for IPC (fullførelsesakseptkriterier: SM ≤ 2,0 % ved HPLC).
6. Hell blandingen i isvann (7,5 l, 15 V).
7. Omrør i ca. 1 time.
8. Filtrer.
- 35 9. Vask filterkaken med vann (500 ml, 1 V).
10. Tørk produktet under vakuum.

11. Rekrystalliser (omrør ved 70~80 °C i 1 time, delvis oppløsning) det faste produktet med EtOAc (1 l, 2 V).

12. Filtrer.

5 18. Tørk produktet ved anvendelse av vakuumovn ved 20–30 °C i 26 timer (internt trykk ca. 20–50 mmHg).

13. Produktinformasjon (420,0g, renhet: 98%; utbytte: 71%).

(c) 1

10

[0666]

1. Last 600 ml TFA (1,5 V) i en 2 l kolbe.

2. Varm opp til 40~50□.

3. Last 400 g **C3** (1,0 ekv.) langsomt og porsjonsvis i kolben.

15

4. Varm opp til 75~85□.

5. Omrør i 2 timer ved 75~85□.

6. Prøve for IPC (fullførelseskriterier: $SM \leq 2,0 \%$ ved HPLC).

7. Kjøøl reaksjonsblandingen til 40~50 °C.

8. Konsentrer reaksjonsblandingen under vakuum ved 40~50 °C.

20

9. Slurry det ubehandlede produktet med MTBE (400 ml, 1 V).

10. Filtrer og samle opp faststoffet.

11. Tørk produktet ved anvendelse av vakuumovn ved 20–30 □ i 30 timer (internt trykk ca. 20–50 mmHg).

12. Produktinformasjon (247,0g, renhet: 98%; utbytte: 90%).

25

(d) 2

[0667]

30

1. Last 15,75 l CH_2Cl_2 (5 V) i en 50 l reaktor.

2. Last 3,15 kg **1** (1,0 ekv.) i reaktoren.

3. Kjøøl til 0~10□.

4. Last 1,78 kg vannfritt Et_3N (analytisk reagens, 1,2 ekv.) langsomt i reaktoren.

35

5. Omrør i 0,5 time.

6. Last 3,08 kg TIPSCI (1,1 ekv.) langsomt i reaktoren.

7. Varm opp til 5~15 □.

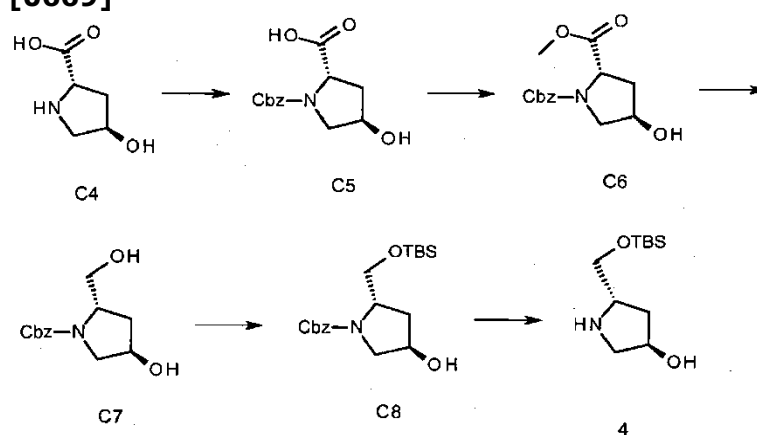
8. Omrør i 2 timer.
9. Prøve for IPC (fullførelseskriterier: $SM \leq 2,0$ % ved HPLC).
10. Konsentrer blandingen under vakuum ved 25~35 °C.
11. Rens det ubearbeidede produktet ved kolonnekromatografieluering med 5 % etylacetat i Petro-eter.
12. Slurry det ubehandlede produktet med heksan (1,6 l, 0,5 V).
13. Filtrer og samle opp faststoffet.
14. Tørk produktet ved anvendelse av vakuumovn ved 25–30 °C i 18 timer (internt trykk ca. 20–50 mmHg).
15. Produktinformasjon (4,6 kg, renhet: 98%; utbytte: 81%).

(e) 3

- 15 **[0668]**
 1. Last 1,4 l H₂O (7 V) i en 5 l kolbe.
 2. Last 112,6 g NaClO₂ (faststoff, analytisk reagens, 82 % aktivt reagens, 2,2 ekv.) i kolben.
 3. Last 88,2 g NaH₂PO₄ (1,3 ekv.) i kolben.
 4. Last en løsning av **2** (200,0 g, 1,0 ekv.) i THF (1,0 l, 5 V) i kolben.
 5. Last 115,5 ml H₂O₂ (analytisk reagens, 30 % vekt/vekt, 2,0 ekv.) i kolben.
 6. Varm opp til 40~50 °C.
 7. Omrør i 1 time.
 8. Prøve for IPC (fullførelseskriterier: $SM \leq 2,0$ % ved HPLC).
 9. Kjøl til 20~30 °C.
 10. Surgjør blandingen ved anvendelse av 1 M HCl til pH 2.
 11. Separer den organiske fasen.
 12. Ekstraher den vandige fasen med etylacetat (1,4 l, 7 V).
 13. Separer den organiske fasen.
 14. Ekstraher den vandige fasen med etylacetat (1,0 l, 5 V).
 15. Separer den organiske fasen.
 16. Kombiner den organiske fasen.
 17. Vask den organiske fasen med saltløsning (1,0 l, 5 V).
 18. Tørk over Na₂SO₄ (Na₂SO₄ er enkelt å filtrere).
 19. Filtrer og konsentrer blandingen under vakuum ved 30~40 °C.
 20. Slurry det ubehandlede produktet med heksan (200 ml, 1 V).

21. Filtrer og samle opp faststoffet.
22. Tørk produktet ved anvendelse av vakuumovn ved 25–30 °C i 16 timer (internt trykk ca. 20–50 mmHg).
23. Produktinformasjon (188g, renhet: 99%; utbytte: 90%).

5

(ii) 4**[0669]**

10

(a) C5**[0670]**

15

1. Last trans-4-hydroksy-L-prolin **C4** (100 g, 1,0 ekv.) i reaktoren.
 2. Last isvann (1,2 l, 6 V/W) i reaktoren under omrøring ved 15 ± 5 °C.
 3. Last NaHCO₃ (160,3 g, 2,5 ekv.) som faststoff i løsningen,
 4. Tilsett løsningen av CbzCl (143,0 g, 1,1 ekv.) dråpevis i toluen (400 ml, 4 V/W) i løpet av 30 minutter.
 5. Omrør blandingen ved romtemperatur i 18 timer.
 6. Prøve fra vandig sjikt viste SM < 2,0 %. Separer de to fasene.
 7. Vask den vandige fasen med EtOAc (1 x 3 V), kjøøl i et isbad, og surgjør deretter til pH 2 med konsentrert HCl.
 8. Ekstraher det vandige sjiktet med EtOAc (3 x 4 V) og de kombinerte organiske ekstraktene, og tørk med Na₂SO₄.
 9. Fjern løsemiddelet under vakuum for å gi en fargeløs viskøs olje.
- [α]_D²² 29,2°, (c = 0,1 g / 100 ml i metanol)

20

25

(b) C6**[0671]**

- 5 1. Last **C5** (90,0 g, 1,0 ekv.) i reaktoren.
 2. Last MeOH (540 ml, 6 V/W) i reaktoren under omrøring ved 15 ± 5 °C.
 3. Last H₂SO₄ (4,5 g, 0,05 ekv.) i løsningen. Varm opp blandingen til 65 ± 5 °C, og hold under reflux i 4 timer.
 4. Prøve for IPC ved HPLC (fullførelseskriterier: C5 < 2,0 %).
- 10 5. Kjøl blandingen til 25 ± 5 °C.
 6. Last Et₃N (18 g, 0,2 ekv.) i reaktoren, og rør i ytterligere 30 minutter.
 7. Konsentrer blandingen til minste volum under vakuum ved 35 ± 5 °C.
 8. Løs opp resten i EtOAc (5 V/W), og vask den med vann (1 V/W).
 9. Separer den organiske fasen, og vask den med saltløsning (1 V/W).
- 15 10. Separer den organiske fasen, og tørk den med vannfritt Na₂SO₄.
 11. Konsentrer løsningen til minste volum under vakuum ved 35 ± 5 °C for å gi gul viskøs olje. $[\alpha]_D^{25} -66,9^\circ$, (c = 0,016 g / 100 ml i kloroform)

(c) C7

20

[0672]

1. Last **C6** (90,0 g, 1,0 ekv.) i reaktoren.
 2. Last THF (450 ml, 5 V/W) i reaktoren under omrøring ved 0 ± 5 °C.
- 25 3. Last LiBH₄ (11,0 g, 1,5 ekv.) i løsningen.
 4. Omrør blandingen i 30 min ved 0 ± 5 °C, og la blandingen varme opp til romtemperatur.
 5. Omrør blandingen ved romtemperatur i 4 timer, ta prøve for IPC ved HPLC etter 4 timer (fullførelseskriterier: C6 < 2,0 %).
- 30 6. Kjøl til 0 °C, fortynn med vann (5 V), og behandle dråpevis med vandig HCl (4V, 2M). Underveis kan kraftig effervesens observeres.
 7. Konsentrer under vakuum for å fjerne THF, og ekstraher den vandige resten med iPrOAc (3 V*4).
 8. Vask deretter den organiske fasen med saltløsning (3 V) og tørk over Na₂SO₄.
- 35 9. Konsentrer under vakuum, og få et fargeløst produkt. $[\alpha]_D^{23} -41,6^\circ$, (c = 0,93 g / 100 ml i kloroform)

(d) C8**5 [0673]**

1. Last **C7** (1,0 ekv.) i reaktoren.
2. Last toluen (5 V/W) i reaktoren under omrøring.
3. Last TEA (1,5 ekv.) i løsningen.
4. Hev til 50 °C. Last deretter TBSCI (1,1 ekv.) i reaktoren.
- 10 5. Omsett i 18 timer ved 60 °C.
6. Prøve for IPC ved HPLC (fullførelseskriterier: utgangsmateriale er mindre enn 5,0 %).
7. Kjøl til 30 °C, stans med NH₄Cl (vandig) (3 V/W), separer den organiske fasen.
- 15 8. Vask deretter med saltløsning (3 V) og tørk over Na₂SO₄. Konsentrer under vakuum, og få et brunt produkt. $[\alpha]_D^{24} -52,4^\circ$, (c = 0,94 g / 100 ml i kloroform)

(e) 4

20

[0674]

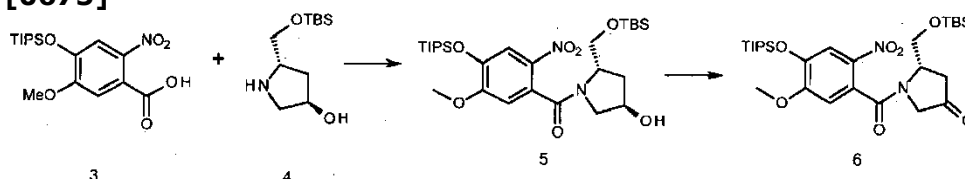
1. Last **C8** (1,0 ekv.) i reaktoren.
2. Last IPA (8 V/W) i reaktoren under omrøring.
- 25 3. Last Pd/C (0,05 W/W) i løsningen.
4. Omrør ved 10–20 °C. Last deretter H₂ i reaktoren.
5. Omsett i 18 timer ved 10–20 °C.
6. Prøve for IPC ved HPLC (fullførelseskriterier: utgangsmateriale er mindre enn 1,0%).
- 30 7. Filtrer reaksjonsblandingen.
8. Konsentrer filtratet ved 35 ±5 °C under vakuum.
9. Last heptan i resten, og konsentrer ved 35 ±5 °C under vakuum.
10. Last heptan i resten, og konsentrer ved 35 ±5 °C under vakuum én gang til.
- 35 11. Last heptan i resten.
12. Kjøl til –10 ±5 °C, og omrør i 30 minutter.
13. Filtrer blandingen, og samle opp filtratkaken.

14. Tørk filtratkaken i luften ved romtemperatur i 28 timer.

15. Produktinformasjon: 2,5 kg (renhet: 99,2 %) $[\alpha]_D^{24} +11,2,4^\circ$, (c = 0,04 g/100 ml i kloroform)

5 **(iii) 6**

[0675]



10 **(a) 5**

[0676]

1. Last 1,0 l vannfritt CH_2Cl_2 (analytisk reagens, 8 V) i en 3 l kolbe.
2. Last 200 g **3** (1,0 ekv.) i kolben.
3. Last 80,4 g vannfritt HOBt (analytisk reagens, 1,1 ekv.) i kolben.
4. Kjøl til 0~10°C.
5. Last 124,5 g EDCI (kjemisk ren, 95 %, 1,2 ekv.) i kolben.
6. Varm opp til 20~30°C.
7. Omrør i 30 minutter.
8. Kjøl blandingen til -10~0 °C.
9. Last en løsning av **4** (131,5 g, 1,05 ekv.) og TEA (68,5 g, 1,25 ekv.) i CH_2Cl_2 (600 ml, 3 V) hurtig i kolben.
10. Varm opp til 20~30°C.
11. Omrør i 2 timer.
12. Prøve for IPC (fullførelseskriterier: $4 \leq 2,0$ % ved HPLC).
13. Kjøl til 0~10°C.
14. Vask blandingen med vann (400 ml, 2 V)
15. Separer den organiske fasen.
16. Surgjør den organiske fasen ved anvendelse av 0,1 M HCl til pH 4~5 (pH-papirtesting).
17. Separer den organiske fasen.
18. Vask den organiske fasen med vann (400 ml, 2 V).
19. Separer den organiske fasen.

- 20, Vask det organiske sjiktet med mettet vandig natriumbikarbonat (400 ml, 2 V).
21. Separer den organiske fasen.
22. Tørk over Na_2SO_4 .
- 5 23. Filtrer og konsentrer blandingen under vakuum ved 25~35°C.
24. Slurry det ubehandlede produktet med heksan (400 ml, 2 V).
25. Filtrer og samle opp faststoffet.
26. Tørk produktet ved anvendelse av vakuumovn ved 30-40°C i 20 timer (internt trykk ca. 20-50 mmHg).
- 10 27. Produktinformasjon (265g, renhet: 96%; utbytte: 84%). $[\alpha]_D^{23} - 100,1^\circ$, (c = 0,35 g / 100 ml i kloroform).

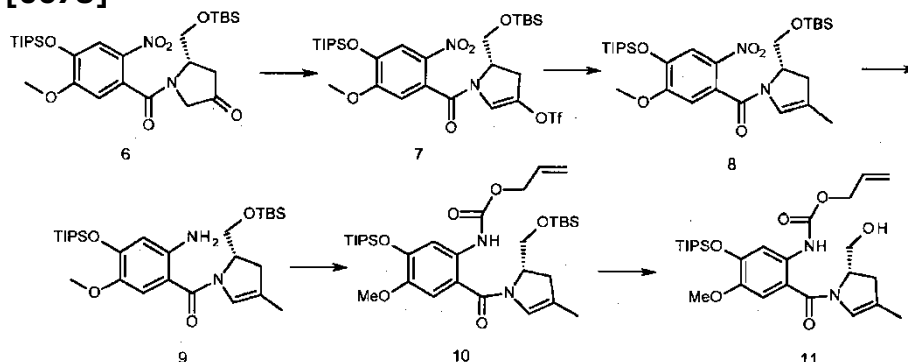
(b) 6

15

[0677]

1. Last 600 ml CH_2Cl_2 (6 V) i en 2 l kolbe.
2. Last 100g **5** (1,0 ekv.) i kolben.
3. Last 98,2 g DMP (1,35 ekv.) i kolben.
- 20 4. Varm opp til 25~35°C.
5. Omrør i 20 timer.
6. Prøve for IPC (fullførelseskriterier: $5 \leq 2,0$ % ved HPLC).
7. Kjøl til 5~15°C.
8. Stans reaksjonen med mettet vandig natriumbikarbonat (600 ml, 6 V).
- 25 9. Omrør i 30 minutter.
10. Filtrer og samle opp filtratet.
11. Vask filterkaken med CH_2Cl_2 (200 ml, 2 V).
12. Separer den organiske fasen.
13. Konsentrer den organiske fasen under vakuum.
- 30 14. Løs opp det ubearbeidede produktet med MTBE (400 ml, 4 V).
15. Filtrer og samle opp filtratet.
16. Vask filterkaken med MTBE (200 ml, 2 V).
17. Kombiner den organiske fasen.
18. Vask den organiske fasen med mettet vandig natriumbikarbonat
- 35 (300 ml, 3 V).
19. Separer den organiske fasen.
20. Ekstraher den vandige fasen med MTBE (100 ml, 1 V).

21. Separer den organiske fasen.
22. Kombiner den organiske fasen.
23. Vask det organiske sjiktet med mettet vandig natriumbikarbonat (300 ml, 3 V)
24. Separer den organiske fasen.
25. Vask den organiske fasen med vann (300 ml, 3 V).
26. Separer den organiske fasen.
27. Tørk over Na_2SO_4 .
28. Filtrer og konsentrer blandingen under vakuum ved 25~35°C.
29. Tørk produktet i luften ved romtemperatur i 48 timer.
30. Produktinformasjon (90 g, renhet: 98 %; utbytte: 90 %) $[\alpha]_D^{26} - 25,1^\circ$, ($c = 0,98 \text{ g} / 100 \text{ ml}$ i kloroform).

(iv) 11**[0678]****(a) 7****[0679]**

1. Last 30 ml vannfritt DCM (analytisk reagens) (6 V) i en 100 ml kolbe.
2. Last 5 g **6** (1,0 ekv.) i kolben under nitrogen.
3. Kjøl til -50°C .
4. Last 2,8 g lutidin (kjemisk ren) (3,0 ekv.) i kolben.
5. Tilsett 6,1 g $(\text{Tf})_2\text{O}$ (kjemisk rent) (2,5 ekv.) langsomt dråpevis mens temperaturen holdes ved $-55\sim-45^\circ\text{C}$.
6. Omrør i 2,0 timer ved -50°C .
7. Prøve for IPC (fullførelseskriterier: $6 \leq 2,0 \%$ ved LC-MS).
8. Hell blandingen i mettet vandig NaHCO_3 (5 V).

9. Omrør i ca. 15 minutter.
10. Separer den organiske fasen, og vask den med saltløsning (5 V).
11. Separer den organiske fasen, og tørk over vannfritt Na_2SO_4 .
12. Filtrer og konsentrerer den organiske fasen under vakuum ved 30~40 °C til tørrhet.
13. Resten ble utsatt for flashkolonnekromatografi (silikagel: 15/1, volum/volum, heksan/etylacetat).
14. Samle opp rene fraksjoner, og fjern løsemiddelet under vakuum ved 30~40 °C.
15. Tørk produktet i glassflaske ved anvendelse av fordamper under vakuum ved 30~40 °C til konstant mengde (internt trykk var ca. 20–50 mmHg)
16. Produktinformasjon: brun olje (4,3 g, renhet: 85,0 %; utbytte: 70.0%). $[\alpha]_D^{23} -52,97^\circ$, ($c = 0,202 \text{ g} / 100 \text{ ml}$ i kloroform).

(b) 8**[0680]**

1. Last 7,0 l vannfritt toluen (analytisk reagens)(8 V) i en 20 l kolbe.
2. Last 880 g **7** (1,0 ekv.), 258,6 g MeB(OH)_2 (kjemisk ren) (3,5 ekv.) og 1,57 kg K_3PO_4 (kjemisk ren) (6,0 ekv.) under nitrogen.
3. Last 214,0 g $\text{Pd(PPh}_3)_4$ (kjemisk ren) (0,15 ekv.).
4. Omrør i ca. 30 minutter ved 60 °C.
5. Prøve for IPC (fullførelseskriterier: $7 \leq 2,0 \%$ ved LC-MS).
6. Filtrer og samle opp filtratet.
7. Vask filtratet med vann (5 V).
8. Separer den organiske fasen, og vask den med mettet vandig NaHCO_3 (5 V).
9. Separer den organiske fasen, og vask den med saltløsning (5 V).
10. Separer den organiske fasen, og tørk over vannfritt Na_2SO_4 .
11. Filtrer og konsentrerer den organiske fasen under vakuum ved 50~60 °C til tørrhet.
12. Utsett resten for flashkolonnekromatografi (silikagel; 10/1, volum/volum, heksan/etylacetat).
13. Samle opp rene fraksjoner, og konsentrer dem under vakuum ved 30~40 °C.

14. Tørk produktet i glassflaske ved anvendelse av fordamper under vakuum ved 30~40 °C til konstant mengde (internt trykk var ca. 20–50 mmHg)

5 15. Produktinformasjon: brun olje (470,0g, renhet: 93,4%; utbytte: 66.0%).

(c) 9

10 **[0681]**

1. Last 2,60 kg Zn (kjemisk ren)(37,0 ekv.) i en 20 l kolbe.

2. Last 6,3 l EtOH (analytisk reagens)/HCO₂H(10/0,05)(10 V).

3. Kjøøl til 5□.

15 4. Tilsett løsning av **8** (623 g, 1,0 ekv.) i EtOH (1,5 l, 2,5 V) dråpevis i blandingen under omrøring.

5. Hold temperaturen ved 5 ±5 °C, og omrør i 1 time.

6. Prøve for IPC (fullførelseskriterier: 8 ≤ 2,0 % ved LC-MS).

7. Filtrer og samle opp filtratet.

8. Hell filtratet i EtOAc (20 V), og vask det med vann (20 V)

20 9. Separer den organiske fasen, og vask den med mettet vandig NaHCO₃ (20V).

10. Separer den organiske fasen, og vask den med saltløsning (20V).

11. Separer den organiske fasen, og tørk over vannfritt Na₂SO₄.

12. Filtrer og konsentrerer den organiske fasen under vakuum.

25 13. Resten ble utsatt for flashkolonnekromatografi (silikagel; 5/1, volum/volum, heksan/etylacetat).

14. Samle opp rene fraksjoner, og konsentrer dem under vakuum ved 30~40 °C.

30 15. Tørk produktet i glassflaske ved anvendelse av fordamper under vakuum ved 30~40 °C til konstant mengde (internt trykk var ca. 20–50 mmHg).

16. Produktinformasjon: brun olje (470,0g, renhet: 97,0 % utbytte: 79.6%). $[\alpha]_D^{23}$ –176,47° , (c = 0,187 g / 100 ml i kloroform).

(d) 10**[0682]**

- 5 1. Last 6,1 l DCM (analytisk reagens) (13 V) og 470 g **9** (1,0 ekv.) i en 10 l kolbe.
2. Kjøl til -85°C .
3. Last 149,0 g pyridin (analytisk reagens) (2,2 ekv.) i kolben.
- 10 4. Tilsett 113,5 g allylklorformat (kjemisk ren) (1,1 ekv.) langsomt dråpevis mens temperaturen holdes ved $-85^{\circ}\text{C} \sim -75^{\circ}\text{C}$ i kolben.
5. Omrør i 30 minutter ved $-85^{\circ}\text{C} \sim -75^{\circ}\text{C}$.
6. Varm opp til romtemperatur.
7. Prøve for IPC (fullførelseskriterier: $9 \leq 2,0\%$ ved LC-MS).
- 15 8. Last DCM (analytisk reagens) (10 V) og mettet vandig kobbersulfat (20 V).
9. Separer den organiske fasen, og vask den med mettet vandig NaHCO_3 (20V).
10. Separer den organiske fasen, og vask den med saltløsning (20V).
11. Separer den organiske fasen, og tørk over vannfritt Na_2SO_4 .
- 20 12. Filtrer og konsentrer den organiske fasen under vakuum ved $25 \sim 35^{\circ}\text{C}$.
13. Tørk produktet i glassflaske ved anvendelse av fordamper under vakuum ved $30 \sim 40^{\circ}\text{C}$ til konstant mengde (internt trykk var ca. 20–50 mmHg).
- 25 14. Produktinformasjon: brun olje (515,0g, renhet: 95,9 % utbytte: 95,0 %). $[\alpha]_{\text{D}}^{23} 90,40^{\circ}$, ($c = 0,177 \text{ g} / 100 \text{ ml}$ i kloroform).

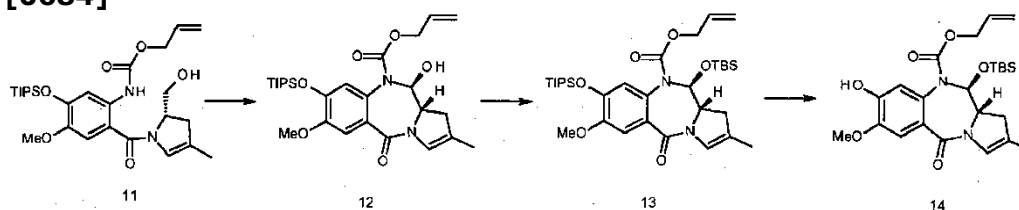
(e) 11

30

[0683]

1. Last 2,1 l AcOH/MeOH/THF/ H_2O (7:1:1:2)(4 V) i en 5 l kolbe.
2. Last 515,0 g **10** i kolben.
3. Omrør i 1 time ved $25^{\circ}\text{C} \sim 30^{\circ}\text{C}$.
- 35 4. Prøve for IPC (fullførelseskriterier: $\text{SM} \leq 2,0\%$ ved LC-MS).
5. Last EtOAc (analytisk reagens) (30 V) og vann (20 V).

6. Separer den organiske fasen, og vask den med mettet vandig NaHCO_3 (20V).
7. Separer den organiske fasen, og vask den med saltløsning (20V).
8. Separer den organiske fasen, og tørk over vannfritt Na_2SO_4 .
9. Filtrer og konsentrerer den organiske fasen under vakuum.
10. Utsett resten for flashkolonnekromatografi (silikagel; 4/1, volum/volum, heksan/etylacetat).
11. Samle opp rene fraksjoner, og konsentrer dem under vakuum ved 30~40 °C.
12. Tørk produktet i glassflaske ved anvendelse av fordamper under vakuum ved 30~40 °C til konstant mengde (internt trykk var ca. 20–50 mmHg).
13. Produktinformasjon (337,6g, renhet: 99,0%; utbytte: 80,0 %)[α]_D²⁸ - 80,95°, (c = 0,231 g/100 ml i kloroform).

(v) 14**[0684]****(a) 12****[0685]**

1. Last 500 ml vannfritt DCM (analytisk reagens) (10 V) i en 2 l kolbe.
2. Last 14,7 g (COCl_2) (kjemisk ren) (1,2 ekv.) i kolben under nitrogen
3. Kjøl til -78°.
4. Tilsett 18,8 g vannfritt DMSO (analytisk reagens) (2,5 ekv.) langsomt dråpevis mens temperaturen holdes ved -78~-70 °C.
5. Tilsett 50,0 g **11** (1,0 ekv.) dråpevis i vannfritt DCM (analytisk reagens) i kolben mens temperaturen holdes ved -78 °C ~-70 °C.
6. Omrør i 15 minutter.
7. Tilsett 50,0 g TEA (analytisk reagens)(5,0 ekv.) dråpevis i kolben.
8. Omrør i 2 timer.

9. Prøve for IPC (fullførelsesakseptkriterier: $SM \leq 2,0 \%$ ved LC-MS).
10. Hell blandingen i 0,1 mol is-saltsyre (5 V).
11. Omrør i ca. 15 minutter.
12. Separer den organiske fasen, og vask den med mettet vandig NaHCO_3 (5 V).
13. Separer den organiske fasen, og vask den med saltløsning (5 V).
14. Separer den organiske fasen, og tørk over vannfritt Na_2SO_4 .
15. Filtrer og konsentrerer den organiske fasen under vakuum ved 30~40°C til tørrhet.
16. Utsett resten for flashkolonnekromatografi (silikagel; 1/3, volum/volum, heksan/etylacetat).
17. Samle opp rene fraksjoner, og konsentrer dem under vakuum ved 30~40 °C til tørrhet.
18. Produktinformasjon (30,3g, renhet: 97,7%; utbytte: 61.3%). $[\alpha]_D^{25}$ 101,95°, ($c = 0,205 \text{ g} / 100 \text{ ml}$ i kloroform).

(b) 13

- [0686]**
1. Last 1,1 l vannfritt DCM (analytisk reagens) (20 V) i en 2 l kolbe.
2. Kjøøl til 0°C.
3. Last 55 g **12** (1,0 ekv.) og lutidin (analytisk reagens)(4,0 ekv.)
4. Tilsett 84,4 g TBSOTf (kjemisk ren) (3,0 ekv.) langsomt dråpevis mens temperaturen holdes ved 0 °C ~5 °C.
5. Omrør i ca. 15 minutter ved 0 °C ~-5 °C.
6. Omrør ved romtemperatur i 1,5 timer.
7. Prøve for IPC (fullførelsesakseptkriterier: $12 \leq 2,0 \%$ ved LC-MS).
8. Hell blandingen i vann (1,1 l, 20 V).
9. Omrør i ca. 30 minutter.
10. Separer den organiske fasen, og vask den med mettet vandig NaHCO_3 (5 V).
11. Separer den organiske fasen, og vask den med saltløsning (5 V).
12. Separer den organiske fasen, og tørk over vannfritt Na_2SO_4 .
13. Filtrer og konsentrerer den organiske fasen under vakuum ved 30~40°C til tørrhet.

14. Produktinformasjon (62,0 g ubearbeidet stoff). $[\alpha]_D^{25} 54,62^\circ$ (c = 0,216 g / 100 ml i kloroform).

(c) 14

5

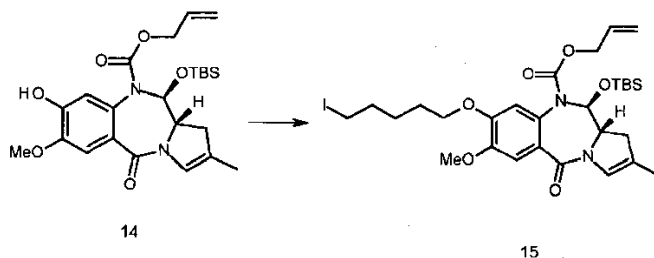
[0687]

1. Last 12 ml DMF (analytisk reagens)/H₂O(50/1) (12 V) og 1 g **13** (1,0 ekv.) i en 50 ml kolbe.
2. Last 0,16 g LiOAc(kjemisk ren)(1,0 ekv.) i kolben.
3. Omrør i 4 timer ved 25°C.
4. Prøve for IPC (fullførelseskriterier: $13 \leq 2,0$ % ved LC-MS).
5. Hell blandingen i EtOAc (25 ml, 25 V).
6. Vask den organiske fasen med citratløsning (20 V).
7. Separer den organiske fasen, og vask den med vann (20 V)
8. Separer den organiske fasen, og vask den med saltløsning (20V).
9. Separer den organiske fasen, og tørk over vannfritt Na₂SO₄.
10. Filtrer og konsentrerer den organiske fasen under vakuum.
11. Resten ble utsatt for flashkolonnekromatografi (silikagel; 1/3, volum/volum, heksan/etylacetat).
12. Samle opp rene fraksjoner, og konsentrer dem under vakuum ved 30~40 °C til tørrhet.
13. Produktinformasjon (0,6g, renhet: 99%; utbytte: 80%). $[\alpha]_D^{28} 59,73^\circ$ (c = 0,216 g / 100 ml i kloroform).

25

(vi) 15

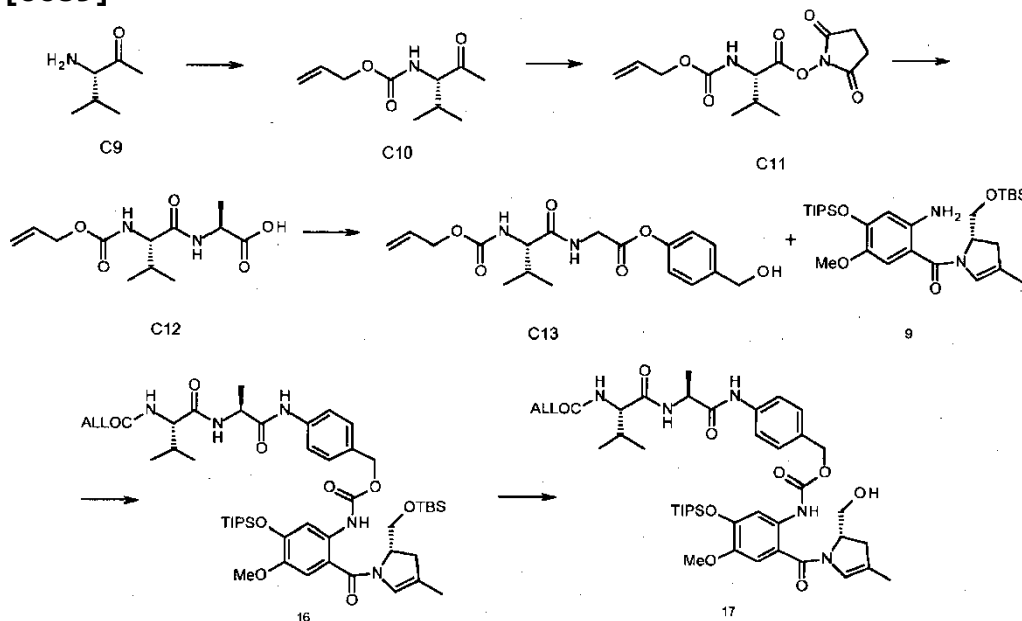
[0688]



30

1. Last 400 ml vannfritt aceton (analytisk reagens, 10 V) og 40 g **14** (1,0 ekv.) i en 1 l kolbe.

2. Last 136,5 g diiodpentan (analytisk reagens) (5,0 ekv.) og partikkel K_2CO_3 (analytisk reagens, 1 ekv.) i kolben.
3. Varm opp til 60 °C.
4. Omrør i 10 timer.
5. Prøve for IPC (fullførelsesakseptkriterier: $14 \leq 2,0$ % ved LC-MS).
6. Konsentrer blandingen for å fjerne løsemiddelet under vakuum ved 30~40 °C.
7. Resten ble utsatt for flashkolonnekromatografi (silikagel; 1/1, volum/volum, heksan/etylacetat).
8. Samle opp rene fraksjoner, og konsentrer for å fjerne løsemiddelet under vakuum ved 30~40 °C.
9. Tørk produktet i glassflasken ved anvendelse av fordamper under vakuum ved 30–40 °C i 8 timer (internt trykk 20–40 mmHg).
10. Produktinformasjon (49,7g, renhet: 98,6%; utbytte: 88.0%). $[\alpha]_D^{28}$ 60,21, ($c = 0,204$ g / 100 ml i kloroform).

(vii) 17**[0689]****(a) C10****[0690]**

1. Last 24 g L-valin **C9** (1,0 ekv.) i en 2 l firehalst, rundbunnet kolbe utstyrt med mekanisk rørverk og trykkutjevnenende tilsettingstrakt.
2. Last 480 ml THF (analytisk reagens, 20 V) i kolben.
3. Last 480 ml vann (20 V) i kolben.
- 5 4. Kjøøl løsningen til 5 °C.
5. Last 42,5 g pulver K_2CO_3 (analytisk reagens, 1,5 ekv.) i kolben.
6. Tilsett 29,7 g allylkloroformat (kjemisk ren, 1,2 ekv.) dråpevis i kolben under omrøring ved 5~10 °C.
7. Fjern det kalde badet etter at tilsettingen er fullført.
- 10 8. Omrør i 4 timer ved romtemperatur.
9. Prøve for IPC (fullførelsesakseptkriterier: $C9 \leq 3,0\%$ ved HPLC).
10. Fordamp THF under redusert trykk
11. Ekstraher den gjenværende løsningen med MTBE (3 V x 2).
12. Surgjør den vandige porsjonen til pH 2 med konsentrert HCl
- 15 13. Ekstraher vandig løsning med DCM (5 V x 3).
14. Vask de kombinerte organiske ekstraktene med saltløsning (4 V).
15. Separer den organiske fasen.
16. Tørk over Na_2SO_4 .
17. Filtrer og konsentrer blandingen under vakuum ved 25~35 °C for å gi
- 20 en fargeløs olje (38 g, renhet: 92 %, utbytte: 88 %), $[\alpha]_D^{23} -4,5^\circ$, (c = 0,229 g / 100 ml i MeOH)

(b) C11

25

[0691]

1. Last 18 g **C10** (1,0 ekv.) i en 500 ml kolbe utstyrt med mekanisk rørverk og trykkutjevnenende tilsettingstrakt.
2. Last 180 ml THF (analytisk reagens, 10 V).
- 30 3. Last 10,3 g HOSu (1,0 ekv.).
4. Kjøøl til 2~7°C.
5. Tilsett løsning av DCC (18,4 g, 1,0 ekv.) i THF (analytisk reagens, 70 ml, 4 V) dråpevis i blandingen under omrøring.
6. Omrør i 3 timer ved 2~7°C.
- 35 7. Fjern det kalde badet.
8. Omrør ved romtemperatur i 15 timer.
9. Prøve for IPC (fullførelsesakseptkriterier: $C10 \leq 2,0\%$ ved HPLC).

10. Filtrer av presipitatet.
11. Vask filterkaken med THF (20 ml, 1 V).
12. Konsentrer det kombinerte filtratet under redusert trykk.
13. Løs opp resten i DCM (analytisk reagens, 3 V).
- 5 14. Omrør ved 0 °C i 30 minutter.
15. Filtrer av faststoffet.
16. Vask filterkaken med DCM (20 ml, 1 V).
17. Konsentrer det kombinerte filtratet under redusert trykk for å gi et hvitt faststoff.
- 10 18. Produktinformasjon (26g, renhet: 88%, utbytte: 100%).

(c) C12**[0692]**

- 15 1. Last 18 g L-alanin (1,0 ekv.) i en 1 l kolbe.
2. Last 8,1 g NaHCO₃ (1,1 ekv.) i kolben.
3. Last 260 ml THF (analytisk reagens, 10 V).
4. Last 260 ml vann (10 V).
5. Kjøl til 2~7°C.
- 20 6. Tilsett løsning av **C11** (26 g, 1,0 ekv.) i THF (100 ml, 4 V) dråpvis i blandingen under omrøring.
7. Omrør i 1 time ved 2~7 °C.
8. Fjern det kalde badet.
9. Omrør i 18 timer ved 20~30°C.
- 25 10. Prøve for IPC (fullførelseskriterier: C11 ≤ 2,0% ved HPLC).
11. Konsentrer reaksjonsblandingen under vakuum til 10 V ved 40~50 °C.
12. Surgjør blandingen med 20 % HCl til pH 2~3 for å presipitere produktet;
- 30 13. Filtrer og samle opp faststoffet.
14. Vask med vann.
15. Tørk produktet ved anvendelse av vakuumovn ved 45-50°C i 30 timer (internt trykk ca. 20–50 mmHg).
16. Produktinformasjon (faststoff, 13 g, renhet: 89%; utbytte: 57 %, over 3 trinn). $[\alpha]_D^{23}$ –51,71°, (c = 0,205 g / 100 ml i MeOH)
- 35

(d) C13**[0693]**

1. Last **C12** (20 g, 1,0 ekv.) i en 1 l reaktor.
2. Last *p*-aminobenzylalkohol (9,6 g, 1,0 ekv.) i reaktoren.
3. Last THF (400 ml, 20 V) i reaktoren.
4. Last EEDQ(19,2 g, 1,0 ekv.) i reaktoren
5. Omrør i 60 timer ved 20–30 °C.
6. Prøve for IPC (fullførelseskriterier: $C12 \leq 2,0\%$ ved HPLC).
7. Hell reaksjonsblandingen i MTBE (1,2 l, 60 V) under omrøring for å presipitere produktet.
8. Filtrer og samle opp faststoffet.
9. Vask kaken med MTBE (1,6 l, 0,5 V).
10. Tørk produktet ved anvendelse av vakuumovn ved 25–30 °C i 18 timer til konstant mengde (internt trykk ca. 20–50 mmHg).
11. Produktinformasjon (faststoff, 20,0g, renhet: 96,0%; utbytte: 72%).
 $[\alpha]_D^{23} -83,01^\circ$,
 (c = 0,206 g / 100 ml i MeOH)

(e) 16**[0694]**

1. Last **9** (40 g, 1,0 ekv.) i en 3 l kolbe.
2. Last DCM (analytisk reagens, 400 ml, 10 V) i kolben under N₂.
3. Kjøl til -10°C.
4. Last trifosgen (analytisk reagens, 7,8 g, 0,36 ekv.) i blandingen under N₂.
5. Tilsett TEA (analytisk reagens, 16,2 g, 2,2 ekv.) dråpevis i blandingen ved -5 ± 5 °C.
6. Omrør i 10 minutter ved -5 ± 5 °C.
7. Prøve for IPC for å overvåke isocyanatdannelsen (stans med metanol, fullførelseskriterier: $9 \leq 10,0\%$ ved LC-MS).
8. Last løsning av C13 (41 g, 1,5 ekv.) og trietylamin (analytisk reagens, 1,5 ekv.) i tørt THF (analytisk reagens, 20 V) i kolben i én porsjon ved -5 ± 5 °C.
9. Omrør i 10 minutter ved -5 ± 5 °C.
10. Fjern det kalde badet.

11. Omrør i 16 timer ved 25 ± 5 °C.
12. Prøve for IPC (stans med metanol, fullførelseskriterier: $9 \leq 10,0\%$ ved LC-MS).
13. Filtrer og vask kaken med DCM (analytisk reagens, 2 V).
14. Konsentrer det kombinerte filtratet under vakuum.
15. Utsett resten for kolonnekromatografi (silikagel; 3/1, volum/volum, heksan/etylacetat).
16. Samle opp rene fraksjoner, og konsentrer under vakuum ved 30~40 °C.
17. Tørk produktet i vakuumovn ved 35–40 °C i 10 timer til konstant mengde (det interne trykket var ca. 20–50 mmHg)
18. Produktinformasjon: offwhite faststoff (36 g, renhet: 97,2%; utbytte: 53%). $[\alpha]_D^{23} -86,43^\circ$, ($c = 0,221$ g / 100 ml i kloroform).

(f) 17**[0695]**

1. Last 6 l AcOH/MeOH/THF/H₂O(10 V:1 V:1 V:2 V) i en 10 l kolbe.
2. Last 416 g **16** i kolben.
3. Omrør i 2 timer ved 25~30 °C.
4. Prøve for IPC (fullførelseskriterier: $17 \leq 2,0\%$ ved LC-MS).
5. Last EtOAc (analytisk reagens, 30 V) og vann (20 V).
6. Separer den organiske fasen, og vask med mettet vannfritt NaHCO₃(20 V).
7. Separer den organiske fasen, og vask med saltløsning (20 V).
8. Separer den organiske fasen, og tørk over vannfritt Na₂SO₄.
9. Filtrer og konsentrerer den organiske fasen under vakuum.
10. Utsett resten for flashkolonnekromatografi (silikagel; heksan/etylacetat, 1/2, volum/volum).
11. Samle opp rene fraksjoner, og konsentrer under vakuum ved 30~40 °C.
12. Tørk produktet i vakuumovn ved 35–40 °C i 20 timer til konstant mengde (det interne trykket var ca. 20–30 mmHg)
13. Produktinformasjon (308,8g, renhet: 98,1%; utbytte: 85.1%).

Generelle forsøksfremgangsmåter for eksempel 3

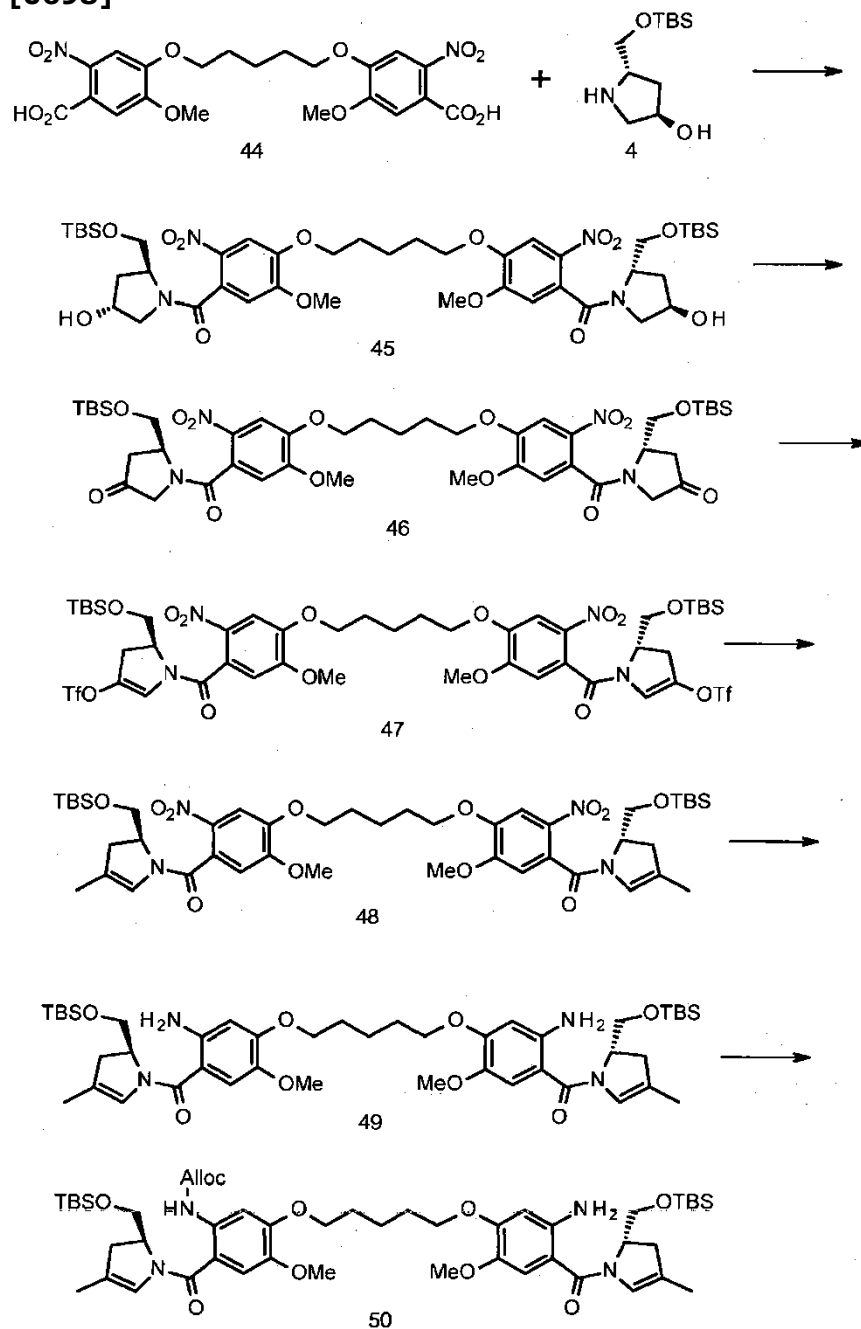
[0696] Optiske rotasjoner ble målt på et ADP 220-polarimeter (Bellingham Stanley Ltd.), og konsentrasjoner (c) angis i g/100 ml. Smeltepunkter ble målt ved anvendelse av en digital smeltepunktanordning (Electrothermal). IR-spekter ble registrert på et Perkin-Elmer Spectrum 1000 FT IR-spektrometer. ¹H og ¹³C NMR-spekter ble ervervet ved 300 K ved anvendelse av et Bruker Avance NMR-spektrometer ved henholdsvis 400 og 100 MHz. Kjemiske skift rapporteres i forhold til TMS ($\delta = 0,0$ ppm), og signaler betegnes som s (singlett), d (dublett), t (triplett), dt (dobbelt tripplett), dd (dublett av dubletter), ddd (dobbelt dublett av dubletter) eller m (multiplett), med koblingskonstanter angitt i hertz (Hz). Data fra massespektroskopi (MS) ble samlet ved anvendelse av et Waters Micromass ZQ-instrument koblet til en Waters 2695 HPLC med en Waters 2996 PDA. De anvendte Waters Micromass ZQ-parameterne var: Kapillær (kV), 3,38; kon (V), 35; ekstraktor (V), 3,0; kildetemperatur (°C), 100; desolverings-temperatur (°C), 200; konstrømningsrate (l/h), 50; desolveringsstrømningsrate (l/h), 250. Data fra høyoppløsningsmassespektroskopi (HRMS) ble registrert på en Waters Micromass QTOF Global i positiv W-modus ved anvendelse av metallbelagte borsilikatglasspisser for å introdusere prøvene i instrumentet. Tynnsljikt-kromatografi (TLC) ble utført på silikagelaluminiumsplater (Merck 60, F₂₅₄), og flashkromatografi benyttet silikagel (Merck 60, 230–400 mesh ASTM). Bortsett fra HOBt (NovaBiochem) og faststoffstøttede reagenser (Argonaut) ble alle andre kjemikalier og løsemiddel kjøpt fra Sigma-Aldrich og anvendt som levert uten ytterligere rensing. Vannfrie løsemiddel ble fremstilt ved destillasjon under en tørr nitrogenatmosfære i nærvær av et egnet tørkemiddel og ble oppbevart over 4 Å molekylsiler eller natriumtråd. Petroleumeter betyr fraksjonskoking ved 40–60 °C.

[0697] Generelle LC/MS-betingelser: HPLC (Waters Alliance 2695) ble kjørt ved anvendelse av en mobil fase av vann (A) (maursyre 0,1 %) og acetonitril (B) (maursyre 0,1 %). Gradient: første sammensetning 5 % B over 1,0 min, deretter 5 % B til 95 % B over 2,5 min. Sammensetningen ble holdt i 0,5 min ved 95 % B, og deretter returnert til 5 % B på 0,1 minutter og holdt der i 0,9 min. Total gradientkjøretid er lik 5 min. Strømningsrate 3,0 ml/min, 400 μ l ble delt *via* et T-stykke med null dødvolume som går inn i massespektrometeret. Bølgelengdedetekteringsområde: 220 til 400 nm. Funksjonstype: diodeserie (535 skanninger). Kolonne: Phenomenex® Onyx Monolithic C18 50 x 4,60 mm

Eksempel 3

(i) Allyl (5-((5-(5-amino-4-((S)-2-((tert-butyldimetylsilyl)oksy)metyl)-4-metyl-2,3-dihydro-1H-pyrrol-1-karbonyl)-2-metoksyfenoksy)pentyl)oksy)-2-((S)-2-(((tert-butyldimetylsilyl)oksy)metyl)-4-metyl-2,3-dihydro-1H-pyrrol-1-karbonyl)-4-metoksyfenyl)karbamat (50)

[0698]



(a) (S, R)-((pentan-1,5-diylbis(oksy))bis(5-metoksy-2-nitro-4,1-fenylene))bis(((2S,4R)-2-(((tert-butyldimetylsilyl)oksy)metyl)-4-hydroksypyrrolidin-1-yl)metanon) (45)

5

[0699] Vannfritt DMF (ca. 0,5 ml) ble tilsatt dråpevis i en omrørt suspensjon av 4,4'-(pentan-1,5-diylbis(oksy))bis(5-metoksy-2-nitrobenzosyre) (**44**) (36,64 g, 74,0 mmol) og oksalyklorid (18,79 ml, 0,222 mol, 3,0 ekv.) i vannfritt DCM (450 ml) inntil kraftig effervesens oppsto, og reaksjonsblandingen ble satt til omrøring over natten. Reaksjonsblandingen ble fordampet til tørrhet og trituret med dietyleter. Det resulterende gule presipitatet ble filtrert fra løsning, vasket med dietyleter (100 ml) og umiddelbart tilsatt i en løsning av (3R,5S)-5-(((tert-butyldimetylsilyloksy)metyl)pyrrolidin-3-ol (**4**) (39,40 g, 0,170 mol, 2,3 ekv.) og vannfritt trietylamin (82,63 ml, 0,592 mol, 8 ekv.) i vannfritt DCM (400 ml) ved -40 °C. Reaksjonsblandingen ble langsomt varmet opp til romtemperatur (over 2,5 timer), hvoretter LCMS-analyse anga fullført reaksjon. DCM (250 ml) ble tilsatt, og blandingen ble overført til en separasjonstrakt. Det organiske sjiktet ble vasket suksessivt med 0,1 M HCl (2 x 800 ml), mettet NaHCO₃ (500 ml) og saltløsning (300 ml). Etter tørking over MgSO₄ og filtrering, etterlot fordamping av løsemiddelet produktet som et gult skum (62,8 g, 92 %). LC/MS, system 1: RT 1,96 min; MS (ES+) *m/z* (relativ intensitet) 921,45 ([M+H]⁺, 100).

10

15

20

(b) (5S,5'S)-1,1'-(4,4'-(pentan-1,5-diylbis(oksy))bis(5-metoksy-2-nitrobenzoyl))bis(5-(((tert-butyldimetylsilyl)oksy)metyl)pyrrolidin-3-on) (46)

25

[0700] Triklorisocyanursyre (21,86 g, 94,07 mmol, 1,4 ekv.) ble tilsatt i én porsjon i en løsning av diol **45** (61,90 g, 67,20 mmol) og TEMPO (2,10 g, 13,44 mmol, 0,2 ekv.) i vannfritt DCM (500 ml) under en atmosfære av argon ved 0 °C. Reaksjonsblandingen ble omrørt ved 0 °C i 20 minutter, hvoretter LCMS-analyse av reaksjonsblandingen viste fullført reaksjon. Reaksjonsblandingen ble fortynnet med DCM (400 ml) og vasket med mettet natriumbikarbonat (500 ml), 0,2 M natriumtiosulfatløsning (600 ml), saltløsning (400 ml) og tørket (MgSO₄). Fordamping av løsemiddelet ga det ubearbeidede produktet. Flashkromatografi [gradienteluering 80 % n-heksan/20 % etylacetat til 100 %

30

35

etylacetat] ga ren **46** som gult faststoff (49,30 g, 80 %). LC/MS: RT 2,03 min; MS (ES+) m/z (relativ intensitet) 917,55 ($[M+H]^+$, 100).

5 **(c)** **(5S,5S)-1,1'-(4,4'-(pentan-1,5-diylbis(oksy))bis(5-metoksy-2-nitrobenzoyl))bis(5-(((tert-butyldimetylsilyl)oksy)metyl)-4,5-dihydro-1H-pyrrol-3,1-diyl)bis(trifluormetansulfonat), (47)**

10 **[0701]** Triflisk anhydrid (24,19 ml, 0,144 mol, 6,0 ekv.) ble tilsatt dråpevis i en kraftig omrørt løsning av bis-keon **46** (21,98 g, 23,96 mmol) i vannfritt DCM (400 ml) inneholdende 2,6-lutidin (22,33 ml, 0,192 mol, 8,0 ekv.) ved -40 °C. Reaksjonsblandingen ble omrørt ved -40 °C i 30 min, hvorefter LCMS-analyse anga fullført reaksjon. Reaksjonsblanding ble hurtig fortynnet med DCM (500 ml) og vasket med iskaldt vann (600 ml), iskaldt mettet natriumbikarbonat (400 ml) og saltløsning (500 ml), tørket over $MgSO_4$, filtrert og fordampet for å gi en ubearbeidet brun olje. Flashkromatografi [gradienteluering 80 % n-heksan/20 % etylacetat til 66 % n-heksan/33 % etylacetat] ga ren **47** som et brunt skum (16,40 g, 58 %). LC/MS: RT 2,28 min; MS (ES+) m/z (relativ intensitet) ingen data.

20 **(d)** **(S)-((pentan-1,5-diylbis(oksy))bis(5-metoksy-2-nitro-4,1-fenylene))bis(((S)-2-(((tert-butyldimetylsilyl)oksy)metyl)-4-metyl-2,3-dihydro-1H-pyrrol-1-yl)metanon) (48)**

25 **[0702]** Triflat **47** (5,06 g, 4,29 mmol), metylborsyre (1,80 g, 30,00 mmol, 7 ekv.) og trifenyarsin (1,05 g, 3,43 mmol, 0,8 ekv.) ble løst opp i vannfritt dioksan og omrørt under argon. Pd (II)-bisbenzonitrilklorid ble deretter tilsatt, og reaksjonsblandingen ble varmet hurtig opp til 80 °C i 20 minutter. Reaksjonsblandingen ble kjølt og filtrert gjennom Celite (vasket gjennom med etylacetat), filtratet ble vasket med vann (500 ml) og saltløsning (500 ml) og tørket over $MgSO_4$, filtrert og fordampet. Flashkromatografi [gradienteluering 50 % n-heksan/50 % etylacetat] ga rent **48** som et brunt skum (4,31 g, 59 %). LC/MS: RT 2,23 min; MS (ES+) m/z (relativ intensitet) 913,50 ($[M+H]^+$, 100).

35 **(e)** **(S)-((pentan-1,5-diyl/bis(oksy))bis(2-amino-5-metoksy-4,1-fenylene))bis(((S)-2-(((tert-butyldimetylsilyl)oksy)metyl)-4-metyl-2,3-dihydro-1H-pyrrol-1-yl)metanon) (49)**

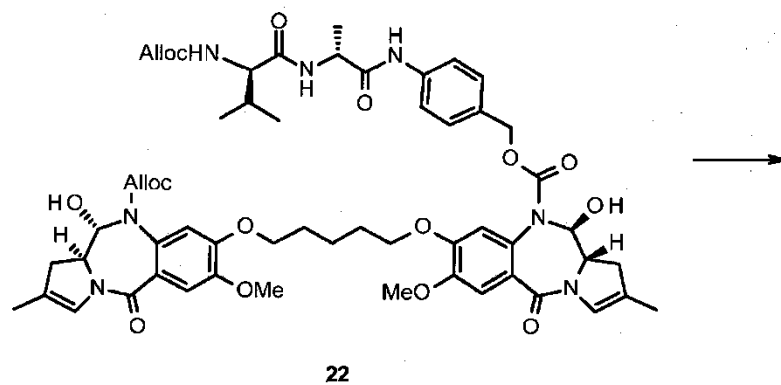
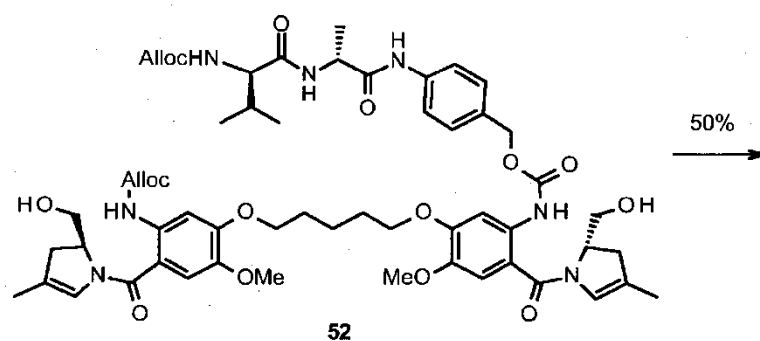
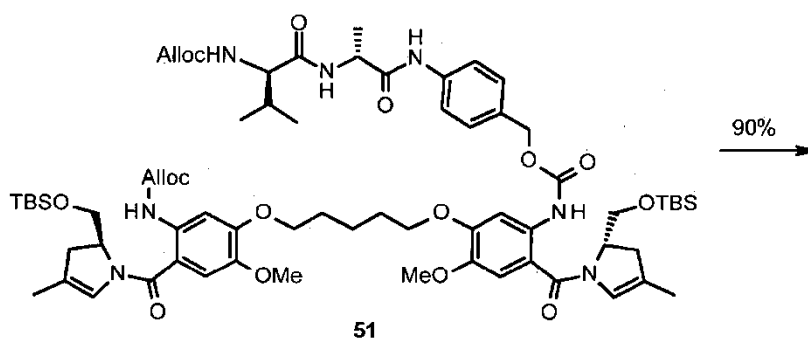
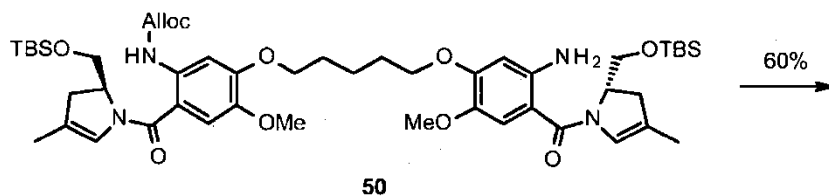
[0703] Sinkstøv (26,48 g, 0,405 mol, 36,0 ekv.) ble tilsatt i én porsjon i en løsning av bis-nitro-forbindelse **48** (10,26 g, 11,24 mmol) i 5 % maursyre/metanol (200 ml) mens temperaturen ble holdt mellom 25 og 30 °C ved hjelp av et isvannbad. Reaksjonen ble omrørt ved 30 °C i 20 minutter, hvorefter LCMS viste fullført reaksjon. Reaksjonsblandingen ble filtrert gjennom Celite for å fjerne den overskytende sinken, som ble vasket med etylacetat (600 ml). De organiske fraksjonene ble vasket med vann (500 ml), mettet natriumbikarbonat (500 ml) og saltløsning (400 ml), tørket over MgSO₄ og fordampet. Flashkromatografi [gradienteluering 100 % kloroform til 99 % kloroform/1 % metanol] ga ren **49** som et oransje skum (6,22 g, 65 %). LC/MS: RT 2,20 min; MS (ES+) *m/z* (relativ intensitet) 853,50 ([M+H]⁺, 100).

(f) Allyl (5-((5-(5-amino-4-((S)-2-(((tert-butyldimetylsilyl)oksy)metyl)-4-metyl-2,3-dihydro-1H-pyrrol-1-karbonyl)-2-metoksyfenoksy)pentyl)oksy)-2-((S)-2-(((tert-butyldimetylsilyl)oksy)metyl)-4-metyl-2,3-dihydro-1H-pyrrol-1-karbonyl)-4-metoksyfenyl)karbamat (50)

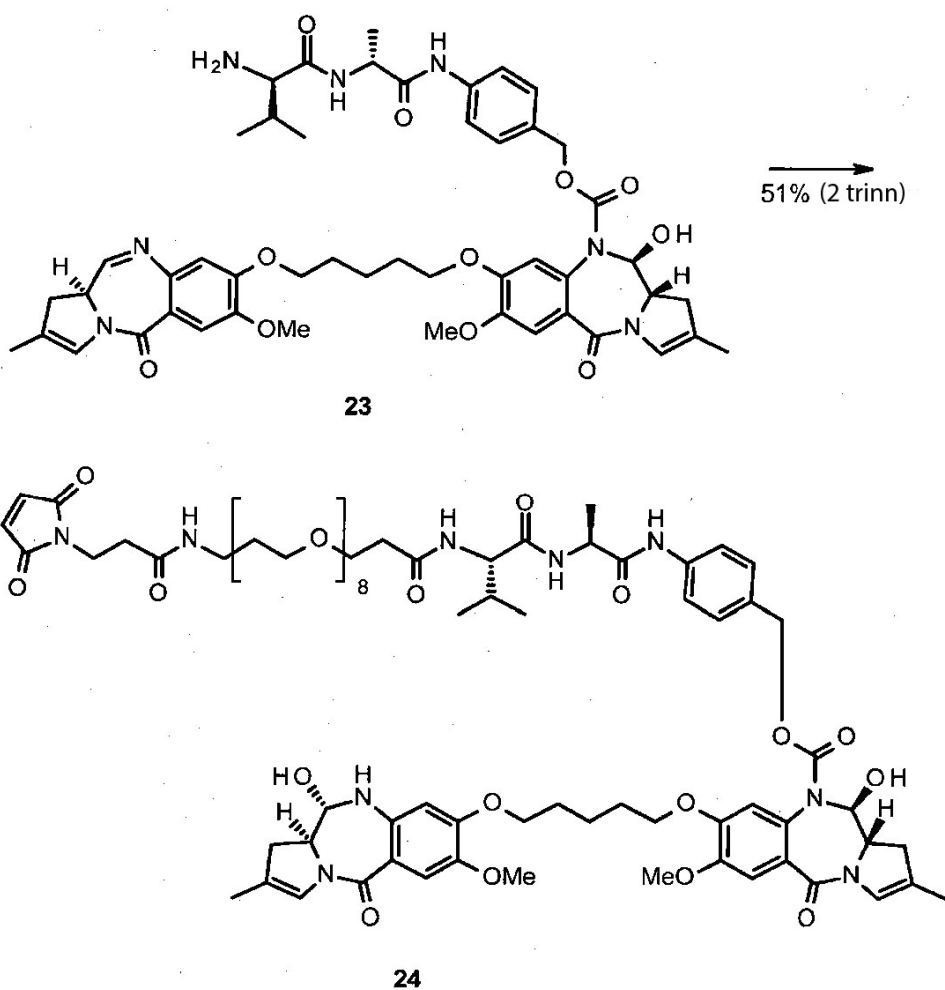
[0704] Pyridin (1,156 ml, 14,30 mmol, 1,5 ekv.) ble tilsatt i en løsning av bis-anilinet **49** (8,14 g, 9,54 mmol) i vannfritt DCM (350 ml) ved -78 °C under en atmosfære av argon. Etter 5 minutter ble allylklorformat (0,911 ml, 8,58 mmol, 0,9 ekv.) tilsatt, og reaksjonsblandingen ble varmet opp til romtemperatur. Reaksjonsblandingen ble fortynnet med DCM (250 ml), vasket med mettet CuSO₄-løsning (400 ml), mettet natriumbikarbonat (400 ml) og saltløsning (400 ml), tørket over MgSO₄. Flashkromatografi [gradienteluering 66 % n-heksan/33 % etylacetat til 33 % n-heksan/66 % etylacetat] ga ren **50** som et oransje skum (3,88 g, 43 %). LC/MS: RT 2,27 min; MS (ES+) *m/z* (relativ intensitet) 937,55 ([M+H]⁺, 100).

(ii) Skisseskjema til (11S,11aS)-4-((2S,5S)-37-(2,5-diokso-2,5-dihydro-1H-pyrrol-1-yl)-5-isopropyl-2-metyl-4,7,35-triokso-10,13,16,19,22,25,28,31-oktaoksa-3,6,34-triazaheptatriakontanamido)benzyl-11-hydroksy-7-metoksy-8-((5-(((S)-7-metoksy-2-metyl-5-okso-5,11a-dihydro-1H-

benzo[e]pyrrolo[1,2-a][1,4]diazepin-8-yl)oksy)pentyl)oksy)-2-metyl-5-okso-11,11a-dihydro-1H-benzo[e]pyrrolo[1,2-a][1,4]diazepin-10(5H)-karboksylat (24)



192



5 **[0706]** Forbindelse 24 kan syntetiseres ifølge skjemaet vist ovenfor ved anvendelse av fremgangsmåtene beskrevet i tidligere eksempel.

Eksempel 4: Aktivitet av frisatte forbindelser

K562-assay

10

15

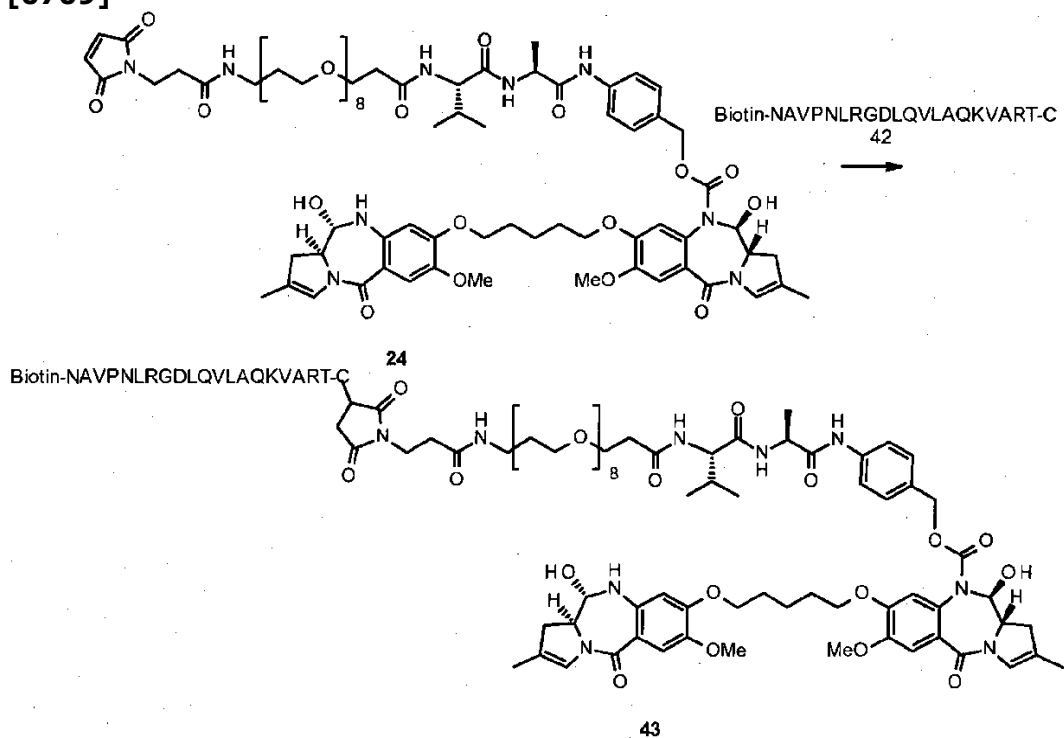
[0707] Humane kroniske myeloide K562-leukemiceller ble holdt i RPM1 1640-medium supplert med 10 % kalvefosterserum og 2 mM glutamin ved 37 °C i en fuktet atmosfære inneholdende 5 % CO₂, og ble inkubert med en spesifisert legemiddeldose i 1 time eller 96 timer ved 37 °C i mørket. Inkuberingen ble avsluttet ved sentrifugering (5 min, 300 g), og cellene ble vasket én gang med legemiddelfritt medium. Etter egnet legemiddelbehandling ble cellene overført til 96-brønners mikrotiterplater (10⁴ celler per brønn, 8 brønner per prøve). Plater

ble deretter holdt i mørket ved 37 °C i en fuktet atmosfære inneholdende 5 % CO₂. Assayet er basert på levedyktige cellers evne til å redusere et gult løselig tetrazoliumsalt, 3-(4,5-dimetyltiazol-2-yl)-2,5-difenyl-2H-tetrazoliumbromid (MTT, Aldrich-Sigma), til et uløselig lilla formazanpresipitat. Etter inkubering av platene i 4 dager (for å gi kontrollceller mulighet til å øke i antall med ca. 10 ganger) ble det tilsatt 20 µl MTT-løsning (5 mg/ml i fosfatbufret saltløsning) i hver brønn, og platene ble ytterligere inkubert i 5 h. Platene ble deretter sentrifugert i 5 min ved 300 g, og brorparten av mediet ble pipettert fra cellepelletten, som etterlot 10–20 µl per brønn. DMSO (200 µl) ble tilsatt i hver brønn, og prøvene ble ristet for å sikre fullstendig blanding. Den optiske densiteten ble deretter lest ved en bølgelengde på 550 nm på en Titertek Multiscan ELISA-plateleser, og en doseresponskurve ble konstruert. For hver kurve ble en IC₅₀-verdi lest som dosen som er nødvendig for å redusere den endelige optiske densiteten til 50 % av kontrollverdien.

[0708] Forbindelse ReIB har en IC₅₀ på 0,425 nM i dette assayet.

Eksempel 5

[0709]



Biotin-A20FMDV-Cys-2 (43)

[0710] En løsning av peptidet **42** (12,06 mg, 4,8 µmol, 1,0 ekv.) i 1/1 acetonitril/vann (1 ml) ble tilsatt i en løsning av **24** (12,06 mg, 4,8 µmol, 1,0 ekv.) i 1/1 acetonitril/vann (1 ml). Løsningen ble omrørt ved romtemperatur i 24 timer. Acetonitrilet/vannet ble fjernet ved lyofilisering for å gi et gult skum. Rensing ved preparativ HPLC etterfulgt av lyofilisering ga produktet som et hvitt skum (7,4 mg, 38 %)

[0711] *Preparativ HPLC-fremgangsmåte:* Reversfase-ultrahøytrykkesvæskeskromatografi (UPLC) ble utført på Phenomenex Gemini NX 5 µ C-18-kolonner av følgende dimensjoner: 150 x 4,6 mm for analyse, og 150 x 21,20 mm for preparativt arbeid. Alle UPLC-forsøk ble utført med gradientbetingelser: første fiksert sammensetning 13 % B til 75 % B over 15 min, holdt i 2,0 min ved 75 % B, deretter 75 % B til 13 % B innen 0,10 min holdt ved 13 % i 2,90 min. Gradientseriens totale varighet var 20,00 min. Anvendte elueringsmiddel var løsemiddel A (H₂O med 0,1 % maursyre) og løsemiddel B (CH₃CN med 0,1 % maursyre). De anvendte strømningsratene var 1,0 ml/min for analytisk og 20,0 ml/min for preparativ HPLC. Detektering var ved 254 og 280 nm.

[0712] Analytiske data: LCMS 1,17 min (ES+) *m/z* (relativ intensitet) 1330([M + 2]⁺·/3, 5 %); 998([M + 3]⁺·/4, 70); 798([M + 4]⁺·/5, 100); 665([M + 5]⁺·/6, 20).

Eksempel 6: Dannelse av konjugater

Generell antistoffkonjugeringsprosedyre

[0713] Antistoffer fortynnes til 1–5 mg/ml i en reduksjonsbuffer (eksempel: fosfatbufret saltløsning PBS, histidinbuffer, natriumboratbuffer, TRIS-buffer). En nylaget løsning av TCEP (tris(2-karboksyetyl)fosfinhydroklorid) tilsettes for selektivt å redusere cysteindisulfidbroer. Mengden av TCEP er proporsjonal med reduksjonsmål nivået, innenfor 1 til 4 molarekvivalenter per antistoff, som genererer 2 til 8 reaktive tioler. Etter reduksjon i flere timer ved 37 °C kjøles blandingen til romtemperatur, og overskytende legemiddellinker (**B**) ble tilsatt

som en fortynnet DMSO-løsning (endelig DMSO-innhold på opptil 10 % volum/volum reaksjonsblanding). Blandingen ristes forsiktig ved enten 4 °C eller romtemperatur i den egnede tiden, generelt 1–3 timer for forbindelse **B**. Overskytende reaktive tioler kan reageres med et "tiolkapslingsreagens" slik som N-etylmaleimid (NEM) ved konjugeringens slutt. Antistoff-legemiddel-konjugater konsentreres ved anvendelse av sentrifugalspinnfilter med en molekylvekt-cutoff på 10 kDa eller høyere, og renses ved tangential strømningsfiltrering (TFF) eller hurtigprotein-væskrokromatografi (FPLC). Tilsvarende antistoff-legemiddel-konjugater kan bestemmes ved analyse av høytytelsesvæskrokromatografi (HPLC) eller ultrahøytytelsesvæskrokromatografi (UHPLC) for å vurdere legemiddel/antistoff-forholdet (DAR) ved anvendelse av reversfase-kromatografi (RP) eller kromatografi med hydrofob interaksjon (HIC), koblet med UV-synlig fluorescens- eller massespektrometerdetektering; aggregatnivå og monomer renhet kan analyseres ved HPLC eller UHPLC ved anvendelse av størrelseseksklusjonskromatografi koblet med UV-synlig fluorescens- eller massespektrometerdetektering. Sluttkonjugatkonsentrasjon bestemmes ved en kombinasjon av spektroskopisk (absorbans ved 280, 214 og 330 nm) og biokjemisk assay (bicinkonsyreassay BCA; Smith, P.K., et al. (1985) Anal. Biochem. 150 (1): 76-85; ved hjelp av et IgG-antistoff med kjent konsentrasjon som referanse). Antistoff-legemiddel-konjugater sterilfiltreres generelt ved anvendelse av 0,2 µm filter under aseptiske betingelser, og oppbevares ved +4 °C, -20 °C eller -80 °C.

[0714] Eksempel på særlige konjugeringer beskrives nedenfor.

ADC1B

[0715] Antistoff 1 (15 mg, 102 nanomol) fortynnes til 12,0 ml av en reduksjonsbuffer inneholdende 10 mM natriumborat pH 8,4, 2,5 mM EDTA og en endelig antistoffkonsentrasjon på 1,25 mg/ml. En 10 mM løsning av TCEP tilsettes (2 molarekvivalenter/antistoff, 204 nanomol, 20 µl), og reduksjonsblandingen ble varmet opp ved 37 °C i to timer i en orbitalinkubator. Etter kjøling til romtemperatur tilsettes forbindelse **B** som en DMSO-løsning (5 molarekvivalenter/antistoff, 510 nanomol, i 1,2 ml DMSO). Løsningen blandes i 5 timer ved romtemperatur, deretter tilsettes en andre mengde av forbindelse **B** som en DMSO-løsning (2 molarekvivalenter/antistoff, 200 nanomol, i 0,6 ml DMSO). Løsningen blandes i 15 timer ved romtemperatur, overføres deretter til et 15 ml Amicon Ultracell 50 kDa MWCO-spinnfilter, konsentreres til ca. 2,0 ml

og injiseres i en AKTA™FPLC ved anvendelse av en GE Healthcare XK16/70-kolonne pakket med Superdex 200 PG, som elueres med 1,5 ml/min sterilfiltrert fosfatbufret saltløsning (PBS). Fraksjoner tilsvarende **ADC1B**-monomertopp pooler, analyseres og sterilfiltreres. BCA-assay gir en konsentrasjon av endelig **ADC1B** på 1,02 mg/ml i 10,5 ml, og den oppnådde massen er 10,7 mg (71 % utbytte). HPLC-analyse på et Waters Alliance-system ved anvendelse av en Agilent PLRP-S 1000 A 8 µm 150 x 2,1 mm kolonne som eluerer med en gradient av vann og acetonitril på en redusert prøve av **ADC1B** ved 280 nm og 330 nm (legemiddellinkerspesifikk), viser en blanding av lett- og tungkjeder bundet til flere molekyler av **B**, forenlig med et legemiddel/antistoff-forhold (DAR) på 2,2 molekyler av **B** per antistoff. SEC-analyse på en AKTA™FPLC ved anvendelse av en GE Healthcare XK16/70-kolonne pakket med Superdex 200 PG, som elueres med sterilfiltrert fosfatbufret saltløsning (PBS) på en prøve av **ADC1B** ved 280 nm, viser en monomer renhet på 94,9 % med 5,1 % aggregater.

[0716] "Antistoff 1" som anvendt heri er et anti-Her2-antistoff omfattende et VH-domene med sekvensen ifølge SEQ ID NO. 1 og et VL-domene med sekvensen ifølge SEQ ID NO. 2.

Eksempel 7: In vivo ADC-effektstudier

[0717] CB.17 SCID-mus, i alderen 8–12 uker, injiseres med 1 mm³ tumorfragmenter avledet fra BT-474-cellelinjen subkutan i flanken. Når tumorer når en gjennomsnittlig størrelse på 100–150 mm³, påbegynnes behandling. Mus veies to ganger per uke. Tumorstørrelse måles to ganger per uke. Dyr overvåkes individuelt. Forsøkets endepunkt er et tumorvolum på 1000 mm³ eller 60 dager, avhengig av hva som kommer først. Respondere kan følges lenger.

[0718] Grupper av 10 xenograftede mus injiseres i.v. med 0,2 ml antistoff-legemiddel-konjugat (ADC), eller nakent antistoff, i fosfatbufret saltløsning (vehikkel) eller med 0,2 ml vehikkel alene. Konsentrasjonen av ADC justeres for å gi for eksempel 0,3 eller 1,0 mg ADC/kg kroppsvekt i en enkelt dose. Tre identiske doser kan gis til hver mus ved intervaller på for eksempel 1 uke.

[0719] Figur 1 viser effekten på gjennomsnittlig tumorvolum i grupper av 10 mus dosert med **ADC1B** ved 0,3 (lyseblå) eller 1,0 mg/kg (grønn) sammenlignet med vehikkel (svart) eller nakne Ig (mørkeblå)-kontroller.

Forkortelser

Ac	acetyl
Acm	acetamidometyl
Alloc	allyloksykarbonyl
Boc	di- <i>tert</i> -butyldikarbonat
t-Bu	tert-butyl
Bzl	benzyl, hvor Bzl-OMe er metoksybenzyl og Bzl-Me er metylbenzen
Cbz eller Z	benzyloksy-karbonyl, hvor Z-Cl og Z-Br er henholdsvis klor- og brombenzyloksykarbonyl
DMF	<i>N,N</i> -dimetylformamid
Dnp	dinitrofenyl
DTT	ditiotreitol
Fmoc	9 <i>H</i> -fluoren-9-ylmetoksykarbonyl
imp	<i>N</i> -10 iminbeskyttelsesgruppe: 3-(2-metoksyetoksy)propanoat-Val-Ala-PAB
MC-OSu	maleimidokaproyl-O-N-suksinimid
Moc	metoksykarbonyl
MP	maleimidopropanamid
Mtr	4-metoksy-2,3,6-trimetylbenzensulfonyl
PAB	para-aminobenzyloksykarbonyl
PEG	etylenoksy
PNZ	<i>p</i> -nitrobenzylkarbamat
Psec	2-(fenylsulfonyl)etoksykarbonyl
TBDMS	tert-butyldimetylsilyl
TBDPS	tert-butyldifenylsilyl
Teoc	2-(trimetylsilyl)etoksykarbonyl
Tos	tosyl
Troc	2,2,2-trikloretoksykarbonylklorid
Trt	trityl

Xan	xantyl
-----	--------

5. Konjugatet ifølge krav 3, hvori antistoffet eller antistoffragmentet er et antistoff som binder til ett eller flere tumorassosierte antigener eller celleoverflatereseptorer valgt fra (1)–(88):

- (1)** BMPR1B;
- 5 **(2)** E16;
- (3)** STEAP1;
- (4)** 0772P;
- (5)** MPF;
- (6)** Napi3b;
- 10 **(7)** Sema 5b;
- (8)** PSCA hlg;
- (9)** ETBR;
- (10)** MSG783;
- (11)** STEAP2;
- 15 **(12)** TrpM4;
- (13)** CRIPTO;
- (14)** CD21;
- (15)** CD79b;
- (16)** FcRH2;
- 20 **(17)** HER2;
- (18)** NCA;
- (19)** MDP;
- (20)** IL20R-alfa;
- (21)** Brevican;
- 25 **(22)** EphB2R;
- (23)** ASLG659;
- (24)** PSCA;
- (25)** GEDA;
- (26)** BAFF-R;
- 30 **(27)** CD22;
- (28)** CD79a;
- (29)** CXCR5;
- (30)** HLA-DOB;
- (31)** P2X5;
- 35 **(32)** CD72;
- (33)** LY64;
- (34)** FcRH1;

	(35) IRTA2;
	(36) TENB2;
	(37) PSMA – FOLH1;
	(38) SST;
5	(38,1) SSTR2;
	(38,2) SSTR5;
	(38,3) SSTR1;
	(38,4) SSTR3;
	(38,5) SSTR4;
10	(39) ITGAV;
	(40) ITGB6;
	(41) CEACAM5;
	(42) MET;
	(43) MUC1;
15	(44) CA9;
	(45) EGFRvIII;
	(46) CD33;
	(47) CD 19;
	(48) IL2RA;
20	(49) AXL;
	(50) CD30 – TNFRSF8;
	(51) BCMA – TNFRSF17;
	(52) CT Ags – CTA;
	(53) CD174 (Lewis Y) – FUT3;
25	(54) CLEC14A;
	(55) GRP78 – HSPA5;
	(56) CD70;
	(57) Stamcellespesifikke antigener;
	(58) ASG-5;
30	(59) ENPP3;
	(60) PRR4;
	(61) GCC – GUCY2C;
	(62) Liv-1 – SLC39A6;
	(63) 5T4;
35	(64) CD56 – NCMA1;
	(65) CanAg;
	(66) FOLR1;

- (67) GPNMB;
 (68) TIM-1 – HAVCR1;
 (69) RG-1/prostatatumormål Mindin – Mindin/RG-1;
 (70) B7-H4 – VTCN1;
 5 (71) PTK7;
 (72) CD37;
 (73) CD138 – SDC1;
 (74) CD74;
 (75) Claudiner – CL-er;
 10 (76) EGFR;
 (77) Her3;
 (78) RON – MST1 R;
 (79) EPHA2;
 (80) CD20 – MS4A1;
 15 (81) Tenascin C – TNC;
 (82) FAP;
 (83) DKK-1;
 (84) CD52;
 (85) CS1 – SLAMF7;
 20 (86) Endoglin – ENG;
 (87) Anneksin A1 – ANXA1;
 (88) V-CAM (CD106) – VCAM1.
- 25 **6.** Konjugatet ifølge et hvilket som helst av kravene 2 til 5, hvori antistoffet eller antistofffragmentet er et cysteinkonstruert antistoff.
- 7.** Konjugatet ifølge et hvilket som helst av kravene 2 til 6, hvori legemiddel-
 mengden (p) av legemiddel (D) i forhold til antistoff (Ab) er et heltall fra 1 til 8.
- 30 **8.** Konjugatet ifølge krav 7, hvori p er 1, 2, 3 eller 4.
- 9.** Sammensetning omfattende en blanding av legemiddelkonjugatforbindelser
 ifølge et hvilket som helst av kravene 2 til 8, hvori den gjennomsnittlige
 legemiddelmengden per antistoff i blandingen av antistoff-legemiddel-
 35 konjugatforbindelser er ca. 1 til ca. 8.

- 10.** Konjugatet ifølge et hvilket som helst av kravene 2 til 8, eller sammensetningen ifølge krav 9, for anvendelse i terapi.
- 5 **11.** Konjugatet ifølge et hvilket som helst av kravene 2 til 8, eller sammensetningen ifølge krav 9, for anvendelse i behandlingen av en proliferativ sykdom hos et individ.
- 12.** Konjugatet for anvendelse ifølge krav 11, hvori sykdommen er cancer.
- 10 **13.** Farmasøytisk sammensetning omfattende konjugatet ifølge et hvilket som helst av kravene 2 til 8, eller sammensetningen ifølge krav 9, og en farmasøytisk akseptabel fortynner, bærer eller eksipient.
- 15 **14.** Den farmasøytiske sammensetningen ifølge krav 13, ytterligere omfattende en terapeutisk virkningsfull mengde av et kjemoterapeutisk middel.
- 15.** Fremgangsmåte for å fremstille et konjugat ifølge et hvilket som helst av kravene 2 til 8, idet fremgangsmåten omfatter trinnet med å reagere et cellebindemiddel med forbindelse B ifølge krav 1.

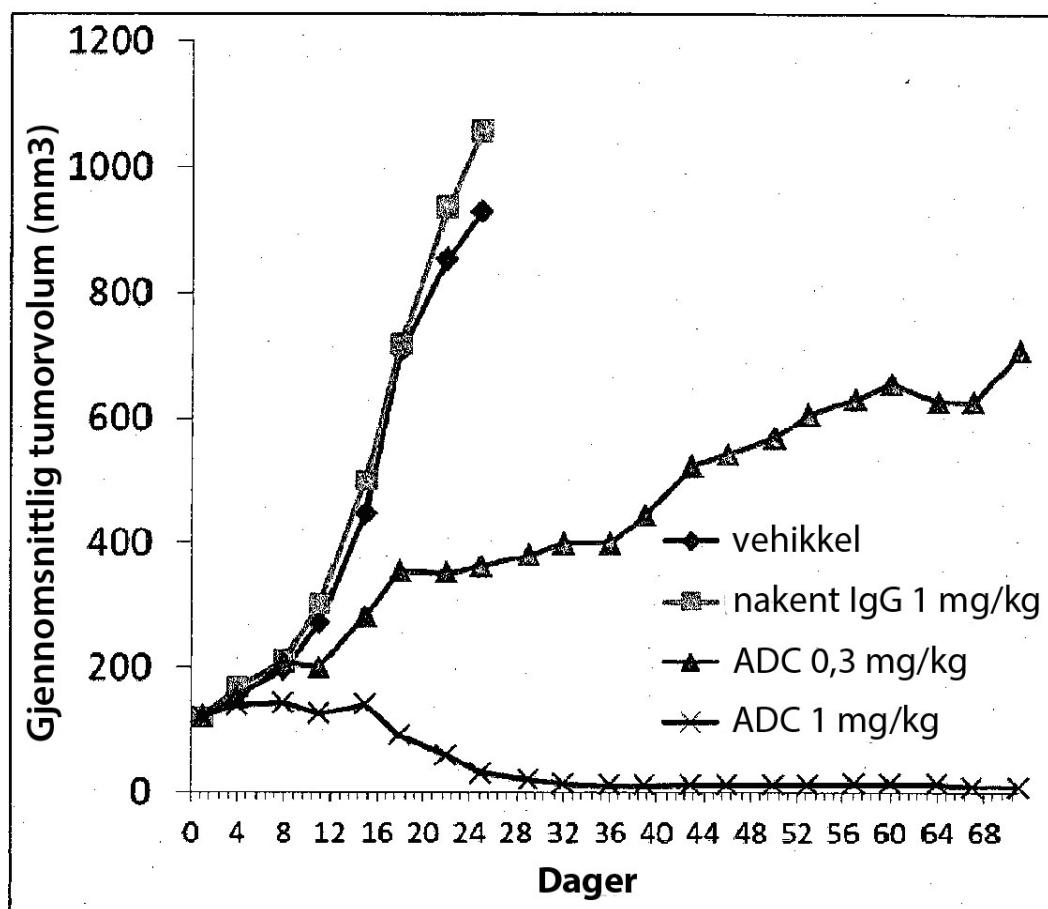
SEKVENSER**[0720]**

SEQ ID NO. 1 (Her VH):

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFMNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRY
ADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVS
S

SEQ ID NO. 2 (Her VL):

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSR
FSGSRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIK



Figur 1