202500190

(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本 (11)公開編號：TW 202500190 A

(43)公開日： 中華民國 114 (2025) 年 01 月 01 日

(21)申請案號：112125452 (22)申請日： 中華民國 112 (2023) 年 07 月 07 日

(51)Int. Cl.： *A61K47/68 (2017.01)* *A61K39/395 (2006.01)*
A61K38/05 (2006.01) *C07K16/30 (2006.01)*
C07K5/02 (2006.01) *A61P35/00 (2006.01)*

(30)優先權：2023/04/05 世界智慧財產權組織 PCT/IB2023/000193

(71)申請人：韓商瑞嘉化學生物科學股份有限公司 (南韓) LIGACHEM BIOSCIENCES INC. (KR)
南韓

(72)發明人：朴昌植 PARK, CHANG SIK (KR) ；宋昊永 SONG, HO YOUNG (KR) ；金惠妊 KIM, HYE JUNG (KR) ；鄭哲雄 CHUNG, CHUL-WOONG (KR) ；阿爾貝蒂 薩維里奧 ALBERTI, SAVERIO (IT)

(74)代理人：陳長文；張哲倫

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：133 項 圖式數：7 共 200 頁

(54)名稱

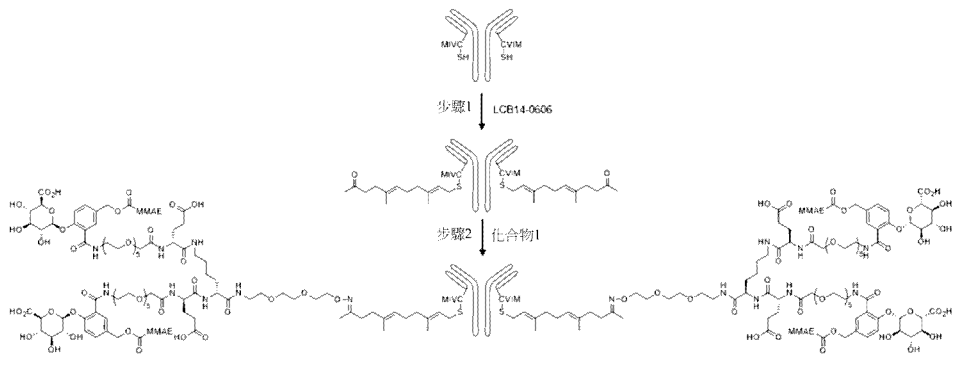
包含抗人類 TROP2 之抗體的抗體-藥物結合物及其用途

(57)摘要

本發明係關於靶向人類 TROP2 (腫瘤相關鈣信號轉導子 2，TACSTD2)之抗體-藥物結合物(ADC)及其用途，且更特定言之，本發明係關於：包括與人類 TROP2 結合之抗體或其抗原結合片段的 ADC；及 ADC 用於製造供治療及/或預防疾病之藥物之用途，更特定言之，該等疾病為過度增殖性及/或血管生成疾病，諸如癌症疾病。

The present disclosure relates to an antibody-drug conjugate (ADC) targeting human TROP2 (tumor-associated calcium signal transducer 2, TACSTD2)) and use thereof, and more particuarly, to: an ADC including an antibody or antigen-binding fragment thereof that binds to human TROP2; and use of ADCs for producing a drug for the treatment and/or prevention of diseases, more particularly, hyperproliferative and/or angiogenic diseases, such as cancer diseases.

指定代表圖：



【圖1】

特徵化學式：

[通式I]

$Ab-[L-(B)_l]_m$

【發明摘要】

【中文發明名稱】

包含抗人類TROP2之抗體的抗體-藥物結合物及其用途

【英文發明名稱】

ANTIBODY-DRUG CONJUGATE COMPRISING ANTIBODY AGAINST HUMAN TROP2 AND USE THEREOF

【中文】

本發明係關於靶向人類TROP2（腫瘤相關鈣信號轉導子2，TACSTD2)之抗體-藥物結合物(ADC)及其用途，且更特定言之，本發明係關於：包括與人類TROP2結合之抗體或其抗原結合片段的ADC；及ADC用於製造供治療及/或預防疾病之藥物之用途，更特定言之，該等疾病為過度增殖性及/或血管生成疾病，諸如癌症疾病。

【英文】

The present disclosure relates to an antibody-drug conjugate (ADC) targeting human TROP2 (tumor-associated calcium signal transducer 2, TACSTD2)) and use thereof, and more particuarly, to: an ADC including an antibody or antigen-binding fragment thereof that binds to human TROP2; and use of ADCs for producing a drug for the treatment and/or prevention of diseases, more particularly, hyperproliferative and/or angiogenic diseases, such as cancer diseases.

【指定代表圖】

圖1

【代表圖之符號簡單說明】

無

【特徵化學式】

[通式I]

$Ab-[L-(B)_1]_m$

【發明說明書】

【中文發明名稱】

包含抗人類TROP2之抗體的抗體-藥物結合物及其用途

【英文發明名稱】

ANTIBODY-DRUG CONJUGATE COMPRISING ANTIBODY AGAINST HUMAN TROP2 AND USE THEREOF

【技術領域】

【0001】 本發明係關於靶向人類TROP2 (腫瘤相關鈣信號轉導子2，TACSTD2)之抗體-藥物結合物(ADC)及其用途。

【先前技術】

【0002】 癌症係指由身體組織之自發性過度生長所致的異常生長之腫塊引起的疾病，且為各種組織中不受控之細胞生長的結果。早期腫瘤可藉由手術及放射性治療手段移除，且轉移之腫瘤一般使用化學療法治療。

【0003】 大多數非經腸投與之化學治療劑可能由於全身性投與而誘發非吾人所樂見的副作用且甚至嚴重的毒性。因此，研發重點在於研發可達成提高之功效及/或減少之最小毒性/副作用的療法，例如經由在腫瘤細胞或緊鄰組織中選擇性應用此等化學治療劑。

【發明內容】

【0004】 在某些態樣中，本發明提供包含結合至TROP2之抗TROP2抗體的抗體-藥物結合物。在某些實施例中，本文所揭示之抗體結合至腫瘤中表現之TROP且可用於將藥物遞送至腫瘤。在某些實施例中，本文所揭示之抗體藥物結合物與此項技術中已知之抗體藥物結合物相比具有改良之穩定性。

【0005】 在某些態樣中，本發明提供具有以通式I表示之結構的結合物或其醫藥學上可接受之鹽：

[通式I]

$$Ab-[L-(B)_l]_m$$

其中，

Ab為抗TROP2 (腫瘤相關鈣信號轉導子2，亦稱為TACSTD2)抗體或其抗原結合片段，其包含重鏈可變區及輕鏈可變區，其中

該重鏈可變區包含：包含SEQ ID NO:2之胺基酸序列之重鏈CDR1、包含SEQ ID NO:4之胺基酸序列之重鏈CDR2及包含SEQ ID NO:6之胺基酸序列之重鏈CDR3；及

該輕鏈可變區包含：包含SEQ ID NO:9之胺基酸序列之輕鏈CDR1、包含SEQ ID NO:11之胺基酸序列之輕鏈CDR2及包含SEQ ID NO:13之胺基酸序列之輕鏈CDR3；

L為連接子；

B為活性劑部分，及

l及m各自獨立地為選自1至20之整數。

【圖式簡單說明】

【0006】

圖1為繪示根據本發明之一實施例之製備抗體-藥物結合物ADC1之方法的示意圖。

圖2為繪示根據本發明之一實施例之製備抗體-藥物結合物ADC2之方法的示意圖。

圖3為繪示根據本發明之一實施例之製備抗體-藥物結合物ADC3之方

法的示意圖。

圖4為繪示根據本發明之一實施例之製備抗體-藥物結合物ADC4之方法的示意圖。

圖5A及**圖5B**繪示經由第一活體內實驗，在移植有胰臟癌細胞株BxPC-3之小鼠模型(**圖5A**)及移植有乳癌細胞株MDA-MB-468之小鼠模型(**圖5B**)中確認根據本發明之一實施例之抗體-藥物結合物之腫瘤生長抑制功效的結果。

圖6A-**圖6D**繪示經由第二活體內實驗，在移植有乳癌細胞株MDA-MB-468之小鼠模型(**圖6A**)、移植有胰臟癌細胞株BxPC-3之小鼠模型(**圖6B**)、移植有胃癌細胞株NCI-N87之小鼠模型(**圖6C**)及移植有非小細胞肺癌細胞株HCC827之小鼠模型(**圖6D**)中確認根據本發明之一實施例之抗體-藥物結合物之腫瘤生長抑制功效的結果。

圖7A-**圖7E**繪示在移植有胰臟癌細胞株BxPC-3之小鼠模型(**圖7A**)、移植有非小細胞肺癌細胞株HCC827之小鼠模型(**圖7B**)、移植有胰臟癌細胞株Capan-1之小鼠模型(**圖7C**)、移植有非小細胞肺癌細胞株NCI-H2170之小鼠模型(**圖7D**)及移植有結腸癌細胞株HT29之小鼠模型(**圖7E**)中確認根據本發明之一實施例之抗體-藥物結合物之腫瘤生長抑制功效的結果。

【實施方式】

【0007】

相關申請案

本申請案主張2022年4月6日提交的韓國專利申請案10-2022-0043049之優先權，該案之內容以全文引用之方式併入本文中。

【0008】 抗體-藥物結合物(ADC)為一種用於將毒素或藥物結合至與

抗原結合之抗體，從而在細胞中釋放毒素以引起癌細胞及其類似物死亡的靶向技術。ADC能夠將藥物精確遞送至目標癌細胞，同時對健康細胞的影響最小，且僅在特定條件下釋放，且因此與抗體治療劑本身相比具有極佳功效，且與現有抗癌劑相比可顯著降低副作用之風險。

【0009】 此等抗體-藥物結合物之基本結構為「抗體-連接子-小分子藥物(毒素)」。在此結構中，連接子在連接抗體與藥物方面發揮功能性作用，但在一些情況下亦確保藥物在適當時間自抗體釋放，例如在到達目標細胞之後。亦即，連接子之穩定性對抗體-藥物結合物之功效及安全性(諸如全身性毒性)起著極重要作用(Discovery Medicine 2010, 10(53): 329-39)。

【0010】 使用單株抗體進行癌症治療已取得巨大成功。舉例而言，單株抗體適用於腫瘤組織及腫瘤細胞之靶向定址。抗體-藥物結合物已成為用於治療淋巴瘤及實體癌症之新穎且有效的選擇方案，且免疫調節抗體最近亦已在臨床試驗中取得巨大成功。治療性抗體之研發係基於對癌症血清學、蛋白質工程改造技術及其作用、抗性機制及免疫系統與癌細胞之間相互作用的深刻理解。

【0011】 表現於人類癌細胞表面上之抗原定義為與正常組織相比過度表現、突變及選擇性表現的廣泛目標。主要挑戰係鑑別適用於基於抗體之療法的抗原。此等治療劑介導抗原或受體功能之變化(亦即充當刺激劑或拮抗劑)，經由Fc及T細胞活化來調節免疫系統，且經由遞送與靶向特定抗原之抗體結合的特定藥物來展現功效。可改變抗體藥物動力學、作用功能、大小及免疫刺激之分子技術正在成為研發新穎的基於抗體之療法的關鍵因素。來自癌症患者中的治療性抗體之臨床試驗的證據突出了用於選擇

最佳化抗體之方法的重要性，包括目標抗原及抗體之親和力及結合、抗體結構之選擇及治療方法(信號傳導阻斷或免疫功能)。

【0012】 人類TROP2 (腫瘤相關鈣信號轉導子2，TACSTD2)為具有323個胺基酸(274個胞外域、23個跨膜域及26個胞內域)之35-46 kDa跨膜鈣信號轉導子醣蛋白，且屬於上皮細胞黏附分子(EpCAM)家族，其為細胞信號傳導、增殖及分化中之重要組分。TROP2之表現與各種癌瘤中之腫瘤誘導或腫瘤抑制相關，但已知TROP2通常充當腫瘤誘導劑。

【0013】 274個胞外域中之R87與T88之間的區域之裂解誘導TROP2結構重排，引起生物活性發生變化。儘管此裂解不出現在正常組織中，但TROP2裂解出現在大部分癌瘤中，包括皮膚癌、卵巢癌、結腸癌及乳癌，且因此TROP2充當腫瘤誘導劑。

【0014】 在某些態樣中，本發明提供抗體-連接子-藥物(例如毒素)系統，其藉由應用視情況包含自我分解型基團之連接子而：在循環中(例如在血漿中)更穩定，使得藥物能夠易於在癌細胞中釋放以使功效最大化，且使得藥物及/或毒素能夠穩定地到達目標細胞。

【0015】 因此，在某些實施例中，本發明提供靶向人類TROP2 (腫瘤相關鈣信號轉導子2，TACSTD2)之抗體-藥物結合物以及其醫藥學上可接受之鹽。

【0016】 在另一態樣中，本發明提供包含本文所揭示之抗體-藥物結合物或其醫藥學上可接受之鹽的醫藥組合物。

【0017】 在某些態樣中，本發明提供由以下通式I表示之結合物或其醫藥學上可接受之鹽或溶劑合物：

[通式I]

$$Ab\text{-}[L\text{-}(B)_l]_m$$

其中，

Ab為抗TROP2 (腫瘤相關鈣信號轉導子2，亦稱為TACSTD2)抗體或其抗原結合片段，其包含重鏈可變區及輕鏈可變區，其中

該重鏈可變區包含：包含SEQ ID NO:2之胺基酸序列之重鏈CDR1、包含SEQ ID NO:4之胺基酸序列之重鏈CDR2及包含SEQ ID NO:6之胺基酸序列之重鏈CDR3；及

該輕鏈可變區包含：包含SEQ ID NO:9之胺基酸序列之輕鏈CDR1、包含SEQ ID NO:11之胺基酸序列之輕鏈CDR2及包含SEQ ID NO:13之胺基酸序列之輕鏈CDR3；

L為連接子；

B為活性劑部分；及

l及m各自獨立地為選自1至20之整數。

【0018】 在某些實施例中，抗體或其抗原結合片段可包括包含以下之重鏈可變區：SEQ ID NO:15或20之胺基酸序列；或與SEQ ID NO:15或20之胺基酸序列具有至少80%序列一致性之序列。

【0019】 在某些實施例中，抗體或其抗原結合片段可包括重鏈可變區，該重鏈可變區包含：SEQ ID NO:15或20之胺基酸序列；或與SEQ ID NO:15或20之胺基酸序列具有至少80%序列一致性、至少85%序列一致性、至少90%序列一致性或至少95%序列一致性之序列，同時維持包含SEQ ID NO:9之胺基酸序列之輕鏈CDR1、包含SEQ ID NO:11之胺基酸序列之輕鏈CDR2及包含SEQ ID NO:13之胺基酸序列之輕鏈CDR3。

【0020】 在某些實施例中，抗體或其抗原結合片段可包括重鏈可變

區，該重鏈可變區由以下組成：SEQ ID NO:15或20之胺基酸序列；或與SEQ ID NO:15或20之胺基酸序列具有至少80%序列一致性、至少85%序列一致性、至少90%序列一致性或至少95%序列一致性，同時維持包含SEQ ID NO:9之胺基酸序列之輕鏈CDR1、包含SEQ ID NO:11之胺基酸序列之輕鏈CDR2及包含SEQ ID NO:13之胺基酸序列之輕鏈CDR3。

【0021】 在某些實施例中，抗體或其抗原結合片段可包括重鏈可變區，該重鏈可變區包含：SEQ ID NO:15或20之胺基酸序列；或與SEQ ID NO:15或20之胺基酸序列具有至少90%序列一致性之序列；與SEQ ID NO:15或20之胺基酸序列具有至少95%序列一致性之序列，同時維持包含SEQ ID NO:9之胺基酸序列之輕鏈CDR1、包含SEQ ID NO:11之胺基酸序列之輕鏈CDR2及包含SEQ ID NO:13之胺基酸序列之輕鏈CDR3。

【0022】 在某些實施例中，抗體或其抗原結合片段可包括重鏈可變區，該重鏈可變區由以下組成：SEQ ID NO:15或20之胺基酸序列；與SEQ ID NO:15或20之胺基酸序列具有至少90%序列一致性之序列；或與SEQ ID NO:15或20之胺基酸序列具有至少95%序列一致性之序列，同時維持包含SEQ ID NO:9之胺基酸序列之輕鏈CDR1、包含SEQ ID NO:11之胺基酸序列之輕鏈CDR2及包含SEQ ID NO:13之胺基酸序列之輕鏈CDR3。

【0023】 在某些實施例中，抗體或其抗原結合片段可包括包含以下之輕鏈可變區：SEQ ID NO:16之胺基酸序列；或與SEQ ID NO:16之胺基酸序列具有至少80%序列一致性之序列。

【0024】 在某些實施例中，抗體或其抗原結合片段可包括輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含：SEQ ID NO:16之胺基酸序列；或與SEQ ID

NO:16之胺基酸序列具有至少80%序列一致性、至少85%序列一致性、至少90%序列一致性或至少95%序列一致性之序列，同時維持包含SEQ ID NO:9之胺基酸序列之輕鏈CDR1、包含SEQ ID NO:11之胺基酸序列之輕鏈CDR2及包含SEQ ID NO:13之胺基酸序列之輕鏈CDR3。

【0025】 在某些實施例中，抗體或其抗原結合片段可包括輕鏈可變區，該輕鏈可變區由以下組成：SEQ ID NO:16之胺基酸序列；或與SEQ ID NO:16之胺基酸序列具有至少80%序列一致性、至少85%序列一致性、至少90%序列一致性或至少95%序列一致性之序列，同時維持包含SEQ ID NO:9之胺基酸序列之輕鏈CDR1、包含SEQ ID NO:11之胺基酸序列之輕鏈CDR2及包含SEQ ID NO:13之胺基酸序列之輕鏈CDR3。

【0026】 在某些實施例中，抗體或其抗原結合片段可包括輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含：SEQ ID NO:16之胺基酸序列；與SEQ ID NO:16之胺基酸序列具有至少90%序列一致性之序列，同時維持包含SEQ ID NO:9之胺基酸序列之輕鏈CDR1、包含SEQ ID NO:11之胺基酸序列之輕鏈CDR2及包含SEQ ID NO:13之胺基酸序列之輕鏈CDR3；或與SEQ ID NO:16之胺基酸序列具有至少95%序列一致性之序列，同時維持包含SEQ ID NO:9之胺基酸序列之輕鏈CDR1、包含SEQ ID NO:11之胺基酸序列之輕鏈CDR2及包含SEQ ID NO:13之胺基酸序列之輕鏈CDR3。

【0027】 在某些實施例中，抗體或其抗原結合片段可包括輕鏈可變區，該輕鏈可變區由以下組成：SEQ ID NO:16之胺基酸序列；與SEQ ID NO:16之胺基酸序列具有至少90%序列一致性之序列，同時維持包含SEQ ID NO:9之胺基酸序列之輕鏈CDR1、包含SEQ ID NO:11之胺基酸序列之輕鏈CDR2及包含SEQ ID NO:13之胺基酸序列之輕鏈CDR3；或與SEQ ID

NO:16之胺基酸序列具有至少95%序列一致性之序列，同時維持包含SEQ ID NO:9之胺基酸序列之輕鏈CDR1、包含SEQ ID NO:11之胺基酸序列之輕鏈CDR2及包含SEQ ID NO:13之胺基酸序列之輕鏈CDR3。

【0028】 在某些實施例中，抗體或其抗原結合片段包含：包含SEQ ID NO:15之胺基酸序列之重鏈可變區及包含SEQ ID NO:16之胺基酸序列之輕鏈可變區；或包含與SEQ ID NO:15之胺基酸序列具有至少80%序列一致性之胺基酸序列，同時維持包含SEQ ID NO:9之胺基酸序列之輕鏈CDR1、包含SEQ ID NO:11之胺基酸序列之輕鏈CDR2及包含SEQ ID NO:13之胺基酸序列之輕鏈CDR3的重鏈可變區，及包含與SEQ ID NO:16之胺基酸序列具有至少80%序列一致性之胺基酸序列，同時維持包含SEQ ID NO:9之胺基酸序列之輕鏈CDR1、包含SEQ ID NO:11之胺基酸序列之輕鏈CDR2及包含SEQ ID NO:13之胺基酸序列之輕鏈CDR3的輕鏈可變區，且特異性結合至人類TROP2。

【0029】 在某些實施例中，抗體或其抗原結合片段由以下組成：包含SEQ ID NO:15之胺基酸序列之重鏈可變區及包含SEQ ID NO:16之胺基酸序列之輕鏈可變區；或包含與SEQ ID NO:15之胺基酸序列具有至少80%序列一致性之胺基酸序列，同時維持包含SEQ ID NO:9之胺基酸序列之輕鏈CDR1、包含SEQ ID NO:11之胺基酸序列之輕鏈CDR2及包含SEQ ID NO:13之胺基酸序列之輕鏈CDR3的重鏈可變區，及由與SEQ ID NO:16之胺基酸序列具有至少80%序列一致性之胺基酸序列組成，同時維持包含SEQ ID NO:9之胺基酸序列之輕鏈CDR1、包含SEQ ID NO:11之胺基酸序列之輕鏈CDR2及包含SEQ ID NO:13之胺基酸序列之輕鏈CDR3的輕鏈可變區，且特異性結合至人類TROP2。

【0030】在某些實施例中，抗體或其抗原結合片段包含：包含SEQ ID NO:15之胺基酸序列之重鏈可變區及包含SEQ ID NO:16之胺基酸序列之輕鏈可變區；或包含與SEQ ID NO:15之胺基酸序列具有至少80%序列一致性、至少85%序列一致性、至少90%序列一致性或至少95%序列一致性之胺基酸序列，同時維持包含SEQ ID NO:9之胺基酸序列之輕鏈CDR1、包含SEQ ID NO:11之胺基酸序列之輕鏈CDR2及包含SEQ ID NO:13之胺基酸序列之輕鏈CDR3的重鏈可變區，及包含與SEQ ID NO:16之胺基酸序列具有至少80%序列一致性、至少85%序列一致性、至少90%序列一致性或至少95%序列一致性之胺基酸序列，同時維持包含SEQ ID NO:9之胺基酸序列之輕鏈CDR1、包含SEQ ID NO:11之胺基酸序列之輕鏈CDR2及包含SEQ ID NO:13之胺基酸序列之輕鏈CDR3的輕鏈可變區，且特異性結合至人類TROP2。

【0031】在某些實施例中，抗體或其抗原結合片段包含：由SEQ ID NO:15之胺基酸序列組成之重鏈可變區及包含SEQ ID NO:16之胺基酸序列之輕鏈可變區；或包含與SEQ ID NO:15之胺基酸序列具有至少80%序列一致性、至少85%序列一致性、至少90%序列一致性或至少95%序列一致性之胺基酸序列，同時維持包含SEQ ID NO:9之胺基酸序列之輕鏈CDR1、包含SEQ ID NO:11之胺基酸序列之輕鏈CDR2及包含SEQ ID NO:13之胺基酸序列之輕鏈CDR3的重鏈可變區，及由與SEQ ID NO:16之胺基酸序列具有至少80%序列一致性、至少85%序列一致性、至少90%序列一致性或至少95%序列一致性之胺基酸序列組成，同時維持包含SEQ ID NO:9之胺基酸序列之輕鏈CDR1、包含SEQ ID NO:11之胺基酸序列之輕鏈CDR2及包含SEQ ID NO:13之胺基酸序列之輕鏈CDR3的輕鏈可變

區，且特異性結合至人類TROP2。

【0032】 在某些實施例中，抗體或其抗原結合片段包含：包含SEQ ID NO:15之胺基酸序列之重鏈可變區及包含SEQ ID NO:16之胺基酸序列之輕鏈可變區；或包含與SEQ ID NO:15之胺基酸序列具有至少80%序列一致性、至少81%序列一致性、至少82%序列一致性、至少83%序列一致性、至少84%序列一致性、至少85%序列一致性、至少86%序列一致性、至少87%序列一致性、至少88%序列一致性、至少89%序列一致性、至少90%序列一致性、至少91%序列一致性、至少92%序列一致性、至少93%序列一致性、至少94%序列一致性、至少95%序列一致性、至少96%序列一致性、至少97%序列一致性、至少98%序列一致性、至少99%序列一致性或至少99.5%序列一致性之胺基酸序列，同時維持包含SEQ ID NO:9之胺基酸序列之輕鏈CDR1、包含SEQ ID NO:11之胺基酸序列之輕鏈CDR2及包含SEQ ID NO:13之胺基酸序列之輕鏈CDR3的重鏈可變區，以及與SEQ ID NO:16之胺基酸序列具有至少80%序列一致性、至少81%序列一致性、至少82%序列一致性、至少83%序列一致性、至少84%序列一致性、至少85%序列一致性、至少86%序列一致性、至少87%序列一致性、至少88%序列一致性、至少89%序列一致性、至少90%序列一致性、至少91%序列一致性、至少92%序列一致性、至少93%序列一致性、至少94%序列一致性、至少95%序列一致性、至少96%序列一致性、至少97%序列一致性、至少98%序列一致性、至少99%序列一致性或至少99.5%序列一致性之胺基酸序列，同時維持包含SEQ ID NO:9之胺基酸序列之輕鏈CDR1、包含SEQ ID NO:11之胺基酸序列之輕鏈CDR2及包含SEQ ID NO:13之胺基酸序列之輕鏈CDR3的輕鏈可變區，且特異性結合至人類

TROP2。

【0033】 在某些實施例中，抗體或其抗原結合片段包含：包含SEQ ID NO:15之胺基酸序列之重鏈可變區及由SEQ ID NO:16之胺基酸序列組成之輕鏈可變區；或包含與SEQ ID NO:15之胺基酸序列具有至少80%序列一致性、至少81%序列一致性、至少82%序列一致性、至少83%序列一致性、至少84%序列一致性、至少85%序列一致性、至少86%序列一致性、至少87%序列一致性、至少88%序列一致性、至少89%序列一致性、至少90%序列一致性、至少91%序列一致性、至少92%序列一致性、至少93%序列一致性、至少94%序列一致性、至少95%序列一致性、至少96%序列一致性、至少97%序列一致性、至少98%序列一致性、至少99%序列一致性或至少99.5%序列一致性之胺基酸序列，同時維持包含SEQ ID NO:9之胺基酸序列之輕鏈CDR1、包含SEQ ID NO:11之胺基酸序列之輕鏈CDR2及包含SEQ ID NO:13之胺基酸序列之輕鏈CDR3的重鏈可變區，以及由與SEQ ID NO:16之胺基酸序列具有至少80%序列一致性、至少81%序列一致性、至少82%序列一致性、至少83%序列一致性、至少84%序列一致性、至少85%序列一致性、至少86%序列一致性、至少87%序列一致性、至少88%序列一致性、至少89%序列一致性、至少90%序列一致性、至少91%序列一致性、至少92%序列一致性、至少93%序列一致性、至少94%序列一致性、至少95%序列一致性、至少96%序列一致性、至少97%序列一致性、至少98%序列一致性、至少99%序列一致性或至少99.5%序列一致性之胺基酸序列組成，同時維持包含SEQ ID NO:9之胺基酸序列之輕鏈CDR1、包含SEQ ID NO:11之胺基酸序列之輕鏈CDR2及包含SEQ ID NO:13之胺基酸序列之輕鏈CDR3的輕鏈可變區，且特異性結合

至人類TROP2。

【0034】 在某些實施例中，抗體為人源化抗體。

【0035】 在某些實施例中，人源化抗體包含：(a) (i)來自人類抗體重鏈或來自人類共同構架之可變重鏈構架區；及(ii)來自人類抗體輕鏈或來自人類共同構架之可變輕鏈構架區。在一些實施例中，來自重鏈之可變域構架區中之至少一個胺基酸經來自小鼠抗體重鏈或小鼠共同構架的對應胺基酸取代；或來自輕鏈之可變域構架區經來自小鼠抗體輕鏈或小鼠共同構架的對應胺基酸取代。在一些實施例中，重鏈之胺基酸取代係選自以下胺基酸取代：

在位置27處F (小鼠)取代Y (人類)；

在位置30處S (小鼠)取代T (人類)；

在位置37處L (小鼠)取代V (人類)；

在位置48處I (小鼠)取代M (人類)；

在位置49處A (小鼠)取代G (人類)；

在位置70處L (小鼠)取代I (人類)；及

在位置72處V (小鼠)取代R (人類)，以及

(ii)輕鏈之胺基酸取代為在位置49處Y (人類)經S (小鼠)取代。

【0036】 在某些實施例中，重鏈之胺基酸取代可進一步包括以下胺基酸取代：

在位置67處K (小鼠)取代R (人類)；及/或

在位置68處A (小鼠)取代V (人類)。

【0037】 在某些實施例中，輕鏈之胺基酸取代可進一步包括以下胺基酸取代：

在位置67處Y (小鼠)取代S (人類)；

在位置2處T (小鼠)取代I (人類)及在位置67處Y (小鼠)取代S (人類)；

在位置22處R (小鼠)取代T (人類)及在位置67處Y (小鼠)取代S (人類)；

在位置42處E (小鼠)取代K (人類)及在位置67處Y (小鼠)取代S (人類)；

在位置64處S (小鼠)取代G (人類)及在位置67處Y (小鼠)取代S (人類)；

在位置67處Y (小鼠)取代S (人類)及在位置72處V (小鼠)取代T (人類)；或

在位置67處Y (小鼠)取代S (人類)及在位置85處D (小鼠)取代T (人類)。

【0038】 在某些實施例中，人源化抗體包含：(a) (i)來自人類抗體重鏈或來自人類共同構架之可變重鏈構架區，其中可變重鏈構架區包含以下胺基酸序列變化中之一或多者：Y27F、T30S、V37L、M48I、G49A、I70L及R72V；以及(ii)來自人類抗體輕鏈或來自人類共同構架之可變輕鏈構架區，其中可變輕鏈構架區包含以下胺基酸序列變化：Y49S。

【0039】 胺基酸取代可增加親和力、增強抗體之穩定性，同時維持其抗原結合活性。治療性抗體之穩定化可引起血清半衰期改良、劑量需求降低、副作用減少及儲存壽命改良。首先建構了嵌合型CH-2EF及CH-2G10抗體，隨後是早期的人源化版本：Hu-2EF-4、Hu-2G10-1等。此等抗體可能表現出不良特徵，諸如化學不穩定性，從而形成聚集體及損失溶

解度(針對CH-2EF抗體)，及對Trop-2之親和力損失。胺基酸取代可產生具有高親和力之人源化單株抗體，包括未由抗小鼠抗體識別的Hu-2EF-7、Hu-2G10-5及Hu-2G10-6，尤其針對Trop2的細胞外域之不同區域及各種形式之轉譯後修飾。

【0040】 在某些實施例中，在Genbank資料庫內搜尋與本文所揭示之VH構架同源之人類VH序列，且選擇由具有NCBI寄存編號:X65888.1之人類cDNA編碼的VH序列作為人源化受體(X65888.1-VH)。在某些實施例中，本文所揭示之VH之CDR序列首先轉移至X65888.1-VH之對應位置。在某些實施例中，在構架位置27、30、37、48、49、67、68、70及72(自成熟形式之第一個胺基酸編號) (即可變區之三維模型表明與CDR有顯著接觸的位置)處，人類胺基酸殘基經對應的小鼠殘基取代。

【0041】 儘管預測小鼠2G10 VH中位置67處之Lys及位置68處之Ala(均緊鄰CDR)對CDR結構之形成至關重要，但人類受體X65888.1-VH中之胺基酸殘基為位置67處之Arg及位置68處之Val，其在分子特性及結構上與相應的小鼠殘基相似。因此，為了進一步降低潛在的免疫原性，設計第二人源化VH (VH2)，其中人類受體之胺基酸殘基分別維持在位置67及68處，亦即Arg及Val。

【0042】 基於與VL構架序列之GenBank同源性搜尋，選擇由具有NCBI寄存編號：AY043146.1之cDNA編碼的人類VK區域作為人源化受體。VL之CDR序列首先轉移至AY043146.1 VL之對應位置。接著，在位置49及67 (即可變區之三維模型表明與CDR有顯著接觸的位置)處，人類胺基酸殘基經小鼠VL之對應殘基取代。儘管預測小鼠VL中位置67處之Tyr對CDR結構之形成至關重要，但對2G10可變區之三維模型的進一步分

析表明了此位置67處之Tyr經Ser (位於人類受體AY043146.1 VL中對應位置之殘基)置換而不影響抗原結合之可能性。因此，為了進一步降低潛在的免疫原性，設計第二人類化VL (衍生自VL1)，其中維持人類受體序列中位置67處之Ser。

【0043】 在某些實施例中，抗體或其抗原結合片段可選自由以下組成之群：單株抗體、域抗體(dAb)、單鏈抗體(scAb)、Fab片段、Fab'片段、F(ab')2片段、scFab片段、Fv片段、dsFv片段、單鏈可變片段(scFv)、scFv-Fc片段、單域重鏈抗體、單域輕鏈抗體、變異抗體、多聚抗體、微型抗體、雙功能抗體、雙特異性抗體及多特異性抗體。

【0044】 本文所描述之連接子可為可裂解的、不可裂解的及親水性的或疏水性的。

【0045】 在某些實施例中，可裂解連接子可在細胞內或細胞外條件下裂解，由此在細胞內環境中自抗體構築體-活性劑結合物釋放活性劑。

【0046】 可裂解連接子可藉由存在於細胞內環境(例如溶酶體、內體或胞膜窖)中之裂解劑裂解。可裂解連接子可為例如由細胞內肽酶或蛋白酶裂解的肽基連接子，該蛋白酶包括但不限於溶酶體或內體蛋白酶。一般而言，肽基連接子之長度為至少兩個胺基酸或長度為至少三個胺基酸。裂解劑可包括組織蛋白酶B、組織蛋白酶D及纖維蛋白溶酶，已知其皆可水解二肽藥物衍生物以在目標細胞中釋放活性藥物(例如參見Dubowchik及Walker, 1999, Pharm. Therapeutics 83:67-123)。最常見的是可由存在於表現抗原之細胞中之酶裂解的肽基連接子。舉例而言，可使用可由在癌症組織中大量表現之硫醇依賴性蛋白酶組織蛋白酶-B裂解的肽基連接子(例如Phe-Leu或Gly-Phe-Leu-Gly連接子)。此等連接子之其他實例描述於例

如美國專利第6,214,345號中。此外，可由細胞內蛋白酶裂解之肽基連接子可為例如Val-Cit連接子、Phe-Lys連接子(例如參見美國專利第6,214,345號，其描述使用Val-Cit連接子來合成小紅莓(doxorubicin))或Val-Ala連接子。Val-Cit連接子或Val-Ala連接子可含有五氟苯基，且可含有丁二醯亞胺基或順丁烯二醯亞胺基。或者，Val-Cit連接子或Val-Ala連接子可含有五氟苯基、可含有4-胺基苯甲酸(PABA)基團及順丁烯二醯亞胺基，且可含有PABA基團及丁二醯亞胺基。

【0047】 此外，可裂解連接子可以對pH值敏感之方式，即在特定pH值下易於水解。一般而言，對pH值敏感之連接子可在酸性條件下水解。舉例而言，可使用可在溶酶體中水解之酸不穩定連接子(例如腙、半卡巴腙、硫半卡巴腙、順烏頭醯胺、原酸酯、縮醛及縮酮) (例如參見：美國專利第5,122,368號、第5,824,805號及5,622,929號；以及Dubowchik及Walker, 1999, Pharm. Therapeutics 83:67-123；及Neville等人, 1989, Biol. Chem. 264:14653-14661)。此等連接子在中性pH條件下(諸如在血液中)相對穩定，但在pH 5.5 (此接近溶酶體之pH)下或在小於pH 5.0下不穩定。可水解連接子之實例包括硫醚連接子(例如，經由醯腙鍵附接至治療劑之硫醚) (例如，參見美國專利第5,622,929號)。

【0048】 再者，連接子可在還原條件下裂解(例如二硫化物連接子)。舉例而言，包括N-丁二醯亞胺基-5-乙醯基硫代乙酸酯(SATA)、N-丁二醯亞胺基-3-(2-吡啶基二硫基)丙酸酯(SPDP)、N-丁二醯亞胺基-3-(2-吡啶基二硫基)丁酸酯(SPDB)及N-丁二醯亞胺基-氧基羰基-α-甲基-α-(2-吡啶基-硫基)甲苯)-(SMPT)之各種二硫化物連接子，以及可使用SPDB及SMPT形成之二硫化物連接子(例如參見：Thorpe等人, 1987, Cancer Res.

47:5924-5931；及美國專利第4,880,935號)。

【0049】 此外，連接子可為丙二酸酯連接子(Johnson等人, 1995, Anticancer Res. 15:1387-93)、順丁烯二醯亞胺基苯甲醯基連接子(Lau等人, 1995, Bioorg-Med-Chem. 3(10):1299-1304)、3'-N-醯胺類似物(Lau等人, 1995, Bioorg-Med-Chem. 3(10):1305-12)、β-葡糖苷酸連接子(Jeffery等人, 2006, Bioconjug Chem. 17(3):832-40)或β-半乳糖苷連接子(Kolodych等人, 2017, Eur J Med Chem. 12月15日;142:376-382)。

【0050】 不可裂解連接子可為順丁烯二醯亞胺基己醯基連接子。順丁烯二醯亞胺基己醯基連接子可包括N-順丁烯二醯亞胺基甲基環己烷-1-甲酸酯。順丁烯二醯亞胺基己醯基連接子可含有丁二醯亞胺基。順丁烯二醯亞胺基己醯基連接子可含有五氟苯基。連接子可為順丁烯二醯亞胺基與一或多個聚乙二醇分子之組合。連接子可為順丁烯二醯亞胺基己醯基與一或多個聚乙二醇分子之組合。連接子可為順丁烯二醯亞胺基-PEG4連接子。連接子可為含有丁二醯亞胺基之順丁烯二醯亞胺基己醯基連接子與一或多種聚乙二醇分子之組合。連接子可為五氟苯基及含有一或多個聚乙二醇分子之順丁烯二醯亞胺基己醯基連接子之組合。連接子可含有連接至聚乙二醇分子之順丁烯二醯亞胺，其中聚乙二醇使得連接子可撓性更大或使得能夠使用更長的連接子。連接子可為(順丁烯二醯亞胺基己醯基)-(纈胺酸-瓜胺酸)-(對胺基苯甲氧基羰基)連接子。

【0051】 在某些實施例中，連接子可為可裂解連接子。

【0052】 在某些實施例中，連接子可為蛋白酶可裂解連接子、酸可裂解連接子、二硫化物連接子、自我分解型連接子或自我穩定型連接子、丙二酸酯連接子、順丁烯二醯亞胺基苯甲醯基連接子、3'-N-醯胺類似

物、β-葡糖苷酸連接子或β-半乳糖苷連接子。

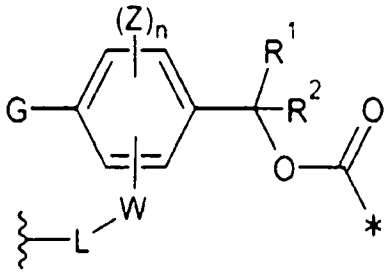
【0053】在某些實施例中，蛋白酶可裂解連接子可包括硫醇反應性間隔子或二肽，且更特定言之，蛋白酶可裂解連接子可包括硫醇反應性順丁烯二醯亞胺基己醯基間隔子、纈胺酸-瓜胺酸二肽或對胺基-苯甲氧基羰基間隙子。

【0054】在某些實施例中，酸可裂解連接子可為肼連接子或四級銨連接子。

【0055】例示性抗體藥物結合物揭示於US 10,583,197、US 9,993,568、US 9,951,072、US 9,919,057、US 9,669,107、US 11,413,353、US 11,173,214、US 11,167,040、US 10,980,890、US 10,583,197、US 10,383,949、US 10,273,235、US 10,183,997及US 10,118,965中，其內容各自以全文引用之方式併入本文中。

【0056】在某些實施例中，連接子可具有通式II之結構。

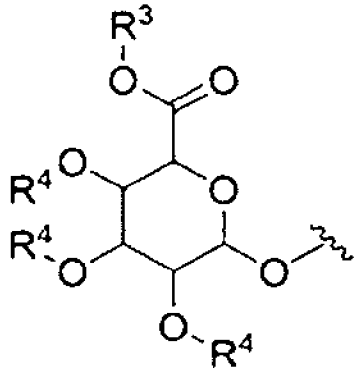
[通式II]



其中：在通式II中，

波浪符號為與特異性結合至人類TROP2之抗體或其抗原結合片段之連接位，及

*為與活性劑之連接位；

G為葡糖醛酸部分或  ，R^3為氫或羧基保護基，且各R^4獨立地為氫或羥基保護基；

R^1及R^2各自獨立地為氫、C_{1-8}烷基或C_{3-8}環烷基；

W為-C(O)-、-C(O)NR'-、-C(O)O-、-SO_2NR'-、-P(O)R''NR'、-SONR'-或-PO_2NR'-，其中C、S或P直接鍵結至苯環；且R'及R''各自獨立地為氫、C_{1-8}烷基、C_{3-8}環烷基、C_{1-8}烷氧基、C_{1-8}烷硫基、單-C_{1-8}烷胺基或二-C_{1-8}烷胺基、C_{3-20}雜芳基或C_{6-20}芳基；

Z獨立地為氫、C_{1-8}烷基、鹵素、氰基或硝基；

n為0至3；及

L為選自以下A)或B)之任一者：

A) C_{1-50}伸烷基或1至50員伸雜烷基，滿足以下中之至少一者：

(i) L包括一或多個不飽和鍵；

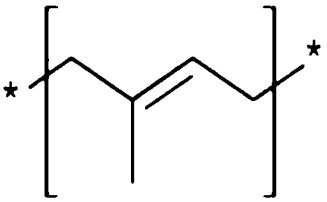
(ii) L中之兩個原子經二價取代基取代，形成伸雜芳基；

(iii) L為1至50員伸雜烷基；

(iv)伸烷基經至少一個C_{1-20}烷基取代；及

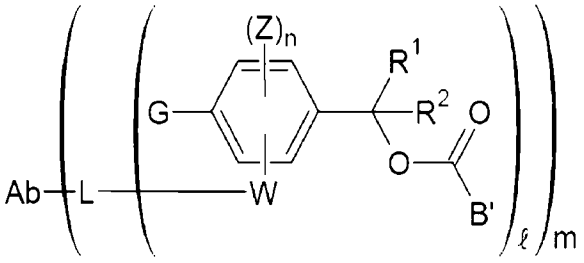
B)包含至少一個以下通式III之異平基衍生物單元，其可由類異戊二烯轉移酶識別：

[式III]



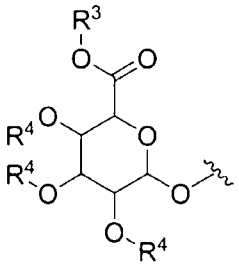
【0057】 在某些實施例中，結合物可具有通式IIa之結構。

[通式IIa]



其中

各B'為活性劑；



各G獨立地為葡糖醛酸部分或 ；

R^3為氫或羧基保護基；

各R^4獨立地為氫或羥基保護基；

R^1及R^2各自獨立地為氫、C_{1-8}烷基或C_{3-8}環烷基；

W為-C(O)-、-C(O)NR'-、-C(O)O-、$-SO_2NR'-$、-P(O)R''NR'、-SONR'-或$-PO_2NR'-$，其中C、S或P直接鍵結至式IIa之苯環；

R'及R''各自獨立地為氫、C_{1-8}烷基、C_{3-8}環烷基、C_{1-8}烷氧基、C_{1-8}烷硫基、單-C_{1-8}烷胺基或二-C_{1-8}烷胺基、C_{3-20}雜芳基或C_{6-20}芳基；

各Z獨立地為氫、C_{1-8}烷基、鹵素、氰基或硝基；

n為0、1、2或3；

L包含：

A)C_{1-50}伸烷基或C_{1-50}伸雜烷基且包含

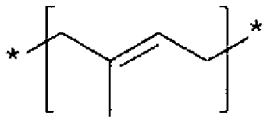
(i)一或多個不飽和鍵

(ii)伸雜芳基；或

(iii)經至少一個C_{1-20}烷基取代；或

B)至少一個具有以通式III表示之結構的異平基：

[通式III]

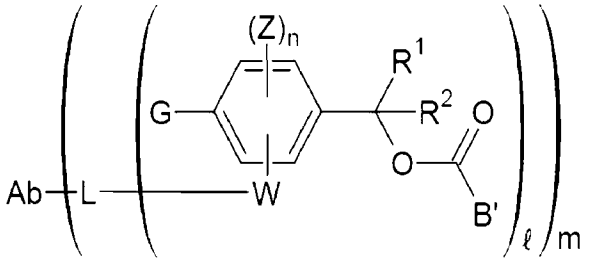


；及

l及m各自獨立地為1至20。

【0058】 本發明亦提供由以下通式IIa表示之結合物或其醫藥學上可接受之鹽或溶劑合物：

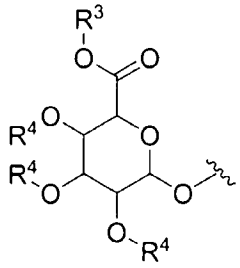
[通式IIa]



其中

Ab為抗TROP2 (腫瘤相關鈣信號轉導子2，亦稱為TACSTD2)抗體或其抗原結合片段；

各B'為活性劑；

各G獨立地為葡糖醛酸部分或  ；

R^3為氫或羧基保護基；

各R^4獨立地為氫或羥基保護基；

R^1及R^2各自獨立地為氫、C_{1-8}烷基或C_{3-8}環烷基；

W為-C(O)-、-C(O)NR'-、-C(O)O-、-SO_2NR'-、-P(O)R''NR'、-SONR'-或-PO_2NR'-，其中C、S或P直接鍵結至式IIa之苯環；

R'及R''各自獨立地為氫、C_{1-8}烷基、C_{3-8}環烷基、C_{1-8}烷氧基、C_{1-8}烷硫基、單-C_{1-8}烷胺基或二-C_{1-8}烷胺基、C_{3-20}雜芳基或C_{6-20}芳基；

各Z獨立地為氫、C_{1-8}烷基、鹵素、氰基或硝基；

n為0、1、2或3；

L包含：

A) C_{1-50}伸烷基或C_{1-50}伸雜烷基且包含

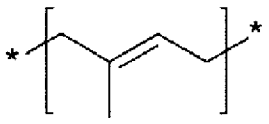
(i)一或多個不飽和鍵

(ii)伸雜芳基；或

(iii)經至少一個C_{1-20}烷基取代；或

B) 至少一個具有以通式III表示之結構的異平基：

[通式III]



；及

l及m各自獨立地為1至20。

【0059】 與此結構相關之其他結合物以及詳細製備方法揭示於US 9,919,057、US 9,993,568、US 10,980,890及US 11,413,353中；其內容各自以全文引用之方式併入本文中。

【0060】 在某些實施例中，抗體或其抗原結合片段包含重鏈可變區及輕鏈可變區，其中：

該重鏈可變區包含：包含SEQ ID NO:2之胺基酸序列之重鏈CDR1、

包含SEQ ID NO:4之胺基酸序列之重鏈CDR2及包含SEQ ID NO:6之胺基酸序列之重鏈CDR3；及

該輕鏈可變區包含：包含SEQ ID NO:9之胺基酸序列之輕鏈CDR1、包含SEQ ID NO:11之胺基酸序列之輕鏈CDR2及包含SEQ ID NO:13之胺基酸序列之輕鏈CDR3。

【0061】在某些實施例中，抗體或其抗原結合片段包含重鏈可變區，該重鏈可變區包含：

SEQ ID NO:15或20之胺基酸序列；

與SEQ ID NO:15或20之胺基酸序列具有至少90%序列一致性，同時維持包含SEQ ID NO:9之胺基酸序列之輕鏈CDR1、包含SEQ ID NO:11之胺基酸序列之輕鏈CDR2及包含SEQ ID NO:13之胺基酸序列之輕鏈CDR3之序列；或

與SEQ ID NO:15或20之胺基酸序列具有至少95%序列一致性，同時維持包含SEQ ID NO:9之胺基酸序列之輕鏈CDR1、包含SEQ ID NO:11之胺基酸序列之輕鏈CDR2及包含SEQ ID NO:13之胺基酸序列之輕鏈CDR3之序列。

【0062】在某些實施例中，抗體或其抗原結合片段包含輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含：

SEQ ID NO:16之胺基酸序列；

與SEQ ID NO:16之胺基酸序列具有至少90%序列一致性，同時維持包含SEQ ID NO:9之胺基酸序列之輕鏈CDR1、包含SEQ ID NO:11之胺基酸序列之輕鏈CDR2及包含SEQ ID NO:13之胺基酸序列之輕鏈CDR3之序列；或

與SEQ ID NO:16之胺基酸序列具有至少95%序列一致性，同時維持包含SEQ ID NO:9之胺基酸序列之輕鏈CDR1、包含SEQ ID NO:11之胺基酸序列之輕鏈CDR2及包含SEQ ID NO:13之胺基酸序列之輕鏈CDR3之序列。

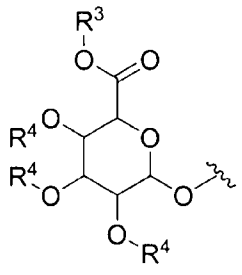
【0063】 在某些實施例中，抗體或其抗原結合片段包含有包含SEQ ID NO:15之胺基酸序列之重鏈可變區及包含SEQ ID NO:16之胺基酸序列之輕鏈可變區。

【0064】 在某些實施例中，抗體為人源化抗體。在某些實施例中，人源化抗體包含：

(i)來自人類抗體重鏈或來自人類共同構架之可變重鏈構架區，其中該可變重鏈構架區包含以下胺基酸序列變化中之一或多者：Y27F、T30S、V37L、M48I、G49A、I70L及R72V；及

(ii)來自人類抗體輕鏈或來自人類共同構架之可變輕鏈構架區，其中該可變輕鏈構架區包含以下胺基酸序列變化：Y49S。

【0065】 在某些實施例中，抗體或其抗原結合片段係選自單株抗體、域抗體(dAb)、單鏈抗體(scAb)、Fab片段、Fab'片段、F(ab')2片段、scFab片段、Fv片段、dsFv片段、單鏈可變片段(scFv)、scFv-Fc片段、單域重鏈抗體、單域輕鏈抗體、變異抗體、多聚抗體、微型抗體、雙功能抗體、雙特異性抗體及多特異性抗體。

【0066】 在某些較佳實施例中，各G為  。

【0067】 在某些實施例中，R^1及R^2各自為氫。

【0068】 在某些實施例中，R^3為氫。

【0069】 在某些實施例中，各R^4為羥基保護基。

【0070】 在某些實施例中，n為0。

【0071】 在某些較佳實施例中，各W為-C(O)NR'-，另外其中C直接鍵結至式IIa之苯環，且NR'鍵結至L。

【0072】 在某些實施例中，各R^4獨立地為氫。

【0073】 在某些實施例中，R^1及R^2各自為氫；

n為0；及

各W為-C(O)NR'-，C直接鍵結至式IIa之苯環，且R'為氫、C_{1-8}烷基、C_{3-8}環烷基、C_{1-8}烷氧基、C_{1-8}烷硫基、單-C_{1-8}烷胺基或二-C_{1-8}烷胺基、C_{3-20}雜芳基或C_{6-20}芳基，其中NR'鍵結至L。

【0074】 在某些實施例中，L包含有含氮之1至50員伸雜烷基。

【0075】 在某些實施例中，L包含親水性胺基酸。在某些實施例中，W包含親水性胺基酸之兩個或更多個原子，且W之氮與親水性胺基酸之羰基形成肽鍵。

【0076】 在某些實施例中，L為含氮之1至50員伸雜烷基，連接子包含親水性胺基酸之兩個或更多個原子，及

氮與親水性胺基酸之羰基形成肽鍵。

【0077】 在某些實施例中，L藉由硫醚鍵共價鍵結至抗體且硫醚鍵包含抗體之半胱胺酸之硫原子。

【0078】 在某些實施例中，抗體包含在抗體之C端處的可由類異戊二烯轉移酶識別之胺基酸模體，及

硫醚鍵包含胺基酸模體之半胱胺酸之硫原子。

【0079】在某些實施例中，胺基酸模體具有CYYX序列，另外其中：

C為半胱胺酸；

Y為脂族胺基酸；

X係選自麩醯胺酸、麩胺酸、絲胺酸、半胱胺酸、甲硫胺酸、丙胺酸及白胺酸；及

硫醚鍵包含胺基酸模體之半胱胺酸之硫原子。

【0080】在某些實施例中，胺基酸模體具有CYYX序列，另外其中：

Y係選自丙胺酸、異白胺酸、白胺酸、甲硫胺酸及纈胺酸。

【0081】在某些較佳實施例中，胺基酸模體具有CVIM (SEQ ID NO:24)或CVLL序列(SEQ ID NO:25)。

【0082】在某些實施例中，胺基酸模體之前的1至20個胺基酸中之至少一者為甘胺酸。

【0083】在某些較佳實施例中，L包含C端處的GGGGGGGCVIM之胺基酸序列(SEQ ID NO:22)。

【0084】在某些實施例中，L包含C_{1-50}伸雜烷基。

【0085】在某些較佳實施例中，L包含肟。在某些實施例中，肟之氧原子在L連接至W之一側且肟之碳原子在L連接至Ab之一側。在某些實施例中，肟之碳原子在L連接至W之一側且肟之氧原子在L連接至Ab之一側。

【0086】在某些實施例中，L為含有肟之C_{1-50}伸雜烷基，

肟之氧原子在L連接至W之一側，

肟之碳原子在L連接至Ab之一側，或

肟之碳原子在L連接至W之一側，及

肟之氧原子在L連接至Ab之一側。

【0087】 在某些較佳實施例中，L包含肟，且至少一個異平基單元將該肟共價鍵結至Ab (例如至少一個異平基單元將該肟直接或間接鍵結至Ab)。

【0088】 在某些實施例中，L包含以通式VIII或通式IX表示之連接單元：

[通式VIII]

$$-(CH_2)_r(V(CH_2)_p)_q-$$

[式IX]

$$-(CH_2CH_2X)_w-$$

V為單鍵、-O-、-S-、$-NR^{21}-$、$-C(O)NR^{22}-$、$-NR^{23}C(O)-$、$-NR^{24}SO_2-$或$-SO_2NR^{25}-$；

X為-O-、C_{1-8}伸烷基或$-NR^{21}-$；

R^{21}至R^{25}各自獨立地為氫、C_{1-6}烷基、C_{1-6}烷基C_{6-20}芳基或C_{1-6}烷基-C_{3-20}雜芳基；

r為0至10；

p為0至10；

q為1至20；及

w為1至20。

【0089】 在某些實施例中，q為1至10。

【0090】 在某些實施例中，r為1或2。

【0091】 在某些實施例中，p為1或2。

【0092】 在某些實施例中，V為-O-。

【0093】 在某些實施例中，q為1至10；

r及p各自為1或2；及

V為-O-。

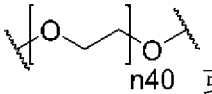
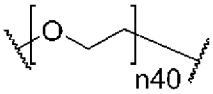
【0094】 在某些實施例中，X為-O-。

【0095】 在某些實施例中，w為1至10。

【0096】 在某些實施例中，其中：

X為-O-；及

w為1至10。

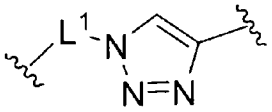
【0097】 在某些較佳實施例中，L包含  或  ，其中n40為1至10，較佳至少為2。

【0098】 在某些實施例中，L包含肟，且至少一個聚乙二醇單元將肟共價鍵結至活性劑。

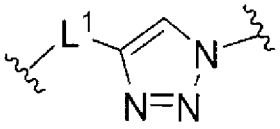
【0099】 在某些實施例中，L包含由炔烴與疊氮基之間或由醛或酮基團與肼或羥胺之間的反應形成之結合單元。

【0100】 在某些實施例中，L進一步包含由以下通式IVa、IVb、IVc、IVd或IVe表示之結合單元：

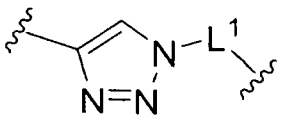
[通式IVa]



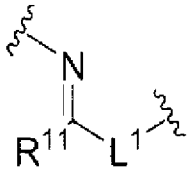
[通式IVb]



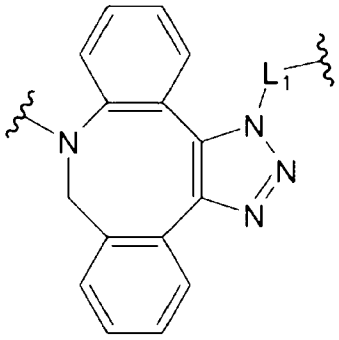
[通式IVc]



[通式IVd]



[通式IVe]



其中

L_1及L_2各自獨立地為單鍵或C_{1-30}伸烷基；及

R_{11}為氫或C_{1-10}烷基。

【0101】 在某些實施例中，L_1及L_2各自獨立地為單鍵、C_{11}伸烷基或C_{12}伸烷基。

【0102】 在某些實施例中，類異戊二烯轉移酶為法呢基蛋白質轉移酶(FTase)或四異戊二烯基轉移酶(GGTase)。

【0103】 在某些實施例中，L為分支鏈的且包含：

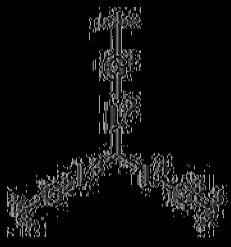
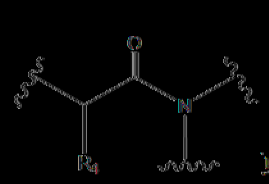
i)藉由一級連接子與抗體共價偶合之分支單元；

ii)第一分支，其中第一活性劑藉由二級連接子及裂解基團共價偶合至該分支單元；及

iii)第二分支，其中：

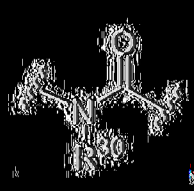
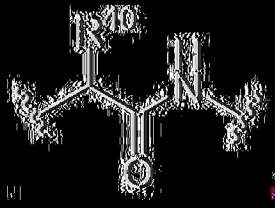
a)第二活性劑藉由二級連接子及裂解基團共價偶合至分支單元；或

b)聚乙二醇部分共價偶合至分支單元。

[0104] 在某些實施例中，分支單元具有由 、  、  或 表示之結構，其中；

L^2、L^3及L^4各自獨立地為一鍵或C_nH_{2n}，

n為1至30；

G^1、G^2及G^3各自獨立地表示一鍵、  、 、  或 ；

R^{30}為氫或C_{1-30}烷基；

R^{40}為氫或L^5-$COOR_6$；及

L^5為一鍵或$C_{n'}H_{2n'}$；

n'為1至10；及

R_6為氫或C_{1-30}烷基。

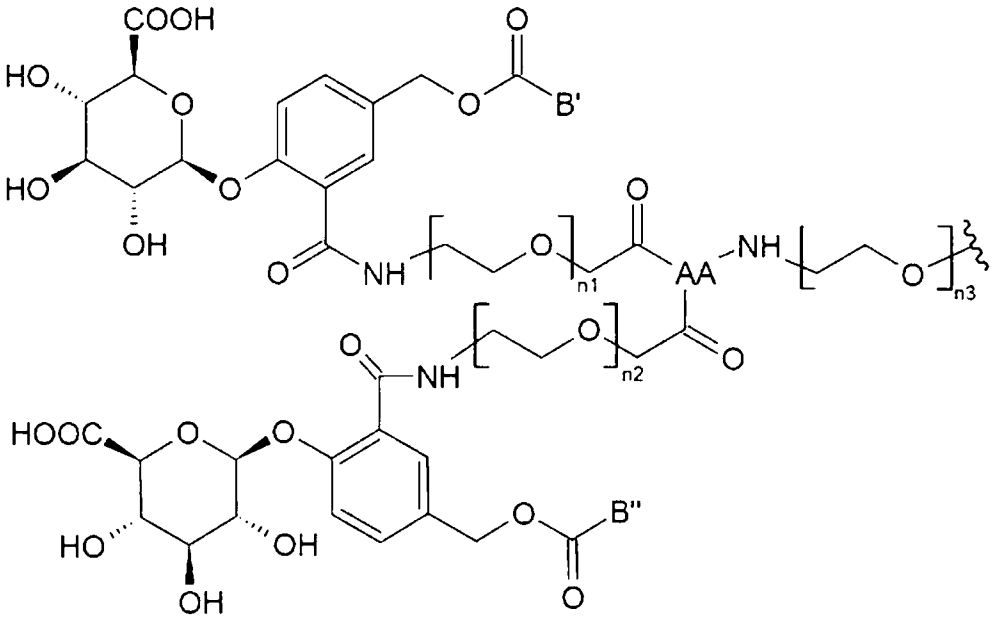
[0105] 在某些較佳實施例中，裂解基團可在目標細胞中裂解且能夠釋放一或多種活性劑。

[0106] 在某些實施例中，至少一個分支連接子共價偶合至Ab；及至少兩種活性劑共價偶合至分支連接子。在某些實施例中，一個分

支連接子偶合至Ab。在某些實施例中，兩個分支連接子偶合至Ab。在某些實施例中，三個分支連接子偶合至Ab。在某些實施例中，四個分支連接子偶合至Ab。在某些實施例中，各分支連接子偶合至兩種活性劑。在某些實施例中，結合物包含至少兩種不同的活性劑。在某些實施例中，至少一個分支連接子偶合至兩種不同的活性劑。

【0107】 在某些實施例中，分支單元為氮原子。在其他實施例中，分支單元為醯胺且一級連接子包含醯胺之羰基。在其他實施例中，分支單元為醯胺且二級連接子包含醯胺之羰基。在某些較佳實施例中，分支單元為離胺酸。

【0108】 在某些實施例中，結合物包含由以下表示之結構：



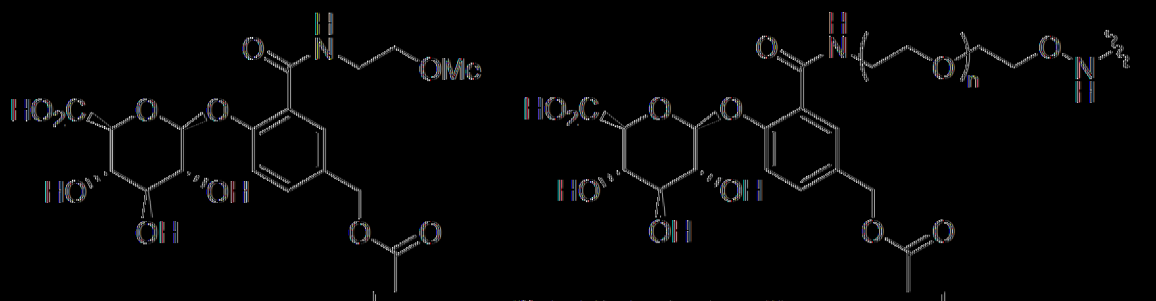
或其醫藥學上可接受之鹽；其中

B'及B''各自為活性劑；

n1至n3各自獨立地為0至30；及

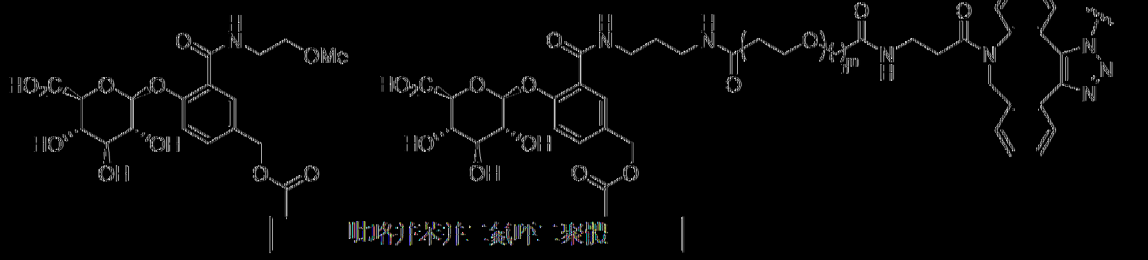
AA為胺基酸基團。

【0109】 在某些實施例中，結合物包含由以下表示之結構或其醫藥學上可接受之鹽：

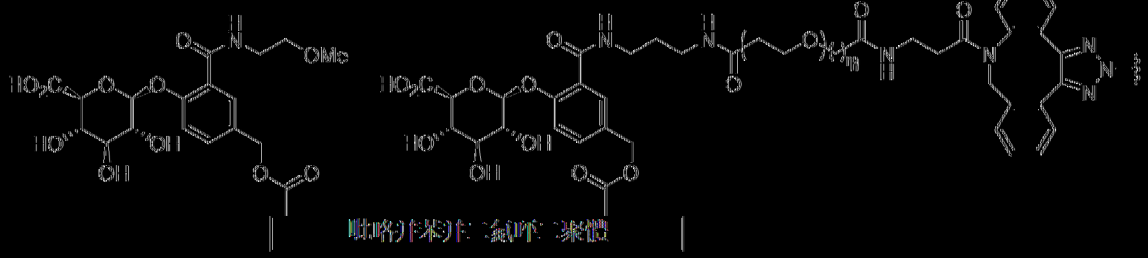


喜樹鹼苯丙氨酸聚體

喜樹鹼苯丙氨酸聚體

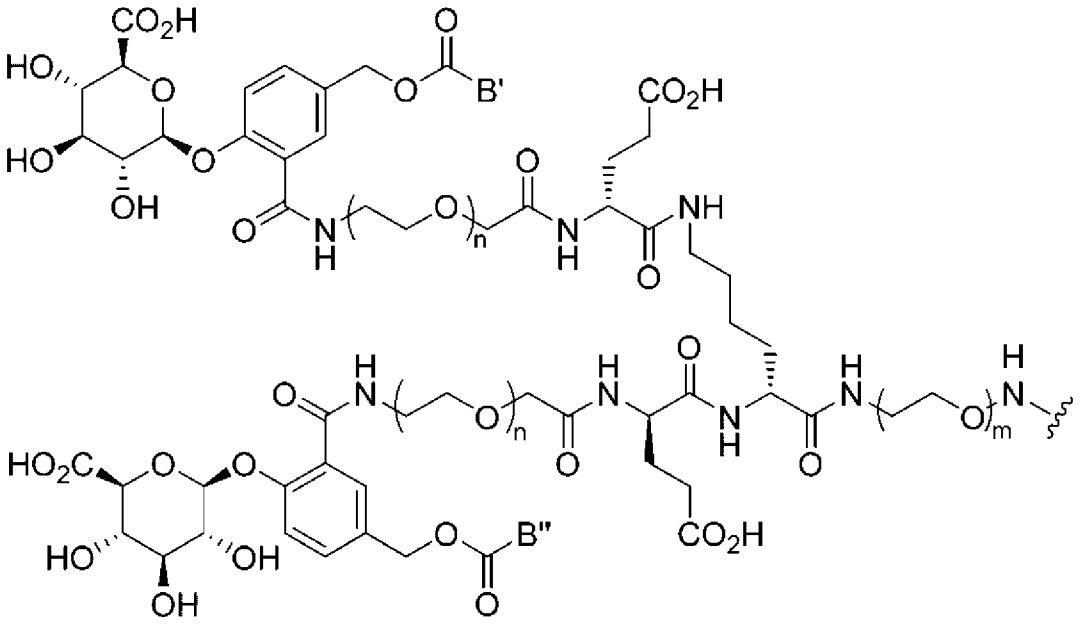


喜樹鹼苯丙氨酸聚體



喜樹鹼苯丙氨酸聚體

，或



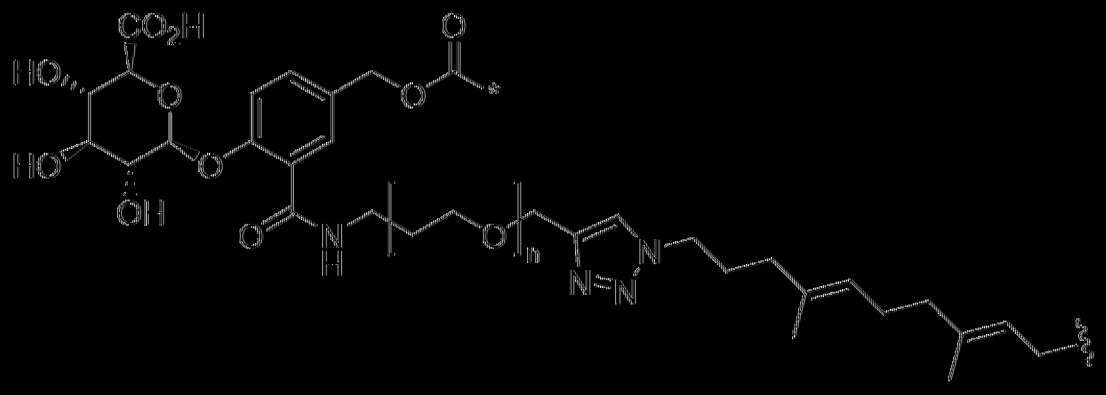
其中B'及B''係指彼此相同或不同之活性劑；

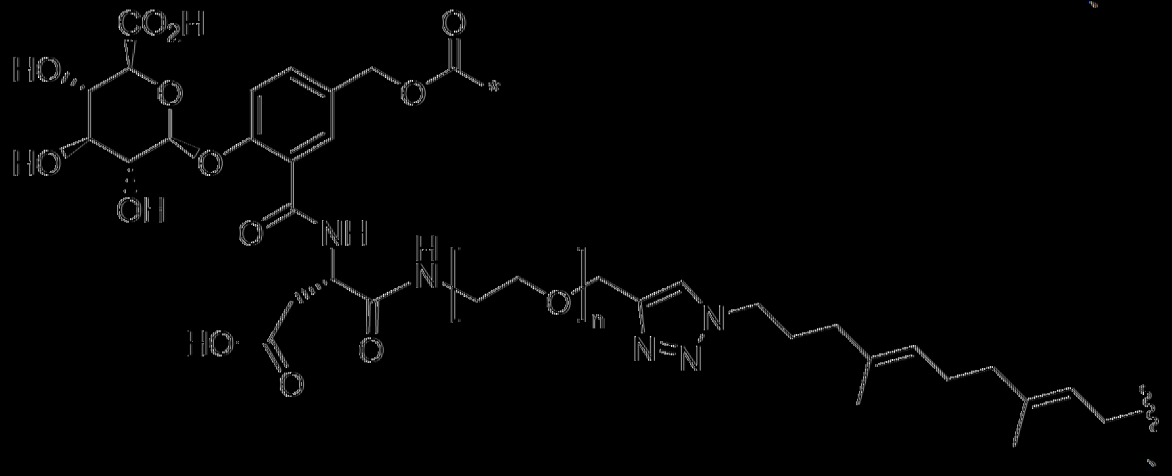
吡咯并苯并二氮呯二聚體，例如式III化合物；及

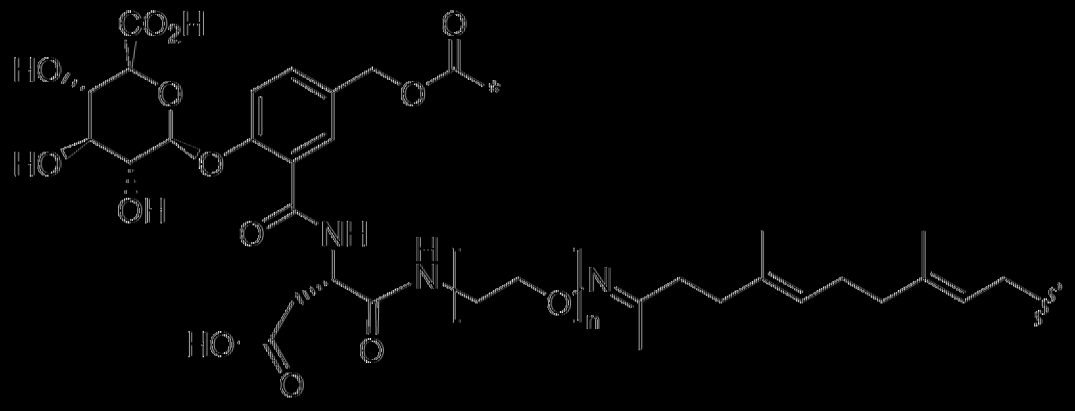
m及n各自獨立地係指0至30，

或其醫藥學上可接受之鹽。

【0110】在某些實施例中，結合物包含由以下表示之結構：







，或其醫藥學上可接受之鹽，其中波浪符號表示抗體構築體之結合位，*表示活性劑之結合位，且n為0至20。

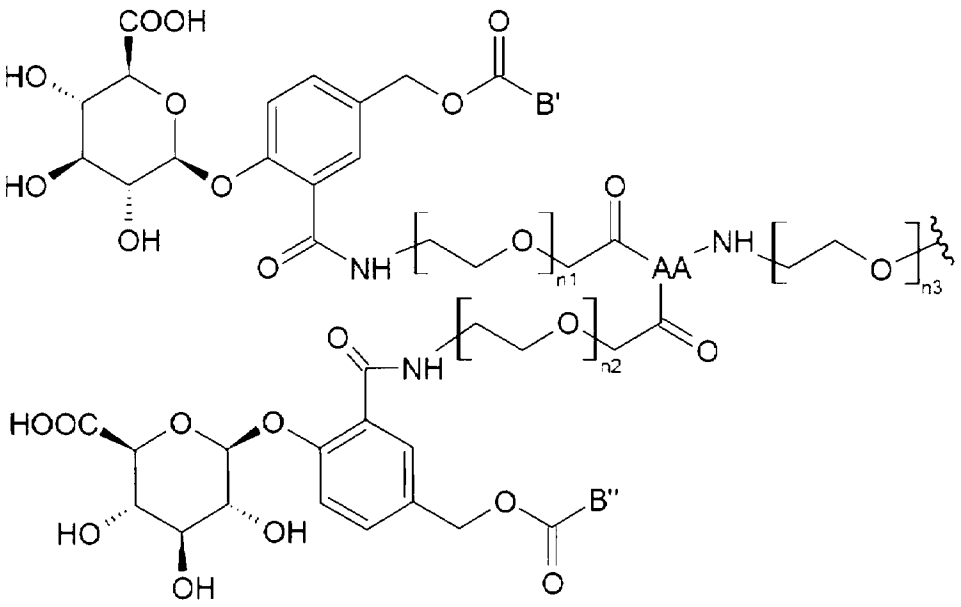
[0111] 在某些實施例中，抗體-藥物結合物之第一連接子包含具有

1至100個碳原子、較佳1至50個碳原子之伸烷基，或伸烷基包括至少一個不飽和鍵，伸烷基包含至少一個伸雜芳基，伸烷基之碳原子經一或多個選自氮(N)、氧(O)及硫(S)之雜原子取代，或伸烷基進一步經一或多個具有1至20個碳原子之烷基取代。

【0112】 在某些實施例中，伸烷基之至少一個碳原子經氮取代，第一連接子包括親水性胺基酸之至少兩個原子，且氮與親水性胺基酸之主鏈羰基一起形成肽鍵。親水性胺基酸可為例如精胺酸、天冬胺酸、天冬醯胺、麩胺酸、麩醯胺酸、組胺酸、離胺酸、鳥胺酸、脯胺酸、絲胺酸或蘇胺酸。

【0113】 在某些實施例中，抗體活性劑之分支連接子包含具有側鏈的胺基酸，該側鏈具有在水溶液中在中性pH下攜帶電荷之部分，該胺基酸較佳係精胺酸、天冬胺酸、麩胺酸、離胺酸或鳥胺酸。胺基酸可位於分支連接子上之任何位置。舉例而言，分支連接子之肟可共價鍵結至分支連接子之聚乙二醇單元。或者或另外，此等胺基酸可存在於第二連接子中，視情況存在於各第二連接子內。

【0114】 在某些實施例中，結合物包含由以下表示之結構：



，

或其醫藥學上可接受之鹽；

其中B'及B''各自為活性劑；

n1至n3各自獨立地指0至30；及

AA係指胺基酸基團。

【0115】 在某些實施例中，AA係指其中一或多個胺基酸鍵結之胺基酸基團。

【0116】 在某些實施例中，i)連接子包括多個胺基酸之肽序列；及ii)至少兩種活性劑共價鍵結至胺基酸之側鏈。

【0117】 在某些實施例中，胺基酸基團為藉由1至20個胺基酸之主鏈鍵聯或側鏈鍵聯而形成的基團。

【0118】 在某些實施例中，胺基酸基團為藉由1至20個精胺酸、天冬胺酸、天冬醯胺、麩胺酸、麩醯胺酸、組胺酸、離胺酸、鳥胺酸、脯胺酸、絲胺酸或蘇胺酸殘基之主鏈鍵聯或側鏈鍵聯而形成的基團。

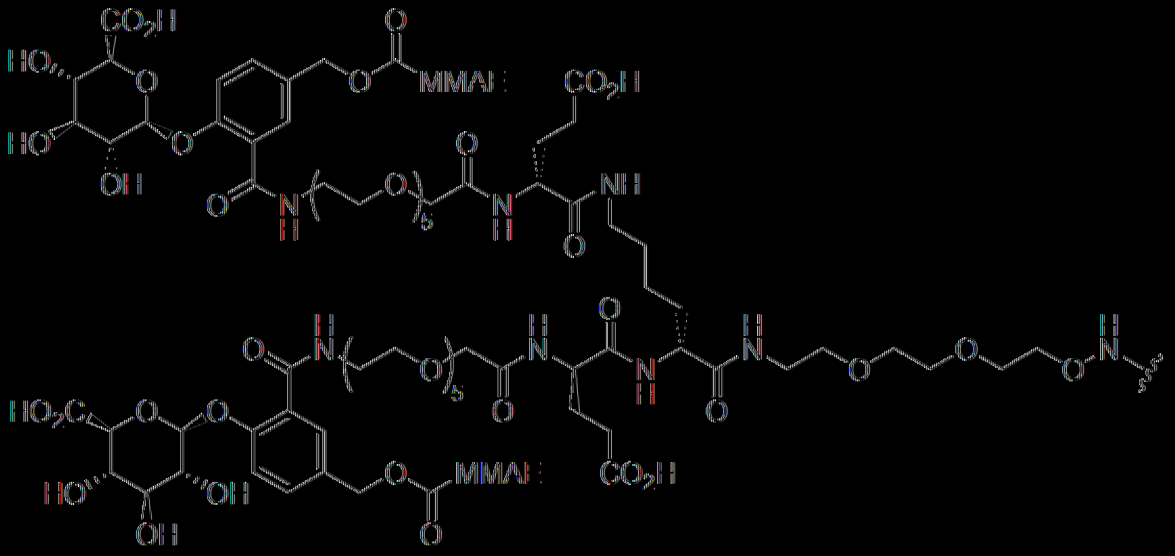
【0119】 在某些實施例中，胺基酸基團為藉由1至20個精胺酸、天冬胺酸、麩胺酸、離胺酸或鳥胺酸殘基之主鏈鍵聯或側鏈鍵聯而形成的基

團。

[0120] 在某些實施例中，胺基酸基團包括1至20個胺基酸，例如至少一個離胺酸。

[0121] 在某些實施例中，胺基酸基團包含離胺酸之主鏈或側鏈鍵聯。

[0122] 在某些實施例中，結合物包含由以下表示之結構：



其中，MMAE為單甲基奧瑞他汀(auristatin) E。

[0123] 與此結構相關之其他結合物以及詳細製備方法揭示於US 11,173,214及US 11,167,040中；其內容各自以全文引用之方式併入本文中。

[0124] 在某些實施例中，如本文所用之術語「活性劑部分」係指包含活性劑及共價鍵之化合物，該等共價鍵將活性劑結合至連接子或其一部分。

[0125] 在本發明中，活性劑部分可直接結合至連接子，且一或多個、尤其兩個或更多個、三個或更多個或四個或更多個活性劑部分可直接結合至連接子。

【0126】在某些實施例中，活性劑各自獨立地選自化學治療劑及毒素。

【0127】另外，活性劑可為免疫調節化合物、抗癌劑、抗病毒劑、抗細菌劑、抗真菌劑、抗寄生蟲劑或其組合，且可選自以下列出之活性劑以供使用：

(a)厄洛替尼(erlotinib)、硼替佐米(bortezomib)、氟維司群(fulvestrant)、紓癌特(sutent)、來曲唑(letrozole)、甲磺酸伊馬替尼(imatinib mesylate)、PTK787/ZK 222584、奧沙利鉑(oxaliplatin)、5-氟尿嘧啶、甲醯四氫葉酸、雷帕黴素(rapamycin)、拉帕替尼(lapatinib)、洛那法尼(lonafarnib)、索拉非尼(sorafenib)、吉非替尼(gefitinib)、AG1478、AG1571、噻替派(thiotepa)、環磷醯胺、白消安(busulfan)、英丙舒凡(improsulfan)、哌泊舒凡(piposulfan)、苯唑多巴(benzodopa)、卡波醌(carboquone)、米特多巴(meturedopa)、尤利多巴(uredopa)、伸乙基亞胺、六甲蜜胺、三伸乙基蜜胺、三伸乙基磷醯胺、三伸乙基硫代磷醯胺、三羥甲基密胺、布拉他辛(bullatacin)、布拉他辛酮(bullatacinone)、喜樹鹼(camptothecin)、拓朴替康(topotecan)、苔蘚抑素(bryostatin)、海洋抑素(callystatin)、CC-1065、阿多來新(adozelesin)、卡折來新(carzelesin)、比折來新(bizelesin)、念珠藻素1(cryptophycin 1)、念珠藻素8、海兔毒素(dolastatin)、多卡黴素(duocarmycin)、KW-2189、CB1-TM1、艾榴塞洛素(eleutherobin)、盤克斯他汀(pancratistatin)、沙考地汀(sarcodictyin)、海綿抑素(spongistatin)、氯芥苯丁酸(chlorambucil)、萘氮芥(chlornaphazine)、氯磷醯胺、雌莫司汀(estramustine)、異環磷醯胺、甲基二(氯乙基)胺(mechlorethamine)、美法侖(melphalan)、新恩比

興(novembichin)、芬司特瑞(phenesterine)、潑尼莫司汀(prednimustine)、曲洛磷胺(trofosfamide)、尿嘧啶氮芥(uracil mustard)、卡莫司汀(carmustine)、氯脲黴素(chlorozotocin)、福莫司汀(fotemustine)、洛莫司汀(lomustine)、尼莫司汀(nimustine)、雷莫司汀(ranimnustine)、卡奇黴素(calicheamicin)、卡奇黴素γ1、卡奇黴素ω1、達內黴素(dynemicin)、達內黴素A、氯屈膦酸鹽(clodronate)、埃斯培拉黴素(esperamicin)、新抑癌菌素發色團(neocarzinostatin chromophore)、阿克拉黴素(aclacinomysins)、放線菌素(actinomycin)、安麴黴素(antrmycin)、偶氮絲胺酸(azaserine)、博萊黴素(bleomycins)、放線菌素C (cactinomycin)、卡柔比星(carabicin)、洋紅黴素(carninomycin)、嗜癌菌素(carzinophilin)、色黴素(chromomycin)、放線菌素D (dactinomycin)、道諾比星(daunorubicin)、地托比星(detorubicin)、6-重氮-5-側氧基-L-正白胺酸、小紅莓(doxorubicin)、嗎啉基-小紅莓、氰基嗎啉基-小紅莓、2-吡咯啉基-小紅莓、脂質小紅莓、去氧小紅莓、表柔比星(epirubicin)、依索比星(esorubicin)、麻西羅黴素(marcellomycin)、絲裂黴素C(mitomycin C)、黴酚酸(mycophenolic acid)、諾加黴素(nogalamycin)、橄欖黴素(olivomycin)、培洛黴素(peplomycin)、潑非黴素(potfiromycin)、嘌呤黴素(puromycin)、奎那黴素(quelamycin)、羅多比星(rodorubicin)、鏈黴素(streptomycin)、鏈脲佐菌素(streptozocin)、殺結核菌素(tubercidin)、烏苯美司(ubenimex)、淨司他丁(zinostatin)、佐柔比星(zorubicin)、5-氟尿嘧啶、迪諾特寧(denopterin)、甲胺喋呤(methotrexate)、蝶羅呤(pteropterin)、曲美沙特(trimetrexate)、氟達拉賓(fludarabine)、6-巰嘌呤(6-mercaptopurine)、硫咪嘌呤(thiamiprine)、硫

鳥嘌呤(thiguanine)、安西他濱(ancitabine)、阿紮胞苷(azacitidine)、6-氮尿苷(6-azauridine)、卡莫氟(carmofur)、阿糖胞苷(cytarabine)、二去氧尿苷(dideoxyuridine)、去氧氟尿苷(doxifluridine)、依諾他濱(enocitabine)、氟尿苷(floxuridine)、卡魯睾酮(calusterone)、丙酸屈他雄酮(dromostanolone propionate)、環硫雄醇(epitiostanol)、美雄烷(mepitiostane)、睾內酯(testolactone)、胺格魯米特(aminoglutethimide)、米托坦(mitotane)、曲洛司坦(trilostane)、醛葉酸、乙醯葡醛酯、醛磷醯胺糖苷、胺基乙醯丙酸、恩尿嘧啶(eniluracil)、安吖啶(amsacrine)、貝斯布西(bestrabucil)、比生群(bisantrene)、依達曲沙(edatraxate)、地磷醯胺(defofamine)、地美可辛(demecolcine)、地吖醌(diaziquone)、艾弗鳥胺酸(elfornithine)、依利醋銨(elliptinium acetate)、依託格魯(etoglucid)、硝酸鎵、羥基尿素、蘑菇多醣(lentinan)、氯尼達明(lonidainine)、美登素(maytansine)、胺沙托辛(ansamitocin)、米托胍腙(mitoguazone)、米托蒽醌(mitoxantrone)、莫比達摩(mopidanmol)、二胺硝吖啶(nitraerine)、噴司他汀(pentostatin)、苯來美特(phenamet)、吡柔比星(pirarubicin)、洛索蒽醌(losoxantrone)、2-乙基醯肼(2-ethylhydrazide)、丙卡巴肼(procarbazine)、多醣-k(polysaccharide-k)、雷佐生(razoxane)、根瘤菌素(rhizoxin)、西索菲蘭(sizofiran)、鍺螺胺(spirogermanium)、細交鏈孢菌酮酸(tenuazonic acid)、三亞胺醌(triaziquone)、2,2',2''-三氯三乙胺、T-2毒素、弗納庫林A(verracurin A)、桿孢菌素A(roridin A)、胍癸叮(anguidine)、烏拉坦(urethane)、長春地辛(vindesine)、達卡巴啡(dacarbazine)、甘露醇氮芥(mannomustine)、二溴甘露醇(mitobronitol)、二溴衛矛醇(mitolactol)、

哌泊溴烷(pipobroman)、加西托星(gacytosine)、阿拉伯糖苷(arabinoside)、環磷醯胺、噻替派、紫杉醇(paclitaxel)、紫杉醇之經白蛋白工程改造之奈米粒子調配物、多西他賽(docetaxel)、氯芥苯丁酸、吉西他濱(gemcitabine)、6-硫鳥嘌呤、巯嘌呤、順鉑(cisplatin)、卡鉑(carboplatin)、長春鹼(vinblastine)、鉑、依託泊苷(etoposide)、異環磷醯胺、米托蒽醌、長春新鹼(vincristine)、長春瑞濱(vinorelbine)、諾凡特龍(novantrone)、替尼泊苷(teniposide)、依達曲沙(edatrexate)、道諾黴素(daunomycin)、胺基喋呤(aminopterin)、希羅達(xeloda)、伊班膦酸鹽(ibandronate)、CPT-11、拓樸異構酶(topoisomerase)抑制劑RFS 2000、二氟甲基鳥胺酸、視黃酸、卡培他濱(capecitabine)或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或酸；

(b)單核因子(monokine)、淋巴介質、傳統的多肽激素、甲狀旁腺激素、甲狀腺素、鬆弛素、鬆弛素原、醣蛋白激素、促卵泡激素、促甲狀腺激素、促黃體激素、肝生長因子、纖維母細胞生長因子、促乳素、胎盤催乳激素、腫瘤壞死因子、腫瘤壞死因子-α、腫瘤壞死因子-β、苗勒(mullerian)抑制物質、小鼠促性腺激素相關肽、抑制素、活化素、血管內皮生長因子、血小板生成素、紅血球生成素、骨誘導因子、干擾素、干擾素-α、干擾素-β、干擾素-γ、群落刺激因子(CSF)、巨噬細胞-CSF、顆粒球-巨噬細胞-CSF、顆粒球-CSF、介白素(IL)、IL-1、IL-1α、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-9、IL-10、IL-11、IL-12、腫瘤壞死因子、多肽因子、LIF、kit配位體或其組合；

(c) 白喉毒素、肉毒桿菌毒素、破傷風毒素、痢疾毒素、霍亂毒素、瓢菌素(amanitin)、α-瓢菌素、吡咯并苯并二氮呼、吡咯并苯并二氮呼衍

生物、吲哚啉苯并二氮呼、吡啶并苯并二氮呼、河豚毒素、雙鞭甲藻毒素(brevetoxin)、雪卡藻毒素(ciguatoxin)、蓖麻毒素、AM毒素、奧瑞他汀、微管溶素、格爾德黴素(geldanamycin)、類美登素(maytansinoid)、卡奇黴素、柔紅黴素、小紅莓、甲胺喋呤、長春地辛、SG2285、尾海兔素、尾海兔素類似物、奧瑞他汀、念珠藻素、喜樹鹼、根黴素、根黴素衍生物、CC-1065、CC-1065類似物或衍生物、多卡黴素、烯二炔抗生素、埃斯培拉黴素、埃坡黴素(epothilone)、類毒素或其組合；

(d) 親和配位體，其中該親和配位體為受質、抑制劑、活性劑、神經傳遞素、放射性同位素或其組合；

(e) 放射性標記、32P、35S、螢光染料、電子緻密試劑、酶、生物素、鏈黴抗生物素蛋白、地高辛(dioxigenin)、半抗原、免疫原性蛋白質、具有與目標互補之序列的核酸分子或其組合；

(f) 免疫調節化合物、抗癌劑、抗病毒劑、抗細菌劑、抗真菌劑、抗寄生蟲劑或其組合；

(g) 他莫昔芬(tamoxifen)、雷洛昔芬(raloxifene)、曲洛昔芬(droloxifene)、4-羥基他莫昔芬、曲沃昔芬(trioxifene)、雷洛昔芬(keoxifene)、LY117018、奧那司酮(onapristone)或托瑞米芬(toremifene)；

(h) 4(5)-咪唑、胺魯米特(aminoglutethimide)、乙酸甲地孕酮、依西美坦(exemestane)、來曲唑或阿那曲唑(anastrozole)；

(i) 氟他胺(flutamide)、尼魯米特(nilutamide)、比卡魯胺(bicalutamide)、亮丙立德(leuprolide)、戈舍瑞林(goserelin)或曲沙他濱(troxacitabine)；

(j)芳香酶抑制劑；

(k)蛋白激酶抑制劑；

(l)脂質激酶抑制劑；

(m)反義寡核苷酸；

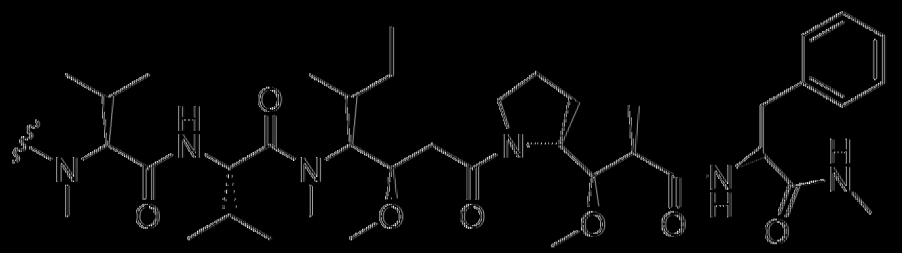
(n)核糖核酸酶；

(o)疫苗；及

(p)抗血管生成劑。

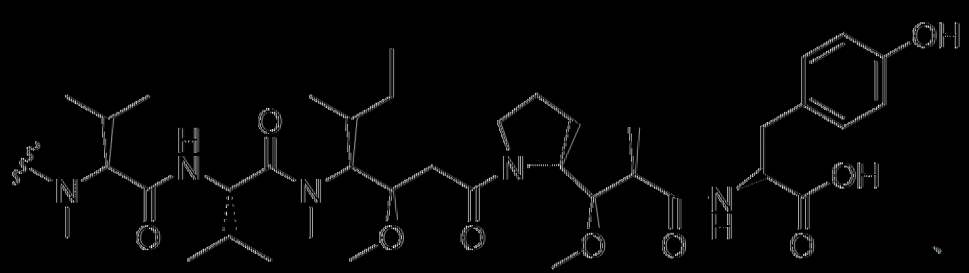
[0128] 在某些實施例中，活性劑為

、

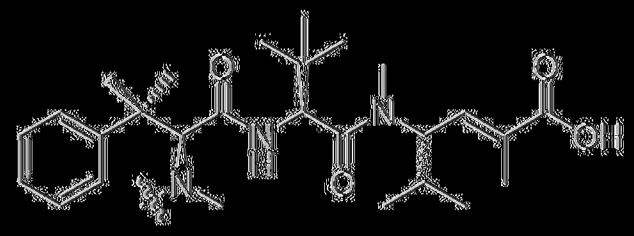


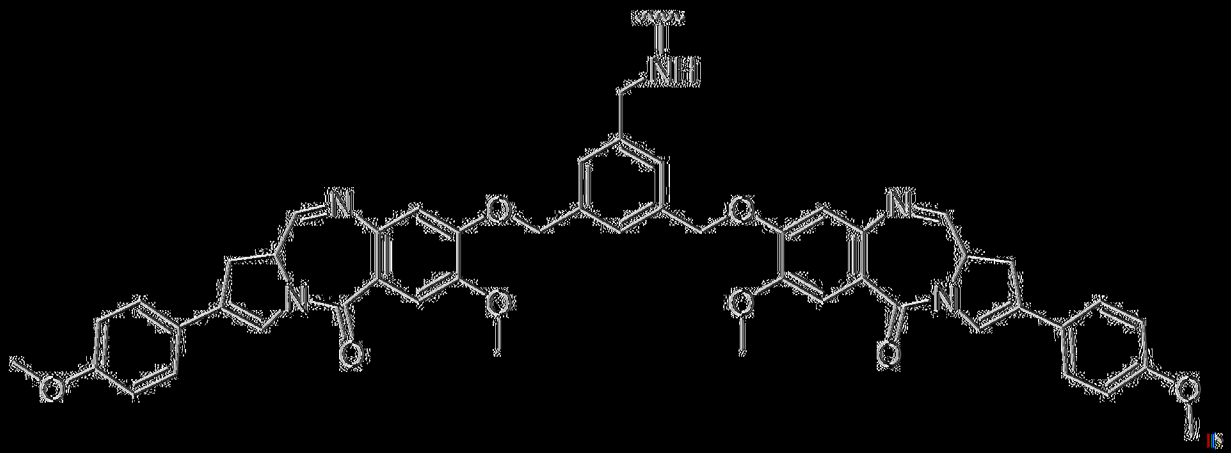
、

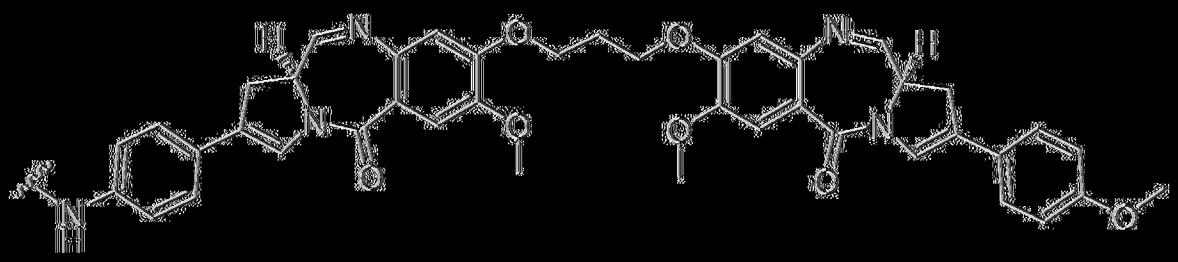
、

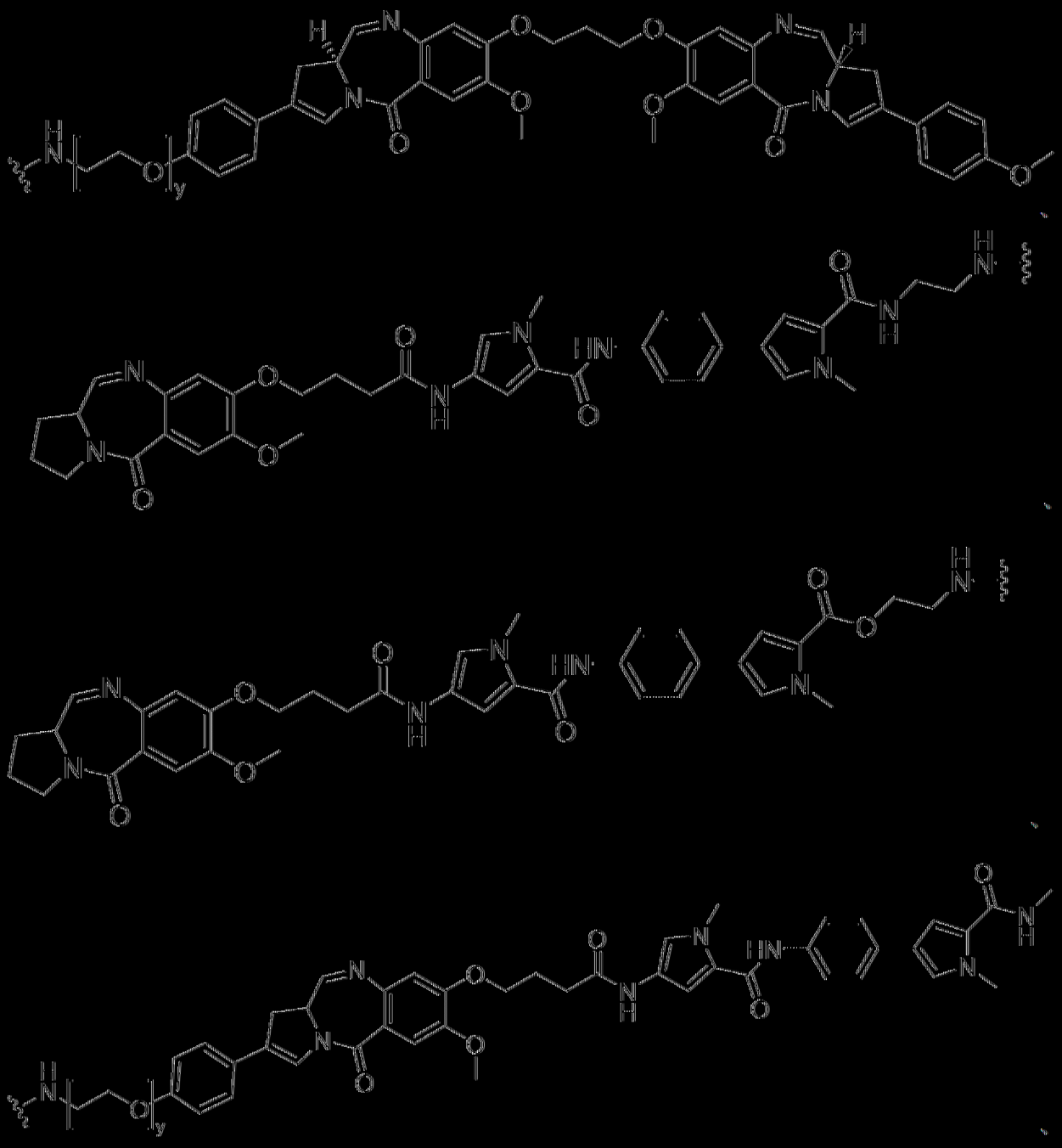


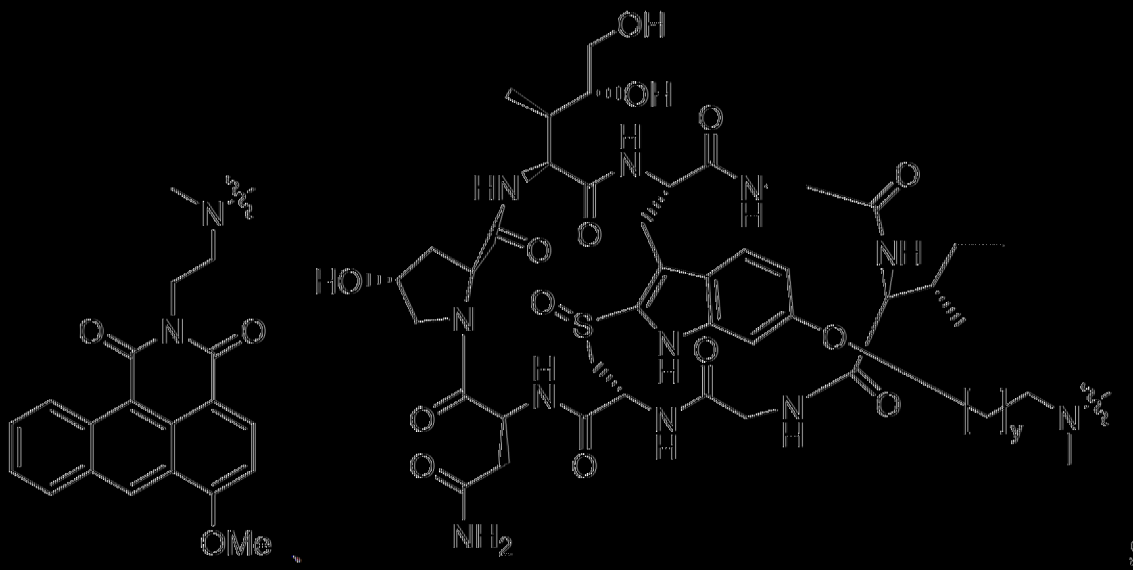
、



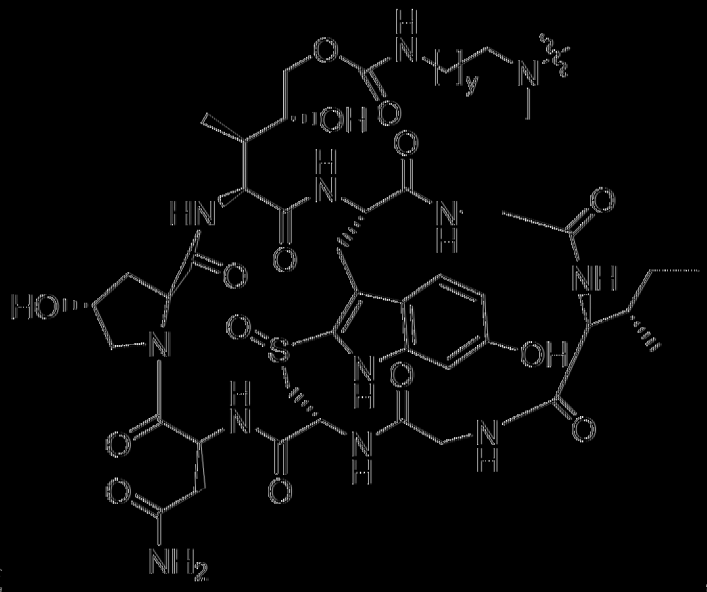








、



SEQ ID NO:26，或 SEQ ID NO:27，

其中y為1至10；及

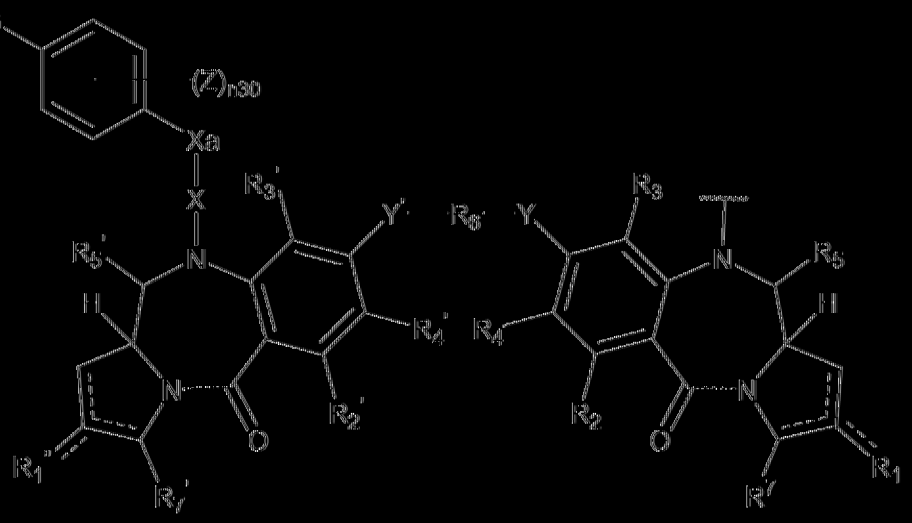
波浪線表示與結合物之連接。

[0129] 在某些實施例中，活性劑為吡咯并苯并二氮呯二聚體；該吡咯并苯并二氮呯二聚體在N10位置經X取代，或在N'10位置經X'取代，其中X或X'將該吡咯并苯并二氮呯二聚體連接至連接子；

X及X'各自獨立地為 C(O)O *或 C(O) *；及

*為該吡咯并苯并二氮呯二聚體與該連接子之間的結合位。

[0130] 在某些較佳實施例中，吡咯并苯并二氮呯二聚體由式III表示：



III

其中

波浪線表示與結合物之連接點(例如式IIa之羰基連接至B')；

虛線表示視情況存在之雙鍵；

R_1及R_1'各獨立地選自H、OH、=O、=CH_2、CN、R^m、OR^m、=CH-$R^{m'}$、$C(R^{m'})_2$、O-SO_2-R^m、CO_2R^m、COR^m、鹵基及-鹵基；

$R^{m'}$係選自R^m、CO_2R^m、COR^m、CHO、CO_2H及鹵基；

R^m係選自經取代或未經取代之C_{1-12}烷基、經取代或未經取代之C_{2-12}烯基、經取代或未經取代之C_{2-12}炔基、經取代或未經取代之C_{5-20}芳基、經取代或未經取代之C_{3-6}雜芳基、經取代或未經取代之C_{3-6}環烷基、經取代或未經取代之3至7員雜環基、經取代或未經取代之3至7員雜環烷基及經取代或未經取代之5至7員雜芳基，其中當該C_{1-12}烷基、C_{2-12}烯基、C_{2-12}炔基、C_{5-20}芳基、C_{5-20}雜芳基、C_{3-6}環烷基、3至7員雜環基、3至7員雜環烷基或5至7員雜芳基經取代時，該C_{1-12}烷基、C_{2-12}烯基、C_{2-12}炔基、C_{5-20}芳基、C_{5-20}雜芳基、C_{3-6}環烷基、3至7員雜環基、3至7員雜環烷基或5至7員雜芳基中之各別氫原子可各自獨立地經甲氧基、C_{1-12}烷基、C_{2-12}烯基、C_{2-12}炔基、C_{5-20}芳基、C_{5-20}雜芳基、C_{3-6}環烷基、3至7員雜環基、3

至7員雜環烷基及5至7員雜芳基置換；

R_2、R_3、R_5、R_2'、R_3'及R_5'各獨立地選自H、R^m、OH、OR^m、SH、SR^m、NH_2、NHR^m、$NR^mR^{m'}$、NO_2、Me_3Sn及鹵基；

R_4及R_4'各自獨立地選自H、R^m、OH、OR^m、SH、SR^m、NH_2、NHR^m、$NR^mR^{m'}$、NO_2、Me_3Sn,鹵基、經取代或未經取代之C_{1-6}烷基、經取代或未經取代之C_{1-6}烷氧基、經取代或未經取代之C_{2-6}烯基、經取代或未經取代之C_{2-6}炔基、經取代或未經取代之C_{3-6}環烷基、經取代或未經取代之3至7員雜環烷基、經取代或未經取代之C_{5-12}芳基、經取代或未經取代之5至7員雜芳基、-CN、-NCO、$-OR^n$、$-OC(O)R^n$、$-OC(O)NR^nR^{n'}$、$-OS(O)R^n$、$-OS(O)_2R^n$、$-SR^n$、$-S(O)R^n$、$-S(O)_2R^n$、$-S(O)NR^nR^{n'}$、$-S(O)_2NR^nR^{n'}$、$-OS(O)NR^nR^{n'}$、$-OS(O)_2NR^nR^{n'}$、$-NR^nR^{n'}$、$-NR^nC(O)R^o$、$-NR^nC(O)OR^o$、$-NR^nC(O)NR^oR^{o'}$、$-NR^nS(O)R^o$、$-NR^nS(O)_2R^o$、$-NR^nS(O)NR^oR^{o'}$、$-NR^nS(O)_2NR^oR^{o'}$、$-C(O)R^n$、$-C(O)OR^n$及$-C(O)NR^nR^{n'}$，其中該C_{1-6}烷基、C_{1-6}烷氧基、C_{2-6}烯基、C_{2-6}炔基、C_{3-6}環烷基、3至7員雜環烷基、C_{5-12}芳基及5至7員雜芳基中之氫原子可各自獨立地經C_{1-6}烷基、C_{1-6}烷氧基、C_{2-6}烯基、C_{2-6}炔基、C_{3-6}環烷基、3至7員雜環烷基、C_{5-12}芳基、5至7員雜芳基、$-OR^p$、$-OC(O)R^p$、$-OC(O)NR^pR^{p'}$、$-OS(O)R^p$、$-OS(O)_2R^p$、$-SR^p$、$-S(O)R^p$、$-S(O)_2R^p$、$-S(O)NR^pR^{p'}$、$-S(O)_2NR^pR^{p'}$、$-OS(O)NR^pR^{p'}$、$-OS(O)_2NR^pR^{p'}$、$-NR^pR^{p'}$、$-NR^pC(O)R^q$、$-NR^pC(O)OR^q$、$-NR^pC(O)NR^qH$、$-NR^pS(O)R^q$、$-NR^pS(O)_2R^q$、$-NR^pS(O)NR^qH$、$-NR^pS(O)_2NR^qH$、$-C(O)R^p$、$-C(O)OR^p$或$-C(O)NR^pR^p$置換，當該C_{1-6}烷基、C_{1-6}烷氧基、C_{2-6}烯基、C_{2-6}炔基、C_{3-6}環烷基、3至7員雜環烷基、C_{5-12}芳基及5至7員雜芳基；

R^n、$R^{n'}$、R^o、$R^{o'}$、R^p、$R^{p'}$及R^q各自獨立地選自H、C_{1-7}烷基、C_{2-7}烯基、C_{2-7}炔基、C_{3-13}環烷基、3至7員雜環烷基、C_{6-10}芳基及5至7員雜芳基；

X係選自-C(O)O-、-S(O)O-、-C(O)-、-C(O)NR-、-$S(O)_2$NR-、-P(O)R'NR-、-S(O)NR-及-PO_2NR-；

Xa為一鍵或經取代或未經取代之C_{1-6}伸烷基，其中C_{1-6}伸烷基當經取代時係經C_{1-8}烷基或C_{3-8}環烷基取代；

R及R'各獨立地表示H、OH、NH_2、ONH_2、$NHNH_2$、經取代或未經取代之C_{1-8}烷基、經取代或未經取代之C_{3-8}環烷基、經取代或未經取代之C_{1-8}烷氧基、經取代或未經取代之C_{1-8}烷硫基、經取代或未經取代之C_{3-20}雜芳基、經取代或未經取代之C_{5-20}芳基或單-C_{1-8}烷胺基或二-C_{1-8}烷胺基，其中該C_{1-8}烷基、C_{3-8}環烷基、C_{1-8}烷氧基、C_{1-8}烷硫基、C_{3-20}雜芳基及C_{5-20}芳基當經取代時係經選自OH、N_3、CN、NO_2、SH、NH_2、ONH_2、$NHNH_2$,鹵基、C_{1-6}烷基、C_{1-6}烷氧基及C_{6-12}芳基之取代基取代；

Y及Y'各自獨立地選自O、S及N(H)；

R_6為經取代或未經取代之飽和或不飽和C_{3-12}烴鏈，其中該鏈可間雜有一或多個雜原子、NMe或經取代或未經取代之芳環，該鏈或芳環可在該鏈或芳環上之任一或多個氫原子位置處經-NH、-NR^m、-NHC(O)R^m、-NHC(O)CH_2-[OCH_2CH_2]$_n$-R或-[CH_2CH_2O]$_n$-R取代或未經取代，其中R^m及R各自如上文關於R^m及R所定義，且n為1至12；及

R_7及R_7'各自獨立地為H、經取代或未經取代之C_{1-6}烷基、經取代或未經取代之C_{2-6}烯基、經取代或未經取代之C_{2-6}炔基、經取代或未經取代之C_{3-6}環烷基、經取代或未經取代之3至7員雜環烷基、經取代或未經取代之

C_{6-10}芳基、經取代或未經取代之5至7員雜芳基、-OR^{r}、-$OC(O)R^{r}$、-$OC(O)NR^{r}R^{r'}$、-$OS(O)R^{r}$、-$OS(O)_2R^{r}$、-SR^{r}、-$S(O)R^{r}$、-$S(O)_2R^{r}$、-$S(O)NR^{r}R^{r'}$、-$S(O)_2NR^{r}R^{r'}$、-$OS(O)NR^{r}R^{r'}$、-$OS(O)_2NR^{r}R^{r'}$、-$NR^{r}R^{r'}$、-$NR^{r}C(O)R^{s}$、-$NR^{r}C(O)OR^{s}$、-$NR^{r}C(O)NR^{s}R^{s'}$、-$NR^{r}S(O)R^{s}$、-$NR^{r}S(O)_2R^{s}$、-$NR^{r}S(O)NR^{s}R^{s'}$、-$NR^{r}S(O)_2NR^{s}R^{s}$、-$C(O)R^{r}$、-$C(O)OR^{s}$或-$C(O)NR^{r}R^{r'}$，其中該C_{1-6}烷基、C_{2-6}烯基、C_{2-6}炔基、C_{3-6}環烷基、3至7員雜環烷基、C_{6-10}芳基及5至7員雜芳基中之氫原子可各自獨立地經C_{1-6}烷基、C_{2-6}烯基、C_{2-6}炔基、C_{3-6}環烷基、3至7員雜環烷基、C_{6-10}芳基、5至7員雜芳基、-OR^{t}、-$OC(O)R^{t}$、-$OC(O)NR^{t}R^{t'}$、-$OS(O)R^{t}$、-$OS(O)_2R^{t}$、-SR^{t}、-$S(O)R^{t}$、-$S(O)_2R^{t}$、-$S(O)NR^{t}R^{t'}$、-$S(O)_2NR^{t}R^{t'}$、-$OS(O)NR^{t}R^{t'}$、-$OS(O)_2NR^{t}R^{t'}$、-$NR^{t}R^{t'}$、-$NR^{t}C(O)R^{u}$、-$NR^{t}C(O)OR^{u}$、-$NR^{t}C(O)NR^{u}R^{u'}$、-$NR^{t}S(O)R^{u}$、-$NR^{t}S(O)_2R^{u}$,-$NR^{t}S(O)NR^{u}R^{u'}$、-$NR^{t}S(O)_2NR^{u}R^{u'}$、-$C(O)R^{t}$、-$C(O)OR^{t}$或-$C(O)NR^{t}R^{t'}$置換；

R^{r}、$R^{r'}$、R^{s}、$R^{s'}$、R^{t}、$R^{t'}$、R^{u}及$R^{u'}$各自獨立地選自H、C_{1-7}烷基、C_{2-7}烯基、C_{2-7}炔基、C_{3-13}環烷基、3至7員雜環烷基、C_{5-10}芳基及5至7員雜芳基；

G為葡糖苷酸基團或半乳糖苷基團；

各Z係選自H、C_{1-8}烷基、鹵基、NO_2、CN、 及；

R_9、R_{10}及R_{16}各自獨立地選自H、C_{1-8}烷基、C_{2-6}烯基、C_{1-6}烷氧基、烷氧基烷基及甲氧基乙基；及

n30為1至3。

〔0131〕在某些實施例中，虛線表示攜帶R_1及R_7或R_1及R_7的碳之

間存在雙鍵。

【0132】在某些實施例中，R_1為R^m且R^m係選自經取代或未經取代之C_{1-6}烷基、經取代或未經取代之C_{2-6}烯基、經取代或未經取代之C_{5-7}芳基及經取代或未經取代之C_{3-6}雜芳基。

【0133】在某些實施例中，R_2、R_3及R_5各自獨立地為H或OH。

【0134】在某些實施例中，R_4為C_{1-6}烷氧基。

【0135】在某些實施例中，R_4為甲氧基、乙氧基或丁氧基。

【0136】在某些實施例中，X係選自-C(O)O-、-C(O)-及-C(O)NR-；以及

R各自獨立地表示H、OH、N_3、CN、NO_2、SH、NH_2、ONH_2、$NHNH_2$、鹵基、經取代或未經取代之C_{1-8}烷基或經取代或未經取代之C_{1-8}烷氧基，其中C_{1-8}烷基或C_{1-8}烷氧基當經取代時係經OH、N_3、CN、NO_2、SH、NH_2、ONH_2、NNH_2或鹵基取代。

【0137】在某些實施例中，X為-C(O)NR-。

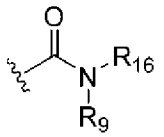
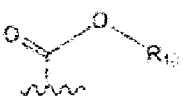
【0138】在某些實施例中，R_6為經取代或未經取代之飽和或不飽和C_{3-8}烴鏈，其中

該烴鏈之一或多個碳原子經雜原子或經取代或未經取代之芳環置換，其中該雜原子為O、S或N(H)且該芳環為苯、吡啶、咪唑或吡唑，且該鏈或芳環可在該鏈或芳環上之任一或多個氫原子位置處經-$NHC(O)CH_2$-$[OCH_2CH_2]_n$-R或-$[CH_2CH_2O]_n$-R取代；及

n為1至6。

【0139】在某些實施例中，n為1至10。

【0140】在某些實施例中，Xa為一鍵或C_{1-3}伸烷基。

【0141】在某些實施例中，Z為H、  及  ，其中R_9、R_{10}及R_{16}各自獨立地選自H、C_{1-3}烷基、C_{1-3}烷氧基及烷氧基甲基。

【0142】在某些實施例中，R_9為甲氧基烷基。

【0143】在某些實施例中，R_{10}為甲氧基烷基。

【0144】在某些實施例中，R_{16}為甲氧基烷基。

【0145】在某些實施例中，R_9、R_{10}或R_{16}為$-(CH_2CH_2O)_m-(CH_2)_{m2}CH_3$，另外其中m為1至6且m2為0至2。

【0146】在某些實施例中，R_2為H。

【0147】在某些實施例中，R_3為H。

【0148】在某些實施例中，R_7為H。

【0149】在某些實施例中，R_4為烷氧基(例如甲氧基)。

【0150】在某些實施例中，R_5為OH。

【0151】在某些實施例中，R_1為$=CH_2$、CH_3或苯基，視情況經甲氧基取代。

【0152】在某些實施例中，Y為O。

【0153】在某些實施例中，R_2'為H。

【0154】在某些實施例中，R_3'為H。

【0155】在某些實施例中，R_7'為H。

【0156】在某些實施例中，R_4'為烷氧基(例如甲氧基)。

【0157】在某些實施例中，R_5'為OH。

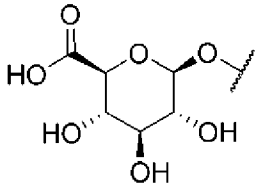
【0158】在某些實施例中，R_1'為$=CH_2$、CH_3或苯基，視情況經甲氧基取代。

【0159】在某些實施例中，Y'為O。

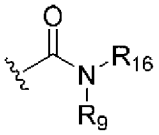
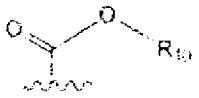
【0160】 在某些實施例中，X為-C(O)O-。

【0161】 在某些實施例中，Xa為CH_2。

【0162】 在某些實施例中，G為葡糖苷酸基團。

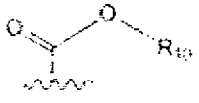
【0163】 在某些實施例中，G為  。

【0164】 在某些實施例中，n30為1。

【0165】 在某些實施例中，Z為  或  。

【0166】 在某些實施例中，R_9為H。

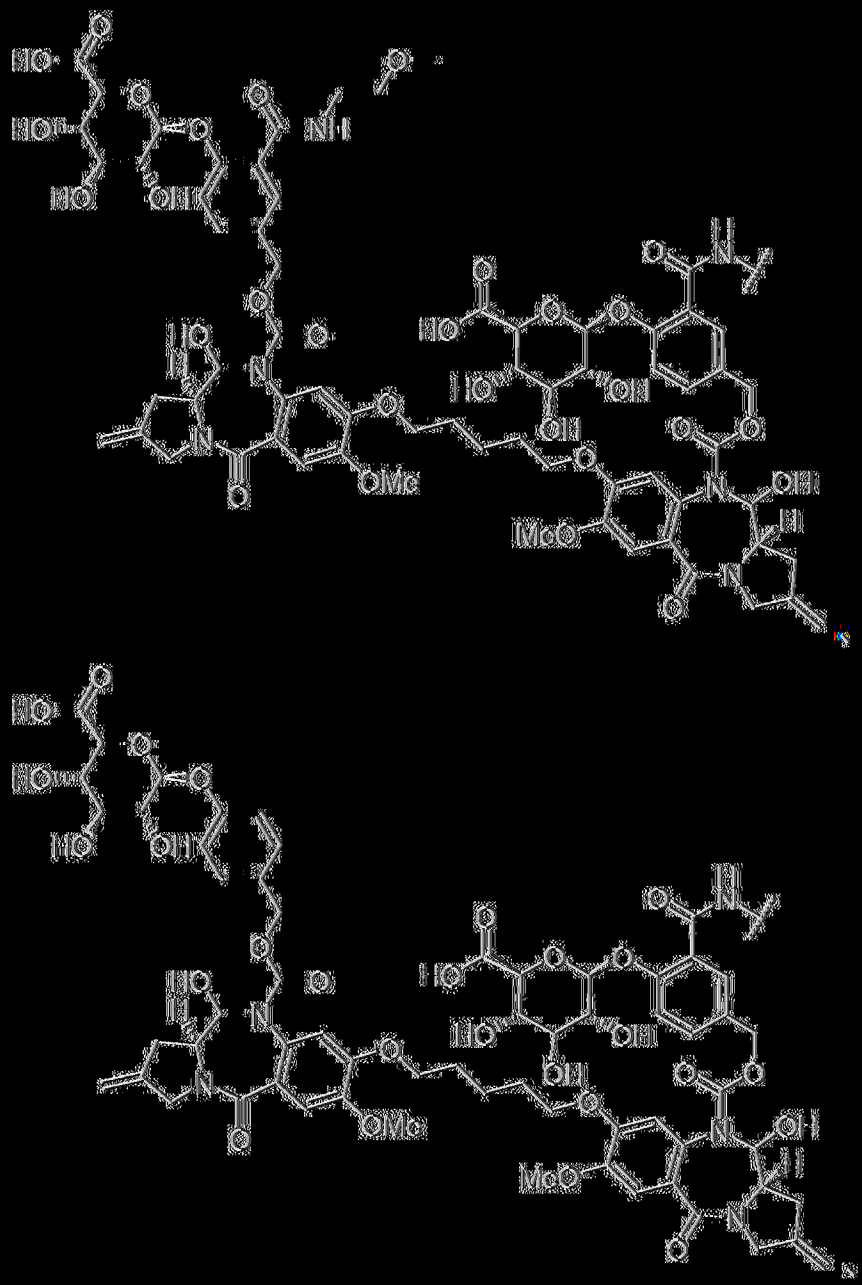
【0167】 在某些實施例中，R_{16}為烷氧基烷基(例如甲氧基乙基)。

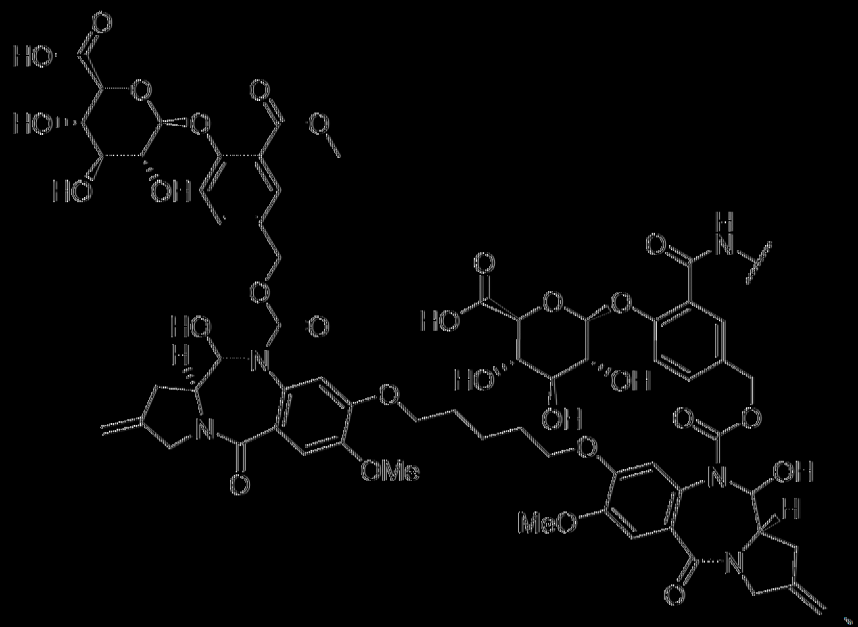
【0168】 在某些實施例中，Z為  。

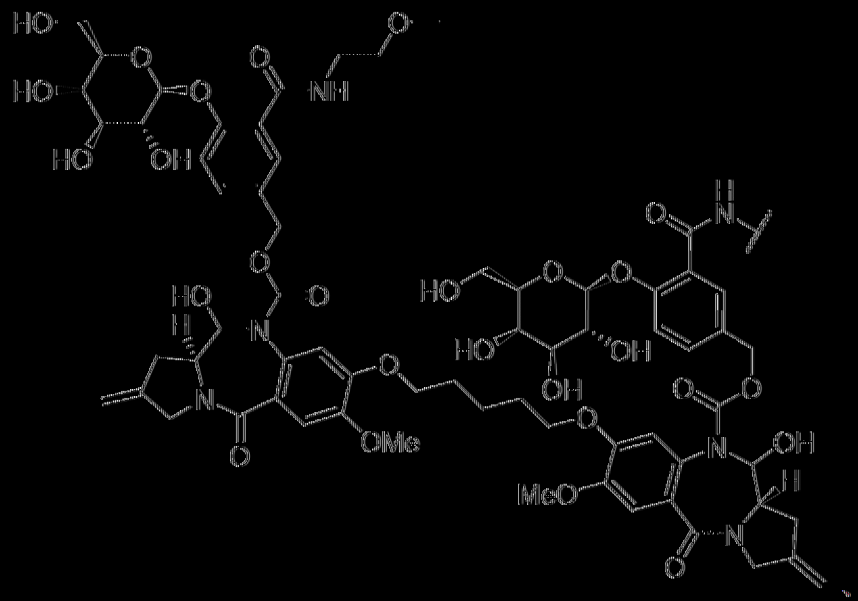
【0169】 在某些實施例中，R_{10}為烷基(例如甲基)。

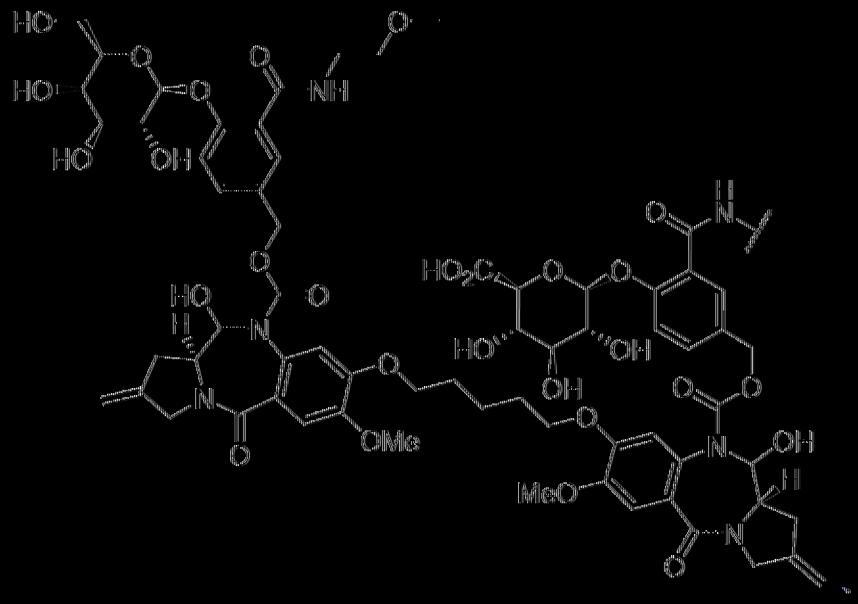
【0170】 在某些實施例中，R_6為烷基(例如戊基)。

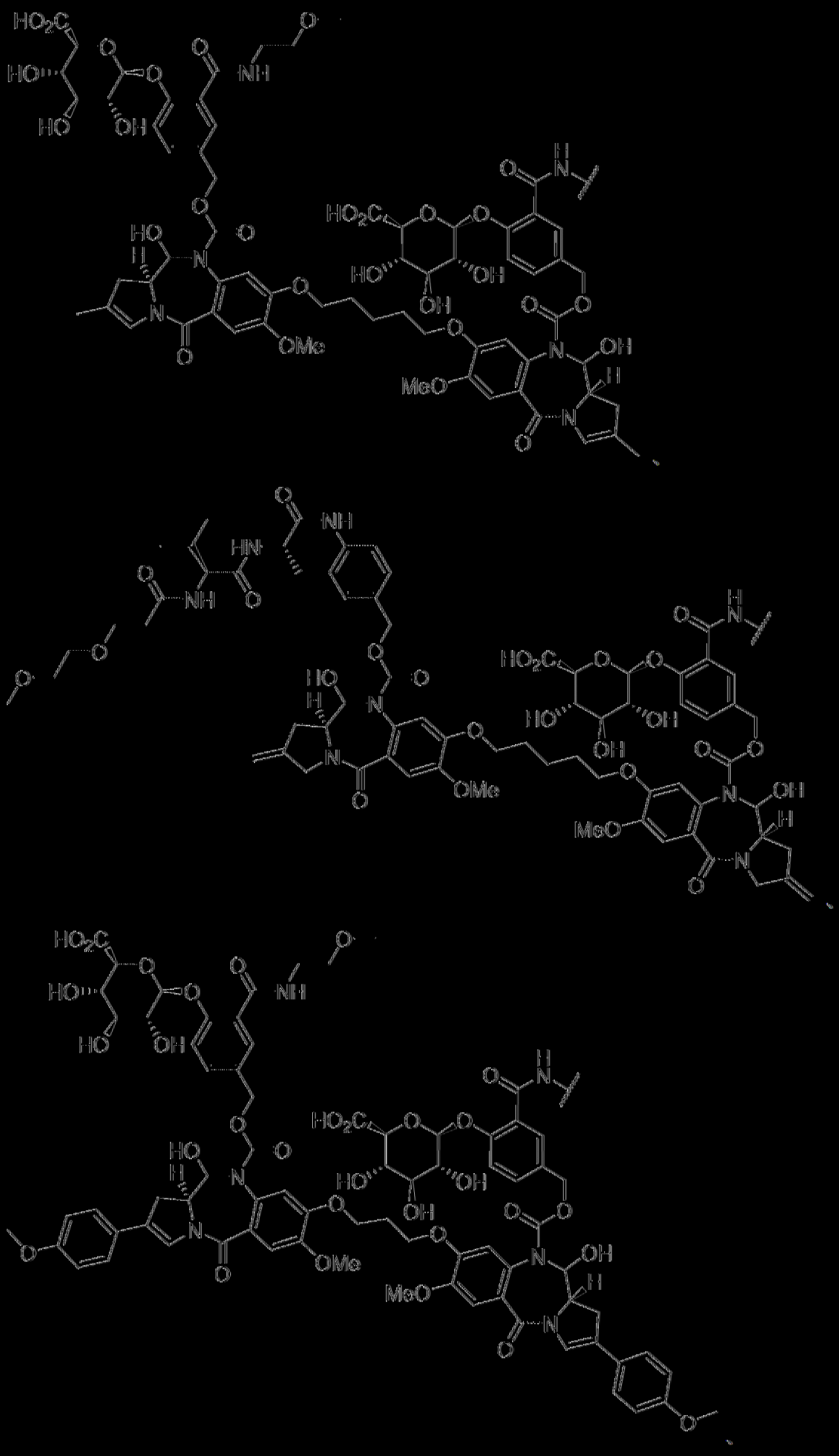
【0171】 在某些實施例中，結合物包含選自以下之結構：

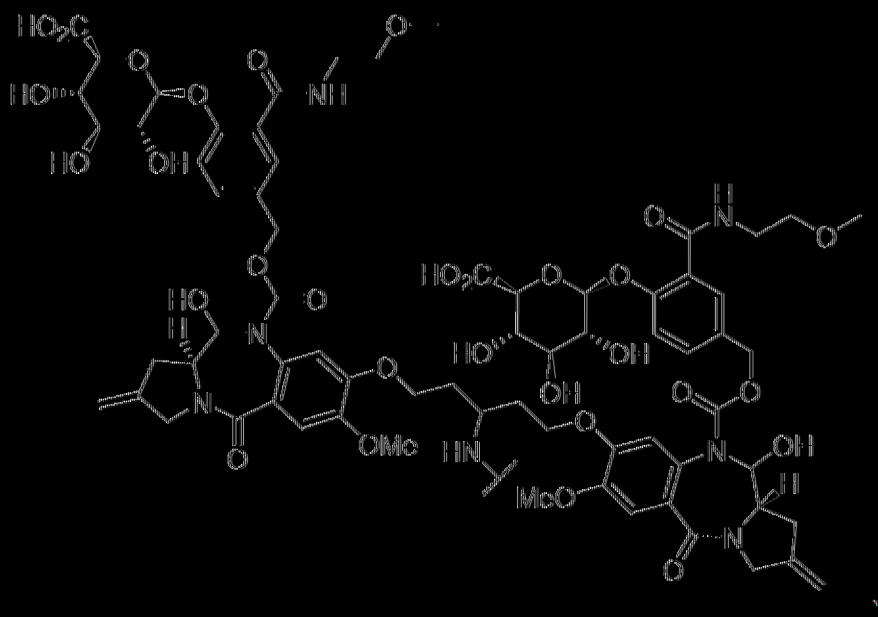


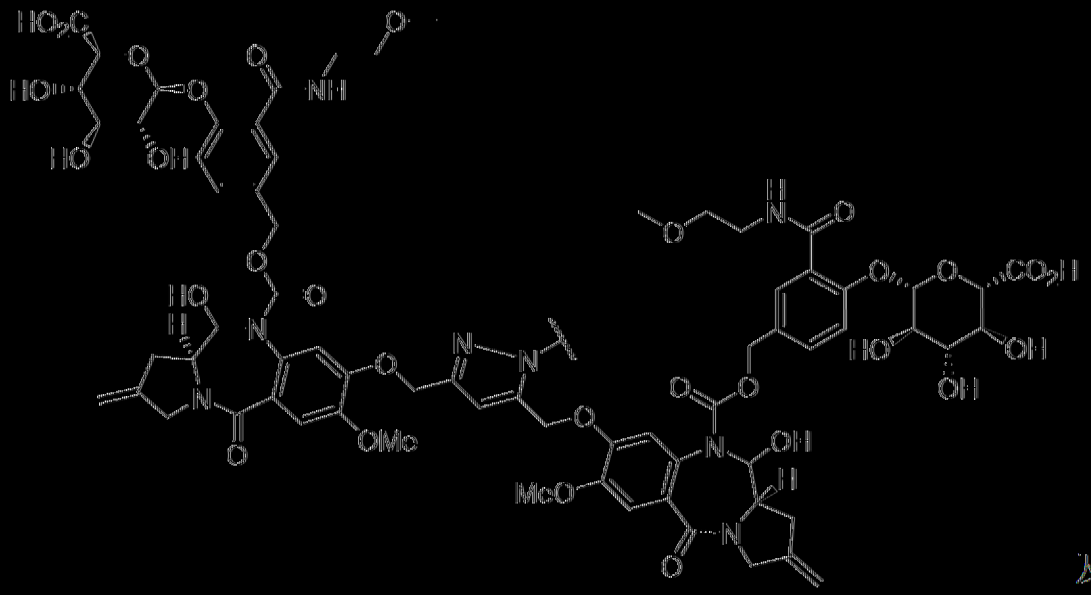




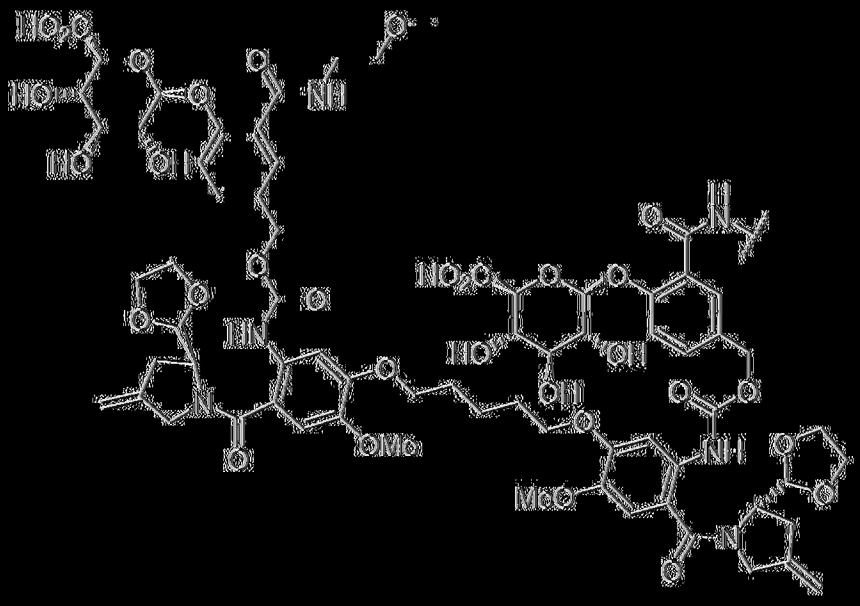








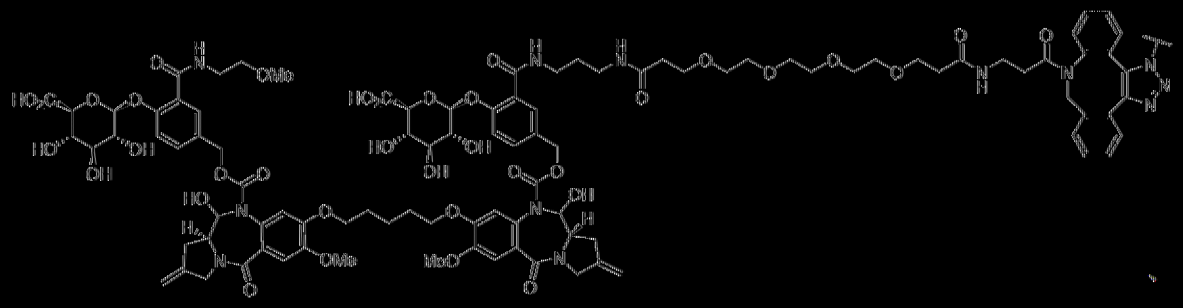
及

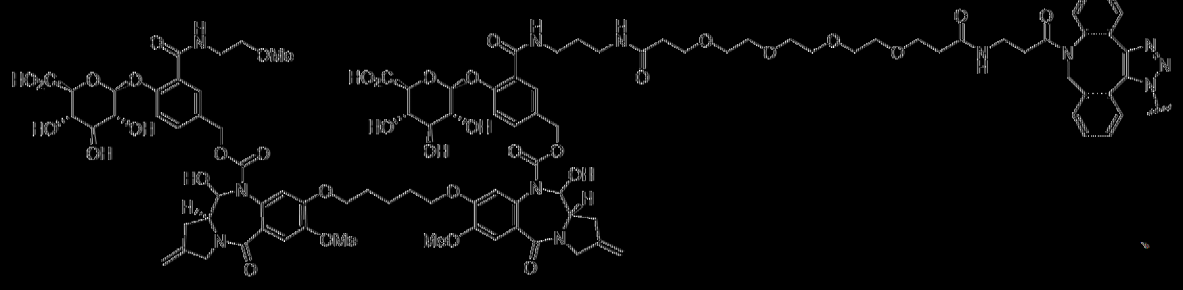


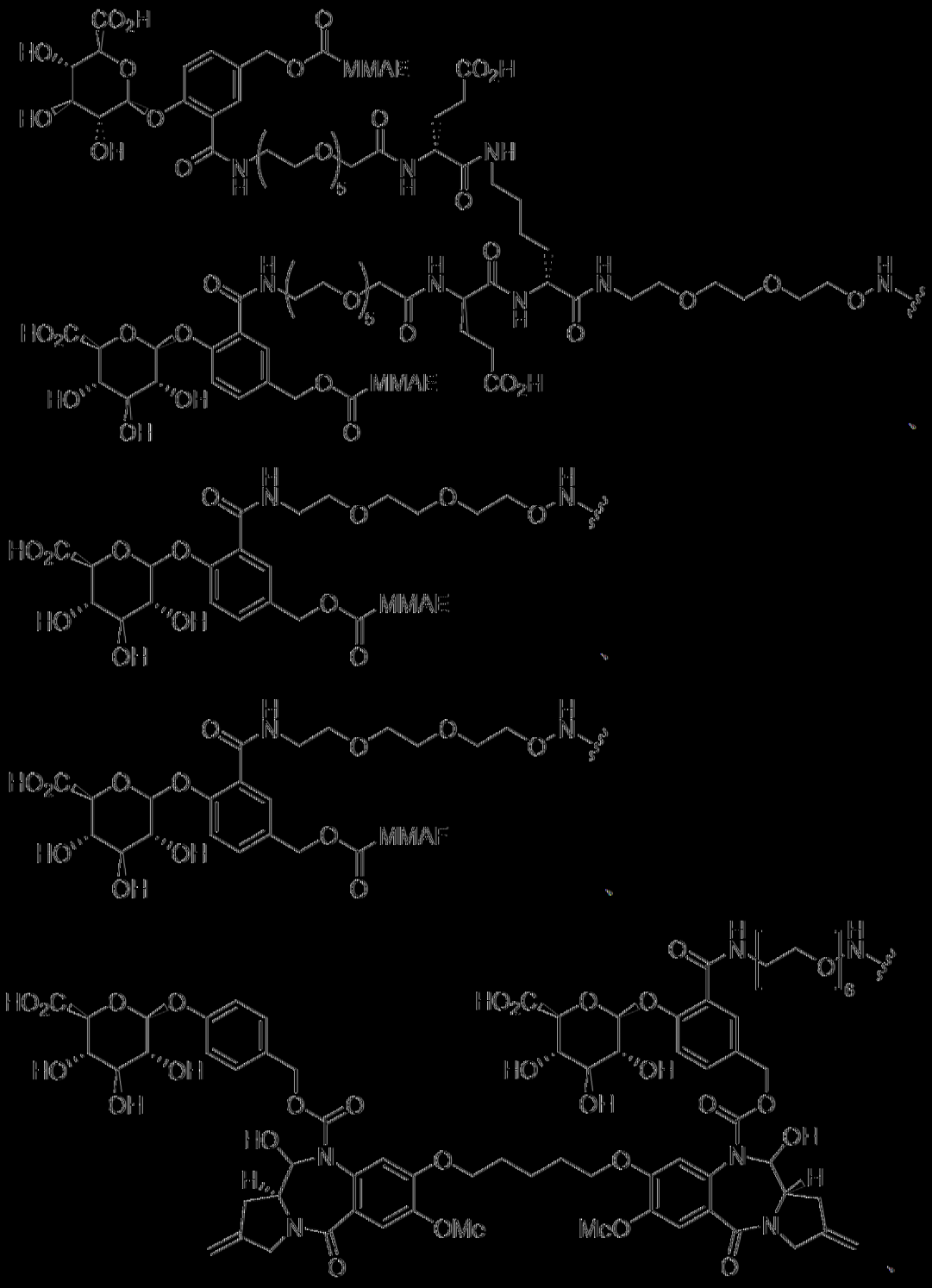
；其中與虛線重疊之鍵

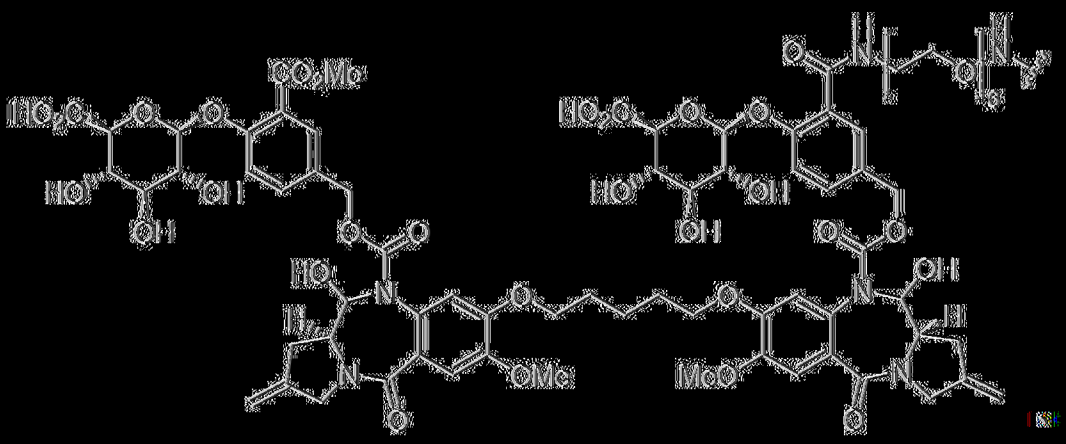
表示與L之連接點。

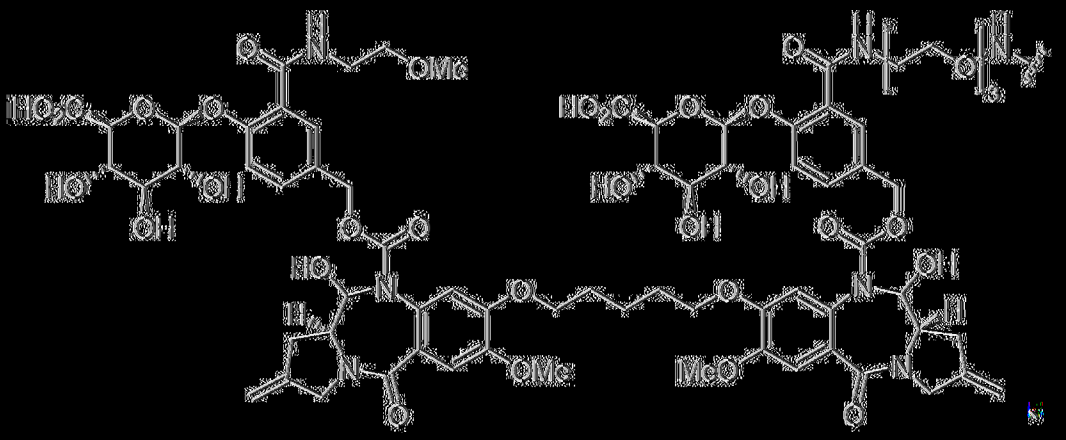
[0172] 在某些實施例中，結合物包含選自以下之結構：

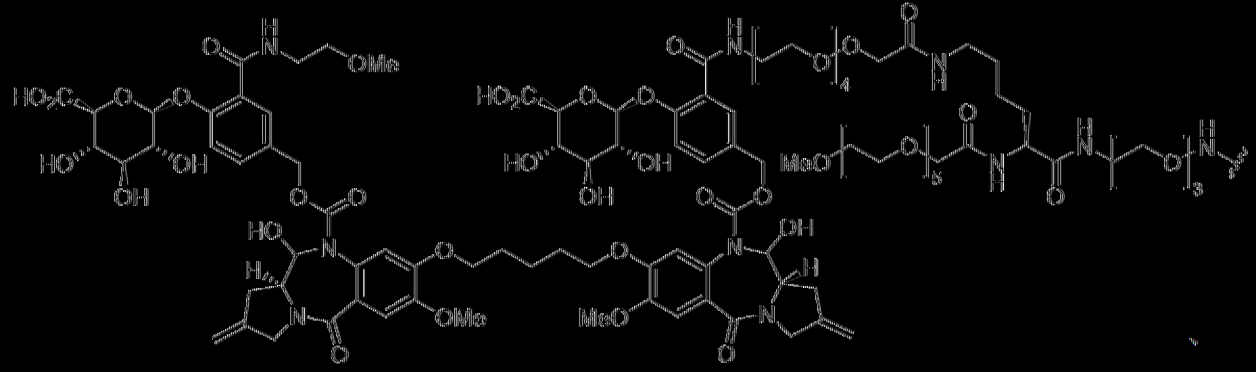


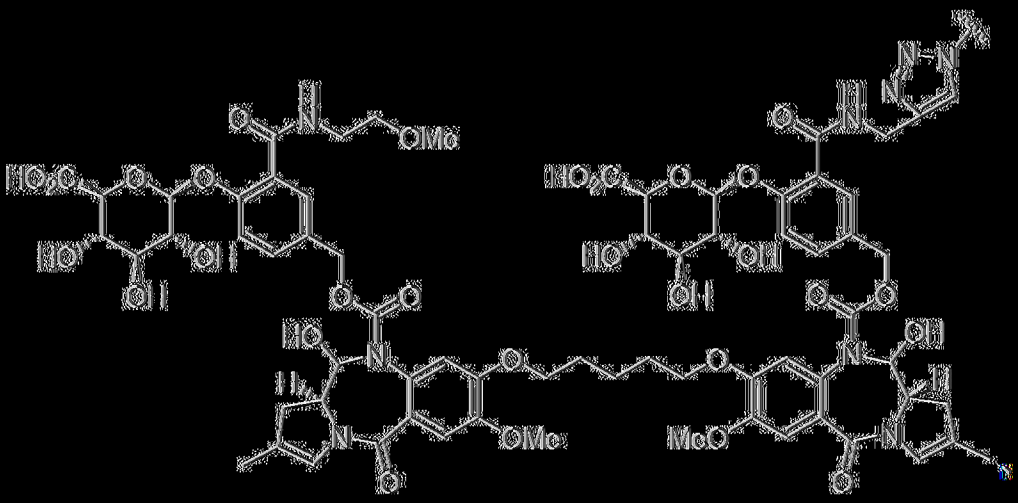


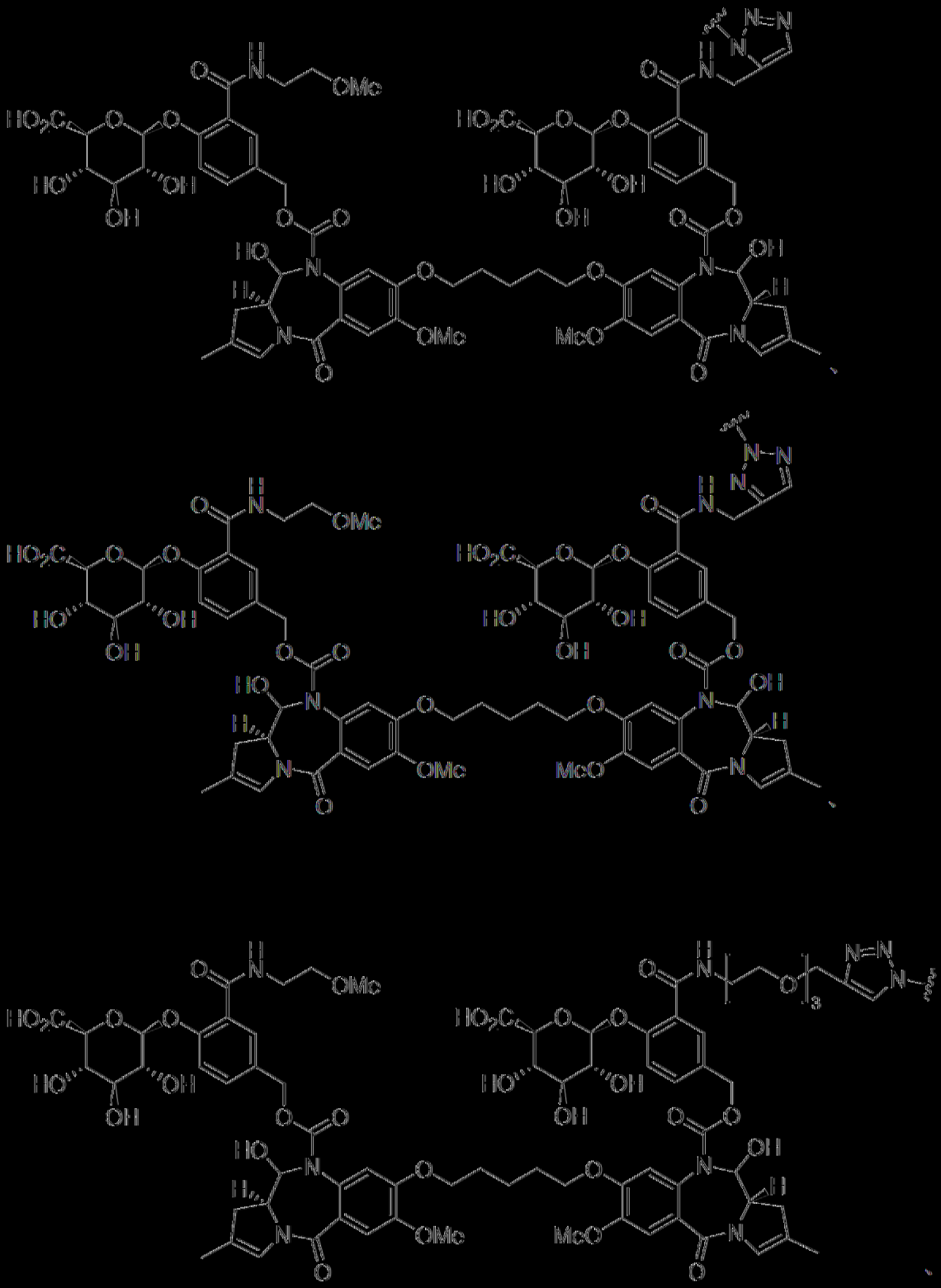

MMAE
MMAE
MMAE
MMAF
OMc
McO

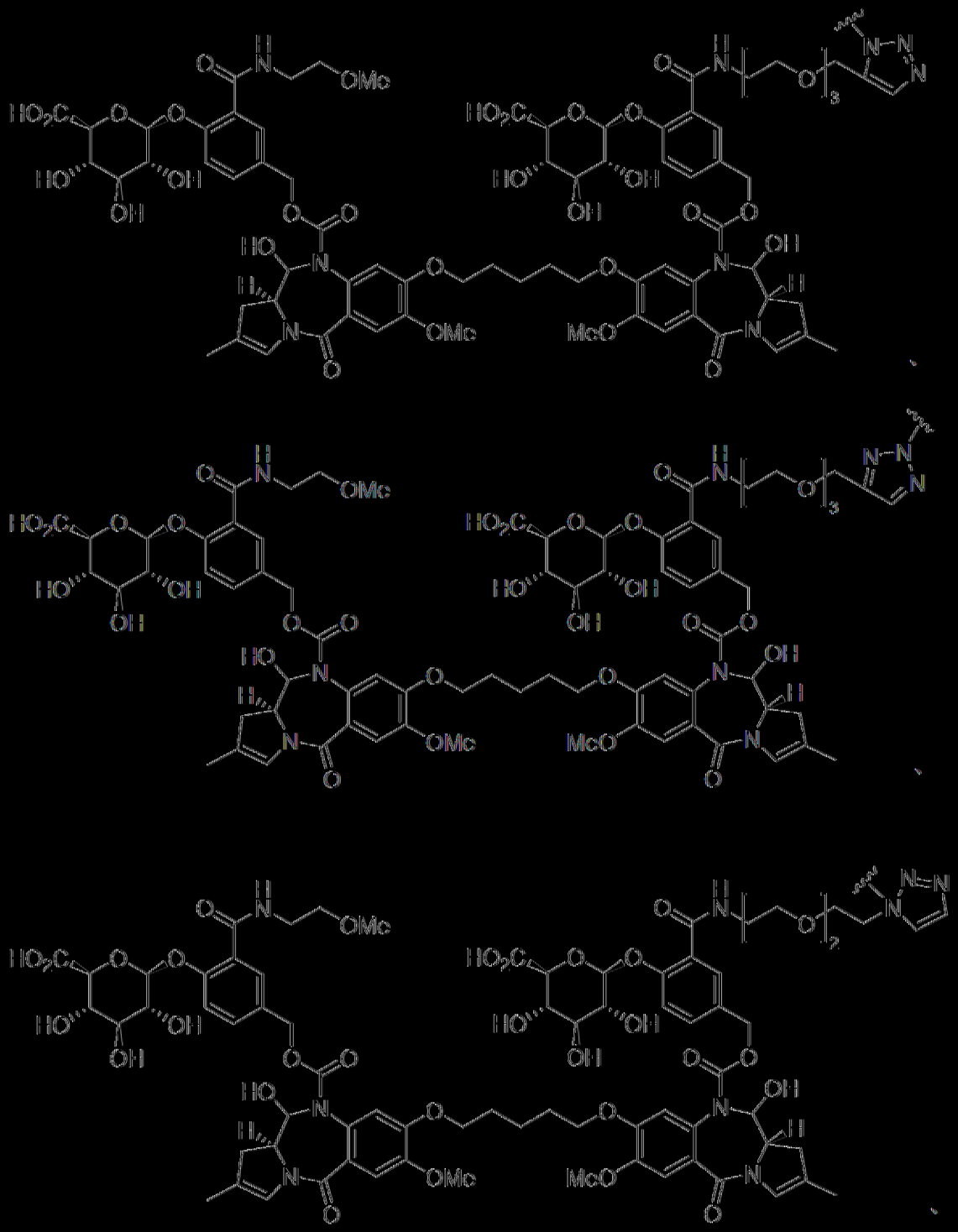


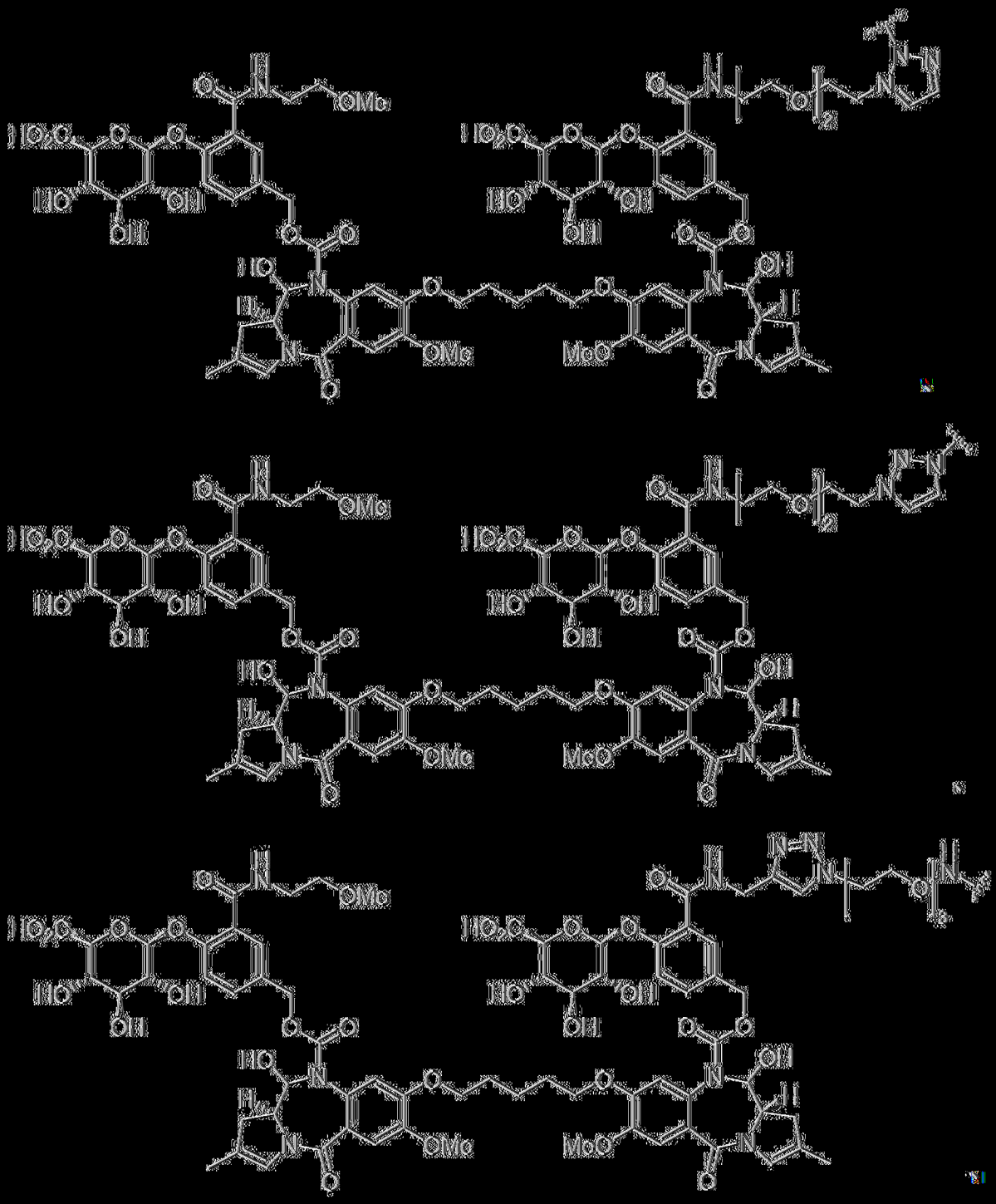


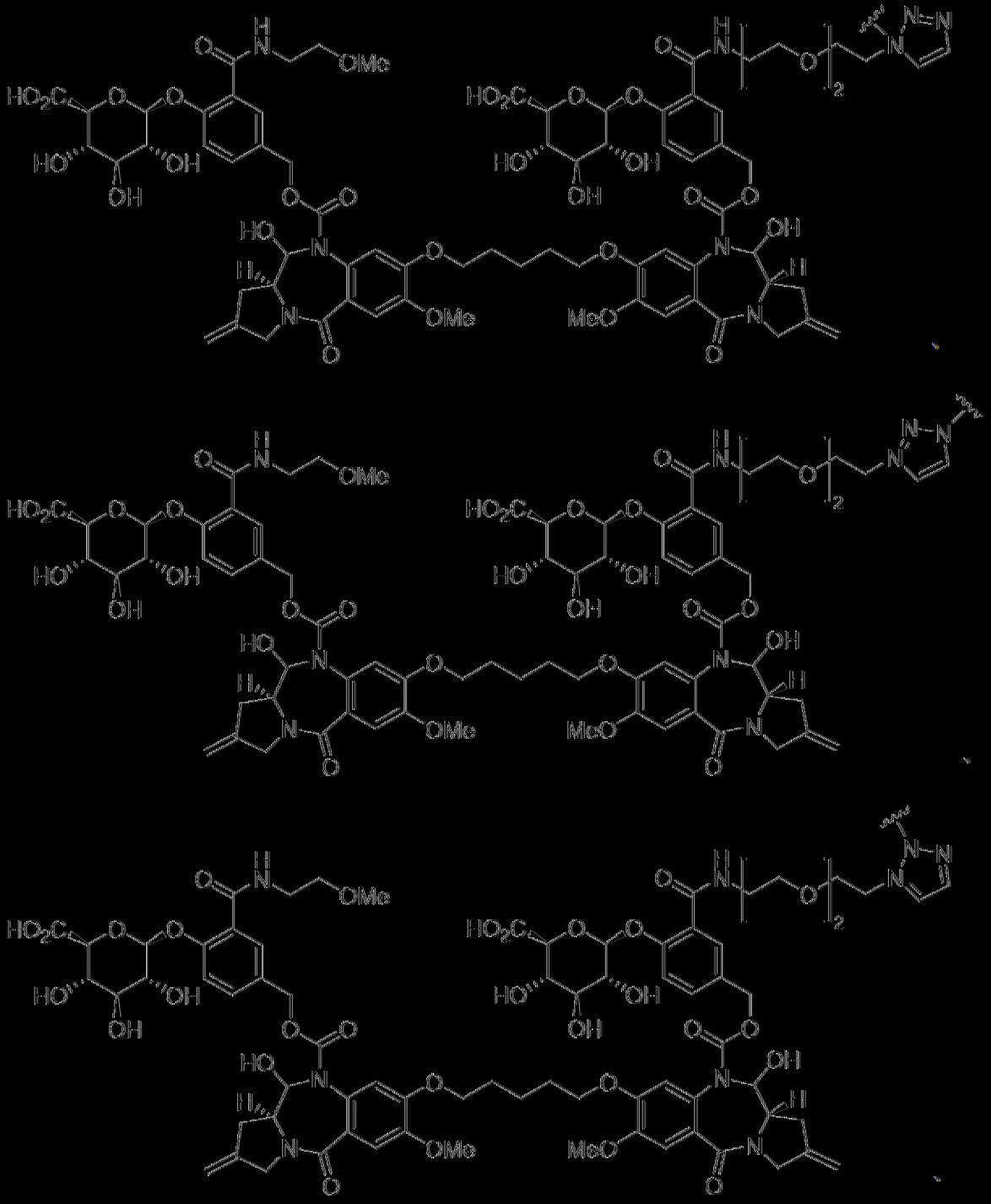


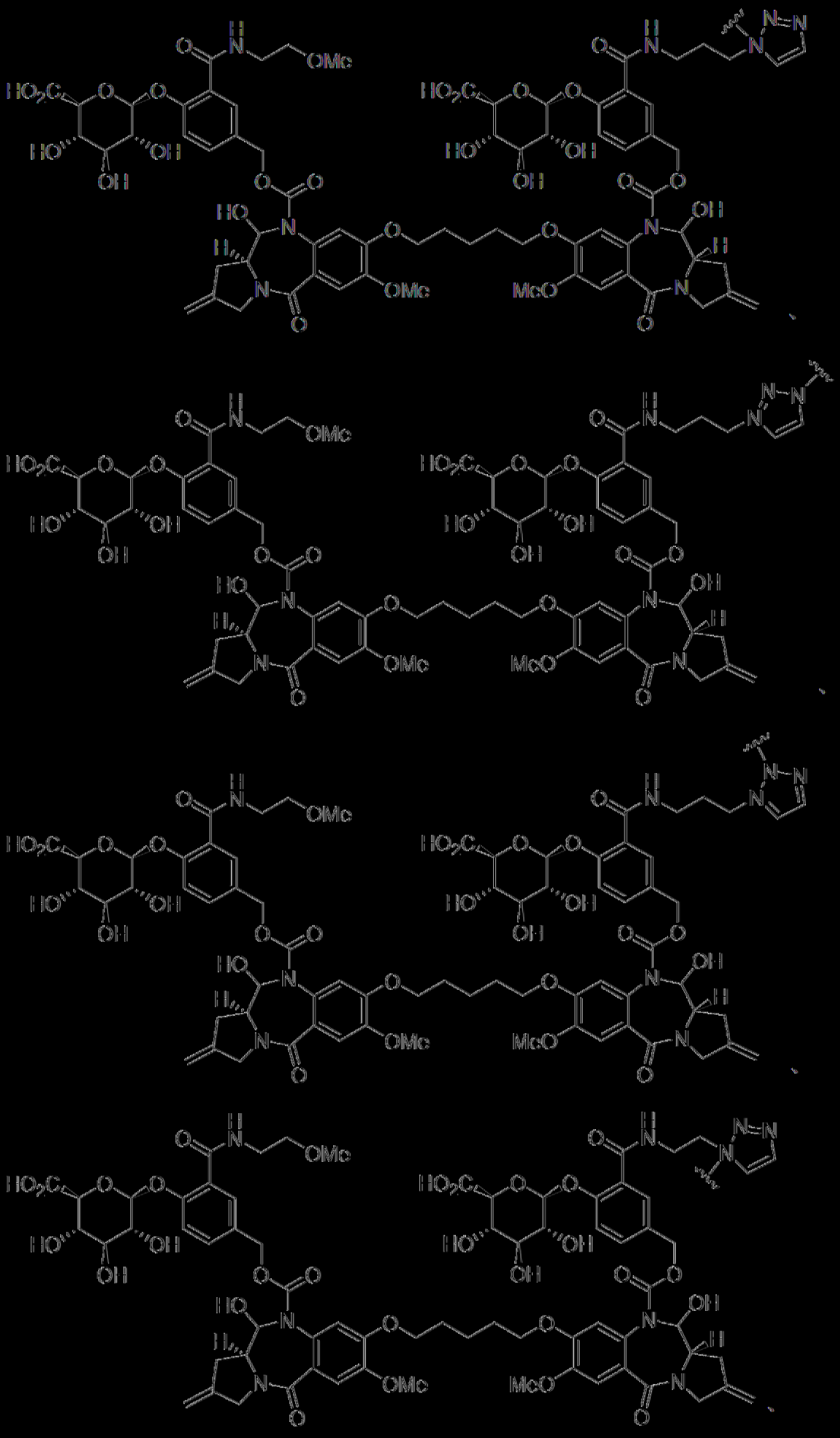


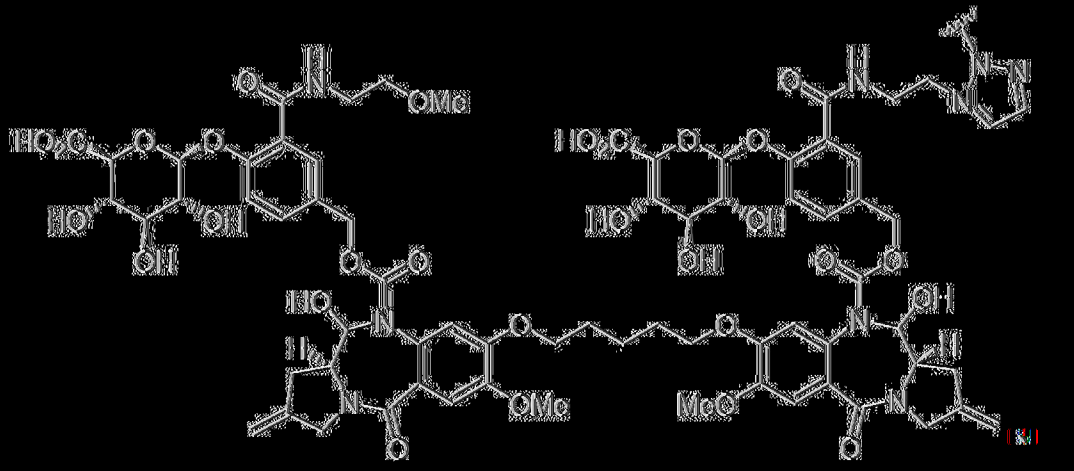


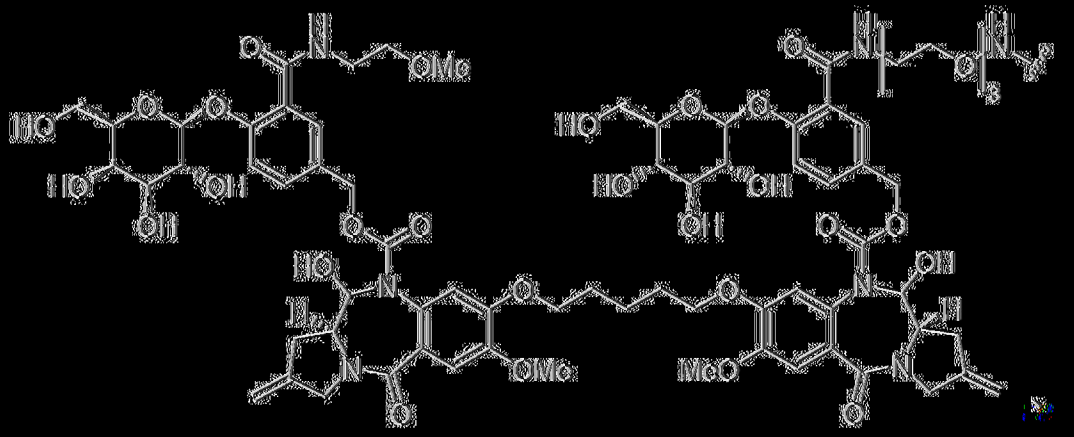


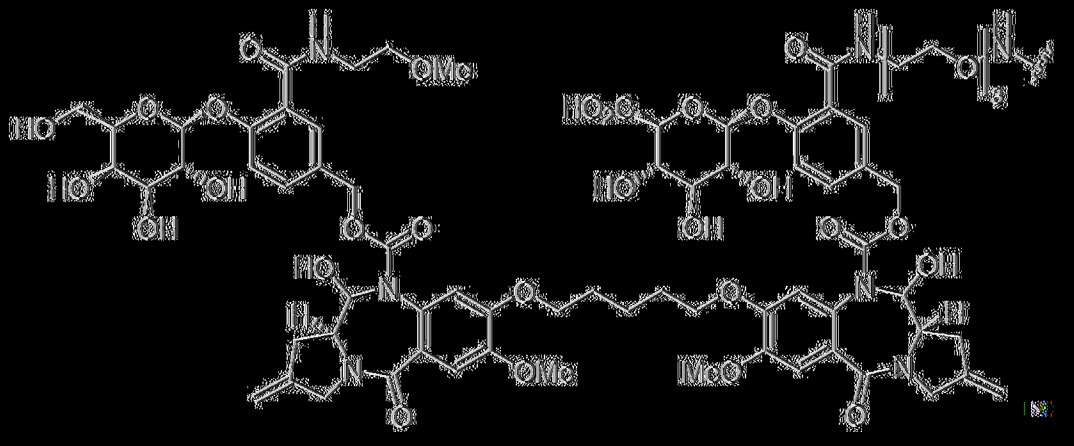


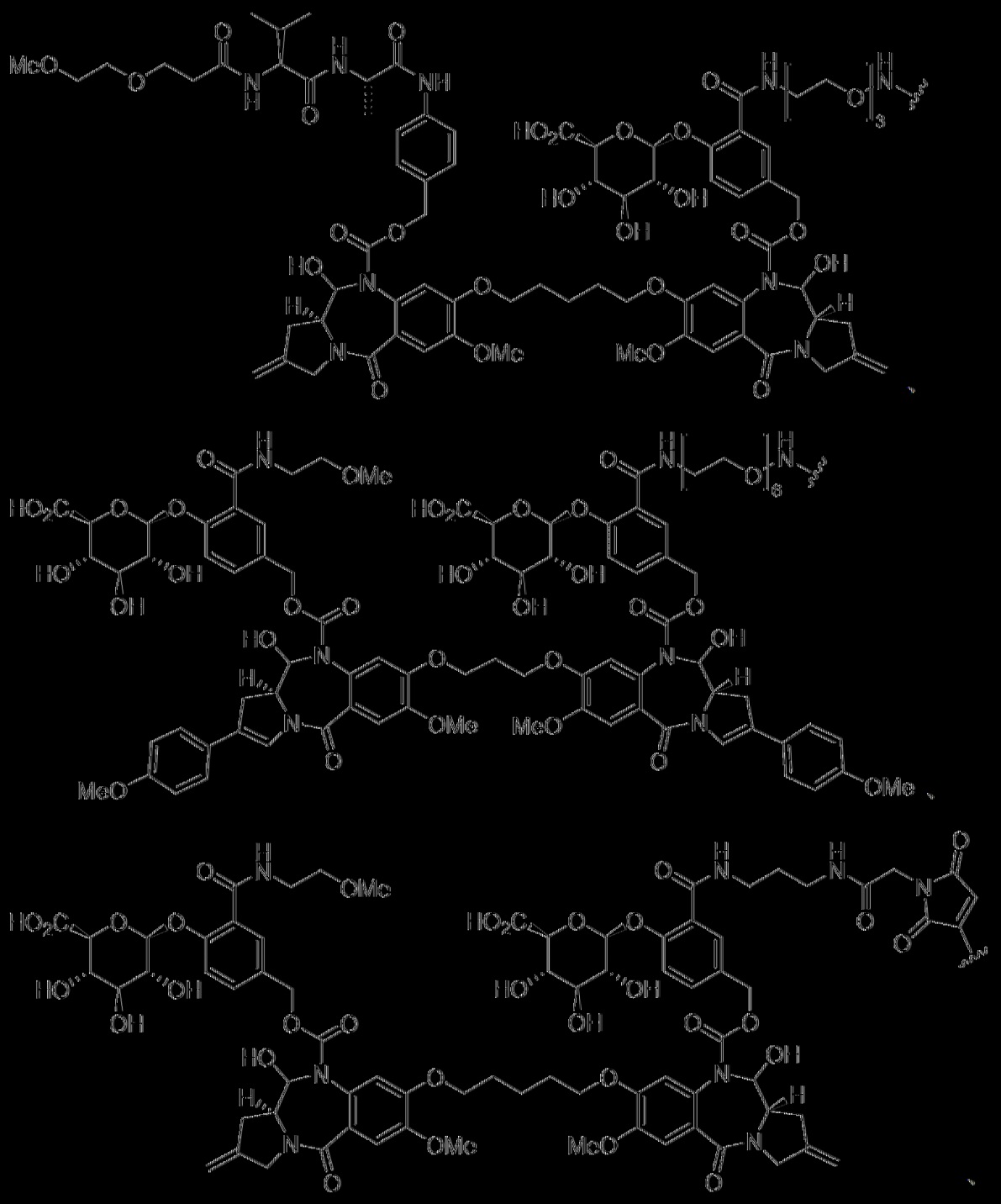


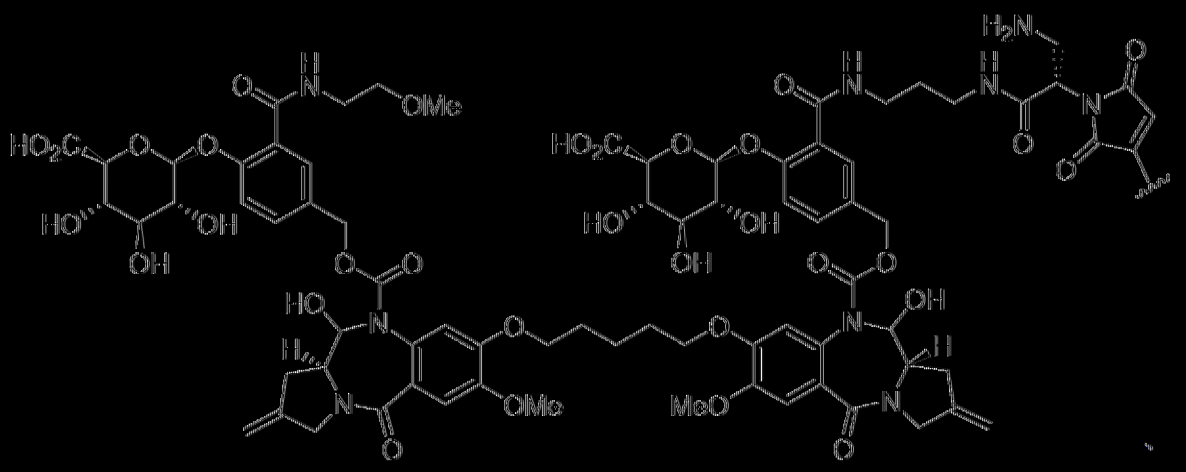




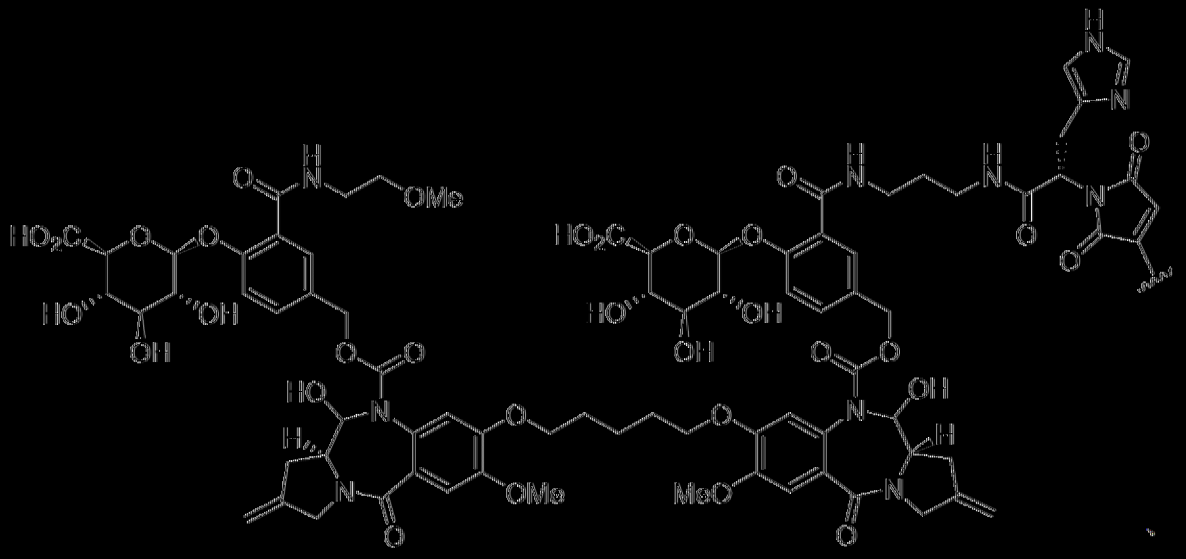




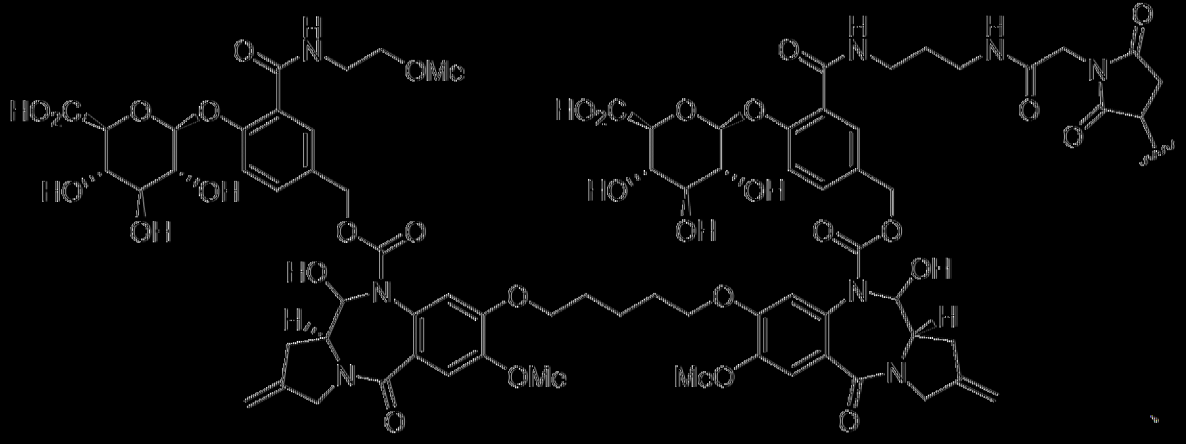




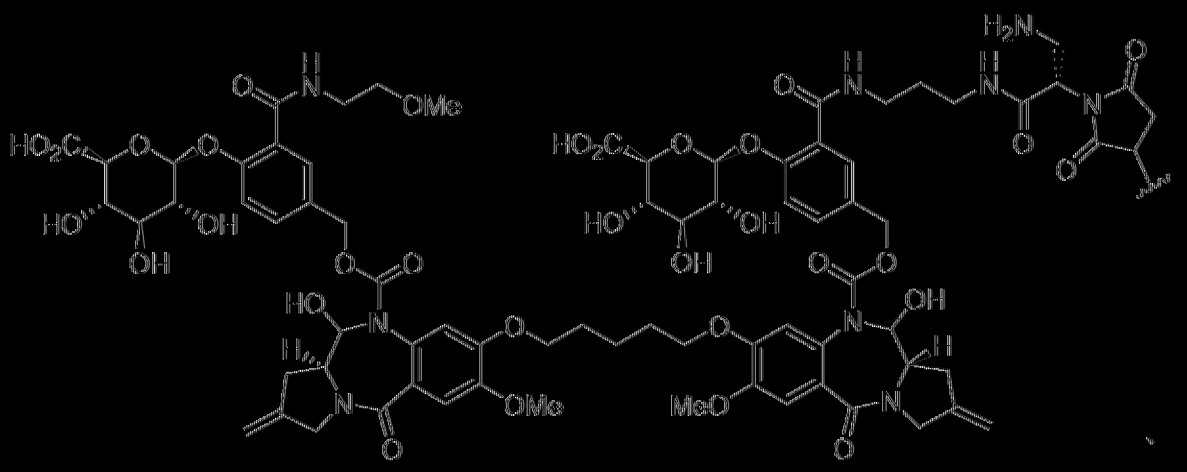
、

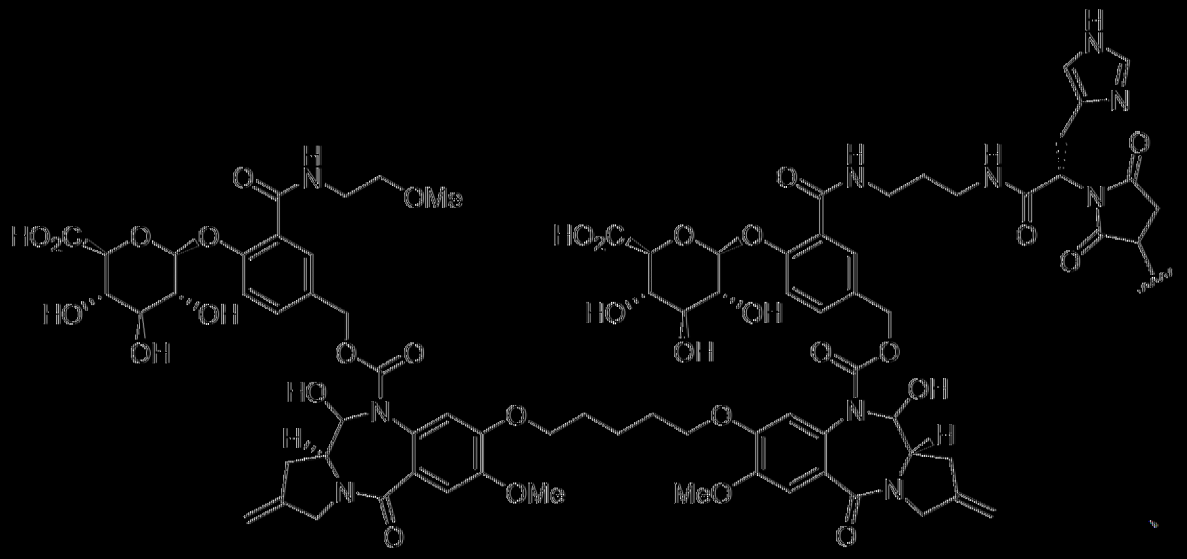


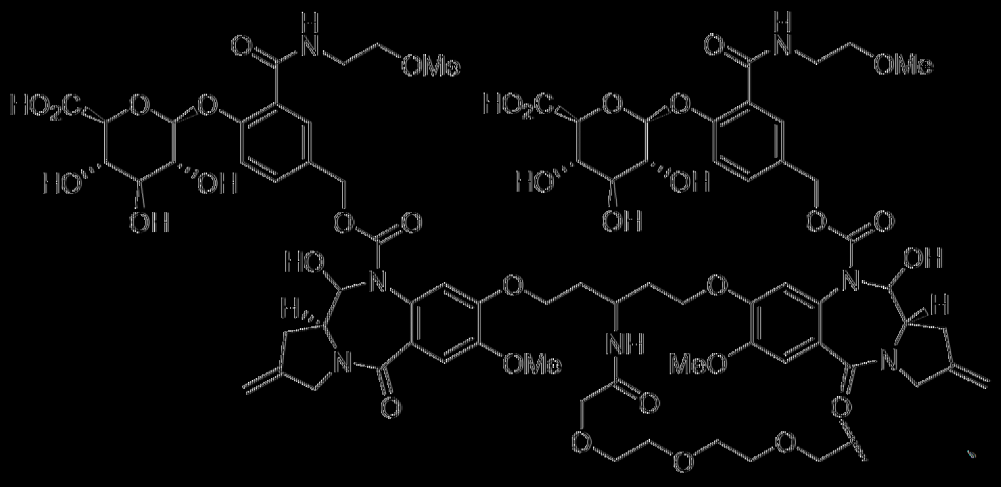
、

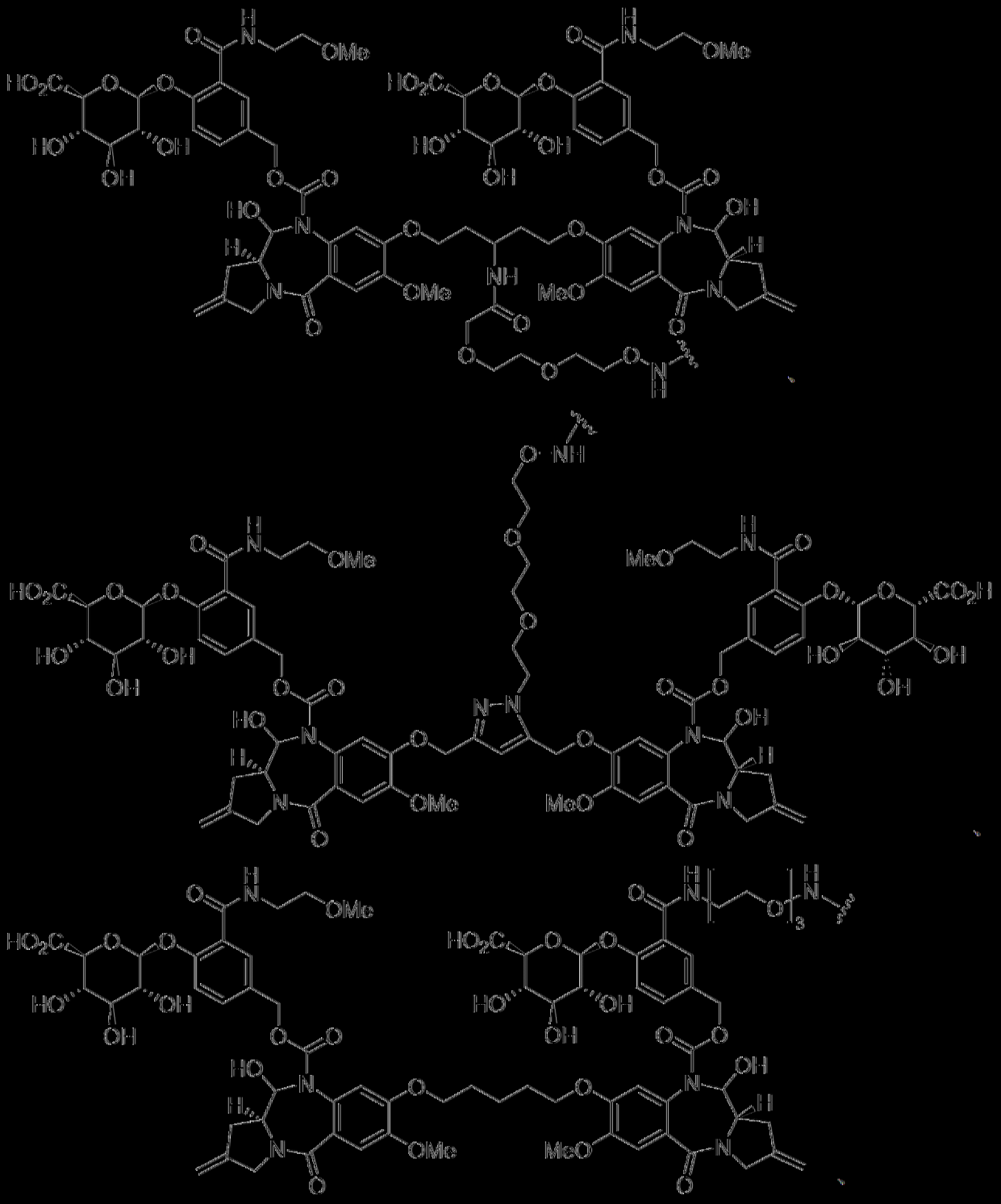


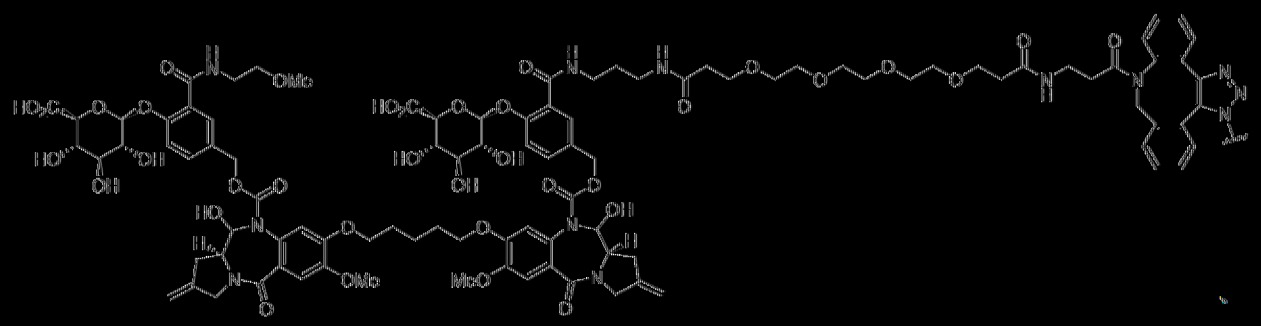
、



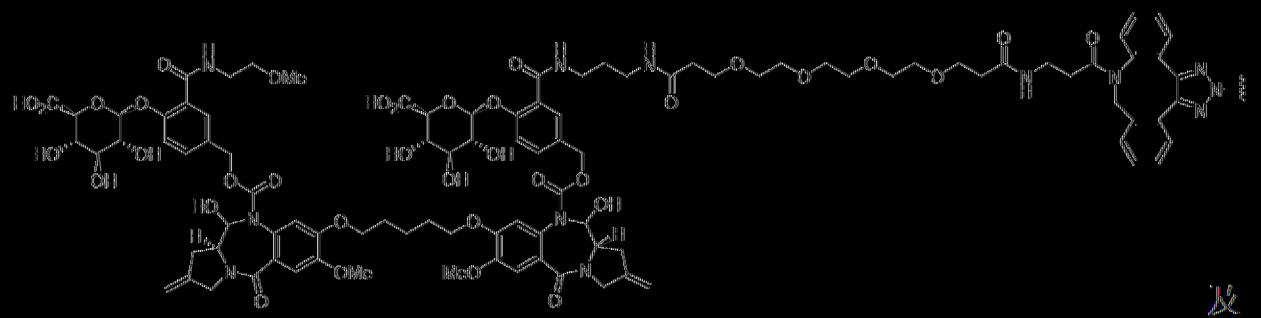








、



及

；

其中MMAE為單甲基奧瑞他汀E；

MMAE為單甲基奧瑞他汀F；及

波浪線係與結合物之連接點。

[0173] 在某些態樣中，本發明亦提供用於預防或治療過度增殖、癌症或血管生成疾病的醫藥組合物，包括結合物。

[0174] 在某些實施例中，醫藥組合物進一步包含醫藥學上有效量之化學治療劑。

[0175] 在某些實施例中，癌症係選自肺癌、小細胞肺癌、胃腸癌、結腸癌、腸癌、乳癌、卵巢癌、前列腺癌、睾丸癌、肝癌、腎癌、膀

胱癌、胰臟癌、腦癌、肉瘤、骨肉瘤、卡波西氏肉瘤(Kaposi's sarcoma)及黑色素瘤。

【0176】 本發明亦提供包含結合物之醫藥製劑。

【0177】

抗體或其抗原結合片段

本發明提供結合至人類TROP2（腫瘤相關鈣信號轉導子2，TACSTD2)之抗體。如本文所描述，根據本發明之抗體係包含一或多個互補決定區域或區(CDR)之多肽。

【0178】 在一些實施例中，CDR包括於「構架」區中，且構架定向CDR以使得CDR可具有適當之抗原結合特性。

【0179】 在某些態樣中，本發明提供包含結合至TROP2之抗TROP2抗體的抗體-藥物結合物。在某些實施例中，本文所揭示之抗體結合至腫瘤中表現之TROP且可用於將藥物遞送至腫瘤。在某些實施例中，本文所揭示之抗體藥物結合物與此項技術中已知之抗體藥物結合物相比具有改良之穩定性。

【0180】 在某些實施例中，抗體包含但不限於單株抗體、雙特異性抗體、雙功能抗體、多特異性抗體、多功能抗體、微型抗體、域抗體、抗體模擬物(或合成抗體)、嵌合抗體、人源化抗體、人類抗體或抗體融合物(或抗體結合物)及其片段，且包括本文所揭示之抗體之各種形式。

【0181】 在某些實施例中，根據本發明之抗體的抗體片段包括Fab、Fab'；F(ab')2、scFab、Fv、dsFv、scFV、scFv-Fc、微型抗體、雙功能抗體、scAb或dAb。

【0182】 在某些實施例中，本發明之抗體可由僅具有輕鏈之多肽或

僅具有重鏈之多肽組成，該等輕鏈或重鏈包括表1至表3所示之可變區。

【0183】 根據本發明之一實施例之抗體或其抗原結合片段之重鏈及輕鏈可變區中可能包括的CDR序列分別展示於表1至表3中。

【0184】 根據本發明之抗體與本文所揭示之其他抗體共用某些區或序列。在某些實施例中，可共用抗體或其抗原結合片段之恆定區。在某些實施例中，可共用Fc區。在某一實施例中，可共用可變區之框架。

【0185】 根據本發明之重鏈可變區及輕鏈可變區可與至少一部分人類恆定區連接。恆定區之選擇可部分地藉由是否需要抗體依賴性細胞介導之細胞毒性、抗體依賴性細胞吞噬作用及/或補體依賴性細胞毒性來確定。舉例而言，人類同型IgGl及IgG3具有補充依賴性細胞毒性，而人類同型IgG2及IgG4不具有此類細胞毒性。另外，人類IgG1及IgG3誘導細胞介導之效應功能強於人類IgG2及IgG4。輕鏈恆定區可為λ或κ。

【0186】 免疫球蛋白鏈之可變區通常具有相同的整體結構且包括藉由三個高變區連接之相對保守的構架區(FR)，該等高變區稱為「互補決定區域或區或域」或互補決定區(CDR)。源自各鏈(包括重鏈/輕鏈對)之可變區的CDR通常藉由構架區對齊，以形成與目標蛋白質之特定抗原決定基特異性結合的結構。自N端至C端，通常按以下次序包括天然存在之輕鏈及重鏈可變區之此等因子：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3及FR4。對應於各可變區之胺基酸序列之位置可藉由Kabat (Kabat等人, (1983) U.S. Dept, of Health and Human Services, 「Sequences of Proteins of Immunological Interest」)、Chothia (Chothia及Lesk, J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987))或以與OPAL庫相關之方式(Hye Young Yang等人, 2009 Mol. Cells 27: 225)來確定。當彼此相比較時，由各定義確定之CDR

可為重疊的子集或彼此包括之子集。基於抗體之可變區序列，一般熟習此項技術者將能夠容易地如上所定義來選擇CDR序列。

【0187】 在某些實施例中，根據本發明之抗體為人源化抗體。人源化抗體係指其中非人類抗體之恆定區經人類形式之恆定區完全取代，且非人類抗體之可變區之至少一部分(除結合至目標結構之各可變區外部之胺基酸序列的三個環以外)經人類抗體之對應部分完全或部分取代的任何抗體。

【0188】 可將某些突變引入構架區以增強抗體之穩定性，同時維持其抗原結合活性。治療性抗體之穩定化可引起血清半衰期改良、劑量需求降低、副作用減少、儲存壽命改良以及裝運及儲存成本降低。

【0189】 在某些實施例中，根據本發明之人源化抗體包含：

(a) (i)來自人類抗體重鏈或來自人類共同構架之可變重鏈構架區；及(ii)來自人類抗體輕鏈或來自人類共同構架之可變輕鏈構架區。

【0190】 在某些實施例中，來自重鏈之可變域構架區中之至少一個胺基酸經來自小鼠抗體重鏈或小鼠共同構架的對應胺基酸取代；或來自輕鏈之可變域構架區經來自小鼠抗體輕鏈或小鼠共同構架的對應胺基酸取代。

【0191】 在某些實施例中，重鏈之胺基酸取代係選自以下胺基酸取代：

在位置27處F (小鼠)取代Y (人類)；

在位置30處S (小鼠)取代T (人類)；

在位置37處L (小鼠)取代V (人類)；

在位置48處I (小鼠)取代M (人類)；

在位置49處A (小鼠)取代G (人類)；

在位置70處L (小鼠)取代I (人類)；及

在位置72處V (小鼠)取代R (人類)，以及

(ii)輕鏈之胺基酸取代為在位置49處Y (人類)經S (小鼠)取代。

【0192】 在某些實施例中，重鏈之胺基酸取代可進一步包括以下胺基酸取代：

在位置67處K (小鼠)取代R (人類)；及/或

在位置68處A (小鼠)取代V (人類)。

【0193】 在某些實施例中，輕鏈之胺基酸取代可進一步包括以下胺基酸取代：

在位置67處Y (小鼠)取代S (人類)；

在位置2處T (小鼠)取代I (人類)及在位置67處Y (小鼠)取代S (人類)；

在位置22處R (小鼠)取代T (人類)及在位置67處Y (小鼠)取代S (人類)；

在位置42處E (小鼠)取代K (人類)及在位置67處Y (小鼠)取代S (人類)；

在位置64處S (小鼠)取代G (人類)及在位置67處Y (小鼠)取代S (人類)；

在位置67處Y (小鼠)取代S (人類)及在位置72處V (小鼠)取代T (人類)；或

在位置67處Y (小鼠)取代S (人類)及在位置85處D (小鼠)取代T (人類)。

【0194】在某些實施例中，人源化抗體包含：(a) (i)來自人類抗體重鏈或來自人類共同構架之可變重鏈構架區，其中可變重鏈構架區包含以下胺基酸序列變化中之一或多者：Y27F、T30S、V37L、M48I、G49A、I70L及R72V；以及(ii)來自人類抗體輕鏈或來自人類共同構架之可變輕鏈構架區，其中可變輕鏈構架區包含以下胺基酸序列變化：Y49S。

【0195】在某些實施例中，包括取代之重鏈及輕鏈可變區序列分別展示於表1至表3中。在某些實施例中，取代包括表1至表3中所示之FR區之取代。

【0196】在某些實施例中，本發明揭示一或多個與本文所揭示之一或多個胺基酸序列具有顯著的序列一致性之胺基酸序列。顯著的一致性意謂本文所揭示之效果在存在序列變化的情況下可得以維持。在某些實施例中，胺基酸序列與表1至表3中所示之重鏈可變區具有約90%一致性、約95%一致性或約99%一致性。在另一實施例中，胺基酸序列與表1至表3中所示之輕鏈可變區具有約90%一致性、約95%一致性或約99%一致性。舉例而言，就與根據本發明之抗體或其抗原結合片段之序列展現90%一致性、95%一致性或99%一致性之變體而言，任何突變發生於可變區之構架而非CDR中。

【0197】在某些實施例中，編碼本發明之抗體或其片段之核酸為編碼全長抗體之核酸，該全長抗體包括本文所揭示之CDR、包括CDR之可變區以及可變區及恆定區。一旦確定了胺基酸序列，即可根據已知的反轉錄程式、密碼子使用及其類似物容易地確定核酸序列。

【0198】

抗體之抗原特異性及親和力

在某些較佳實施例中，根據本發明之抗體或其抗原結合片段對人類TROP2抗原具有特異性且具有適用作抗體治療劑/診斷劑之親和力。在某些實施例中，對聚集體之親和力可為KD<1,000 nM、<100 nM、<10 nM、<1 nM、<0.1 nM、<0.01 nM或<0.001 nM，且可為例如10^{-6} M至10^{-12} M。

【0199】

抗體之產生

在本發明中，非人類抗體可來源於例如任何產生抗體之動物，例如小鼠、大鼠、兔、山羊、驢或非人類靈長類動物(例如猴，諸如食蟹獼猴或恆河猴)或猿(例如黑猩猩)。非人類抗體可藉由使用此項技術中已知之方法使動物免疫而產生。根據本發明之一實施例，一種產生人源化抗體之方法參照美國專利第15/532598號。全人類抗體可藉由以下方式產生：向包括人類免疫球蛋白基因座之經轉型動物投與抗原，或藉由用抗原處理表現人類抗體庫之噬菌體呈現庫，且隨後選擇目標抗體。抗體可為多株或單株抗體，或可經由表現重組DNA在細胞宿主內合成。

【0200】 單株抗體(mAb)可使用習知的單株抗體方法來產生，例如文獻中之標準體細胞雜交技術(參見：Kohler及Milstein, 1975, Nature 256:495)。

【0201】

表現抗體之方法

本文所揭示之抗體可在融合瘤細胞株或除融合瘤以外之表現細胞株中表現。編碼抗體之表現構築體可用以轉型哺乳動物、昆蟲或微生物宿主細胞。如前述描述中所述，可使用用於將聚核苷酸引入宿主細胞中的各種

已知方法中之任一者來產生構築體，諸如質體。具體方法可根據宿主細胞之類型而變化。用於將異質聚核苷酸引入哺乳動物細胞中之方法在此項技術中廣為人知，且包括但不限於例如聚葡萄糖介導之轉移、磷酸鈣沈澱、凝聚胺介導之轉移、原生質體融合、電泳、使用脂質體對轉移聚核苷酸進行囊封、核酸與帶正電脂質混合及將DNA直接顯微注射至細胞核中。

【0202】

抗人類TROP2抗體藥物結合物用於治療目的之用途

TROP2在癌症中之表現與癌症患者之不良預後有關，且已知亦影響癌症轉移。舉例而言，TROP2在肺癌、小細胞肺癌、胃腸癌、結腸癌、腸癌、乳癌、卵巢癌、前列腺癌、睾丸癌、肝癌、腎癌、膀胱癌、胰臟癌、腦癌、肉瘤、骨肉瘤、卡波西氏肉瘤(Kaposi's sarcoma)、黑色素瘤及其類似癌症中過度表現。舉例而言，在抗癌抗體治療中，如本文所描述之抗人類TROP2抗體可以經由連接子連接至各種細胞毒性劑之形式使用，以移除過度表現TROP2之癌細胞。因此，與TROP2結合之抗體可單獨使用或以與抗癌化學治療劑、細胞毒性劑或放射性物質結合之形式使用，或可體現為細胞治療劑(諸如CAR-T細胞)以靶向抗癌目標，且因此可用作針對表現TROP2之細胞的靶向治療劑。

【0203】

治療方法：醫藥調配物及投與途徑

本發明之一實施例亦提供使用抗體-藥物結合物或其醫藥學上可接受之鹽或溶劑合物之治療方法。在某些實施例中，向患者提供抗體-藥物結合物或其醫藥學上可接受之鹽或溶劑合物。抗體-藥物結合物或其醫藥學上可接受之鹽或溶劑合物藉由結合至癌細胞表面上表現之人類TROP2來

抑制癌細胞轉移。在某些實施例中，抗體以與細胞毒性劑結合之形式結合至癌細胞表面上表現之人類TROP2，從而將與抗體結合之細胞毒性劑特異性遞送至癌細胞，以誘導癌細胞死亡。在某些實施例中，抗體以對同一目標或另一目標具有特異性之抗體形式結合至癌細胞表面上表現之人類TROP2，從而增加多種抗體對癌細胞之特異性或誘導癌細胞與其他類型細胞(諸如免疫細胞)之間的連接，以誘導癌細胞死亡。

【0204】 本發明亦提供一種醫藥組合物，其包括治療有效量之抗體-藥物結合物或其醫藥學上可接受之鹽或溶劑合物以及醫藥學上可接受之稀釋劑、載劑、增溶劑、乳化劑、防腐劑及/或佐劑。此外，舉例而言，提供一種藉由投與此類醫藥組合物來治療癌症患者之方法。術語「患者」包括人類患者。

【0205】 醫藥組合物可包括醫藥學上可接受之載劑。載劑之含義包括賦形劑、稀釋劑或助劑。載劑可選自由例如以下組成之群：乳糖、右旋糖、蔗糖、山梨糖醇、甘露糖醇、木糖醇、赤藻糖醇、麥芽糖醇、澱粉、阿拉伯膠、海藻酸鹽、明膠、磷酸鈣、矽酸鈣、纖維素、甲基纖維素、聚乙烯吡咯啶酮、水、生理鹽水、緩衝劑(諸如PBS)、羥基苯甲酸甲酯、羥基苯甲酸丙酯、滑石、硬脂酸鎂及礦物油。組合物可包括填充劑、抗凝血劑、潤滑劑、濕潤劑、調味劑、乳化劑、防腐劑或其組合。

【0206】 醫藥組合物可根據一般方法製備為任何調配物。組合物可調配成用於經口投與之調配物(例如散劑、錠劑、膠囊、糖漿、丸劑或顆粒劑)或用於非經腸投與之調配物(例如注射劑)。此外，組合物可製備為全身調配物或局部調配物。

【0207】 醫藥組合物可包括有效量之抗體或其抗原結合片段、抗癌

劑或其組合。術語「有效量」係指當投與需要預防或治療之個體時足以產生預防或治療作用的量。一般熟習此項技術者可根據所選擇之細胞或個體適當地選擇有效量。可根據包括以下之因素來確定有效量：疾病嚴重程度、患者之年齡、體重、健康狀況及性別、患者對藥物之敏感性、投與時間、投與途徑、排泄速率、治療時段及與所用組合物組合使用或同時使用之藥物，及醫學領域中熟知之其他因素。

【0208】 醫藥組合物之劑量範圍可為例如每個成人10 μg/kg至約30 mg/kg，視情況0.1 mg/kg至約30 mg/kg，或者0.3 mg/kg至約20 mg/kg。醫藥組合物可一天一次、一天多次、每1至4週一次或一年一次至12次投與。

【0209】 在下文中，將參考實例及實驗實例更詳細地描述本發明。

【0210】 以下實例及實驗實例旨在幫助理解本發明且並不意欲限制本發明之範疇。

【0211】

定義

除非在本發明中另外定義，否則本文所使用之科學及技術術語具有如一般熟習此項技術者通常理解之含義。此外，除非上下文另外具體要求，否則單數包括複數且複數包括單數。一般而言，本文所描述之與化學、細胞及組織培養、分子生物學、細胞及癌症生物學、神經生物學、神經化學、病毒學、免疫學、微生物學、藥理學、遺傳學以及蛋白及核酸化學結合使用之命名法及其技術為此項技術中熟知的且常用的。

【0212】 除非另外指示，否則本發明之方法及技術通常根據此項技術中熟知之習知方法且如本說明書通篇所引用及論述之各種一般及更特定參考案中所描述來進行。參見例如「Principles of Neural Science」，

McGraw-Hill Medical, New York, N.Y. (2000)；Motulsky,「Intuitive Biostatistics」, Oxford University Press, Inc. (1995)；Lodish等人,「Molecular Cell Biology, 第4版」, W. H. Freeman & Co., New York (2000)；Griffiths等人,「Introduction to Genetic Analysis, 第7版」, W. H. Freeman & Co., N.Y. (1999)；及Gilbert等人,「Developmental Biology, 第6版」, Sinauer Associates, Inc., Sunderland, MA (2000)。

【0213】 除非本文中另外定義，否則本文所用之化學術語係根據此項技術中之習知用法使用，如「The McGraw-Hill Dictionary of Chemical Terms」, Parker, S.編, McGraw-Hill, San Francisco, C.A. (1985)所例示。

【0214】 本申請案中所提及之所有上述內容及任何其他出版物、專利及公開專利申請案以引用之方式特定地併入本文中。倘若有衝突，將以本說明書(包括其特定定義)為主。

【0215】 術語「藥劑」在本文中用以表示化學化合物(諸如有機或無機化合物、化合物之混合物)、生物大分子(諸如核酸、抗體(包括其部分)以及人源化抗體、嵌合抗體及人類抗體及單株抗體、蛋白或其部分，例如肽、脂質、碳水化合物)或由生物材料(諸如細菌、植物、真菌或動物(尤其哺乳動物)細胞或組織)製成之提取物。藥劑包括例如結構已知之藥劑及結構未知之藥劑。

【0216】 「患者」、「個體(subject)」或「個體(individual)」可互換使用且係指人類或非人類動物。此等術語包括哺乳動物，諸如人類、靈長類動物、家畜動物(包括牛科動物、豬科動物等)、伴侶動物(例如犬科動物、貓科動物等)及嚙齒動物(例如小鼠及大鼠)。

【0217】 可使用熟習此項技術者已知之多種方法中之一者向個體

「投與」物質、化合物或試劑或進行物質、化合物或試劑之「投藥」。舉例而言，可靜脈內、動脈、皮內、肌內、腹膜內、皮下、經眼、舌下、經口(藉由攝食)、鼻內(藉由吸入)、脊椎內、顱內及經皮(藉由吸收，例如經由皮膚管道)投與化合物或藥劑。亦可藉由可再充電或可生物降解的聚合物裝置或其他裝置(例如貼劑及泵或調配物，其使得化合物或藥劑之釋放延長、減緩或受控)適當地引入化合物或藥劑。投與亦可執行例如一次、複數次及/或歷經一或多個經延長之週期。

【0218】 向個體投與物質、化合物或藥劑之適當方法亦將視例如個體之年齡及/或身體狀況及化合物或藥劑之化學及生物特性(例如，可溶性、可消化性、生物可用性、穩定性及毒性)而定。在一些實施例中，例如藉由攝入向個體經口投與化合物或藥劑。在一些實施例中，經口投與之化合物或藥劑為延長釋放或緩慢釋放調配物形式，或使用用於此類緩慢釋放或延長釋放之裝置投與。

【0219】 如本文所用，片語「聯合投與」係指兩種或更多種不同治療劑之任何投與形式，該形式使得在先前投與之治療劑在體內仍有效時投與第二藥劑(例如，兩種藥劑在患者體內同時生效，此可包括兩種藥劑之協同效應)。舉例而言，不同治療性化合物可以同一調配物或以單獨調配物形式同時或依次投與。因此，接受此類治療之個體可受益於不同治療劑的組合作用。

【0220】 如本文所用，術語「視情況存在(optional)」或「視情況(optionally)」意謂隨後描述之事件或情形可能出現或可能不出現，且本說明書包括其中事件或情形出現之情況以及不出現之情況。舉例而言，「視情況經取代之烷基」係指烷基可經取代以及烷基未經取代之情況。

【0221】 應理解，本發明之化合物上的取代基及取代模式可由一般熟悉此項技術者選擇，以產生可易於藉由此項技術中已知之技術以及下文給出之方法由容易獲得的起始材料合成的化學穩定化合物。若取代基本身經超過一個基團取代，則應瞭解，此等多個基團可在同一碳上或不同的碳上，只要產生穩定結構即可。

【0222】 如本文所用，術語「視情況經取代」係指給定結構中之一至六個氫基經指定取代基之自由基置換，指定取代基包括但不限於：羥基、羥烷基、烷氧基、鹵素、烷基、硝基、矽基、醯基、醯氧基、芳基、環烷基、雜環基、胺基、胺烷基、氰基、鹵烷基、鹵烷氧基、-OCO-CH_2-O-烷基、-OP(O)(O-烷基)$_2$或-CH_2-OP(O)(O-烷基)$_2$。較佳地，「視情況經取代」係指既定結構中之一至四個氫自由基經上文所提及之取代基置換。更佳地，一至三個氫自由基經如上文所提及之取代基置換。應理解，取代基可進一步經取代。

【0223】 如本文所用之術語「結合物」係指共價鍵結至細胞毒性化合物之一或多個分子的細胞結合劑。就此而言，「細胞結合劑」為對生物目標具有親和力之分子，且可為例如抗體，尤其單株抗體或抗體片段，且結合劑用於將生物活性化合物引導至生物目標。在某些實施例中，結合物可經設計以經由細胞表面抗原靶向腫瘤細胞。抗原可為過度表現或在異常細胞類型中表現之細胞表面抗原。特定言之，目標抗原可僅在增殖細胞(例如腫瘤細胞)上表現。可基於不同表現(通常在增殖組織與正常組織之間)選擇目標抗原。在本發明中，抗體結合至連接子。

【0224】 在本發明中，多肽(例如抗原結合片段、蛋白質或抗體)之「變體」為其中與其他多肽序列相比，插入、缺失、添加及/或取代發生

在一或多個胺基酸殘基處的多肽，且包括融合多肽。蛋白質變體亦包括藉由蛋白酶促裂解、磷酸化或其他轉譯後修飾來修飾，但保持了本文所揭示之抗體之生物活性，諸如對ROR1之結合及特異性的變體。變體與本發明之抗體或其抗原結合片段之序列可具有約99%一致性、約98%一致性、約97%一致性、約96%一致性、約95%一致性、約94%一致性、約93%一致性、約92%一致性、約91%一致性、約90%一致性、約89%一致性、約88%一致性、約87%一致性、約86%一致性、約85%一致性、約84%一致性、約83%一致性、約82%一致性、約81%一致性或約80%一致性。一致性百分比(%)或同源性可藉由此項技術中已知之方法來計算。

【0225】 在某些實施例中，同源性或一致性百分比可藉由100×[(相同位置)/min(TGA，TGB)]來計算，其中TGA及TGB為待比較之序列A及B中之殘基數目及內部間隙位置之總和(Russell等人, J. Mol Biol., 244: 332-350 (1994))。

【0226】 在本發明中，保守性胺基酸取代係指不會實質上影響多肽之活性或抗原株的取代。多肽可包括一或多個保守取代。其非限制性實例展示於下表3中。

【0227】 如本文所用術語多肽之「衍生物」係指經由與其他化學部分結合而在一或多個殘基處進行化學修飾的多肽，其與插入、缺失、添加或取代變體不同。

【0228】 如本文所用，關於多肽、核酸、宿主細胞及其類似物之術語「天然存在」係指天然存在之物質。

【0229】 術語兩個多肽或聚核苷酸序列之間的「序列一致性百分比」係指考慮到為使兩個序列最佳比對而必須引入之添加或缺失(亦即間

隙)，在比較窗口上序列所共用之一致匹配位置的數目。匹配位置為在目標及參考序列中呈現一致核苷酸或胺基酸的任何位置。不對目標序列中呈現之間隙進行計數，因為間隙不為核苷酸或胺基酸。類似地，不對參考序列中呈現之間隙進行計數，因為對目標序列核苷酸或胺基酸而非來自參考序列之核苷酸或胺基酸進行計數。序列一致性百分比係藉由以下方式計算：測定兩個序列中存在一致胺基酸殘基或核酸鹼基之位置數以產生匹配位置數，將匹配位置數除以比較窗口中之總位置數且將結果乘以100，得到序列一致性百分比。序列之對比及兩個序列之間序列一致性百分比之測定可使用易於獲得之軟體程式實現。適合之軟體程式可自各種來源獲得，且用於比對蛋白質及核苷酸序列。一種測定序列一致性百分比之適合程式為bl2seq，其為可自美國政府國家生物技術資訊中心(U.S. government's National Center for Biotechnology Information) BLAST網點(全球資訊網之blast.ncbi.nlm.nih.gov)獲得之BLAST套件之一部分。Bl2seq使用BLASTN或BLASTP演算法進行兩個序列之間的比較。BLASTN用於比較核酸序列，而BLASTP用於比較胺基酸序列。其他適合之程式為例如Needle、Stretcher、Water或Matcher (生物資訊學程式之EMBOSS套件之一部分)且亦可自European Bioinformatics Institute (EBI)在全球資訊網之ebi.ac.uk/Tools/psa獲得。

【0230】 如本文所用，關於肽、多肽或抗體序列之「同源性」係指在比對序列且視需要引入間隙以達成最大序列一致性百分比之後，且不將任何保守取代視為序列一致性之一部分，候選序列中與特定肽或多肽序列中之胺基酸殘基一致的胺基酸殘基之百分比。出於測定胺基酸序列一致性百分比之目的之比對可以此項技術之技能範圍內的各種方式達成，例如使

用公開可用之電腦軟體，諸如BLAST、BLAST-2、ALIGN或MEGALIGN™ (DNASTAR)軟體。熟習此項技術者可確定用於量測比對之適當參數，包括用於達成所比較序列之全長內之最大比對所需的此項技術中已知的任何演算法。

【0231】 在本發明中，「親和力」為抗體或其抗原結合片段與抗原之間的相互作用強度，且藉由抗原之特性，諸如抗原之尺寸、形狀及/或電荷，及抗體或其抗原結合片段之CDR序列來測定。測定親和力之方法為此項技術中已知的，且以下可用作參考。

【0232】 當解離常數(KD)為$\leq 10^{-6}$ M時，稱抗體或其抗原結合片段「特異性結合」至其目標(諸如抗原)。當KD為$\leq 1\times 10^{-8}$ M時，抗體以「高親和力」特異性結合至目標。

【0233】 如本發明中所用，抗體或免疫球蛋白之鏈(重鏈或輕鏈)之「抗原結合片段」包括抗體之一部分，該部分相比於全長鏈缺少一些胺基酸，但可特異性結合至抗原。此片段可視為具有生物活性，因為該片段可特異性結合至目標抗原，或可與其他抗體或其抗原結合片段競爭結合至特定抗原決定基。在某些實施例中，此類片段包括至少一個存在於全長輕鏈或重鏈中之CDR，且在一些實施例中，包括短鏈重鏈及/或輕鏈或其一部分。此生物活性片段可藉由重組DNA技術產生或可例如藉由酶促或化學裂解完整抗體產生。免疫功能性免疫球蛋白片段包括但不限於Fab、Fab、F(ab)2、scFab、dsFv、Fv、scFV、scFv-Fc、雙功能抗體、微型抗體、73cab及dAb，且可來源於任何哺乳動物，包括但不限於人類、小鼠、大鼠、駱駝或兔。抗體之功能性部分(諸如本發明中所揭示之一或多個CDR)可藉由共價鍵與二級蛋白質或小化合物連接，且因此用作特定目

標之靶向治療劑。

【0234】在本發明中，「Fc」區包括兩條重鏈片段，其包括抗體之CH2及CH3域。此兩條重鏈片段藉由兩個或更多個二硫鍵與CH3域之疏水性相互作用而彼此連接。

【0235】在本發明中，「Fab片段」由一條輕鏈及一條重鏈組成，其中僅包括可變區及CH1。Fab分子之重鏈不能與另一條重鏈分子形成雙硫鍵。在scFab中，兩個Fab分子藉由可撓性連接子連接。

【0236】在本發明中，「Fab'片段」包括Fab片段且另外包括重鏈之CH1與CH2域之間的區域。可在兩個分子之Fab'片段的兩條重鏈之間形成二硫鍵，從而形成F(ab')2分子。

【0237】在本發明中，如上文所描述，「F(ab')2片段」包括兩條輕鏈及兩條重鏈，其包括可變區CH1及CH1與CH2域之間的恆定區之一部分，其中在兩條重鏈之間形成鏈間雙硫鍵。因此，F(ab')2片段由兩個Fab'片段組成，且兩個Fab'片段藉由其間的二硫鍵彼此接合。

【0238】在本發明中，「Fv區」為抗體之片段，其包括重鏈及輕鏈之各可變區，但不包括恆定區。在sdFV中，重鏈及輕鏈藉由二硫鍵連接。在scFc中，Fv藉由可撓性連接子連接。在scFv-Fc中，Fc連接至scFV。在微型抗體中，CH3連接至scFV。雙功能抗體包括兩個分子之scFv。

【0239】在本發明中，「單鏈Fv」或「scFv」抗體片段包括抗體之VH及VL域，且此等域存在於單一多肽鏈內。Fv多肽可另外包括VH域(其使得scFV能夠形成用於抗原結合之目標結構)與VL域之間的多肽連接子。

【0240】在本發明中，「短鏈抗體(74cab)」為單一多肽鏈，其包括

一個重鏈恆定區或輕鏈可變區，其中重鏈及輕鏈可變區藉由可撓性連接子連接。對於短鏈抗體，可參考美國專利第5,260,203號，且在本文中以引用之方式揭示短鏈抗體。

【0241】 在本發明中，「域抗體(dAb)」為僅包括重鏈可變區或輕鏈可變區之免疫功能性免疫球蛋白片段。在某些實施例中，兩個或更多個VH區經由肽連接子藉由共價鍵連接，形成二價域抗體。此二價域抗體之兩個VH區可靶向相同或不同的抗原。

【0242】 在本發明中，「互補決定區」 (CDR；亦即CDR1、CDR2及CDR3)表示抗體之可變域之胺基酸殘基，其為結合至抗原所必需的。各可變域通常具有三個CDR域，標識為CDR1、CDR2及CDR3。

【0243】 在本發明中，「構架區」 (FR)為除CDR殘基以外之可變域殘基。各可變域通常具有四個FR，標識為FR1、FR2、FR3及FR4。

【0244】 在本發明中，「二價抗原結合蛋白」或「二價抗體」包括兩個抗原結合位。二價抗體中所包括之兩個抗原結合位可具有相同抗原特異性，或可為抗原結合位結合至不同抗原的雙特異性抗體。

【0245】 在本發明中，「多特異性抗原結合蛋白」或「多特異性抗體」靶向兩個或更多個抗原或抗原決定基。

【0246】 在本發明中，「連接子」係指將細胞毒性化合物共價鍵結至抗體的化合物。

【0247】 在本發明中，「未經取代或經取代」用於指可未經取代或經取代之母體基團，「經取代」係指具有至少一個取代基之母體基團，且取代基係指共價鍵結至母體基團或與母體基團稠合之化學部分。

【0248】 在本發明中，「鹵基」係指氟、氯、溴、碘及其類似基

團。

【0249】在本發明中，「烷基」為藉由自脂族或脂環、飽和或不飽和(不飽和、完全不飽和)烴化合物之碳原子移除氫原子而獲得的單價部分。如本文所使用之術語「烷基」係指飽和脂族基團，包括但不限於C_1-C_{10}直鏈烷基或C_1-C_{10}分支鏈烷基。較佳地，「烷基」係指C_1-C_6直鏈烷基或C_1-C_6分支鏈烷基。最佳地，「烷基」係指C_1-C_4直鏈烷基或C_1-C_4分支鏈烷基。「烷基」之實例包括但不限於甲基、乙基、1-丙基、2-丙基、正丁基、二級丁基、三級丁基、1-戊基、2-戊基、3-戊基、新戊基、1-己基、2-己基、3-己基、1-庚基、2-庚基、3-庚基、4-庚基、1-辛基、2-辛基、3-辛基或4-辛基及其類似基團。「烷基」基團可視情況經取代。此外，術語「烷基」係指飽和脂族基團，包括直鏈烷基、分支鏈烷基、環烷基(脂環)基團、經烷基取代之環烷基及經環烷基取代之烷基。在較佳實施例中，直鏈或分支鏈烷基在其主鏈中具有30個或更少碳原子(例如直鏈C_{1-30}、分支鏈C_{3-30})，且更佳20個或更少碳原子。飽和烷基之實例可包括甲基、乙基、丙基、丁基、戊基、己基、庚基及其類似基團，飽和直鏈烷基之實例可包括甲基、乙基、正丙基、正戊基(戊基)、正己基、正庚基及其類似基團，飽和分支鏈環烷基之實例可包括異丙基、異丁基、二級丁基、三級丁基、異戊基、新戊基及其類似基團。

【0250】術語「醯基」為此項技術中公認的且係指以通式烴基C(O)-、較佳烷基C(O)-表示之基團。

【0251】術語「醯胺基」係此項技術中公認的且係指經醯基取代之胺基，且可例如以式烴基C(O)NH-表示。

【0252】術語「醯氧基」為此項技術中公認的且係指以通式烴基

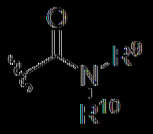
C(O)O-、較佳烷基C(O)O-表示之基團。

[0253] 術語「C_{x-y}」或「C_x-C_y」當與諸如醯基、醯氧基、烷基、烯基、炔基或烷氧基之化學部分結合使用時意在包括鏈中含有x至y個碳之基團。C_0烷基在基團處於末端位置時表示氫，若處於內部則表示一鍵。舉例而言，C_{1-6}烷基在鏈中含有一至六個碳原子。

[0254] 如本文所用之術語「烷胺基」係指經至少一個烷基取代之胺基。

[0255] 如本文所用之術語「烷硫基」係指經烷基取代之硫醇基且可以通式烷基S-表示。

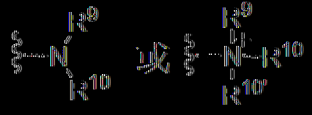
[0256] 如本文所用之術語「醯胺基」係指基團



，

其中R^9及R^{10}各自獨立地表示氫或烷基，或R^9及R^{10}與其附接之N原子一起形成在環結構中具有4至8個原子之雜環。

[0257] 術語「胺」及「胺基」為此項技術中公認的且係指未經取代與經取代之胺及其鹽，例如可由以下表示之部分



，

其中R^9、R^{10}及$R^{10'}$各自獨立地表示氫或烷基，或R^9及R^{10}與其附接之N原子一起形成在環結構中具有4至8個原子之雜環。

[0258] 如本文所用之術語「胺烷基」係指經胺基取代之烷基。

[0259] 如本文所用之術語「芳烷基」係指經芳基取代之烷基。

[0260] 如本文所用之術語「烷氧基」係指-OR，其中R為烷基，且其實例可包括甲氧基、乙氧基、丙氧基、異丙氧基、正丁氧基、二級丁

氧基、異丁氧基、二級丁氧基及其類似基團。

[0261] 如本文所用之術語「烯基」為具有至少一個碳-碳雙鍵之烷基。不飽和烯基之實例可包括乙烯基(ethenyl)（乙烯基(vinyl)，-CH=CH$_2$）、1-丙烯基(-CH=CHCH$_3$)、2-丙烯基、異丙烯基、丁烯基、戊烯基及己烯基。

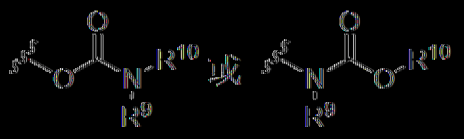
[0262] 在本發明中，如本文所用之術語「炔基」係指具有至少一個碳-碳參鍵之烷基，且不飽和炔基之實例可包括乙炔基及2-丙炔基。

[0263] 如本文所用之術語「羧基」係指-C(=O)OH。

[0264] 如本文所用之術語「甲醯基」係指-C(=O)H。

[0265] 如本文所用之術語「芳基」係指藉由自芳族化合物之芳環原子移除氫原子而獲得的單價部分。舉例而言，術語「C$_{5-7}$芳基」係指具有5至7個環原子之部分，其為藉由自芳族化合物之芳環原子移除氫原子而獲得的單價部分，且術語「C$_{5-10}$芳基」係指具有5至10個環原子之部分，其為藉由自芳族化合物之芳環原子移除氫原子而獲得的單價部分。就此而言，字首(C$_{5-7}$、C$_{5-10}$及其類似者)係指環原子數目或環原子數目範圍，而與是否為碳原子或雜原子無關。舉例而言，術語「C$_{5-6}$芳基」係指具有5個或6個環原子之芳基。就此而言，環原子可均為碳原子，如「碳芳基」。碳芳基之實例包括但不限於衍生自苯、萘、蒽、菲、稠四苯及芘之碳芳基。含有稠合環(其中至少一個為芳族環)之芳基之實例包括但不限於衍生自茚滿、茚、異茚、四氫萘、芴、苯、蔥、酞菲及酚蒽的基團。或者，環原子可含有一或多個雜原子，如「雜芳基」。

[0266] 術語「胺基甲酸酯」為此項技術中公認的且係指基團



，

其中R^9及R^{10}獨立地表示氫或烴基。

【0267】 如本文所用之術語「碳環基烷基」係指經碳環基取代之烷基。

【0268】 術語「碳環」包括5至7員單環及8至12員雙環。雙環碳環之各環可選自飽和、不飽和及芳族環。碳環包括雙環分子，其中兩個環之間共用一個、兩個或三個或更多個原子。術語「稠合碳環」係指雙環碳環，其中各環與另一環共用兩個相鄰原子。稠合碳環之各環可選自飽和、不飽和及芳族環。在一例示性實施例中，芳環(例如苯基)可稠合至飽和或不飽和環，例如環己烷、環戊烷或環己烯。飽和、不飽和及芳族雙環之任何組合在價數准許時包括於碳環之定義中。例示性「碳環」包括環戊烷、環己烷、雙環[2.2.1]庚烷、1,5-環辛二烯、1,2,3,4-四氫萘、雙環[4.2.0]辛-3-烯、萘及金剛烷。例示性稠合碳環包括十氫萘、萘、1,2,3,4-四氫萘、雙環[4.2.0]辛烷、4,5,6,7-四氫-1H-茚及雙環[4.1.0]庚-3-烯。「碳環」可在能夠具有氫原子之任一或多個位置處經取代。

【0269】 術語「碳酸酯」為此項技術中公認的且係指基團-OCO_2-。

【0270】 如本文所用之術語「羧基」係指由式-CO_2H表示之基團。

【0271】 如本文所用之術語「環烷基」係指作為環基之烷基，且係指藉由自環烴化合物之脂環族環原子移除氫原子而獲得的單價部分。環烷基之實例包括但不限於衍生自以下之環烷基：飽和單環烴化合物，諸如環丙烷、環丁烷、環戊烷、環己烷、環庚烷、甲基環丙烷、二甲基環丙烷、甲基環丁烷、二甲基環丁烷、甲基環戊烷、二甲基環戊烷及甲基環己烷；或不飽和單環烴化合物，諸如環丙烯、環丁烯、環戊烯、環己烯、甲基環丙烯、二甲基環丙烯、甲基環丁烯、二甲基環丁烯、甲基環戊烯、二甲基

環戊烯及甲基環己烯；以及飽和雜環烴化合物，諸如降莕烷、降蒎烯、降莰烯。

【0272】 如本文所用之術語「酯」係指基團-C(O)OR^9，其中R^{9}表示烴基。

【0273】 如本文所用之術語「醚」係指經由氧連接至另一烴基之烴基。因此，烴基之醚取代基可為烴基-O-。醚基可為對稱或不對稱的。醚之實例包括但不限於雜環-O-雜環及芳基-O-雜環。醚包括「烷氧基烷基」，其可以通式烷基-O-烷基表示。

【0274】 如本文所用之術語「鹵基」或「鹵素」係指氟(-F)、氯(-Cl)、溴(-Br)及碘(-I)。

【0275】 如本文所用之術語「雜芳烷基(hetaralkyl/heteroaralkyl)」係指經雜芳基取代之烷基。

【0276】 如本文所用之術語「雜原子」意謂除碳或氫之外的任何元素之原子。較佳雜原子為氮、氧及硫。

【0277】 如本文所用之術語「雜環基烷基」係指經雜環基團取代之烷基。

【0278】 如本文所用之術語「雜芳基」係指含有一或多個雜原子之芳基，且其實例可包括吡啶；嘧啶；苯并噻吩；呋喃基；二氧戊環基；吡咯基；噁唑基；吡啶基；嗒咔基及嘧啶基。更特定言之，其實例可包括苯并呋喃；異苯并呋喃；吲哚；異吲哚；吲咔；吲哚啉；異吲哚啉；嘌呤(腺嘌呤或鳥嘌呤)；苯并咪唑；吲唑；苯并噁唑；苯并異噁唑；苯并二氧雜環戊烯；苯并呋喃；苯并三唑；苯并硫呋喃；苯并噻唑；具有衍生自苯并噻唑、吲烯、異吲烯、色滿、異色滿、苯并二噁烷、喹啉、異喹啉、喹

咁、苯并噁咁、苯并二咁、吡啶并吡啶、喹噁啉、喹唑啉、啐啉、呔咁、嗪啶之兩個稠合環之C_9；具有衍生自喋啶之兩個稠合環之C_{10}；具有衍生自苯并二氮呼、咔唑、二苯并呋喃、二苯并噻吩、咔啉、嘧啶之兩個稠合環之C_{11}；具有衍生自吡啶并吲哚、吖啶、呫吨、噻吨、噁嗯、啡噁噻、啡咁、啡噁咁、啡噻咁、噻嗯、啡啶、啡啉之三個稠合環之C_{13}；以及具有衍生自啡咁之三個稠合環之C_{14}。

【0279】 如本文所用之術語「雜環基」係指藉由自雜環化合物之環原子移除氫原子而獲得的單價部分。此外，本文所用之術語「雜環基」或「雜環」係指單飽和或部分不飽和非芳族化合物或非芳族多環系統，其中環中包括至少一個雜原子(亦即選自氧、氮及硫之至少一個環雜原子)。除非另外規定，否則雜環基具有5至約20個環原子，諸如3至12個環原子，諸如5至10個環原子。因此，該術語包括單飽和或部分不飽和環(例如3、4、5、6或7員環)，其在環中具有約1至6個環碳原子及選自氧、氮及硫之約1至3個環雜原子。多縮合環系統之環可經由稠合、螺環及交聯鍵彼此連接，只要滿足價數要求即可。雜環之實例包括氮雜環丁烷、氮雜環丙烷、咪唑啶、味啉、環氧乙烷(環氧化物)、氧雜環丁烷、哌咁、哌啶、吡唑啶、哌啶、吡咯啶、吡咯啶酮、四氫呋喃、四氫噻吩、二氫吡啶、四氫吡啶、哂啶、N-溴吡咯啶、N-氯哌啶及其類似物。

【0280】 如本文所用之術語「烴基」係指經由碳原子結合之基團，該基團不具有=O或=S取代基，且通常具有至少一個碳-氫鍵及主要碳主鏈，但可視情況包括雜原子。因此，出於本申請案之目的，將如甲基、乙氧基乙基、2-吡啶基及甚至三氟甲基之基團視為烴基，但諸如乙醯基(其在連接碳上具有=O取代基)及乙氧基(其經氧而非碳連接)之取代基並非烴

基。烴基包括但不限於芳基、雜芳基、碳環、雜環、烷基、烯基、炔基及其組合。

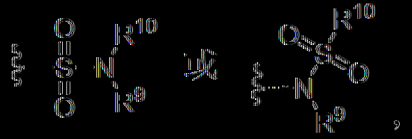
[0281] 如本文所用之術語「羥烷基」係指經羥基取代之烷基。

[0282] 術語「低碳」當與諸如醯基、醯氧基、烷基、烯基、炔基或烷氧基之化學部分結合使用時，意欲包括取代基中存在十個或更少，較佳六個或更少原子之基團。「低碳烷基」例如係指含有十個或少於十個、較佳六個或少於六個碳原子的烷基。在某些實施例中，本文所定義之醯基、醯氧基、烷基、烯基、炔基或烷氧基取代基分別係低碳醯基、低碳醯氧基、低碳烷基、低碳烯基、低碳炔基或低碳烷氧基，不管其單獨出現或與其他取代基組合出現，諸如在所敘述之羥烷基及芳烷基中(在該情形中，例如，當計數烷基取代基中的碳原子時不計數芳基內之原子)。

[0283] 術語「多環基」、「多環」及「多環狀」係指兩個或更多個環(例如，環烷基、環烯基、環炔基、芳基、雜芳基及/或雜環基)，其中兩個或更多個原子為兩個鄰接環所共用，例如，該等環為「稠環」。多環之各環可經取代或未經取代。在某些實施例中，多環之各環在環中含有3至10個，較佳5至7個原子。

[0284] 術語「硫酸酯基」為此項技術中公認的且係指基團-OSO_3H或其醫藥學上可接受之鹽。

[0285] 術語「磺醯胺基」為此項技術中公認的且係指由以下通式表示之基團


或

，

其中R^9及R^{10}獨立地表示氫或烴基。

【0286】 術語「亞碸」為此項技術中公認的且係指基團-S(O)-。

【0287】 術語「磺酸酯基」為此項技術中公認的且係指基團-SO_3H或其醫藥學上可接受之鹽。

【0288】 術語「碸」為此項技術中公認的且係指基團-$S(O)_2$-。

【0289】 術語「經取代」係指部分具有置換主鏈之一或多個碳上之氫的取代基。應瞭解，「取代」或「經取代」包括隱含限制條件，即此類取代與經取代原子及取代基之允許價態一致，且取代產生穩定化合物，例如其不會自發地諸如藉由重排、環化、消除等進行轉型。如本文所用，術語「經取代」預期包括有機化合物之所有可容許取代基。在一廣泛態樣中，可容許取代基包括有機化合物之非環狀及環狀、分支鏈及非分支鏈、碳環及雜環、芳族及非芳族取代基。對於合適之有機化合物，可容許取代基可為一或多個及相同或不同的。出於本發明之目的，諸如氮之雜原子可具有氫取代基及/或滿足雜原子價數之本文所述之有機化合物的任何可容許取代基。取代基可包括本文所述之任何取代基，例如鹵素、羥基、羰基(諸如羧基、烷氧基羰基、甲醯基或醯基)、硫羰基(諸如硫酯基、硫乙酸酯基或硫甲酸酯基)、烷氧基、磷醯基、磷酸酯基、膦酸酯基、亞膦酸酯基、胺基、醯胺基、脒、亞胺、氰基、硝基、疊氮基、硫氫基、烷硫基、硫酸酯基、磺酸酯基、胺磺醯基、磺醯胺基、磺醯基、雜環基、芳烷基或芳族或雜芳族部分。熟習此項技術者應瞭解，在烴鏈上進行取代之部分本身在適當時可經取代。

【0290】 如本文所用之術語「硫烷基」係指經硫醇基取代之烷基。

【0291】 如本文所用之術語「硫酯」係指基團-$C(O)SR^9$或-$SC(O)R^9$，其中R^9表示烴基。

〔0292〕 如本文所用之術語「硫醚」等效於醚，其中氧經硫置換。

〔0293〕 術語「脲」係此項技術中公認的且可由以下通式表示

，

其中R^9及R^{10}獨立地表示氫或烴基。

〔0294〕 如本文所用之術語「調節」包括抑制或過制功能或活性(諸如細胞增殖)以及增強功能或活性。

〔0295〕 許多適用於本發明之方法及組合物的化合物在其結構中具有至少一個立體對稱中心。此立體對稱中心可存在於R或S組態中，該R及S符號係與Pure Appl. Chem. (1976), 45, 11-30中所描述之規則一致地使用。本發明涵蓋諸如化合物、鹽、前驅藥或其混合物之鏡像異構形式及非鏡像異構形式的所有立體異構形式(包括立體異構物之所有可能混合物)。參見例如WO 01/062726。

〔0296〕 此外，含有烯基之某些化合物可以Z (同側)或E (異側)異構體之形式存在。在各情況下，本發明包括混合物及單獨的個別異構體兩者。

〔0297〕 「前驅藥」或「醫藥學上可接受之前驅藥」係指在投與之後在宿主中代謝，例如水解或氧化以形成本發明化合物(例如式I化合物)之化合物。前驅藥之典型實例包括在活性化合物之官能性部分上具有生物學不穩定或可裂解(保護)基團的化合物。前驅藥包括可經氧化、還原、胺化、去胺化、羥基化、去羥基化、水解、去水解、烷基化、去烷基化、醯化、去醯化、磷酸化或去磷酸化以產生活性化合物之化合物。使用酯或胺基磷酸酯作為生物學不穩定或可裂解(保護)基團之前驅藥之實例揭示於美國專利6,875,751、7,585,851及7,964,580中，該等專利之揭示內容以引用

的方式併入本文中。本發明之前驅藥經代謝以產生式I化合物。本發明在其範疇內包括本文所描述之化合物之前驅藥。用於選擇及製備適合前驅藥之習知程序描述於例如「Design of Prodrugs」, H. Bundgaard編, Elsevier, 1985中。

【0298】 如本文所用之片語「醫藥學上可接受之載劑」意謂醫藥學上可接受之材料、組合物或媒劑，諸如適用於調配用於醫學或治療用途之藥物之液體或固體填充劑、稀釋劑、賦形劑、溶劑或囊封材料。

【0299】 如本文所用之術語「溶解度之Log」、「LogS」或「logS」在此項技術中用於定量化合物之水溶解度。化合物之水溶解度顯著影響其吸收及分佈特徵。低溶解度通常與不良吸收相關聯。LogS值為以莫耳/公升為單位所量測之溶解度之單位剝離對數(以10為底)。

【0300】 在本發明中，字首(例如C_{1-12}、C_{3-8}及其類似者)係指環原子之數目或環原子之數目範圍，而與是否為碳原子或雜原子無關。舉例而言，如本文所用之術語「C_{3-6}雜環基」係指具有3至6個環原子之雜環基。

【0301】 如本文所用之術語「前驅藥」係指在活體內生理條件(例如酶促氧化、還原及/或水解)下可藉由酶或胃酸之作用而直接或間接轉化為吡咯并苯并二氮呯藥物的化合物。

【0302】 在本發明中，「醫藥學上可接受之鹽」可為由醫藥學上可接受之游離酸形成之酸加成鹽，且有機酸或無機酸可用作游離酸。

【0303】 有機酸之實例包括但不限於檸檬酸、乙酸、乳酸、酒石酸、順丁烯二酸、反丁烯二酸、甲酸、丙酸、乙二酸、三氟乙酸、苯甲酸、葡萄糖酸、甲磺酸、乙醇酸、丁二酸、4-甲苯磺酸、麩胺酸及天冬胺酸。又，無機酸之實例包括但不限於鹽酸、溴酸、硫酸及磷酸。

【0304】 舉例而言，當化合物具有陰離子或可能為陰離子的官能基時(例如-COOH可為-COO-)，化合物可與適合之陽離子形成鹽。適合之無機陽離子之實例包括但不限於鹼金屬離子(諸如Na^+及K^+)、鹼土金屬陽離子(諸如Ca^{2+}及Mg^{2+})及其他陽離子(諸如Al^{3+})。適合之有機陽離子之實例包括但不限於銨離子(亦即NH_4^+)及經取代之銨離子(例如NH_3R^+、$NH_2R_2^+$、NHR_3^+及NR_4^+)。

【0305】 一些適合之經取代的銨離子之實例為衍生自以下之銨離子：乙胺、二乙胺、二環己胺、三乙胺、丁胺、乙二胺、乙醇胺、二乙醇胺、哌啉、苯甲胺、苯基苯甲胺、膽鹼、葡甲胺及緩血酸胺，以及胺基酸(諸如離胺酸及精胺酸)。典型四級銨離子之實例包括$N(CH_3)_4^+$。

【0306】 當化合物具有陽離子或可能為陽離子的官能基時(例如-NH_2可為-NH_3^+)，化合物可與適合之陰離子形成鹽。適合的無機陰離子之實例包括但不限於衍生自以下無機酸之無機陰離子：鹽酸、氫溴酸、氫碘酸、硫酸、亞硫酸、硝酸、亞硝酸、磷酸及亞磷酸。

【0307】 適合之有機陰離子之實例包括但不限於衍生自以下有機酸之有機陰離子：2-乙醯氧基苯甲酸、乙酸、抗壞血酸、天冬胺酸、苯甲酸、樟腦磺酸、肉桂酸、檸檬酸、依地酸、乙二磺酸、乙磺酸、反丁烯二酸、葡庚糖酸、葡萄糖酸、麩胺酸、乙醇酸、羥基順丁烯二酸、羥基萘羧酸、羥乙基磺酸、乳酸、乳糖酸、月桂酸、順丁烯二酸、蘋果酸、甲磺酸、黏液酸、油酸、草酸、棕櫚酸、雙羥萘酸、泛酸、苯基乙酸、苯磺酸、丙酸、丙酮酸、水楊酸、硬脂酸、丁二酸、磺胺酸、酒石酸、甲苯磺酸及戊酸。適合之聚合有機陰離子的實例包括(但不限於)衍生自以下聚合酸之聚合有機陰離子：鞣酸及羧甲基纖維素。

【0308】 如本文所用之術語「溶劑合物」係指根據本發明之化合物與溶劑分子之間的分子複合物，且該等溶劑分子之實例包括但不限於水、異丙醇、乙醇、甲醇、二甲亞碸、乙酸乙酯、乙酸、乙醇胺，或結合至混合溶劑的根據本發明之化合物。

【0309】 可便利或合乎需要地製備、純化及/或處置活性化合物之等效溶劑合物。術語「溶劑合物」在本文中以其習知意義使用，指溶質(例如活性化合物或其鹽)與溶劑之複合物。當溶劑為水時，溶劑合物可適宜地稱為水合物，諸如單水合物、二水合物或三水合物。

【0310】 如本文所用之片語「有效量」或「治療有效量」係指達成目標治療結果所需之量(針對投與數量及投與時段及方式)。有效劑量係使對象獲得最小治療效果所必需的最小活化劑量，且小於毒性劑量。舉例而言，每個患者之劑量可在約100 ng至約100 mg/kg範圍內，更通常在約1 μg/kg至約10 mg/kg範圍內。當活性化合物為鹽、酯、醯胺、前驅藥或其類似物時，基於母體化合物計算劑量，且因此所用實際重量按比例增加。根據本發明之吡咯并苯并二氮呯化合物可經調配為每單位劑型包括0.1 mg至3000 mg、1 mg至2000 mg或10 mg至1000 mg活性成分，但本發明不限於此。可投與活性成分以使活性化合物之血漿峰濃度達到約0.05 μM至約100 μM、約1 μM至約50 μM或約5 μM至約30 μM。舉例而言，活性成分在鹽水中的0.1 w/v%至5 w/v%溶液可經由靜脈內注射投與。

【0311】 活性化合物在醫藥組合物中之濃度可藉由藥物之吸收、失活及排泄速率及一般熟習此項技術者已知之其他因素來測定。劑量可視症狀/疾病之嚴重程度而變化。此外，考慮到患者之症狀/疾病之嚴重程度、必要性、年齡、藥物反應及其類似者，特定患者之劑量及投與方法可根據

投藥監察員之專業判斷來調整，且本文所描述之濃度範圍僅為例示性的且不意欲限制所主張之組合物之實施例。此外，活性成分可投與一次，或亦可以多次劑量投與較小劑量之活性成分。

【0312】 如本文所用之術語「連接子」係指將細胞毒性化合物共價鍵結至抗體之化合物。

【0313】 如本文所用之術語「細胞內裂解(intracellularly cleaved/intracellular cleavage)」係指抗體構築體-活性劑結合物在細胞內的代謝過程或反應，藉此活性劑(B)與抗體構築體(Ab)之間的共價附接(例如連接子)斷裂，從而引起游離藥物或結合物之其他代謝物在細胞內與抗體分離。

【0314】

實例

現已大體描述本發明，參考以下實例將更容易理解本發明，僅出於說明本發明之某些態樣及實施例之目的而包括該等實例，且不意欲限制本發明。

【0315】

實例1：對人類TROP2 (腫瘤相關鈣離子信號轉導子2，TACSTD2)具有特異性之抗體之產生

藉由美國專利第15/532598號中所描述之方法產生抗TROP2人源化抗體2G10-5及2G10-6，其更強力地特異性結合至主要在腫瘤中表現之TROP2 (腫瘤相關鈣信號轉導子2，TACSTD2)。另外，抗體之胺基酸序列展示於以下表1及表2中。

[表1]

2G10-5重鏈		SEQ ID NO:
FR1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFTFS	1
CDR1	SSYIS	2
FR2	WLRQAPGQRLEWIA	3
CDR2	WIYAGTGGTSYNQKFTG	4
FR3	KATLTVDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR	5
CDR3	HNPRYYAMDY	6
FR4	WGQGTTVTVSS	7
VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFTFSSSYISWLRQAPGQRLEWIAWIYAGTGGTSYNQKFTGKATLTVDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARHNPRYYAMDYWGQGTTVTVSS	15
HC	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFTFSSSYISWLRQAPGQRLEWIAWIYAGTGGTSYNQKFTGKATLTVDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARHNPRYYAMDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	17
2G10-5輕鏈		SEQ ID NO:
FR1	DTQMTQSPSSLSASVGDRVTITC	8
CDR1	ITSTDIDDDMN	9
FR2	WYQQKPGKAPKLLIS	10
CDR2	EGNTLRP	11
FR3	GVPSRFSGSGYGTDFTFTISSLQPEDIATYYC	12
CDR3	LQSDNLPYT	13
FR4	FGGGTKVEIK	14
VL	DTQMTQSPSSLSASVGDRVTITCITSTDIDDDMNWYQQKPGKAPKLLISEGNTLRPGVPSRFSGSGYGTDFTFTISSLQPEDIATYYCLQSDNLPYTFGGGTKVEIK	16
LC	DTQMTQSPSSLSASVGDRVTITCITSTDIDDDMNWYQQKPGKAPKLLISEGNTLRPGVPSRFSGSGYGTDFTFTISSLQPEDIATYYCLQSDNLPYTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	18

[表2]

2G10-6重鏈		SEQ ID NO:
FR1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFTFS	1
CDR1	SSYIS	2
FR2	WLRQAPGQRLEWIA	3
CDR2	WIYAGTGGTSYNQKFTG	4
FR3	RVTLTVDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR	19
CDR3	HNPRYYAMDY	6
FR4	WGQGTTVTVSS	7
VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFTFSSSYISWLRQAPGQRLEWIAWIYAGTGGTSYNQKFTGRVTLTVDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARHNPRYYAMDYWGQGTTVTVSS	20
HC	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFTFSSSYISWLRQAPGQRLEWIAWIYAGTGGTSYNQKFTGRVTLTVDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARHNPRYYAMDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	21
2G10-6輕鏈		SEQ ID NO:
FR1	DTQMTQSPSSLSASVGDRVTITC	8
CDR1	ITSTDIDDDMN	9
FR2	WYQQKPGKAPKLLIS	10
CDR2	EGNTLRP	11
FR3	GVPSRFSGSGYGTDFTFTISSLQPEDIATYYC	12
CDR3	LQSDNLPYT	13
FR4	FGGGTKVEIK	14
VL	DTQMTQSPSSLSASVGDRVTITCITSTDIDDDMNWYQQKPGKAPKLLISEGNTLRPGVPSRFSGSGYGTDFTFTISSLQPEDIATYYCLQSDNLPYTFGGGTKVEIK	16
LC	DTQMTQSPSSLSASVGDRVTITCITSTDIDDDMNWYQQKPGKAPKLLISEGNTLRPGVPSRFSGSGYGTDFTFTISSLQPEDIATYYCLQSDNLPYTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	18

【0316】另外，對於ADC合成，藉由將CaaX肽部分(GGGGGGGCVIM；SEQ ID NO:22)融合至抗體2G10-5之輕鏈(SEQ ID NO:18)之C端來構築抗體殖株2G10-5-CaaX，且經由基於CHO細胞之短暫表現來產生抗體。所產生之抗體2G10-5-CaaX用於ADC合成。抗體之

胺基酸序列展示於表3中。

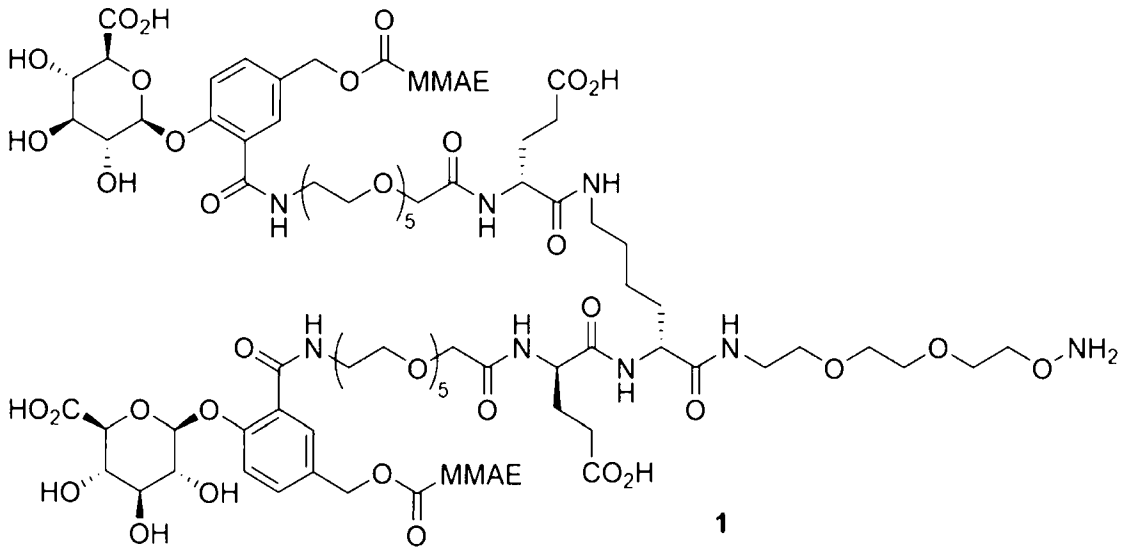
[表3]

2G10-5-CaaX重鏈		SEQ ID NO:
FR1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFTFS	1
CDR1	SSYIS	2
FR2	WLRQAPGQRLEWIA	3
CDR2	WIYAGTGGTSYNQKFTG	4
FR3	KATLTVDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR	5
CDR3	HNPRYYAMDY	6
FR4	WGQGTTVTVSS	7
VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFTFSSSYISWLRQAPGQRLEWIAWIYAGTGGTSYNQKFTGKATLTVDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARHNPRYYAMDYWGQGTTVTVSS	15
HC	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFTFSSSYISWLRQAPGQRLEWIAWIYAGTGGTSYNQKFTGKATLTVDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARHNPRYYAMDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	17
2G10-5-CaaX輕鏈		SEQ ID NO:
FR1	DTQMTQSPSSLSASVGDRVTITC	8
CDR1	ITSTDIDDDMN	9
FR2	WYQQKPGKAPKLLIS	10
CDR2	EGNTLRP	11
FR3	GVPSRFSGSGYGTDFTFTISSLQPEDIATYYC	12
CDR3	LQSDNLPYT	13
FR4	FGGGTKVEIK	14
VL	DTQMTQSPSSLSASVGDRVTITCITSTDIDDDMNWYQQKPGKAPKLLISEGNTLRPGVPSRFSGSGYGTDFTFTISSLQPEDIATYYCLQSDNLPYTFGGGTKVEIK	16
LC	DTQMTQSPSSLSASVGDRVTITCITSTDIDDDMNWYQQKPGKAPKLLISEGNTLRPGVPSRFSGSGYGTDFTFTISSLQPEDIATYYCLQSDNLPYTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECGGGGGGGCVIM	23

【0317】

實例2：化合物1、化合物2、化合物3及化合物4之合成製備

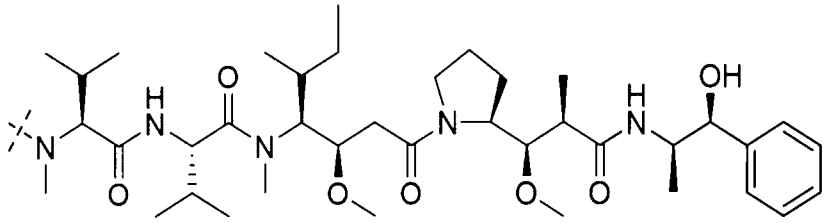
<2-1>化合物1之製備



1

化合物1係使用韓國專利申請案第10-2018-7018068號中所描述之方法來製備。

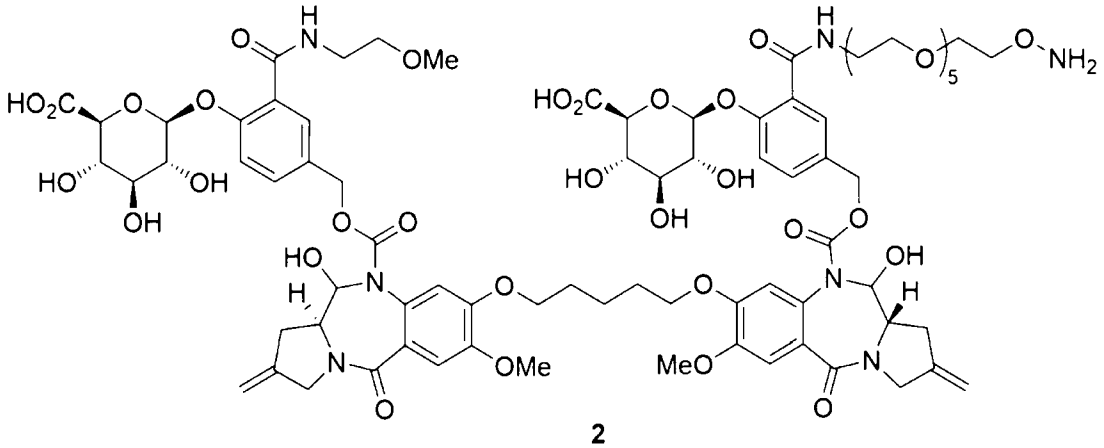
【0318】 化合物1中之單甲基奧瑞他汀E (MMAE)之結構如下：



MMAE

【0319】

<2-2>化合物2之製備

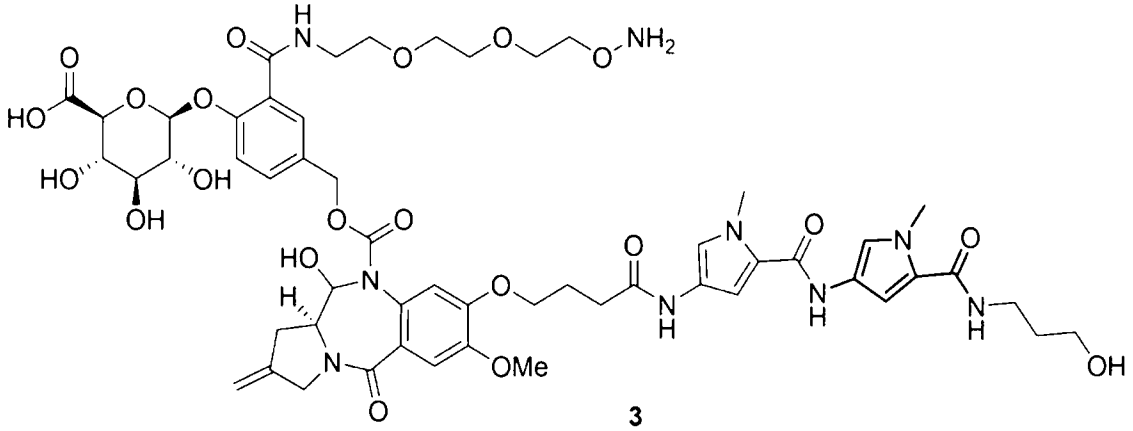


2

化合物2係使用韓國專利申請案第10-2018-0036895號中所描述之方法來製備。

【0320】

<2-3>化合物3之製備

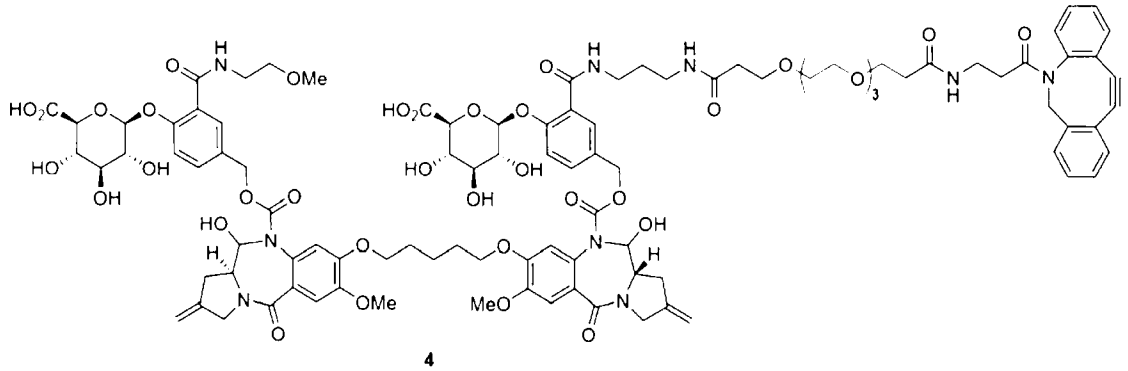


3

化合物3係使用韓國專利申請案第10-2020-0188314號中所描述之方法來製備。

【0321】

<2-4>化合物4之製備



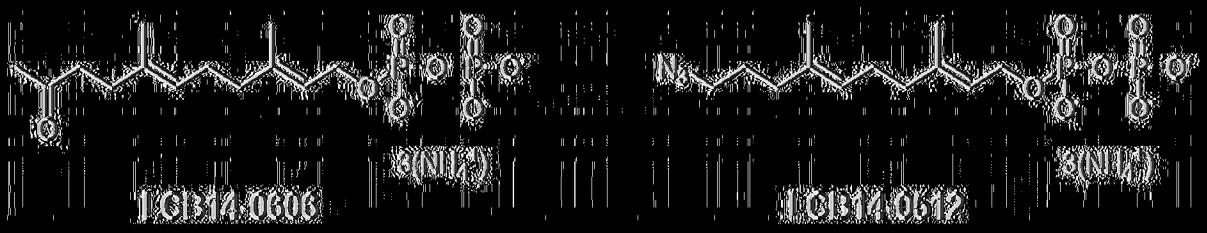
4

化合物4係使用韓國專利申請案第10-2018-0036895號中所描述之方法來製備。

【0322】

實例3： ADC之合成製備

ADC係經由以下兩個步驟製備，且通常使用之LCB14-0606及LCB14-0512係使用韓國專利申請案第10-2013-7032628號中所描述之方法來製備。LCB14-0606及LCB14-0512之結構式如下：



|0323|

步驟1：紫異戊二烯化抗體之產生

<使用LCB14-0606產生紫異戊二烯化抗體>

製備實例1之抗體2G10-5-CaaX之紫異戊二烯化反應混合物且使反應在30℃下進行16小時。反應混合物由24 μM抗體、600 nM法呢基轉移酶(Genscript)及含有144 μM LCB14-0606之緩衝溶液(50 mM Triss-HCl (pH 7.4)、5 mM $MgCl_2$、10 μM $ZnCl_2$及0.5 mM DTT)組成。反應完成後，使用藉由PBS緩衝溶液平衡之G25瓊脂糖凝膠管柱(AKTA純化器、GE healthcare)使紫異戊二烯化抗體去鹽。

|0324|

<使用LCB14-0512產生紫異戊二烯化抗體>

製備實例1之抗體2G10-5-CaaX之紫異戊二烯化反應混合物且使反應在30℃下進行2小時。反應混合物由24 μM抗體、600 nM 法呢基轉移酶(Genscript)及含有200 μM LCB14-0512之緩衝溶液(50 mM Triss-HCl (pH 7.4)、5 mM $MgCl_2$、10 μM $ZnCl_2$及0.1 mM DTT)組成。反應完成後，使用藉由PBS緩衝溶液平衡之G25瓊脂糖凝膠管柱(AKTA純化器、GE healthcare)使紫異戊二烯化抗體去鹽。

|0325|

步驟2：藥物結合方法

<藉由肟鍵形成進行之結合>

藉由將100 μM Na-乙酸鹽緩衝溶液pH 5.2、10% DMSO、24 μM紫

異戊二烯化抗體及240 μM連接子-藥物(內部，實例2之化合物1、2或3)混合，且在30℃下輕輕攪拌來製備用於聚異戊二烯化抗體與連接子-藥物之間的肟鍵形成反應的混合物。在反應6小時或24小時之後，進行FLPC (AKTA純化器，GE healthcare)過程以移除過量的所用小型化合物，且收集且濃縮蛋白質溶離份。

【0326】

<藉由無銅點擊反應進行之結合>

為了使用聚異戊二烯化抗體與連接子-藥物之間的無銅點擊偶合反應來製備ADC，將PBS緩衝溶液(pH 7.4)、1% DMSO、10 μM聚異戊二烯化抗體及100 μM連接子-藥物(內部，實例2中之化合物4)混合，得到反應混合物，且在25℃下反應6小時後，經由FPLC (AKTA純化器，GE healthcare)或G25瓊脂糖凝膠管柱過程移除過量的小分子化合物，且收集且濃縮蛋白質溶離份。

經由以上兩個步驟產生之ADC展示於以下表4及圖1至圖4中。

[表4]

ADC	抗體	聚異戊二烯化基團	毒素
ADC1	2G10-5	LCB12-0606	化合物1
ADC2			化合物2
ADC3			化合物3
ADC4		LCB14-0512	化合物4

【0327】

<實驗實例1>活體外細胞毒性評估

量測根據<實例2>產生之ADC及單獨的ADC中所包括的藥物對癌細胞株的細胞增殖抑制活性。

【0328】 特定言之，使用作為癌細胞株市售的人類胰臟癌細胞株

(BxPC-3、Capan-1及PATU-8988s)、乳癌細胞株(JIMT-1及MDA-MB-468)、胃癌細胞株(NCI-N87、SNU-601及SNU-620)、結腸癌細胞株(HCT15、HT29、DLD-1、SW480及COLO205)、卵巢癌細胞株(OVCAR-3)、前列腺癌細胞株(PC-3及LNCaP)及非小細胞肺癌細胞株(NCI-H1781、HCC827、Calu-1及Calu-3)。使用根據實例3製備之ADC中所包括的呈單獨藥物形式之MMAE及作為PBD二聚體之SG2057 (CAS#：260417-62-7，MedKoo Biosciences)。將500個細胞/孔至5,000個細胞/孔之各癌細胞株接種至96孔盤中且培養24小時，且接著以0.256 pM至100 nM之濃度(5倍連續稀釋)處理根據實例3產生之各ADC1、ADC2及ADC3以及單獨的藥物MMAE及SG2057。144小時後，使用磺醯若丹明B (sulforhodamine B，SRB)染料或Cell titer glo對活細胞之數目進行定量。

【0329】 因此，如表5至表7中所示，證實與基於奧瑞他汀之抗體-藥物結合物(ADC1)相比，基於吡咯并苯并二氮呯之抗體-藥物結合物(ADC2及ADC3)在大部分癌細胞株中展現更強的細胞毒性。

[表5]

測試樣品	CC_{50} (nM)							
	BxPC-3	**Capan-1**	**Patu8988S**	**JIMT-1**	**MDA-MB-468**	**NCI-N87**	**SNU-601**	**SNU-620**
MMAE	0.606	0.520	0.334	0.154	0.640	0.725	0.268	0.651
SG2057	-	-	-	-	-	-	-	-
ADC1	4.639	18.060	1.412	0.231	6.104	0.582	7.267	19.180
ADC2	3.605	-	-	-	0.580	0.148	-	-
ADC3	53.680	-	-	-	11.540	0.357	-	-

[表6]

測試樣品	CC_{50} (nM)							
	HCT15	**HT29**	**DLD-1**	**SW480**	**COLO205**	**OVCAR-3**	**PC-3**	**LNCaP**
MMAE	3.865	0.330	8.883	3.825	0.628	0.304	0.946	0.551
SG2057	0.161	0.020	0.050	-	-	-	-	-
ADC1	>100	4.043	>100	>100	11.950	10.030	42.900	44.450
ADC2	57.160	1.065	31.030	-	-	-	-	-
ADC3	42.000	5.435	42.470	-	-	-	-	-

[表7]

測試樣品	CC_{50} (nM)			
	NCI-H1781	HCC827	Calu-1	Calu-3
MMAE	0.208	0.674	0.971	0.400
SG2057	-	-	-	-
ADC1	3.220	11.290	59.580	3.538
ADC2	-	-	-	-
ADC3	-	-	-	-

【0330】

<實驗實例2>活體內腫瘤生長抑制功效之分析

在移植腫瘤之小鼠模型中，分析根據實例3產生之ADC的腫瘤生長抑制功效。

【0331】特定言之，培養胰臟癌細胞株(BxPC-3及Capan-1)、乳癌細胞株(MDA-MB-468)、胃癌細胞株(NCI-N87)、結腸癌細胞株(HT29)及非小細胞肺癌細胞株(HCC827及NCI-H2170)。將經培養之細胞懸浮於100 μl PBS中使得細胞數目變為1×10^6至7×10^6，與100 μl基質膠混合，且接著移植至Balb/c-裸小鼠中。當腫瘤尺寸達到100 mm^3至200 mm^3時，根據以下表8至表10中所示之給藥方案靜脈內投與根據實例3製備之各ADC。在即將初次投與(第1天)之前量測小鼠中移植之腫瘤尺寸，且接著定期量測持續56天。作為對照，投與Trodelvy (戈沙妥珠單抗-hziy (sacituzumab govitecan-hziy))或DS-1062BS (達博妥單抗德魯替康(Datopotamab deruxtecan))。

[表8]

初次(QD×1)	MDA-MB-468	BxPC-3
ADC1	2、4 mpk	2、4 mpk
ADC2	0.2、0.3、0.4 mpk	-
ADC3	1、4 mpk	-

[表9]

第二次	MDA-MB-468	BxPC-3	NCI-N87	HCC827
ADC1	0.5 mpk (Q4D×4) 1 mpk (Q4D×4) 2 mpk (QD×1)	0.5 mpk (2QW×4) 1 mpk (2QW×2) 2 mpk (QD×1)	2 mpk (QD×1) 4 mpk (QD×1)	4 mpk (2QW×2) 4 mpk (QD×1) 10 mpk (QD×1)
Trodelvy	12.5 mpk (Q4D×4)	25 mpk (2QW×4)	17.5 mpk (2QW×4)	12.5 mpk (2QW×2)

[表10]

第三次	BxPC-3	HCC827	Capan-1	NCI-H2170	HT-29
ADC1	2 mpk (QD×1) 2 mpk (2QW×2)	4 mpk (2QW×2) 10 mpk (QD×1)	10 mpk (QD×1) 10 mpk (QW×3)	4 mpk (2QW×2) 10 mpk (QD×1)	5 mpk (QD×1) 5 mpk (2QW×2)
Trodelvy	25 mpk (2QW×4)	12.5 mpk (2QW×4)	25 mpk (2QW×4)	25 mpk (2QW×4)	12.5 mpk (2QW×4)
DS-1062BS	3 mpk (QW×2)	10 mpk (QD×1)	10 mpk (QD×1) 10 mpk (QW×3)	4 mpk (2QW×2) 10 mpk (QD×1)	5 mpk (2QW×2)

【0332】 因此，如圖5A及圖5B中所繪示，經由第一實驗證實，當向移植胰臟癌細胞株之小鼠模型投與使用肟反應之基於奧瑞他汀之抗體-藥物結合物(ADC1)時，與對照組相比，2 mg/kg及4 mg/kg兩種情況均以劑量依賴性方式展現出腫瘤生長抑制功效(圖5A)。在移植乳癌細胞株之小鼠模型中，投與使用肟反應之基於奧瑞他汀之抗體-藥物結合物(ADC1)組及投與基於吡咯并苯并二氮呯類之抗體-藥物結合物(ADC2及ADC3)組均證實了腫瘤生長抑制功效。

【0333】 如圖6A至圖6D所繪示，亦經由第二實驗證實，與市售藥物Trodelvy相比，ADC1在所有四種移植癌細胞株之小鼠模型(MDA-MB-468、BxPC-3、NCI-N87及HCC827)中均具有極佳功效。

【0334】 如圖7A至圖7E所繪示，亦經由第三實驗證實，與市售藥物Trodelvy相比，ADC1在所有五種移植癌細胞株之小鼠模型(BxPC-3、HCC827、Capan-1、NCI-H2170及HT-29)中均具有極佳功效，且ADC1之功效與競爭性藥物DS-1062BS相當。

```
<?xml version="1.0" encoding="UTF-8"?>
<!DOCTYPE ST26SequenceListing PUBLIC "-//WIPO//DTD Sequence Listing 1.3//EN"
"ST26SequenceListing_V1_3.dtd">
<ST26SequenceListing  dtdVersion="V1_3" fileName="C257140SEQA.xml"
softwareName="WIPO Sequence" softwareVersion="2.3.0" productionDate="2023-10-
17">
 <ApplicationIdentification>
  <IPOfficeCode>US</IPOfficeCode>
  <ApplicationNumberText></ApplicationNumberText>
  <FilingDate></FilingDate>
 </ApplicationIdentification>
 <ApplicantFileReference>LCH-01625</ApplicantFileReference>
 <EarliestPriorityApplicationIdentification>
  <IPOfficeCode>KR</IPOfficeCode>
  <ApplicationNumberText>10-2022-0043049</ApplicationNumberText>
  <FilingDate>2022-04-06</FilingDate>
 </EarliestPriorityApplicationIdentification>
 <ApplicantName languageCode="zh">韓商樂高化學生物科學股份有限公司(LEGOCHEM
BIOSCIENCES, INC.)</ApplicantName>
 <ApplicantNameLatin>LEGOCHEM BIOSCIENCES, INC.</ApplicantNameLatin>
 <InventionTitle languageCode="zh">包含抗人類TROP2之抗體的抗體-藥物結合物及其用
途</InventionTitle>
 <SequenceTotalQuantity>27</SequenceTotalQuantity>
 <SequenceData sequenceIDNumber="1">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>30</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..30</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q3">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
```

```
        <INSDQualifier_value>2G10-5_2G10-5-CaaX_2G10-6_HFR1</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q2">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFTFS</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="2">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>5</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..5</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q5">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>2G10-5_2G10-5-CaaX_2G10-
6_HCDR1</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q4">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>SSYIS</INSDSeq_sequence>
```

```
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="3">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>14</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..14</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q7">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>2G10-5_2G10-5-CaaX_2G10-6_HFR2</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q6">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>WLRQAPGQRLEWIA</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="4">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>17</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>
```

```
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q9">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>2G10-5_2G10-5-CaaX_2G10-
6_HCDR2</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q8">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>WIYAGTGGTSYNQKFTG</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="5">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>32</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..32</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q11">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>2G10-5_2G10-5-CaaX_HFR3</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q10">
```

```
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>KATLTVDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="6">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>10</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..10</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q13">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>2G10-5_2G10-5-CaaX_2G10-
6_HCDR3</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q12">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>HNPRYYAMDY</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="7">
```

```
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>11</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..11</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q15">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>2G10-5_2G10-5-CaaX_2G10-6_HFR4</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q14">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>WGQGTTVTVSS</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="8">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>23</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..23</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
```

```
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q17">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>2G10-5_2G10-5-CaaX_2G10-6_LFR1</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q16">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>DTQMTQSPSSLSASVGDRVTITC</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="9">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>11</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..11</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q19">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>2G10-5_2G10-5-CaaX_2G10-
6_LCDR1</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q18">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
```

```
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>ITSTDIDDDMN</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="10">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>15</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..15</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q21">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>2G10-5_2G10-5-CaaX_2G10-6_LFR2</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q20">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>WYQQKPGKAPKLLIS</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="11">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>7</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
```

```
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q23">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>2G10-5_2G10-5-CaaX_2G10-
6_LCDR2</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q22">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>EGNTLRP</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="12">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>32</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..32</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q25">
```

```
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>2G10-5_2G10-5-CaaX_2G10-6_LFR3</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q24">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>GVPSRFSGSGYGTDFTFTISSLQPEDIATYYC</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="13">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q27">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>2G10-5_2G10-5-CaaX_2G10-
6_LCDR3</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q26">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
```

```
  <INSDSeq_sequence>LQSDNLPYT</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="14">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>10</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..10</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q29">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>2G10-5_2G10-5-CaaX_2G10-6_LFR4</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q28">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>FGGGTKVEIK</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="15">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>119</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
```

```
      <INSDFeature_location>1..119</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q31">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>2G10-5_2G10-5-CaaX_VH</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q30">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFTFSSSYISWLRQAPGQRLEWIAWIYAGTGGTSYNQ
KFTGKATLTVDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARHNPRYYAMDYWGQGTTVTVSS</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="16">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>107</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..107</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q33">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>2G10-5_2G10-5-CaaX_2G10-6_VL</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
```

```
      <INSDQualifier id="q32">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>DTQMTQSPSSLSASVGDRVTITCITSTDIDDDMNWYQQKPGKAPKLLISEGNTLRPGVPSRF
SGSGYGTDFTFTISSLQPEDIATYYCLQSDNLPYTFGGGTKVEIK</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="17">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>449</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..449</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q35">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>2G10-5_2G10-5-CaaX_HC</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q34">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFTFSSSYISWLRQAPGQRLEWIAWIYAGTGGTSYNQ
KFTGKATLTVDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARHNPRYYAMDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA
ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC
DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY
```

RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</INSDSeq_seq
uence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="18">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>214</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..214</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q37">
<INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>2G10-5_2G10-6_LC</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q36">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>DTQMTQSPSSLSASVGDRVTITCITSTDIDDDMNWYQQKPGKAPKLLISEGNTLRPGVPSRF
SGSGYGTDFTFTISSLQPEDIATYYCLQSDNLPYTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR
EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</INSDSe
q_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="19">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>32</INSDSeq_length>

```
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..32</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q39">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>2G10-6_HFR3</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q38">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>RVTLTVDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="20">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>119</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..119</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
```

```
      <INSDQualifier id="q41">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>2G10-6_VH</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q40">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFTFSSSYISWLRQAPGQRLEWIAWIYAGTGGTSYNQ
KFTGRVTLTVDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARHNPRYYAMDYWGQGTTVTVSS</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="21">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>449</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..449</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q43">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>2G10-6_HC</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q42">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
```

```
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFTFSSSYISWLRQAPGQRLEWIAWIYAGTGGTSYNQ
KFTGRVTLTVDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARHNPRYYAMDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA
ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC
DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY
RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</INSDSeq_seq
uence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="22">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>11</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..11</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q45">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>CaaX peptide moiety</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q44">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>GGGGGGGCVIM</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="23">
```

```
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>225</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..225</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q47">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>2G10-5-CaaX_LC</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q46">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>DTQMTQSPSSLSASVGDRVTITCITSTDIDDDMNWYQQKPGKAPKLLISEGNTLRPGVPSRF
SGSGYGTDFTFTISSLQPEDIATYYCLQSDNLPYTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR
EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECGGGGGGC
VIM</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="24">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>4</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..4</INSDFeature_location>
```

```
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q50">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>CVIM</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="25">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>4</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..4</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q51">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>CVLL</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
```

<SequenceData sequenceIDNumber="26">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>8</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q52">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>CROSSLNK</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..5</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier id="q53">
<INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>Tryptathionine linkage between 6-hydroxy-tryptophan and S-oxy cysteine</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>MOD_RES</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier id="q54">
<INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>6-hydroxy-tryptophan</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>

```
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>MOD_RES</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>5</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q55">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>S-oxy cysteine</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>MOD_RES</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>7</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q56">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>4Hyp</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>MOD_RES</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>8</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q57">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>4,5-dihydroxyisoleucine</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>WGIGCNPI</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="27">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>8</INSDSeq_length>
```

```
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q58">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>CROSSLNK</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>4..8</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q59">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Tryptathionine linkage between 6-hydroxy-tryptophan
and S-oxy cysteine</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>MOD_RES</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q60">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>4,5-dihydroxyisoleucine</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
```

```
      <INSDFeature_key>MOD_RES</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>2</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q61">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>4Hyp</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>MOD_RES</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>4</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q62">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>S-oxy cysteine</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>MOD_RES</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>8</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q63">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>6-hydroxy-tryptophan</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>IPNCGIGW</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
</ST26SequenceListing>
```

【發明申請專利範圍】

【請求項1】

一種具有以通式I所表示之結構的結合物或其醫藥學上可接受之鹽：

[通式I]

$$Ab-[L-(B)_l]_m$$

其中，

Ab為抗TROP2 (腫瘤相關鈣信號轉導子2，亦稱為TACSTD2)抗體或其抗原結合片段，其包含重鏈可變區及輕鏈可變區，其中

該重鏈可變區包含：包含SEQ ID NO:2之胺基酸序列之重鏈CDR1、包含SEQ ID NO:4之胺基酸序列之重鏈CDR2及包含SEQ ID NO:6之胺基酸序列之重鏈CDR3；及

該輕鏈可變區包含：包含SEQ ID NO:9之胺基酸序列之輕鏈CDR1、包含SEQ ID NO:11之胺基酸序列之輕鏈CDR2及包含SEQ ID NO:13之胺基酸序列之輕鏈CDR3；

L為連接子；

B為活性劑；及

l及m各自獨立地為1至20。

【請求項2】

如請求項1之結合物，其中該抗體或其抗原結合片段包含重鏈可變區，該重鏈可變區包含：

SEQ ID NO:15或20之胺基酸序列；

與SEQ ID NO:15或20之胺基酸序列具有至少90%序列一致性，同時維持該包含SEQ ID NO:2之胺基酸序列之重鏈CDR1、該包含SEQ ID

NO:4之胺基酸序列之重鏈CDR2及該包含SEQ ID NO:6之胺基酸序列之重鏈CDR3之序列；或

與SEQ ID NO:15或20之胺基酸序列具有至少95%序列一致性，同時維持該包含SEQ ID NO:2之胺基酸序列之重鏈CDR1、該包含SEQ ID NO:4之胺基酸序列之重鏈CDR2及該包含SEQ ID NO:6之胺基酸序列之重鏈CDR3之序列。

【請求項3】

如請求項1或2之結合物，其中該抗體或其抗原結合片段包含輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含：

SEQ ID NO:16之胺基酸序列；

與SEQ ID NO:16之胺基酸序列具有至少90%序列一致性，同時維持該包含SEQ ID NO:9之胺基酸序列之輕鏈CDR1、該包含SEQ ID NO:11之胺基酸序列之輕鏈CDR2及該包含SEQ ID NO:13之胺基酸序列之輕鏈CDR3之序列；或

與SEQ ID NO:16之胺基酸序列具有至少95%序列一致性，同時維持該包含SEQ ID NO:9之胺基酸序列之輕鏈CDR1、該包含SEQ ID NO:11之胺基酸序列之輕鏈CDR2及該包含SEQ ID NO:13之胺基酸序列之輕鏈CDR3之序列。

【請求項4】

如請求項1之結合物，其中該抗體或其抗原結合片段包含以下：包含SEQ ID NO:15之胺基酸序列之重鏈可變區及包含SEQ ID NO:16之胺基酸序列之輕鏈可變區。

【請求項5】

如請求項1至4中任一項之結合物，其中該抗體為人源化抗體。

【請求項6】

如請求項1至5中任一項之結合物，其中該人源化抗體包含：

(i)來自人類抗體重鏈或來自人類共同構架之可變重鏈構架區，其中該可變重鏈構架區包含以下胺基酸序列變化中之一或多者：Y27F、T30S、V37L、M48I、G49A、I70L及R72V；及

(ii)來自人類抗體輕鏈或來自人類共同構架之可變輕鏈構架區，其中該可變輕鏈構架區包含以下胺基酸序列變化：Y49S。

【請求項7】

如請求項1至6中任一項之結合物，其中該抗體或其抗原結合片段係選自單株抗體、域抗體(dAb)、單鏈抗體(scAb)、Fab片段、Fab'片段、F(ab')2片段、scFab片段、Fv片段、dsFv片段、單鏈可變片段(scFv)、scFv-Fc片段、單域重鏈抗體、單域輕鏈抗體、變異抗體、多聚抗體、微型抗體、雙功能抗體、雙特異性抗體及多特異性抗體。

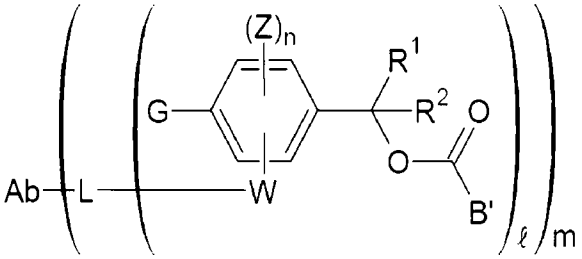
【請求項8】

如請求項1至7中任一項之結合物，其中L為可裂解的。

【請求項9】

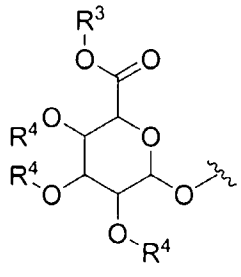
如請求項1至8中任一項之結合物，其中該結合物具有以通式IIa表示之結構或其醫藥學上可接受之鹽：

[通式IIa]



其中

各B'為活性劑；



各G獨立地為葡糖醛酸部分或 ；

R^3為氫或羧基保護基；

各R^4獨立地為氫或羥基保護基；

R^1及R^2各自獨立地為氫、C_{1-8}烷基或C_{3-8}環烷基；

W為-C(O)-、-C(O)NR'-、-C(O)O-、-SO_2NR'-、-P(O)R''NR'、-SONR'-或-PO_2NR'-，其中C、S或P直接鍵結至式IIa之苯環；

R'及R''各自獨立地為氫、C_{1-8}烷基、C_{3-8}環烷基、C_{1-8}烷氧基、C_{1-8}烷硫基、單-C_{1-8}烷胺基或二-C_{1-8}烷胺基、C_{3-20}雜芳基或C_{6-20}芳基；

各Z獨立地為氫、C_{1-8}烷基、鹵素、氰基或硝基；

n為0、1、2或3；

L包含：

A)C_{1-50}伸烷基或C_{1-50}伸雜烷基，且包含

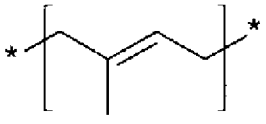
(i)一或多個不飽和鍵

(ii)伸雜芳基；或

(iii)經至少一個C_{1-20}烷基取代；或

B)至少一個具有以通式III表示之結構的異平基：

[通式III]



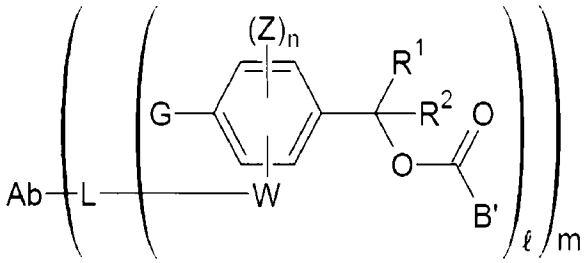
；及

l及m各自獨立地為1至20。

【請求項10】

一種具有以通式IIa表示之結構的結合物或其醫藥學上可接受之鹽：

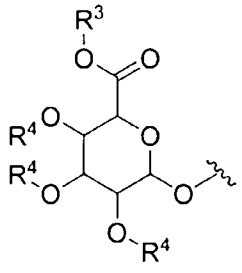
[式IIa]



其中

Ab為抗TROP2 (腫瘤相關鈣信號轉導子2，亦稱為TACSTD2)抗體或其抗原結合片段；

各B'為活性劑；

各G獨立地為葡糖醛酸部分或  ；

R^3為氫或羧基保護基；

各R^4獨立地為氫或羥基保護基；

R^1及R^2各自獨立地為氫、C_{1-8}烷基或C_{3-8}環烷基；

W為-C(O)-、-C(O)NR'-、-C(O)O-、-SO_2NR'-、-P(O)R''NR'、-SONR'-或-PO_2NR'-，其中C、S或P直接鍵結至式IIa之苯環；

R'及R''各自獨立地為氫、C_{1-8}烷基、C_{3-8}環烷基、C_{1-8}烷氧基、C_{1-8}烷硫基、單-C_{1-8}烷胺基或二-C_{1-8}烷胺基、C_{3-20}雜芳基或C_{6-20}芳基；

各Z獨立地為氫、C_{1-8}烷基、鹵素、氰基或硝基；

n為0、1、2或3；

L包含：

A)C_{1-50}伸烷基或C_{1-50}伸雜烷基，且包含

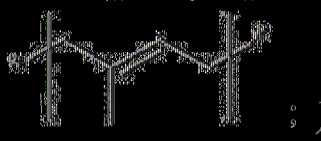
(i)一或多個不飽和鍵

(ii)伸雜芳基；或

(iii)經至少一個C_{1-20}烷基取代；或

B)至少一個具有以通式III表示之結構的異半基：

[通式III]



；及

l及m各自獨立地為1至20。

[請求項11]

如請求項10之結合物，其中該抗體或其抗原結合片段包含重鏈可變區及輕鏈可變區，其中：

該重鏈可變區包含：包含SEQ ID NO:2之胺基酸序列之重鏈CDR1、包含SEQ ID NO:4之胺基酸序列之重鏈CDR2及包含SEQ ID NO:6之胺基酸序列之重鏈CDR3；及

該輕鏈可變區包含：包含SEQ ID NO:9之胺基酸序列之輕鏈CDR1、包含SEQ ID NO:11之胺基酸序列之輕鏈CDR2及包含SEQ ID NO:13之胺基酸序列之輕鏈CDR3。

[請求項12]

如請求項11之結合物，其中該抗體或其抗原結合片段包含重鏈可變區，該重鏈可變區包含：

SEQ ID NO:15或20之胺基酸序列；

與SEQ ID NO:15或20之胺基酸序列具有至少90%序列一致性，同時維持該包含SEQ ID NO:9之胺基酸序列之輕鏈CDR1、該包含SEQ ID NO:11之胺基酸序列之輕鏈CDR2及該包含SEQ ID NO:13之胺基酸序列之輕鏈CDR3之序列；或

與SEQ ID NO:15或20之胺基酸序列具有至少95%序列一致性，同時維持該包含SEQ ID NO:9之胺基酸序列之輕鏈CDR1、該包含SEQ ID NO:11之胺基酸序列之輕鏈CDR2及該包含SEQ ID NO:13之胺基酸序列之輕鏈CDR3之序列。

【請求項13】

如請求項11或12之結合物，其中該抗體或其抗原結合片段包含輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含：

SEQ ID NO:16之胺基酸序列；

與SEQ ID NO:16之胺基酸序列具有至少90%序列一致性，同時維持該包含SEQ ID NO:9之胺基酸序列之輕鏈CDR1、該包含SEQ ID NO:11之胺基酸序列之輕鏈CDR2及該包含SEQ ID NO:13之胺基酸序列之輕鏈CDR3之序列；或

與SEQ ID NO:16之胺基酸序列具有至少95%序列一致性，同時維持該包含SEQ ID NO:9之胺基酸序列之輕鏈CDR1、該包含SEQ ID NO:11之胺基酸序列之輕鏈CDR2及該包含SEQ ID NO:13之胺基酸序列之輕鏈CDR3之序列。

【請求項14】

如請求項11之結合物，其中該抗體或其抗原結合片段包含以下：包含SEQ ID NO:15之胺基酸序列之重鏈可變區及包含SEQ ID NO:16之胺基

酸序列之輕鏈可變區。

【請求項15】

如請求項11至14中任一項之結合物，其中該抗體為人源化抗體。

【請求項16】

如請求項11至15中任一項之結合物，其中該人源化抗體包含：

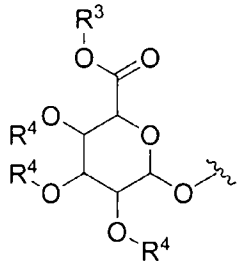
(i)來自人類抗體重鏈或來自人類共同構架之可變重鏈構架區，其中該可變重鏈構架區包含以下胺基酸序列變化中之一或多者：Y27F、T30S、V37L、M48I、G49A、I70L及R72V；及

(ii)來自人類抗體輕鏈或來自人類共同構架之可變輕鏈構架區，其中該可變輕鏈構架區包含以下胺基酸序列變化：Y49S。

【請求項17】

如請求項11至16中任一項之結合物，其中該抗體或其抗原結合片段係選自單株抗體、域抗體(dAb)、單鏈抗體(scAb)、Fab片段、Fab'片段、F(ab')2片段、scFab片段、Fv片段、dsFv片段、單鏈可變片段(scFv)、scFv-Fc片段、單域重鏈抗體、單域輕鏈抗體、變異抗體、多聚抗體、微型抗體、雙功能抗體、雙特異性抗體及多特異性抗體。

【請求項18】

如請求項9至17中任一項之結合物，其中各G為  。

【請求項19】

如請求項9至18中任一項之結合物，其中R^1及R^2各自為氫。

【請求項20】

如請求項9至19中任一項之結合物，其中R^3為氫。

【請求項21】

如請求項9至20中任一項之結合物，其中各R^4為羥基保護基。

【請求項22】

如請求項9至21中任一項之結合物，其中n為0。

【請求項23】

如請求項9至22中任一項之結合物，其中各W為-C(O)NR'-，另外其中C直接鍵結至式IIa之苯環，且NR'鍵結至L。

【請求項24】

如請求項9至23中任一項之結合物，其中各R^4獨立地為氫。

【請求項25】

如請求項9至18中任一項之結合物，其中：

R^1及R^2各自為氫；

n為0；及

各W為-C(O)NR'-，C直接鍵結至式IIa之苯環，且R'為氫、C_{1-8}烷基、C_{3-8}環烷基、C_{1-8}烷氧基、C_{1-8}烷硫基、單-C_{1-8}烷胺基或二-C_{1-8}烷胺基、C_{3-20}雜芳基或C_{6-20}芳基，其中NR'鍵結至L。

【請求項26】

如請求項9至25中任一項之結合物，其中L包含有含氮之1至50員伸雜烷基。

【請求項27】

如請求項9至26中任一項之結合物，其中L包含親水性胺基酸。

【請求項28】

如請求項27之結合物，其中W包含該親水性胺基酸之兩個或更多個原子，且W之氮與該親水性胺基酸之羰基形成肽鍵。

【請求項29】

如請求項9至28中任一項之結合物，其中

L為含氮之1至50員伸雜烷基，

該連接子包含兩個或更多個親水性胺基酸之原子，及

該氮與該親水性胺基酸之羰基形成肽鍵。

【請求項30】

如請求項9至29中任一項之結合物，其中L藉由硫醚鍵共價鍵結至該抗體且該硫醚鍵包含該抗體之半胱胺酸之硫原子。

【請求項31】

如請求項30之結合物，其中：

該抗體包含透過該抗體C端處經類異戊二烯轉移酶識別之胺基酸模體，及

該硫醚鍵包含該胺基酸模體之半胱胺酸之硫原子。

【請求項32】

如請求項31之結合物，其中該胺基酸模體具有CYYX序列，另外其中：

C為半胱胺酸；

Y為脂族胺基酸；

X係選自麩醯胺酸、麩胺酸、絲胺酸、半胱胺酸、甲硫胺酸、丙胺酸及白胺酸；及

該硫醚鍵包含該胺基酸模體之半胱胺酸之硫原子。

【請求項33】

如請求項31之結合物，其中該胺基酸模體具有CYYX序列，另外其中：

Y係選自丙胺酸、異白胺酸、白胺酸、甲硫胺酸及纈胺酸。

【請求項34】

如請求項31之結合物，其中該胺基酸模體具有CVIM (SEQ ID NO:24)或CVLL序列(SEQ ID NO:25)。

【請求項35】

如請求項31至34中任一項之結合物，其中該胺基酸模體前1至20個胺基酸中之至少一者為甘胺酸。

【請求項36】

如請求項1至35中任一項之結合物，其中L包含在C端處之GGGGGGGCVIM (SEQ ID NO:22)之胺基酸序列。

【請求項37】

如請求項1至36中任一項之結合物，其中L包含C_{1-50}伸雜烷基。

【請求項38】

如請求項1至37中任一項之結合物，其中L包含肟。

【請求項39】

如請求項38之結合物，其中該肟之氧原子在L連接至W之一側且該肟之碳原子在L連接至Ab之一側。

【請求項40】

如請求項38之結合物，其中該肟之碳原子在L連接至W之一側且該肟之氧原子在L連接至Ab之一側。

【請求項41】

如請求項1至36中任一項之結合物，其中

L為含肟之C_{1-50}伸雜烷基，

該肟之氧原子在L連接至W之一側，

該肟之碳原子在L連接至Ab之一側，或

該肟之碳原子在L連接至W之一側，及

該肟之氧原子在L連接至Ab之一側。

【請求項42】

如請求項1至41中任一項之結合物，其中L包含肟，且至少一個異平基單元將該肟共價鍵結至Ab (例如至少一個異平基單元將該肟直接或間接鍵結至Ab)。

【請求項43】

如請求項1至42中任一項之結合物，其中L進一步包含以通式VIII或通式IX表示之連接單元：

[通式VIII]

$$-(CH_2)_r(V(CH_2)_p)_q-$$

[式IX]

$$-(CH_2CH_2X)_w-$$

V為單鍵、-O-、-S-、$-NR^{21}-$、$-C(O)NR^{22}-$、$-NR^{23}C(O)-$、$-NR^{24}SO_2-$或$-SO_2NR^{25}-$；

X為-O-、C_{1-8}伸烷基或$-NR^{21}-$；

R^{21}至R^{25}各自獨立地為氫、C_{1-6}烷基、C_{1-6}烷基C_{6-20}芳基或C_{1-6}烷基-C_{3-20}雜芳基；

r為0至10；

p為0至10；

q為1至20；及

w為1至20。

【請求項44】

如請求項43之結合物，其中q為1至10。

【請求項45】

如請求項43或44之結合物，其中r為1或2。

【請求項46】

如請求項43至45中任一項之結合物，其中p為1或2。

【請求項47】

如請求項43至46中任一項之結合物，其中V為-O-。

【請求項48】

如請求項43之結合物，其中：

q為1至10；

r及p各自為1或2；及

V為-O-。

【請求項49】

如請求項43至48中任一項之結合物，其中X為-O-。

【請求項50】

如請求項43至48中任一項之結合物，其中w為1至10。

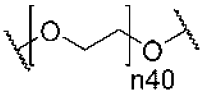
【請求項51】

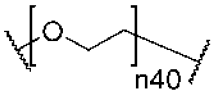
如請求項43至48中任一項之結合物，其中：

該X為-O-；及

w為1至10。

【請求項52】

如請求項43至51中任一項之結合物，其中L包含 

或 

，其中n40為1至10，較佳至少為2。

【請求項53】

如請求項43至52中任一項之結合物，其中L包含肟，且至少一個聚乙二醇單元將該肟共價鍵結至活性劑。

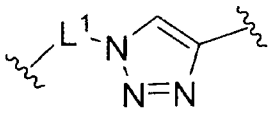
【請求項54】

如請求項43至53中任一項之結合物，其中L包含由炔烴與疊氮基之間或由醛或酮基團與肼或羥胺之間的反應形成之結合單元。

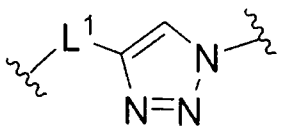
【請求項55】

如請求項43至54中任一項之結合物，其中L進一步包含由以下通式IVa、IVb、IVc、IVd或IVe表示之結合單元：

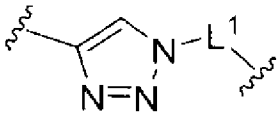
[通式IVa]



[通式IVb]

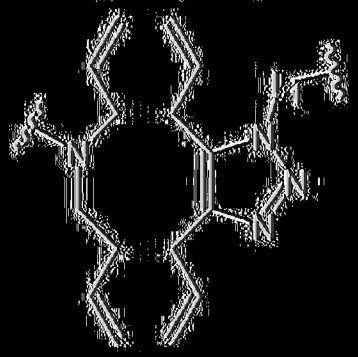


[通式IVc]



[通式IVd]

[通式IVc]



其中

L_1及L_2各自獨立地為單鍵或C_{1-30}伸烷基；及

R_{11}為氫或C_{1-10}烷基。

[請求項56]

如請求項55之結合物，其中L_1及L_2各自獨立地為單鍵、C_{11}伸烷基或C_{12}伸烷基。

[請求項57]

如請求項3至56中任一項之結合物，其中該類異戊二烯轉移酶為法呢基蛋白質轉移酶(FTase)或四異戊二烯基轉移酶(GGTase)。

[請求項58]

如請求項1至57中任一項之結合物，其中L為分支鏈的且包含：

i)藉由一級連接子與該抗體共價偶合之分支單元；

ii)第一分支，其中第一活性劑藉由二級連接子及裂解基團共價偶合至該分支單元；及

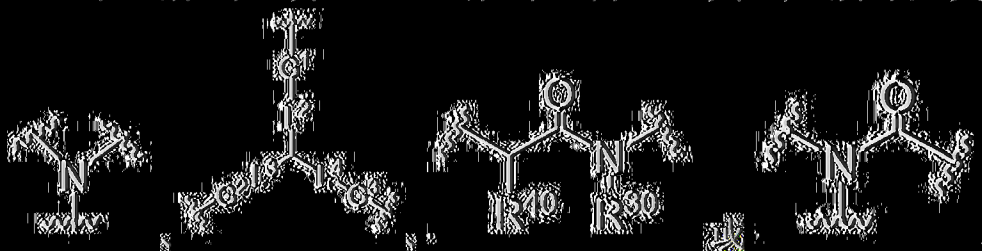
iii)第二分支，其中：

a)第二活性劑藉由二級連接子及裂解基團共價偶合至該分支單

元；或

b)聚乙二醇部分共價偶合至該分支單元。

[請求項59]

如請求項58之結合物，其中該分支單元具有以  表示之結構；其中

L^2、L^3及L^4各自獨立地為一鍵或C_nH_{2n}，

n為1至30；

G^1、G^2及G^3各自獨立地表示一鍵、 ， 或；

R^{30}為氫或C_{1-30}烷基；

R^{40}為氫或L^5-$COOR_6$；及

L^5為一鍵或$C_{n'}H_{2n'}$；

n'為1至10；及

R_6為氫或C_{1-30}烷基。

[請求項60]

如請求項58或59之結合物，其中該裂解基團可在[標細胞中裂解]能夠釋放一或多種活性劑。

【請求項61】

如請求項58至60中任一項之結合物，其中：

至少一個分支連接子共價偶合至Ab；及

至少兩種活性劑共價偶合至該分支連接子。

【請求項62】

如請求項61之結合物，其中一個分支連接子偶合至Ab。

【請求項63】

如請求項61之結合物，其中兩個分支連接子偶合至Ab。

【請求項64】

如請求項61之結合物，其中三個分支連接子偶合至Ab。

【請求項65】

如請求項61之結合物，其中四個分支連接子偶合至Ab。

【請求項66】

如請求項59至65中任一項之結合物，其中各分支連接子偶合至兩種活性劑。

【請求項67】

如請求項59至66中任一項之結合物，其中該結合物包含至少兩種不同的活性劑。

【請求項68】

如請求項59至67中任一項之結合物，其中至少一個分支連接子偶合至兩種不同的活性劑。

【請求項69】

如請求項59至68中任一項之結合物，其中該分支單元為氮原子。

【請求項70】

如請求項59至68中任一項之結合物，其中該分支單元為醯胺且該一級連接子包含該醯胺之羰基。

【請求項71】

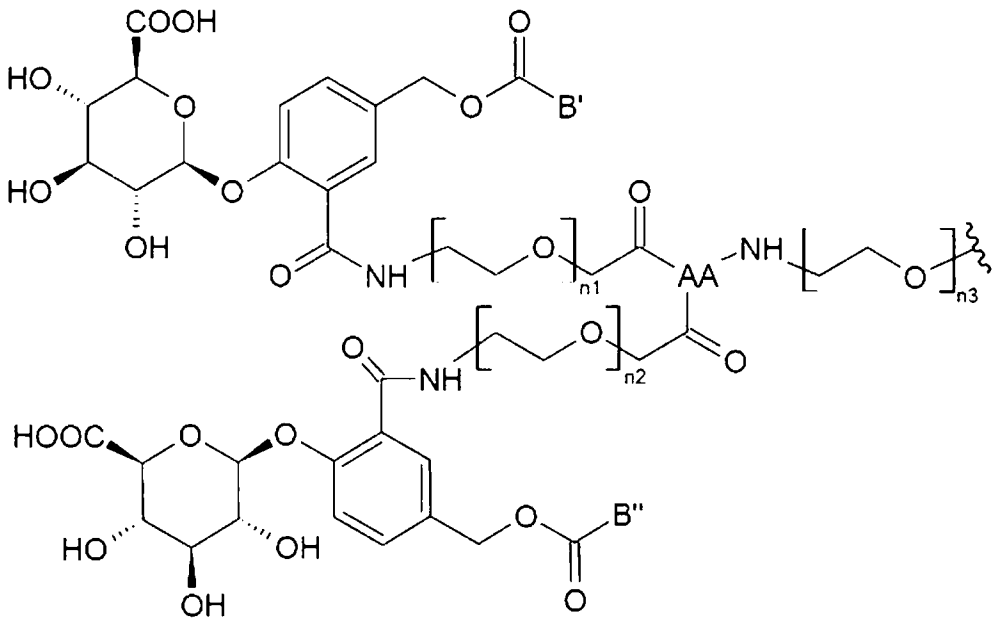
如請求項59至69中任一項之結合物，其中該分支單元為醯胺且該二級連接子包含該醯胺之羰基。

【請求項72】

如請求項59至71中任一項之結合物，其中該分支單元為離胺酸。

【請求項73】

如請求項1至72中任一項之結合物，其中該結合物包含由以下表示之結構：



或其醫藥學上可接受之鹽；其中

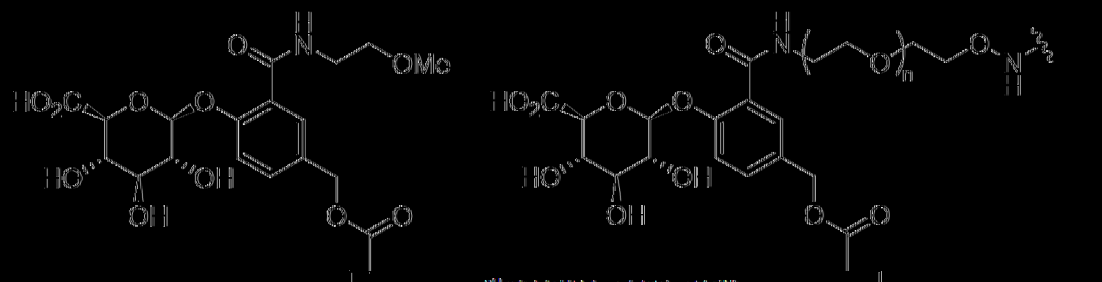
B'及B''各自為活性劑；

n1至n3各自獨立地為0至30；及

AA為胺基酸基團。

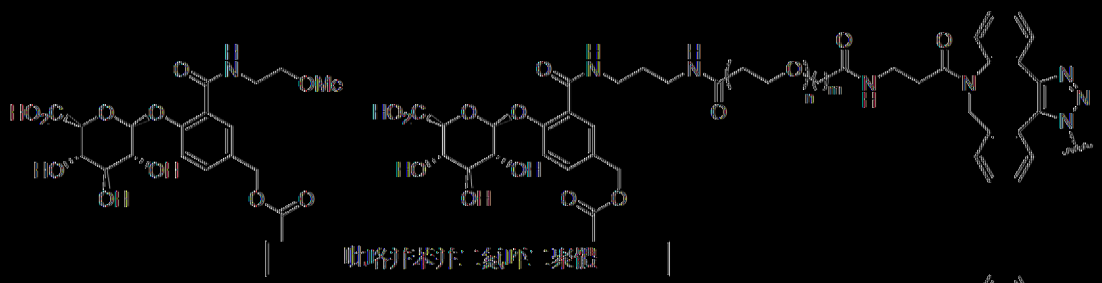
[請求項4]

如請求項1至3中任一項之結合物，其中該結合物包含由以下表示之結構：



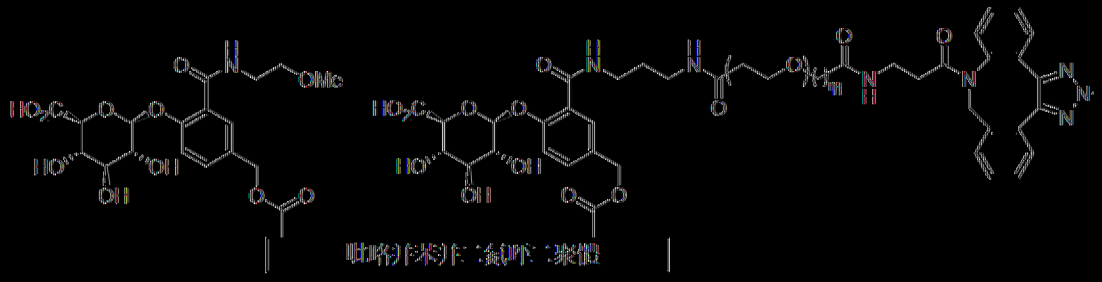
吡咯并苯并二氮呯二聚體

，



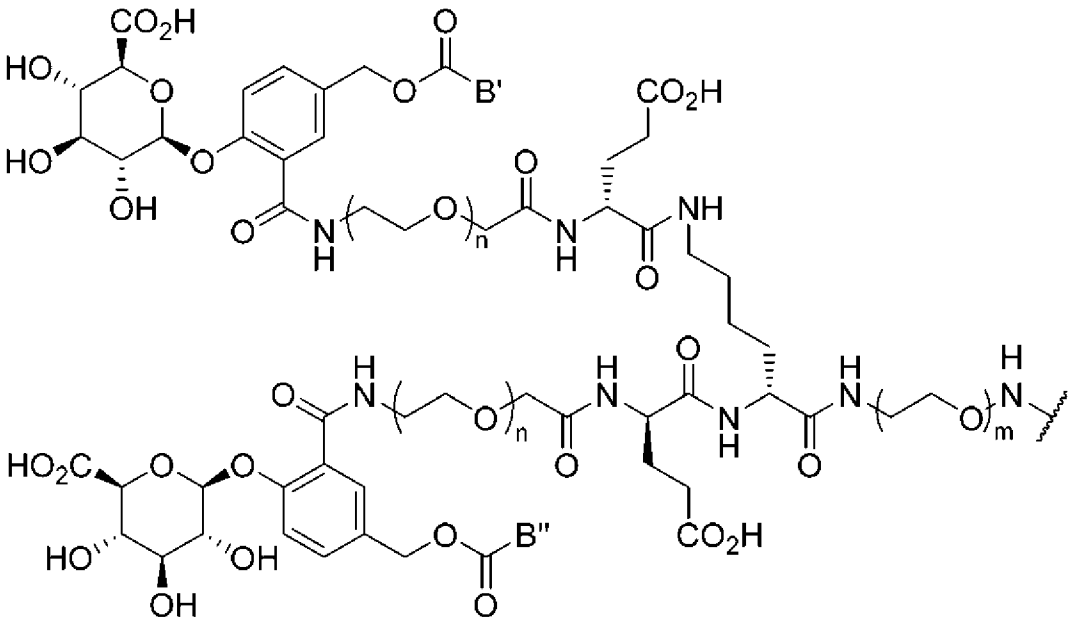
吡咯并苯并二氮呯二聚體

吡咯并苯并二氮呯二聚體



吡咯并苯并二氮呯二聚體

或



，或其醫藥學上可接受之鹽；

其中B'及B''係指彼此相同或不同之活性劑；

該吡咯并苯并二氮呯二聚體，例如式III化合物；及

m及n各自獨立地係指0至30，

或其醫藥學上可接受之鹽。

【請求項75】

如請求項1至74中任一項之結合物，其中該活性劑為化學治療劑或毒素。

【請求項76】

如請求項1至75中任一項之結合物，其中該活性劑為免疫調節化合物、抗癌劑、抗病毒劑、抗細菌劑、抗真菌劑、抗寄生蟲劑或其組合。

【請求項77】

如請求項1至73中任一項之結合物，其中該活性劑係選自：

(a)厄洛替尼(erlotinib)、硼替佐米(bortezomib)、氟維司群(fulvestrant)、紓癌特(sutent)、來曲唑(letrozole)、甲磺酸伊馬替尼

(imatinib mesylate)、PTK787/ZK 222584、奧沙利鉑(oxaliplatin)、5-氟尿嘧啶、甲醯四氫葉酸、雷帕黴素(rapamycin)、拉帕替尼(lapatinib)、洛那法尼(lonafarnib)、索拉非尼(sorafenib)、吉非替尼(gefitinib)、AG1478、AG1571、噻替派(thiotepa)、環磷醯胺、白消安(busulfan)、英丙舒凡(improsulfan)、哌泊舒凡(piposulfan)、苯唑多巴(benzodopa)、卡波醌(carboquone)、米特多巴(meturedopa)、尤利多巴(uredopa)、伸乙基亞胺、六甲蜜胺、三伸乙基蜜胺、三伸乙基磷醯胺、三伸乙基硫代磷醯胺、三羥甲基密胺、布拉他辛(bullatacin)、布拉他辛酮(bullatacinone)、喜樹鹼(camptothecin)、拓朴替康(topotecan)、苔蘚抑素(bryostatin)、海洋抑素(callystatin)、CC-1065、阿多來新(adozelesin)、卡折來新(carzelesin)、比折來新(bizelesin)、念珠藻素1(cryptophycin 1)、念珠藻素8、海兔毒素(dolastatin)、多卡黴素(duocarmycin)、KW-2189、CB1-TM1、艾榴塞洛素(eleutherobin)、盤克斯他汀(pancratistatin)、沙考地汀(sarcodictyin)、海綿抑素(spongistatin)、氯芥苯丁酸(chlorambucil)、萘氮芥(chlornaphazine)、氯磷醯胺、雌莫司汀(estramustine)、異環磷醯胺、甲基二(氯乙基)胺(mechlorethamine)、美法侖(melphalan)、新恩比興(novembichin)、芬司特瑞(phenesterine)、潑尼莫司汀(prednimustine)、曲洛磷胺(trofosfamide)、尿嘧啶氮芥(uracil mustard)、卡莫司汀(carmustine)、氯脲黴素、福莫司汀(fotemustine)、洛莫司汀(lomustine)、尼莫司汀(nimustine)、雷莫司汀(ranimnustine)、卡奇黴素(calicheamicin)、卡奇黴素γ1、卡奇黴素ω1、達內黴素(dynemicin)、達內黴素A、氯屈膦酸鹽(clodronate)、埃斯培拉黴素(esperamicin)、新抑癌菌素發色團(neocarzinostatin chromophore)、阿克

拉黴素(aclacinomysins)、放線菌素(actinomycin)、安麴黴素(antrmycin)、偶氮絲胺酸(azaserine)、博萊黴素(bleomycins)、放線菌素C(cactinomycin)、卡柔比星(carabicin)、洋紅黴素(carninomycin)、嗜癌菌素(carzinophilin)、色黴素(chromomycin)、放線菌素D(dactinomycin)、道諾比星(daunorubicin)、地托比星(detorubicin)、6-重氮-5-側氧基-L-正白胺酸、小紅莓(doxorubicin)、嗎啉基-小紅莓、氰基嗎啉基-小紅莓、2-吡咯啉基-小紅莓、脂質小紅莓、去氧小紅莓、表柔比星(epirubicin)、依索比星(esorubicin)、麻西羅黴素(marcellomycin)、絲裂黴素C(mitomycin C)、黴酚酸(mycophenolic acid)、諾加黴素(nogalamycin)、橄欖黴素(olivomycin)、培洛黴素(peplomycin)、潑非黴素(potfiromycin)、嘌呤黴素(puromycin)、奎那黴素(quelamycin)、羅多比星(rodorubicin)、鏈黴素(streptomycin)、鏈脲佐菌素(streptozocin)、殺結核菌素(tubercidin)、烏苯美司(ubenimex)、淨司他丁(zinostatin)、佐柔比星(zorubicin)、5-氟尿嘧啶、迪諾特寧(denopterin)、甲胺喋呤(methotrexate)、蝶羅呤(pteropterin)、曲美沙特(trimetrexate)、氟達拉賓(fludarabine)、6-巰嘌呤(6-mercaptopurine)、硫咪嘌呤(thiamiprine)、硫鳥嘌呤(thiguanine)、安西他濱(ancitabine)、阿紮胞苷(azacitidine)、6-氮尿苷(6-azauridine)、卡莫氟(carmofur)、阿糖胞苷(cytarabine)、二去氧尿苷(dideoxyuridine)、去氧氟尿苷(doxifluridine)、依諾他濱(enocitabine)、氟尿苷(floxuridine)、卡魯睾酮(calusterone)、丙酸屈他雄酮(dromostanolone propionate)、環硫雄醇(epitiostanol)、美雄烷(mepitiostane)、睾內酯(testolactone)、胺格魯米特(aminoglutethimide)、米托坦(mitotane)、曲洛司坦(trilostane)、醛葉

酸、乙醯葡醛酯、醛磷醯胺糖苷、胺基乙醯丙酸、恩尿嘧啶(eniluracil)、安吖啶(amsacrine)、貝斯布西(bestrabucil)、比生群(bisantrene)、依達曲沙(edatraxate)、地磷醯胺(defofamine)、地美可辛(demecolcine)、地吖醌(diaziquone)、艾弗鳥胺酸(elfornithine)、依利醋銨(elliptinium acetate)、依託格魯(etoglucid)、硝酸鎵、羥基尿素、蘑菇多醣(lentinan)、氯尼達明(lonidainine)、美登素(maytansine)、胺沙托辛(ansamitocin)、米托胍腙(mitoguazone)、米托蒽醌(mitoxantrone)、莫比達摩(mopidanmol)、二胺硝吖啶(nitraerine)、噴司他汀(pentostatin)、苯來美特(phenamet)、吡柔比星(pirarubicin)、洛索蒽醌(losoxantrone)、2-乙基醯肼(2-ethylhydrazide)、丙卡巴肼(procarbazine)、多醣-k(polysaccharide-k)、雷佐生(razoxane)、根瘤菌素(rhizoxin)、西索菲蘭(sizofiran)、鍺螺胺(spirogermanium)、細交鏈孢菌酮酸(tenuazonic acid)、三亞胺醌(triaziquone)、2,2',2''-三氯三乙胺、T-2毒素、弗納庫林A(verracurin A)、桿孢菌素A(roridin A)、胺癸叮(anguidine)、烏拉坦(urethane)、長春地辛(vindesine)、達卡巴啡(dacarbazine)、甘露醇氮芥(mannomustine)、二溴甘露醇(mitobronitol)、二溴衛矛醇(mitolactol)、哌泊溴烷(pipobroman)、加西托星(gacytosine)、阿拉伯糖苷(arabinoside)、環磷醯胺、噻替派、紫杉醇(paclitaxel)、紫杉醇之經白蛋白工程改造之奈米粒子調配物、多西他賽(docetaxel)、氯芥苯丁酸、吉西他濱(gemcitabine)、6-硫鳥嘌呤、巰嘌呤、順鉑(cisplatin)、卡鉑(carboplatin)、長春鹼(vinblastine)、鉑、依託泊苷(etoposide)、異環磷醯胺、米托蒽醌、長春新鹼(vincristine)、長春瑞濱(vinorelbine)、諾凡特龍(novantrone)、替尼泊苷(teniposide)、依達曲沙(edatrexate)、道諾

黴素(daunomycin)、胺基喋呤(aminopterin)、希羅達(xeloda)、伊班膦酸鹽(ibandronate)、CPT-11、拓樸異構酶(topoisomerase)抑制劑RFS 2000、二氟甲基鳥胺酸、視黃酸、卡培他濱(capecitabine)或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物或酸；

(b)單核因子(monokine)、淋巴介質、傳統的多肽激素、甲狀旁腺激素、甲狀腺素、鬆弛素、鬆弛素原、醣蛋白激素、促卵泡激素、促甲狀腺激素、促黃體激素、肝生長因子、纖維母細胞生長因子、促乳素、胎盤催乳激素、腫瘤壞死因子、腫瘤壞死因子-α、腫瘤壞死因子-β、苗勒(mullerian)抑制物質、小鼠促性腺激素相關肽、抑制素、活化素、血管內皮生長因子、血小板生成素、紅血球生成素、骨誘導因子、干擾素、干擾素-α、干擾素-β、干擾素-γ、群落刺激因子(CSF)、巨噬細胞-CSF、顆粒球-巨噬細胞-CSF、顆粒球-CSF、介白素(IL)、IL-1、IL-1α、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-9、IL-10、IL-11、IL-12、腫瘤壞死因子、多肽因子、LIF、kit配位體或其組合；

(c) 白喉毒素、肉毒桿菌毒素、破傷風毒素、痢疾毒素、霍亂毒素、瓢菌素(amanitin)、α-瓢菌素、吡咯并苯并二氮呼、吡咯并苯并二氮呼衍生物、吲哚啉苯并二氮呼、吡啶并苯并二氮呼、河豚毒素、雙鞭甲藻毒素(brevetoxin)、雪卡藻毒素(ciguatoxin)、蓖麻毒素、AM毒素、奧瑞他汀(auristatin)、微管溶素、格爾德黴素(geldanamycin)、類美登素(maytansinoid)、卡奇黴素、柔紅黴素、小紅莓、甲胺喋呤、長春地辛、SG2285、尾海兔素、尾海兔素類似物、奧瑞他汀、念珠藻素、喜樹鹼、根黴素、根黴素衍生物、CC-1065、CC-1065類似物或衍生物、多卡黴素、烯二炔抗生素、埃斯培拉黴素、埃坡黴素(epothilone)、類毒素或其

組合；

(d) 親和配位體，其中該親和配位體為受質、抑制劑、活性劑、神經傳遞素、放射性同位素或其組合；

(e) 放射性標記、^{32}P、^{35}S、螢光染料、電子緻密試劑、酶、生物素、鏈黴抗生物素蛋白、地高辛(dioxigenin)、半抗原、免疫原性蛋白質、具有與目標互補之序列的核酸分子或其組合；

(f) 免疫調節化合物、抗癌劑、抗病毒劑、抗細菌劑、抗真菌劑、抗寄生蟲劑或其組合；

(g) 他莫昔芬(tamoxifen)、雷洛昔芬(raloxifene)、曲洛昔芬(droloxifene)、4-羥基他莫昔芬、曲沃昔芬(trioxifene)、雷洛昔芬(keoxifene)、LY117018、奧那司酮(onapristone)或托瑞米芬(toremifene)；

(h) 4(5)-咪唑、胺魯米特(aminoglutethimide)、乙酸甲地孕酮、依西美坦(exemestane)、來曲唑或阿那曲唑(anastrozole)；

(i) 氟他胺(flutamide)、尼魯米特(nilutamide)、比卡魯胺(bicalutamide)、亮丙立德(leuprolide)、戈舍瑞林(goserelin)或曲沙他濱(troxacitabine)；

(j)芳香酶抑制劑；

(k)蛋白激酶抑制劑；

(l)脂質激酶抑制劑；

(m)反義寡核苷酸；

(n)核糖核酸酶；

(o)疫苗；及

(p)抗血管生成劑。

[請求項8]

如請求項1至7中任一項之結合物，其中：

該活性劑為吡咯并苯并二氮呯二聚體；

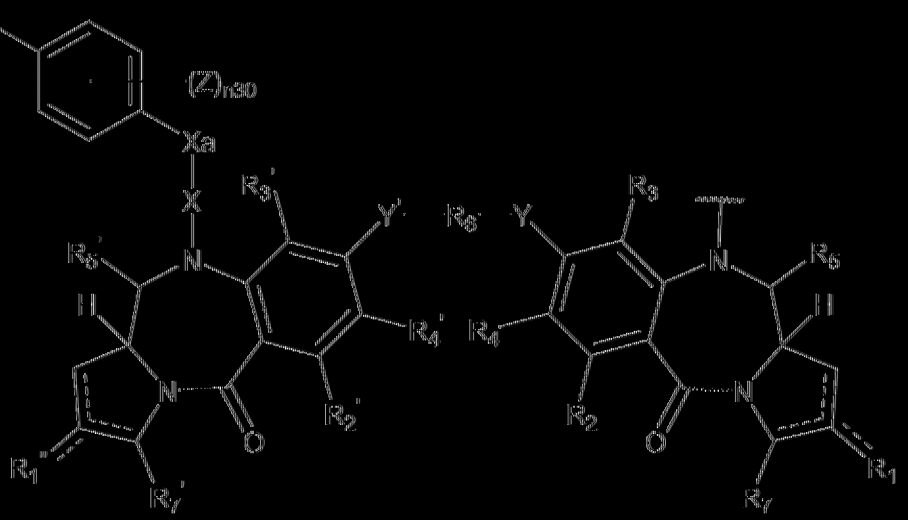
該吡咯并苯并二氮呯二聚體在N10位置經X取代，或在N'10位置經X'取代，其中X或X'將該吡咯并苯并二氮呯二聚體連接至該連接子；

X及X'各自獨立地為-C(O)O-*或-C(O)-*；及

*係指該吡咯并苯并二氮呯二聚體與該連接子之間的結合位。

[請求項9]

如請求項8之結合物，其中該吡咯并苯并二氮呯二聚體以式III表示：



III

其中

波浪線表示與該結合物之連接點(例如式IIa之殺菌連接至B')；

虛線表示視情況存在之雙鍵；

R_1及R_1'各獨立地選自H、OH、=O、=CH_2、CN、R^m、OR^m、=CH-R^m、$C(R^m)_2$、O-SO_2-R^m、CO_2R^m、COR^m、鹵基及二鹵基；

$R^{m'}$係選自R^m、CO_2R^m、COR^m、CHO、CO_2H及鹵基；

R^m係選自經取代或未經取代之C_{1-12}烷基、經取代或未經取代之C_{2-12}烯基、經取代或未經取代之C_{2-12}炔基、經取代或未經取代之C_{5-20}芳基、經取代或未經取代之C_{3-6}雜芳基、經取代或未經取代之C_{3-6}環烷基、經取代或未經取代之3至7員雜環基、經取代或未經取代之3至7員雜環烷基及經取代或未經取代之5至7員雜芳基，其中當該C_{1-12}烷基、C_{2-12}烯基、C_{2-12}炔基、C_{5-20}芳基、C_{5-20}雜芳基、C_{3-6}環烷基、3至7員雜環基、3至7員雜環烷基或5至7員雜芳基經取代時，該C_{1-12}烷基、C_{2-12}烯基、C_{2-12}炔基、C_{5-20}芳基、C_{5-20}雜芳基、C_{3-6}環烷基、3至7員雜環基、3至7員雜環烷基或5至7員雜芳基中之各別氫原子可各自獨立地經甲氧基、C_{1-12}烷基、C_{2-12}烯基、C_{2-12}炔基、C_{5-20}芳基、C_{5-20}雜芳基、C_{3-6}環烷基、3至7員雜環基、3至7員雜環烷基及5至7員雜芳基置換；

R_2、R_3、R_5、R_2'、R_3'及R_5'各獨立地選自H、R^m、OH、OR^m、SH、SR^m、NH_2、NHR^m、$NR^mR^{m'}$、NO_2、Me_3Sn及鹵基；

R_4及R_4'各自獨立地選自H、R^m、OH、OR^m、SH、SR^m、NH_2、NHR^m、$NR^mR^{m'}$、NO_2、Me_3Sn,鹵基、經取代或未經取代之C_{1-6}烷基、經取代或未經取代之C_{1-6}烷氧基、經取代或未經取代之C_{2-6}烯基、經取代或未經取代之C_{2-6}炔基、經取代或未經取代之C_{3-6}環烷基、經取代或未經取代之3至7員雜環烷基、經取代或未經取代之C_{5-12}芳基、經取代或未經取代之5至7員雜芳基、-CN、-NCO、$-OR^n$、$-OC(O)R^n$、$-OC(O)NR^nR^{n'}$、$-OS(O)R^n$、$-OS(O)_2R^n$、$-SR^n$、$-S(O)R^n$、$-S(O)_2R^n$、$-S(O)NR^nR^{n'}$、$-S(O)_2NR^nR^{n'}$、$-OS(O)NR^nR^{n'}$、$-OS(O)_2NR^nR^{n'}$、$-NR^nR^{n'}$、$-NR^nC(O)R^o$、$-NR^nC(O)OR^o$、$-NR^nC(O)NR^oR^{o'}$、$-NR^nS(O)R^o$、$-NR^nS(O)_2R^o$、-

$NR^nS(O)NR^oR^{o'}$、$-NR^nS(O)_2NR^oR^{o'}$、$-C(O)R^n$、$-C(O)OR^n$及$-C(O)NR^nR^{n'}$，其中該C_{1-6}烷基、C_{1-6}烷氧基、C_{2-6}烯基、C_{2-6}炔基、C_{3-6}環烷基、3至7員雜環烷基、C_{5-12}芳基及5至7員雜芳基中之氫原子可各自獨立地經C_{1-6}烷基、C_{1-6}烷氧基、C_{2-6}烯基、C_{2-6}炔基、C_{3-6}環烷基、3至7員雜環烷基、C_{5-12}芳基、5至7員雜芳基、$-OR^p$、$-OC(O)R^p$、$-OC(O)NR^pR^{p'}$、$-OS(O)R^p$、$-OS(O)_2R^p$、$-SR^p$、$-S(O)R^p$、$-S(O)_2R^p$、$-S(O)NR^pR^{p'}$、$-S(O)_2NR^pR^{p'}$、$-OS(O)NR^pR^{p'}$、$-OS(O)_2NR^pR^{p'}$、$-NR^pR^{p'}$、$-NR^pC(O)R^q$、$-NR^pC(O)OR^q$、$-NR^pC(O)NR^qH$、$-NR^pS(O)R^q$、$-NR^pS(O)_2R^q$、$-NR^pS(O)NR^qH$、$-NR^pS(O)_2NR^qH$、$-C(O)R^p$、$-C(O)OR^p$或$-C(O)NR^pR^p$置換；

R^n、$R^{n'}$、R^o、$R^{o'}$、R^p、$R^{p'}$及R^q各自獨立地選自H、C_{1-7}烷基、C_{2-7}烯基、C_{2-7}炔基、C_{3-13}環烷基、3至7員雜環烷基、C_{6-10}芳基及5至7員雜芳基；

X係選自$-C(O)O-$、$-S(O)O-$、$-C(O)-$、$-C(O)NR-$、$-S(O)_2NR-$、$-P(O)R'NR-$、$-S(O)NR-$及$-PO_2NR-$；

Xa為一鍵或經取代或未經取代之C_{1-6}伸烷基，其中C_{1-6}伸烷基當經取代時係經C_{1-8}烷基或C_{3-8}環烷基取代；

R及R'各獨立地表示H、OH、NH_2、ONH_2、$NHNH_2$、經取代或未經取代之C_{1-8}烷基、經取代或未經取代之C_{3-8}環烷基、經取代或未經取代之C_{1-8}烷氧基、經取代或未經取代之C_{1-8}烷硫基、經取代或未經取代之C_{3-20}雜芳基、經取代或未經取代之C_{5-20}芳基或單-C_{1-8}烷胺基或二-C_{1-8}烷胺基，其中該C_{1-8}烷基、C_{3-8}環烷基、C_{1-8}烷氧基、C_{1-8}烷硫基、C_{3-20}雜芳基及C_{5-20}芳基當經取代時係經選自OH、N_3、CN、NO_2、SH、NH_2、

ONH_2、$NHNH_2$，鹵基、C_{1-6}烷基、C_{1-6}烷氧基及C_{6-12}芳基之取代基取代；

Y及Y'各自獨立地選自O、S及N(H)；

R_6為經取代或未經取代之飽和或不飽和C_{3-12}烴鏈，其中該鏈可間雜有一或多個雜原子、NMe或經取代或未經取代之芳環，該鏈或芳環可在該鏈或芳環上之任一或多個氫原子位置處經-NH、$-NR^m$、$-NHC(O)R^m$、$-NHC(O)CH_2-[OCH_2CH_2]_n-R$或$-[CH_2CH_2O]_n-R$取代或未經取代，其中$R^m$及R各自如上文關於$R^m$及R所定義，且n為1至12；及

R_7及R_7'各自獨立地為H、經取代或未經取代之C_{1-6}烷基、經取代或未經取代之C_{2-6}烯基、經取代或未經取代之C_{2-6}炔基、經取代或未經取代之C_{3-6}環烷基、經取代或未經取代之3至7員雜環烷基、經取代或未經取代之C_{6-10}芳基、經取代或未經取代之5至7員雜芳基、$-OR^r$、$-OC(O)R^r$、$-OC(O)NR^rR^{r'}$、$-OS(O)R^r$、$-OS(O)_2R^r$、$-SR^r$、$-S(O)R^r$、$-S(O)_2R^r$、$-S(O)NR^rR^{r'}$、$-S(O)_2NR^rR^{r'}$、$-OS(O)NR^rR^{r'}$、$-OS(O)_2NR^rR^{r'}$、$-NR^rR^{r'}$、$-NR^rC(O)R^s$、$-NR^rC(O)OR^s$、$-NR^rC(O)NR^sR^{s'}$、$-NR^rS(O)R^s$、$-NR^rS(O)_2R^s$、$-NR^rS(O)NR^sR^{s'}$、$-NR^rS(O)_2NR^sR^s$、$-C(O)R^r$、$-C(O)OR^s$或$-C(O)NR^rR^{r'}$，其中該C_{1-6}烷基、C_{2-6}烯基、C_{2-6}炔基、C_{3-6}環烷基、3至7員雜環烷基、C_{6-10}芳基及5至7員雜芳基中之氫原子可各自獨立地經C_{1-6}烷基、C_{2-6}烯基、C_{2-6}炔基、C_{3-6}環烷基、3至7員雜環烷基、C_{6-10}芳基、5至7員雜芳基、$-OR^t$、$-OC(O)R^t$、$-OC(O)NR^tR^{t'}$、$-OS(O)R^t$、$-OS(O)_2R^t$、$-SR^t$、$-S(O)R^t$、$-S(O)_2R^t$、$-S(O)NR^tR^{t'}$、$-S(O)_2NR^tR^{t'}$、$-OS(O)NR^tR^{t'}$、$-OS(O)_2NR^tR^{t'}$、$-NR^tR^{t'}$、$-NR^tC(O)R^u$、$-NR^tC(O)OR^u$、$-NR^tC(O)NR^uR^{u'}$、$-NR^tS(O)R^u$、$-NR^tS(O)_2R^u$,$-NR^tS(O)NR^uR^{u'}$、-

$NR^sS(O)_2NR^tR^{t'}$、$-C(O)R^t$、$-C(O)OR^t$或$-C(O)NR^tR^{t'}$替換；

R^r、$R^{r'}$、R^s、$R^{s'}$、R^t、$R^{t'}$、R^u及$R^{u'}$各自獨立地選自H、C_{1-7}烷基、C_{2-7}烯基、C_{2-7}炔基、C_{3-13}環烷基、3至7員雜環烷基、C_{5-10}芳基及5至7員雜芳基；

G為葡糖苷酸基團或半乳糖苷基團；

各Z係選自H、C_{1-8}烷基、鹵基、NO_2、CN、 及 ；

R_9、R_{10}及R_{16}各自獨立地選自H、C_{1-8}烷基、C_{2-6}烯基、C_{1-6}烷氧基、烷氧基烷基及甲氧基乙基；及

n30為1至3。

[請求項80]

如請求項79之結合物，其中Y為O。

[請求項81]

如請求項79或80之結合物，其中Y'為O。

[請求項82]

如請求項79至81中任一項之結合物，其中虛線表示攜帶R_1及R_7或R_1及$R_{7'}$的碳之間存在雙鍵。

[請求項83]

如請求項79至82中任一項之結合物，其中R_1為R^m且R^m係選自經取代或未經取代之C_{1-6}烷基、經取代或未經取代之C_{2-6}烯基、經取代或未經取代之C_{5-7}芳基及經取代或未經取代之C_{3-6}雜芳基。

[請求項84]

如請求項79至83中任一項之結合物，其中R_2、R_3及R_5各自獨立地為

H或OH。

【請求項85】

如請求項79至84中任一項之結合物，其中R_4為C_{1-6}烷氧基。

【請求項86】

如請求項79至84中任一項之結合物，其中R_4為甲氧基、乙氧基或丁氧基。

【請求項87】

如請求項79至86中任一項之結合物，其中

X係選自-C(O)O-、-C(O)-及-C(O)NR-；以及

R各自獨立地表示H、OH、N_3、CN、NO_2、SH、NH_2、ONH_2、$NHNH_2$、鹵基、經取代或未經取代之C_{1-8}烷基或經取代或未經取代之C_{1-8}烷氧基，其中C_{1-8}烷基或C_{1-8}烷氧基當經取代時係經OH、N_3、CN、NO_2、SH、NH_2、ONH_2、NNH_2或鹵基取代。

【請求項88】

如請求項79至87中任一項之結合物，其中X為-C(O)NR-。

【請求項89】

如請求項79至88中任一項之結合物，其中R_6為經取代或未經取代之飽和或不飽和C_{3-8}烴鏈，其中

該烴鏈之一或多個碳原子經雜原子或經取代或未經取代之芳環置換，其中該雜原子為O、S或N(H)且該芳環為苯、吡啶、咪唑或吡唑，且該鏈或芳環可在該鏈或芳環上之任一或多個氫原子位置處經-$NHC(O)CH_2$-$[OCH_2CH_2]_n$-R或-$[CH_2CH_2O]_n$-R取代；及

n為1至6。

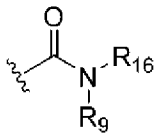
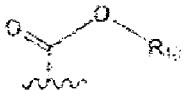
【請求項90】

如請求項79至89中任一項之結合物，其中n為1至10。

【請求項91】

如請求項79至90中任一項之結合物，其中Xa為一鍵或C_{1-3}伸烷基。

【請求項92】

如請求項99至110中任一項之結合物，其中Z為H、  及  ，其中R_9、R_{10}及R_{16}各自獨立地選自H、C_{1-3}烷基、C_{1-3}烷氧基及烷氧基甲基。

【請求項93】

如請求項92之結合物，其中R_9為甲氧基烷基。

【請求項94】

如請求項92或93之結合物，其中R_{10}為甲氧基烷基。

【請求項95】

如請求項92至94中任一項之結合物，其中R_{16}為甲氧基烷基。

【請求項96】

如請求項92至95中任一項之結合物，其中R_9、R_{10}或R_{16}為-$(CH_2CH_2O)_m$-$(CH_2)_{m2}CH_3$，另外其中m為1至6且m2為0至2。

【請求項97】

如請求項92至95中任一項之結合物，其中m為1。

【請求項98】

如請求項92至95中任一項之結合物，其中m2為1。

【請求項99】

如請求項79之結合物，其中R_2為H。

【請求項100】

如請求項99之結合物，其中R_3為H。

【請求項101】

如請求項99或100之結合物，其中R_7為H。

【請求項102】

如請求項99至101中任一項之結合物，其中R_4為烷氧基(例如甲氧基)。

【請求項103】

如請求項99至102中任一項之結合物，其中R_5為OH。

【請求項104】

如請求項99至103中任一項之結合物，其中R_1為=CH_2、CH_3或苯基，視情況經甲氧基取代。

【請求項105】

如請求項99至104中任一項之結合物，其中Y為O。

【請求項106】

如請求項99至105中任一項之結合物，其中R_2'為H。

【請求項107】

如請求項99至106中任一項之結合物，其中R_3'為H。

【請求項108】

如請求項99至107中任一項之結合物，其中R_7'為H。

【請求項109】

如請求項99至108中任一項之結合物，其中R_4'為烷氧基(例如甲氧

基)。

【請求項110】

如請求項99至109中任一項之結合物，其中R_5'為OH。

【請求項111】

如請求項99至110中任一項之結合物，其中R_1'為=CH_2、CH_3或苯基，視情況經甲氧基取代。

【請求項112】

如請求項99至111中任一項之結合物，其中Y'為O。

【請求項113】

如請求項99至112中任一項之結合物，其中X為-C(O)O-。

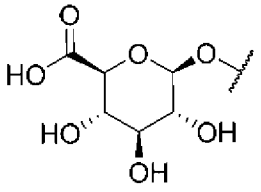
【請求項114】

如請求項99至113中任一項之結合物，其中Xa為CH_2。

【請求項115】

如請求項99至114中任一項之結合物，其中G為葡糖苷酸基團。

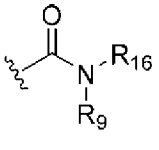
【請求項116】

如請求項115之結合物，其中G為  。

【請求項117】

如請求項99至116中任一項之結合物，其中n30為1。

【請求項118】

如請求項99至117中任一項之結合物，其中Z為  或 。

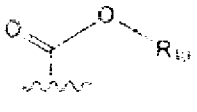
【請求項119】

如請求項118之結合物，其中R_9為H。

【請求項120】

如請求項118或119之結合物，其中R_{16}為烷氧基烷基(例如甲氧基乙基)。

【請求項121】

如請求項99至117中任一項之結合物，其中Z為  。

【請求項122】

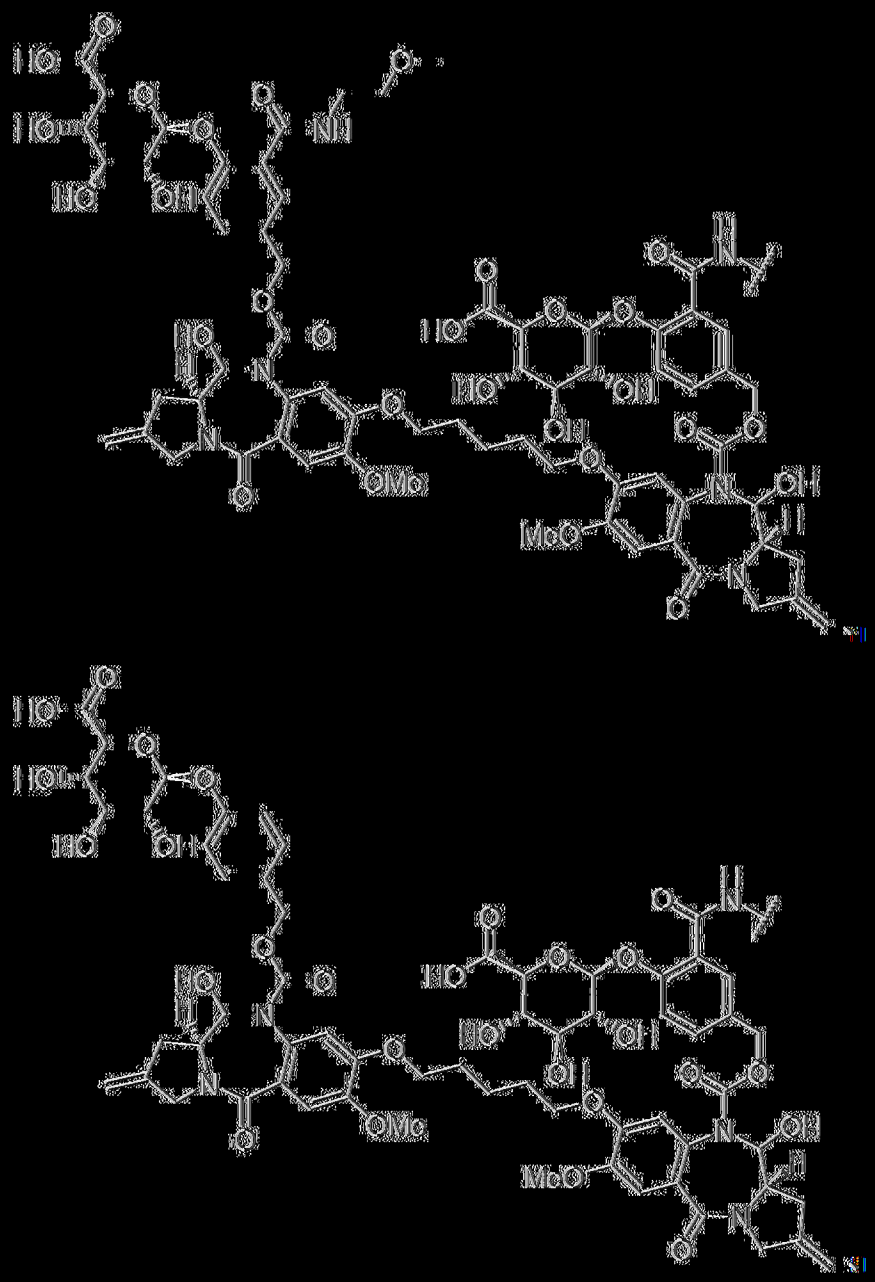
如請求項121之結合物，其中R_{10}為烷基(例如甲基)。

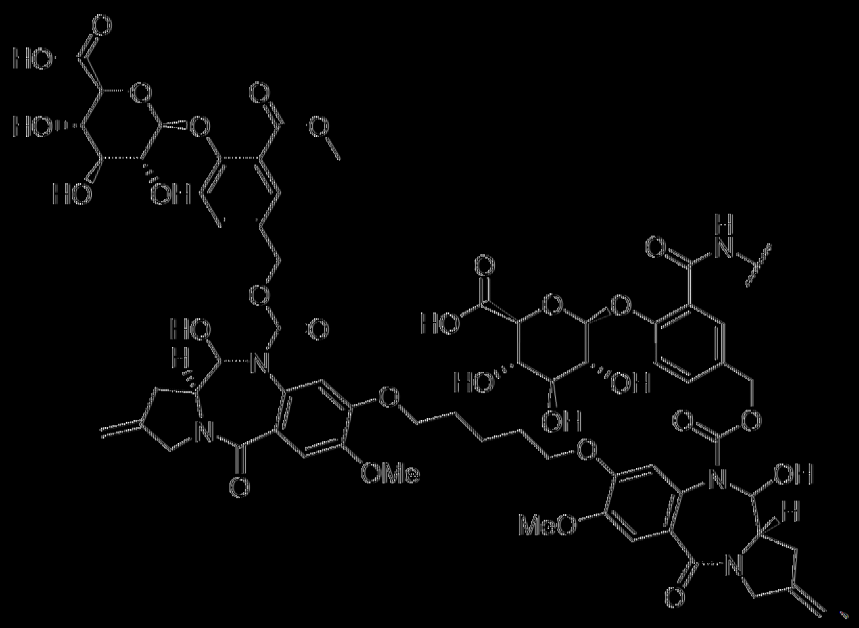
【請求項123】

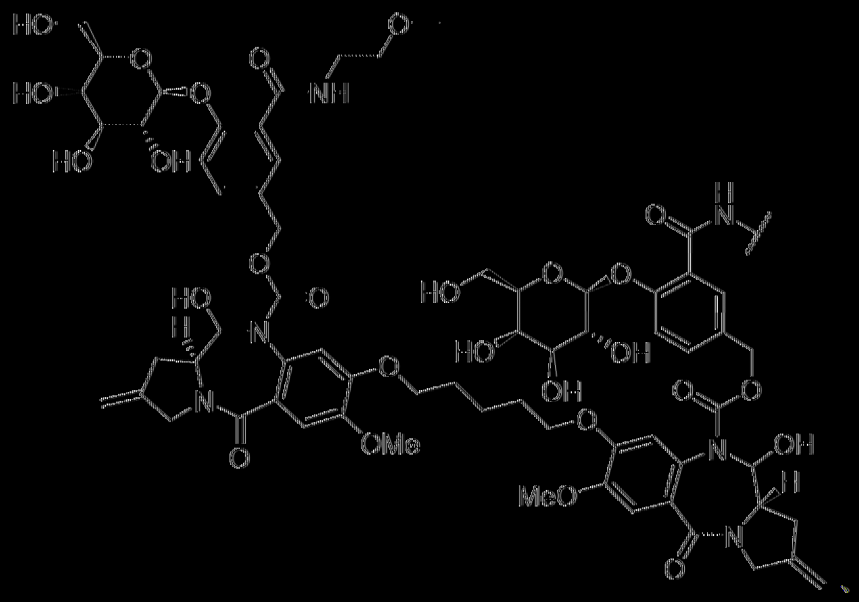
如請求項121之結合物，其中R_6為烷基(例如戊基)。

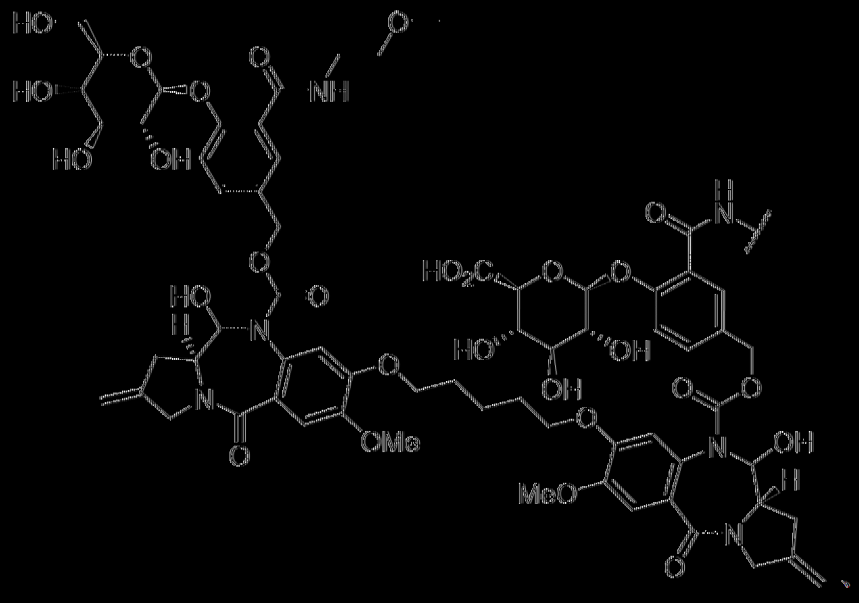
【請求項124】

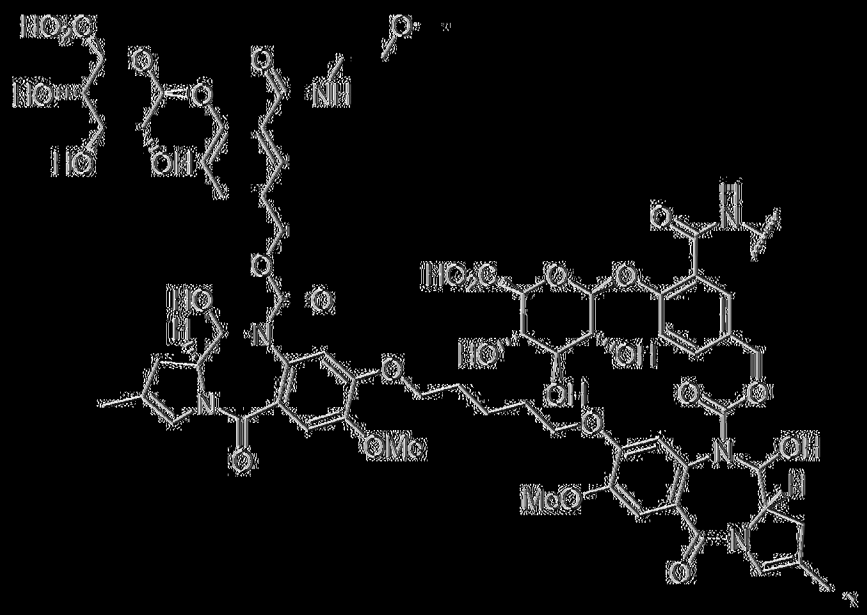
如請求項1至123中任一項之結合物，其中該結合物包含選自以下之結構：

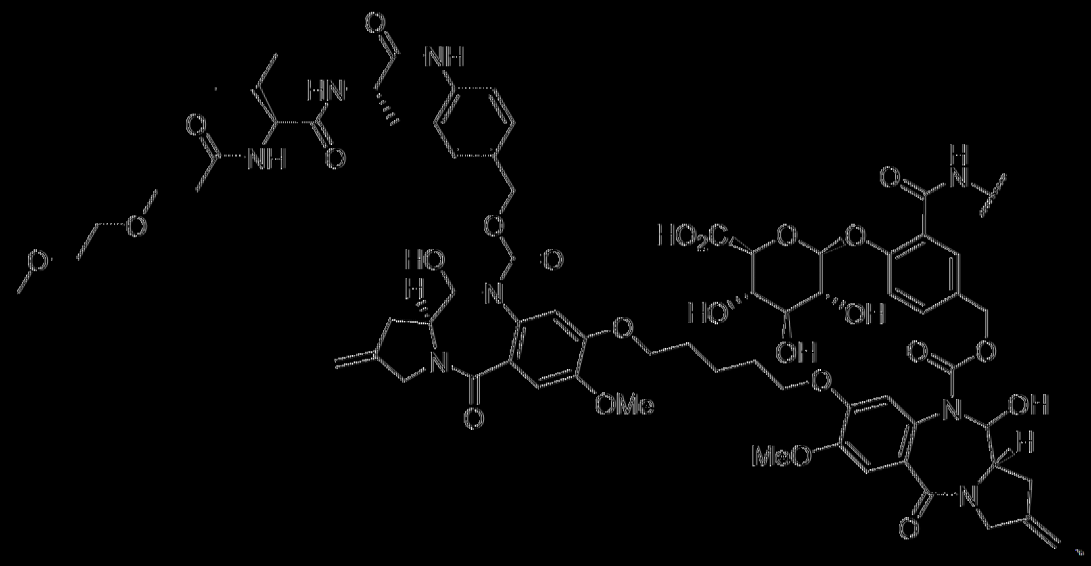


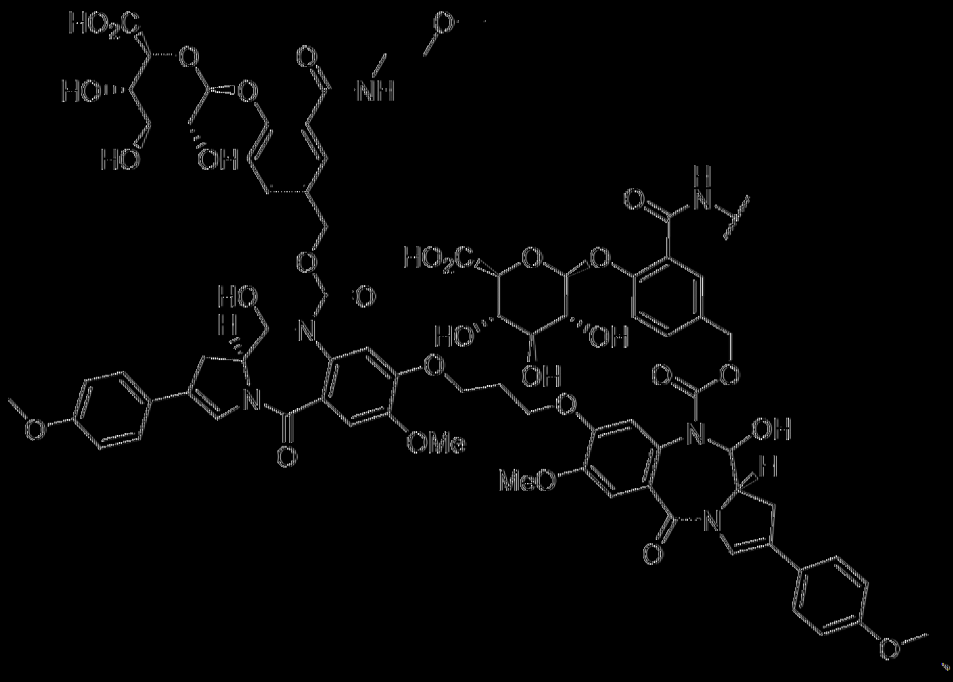


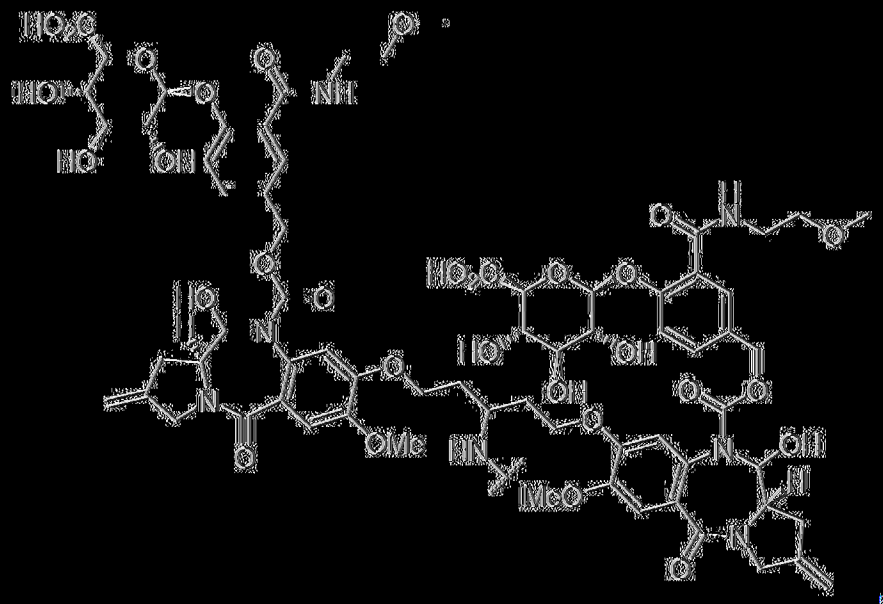


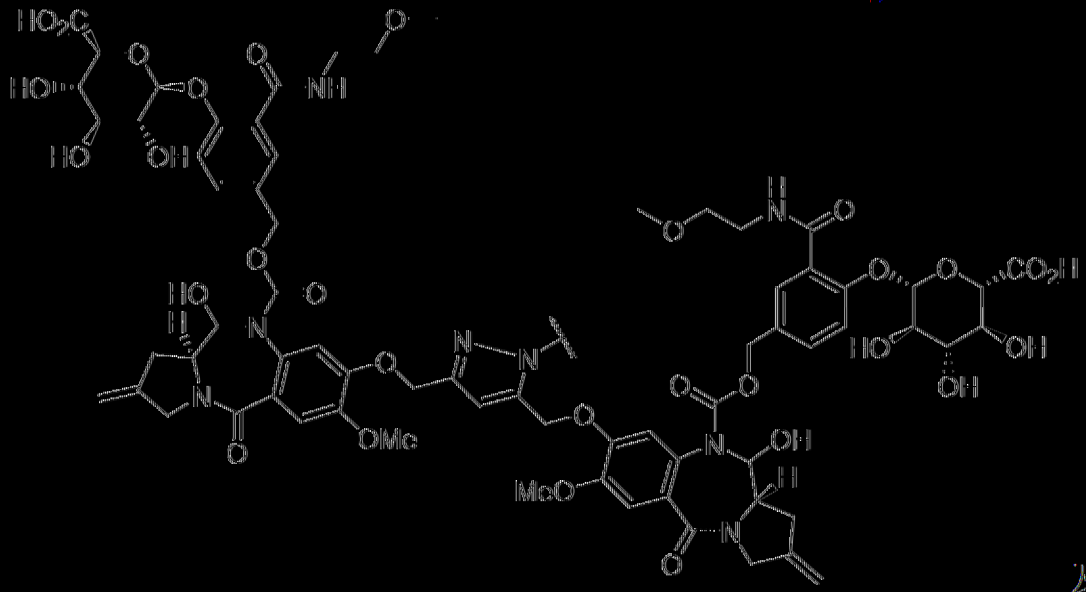




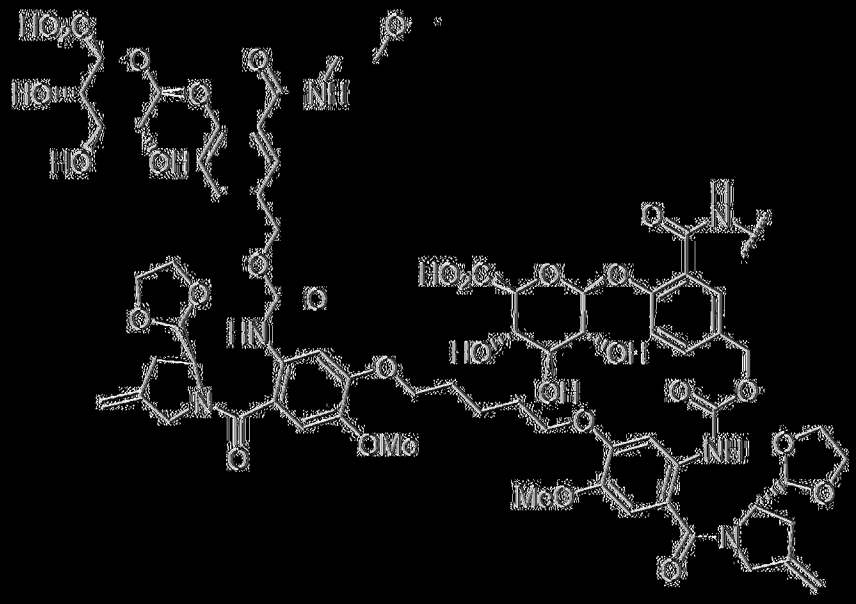








及

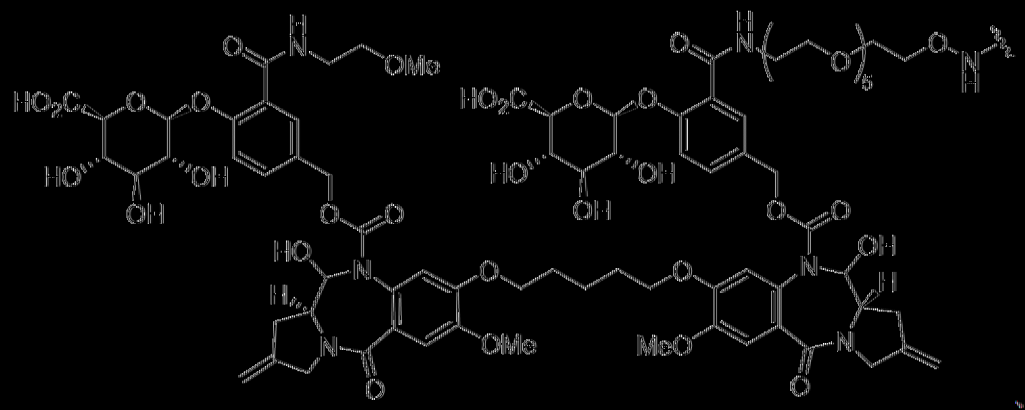


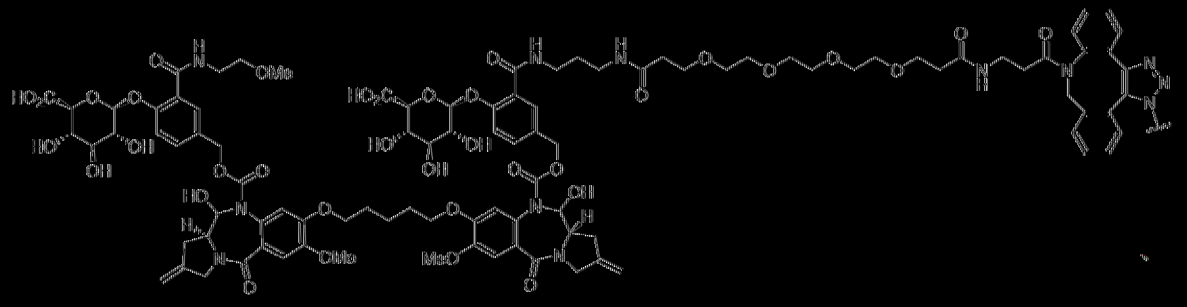
；且與波浪線重疊之鍵

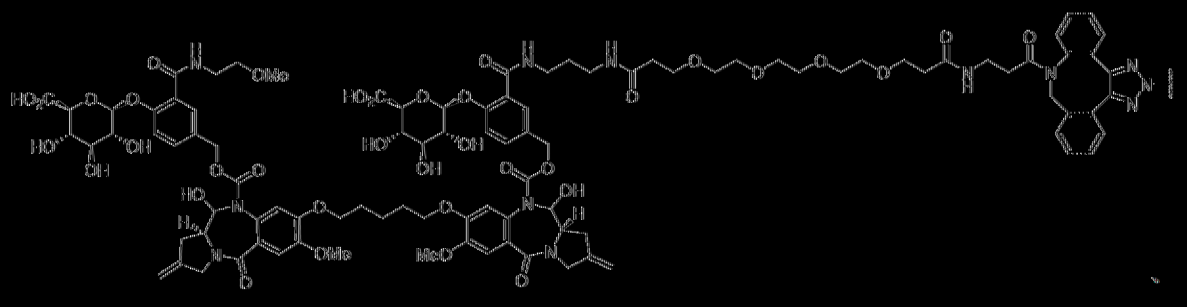
表示與L之連接點。

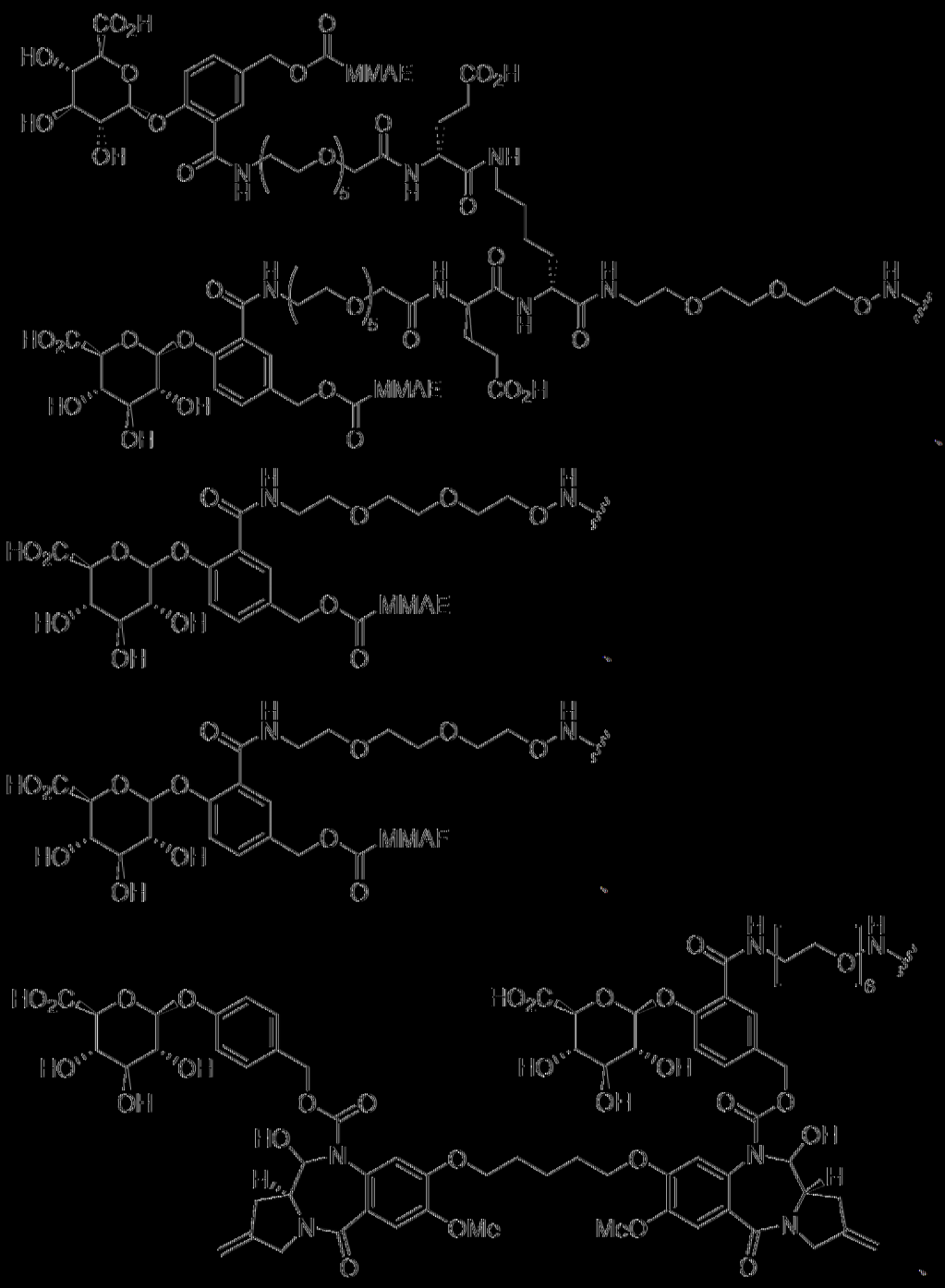
【請求項125】

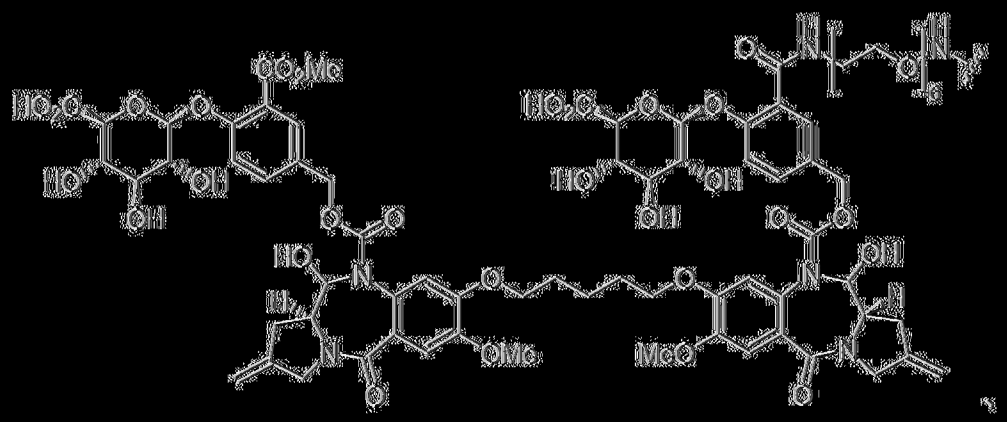
如請求項1至124中任一項之結合物，其中該結合物包含選自以下之結構：

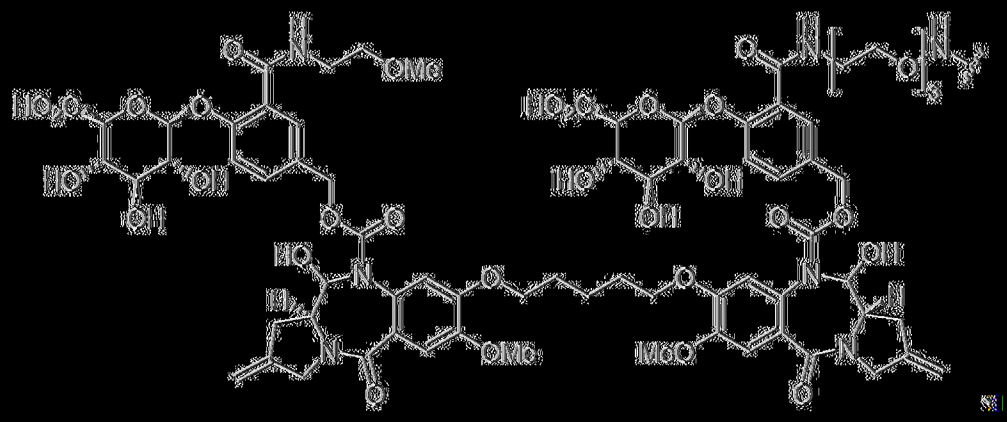


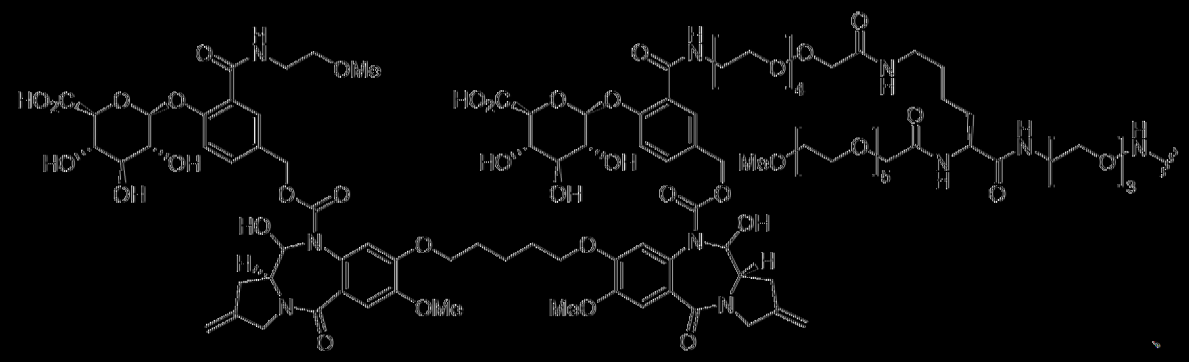


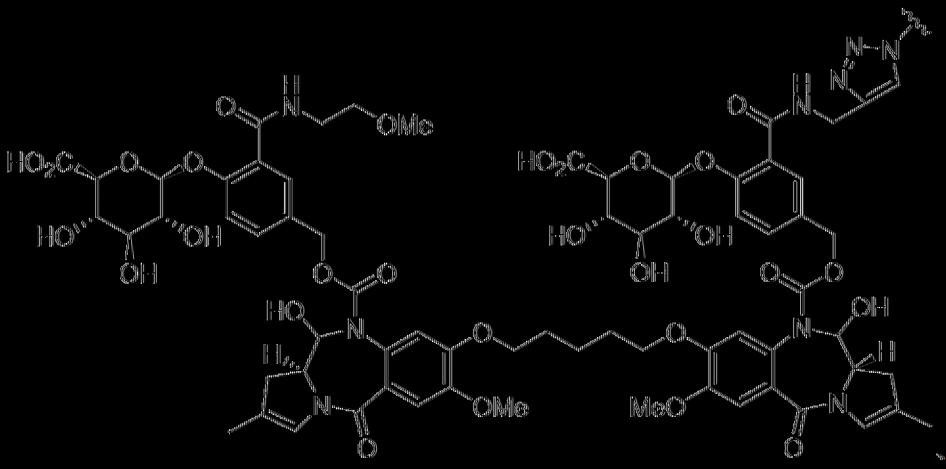


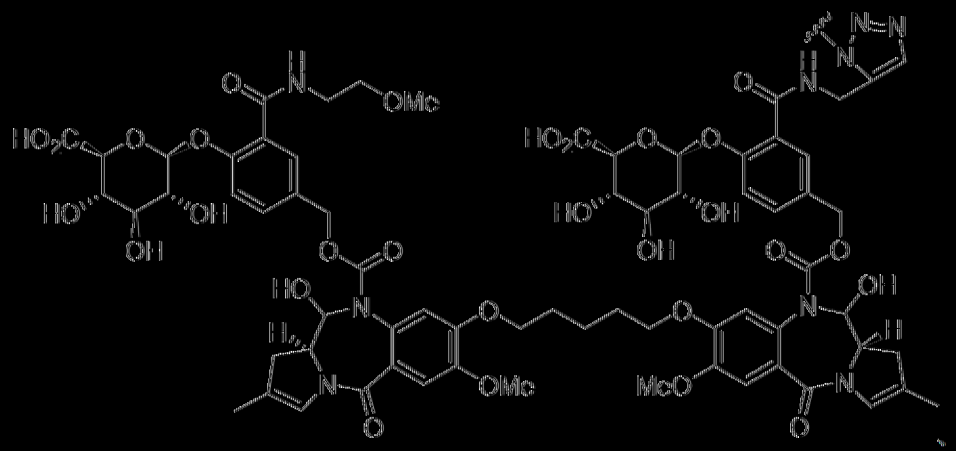

MMAE
MMAE
MMAE
MMAF
OMe
MeO

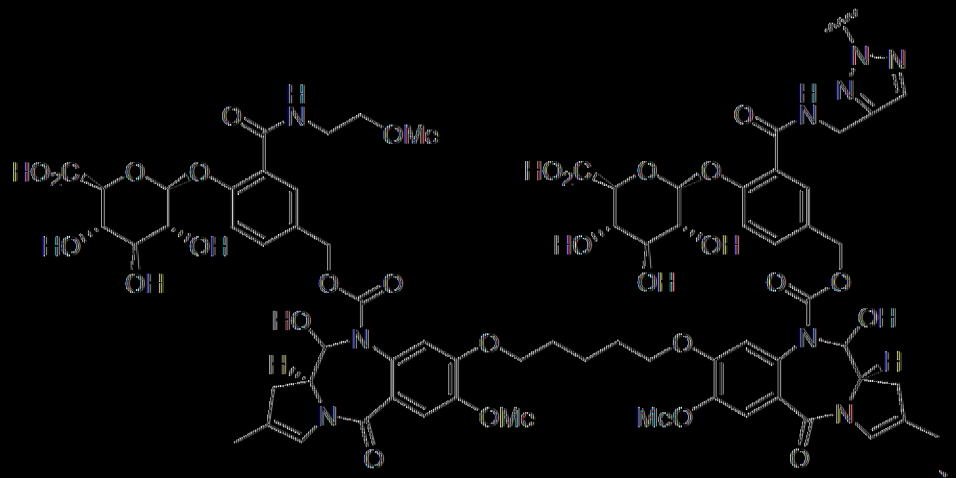


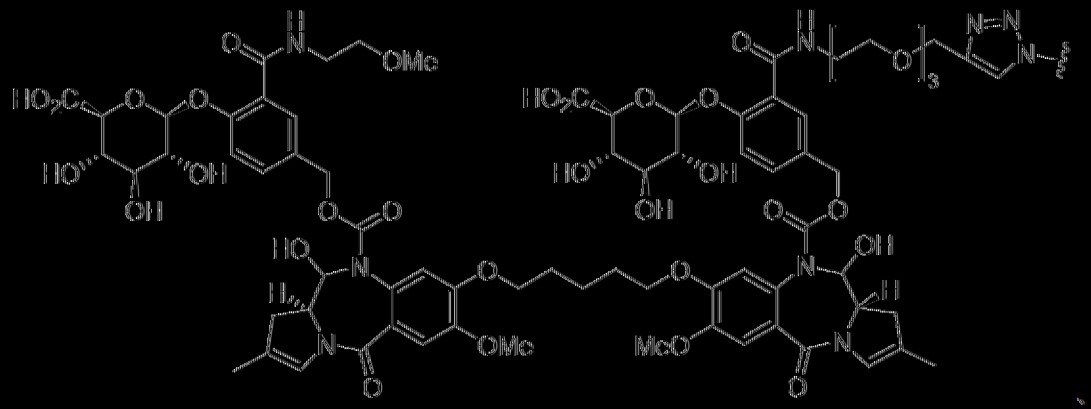


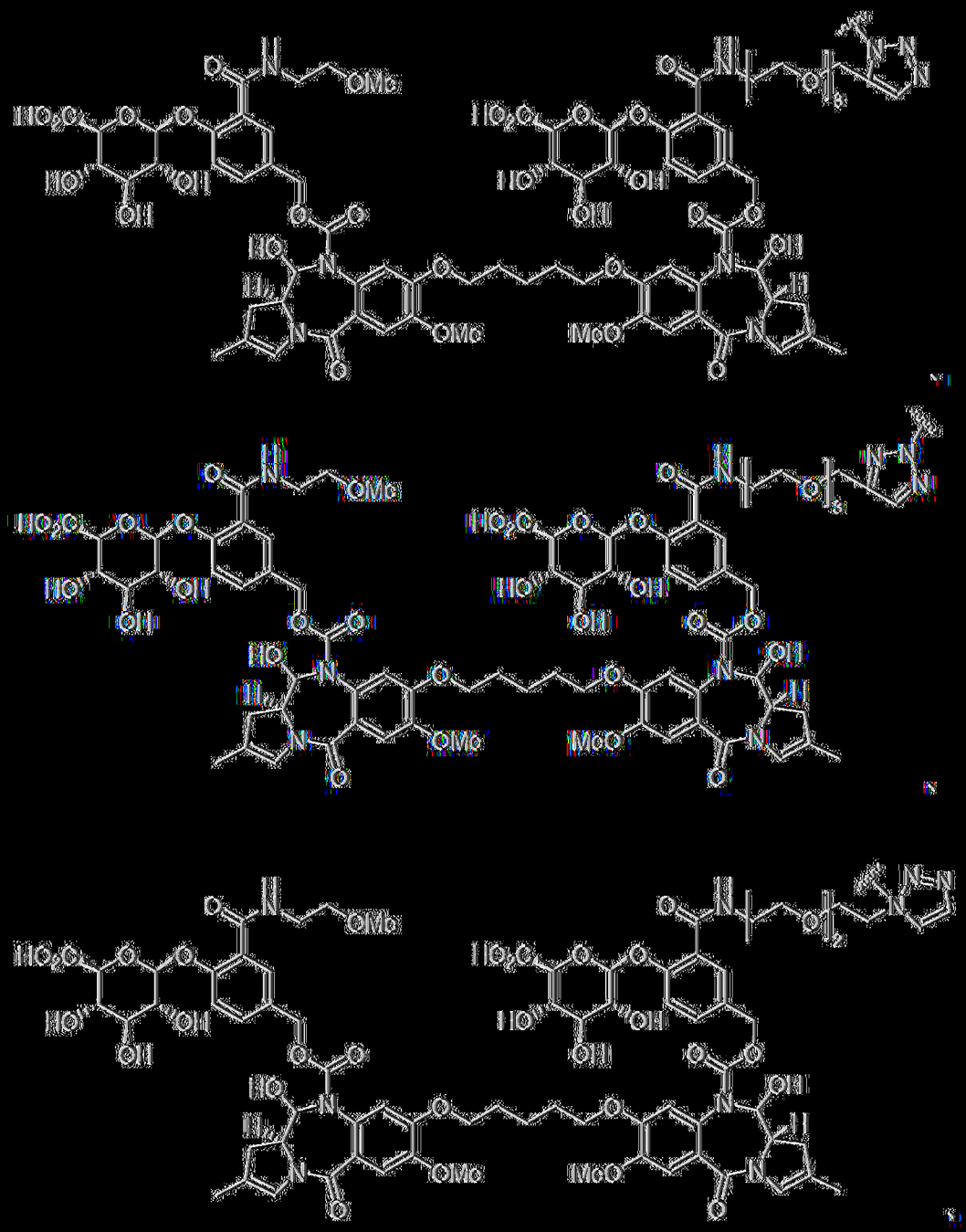


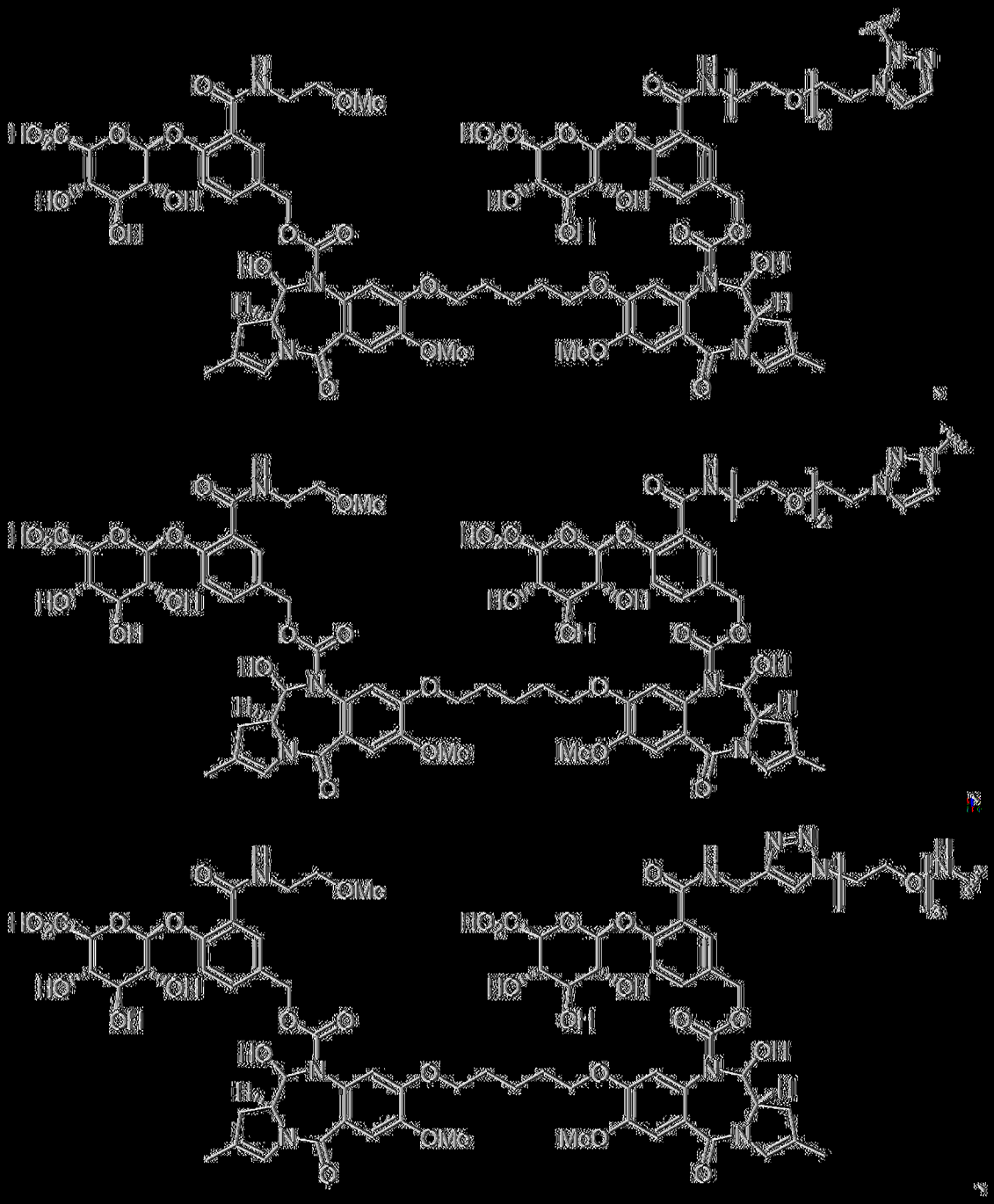


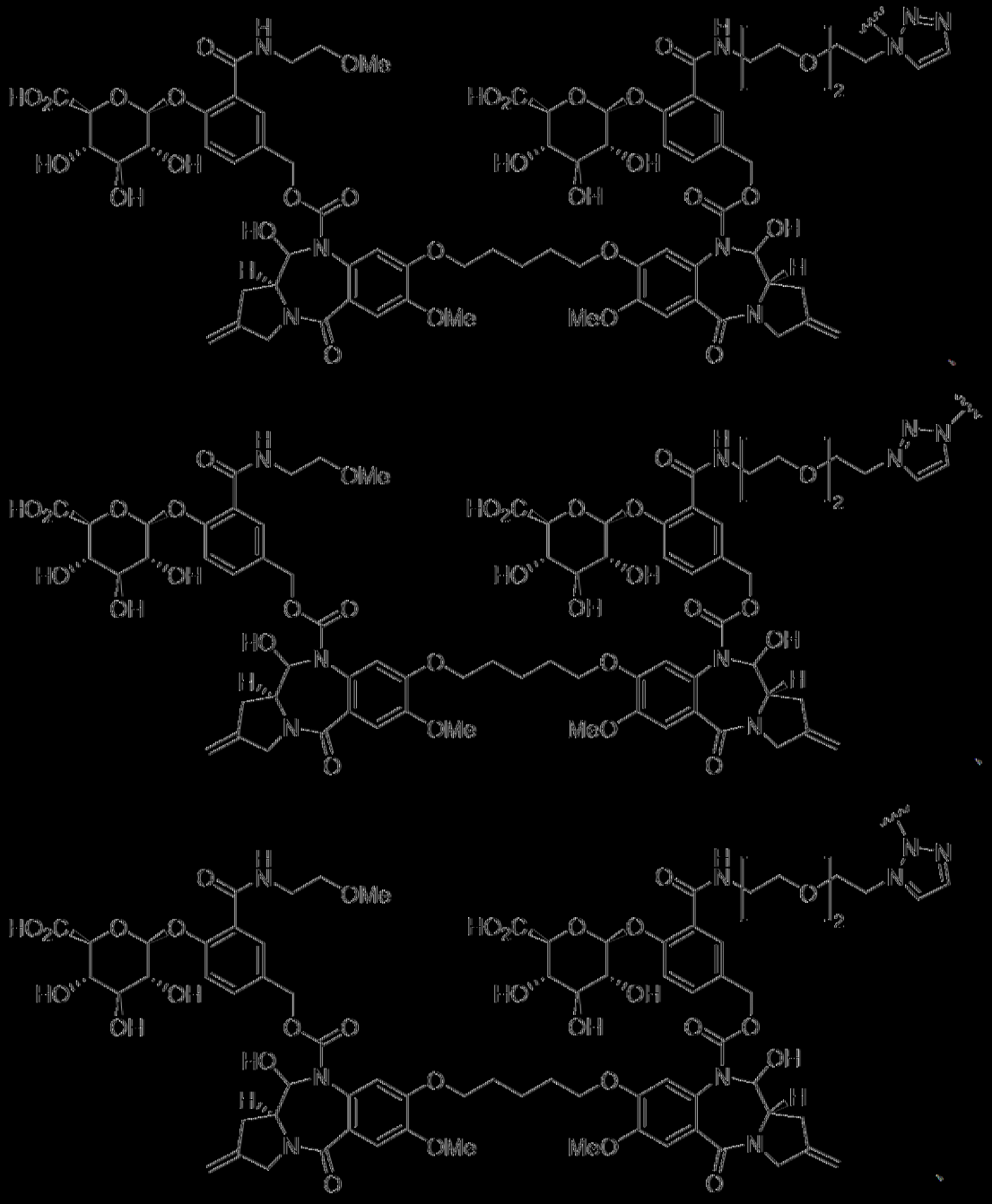


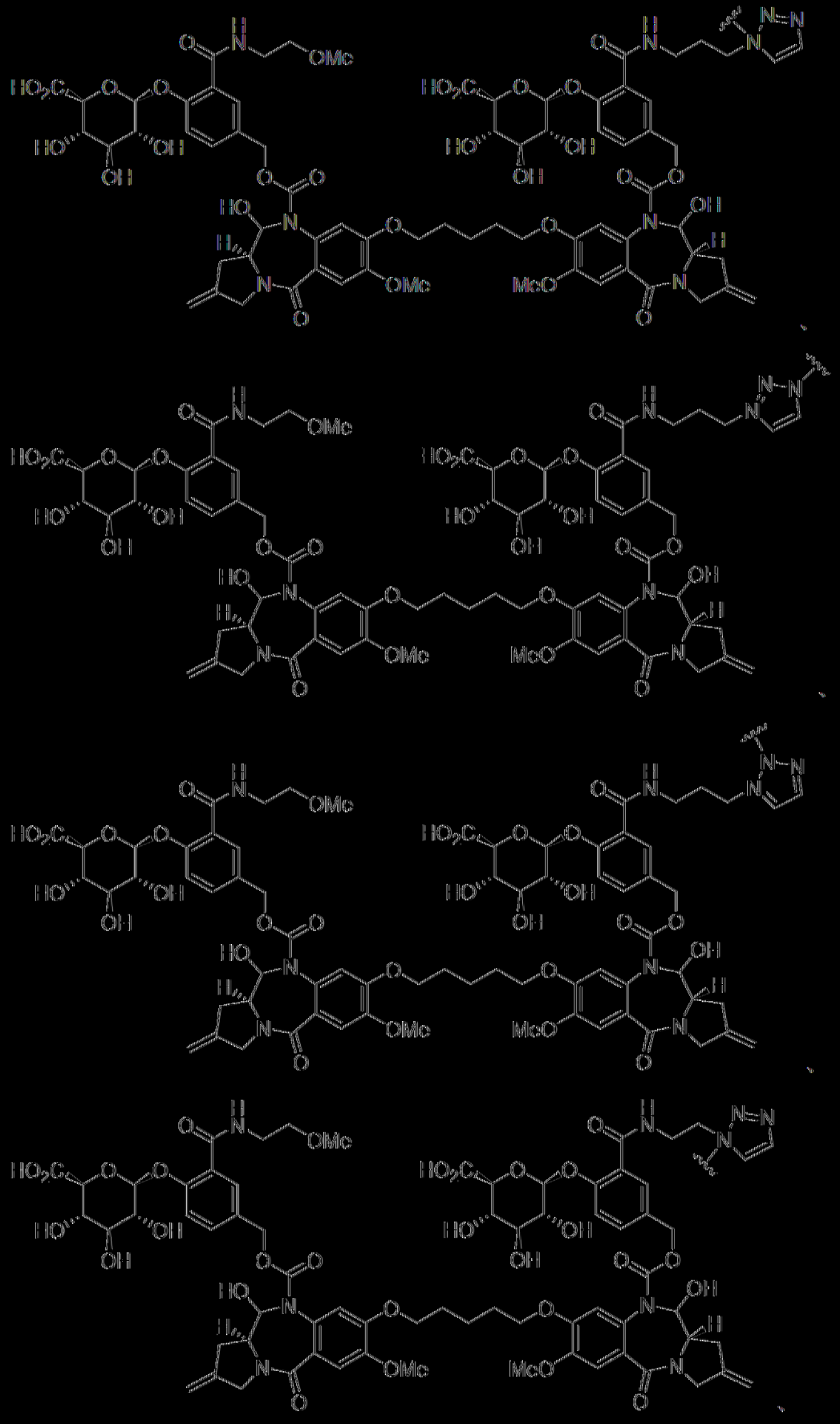


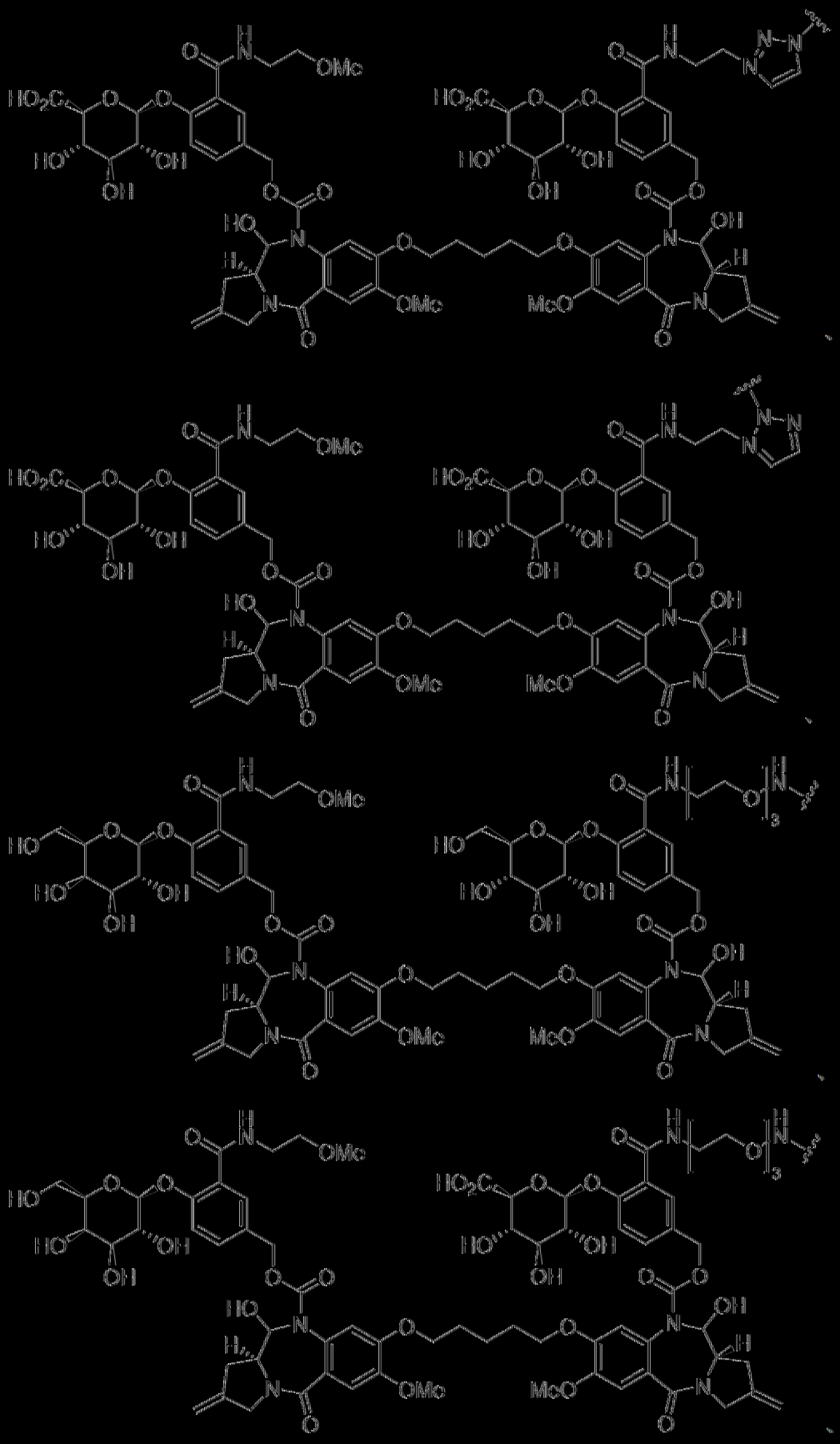


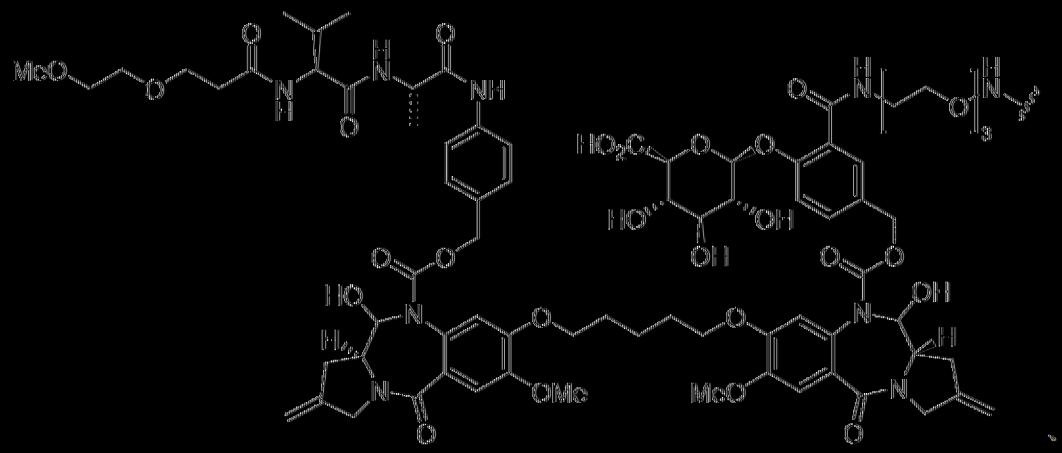


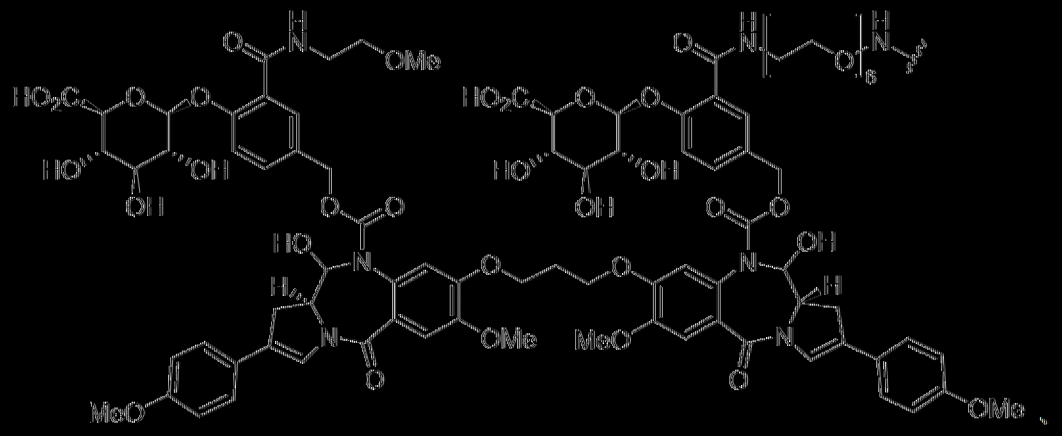


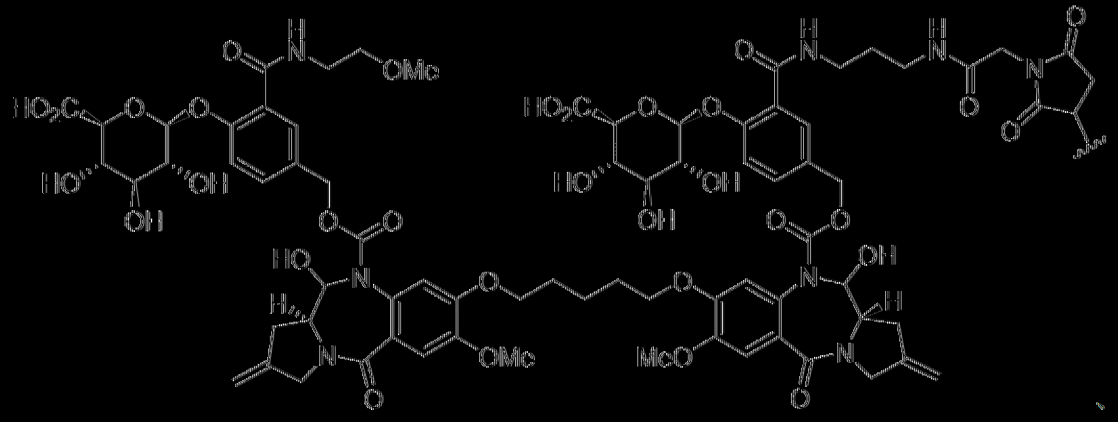


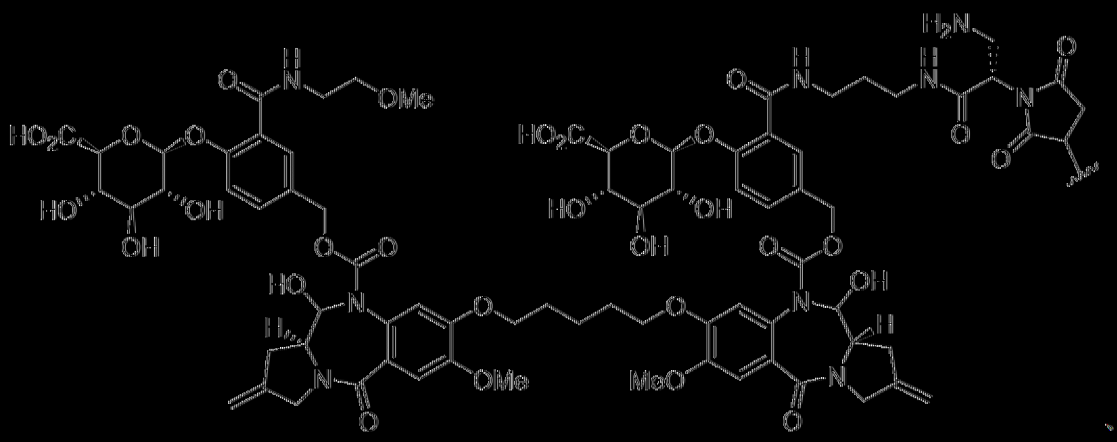


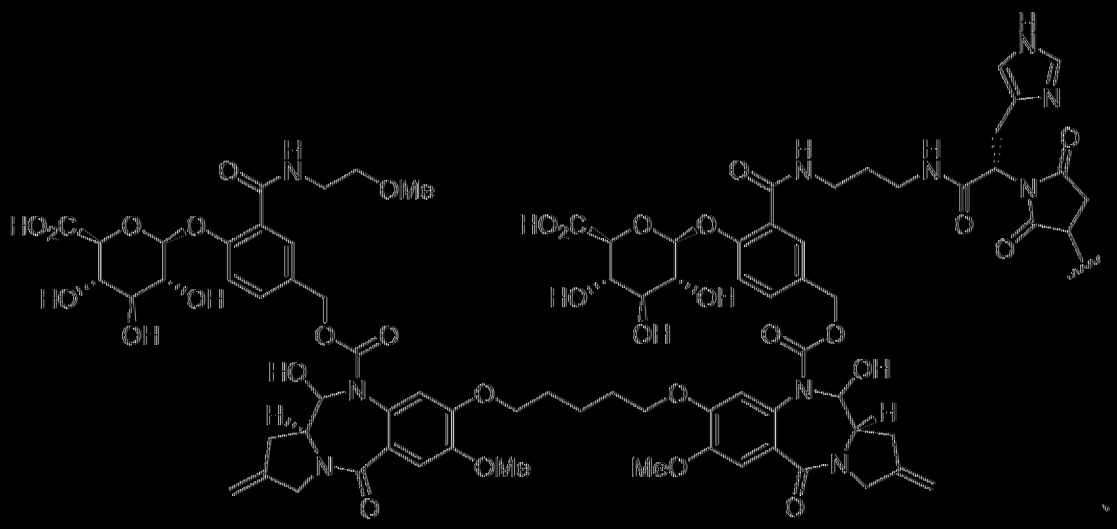


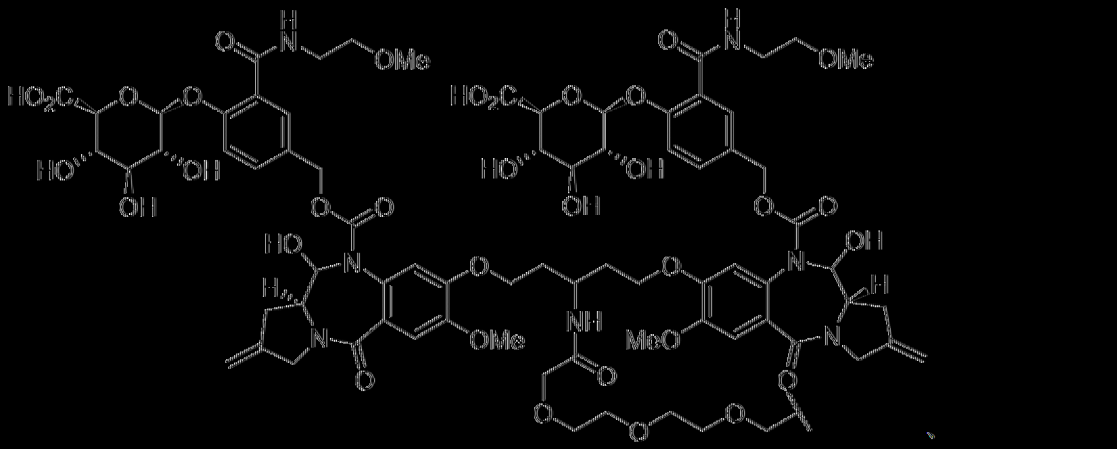


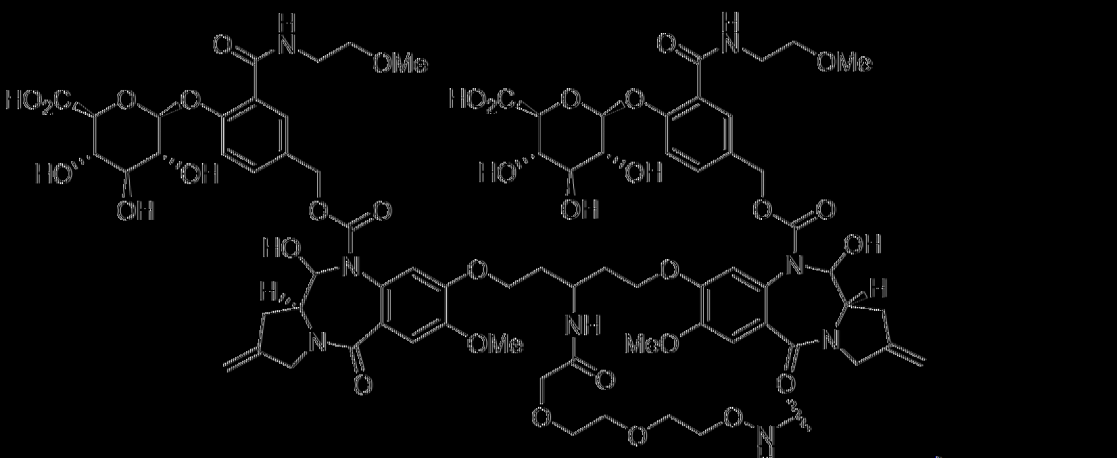


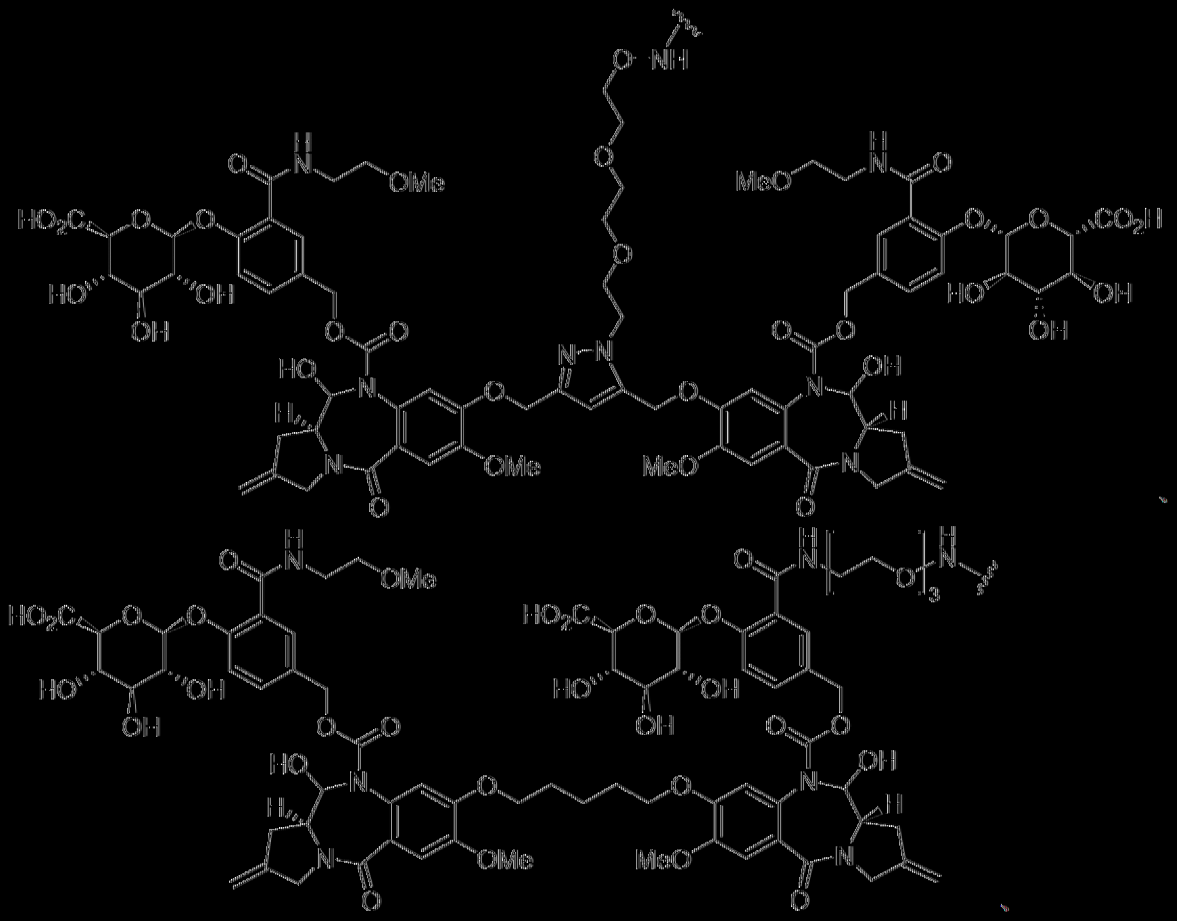


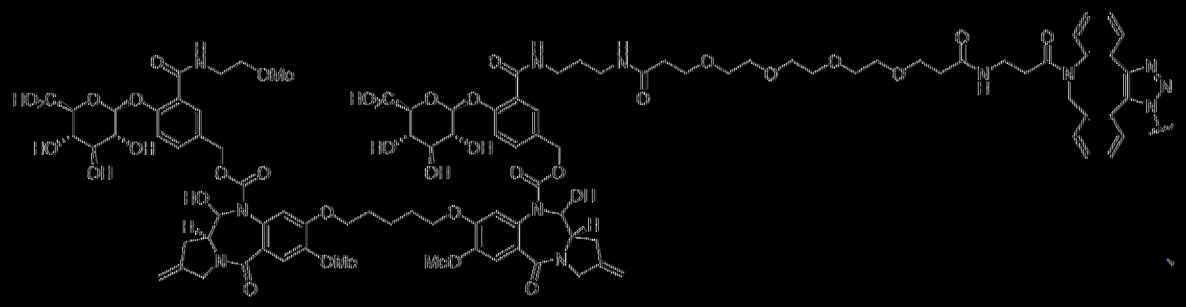




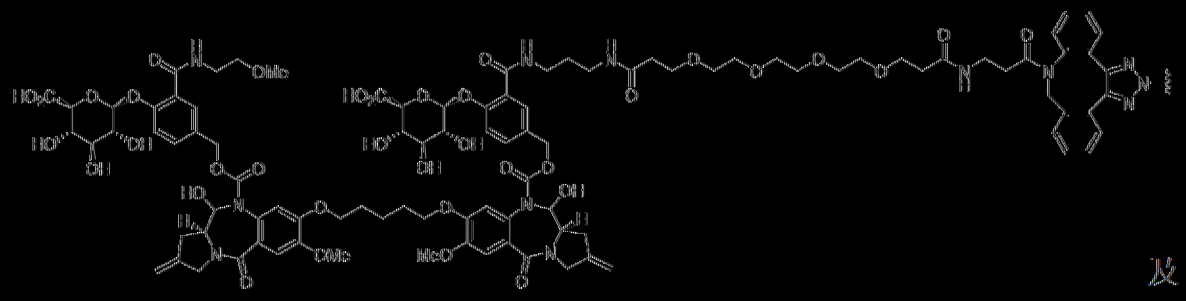




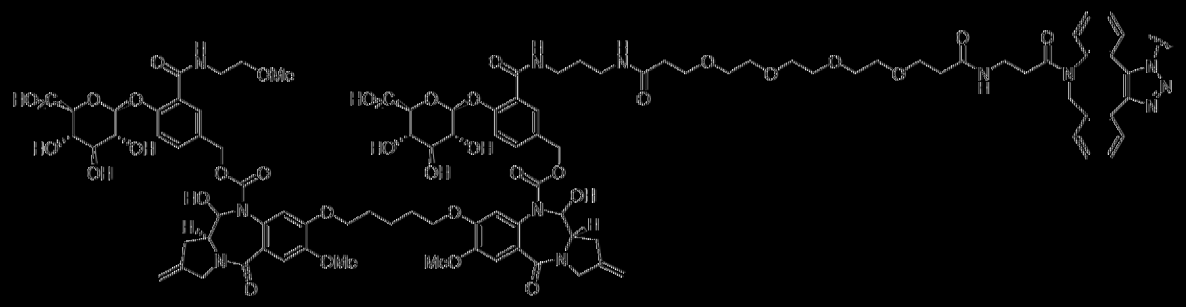




、



及



；

其中MMAE為單甲基奧瑞他汀E；

MMAF為單甲基奧瑞他汀F；及

波浪線表示與該結合物之連接點。

[請求項126]

一種醫藥組合物，其包含如請求項1至125中任一項之結合物及醫藥學上可接受之賦形劑。

[請求項127]

一種用於預防或治療過度增殖、癌症或血管生成疾病之醫藥組合物，該醫藥組合物包含如請求項1至125中任一項之結合物。

[請求項128]

如請求項127之醫藥組合物，其進一步包含醫藥學上有效量之化學治

療劑。

【請求項129】

如請求項127或128之醫藥組合物，其中該癌症係選自肺癌、小細胞肺癌、胃腸癌、結腸癌、腸癌、乳癌、卵巢癌、前列腺癌、睾丸癌、肝癌、腎癌、膀胱癌、胰臟癌、腦癌、肉瘤、骨肉瘤、卡波西氏肉瘤(Kaposi's sarcoma)及黑色素瘤。

【請求項130】

一種醫藥製劑，其包含如請求項1至125中任一項之結合物及醫藥學上可接受之載劑，該醫藥製劑係選自注射劑、錠劑、丸劑、散劑、顆粒、膠囊、糖衣錠、懸浮液、內用液體、乳液、糖漿、凍乾製劑及栓劑。

【請求項131】

一種治療有需要個體之癌症或血管生成疾病的方法，其包含向該個體投與如請求項1至125中任一項之結合物或其醫藥學上可接受之鹽。

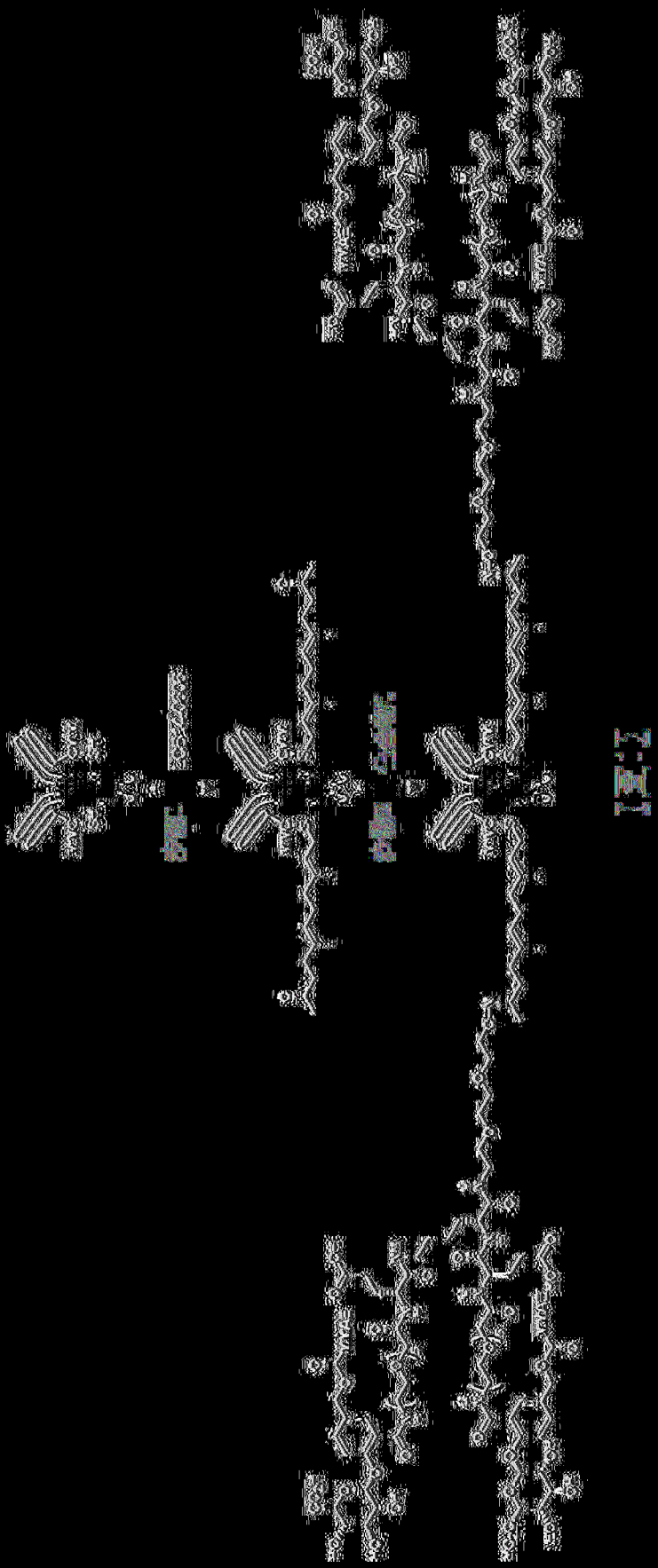
【請求項132】

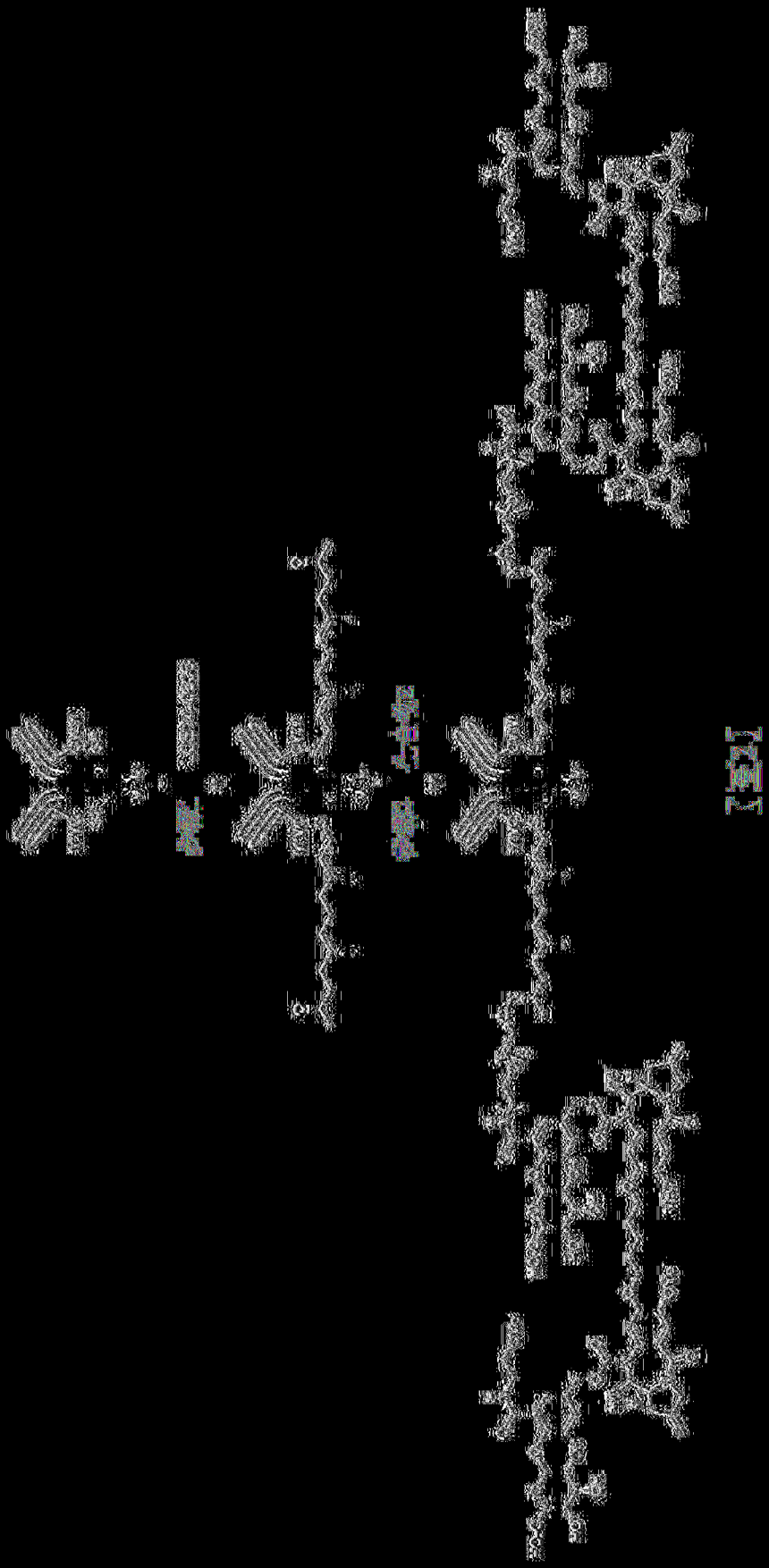
如請求項131之方法，其中該方法治療癌症。

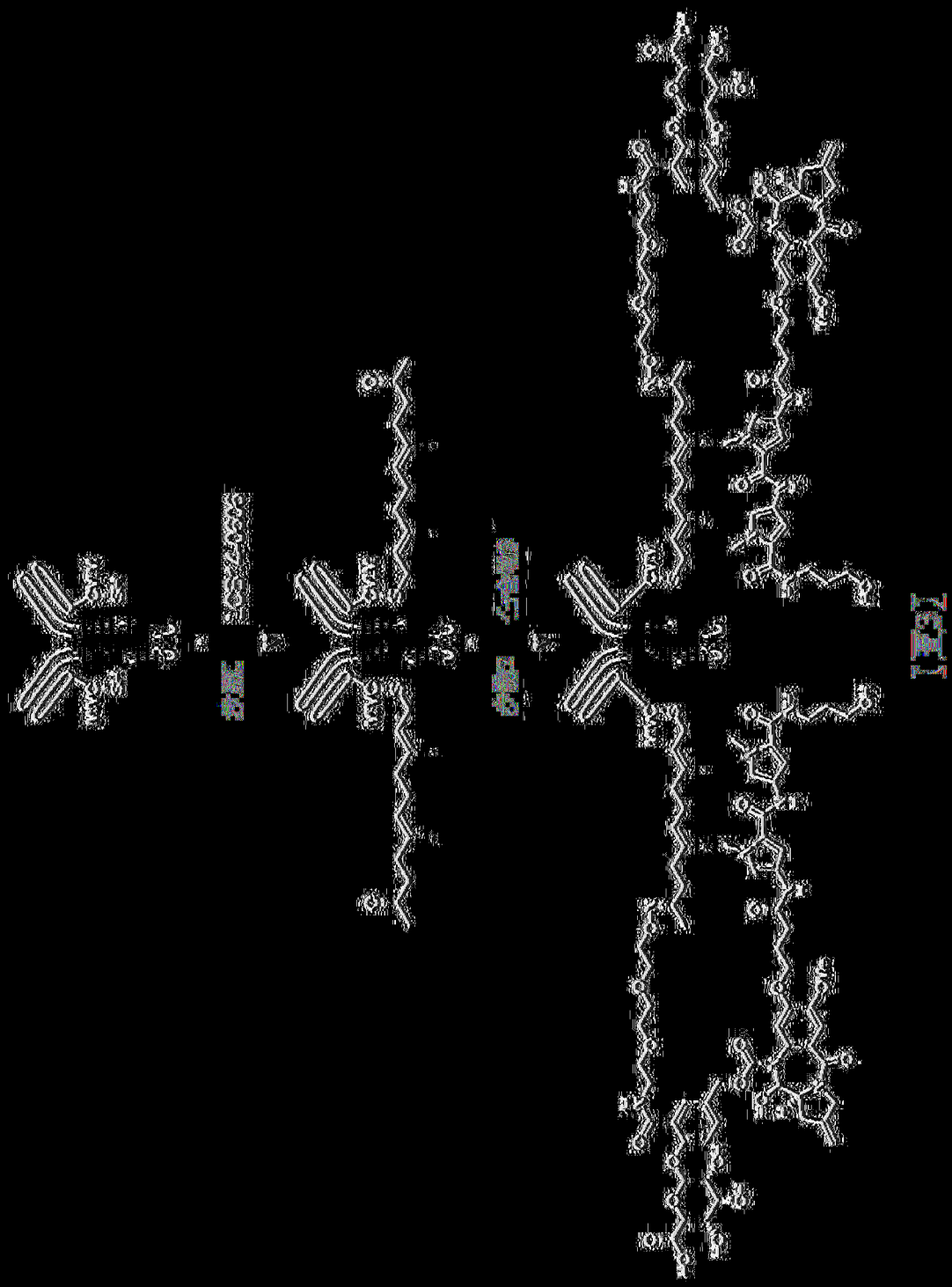
【請求項133】

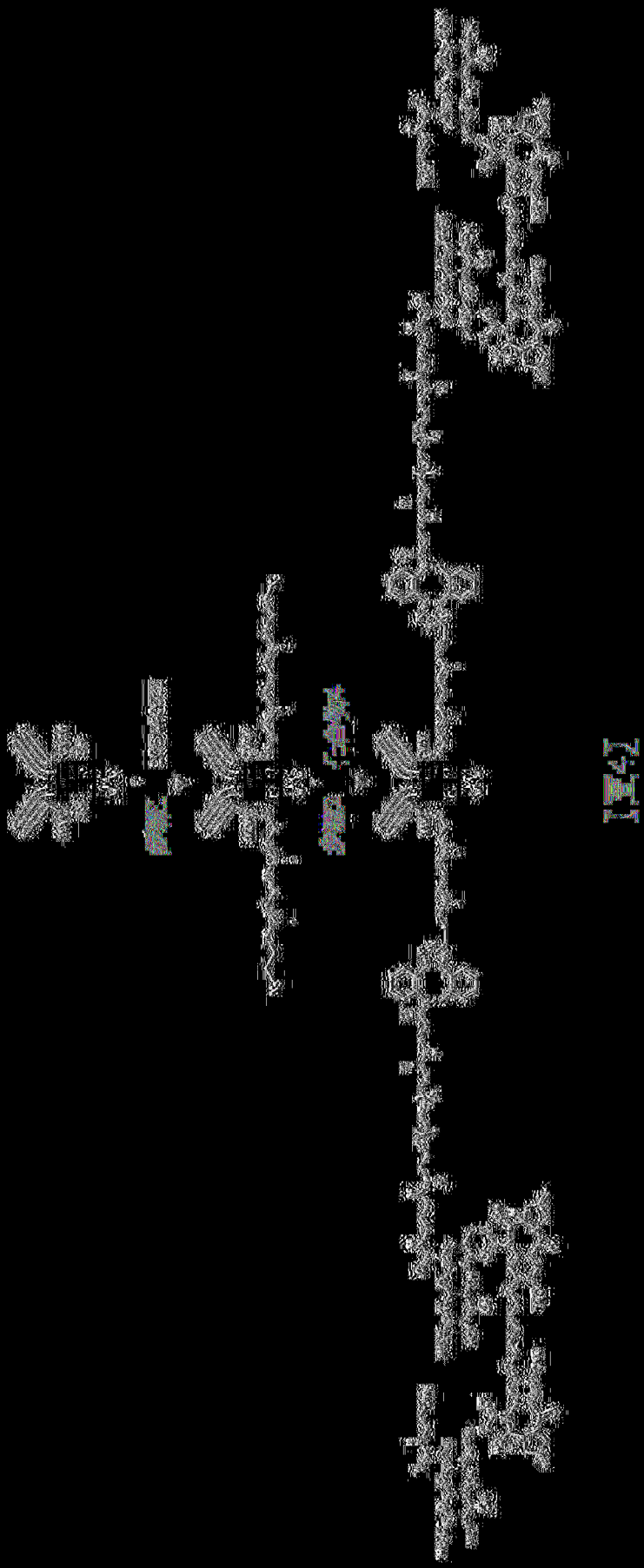
如請求項131或132之方法，其中該癌症為肺癌、小細胞肺癌、胃腸癌、結腸癌、腸癌、乳癌、卵巢癌、前列腺癌、睾丸癌、肝癌、腎癌、膀胱癌、胰臟癌、腦癌、肉瘤、骨肉瘤、卡波西氏肉瘤及黑色素瘤。

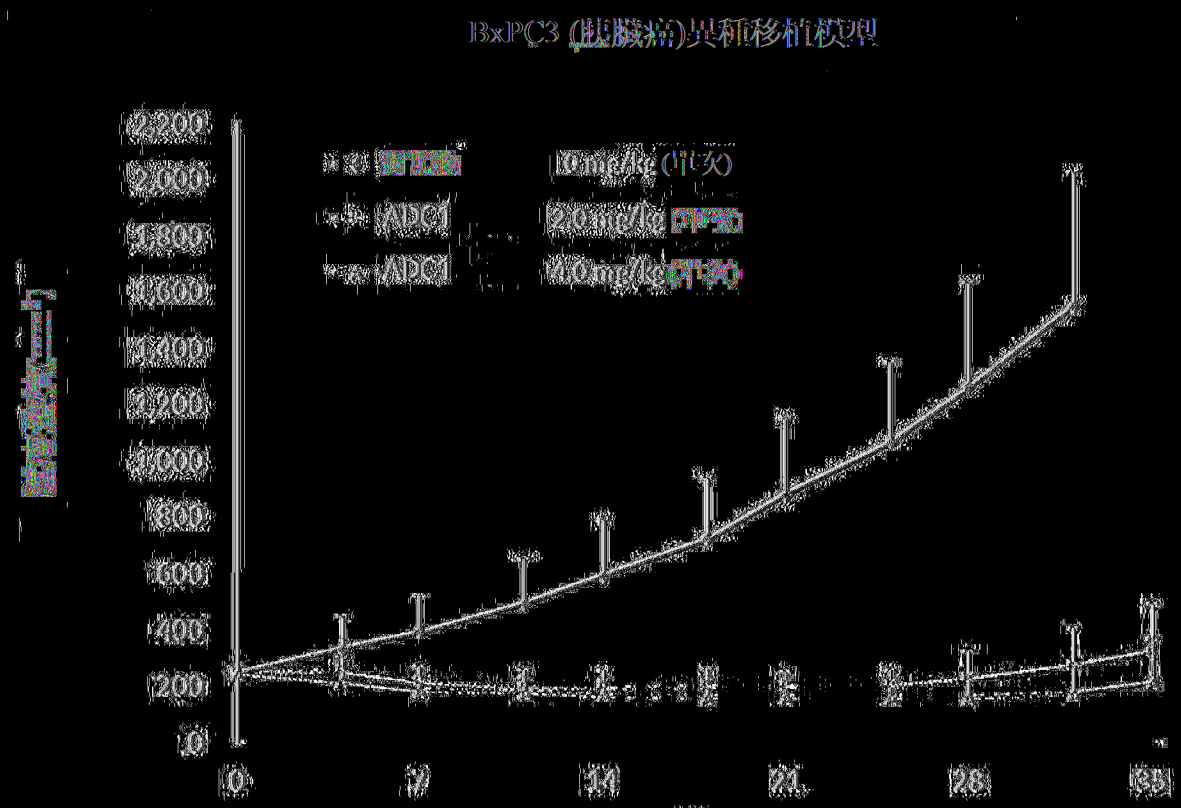
(發明圖式)



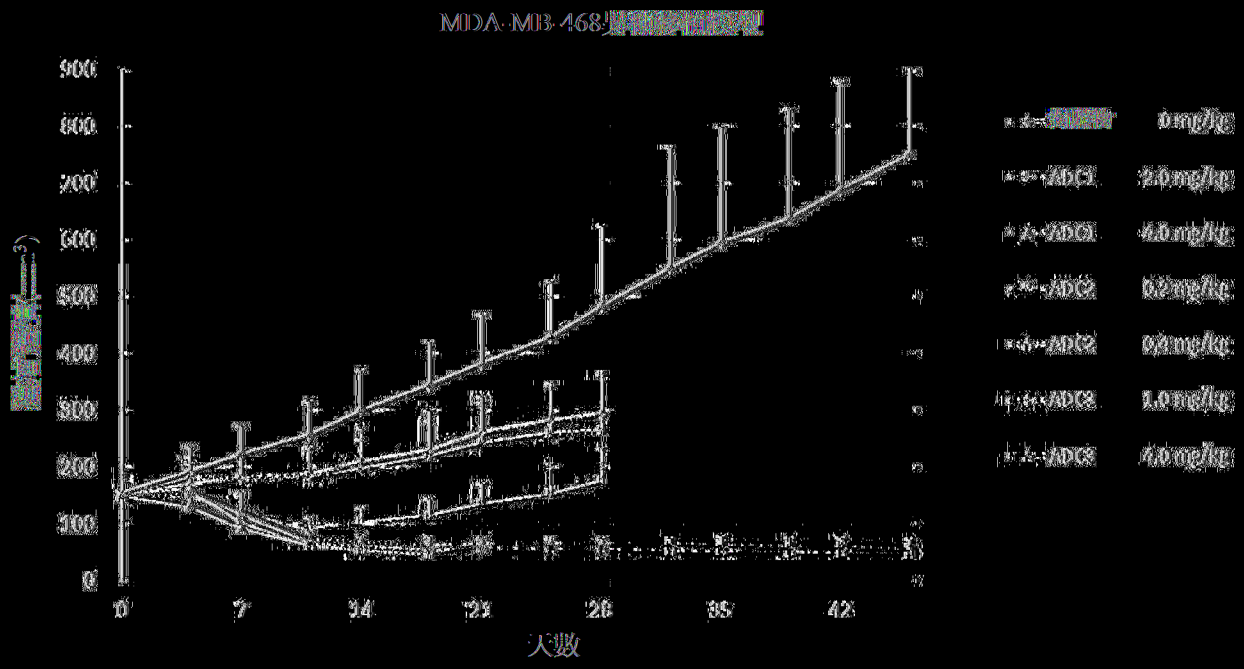







BxPC3 (胰臟癌)異種移植模型
腫瘤體積 (mm³)
2200
2000
1800
1600
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
0
7
14
21
28
35
天數
0 mg/kg (PBS)
2.0 mg/kg
4.0 mg/kg

[圖5A]


MDA-MB-468
900
800
700
600
500
400
300
200
100
0
0
7
14
21
28
35
42
天數
0 mg/kg
2.0 mg/kg
4.0 mg/kg
0.2 mg/kg
0.4 mg/kg
1.0 mg/kg
4.0 mg/kg

[圖5B]

MDA-MB-468 CDX

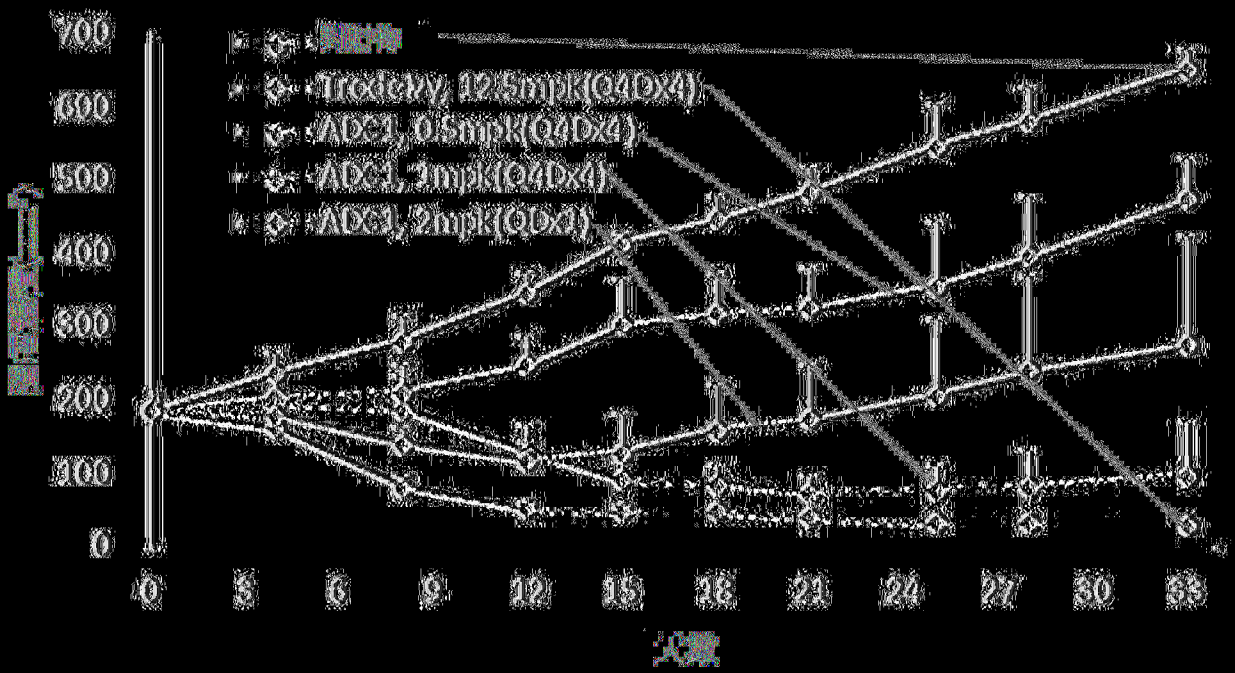


圖 2

BxPC3 CDX

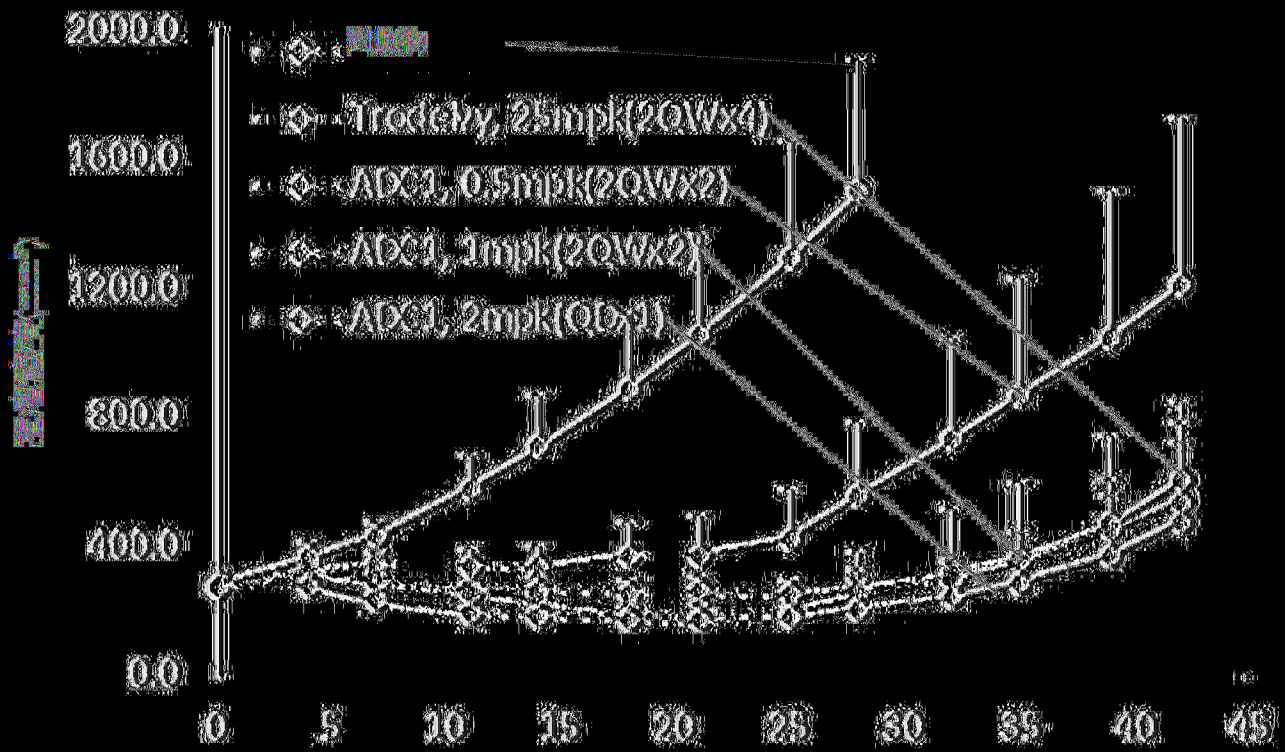
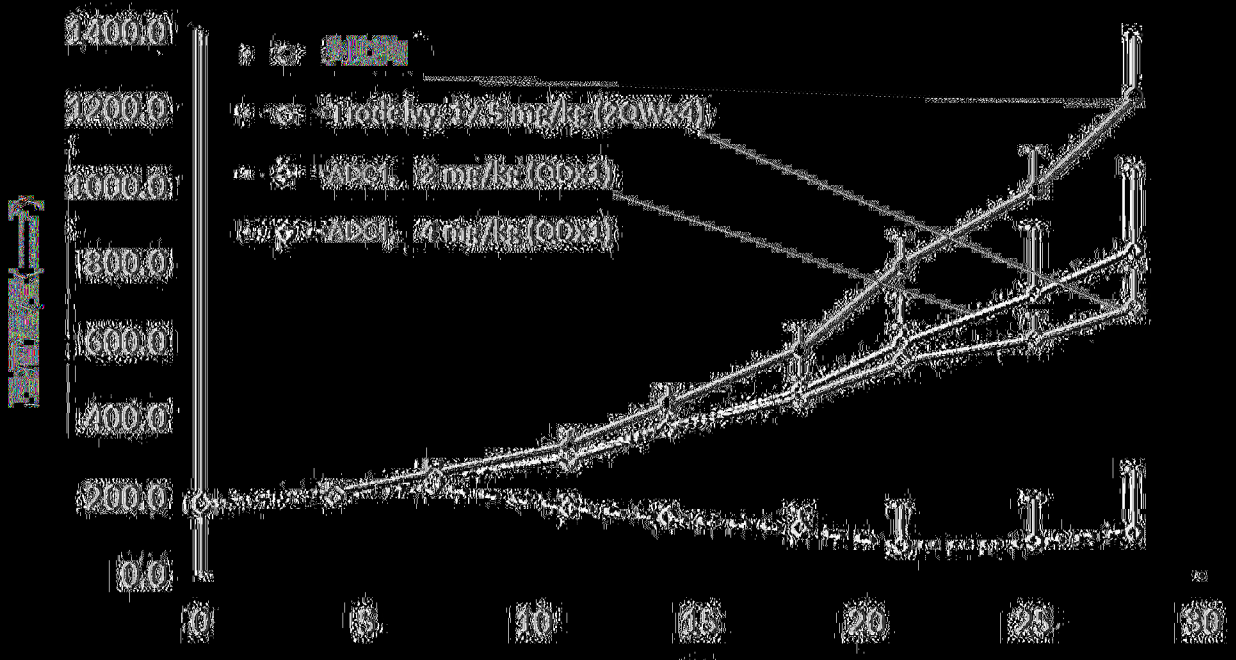


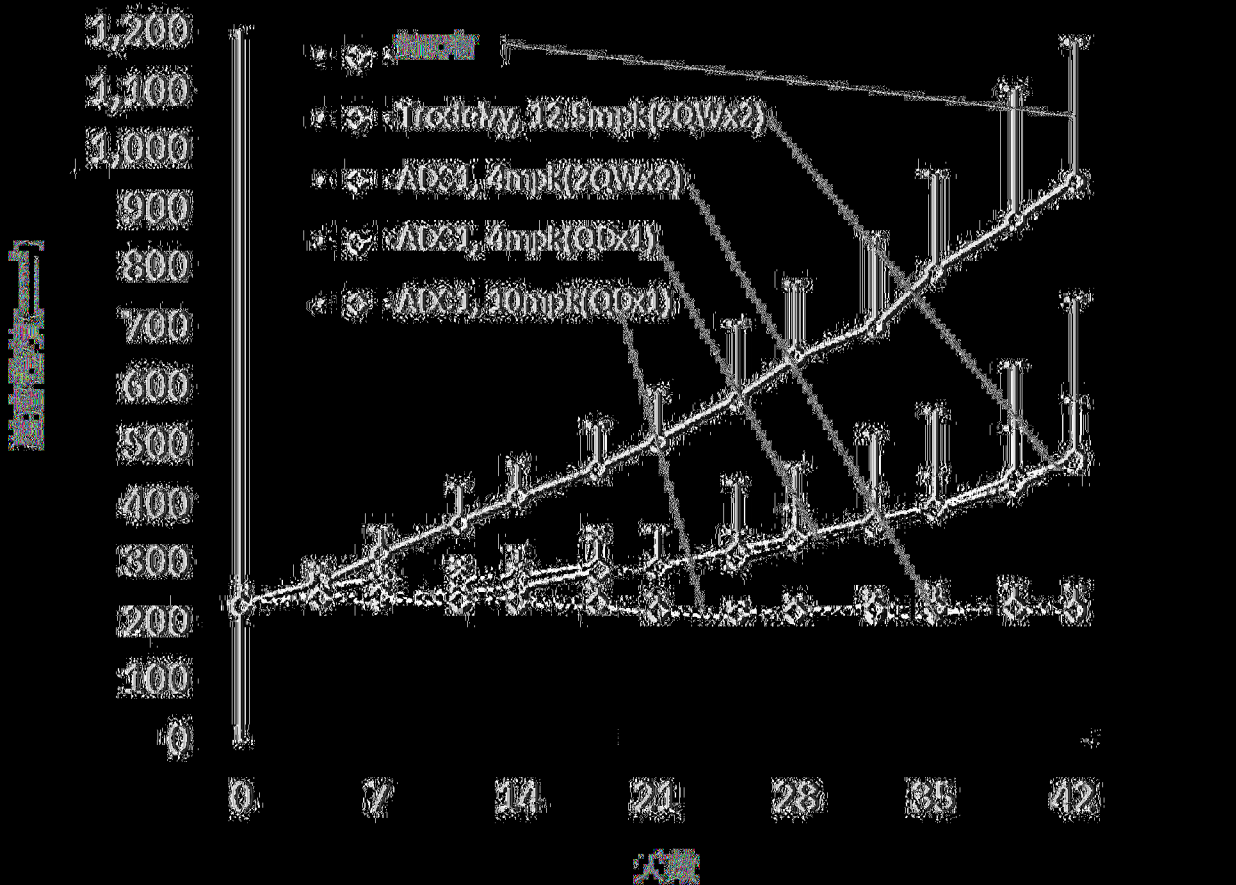
圖 3

INCI-N87/CCCDX



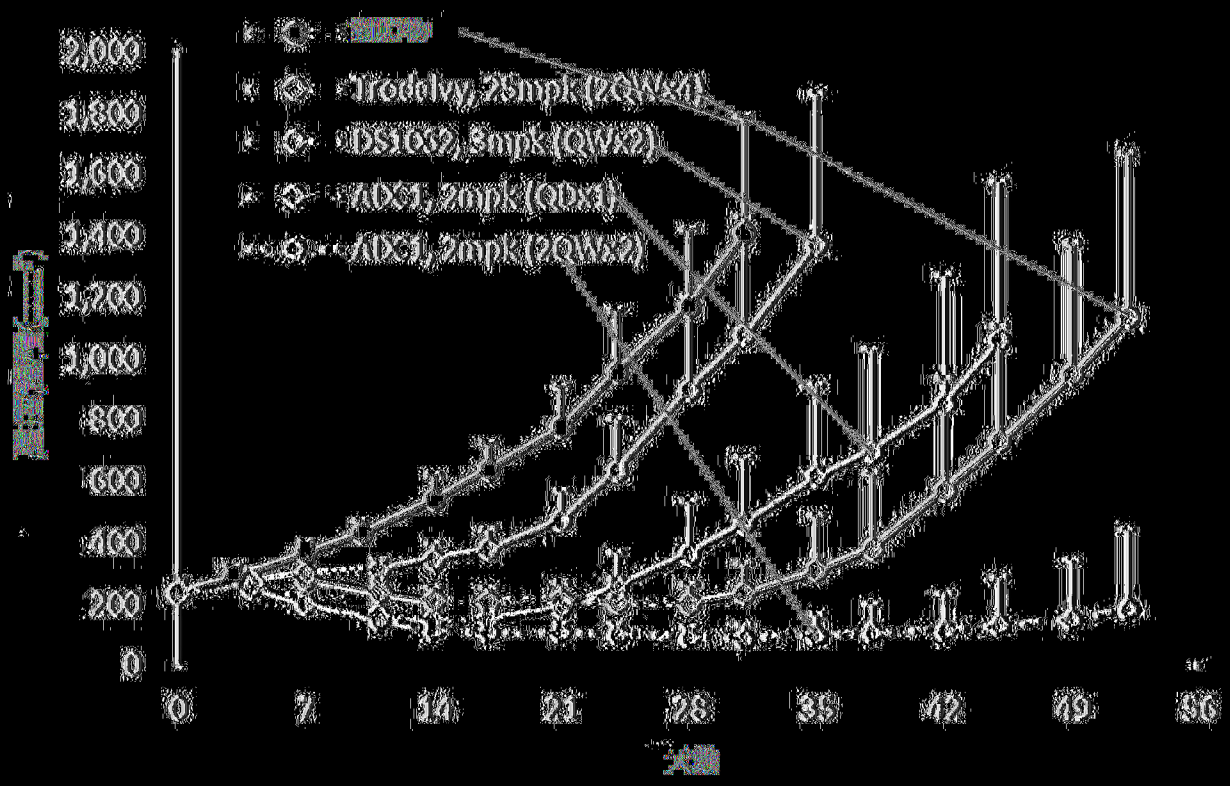
[圖6C]

HCC827 CDX



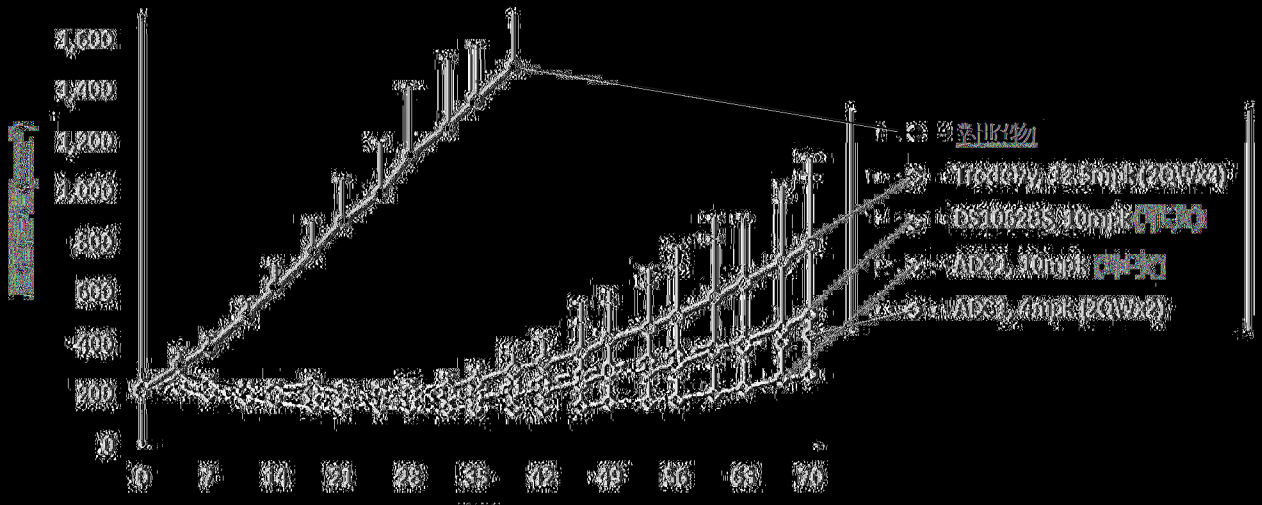
[圖6D]

BXPC8 CDX



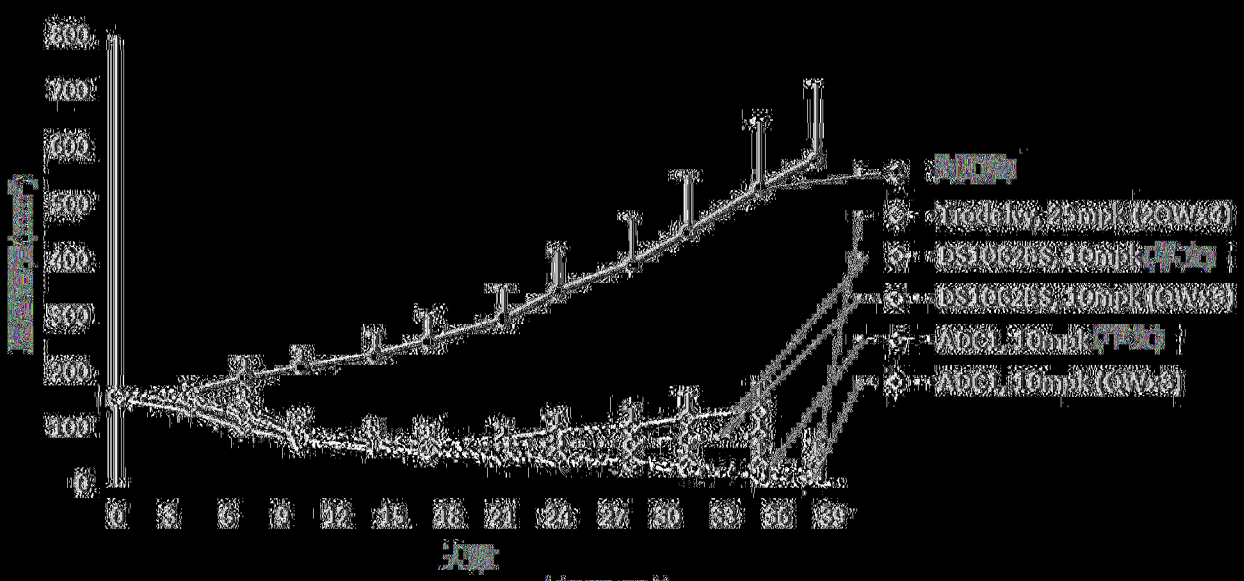
[腫瘤A]

HCC827 CDX

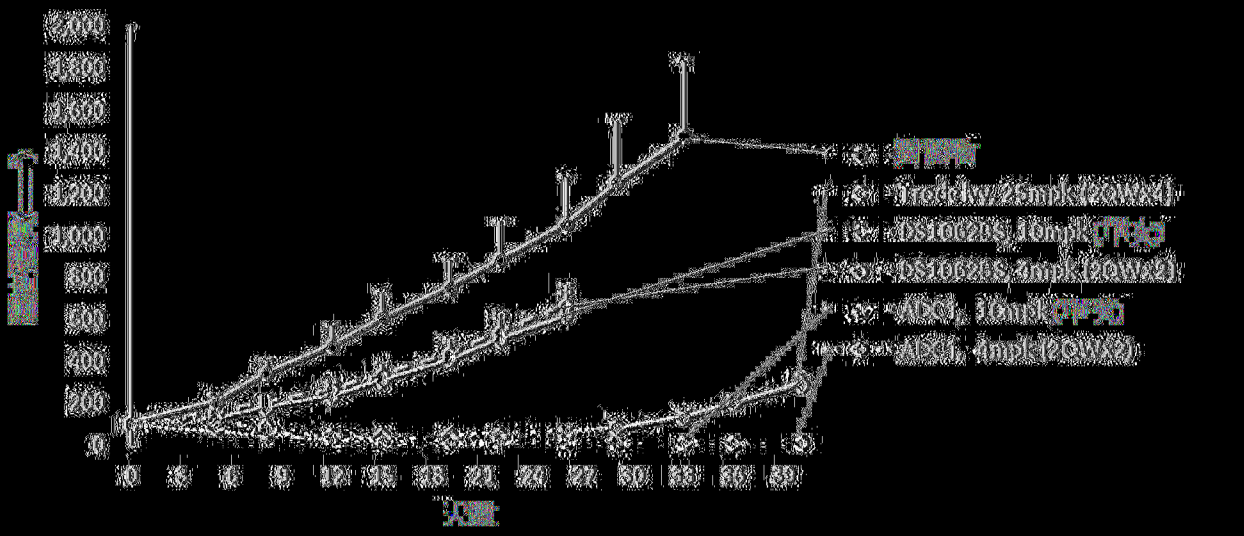


[腫瘤B]

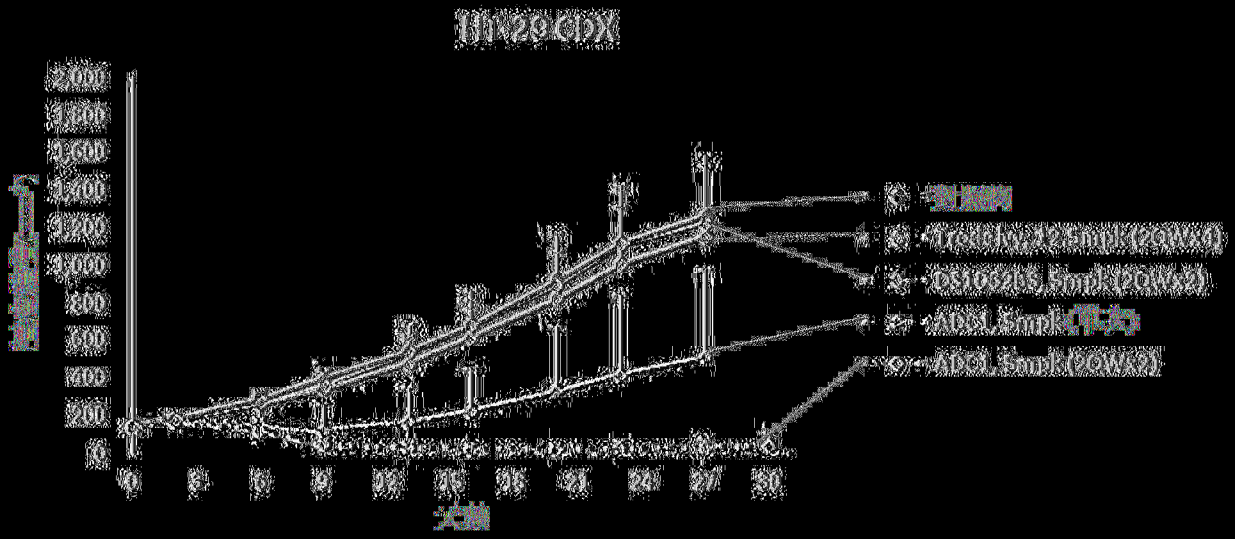
Capan-1 CDX



NCL124Z0 CDX



202500190



|(|||7E)|