



(21)申請案號：112144316 (22)申請日：中華民國 112 (2023) 年 11 月 16 日

(51)Int. Cl. : *A61K47/68 (2017.01)* *A61K31/357 (2006.01)*
A61K31/435 (2006.01) *A61K31/40 (2006.01)*
A61K31/16 (2006.01) *A61K31/35 (2006.01)*
A61K31/21 (2006.01) *A61K31/12 (2006.01)*
A61P35/00 (2006.01)

(30)優先權：2022/11/17 美國 63/384,214
2022/12/02 歐洲專利局 22306780.2
2023/11/07 美國 63/596,943

(71)申請人：美商西雅圖遺傳學公司 (美國) SEAGEN INC. (US)
美國
法商賽諾菲公司 (法國) SANOFI (FR)
法國

(72)發明人：萊斯基 瑞恩 LYSKI, RYAN (US)；傑佛瑞 史考特 JEFFREY, SCOTT (US)；尼
可拉茲 賽琳 NICOLAZZI, CELINE (FR)；布倫 馬利 普里西拉 BRUN, MARIE-
PRISCILLE (FR)；迪凱利 史蒂芬妮 DECARY, STEPHANIE (FR)；巴達特 耶
夫斯 BAUDAT, YVES (FR)

(74)代理人：何愛文；王仁君

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：50 項 圖式數：20 共 420 頁

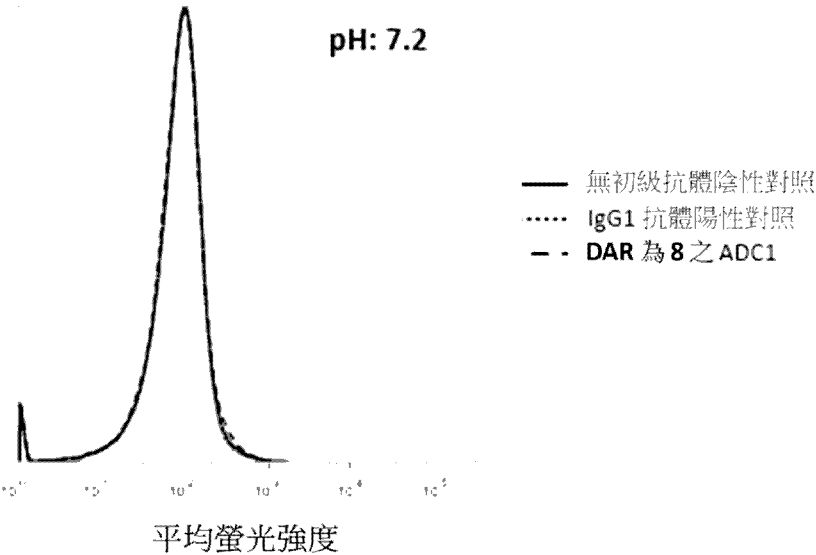
(54)名稱
CEACAM5 抗體-藥物接合物及其使用方法

(57)摘要

本發明係關於抗體-藥物接合物，其包含與藥物(諸如拓撲異構酶 I 抑制劑)接合的結合至 CEACAM5 之抗體。本文亦提供治療癌症之方法，該等方法包括投予此類 ADC。

The present invention relates to antibody-drug conjugates comprising an antibody that binds to CEACAM5 conjugated to a drug, such as a Topoisomerase I inhibitor. Also provided herein are methods of treating cancer comprising administering such ADCs.

指定代表圖：



【圖1A】

【發明摘要】

【中文發明名稱】CEACAM5抗體-藥物接合物及其使用方法

【英文發明名稱】CEACAM5 ANTIBODY-DRUG CONJUGATES AND

METHODS OF USE THEREOF

【中文】

本發明係關於抗體-藥物接合物，其包含與藥物(諸如拓撲異構酶I抑制劑)接合的結合至CEACAM5之抗體。本文亦提供治療癌症之方法，該等方法包括投予此類ADC。

【英文】

The present invention relates to antibody-drug conjugates comprising an antibody that binds to CEACAM5 conjugated to a drug, such as a Topoisomerase I inhibitor. Also provided herein are methods of treating cancer comprising administering such ADCs.

【指定代表圖】圖1A

【代表圖之符號簡單說明】

無

【特徵化學式】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】CEACAM5抗體-藥物接合物及其使用方法

【英文發明名稱】CEACAM5 ANTIBODY-DRUG CONJUGATES AND
METHODS OF USE THEREOF

【技術領域】

【0001】 本申請案係關於抗體接合物(ADC)，其包含與拓撲異構酶I抑制劑接合的結合至CEACAM5之抗體。

【先前技術】

【0002】 癌胚抗原(CEA)為參與細胞黏附之醣蛋白。CEA於1965年(Gold及Freedman, J Exp Med, 121, 439, 1965)首次鑑定為在懷孕前六個月內由胎兒腸道正常表現之蛋白質，且在胰臟癌、肝癌及結腸癌中發現。CEA家族屬於免疫球蛋白超家族。CEA家族由18個基因組成，細分為兩個蛋白質亞群：癌胚抗原相關細胞黏附分子(CEACAM)亞群及妊娠特異性醣蛋白亞群(Kammerer及Zimmermann, BMC Biology 2010, 8:12)。

【0003】 在人類中，CEACAM亞群由7個成員組成：CEACAM1、CEACAM3、CEACAM4、CEACAM5、CEACAM6、CEACAM7、CEACAM8。大量研究已顯示，CEACAM5在結腸直腸、胃、肺、乳房、前列腺、卵巢、子宮頸及膀胱腫瘤細胞表面上高表現，且在少數正常上皮組織，諸如結腸中之柱狀上皮及杯狀細胞、胃中之黏液頸細胞以及食道及子宮頸中之鱗狀上皮細胞中弱表現(Hammarström等人, 2002, 「Tumor markers, Physiology, Pathobiology,

Technology and Clinical Applications」Diamandis E. P.等人編, AACC Press, Washington 第375頁)。因此, CEACAM5可構成適合於腫瘤特異性靶向方法(諸如免疫接合物)之治療標靶。本發明提供針對CEACAM5之單株抗體, 且顯示其可接合至細胞毒性劑以誘導細胞毒性活性, 能夠在活體外殺死腫瘤細胞且在活體內誘導腫瘤消退。

【0004】 CEACAM家族成員之細胞外結構域由重複免疫球蛋白樣(Ig樣)結構域組成, 根據序列同源性分為3種類型: A、B及N。CEACAM5含有七個此類結構域, 亦即, N、A1、B1、A2、B2、A3及B3。

【0005】 一方面CEACAM5 A1、A2及A3結構域且另一方面B1、B2及B3結構域顯示高度序列同源性, 人類CEACAM5之A結構域呈現84%至87%成對序列相似度, 且B結構域呈現69%至80%。此外, 在其結構中呈現A及/或B結構域之其他人類CEACAM成員, 亦即, CEACAM1、CEACAM6、CEACAM7及CEACAM8, 與人類CEACAM5顯示同源性。特別地, 人類CEACAM6蛋白質之A及B結構域分別與人類CEACAM5之A1及A3結構域以及B1至B3結構域中之任一者展現序列同源性, 甚至高於人類CEACAM5之A結構域及B結構域中所觀測之序列同源性。

【0006】 典型地經由連接子將細胞毒性劑附接至抗體來設計抗體藥物接合物(ADC), 需要考慮多種因素, 包括藥物上是否存在用於附接至連接子之接合柄及用於以條件穩定之方式將藥物附接至抗體之連接子技術。因此, 靶向CEACAM5之癌症療法之一種策略為產生包含與細胞毒性藥物接合的結合至CEACAM5之抗體的ADC。

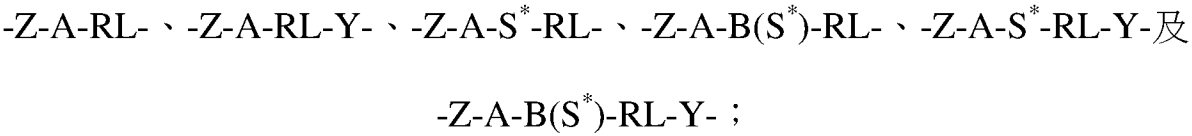
【發明內容】

【0007】 在一些態樣中，本文提供一種結合至CEACAM5之抗體-藥物接合物，其具有式L-(Q-D)_p，或其鹽，其中：

L為包含結合至CEACAM5之抗體或其抗原結合片段之配位體單元；

下標p為1至16範圍內之整數；

Q為具有選自由以下組成之群之式的連接子單元：



其中Z為延伸體單元；

A為一鍵結或連接體單元；

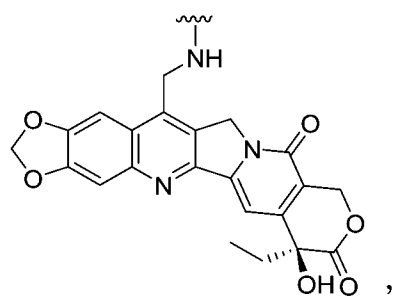
B為並聯連接體單元；

S^{*}為分隔劑；

RL為糖苷單元；

Y為間隔體單元；且

D為具有下式之藥物單元：



其中波形線指示與Q共價連接之位點。

【0008】 在一些態樣中，本文提供一種結合至CEACAM5之抗體-藥物接合物，其具有式L-(Q-D)_p，或其鹽，其中

L為包含結合至CEACAM5之抗體或其抗原結合片段之配位體單元，該抗體或其抗原結合片段包含

包含SEQ ID NO:7所示之胺基酸序列之可變重鏈結構域(VH)的CDR1-H、CDR2-H及CDR3-H，及

包含SEQ ID NO:8所示之胺基酸序列之可變輕鏈結構域(VL)的CDR1-L、CDR2-L及CDR3-L；

下標p為1至16範圍內之整數；

Q為連接子單元；

且D為藥物單元，其中該藥物單元為拓樸異構酶I抑制劑。

【0009】 在一些實施例中，抗體或其抗原結合片段包含

包含SEQ ID NO:7所示之胺基酸序列之可變重鏈結構域(VH)的CDR1-H、CDR2-H及CDR3-H，及

包含SEQ ID NO:8所示之胺基酸序列之可變輕鏈結構域(VL)的CDR1-L、CDR2-L及CDR3-L。

【0010】 在前述抗體-藥物接合物或其鹽之一些實施例中，抗體或其抗原結合片段包含與SEQ ID NO: 7之胺基酸序列具有至少80%、85%、90%、95%或99%胺基酸序列一致性的可變重鏈結構域(VH)，且其中可變輕鏈結構域(VL)與SEQ ID NO: 8之胺基酸序列具有至少80%、85%、90%、95%或99%胺基酸序列一致性。

【0011】 在一些實施例中，本文提供一種抗體-藥物接合物或其鹽，其中抗體或其抗原結合片段包含

包含SEQ ID NO:1所示之胺基酸序列的CDR1-H；

- 包含SEQ ID NO:2所示之胺基酸序列的CDR2-H；
- 包含SEQ ID NO:3所示之胺基酸序列的CDR3-H；
- 包含SEQ ID NO:4所示之胺基酸序列的CDR1-L；
- 包含胺基酸序列NTR之CDR2-L；及
- 包含SEQ ID NO:6所示之胺基酸序列的CDR3-L。

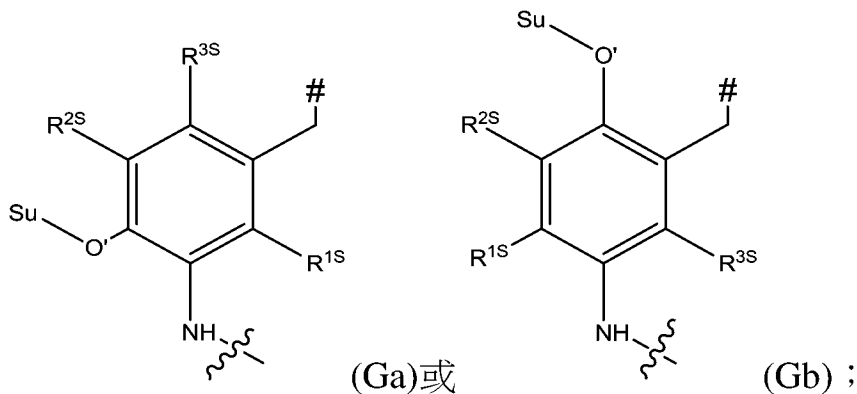
【0012】 在一些實施例中，本文提供一種抗體-藥物接合物或其鹽，其中抗體或其抗原結合片段包含與SEQ ID NO:9所示之胺基酸序列具有至少80%、85%、90%、95%或99%胺基酸序列一致性的重鏈，及與SEQ ID NO:10所示之胺基酸序列具有至少80%、85%、90%、95%或99%胺基酸序列一致性的輕鏈。

【0013】 在一些實施例中，本文提供一種抗體-藥物接合物或其鹽，其中抗體或其抗原結合片段為嵌合的或人源化的。

【0014】 在一些實施例中，本文提供一種抗體-藥物接合物或其鹽，其中抗體或抗原結合片段係選自由Fv、Fab、F(ab')₂、Fab'、dsFv、(dsFv)₂、scFv、sc (Fv)₂及雙功能抗體組成之群。

【0015】 在一些實施例中，Q為具有式-Z-A-RL-之連接子單元。在一些實施例中，RL為葡萄糖醛酸苷單元。

【0016】 在一些實施例中，RL為具有下式之葡萄糖醛酸苷單元：



其中

Su為糖部分；

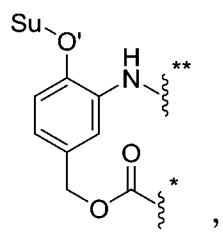
-O'-為氧糖苷鍵；

R^{1S} 、 R^{2S} 及 R^{3S} 獨立地為氫、鹵素、-CN、-NO₂或其他拉電子基團、或推電子基團；

波形線指示直接地或間接地經由A或B或A及B連接至Z；且

#指示直接地或間接地經由介入官能基或其他部分連接至D或Y。

【0017】 在一些實施例中，RL為具有下式之葡萄糖醛酸苷單元：



其中

Su為糖部分；

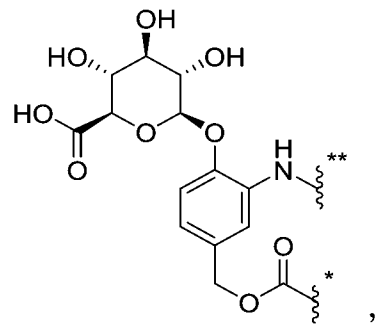
O'代表能夠由糖苷酶裂解之糖苷鍵之氧原子；

標有單星號(*)之波形線指示與D共價連接之位點；且

標有雙星號(**)-之波形線指示與Q之其餘部分共價連接之位點。

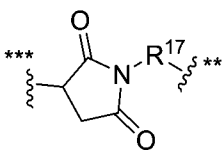
【0018】 在一些實施例中，Su為單醣之己醣形式。

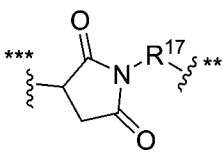
【0019】 在一些實施例中，葡萄糖醛酸苷單元具有下式：



其中標有單星號(*)之波形線指示與D共價連接之位點；且標有雙星號(**)之波形線指示與Q之其餘部分共價連接之位點。

【0020】 在一些實施例中，Z包含丁二醯亞胺基-烷醯基部分，視情況具有水解形式之丁二醯亞胺環作為丁二酸醯胺部分。



【0021】 在一些實施例中，Z為 ，視情況具有水解形式之丁二醯亞胺環作為丁二酸醯胺部分，其中：

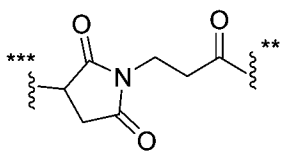
標有雙星號(**)之波形線指示與Q之其餘部分共價連接之位點；

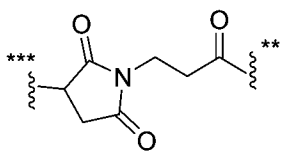
標有三星號(***)之波形線指示與L之硫原子共價連接之點；且

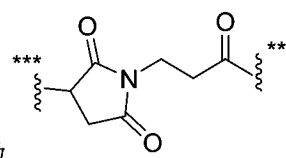
R¹⁷為-C₁-C₁₀伸烷基-、C₁-C₁₀伸雜烷基-、-C₃-C₈碳環-、-O-(C₁-C₈伸烷基)-、-伸芳基-、-C₁-C₁₀伸烷基-伸芳基-、-伸芳基-C₁-C₁₀伸烷基-、-C₁-C₁₀伸烷基-(C₃-C₈碳環)-、-(C₃-C₈碳環)-C₁-C₁₀伸烷基-、-C₃-C₈雜環-、-C₁-C₁₀伸烷基-(C₃-C₈雜環)-、-(C₃-C₈雜環)-C₁-C₁₀伸烷基-、-C₁-C₁₀伸烷基-C(=O)-、C₁-C₁₀伸雜烷基-C(=O)-、-C₃-C₈碳環-C(=O)-、-O-(C₁-C₈伸烷基)-C(=O)-、-伸芳基-C(=O)-、-C₁-C₁₀伸烷基-伸芳基-C(=O)-、-伸芳基-C₁-C₁₀伸烷基-C(=O)-、-C₁-C₁₀伸烷基-(C₃-C₈碳環)-C(=O)-、-(C₃-C₈碳環)-C₁-C₁₀伸烷基-C(=O)-、-C₃-C₈雜環-C(=O)-、-C₁-C₁₀伸烷基-(C₃-C₈雜環)-C(=O)-、-(C₃-C₈雜環)-C₁-C₁₀伸烷基-C(=O)-、-C₁-C₁₀伸烷基-NH-、-C₁-C₁₀伸雜烷基-NH-、-C₃-C₈碳環-NH-、-O-(C₁-C₈伸烷基)-NH-、-伸芳基-NH-、-C₁-C₁₀伸烷基-伸芳基-NH-、-伸芳基-C₁-C₁₀伸烷基-NH-、-C₁-C₁₀伸烷基-(C₃-C₈碳環)-NH-、-(C₃-C₈碳環)-C₁-C₁₀伸烷基-NH-、-C₃-C₈雜環-NH-、-C₁-C₁₀伸烷基-(C₃-C₈雜環)-NH-、-(C₃-C₈雜環)-C₁-C₁₀伸烷基-NH-、-C₁-C₁₀伸烷基-S-、C₁-C₁₀伸雜烷基-S-、-C₃-C₈碳環-S-、-O-(C₁-C₈伸烷基)-S-、-伸芳基-S-、-C₁-C₁₀伸烷基-

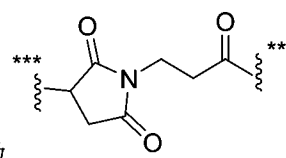
伸芳基-S-、-伸芳基-C₁-C₁₀伸烷基-S-、-C₁-C₁₀伸烷基-(C₃-C₈碳環)-S-、-(C₃-C₈碳環)-C₁-C₁₀伸烷基-S-、-C₃-C₈雜環-S-、-C₁-C₁₀伸烷基-(C₃-C₈雜環)-S-或-(C₃-C₈雜環)-C₁-C₁₀伸烷基-S-。

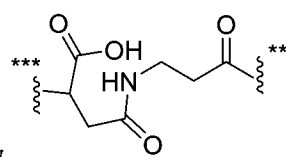
【0022】 在一些實施例中，R¹⁷為-(CH₂)₂₋₅-C(=O)-。

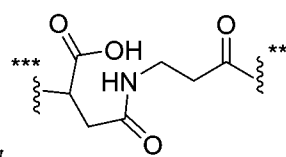


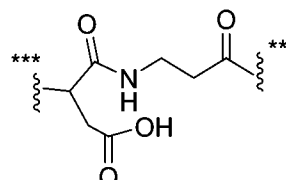
【0023】 在一些實施例中，Z為 ，視情況具有水解形式之丁二醯亞胺環作為丁二酸醯胺部分，其中標有雙星號(**)之波形線指示與Q之其餘部分共價連接之位點；且標有三星號(***)之波形線指示與L之硫原子共價連接之位點。

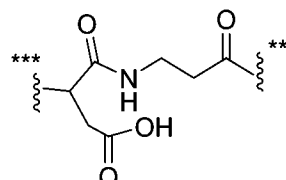


【0024】 在一些實施例中，Z為 ，其中標有雙星號(**)之波形線指示與Q之其餘部分共價連接之位點；且標有三星號(***)之波形線指示與L之硫原子共價連接之位點。



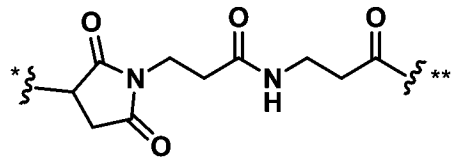
【0025】 在一些實施例中，Z為 ，其中標有雙星號(**)之波形線指示與Q之其餘部分共價連接之位點；且標有三星號(***)之波形線指示與L之硫原子共價連接之位點。



【0026】 在一些實施例中，Z為 ，其中標有雙星號(**)之波形線指示與Q之其餘部分共價連接之位點；且標有三星號(***)之波形線指示與L之硫原子共價連接之位點。

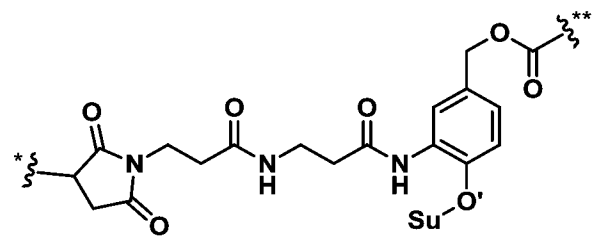
其中標有雙星號(**)之波形線指示與RL共價連接之位點；且標有單星號(*)之波形線指示與Z共價連接之點。

【0030】 在一些實施例中，-Z-A-具有下式：



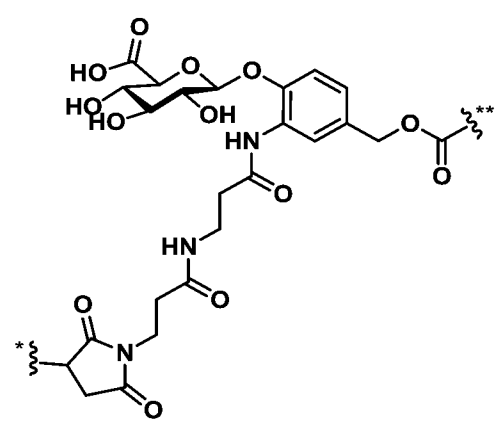
其中標有雙星號(**)之波形線指示與RL共價連接之位點；且標有單星號(*)之波形線指示與L共價連接之點。

【0031】 在一些實施例中，-Z-A-RL-具有下式：



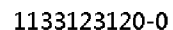
其中Su為單醣之己醣形式；O'代表能夠由糖苷酶裂解之糖苷鍵之氧原子；標有雙星號(**)之波形線指示與D共價連接之位點；且標有單星號(*)之波形線指示與L共價連接之點。

【0032】 在一些實施例中，-Z-A-RL-具有下式：



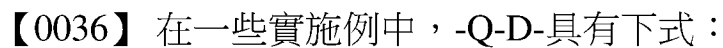
其中標有雙星號(**)之波形線指示與D共價連接之位點；且標有單星號(*)之波形線指示與L共價連接之點。

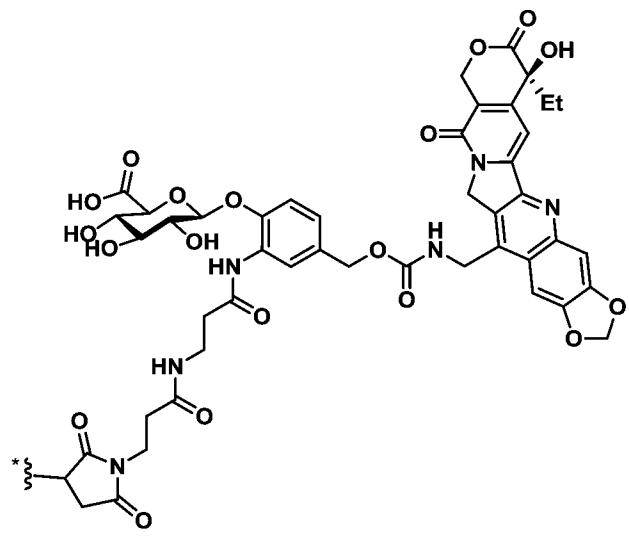
表單編號 A0202



其中標有單星號(*)之波形線指示與Z共價連接之點。

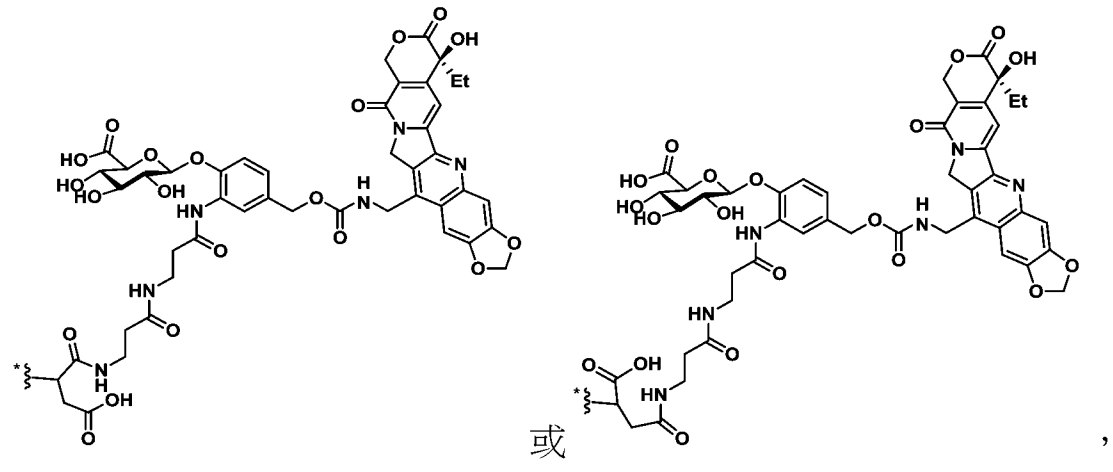
【0035】 在一些實施例中，S*為PEG基團。





其中標有單星號(*)之波形線指示與L共價連接之點。

【0037】 在一些實施例中，-Q-D-具有下式：



其中標有單星號(*)之波形線指示與L共價連接之點。

【0038】 在一些實施例中，藥物單元為拓撲異構酶I抑制劑。

【0039】 在可與上文或下文所述之實施例中之任一者組合之一些實施例中，本文提供一種抗體-藥物接合物或其鹽，其包含1至10之藥物單元與抗體比率(DAR)。

【0040】 在一些實施例中，DAR為約4或約8。

【0041】 在一些實施例中，p為約1至約10之整數。

【0042】 在一些實施例中，p為約4或約8之整數。

【0043】 在一些實施例中，連接子單元在半胱胺酸胺基酸殘基處連接至抗體或抗原結合片段。在一些實施例中，半胱胺酸為天然半胱胺酸。在一些實施例中，半胱胺酸位於抗體或其抗原結合片段之鉸鏈區中。在一些實施例中，抗體或其抗原結合片段經半胱胺酸工程改造。

【0044】 在一些態樣中，本文提供一種醫藥組合物，該醫藥組合物包含本文所述之抗體-藥物接合物或其鹽，及醫藥學上可接受之載劑。

【0045】 在一些態樣中，本文提供一種治療個體之癌症的方法，該方法包括向該個體投予本文所述之抗體-藥物接合物或其鹽或醫藥組合物。

【0046】 在一些態樣中，本文提供本文所述之抗體-藥物接合物或其鹽或醫藥組合物，其係用於治療癌症。

【0047】 在一些實施例中，癌症為實體腫瘤。

【0048】 在一些實施例中，癌症係選自由結腸直腸癌、神經內分泌癌、胃癌、肺癌、子宮癌、子宮頸癌、胰臟癌、食道癌、卵巢癌、甲狀腺癌、膀胱癌、子宮內膜癌、膀胱癌、子宮內膜癌、乳癌、肝癌、前列腺癌、胃癌、膽管癌及皮膚癌組成之群。

【0049】 在一些實施例中，癌症係選自由結腸直腸癌、胃癌(stomach cancer)、胃癌(gastric cancer)、胃食道結合部癌、肺癌、子宮癌、子宮頸癌、胰臟癌、食道癌、卵巢癌、甲狀腺癌、膀胱癌、子宮內膜癌、膀胱癌、神經內分泌癌、子宮內膜癌、乳癌、肝癌、前列腺癌及膽管癌及皮膚癌組成之群。在一些實施例中，肺癌包括非小細胞肺癌(NSCLC)、非鱗狀NSCLC (nsq-NSCLC)、鱗狀NSCLC (sq-NSCLC)或小細胞肺癌(SCLC)，或其任何組合。在一些實施例中，胰臟癌包括胰臟導管腺癌(PDAC)。

【0050】 在一些實施例中，癌症係選自由結腸直腸癌、肺癌、胃癌及胰臟癌組成之群。

【0051】 在一些實施例中，癌症係選自由結腸直腸癌、肺癌、胃癌、胃食道結合部癌、神經內分泌癌及胰臟癌組成之群。

【0052】 在一些實施例中，癌症為結腸直腸癌、NSCLC、SCLC、胃癌、胃食道結合部癌及胰臟導管腺癌。

【0053】 在一些實施例中，癌症為原發性的、轉移性的或癌病。

【0054】 在一些實施例中，腫瘤細胞表現高水準之CEACAM5。在一些實施例中，如藉由免疫組織化學所量測，腫瘤樣品中至少50%之腫瘤細胞評分大於2+強度。

【0055】 在一些實施例中，腫瘤表現中等水準之CEACAM5。在一些實施例中，如藉由免疫組織化學所量測，腫瘤樣品中至少1%且少於50%之腫瘤細胞評分 $\geq$ 2+強度；或者如藉由免疫組織化學所量測，腫瘤樣品中至少50%之腫瘤細胞評分為1+強度。

【0056】 在一些實施例中，腫瘤表現任何水準之CEACAM5。在一些實施例中，觀測到CEACAM5之反應性，但不認為CEACAM5表現水準為中等的或高的。

【0057】 在一些實施例中，抗體-藥物接合物或其鹽不會在個體中誘導顯著水準之毒性。

【0058】 在一些實施例中，抗體-藥物接合物或其鹽在投予後引起腫瘤體積減小。

【0059】 在一些態樣中，本文提供一種套組，該套組包含本文所述之抗體-藥物接合物或其鹽或醫藥組合物。

【圖式簡單說明】

【0060】

圖1A及圖1B分別顯示在pH 7.2及pH 6.6下DAR為8之ADC1與HEK293細胞之細胞表面處表現之huFcRn的活體外結合能力。

圖2顯示ADC1針對SCID雌性小鼠中源自CRC患者之異種移植腫瘤CR-IGR-0002P之抗腫瘤活性(例如，腫瘤體積減小)的評估。曲線代表每組每天之中值+或- MAD。黑色箭頭指示治療天數(單次投予)。

圖3顯示ADC1針對SCID雌性小鼠中源自CRC患者之異種移植腫瘤CR-IGR-0007P之抗腫瘤活性(例如，腫瘤體積減小)的評估。曲線代表每組每天之中值+或- MAD。黑色箭頭指示治療天數(單次投予)。

圖4顯示ADC1針對SCID雌性小鼠中源自CRC患者之異種移植腫瘤CR-IGR-0048M之抗腫瘤活性(例如，腫瘤體積減小)的評估。曲線代表每組每天之中值+或- MAD。黑色箭頭指示治療天數(單次投予)。

圖5顯示ADC1針對SCID雌性小鼠中源自CRC患者之異種移植腫瘤CR-IC-0016M之抗腫瘤活性(例如，腫瘤體積減小)的評估。曲線代表每組每天之中值+或- MAD。黑色箭頭指示治療天數(單次投予)。

圖6顯示ADC1針對SCID雌性小鼠中源自肺患者之異種移植腫瘤LUN-NIC-0014之抗腫瘤活性(例如，腫瘤體積減小)的評估。曲線代表每組每天之中值+或- MAD。黑色箭頭指示治療天數(單次投予)。

圖7顯示ADC1針對SCID雌性小鼠中源自肺患者之異種移植腫瘤

LUN-NIC-0084之抗腫瘤活性(例如，腫瘤體積減小)的評估。曲線代表每組每天之中值+或- MAD。黑色箭頭指示治療天數(單次投予)。

圖8顯示ADC1針對SCID雌性小鼠中源自肺患者之異種移植腫瘤

LUN-NIC-0004之抗腫瘤活性(例如，腫瘤體積減小)的評估。曲線代表每組每天之中值+或- MAD。黑色箭頭指示治療天數(單次投予)。

圖9顯示ADC1針對SCID雌性小鼠中源自肺患者之異種移植腫瘤

LUN-NIC-0008之抗腫瘤活性(例如，腫瘤體積減小)的評估。曲線代表每組每天之中值+或- MAD。黑色箭頭指示治療天數(單次投予)。

圖10顯示ADC1針對SCID雌性小鼠中源自胃患者之異種移植腫瘤

STO-IND-0006之抗腫瘤活性(例如，腫瘤體積減小)的評估。曲線代表每組每天之中值+或- MAD。黑色箭頭指示治療天數(單次投予)。

圖11顯示ADC1針對SCID雌性小鼠中源自胃患者之異種移植腫瘤

SA-STO-0014之抗腫瘤活性(例如，腫瘤體積減小)的評估。曲線代表每組每天之中值+或- MAD。黑色箭頭指示治療天數(單次投予)。

圖12顯示ADC1針對SCID雌性小鼠中源自胃患者之異種移植腫瘤

STO-IND-0007之抗腫瘤活性(例如，腫瘤體積減小)的評估。曲線代表每組每天之中值+或- MAD。黑色箭頭指示治療天數(單次投予)。

圖13顯示在單小鼠試驗-最佳相對腫瘤收縮下ADC1在一組16個源自結腸患者之異種移植模型中之抗腫瘤活性的評估。瀑布圖描繪最佳相對腫瘤縮小或對ADC1之最佳反應。PDX模型依照對ADC1之敏感度增加進行排序。

圖14顯示在單小鼠試驗形式下ADC1在一組19個源自胃患者之異種移植模型中之活體內功效的評估。瀑布圖描繪最佳相對腫瘤縮小或對ADC1之最佳反應。PDX模型依照對ADC1之敏感度增加進行排序。

圖15顯示在單小鼠試驗形式下ADC1在一組31個源自肺患者之異種移植模型中之活體內功效的評估。瀑布圖描繪最佳相對腫瘤縮小或對ADC1之最佳反應。PDX模型依照對ADC1之敏感度增加進行排序。

圖16顯示ADC1針對皮下植入雌性SCID小鼠中之源自胰臟患者之異種移植腫瘤IM-PAN-011 (轉移性PDAC)之活體內功效的評估。治療組之腫瘤體積演變。曲線代表每組每天之中值+或- MAD。黑色箭頭指示治療天數(單次投予)。

圖17顯示ADC1針對皮下植入雌性SCID小鼠中之源自胰臟患者之異種移植腫瘤SA-PAN-0077 (PDAC)之活體內功效的評估。治療組之腫瘤體積演變。曲線代表每組每天之中值+或- MAD。黑色箭頭指示治療天數(單次投予)。

圖18顯示ADC1針對皮下植入雌性SCID小鼠中之源自胰臟患者之異種移植腫瘤IM-PAN-0006 (PDAC)之活體內功效的評估。治療組之腫瘤體積演變。曲線代表每組每天之中值+或- MAD。黑色箭頭指示治療天數(單次投予)。

圖19顯示ADC1針對皮下植入雌性SCID小鼠中之源自胰臟患者之異種移植腫瘤IM-PAN-003 (PDAC)之活體內功效的評估。治療組之腫瘤體積演變。曲線代表每組每天之中值+或- MAD。黑色箭頭指示治療天數(單次投予)。

圖20顯示以3 mg/kg向SCID小鼠單次靜脈內投予DAR為8之ADC1後血漿中之總CD PK及DAR概況。

【實施方式】

相關申請案之交叉引用

【0061】 本申請案主張2022年11月17日申請之美國臨時專利申請案第63/384,214號、2022年12月2日申請之歐洲專利申請案第22306780.2號及2023年11月7日申請之美國臨時專利申請案第63/596,943號之優先權，該等專利申請案之揭示內容藉此以全文引用之方式併入本文中。

電子序列表之引用

【0062】 電子序列表(761682009943seqlist.xml；大小：12,724個位元組；及創建日期：2023年11月15日)之內容以全文引用之方式併入本文中。

【0063】 在一些實施例中，本文提供抗體藥物接合物(ADC)，該等抗體藥物接合物包含與拓撲異構酶I抑制劑接合的結合至CEACAM5之抗體或其抗原結合片段。在一些實施例中，ADC包含與喜樹鹼接合的結合至CEACAM5之抗體或其抗原結合片段。在一些實施例中，有利地，ADC以奈莫耳濃度結合至CEACAM5且以亞奈莫耳濃度殺死不同CEACAM5陽性CRC細胞，且對CEACAM5陰性細胞具有低毒性。不希望受理論束縛，本文所提供之ADC之細胞毒性可由其在表現CEACAM5之腫瘤細胞中之內化、加工及細胞毒性釋放來介導。另外或替代地，細胞毒性可由旁觀者效應介導，允許細胞毒性劑擴散至鄰近CEACAM5陰性腫瘤細胞，從而殺死細胞。在一些實施例中，旁觀者效應允許有效負荷自抗原陽性腫瘤細胞擴散至相鄰抗原陰性腫瘤細胞，從而殺死細胞。在一些實施例中，本發明ADC具有良好耐受性且具有顯著抗腫瘤活性，特別在結腸直腸癌(CRC)細胞模型中。在一些實施例中，本發明ADC具有良好耐受性且具有顯著抗腫瘤活性，特別在結腸直腸癌(CRC)、胃癌(GC)、胃食道結合部癌(GEJ)、肺癌及胰臟癌腫

瘤模型中。在一些實施例中，拓撲異構酶I有效負荷針對效力、減少之P-gp流出及增強之旁觀者活性進行最佳化。

【0064】 本文所用之章節標題僅用於組織目的且不應解釋為限制所述主題。

【0065】 本文描述或引用之技術及程序一般為熟習此項技術者充分理解的且通常使用習知方法來採用，諸如以下文獻中所述之廣泛利用之方法：

Sambrook等人, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* 第4版 (2012) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor N.Y. ; *Current Protocols In Molecular Biology* (F. M. Ausubel等人編, (2003)) ; *METHODS IN ENZYMOLOGY*叢書 (Academic Press, Inc.) ; *PCR 2: A Practical Approach* (M. J. MacPherson, B. D. Hames及G. R. Taylor編 (1995)) ; Greenfield編, (2013) *Antibodies, A Laboratory Manual*, 第2版, Cold Spring Harbor Laboratory Press; *Oligonucleotide Synthesis* (M. J. Gait編, 1984) ; *Methods in Molecular Biology*, Humana Press; *Cell Biology: A Laboratory Notebook* (J. E. Cellis編, 1998) Academic Press ; *Animal Cell Culture* (R. I. Freshney編, 1987) ; *Introduction to Cell and Tissue Culture* (J. P. Mather及P. E. Roberts, 1998) Plenum Press ; *Cell and Tissue Culture Laboratory Procedures* (A. Doyle, J. B. Griffiths及D. G. Newell編, 1993-8) J. Wiley and Sons ; *Handbook of Experimental Immunology* (D. M. Weir及C. C. Blackwell編) ; *Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells* (J. M. Miller及M. P. Calos編, 1987) ; *PCR: The Polymerase chain Reaction*, (Mullis等人編, 1994) ; *Current Protocols in Immunology* (J. E. Coligan等人編, 1991) ; *Short Protocols in Molecular Biology* (Wiley and Sons, 1999) ; *Immunobiology* (C. A. Janeway及P. Travers, 1997) ; *Antibodies* (P. Finch, 1997) ;

Antibodies: A Practical Approach (D. Catty.編, IRL Press, 1988-1989) ; Monoclonal Antibodies: A Practical Approach (P. Shepherd及C. Dean編, Oxford University Press, 2000) ; Using Antibodies: A Laboratory Manual (E. Harlow及D. Lane (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1999) ; The Antibodies (M. Zanetti及J. D. Capra編, Harwood Academic Publishers, 1995) ; Cancer: Principles and Practice of Oncology (V. T. DeVita等人編, J.B. Lippincott Company, 1993) ; 及其更新版本。本段之前述參考文獻中之每一篇皆以全文引用之方式併入本文中。

I. 定義

【0066】 除非另有定義，否則本文所用之所有技術及科學術語皆具有與一般熟習本揭示案所屬技術者通常所理解之含義相同的含義。舉例而言，Concise Dictionary of Biomedicine and Molecular Biology, Juo, Pei-Show, 第2版, 2002, CRC Press ; The Dictionary of Cell and Molecular Biology, 第5版, 2013, Academic Press ; 及Oxford Dictionary Of Biochemistry And Molecular Biology, 第2版, 2006, Oxford University Press為技術人員提供本揭示案中所用之許多術語之通用辭典。

【0067】 除非上下文另有要求或明確指示，否則單數術語應包括複數且複數術語應包括單數。

【0068】 應理解，本文所述發明之態樣及實施例包括「包含態樣及實施例」、「由其組成」及「基本上由其組成」。

【0069】 如本文所用，除非另有指示，否則應理解單數形式「一個」、「一種」及「該」係指任何敘述或列舉之組分中之「一或多者」。

【0070】 本文所用之術語「及/或」應視為兩個指定特徵或組分中之每一者與或不與另一者之特定揭示。因此，如本文中諸如「A及/或B」之片語中所用之

術語「及/或」意欲包括「A及B」、「A或B」、「A」(單獨)及「B」(單獨)。同樣地，如諸如「A、B及/或C」之片語中所用之術語「及/或」意欲涵蓋以下態樣中之每一者：A、B及C；A、B或C；A或C；A或B；B或C；A及C；A及B；B及C；A(單獨)；B(單獨)；及C(單獨)。

【0071】術語「約」係指在由一般熟習此項技術者確定之特定值或組成之可接受誤差範圍內之值或組成，此將部分地取決於如何量測或確定該值或組成，亦即，量測系統之限制。如熟習此項技術者應理解，本文中提及「約」某一值或參數包括(且描述)針對彼值或參數本身之實施例。舉例而言，提及「約X」之描述包括「X」之描述。

【0072】當本文中使用的商標名時，除非上下文另有指示，否則提及商標名亦係指商標名產品之產品配方、學名藥及活性醫藥成分。

【0073】術語CEACAM5癌胚抗原相關細胞黏附分子5及CD66e在本文中可互換使用，且除非另有說明，否則包括人類CEACAM5之任何天然存在之變異體(例如，剪接變異體、等位基因變異體)、同功型及脊椎動物物種同源物。該術語涵蓋「全長」未加工之CEACAM5以及細胞內加工產生之任何形式之CEACAM5。例示性人類CEACAM5之胺基酸序列在GenBank資料庫中以寄存編號AAA51967.1提供。成熟人類CEACAM5蛋白質之一個特定實例之胺基酸序列如SEQ ID NO:11所示。

【0074】「抗體」可為天然或習知抗體，其中兩條重鏈由二硫鍵彼此連接且每條重鏈由二硫鍵與輕鏈連接。存在兩種類型之輕鏈： λ (l)及 κ (k)。存在五種決定抗體分子功能活性之主要重鏈類別(或同型)：IgM、IgD、IgG、IgA及IgE。每條鏈含有不同序列結構域。輕鏈包括兩個結構域或區域：可變結構域(VL)及

恆定結構域(CL)。重鏈包括四個結構域：一個可變結構域(VH)及三個恆定結構域(CH1、CH2及CH3，統稱作CH)。輕鏈(VL)及重鏈(VH)之可變區決定對抗原之結合識別及特異性。輕鏈(CL)及重鏈(CH)之恆定區結構域賦予重要生物特性，諸如抗體鏈締合、分泌、跨胎盤遷移性、補體結合及與Fc受體(FcR)之結合。Fv片段為免疫球蛋白Fab片段之N端部分且由一條輕鏈及一條重鏈之可變部分組成。抗體之特異性在於抗體組合位點與抗原決定子之間的結構互補性。抗體組合位點由主要來自高變區或互補決定區(CDR)之殘基組成。有時，來自非高變區或構架區(FR)之殘基會影響整體結構域結構且因此影響組合位點。因此，互補決定區或CDR係指共同限定原生免疫球蛋白結合位點之天然Fv區之結合親和力及特異性的胺基酸序列。免疫球蛋白之輕鏈及重鏈各自具有三個CDR，分別指定為CDR1-L、CDR2-L、CDR3-L及CDR1-H、CDR2-H、CDR3-H。因此，習知抗體抗原結合位點包括六個CDR，包含來自重鏈及輕鏈V區中之每一者的CDR組。

【0075】「構架區」(FR)係指插入CDR之間的胺基酸序列，亦即，在單一物種之不同免疫球蛋白中相對保守之免疫球蛋白輕鏈及重鏈可變區的彼等部分。免疫球蛋白之輕鏈及重鏈各自具有四個FR，分別指定為FR1-L、FR2-L、FR3-L、FR4-L及FR1-H、FR2-H、FR3-H、FR4-H。

【0076】如本文所用，「人類構架區」為與天然存在之人類抗體之構架區實質上一致(約85%或更高，例如，90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)之構架區。

【0077】在本發明之上下文中，免疫球蛋白輕鏈或重鏈中之CDR/FR定義將基於IMGT定義來決定(Lefranc等人 Dev. Comp. Immunol., 2003, 27(1):55-77；www.imgt.org)。

【0078】如本文所用，術語「抗體」表示習知抗體及其片段，以及單結構域抗體及其片段，特別為單結構域抗體之可變重鏈，及嵌合、人源化、雙特異性或多特異性抗體

【0079】如本文所用，術語「單株抗體」或「mAb」係指針對特異性抗原之具有單一胺基酸序列之抗體分子，且不應解釋為需要藉由任何特定方法產生抗體。單株抗體可由B細胞或融合瘤之單一殖株產生，但亦可為重組的，亦即，藉由蛋白質工程改造產生。

【0080】術語「嵌合抗體」係指工程改造之抗體，在其最廣泛意義上含有來自一種抗體之一或多個區域及來自一或多種其他抗體之一或多個區域。在一個實施例中，嵌合抗體包含來源於非人類動物之抗體的VH結構域及VL結構域，與另一種抗體(在一個實施例中，人類抗體)之CH結構域及CL結構域締合。作為非人類動物，可使用任何動物，諸如小鼠、大鼠、倉鼠、兔或類似動物。嵌合抗體亦可表示對至少兩個不同抗原具有特異性之多特異性抗體。

【0081】術語「人源化抗體」係指完全或部分非人類來源且已進行修飾以置換例如VH及VL結構域之構架區中之某些胺基酸，以避免或最大限度地減少人類之免疫反應的抗體。在大多數情況下，人源化抗體之恆定結構域為人類CH及CL結構域。

【0082】(習知)抗體之「片段」包含完整抗體之一部分，特別為完整抗體之抗原結合區或可變區。抗體片段之實例包括Fv、Fab、F(ab')₂、Fab'、dsFv、(dsFv)₂、scFv、sc(Fv)₂、雙功能抗體、由抗體片段形成之雙特異性及多特異性抗體。習知抗體之片段亦可為單結構域抗體，諸如重鏈抗體或VHH。

【0083】術語「Fab」表示分子量為約50,000且具有抗原結合活性之抗體片段，其中重鏈N端側約一半與整個輕鏈經二硫鍵結合在一起。其通常在片段中藉由用蛋白酶，亦即木瓜蛋白酶處理IgG而獲得。

【0084】術語「F(ab')₂」係指分子量為約100,000且具有抗原結合活性之抗體片段，其略大於經由鉸鏈區之二硫鍵結合之2個相同Fab片段。其通常在片段中藉由用蛋白酶，亦即胃蛋白酶處理IgG而獲得。

【0085】術語「Fab'」係指分子量為約50,000且具有抗原結合活性之抗體片段，其係藉由切割F(ab')₂之鉸鏈區之二硫鍵而獲得。

【0086】單鏈Fv (「scFv」)多肽為共價連接之VH::VL異二聚體，其通常由包括經肽編碼連接子連接之VH及VL編碼基因之基因融合體表現。本發明之人類scFv片段包括例如藉由使用基因重組技術保持適當構形之CDR。二價及多價抗體片段可藉由單價scFv締合自發形成，或可藉由經肽連接子偶合單價scFv而產生，諸如二價sc(Fv)₂。「dsFv」為由二硫鍵穩定之VH::VL異二聚體。「(dsFv)₂」表示由肽連接子偶合之兩個dsFv。

【0087】術語「雙特異性抗體」或「BsAb」表示將兩個抗體之抗原結合位點在單一分子內組合之抗體。因此，BsAb能夠同時結合兩個不同抗原。基因工程改造已愈加頻繁地用於設計、修飾及產生具有一組所需結合特性及效應功能之抗體或抗體衍生物，如例如EP 2 050 764 A1中所述。

【0088】術語「多特異性抗體」表示將兩個或更多個抗體之抗原結合位點在單一分子內組合之抗體。

【0089】術語「雙功能抗體」係指具有兩個抗原結合位點之小抗體片段，該等片段包含在同一多肽鏈中連接至輕鏈可變結構域(VL)之重鏈可變結構域

(VH) (VH-VL)。藉由使用過短而無法在同一鏈之兩個結構域之間配對的連接子，迫使該等結構域與另一條鏈之互補結構域配對且創建兩個抗原結合位點。

【0090】術語「融合瘤」表示藉由將用抗原對非人類哺乳動物免疫而製備之B細胞與來源於小鼠或類似動物之骨髓瘤細胞進行細胞融合而獲得之細胞，此產生具有抗原特異性之所需單株抗體。

【0091】當提及多肽(亦即，本發明之抗體)或核苷酸序列時，「經純化」及「經分離」意謂所指示之分子在實質上不存在相同類型之其他生物巨分子之情況下存在。如本文所用，術語「經純化」意謂存在按重量計至少75%、85%、95%、96%、97%或98%之相同類型之生物巨分子。編碼特定多肽之「經分離」核酸分子係指實質上不含不編碼主題多肽之其他核酸分子的核酸分子；然而，分子可包括一些不會有害地影響組合物之基本特徵之額外鹼基或部分。

【0092】術語「多肽」及「蛋白質」可互換使用以指代胺基酸殘基之聚合物且不限於最小長度。胺基酸殘基之此類聚合物可含有天然或非天然胺基酸殘基，且包括但不限於胺基酸殘基之二聚體、三聚體、肽、寡肽及多聚體。該定義涵蓋全長蛋白質及其片段兩者。該等術語亦包括多肽之表現後修飾，例如，糖基化、唾液酸化、乙醯化、磷酸化及類似修飾。術語「多肽」亦係指包括原生序列之修飾，諸如缺失、添加及取代(本質上一般為保守的)之蛋白質，只要蛋白質維持所需活性即可。術語「多肽」及「蛋白質」涵蓋CEACAM5抗原結合蛋白，包括抗體、抗體片段或具有抗原結合蛋白之一或多個胺基酸之缺失、添加及/或取代的序列。

【0093】「原生序列」或「天然存在」多肽包括具有與自然界中發現之多肽相同之胺基酸序列的多肽。因此，原生序列多肽可具有來自任何哺乳動物之

天然存在之多肽的胺基酸序列。此種原生序列多肽可自自然界中分離或可藉由重組或合成手段產生。術語「原生序列」多肽特定涵蓋多肽之天然存在之截短或分泌形式(例如，細胞外結構域序列)、多肽之天然存在之變異體形式(例如，可變剪接形式)及天然存在之等位基因變異體。

【0094】 多肽「變異體」意指在對序列進行比對且必要時引入空位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的情況下，與原生或參考序列多肽具有至少約70%、80%或90%胺基酸序列一致性的生物活性多肽(例如，抗原結合蛋白或抗體)。此類變異體包括例如在多肽之N端或C端添加或缺失一或多個胺基酸殘基之多肽。在一些實施例中，變異體將具有至少約80%胺基酸序列一致性。在一些實施例中，變異體將具有至少約90%胺基酸序列一致性。在一些實施例中，變異體與原生序列多肽將具有至少約95%胺基酸序列一致性。

【0095】 如本文所用，關於肽、多肽或抗原結合蛋白(例如，抗體)序列之「胺基酸序列一致性百分比(%)」及「同源性」定義為在對序列進行比對且必要時引入空位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的情況下，候選序列中與特定肽或多肽序列中之胺基酸殘基一致之胺基酸殘基的百分比。出於確定胺基酸序列一致性百分比之目的，比對可依此項技術之技能範圍內之各種方式來達成，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，包括在所比較序列之全長範圍內達成最大比對所需要之任何演算法。舉例而言，給定胺基酸序列A相對於、與或針對

給定胺基酸序列B之序列一致性% (其可替代地表述為給定胺基酸序列A相對於、與或針對給定胺基酸序列B具有或包含一定序列一致性%)計算如下：

$$100 \times \text{分數} X/Y$$

其中X為在A與B之彼程式比對中由序列評定為一致性匹配之胺基酸殘基的數目，且其中Y為B中之胺基酸殘基之總數。除非另有特定說明，否則本文所用之所有胺基酸序列一致性%值係根據此式使用ALIGN-2電腦程式來計算。應理解，在胺基酸序列A之長度不等於胺基酸序列B之長度的情況下，A相對於B之序列一致性%將不等於B相對於A之序列一致性%。

【0096】術語「前導序列」係指位於多肽N端之胺基酸殘基之序列，其促進多肽自哺乳動物細胞之分泌。前導序列可在自哺乳動物細胞輸出多肽後裂解，形成成熟蛋白質。前導序列可為天然的或合成的，且可與其所附接之蛋白質異源或同源。

【0097】術語「免疫球蛋白」係指一類結構上相關之醣蛋白，該等醣蛋白由兩對多肽鏈、一對低分子量輕(L)鏈及一對重(H)鏈組成，所有四對鏈由二硫鍵互連。免疫球蛋白之結構已充分表徵。參見例如Fundamental Immunology (Paul, W.編, 第7版 Raven Press, N.Y. (2013))。簡言之，每條重鏈典型地包含重鏈可變區(本文中縮寫為V_H或VH)及重鏈恆定區(C_H或CH)。重鏈恆定區典型地包含三個結構域：C_H1、C_H2及C_H3。重鏈一般經由所謂的「鉸鏈區」中之二硫鍵互連。每條輕鏈典型地包含輕鏈可變區(本文中縮寫為V_L或VL)及輕鏈恆定區(C_L或CL)。輕鏈恆定區典型地包含一個結構域C_L。CL可為κ或λ同型。術語「恆定結構域」及「恆定區」在本文中可互換使用。免疫球蛋白可來源於任何通常已知之同型，包括但不限於IgA、分泌性IgA、IgG及IgM。IgG亞類亦為熟習此項技術者所熟

知，且包括但不限於人類IgG1、IgG2、IgG3及IgG4。「同型」係指由重鏈恆定區基因編碼之抗體類別或亞類(例如，IgM或IgG1)。

表1

環	IMGT	Kabat	AbM	Chothia	Contact
CDR-H1	27-38	31-35	26-35	26-32	30-35
CDR-H2	56-65	50-65	50-58	52-56	47-58
CDR-H3	105-117	95-102	95-102	95-102	93-101
CDR-L1	27-38	24-34	24-34	24-34	30-36
CDR-L2	56-65	50-56	50-56	50-56	46-55
CDR-L3	105-117	89-97	89-97	89-97	89-96

【0098】 除非另有說明，否則術語給定抗體或其區域(諸如可變區)之「CDR」及「互補決定區」，以及該抗體或其區域之個別CDR (例如，「CDR-H1、CDR-H2」)，應理解為涵蓋如上文所述之任何已知方案所定義之互補決定區。在一些情況下，指定用於鑑定一或多種特定CDR，諸如IMGT、Kabat、AbM、Chothia或Contact方法所定義之CDR的方案。在其他情況下，給出CDR之特定胺基酸序列。

【0099】 因此，在一些實施例中，抗原結合蛋白包含如IMGT系統所定義之CDR及/或HVR。在其他實施例中，抗原結合蛋白包含如Kabat系統所定義之CDR或HVR。在其他實施例中，抗原結合蛋白包含如AbM系統所定義之CDR或HVR。在進一步實施例中，抗原結合蛋白包含如Chothia系統所定義之CDR或HVR。在其他實施例中，抗原結合蛋白包含如IMGT系統所定義之CDR或HVR。

【0100】 術語「可變區」或「可變結構域」係指抗原結合蛋白(例如，抗體)重鏈或輕鏈中參與該抗原結合蛋白(例如，抗體)與抗原之結合的結構域。抗原結合蛋白(諸如抗體)之重鏈及輕鏈(分別為VH及VL)之可變區或結構域可進一步細

分為高變異性區域(或高變區，其可在結構確定之環的序列及/或形式上為高變的)，諸如互補決定區(CDR)，間插有更加保守之區域(稱為構架區(FR))。

【0101】如本文所用，術語「重鏈恆定區」係指包含至少三個重鏈恆定結構域 C_{H1} 、 C_{H2} 及 C_{H3} 之區域。非限制性例示性重鏈恆定區包括 γ 、 δ 及 α 。非限制性例示性重鏈恆定區亦包括 ϵ 及 μ 。各重鏈恆定區對應於抗體同型。舉例而言，包含 γ 恆定區之抗體為IgG抗體，包含 δ 恆定區之抗體為IgD抗體，且包含 α 恆定區之抗體為IgA抗體。此外，包含 μ 恆定區之抗體為IgM抗體，且包含 ϵ 恆定區之抗體為IgE抗體。某些同型可進一步細分為亞類。舉例而言，IgG抗體包括但不限於IgG1 (包含 γ_1 恆定區)、IgG2 (包含 γ_2 恆定區)、IgG3 (包含 γ_3 恆定區)及IgG4 (包含 γ_4 恆定區)抗體；IgA抗體包括但不限於IgA1 (包含 α_1 恆定區)及IgA2 (包含 α_2 恆定區)抗體；且IgM抗體包括但不限於IgM1及IgM2。

【0102】如本文所用，術語「重鏈」(HC)係指至少包含重鏈可變區且含有或不含前導序列之多肽。在一些實施例中，重鏈包含重鏈恆定區之至少一部分。如本文所用，術語「全長重鏈」係指包含重鏈可變區及重鏈恆定區且含有或不含前導序列之多肽。

【0103】如本文所用，術語「輕鏈恆定區」係指包含輕鏈恆定結構域 C_L 之區域。非限制性例示性輕鏈恆定區包括 λ 及 κ 。

【0104】如本文所用，術語「輕鏈」(LC)係指至少包含輕鏈可變區且含有或不含前導序列之多肽。在一些實施例中，輕鏈包含輕鏈恆定區之至少一部分。如本文所用，術語「全長輕鏈」係指包含輕鏈可變區及輕鏈恆定區且含有或不含前導序列之多肽。

【0105】 當提及免疫球蛋白重鏈恆定區中之殘基時，一般使用「EU編號系統」或「EU索引」(例如，Kabat等人, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 第5版 Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md., 1991中報導之EU索引)。「Kabat中之EU索引」係指人類IgG1 EU抗體之殘基編號。除非本文另有說明，否則提及抗體恆定結構域中之殘基編號意指藉由EU編號系統進行之殘基編號。

【0106】 術語「衍生物」係指包括除胺基酸(或核酸)之插入、缺失或取代以外之化學修飾的分子(例如，抗原結合蛋白，諸如抗體或其片段)。在某些實施例中，衍生物包含共價修飾，包括但不限於與聚合物、脂質或其他有機或無機部分之化學鍵結。在某些實施例中，特定抗原結合蛋白之衍生物可具有比未經化學修飾之抗原結合蛋白更長之循環半衰期。在某些實施例中，衍生物可具有改良之針對所需細胞、組織及/或器官之靶向能力。在一些實施例中，抗原結合蛋白之衍生物經共價修飾以包括一或多種聚合物，包括但不限於單甲氧基-聚乙二醇、葡聚糖、纖維素或其他基於碳水化合物之聚合物、聚(N-乙基吡咯啉酮)-聚乙二醇、丙二醇均聚物、聚氧化丙烯/氧化乙烯共聚物、聚氧乙基化多元醇(例如，甘油)及聚乙醇醇，以及此類聚合物之混合物。參見例如美國專利第4,640,835號、第4,496,689號、第4,301,144號、第4,670,417號、第4,791,192號及第4,179,337號。

【0107】 如本文所用，術語「抗原決定基」係指抗原(例如，CEACAM5)上之位點，靶向彼抗原之抗原結合蛋白(例如，抗體或其片段)結合至該位點。抗原決定基通常由分子之化學活性表面基團，諸如胺基酸、多肽、糖側鏈、磷醯基或磺醯基組成，且具有特定三維結構特徵以及特定電荷特徵。抗原決定基可

由藉由三級折疊並置之抗原的連續或非連續胺基酸形成。由連續殘基形成之抗原決定基典型地在暴露於變性溶劑時保留，而由三重折疊形成之抗原決定基典型地在用變性溶劑處理時損失。在某些實施例中，抗原決定基可包括但不限於獨特空間排列中之至少3個、至少4個、至少5個、至少6個、至少7個胺基酸。在一些實施例中，抗原決定基係指獨特空間構形中之3-5個、4-6個或8-10個胺基酸。在進一步實施例中，抗原決定基之長度小於20個胺基酸、小於15個胺基酸或小於12個胺基酸、小於10個胺基酸或小於8個胺基酸。抗原決定基可包含直接參與結合之胺基酸殘基(亦稱為抗原決定基之免疫顯性組分)及不直接參與結合之其他胺基酸殘基，包括由抗原結合分子有效阻斷或覆蓋之胺基酸殘基(亦即，胺基酸在抗原結合分子之足跡內)。確定抗原決定基空間構形之方法包括例如x射線晶體學、二維核磁共振及HDX-MS (參見例如Epitope Mapping Protocols, *Methods in Molecular Biology*, 第66卷, G.E. Morris編, (1996))。一旦確定抗原之所需抗原決定基，即可使用已確立之技術產生針對彼抗原決定基之抗原結合蛋白(例如，抗體或其片段)。接著可能在競爭檢定中篩選所得抗原結合蛋白以鑑定結合相同或重疊抗原決定基之抗原結合蛋白。基於交叉競爭研究對抗體進行分類之方法描述於WO 03/48731中。

【0108】 「非線性抗原決定基」或「構形抗原決定基」包含抗原蛋白內對抗原決定基具有特異性之抗體所結合之非連續多肽、胺基酸及/或糖。

【0109】 「線性抗原決定基」包含抗原蛋白內對抗原決定基具有特異性之抗原結合蛋白(例如，抗體或其片段)所結合之連續多肽、胺基酸及/或糖。

【0110】「互補位」或「抗原結合位點」為抗原結合蛋白(例如，抗體或其片段)上結合抗原決定基之位點，且典型地包括一旦結合抗體即接近抗原決定基之胺基酸(參見例如Sela-Culang等人, 2013, *Front Immunol.* 4:302)。

【0111】「親和力」係指分子(例如，抗體)之單一結合位點與其結合搭配物(例如，抗原)之間的非共價相互作用之總和強度。分子X對其搭配物Y之親和力一般可由解離常數(K_d)表示。親和力可藉由此項技術中已知之常用方法，包括本文所述之彼等方法來量測。

【0112】如本文所用，在抗原結合蛋白與其標靶抗原結合之情形中，術語「特異性結合」、「結合(binding)」或簡稱「結合(bind)」或其他相關術語意謂抗原結合蛋白基本上展現與非標靶分子之背景結合。然而，特異性結合標靶抗原(例如，CEACAM5)之抗原結合蛋白可與來自不同物種之CEACAM5蛋白質交叉反應。典型地，如經由表面電漿共振(SPR)技術(例如，BIAcore, GE-Healthcare Uppsala, Sweden)使用抗體作為配位體及抗原作為分析物所量測，當解離常數(K_D)為 10^{-7} M或更小，諸如約 10^{-8} M或更小，諸如約 10^{-9} M或更小、約 10^{-10} M或更小、或約 10^{-11} M或甚至更小時，CEACAM5抗原結合蛋白特異性結合人類CEACAM5。

【0113】如本文所用，術語「 K_D 」(M)係指特定抗原結合蛋白-抗原相互作用(例如，抗體-抗原相互作用)之解離平衡常數。如本文所用，親和力與 K_D 反向相關，使得較高親和力意欲指較低 K_D ，且較低親和力意欲指較高 K_D 。

【0114】「抗體-藥物接合物」或簡稱「ADC」係指接合至細胞毒性劑，諸如拓撲異構酶I抑制劑之抗體。抗體-藥物接合物典型地結合至細胞表面上之標

靶抗原(例如，CEACAM5)，繼而該抗體-藥物接合物內化至細胞中，藥物在該細胞中釋放。

【0115】「細胞毒性作用」係指標靶細胞之耗盡、消除及/或殺死。

【0116】「細胞毒性劑」係指對細胞具有細胞毒性作用之劑。

【0117】「細胞抑制作用」係指對細胞增殖之抑制。

【0118】「細胞抑制劑」係指對細胞具有細胞抑制作用，從而抑制特定細胞子組之生長及/或擴增之劑。細胞抑制劑可接合至抗體，或與抗體組合投予。

【0119】「Fc受體」或「FcR」描述結合至抗體Fc區之受體。在一些實施例中，FcγR為原生人類FcR。在一些實施例中，FcR為結合IgG抗體(γ受體)且包括FcγRI、FcγRII及FcγRIII亞類之受體，包括彼等受體之等位基因變異體及可變剪接形式的FcR。FcγRII受體包括FcγRIIA(「活化受體」)及FcγRIIB(「抑制受體」)，其具有類似胺基酸序列，主要區別在於其細胞質結構域。活化受體FcγRIIA在其細胞質結構域中含有基於免疫受體酪胺酸之活化模體(ITAM)。抑制受體FcγRIIB在其細胞質結構域中含有基於免疫受體酪胺酸之抑制模體(ITIM)。(參見例如Daeron, *Annu. Rev. Immunol.* 15:203-234 (1997))。FcR綜述於例如Ravetch及Kinet, *Annu. Rev. Immunol.* 9:457-92 (1991)；Capel等人, *Immunomethods* 4:25-34 (1994)；及de Haas等人, *J. Lab. Clin. Med.* 126:330-41 (1995)中。其他FcR，包括將來鑑定之彼等，由本文中之術語「FcR」涵蓋。術語「Fc受體」或「FcR」亦包括新生兒受體FcRn，其負責將母體IgG轉移至胎兒(Guyer等人, *J. Immunol.* 117:587 (1976)及Kim等人, *J. Immunol.* 24:249 (1994))及調控免疫球蛋白穩態。量測與FcRn之結合的方法為已知的(參見例如Ghetie及Ward., *Immunol. Today* 18(12):592-598 (1997)；Ghetie等人, *Nature Biotechnology*, 15(7):637-640 (1997)；

Hinton等人, *J. Biol. Chem.* 279(8):6213-6216 (2004) ; WO 2004/92219 (Hinton等人)。

【0120】「效應功能」係指可歸因於抗體Fc區之生物活性，其隨抗體同型而變化。抗體效應功能之實例包括：Clq結合及補體依賴性細胞毒性(CDC)；Fc受體結合；抗體依賴性細胞介導之細胞毒性(ADCC)；抗體依賴性細胞吞噬作用(ADCP)；細胞表面受體(例如，B細胞受體)下調；及B細胞活化。可藉由例如Fc效應結構域與具有吞噬或溶解活性之免疫細胞上之Fc受體之結合或藉由Fc效應結構域與補體系統之組分的結合來影響此類功能。典型地，由Fc結合細胞或補體組分介導之作用引起CD33靶向細胞之抑制及/或耗盡。抗體之Fc區可募集Fc受體(FcR)表現細胞且將其與抗體包覆之標靶細胞並置。表現IgG之表面FcR (包括FcγRIII (CD16)、FcγRII (CD32)及FcγRIII (CD64))之細胞可充當效應細胞來破壞IgG包覆之細胞。此類效應細胞包括單核細胞、巨噬細胞、天然殺手(NK)細胞、嗜中性球及嗜酸性球。IgG對FcγR之結合會活化抗體依賴性細胞毒性(ADCC)或抗體依賴性細胞吞噬作用(ADCP)。ADCC由CD16⁺效應細胞經由膜成孔蛋白及蛋白酶之分泌介導，而吞噬作用由CD32⁺及CD64⁺效應細胞介導(參見例如 *Fundamental Immunology*, 第4版, Paul編, Lippincott-Raven, N.Y., 1997, 第3、17及30章；Uchida等人, 2004, *J. Exp. Med.* 199:1659-69；Akewanlop等人, 2001, *Cancer Res.* 61:4061-65；Watanabe等人, 1999, *Breast Cancer Res. Treat.* 53:199-207)。

【0121】「人類效應細胞」為表現一或多種FcR且執行效應功能之白血球。在某些實施例中，細胞至少表現FcγRIII且執行ADCC效應功能。介導ADCC之人類白血球之實例包括外周血單核細胞(PBMC)、天然殺手(NK)細胞、單核細

胞、細胞毒性T細胞及嗜中性球。效應細胞可自原生來源分離，例如，自血液中分離。

【0122】「抗體依賴性細胞介導之細胞毒性」或「ADCC」係指細胞毒性機制，其中結合至標靶細胞之細胞表面上之抗原的抗體之Fc區與存在於某些細胞毒性效應細胞(例如，NK細胞、嗜中性球及巨噬細胞)上之Fc受體(FcR)相互作用。此相互作用使此等細胞毒性效應細胞隨後用細胞毒素殺死標靶細胞。用於介導ADCC之主要細胞NK細胞僅表現FcγRIII，而單核細胞表現FcγRI、FcγRII及FcγRIII。造血細胞上之FcR表現匯總於Ravetch及Kinet, *Annu. Rev. Immunol* 9:457-92 (1991)之第464頁之表3中。為評價所關注分子之ADCC活性，可進行活體外ADCC檢定，諸如美國專利第5,500,362號或第5,821,337號或美國專利第6,737,056號(Presta)中所述之檢定。可用於此類檢定之效應細胞包括PBMC及NK細胞。可在活體內評價所關注分子之ADCC活性，例如，在動物模型中，諸如Clynes等人*Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)* 95:652-656 (1998)中所揭示之動物模型中。具有改變之Fc區胺基酸序列(具有變異型Fc區之多肽)及增加或降低之ADCC活性的額外多肽變異體描述於例如美國專利第7,923,538號及美國專利第7,994,290號中。

【0123】「補體依賴性細胞毒性」或「CDC」係指在補體存在下溶解標靶細胞。經典補體路徑之活化係藉由補體系統之第一組分(C1q)與抗體(適當亞類)之Fc區的結合而起始，該等抗體結合至標靶細胞上之其同源抗原。此結合會活化一系列酶促反應，最終導致標靶細胞膜中形成孔且隨後導致細胞死亡。補體活化亦可導致補體組分沈積於標靶細胞表面上，該等補體組分藉由結合白血球上之補體受體(例如，CR3)促進ADCC。為評價補體活化，可進行CDC檢定，例

如，如Gazzano-Santoro等人, *J. Immunol. Methods* 202:163 (1996)中所述。具有改變之Fc區胺基酸序列(具有變異型Fc區之多肽，諸如抗體)及增加或降低之C1q結合能力的多肽變異體描述於例如美國專利第6,194,551 B1號、美國專利第7,923,538號、美國專利第7,994,290號及WO 1999/51642中。亦參見例如Idusogie等人, *J. Immunol.* 164: 4178-4184 (2000)。

【0124】術語「抗體依賴性細胞吞噬作用」或簡稱「ADCP」係指抗體包覆之細胞完全或部分地由結合至Ig之Fc區的吞噬性免疫細胞(例如，巨噬細胞、嗜中性球及樹突狀細胞)內化之過程。

【0125】術語「核酸分子」、「核酸」及「多核苷酸」在本文中可互換使用，且係指任何長度之核苷酸之聚合物。此類核苷酸聚合物可含有天然及/或非天然核苷酸，且包括但不限於DNA、RNA及PNA。「核酸序列」係指構成核酸分子或多核苷酸之核苷酸線性序列。

【0126】術語「載體」意指用於將核酸分子轉移至宿主細胞中之任何分子或實體(例如，核酸、質體、噬菌體或病毒)。載體典型地包括經工程改造以含有編碼可在宿主細胞中增殖之一或多種所關注多肽之一或多種經選殖多核苷酸的核酸分子。載體之實例包括但不限於質體、病毒載體及表現載體，例如，重組表現載體。載體可包括以下元件中之一或多者：複製起點、一或多個調控所關注多肽之表現的調控序列(諸如啟動子及/或增強子)及/或一或多個可選擇標誌基因。該術語包括作為自複製核酸分子之載體以及併入其所引入之宿主細胞之基因體中之載體。

【0127】術語「表現載體」係指適合於宿主細胞轉化且可用於在宿主細胞中表現所關注多肽之載體。

【0128】術語「宿主細胞」或「宿主細胞株」在本文中可互換使用，且係指可作為或已作為載體或經分離多核苷酸之接受體的細胞或細胞群。宿主細胞可為原核細胞或真核細胞。例示性真核細胞包括哺乳動物細胞，諸如靈長類動物或非靈長類動物細胞；真菌細胞，諸如酵母；植物細胞；及昆蟲細胞。非限制性例示性哺乳動物細胞包括但不限於NSO細胞、PER.C6[®]細胞(Crucell)以及293及CHO細胞，及其衍生物，分別諸如293-6E及DG44細胞。此類術語不僅指原始細胞，而且指此種細胞之子代。歸因於例如突變或環境影響，某些修飾可能會在後代中發生。只要細胞具有與原始細胞相同之功能或生物活性，此種子代亦涵蓋於該等術語內。

【0129】術語「控制序列」係指可影響與其連接之編碼序列之表現及加工的多核苷酸序列。此類控制序列之性質可取決於宿主生物體。在特定實施例中，原核生物之控制序列可包括啟動子、核糖體結合位點及轉錄終止序列。真核生物之控制序列可包括例如包含一個或複數個轉錄因子識別位點之啟動子、轉錄增強子序列及轉錄終止序列。「控制序列」可包括前導序列及/或融合搭配序列。

【0130】如本文所用，「可操作地連接」係指該術語所應用之組分處於允許其在適合之條件下執行其固有功能之關係。舉例而言，將載體中與蛋白質編碼序列「可操作地連接」之控制序列連接至其，使得在與控制序列之轉錄活性相容之條件下達成蛋白質編碼序列之表現。在兩個編碼序列可操作地連接之情況下，該片語意謂兩個DNA片段或編碼序列經連接，使得由兩個片段編碼之胺基酸序列保持同框。

【0131】術語「轉染」意指細胞攝取外來或外源DNA，且當外源DNA已引入細胞膜內時，該細胞經「轉染」。許多轉染技術在此項技術中為熟知的且揭

示於本文中。參見例如Graham等人, 1973, Virology 52:456 ; Sambrook等人, 2001, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 同上 ; Davis等人, 1986, Basic Methods in Molecular Biology, Elsevier ; Chu等人, 1981, Gene 13:197。此類技術可用於將一或多個外源DNA部分引入適合之宿主細胞中。

【0132】術語「轉化」係指細胞遺傳特徵之改變，且當細胞經修飾以含有新DNA或RNA時，該細胞經轉化。舉例而言，在藉由轉染、轉導或其他技術引入新遺傳物質對細胞自其原生狀態進行遺傳修飾之情況下，該細胞經轉化。轉染或轉染後，轉化DNA可藉由物理整合至細胞染色體中而與細胞之DNA重組，或可作為遊離元件(episomal element)暫時維持而不會複製，或可作為質體獨立複製。當轉化DNA隨細胞分裂而複製時，細胞應視為經「穩定轉化」。

【0133】如本文所用，術語「經分離」係指已與至少一些典型地在自然界中發現或所產生之組分分離之分子。舉例而言，當多肽與產生其之細胞中之至少一些組分分離時，該多肽稱作「經分離」。在多肽由細胞在表現後分泌之情況下，將含有該多肽之上清液與產生其之細胞物理分離應視為「分離」該多肽。類似地，當多核苷酸不為典型地在自然界中發現其之較大多核苷酸(諸如在DNA多核苷酸之情況下為基因體DNA或粒線體DNA)中之一部分，或與產生該多核苷酸之細胞中之至少一些組分(例如，在RNA多核苷酸之情況下)分離時，該多核苷酸稱作「經分離」。因此，宿主細胞內部之載體中所含之DNA多核苷酸可稱作「經分離」。

【0134】術語「個體(individual/subject)」或患者在本文中可互換使用以指動物，例如，哺乳動物。在一些實施例中，提供治療哺乳動物之方法，包括但不限於人類、嚙齒動物、猿、貓、犬、馬、牛、豬、綿羊、山羊、哺乳類實驗

室動物、哺乳類農場動物、哺乳類運動動物及哺乳類寵物。在一些情況下，「個體(individual/subject)」為人類。在一些實例中，「個體(individual/subject)」係指需要治療疾病或病症之個體(individual/subject) (例如，人類)。

【0135】 如本文所用，「疾病」或「病症」係指需要治療之疾患，諸如癌症。

【0136】 如本文所用，「癌症」及「腫瘤」為可互換之術語，其係指動物中任何異常之細胞或組織生長或增殖。實體腫瘤為組織之異常生長或腫塊，其通常不含囊腫或液體區域。此類癌症之更特定之非限制性實例包括神經內分泌癌、結腸直腸癌、胃癌、肺癌、子宮癌、子宮頸癌、胰臟癌、食道癌、卵巢癌、甲狀腺癌、膀胱癌、子宮內膜癌、膀胱癌、子宮內膜癌、乳癌、肝癌、前列腺癌、胃癌及膽管癌及皮膚癌。

【0137】 術語「轉移性癌症」及「轉移性疾病」意指已自起源部位擴散至身體之另一部分，例如擴散至區域淋巴結或遠端部位之癌症。

【0138】 如本文所用，「治療」為用於獲得有益或所需臨床結果之方法。如本文所用，「治療」涵蓋哺乳動物(包括人類)疾病之治療劑的任何投予或應用。有益或所需臨床結果包括但不限於以下任何一或多者：緩和一或多種症狀、減輕疾病程度、預防或延遲疾病擴散(例如轉移，例如轉移至肺或轉移至淋巴結)、預防或延遲疾病復發、延遲或減緩疾病進展、改善疾病狀態、抑制疾病或疾病進展、抑制或減緩疾病或其進展、遏止其發展、及緩解(部分抑或完全)。「治療」亦涵蓋減少增生性疾病之病理結果。

【0139】 在癌症之情形中，術語「治療」包括以下任一者或全部：抑制癌細胞生長、抑制癌細胞複製、減少癌細胞數目、降低癌細胞浸潤至外周器官之

速率、降低腫瘤轉移之速率或程度、減輕整體腫瘤負擔及改善一或多種與癌症相關之症狀。

【0140】 如本文所用，「參考」係指用於比較目的之任何樣品、標準或水準。參考可自健康及/或未患病之樣品獲得。在一些實例中，參考可自未治療之樣品獲得。在一些實例中，參考係自個體之未患病或未治療之樣品獲得。在一些實例中，參考係自並非個體或患者之一或多個健康個體獲得。

【0141】 如本文所用，「抑制」功能或活性為當與除所關注之條件或參數外其他方面相同之條件相比時，或者與另一種條件相比，降低該功能或活性。舉例而言，與不存在抑制腫瘤生長之抗體之情況下的腫瘤生長速率相比，該抗體降低腫瘤之生長速率。

【0142】 藥物或治療劑之「有效量」或「治療有效量」或「治療有效劑量」為當單獨使用或與另一種治療劑組合使用時提供治療作用之藥物或劑的任何量，該治療作用諸如保護個體免於疾病發作或促進疾病消退，如疾病症狀之嚴重程度降低、無疾病症狀期之頻率及持續時間增加、或預防因疾病折磨所致之損傷或殘疾所證明。

【0143】 「投予」或「投藥」係指使用熟習此項技術者已知之各種方法及遞送系統中之任一者將治療劑物理引入個體中。例示性投藥途徑包括靜脈內、肌肉內、皮下、腹膜內、脊髓或其他非經腸投藥途徑，例如，藉由注射或輸注(例如，靜脈內輸注)。投藥亦可進行例如一次、複數次及/或在一或多個延長之時段內進行。

【0144】 術語「化學治療劑」係指有效抑制腫瘤生長之所有化合物。化學治療劑之非限制性實例包括烷化劑(例如，氮芥、乙烯亞胺化合物及烷基磺酸

鹽)；抗代謝物(例如，葉酸、嘌呤或嘧啶拮抗劑)；有絲分裂抑制劑(例如，抗微管蛋白劑，諸如長春花生物鹼、奧瑞他汀(auristatin)及鬼臼毒素(podophyllotoxin)衍生物)；細胞毒性抗生素；破壞或干擾DNA表現或複製之化合物(例如，DNA小溝結合劑)；及生長因子受體拮抗劑，及細胞毒性劑或細胞抑制劑。

【0145】術語「醫藥調配物」及「醫藥組合物」係指呈允許活性成分之生物活性有效且不含對將投予調配物之個體具有不可接受之毒性之額外組分之形式的製劑。此類調配物可為無菌的。

【0146】「醫藥學上可接受之載劑」係指此項技術中習知之與治療劑一起使用之無毒固體、半固體、或液體填充劑、稀釋劑、囊封材料、調配助劑、或載劑，其一起構成用於向個體投予之「醫藥組合物」。醫藥學上可接受之載劑在所採用之劑量及濃度下對接受者無毒且與調配物之其他成分相容。醫藥學上可接受之載劑適於所採用之調配物。

【0147】如本文所用，片語「醫藥學上可接受之鹽」係指本發明化合物之醫藥學上可接受之有機或無機鹽。例示性鹽包括但不限於硫酸鹽、檸檬酸鹽、乙酸鹽、草酸鹽、氯化物、溴化物、碘化物、硝酸鹽、硫酸氫鹽、磷酸鹽、酸性磷酸鹽、異菸鹼酸鹽、乳酸鹽、水楊酸鹽、酸性檸檬酸鹽、酒石酸鹽、油酸鹽、鞣酸鹽、泛酸鹽、酒石酸氫鹽、抗壞血酸鹽、丁二酸鹽、順丁烯二酸鹽、龍膽酸鹽、反丁烯二酸鹽、葡萄糖酸鹽、葡萄糖醛酸鹽、蔗糖酸鹽、甲酸鹽、苯甲酸鹽、麩胺酸鹽、甲烷磺酸鹽「甲磺酸鹽」、乙烷磺酸鹽、苯磺酸鹽、對甲苯磺酸鹽、雙羥萘酸鹽(亦即，4,4'-亞甲基-雙(2-羥基-3-萘甲酸鹽))、鹼金屬(例如，鈉及鉀)鹽、鹼土金屬(例如，鎂)鹽及銨鹽。醫藥學上可接受之鹽可涉及包括另一種分子，諸如乙酸根離子、丁二酸根離子或其他相對離子。相對離子可

為穩定親本化合物上之電荷的任何有機或無機部分。此外，醫藥學上可接受之鹽在其結構中可具有多於一個帶電原子。多個帶電原子為醫藥學上可接受之鹽之一部分的情況可具有多個相對離子。因此，醫藥學上可接受之鹽可具有一或多個帶電原子及/或一或多個相對離子。

【0148】 「化合物」在本文中使用該術語時係指且涵蓋化合物本身(由結構命名或表示)，及其鹽形式(無論是否明確說明，除非上下文清楚表明欲排除此類鹽形式)。術語「化合物」進一步涵蓋該化合物之溶劑合物形式，其中溶劑與該化合物非共價締合或與該化合物可逆地共價締合，如當該化合物之羰基水合形成偕二醇時。溶劑合物形式包括化合物本身及其鹽形式之彼等，且包括半溶劑合物、單溶劑合物、二溶劑合物，包括水合物；且當化合物可與兩個或更多個溶劑分子締合時，該兩個或更多個溶劑分子可相同或不同。

【0149】 在一些情況下，本發明之化合物將包括明確提及之一或多種上述形式，例如，鹽及溶劑合物，此並不暗示該化合物之任何固態形式；然而，此提及僅用於強調，而不應視為排除上文所鑑定之任何其他形式。此外，當未明確提及化合物或配位體藥物接合物組合物之鹽及/或溶劑合物形式時，彼省略不應視為排除該化合物或接合物之鹽及/或溶劑合物形式，除非上下文清楚表明欲排除此種鹽及/或溶劑合物形式。

【0150】 醫藥學上可接受之鹽為適合於向如本文所述之個體投予之化合物之鹽形式，且在一些態樣中包括相對陽離子或相對陰離子，如P. H. Stahl及C. G. Wermuth編, Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection and Use, Weinheim/Zürich:Wiley-VCH/VHCA, 2002所述。

【0151】 連接子單元為將喜樹鹼連接至ADC中之配位體單元的雙功能部分。本發明之連接子單元具有若干組分(例如，在一些實施例中將具有鹼性單元之延伸體單元；可存在或不存在之連接體單元；亦可存在或不存在之並聯連接體單元；可釋放之連接子；及亦可存在或不存在之間隔體單元)。

【0152】 如本文所用，「PEG」、「PEG單元」或「聚乙二醇」為包含重複伸乙基-氧基次單元之有機部分且可為多分散、單分散或離散的(亦即，具有離散數目之伸乙基-氧基次單元)。多分散PEG為大小及分子量之異質混合物，而單分散PEG典型地自異質混合物中純化且因此提供單一鏈長及分子量。較佳PEG單元為離散PEG，以逐步方式而非經由聚合過程合成之化合物。離散PEG提供具有確定且指定鏈長之單一分子。

【0153】 本文所提供之PEG單元包含一或多個聚乙二醇鏈，各自包含一或多個彼此共價連接之伸乙基氧基次單元。聚乙二醇鏈可例如以線性、分支或星形組態連接在一起。典型地，在併入ADC中之前，至少一個聚乙二醇鏈在一端用經親電基團取代之烷基部分衍生化，以共價連接至亞甲基胺基甲酸酯單元之胺基甲酸酯氮(亦即，代表R之一個實例)。典型地，各聚乙二醇鏈中不參與共價連接至連接子單元之其餘部分的末端伸乙基氧基次單元經PEG封端單元(典型地為視情況經取代之烷基，諸如-CH₃、-CH₂CH₃或-CH₂CH₂CO₂H)修飾。較佳PEG單元具有單一聚乙二醇鏈，該鏈具有串聯共價連接之4至24個-CH₂CH₂O-次單元且在一端經PEG封端單元封端。

【0154】 除非另有指示，否則術語「烷基」本身或作為另一術語之一部分係指具有指示數目之碳原子的經取代或未經取代之直鏈或分支鏈、飽和或不飽和烴(例如，「-C₁-C₈烷基」或「-C₁-C₁₀」烷基分別係指具有1至8個或1至10個碳

原子之烷基)。當未指示碳原子數目時，烷基具有1至8個碳原子。代表性直鏈「-C₁-C₈烷基」基團包括但不限於-甲基、-乙基、-正丙基、-正丁基、-正戊基、-正己基、-正庚基及-正辛基；而分支鏈-C₃-C₈烷基包括但不限於-異丙基、-二級丁基、-異丁基、-三級丁基、-異戊基及-2-甲基丁基；不飽和-C₂-C₈烷基包括但不限於-乙烯基、-烯丙基、-1-丁烯基、-2-丁烯基、-異丁烯基、-1戊烯基、-2戊烯基、-3-甲基-1-丁烯基、-2-甲基-2-丁烯基、-2,3-二甲基-2-丁烯基、-1-己基、-2-己基、-3-己基、-乙炔基、-丙炔基、-1-丁炔基、-2-丁炔基、-1-戊炔基、-2-戊炔基及-3-甲基-1-丁炔基。有時，烷基未經取代。烷基可經一或多個基團取代。在其他態樣中，烷基將為飽和的。

【0155】 除非另有指示，否則「伸烷基」本身或作為另一術語之一部分係指規定數目之碳原子(典型地為1-10個碳原子)的經取代或未經取代之飽和、分支鏈或直鏈或環狀烴基，且具有藉由自親本烷烴之同一碳原子或兩個不同碳原子移除兩個氫原子而衍生之兩個單價基團中心。典型伸烷基包括但不限於：亞甲基(-CH₂-)、1,2-伸乙基(-CH₂CH₂-)、1,3-伸丙基(-CH₂CH₂CH₂-)、1,4-伸丁基(-CH₂CH₂CH₂CH₂-)及類似基團。在較佳態樣中，伸烷基為分支鏈或直鏈烴(亦即，其並非環狀烴)。

【0156】 除非另有指示，否則「芳基」本身或作為另一術語之一部分意指藉由自親本芳族環系統之單一碳原子移除一個氫原子而衍生之規定數目之碳原子(典型地為6-20個碳原子)的經取代或未經取代之單價碳環芳族烴基。一些芳基在例示性結構中表示為「Ar」。典型芳基包括但不限於自苯、經取代之苯、萘、蒽、聯苯及類似物衍生之基團。例示性芳基為苯基。

吡咯啉基、氮雜環丁烷基、哌啉基、嗎啉基、四氫呋喃基、四氫哌喃基、苯并呋喃基、苯并噻吩、吲哚基、苯并吡啶基、吡咯基、噻吩基(噻吩)、呋喃基、噻啉基、咪啉基、吡啶基、嘧啶基、吡嗪基、嗒嗪基、異噻啉基及異噻啉基。

【0161】 當明確給出時，雜環或雜芳基之環系統之大小由環中之原子總數指示。舉例而言，指定為5員或6員雜芳基指示雜芳基之雜芳族環系統中之芳族原子的總數(亦即，5或6)，但並不暗示彼環系統中之芳族雜原子或芳族碳之數目。稠合雜芳基因而由上下文明確說明或暗示，且典型地由各芳族環中稠合在一起以構成稠合雜芳族環系統之芳族原子之數目指示。舉例而言，5,6員雜芳基為與芳族6員環稠合之芳族5員環，其中一或兩個環具有芳族雜原子或者其中雜原子在兩個環之間共享。

【0162】 雜環與芳基或雜芳基稠合，使得雜環保持非芳族且經由與稠環系統之非芳族部分連接而成為較大結構之一部分，此為視情況經取代之雜環之實例，其中該雜環由與芳基或雜芳基稠合之環取代。同樣地，芳基或雜芳基與雜環或碳環稠合，經由與稠環系統之芳族部分連接而成為較大結構之一部分，此為視情況經取代之芳基或雜環之實例，其中該芳基或雜環由與雜環或碳環稠合之環取代。

【0163】 除非另有指示，否則「C₃-C₈雜環」本身或作為另一術語之一部分係指上文所定義之C₃-C₈雜環，其中雜環之一個氫原子經一鍵置換(亦即，其為二價的)。除非另有指示，否則「C₃-C₈伸雜芳基」本身或作為另一術語之一部分係指上文所定義之C₃-C₈雜芳基，其中雜芳基之一個氫原子經一鍵置換(亦即，其為二價的)。

【0164】 除非另有指示，否則「C₃-C₈碳環」本身或作為另一術語之一部分為藉由自親本環系統之環原子移除一個氫原子而衍生之3員、4員、5員、6員、7員或8員單價、經取代或未經取代之飽和或不飽和非芳族單環或雙環碳環。代表性-C₃-C₈碳環包括但不限於環丙基、環丁基、環戊基、環戊二烯基、環己基、環己烯基、1,3-環己二烯基、1,4-環己二烯基、環庚基、1,3-環庚二烯基、1,3,5-環庚三烯基、環辛基及環辛二烯基。

【0165】 除非另有指示，否則「C₃-C₈碳環」本身或作為另一術語之一部分係指上文所定義之C₃-C₈碳環基，其中碳環基之另一個氫原子經一鍵置換(亦即，其為二價的)。

【0166】 除非另有指示，否則術語「雜烷基」本身或與另一術語組合，意指(除非另有說明)穩定直鏈或分支鏈烴或其組合，完全飽和或含有1至3個不飽和度，由規定數目之碳原子及一至十個、較佳一至三個選自由O、N、Si及S組成之群的雜原子組成，且其中氮及硫原子可視情況經氧化且氮雜原子可視情況經四級化(quaternized)。雜原子O、N及S可位於雜烷基之任何內部位置，或烷基連接至分子其餘部分之位置。雜原子Si可位於雜烷基之任何位置，包括烷基連接至分子其餘部分之位置。

【0167】 實例包括-CH₂-CH₂-O-CH₃、-CH₂-CH₂-NH-CH₃、-CH₂-CH₂-N(CH₃)-CH₃、-CH₂-S-CH₂-CH₃、-CH₂-CH₂-S(O)-CH₃、-NH-CH₂-CH₂-NH-C(O)-CH₂-CH₃、-CH₂-CH₂-S(O)₂-CH₃、-CH=CH-O-CH₃、-Si(CH₃)₃、-CH₂-CH=N-O-CH₃及-CH=CH-N(CH₃)-CH₃。至多可連續有兩個雜原子，諸如-CH₂-NH-OCH₃及-CH₂-O-Si(CH₃)₃。典型地，C₁-C₄雜烷基或仲雜烷基具

有1至4個碳原子及1或2個雜原子，且C₁-C₃雜烷基或伸雜烷基具有1至3個碳原子及1或2個雜原子。在一些態樣中，雜烷基或伸雜烷基為飽和的。

【0168】除非另有指示，否則術語「伸雜烷基」本身或與另一術語組合，意指自雜烷基(如上文所論述)衍生之二價基團，如-CH₂-CH₂-S-CH₂-CH₂-及-CH₂-S-CH₂-CH₂-NH-CH₂-所例示。對於伸雜烷基，雜原子亦可佔據一或兩個鏈末端。更進一步，對於伸烷基及伸雜烷基連接基團，不暗示連接基團之取向。

【0169】除非另有指示，否則「胺基烷基」本身或與另一個術語組合意指雜烷基，其中如本文所定義之烷基部分經胺基、烷基胺基、二烷基胺基或環烷基胺基取代。例示性非限制性胺基烷基為-CH₂NH₂、-CH₂CH₂NH₂、-CH₂CH₂NHCH₃及-CH₂CH₂N(CH₃)₂且進一步包括分支鏈物質，諸如呈(R)-或(S)-組態之-CH(CH₃)NH₂及-C(CH₃)CH₂NH₂。或者，胺基烷基為如本文所定義之烷基部分、基團或取代基，其中除基團碳以外之sp³碳已經胺基或烷基胺基部分置換，其中其sp³氮置換烷基之sp³碳，前提條件為至少一個sp³碳保留。當提及胺基烷基部分作為較大結構或另一部分之取代基時，胺基烷基經由胺基烷基之烷基部分之碳基團與該結構或部分共價連接。

【0170】除非另有指示，否則「烷基胺基」及「環烷基胺基」本身或與另一術語組合意指如本文所述之烷基或環烷基，其中烷基或環烷基之基團碳已經氨基團置換，前提條件為至少一個sp³碳保留。在其中烷基胺基在其氮上經另一烷基部分取代之彼等情況下，所得經取代基團有時稱作二烷基胺基部分、基團或取代基，其中取代氮之烷基部分為獨立選擇的。

【0171】例示性及非限制性胺基、烷基胺基及二烷基胺基取代基包括具有-N(R')₂結構之彼等，其中此等實例中之R'係獨立地選自氫或C₁₋₆烷基，典型地為

氫或甲基，而在包括於雜環烷基中之環烷基胺中，兩個R'與其所連接之氮一起定義雜環。當兩個R'均為氫或烷基時，該部分有時分別描述為一級胺基及三級胺基。當一個R'為氫且另一者為烷基時，則該部分有時描述為二級胺基。一級及二級烷基胺基部分作為親核試劑對含羰基之親電中心更具反應性，而三級胺更具鹼性。

【0172】「經取代之烷基」及「經取代之芳基」分別意指烷基及芳基，其中一或多個氫原子(典型地為一個)各自獨立地經取代基置換。典型取代基包括但不限於-X、-R'、-OH、-OR'、-SR'、-N(R')₂、-N(R')₃、=NR'、-CX₃、-CN、-NO₂、-NR'C(=O)R'、-C(=O)R'、-C(=O)N(R')₂、-S(=O)₂R'、-S(=O)₂NR'、-S(=O)R'、-OP(=O)(OR')₂、-P(=O)(OR')₂、-PO₃⁼、PO₃H₂、-C(=O)R'、-C(=S)R'、-CO₂R'、-CO₂⁻、-C(=S)OR'、-C(=O)SR'、-C(=S)SR'、-C(=O)N(R')₂、-C(=S)N(R')₂及-C(=NR)N(R')₂，其中各X係獨立地選自由鹵素：-F、-Cl、-Br及-I組成之群；且其中各R'係獨立地選自由-H、-C₁-C₂₀烷基、-C₆-C₂₀芳基、-C₃-C₁₄雜環、保護基及前藥部分組成之群。

【0173】更典型地，取代基係選自由-X、-R'、-OH、-OR'、-SR'、-N(R')₂、-N(R')₃、=NR'、-NR'C(=O)R'、-C(=O)R'、-C(=O)N(R')₂、-S(=O)₂R'、-S(=O)₂NR'、-S(=O)R'、-C(=O)R'、-C(=S)R'、-C(=O)N(R')₂、-C(=S)N(R')₂及-C(=NR)N(R')₂組成之群，其中各X係獨立地選自由-F及-Cl組成之群，或選自由-X、-R'、-OH、-OR'、-N(R')₂、-N(R')₃、-NR'C(=O)R'、-C(=O)N(R')₂、-S(=O)₂R'、-S(=O)₂NR'、-S(=O)R'、-C(=O)R'、-C(=O)N(R')₂、-C(=NR)N(R')₂、保護基及前藥部分組成之群，其中各X為-F；且其中各R'係獨立地選自由氫、-C₁-C₂₀烷基、-C₆-C₂₀芳基、-C₃-C₁₄雜環、保護基及前藥部分組成之群。

【0174】 在一些態樣中，烷基取代基係選自由 $-N(R')_2$ 、 $-N(R')_3$ 及 $-C(=NR)N(R')_2$ 組成之群，其中 R' 係選自由氫及 $-C_1-C_{20}$ 烷基組成之群。在其他態樣中，烷基經一系列伸乙基氧基部分取代以定義PEG單元。如上文所述之伸烷基、碳環、碳環基、伸芳基、雜烷基、伸雜烷基、雜環、雜環基、雜芳基及伸雜芳基亦可類似地經取代。

【0175】 如本文所用，「保護基」意指防止或降低與其連接之原子或官能基參與不當反應之能力的部分。原子或官能基之典型保護基在Greene (1999), 「Protective Groups In Organic Synthesis, 第3版」, Wiley Interscience中給出。在一些情況下，使用諸如氧、硫及氮等雜原子之保護基來最大限度地減少或避免其與親電化合物之不當反應。在其他情況下，使用保護基來降低或消除未經保護之雜原子之親核性及/或鹼性。經保護之氧之非限制性實例由 $-OR^{PR}$ 給出，其中 R^{PR} 為羥基之保護基，其中羥基典型地經保護為酯(例如，乙酸酯、丙酸酯或苯甲酸酯)。羥基之其他保護基避免干擾有機金屬試劑或其他強鹼性試劑之親核性，其中羥基典型地經保護為醚，包括烷基或雜環烷基醚(例如，甲基或四氫呋喃基醚)、烷氧基甲基醚(例如，甲氧基甲基或乙氧基甲基醚)、視情況經取代之芳基醚以及矽烷基醚(例如，三甲基矽烷基(TMS)、三乙基矽烷基(TES)、三級丁基二苯基矽烷基(TBDPS)、三級丁基二甲基矽烷基(TBS/TBDMS)、三異丙基矽烷基(TIPS)及[2-(三甲基矽烷基)乙氧基]-甲基矽烷基(SEM))。氮保護基包括用於一級胺或二級胺(如 $-NHR^{PR}$ 或 $-N(R^{PR})_2$ -中)之彼等，其中至少一個 R^{PR} 為氮原子保護基或兩個 R^{PR} 一起構成保護基。

【0176】 當保護基能夠在實現分子中別處之所需化學轉化所需要之反應條件下及必要時在新形成之分子之純化期間防止或避免不當副反應或保護基之

過早損失，且可在不對彼新形成之分子之結構或立體化學完整性產生不良影響之條件下移除時，該保護基為適合的。舉例而言且並非限制，適合之保護基可包括先前所述之用於保護官能基之彼等。適合之保護基有時為用於肽偶合反應之保護基。

【0177】「芳族醇」本身或作為較大結構之一部分係指經羥基官能基-OH取代之芳族環系統。因此，芳族醇係指具有與其芳族環系統之芳族碳鍵結之羥基官能基的如本文所述之任何芳基、雜芳基、仲芳基及仲雜芳基部分。當芳族醇之芳族環系統為較大部分之取代基時，該芳族醇可為此部分之一部分，或者可藉由環稠合嵌入較大部分中，且可視情況經如本文所述之包括一或多個其他羥基取代基之部分取代。酚醇為具有酚基作為芳族環之芳族醇。

【0178】「脂族醇」本身或作為較大結構之一部分係指具有與羥基官能基-OH鍵結之非芳族碳的部分。帶有羥基之碳可未經取代(亦即，甲醇)或可具有一個、兩個或三個視情況經取代之分支鏈或非分支鏈烷基取代基以定義直鏈或環狀結構內之一級醇或二級或三級脂族醇。當作為較大結構之一部分時，醇可藉由經帶有羥基之碳鍵結、經烷基或如本文所述之其他部分之碳與此帶有羥基之碳鍵結、或經此烷基或其他部分之取代基鍵結而成為此結構之取代基。脂族醇涵蓋非芳族環狀結構(亦即，碳環及雜碳環，視情況經取代)，其中羥基官能基與其環系統之非芳族碳鍵結。

【0179】如本文所用，「芳基烷基」或「雜芳基烷基」意指其中芳基部分與烷基部分鍵結之取代基、部分或基團，亦即，芳基-烷基-，其中烷基及芳基如上文所述，例如， $C_6H_5-CH_2-$ 或 $C_6H_5-CH(CH_3)CH_2-$ 。芳基烷基或雜芳基烷基經由其烷基部分之 sp^3 碳與較大結構或部分締合。

【0180】如本文所用，「拉電子基團」意指官能基或電負性原子將電子密度自以感應方式及/或經由共振(無論哪一者更佔主導)與其鍵結之原子抽離(亦即，官能基或原子可依感應方式拉電子，但總體上可經由共振推電子)且傾向於使陰離子或富電子部分穩定。拉電子效應典型地以感應方式(儘管呈減弱之形式)傳遞至與已由於拉電子基團(EWG)而缺電子之鍵結原子連接的其他原子，由此影響更遠反應中心之親電性。例示性拉電子基團包括但不限於 $-C(=O)$ 、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、 $-CX_3$ 、 $-X$ 、 $-C(=O)OR'$ 、 $-C(=O)N(R')_2$ 、 $-C(=O)R'$ 、 $-C(=O)X$ 、 $-S(=O)_2R'$ 、 $-S(=O)_2OR'$ 、 $-S(=O)_2NHR'$ 、 $-S(=O)_2N(R')_2$ 、 $-P(=O)(OR')_2$ 、 $-P(=O)(CH_3)NHR'$ 、 $-NO$ 、 $-N(R')_3^+$ ，其中X為-F、-Br、-Cl或-I，且在一些態樣中，R'在每次出現時獨立地選自由氫及C₁₋₆烷基以及如本文所述之某些O連接部分(諸如鹽氧基)組成之群。

【0181】例示性EWG亦可包括芳基(例如，苯基)，此取決於取代；及某些雜芳基(例如，吡啶)。因此，術語「拉電子基團」亦包括進一步經拉電子基團取代之芳基或雜芳基。典型地，芳基或雜芳基上之拉電子基團為 $-C(=O)$ 、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、 $-CX_3$ 及 $-X$ ，其中X係獨立地選自鹵素，典型地為-F或-Cl。取決於其取代基，烷基部分亦可為拉電子基團。

【0182】除非上下文另有說明或暗示，否則「推電子基團」在本文中使用該術語時係指官能基或電正性原子增加以感應方式及/或經由共振(無論哪一者更佔主導)與其鍵結之原子的電子密度(亦即，官能基或原子可依感應方式拉電子，但總體上可經由共振推電子)，且傾向於使陽離子或缺電子系統穩定。推電子效應典型地經由共振傳遞至與已由於推電子基團(EDG)而富電子之鍵結原子連接的其他原子，由此增加更遠反應中心之電子密度。典型地，推電子基團係選自由-OH、-OR'、-NH₂、-NHR'及N(R')₂組成之群，其中各R'係獨立地選自C₁-C₁₂

烷基，典型地為C₁-C₆烷基。取決於其取代基，C₆-C₂₄芳基、C₅-C₂₄雜芳基或不飽和C₁-C₁₂烷基部分亦可為推電子基團，且在一些態樣中，此類部分由推電子基團之術語涵蓋。

【0183】「離去基團能力」涉及與ADC中之喜樹鹼相對應之含醇、硫醇、胺或醯胺之化合物在活化接合物內之自消事件後作為遊離藥物自接合物中釋放之能力。彼釋放可為可變的，而無需利用喜樹鹼所連接之亞甲基胺基甲酸酯單元(亦即，當喜樹鹼直接連接至自消部分且不具有插入之亞甲基胺基甲酸酯單元時)。良好之離去基團通常為弱鹼，且自此類接合物中驅出之官能基酸性愈強，接合物鹼愈弱。因此，來自喜樹鹼之含醇、硫醇、胺或醯胺之遊離藥物之離去基團能力將與在不使用亞甲基胺基甲酸酯單元(亦即，其中喜樹鹼直接連接至自消部分)之情況下自接合物中驅出之藥物官能基之pKa相關。因此，彼官能基之較低pKa將增加其離去基團能力。儘管其他因素可能有助於自不利用亞甲基胺基甲酸酯單元之接合物中釋放遊離藥物，但一般具有較低pKa值之官能基的藥物將典型地比經由具有較高pKa值之官能基連接之藥物的離去基團更好。另一個考慮因素為，pKa值過低之官能基可能由於喜樹鹼經由自發水解過早損失而導致不可接受之活性概況。對於採用亞甲基胺基甲酸酯單元之接合物，在自消後產生具有允許有效釋放遊離藥物而不會遭受不可接受之喜樹鹼損失之pKa值的常見官能基(亦即，胺基甲酸)。

【0184】如本文所用，「丁二醯亞胺部分」係指包含丁二醯亞胺環系統之有機部分，其存在於一種類型之延伸體單元(Z)中，該延伸體單元典型地進一步包含與彼環系統之醯亞胺氮鍵結之含伸烷基部分。丁二醯亞胺部分典型地由配位體單元之巰基與延伸體單元前驅體(Z')之順丁烯二醯亞胺環系統之邁克爾加

成(Michael addition)產生。因此，丁二醯亞胺部分包含硫基取代之丁二醯亞胺環系統，且當存在於ADC中時，其醯亞胺氮經ADC之連接子單元之其餘部分取代，且丁二醯亞胺部分視情況經存在於Z'之順丁烯二醯亞胺環系統上之取代基取代。

【0185】如本文所用，「酸-醯胺部分」係指具有醯胺取代基之丁二酸，該醯胺取代基由丁二醯亞胺部分之硫基取代之丁二醯亞胺環系統經歷水解所致之其一個羰基-氮鍵斷裂而產生。產生丁二酸-醯胺部分之水解提供連接子單元，該連接子單元不太可能經由消除抗體-硫基取代基而過早損失與其鍵結之配位體單元。硫基取代之丁二醯亞胺部分之丁二醯亞胺環系統的水解預期會提供酸-醯胺部分之區域化學異構物，該等異構物由於丁二醯亞胺環系統之兩個羰基碳之反應性差異而產生，該等差異至少部分地歸因於延伸體單元前驅體之順丁烯二醯亞胺環系統中存在之任何取代基以及由靶向配位體引入之硫基取代基。

【0186】如本文所用，術語「前藥」係指較低生物活性或無活性之化合物，其在體內經由化學或生物過程(亦即，化學反應或酶促生物轉化)轉化為更具生物活性之化合物。典型地，藉由用前藥部分對化合物進行化學修飾，促使生物活性化合物具有更低生物活性(亦即，轉化為前藥)。在一些態樣中，前藥為II型前藥，其在細胞外(例如，在消化液中)或在身體循環系統中(例如，在血液中)經生物活化。例示性前藥為酯及 β -D-葡萄糖哌喃糖苷。

【0187】在許多情況下，本文所述之接合物、連接子及組分之集合將指反應性基團。「反應性基團」或RG為含有反應性位點(RS)之基團，該反應性位點能夠與連接子單元之組分(亦即，A、W、Y)或喜樹鹼D形成一鍵。RS為反應性基團(RG)內之反應性位點。反應性基團包括形成二硫鍵或硫醚鍵之巰基，形成腙鍵之醛基、酮基或肼基，形成肽鍵之羧基或胺基，形成酯鍵之羧基或羥基，

形成磺醯胺鍵之磺酸，形成胺基甲酸酯鍵之醇，及形成磺醯胺鍵或胺基甲酸酯鍵之胺。

【0188】 下表說明反應性基團、反應性位點及在反應性位點反應後可形成之例示性官能基。該表並非限制性的。熟習此項技術者應理解，表中所提及之R'及R"部分有效地為任何有機部分(例如，烷基、芳基、雜芳基或經取代之烷基、芳基或雜芳基)，其與將RG轉化為一種例示性官能基時所提供之鍵形成相容。亦應理解，當應用於本發明之實施例時，視情況而定，R'可代表自穩定連接子或視情況存在之第二連接子之一或多種組分，且視情況而定，R"可代表視情況存在之第二連接子、喜樹鹼、穩定單元或偵測單元之一或多種組分。

【0189】 「無菌」調配物為無菌的或基本上不含活微生物及其孢子。

【0190】 以下章節中進一步詳細描述本揭示案之各個態樣。

II. CEACAM5

【0191】 人類CEACAM5之結構域組織如下(基於GenBank AAA51967.1序列；SEQ ID NO:11)：

人類CEACAM5結構域	SEQ ID NO:11上之位置
結構域N	35 - 142
結構域A1	143 - 237
結構域B1	238 - 320
結構域A2	321 - 415
結構域B2	416 - 498
結構域A3	499 - 593
結構域B3	594 - 685

【0192】 因此，人類CEACAM5之A3-B3結構域由SEQ ID NO:11之位置499-685處之胺基酸組成。

【0193】 食蟹猴(*Macaca fascicularis*) CEACAM5之結構域組織如下(基於經選殖之細胞外結構域序列；SEQ ID NO:12)：

表2

食蟹猴CEACAM5結構域	SEQ ID NO:12上之位置
結構域N-A1-B1	-1 - 286
結構域A2-B2	-287 - 464
結構域A3-B3	465 - 654

III. 抗CEACAM5 ADC

【0194】 在一些實施例中，本文提供具有下式之ADC：

$$L-(Q-D)_p$$

或其鹽，其中

L為包含結合至CEACAM5之抗體或其抗原結合片段之配位體單元；

下標p為1至16之整數；Q為連接子單元；

且D為藥物單元，其中該藥物單元為拓撲異構酶I抑制劑。

【0195】 在一些實施例中，本文所提供之ADC具有優於其他ADC之某些優點，包括增加之抗腫瘤活性及降低之毒性。

A. CEACAM5抗體

【0196】 根據一個實施例，根據本發明之抗體對表面人類及食蟹猴CEACAM5蛋白質具有特異性。在一個實施例中，本發明之抗體不與人類CEACAM1、人類CEACAM6、人類CEACAM7、人類CEACAM8、食蟹猴CEACAM1、食蟹猴CEACAM6及食蟹猴CEACAM8蛋白質結合或發生顯著交叉反應。

【0197】 特別地，該抗體不與前述人類及食蟹猴CEACAM蛋白質之細胞外結構域結合或發生顯著交叉反應。

【0198】 特別地，該抗體與CEACAM5之A3-B3結構域結合。

【0199】 本發明之一個實施例對人類CEACAM5或食蟹猴CEACAM5或兩者具有 ≤ 10 nM，例如 ≤ 5 nM、 ≤ 3 nM、 ≤ 1 nM或 ≤ 0.1 nM之親和力，例如0.01 nM至5 nM之親和力，或/及0.1 nM至5 nM或0.1 nM至1 nM之親和力。

【0200】 對人類CEACAM5或對食蟹猴CEACAM5之親和力可確定為使用可溶性重組CEACAM5作為捕獲抗原之ELISA中之EC50值。本發明之抗體亦可具有表觀解離常數(表觀KD)，如可藉由對腫瘤細胞株MKN45 (DSMZ，ACC 409)或對來源於患者之異種移植腫瘤細胞(CR-IGR-034P) (可獲自Oncodesign Biotechnology，腫瘤集合CReMEC)進行FACS分析所確定，該表觀解離常數 ≤ 25 nM，例如， ≤ 20 nM、 ≤ 10 nM、 ≤ 5 nM、 ≤ 3 nM或 ≤ 1 nM。表觀KD可在0.01-20 nM之範圍內，或可在0.1-20 nM、0.1-10 nM或0.1-5 nM之範圍內。另外，根據本發明之抗體已顯示能夠藉由免疫組織化學在冷凍及福馬林固定且石蠟包埋(FFPE)之組織切片中偵測CEACAM5表現。

【0201】 在一些實施例中，抗CEACAM5抗體包含Fc區。在一些實施例中，抗CEACAM5抗體為Fc感受態抗體。在一些實施例中，Fc感受態抗體可觸發ADCC及/或ADCP活性，從而改良活性。

【0202】 在一些實施例中，抗CEACAM5抗體包含以下一或多者：包含SEQ ID NO:1所示之胺基酸序列之CDR1-H；包含SEQ ID NO:2所示之胺基酸序列之CDR2-H；包含SEQ ID NO:3所示之胺基酸序列之CDR3-H；包含SEQ ID NO:4所

示之胺基酸序列之CDR1-L；包含胺基酸序列NTR之CDR2-L；及包含SEQ ID NO:6所示之胺基酸序列之CDR3-L。

【0203】 在一些實施例中，抗CEACAM5抗體包含以下一或多者：包含SEQ ID NO:1所示之胺基酸序列之CDR1-H；包含SEQ ID NO:2所示之胺基酸序列之CDR2-H；包含SEQ ID NO:3所示之胺基酸序列之CDR3-H；包含SEQ ID NO:4所示之胺基酸序列之CDR1-L；包含胺基酸序列NTR之CDR2-L；及包含SEQ ID NO:6所示之胺基酸序列之CDR3-L。

【0204】 在一些實施例中，抗體或其抗原結合片段包含與SEQ ID NO:7所示之胺基酸序列具有至少80%、85%、90%、95%或99%胺基酸序列一致性的VH。在一些實施例中，抗體或其抗原結合片段包含與SEQ ID NO:8所示之胺基酸序列具有至少80%、85%、90%、95%或99%胺基酸序列一致性的VL。在一些實施例中，抗體或其抗原結合片段包含與SEQ ID NO:7所示之胺基酸序列具有至少80%、85%、90%、95%或99%胺基酸序列一致性的VH，及與SEQ ID NO:8所示之胺基酸序列具有至少80%、85%、90%、95%或99%胺基酸序列一致性的VL。

【0205】 在一些實施例中，抗原結合蛋白包含可變重鏈結構域(VH)之CDR1-H、CDR2-H及CDR3-H，該可變重鏈結構域包含SEQ ID NO:7所示之胺基酸序列。在一些實施例中，抗體或其抗原結合片段包含可變輕鏈結構域(VL)之CDR1-L、CDR2-L及CDR3-L，該可變輕鏈結構域包含SEQ ID NO:8所示之胺基酸序列。在一些實施例中，抗原結合蛋白包含可變重鏈結構域(VH)之CDR1-H、CDR2-H及CDR3-H，該可變重鏈結構域包含SEQ ID NO:7所示之胺基酸序列，及可變輕鏈結構域(VL)之CDR1-L、CDR2-L及CDR3-L，該可變輕鏈結構域包含SEQ ID NO:8所示之胺基酸序列。

【0206】 在一些實施例中，抗CEACAM5抗體包含以下一或多者：包含SEQ ID NO:1所示之胺基酸序列之CDR1-H；包含SEQ ID NO:2所示之胺基酸序列之CDR2-H；包含SEQ ID NO:3所示之胺基酸序列之CDR3-H，及與SEQ ID NO:7所示之胺基酸序列包含至少80%、85%、90%、95%或99%胺基酸序列一致性的VH。在一些實施例中，抗體或其抗原結合片段包含：包含SEQ ID NO:4所示之胺基酸序列之CDR1-L；包含胺基酸序列NTR之CDR2-L；以及包含SEQ ID NO:6所示之胺基酸序列之CDR3-L，及與SEQ ID NO:8所示之胺基酸序列包含至少80%、85%、90%、95%或99%胺基酸序列一致性的VL。

【0207】 在其他實施例中，抗體或其抗原結合片段包含：包含CDR1-L、CDR2-L及CDR3-L之VL，其中VL之CDR相對於相應CDR參考序列總共具有至多1、2、3、4或5個胺基酸變化，且其中CDR1-L參考序列具有SEQ ID NO:4之胺基酸序列，CDR2-L具有SEQ ID NO:5所示之胺基酸序列，且CDR-3L具有SEQ ID NO:6所示之胺基酸序列。在此類實施例中，胺基酸變化典型地為插入、缺失及/或取代。在此等實施例中之一些實施例中，胺基酸變化之總數為1-3；在其他實施例中，胺基酸變化之總數為1或2。在某些前述實施例中，變化為保守胺基酸取代。

【0208】 在一些實施例中，抗體或其抗原結合片段包含：包含CDR1-H、CDR2-H及CDR3-H之VH，其中VH之CDR相對於相應CDR參考序列總共具有至多1、2、3、4或5個胺基酸變化，且其中CDR1-H參考序列具有SEQ ID NO:1之胺基酸序列，CDR2-H具有SEQ ID NO:2所示之胺基酸序列，且CDR3-H具有SEQ ID NO:3所示之胺基酸序列。在此類實施例中，胺基酸變化典型地為插入、缺失及/或取代。在此等實施例中之一些實施例中，胺基酸變化之總數為1-3；在其他實

施例中，胺基酸變化之總數為1或2。在某些前述實施例中，變化為保守胺基酸取代。

【0209】 在一些實施例中，抗體或其抗原結合片段包含：包含CDR1-H、CDR2-H及CDR3-H之VH，其中VH之CDR相對於相應CDR參考序列總共具有至多1、2、3、4或5個胺基酸變化，且其中CDR1-H參考序列具有SEQ ID NO:1之胺基酸序列，CDR2-H具有SEQ ID NO:2所示之胺基酸序列，且CDR3-H具有SEQ ID NO:3所示之胺基酸序列；及包含CDR1-L、CDR2-L及CDR3-L之VL，其中VL之CDR相對於相應CDR參考序列總共具有至多1、2、3、4或5個胺基酸變化，且其中CDR1-L參考序列具有SEQ ID NO:4之胺基酸序列，CDR2-L具有SEQ ID NO:5所示之胺基酸序列，且CDR-3L具有SEQ ID NO:6所示之胺基酸序列。在此類實施例中，胺基酸變化典型地為插入、缺失及/或取代。在此等實施例中之一些實施例中，胺基酸變化之總數為1-3；在其他實施例中，胺基酸變化之總數為1或2。在某些前述實施例中，變化為保守胺基酸取代。

【0210】 在一些實施例中，抗體或其抗原結合片段包含與SEQ ID NO:9所示之胺基酸序列具有至少80%、85%、90%、95%或99%胺基酸序列一致性的重鏈。在一些實施例中，抗體或其抗原結合片段包含與SEQ ID NO:10所示之胺基酸序列具有至少80%、85%、90%、95%或99%胺基酸序列一致性的輕鏈。在一些實施例中，抗體或其抗原結合片段包含與SEQ ID NO:9所示之胺基酸序列具有至少80%、85%、90%、95%或99%胺基酸序列一致性的重鏈，及與SEQ ID NO:10所示之胺基酸序列具有至少80%、85%、90%、95%或99%胺基酸序列一致性的輕鏈。

【0211】 在一些實施例中，抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO:9所示之胺基酸序列的重鏈。在一些實施例中，抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO:10所示之胺基酸序列的輕鏈。在一些實施例中，抗體或其抗原結合片段包含：包含SEQ ID NO:9所示之胺基酸序列的重鏈及包含SEQ ID NO:10所示之胺基酸序列的輕鏈。

【0212】 在一些實施例中，抗體或其抗原結合片段包含VH結構域，其中VH結構域序列與選自SEQ ID NO:7中任一者之胺基酸序列具有至少80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列一致性，前提條件為該抗體或其抗原結合片段保留結合至CEACAM5之能力。在某些實施例中，此種抗體或其抗原結合片段相對於參考序列(亦即，SEQ ID NO:7之一)含有取代(例如，保守取代)、插入及/或缺失，前提條件為此種抗體或其抗原結合片段保留結合至CEACAM5之能力。在某些實施例中，SEQ ID NO:7中任一者之1、2、3、4、5、6、7、8、9或10個胺基酸已經取代、插入及/或缺失。在一些實施例中，VH序列中之1-5個或1-3個胺基酸已經取代、插入及/或缺失。在此等實施例中之某些實施例中，此類取代、插入或缺失在CDR外部之區域中(亦即，FR中)發生。在進一步之此類實施例中，VH包含一個、兩個或三個選自以下之CDR：(a)包含SEQ ID NO:1之胺基酸序列之CDR1-H；(b)包含SEQ ID NO:2之胺基酸序列之CDR2-H；(c)包含SEQ ID NO:3之胺基酸序列之CDR3-H。

【0213】 在一些實施例中，抗體或其抗原結合片段包含VL結構域，其中VL結構域序列與選自SEQ ID NO:8中任一者之胺基酸序列具有至少80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列一致性，前提條件為該抗體或其抗原結合片段保留結合至CEACAM5之能力。在某些實施例

中，此種抗體或其抗原結合片段相對於參考序列(亦即，SEQ ID NO:8之一)含有取代(例如，保守取代)、插入及/或缺失，前提條件為此種抗體或其抗原結合片段保留結合至CEACAM5之能力。在某些實施例中，SEQ ID NO:8中任一者之1、2、3、4、5、6、7、8、9或10個胺基酸已經取代、插入及/或缺失。在一些實施例中，VL序列中之1-5個或1-3個胺基酸已經取代、插入及/或缺失。在此等實施例中之某些實施例中，此類取代、插入或缺失在CDR外部之區域中(亦即，FR中)發生。在進一步之此類實施例中，VL包含一個、兩個或三個選自以下之CDR：(a)包含SEQ ID NO:4之胺基酸序列之CDR1-L；(b)包含SEQ ID NO:5之胺基酸序列之CDR2-L；(c)包含SEQ ID NO:6之胺基酸序列之CDR3-L。

【0214】 在進一步實施例中，抗體或其抗原結合片段包含(a) VH結構域，其中VH結構域序列與選自SEQ ID NO:7中任一者之胺基酸序列具有至少80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列一致性，及(b) VL結構域，其中VL結構域序列與選自SEQ ID NO:8中任一者之胺基酸序列具有至少80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列一致性，前提條件為該抗體或其抗原結合片段保留結合至CEACAM5之能力。在某些實施例中，此種抗體或其抗原結合片段相對於參考序列(亦即，針對VH結構域為SEQ ID NO:7且針對VL結構域為SEQ ID NO:8)含有取代(例如，保守取代)、插入及/或缺失，前提條件為此種抗體或其抗原結合片段保留結合至CEACAM5之能力。在某些實施例中，VH及/或VL序列中之1、2、3、4、5、6、7、8、9或10個胺基酸已經取代、插入及/或缺失。在一些實施例中，VH及/或VL序列中之1-5個或1-3個胺基酸已經取代、插入及/或缺失。在其他實施例中，VH及VL序列中總共1-5個或1-3個胺基酸已經取代、插入及/或缺失。在

此等實施例中之某些實施例中，此類取代、插入或缺失在HVR外部之區域中(亦即，FR中)發生。在進一步之此類實施例中，VL包含一個、兩個或三個選自以下之CDR：(a)包含SEQ ID NO:4之胺基酸序列之CDR1-L；(b)包含SEQ ID NO:5之胺基酸序列之CDR2-L；(c)包含SEQ ID NO:6之胺基酸序列之CDR3-L，且VH包含一個、兩個或三個選自以下之CDR：(a)包含SEQ ID NO:1之胺基酸序列之CDR1-H；(b)包含SEQ ID NO:2之胺基酸序列之CDR2-H；(c)包含SEQ ID NO:3之胺基酸序列之CDR3-H。

【0215】 任何前述實施例中之抗原結合蛋白可為任何形式之抗體。因而，上述任何實施例中所述之抗原結合蛋白可為例如單株抗體、多特異性抗體、人類抗體、人源化抗體或嵌合抗體，及上述任一者之抗原結合片段，諸如單鏈抗體、Fab片段、F(ab')片段或由Fab表現文庫產生之片段。抗體可屬於任何免疫球蛋白同型(例如，IgG、IgE、IgM、IgD、IgA及IgY)、類別(例如，IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1及IgA2)或亞類。

【0216】 在某些實施例中，具有本文所述之HVR及/或可變結構域序列之抗體或其抗原結合片段為抗原結合片段(例如，人類抗原結合片段)，且包括但不限於Fab、Fab'及F(ab')₂、Fd、單鏈Fv(scFv)、單鏈抗體、二硫化物連接之Fv(sdFv)及包含VL或VH結構域之片段。抗原結合片段(包括單鏈抗體)可包含單獨或與以下之全部或一部分組合之可變區：鉸鏈區、CH1、CH2、CH3及CL結構域。本揭示案亦包括包含可變區與鉸鏈區、CH1、CH2、CH3及CL結構域之任何組合的抗原結合片段。

【0217】 抗體或其抗原結合片段可為單特異性、雙特異性、三特異性的或具有更高多特異性。多特異性抗體可對CEACAM5之不同抗原決定基具有特異

性，或者可對CEACAM5以及對異源蛋白質兩者均具有特異性。參見例如PCT公開案WO 93/17715；WO 92/08802；WO 91/00360；WO 92/05793；Tutt等人, 1991, *J. Immunol.* 147:60 69；美國專利第4,474,893號；第4,714,681號；第4,925,648號；第5,573,920號；第5,601,819號；及Kostelny等人, 1992, *J. Immunol.* 148:1547 1553。

【0218】 在本文所述之任何實施例中，在組合物中之一些或所有分子中，輕鏈及/或重鏈之胺基端或羧基端之一個或數個胺基酸(例如，1、2、3或4個)(諸如重鏈之C端離胺酸)可能缺失或衍生化。此種修飾之一個特定實例為抗體或其抗原結合片段，其中重鏈之羧基端離胺酸缺失(例如，作為轉譯後修飾之一部分)。此外，應理解，本文所述之任何序列包括在抗體或其抗原結合片段在細胞培養物(例如，CHO細胞培養物)中表現期間對指定序列之轉譯後修飾。

1. 人源化抗原結合蛋白

【0219】 在一些實施例中，抗體或其抗原結合片段為結合CEACAM5之人源化抗體。典型地，非人類抗體經人源化以降低對人類之免疫原性，同時保留親本非人類抗體之特異性及親和力。人源化抗體為經基因工程改造之抗體，其中來自非人類「供體」抗體之HVR(例如，CDR)或其部分經移植至人類「受體」抗體序列中(參見例如Queen，US 5,530,101及5,585,089；Winter，US 5,225,539；Carter，US 6,407,213；Adair，US 5,859,205；及Foote，US 6,881,557)。

【0220】 受體抗體序列可為例如成熟人類抗體序列、此類序列之複合物、人類抗體序列之共有序列或種系區序列。可選擇人類受體序列以在可變區構架中與供體序列具有高度序列一致性，從而匹配受體與供體HVR或CDR之間的規範形式以及其他準則。因此，人源化抗體為具有完全或實質上來自供體抗體之HVR或CDR及完全或實質上來自人類抗體序列之可變區構架序列及恆定區(若

存在)的抗體。類似地，人源化重鏈典型地具有完全或實質上來自供體抗體重鏈之全部三個HVR或CDR，及實質上來自人類重鏈可變區構架及恆定區序列之重鏈可變區構架序列及重鏈恆定區(若存在)。同樣地，人源化輕鏈通常具有完全或實質上來自供體抗體輕鏈之全部三個CDR，及實質上來自人類輕鏈可變區構架及恆定區序列之輕鏈可變區構架序列及輕鏈恆定區(若存在)。當至少80%、85%、90%、95%或100%之相應殘基(如Kabat所定義)在各別HVR或CDR之間一致時，人源化抗體中之HVR或CDR實質上來自非人類抗體中之相應HVR或CDR。當由Kabat所定義，至少80%、85%、90%、95%或100%之相應殘基一致時，抗體鏈之可變區構架序列或抗體鏈之恆定區實質上分別來自人類可變區構架序列或人類恆定區。

【0221】 儘管人源化抗體通常併有來自小鼠抗體之全部六個HVR (例如，CDR，較佳如Kabat所定義)，其亦可由來自小鼠抗體之少於全部HVR或CDR (例如，至少3、4或5個) HVR或CDR製得(例如，Pascalis等人, J. Immunol. 169:3076, 2002；Vajdos等人, Journal of Molecular Biology, 320: 415-428, 2002；Iwahashi等人, Mol. Immunol. 36:1079-1091, 1999；及Tamura等人, Journal of Immunology, 164:1432-1441, 2000)。

【0222】 可基於來自人類可變區構架殘基之某些胺基酸對HVR (例如，CDR)構形及/或與抗原之結合的可能影響來選擇該等胺基酸以用於取代。對此類可能影響之研究係藉由建模、檢查特定位置處之胺基酸特徵或對特定胺基酸之取代或誘變之作用進行經驗觀測。

【0223】舉例而言，當胺基酸在鼠類動物可變區構架殘基與所選人類可變區構架殘基之間不同時，人類構架胺基酸可由來自小鼠抗體之等效構架胺基酸取代，此時合理地預期該胺基酸：

- (1) 直接非共價結合抗原，
- (2) 與HVR或CDR區域相鄰，
- (3) 以其他方式與HVR或CDR區域相互作用(例如，在此種區域之約6 Å內)，
- (4) 介導重鏈與輕鏈之間的相互作用，或
- (5) 為小鼠鏈中體細胞突變之結果，
- (6) 為糖基化位點。

【0224】(1)-(3)類之構架殘基有時或稱作規範殘基及微調殘基。規範殘基係指定義供體CDR環之規範類別的構架殘基，其決定CDR環之構形(Chothia及Lesk, J. Mol. Biol. 196, 901-917 (1987)，Thornton及Martin, J. Mol. Biol., 263, 800-815, 1996)。微調殘基係指支持抗原結合環構形且在細調抗體與抗原之擬合中起作用之一層構架殘基(Foote及Winter, 1992, J Mol Bio. 224, 487-499)。

【0225】人源化抗體及其製備方法綜述於例如Almagro及Fransson, (2008) *Front. Biosci.* 13: 1619-1633中，且進一步描述於例如Riechmann等人, (1988) *Nature* 332:323-329 ;Queen等人, (1989) *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 86: 10029-10033 ;美國專利第5,821,337號、第7,527,791號、第6,982,321號及第7,087,409號 ;Kashmiri等人, (2005) *Methods* 36:25-34 (描述特異性決定區(SDR)移植) ; Padlan, (1991) *Mol. Immunol.* 28:489-498 (描述「表面重塑」) ; Dall'Acqua等人, (2005) *Methods* 36:43-60 (描述「FR改組」) ; 及Osbourn等人, (2005) *Methods* 36:61-68及Klimka等人, (2000) *Br. J. Cancer*, 83:252-260 (描述FR改組之「導向選擇」方法)中。

【0226】 可用於人源化之人類構架區包括但不限於：使用「最佳擬合」方法選擇之構架區(參見例如Sims等人 (1993) *J. Immunol.* 151:2296)；來源於輕鏈或重鏈可變區之特定亞群之人類抗體之共有序列的構架區(參見例如Carter等人 (1992) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89:4285；及Presta等人 (1993) *J. Immunol.*, 151:2623)；人類成熟(體細胞突變)構架區或人類種系構架區(參見例如Almagro及Fransson, (2008) *Front.Biosci.* 13:1619-1633)；及來源於篩選FR文庫之構架區(參見例如Baca等人, (1997) *J. Biol. Chem.* 272: 10678-10684及Rosok等人, (1996) *J. Biol. Chem.* 271:22611-22618)。

2. 例示性抗體恆定區

【0227】 在一些實施例中，本文所述之抗體之重鏈及輕鏈可變區可連接至人類恆定區之至少一部分。在一些實施例中，人類重鏈恆定區屬於選自IgA、IgG及IgD之同型。在一些實施例中，人類輕鏈恆定區屬於選自 κ 及 λ 之同型。在一些實施例中，本文所述之抗體包含人類IgG恆定區。在一些實施例中，本文所述之抗體包含人類IgG4重鏈恆定區。在此等實施例中之一些實施例中，本文所述之抗體包含人類IgG4恆定區中之S241P突變。在一些實施例中，本文所述之抗體包含人類IgG4恆定區及人類 κ 輕鏈。

【0228】 在本說明書及申請專利範圍通篇，除非明確說明或熟習此項技術者所知，否則免疫球蛋白重鏈中之殘基編號為Kabat等人, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 第5版 Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)中之EU索引之編號，以引用之方式明確併入本文中。「Kabat中之EU索引」係指人類IgG1 EU抗體之殘基編號。

【0229】 人類恆定區在不同個體之間顯示同種異型變異及同種同型變異，亦即，恆定區在不同個體中可在一或多個多態性位置處存在差異。同種同型與同種異型之差異在於，識別同種同型之血清結合至一或多種其他同型之非多態性區域。提及人類恆定區包括具有任何天然同種異型之恆定區，或佔據天然同種異型中之多態性位置之殘基的任何排列。此外，相對於天然人類恆定區可存在至多1、2、5或10個突變，諸如上文所指示之彼等，以減少Fc γ 受體結合或增加與FcRn之結合。

【0230】 在一些實施例中，在一部分或全部分子中，輕鏈及/或重鏈之胺基端或羧基端之一個或數個胺基酸(諸如重鏈之C端離胺酸)可能缺失或衍生化。

【0231】 恆定區之選擇部分地取決於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。舉例而言，人類同型IgG1及IgG3具有強補體依賴性細胞毒性，人類同型IgG2具有弱補體依賴性細胞毒性，且人類IgG4缺乏補體依賴性細胞毒性。人類IgG1及IgG3亦比人類IgG2及IgG4誘導更強細胞介導之效應功能。輕鏈恆定區可為 λ 或 κ 。

【0232】 此外，如下文更詳細描述，可在恆定區中進行取代以減少或增加效應功能，諸如補體介導之細胞毒性或ADCC (參見例如Winter等人，美國專利第5,624,821號；Tso等人，美國專利第5,834,597號；及Lazar等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 103:4005, 2006)，或延長人類中之半衰期(參見例如Hinton等人, J. Biol. Chem. 279:6213, 2004)。

3. 變異體

【0233】 本文所提供之抗原結合蛋白亦包括本文所提供之抗原結合蛋白之胺基酸序列變異體。舉例而言，可製備抗體之具有改良之結合親和力及/或其

他生物特性之變異體。抗原結合蛋白之胺基酸序列變異體可藉由將適當修飾引入編碼抗原結合蛋白之核苷酸序列中或藉由肽合成來製備。此類修飾包括例如抗原結合蛋白之胺基酸序列內之殘基的缺失及/或插入及/或取代。可進行缺失、插入及取代之任何組合以獲得最終構築體，前提條件為最終構築體具有所需特徵，例如，抗原結合。

【0234】 在一些實施例中，抗原結合蛋白為相對於如本文所述之抗原結合蛋白具有一或多個胺基酸取代、缺失及/或插入之變異體。在某些此類實施例中，變異體具有一或多個胺基酸取代。在進一步之此類實施例中，取代為保守胺基酸取代。

【0235】 胺基酸取代可包括但不限於用另一個胺基酸置換多肽中之一個胺基酸。保守胺基酸取代可涵蓋非天然存在之胺基酸殘基，該等殘基典型地藉由化學肽合成而非藉由生物系統中之合成而併入。天然存在之殘基可基於共同側鏈特性分為以下類別：

- (1) 疏水性：正白胺酸、Met、Ala、Val、Leu、Ile；
- (2) 中性親水性：Cys、Ser、Thr、Asn、Gln；
- (3) 酸性：Asp、Glu；
- (4) 鹼性：His、Lys、Arg；
- (5) 影響鏈定向之殘基：Gly、Pro；
- (6) 芳族：Trp、Tyr、Phe。

表3

原始殘基	例示性取代	較佳取代
Ala	Val；Leu；Ile	Val
Arg	Lys；Gln；Asn	Lys

Asn	Gln ; His ; Asp ; Lys ; Arg	Gln
Asp	Glu ; Asn	Glu
Cys	Ser ; Ala	Ser
Gln	Asn ; Glu	Asn
Glu	Asp ; Gln	Asp
Gly	Pro ; Ala	Ala
His	Asn ; Gln ; Lys ; Arg	Arg
Ile	Leu ; Val ; Met ; Ala ; Phe ; 正白胺酸	Leu
Leu	正白胺酸 ; Ile ; Val ; Met ; Ala ; Phe	Ile
Lys	Arg ; Gln ; Asn	Arg
Met	Leu ; Phe ; Ile	Leu
Phe	Trp ; Leu ; Val ; Ile ; Ala ; Tyr	Leu
Pro	Ala	Ala
Ser	Thr ; Ala ; Cys	Thr
Thr	Val ; Ser	Ser
Trp	Tyr ; Phe	Tyr
Tyr	Trp ; Phe ; Thr ; Ser	Phe
Val	Ile ; Leu ; Met ; Phe ; Ala ; 正白胺酸	Leu

【0236】 非保守取代涉及將此等類別之一的成員交換為另一類別。

【0237】 在改變抗原結合蛋白(例如，抗CEACAM5抗體)之胺基酸序列時，在一些實施例中，可考慮胺基酸之親水指數。各胺基酸已基於其疏水性及電荷特徵指定如下親水指數：異白胺酸(+4.5)；纈胺酸(+4.2)；白胺酸(+3.8)；苯丙胺酸(+2.8)；半胱胺酸/胱胺酸(+2.5)；甲硫胺酸(+1.9)；丙胺酸(+1.8)；甘胺酸(-0.4)；蘇胺酸(-0.7)；絲胺酸(-0.8)；色胺酸(-0.9)；酪胺酸(-1.3)；脯胺酸(-1.6)；組胺酸(-3.2)；麩胺酸(-3.5)；麩醯胺(-3.5)；天冬胺酸(-3.5)；天冬醯胺(-3.5)；離胺酸(-3.9)；及精胺酸(-4.5)。

【0238】 在此項技術中應理解親水胺基酸指數在賦予蛋白質之相互作用生物功能方面的重要性。Kyte等人, 1982, *J. Mol. Biol.*, 157:105-131。已知某些胺基酸可取代具有類似親水指數或評分之其他胺基酸且仍保留類似生物活性。在

基於親水指數進行改變時，在某些實施例中，包括親水指數在 ± 2 內之胺基酸的取代。在某些實施例中，包括在 ± 1 內之彼等，且在某些實施例中，包括在 ± 0.5 內之彼等。

【0239】 在此項技術中亦應理解，可基於親水性有效地進行類似胺基酸之取代，特別在由此產生之生物功能性蛋白質或肽(例如，抗體)意欲用於免疫學實施例中之情況下，如在本發明之情況下。在某些實施例中，蛋白質之最大局部平均親水性(由其相鄰胺基酸之親水性主導)與其免疫原性及抗原性相關，亦即，與蛋白質之生物特性相關。

【0240】 此等胺基酸殘基已指定以下親水性值：精胺酸(+3.0)；離胺酸(+3.0 $\pm$ 1)；天冬胺酸(+3.0 $\pm$ 1)；麩胺酸(+3.0 $\pm$ 1)；絲胺酸(+0.3)；天冬醯胺(+0.2)；麩醯胺(+0.2)；甘胺酸(0)；酥胺酸(-0.4)；脯胺酸(-0.5 $\pm$ 1)；丙胺酸(-0.5)；組胺酸(-0.5)；半胱胺酸(-1.0)；甲硫胺酸(-1.3)；纈胺酸(-1.5)；白胺酸(-1.8)；異白胺酸(-1.8)；酪胺酸(-2.3)；苯丙胺酸(-2.5)及色胺酸(-3.4)。在基於類似親水性值進行改變時，在某些實施例中，包括親水性值在 ± 2 內之胺基酸的取代，在某些實施例中，包括在 ± 1 內之彼等，且在某些實施例中，包括在 ± 0.5 內之彼等。吾人亦可基於親水性自一級胺基酸序列鑑定抗原決定基。此等區域亦稱作「抗原決定基核心區域」。

【0241】 可在HVR中進行改變(例如，取代)，例如，以改良抗體親和力。此類改變可在HVR「熱點」中進行，亦即，由體細胞成熟過程中經歷高頻率突變之密碼子編碼之殘基(參見例如Chowdhury, Methods Mol. Biol. 207:179-196 (2008))，及/或接觸抗原之殘基，其中測試所得變異體VH或VL之結合親和力。藉由構建二級文庫且進行再選擇所實現之親和力成熟已描述於例如

Hoogenboom等人 *Methods in Molecular Biology* 178:1-37中(O'Brien等人編, Human Press, Totowa, N.J., (2001))。在親和力成熟之一些實施例中，藉由多種方法中之任一者(例如，易錯PCR、鏈改組或寡核苷酸定向誘變)將多樣性引入所選用於成熟之可變基因中。接著創建二級文庫。接著篩選該文庫以鑑定具有所需親和力之任何抗體變異體。另一種引入多樣性之方法涉及HVR指導之方法，其中數個HVR殘基(例如，一次4-6個殘基)經隨機化。可例如使用丙胺酸掃描誘變或建模來特異性地鑑定參與抗原結合之HVR殘基。特別地，通常靶向CDR-H3及CDR-L3。

【0242】在某些實施例中，取代、插入或缺失可在一或多個HVR內發生，只要此類改變不會實質上降低抗體結合抗原之能力。舉例而言，可在HVR中進行不會實質上降低結合親和力之保守改變(例如，如本文所提供之保守取代)。此類改變可例如在HVR中之抗原接觸殘基外部。在上文所提供之變異體VH及VL序列之某些實施例中，各HVR未發生改變，或含有不超過1個、2個或3個胺基酸取代。

【0243】可用於鑑定抗體中誘變可靶向之殘基或區域的方法稱為「丙胺酸掃描誘變」，如Cunningham及Wells (1989) *Science*, 244:1081-1085所述。在此方法中，一個殘基或一組標靶殘基(例如，帶電殘基，諸如arg、asp、his、lys及glu)經鑑定且由中性或帶負電胺基酸(例如，丙胺酸或聚丙胺酸)置換，以確定抗體與抗原之相互作用是否受影響。可在胺基酸位置處引入進一步取代，從而證明對初始取代之功能敏感性。替代地或另外，抗原-抗體複合物之晶體結構鑑定抗體與抗原之間的接觸點。此類接觸殘基及鄰近殘基可作為取代之候選物經靶向或經消除。可篩選變異體以確定其是否含有所需特性。

【0244】 胺基酸序列插入包括長度在一個殘基至含有一百個或更多個殘基之多肽範圍內的胺基端及/或羧基端融合，以及單個或多個胺基酸殘基之序列內插入。末端插入之實例包括具有N端甲硫胺醯殘基之抗體。抗體分子之其他插入變異體包括抗體之N端或C端與酶(例如，用於ADEPT)或增加抗體之血清半衰期之多肽的融合。

【0245】 效應功能降低之抗體包括具有Fc區殘基238、265、269、270、297、327及329中之一或多者之取代的彼等(美國專利第6,737,056號)。此類Fc突變體包括在胺基酸位置265、269、270、297及327中之兩者或更多者處具有取代之Fc突變體，包括殘基265及297經取代為丙胺酸之所謂的「DANA」Fc突變體(美國專利第7,332,581號)。

【0246】 在某些實施例中，製備與FcR之結合改良或減弱之抗體變異體。(參見例如美國專利第6,737,056號；WO 2004/056312，及Shields等人, *J. Biol. Chem.* 9(2): 6591-6604 (2001))。在一些實施例中，抗體變異體包含具有一或多個改良ADCC之胺基酸取代的Fc區，例如，在Fc區之位置298、333及/或334處之取代(殘基之EU編號)。舉例而言，人類IgG1 Fc區之溶劑暴露胺基酸之系統取代已產生FcγR結合親和力改變之IgG變異體(Shields等人, 2001, *J. Biol. Chem.* 276:6591-604)。當與親本IgG1相比時，涉及Thr256/Ser298、Ser298/Glu333、Ser298/Lys334或Ser298/Glu333/Lys334處經取代為Ala之此等變異體之子組證實對FcγR之結合親和力及ADCC活性均有所增加(Shields等人, 2001, *J. Biol. Chem.* 276:6591-604；Okazaki等人, 2004, *J. Mol. Biol.* 336:1239-49)。

【0247】 在一些實施例中，在Fc區中進行改變以改變(亦即，改良或減弱)Clq結合及/或補體依賴性細胞毒性(CDC)，例如，如美國專利第6,194,551號、WO

99/51642及Idusogie等人 *J. Immunol.* 164: 4178-4184 (2000)中所述。舉例而言，抗體之補體固定活性(C1q結合及CDC活性兩者)可藉由Lys326及Glu333處之取代來改良(Idusogie等人, 2001, *J. Immunol.* 166:2571-2575)。人類IgG2主鏈上之相同取代可將與C1q結合不良且補體活化活性有嚴重缺陷之抗體同型轉化為可結合C1q並介導CDC之抗體同型(Idusogie等人, 2001, *J. Immunol.* 166:2571-75)。亦已應用數種其他方法來改良抗體之補體固定活性。舉例而言，將IgM之18-胺基酸羧基端尾片移植至IgG之羧基端極大地增強其CDC活性。甚至對於通常不可偵測到CDC活性之IgG4亦觀測到此種情況(Smith等人, 1995, *J. Immunol.* 154:2226-36)。此外，用Cys取代靠近IgG1重鏈羧基端之Ser444會誘導IgG1尾對尾二聚化，其CDC活性相比單體IgG1增加200倍(Shopes等人, 1992, *J. Immunol.* 148:2918-22)。另外，對C1q具有特異性之雙特異性雙功能抗體構築體亦賦予CDC活性(Kontermann等人, 1997, *Nat. Biotech.* 15:629-31)。

【0248】可藉由將重鏈之胺基酸殘基318、320及322中之至少一者突變為具有不同側鏈之殘基(諸如Ala)來降低補體活性。其他經烷基取代之非離子殘基(諸如Gly、Ile、Leu或Val)或芳族非極性殘基(諸如Phe、Tyr、Trp及Pro)替代三個殘基中之任一者亦可減少或消除C1q結合。Ser、Thr、Cys及Met可用於殘基320及322而非殘基318，以降低或消除C1q結合活性。由極性殘基置換318 (Glu)殘基可修飾但不會消除C1q結合活性。用Ala置換殘基297 (Asn)會去除溶解活性，但僅略微降低(大約弱三倍)對C1q之親和力。此種改變會破壞糖基化位點及補體活化所需要之碳水化合物的存在。此位點處之任何其他取代亦會破壞糖基化位點。以下突變及其任何組合亦減少C1q結合：D270A、K322A、P329A及P311S(參見WO 06/036291)。

【0249】可增加或減小本文所提供之抗體的半衰期以改變其治療活性。

FcRn為結構上類似於MHC I類抗原之受體，其與 β 2-微球蛋白非共價締合。FcRn調控IgG之分解代謝及其跨組織之轉胞吞作用(Ghetie及Ward, 2000, *Annu. Rev. Immunol.* 18:739-766；Ghetie及Ward, 2002, *Immunol. Res.* 25:97-113)。IgG-FcRn相互作用在pH 6.0 (細胞內囊泡之pH)下發生，但在pH 7.4 (血液pH)下不發生；此種相互作用使IgG能夠再循環回循環中(Ghetie及Ward, 2000, *Ann. Rev. Immunol.* 18:739-766；Ghetie及Ward, 2002, *Immunol. Res.* 25:97-113)。人類IgG₁上參與FcRn結合之區域已經定位(Shields等人, 2001, *J. Biol. Chem.* 276:6591-604)。人類IgG₁之位置Pro238、Thr256、Thr307、Gln311、Asp312、Glu380、Glu382或Asn434處之丙胺酸取代會增強FcRn結合(Shields等人, 2001, *J. Biol. Chem.* 276:6591-604)。帶有此等取代之IgG₁分子具有更長血清半衰期。因此，與未經修飾之IgG₁相比，此等經修飾之IgG₁分子能夠在更長時段內執行其效應功能，且因此發揮其治療功效。用於增加與FcRn之結合的其他例示性取代包括位置250處之Gln及/或位置428處之Leu。其他研究已顯示，可藉由在以下Fc區殘基中之一或多者處引入一或多個取代來改良Fc區與FcRn之結合：238、256、265、272、286、303、305、307、311、312、317、340、356、360、362、376、378、380、382、413、424或434，例如，Fc區殘基434之取代(參見例如美國專利第7,371,826號；及US 7,361,740)。

【0250】在某些實施例中，如本文所提供之抗體包括一或多個修飾，以增加或減少抗體糖基化之程度。可藉由改變胺基酸序列，使得產生或移除一或多個糖基化位點來便利地實現抗體中糖基化位點之添加或缺失。

【0251】 當抗體包含Fc區時，與其連接之碳水化合物可發生改變。由哺乳動物細胞產生之原生抗體典型地包含分支、雙觸角寡糖，該寡糖一般藉由N鍵聯連接至Fc區之CH2域的Asn297。參見例如Wright等人 TIBTECH 15:26-32 (1997)。寡糖可包括多種碳水化合物，例如，甘露糖、N-乙醯基葡萄糖胺(GlcNAc)、半乳糖及唾液酸，以及連接至雙觸角寡糖結構之「幹」中之GlcNAc的岩藻糖。

【0252】 對IgG上之此種糖型進行工程改造可顯著改良IgG介導之ADCC。將二等分N-乙醯葡萄糖胺修飾(Umana等人, 1999, *Nat. Biotechnol.* 17:176-180 ; Davies等人, 2001, *Biotech. Bioeng.* 74:288-94)添加至此種糖型中或自此種糖型移除岩藻糖(Shields等人, 2002, *J. Biol. Chem.* 277:26733-40 ; Shinkawa等人, 2003, *J. Biol. Chem.* 278:6591-604 ; Niwa等人, 2004, *Cancer Res.* 64:2127-33)為IgG Fc工程改造之兩個實例，其改良IgG Fc與FcγR之間的結合，從而增強Ig介導之ADCC活性。包括此類取代或工程改造之抗體包括於本文所提供之一些實施例中。

【0253】 在某些實施例中，提供具有缺乏連接(直接地或間接地)至Fc區之岩藻糖之碳水化合物結構的抗體。舉例而言，此種抗體中岩藻糖之量可為1%至80%、1%至65%、5%至65%或20%至40%。藉由相對於連接至Asn 297之所有糖結構(例如，複雜、雜合及高甘露糖結構)之總和，計算糖鏈內Asn297處之岩藻糖之平均量來確定岩藻糖之量，如藉由MALDI-TOF質譜法所量測，例如，如WO 2008/077546中所述。Asn297係指位於Fc區中大約位置297 (Fc區殘基之EU編號)處之天冬醯胺殘基；然而，由於抗體中之微小序列變異，Asn297亦可位於位置297上游或下游約± 3個胺基酸處，亦即，位置294與300之間。此類岩藻糖基化變異體可具有改良之ADCC功能。參見例如美國專利公開案第US 2003/0157108號 (Presta, L.)；第US 2004/0093621號(Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd)。關於「去岩藻

糖基化」或「岩藻糖缺乏」抗體變異體之出版物的實例包括：US 2003/0157108；WO 2000/61739；WO 2001/29246；US 2003/0115614；US 2002/0164328；US 2004/0093621；US 2004/0132140；US 2004/0110704；US 2004/0110282；US 2004/0109865；WO 2003/085119；WO 2003/084570；WO 2005/035586；WO 2005/035778；WO2005/053742；WO2002/031140；Okazaki等人 *J. Mol. Biol.* 336:1239-1249 (2004)；Yamane-Ohnuki等人 *Biotech. Bioeng.* 87: 614 (2004)。能夠產生去岩藻糖基化抗體之細胞株的實例包括缺乏蛋白質岩藻糖基化之Lec13 CHO細胞(Ripka等人 *Arch. Biochem. Biophys.* 249:533-545 (1986)；美國專利申請案第US 2003/0157108 A1號，Presta, L；及WO 2004/056312 A1，Adams等人，尤其實例11)，及基因剔除細胞株，諸如 α -1,6-岩藻糖基轉移酶基因FUT8基因剔除CHO細胞(參見例如Yamane-Ohnuki等人 *Biotech. Bioeng.* 87: 614 (2004)；Kanda, Y.等人, *Biotechnol. Bioeng.*, 94(4):680-688 (2006)；及WO2003/085107)。

【0254】進一步提供含有二等分寡醣之其他抗體，例如，其中連接至抗體Fc區之雙觸角寡醣由GlcNAc二等分。此類抗體可具有減少之岩藻糖基化及/或改良之ADCC功能。此類抗體之實例描述於例如WO 2003/011878 (Jean-Mairet等人)；美國專利第6,602,684號(Umana等人)；及US 2005/0123546 (Umana等人)中。亦提供在連接至Fc區之寡醣中具有至少一個半乳糖殘基之抗體。此類抗體變異體可具有改良之CDC功能。此類抗體變異體描述於例如WO 1997/30087 (Patel等人)；WO 1998/58964 (Raju, S.)；及WO 1999/22764 (Raju, S.)中。

【0255】在一些實施例中，如本文所提供之抗體變異體包括胺基酸位置234、235、237、239、267、298、299、326、330或332處之原生胺基酸經取代為半胱胺酸殘基，較佳為人類IgG1同型中之S239C突變(恆定區之取代係根據EU

索引)。額外半胱胺酸殘基之存在允許形成鏈間二硫鍵。此種鏈間二硫鍵形成可引起空間位阻，從而降低Fc區-FcγR結合相互作用之親和力。在IgG恆定區之Fc區中或附近引入半胱胺酸殘基亦可用作與治療劑接合之位點(例如，使用硫醇特異性試劑，諸如藥物之順丁烯二醯亞胺衍生物，偶合細胞毒性藥物)。治療劑之存在引起空間位阻，從而進一步降低Fc區-FcγR結合相互作用之親和力。位置234、235、236及/或237中任一者處之其他取代降低對Fcγ受體、特別為FcγRI受體之親和力(參見例如US 6,624,821、US 5,624,821)。

【0256】 在其他經半胱胺酸工程改造之抗體變異體中，一或多個反應性硫醇基團位於抗體之可及位點處，且可用於將抗體接合至其他部分，諸如藥物部分或連接子-藥物部分，以產生免疫接合物，如本文進一步描述。在某些實施例中，以下殘基中之任何一或多者可經半胱胺酸取代：輕鏈之V205 (Kabat編號)；重鏈之A118 (EU編號)；及重鏈Fc區之5400 (EU編號)。經半胱胺酸工程改造之抗體的產生描述於例如美國專利第7,521,541號中。

【0257】 所提供之某些抗體或其抗原結合片段包括對恆定區之以下修飾。

【0258】 本文所提供之抗原結合蛋白包括與上文所述之例示性抗體或其抗原結合片段之一競爭與CEACAM5之特異性結合的彼等。在此等實施例中之一些實施例中，測試及參考抗體或其抗原結合片段彼此交叉競爭。此種抗體或其抗原結合片段可結合至與本文所述之抗原結合蛋白之一相同的抗原決定基，或結合至重疊抗原決定基。預期抗體或其抗原結合片段(包括與例示性抗體競爭之片段)顯示類似之功能特性(例如，上文所述之一或多種活性)。例示性抗體或其抗原結合片段及片段包括上文所述之彼等，包括具有以下之彼等：1)重鏈及/或輕鏈，2) VH及/或VL，及/或3)包含本文所提供之一或多個CDR。

【0259】 因此，在一些實施例中，所提供之抗體或其抗原結合片段包括與具有以下之抗體競爭之彼等：本文所提供之相同抗體所列之全部6個CDR。

【0260】 在本章節中所述之任何實施例中，抗體或其抗原結合片段可具有本文所列活性之任何組合或全部。在進一步之此類實施例中，測試及參考抗體或其抗原結合片段彼此交叉競爭。

【0261】 在一些實施例中，藉由表面電漿子共振分析(例如，BIACORE®)來確定競爭或交叉競爭(參見例如Abdiche等人, 2009, *Anal. Biochem.* 386:172-180；Abdiche等人, 2012, *J. Immunol Methods* 382:101-116；及Abdiche等人, 2014 *PLoS One* 9:e92451

【0262】 在另一個實施例中，所提供之抗原結合蛋白包括與本文所述之任何抗體或其抗原結合片段結合相同抗原決定基之彼等。多種技術可用於鑑定與本文所述之一或多種抗體或其抗原結合片段結合相同抗原決定基之抗體或其抗原結合片段。此類方法包括例如本文所述之競爭檢定、肽片段篩選、基於MS之蛋白質足跡、丙胺酸或麩醯胺掃描方法，及經由提供抗原決定基之原子解析度之抗原:抗原結合蛋白複合物晶體的x射線分析。

【0263】 一種用於確定由特異性抗體結合之抗原決定基或抗原決定基區域(「抗原決定基區域」為包含抗原決定基或與抗原決定基重疊之區域)的方法涉及評價抗體或其抗原結合片段與包含CEACAM5片段(例如，非變性或變性片段)之肽的結合。可製備一系列包含CEACAM5 (例如，人類CEACAM5)序列之重疊肽且篩選其結合，例如，在直接ELISA、競爭性ELISA (其中評價肽阻止抗體與微量滴定板孔所結合之CEACAM5結合的能力)或在晶片上。此類肽篩選方法可

能無法偵測一些不連續功能性抗原決定基，亦即，涉及沿CEACAM5多肽鏈之一級序列不連續之胺基酸殘基的功能性抗原決定基。

【0264】 在其他實施例中，可藉由使CEACAM5中之特定殘基發生突變且確定抗體或其抗原結合片段是否可結合突變型或變異型CEACAM5蛋白質來鑑定含有與抗體接觸或由抗體掩埋之殘基的區域。藉由進行許多個別突變，可鑑定在結合中起直接作用或與抗體足夠接近之殘基，使得突變可影響抗原結合蛋白與抗原之間的結合。根據此等胺基酸之知識，可闡明含有與抗體或其抗原結合片段接觸或者由抗體覆蓋之殘基之抗原的結構域或區域。此種結構域可包括抗體之結合抗原決定基。此類掃描技術之通用方法涉及用精胺酸及/或麩胺酸殘基(典型地為個別地)取代野生型多肽中之胺基酸。此兩種胺基酸典型地用於此類掃描技術中，因為其帶電且體積大，且因此有可能破壞引入突變之CEACAM5區域中抗體與CEACAM5之間的結合。野生型抗原中存在之精胺酸經麩胺酸置換。獲得多種此類個體突變體且分析所收集之結合結果以確定哪些殘基影響結合(參見例如Nanevicz, T.等人, 1995, J. Biol. Chem., 270:37, 21619-21625及Zupnick, A.等人, 2006, J. Biol. Chem., 281:29, 20464-20473)。

【0265】 用於鑑定抗原決定基之替代性方法為基於MS之蛋白質足跡，諸如氫/氘交換質譜法(HDX-MS)及蛋白質快速光化學氧化(FPOP)。進行HDX-MS之方法描述於例如Wei等人 (2014) Drug Discovery Today 19:95中。進行FPOP之方法描述於例如Hambley及Gross (2005) J. American Soc. Mass Spectrometry 16:2057中。

【0266】 抗體或其抗原結合片段所結合之抗原決定基亦可藉由結構方法來確定，諸如X射線晶體結構確定、分子建模及核磁共振(NMR)光譜法，包括當

遊離時及當與抗體或其抗原結合片段在複合物中結合時抗原中不穩定醯胺氫之H-D交換率的NMR確定(參見例如Zinn-Justin等人 (1992) *Biochemistry* 31, 11335-11347；及Zinn-Justin等人 (1993) *Biochemistry* 32, 6884-6891)。

【0267】 X射線晶體學分析可使用此項技術中之任何已知方法來完成。結晶方法之實例例如由Giege等人 (1994) *Acta Crystallogr. D*50:339-350；及McPherson (1990) *Eur. J. Biochem.* 189:1-23描述。此類結晶方法包括微批量(例如，Chayen (1997) *Structure* 5:1269-1274)、懸滴蒸氣擴散(例如，McPherson (1976) *J. Biol. Chem.* 251:6300-6303)、接種及透析。一旦形成，抗體:抗原晶體本身可使用熟知之X射線繞射技術進行研究，且可使用電腦軟體，諸如X-PLOR (Yale University, 1992，由Molecular Simulations, Inc.發佈；參見例如Blundell及Johnson (1985) *Meth. Enzymol.* 114及115, H. W. Wyckoff等人編, Academic Press；美國專利申請公開案第2004/0014194號)及BUSTER (Bricogne (1993) *Acta Cryst.* D49:37-60；Bricogne (1997) *Meth. Enzymol.* 276A:361-423, Carter及Sweet編；Roversi等人 (2000) *Acta Cryst.* D56:1313-1323)進行細化。

【0268】 在一些實施例中，抗原結合蛋白以小於60 nM、40 nM、20 nM、10 nM、5 nM、2 nM、1 nM、500 pM、250 pM、100 pM、50 pM、25 pM、10 pM或1 pM之親和力(例如，EC₅₀)結合至CEACAM5。在一些實施例中，抗體或其抗原結合片段以5-10 nM、1-5 nM、500 pM-1 nM、100-250 pM、50-100 pM、10-50 pM或1-10 pM之間的親和力結合至CEACAM5。

4. 衍生物

【0269】 在一些實施例中，抗原結合蛋白為抗原結合蛋白之衍生物，諸如本文所述之彼等為衍生化之抗原結合蛋白，其可包含賦予抗原結合蛋白(例如，

抗體或片段)所需特性，諸如在特定用途中增加之半衰期的任何分子或物質。衍生化之抗原結合蛋白可包含例如可偵測(或標記)部分(例如，放射性、比色、抗原或酶促分子，或可偵測珠粒(諸如磁性或電緻密(例如金)珠粒)；結合至另一分子(例如，生物素或鏈黴親和素)之分子；治療或診斷部分(例如，放射性、細胞毒性或醫藥活性部分)；或增加抗原結合蛋白對特定用途(例如，向諸如人類個體之個體投予，或其他活體內或活體外用途)之適用性的分子。可用於對抗原結合蛋白進行衍生化之分子的實例包括白蛋白(例如，人類血清白蛋白)及聚乙二醇(PEG)。抗原結合蛋白之白蛋白連接及聚乙二醇化衍生物可使用此項技術中熟知之技術來製備。

【0270】 其他衍生物包括抗原結合蛋白與其他蛋白質或多肽之共價或聚集接合物，諸如藉由表現包含與抗原結合蛋白之N端或C端融合之異源多肽的重組融合蛋白。舉例而言，接合之肽可為異源信號(或前導)多肽，例如酵母 α -因子前導子，或肽，諸如抗原決定基標籤。含有抗原結合蛋白之融合蛋白可包含經添加以有助於純化或鑑定抗原結合蛋白之肽(例如，聚His或FLAG肽)。

5. 寡聚物

【0271】 亦提供含有一或多個抗原結合蛋白之寡聚物。寡聚物可呈共價連接或非共價連接之二聚體、三聚體或更高級寡聚體之形式。在一個實施例中，提供包含兩個或更多個抗原結合蛋白之寡聚體，其中一個實例為同二聚體。其他寡聚體包括異二聚體、同三聚體、異三聚體、同四聚體、異四聚體及類似物。

【0272】 一個實施例涉及包含多個CEACAM5抗原結合多肽之寡聚物，該等多肽係經由與CEACAM5抗原結合蛋白融合之肽部分之間的共價或非共價相互作用而連接。此類肽可為肽連接子(間隔體)，或具有促進寡聚化之特性的肽。

白胺酸拉鏈及來源於抗體之某些多肽屬於可促進與其連接之抗原結合蛋白之寡聚化的肽，如下文更詳細描述。

【0273】 在特定實施例中，寡聚物包含兩個至四個CEACAM5抗原結合蛋白。寡聚物之CEACAM5抗原結合蛋白部分可呈上文所述之任何形式，例如，變異體或片段。

【0274】 在一個實施例中，使用來源於免疫球蛋白之多肽來製備寡聚物。包含與源自抗體之多肽之各個部分(包括Fc結構域)融合之某些異源多肽之融合蛋白的製備已例如由Ashkenazi等人, 1991, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:10535；Byrn等人, 1990, Nature 344:677；及Hollenbaugh等人, 1992 「Construction of Immunoglobulin Fusion Proteins」, Current Protocols in Immunology, 增刊4, 第10.19.1-10.19.11頁描述。

【0275】 在另一個實施例中，抗原結合蛋白為藉由將CEACAM5抗原結合蛋白與抗體之Fc區融合而產生之二聚體。二聚體可藉由例如以下方式製備：將編碼融合蛋白之基因融合體插入適當表現載體中，在用重組表現載體轉化之宿主細胞中表現基因融合體，且允許所表現之融合蛋白極其類似於抗體分子一般組裝，由此在Fc部分之間形成鏈間二硫鍵以產生二聚體。

【0276】 或者，寡聚物為包含多個CEACAM5抗原結合蛋白且具有或不具有肽連接子(間隔肽)之融合蛋白。適合之肽連接子有美國專利第4,751,180號及美國專利第4,935,233號中所述之彼等。

【0277】 另一種用於製備寡聚CEACAM5抗原結合蛋白寡聚物之方法涉及使用白胺酸拉鏈。白胺酸拉鏈結構域為促進其所在蛋白質寡聚化之肽(Landschulz等人, 1988, Science 240:1759)。已知之白胺酸拉鏈有天然存在之肽及

其二聚化或三聚化之衍生物。適合於產生可溶性寡聚蛋白質之白胺酸拉鏈結構域之實例描述於PCT申請案WO 94/10308中，且來源於肺表面活性蛋白D (SPD)之白胺酸拉鏈描述於Hoppe等人, 1994, FEBS Letters 344:191中。允許與其融合之異源蛋白質穩定三聚化之經修飾白胺酸拉鏈的使用描述於Fanslow等人, 1994, Semin. Immunol. 6:267-278中。在一種方法中，使包含與白胺酸拉鏈肽融合之CEACAM5抗原結合蛋白片段或衍生物之重組融合蛋白在適合之宿主細胞中表現，且自培養物上清液中回收所形成之可溶性寡聚CEACAM5抗原結合蛋白片段或衍生物。

6. 多特異性抗原結合蛋白

【0278】在又一個態樣中，抗體或其抗原結合片段可為多特異性抗體或其抗原結合片段，例如，多特異性抗體，諸如雙特異性抗體。在某些實施例中，多特異性抗體或其抗原結合片段為對至少兩個不同標靶具有結合特異性之多特異性抗體。在此等實施例中之一些實施例中，一種結合特異性係針對CEACAM5，且另一種結合特異性係針對不同抗原。在其他實施例中，雙特異性抗體結合至CEACAM5之兩個不同抗原決定基。在一些實施例中，雙特異性抗體結合標靶細胞上之抗原且可用於將細胞毒性劑定位至表現CEACAM5之細胞。雙特異性抗體可製備成全長抗體或抗體片段。

【0279】可利用多種用於製備多特異性抗體之技術，包括例如具有不同特異性之兩個免疫球蛋白重鏈-輕鏈對的重組共表現(參見Milstein及Cuello, *Nature* 305: 537 (1983)，WO 93/08829，及Traunecker等人, *EMBO J.* 10: 3655 (1991))，及「杵臼」工程改造(參見例如美國專利第5,731,168號)。多特異性抗體亦可藉由以下方式製備：工程改造靜電操縱效應以製備抗體Fc-異二聚分子(WO

2009/089004A1)；交聯兩個或更多個抗體或片段(參見例如美國專利第4,676,980號，及Brennan等人, *Science*, 229: 81 (1985))；使用白胺酸拉鏈以產生雙特異性抗體(參見例如Kostelny等人, *J. Immunol.*, 148(5):1547-1553 (1992))；及使用「雙功能抗體」技術以製備雙特異性抗體片段(參見例如Hollinger等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90:6444-6448 (1993))；及使用單鏈Fv (sFv)二聚體(參見例如Gruber等人, *J. Immunol.*, 152:5368 (1994))；及如例如Tutt等人 *J. Immunol.* 147: 60 (1991)所述製備三特異性抗體。

【0280】如本文所提供之例示性雙特異性抗體分子包含(i)接合在一起之兩種抗體，其中一者對CEACAM5具有特異性且另一者對第二標靶具有特異性，(ii)具有對CEACAM5具特異性之一條鏈及對第二分子具特異性之第二條鏈的單一抗體，及(iii)對CEACAM5及第二分子具有特異性之單鏈抗體。在某些實施例中，第二標靶/第二分子為除CEACAM5以外之標靶。然而，在另一個實施例中，第二標靶為CEACAM5上之不同區域或抗原決定基，使得雙特異性抗體結合CEACAM5上之兩個不同抗原決定基。

7. 其他例示性形式

【0281】抗原結合蛋白(例如，抗體或其抗原結合片段)可為單一多肽，或可包括兩個、三個、四個、五個、六個、七個、八個、九個或十個(相同或不同)多肽。在抗體或其抗原結合片段為單一多肽之一些實施例中，抗體或抗原結合片段可包括單個抗原結合結構域或兩個抗原結合結構域。在抗體或抗原結合片段為單一多肽且包括兩個抗原結合結構域之一些實施例中，第一抗原結合結構域及第二抗原結合結構域可彼此相同或不同(且可特異性結合至相同或不同抗原或抗原決定基)。

【0282】 本文所述之抗原結合蛋白之不同部分，諸如本文所述之抗體之可變結構域，可按各種組態排列以獲得額外抗原結合蛋白。舉例而言，在抗體或抗原結合片段為單一多肽之一些實施例中，第一抗原結合結構域及第二抗原結合結構域(若存在)可各自獨立地選自以下之群：VH結構域、VHH結構域、VNAR結構域及scFv。在抗體或抗原結合片段為單一多肽之一些實施例中，抗體或抗原結合片段可為BiTE®、(scFv)₂、奈米抗體、奈米抗體-HSA、DART、TandAb、scDiabody、scDiabody-CH3、scFv-CH-CL-scFv、HSAbody、scDiabody-HAS、串聯-scFv、Adnectin、DARPin、纖維連接蛋白及DEP接合物。當抗體或抗原結合片段為單一多肽時可使用之抗原結合結構域的額外實例在此項技術中為已知的。

【0283】 V_HH結構域為駱駝科動物中可發現之單一單體可變抗體結構域。V_{NAR}結構域為軟骨魚中可發現之單一單體可變抗體結構域。V_HH結構域及V_{NAR}結構域之非限制性態樣描述於例如Cromie等人, *Curr. Top. Med. Chem.* 15:2543-2557, 2016；De Genst等人, *Dev. Comp. Immunol.* 30:187-198, 2006；De Meyer等人, *Trends Biotechnol.* 32:263-270, 2014；Kijanka等人, *Nanomedicine* 10:161-174, 2015；Kovaleva等人, *Expert. Opin. Biol. Ther.* 14:1527-1539, 2014；Krah等人, *Immunopharmacol. Immunotoxicol.* 38:21-28, 2016；Mujic-Delic等人, *Trends Pharmacol. Sci.* 35:247-255, 2014；Muyldermans, *J. Biotechnol.* 74:277-302, 2001；Muyldermans等人, *Trends Biochem. Sci.* 26:230-235, 2001；Muyldermans, *Ann. Rev. Biochem.* 82:775-797, 2013；Rahbarizadeh等人, *Immunol. Invest.* 40:299-338, 2011；Van Audenhove等人, *EBioMedicine* 8:40-48, 2016；Van Bockstaele等人, *Curr. Opin. Investig. Drugs* 10:1212-1224, 2009；Vincke等人,

Methods Mol. Biol. 911:15-26, 2012；及Wesolowski等人, *Med. Microbiol. Immunol.* 198:157-174, 2009中。

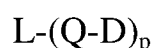
【0284】在抗體或抗原結合片段為單一多肽且包括兩個抗原結合結構域之一些實施例中，第一抗原結合結構域及第二抗原結合結構域可均為VHH結構域，或至少一個抗原結合結構域可為VHH結構域。在抗體或抗原結合片段為單一多肽且包括兩個抗原結合結構域之一些實施例中，第一抗原結合結構域及第二抗原結合結構域均為V_{NAR}結構域，或至少一個抗原結合結構域為V_{NAR}結構域。在抗體或抗原結合結構域為單一多肽之一些實施例中，第一抗原結合結構域為scFv結構域。在抗體或抗原結合片段為單一多肽且包括兩個抗原結合結構域之一些實施例中，第一抗原結合結構域及第二抗原結合結構域可均為scFv結構域，或至少一個抗原結合結構域可為scFv結構域。

【0285】在一些實施例中，抗體或抗原結合片段可包括兩個或更多個多肽(例如，兩個、三個、四個、五個、六個、七個、八個、九個或十個多肽)。在抗體或抗原結合片段包括兩個或更多個多肽之一些實施例中，兩個或更多個多肽中之兩個、三個、四個、五個或六個多肽可為相同的。

B. 藥物及連接子

【0286】下文描述本發明之許多實施例，此並不意謂以任何方式限制本發明，繼之以對構成接合物之組分的更詳細論述。熟習此項技術者應理解，所鑑定之各接合物及其任何所選實施例意圖包括各組分及連接子之全部範疇。

【0287】在一些實施例中，本文提供具有下式之ADC：

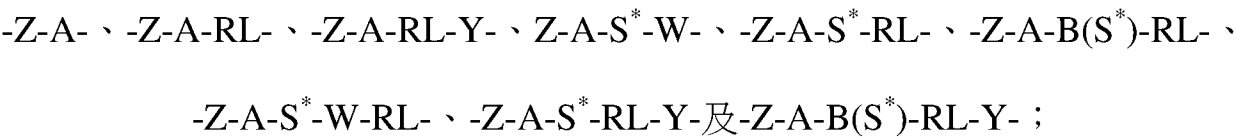


或其鹽，其中

L為包含結合至CEACAM5之抗體或其抗原結合片段之配位體單元；

下標p為1至16之整數；

Q為具有選自由以下組成之群之式的連接子單元：



其中Z為延伸體單元；

A為一鍵結或連接體單元；

B為並聯連接體單元；

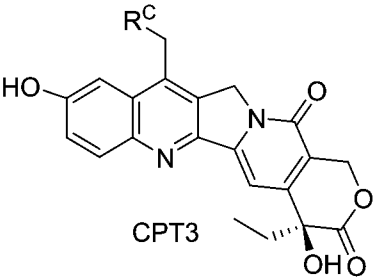
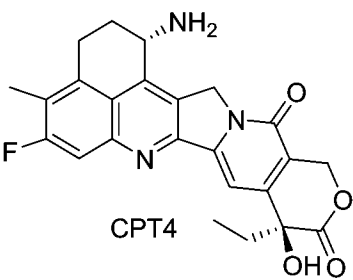
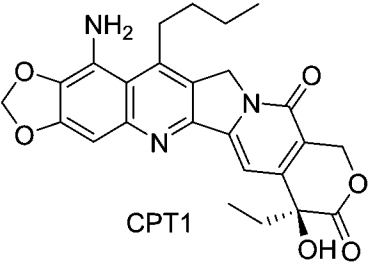
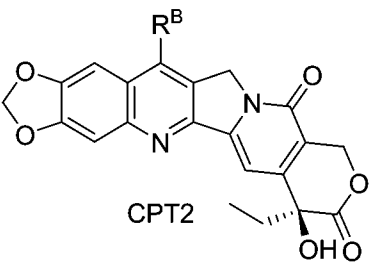
S^{*}為分隔劑；

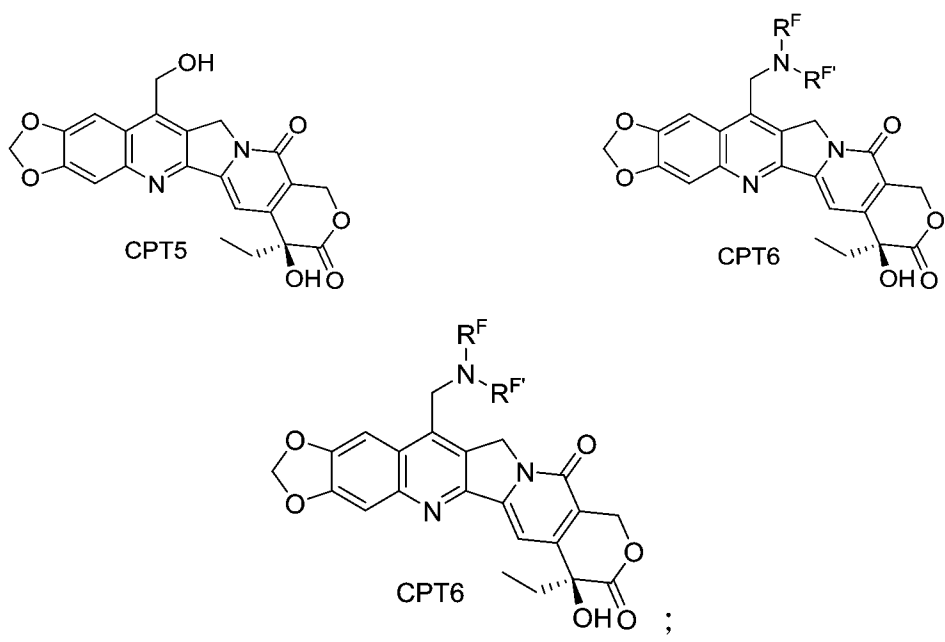
W為肽單元；

RL為可釋放單元；

Y為間隔體單元；且

D為選自由以下組成之群的藥物單元：





其中 R^B 為選自由H、 C_1 - C_8 烷基、 C_1 - C_8 鹵烷基、 C_3 - C_8 環烷基、(C_3 - C_8 環烷基)- C_1 - C_4 烷基-、苯基及苯基- C_1 - C_4 烷基-組成之群的成員；

R^C 為選自由 C_1 - C_6 烷基及 C_3 - C_6 環烷基組成之群的成員；

各 R^F 及 R^F 為獨立地選自由-H、 C_1 - C_8 烷基、 C_1 - C_8 羥烷基、 C_1 - C_8 胺基烷基、(C_1 - C_4 烷基胺基)- C_1 - C_8 烷基-、 N,N -(C_1 - C_4 羥烷基)(C_1 - C_4 烷基)胺基- C_1 - C_8 烷基-、 N,N -二(C_1 - C_4 烷基)胺基- C_1 - C_8 烷基-、 N -(C_1 - C_4 羥烷基)- C_1 - C_8 胺基烷基、 C_1 - C_8 烷基-C(O)-、 C_1 - C_8 羥烷基-C(O)-、 C_1 - C_8 胺基烷基-C(O)-、 C_3 - C_{10} 環烷基、(C_3 - C_{10} 環烷基)- C_1 - C_4 烷基-、 C_3 - C_{10} 雜環烷基、(C_3 - C_{10} 雜環烷基)- C_1 - C_4 烷基-、苯基、苯基- C_1 - C_4 烷基-、二苯基- C_1 - C_4 烷基-、雜芳基及雜芳基- C_1 - C_4 烷基-組成之群的成員，或

R^F 及 R^F 與各自所連接之氮原子組合形成具有0至3個選自由鹵素、 C_1 - C_4 烷基、-OH、-OC $_1$ - C_4 烷基、-NH $_2$ 、-NHC $_1$ - C_4 烷基及-N(C_1 - C_4 烷基) $_2$ 組成之群之取代基的5員、6員或7員環；且其中 R^B 、 R^C 、 R^F 及 R^F 之環烷基、雜環烷基、苯基及雜芳基部分經0至3個選自由鹵素、 C_1 - C_4 烷基、-OH、-OC $_1$ - C_4 烷基、-NH $_2$ 、-NHC $_1$ - C_4 烷基及-N(C_1 - C_4 烷基) $_2$ 組成之群的取代基取代；且

其中當Q為-Z-A-RL-、-Z-A-RL-Y-、-Z-A-S*-RL-、-Z-A-B(S*)-RL-、
-Z-A-S*-RL-Y-或-Z-A-B(S*)-RL-Y-，其中RL為本文所揭示之可釋放連接子中之
任一者時，D與Q之連接點係經由CPT1、CPT2、CPT3、CPT4、CPT5、CPT6或
CPT7上存在之羥基或一級胺或二級胺官能基中之任一者的雜原子，或

其中當Q為-Z-A-、-Z-A-S*-W-或-Z-A-B(S*)-W-時，或當Q為-Z-A-S*-RL-、
-Z-A-B(S*)-RL-、-Z-A-S*-W-RL-或-Z-A-B(S*)-W-RL-，其中RL為並非葡萄糖醛
酸苷單元之可釋放單元時，D與Q之連接點係經由CPT1、CPT2、CPT3、CPT4、
CPT5、CPT6或CPT7之內酯環中之羥基取代基的氧原子；且

前提條件為當連接點為CPT6之胺基之氮原子時，R^F及R^F中之至少一者為
-H，且

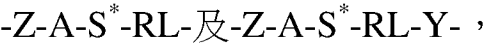
前提條件為當D為經由其胺基連接之CPT1時，-Z-A-RL-、-Z-A-RL-Y-、-Z-
A-S*-RL-、-Z-A-B(S*)-RL-、-Z-A-S*-RL-Y-及-Z-A-B(S*)-RL-Y-之-Z-A-不為丁
二醯亞胺基-己醯基-β-丙胺醯基，視情況具有水解形式之丁二醯亞胺環。

- 【0288】 在一組實施例中，D具有式CPT5。
- 【0289】 在一組實施例中，D具有式CPT2。
- 【0290】 在一組實施例中，D具有式CPT3。
- 【0291】 在一組實施例中，D具有式CPT4。
- 【0292】 在一組實施例中，D具有式CPT1。
- 【0293】 在一組實施例中，D具有式CPT6。
- 【0294】 在一組實施例中，D具有式CPT7。
- 【0295】 在一組實施例中，Q具有選自由以下組成之群的式：

-Z-A-RL-及-Z-A-RL-Y-，

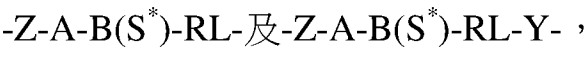
其中RL為作為葡萄糖醛酸苷單元之可釋放連接子，且基團Z、A及Y具有上文及本文特定敘述之任一實施例中所提供之含義。

【0296】 在一組實施例中，Q具有選自由以下組成之群的式：



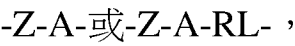
其中RL為作為葡萄糖醛酸苷單元之可釋放連接子，且基團Z、A、S^{*}及Y具有上文及本文特定敘述之任一實施例中所提供之含義。

【0297】 在一組實施例中，Q具有選自由以下組成之群的式：



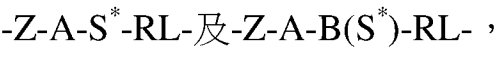
其中RL為作為葡萄糖醛酸苷單元之可釋放連接子，且基團Z、A、S^{*}、B及Y具有上文及本文特定敘述之任一實施例中所提供之含義。

【0298】 在另一組實施例中，Q具有選自由以下組成之群的式：



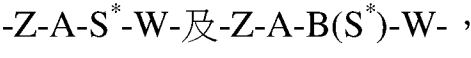
其中RL為並非葡萄糖醛酸苷單元之可釋放連接子，且基團Z及A具有上文及本文特定敘述之任一實施例中所提供之含義。

【0299】 在另一組實施例中，Q具有選自由以下組成之群的式：



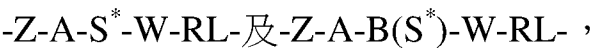
其中RL為並非葡萄糖醛酸苷單元之可釋放連接子，且基團Z、A、S^{*}及B具有上文及本文特定敘述之任一實施例中所提供之含義。

【0300】 在另一組實施例中，Q具有選自由以下組成之群的式：



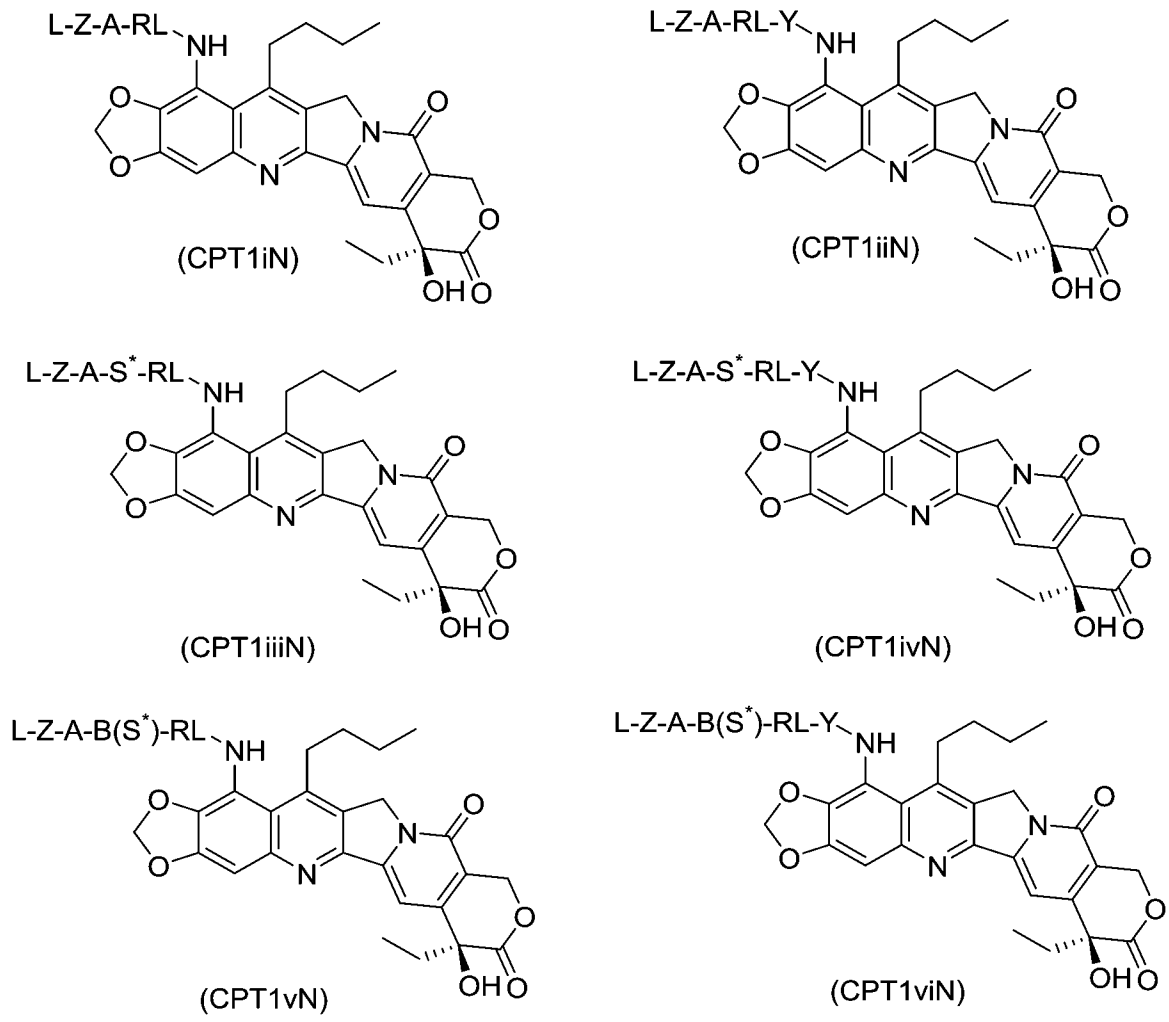
其中基團Z、A、S^{*}、B及W具有上文及本文特定敘述之任一實施例中所提供之含義。

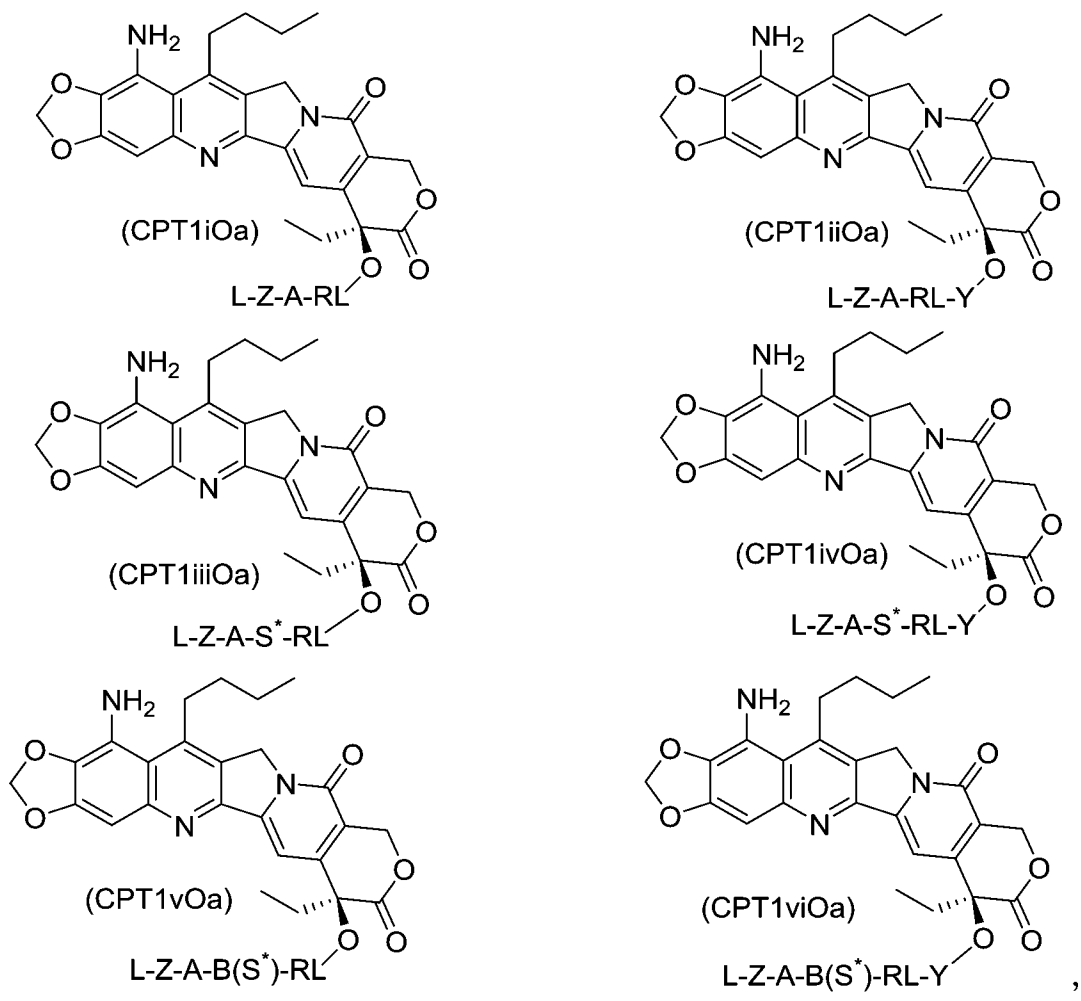
【0301】 在另一組實施例中，Q具有選自由以下組成之群的式：



其中RL為並非葡萄糖醛酸苷單元之可釋放連接子，且基團Z、A、S^{*}、B及W具有上文及本文特定敘述之任一實施例中所提供之含義。

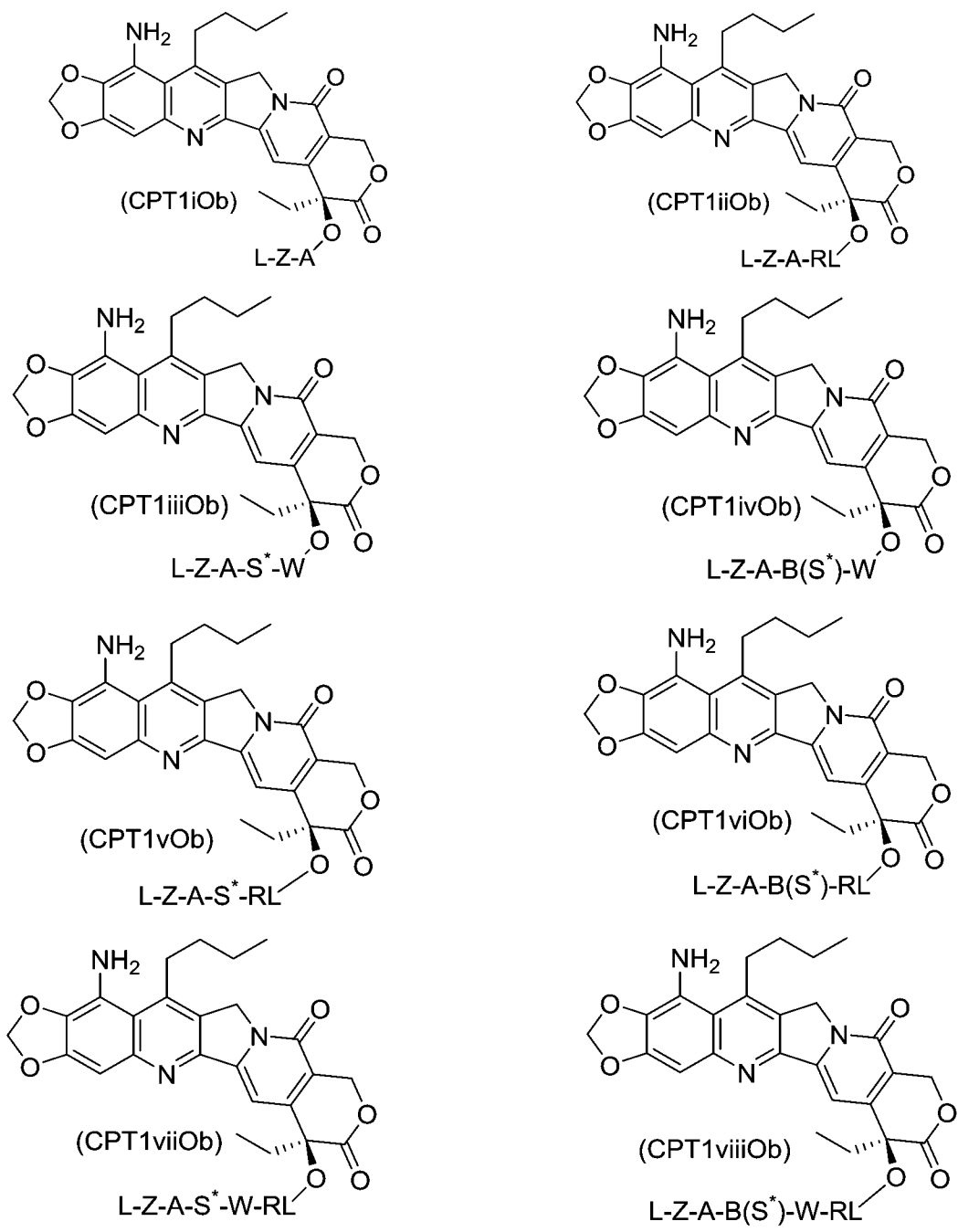
【0302】 在一組實施例中，其中Q具有式-Z-A-RL-、-Z-A-RL-Y-、-Z-A-S^{*}-RL-、-Z-A-S^{*}-RL-Y-、-Z-A-B(S^{*})-RL-或-Z-A-B(S^{*})-RL-Y-且包含具有式CPT1之藥物單元的ADC由下式表示：





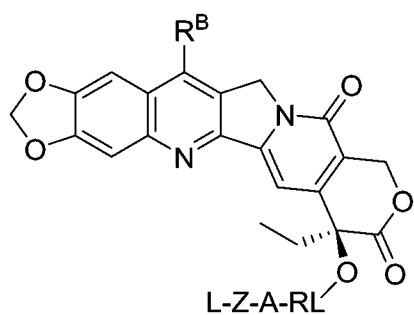
分別地，其中RL為本文所揭示之可釋放連接子中之任一者，較佳地，RL為葡萄糖醛酸苷單元，且基團L、Z、A、S*、B及Y具有上文及本文特定敘述之任一實施例中所提供之含義，前提條件為式CPT1iN、CPT1iiN、CPT1iiiN、CPT1ivN、CPT1vN及CPT1viN之-Z-A-不為丁二醯亞胺基-己醯基-β-丙胺醯基，視情況具有水解形式之丁二醯亞胺環。

【0303】 在其他實施例中，其中Q具有式-Z-A-、-Z-A-RL-、-Z-A-S*-W-、-Z-A-B(S*)-W-、-Z-A-S*-RL-、-Z-A-B(S*)-RL-、-Z-A-S*-W-RL-及-Z-A-B(S*)-W-RL-且包含具有式CPT1之藥物單元的ADC由下式表示：

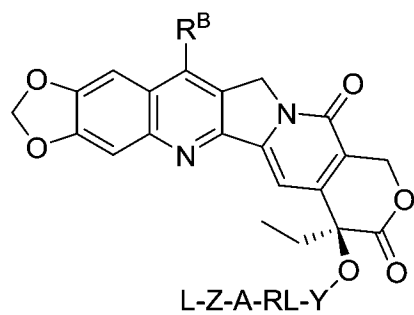


分別地，其中RL為並非葡萄糖醛酸苷單元之可釋放連接子，且基團L、Z、A、S^{*}、B及W具有上文及本文特定敘述之任一實施例中所提供之含義。

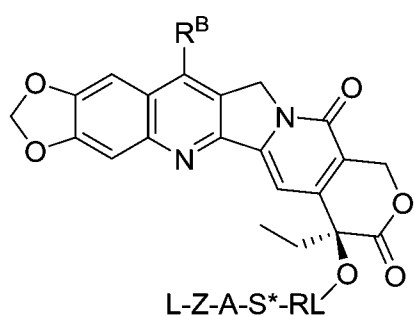
【0304】 在另一組實施例中，其中Q具有式-Z-A-RL-、-Z-A-RL-Y-、-Z-A-S^{*}-RL-、-Z-A-S^{*}-RL-Y-、-Z-A-B(S^{*})-RL-或-Z-A-B(S^{*})-RL-Y-且包含具有式CPT2之藥物單元的ADC由下式表示：



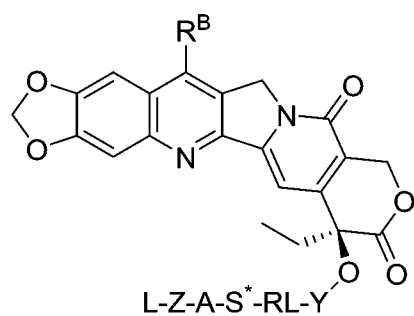
(CPT2iOa)



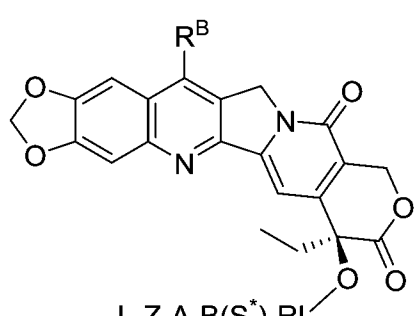
(CPT2iiOa)



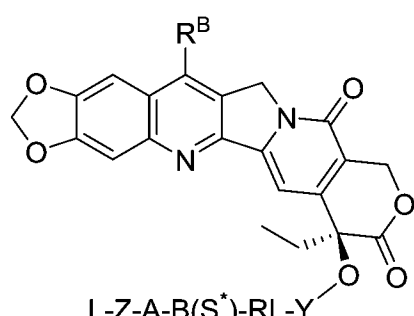
(CPT2iiiOa)



(CPT2ivOa)



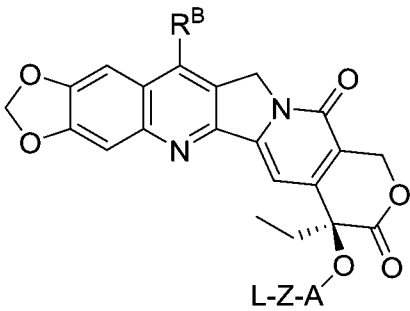
(CPT2vOa)



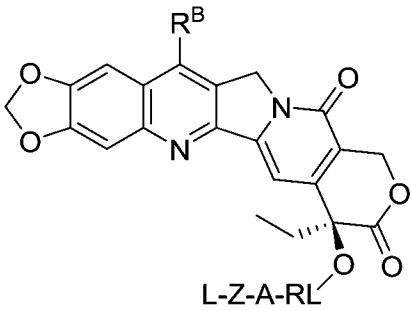
(CPT2viOa)

分別地，其中RL為本文所揭示之可釋放連接子中之任一者，較佳地，RL為葡萄糖醛酸苷單元，且基團L、Z、A、S*、B及Y具有上文及本文特定敘述之任一實施例中所提供之含義。

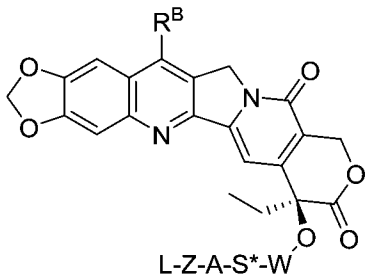
【0305】 在其他實施例中，其中Q具有式-Z-A-、-Z-A-RL-、-Z-A-S*-W-、-Z-A-B(S*)-W-、-Z-A-S*-RL-、-Z-A-B(S*)-RL-、-Z-A-S*-W-RL-及-Z-A-B(S*)-W-RL-且包含具有式CPT2之藥物單元的ADC由下式表示：



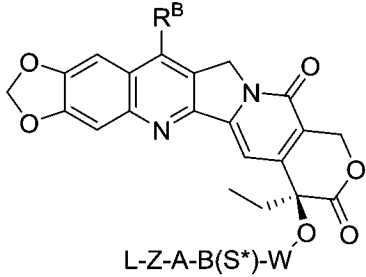
(CPT2iOb)



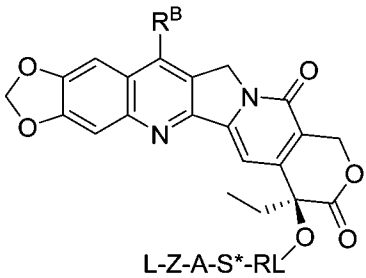
(CPT2iiOb)



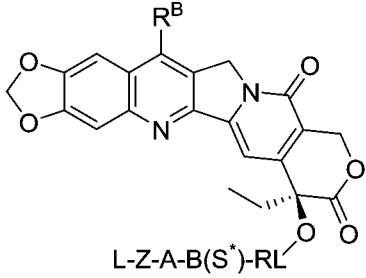
(CPT2iiiOb)



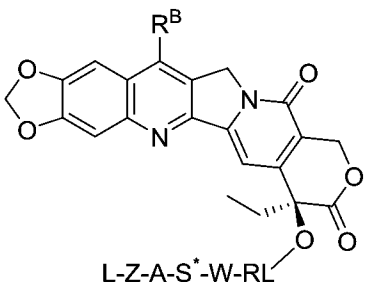
(CPT2ivOb)



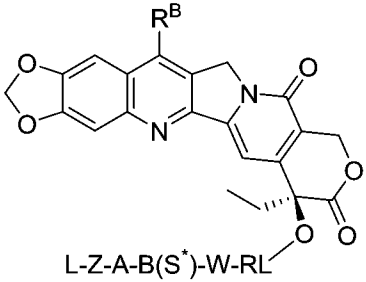
(CPT2vOb)



(CPT2viOb)



(CPT2viiOb)



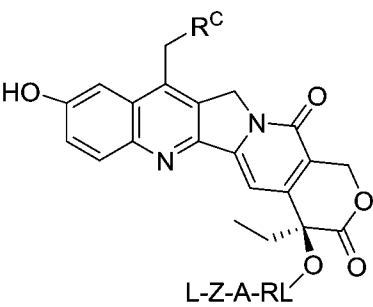
(CPT2viiiOb)

分別地，其中 RL 為並非葡萄糖醛酸苷單元之可釋放連接子，且基團 L 、 Z 、 A 、 S^* 、 B 及 W 具有上文及本文特定敘述之任一實施例中所提供之含義。

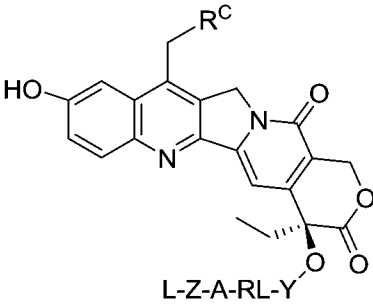
【0306】 在一組實施例中，式CPT2iOa、CPT2iiOa、CPT2iiiOa、CPT2ivOa、CPT2vOa、CPT2viOa、CPT2iOb、CPT2iiOb、CPT2iiiOb、CPT2ivOb、CPT2vOb、CPT2viOb、CPT2viiOb或CPT2viiiOb中之R^B為選自由-H、C₁-C₈烷基及C₁-C₈鹵烷基組成之群的部分。

【0307】 在一組實施例中，式CPT2iOa、CPT2iiOa、CPT2iiiOa、CPT2ivOa、CPT2vOa、CPT2viOa、CPT2iOb、CPT2iiOb、CPT2iiiOb、CPT2ivOb、CPT2vOb、CPT2viOb、CPT2viiOb或CPT2viiiOb中之R^B為選自由C₃-C₈環烷基、(C₃-C₈環烷基)-C₁-C₄烷基-、苯基及苯基-C₁-C₄烷基-組成之群的部分，且其中R^B之環烷基及苯基部分經0至3個選自由鹵素、C₁-C₄烷基、-OH、-OC₁-C₄烷基、-NH₂、-NHC₁-C₄烷基及-N(C₁-C₄烷基)₂組成之群的取代基取代。

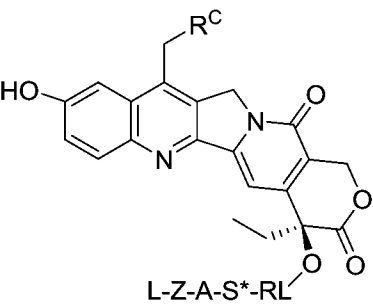
【0308】 在另一組實施例中，其中Q具有式-Z-A-RL-、-Z-A-RL-Y-、-Z-A-S*-RL-、-Z-A-S*-RL-Y-、-Z-A-B(S*)-RL-或-Z-A-B(S*)-RL-Y-且包含具有式CPT3之藥物單元的ADC由下式表示：



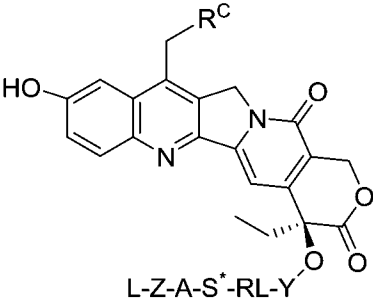
(CPT3iOa)



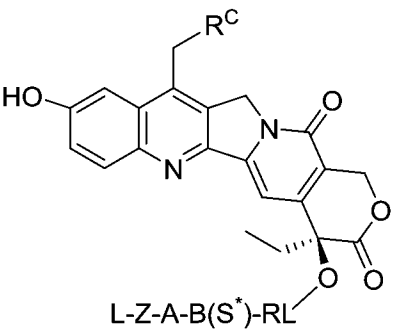
(CPT3iiOa)



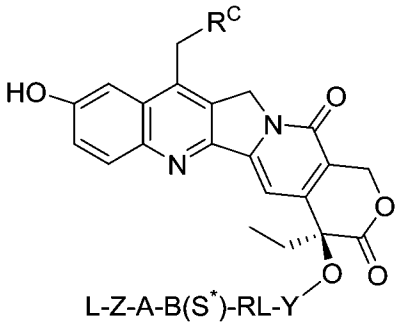
(CPT3iiiOa)



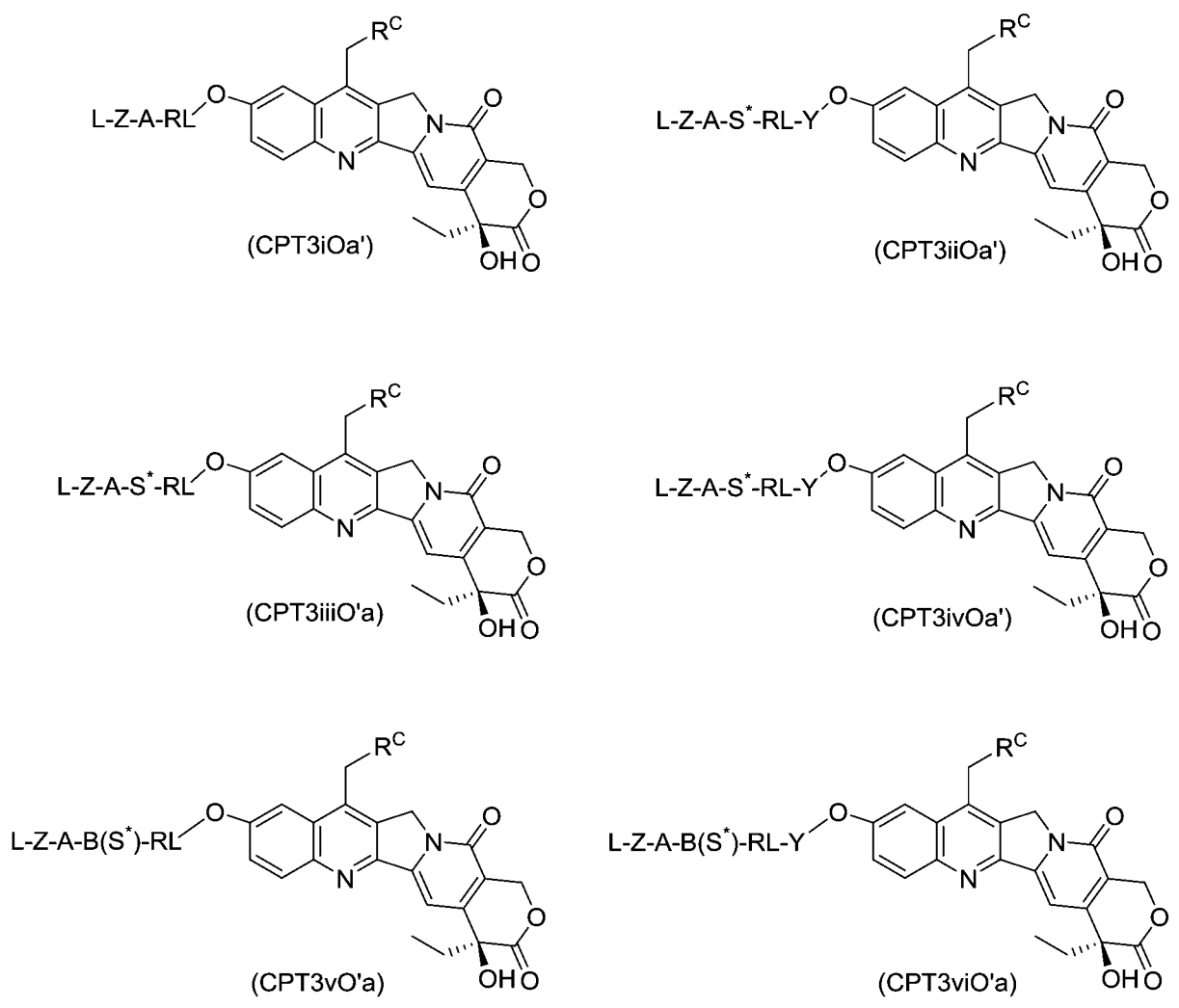
(CPT3ivOa)



(CPT3vOa)

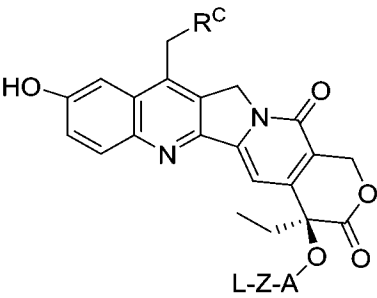


(CPT3viOa)

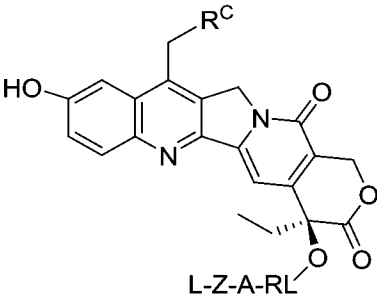


分別地，其中RL為本文所揭示之可釋放連接子中之任一者，較佳地，RL為葡萄糖醛酸苷單元，且基團L、Z、A、S^{*}、B及Y具有上文及本文特定敘述之任一實施例中所提供之含義。

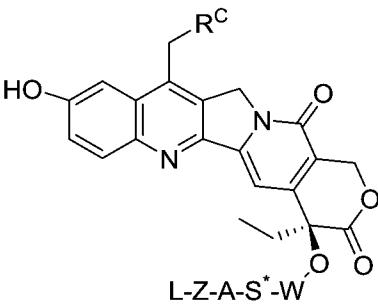
【0309】 在其他實施例中，其中Q具有式-Z-A-、-Z-A-RL-、-Z-A-S^{*}-W-、-Z-A-B(S^{*})-W-、-Z-A-S^{*}-RL-、-Z-A-B(S^{*})-RL-、-Z-A-S^{*}-W-RL-及-Z-A-B(S^{*})-W-RL-且包含具有式CPT3之藥物單元的ADC由下式表示：



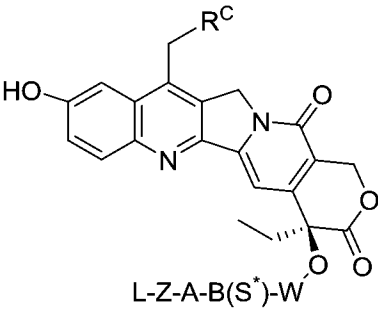
(CPT3iOb)



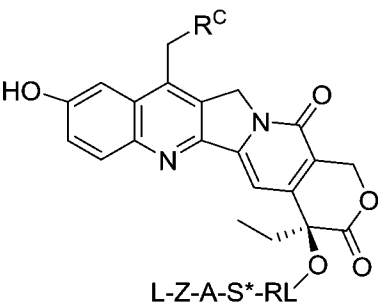
(CPT3iiOb)



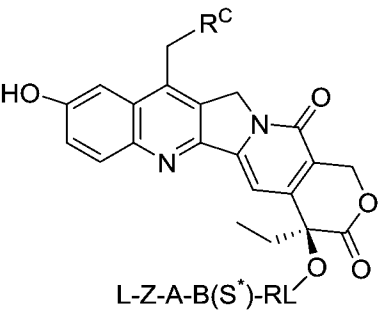
(CPT3iiiOb)



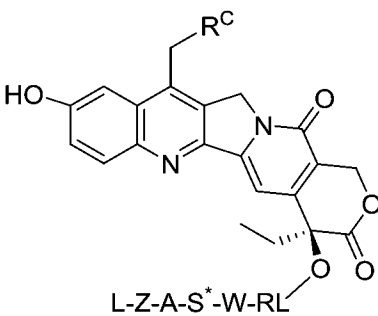
(CPT3ivOb)



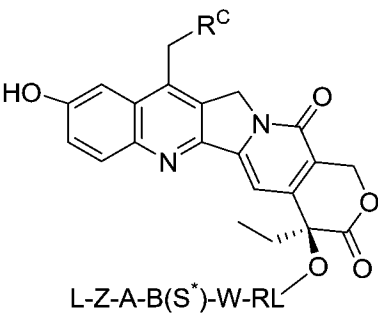
(CPT3vOb)



(CPT3viOb)



(CPT3viiOb)



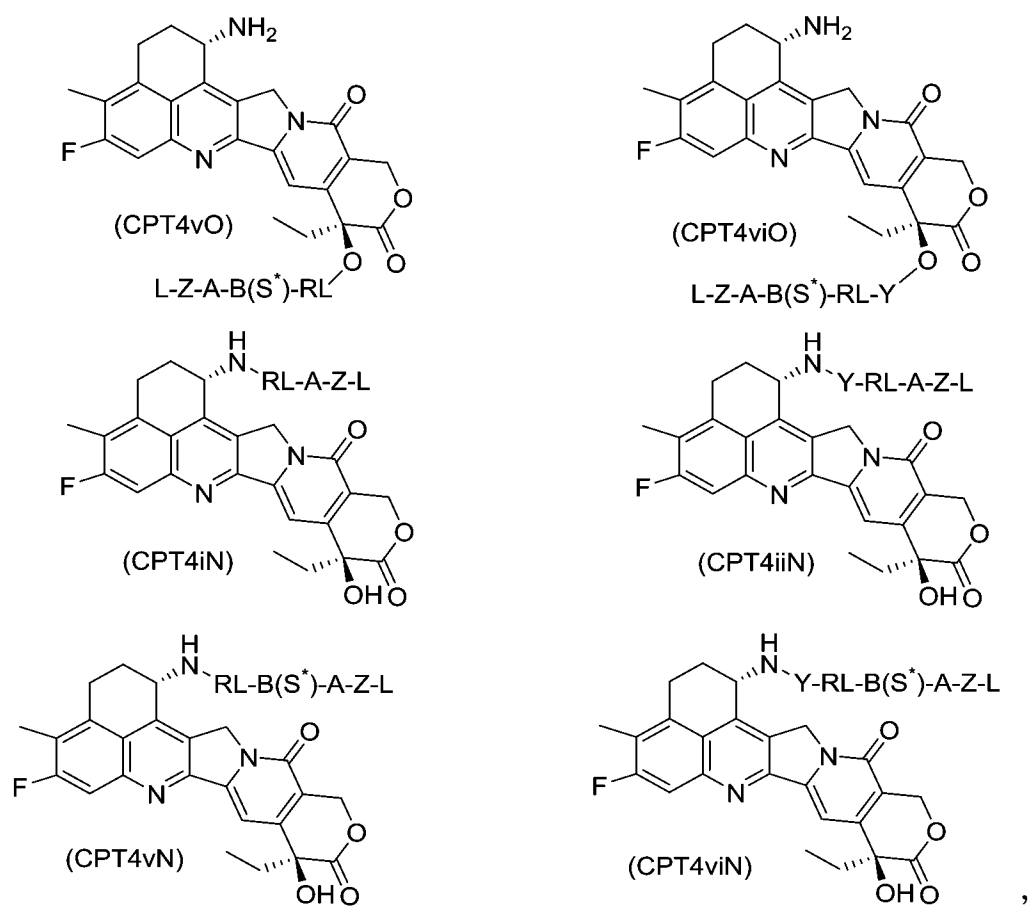
(CPT3viiiOb) ,

分別地，其中RL為並非葡萄糖醛酸苷單元之可釋放連接子，且基團L、Z、A、 S^* 、B及W具有上文及本文特定敘述之任一實施例中所提供之含義。

【0310】 在一組實施例中，式CPT3iOa、CPT3iiOa、CPT3iiiOa、CPT3ivOa、CPT3vOa、CPT3viOa、CPT3iO'a、CPT3iiO'a、CPT3iiiO'a、CPT3ivO'a、CPT3vO'a、CPT3viO'a、CPT3iOb、CPT3iiOb、CPT3iiiOb、CPT3ivOb、CPT3vOb、CPT3viOb、CPT3viiOb或CPT3viiiOb中之R^C為C₁-C₆烷基。

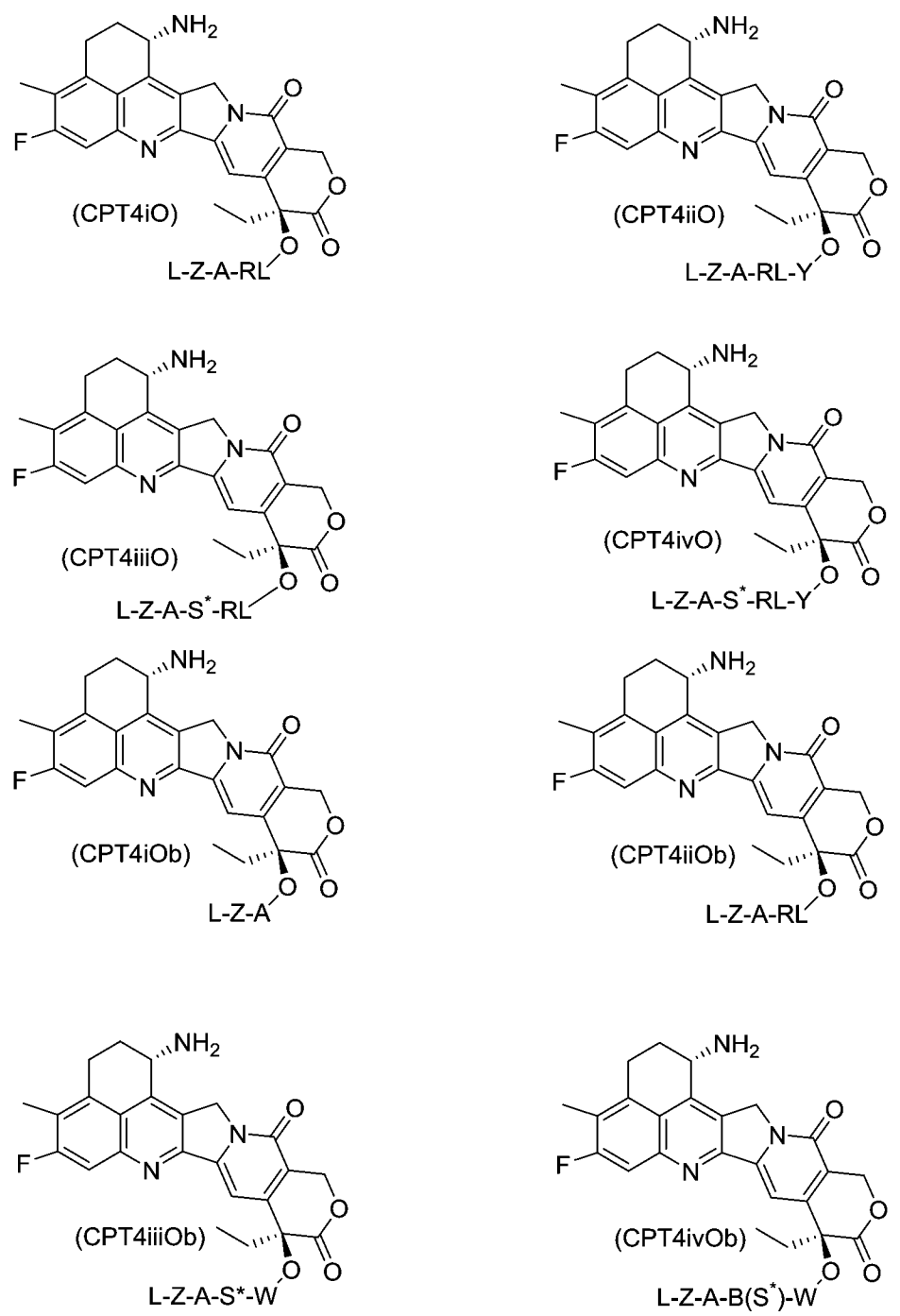
【0311】 在一組實施例中，式CPT3iOa、CPT3iiOa、CPT3iiiOa、CPT3ivOa、CPT3vOa、CPT3viOa、CPT3iO'a、CPT3iiO'a、CPT3iiiO'a、CPT3ivO'a、CPT3vO'a、CPT3viO'a、CPT3iOb、CPT3iiOb、CPT3iiiOb、CPT3ivOb、CPT3vOb、CPT3viOb、CPT3viiOb或CPT3viiiOb中之R^C為C₃-C₆環烷基。

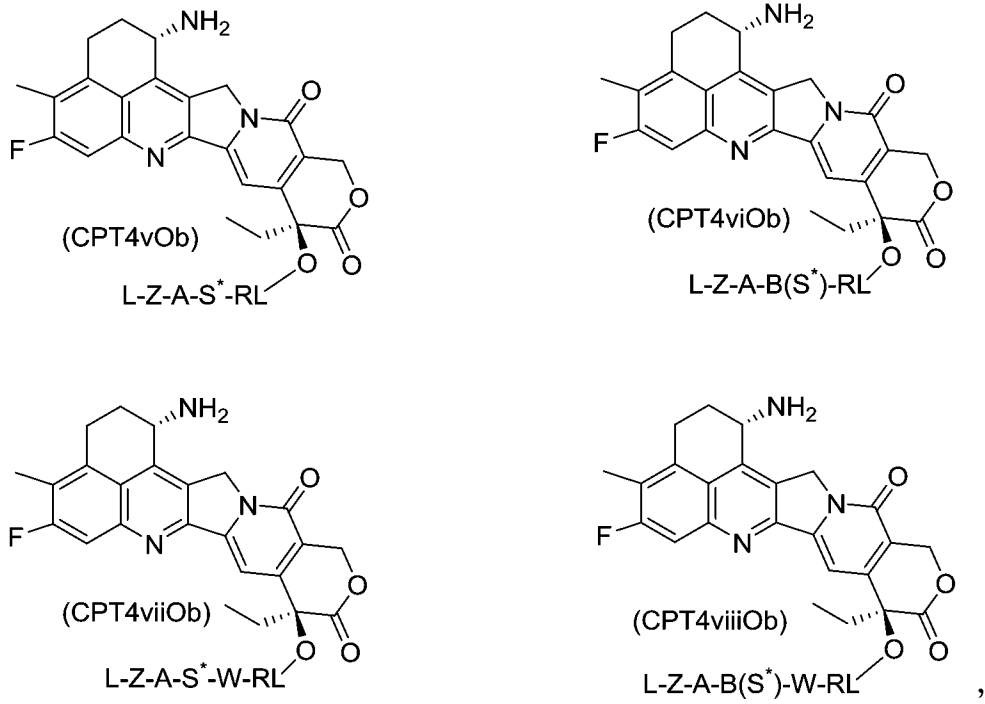
【0312】 在另一組實施例中，其中Q具有式-Z-A-RL-、-Z-A-RL-Y-、-Z-A-S*-RL-、-Z-A-S*-RL-Y-、-Z-A-B(S*)-RL-或-Z-A-B(S*)-RL-Y-且包含具有式CPT4之藥物單元的ADC由下式表示：



分別地，其中RL為本文所揭示之可釋放連接子中之任一者，較佳地，RL為葡萄糖醛酸苷單元，且基團L、Z、A、S^{*}、B及Y具有上文及本文特定敘述之任一實施例中所提供之含義。

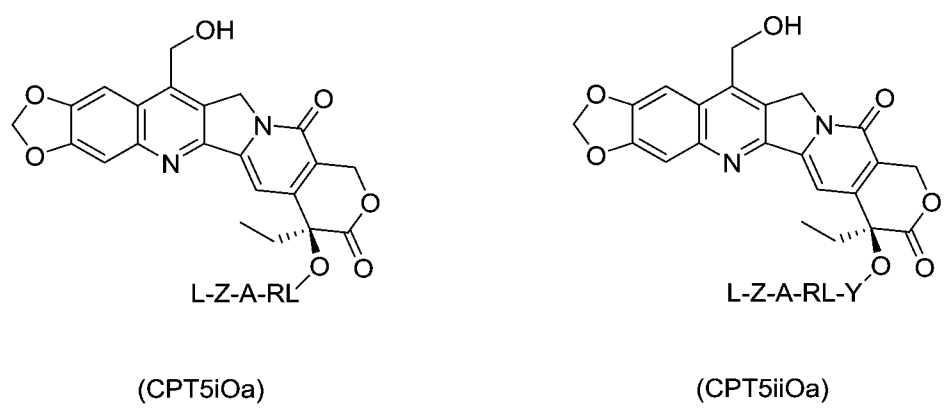
【0313】 在其他實施例中，其中Q具有式-Z-A-、-Z-A-RL-、-Z-A-S^{*}-W-、-Z-A-B(S^{*})-W-、-Z-A-S^{*}-RL-、-Z-A-B(S^{*})-RL-、-Z-A-S^{*}-W-RL-及-Z-A-B(S^{*})-W-RL-且包含具有式CPT4之藥物單元的ADC由下式表示：

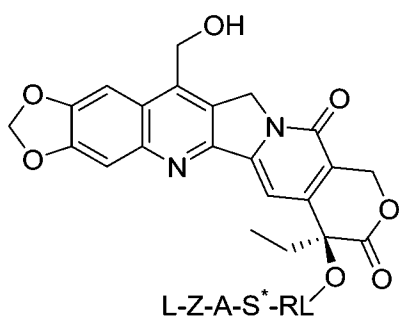




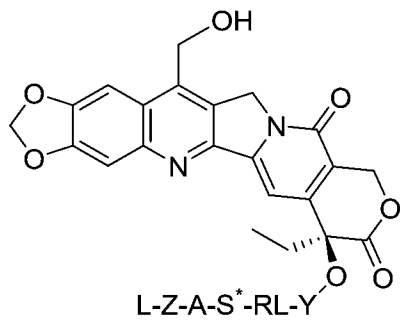
分別地，其中RL為並非葡萄糖醛酸苷單元之可釋放連接子，且基團L、Z、A、S^{*}、B及W具有上文及本文特定敘述之任一實施例中所提供之含義。

【0314】 在另一組實施例中，其中Q具有式-Z-A-RL-、-Z-A-RL-Y-、-Z-A-S*-RL-、-Z-A-S*-RL-Y-、-Z-A-B(S*)-RL-或-Z-A-B(S*)-RL-Y-且包含具有式CPT5之藥物單元的ADC由下式表示：

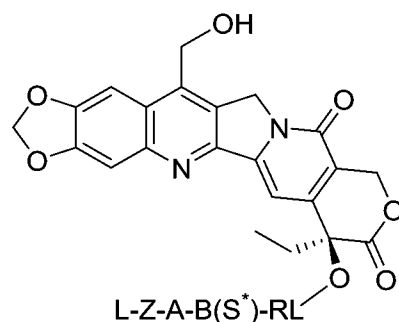




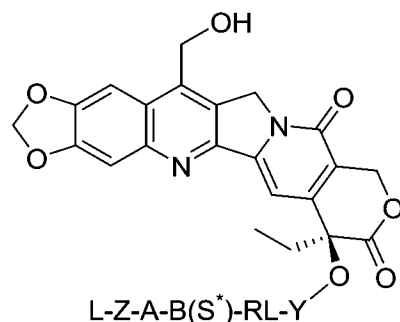
(CPT5iiiOa)



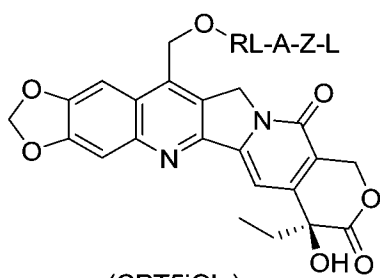
(CPT5ivOa)



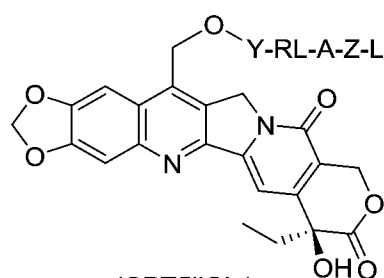
(CPT5vOa)



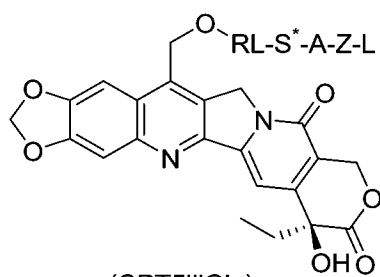
(CPT5viOa)



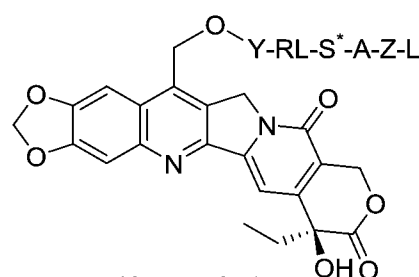
(CPT5iO'a)



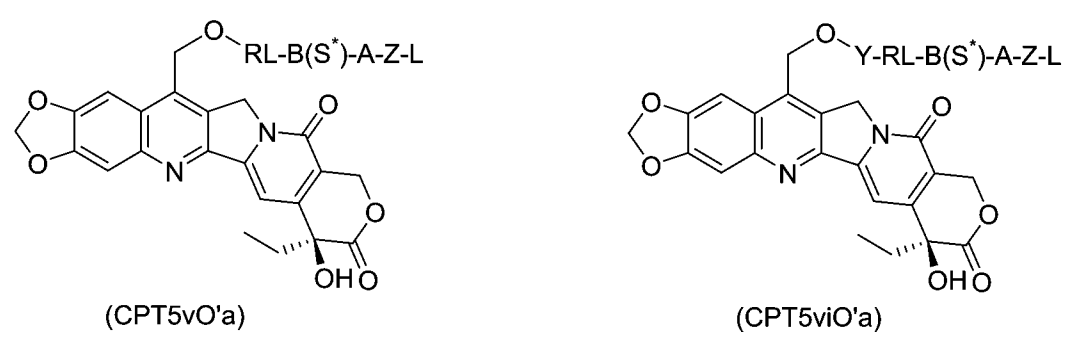
(CPT5iiO'a)



(CPT5iiiO'a)

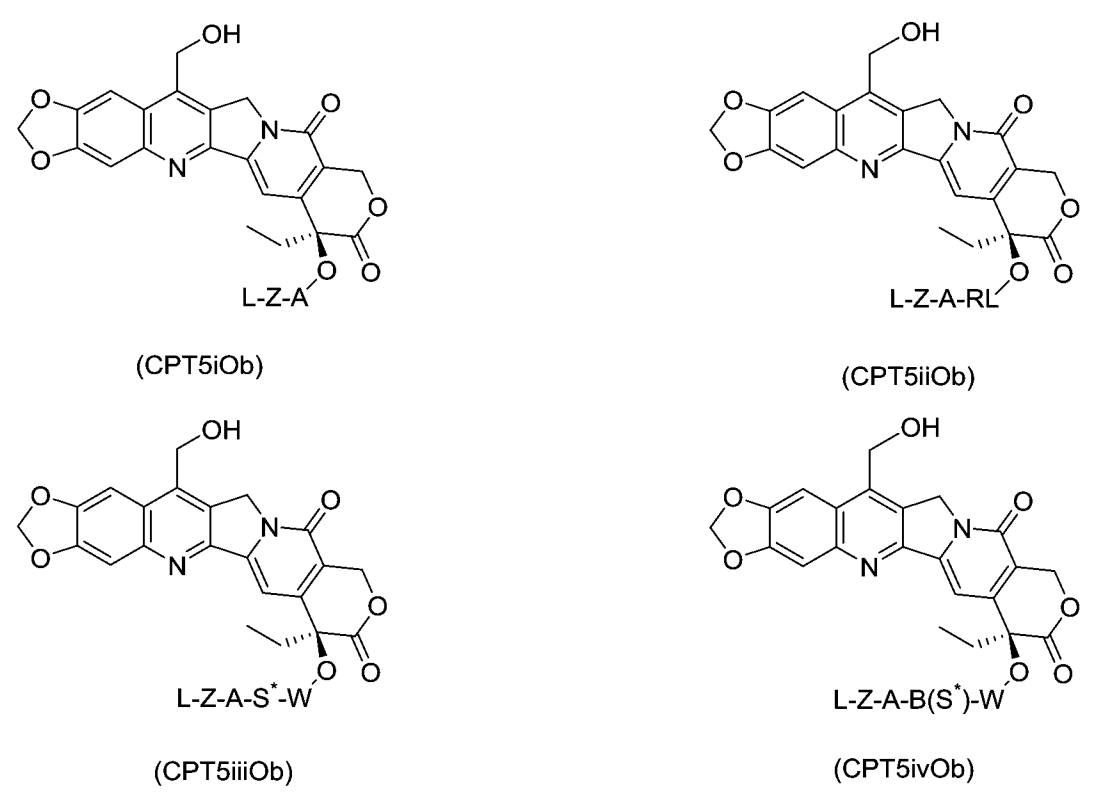


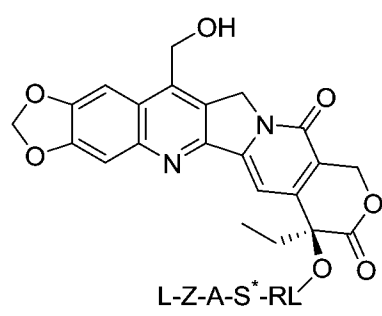
(CPT5ivO'a)



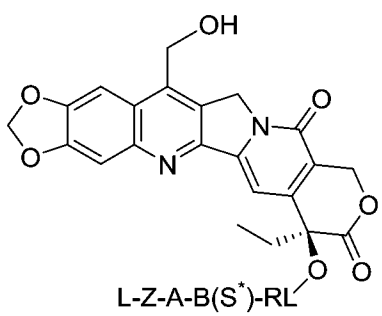
分別地，其中RL為本文所揭示之可釋放連接子中之任一者，較佳地，RL為葡萄糖醛酸苷單元，且基團L、Z、A、S*、B及Y具有上文及本文特定敘述之任一實施例中所提供之含義。

【0315】 在其他實施例中，其中Q具有式-Z-A-、-Z-A-RL-、-Z-A-S*-W-、-Z-A-B(S*)-W-、-Z-A-S*-RL-、-Z-A-B(S*)-RL-、-Z-A-S*-W-RL-及-Z-A-B(S*)-W-RL-且包含具有式CPT5之藥物單元的ADC由下式表示：

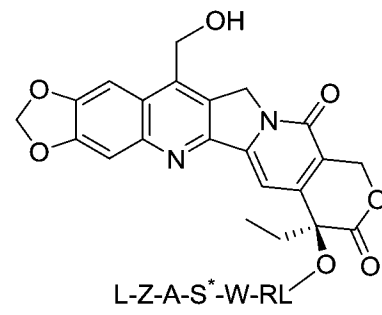




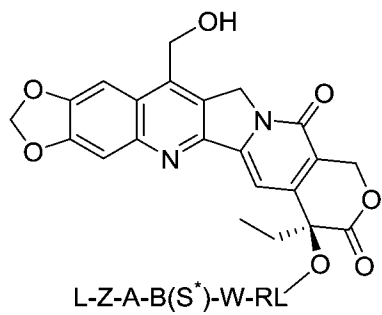
(CPT5vOb)



(CPT5viOb)



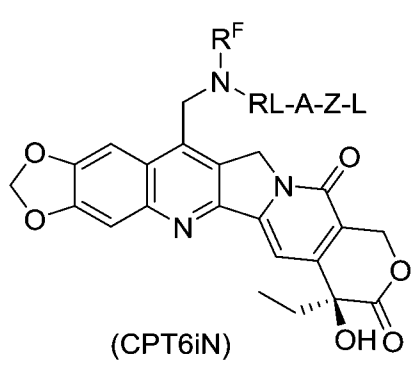
(CPT5viiOb)



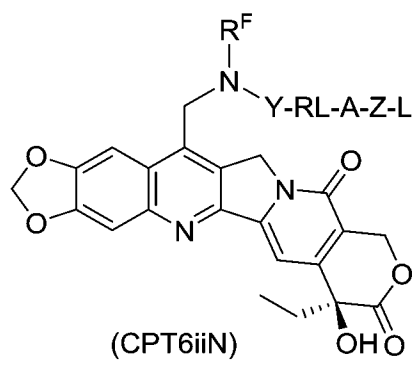
(CPT5viiiOb) ,

分別地，其中RL為並非葡萄糖醛酸苷單元之可釋放連接子，且基團L、Z、A、S*、B及W具有上文及本文特定敘述之任一實施例中所提供之含義。

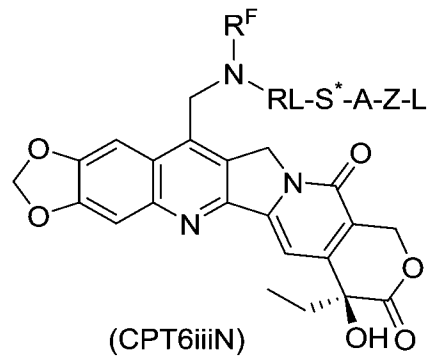
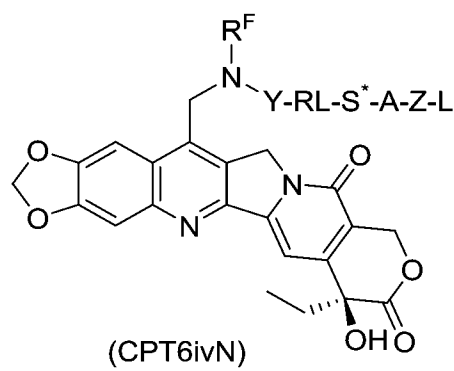
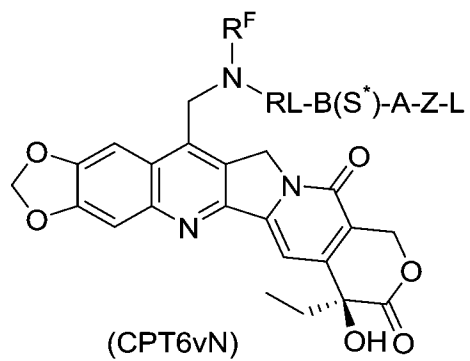
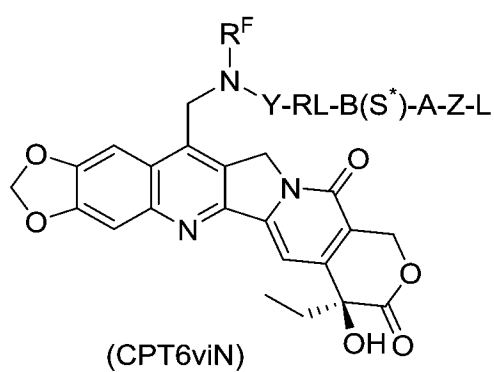
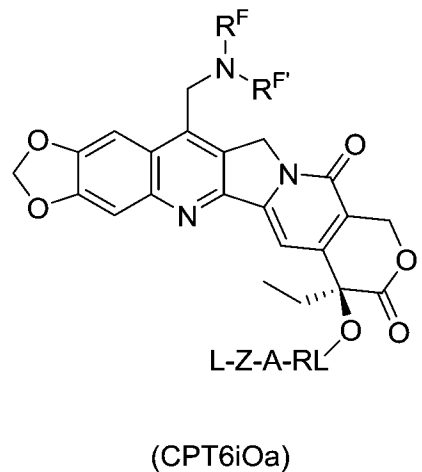
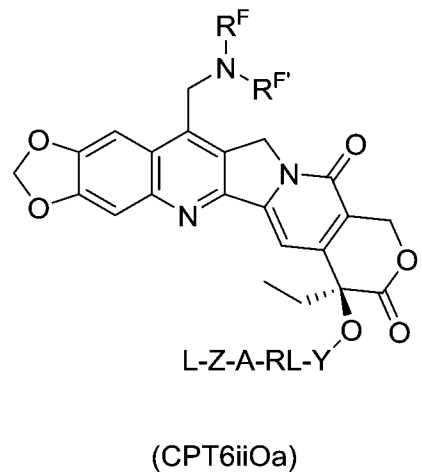
【0316】 在另一組實施例中，其中Q具有式-Z-A-RL-、-Z-A-RL-Y-、-Z-A-S*-RL-、-Z-A-S*-RL-Y-、-Z-A-B(S*)-RL-或-Z-A-B(S*)-RL-Y-且包含具有式CPT6之藥物單元的ADC由下式表示：

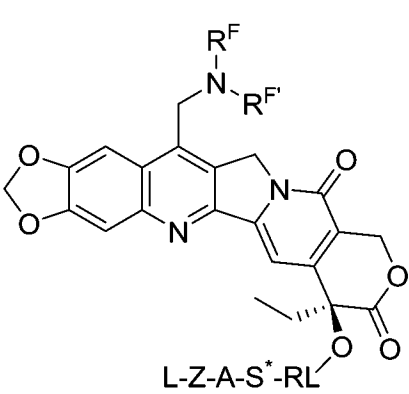


(CPT6iN)

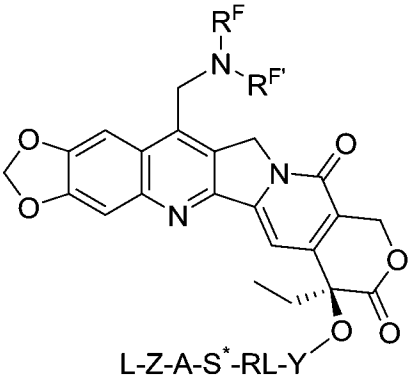


(CPT6iiN)

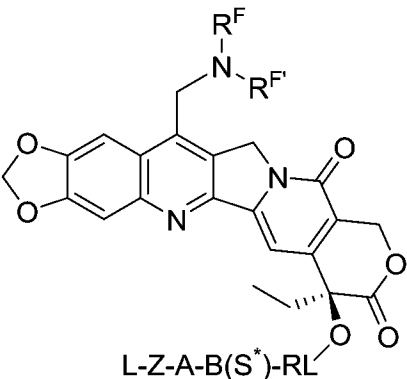




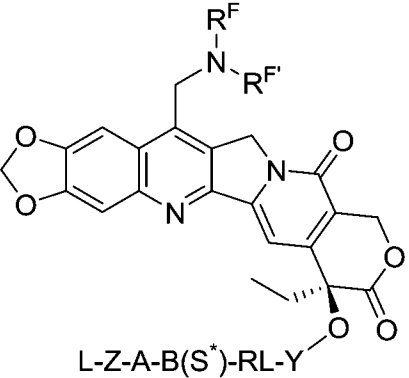
(CPT6iiiOa)



(CPT6ivOa)



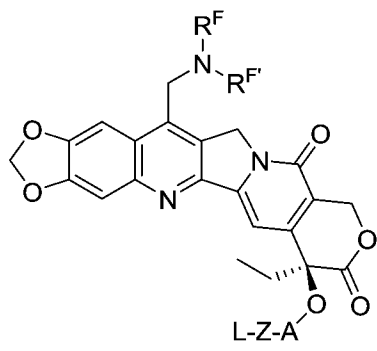
(CPT6vOa)



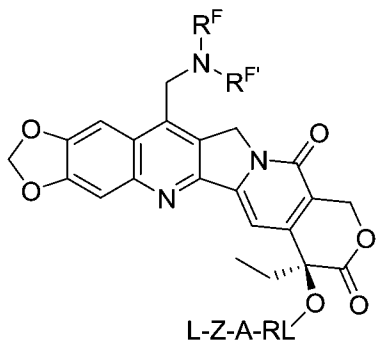
(CPT6viOa)

分別地，其中RL為本文所揭示之可釋放連接子中之任一者，較佳地，RL為葡萄糖醛酸苷單元，且基團L、Z、A、S*、B及Y具有上文及本文特定敘述之任何實施例中所提供之含義。

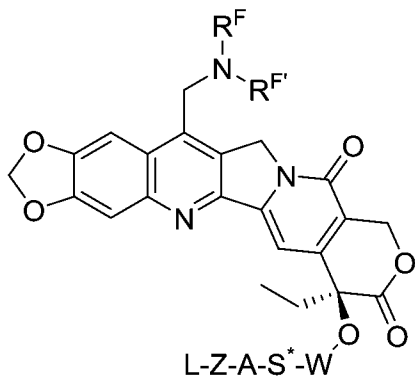
【0317】 在其他實施例中，其中Q具有式-Z-A-、-Z-A-RL-、-Z-A-S*-W-、-Z-A-B(S*)-W-、-Z-A-S*-RL-、-Z-A-B(S*)-RL-、-Z-A-S*-W-RL-及-Z-A-B(S*)-W-RL-且包含具有式CPT6之藥物單元的ADC由下式表示：



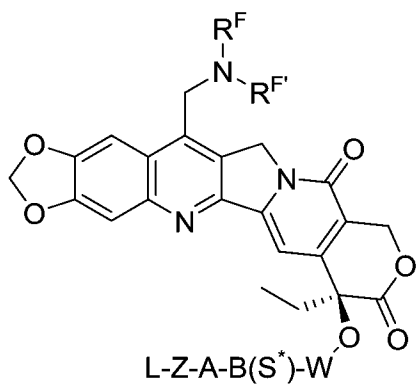
(CPT6iOb)



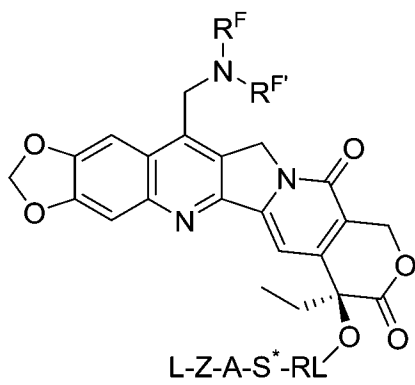
(CPT6iiOb)



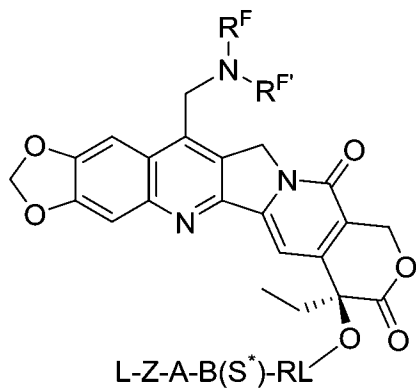
(CPT6iiiOb)



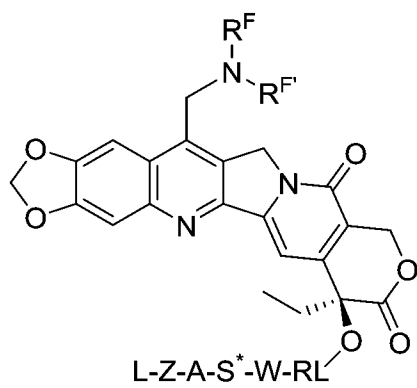
(CPT6ivOb)



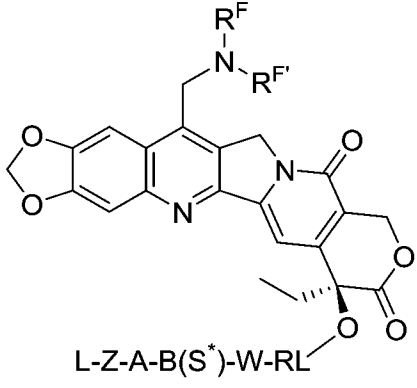
(CPT6vOb)



(CPT6viOb)



(CPT6viiOb)



(CPT6viiiOb)

分別地，其中RL為並非葡萄糖醛酸苷單元之可釋放連接子，且基團L、Z、A、S*、B及W具有上文及本文特定敘述之任一實施例中所提供之含義。

【0318】 在一組實施例中，式CPT6iN、CPT6iiN、CPT6iiiN、CPT6ivN、CPT6vN或CPT6viN中之R^F為-H。

【0319】 在一組實施例中，式CPT6iOa、CPT6iiOa、CPT6iiiOa、CPT6ivOa、CPT6vOa、CPT6viOa、CPT6iOb、CPT6iiOb、CPT6iiiOb、CPT6ivOb、CPT6vOb、CPT6viOb、CPT6viiOb或CPT6viiiOb中之R^F及R^{F'}均為-H。

【0320】 在一組實施例中，式CPT6iN、CPT6iiN、CPT6iiiN、CPT6ivN、CPT6vN或CPT6viN中之R^F為選自由C₁-C₈烷基、C₁-C₈羥烷基、C₁-C₈胺基烷基、(C₁-C₄烷基胺基)-C₁-C₈烷基-、N,N-(C₁-C₄羥烷基)(C₁-C₄烷基)胺基-C₁-C₈烷基-、N,N-二(C₁-C₄烷基)胺基-C₁-C₈烷基-、N-(C₁-C₄羥烷基)-C₁-C₈胺基烷基-、C₁-C₈烷基-C(O)-、C₁-C₈羥烷基-C(O)-及C₁-C₈胺基烷基C(O)-組成之群的部分。

【0321】 在一組實施例中，式CPT6iN、CPT6iiN、CPT6iiiN、CPT6ivN、CPT6vN或CPT6viN中之R^F為選自由C₃-C₁₀環烷基、(C₃-C₁₀環烷基)-C₁-C₄烷基-、C₃-C₁₀雜環烷基、(C₃-C₁₀雜環烷基)-C₁-C₄烷基-、苯基、苯基-C₁-C₄烷基-、二苯基C₁-C₄烷基-、雜芳基及雜芳基-C₁-C₄烷基-組成之群的部分，且其中R^F之環烷基、

雜環烷基、苯基及雜芳基部分經0至3個獨立地選自由鹵素、C₁-C₄烷基、-OH、-OC₁-C₄烷基、-NH₂、-NHC₁-C₄烷基及-N(C₁-C₄烷基)₂組成之群的取代基取代。

【0322】 在一組實施例中，式CPT6iN、CPT6iiN、CPT6iiiN、CPT6ivN、CPT6vN或CPT6viN中之R^F為獨立地選自由-H、C₃-C₁₀環烷基、(C₃-C₁₀環烷基)-C₁-C₄烷基、C₃-C₁₀雜環烷基、(C₃-C₁₀雜環烷基)-C₁-C₄烷基、苯基、苯基-C₁-C₄烷基、二苯基C₁-C₄烷基、雜芳基及雜芳基-C₁-C₄烷基組成之群的部分，且其中R^F之環烷基、雜環烷基、苯基及雜芳基部分經0至3個獨立地選自由鹵素、C₁-C₄烷基、-OH、-OC₁-C₄烷基、-NH₂、-NHC₁-C₄烷基及-N(C₁-C₄烷基)₂組成之群的取代基取代。

【0323】 在一組實施例中，式CPT6iOa、CPT6iiOa、CPT6iiiOa、CPT6ivOa、CPT6vOa、CPT6viOa、CPT6iOb、CPT6iiOb、CPT6iiiOb、CPT6ivOb、CPT6vOb、CPT6viOb、CPT6viiOb或CPT6viiiOb中之R^F及R^F與兩者所連接之氮原子組合形成具有0至3個獨立地選自由鹵素、C₁-C₄烷基、-OH、-OC₁-C₄烷基、-NH₂、-NHC₁-C₄烷基及-N(C₁-C₄烷基)₂組成之群之取代基的5員、6員或7員環。

【0324】 在一組實施例中，式CPT6iOa、CPT6iiOa、CPT6iiiOa、CPT6ivOa、CPT6vOa、CPT6viOa、CPT6iOb、CPT6iiOb、CPT6iiiOb、CPT6ivOb、CPT6vOb、CPT6viOb、CPT6viiOb或CPT6viiiOb中之R^F及R^F中之至少一者為獨立地選自由C₁-C₈烷基、C₁-C₈羧基、C₁-C₈胺基、(C₁-C₄烷基胺基)-C₁-C₈烷基、N,N-(C₁-C₄羧基)(C₁-C₄烷基)胺基-C₁-C₈烷基、N,N-二(C₁-C₄烷基)胺基-C₁-C₈烷基、N-(C₁-C₄羧基)-C₁-C₈胺基、C₁-C₈烷基C(O)-、C₁-C₈羧基-C(O)-及C₁-C₈胺基-C(O)-組成之群的部分，且另一者為選自由-H、C₁-C₈烷基、C₁-C₈羧基、C₁-C₈胺基、(C₁-C₄烷基胺基)-C₁-C₈烷基、N,N-(C₁-C₄羧基)(C₁-C₄烷基)

胺基-C₁-C₈烷基-、N,N-二(C₁-C₄烷基)胺基-C₁-C₈烷基-、N-(C₁-C₄羥烷基)-C₁-C₈胺基烷基-、C₁-C₈烷基-C(O)-、C₁-C₈羥烷基-C(O)-及C₁-C₈胺基烷基C(O)-組成之群的部分。

【0325】 在一組實施例中，式CPT6iO、CPT6iiO、CPT6iiiO、CPT6ivO、CPT6vO或CPT6viO中之各R^F及R^F為獨立地選自由C₁-C₈烷基、C₁-C₈羥烷基、C₁-C₈胺基烷基、(C₁-C₄烷基胺基)-C₁-C₈烷基-、N,N-(C₁-C₄羥烷基)(C₁-C₄烷基)胺基-C₁-C₈烷基-、N,N-二(C₁-C₄烷基)胺基-C₁-C₈烷基-、N-(C₁-C₄羥烷基)-C₁-C₈胺基烷基-、C₁-C₈烷基-C(O)-、C₁-C₈羥烷基-C(O)-及C₁-C₈胺基烷基-C(O)-組成之群的部分。

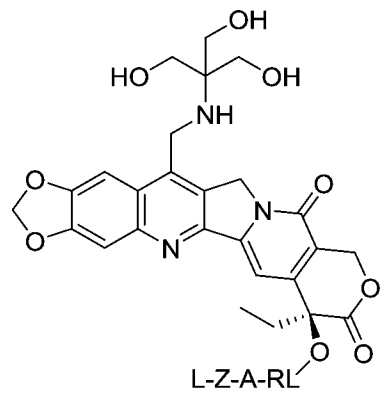
【0326】 在一組實施例中，式CPT6iO、CPT6iiO、CPT6iiiO、CPT6ivO、CPT6vO或CPT6viO中之R^F及R^F中之至少一者為獨立地選自由C₃-C₁₀環烷基、C₃-C₁₀環烷基-C₁-C₄烷基-、C₃-C₁₀雜環烷基、(C₃-C₁₀雜環烷基)-C₁-C₄烷基-、苯基、苯基-C₁-C₄烷基、二苯基C₁-C₄烷基、雜芳基及雜芳基-C₁-C₄烷基-組成之群的部分，且其中R^F或R^F之環烷基、雜環烷基、苯基及雜芳基部分經0至3個獨立地選自由鹵素、C₁-C₄烷基、-OH、-OC₁-C₄烷基、-NH₂、-NHC₁-C₄烷基及-N(C₁-C₄烷基)₂組成之群的取代基取代，且另一者為選自由-H、C₁-C₈烷基、C₁-C₈羥烷基、C₁-C₈胺基烷基、(C₁-C₄烷基胺基)-C₁-C₈烷基-、N,N-(C₁-C₄羥烷基)(C₁-C₄烷基)胺基-C₁-C₈烷基-、N,N-二(C₁-C₄烷基)胺基-C₁-C₈烷基-、N-(C₁-C₄羥烷基)-C₁-C₈胺基烷基-、C₁-C₈烷基-C(O)-、C₁-C₈羥烷基-C(O)-及C₁-C₈胺基烷基C(O)-)₂組成之群的部分。

【0327】 在一組實施例中，式CPT6iO、CPT6iiO、CPT6iiiO、CPT6ivO、CPT6vO或CPT6viO中之R^F及R^F中之至少一者為獨立地選自由C₃-C₁₀環烷基、

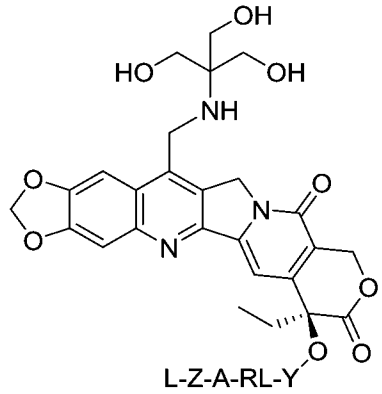
C₃-C₁₀環烷基-C₁-C₄烷基-、C₃-C₁₀雜環烷基、(C₃-C₁₀雜環烷基)-C₁-C₄烷基-、苯基、
苯基-C₁-C₄烷基、二苯基C₁-C₄烷基、雜芳基及雜芳基-C₁-C₄烷基-組成之群的部分，且另一者為選自由-H、C₃-C₁₀環烷基、(C₃-C₁₀環烷基)-C₁-C₄烷基-、C₃-C₁₀
雜環烷基、(C₃-C₁₀雜環烷基)-C₁-C₄烷基-、苯基、苯基-C₁-C₄烷基-、二苯基C₁-C₄
烷基-、雜芳基及雜芳基-C₁-C₄烷基-組成之群的部分，其中R^F及R^F之環烷基、雜
環烷基、苯基及雜芳基部分獨立地經0至3個獨立地選自由鹵素、C₁-C₄烷基、
-OH、-OC₁-C₄烷基、-NH₂、-NHC₁-C₄烷基及-N(C₁-C₄烷基)₂組成之群的取代基取
代。

【0328】 在一組實施例中，式CPT6iO、CPT6iiO、CPT6iiiO、CPT6ivO、
CPT6vO或CPT6viO中之各R^F及R^F為獨立地選自由-H、C₃-C₁₀環烷基、(C₃-C₁₀環
烷基)-C₁-C₄烷基-、C₃-C₁₀雜環烷基、(C₃-C₁₀雜環烷基)-C₁-C₄烷基-、苯基、苯基
-C₁-C₄烷基-、二苯基C₁-C₄烷基-、雜芳基及雜芳基-C₁-C₄烷基-組成之群的部分，
且其中R^F及R^F之環烷基、雜環烷基、苯基及雜芳基部分獨立地經0至3個選自由
鹵素、C₁-C₄烷基、-OH、-OC₁-C₄烷基、-NH₂、-NHC₁-C₄烷基及-N(C₁-C₄烷基)₂
組成之群的取代基取代。

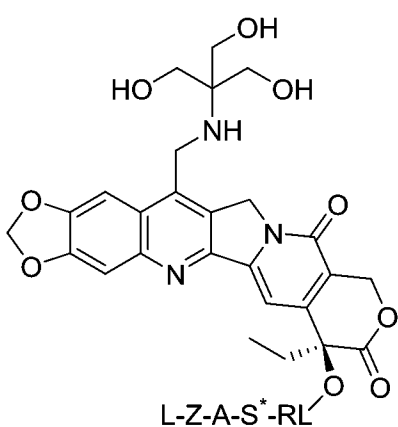
【0329】 在另一組實施例中，其中Q具有式-Z-A-RL-、-Z-A-RL-Y-、
-Z-A-S*-RL-、-Z-A-S*-RL-Y-、-Z-A-B(S*)-RL-或-Z-A-B(S*)-RL-Y-且包含具有
式CPT7之藥物單元的ADC由下式表示：



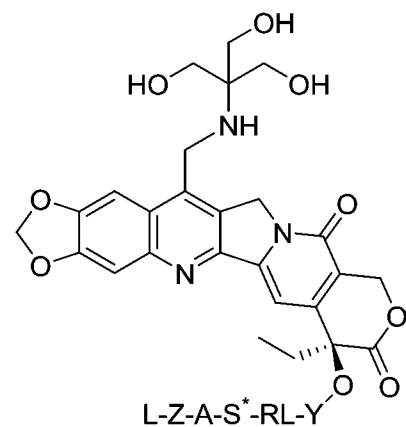
(CPT7iOa)



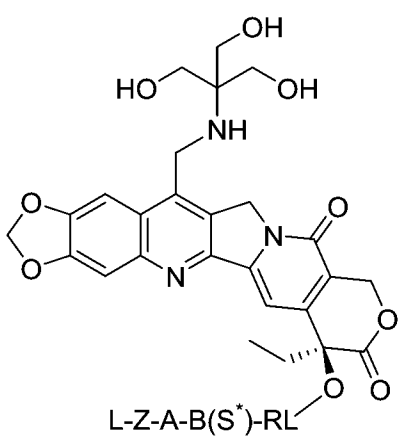
(CPT7iiOa)



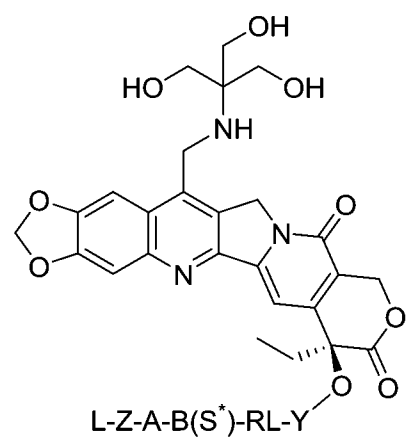
(CPT7iiiOa)



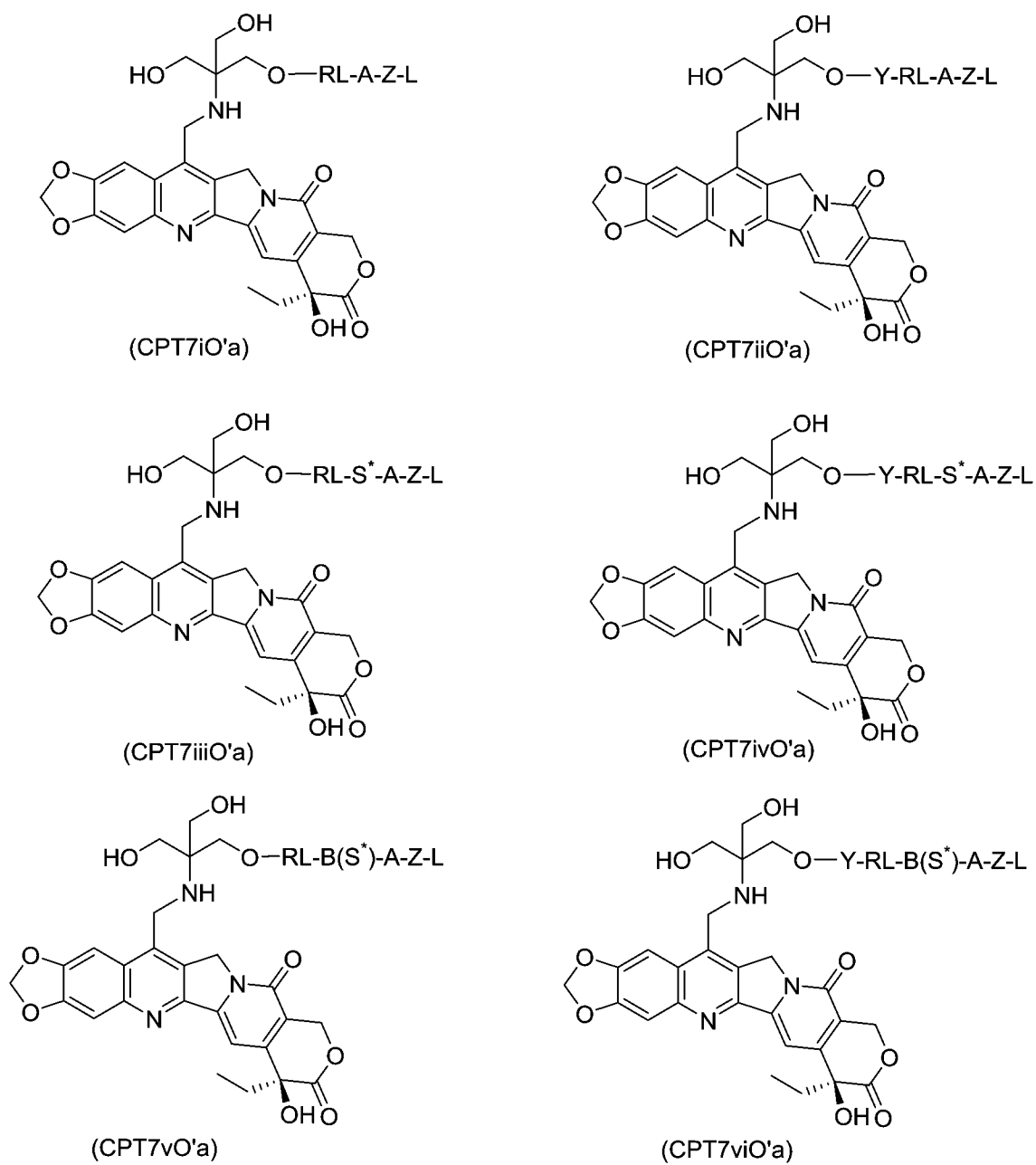
(CPT7ivOa)



(CPT7vOa)

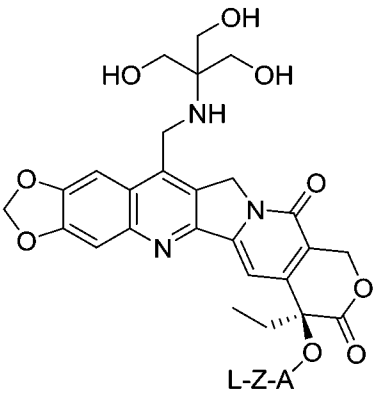


(CPT7viOa)

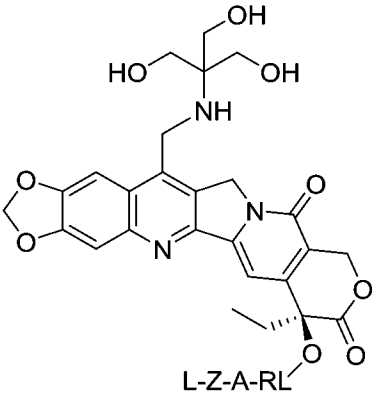


分別地，其中RL為本文所揭示之可釋放連接子中之任一者，較佳地，RL為葡萄糖醛酸苷單元，且基團L、Z、A、S*、B及Y具有上文及本文特定敘述之任一實施例中所提供之含義。

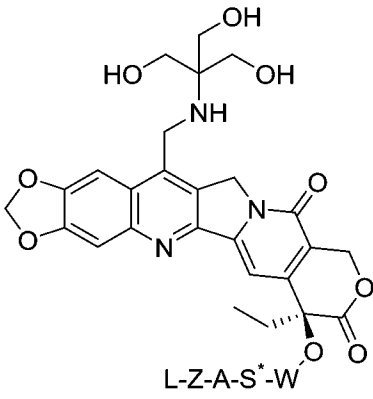
【0330】 在其他實施例中，其中Q具有式-Z-A-、-Z-A-RL-、-Z-A-S*-W-、-Z-A-B(S*)-W-、-Z-A-S*-RL-、-Z-A-B(S*)-RL-、-Z-A-S*-W-RL-及-Z-A-B(S*)-W-RL-且包含具有式CPT5之藥物單元的ADC由下式表示：



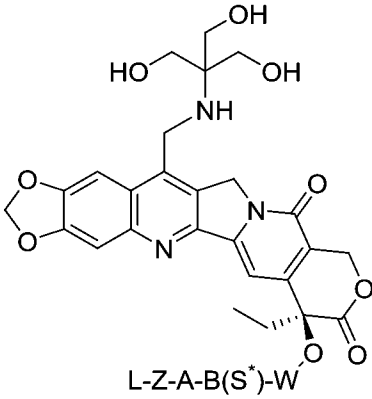
(CPT7iOb)



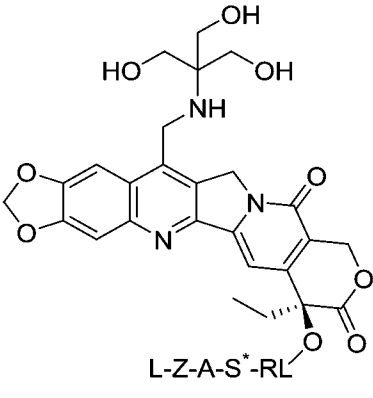
(CPT7iiOb)



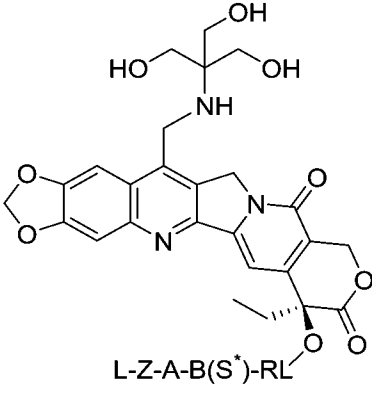
(CPT7iiiOb)



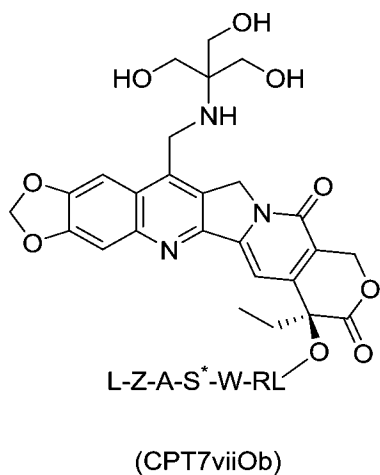
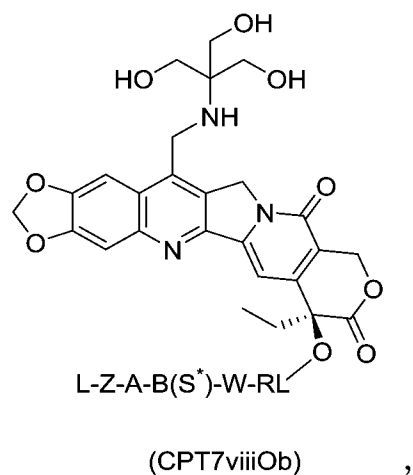
(CPT7ivOb)



(CPT7vOb)



(CPT7viOb)



分別地，其中RL為並非葡萄糖醛酸苷單元之可釋放連接子，且基團L、Z、A、S^{*}、B及W具有上文及本文特定敘述之任一實施例中所提供之含義。

1. 喜樹鹼-連接子化合物

【0331】 在一些實施例中，當製備ADC時，將需要在與靶向劑(例如，抗體)接合之前合成完整藥物-連接子組合。在此類實施例中，本文所述之喜樹鹼-連接子化合物為中間體化合物。在彼等實施例中，喜樹鹼-連接子化合物中之延伸體單元尚未與配位體單元(亦即，作為延伸體單元前驅體，Z')共價連接，且因此具有用於接合至靶向配位體之官能基。在一個實施例中，喜樹鹼-連接子化合物包含喜樹鹼化合物(本文中示為式CPT1、CPT2、CPT3、CPT4、CPT5、CPT6及CPT7)及包含葡萄糖醛酸苷單元作為可釋放連接子(RL)之連接子單元(Q)，配位體單元經由該連接子連接至喜樹鹼。

【0332】 在另一個實施例中，喜樹鹼-連接子化合物包含式CPT1、CPT2、CPT3、CPT4、CPT5、CPT6或CPT7之喜樹鹼化合物及包含並非葡萄糖醛酸苷單元之可釋放連接子(RL)之連接子單元(Q)，配位體單元經由該連接子連接至經接合之喜樹鹼化合物。因此，在任一實施例中，除RL之外，連接子單元亦包含延伸體單元前驅體(Z')，其包含用於與靶向劑接合之官能基，該靶向劑為配位體單

元之前驅體且因此能夠(直接地或間接地)將RL連接至配位體單元。在彼等實施例中之一些實施例中，當需要添加分隔劑(S^*)作為側鏈附屬物時，存在並聯連接體單元(B)。在彼等實施例中之任一實施例中，當需要在延伸體單元與RL之間增加更多距離時，存在連接體單元(A)。

【0333】 在一組實施例中，喜樹鹼-連接子化合物包含具有式CPT1、CPT2、CPT3、CPT4、CPT5、CPT6或CPT7之喜樹鹼化合物及連接子單元(Q)，其中Q包含作為葡萄糖醛酸苷單元之可釋放連接子(RL)，其直接連接至延伸體單元前驅體(Z')或經由與喜樹鹼-連接子化合物之連接子單元的介入組分(亦即，A、 S^* 及/或B(S^*))連接而間接連接至Z'，其中Z'包含能夠與靶向劑形成共價鍵之官能基。

【0334】 在另一組實施例中，喜樹鹼-連接子化合物包含具有式CPT1、CPT2、CPT3、CPT4、CPT5、CPT6或CPT7之喜樹鹼及連接子單元(Q)，其中Q包含並非葡萄糖醛酸苷單元(RL)之可釋放連接子(RL)，其直接連接至延伸體單元前驅體(Z')或經由與喜樹鹼-連接子化合物之連接子單元的介入組分(亦即，A、 S^* 及/或B(S^*))連接而間接連接至Z'，其中Z'包含能夠與靶向劑形成共價鍵之官能基。

【0335】 在ADC及/或喜樹鹼-連接子化合物之情形中 - 最佳根據其組分群組來描述集合。儘管本文亦描述一些程序，但熟習此項技術者應充分理解集合之順序以及製備接合物及化合物之一般條件。

2. 組分群組

配位體單元

【0336】 在本發明之一些實施例中，存在配位體單元。配位體單元(L-)為特異性結合至標靶部分之靶向劑。在一組實施例中，配位體單元包含結合至

CEACAM5之抗體或其抗原結合片段。在一些實施例中，配位體單元包含本文所述之抗體或其抗原結合片段中之任一者。配位體單元用於將喜樹鹼(例如，CPT6)靶向並呈現給特定標靶細胞群，由於其靶向組分或分子(例如，抗體)之存在，配位體單元與該特定標靶細胞群相互作用，且允許隨後在標靶細胞內(亦即，細胞內)或標靶細胞附近(亦即，細胞外)釋放遊離藥物。配位體單元L包括但不限於蛋白質、多肽及肽。適合之配位體單元包括例如抗體(例如，全長抗體及其抗原結合片段)、干擾素、淋巴介素、激素、生長因子及群落刺激因子、維生素、營養物轉運分子(諸如但不限於轉鐵蛋白)或任何其他細胞結合分子或物質。在一些實施例中，配位體單元(L)來自抗體或非抗體蛋白質靶向劑。

【0337】 在一組實施例中，配位體單元(例如，結合至CEACAM5之抗體或其抗原結合片段)與包含葡萄糖醛酸苷可釋放連接子之Q (連接子單元)鍵結。如上文所提及，本文所述之接合物中可存在其他連接組分，以達到在喜樹鹼藥物化合物與配位體單元之間提供額外空間之目的(例如，延伸體單元及視情況存在之連接體單元，A)，或向組合物提供增加溶解度之屬性(例如，分隔劑，S^{*})。在彼等實施例中之一些實施例中，配位體單元(例如，結合至CEACAM5之抗體或其抗原結合片段)經由配位體單元之雜原子與連接子單元之Z鍵結。用於彼鍵結之配位體單元上可存在之雜原子包括硫(在一個實施例中，來自靶向配位體之巰基)、氧(在一個實施例中，來自靶向配位體之羧基或羥基)及視情況經取代之氮(在一個實施例中，來自靶向配位體之一級胺或二級胺官能基，或在另一個實施例中，來自視情況經取代之鹽胺氮)。彼等雜原子可存在於呈配位體天然狀態之靶向配位體上，例如，在天然存在之抗體中，或可經由化學修飾或生物工程改造引入靶向配位體中。

【0338】 在一個實施例中，作為配位體單元前驅體之靶向劑具有巯基官能基(諸如來自半胱胺酸胺基酸)，使得配位體單元經由巯基官能基之硫原子與連接子單元鍵結。

【0339】 在另一個態樣中，作為配位體單元前驅體之靶向劑具有能夠進行化學修飾以引入一或多個巯基之一或多個離胺酸殘基。在彼等實施例中，配位體單元經由巯基官能基之硫原子與連接子單元共價連接。可用於以彼種方式修飾離胺酸之試劑包括但不限於N-丁二醯亞胺基S-乙醯基硫代乙酸酯(SATA)及2-亞胺基硫雜環戊烷鹽酸鹽(特勞特氏試劑(Traut's Reagent))。

【0340】 在另一個實施例中，作為配位體單元前驅體之靶向劑具有能夠進行修飾以提供一或多個巯基官能基之一或多個碳水化合物基團。ADC中經化學修飾之配位體單元經由巯基官能基之硫原子與連接子單元組分(例如，延伸體單元)鍵結。

【0341】 在另一個實施例中，作為配位體單元前驅體之靶向劑具有一或多個碳水化合物基團，其可經氧化以提供醛(-CHO)官能基(參見例如Laguzza等人, 1989, *J. Med. Chem.* 32(3):548-55)。在此等實施例中，相應醛與延伸體單元前驅體上之反應性位點相互作用以在延伸體單元與配位體單元之間形成一鍵。延伸體單元前驅體上能夠與靶向配位體單元上之反應性含羰基官能基相互作用之反應性位點包括但不限於肼及羥胺。用於連接連接子單元(Q)或相關種類之蛋白質修飾的其他方案描述於Coligan等人, *Current Protocols in Protein Science*, 第2卷, John Wiley & Sons (2002) (以引用之方式併入本文)中。

【0342】 在一些態樣中，作為配位體單元前驅體之靶向劑能夠藉由與延伸體單元前驅體(Z')上之反應性官能基相互作用而形成一鍵，以在延伸體單元(Z)

與配位體單元之間形成共價鍵，該配位體單元在結構上對應於靶向劑。具有與靶向劑相互作用之能力的Z'之官能基將取決於在結構上對應於配位體單元之靶向劑的性質。在一些實施例中，反應性基團為在連接形成配位體單元之前存在於延伸體單元上之順丁烯二醯亞胺(亦即，延伸體單元前驅體之順丁烯二醯亞胺部分)。配位體單元與延伸體單元之共價連接係經由作為配位體單元前驅體之靶向劑的巯基官能基來實現，該巯基官能基與Z'之順丁烯二醯亞胺官能基相互作用以形成巯基取代之丁二醯亞胺。巯基官能基可存在於呈靶向劑天然狀態之靶向劑上，例如，在天然存在之殘基中，或可經由化學修飾或藉由生物工程改造引入靶向劑中。

【0343】 在又一個實施例中，配位體單元來自結合至CEACAM5之抗體，且巯基係藉由還原抗體之鏈間二硫化物而產生。因此，在一些實施例中，連接子單元接合至來自還原之鏈間二硫化物的半胱胺酸殘基。

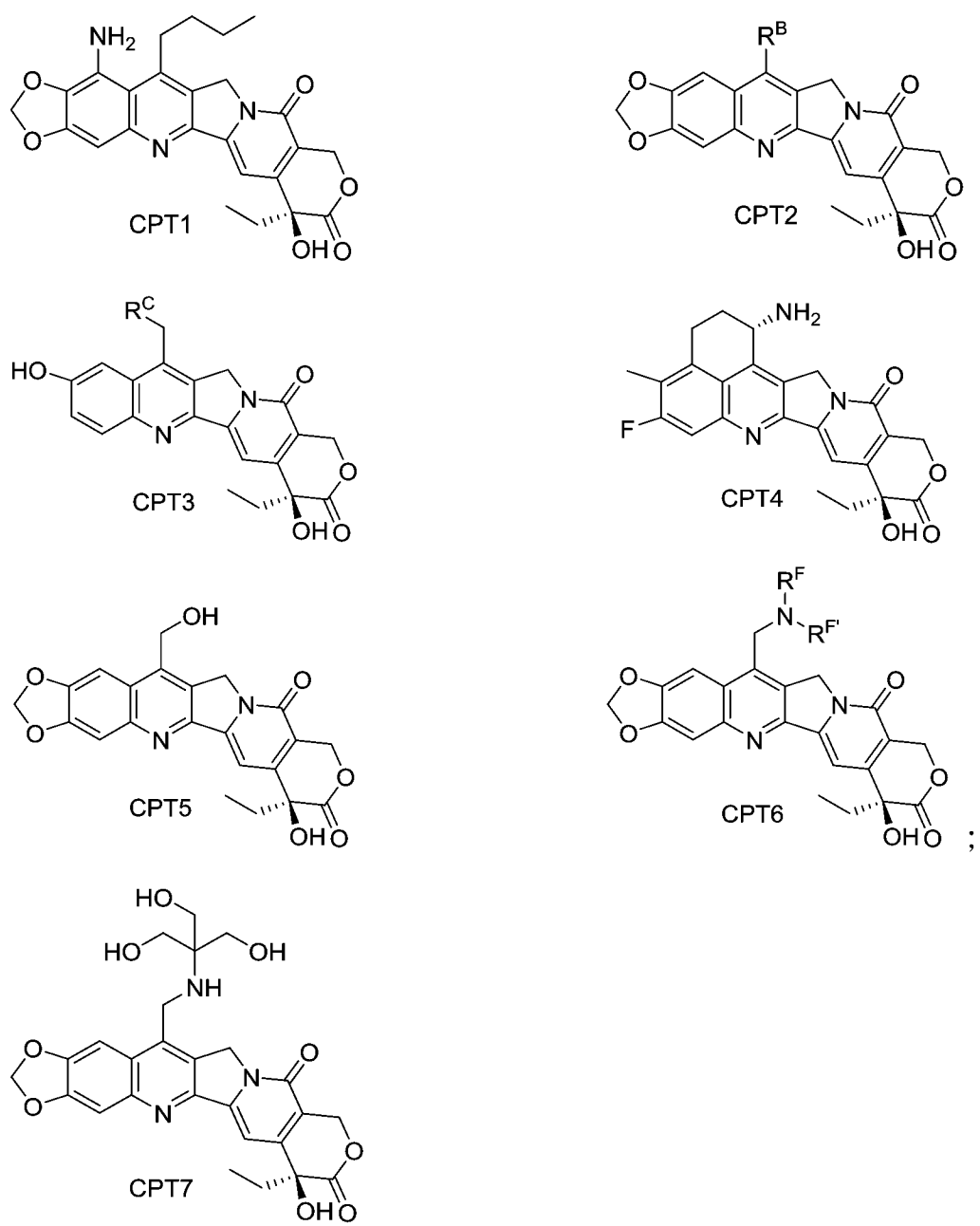
【0344】 在又一個實施例中，配位體單元來自抗體，且將巯基官能基以化學方式引入抗體中，例如，藉由引入半胱胺酸殘基。因此，在一些實施例中，連接子單元(具有或不具有連接之喜樹鹼)係經由所引入之配位體單元的半胱胺酸殘基而接合至配位體單元。

【0345】 對於生物接合物已觀測到，藥物接合位點可影響許多參數，包括接合容易程度、藥物-連接子穩定性、對所得生物接合物之生物物理特性的影響及活體外細胞毒性。關於藥物-連接子穩定性，藥物-連接子部分與配位體單元之接合位點可影響接合之藥物-連接子部分經歷消除反應的能力，在一些情況下，導致遊離藥物過早釋放。靶向劑上之接合位點包括例如還原之鏈間二硫化物以及經工程改造之位點處之所選半胱胺酸殘基。在一些實施例中，與使用來自還

原二硫鍵之硫醇殘基之接合方法相比，形成如本文所述之ADC的接合方法使用對消除反應較不敏感之基因工程改造之位點(例如，根據Kabat中所闡述之EU索引之位置239)處的硫醇殘基。在其他實施例中，形成如本文所述之ADC的接合方法使用鏈間二硫鍵還原所產生之硫醇殘基。在一些實施例中，配位體單元來自結合至CEACAM5之抗體。

喜樹鹼化合物

【0346】 本文所述之各個實施例中利用之喜樹鹼化合物由下式表示：



其中 R^B 為選自由-H、 C_1 - C_8 烷基、 C_1 - C_8 鹵烷基、 C_3 - C_8 環烷基、(C_3 - C_8 環烷基)- C_1 - C_4 烷基-、苯基及苯基- C_1 - C_4 烷基-組成之群的部分；

R^C 為選自由 C_1 - C_6 烷基及 C_3 - C_6 環烷基組成之群的部分；

各 R^F 及 R^F 為獨立地選自由-H、 C_1 - C_8 烷基、 C_1 - C_8 羥烷基、 C_1 - C_8 胺基烷基、(C_1 - C_4 烷基胺基)- C_1 - C_8 烷基-、*N,N*-(C_1 - C_4 羥烷基)(C_1 - C_4 烷基)胺基- C_1 - C_8 烷基-、*N,N*-二(C_1 - C_4 烷基)胺基- C_1 - C_8 烷基、*N*-(C_1 - C_4 羥烷基)- C_1 - C_8 胺基烷基-、 C_1 - C_8 烷基-C(O)-、 C_1 - C_8 羥烷基-C(O)-、 C_1 - C_8 胺基烷基-C(O)-、 C_3 - C_{10} 環烷基、(C_3 - C_{10} 環烷基)- C_1 - C_4 烷基-、 C_3 - C_{10} 雜環烷基、(C_3 - C_{10} 雜環烷基)- C_1 - C_4 烷基-、苯基、苯基- C_1 - C_4 烷基-、二苯基- C_1 - C_4 烷基、雜芳基及雜芳基- C_1 - C_4 烷基組成之群的部分，或

R^F 及 R^F 與兩者所連接之氮原子組合形成具有0至3個獨立地選自由鹵素、 C_1 - C_4 烷基、-OH、-OC $_1$ - C_4 烷基、-NH $_2$ 、-NHC $_1$ - C_4 烷基及N(C_1 - C_4 烷基) $_2$ 組成之群之取代基的5員、6員或7員環，

其中 R^B 、 R^C 、 R^F 及 R^F 之環烷基、雜環烷基、苯基及雜芳基部分經0至3個獨立地選自由鹵素、 C_1 - C_4 烷基、-OH、-OC $_1$ - C_4 烷基、-NH $_2$ 、-NHC $_1$ - C_4 烷基及N(C_1 - C_4 烷基) $_2$ 組成之群的取代基取代。

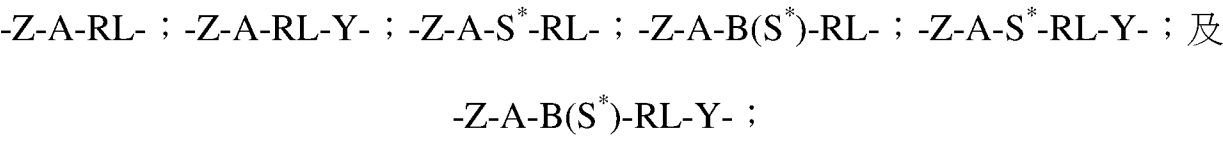
【0347】 可用於本文所述之ADC及喜樹鹼連接子化合物之情形的其他喜樹鹼化合物為表I之喜樹鹼化合物**14a-14z**及表J之化合物**18a-18r**，以及具有如式CPT1、CPT2、CPT3、CPT4、CPT5、CPT6、CPT7、**14a-14z**及**18a-18r**所提供之彼等結構的五環或六環稠合構架類似物之喜樹鹼化合物，該等化合物在一些實施例中具有額外基團，包括但不限於其氧、硫或視情況經取代之氮原子能夠併入連接子中之羥基、硫醇、胺或醯胺官能基，且能夠作為遊離藥物自ADC中釋放。在一些實施例中，彼官能基提供喜樹鹼化合物上可用於連接至連接子單元(Q)

之唯一位點。ADC之所得藥物-連接子部分能夠在其配位體單元靶向之位點處釋放活性遊離藥物，以發揮細胞毒性、細胞抑制或免疫抑制作用。

【0348】「遊離藥物」係指一旦從藥物-連接子部分釋放即存在之藥物。在一些實施例中，遊離藥物包括可釋放連接子或間隔體單元(Y)基團之片段。包括可釋放連接子或間隔體單元(Y)之片段的遊離藥物係經由可釋放連接子裂解自藥物-連接子部分之其餘部分釋放，或經由間隔體單元(Y)基團中之一鍵裂解而釋放，且釋放後具有生物活性。在一些實施例中，遊離藥物與接合藥物之差異在於，用於連接至自消組裝單元之遊離藥物的官能基不再與ADC之組分締合(除先前共享之雜原子之外)。舉例而言，含醇藥物之遊離羥基官能基可表示為D-O^{*}H，而在接合形式中，由O^{*}表示之氧雜原子併入自消單元之亞甲基胺基甲酸酯單元中。自消部分活化及遊離藥物釋放後，與O^{*}之共價鍵經氫原子置換，使得由O^{*}表示之氧雜原子以-O-H形式存在於遊離藥物上。

連接子單元(Q)

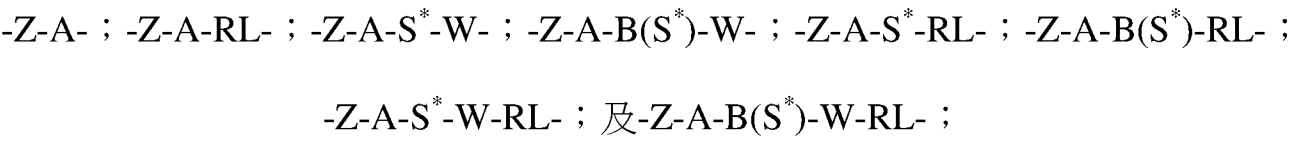
【0349】如上文所提及，在一些實施例中，連接子單元Q具有選自由以下組成之群的式：



其中Z為延伸體單元；A為一鍵結或連接體單元；B為分支單元；S^{*}為分隔劑；RL為作為葡萄糖醛酸苷單元之可釋放連接子；且Y為間隔體單元；且

其中D與Q之連接點係經由存在於CPT1、CPT2、CPT3、CPT4、CPT5、CPT6或CPT7或者表I之化合物14a-14z及表J之化合物18a-18r中任一者上之羥基以及一級胺及二級胺之雜原子中之任一者。

【0350】 在其他實施例中，連接子單元Q具有選自由以下組成之群的式：



其中Z為延伸體單元，A為一鍵結或連接體單元；B為並聯連接體單元；S*為分隔劑；RL為並非葡萄糖醛酸苷單元之可釋放連接子；且W為胺基酸單元；且

其中與Q之連接點係經由CPT1、CPT2、CPT3、CPT4、CPT5、CPT6或CPT7或者表I之化合物**14a-14z**及表J之化合物**18a-18r**中任一者之內酯環的經基取代基。

【0351】 在一組實施例中，Q具有選自由以下組成之群的式： $-Z-A-S^*-RL-$ 及 $-Z-A-S^*-RL-Y-$ 。

【0352】 在另一組實施例中，Q具有選自由 $-Z-A-B(S^*)-RL-$ 及 $-Z-A-B(S^*)-RL-Y-$ 組成之群的式。

【0353】 在又一組實施例中，Q具有選自由 $-Z-A-RL-$ 及 $-Z-A-RL-Y-$ 組成之群的式。

延伸體單元(Z)或(Z')

【0354】 延伸體單元(Z)為ADC或喜樹鹼-連接子化合物或其他中間體之組分，其用於將配位體單元連接至接合物之其餘部分。就此而言，延伸體單元在連接至配位體單元之前(亦即，延伸體單元前驅體，Z')，具有可與靶向配位體(例如，抗體)之官能基形成一鍵之官能基。

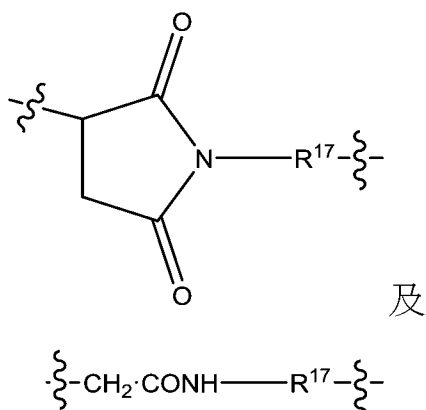
【0355】 在一些實施例中，延伸體單元前驅體(Z')具有親電基團，其能夠與配位體單元(例如，抗體)上存在之反應性親核基團相互作用以在配位體單元與

連接子單元之延伸體單元之間提供共價鍵。具有彼能力之抗體上之親核基團包括但不限於巰基、羥基及胺基官能基。抗體親核基團之雜原子與延伸體單元前驅體上之親電基團反應，且在配位體單元與連接子單元或藥物-連接子部分之延伸體單元之間提供共價鍵。可用於彼目的之親電基團包括但不限於順丁烯二醯亞胺、鹵代乙醯胺基及NHS酯。親電基團為抗體連接提供便利之位點，以形成ADC或配位體單元-連接子中間體。

【0356】 在其他實施例中，延伸體單元前驅體具有反應性位點，該反應性位點具有可與配位體單元(例如，抗體)上存在之親電基團反應之親核基團。抗體上可用於彼目的之親電基團包括但不限於醛及酮羰基。延伸體單元前驅體之親核基團之雜原子可與抗體上之親電基團反應且與抗體形成共價鍵。延伸體單元前驅體上可用於彼目的之親核基團包括但不限於醯肼、羥胺、胺基、肼、縮胺基硫脲、羧酸肼及芳基醯肼。抗體上之親電基團為抗體連接提供便利之位點，以形成ADC或配位體單元-連接子中間體。

【0357】 在一些實施例中，配位體單元之硫原子與藉由靶向配位體之硫醇官能基與相應延伸體單元前驅體之順丁烯二醯亞胺部分反應而形成之延伸體單元之丁二醯亞胺環系統結合。在其他實施例中，配位體單元之硫醇官能基與 α 鹵代乙醯胺部分反應，以藉由其鹵素取代基之親核置換來提供硫鍵結之延伸體單元。

【0358】 此類實施例之代表性延伸體單元包括具有以下結構之彼等：



及

其中與 R^{17} 相鄰之波形線指示連接至並聯連接體單元(B)或連接體單元(A)

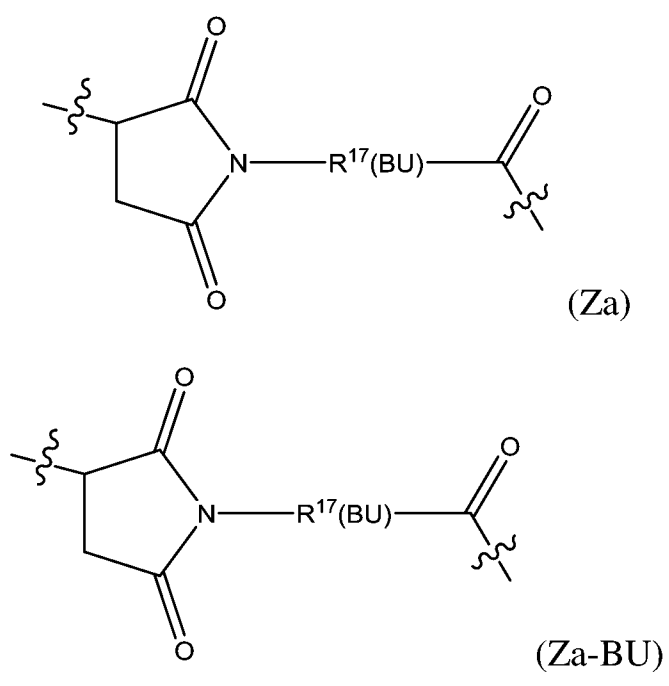
(若B不存在)或分隔劑(S^*) (若B不存在)，另一波形線指示共價連接至配位體單元之硫原子，且 R^{17} 為-C₁-C₁₀伸烷基-、C₁-C₁₀伸雜烷基-、-C₃-C₈碳環-、-O-(C₁-C₈伸烷基)-、-伸芳基-、-C₁-C₁₀伸烷基-伸芳基-、-伸芳基-C₁-C₁₀伸烷基-、-C₁-C₁₀伸烷基-(C₃-C₈碳環)-、-(C₃-C₈碳環)-C₁-C₁₀伸烷基-、-C₃-C₈雜環-、-C₁-C₁₀伸烷基-(C₃-C₈雜環)-、-(C₃-C₈雜環)-C₁-C₁₀伸烷基-、-C₁-C₁₀伸烷基-C(=O)-、C₁-C₁₀伸雜烷基-C(=O)-、-C₃-C₈碳環-C(=O)-、-O-(C₁-C₈伸烷基)-C(=O)-、-伸芳基-C(=O)-、-C₁-C₁₀伸烷基-伸芳基-C(=O)-、-伸芳基-C₁-C₁₀伸烷基-C(=O)-、-C₁-C₁₀伸烷基-(C₃-C₈碳環)-C(=O)-、-(C₃-C₈碳環)-C₁-C₁₀伸烷基-C(=O)-、-C₃-C₈雜環-C(=O)-、-C₁-C₁₀伸烷基-(C₃-C₈雜環)-C(=O)-、-(C₃-C₈雜環)-C₁-C₁₀伸烷基-C(=O)-、-C₁-C₁₀伸烷基-NH-、-C₁-C₁₀伸雜烷基-NH-、-C₃-C₈碳環-NH-、-O-(C₁-C₈伸烷基)-NH-、-伸芳基-NH-、-C₁-C₁₀伸烷基-伸芳基-NH-、-伸芳基-C₁-C₁₀伸烷基-NH-、-C₁-C₁₀伸烷基-(C₃-C₈碳環)-NH-、-(C₃-C₈碳環)-C₁-C₁₀伸烷基-NH-、-C₃-C₈雜環-NH-、-C₁-C₁₀伸烷基-(C₃-C₈雜環)-NH-、-(C₃-C₈雜環)-C₁-C₁₀伸烷基-NH-、-C₁-C₁₀伸烷基-S-、C₁-C₁₀伸雜烷基-S-、-C₃-C₈碳環-S-、-O-(C₁-C₈伸烷基)-S-、-伸芳基-S-、-C₁-C₁₀伸烷基-伸芳基-S-、-伸芳基-C₁-C₁₀伸烷基-S-、-C₁-C₁₀伸烷基-(C₃-C₈碳環)-S-、-(C₃-C₈碳

環)-C₁-C₁₀伸烷基-S-、-C₃-C₈雜環-S-、-C₁-C₁₀伸烷基-(C₃-C₈雜環)-S-或-(C₃-C₈雜環)-C₁-C₁₀伸烷基-S-。

【0359】 在一些實施例中，R¹⁷基團視情況經鹼性單元(BU)，諸如胺基烷基部分，例如-(CH₂)_xNH₂、-(CH₂)_xNHR^a及-(CH₂)_xNR^a₂取代，其中下標x為1-4之整數，且各R^a係獨立地選自由C₁₋₆烷基及C₁₋₆鹵烷基組成之群，或兩個R^a基團與其所連接之氮組合形成氮雜環丁烷基、吡咯啉基或哌啉基。

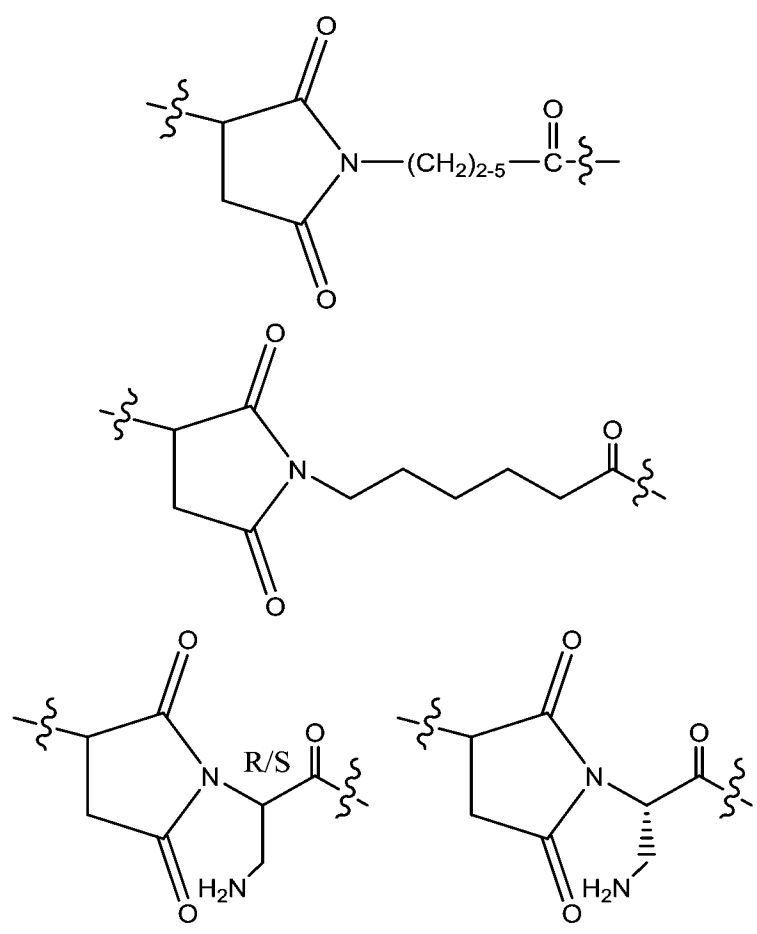
【0360】 說明性延伸體單元為式Za或Za-BU之延伸體單元，其中R¹⁷為-C₁-C₁₀伸烷基-C(=O)-、-C₁-C₁₀伸雜烷基-C(=O)-、-C₃-C₈碳環-C(=O)-、-O-(C₁-C₈伸烷基)-C(=O)-、-伸芳基-C(=O)-、-C₁-C₁₀伸烷基-伸芳基-C(=O)-、-伸芳基-C₁-C₁₀伸烷基-C(=O)-、-C₁-C₁₀伸烷基-(C₃-C₈碳環)-C(=O)-、-(C₃-C₈碳環)-C₁-C₁₀伸烷基-C(=O)-、-C₃-C₈雜環-C(=O)-、-C₁-C₁₀伸烷基-(C₃-C₈雜環)-C(=O)-或-(C₃-C₈雜環)-C₁-C₁₀伸烷基-C(=O)-。

【0361】 因此，一些較佳實施例由式Za及式Za-BU表示：



其中與羰基碳原子相鄰之波形線指示與上式中之B、A或S*連接，此取決於A及/或B之存在或不存在，且另一波形線指示丁二醯亞胺環碳原子與配位體單元之硫原子共價鍵結。在合成期間，鹼性單元(BU)之鹼性胺基官能基可由保護基保護。

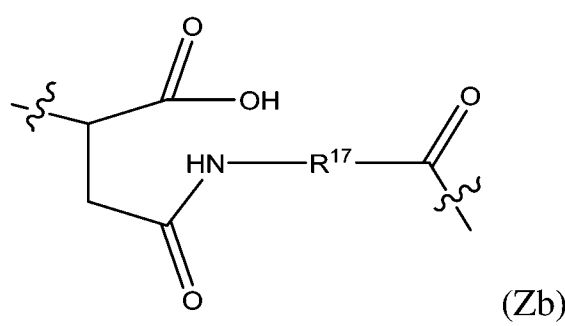
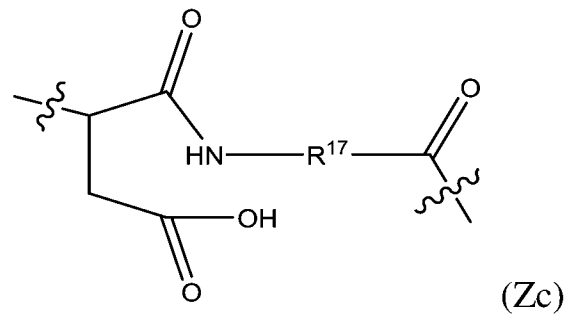
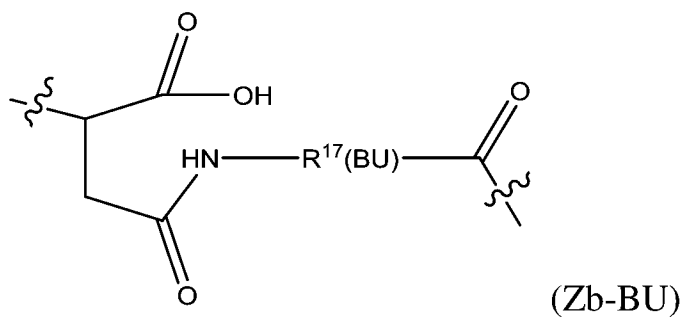
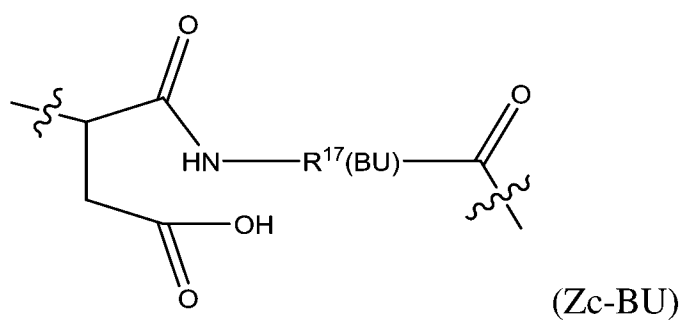
【0362】 式Za及式Za-BU之延伸體單元之更佳實施例如下：



其中與羰基碳原子相鄰之波形線指示與上式中之B、A或S*連接，此取決於A及/或B之存在或不存在，且另一波形線指示丁二醯亞胺環碳原子與配位體單元之硫原子共價鍵結。

【0363】 應理解，經配位體單元取代之丁二醯亞胺可呈水解形式存在。下文針對Za或Za-BU之水解例示彼等形式，其中代表來自彼水解之區域異構物的結構具有式Zb及式Zc或式Zb-BU及式Zc-BU。

【0364】 因此，在其他較佳實施例中，延伸體單元(Z)包含由下式表示之丁二酸-醯胺部分：

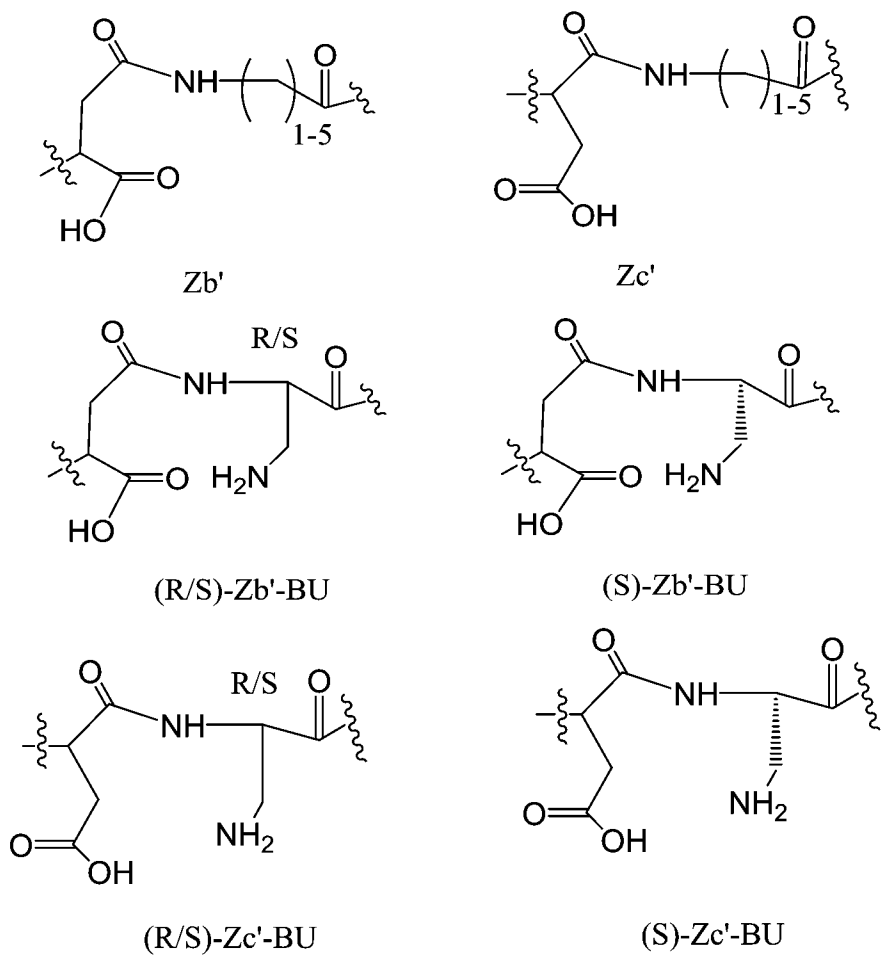


其中與 R^{17} 鍵結之羰基碳原子相鄰之波形線及與酸-醯胺部分之碳原子相鄰之波形線如針對Za或Za-BU所定義，此取決於A及/或B之存在或不存在； R^{17} 為-C₁-C₅伸烷基-，其中在Zb-BU及Zc-BU中，伸烷基經鹼性單元(BU)取代，其中BU為-(CH₂)_xNH₂、-(CH₂)_xNHR^a或-(CH₂)_xN(R^a)₂，其中下標x為1-4之整數，且各R^a

係獨立地選自由C₁₋₆烷基及C₁₋₆鹵烷基組成之群，或兩個R^a與其所連接之氮一起定義氮雜環丁烷基、吡咯啉基或哌啉基。

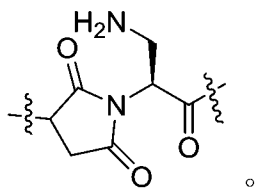
【0365】 在更佳實施例中，-Z-A-包含衍生自順丁烯二醯亞胺基-烷酸部分或mDPR部分之部分。參見例如WO 2013/173337。在一組實施例中，Z-A-衍生自順丁烯二醯亞胺基-丙醯基部分。

【0366】 因此，在彼等更佳實施例中之一些實施例中，延伸體單元(Z)包含由如下式Zb'、Zc'、(R/S)-Zb'-BU、(S)-Zb'-BU、(R/S)-Zc'-BU或(S)-Zc'-BU之結構表示之丁二酸-醯胺部分：

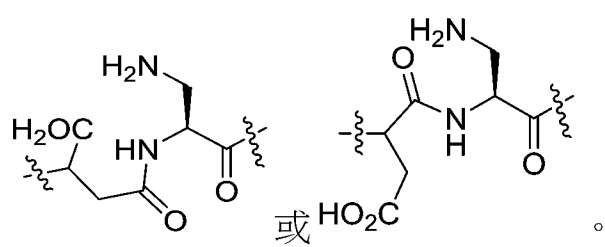


其中波形線如針對Za或Za-BU所定義。

【0367】 在特別較佳實施例中，延伸體單元(Z)包含由以下結構表示之丁二醯亞胺部分：

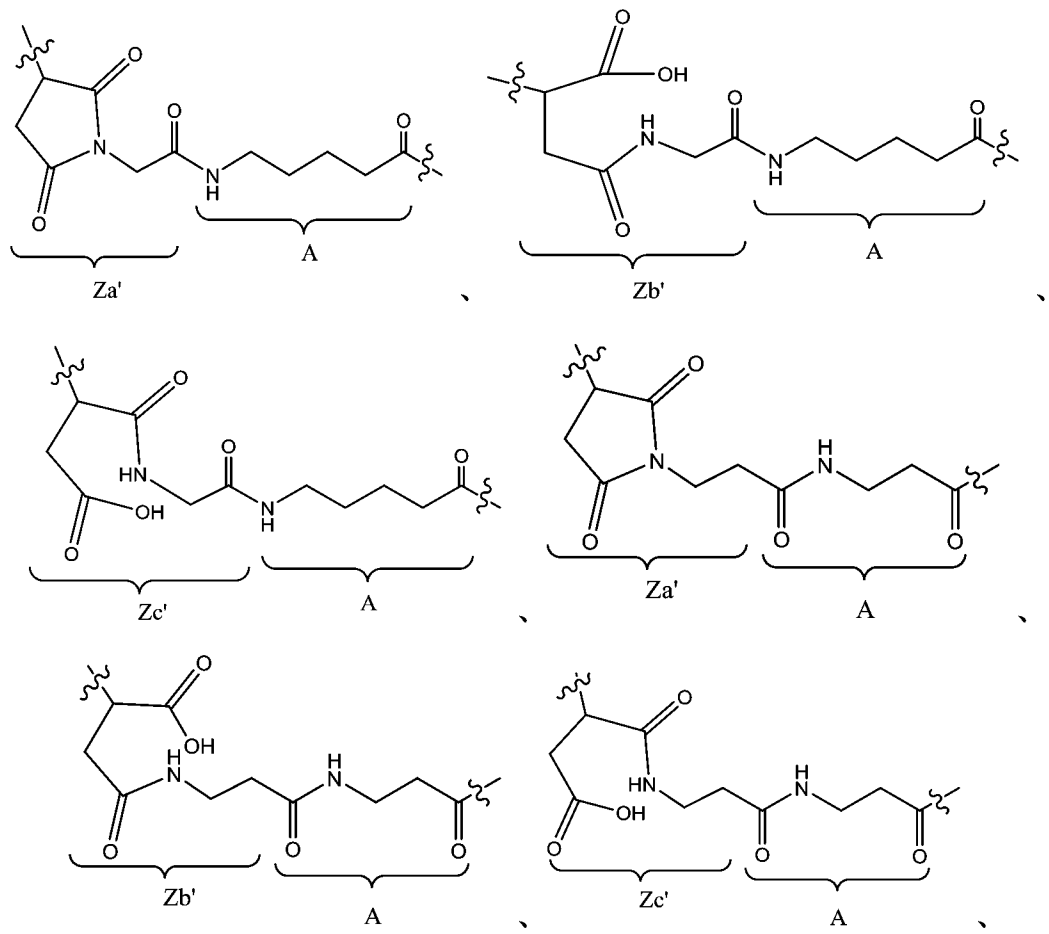


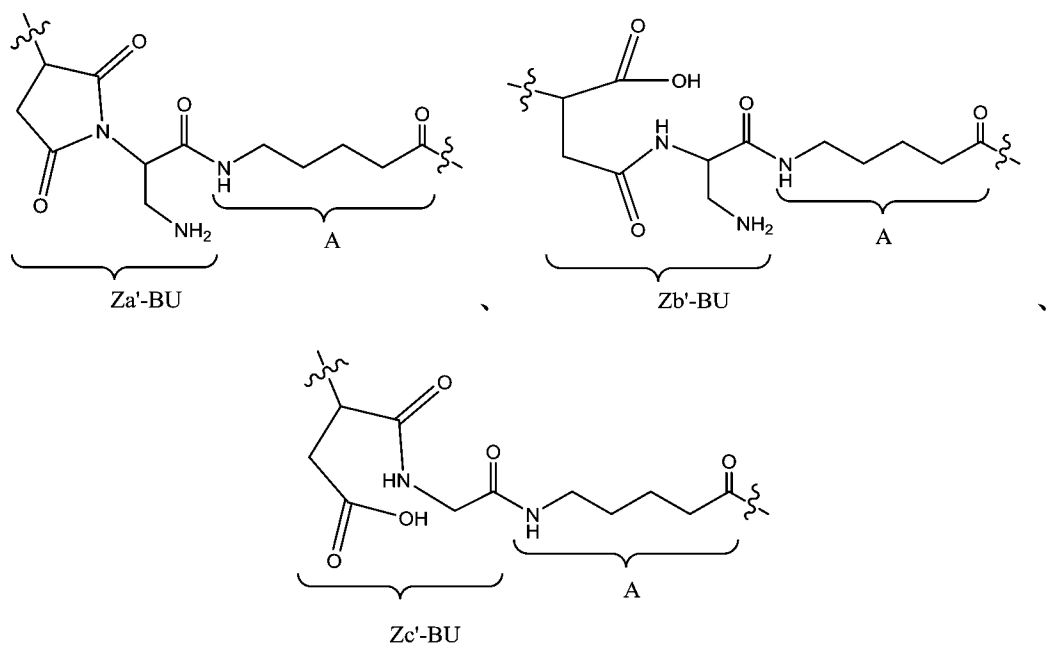
或包含由以下結構表示之丁二酸-醯胺部分：



【0368】 包含Za'、Zb'或Zc'，其中Za、Zb或Zc之-R¹⁷-為-CH₂-或-CH₂CH₂-，

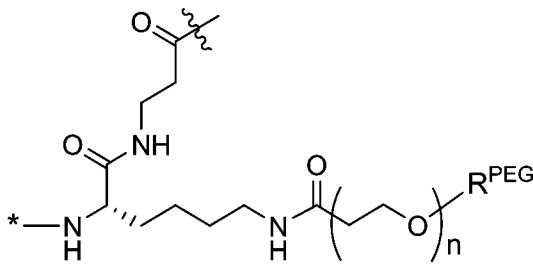
或包含Za'-BU、Zb'-BU或Zc'-BU，其中Za-BU、Zb-BU或Zc-BU之-R¹⁷(BU)-為-CH(CH₂NH₂)-的與連接體單元(A)鍵結之說明性延伸體單元，具有以下結構：





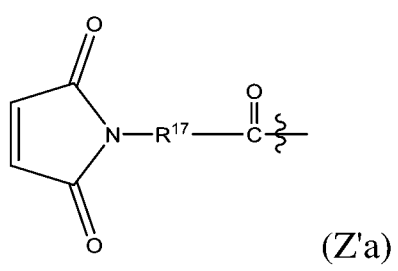
其中波形線如針對Za或Za-BU所定義。

【0369】 與配位體單元(L)及連接體單元(A)鍵結之其他延伸體單元具有上述結構，其中上述-Za-A-、-Za(BU)-A-、-Za'-A-、-Za'(BU)-A-、-Zb-A-、-Zb(BU)-A-、-Zb'-A-、-Zb'(BU)-、-Zc'-A-及Zc'(BU)-A-結構中任一者中之A經具有以下結構之並聯連接體單元置換：



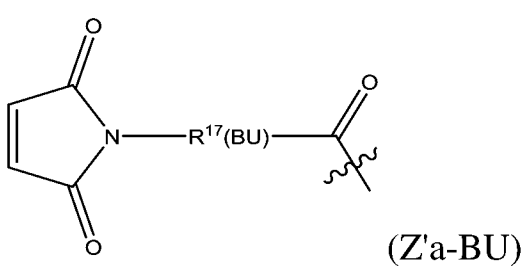
其中下標n在8至24之範圍內；R^{PEG}為PEG單元封端基團，較佳為-CH₃或-CH₂CH₂CO₂H，星號(*)指示共價連接至結構上對應於式Za、Za'、Zb'或Zc'之延伸體單元，且波形線指示共價連接至可釋放連接子(RL)。

【0370】 與配位體單元接合之前的說明性延伸體單元(亦即，延伸體單元前驅體)包含順丁烯二醯亞胺部分且由包括式Z'a結構之結構表示



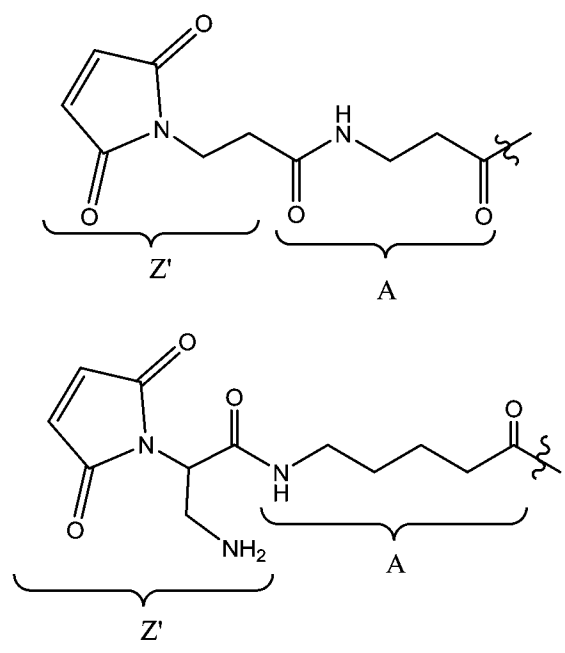
其中與羰基碳原子相鄰之波形線指示與上式中之B、A或S*連接，此取決於A及/或B之存在或不存在，R¹⁷為-(CH₂)₁₋₅-，視情況經鹼性單元，諸如視情況經取代之胺基烷基，例如-(CH₂)_xNH₂、-(CH₂)_xNHR^a及-(CH₂)_xN(R^a)₂取代，其中下標x為1-4之整數，且各R^a係獨立地選自由C₁₋₆烷基及C₁₋₆鹵烷基組成之群，或兩個R^a基團與其所連接之氮組合形成氮雜環丁烷基、吡咯啉基或哌啉基。

【0371】 與配位體單元接合之前的其他說明性延伸體單元(亦即，延伸體單元前驅體)包含順丁烯二醯亞胺部分且由包括式Z'a-BU結構之結構表示。



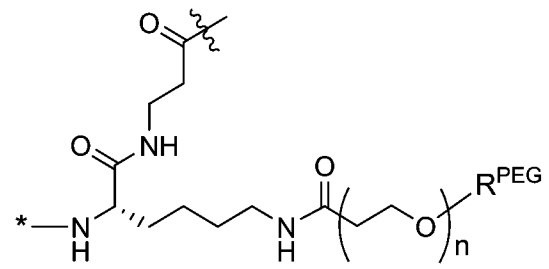
其中與羰基碳原子相鄰之波形線指示與上式中之B、A或S*連接，此取決於A及/或B之存在或不存在，R¹⁷為-(CH₂)₁₋₅-，經鹼性單元，諸如視情況經取代之胺基烷基，例如-(CH₂)_xNH₂、-(CH₂)_xNHR^a及-(CH₂)_xN(R^a)₂取代，其中下標x為1-4之整數，較佳地，R¹⁷為-CH₂-或-CH₂CH₂-且下標x為1或2，且各R^a係獨立地選自由C₁₋₆烷基及C₁₋₆鹵烷基組成之群，或兩個R^a基團與其所連接之氮組合形成氮雜環丁烷基、吡咯啉基或哌啉基。

【0372】 在式Z'a之一些較佳實施例中，延伸體單元前驅體由以下結構之一表示：



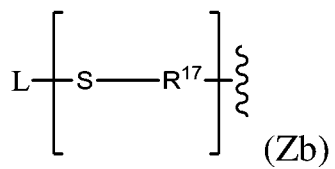
其中與羰基相鄰之波形線如針對Z'a或Z'a-BU所定義。

【0376】 與連接體單元(A)鍵結之其他延伸體單元前驅體具有上述結構，其中上述Z'-A-及Z'(BU)-A-結構中任一者中之A經具有以下結構之並聯連接體單元及分隔劑(-B(S^{*})-)置換



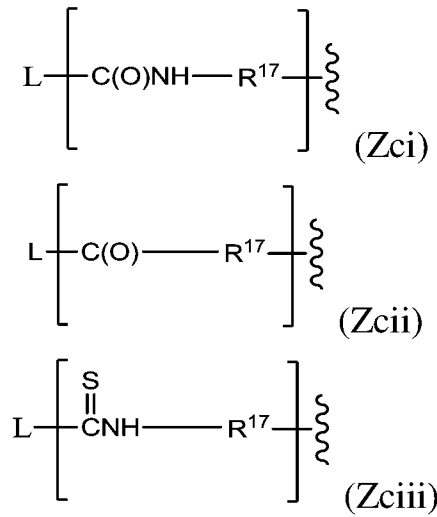
其中下標n在8至24之範圍內；R^{PEG}為PEG單元封端基團，較佳為-CH₃或-CH₂CH₂CO₂H，星號(*)指示共價連接至結構上對應於式Za或Za'-之延伸體單元前驅體，且波形線指示共價連接至RL。在諸如此處所示之彼等的情況下，所示之PEG基團意圖例示多種分隔劑，包括不同長度之PEG基團及可直接連接或經修飾以連接至並聯連接體單元之其他分隔劑。

【0377】 在另一個實施例中，延伸體單元經由配位體單元之硫原子與延伸體單元之硫原子之間的二硫鍵連接至配位體單元。此實施例之代表性延伸體單元描繪於式**Zb**之方括號內：



其中波形線指示與並聯連接體單元(B)或連接體單元(A) (若B不存在)或分隔劑(S*) (若A及B不存在)連接，且R¹⁷為-C₁-C₁₀伸烷基-、C₁-C₁₀伸雜烷基-、-C₃-C₈碳環-、-O-(C₁-C₈伸烷基)-、-伸芳基-、-C₁-C₁₀伸烷基-伸芳基-、-伸芳基-C₁-C₁₀伸烷基-、-C₁-C₁₀伸烷基-(C₃-C₈碳環)-、-(C₃-C₈碳環)-C₁-C₁₀伸烷基-、-C₃-C₈雜環-、-C₁-C₁₀伸烷基-(C₃-C₈雜環)-、-(C₃-C₈雜環)-C₁-C₁₀伸烷基-、-C₁-C₁₀伸烷基-C(=O)-、C₁-C₁₀伸雜烷基-C(=O)-、-C₃-C₈碳環-C(=O)-、-O-(C₁-C₈伸烷基)-C(=O)-、-伸芳基-C(=O)-、-C₁-C₁₀伸烷基-伸芳基-C(=O)-、-伸芳基-C₁-C₁₀伸烷基-C(=O)-、-C₁-C₁₀伸烷基-(C₃-C₈碳環)-C(=O)-、-(C₃-C₈碳環)-C₁-C₁₀伸烷基-C(=O)-、-C₃-C₈雜環-C(=O)-、-C₁-C₁₀伸烷基-(C₃-C₈雜環)-C(=O)-、-(C₃-C₈雜環)-C₁-C₁₀伸烷基-C(=O)-、-C₁-C₁₀伸烷基-NH-、C₁-C₁₀伸雜烷基-NH-、-C₃-C₈碳環-NH-、-O-(C₁-C₈伸烷基)-NH-、-伸芳基-NH-、-C₁-C₁₀伸烷基-伸芳基-NH-、-伸芳基-C₁-C₁₀伸烷基-NH-、-C₁-C₁₀伸烷基-(C₃-C₈碳環)-NH-、-(C₃-C₈碳環)-C₁-C₁₀伸烷基-NH-、-C₃-C₈雜環-NH-、-C₁-C₁₀伸烷基-(C₃-C₈雜環)-NH-、-(C₃-C₈雜環)-C₁-C₁₀伸烷基-NH-、-C₁-C₁₀伸烷基-S-、C₁-C₁₀伸雜烷基-S-、-C₃-C₈碳環-S-、-O-(C₁-C₈伸烷基)-S-、-伸芳基-S-、-C₁-C₁₀伸烷基-伸芳基-S-、-伸芳基-C₁-C₁₀伸烷基-S-、-C₁-C₁₀伸烷基-(C₃-C₈碳環)-S-、-(C₃-C₈碳環)-C₁-C₁₀伸烷基-S-、-C₃-C₈雜環-S-、-C₁-C₁₀伸烷基-(C₃-C₈雜環)-S-或-(C₃-C₈雜環)-C₁-C₁₀伸烷基-S-。

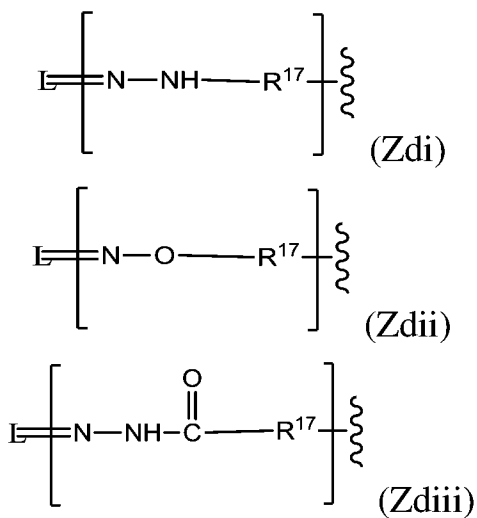
【0378】 在又一個實施例中，延伸體單元前驅體之反應性基團含有可與配位體單元(例如，抗體)之一級胺基或二級胺基形成一鍵之反應性位點。此等反應性位點之實例包括但不限於活化酯，諸如丁二醯亞胺酯、4-硝基苯酯、五氟苯酯、四氟苯酯、酸酐、酸氯化物、磺醯氯、異氰酸酯及異硫氰酸酯。此實施例之代表性延伸體單元描繪於式Zci、式Zcii及式Zciii之方括號內：



其中波形線指示與並聯連接體單元(B)或連接體單元(A) (若B不存在)或分隔劑(S*) (若A及B不存在)連接，且R¹⁷為-C₁-C₁₀伸烷基-、C₁-C₁₀伸雜烷基-、-C₃-C₈碳環-、-O-(C₁-C₈伸烷基)-、-伸芳基-、-C₁-C₁₀伸烷基-伸芳基-、-伸芳基-C₁-C₁₀伸烷基-、-C₁-C₁₀伸烷基-(C₃-C₈碳環)-、-(C₃-C₈碳環)-C₁-C₁₀伸烷基-、-C₃-C₈雜環-、-C₁-C₁₀伸烷基-(C₃-C₈雜環)-、-(C₃-C₈雜環)-C₁-C₁₀伸烷基-、-C₁-C₁₀伸烷基-C(=O)-、C₁-C₁₀伸雜烷基-C(=O)-、-C₃-C₈碳環-C(=O)-、-O-(C₁-C₈伸烷基)-C(=O)-、-伸芳基-C(=O)-、-C₁-C₁₀伸烷基-伸芳基-C(=O)-、-伸芳基-C₁-C₁₀伸烷基-C(=O)-、-C₁-C₁₀伸烷基-(C₃-C₈碳環)-C(=O)-、-(C₃-C₈碳環)-C₁-C₁₀伸烷基-C(=O)-、-C₃-C₈雜環-C(=O)-、-C₁-C₁₀伸烷基-(C₃-C₈雜環)-C(=O)-、-(C₃-C₈雜環)-C₁-C₁₀伸烷基-C(=O)-、-C₁-C₁₀伸烷基-NH-、C₁-C₁₀伸雜烷基-NH-、-C₃-C₈碳環-NH-、-O-(C₁-C₈伸烷基)-NH-、-伸芳基-NH-、-C₁-C₁₀伸烷基-伸芳基-NH-、-伸芳基-C₁-C₁₀伸烷基-NH-、

-C₁-C₁₀伸烷基-(C₃-C₈碳環)-NH-、-(C₃-C₈碳環)-C₁-C₁₀伸烷基-NH-、-C₃-C₈雜環-NH-、-C₁-C₁₀伸烷基-(C₃-C₈雜環)-NH-、-(C₃-C₈雜環)-C₁-C₁₀伸烷基-NH-、-C₁-C₁₀伸烷基-S-、C₁-C₁₀伸雜烷基-S-、-C₃-C₈碳環-S-、-O-(C₁-C₈伸烷基)-S-、-伸芳基-S-、-C₁-C₁₀伸烷基-伸芳基-S-、-伸芳基-C₁-C₁₀伸烷基-S-、-C₁-C₁₀伸烷基-(C₃-C₈碳環)-S-、-(C₃-C₈碳環)-C₁-C₁₀伸烷基-S-、-C₃-C₈雜環-S-、-C₁-C₁₀伸烷基-(C₃-C₈雜環)-S-或-(C₃-C₈雜環)-C₁-C₁₀伸烷基-S-。

【0379】 在其他實施例中，延伸體單元前驅體之反應性基團含有反應性親核試劑，其能夠與存在於配位體單元上或引入配位體單元中之親電試劑反應。舉例而言，可使用諸如過碘酸鈉之試劑適度地氧化靶向配位體上之碳水化合物部分，且可使經氧化之碳水化合物之所得親電官能基(-CHO)與延伸體單元前驅體縮合，該延伸體單元前驅體含有反應性親核試劑，諸如醯肼、肼、一級胺或二級胺、肼、縮胺基硫脲、羧酸肼或芳基醯肼，諸如由Kaneko, T.等人 (1991) Bioconjugate Chem. 2:133-41所述之彼等。此實施例之代表性延伸體單元描繪於式Zdi、式Zdii及式Zdiii之方括號內：



其中波形線指示與並聯連接體單元(B)或連接體單元(A)、或分隔劑(S*) (若A及B不存在)連接，且R¹⁷為-C₁-C₁₀伸烷基-、C₁-C₁₀伸雜烷基-、-C₃-C₈碳環-、

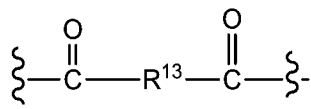
-O-(C₁-C₈伸烷基)-、-伸芳基-、-C₁-C₁₀伸烷基-伸芳基-、-伸芳基-C₁-C₁₀伸烷基-、
-C₁-C₁₀伸烷基-(C₃-C₈碳環)-、-(C₃-C₈碳環)-C₁-C₁₀伸烷基-、-C₃-C₈雜環-、-C₁-C₁₀
伸烷基-(C₃-C₈雜環)-、-(C₃-C₈雜環)-C₁-C₁₀伸烷基-、-C₁-C₁₀伸烷基-C(=O)-、C₁-C₁₀
伸雜烷基-C(=O)-、-C₃-C₈碳環-C(=O)-、-O-(C₁-C₈伸烷基)-C(=O)-、-伸芳基
-C(=O)-、-C₁-C₁₀伸烷基-伸芳基-C(=O)-、-伸芳基-C₁-C₁₀伸烷基-C(=O)-、-C₁-C₁₀
伸烷基-(C₃-C₈碳環)-C(=O)-、-(C₃-C₈碳環)-C₁-C₁₀伸烷基-C(=O)-、-C₃-C₈雜環
-C(=O)-、-C₁-C₁₀伸烷基-(C₃-C₈雜環)-C(=O)-、-(C₃-C₈雜環)-C₁-C₁₀伸烷基-C(=O)-、
-C₁-C₁₀伸烷基-NH-、C₁-C₁₀伸雜烷基-NH-、-C₃-C₈碳環-NH-、-O-(C₁-C₈伸烷
基)-NH-、-伸芳基-NH-、-C₁-C₁₀伸烷基-伸芳基-NH-、-伸芳基-C₁-C₁₀伸烷基-NH-、
-C₁-C₁₀伸烷基-(C₃-C₈碳環)-NH-、-(C₃-C₈碳環)-C₁-C₁₀伸烷基-NH-、-C₃-C₈雜環
-NH-、-C₁-C₁₀伸烷基-(C₃-C₈雜環)-NH-、-(C₃-C₈雜環)-C₁-C₁₀伸烷基-NH-、-C₁-C₁₀
伸烷基-S-、C₁-C₁₀伸雜烷基-S-、-C₃-C₈碳環-S-、-O-(C₁-C₈伸烷基)-S-、-伸芳基-S-、
-C₁-C₁₀伸烷基-伸芳基-S-、-伸芳基-C₁-C₁₀伸烷基-S-、-C₁-C₁₀伸烷基-(C₃-C₈碳
環)-S-、-(C₃-C₈碳環)-C₁-C₁₀伸烷基-S-、-C₃-C₈雜環-S-、-C₁-C₁₀伸烷基-(C₃-C₈雜
環)-S-或-(C₃-C₈雜環)-C₁-C₁₀伸烷基-S-。

【0380】 在本發明之一些態樣中，延伸體單元具有不超過約1000道爾頓、
不超過約500道爾頓、不超過約200道爾頓、約30、50或100道爾頓至約1000道爾
頓、約30、50或100道爾頓至約500道爾頓或約30、50或100道爾頓至約200道爾
頓之質量。

連接體單元(A)

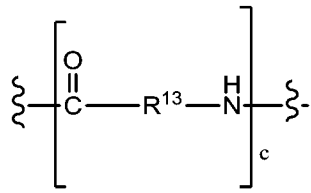
【0381】 在一些實施例中，在需要在延伸體單元(Z)或其前驅體(Z')與可釋
放連接子之間增加額外距離之情況下，連接體單元(A)包括於ADC或喜樹鹼-連接

【0385】 具有用於連接至分隔劑(S*)或-B(S*)-之羰基的另一代表性連接體單元如下：



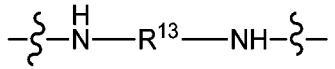
其中R¹³為-C₁-C₆伸烷基-、-C₃-C₈碳環-、-伸芳基-、-C₁-C₁₀伸雜烷基-、-C₃-C₈雜環-、-C₁-C₁₀伸烷基-伸芳基-、-伸芳基-C₁-C₁₀伸烷基-、-C₁-C₁₀伸烷基-(C₃-C₈碳環)-、-(C₃-C₈碳環)-C₁-C₁₀伸烷基-、-C₁-C₁₀伸烷基-(C₃-C₈雜環)-或-(C₃-C₈雜環)-C₁-C₁₀伸烷基-。在一些實施例中，R¹³為-C₁-C₆伸烷基。

【0386】 具有連接至分隔劑(S*)或-B(S*)-之NH部分之代表性連接體單元如下：



其中在每種情況下，R¹³係獨立地選自由-C₁-C₆伸烷基-、-C₃-C₈碳環-、-伸芳基-、-C₁-C₁₀伸雜烷基-、-C₃-C₈雜環-、-C₁-C₁₀伸烷基-伸芳基-、-伸芳基-C₁-C₁₀伸烷基-、-C₁-C₁₀伸烷基-(C₃-C₈碳環)-、-(C₃-C₈碳環)-C₁-C₁₀伸烷基-、-C₁-C₁₀伸烷基-(C₃-C₈雜環)-及-(C₃-C₈雜環)-C₁-C₁₀伸烷基-組成之群，且下標c為1至14。在一些實施例中，R¹³為-C₁-C₆伸烷基且下標c為1。

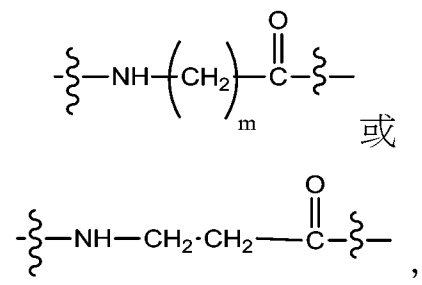
【0387】 具有連接至分隔劑(S*)或-B(S*)-之NH部分之另一代表性連接體單元如下：



其中R¹³為-C₁-C₆伸烷基-、-C₃-C₈碳環-、-伸芳基-、-C₁-C₁₀伸雜烷基-、-C₃-C₈雜環-、-C₁-C₁₀伸烷基-伸芳基-、-伸芳基-C₁-C₁₀伸烷基-、-C₁-C₁₀伸烷基-(C₃-C₈碳環)-、-(C₃-C₈碳環)-C₁-C₁₀伸烷基-、-C₁-C₁₀伸烷基-(C₃-C₈雜環)-及-(C₃-C₈雜環)-C₁-C₁₀伸烷基-組成之群，且下標c為1至14。在一些實施例中，R¹³為-C₁-C₆伸烷基且下標c為1。

環)-、-(C₃-C₈碳環)-C₁-C₁₀伸烷基-、-C₁-C₁₀伸烷基-(C₃-C₈雜環)-、-(C₃-C₈雜環)-C₁-C₁₀伸烷基-、-C(=O)C₁-C₆伸烷基-或-C₁-C₆伸烷基-C(=O)-C₁-C₆伸烷基。

【0388】 連接體單元之所選實施例包括具有以下結構之彼等：



其中與氮相鄰之波形線指示共價連接至延伸體單元(Z) (或其前驅體Z')，且與羰基相鄰之波形線指示共價連接至分隔劑(S*)或-B(S*)-；且m為1至6、較佳2至6、更佳2至4範圍內之整數。

【0389】 在一些實施例中，除非另有註釋，否則「連接體」及「連接器」可互換使用。

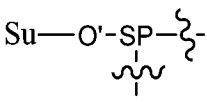
可釋放連接子(RL)

【0390】 葡萄糖醛酸苷單元為一種類型之可釋放連接子，其提供經由活化連接子單元內之自消級聯將喜樹鹼與配位體單元以及連接子單元之其他組分分離的機制。在此類實施例中，藉由在葡萄糖醛酸苷單元之碳水化合物部分上操作糖苷酶來活化自消級聯。許多糖或糖部分可用於本文所述之實施例中。特定碳水化合物部分(例如，糖部分)包括半乳糖、葡萄糖、甘露糖、木糖、阿拉伯糖、甘露糖-6-磷酸、岩藻糖、鼠李糖、古洛糖、阿洛糖、6-去氧-葡萄糖、乳糖、麥芽糖、纖維雙糖、龍膽雙糖、麥芽三糖、GlcNAc、GalNAc及麥芽六糖之彼等。

【0391】 糖苷單元典型地包含經由氧糖苷鍵連接至自消間隔體之糖部分(Su)。氧糖苷鍵之裂解起始自消反應序列，從而釋放遊離藥物。在一些實施例中，

藉由用β-葡萄糖醛酸酶使葡萄糖醛酸苷單元裂解來活化自消序列，該單元為例示性糖苷單元。葡萄糖醛酸苷單元包含活化單元及自消間隔體單元。葡萄糖醛酸苷單元包含經由氧糖苷鍵連接至自消間隔體單元之糖部分(Su)。

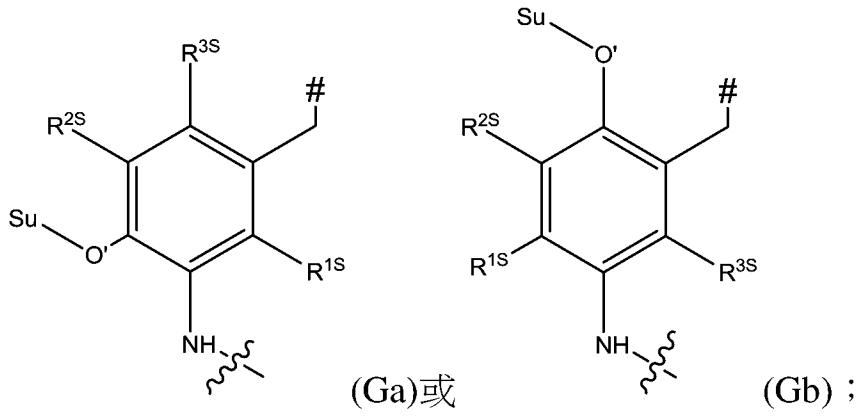
【0392】 在一些實施例中，葡萄糖醛酸苷單元包含經由氧糖苷鍵(-O'-)連接至下式之自消單元(SP)之糖部分(Su)：



其中波形線指示視情況而定，直接地或間接地經由連接體單元(A)或並聯連接體單元(B)、分隔劑(S*)或連接體單元與並聯連接體單元之組合，共價連接至式CPT1、CPT2、CPT3、CPT4、CPT5、CPT6及CPT7中任一者之藥物單元，或共價連接至與藥物單元(喜樹鹼化合物)連接之間隔體單元，及共價連接至延伸體單元(Z)或其前驅體(Z')。

【0393】 氧糖苷鍵(-O'-)典型地為β-葡萄糖醛酸酶裂解位點(亦即，Su來自葡萄糖醛酸苷)，諸如可由人類溶酶體β-葡萄糖醛酸酶裂解之糖苷鍵。

【0394】 在一些實施例中，葡萄糖醛酸苷單元可由式Ga或式Gb表示：

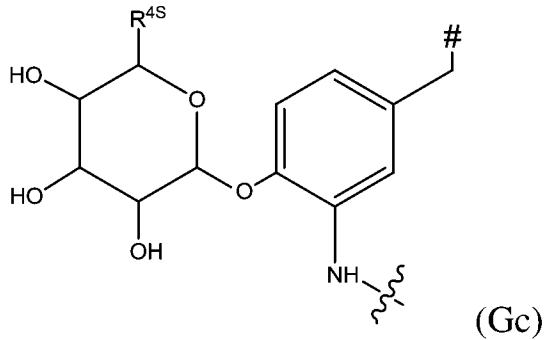


其中Su為糖部分，-O'-代表氧糖苷鍵；R^{1S}、R^{2S}及R^{3S}獨立地為氫、鹵素、-CN、-NO₂或其他拉電子基團、或推電子基團；且其中波形線指示直接地或間接地經

由連接體單元或並聯連接體單元或連接體單元及並聯連接體單元連接至延伸體單元(Z) (或其前驅體(Z'))；且#指示連接至喜樹鹼或間隔體(直接地或間接地經由介入官能基或其他部分)。

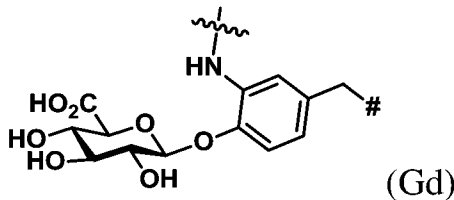
【0395】 在較佳實施例中， R^{1S} 、 R^{2S} 及 R^{3S} 係獨立地選自氫、鹵素、-CN或-NO₂。在其他較佳實施例中， R^{1S} 、 R^{2S} 及 R^{3S} 各自為氫。在其他較佳實施例中， R^{2S} 為拉電子基團，較佳為NO₂，且 R^{1S} 及 R^{3S} 各自為氫。

【0396】 在一些此類態樣中，能夠由糖苷酶裂解以起始自消反應序列之可活化自消基團由式Gc表示：



其中 R^{4S} 為CH₂OH或-CO₂H，波形線指示直接地或間接地經由連接體單元或並聯連接體單元或連接體單元及並聯連接體單元共價連接至延長體單元(Z) (或其前驅體Z')，且井號(#)指示共價連接至亞甲基胺基甲酸酯單元。

【0397】 在其中可活化自消部分包含葡萄糖醛酸苷單元之一些實施例中，該可活化自消部分由下式Gd表示：

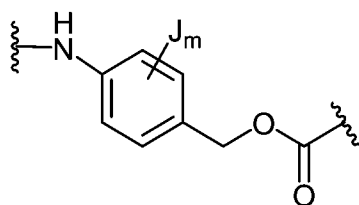


其中波形線指示直接地或間接地經由連接體單元或並聯連接體單元或連接體單元及並聯連接體單元共價連接至延伸體單元(Z) (或其前驅體Z')，且井號(#)指示共價連接與喜樹鹼連接之間隔體或官能基的苯甲基碳。

【0398】 提供經由活化連接子單元內之自消級聯將喜樹鹼與配位體單元以及連接子單元之其他組分分離之機制的另一種類型之可釋放連接子包含對胺基苯甲氧基羰基(PAB)部分，其伸苯基組分經 J_m 取代，其中下標 m 指示取代基之數目為0-4範圍內之整數，且各 J 獨立地為 $-C_1-C_8$ 烷基、 $-O-(C_1-C_8$ 烷基)、-鹵素、-硝基或-氰基。

【0399】 在一些實施例中，RL為無需獨立水解步驟或後續自消事件即能夠釋放-D之自消基團。在一些實施例中，-RL-為PAB部分，該PAB部分經由PAB基團之胺基氮原子連接至-W-之羰基，且經由碳酸酯基團直接地連接至-D。在相關實施例中，-RL-包含PAB部分，該PAB部分經由PAB基團之胺基氮原子連接至-A-、 $-S^*$ -或-B-之羰基，且經由碳酸酯基團直接地連接至-D。不受任何特定理論或機制束縛，自包含PAB部分之RL (其中RL經由碳酸酯基團直接地連接至-D)釋放藥物之可能機制示於Toki等人 (2002) J Org. Chem. 67:1866-1872中。

【0400】 在一些實施例中，含有PAB部分之RL單元由下式表示：

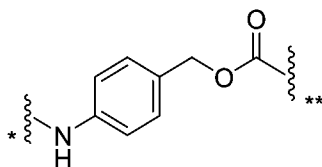


其中下標 m 為0-4範圍內之整數，且各 J 獨立地為 $-C_1-C_8$ 烷基、 $-O-(C_1-C_8$ 烷基)、-鹵素、-硝基或-氰基。

【0401】自消基團之其他實例包括但不限於電子上類似於PAB部分之芳族化合物，諸如2-胺基咪唑-5-甲醇衍生物(Hay等人 (1999) Bioorg. Med. Chem. Lett. 9:2237)及鄰胺基苯甲基縮醛或對胺基苯甲基縮醛。其他RL在醯胺鍵水解後經歷環化，諸如經取代及未經取代之4-胺基丁酸醯胺(Rodrigues等人, Chemistry Biology, 1995, 2, 223)、經適當取代之雙環[2.2.1]及雙環[2.2.2]環系統(Storm等人, J. Amer. Chem. Soc., 1972, 94, 5815)及2-胺基苯基丙酸醯胺(Amsberry等人, J. Org. Chem., 1990, 55, 5867)。

【0402】在一個實施例中，RL為分支雙(羥甲基)苯乙烯(BHMS)單元。

【0403】在一些實施例中，RL具有下式：



其中標有**之波形線指示與D之連接位點；且標有*之波形線指示與Q之額外連接子組分的連接點。

【0404】在一些實施例中，RL包含與藥物結合之式I、式II或式III之雜環「自消部分」且併有醯胺基團，該醯胺基團在由細胞內蛋白酶水解後起始反應，最終使自消部分自藥物中裂解，從而使得藥物以活性形式自接合物中釋放。連接子部分進一步包含與作為細胞內酶受質之自消部分相鄰之肽序列，該細胞內酶如細胞內蛋白酶，諸如組織蛋白酶(例如，組織蛋白酶B)，其在與自消部分共享之醯胺鍵處使肽裂解。對於本文所揭示之實施例，含有PAB之RL直接連接至存在於CPT1-CPT7中之每一者、表I之化合物14-14z中之每一者或表J之化合物18a-18r中之每一者中之內酯環的三級羥基。

【0405】在一些實施例中，雜環自消基團(RL)係選自式I、式II及式III：

經取代之雜環；或當合在一起時， R^2 及 R^3 形成羰基(=O)或3至7個碳原子之螺碳環；且

R^5 及 R^6 係獨立地選自H、 C_1 - C_8 烷基、 C_1 - C_8 經取代之烷基、 C_2 - C_8 烯基、 C_2 - C_8 經取代之烯基、 C_2 - C_8 炔基、 C_2 - C_8 經取代之炔基、 C_6 - C_{20} 芳基、 C_6 - C_{20} 經取代之芳基、 C_1 - C_{20} 雜環及 C_1 - C_{20} 經取代之雜環；

其中 C_1 - C_8 經取代之烷基、 C_2 - C_8 經取代之烯基、 C_2 - C_8 經取代之炔基、 C_6 - C_{20} 經取代之芳基及 C_2 - C_{20} 經取代之雜環獨立地經一或多個選自由以下組成之群的取代基取代：F、Cl、Br、I、OH、 $-N(R^5)_2$ 、 $-N(R^5)_3^+$ 、 C_1 - C_8 烷基鹵化物、羧酸酯、硫酸酯、胺基磺酸酯、磺酸酯、 C_1 - C_8 烷基磺酸酯、 C_1 - C_8 烷基胺基、4-二烷基胺基吡啶鎊、 C_1 - C_8 烷基羥基、 C_1 - C_8 烷基硫醇、 $-SO_2R^5$ 、 $-S(=O)R^5$ 、 $-SR^5$ 、 $-SO_2N(R^5)_2$ 、 $-C(=O)R^5$ 、 $-CO_2R^5$ 、 $-C(=O)N(R^5)_2$ 、 $-CN$ 、 $-N_3$ 、 $-NO_2$ 、 C_1 - C_8 烷氧基、 C_1 - C_8 三氟烷基、 C_1 - C_8 烷基、 C_3 - C_{12} 碳環、 C_6 - C_{20} 芳基、 C_2 - C_{20} 雜環、聚伸乙基氧基、膦酸酯及磷酸酯。

【0406】 接合物在細胞外或在不存在能夠使自消部分之醯胺鍵裂解之酶的情況下為穩定的。然而，在進入細胞中或暴露於適合之酶後，醯胺鍵裂解以起始自發性自消反應，使得自消部分與藥物共價連接之鍵裂解，從而釋放未衍生化或藥理活性形式之藥物。

【0407】 本發明接合物中之自消部分併有一或多個雜原子，且從而提供改良之溶解度，改良裂解速率及/或降低接合物聚集之傾向。在一些情況下，本發明之雜環自消連接子構築體相對於非雜環、PAB型連接子之此等改良產生令人驚訝及意想不到之生物特性，諸如增加之功效、降低之毒性及/或一或多種所需藥物動力學及/或藥效學特性之改良。

【0408】應理解，式I-III中之T為O，此係因為其衍生自CPT1、CPT2、CPT3、CPT4、CPT5、CPT6、CPT7、表I之化合物**14a-14z**及表J之化合物**18a-18r**中任一者之內酯環部分上的三級羥基(-OH)。

【0409】不受理論或任何特定機制限制，式I、式II或式III連接子之雜環上拉電子基團的存在有時會緩和裂解速率。

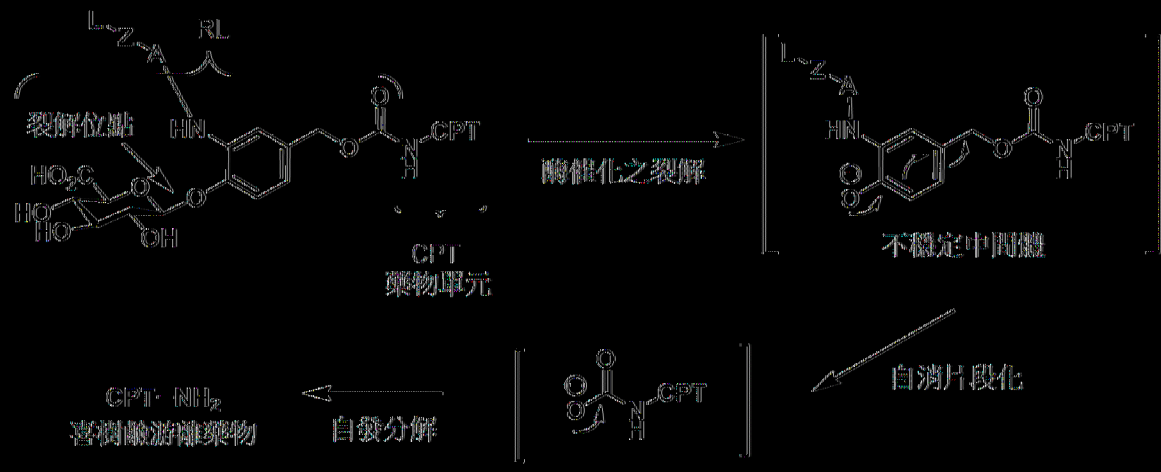
【0410】在一個實施例中，自消部分為式I之基團，其中Q為N，且U為O或S。此種基團具有非線性結構特徵，其提高接合物之溶解度。在此情形中，R有時為H、甲基、硝基或CF₃。在一個實施例中，Q為N且U為O，從而形成噁唑環且R為H。在另一個實施例中，Q為N且U為S，從而形成視情況在R處經Me或CF₃基團取代之噁唑環。

【0411】在另一個例示性實施例中，自消部分為式II之基團，其中Q為N且V¹及V²獨立地為N或CH。在另一個實施例中，Q、V¹及V²各自為N。在另一個實施例中，Q及V¹為N，而V²為CH。在另一個實施例中，Q及V²為N，而V¹為CH。在另一個實施例中，Q及V¹均為CH且V²為N。在另一個實施例中，Q為N，而V¹及V²均為CH。

【0412】在另一個實施例中，自消部分為式III之基團，其中Q、V¹、V²及V³各自獨立地為N或CH。在另一個實施例中，Q為N，而V¹、V²及V³各自為N。在另一個實施例中，Q、V¹及V²各自為CH，而V³為N。在另一個實施例中，Q、V²及V³各自為CH，而V¹為N。在另一個實施例中，Q、V¹及V³各自為CH，而V²為N。在另一個實施例中，Q和V²均為N，而V¹及V³均為CH。在另一個實施例中，Q及V²均為CH，而V¹及V³均為N。在另一個實施例中，Q及V³均為N，而V¹及V²均為CH。

[(0413)] 不受理論束縛，方案1a描繪自喜樹鹼藥物單元釋放遊離藥物之機制，該喜樹鹼藥物單元經由胺取代基之氮原子自遊離藥物連接至作為葡萄糖醛酸衍生物之可釋放連接子。

方案1a：



分隔劑(S*)：

[(0414)] 本文所述之ADC亦可包括分隔劑(S*)。分隔劑部分可用於例如掩蔽特定喜樹鹼藥物單元或連接單元組分之疏水性。

[(0415)] 代表性分隔劑包括聚乙二醇(PEG)單元、環糊精單元、聚醯胺、親水肽、多醣及樹枝狀聚合物。

[(0416)] 當聚乙二醇(PEG)單元、環糊精單元、聚醯胺、親水肽、多醣或樹枝狀聚合物包括於Q中時，該等基團可作為「直列」組分或作為側鏈或分支組分存在。對於其中存在分支型式之彼等實施例，連接子單元將典型地包括離胺酸殘基(或並聯連接體單元，B)，其提供例如PEG單元與連接單元之其餘部分的簡單官能接合。

聚乙二醇單元(PEG)

【0417】 多分散PEG、單分散PEG及離散PEG可用於製備本發明之化合物。多分散PEG為大小及分子量之異質混合物，而單分散PEG典型地自異質混合物中純化且因此提供單一鏈長及分子量。較佳PEG單元為離散PEG，以逐步方式而非經由聚合過程合成之化合物。離散PEG提供具有確定且指定鏈長之單一分子。

【0418】 本文所提供之PEG單元包含一或多個聚乙二醇鏈。在一些實施例中，聚乙二醇鏈例如以線性、分支或星形組態連接在一起。典型地，至少一個PEG鏈在一端衍生化以共價連接至連接子單元(例如，B)之組分上的適當位點，或可用作內部之直列(例如，雙官能)連接基團以共價連接連接子單元組分中之兩者(例如，Z-A-S^{*}-RL-、Z-A-S^{*}-RL-Y-)。連接子單元內之例示性連接係藉助於非條件可裂解鍵聯或經由條件可裂解鍵聯。例示性連接係經由醯胺鍵、醚鍵、酯鍵、胺鍵、肟鍵、二硫鍵、肽鍵或三唑鍵。在一些實施例中，連接子單元內之連接係藉助於非條件可裂解鍵聯。在一些實施例中，連接子單元內之連接不經由酯鍵、胺鍵、肟鍵或二硫鍵。在一些實施例中，連接子單元內之連接不經由胺鍵。

【0419】 條件可裂解鍵聯係指當在血漿中循環時對裂解實質上不敏感，但在細胞內或腫瘤內環境中對裂解敏感之鍵聯。非條件可裂解鍵聯為在任何生物環境中對裂解實質上不敏感之鍵聯。胺之化學水解、二硫化物之還原及肽鍵或糖苷鍵聯之酶促裂解為條件可裂解鍵聯之實例。

【0420】 在一些實施例中，PEG單元將直接連接至並聯連接體單元B。PEG單元之另一端(或末端)將為自由且未經系栓的且可採用甲氧基、羧酸、醇或另一適合官能基之形式。甲氧基、羧酸、醇或其他適合官能基充當PEG單元之末端

PEG次單元之帽。未經系栓意謂PEG單元不會在彼未經系栓之位點處連接至喜樹鹼、抗體或另一連接組分。熟練技術人員應理解，PEG單元除包含重複聚乙二醇次單元以外亦可含有非PEG材料(例如，以促進多個PEG鏈彼此偶合)。非PEG材料係指PEG單元中並非重複-CH₂CH₂O-次單元之一部分的原子。在本文所提供之一些實施例中，PEG單元包含經由非PEG元件彼此連接之兩個單體PEG鏈。在本文所提供之其他實施例中，PEG單元包含連接至中央核心或並聯連接體單元之兩個線性PEG鏈(亦即，PEG單元本身為分支的)。

【0421】 熟習此項技術者可用許多PEG連接方法，[參見例如Goodson等人, (1990) *Bio/Technology* **8**:343 (定點誘變後介白素-2在其糖基化位點處之聚乙二醇化)；EP 0 401 384 (將PEG與G-CSF偶合)；Malik等人, (1992) *Exp. Hematol.* **20**:1028-1035 (使用三氟乙磺醯氯對GM-CSF進行聚乙二醇化)；PCT公開案第WO 90/12874號(使用半胱胺酸特異性mPEG衍生物對含有重組引入之半胱胺酸殘基的紅血球生成素進行聚乙二醇化)；美國專利第5,757,078號(EPO肽之聚乙二醇化)；美國專利第5,672,662號(用於生物技術應用之經丙酸或丁酸及其功能衍生物單取代之聚(乙二醇)及相關聚合物)；美國專利第6,077,939號(肽之N端 α -碳之聚乙二醇化)；Veronese等人, (1985) *Appl. Biochem. Biotechnol* **11**:141-142 (以PEG-硝基苯基碳酸酯(「PEG-NPC」)或PEG-三氯苯基碳酸酯對肽之N端 α -碳進行聚乙二醇化)；及Veronese (2001) *Biomaterials* **22**:405-417 (關於肽及蛋白質聚乙二醇化之綜述文章)]。

【0422】 舉例而言，PEG可經由反應性基團共價結合至胺基酸殘基。反應性基團為可與經活化之PEG分子結合之彼等(例如，遊離胺基或羧基)。舉例而言，N端胺基酸殘基及離胺酸(K)殘基具有遊離胺基；且C端胺基酸殘基具有遊離

羧基。硫醇基團(例如，如在半胱胺酸殘基上所發現)亦可用作連接PEG之反應性基團。另外，已描述用於在多肽之C端特異性引入經活化基團(例如，醯肼、醛及芳族胺基)之酶輔助方法(參見Schwarz等人, (1990) *Methods Enzymol.* **184**:160；Rose等人, (1991) *Bioconjugate Chem.* **2**:154；及Gaertner等人, (1994) *J. Biol. Chem.* **269**:7224]。

【0423】 在一些實施例中，可使用具有不同反應性部分之甲氧基化PEG(「mPEG」)將PEG分子連接至胺基。此類反應性部分之非限制性實例包括丁二酸丁二醯亞胺酯(SS)、碳酸丁二醯亞胺酯(SC)、mPEG-亞胺酸酯、碳酸對硝基苯酯(NPC)、丙酸丁二醯亞胺酯(SPA)及氰尿醯氯。此類mPEG之非限制性實例包括mPEG-丁二酸丁二醯亞胺酯(mPEG-SS)、mPEG₂-丁二酸丁二醯亞胺酯(mPEG₂-SS)；mPEG-碳酸丁二醯亞胺酯(mPEG-SC)、mPEG₂-碳酸丁二醯亞胺酯(mPEG₂-SC)；mPEG-亞胺酸酯、mPEG-碳酸對硝基苯酯(mPEG-NPC)、mPEG-亞胺酸酯；mPEG₂-碳酸對硝基苯酯(mPEG₂-NPC)；mPEG-丙酸丁二醯亞胺酯(mPEG-SPA)；mPEG₂-丙酸丁二醯亞胺酯(mPEG₂-SPA)；mPEG-N-羥基-丁二醯亞胺(mPEG-NHS)；mPEG₂-N-羥基-丁二醯亞胺(mPEG₂-NHS)；mPEG-氰尿醯氯；mPEG₂-氰尿醯氯；mPEG₂-離胺醇-NPC及mPEG₂-Lys-NHS。

【0424】 一般而言，構成PEG單元之至少一個PEG鏈經官能化，使得其能夠共價連接至其他連接子單元組分。

【0425】 官能化包括例如經由胺、硫醇、NHS酯、順丁烯二醯亞胺、炔、疊氮化物、羰基或一些其他官能基。在一些實施例中，PEG單元進一步包含非PEG材料(亦即，不包含-CH₂CH₂O-之材料)，該非PEG材料提供與其他連接子單元組分之偶合或促進兩個或更多個PEG鏈之偶合。

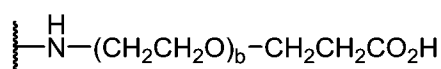
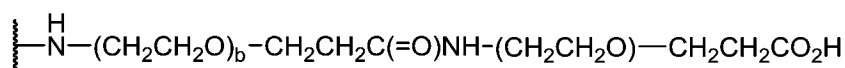
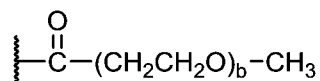
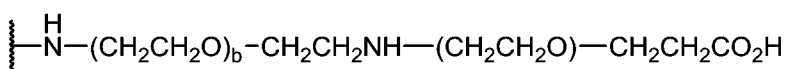
【0426】 連接子單元中PEG單元(或其他分隔劑)之存在可對所得ADC之藥物動力學產生兩種潛在影響。所需影響為清除率降低(及隨後暴露增加)，此係由ADC之暴露之疏水性元件或喜樹鹼本身誘導之非特異性相互作用的減少所引起。第二種影響為非所需的且為體積及分佈速率之降低，該降低有時由ADC之分子量增加所引起。

【0427】 增加PEG次單元之數目會增加接合物之流體動力學半徑，典型地導致擴散率降低。繼而，擴散性降低典型地降低ADC滲透腫瘤之能力(Schmidt及Wittrup, *Mol Cancer Ther* 2009;8:2861-2871)。由於此兩種競爭性藥物動力學效應，需要使用足夠大之PEG以降低ADC清除率，由此增加血漿暴露，但不能大至極大地降低其擴散性，以至於其干擾ADC到達預期標靶細胞群之能力。關於用於選擇特定藥物-連接子之最佳PEG大小之方法，參見US2016/0310612之實例(例如，實例1、18及21)，該等實例以引用之方式併入本文中。

【0428】 在一組實施例中，PEG單元包含一或多個線性PEG鏈，各線性PEG鏈具有至少2個次單元、至少3個次單元、至少4個次單元、至少5個次單元、至少6個次單元、至少7個次單元、至少8個次單元、至少9個次單元、至少10個次單元、至少11個次單元、至少12個次單元、至少13個次單元、至少14個次單元、至少15個次單元、至少16個次單元、至少17個次單元、至少18個次單元、至少19個次單元、至少20個次單元、至少21個次單元、至少22個次單元、至少23個次單元或至少24個次單元。在較佳實施例中，PEG單元包含合併總計至少4個次單元、至少6個次單元、至少8個次單元、至少10個次單元或至少12個次單元。在一些此類實施例中，PEG單元包含不超過合併總計約72個次單元，較佳地不超過合併總計約36個次單元。

【0429】 在另一組實施例中，PEG單元包含合併總計4至72、4至60、4至48、4至36或4至24個次單元、5至72、5至60、5至48、5至36或5至24個次單元、6至72、6至60、6至48、6至36或6至24個次單元、7至72、7至60、7至48、7至36或7至24個次單元、8至72、8至60、8至48、8至36或8至24個次單元、9至72、9至60、9至48、9至36或9至24個次單元、10至72、10至60、10至48、10至36或10至24個次單元、11至72、11至60、11至48、11至36或11至24個次單元、12至72、12至60、12至48、12至36或12至24個次單元、13至72、13至60、13至48、13至36或13至24個次單元、14至72、14至60、14至48、14至36或14至24個次單元、15至72、15至60、15至48、15至36或15至24個次單元、16至72、16至60、16至48、16至36或16至24個次單元、17至72、17至60、17至48、17至36或17至24個次單元、18至72、18至60、18至48、18至36或18至24個次單元、19至72、19至60、19至48、19至36或19至24個次單元、20至72、20至60、20至48、20至36或20至24個次單元、21至72、21至60、21至48、21至36或21至24個次單元、22至72、22至60、22至48、22至36或22至24個次單元、23至72、23至60、23至48、23至36或23至24個次單元或24至72、24至60、24至48、24至36或24個次單元。

【0430】 可用於本文所提供之任何實施例中之說明性線性PEG單元如下：



其中波形線指示與並聯連接體單元(B)之連接位點，且各n係獨立地選自4至72、6至72、8至72、10至72、12至72、6至24或8至24。在一些實施例中，下標b為約4、約8、約12或約24。

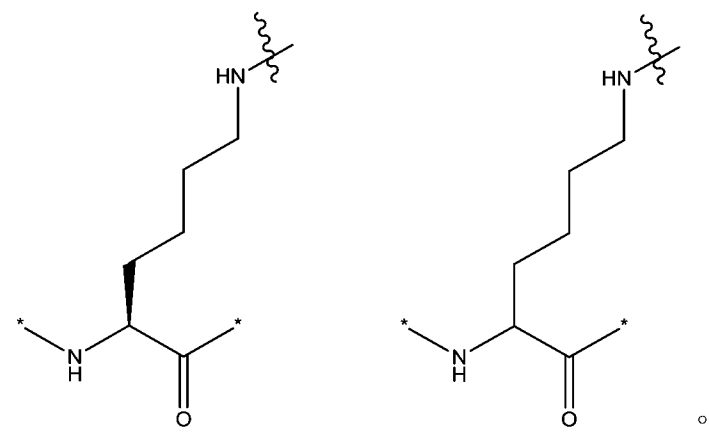
【0431】如本文所述，選擇PEG單元，使得其改良所得ADC之清除率，但不顯著影響接合物滲透至腫瘤中之能力。在實施例中，欲選擇使用之PEG單元將較佳具有4個次單元至約24個次單元、更佳約4個次單元至約12個次單元。

【0432】在本揭示案之較佳實施例中，PEG單元為約300道爾頓至約5千道爾頓；約300道爾頓至約4千道爾頓；約300道爾頓至約3千道爾頓；約300道爾頓至約2千道爾頓；或約300道爾頓至約1千道爾頓。在一些此類態樣中，PEG單元具有至少6個次單元或至少8、10或12個次單元。在一些此類態樣中，PEG單元具有至少6個次單元或至少8、10或12個次單元，但不超過72個次單元，較佳不超過36個次單元。

【0433】應理解，當提及PEG次單元時，且視上下文而定，次單元之數目可代表平均數目，例如，當提及使用多分散PEG之ADC或喜樹鹼-連接子化合物之群體時。

並聯連接體單元(B)：

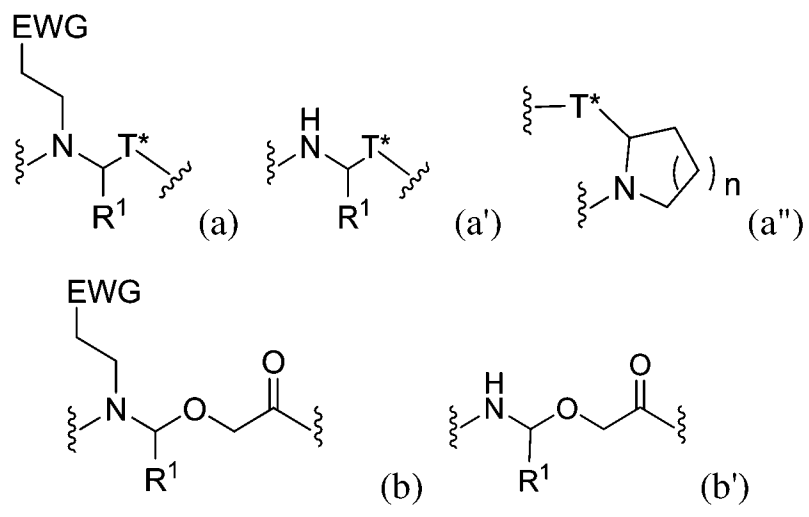
【0434】在一些實施例中，ADC及喜樹鹼連接子化合物將包含並聯連接體單元以提供與分隔劑(在連接子單元中示為-B(S*)-)之連接點。作為一般實施例，PEG單元可連接至並聯連接體單元，諸如離胺酸，如下文所示，其中波形線及星號指示ADC或喜樹鹼連接子化合物之連接子單元內的共價連接：



間隔體單元(Y)：

【0435】 在一些實施例中，本文所提供之ADC將在可釋放連接子(RL)與喜樹鹼之間具有間隔體(Y)。間隔體單元可為促進RL連接至喜樹鹼之官能基，或可提供額外結構組分以進一步促進喜樹鹼單元自接合物之其餘部分(例如，亞甲基胺基甲酸酯單元)釋放。

【0436】 在進一步促進喜樹鹼單元作為遊離藥物釋放之彼等實施例中，例示性間隔體單元由下式表示：

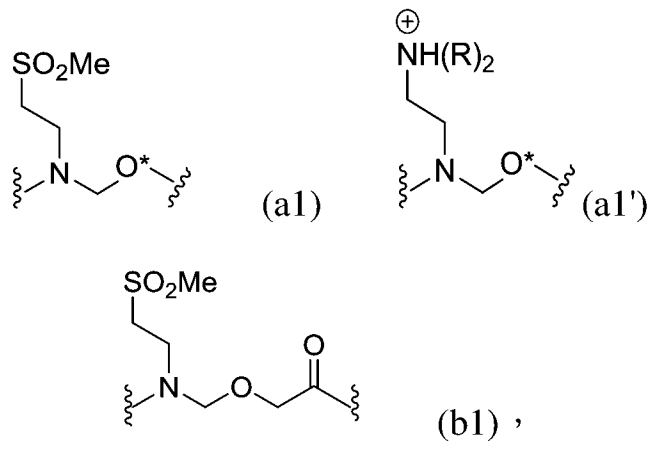


其中EWG代表拉電子基團，R¹為-H或C₁-C₄烷基，且下標n為1或2。在一些實施例中，EWG係選自由-CN、-NO₂、-CX₃、-X、C(=O)OR'、-C(=O)N(R')₂、-C(=O)R'、-C(=O)X、-S(=O)₂R'、-S(=O)₂OR'、-S(=O)₂NHR'、-S(=O)₂N(R')₂、-P(=O)(OR')₂、-P(=O)(CH₃)NHR'、-NO、-N(R')₃⁺組成之群，其中X為-F、-Br、-Cl

或-I，且R'係獨立地選自由氫及C₁-C₆烷基組成之群，且其中與式(a)、(a')、(a'')、(b)及(b')中每一者中之氮原子相鄰之波形線為與RL共價連接之點，且與式(b)及式(b')之羰基碳原子相鄰之波形線為與式CPT1、CPT2、CPT3、CPT4、CPT5、CPT6或CPT7之喜樹鹼化合物或表I之化合物**14a-14z**中之任一者或表J之化合物**18a-18r**中之任一者的羥基或一級胺或二級胺之雜原子共價連接之點，且其中

式(a)、式(a')及式(a'')代表例示性亞甲基胺基甲酸酯單元，其中T*為來自式CPT1、CPT2、CPT3、CPT4、CPT5、CPT6或CPT7之喜樹鹼化合物或表I之化合物**14a-14z**中之任一者或表J之化合物**18a-18r**中之任一者的羥基或一級胺或二級胺官能基之雜原子，且其中與T*相鄰之波形線為與結構上對應於喜樹鹼化合物之喜樹鹼藥物單元之其餘部分共價連接之點。

【0437】 在其他實施例中，作為亞甲基胺基甲酸酯單元之間隔體單元由下式表示：



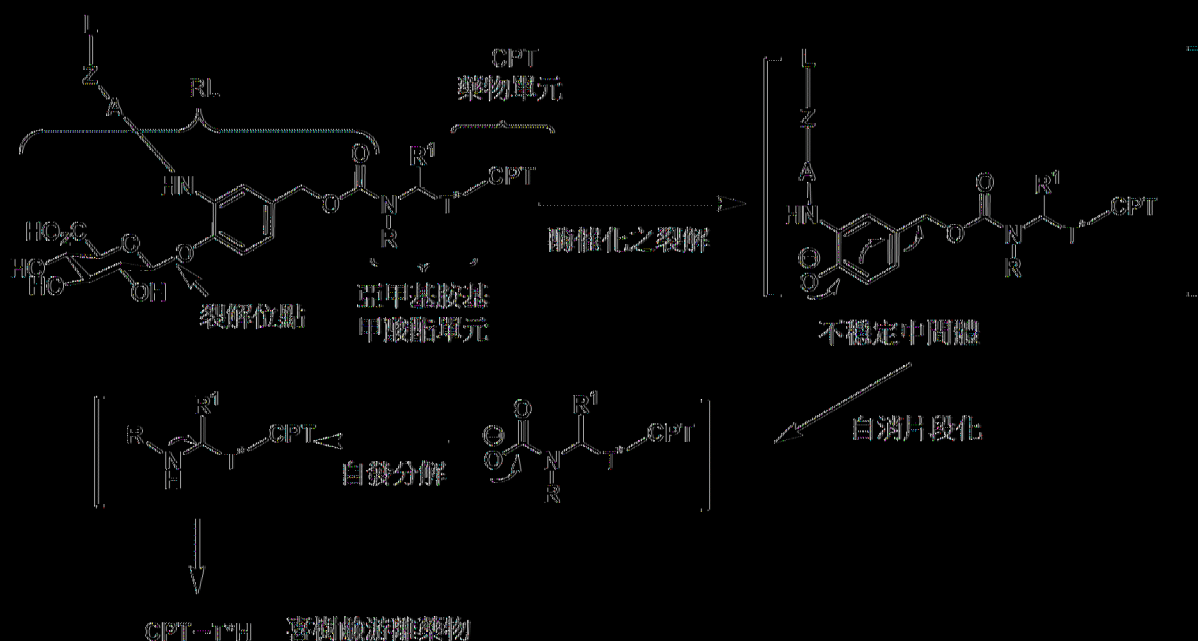
其中各R獨立地為-H或C₁-C₄烷基之式(a1)及式(a1')代表亞甲基胺基甲酸酯單元，其中O*為來自式CPT1、CPT2、CPT3、CPT4、CPT5、CPT6或CPT7之喜樹鹼化合物或表I之化合物**14a-14z**中之任一者或表J之化合物**18a-18r**中之任一者之內酯環的羥基取代基、或來自式CPT5或CPT7之喜樹鹼化合物之另一個羥基取

代基、或來自CPT6之 R^{1*} 或 R^{1**} 之經基取代基的氧原子，此時 R^{1*} 及 R^{1**} 中之至少一者為 C_1-C_8 經烷基、 N,N -(C_1-C_8 經烷基)(C_1-C_8 烷基)胺基、 C_1-C_8 烷基或 N -(C_1-C_8 經烷基)- C_1-C_8 胺基烷基、 C_1-C_8 烷基C(O)-。

且式(a1)、式(a1')及式(b1)中之波形線分別保留其先前在式(a)、(a')及(b)中之含義。在式(a1')中， $-(CH_2)_2CH_2N^+(R)_2$ 部分代表質子化形式之示例性鹼性基團。

〔0438〕 不受理論束縛，方案1b描繪自具有自消部分之ADC中連接至亞甲基胺基甲酸酯基團之喜樹鹼釋放遊離藥物的機制。在彼方案中，T*為來自喜樹鹼化合物之經基或一級胺或二級胺之雜原子，該雜原子併入亞甲基胺基甲酸酯基團中。

方案1b：



下標 p 代表藥物抗體比(DAR)

〔0439〕 在本發明之一組實施例中，下標 p 代表個別ADC之配位體單元（例如，抗體）上之藥物連接子部分的數目且為較佳在1至16、1至12、1至10或1至8範圍內之整數。個別ADC亦可稱作ADC化合物。在彼組實施例中，1、2、3、4、

5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15或16個藥物連接子部分接合至個別ADC之配位體單元(例如，抗體)。在本發明之另一組實施例中，ADC描述實質上相同之個別ADC化合物之群體，不同之處為與各配位體單元(亦即，ADC組合物)結合之喜樹鹼藥物連接子部分的數目，使得下標p代表與ADC組合物之配位體單元結合之喜樹鹼藥物連接子部分的平均數目。在彼組實施例中，代表DAR之下標p為1至約16、1至約12、1至約10、或1至約8、2至約16、2至約12、2至約10、或2至約8範圍內之數目。在一些實施例中，下標p之值係指平均藥物負載以及組合物中主要ADC之藥物負載。在一些實施例中，下標p之值係指組合物中ADC之主要藥物負載。在一些實施例中，組合物中至少約60%，諸如至少約70%、80%、90%、95%、99%、99.9%或100%中任一者之ADC具有下標p之值(亦即，DAR)作為藥物負載。舉例而言，在一些實施例中，DAR為8之ADC可指其中主要ADC之DAR為8 (例如，至少約60%、70%、80%、90%、95%、99%、99.9%或100%中任一者之ADC之DAR為8)，且其中少量(例如，不超過約40%、30%、20%、10%、5%、2%、1%或0.1%中之任一者) ADC具有其他DAR (例如，DAR為8、7、6、5或4)的組合物。

【0440】 在一些實施例中，接合將經由鏈間二硫化物，且將有1至約8個喜樹鹼連接子化合物分子接合至成為配位體單元之靶向劑。在一些實施例中，接合將經由引入之半胱胺酸殘基以及鏈間二硫化物，且將有1至10或1至12或1至14或1至16個喜樹鹼連接子化合物部分接合至配位體單元(例如，抗體)。在一些實施例中，接合將經由引入之半胱胺酸殘基，且將有4或8個喜樹鹼連接子化合物分子接合至配位體單元(例如，抗體)。

表4. 喜樹鹼藥物-連接子化合物

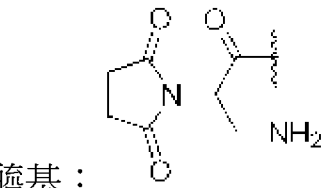
第 162 頁，共 376 頁(發明說明書)

藥物連接子編號	Z'-A	S*或B(S*)	RL	Y	喜樹鹼(N或O連接)
葡萄糖醛酸苷藥物-連接子化合物					
67	mDPr-β-Ala	-	葡萄糖醛酸苷	-	CPT1 (N)
72	mDPr-	Lys (PEG24)-β-Ala	葡萄糖醛酸苷	-	CPT1 (N)
51	mPr-β-Ala	-	葡萄糖醛酸苷	-	"
29	mPr-β-Ala	-	葡萄糖醛酸苷	-	CPT4 (N)
48	mPr-β-Ala	-	葡萄糖醛酸苷	-	13b (N)
100	mDPr-MeGly-	-	葡萄糖醛酸苷	-	CPT4 (N)
55	mPr-MeGly-	-	葡萄糖醛酸苷	(a1)	CPT2 (O)
34	mPr-MeGly-	-	葡萄糖醛酸苷	(a1)	CPT5 (O)
42	mPr-MeGly-	-	葡萄糖醛酸苷	(b1)	CPT4 (N)
103	mPr-β-Ala	-	葡萄糖醛酸苷	-	CPT6 (N)
109a	mPr-MeGly-	-	葡萄糖醛酸苷	-	CPT1 (N)
109b	mPr-MeGly-	-	葡萄糖醛酸苷	-	18q (N)
58	mPr-MeGly-	-	葡萄糖醛酸苷	(a1)	CPT3 (O)
61	mPr-MeGly-	-	葡萄糖醛酸苷	(a1)	CPT3 (O')
150	mPr-MeGly	-	葡萄糖醛酸苷	(a1)	CPT7 (O')
135	mPr-β-Ala	-	葡萄糖醛酸苷	-	14a (N)
138a	mPr-β-Ala	-	葡萄糖醛酸苷	-	18q (N)
138b	mPr-β-Ala	-	葡萄糖醛酸苷†	-	18r (N)
141	mPr-MeGly	-	葡萄糖醛酸苷	(a1)	18m (O)
113	mPr-MeGly	-	葡萄糖醛酸苷	-	18m (O)
114a	mPr-MeGly	-	葡萄糖醛酸苷	-	18h (O)
114b	mPr-MeGly	-	葡萄糖醛酸苷	-	6 (O)
150	mPr-MeGly	-	葡萄糖醛酸苷	(a)	CPT7 (O')
點擊藥物連接子化合物					
86	PropargOPr-MeGly-	-	葡萄糖醛酸苷	(a1)	CPT4 (O')
82	PropargOPr-MeGly-	-	葡萄糖醛酸苷	-	CPT4 (N)
87	PropargOPr-MeGly-	-	葡萄糖醛酸苷	(a1)	CPT4 (O')
63	PropargOPr-MeGly-	-	葡萄糖醛酸苷	(a1)	CPT3 (O')
62	PropargOPr-MeGly-	-	葡萄糖醛酸苷	(a1)	CPT3 (O)
144	PropargOPr-M	-	葡萄糖醛酸苷	(a1)	CPT6 (N)

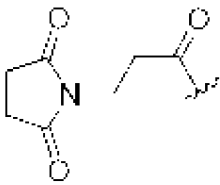
	eGly-				
--	-------	--	--	--	--

† 葡萄糖醛酸殘基經甘露糖置換

mDPR = 順丁烯二醯亞胺基-胺基丙醯基：



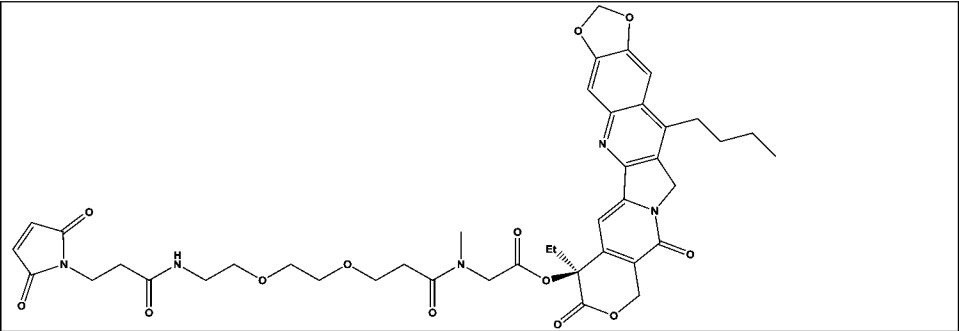
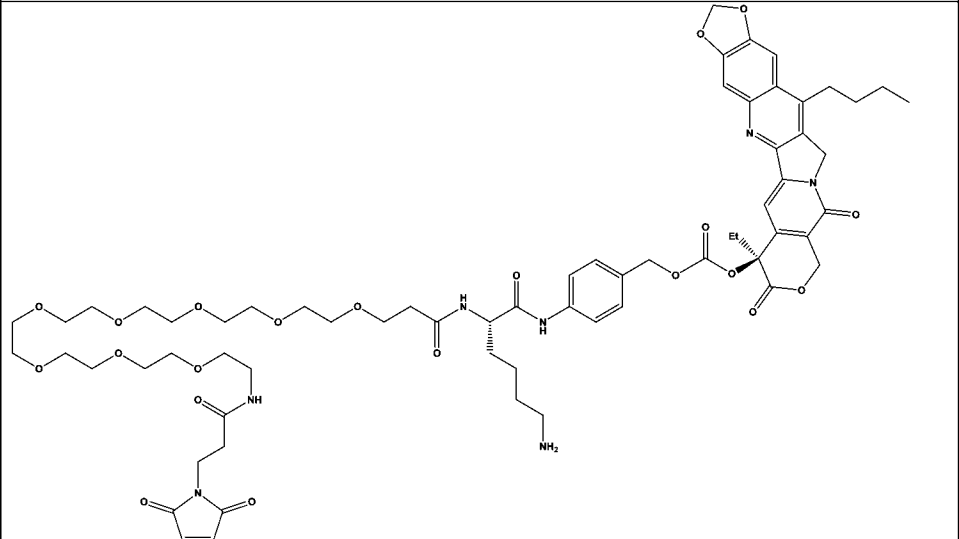
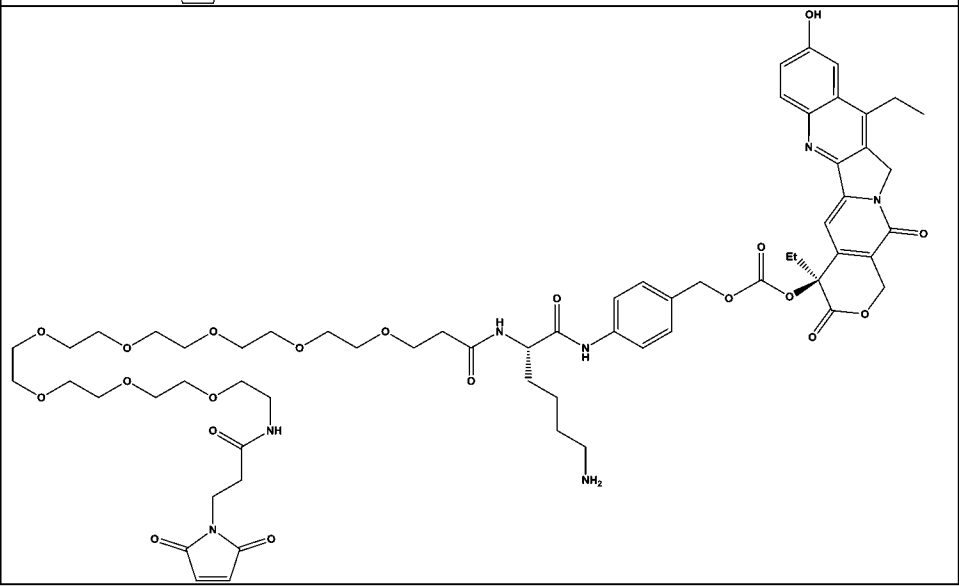
mPR = 順丁烯二醯亞胺基-丙醯基：



PropargOPr = -(C=O)CH₂CH₂OCH₂C≡CH

表5. 其他喜樹鹼藥物連接子化合物

藥物連接子編號	通式	化合物結構
120	Z'-A-D	<p>Chemical structure of compound 120: A complex molecule featuring a quinoline core. The quinoline is substituted with a butyl group at position 2, a maleimide-aminopropionyl linker at position 3, and a hydroxymethyl group at position 4. The maleimide ring is further substituted with a propionyl group.</p>
124	Z'-A-D	<p>Chemical structure of compound 124: A complex molecule featuring a quinoline core. The quinoline is substituted with a hydroxyl group at position 2, a maleimide-aminopropionyl linker at position 3, and a hydroxymethyl group at position 4. The maleimide ring is further substituted with a propionyl group.</p>

120	Z'-A-S *-W-D	
133	Z'-A-S *-W-R L-D	
129	Z'-A-S *-W-R L-D	

【0441】 在一些實施例中，本文提供具有下式之抗體-藥物接合物：



或其鹽，其中

L為包含結合至CEACAM5之抗體或其抗原結合片段之配位體單元，該抗體或其抗原結合片段包含

包含SEQ ID NO:1所示之胺基酸序列的CDR1-H；

包含SEQ ID NO:2所示之胺基酸序列的CDR2-H；

包含SEQ ID NO:3所示之胺基酸序列的CDR3-H；

包含SEQ ID NO:4所示之胺基酸序列的CDR1-L；

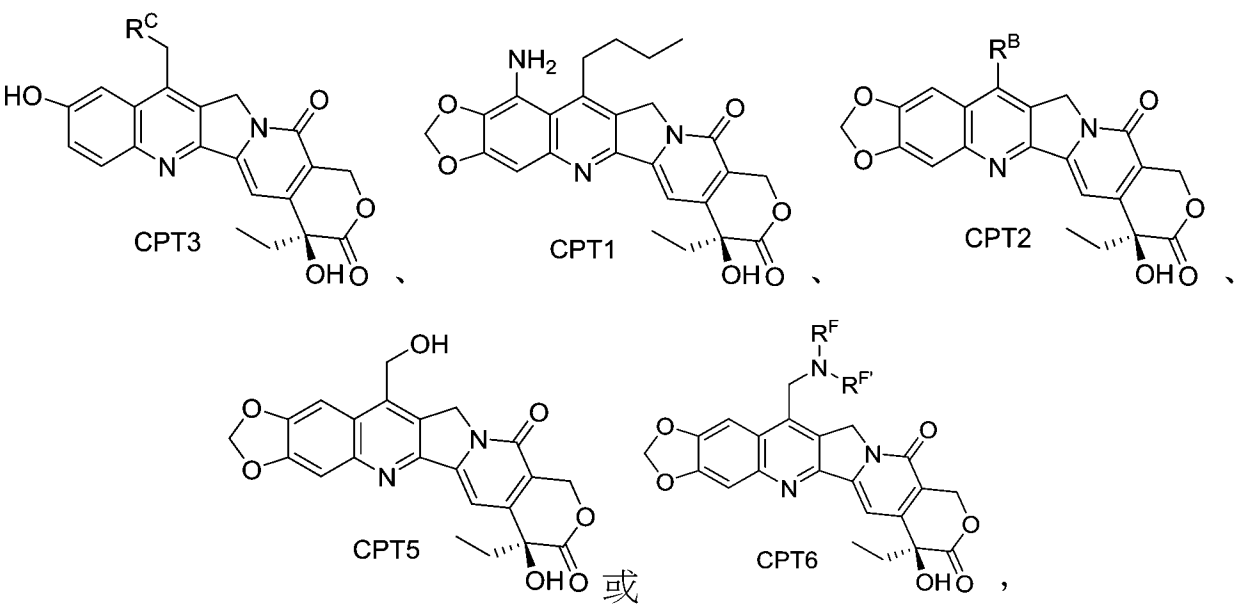
包含胺基酸序列NTR之CDR2-L；及

包含SEQ ID NO:6所示之胺基酸序列的CDR3-L；

下標p為1至16範圍內之整數；

Q為連接子單元；

且D為具有下式之藥物單元：



其中R^B為選自由H、C₁-C₈烷基、C₁-C₈鹵烷基、C₃-C₈環烷基、(C₃-C₈環烷基)-C₁-C₄烷基-、苯基及苯基-C₁-C₄烷基-組成之群的成員；

R^C為選自由C₁-C₆烷基及C₃-C₆環烷基組成之群的成員；

各R^F及R^{F'}為獨立地選自由-H、C₁-C₈烷基、C₁-C₈羥烷基、C₁-C₈胺基烷基、(C₁-C₄烷基胺基)-C₁-C₈烷基-、N,N-(C₁-C₄羥烷基)(C₁-C₄烷基)胺基-C₁-C₈烷基-、N,N-二(C₁-C₄烷基)胺基-C₁-C₈烷基-、N-(C₁-C₄羥烷基)-C₁-C₈胺基烷基、C₁-C₈烷基

-C(O)-、C₁-C₈羥烷基-C(O)-、C₁-C₈胺基烷基-C(O)-、C₃-C₁₀環烷基、(C₃-C₁₀環烷基)-C₁-C₄烷基-、C₃-C₁₀雜環烷基、(C₃-C₁₀雜環烷基)-C₁-C₄烷基-、苯基、苯基-C₁-C₄烷基-、二苯基-C₁-C₄烷基-、雜芳基及雜芳基-C₁-C₄烷基-組成之群的成員，或

R^F及R^F與各自所連接之氮原子組合形成具有0至3個選自由鹵素、C₁-C₄烷基、-OH、-OC₁-C₄烷基、-NH₂、-NHC₁-C₄烷基及-N(C₁-C₄烷基)₂組成之群之取代基的5員、6員或7員環；且其中R^B、R^C、R^F及R^F之環烷基、雜環烷基、苯基及雜芳基部分經0至3個選自由鹵素、C₁-C₄烷基、-OH、-OC₁-C₄烷基、-NH₂、-NHC₁-C₄烷基及-N(C₁-C₄烷基)₂組成之群的取代基取代；且

其中當Q為-Z-A-RL-、-Z-A-RL-Y-、-Z-A-S*-RL-、-Z-A-B(S*)-RL-、-Z-A-S*-RL-Y-或-Z-A-B(S*)-RL-Y-，其中RL為本文所揭示之可釋放連接子中之任一者時，D與Q之連接點係經由CPT1、CPT2、CPT3、CPT5、CPT6或CPT7上存在之羥基或一級胺或二級胺官能基中之任一者的雜原子，或

其中當Q為-Z-A-、-Z-A-S*-W-或-Z-A-B(S*)-W-時，或當Q為-Z-A-S*-RL-、-Z-A-B(S*)-RL-、-Z-A-S*-W-RL-或-Z-A-B(S*)-W-RL-，其中RL為並非葡萄糖醛酸苷單元之可釋放單元時，D與Q之連接點係經由CPT1、CPT2、CPT3、CPT5、CPT6或CPT7之內酯環中之羥基取代基的氧原子；且

前提條件為當連接點為CPT6之胺基之氮原子時，R^F及R^F中之至少一者為-H，且

前提條件為當D為經由其胺基連接之CPT1時，-Z-A-RL-、-Z-A-RL-Y-、-Z-A-S*-RL-、-Z-A-B(S*)-RL-、-Z-A-S*-RL-Y-及-Z-A-B(S*)-RL-Y-之-Z-A-不為丁二醯亞胺基-己醯基-β-丙胺醯基，視情況具有水解形式之丁二醯亞胺環，其中波形線指示與Q共價連接之位點。

【0442】 在一些實施例中，本文提供具有下式之抗體-藥物接合物：



或其鹽，其中

L為包含結合至CEACAM5之抗體或其抗原結合片段之配位體單元，該抗體或其抗原結合片段包含

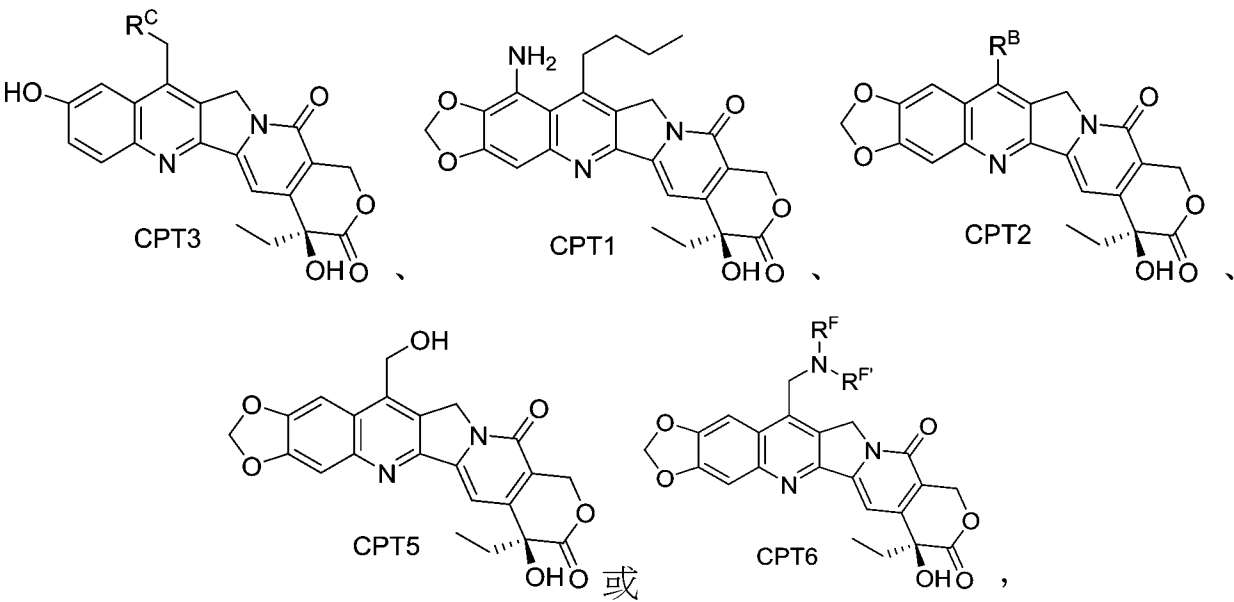
包含SEQ ID NO:7所示之胺基酸序列之可變重鏈結構域(VH)的CDR1-H、CDR2-H及CDR3-H，及

包含SEQ ID NO:8所示之胺基酸序列之可變輕鏈結構域(VL)的CDR1-L、CDR2-L及CDR3-L；

下標p為1至16範圍內之整數；

Q為連接子單元；

且D為具有下式之藥物單元：



其中R^B為選自由H、C₁-C₈烷基、C₁-C₈鹵烷基、C₃-C₈環烷基、(C₃-C₈環烷基)-C₁-C₄烷基-、苯基及苯基-C₁-C₄烷基-組成之群的成員；

R^C為選自由C₁-C₆烷基及C₃-C₆環烷基組成之群的成員；

各R^F及R^F為獨立地選自由-H、C₁-C₈烷基、C₁-C₈羥烷基、C₁-C₈胺基烷基、(C₁-C₄烷基胺基)-C₁-C₈烷基-、*N,N*-(C₁-C₄羥烷基)(C₁-C₄烷基)胺基-C₁-C₈烷基-、*N,N*-二(C₁-C₄烷基)胺基-C₁-C₈烷基-、*N*-(C₁-C₄羥烷基)-C₁-C₈胺基烷基、C₁-C₈烷基-C(O)-、C₁-C₈羥烷基-C(O)-、C₁-C₈胺基烷基-C(O)-、C₃-C₁₀環烷基、(C₃-C₁₀環烷基)-C₁-C₄烷基-、C₃-C₁₀雜環烷基、(C₃-C₁₀雜環烷基)-C₁-C₄烷基-、苯基、苯基-C₁-C₄烷基-、二苯基-C₁-C₄烷基-、雜芳基及雜芳基-C₁-C₄烷基-組成之群的成員，或

R^F及R^F與各自所連接之氮原子組合形成具有0至3個選自由鹵素、C₁-C₄烷基、-OH、-OC₁-C₄烷基、-NH₂、-NHC₁-C₄烷基及-N(C₁-C₄烷基)₂組成之群之取代基的5員、6員或7員環；且其中R^B、R^C、R^F及R^F之環烷基、雜環烷基、苯基及雜芳基部分經0至3個選自由鹵素、C₁-C₄烷基、-OH、-OC₁-C₄烷基、-NH₂、-NHC₁-C₄烷基及-N(C₁-C₄烷基)₂組成之群的取代基取代；且

其中當Q為-Z-A-RL-、-Z-A-RL-Y-、-Z-A-S*-RL-、-Z-A-B(S*)-RL-、-Z-A-S*-RL-Y-或-Z-A-B(S*)-RL-Y-，其中RL為本文所揭示之可釋放連接子中之任一者時，D與Q之連接點係經由CPT1、CPT2、CPT3、CPT5、CPT6或CPT7上存在之羥基或一級胺或二級胺官能基中之任一者的雜原子，或

其中當Q為-Z-A-、-Z-A-S*-W-或-Z-A-B(S*)-W-時，或當Q為-Z-A-S*-RL-、-Z-A-B(S*)-RL-、-Z-A-S*-W-RL-或-Z-A-B(S*)-W-RL-，其中RL為並非葡萄糖醛酸苷單元之可釋放單元時，D與Q之連接點係經由CPT1、CPT2、CPT3、CPT5、CPT6或CPT7之內酯環中之羥基取代基的氧原子；且

前提條件為當連接點為CPT6之胺基之氮原子時，R^F及R^F中之至少一者為-H，且

前提條件為當D為經由其胺基連接之CPT1時，-Z-A-RL-、-Z-A-RL-Y-、-Z-A-S*-RL-、-Z-A-B(S*)-RL-、-Z-A-S*-RL-Y-及-Z-A-B(S*)-RL-Y-之-Z-A-不為丁二醯亞胺基-己醯基-β-丙胺醯基，視情況具有水解形式之丁二醯亞胺環，其中波形線指示與Q共價連接之位點。

【0443】 在一些實施例中，本文提供具有下式之結合至CEACAM5之抗體-藥物接合物：

$$L-(Q-D)_p$$

或其鹽，其中

L為包含結合至CEACAM5之抗體或其抗原結合片段之配位體單元；

下標p為1至16範圍內之整數；

Q為具有選自由以下組成之群之式的連接子單元：

$$\begin{aligned} & -Z-A-RL-、-Z-A-RL-Y-、-Z-A-S^*-RL-、-Z-A-B(S^*)-RL-、-Z-A-S^*-RL-Y-及 \\ & -Z-A-B(S^*)-RL-Y-； \end{aligned}$$

其中Z為延伸體單元；

A為一鍵結或連接體單元；

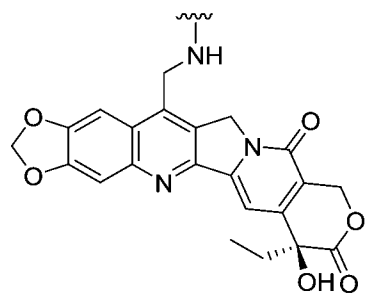
B為並聯連接體單元；

S*為分隔劑；

RL為糖苷單元；

Y為間隔體單元；且

D為具有下式之藥物單元：



，其中波形線指示與Q共價連接之位點；且其中該抗體或其抗原結合片段包含

包含SEQ ID NO:1所示之胺基酸序列的CDR1-H；

包含SEQ ID NO:2所示之胺基酸序列的CDR2-H；

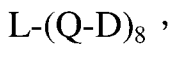
包含SEQ ID NO:3所示之胺基酸序列的CDR3-H；

包含SEQ ID NO:4所示之胺基酸序列的CDR1-L；

包含胺基酸序列NTR之CDR2-L；及

包含SEQ ID NO:6所示之胺基酸序列的CDR3-L。

【0444】 在一些實施例中，本文所述之ADC具有下式：



其中L包含結合至CEACAM5之抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段包含：

包含SEQ ID NO:1所示之胺基酸序列的CDR1-H；

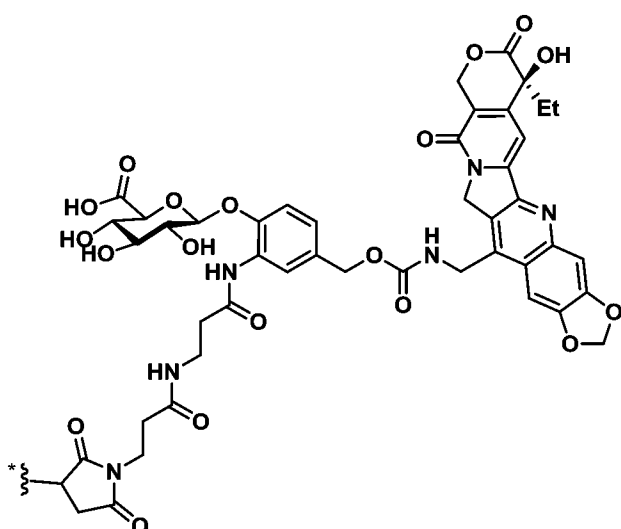
包含SEQ ID NO:2所示之胺基酸序列的CDR2-H；

包含SEQ ID NO:3所示之胺基酸序列的CDR3-H；

包含SEQ ID NO:4所示之胺基酸序列的CDR1-L；

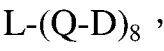
包含胺基酸序列NTR之CDR2-L；及

包含SEQ ID NO:6所示之胺基酸序列的CDR3-L；



且其中Q-D為

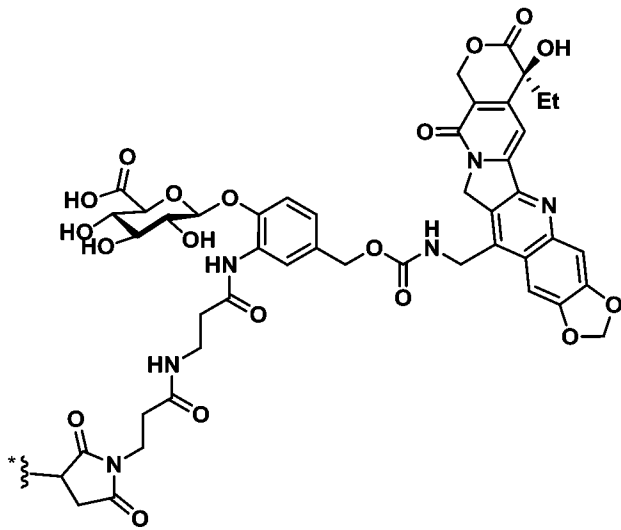
【0445】 在一些實施例中，本文提供具有下式之抗體-藥物接合物或其鹽：



其中L包含結合至CEACAM5之抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段包含：

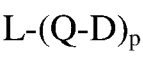
包含SEQ ID NO:7所示之胺基酸序列之可變重鏈結構域(VH)的CDR1-H、CDR2-H及CDR3-H，及

包含SEQ ID NO:8所示之胺基酸序列之可變輕鏈結構域(VL)的CDR1-L、CDR2-L及CDR3-L；



且其中Q-D為

【0446】 在一些實施例中，本文提供具有下式之結合至CEACAM5之抗體-藥物接合物：



或其鹽，其中
L為包含結合至CEACAM5之抗體或其抗原結合片段之配位體單元，該抗體或其抗原結合片段包含：

包含SEQ ID NO:1所示之胺基酸序列的CDR1-H；

包含SEQ ID NO:2所示之胺基酸序列的CDR2-H；

包含SEQ ID NO:3所示之胺基酸序列的CDR3-H；

包含SEQ ID NO:4所示之胺基酸序列的CDR1-L；

包含胺基酸序列NTR之CDR2-L；及

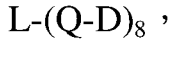
包含SEQ ID NO:6所示之胺基酸序列的CDR3-L；

下標p為1至16範圍內之整數；

Q為連接子單元；

且D為藥物單元，其中該藥物單元為拓樸異構酶I抑制劑。

【0447】 在一些實施例中，本文提供具有下式之抗體-藥物接合物或其鹽：



其中L包含結合至CEACAM5之抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段包含：

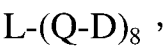
包含SEQ ID NO:9所示之胺基酸序列的重鏈，及

包含SEQ ID NO:10所示之胺基酸序列的輕鏈；

Q為連接子單元；

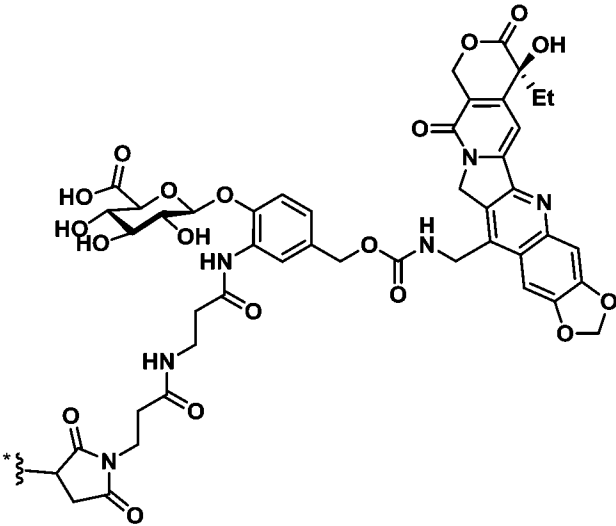
且D為藥物單元，其中該藥物單元為拓撲異構酶I抑制劑。

【0448】 在一些實施例中，本文提供具有下式之抗體-藥物接合物或其鹽：



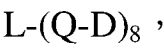
其中L包含結合至CEACAM5之抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段包含：

包含SEQ ID NO:9所示之胺基酸序列的重鏈，及
包含SEQ ID NO:10所示之胺基酸序列的輕鏈；



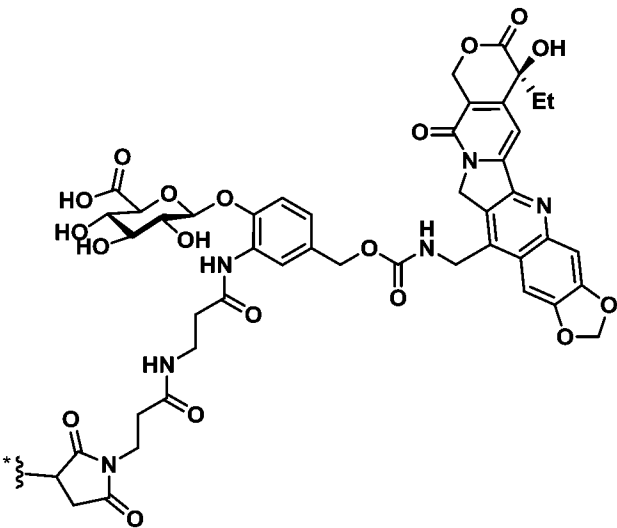
且其中Q-D為

【0449】 在一些實施例中，本文提供具有下式之抗體-藥物接合物或其鹽：



其中L包含結合至CEACAM5之抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段包含：

具有SEQ ID NO:9所示之胺基酸序列的重鏈，及
具有SEQ ID NO:10所示之胺基酸序列的輕鏈；

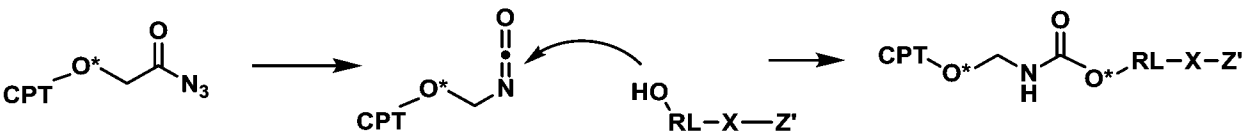


且其中Q-D為

C. 製備ADC之方法

【0450】 本文所述之ADC係以抗體、連接子及藥物單元之連續構築之方式製備，或以會聚方式藉由組裝各部分繼之以整體組裝步驟來製備。柯提斯重排 (Curtius Rearrangement)或氯胺合成可用於提供亞甲基胺基甲酸酯連接子(間隔體)，其可用於本文所述之接合物的許多實施例中。

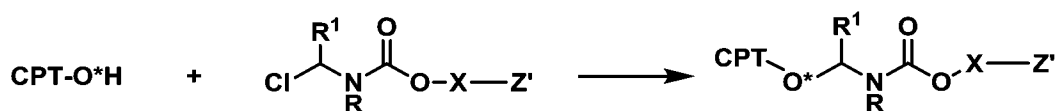
【0451】 方案2：使用柯提斯重排反應製備式Z'-A-RL-Y-D、Z'-A-S*-RL-Y-D或Z'-A-B(S*)-RL-Y-D之例示性喜樹鹼藥物-連接子化合物，其中Y具有式(a')：



【0452】 方案2說明涉及遊離藥物之醯基疊氮衍生物之柯提斯重排的合成策略，其中CPT為結構上對應於喜樹鹼化合物且具有羥基官能基之喜樹鹼藥物單元，該羥基官能基之氧原子(由O*表示)併入由於重排而形成之亞甲基胺基甲酸酯單元中，Z'為延伸體單元前驅體，RL為可釋放連接子，且X為-A-、-A-S*-或-A-B(S*)-，其中A為連接體單元，S*為分隔劑且B為並聯連接體單元。此策略可

應用於含有多個醇或其他雜原子之喜樹鹼藥物，作為獲得區域選擇性之手段，此係因為有許多補充之烷基化方法來形成醯基疊氮，諸如：鹵代酯烷基化、鹵代酸烷基化或使用重氮乙酸乙酯或重氮乙酸甲酯之金屬碳烯插入，參見Doyle, M.等人 Modern Catalytic Methods for Organic Synthesis with Diazo Compounds; Wiley: New York, 1998。接著將醯基疊氮與至少化學計量之式Z'-X-RL-OH之含醇連接子單元中間體一起加熱。

【0453】 方案3：經由N-氯甲胺合成替代性製備式Z'-A-RL-Y-D、Z'-A-S*-RL-Y-D或Z'-A-B(S*)-RL-Y-D之例示性喜樹鹼藥物-連接子化合物，其中間隔體單元Y為式(a)或式(a')之亞甲基胺基甲酸酯單元：



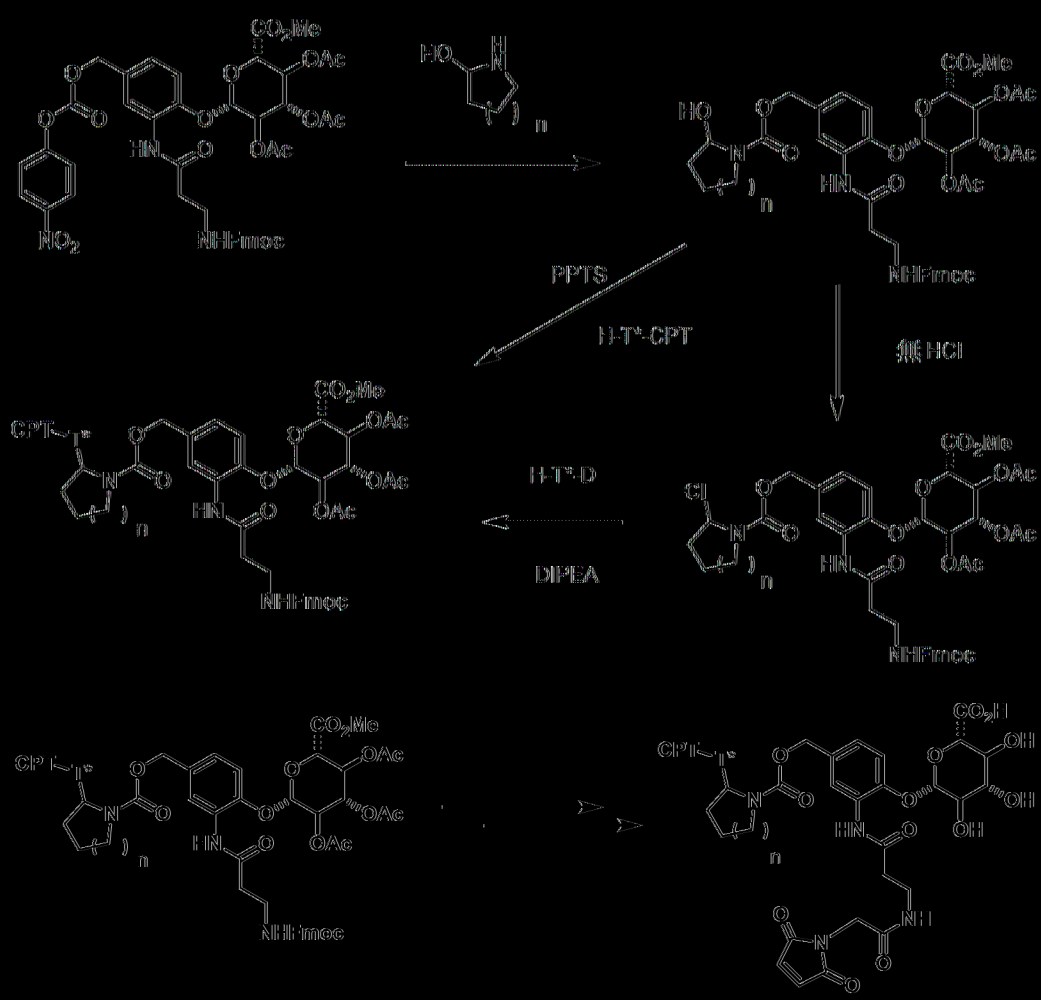
其中R¹為氫或C₁-C₄烷基，R為-H或-CH₂CH₂SO₂Me，且其他可變基團具有其在方案2中之含義。

【0454】 N-氯甲胺合成為柯提斯重排之替代方案，因為其允許引入含未經修飾之醇或其他雜原子的喜樹鹼化合物，該喜樹鹼化合物之使用可能與形成方案2之醯基疊氮所需要之條件不相容，且藉由與反應性N-氯甲胺縮合而進行。彼方法亦更適於引入某些類型之亞甲基胺基甲酸酯單元，例如由方案4所示。

【0455】 方案4展示式Z'-A-RL-Y-D、Z'-A-S*-RL-Y-D或Z'-A-B(S*)-RL-Y-D之例示性喜樹鹼-連接子化合物的合成，其中間隔體單元(Y)為式(a'')之亞甲基胺基甲酸酯單元。碳酸對硝基苯酯與環狀胺醇之反應提供胺基甲酸酯，接著將其轉化為氯環烷基胺，用於與來自遊離喜樹鹼藥物之硫醇、羥基、胺或醯胺官能基之親核試劑進行烷基化。或者，可在藥物部分存在下用酸處理胺基甲酸酯以

組裝所示之藥物-連接了中間體。將烷基化產物去保護，繼而使所得遊離胺與3-順丁烯-羧基胺基丙酸N-羧基-L-羧基胺縮合，此引入共價連接至連接體單元之延伸體單元前驅體，由此提供喜樹鹼-連接了化合物。接著使所得喜樹鹼-連接了化合物與含硫醇之靶向劑縮合以提供具有間隔體單元之ADC，該間隔體單元包含自消部分及式a''之亞甲基胺基甲酸酯單元。

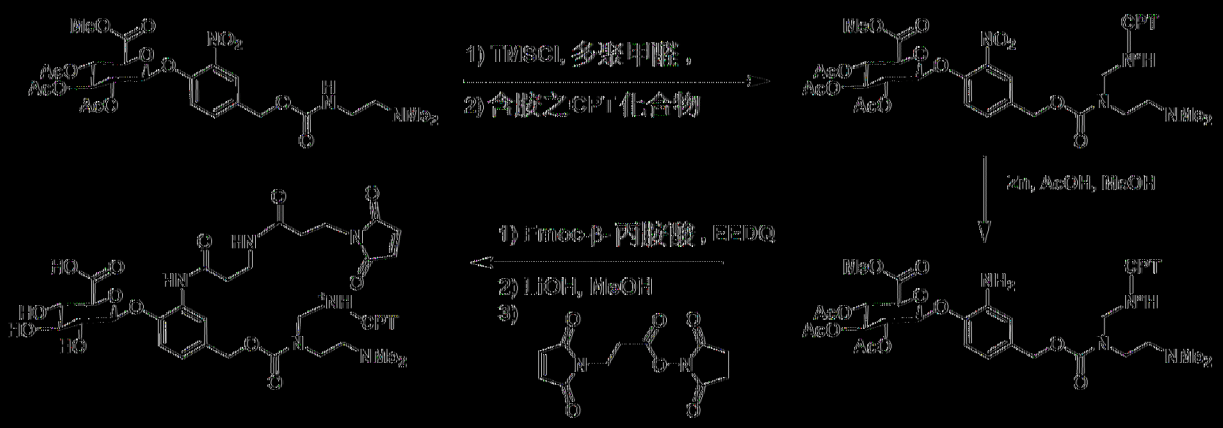
[(0456)] 方案4：製備式2-A-R1LYED之示例性喜樹鹼藥物-連接了化合物，其中間隔體單元Y為式(a'')之亞甲基胺基甲酸酯單元。



[(0457)] 對於具有亞甲基胺基甲酸酯單元之喜樹鹼-連接了化合物及ADC，其中R*為來自喜樹鹼化合物之一級胺或二級胺取代基之氮原子，按照方案3或方案4所提供之通用程序用氮甲胺直接烷基化由於遊離藥物之胺官能基中

之金屬原子的過度烷基化或非所需之過度烷基化而可能不適合。在彼等情況下，可使用方案3所體現之方法。

方案5：



〔0458〕 在方案5中，製備已具有鹼性單元(亦即，二(2)甲基胺基乙基部分)作為式(a1')之二(2)甲基胺基甲酸酯單元之R取代基的中間體胺基甲酸酯。使彼胺基甲酸酯之氮與甲醛縮合，且用含肼胺之喜樹鹼藥物之胺官能基淬滅所得中間體。N*代表彼官能基之氮原子。彼縮合形成共價連接至藥物單元之式(a1')之二(2)甲基胺基甲酸酯，其中R¹為氮且R為二(2)甲基胺基乙基。接著將末基硝基還原成胺，以提供用於依序引入連接體單元(A)及延伸體單元前驅體(B)之柄。

IV. 抗原結合蛋白表現及產生

A. 編碼抗原結合蛋白之核酸分子

〔0459〕 亦提供編碼本文所述之抗原結合蛋白或其部分之核酸分子。此類核酸包括例如：1)編碼抗原結合蛋白(例如，抗體或其片段)或其衍生物或變異體之彼等核酸；2)編碼重鏈及/或輕鏈、VH及/或VL結構域、或位於可變結構域內之1個或多個HVR或CDR(例如，1個、2個或全部3個VHCHVR或CDR，或1個、2個或全部3個VLCHVR或CDR)之多核苷酸；3)足以用作雜交探針、PCR引子或定序引子以鑑定、分析、突變或擴增此類編碼多核苷酸之多核苷酸；4)用於抑制此

類編碼多核苷酸表現之反義核酸，及5)前述之互補序列。核酸可為任何長度。核酸之長度可為例如5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、75、100、125、150、175、200、250、300、350、400、450、500、750或1,000個或更多個核苷酸，及/或可包含一或多個額外序列，例如調控序列，及/或可為較大核酸(例如，載體)之一部分。核酸可為單股或雙股。

【0460】 核酸分子可存在於全細胞中、細胞溶解產物中，或呈部分純化或實質上純之形式存在。當藉由標準技術，包括鹼/SDS處理、CsCl條帶、管柱層析、限制酶、瓊脂糖凝膠電泳及此項技術中熟知之其他技術，自其他細胞組分或其他污染物，例如其他細胞核酸(例如，其他染色體DNA，例如，在自然界中連接至經分離DNA之染色體DNA)或蛋白質純化時，核酸「經分離」或「促使實質上純」。參見F. Ausubel等人編, (1987) *Current Protocols in Molecular Biology*, Greene Publishing and Wiley Interscience, New York。本文所述之核酸可為例如DNA或RNA且可含有或不含有內含子序列。在某些實施例中，核酸為cDNA分子。

【0461】 因此，提供包含編碼抗CEACAM5抗體之一或多個鏈之多核苷酸的核酸分子。在一些實施例中，核酸分子包含編碼抗CEACAM抗體之重鏈或輕鏈的多核苷酸。在一些實施例中，核酸分子包含編碼抗CEACAM5抗體之重鏈之多核苷酸序列及編碼其輕鏈之多核苷酸序列。在一些實施例中，第一核酸分子包含編碼重鏈之第一多核苷酸序列且第二核酸分子包含編碼輕鏈之第二多核苷酸序列。

【0462】 在一個實施例中，核酸分子包含編碼本文所提供之抗體之一的VH之多核苷酸。在另一個實施例中，核酸包含編碼本文所提供之抗體之一的VL之多核苷酸。在又一個實施例中，核酸編碼本文所提供之抗體之一的VH及VL。

在一些實施例中，核酸編碼包含SEQ ID NO:7所示之胺基酸序列之抗體VH及包含SEQ ID NO:8所示之胺基酸序列之VL。

【0463】 在特定實施例中，核酸編碼一或多個上述胺基酸序列(例如，本文所揭示之重鏈及/或輕鏈胺基酸序列，或VH及/或VL胺基酸序列)之變異體，其中變異體具有至多25個胺基酸修飾，諸如至多20個，諸如至多15、14、13、12或11個胺基酸修飾，諸如10、9、8、7、6、5、4、3、2或1個胺基酸修飾，諸如缺失或插入，較佳為取代，諸如保守取代。

【0464】 一旦獲得編碼VH及VL區段之核酸，即可藉由標準重組DNA技術進一步操作此等核酸，例如，將可變區基因轉化為全長抗體鏈基因、Fab片段基因或scFv基因。在此等操作中，編碼VL或VH之核酸可操作地連接至編碼另一個多肽之另一個核酸，諸如抗體恆定區或可撓性連接子。

【0465】 藉由將編碼VH之核酸可操作地連接至編碼重鏈恆定區(鉸鏈、CH1、CH2及/或CH3)之另一個核酸分子，可將編碼VH區之經分離核酸轉化為全長重鏈基因。人類重鏈恆定區基因之序列在此項技術中為已知的(參見例如 Kabat, E. A.等人, (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, 第五版, U.S. Department of Health and Human Services, NIH公開案第91-3242號)，且包含此等區域之核酸片段可藉由標準PCR擴增而獲得。重鏈恆定區可為IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA、IgE、IgM或IgD恆定區，例如，IgG1區。對於Fab片段重鏈基因，編碼VH之核酸可操作地連接至僅編碼重鏈CH1恆定區之另一個核酸分子。

【0466】 藉由將編碼VL之核酸分子可操作地連接至編碼輕鏈恆定區CL之另一個核酸分子，可將編碼VL區之經分離核酸分子轉化為全長輕鏈基因(以及Fab輕鏈基因)。人類輕鏈恆定區基因之序列在此項技術中為已知的(參見例如

Kabat, E. A.等人, (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, 第五版, U.S. Department of Health and Human Services, NIH公開案第91-3242號), 且包含此等區域之核酸片段可藉由標準PCR擴增而獲得。輕鏈恆定區可為 κ 或 λ 恆定區。

【0467】 為產生scFv基因, 將編碼VH及VL之核酸片段可操作地連接至編碼可撓性連接子, 例如編碼胺基酸序列(Gly₄-Ser)₃之另一個片段, 使得VH及VL序列可表現為連續單鏈蛋白, 其中VL及VH區由可撓性連接子連接(參見例如Bird等人 (1988) Science 242:423-426; Huston等人 (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883; McCafferty等人, (1990) Nature 348:552-554)。

【0468】 在另一個態樣中, 亦提供適合用作偵測核酸序列之引子或雜交探針的核酸分子。核酸分子可僅包含編碼全長多肽之核酸序列之一部分, 例如, 可用作探針或引子之片段或編碼多肽之活性部分(例如, CEACAM5結合部分)之片段。

【0469】 基於核酸序列之探針可用於偵測核酸或類似核酸, 例如, 編碼多肽之轉錄物。探針可包含標記基團, 例如, 放射性同位素、螢光化合物、酶或酶輔因子。此類探針可用於鑑定表現多肽之細胞。

【0470】 亦提供載體, 包括表現載體, 其包含編碼抗體或其抗原結合片段之一或多個組分(例如, VH及/或VL; 以及輕鏈及/或重鏈)之一或多個核酸。表現載體可包括但不限於影響或控制轉錄、轉譯, 且若存在內含子, 則影響與其可操作地連接之編碼區之RNA剪接的序列。原核生物中表現所必需之核酸序列包括啟動子、視情況存在之操縱子序列、核糖體結合位點及可能存在之其他序列。已知真核細胞利用啟動子、增強子以及終止及聚腺苷酸化信號。

【0471】表現載體亦可包括可操作地連接至所關注之編碼序列的分泌信號肽序列，使得經表現之多肽可由重組宿主細胞分泌，以便在必要時更容易自細胞中分離所關注之多肽。其他信號肽或分泌肽為熟習此項技術者所知，且可與可變區多肽鏈中之任一者融合，例如，以促進或最佳化特定宿主細胞中之表現。

【0472】本發明之表現及選殖載體將典型地含有由宿主生物體識別且可操作地連接至編碼多肽之分子的啟動子。由多種潛在宿主細胞識別之大量啟動子為熟知的。藉由限制酶消化自源DNA中移除啟動子且將所需啟動子序列插入載體中，將適合之啟動子可操作地連接至編碼本發明之抗體及抗原結合片段之例如重鏈、輕鏈或其他組分的DNA。用於酵母宿主之適合啟動子在此項技術中亦為熟知的。酵母增強子有利地與酵母啟動子一起使用。用於哺乳動物宿主細胞之適合啟動子為熟知的，且包括但不限於自病毒基因體獲得之彼等啟動子，該等病毒如多瘤病毒、禽痘病毒、腺病毒(諸如腺病毒血清型2、8或9)、牛乳頭狀瘤病毒、禽肉瘤病毒、巨細胞病毒、反轉錄病毒、B型肝炎病毒及猿猴病毒40(SV40)。其他適合之哺乳動物啟動子包括異源哺乳動物啟動子，例如，熱休克啟動子及肌動蛋白啟動子。

【0473】可利用之額外特異性啟動子包括但不限於：SV40早期啟動子(Benoist及Chambon, 1981, Nature 290:304-310)；CMV啟動子(Thomsen等人, 1984, Proc. Natl. Acad. U.S.A. 81:659-663)；勞斯肉瘤病毒(Rous sarcoma virus)之3'長末端重複序列中所含之啟動子(Yamamoto等人, 1980, Cell 22:787-797)；皰疹胸苷激酶啟動子(Wagner等人, 1981, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 78: 1444-1445)；來自金屬硫蛋白基因之啟動子及調控序列(Prinster等人, 1982, Nature 296:39-42)；及原核

啟動子，諸如 β -內醯胺酶啟動子(Villa-Kamaroff等人, 1978, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 75:3727-3731) ;或tac啟動子(DeBoer等人, 1983, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 80:21-25)。

【0474】在某些實施例中，編碼抗體或其抗原結合片段之不同組分的核酸可插入相同表現載體中。舉例而言，編碼抗CEACAM5抗體輕鏈或可變區之核酸可與編碼抗CEACAM5抗體重鏈或可變區之核酸選殖至相同載體中。在此類實施例中，兩個核酸可由內部核糖體進入位點(IRES)隔開且在單一啟動子之控制下，使得輕鏈及重鏈由相同mRNA轉錄物表現。或者，兩個核酸可在兩個獨立啟動子之控制下，使得輕鏈及重鏈自兩個獨立mRNA轉錄物表現。在一些實施例中，將編碼抗CEACAM5抗體輕鏈或可變區之核酸選殖至一個表現載體中，且將編碼抗CEACAM5抗體重鏈或可變區之核酸選殖至第二表現載體中。在此類實施例中，宿主細胞可用兩個表現載體共轉染以產生本發明之完整抗體或抗原結合片段。

B. 宿主細胞

【0475】在已構築載體且已將編碼本文所述之抗體或其抗原結合片段之組分的一或多個核酸分子插入載體之適當位點中之後，可將完整載體插入適合之宿主細胞中以用於擴增及/或多肽表現。

【0476】因此，在另一個態樣中，亦提供包含諸如本文所述之核酸分子或載體的宿主細胞。在各個實施例中，抗體重鏈及/或抗體輕鏈可在諸如細菌細胞之原核細胞中或在諸如真菌細胞(諸如酵母)、植物細胞、昆蟲細胞及哺乳動物細胞之真核細胞中表現。適合之宿主細胞的選擇取決於多種因素，諸如所需表現水準、活性所需要或必需之多肽修飾(諸如糖基化或磷酸化)以及折疊成生物活性分子之容易程度。

【0477】 將一或多個核酸引入所需宿主細胞中可藉由任何方法完成，包括但不限於磷酸鈣轉染、DEAE-葡聚糖介導之轉染、陽離子脂質介導之轉染、電穿孔、轉導、感染等。非限制性例示性方法描述於例如Sambrook等人, *Molecular Cloning, A Laboratory Manual*, 第3版 Cold Spring Harbor Laboratory Press (2001) 中。根據任何適合之方法，可將核酸瞬時或穩定轉染於所需宿主細胞中。

【0478】 例示性原核宿主細胞包括真細菌，諸如革蘭氏陰性或革蘭氏陽性生物體，例如，腸桿菌科，諸如埃希氏菌屬，例如大腸桿菌；腸桿菌屬；歐文氏菌屬；克雷伯氏菌屬；變形桿菌屬；沙門氏菌屬，例如鼠傷寒沙門氏菌 (*Salmonella typhimurium*)；沙雷氏菌屬，例如黏質沙雷氏菌(*Serratia marcescans*)；及志賀氏菌屬；以及芽孢桿菌屬，諸如枯草芽孢桿菌(*B. subtilis*)及地衣芽孢桿菌 (*B. licheniformis*)；假單胞菌屬；及鏈黴菌屬。

【0479】 酵母亦可用作宿主細胞，包括但不限於釀酒酵母(*S. cerevisiae*)、粟酒裂殖酵母(*S. pombe*)；或乳酸克魯維酵母(*K. lactis*)。

【0480】 多種哺乳動物細胞株可用作宿主，且包括但不限於自美國典型培養物保藏中心(ATCC)可獲得之永生化細胞株，包括但不限於中國倉鼠卵巢(CHO)細胞，包括CHOK1細胞(ATCC CCL61)、DXB-11、DG-44及中國倉鼠卵巢細胞/-DHFR (CHO，Urlaub等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77: 4216, 1980)；由SV40轉化之猴腎CV1株(COS-7，ATCC CRL 1651)；人類胚胎腎株(經次選殖用於在懸浮培養物中生長之293或293細胞，Graham等人, *J. Gen Virol.* 36: 59, 1977)；幼倉鼠腎細胞(BHK，ATCC CCL 10)；小鼠賽托利細胞(mouse sertoli cell) (TM4，Mather, *Biol. Reprod.* 23: 243-251, 1980)；猴腎細胞(CV1 ATCC CCL 70)；非洲綠猴腎細胞(VERO-76，ATCC CRL-1587)；人類子宮頸癌細胞(HELA，ATCC CCL

2)；犬腎細胞(MDCK，ATCC CCL 34)；水牛大鼠肝細胞(BRL 3A，ATCC CRL 1442)；人類肺細胞(W138，ATCC CCL 75)；人類肝癌細胞(Hep G2，HB 8065)；小鼠乳腺腫瘤(MMT 060562，ATCC CCL51)；TM細胞(Mather等人, *Annals N.Y Acad. Sci.* 383: 44-68, 1982)；MRC 5細胞或FS4細胞；哺乳動物骨髓瘤細胞，及許多其他細胞株。

【0481】一旦已製備適合之宿主細胞，即可用於表現所需抗體或其抗原結合片段。因此，在又一個態樣中，亦提供用於產生如本文所述之抗體或其抗原結合片段之方法。一般而言，此類方法包括在允許表現由一或多個表現載體編碼之抗體或其抗原結合片段之條件下，在培養基中培養包含如本文所述之一或多個表現載體之宿主細胞；及自培養基中回收抗體或其抗原結合片段。

【0482】在一些實施例中，在無細胞系統中產生抗體或其抗原結合片段。非限制性例示性無細胞系統描述於例如Sitaraman等人, *Methods Mol. Biol.* 498: 229-44 (2009)；Spirin, *Trends Biotechnol.* 22: 538-45 (2004)；Endo等人, *Biotechnol. Adv.* 21: 695-713 (2003)中。

V. 治療應用

A. 治療疾病之方法

【0483】在另一個態樣中，提供治療與表現CEACAM5之細胞相關之病症(例如，癌症)之方法。在某些例示性實施例中，該方法包括治療細胞、組織、器官、動物或患者之癌症。最典型地，治療方法包括治療人類之癌症。

【0484】如本文所用，「RECIST 1.1反應準則」意指適當時基於量測反應之情形，由Eisenhauer等人, *Eur. J Cancer* 45:228-247 (2009)針對標靶病變或非標靶病變所闡述之定義。

【0485】有效量之ADC可按一或多次投藥、應用或劑量授予，且並不意欲限於特定調配或投藥途徑。

【0486】授予之劑量可視已知因素而變化，諸如特定劑之藥效學特徵及其投藥模式及途徑；接受者之年齡、健康狀況及體重；待治療之疾病或適應症之類型及程度、症狀之性質及程度、並行治療之種類、治療之頻率及所需之作用。初始劑量可增至超出上限，以快速達到所需血液水準或組織水準。或者，初始劑量可小於最佳值，且在治療過程中可逐漸增加日劑量。

【0487】投藥頻率取決於抗體或ADC在循環中之半衰期、患者之狀況及投藥途徑等因素。頻率可為例如每天、每週、每月、每季度，或響應於患者狀況之變化或所治療癌症之進展以不規則之時間間隔。靜脈內投藥之例示性頻率為在連續治療過程中每週兩次至每季度之間，但亦可能以更高或更低頻率給藥。在連續治療過程中，靜脈內投藥之其他例示性頻率為每週、每隔一周、每四週三次或每三週，但亦可能以更高或更低頻率給藥。對於皮下投藥，例示性給藥頻率為每天至每月，但亦可能以更高或更低頻率給藥。

【0488】在一些實施例中，本文提供一種治療表現高水準、中等水準或任何水準之CEACAM5之腫瘤的方法，該方法包括向個體授予本文所提供之ADC。在一些實施例中，藉由免疫組織化學確定CEACAM5之水準。在一些實施例中，藉由腫瘤或病理玻片之免疫組織化學染色來確定CEACAM5之水準。在一些實施例中，藉由使用結合至CEACAM5之抗體的免疫組織化學染色來確定CEACAM5之水準。在一些實施例中，表現高水準CEACAM5之腫瘤為如藉由免疫組織化學所量測，腫瘤樣品中至少50%之腫瘤細胞評分大於2+強度之腫瘤。在一些實施例中，如藉由免疫組織化學所量測，樣品中至少40%、至少45%、至少50%、至少

55%、至少60%、至少65%、至少75%、至少80%、至少85%或至少90%之細胞的CEACAM5表現評分大於2+強度。在一些實施例中，樣品來自活檢。在一些實施例中，該方法進一步包括在投予本文所提供之ADC之前確定腫瘤樣品中CEACAM5之水準。在一些實施例中，若腫瘤表現高水準之CEACAM5，則投予ADC。

【0489】 在一些實施例中，待治療之腫瘤表現中等水準之CEACAM5。在一些實施例中，表現中等水準CEACAM5之腫瘤為如藉由免疫組織化學所量測，腫瘤樣品中至少1%且少於50%之腫瘤細胞評分為至少2+強度之腫瘤。在一些實施例中，如藉由免疫組織化學所量測，樣品中至少2%、至少5%、至少10%、至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少35%、至少40%或至少45%但少於50%之細胞的CEACAM5表現評分為至少2+強度。在一些實施例中，如藉由免疫組織化學所量測，樣品中5%至45%、10%至40%、15%至35%或20%至40%之細胞的CEACAM5表現評分為至少2+強度。在一些實施例中，如藉由免疫組織化學CEACAM5表現所量測，至少50%之以1+強度表現標靶之腫瘤細胞或腫瘤樣品中至少1%且少於50%之腫瘤細胞評分為至少2+強度(如藉由免疫組織化學所量測)。在一些實施例中，樣品來自活檢。在一些實施例中，該方法進一步包括在投予本文所提供之ADC之前確定腫瘤樣品中CEACAM5之水準。在一些實施例中，若腫瘤表現中等水準之CEACAM5，則投予ADC。

【0490】 在一些實施例中，待治療之腫瘤表現任何水準之CEACAM5。在一些實施例中，表現任何水準之CEACAM5之腫瘤為如藉由免疫組織化學所量測，觀測到CEACAM5之反應性，但不應視為具有中等或高CEACAM5表現水準之腫瘤。在一些實施例中，如藉由免疫組織化學所量測，樣品中至少1%、2%、

5%、10%、40%、至少45%、至少50%、至少55%、至少60%、至少65%、至少75%、至少80%、至少85%或至少90%之細胞評分為至少1+強度。在一些實施例中，樣品來自活檢。在一些實施例中，該方法進一步包括在投予本文所提供之ADC之前確定腫瘤樣品中CEACAM5之水準。在一些實施例中，若腫瘤表現任何水準之CEACAM5，則投予ADC。

【0491】 在一些實施例中，當向個體投予時，本文所提供之ADC不會導致顯著水準之毒性。在一些實施例中，ADC不會引起典型地與使用靶向CEACAM5之ADC治療相關之一或多種副作用或毒性。

【0492】 在一些實施例中，投予本文所提供之ADC引起個體之腫瘤體積或腫瘤尺寸減小。在一些實施例中，使用MRI、PET、CT、測徑器或超音波來量測減小之腫瘤體積或尺寸。在一些實施例中，與未接受ADC治療之對照個體相比，腫瘤體積顯著減小。在一些實施例中，藉由使用 $\Delta RTV = (V_t - V_0) / V_0 \times 100$ 將時間t時之腫瘤體積變化與其基線相比較來確定對ADC之反應。

【0493】 在一些實施例中，癌症為表現CEACAM5之癌症。

【0494】 適合於使用本文所提供之抗原結合蛋白治療之例示性癌症為表現高水準或中等水準之CEACAM5的彼等癌症。可用ADC治療之癌症之實例但不限於實體腫瘤。在一些實施例中，癌症係選自由結腸直腸癌、神經內分泌癌、胃癌、肺癌、子宮癌、子宮頸癌、胰臟癌、食道癌、卵巢癌、甲狀腺癌、膀胱癌、子宮內膜癌、膀胱癌、子宮內膜癌、乳癌、肝癌、前列腺癌、胃癌、膽管癌及皮膚癌組成之群。

【0495】 可治療之例示性實體腫瘤包括但不限於各種器官系統之惡性病，例如肉瘤(包括軟組織肉瘤及骨肉瘤)、腺癌及癌瘤，諸如影響以下之彼等：

頭頸部(包括咽部)、甲狀腺、肺(小細胞肺癌(SCLC)或非小細胞肺癌(NSCLC))、乳房、淋巴、胃腸道(例如，口腔、食道、胃、肝、胰臟、小腸、結腸及直腸、肛管)、生殖器及生殖泌尿道(例如，腎、尿路上皮、膀胱、卵巢、子宮、子宮頸、子宮內膜、前列腺、睪丸)、中樞神經系統(例如，神經或神經膠質細胞，例如神經母細胞瘤或神經膠質瘤)、皮膚(例如，黑色素瘤)及類似惡性病。在某些實施例中，實體腫瘤為NMDA受體陽性畸胎瘤。在其他實施例中，癌症係選自乳癌、結腸癌、胰臟癌(例如，胰臟神經內分泌腫瘤(PNET)或胰臟導管腺癌(PDAC))、胃癌、子宮癌及卵巢癌。

【0496】 在某些實施例中，癌症為與腹水相關之實體腫瘤。腹水為許多類型之癌症的症狀，且亦可能由許多疾患(諸如晚期肝病)引起。可能引起腹水之癌症類型包括但不限於乳癌、肺癌、大腸癌(結腸癌)、胃癌、胰臟癌、卵巢癌、子宮癌(子宮內膜癌)、腹膜癌及類似癌症。在一些實施例中，與腹水相關之實體腫瘤係選自乳癌、結腸癌、胰臟癌、胃癌、子宮癌及卵巢癌。在一些實施例中，癌症與胸膜積水相關，例如，肺癌。

【0497】 在特定實施例中，癌症係選自由神經內分泌癌、結腸直腸癌、肺癌、胃癌及胰臟癌組成之群。

【0498】 在一些實施例中，癌症係選自由結腸直腸癌、胃癌(stomach cancer)、胃癌(gastric cancer)、胃食道結合部癌、肺癌、子宮癌、子宮頸癌、胰臟癌、食道癌、卵巢癌、甲狀腺癌、膀胱癌、子宮內膜癌、膀胱癌、神經內分泌癌、子宮內膜癌、乳癌、肝癌、前列腺癌及膽管癌及皮膚癌組成之群。在一些實施例中，肺癌包括非小細胞肺癌(NSCLC)、非鱗狀NSCLC (nsq-NSCLC)、

鱗狀NSCLC (sq-NSCLC)或小細胞肺癌(SCLC)，或其任何組合。在一些實施例中，胰臟癌包括胰臟導管腺癌(PDAC)。

【0499】 在一些實施例中，癌症係選自由結腸直腸癌、肺癌、胃癌、胃食道結合部癌、神經內分泌癌及胰臟癌組成之群。

【0500】 在一些實施例中，癌症為結腸直腸癌、NSCLC、SCLC、胃癌、胃食道結合部癌或胰臟導管腺癌。

【0501】 在一些實施例中，癌症為原發性的、轉移性的或癌病。

【0502】 在一些實施例中，本文所述之方法在投藥後引起腫瘤體積減小，諸如腫瘤體積減小至少約5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、99%或100%中之任一者。

【0503】 在一些實施例中，可藉由自指定觀測日之腫瘤體積減去隨機化當天(分期日)之腫瘤體積來計算各腫瘤之各治療(T)及對照(C)之腫瘤體積變化。可計算治療組之中值 ΔT ，且可計算對照組之中值 ΔC 。在一些實施例中，可計算比率 $\Delta T/\Delta C$ 且以百分比表示：

$$\Delta T/\Delta C = (\Delta T/\Delta C) \times 100$$

【0504】 在一些實施例中，本文所述之方法引起腫瘤體積變化(例如，比率 $\Delta T/\Delta C$)，諸如小於約50%、45%、40%、35%、30%、25%、20%、15%、10%、5%、1%或0%中任一者之腫瘤體積變化(例如，比率 $\Delta T/\Delta C$)。在一些實施例中，腫瘤體積變化(例如，比率 $\Delta T/\Delta C$)小於0。

[(0505)] 在一些實施例中，腫瘤消退%可定義為治療組中指定觀測日之腫瘤體積與其隨機化當天之體積相比之減小%。在一些實施例中，在特定時間點日對於每隻動物，可計算消退%，且中值消退%可計算如下：

$$\text{消退\% (中值)} = \frac{\text{體積}_{i0} - \text{體積}_i}{\text{體積}_{i0}} \times 100$$

[(0506)] 在一些實施例中，本文所述之方法引起至少約5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、99%或100%中任一者之腫瘤消退%。

[(0507)] 在一些實施例中，本文所述之方法不會在所治療之個體中誘導顯著水準之毒性。在一些實施例中，個體不會經歷與投予本文所提供之ADC相關之不良事件。在一些實施例中，個體不會經歷與投予本文所提供之ADC相關之嚴重不良事件。

[(0508)] 在一些實施例中，抗體-藥物接合物之投予產生強旁觀者效應。在一些實施例中，旁觀者效應允許有效負荷自抗原陽性腫瘤細胞擴散至相鄰抗原陰性腫瘤細胞，從而殺死細胞。在一些實施例中，抗體-藥物接合物之投予導致低脫靶效應。

[(0509)] 在一些實施例中，個體患有復發性、難治性或進行性疾病。在一些實施例中，個體在參與時並無可用之適當標準療法。在一些實施例中，個體患有以下腫瘤類型之一：結腸直腸癌(CRC)、胃癌(GC) (包括印戒細胞癌組織學)及胃食道結合部腺癌(GEJ)、小細胞肺癌(SCLC)、非小細胞肺癌(NSCLC)、鱗狀或非鱗狀組織學及胰臟導管腺癌(PDAC)。在一些實施例中，個體患有組織學或細胞學確認之轉移性或不可切除性實體腫瘤惡性病。

【0510】 在一些實施例中，個體已接受一或多種先前治療。在一些實施例中，先前治療為針對適應症之標準照護治療(SoC)。在一些實施例中，個體在用本文所提供之抗體-藥物接合物或其鹽治療之前已接受預治療。在一些實施例中，預治療為化學療法或免疫療法。在一些實施例中，預治療係選自抗代謝物、抗腫瘤劑、烷化劑及前藥劑。在一些實施例中，個體在用本文所述之抗體-藥物接合物或其鹽或醫藥組合物治療之前已接受預治療。在一些實施例中，預治療為化學療法或免疫療法。在一些實施例中，預治療係選自抗代謝物、抗腫瘤劑、烷化劑及前藥劑。在一些實施例中，預治療係選自基於鉑之療法、氟嘧啶、奧沙利鉑(oxaliplatin)、伊立替康(irinotecan)或抗PD1/PDL1。

【0511】 在一些實施例中，個體患有CRC，且已接受含有氟嘧啶、奧沙利鉑及伊立替康之先前治療(在一或多個線路之療法中)。在一些實施例中，個體患有PDAC，且已接受1個前線之療法且在晚期或轉移性環境中接受不超過3個前線之療法。在一些實施例中，個體患有GC及/或GEJ，且已接受先前基於鉑及氟嘧啶之化學療法。在一些實施例中，個體患有NSCLC (包括非鱗狀及鱗狀)，且已接受基於鉑之療法。在一些實施例中，個體符合條件且符合當地照護標準且已接受PD-1/PD-L1抑制劑。在一些實施例中，個體患有小細胞肺癌(SCLC)，且已接受針對廣泛期疾病的基於鉑之療法及不超過3個前線之療法。

【0512】 在一些實施例中，個體具有可達及以供活檢之腫瘤部位且同意活檢及/或提交歸檔組織。在一些實施例中，個體具有0或1之東部腫瘤合作組(Eastern Cooperative Oncology Group, ECOG)表現狀態評分。在一些實施例中，個體在基線時患有根據實體腫瘤反應評估(RECIST)版本1.1之可量測疾病。

【0513】 在一些實施例中，個體先前尚未暴露於靶向CEACAM5之療法。

在一些實施例中，個體先前尚未用具有喜樹鹼有效負荷之抗體-藥物接合物(ADC)治療。在一些實施例中，個體在第一劑研究介入前3年內並無另一種惡性病之病史，或並無來自先前診斷之惡性病之殘留疾病的任何證據。在一些實施例中，個體不患有與潛在惡性病相關之活動性腦/腦膜疾病。在一些實施例中，個體具有與潛在惡性病相關之腦/腦膜疾病史，且先前中樞神經系統疾病已得到治療且個體在臨床上穩定(定義為在參與前至少2週未接受與腦/腦膜疾病相關之症狀的類固醇治療且並無持續之相關AE)。

VI. 醫藥組合物及調配物

【0514】 本發明提供包含本文所述之ADC中任一者之ADC混合物及醫藥組合物。混合物及醫藥組合物包含複數種接合物。在一些實施例中，混合物或組合物中之接合物中之每一者為相同或實質上相同的，然而，混合物或組合物中之配位體上之藥物-連接子分佈以及藥物負載可變化。舉例而言，在一些實施例中，用於將藥物-連接子接合至作為靶向劑之抗體的接合技術產生組合物或混合物，就混合物及/或組合物內抗體(配位體單元)上之喜樹鹼連接子化合物的分佈而言，該組合物或混合物為異質的。在彼等實施例中之一些實施例中，此類分子之混合物或組合物中各抗體分子上之喜樹鹼連接子化合物的負載為1至16範圍內之整數。

【0515】 在彼等實施例中，當提及作為整體之組合物時，藥物連接子之負載為1至約16範圍內之數值。在組合物或混合物內，有時存在一小部分未接合之抗體。混合物或組合物中每個配位體單元之藥物-連接子之平均數目(亦即，平均藥物負載)為一個重要屬性，此係因為其與可遞送至標靶細胞之最大藥物量相

關。典型地，平均藥物負載為1、2或約2、3或約3、4或約4、5或約5、6或約6、7或約7、8或約8、9或約9、10或約10、11或約11、12或約12、13或約13、14或約14、15或約15、16或約16。

【0516】 在一些實施例中，混合物及醫藥組合物包含複數個接合物(亦即，群體)，然而，就混合物及/或組合物內配位體分子上之藥物-連接子分佈而言且就混合物及/或組合物內配位體分子上之藥物-連接子負載而言，該等接合物為相同或實質上相同的且為實質上均質的。在一些此類實施例中，抗體配位體單元上之藥物-連接子負載為1-10，諸如約2、約4、約6或約8。在一些實施例中，抗體配位體單元上之藥物-連接子負載為約8。在組合物或混合物內，亦可能存在一小部分未接合之抗體。此類實施例中之平均藥物負載為約2或約4。典型地，此類組合物及混合物係藉由使用位點特異性接合技術而產生，且接合係歸因於所引入之半胱胺酸殘基。

【0517】 典型地藉由習知手段，諸如質譜法、ELISA檢定、HPLC (例如，HIC)來表徵來自接合反應之製劑中每個配位體單元之喜樹鹼或喜樹鹼-連接子化合物之平均數目。在彼等情況下，典型地確定ADC以下標p表示之定量分佈。在其他情況下，典型地藉由習知手段，諸如逆相HPLC或電泳來實現均質ADC之分離、純化及表徵。

【0518】 在一些實施例中，組合物為包含本文所述之ADC及醫藥學上可接受之載劑的醫藥組合物。在彼等實施例中之一些實施例中，醫藥組合物呈液體形式。在彼等實施例中之其他實施例中，醫藥組合物為凍乾粉末。

【0519】 包括醫藥組合物在內之組合物可呈經純化形式提供。如本文所用，「經純化」意謂當分離時，分離物含有以分離物之重量計至少95%且在其他實施例中至少98%之接合物。

【0520】 亦提供包含ADC之醫藥組合物且可將其用於本文所揭示之任何治療應用中。在某些實施例中，醫藥組合物包含治療有效量之一種或複數種ADC以及醫藥學上可接受之稀釋劑或載劑。在其他實施例中，醫藥組合物包含治療有效量之一種或複數種抗原結合蛋白、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。可接受之調配材料在所採用之劑量及濃度下對接受者為無毒的。醫藥組合物可調配成液體、冷凍或凍乾組合物。

【0521】 在某些實施例中，醫藥組合物可含有用於改變、維持或保存組合物之例如pH、滲透壓、黏度、透明度、顏色、等張性、氣味、無菌性、穩定性、溶解或釋放速率、吸附或滲透之調配材料。適合之調配材料包括但不限於胺基酸；抗微生物劑；抗氧化劑；緩衝劑；增積劑；螯合劑；錯合劑；填充劑；碳水化合物，諸如單醣或雙醣；蛋白質；著色劑、調味劑及稀釋劑；乳化劑；親水性聚合物；低分子量多肽；成鹽相對離子(諸如鈉)；防腐劑；溶劑(諸如甘油、丙二醇或聚乙二醇)；糖醇；懸浮劑；表面活性劑或濕潤劑；穩定性增強劑；張力增強劑；遞送媒劑；及/或醫藥佐劑。可併入醫藥組合物中之適合劑的額外細節及選項提供於例如Remington's Pharmaceutical Sciences, 第22版, (Lloyd V. Allen 編) Pharmaceutical Press (2013)；Ansel等人, Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, 第7版, Lippencott Williams and Wilkins (2004)；及Kibbe等人, Handbook of Pharmaceutical Excipients, 第3版, Pharmaceutical Press (2000)中。

【0522】 取決於例如預期投藥途徑、遞送形式及所需劑量來選擇醫藥組合物之組分。參見例如Remington's Pharmaceutical Sciences, 第22版, (Lloyd V. Allen 編) Pharmaceutical Press (2013)。組合物經選擇以影響所揭示之抗原結合蛋白之物理狀態、穩定性、活體內釋放速率及活體內清除速率。醫藥組合物中之主要媒劑或載劑本質上可為水性的或非水性的。舉例而言，適合之媒劑或載劑可為注射用水或生理鹽水溶液。在某些實施例中，可藉由將具有所需純度之所選組合物與視情況存在之調配劑以凍乾餅或水溶液之形式混合來製備抗原結合蛋白組合物以供儲存。此外，在某些實施例中，可使用適當賦形劑將抗原結合蛋白調配成凍乾物。

【0523】 一些組合物包含緩衝劑或pH調節劑。代表性緩衝劑包括但不限於：有機酸鹽(諸如檸檬酸鹽、乙酸鹽、抗壞血酸鹽、葡萄糖酸鹽、碳酸鹽、酒石酸鹽、丁二酸鹽或鄰苯二甲酸鹽)；Tris；磷酸鹽緩衝液；以及，在一些情況下，如下文所述之胺基酸。在某些實施例中，緩衝劑用於將組合物維持在生理pH或稍低pH下，典型地在約5至約8之pH範圍內。

【0524】 一些組合物包含多元醇。多元醇包括糖(例如，甘露醇、蔗糖、海藻糖及山梨醇)，及多元醇，諸如甘油及丙二醇以及聚乙二醇(PEG)及相關物質。多元醇為親液性的。多元醇為液體及凍調配物中可用之穩定劑，以保護蛋白質免於發生物理及化學降解過程。多元醇亦可用於調節調配物之張力。

【0525】 某些調配物中可包含表面活性劑。

【0526】 在一些實施例中，醫藥組合物中包含一或多種抗氧化劑。抗氧化劑賦形劑可用於防止蛋白質之氧化降解。

【0527】 某些調配物中亦可包含張力增強劑。此類劑之實例包括鹼金屬鹵化物(較佳為氯化鈉或氯化鉀)、甘露醇及山梨醇。

【0528】 某些調配物中可包含一或多種防腐劑。當開發涉及自同一容器多於一次提取之多劑量非經腸調配物時，防腐劑為必要的。防腐劑之主要功能為抑制微生物生長且確保藥品在整個保質期或使用期限內保持無菌。

【0529】 醫藥組合物經調配以與其預期投藥途徑相容。投藥途徑之實例為靜脈內(IV)、皮內、吸入、經皮、局部、經黏膜及直腸投藥。抗原結合蛋白(例如，抗體)之較佳投藥途徑為IV輸注。在另一個較佳實施例中，藉由肌肉內或皮下注射來投予製劑。

【0530】 適合於非經腸投予(例如，靜脈內、皮下、眼內、腹膜內、肌肉內)之調配物組分包括無菌稀釋劑，諸如注射用水、鹽水溶液、非揮發性油、聚乙二醇、甘油、丙二醇或其他合成溶劑；抗細菌劑，諸如苯甲醇或對羥基苯甲酸甲酯；抗氧化劑，諸如抗壞血酸或亞硫酸氫鈉；螯合劑，諸如EDTA；緩衝劑，諸如乙酸鹽、檸檬酸鹽或磷酸鹽；及用於調節張力之劑，諸如氯化鈉或右旋糖。

【0531】 對於靜脈內投予，適合之載劑包括生理鹽水、抑菌水、Cremophor EL™ (BASF, Parsippany, N.J.)或磷酸鹽緩衝鹽水(PBS)。載劑應在製造條件下穩定，且應抵抗微生物進行保存。載劑可為溶劑或分散介質，其含有例如水、乙醇、多元醇(例如，甘油、丙二醇及液體聚乙二醇)及其適合之混合物。

【0532】 關於取決於遞送形式之適當調配物的進一步導則提供於例如 Remington's Pharmaceutical Sciences, 第22版, (Lloyd V. Allen編) Pharmaceutical Press (2013)中。

【0533】醫藥調配物較佳為無菌的。可藉由任何適合之方法完成滅菌，例如，經由無菌過濾膜過濾。在組合物經凍乾之情況下，可在凍乾及重構之前或之後進行過濾滅菌。

VII. 套組/製品

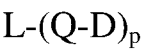
【0534】亦提供含有如本文所述之ADC的套組。在一個實施例中，此類套組包括一或多個包含抗原結合蛋白(例如，抗CEACAM5抗體)或單位劑型及/或製品之容器。在一些實施例中，提供單位劑量，其中該單位劑量含有預定量之包含抗原結合蛋白且具有或不具有一或多種額外劑之組合物。在一些實施例中，此種單位劑量在用於注射之一次性預填充注射器中提供。在各個實施例中，單位劑量中所含之組合物可包含：鹽水；緩衝劑、其他調配物組分，及/或經調配

【0535】在如本文所述之穩定且有效之pH範圍內。或者，在一些實施例中，組合物以凍乾粉末形式提供，其可在添加適當液體(例如，無菌水)後重構。

【0536】如本文所提供之一些套組進一步包括根據本文所述之任何方法治療與CEACAM5相關之疾病(諸如癌症)的使用說明書。套組可進一步包括如何選擇或鑑定適合於治療之個體的描述。本發明之套組中所提供之說明書典型地為標籤或包裝插頁(例如，套組中所包括之紙張)上的書面說明書，但機器可讀說明書(例如，磁性或光學存儲盤上攜帶之說明書)亦為可接受的。在一些實施例中，套組進一步包括另一種治療劑，諸如上文描述為適合與抗原結合蛋白組合使用之彼等。

例示性實施例

【0537】實施例1A. 一種結合至CEACAM5之抗體-藥物接合物，其具有下式：



或其鹽，其中

L為包含結合至CEACAM5之抗體或其抗原結合片段之配位體單元；

下標p為1至16範圍內之整數；

Q為具有選自由以下組成之群之式的連接子單元：

-Z-A-RL-、-Z-A-RL-Y-、-Z-A-S^{*}-RL-、-Z-A-B(S^{*})-RL-、-Z-A-S^{*}-RL-Y-及
-Z-A-B(S^{*})-RL-Y-；

其中Z為延伸體單元；

A為一鍵結或連接體單元；

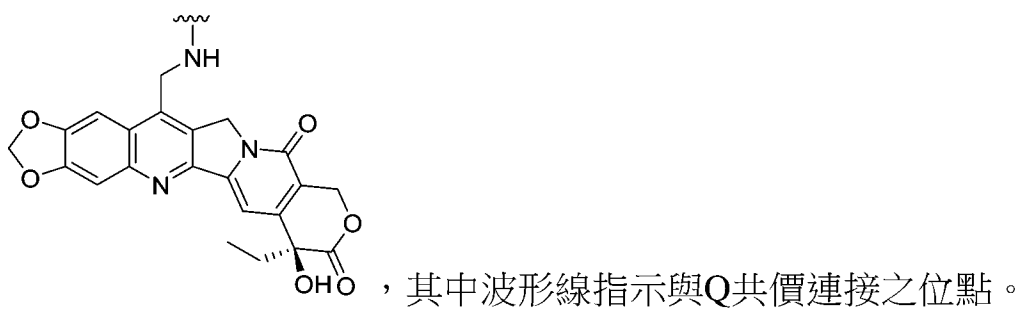
B為並聯連接體單元；

S^{*}為分隔劑；

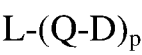
RL為糖苷單元；

Y為間隔體單元；且

D為具有下式之藥物單元：



【0538】 實施例2A. 一種結合至CEACAM5之抗體-藥物接合物，其具有下式：



或其鹽，其中

L為包含結合至CEACAM5之抗體或其抗原結合片段之配位體單元，該抗體或其抗原結合片段包含

包含SEQ ID NO:7所示之胺基酸序列之可變重鏈結構域(VH)的CDR1-H、CDR2-H及CDR3-H，及

包含SEQ ID NO:8所示之胺基酸序列之可變輕鏈結構域(VL)的CDR1-L、CDR2-L及CDR3-L；

下標p為1至16範圍內之整數；

Q為連接子單元；

且D為藥物單元，其中該藥物單元為拓撲異構酶I抑制劑。

【0539】 實施例3A. 如實施例1A之抗體-藥物接合物或其鹽，其中該抗體或其抗原結合片段包含

包含SEQ ID NO:7所示之胺基酸序列之可變重鏈結構域(VH)的CDR1-H、CDR2-H及CDR3-H，及

包含SEQ ID NO:8所示之胺基酸序列之可變輕鏈結構域(VL)的CDR1-L、CDR2-L及CDR3-L。

【0540】 實施例4A. 如實施例1A至3A中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其中該抗體或其抗原結合片段包含與SEQ ID NO: 7之胺基酸序列具有至少80%、85%、90%、95%或99%胺基酸序列一致性的可變重鏈結構域(VH)，且其中可變輕鏈結構域(VL)與SEQ ID NO: 8之胺基酸序列具有至少80%、85%、90%、95%或99%胺基酸序列一致性。

【0541】 實施例5A. 如實施例1A至4A中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其中該抗體或其抗原結合片段包含

包含SEQ ID NO:1所示之胺基酸序列的CDR1-H；

包含SEQ ID NO:2所示之胺基酸序列的CDR2-H；

包含SEQ ID NO:3所示之胺基酸序列的CDR3-H；

包含SEQ ID NO:4所示之胺基酸序列的CDR1-L；

包含胺基酸序列NTR之CDR2-L；及

包含SEQ ID NO:6所示之胺基酸序列的CDR3-L。

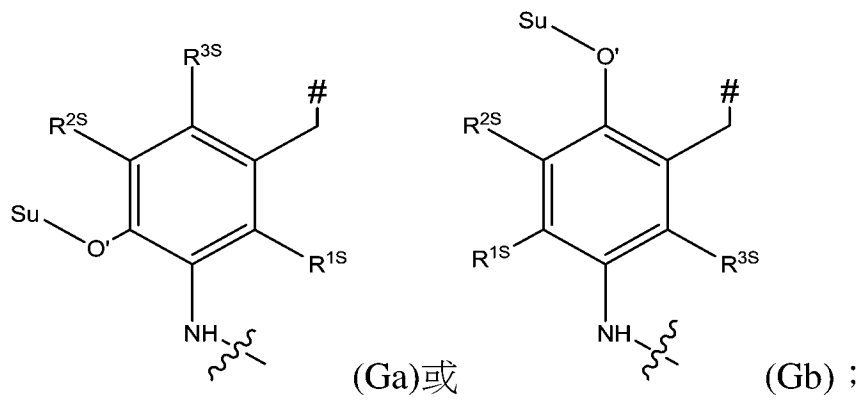
【0542】 實施例6A. 如實施例1A至5A中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其中該抗體或其抗原結合片段包含與SEQ ID NO:9所示之胺基酸序列具有至少80%、85%、90%、95%或99%胺基酸序列一致性的重鏈，及與SEQ ID NO:10所示之胺基酸序列具有至少80%、85%、90%、95%或99%胺基酸序列一致性的輕鏈。

【0543】 實施例7A. 如實施例1A至6A中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其中該抗體或其抗原結合片段為嵌合的或人源化的。

【0544】 實施例8A. 如實施例1A至7A中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其中該抗體或抗原結合片段係選自由Fv、Fab、F(ab')₂、Fab'、dsFv、(dsFv)₂、scFv、sc(Fv)₂及雙功能抗體組成之群。

【0545】 實施例9A. 如實施例1A至8A中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其中Q為具有式-Z-A-RL-之連接子單元。實施例10. 如實施例1A及3A至9A中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其中RL為葡萄糖醛酸苷單元。

【0546】 實施例11A. 如實施例1A及3A至10A中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其中RL為具有下式之葡萄糖醛酸苷單元：



其中

Su為糖部分；

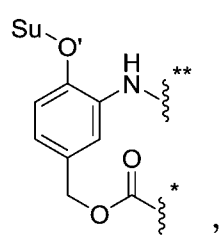
-O'-為氧糖苷鍵；

R^{1S}、R^{2S}及R^{3S}獨立地為氫、鹵素、-CN、-NO₂或其他拉電子基團、或推電子基團；

波形線指示直接地或間接地經由A或B或A及B連接至Z；且

#指示直接地或間接地經由介入官能基或其他部分連接至D或Y。

【0547】 實施例12A. 如實施例1A及3A至11A中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其中RL為具有下式之葡萄糖醛酸苷單元：



其中

Su為糖部分；

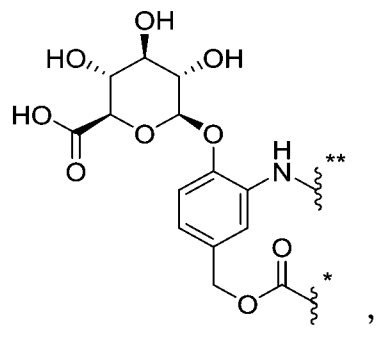
O'代表能夠由糖苷酶裂解之糖苷鍵之氧原子；

標有單星號(*)之波形線指示與D共價連接之位點；且

標有雙星號(**)之波形線指示與Q之其餘部分共價連接之位點。

【0548】 實施例13A. 如實施例11A或12A之抗體-藥物接合物或其鹽，其中Su為單醣之己醣形式。

【0549】 實施例14A. 如實施例1A及3A至13A中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其中該葡萄糖醛酸苷單元具有下式：

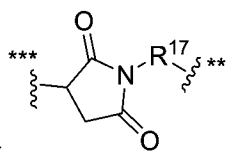


其中

標有單星號(*)之波形線指示與D共價連接之位點；且

標有雙星號(**)-之波形線指示與Q之其餘部分共價連接之位點。

【0550】 實施例15A. 如實施例1A及3A至14A中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，或其鹽，其中Z包含丁二醯亞胺基-烷醯基部分，視情況具有水解形式之丁二醯亞胺環作為丁二酸醯胺部分。

【0551】 實施例16A. 如實施例1A及3A至15A中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其中Z為 ，視情況具有水解形式之丁二醯亞胺環作為丁二酸醯胺部分，

其中：

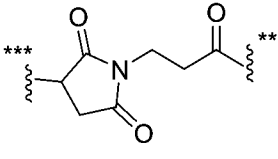
標有雙星號(**)-之波形線指示與Q之其餘部分共價連接之位點；

標有三星號(***)-之波形線指示與L之硫原子共價連接之點；且

R^{17} 為 -C₁-C₁₀伸烷基-、C₁-C₁₀伸雜烷基-、-C₃-C₈碳環-、-O-(C₁-C₈伸烷基)-、
-伸芳基-、-C₁-C₁₀伸烷基-伸芳基-、-伸芳基-C₁-C₁₀伸烷基-、-C₁-C₁₀伸烷基-(C₃-C₈
碳環)-、-(C₃-C₈碳環)-C₁-C₁₀伸烷基-、-C₃-C₈雜環-、-C₁-C₁₀伸烷基-(C₃-C₈雜環)-、
-(C₃-C₈雜環)-C₁-C₁₀伸烷基-、-C₁-C₁₀伸烷基-C(=O)-、C₁-C₁₀伸雜烷基-C(=O)-、
-C₃-C₈碳環-C(=O)-、-O-(C₁-C₈伸烷基)-C(=O)-、-伸芳基-C(=O)-、-C₁-C₁₀伸烷基-
伸芳基-C(=O)-、-伸芳基-C₁-C₁₀伸烷基-C(=O)-、-C₁-C₁₀伸烷基-(C₃-C₈碳
環)-C(=O)-、-(C₃-C₈碳環)-C₁-C₁₀伸烷基-C(=O)-、-C₃-C₈雜環-C(=O)-、-C₁-C₁₀伸
烷基-(C₃-C₈雜環)-C(=O)-、-(C₃-C₈雜環)-C₁-C₁₀伸烷基-C(=O)-、-C₁-C₁₀伸烷基
-NH-、-C₁-C₁₀伸雜烷基-NH-、-C₃-C₈碳環-NH-、-O-(C₁-C₈伸烷基)-NH-、-伸芳基
-NH-、-C₁-C₁₀伸烷基-伸芳基-NH-、-伸芳基-C₁-C₁₀伸烷基-NH-、-C₁-C₁₀伸烷基
-(C₃-C₈碳環)-NH-、-(C₃-C₈碳環)-C₁-C₁₀伸烷基-NH-、-C₃-C₈雜環-NH-、-C₁-C₁₀伸
烷基-(C₃-C₈雜環)-NH-、-(C₃-C₈雜環)-C₁-C₁₀伸烷基-NH-、-C₁-C₁₀伸烷基-S-、C₁-C₁₀
伸雜烷基-S-、-C₃-C₈碳環-S-、-O-(C₁-C₈伸烷基)-S-、-伸芳基-S-、-C₁-C₁₀伸烷基-
伸芳基-S-、-伸芳基-C₁-C₁₀伸烷基-S-、-C₁-C₁₀伸烷基-(C₃-C₈碳環)-S-、-(C₃-C₈碳
環)-C₁-C₁₀伸烷基-S-、-C₃-C₈雜環-S-、-C₁-C₁₀伸烷基-(C₃-C₈雜環)-S-或-(C₃-C₈雜
環)-C₁-C₁₀伸烷基-S-。

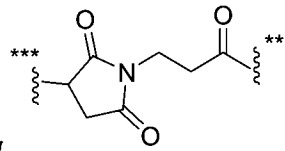
【0552】 實施例17A. 如實施例16A之抗體-藥物接合物或其鹽，其中 R^{17} 為
-(CH₂)₂₋₅-C(=O)-。

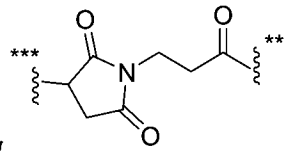
【0553】 實施例18A. 如實施例1A及3A至17A中任一項之抗體-藥物接合物

或其鹽，或其鹽，其中Z為 ，視情況具有水解形式之丁二醯亞

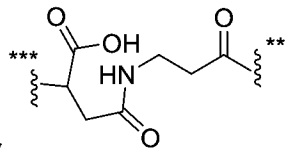
胺環作為丁二酸醯胺部分，其中標有雙星號(**)之波形線指示與Q之其餘部分共價連接之位點；且標有三星號(***)之波形線指示與L之硫原子共價連接之點。

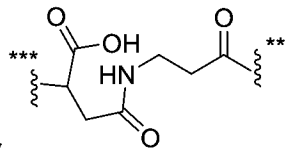
【0554】 實施例19A. 如實施例1A及3A至18A中任一項之抗體-藥物接合物



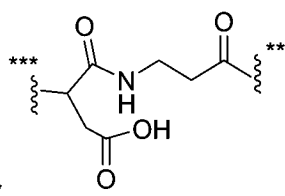
或其鹽，其中Z為 ，其中標有雙星號(**)之波形線指示與Q之其餘部分共價連接之位點；且標有三星號(***)之波形線指示與L之硫原子共價連接之點。

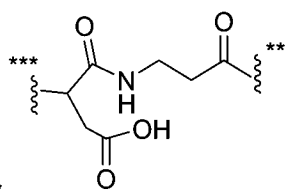
【0555】 實施例20A. 如實施例1A及3A至18A中任一項之抗體-藥物接合物



或其鹽，其中Z為 ，其中標有雙星號(**)之波形線指示與Q之其餘部分共價連接之位點；且標有三星號(***)之波形線指示與L之硫原子共價連接之點。

【0556】 實施例21A. 如實施例1A及3A至18A中任一項之抗體-藥物接合物



或其鹽，其中Z為 ，其中標有雙星號(**)之波形線指示與Q之其餘部分共價連接之位點；且標有三星號(***)之波形線指示與L之硫原子共價連接之點。

【0557】 實施例22A. 如實施例1A及3A至21A中任一項之抗體-藥物接合物

或其鹽，其中A為連接體單元。

【0558】 實施例23A. 如實施例1A及3A至22A中任一項之抗體-藥物接合物

或其鹽，或其鹽，其中A具有下式：



其中

標有雙星號(**)之波形線指示與RL共價連接之位點；

標有單星號(*)之波形線指示與R共價連接之位點；

R¹¹¹係獨立地選自由以下組成之群：氫、對羟基苯甲基、甲基、異丙基、異

丁基、二級丁基、-CH₂OH、-CH(OH)CH₃、-CH₂CH₂SCCH₃、-CH₂CONHCH₃、

-CH₂COOH、-CH₂CH₂CONHCH₃、-CH₂CH₂COOH、-(CH₂)₃NEC(=NE)NH₂、

-(CH₂)₃NH₂、-(CH₂)₃NUCOCH₃、-(CH₂)₃NUCHO、-(CH₂)₄NEC(=NE)NH₂、

-(CH₂)₄NH₂、-(CH₂)₄NUCOCH₃、-(CH₂)₄NUCHO、-(CH₂)₃NUCONHCH₃、

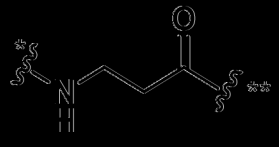
-(CH₂)₄NUCONHCH₃、-CH₂CH₂CH(OH)CH₂NH₂、2-吡啶基甲基、3-吡啶基甲基、



各R¹⁰⁰係獨立地選自由氫及-C₁-C₃烷基組成之群；且

c為獨立選擇之1至10之整數。

〔0559〕 實施例24A. 如實施例1A及3A至23A中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其中A具有下式：

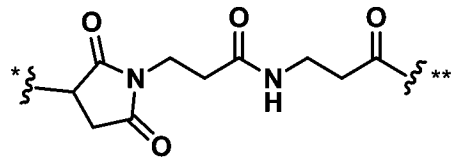


其中

標有雙星號(**)之波形線指示與RL共價連接之位點；且

標有單星號(*)之波形線指示與Z共價連接之點。

【0560】 實施例25A. 如實施例1A、3A至19A及22A至24A中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其中-Z-A-具有下式：

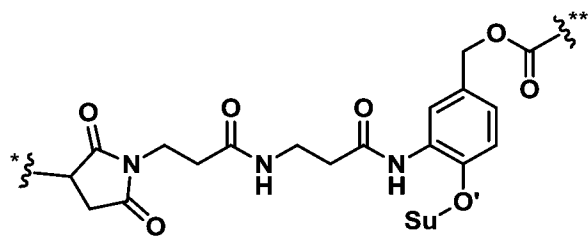


其中

標有雙星號(**)之波形線指示與RL共價連接之位點；且

標有單星號(*)之波形線指示與L共價連接之點。

【0561】 實施例26A. 如實施例1A、3A至19A及22A至25A中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其中-Z-A-RL-具有下式：



其中

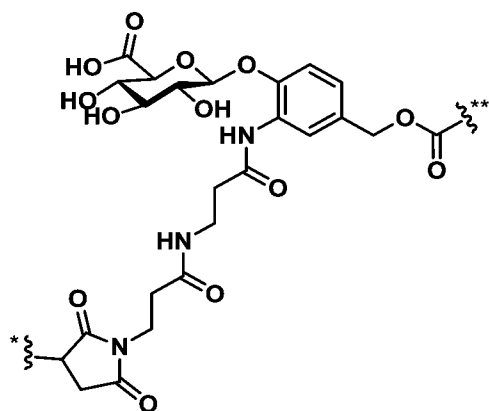
Su為單糖之己糖形式；

O'代表能夠由糖苷酶裂解之糖苷鍵之氧原子；

標有雙星號(**)之波形線指示與D共價連接之位點；且

標有單星號(*)之波形線指示與L共價連接之點。

【0562】 實施例27A. 如實施例1A、3A至19A及22A至26A中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其中-Z-A-RL-具有下式：



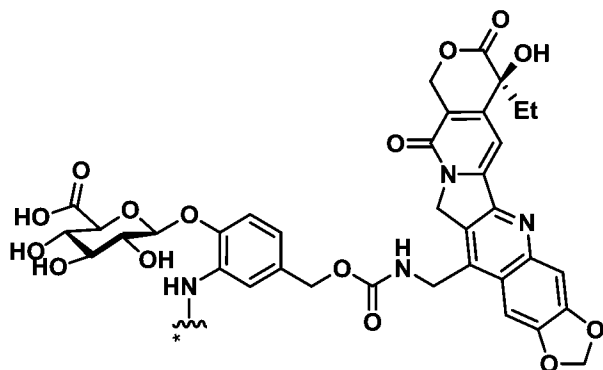
其中

標有雙星號(**)之波形線指示與D共價連接之位點；且

標有單星號(*)之波形線指示與L共價連接之點。

【0563】 實施例28A. 如實施例1A及3A至27A中任一項之抗體-藥物接合物

或其鹽，其中-RL-D-具有下式：



其中

標有單星號(*)之波形線指示與A共價連接之點。

【0564】 實施例29A. 如實施例1A及3A至28A中任一項之抗體-藥物接合物

或其鹽，其中-A-RL-D具有下式：



1133123120-0

第 209 頁，共 376 頁(發明說明書)

112144316

表單編號 A0202

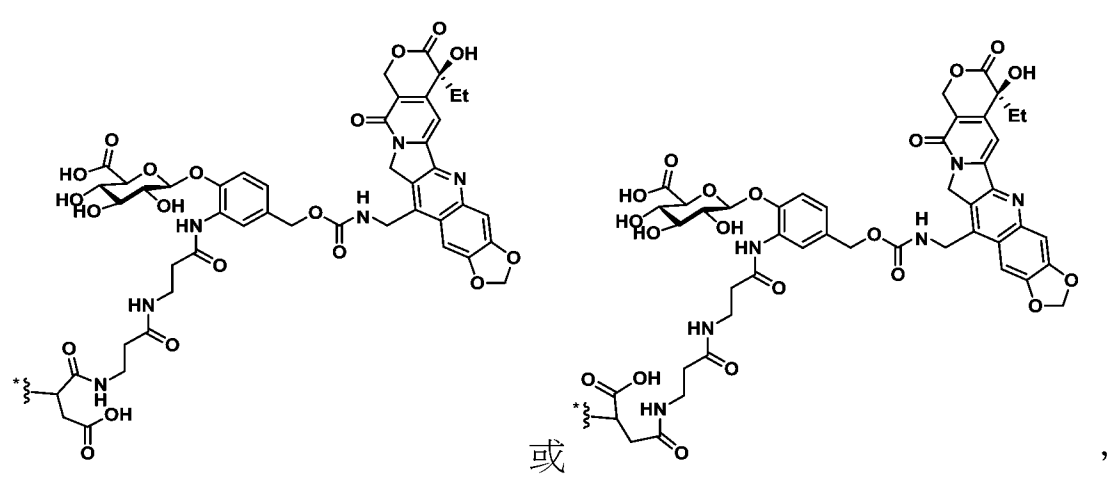
1133123120-0



1133123120-0

第 209 頁，共 376 頁(發明說明書)

【0567】 實施例32A. 如實施例1A至18A、20A至24A、27A至29A及31A中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其中-Q-D-具有下式：



其中

標有單星號(*)之波形線指示與L共價連接之點。

【0568】 實施例33A. 如實施例1A及3至32A中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其中該藥物單元為拓樸異構酶I抑制劑。

【0569】 實施例34A. 如實施例1A至33A中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其包含1至10之藥物單元與抗體比率(DAR)。

【0570】 實施例35A. 如實施例1A至34A中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其中該DAR為約4或約8。

【0571】 實施例36A. 如實施例1A至34A中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其中p為約1至約10之整數。

【0572】 實施例37A. 如實施例1A至34A中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其中p為約4或約8之整數。

【0573】 實施例38A. 如實施例1A至22A中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其中該連接子單元在半胱胺酸胺基酸殘基處連接至該抗體或抗原結合片段。

【0574】 實施例39A. 如實施例38A之抗體-藥物接合物或其鹽，其中該半胱胺酸為天然半胱胺酸。

【0575】 實施例40A. 如實施例38A或39A中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其中該半胱胺酸位於該抗體或其抗原結合片段之鉸鏈區中。

【0576】 實施例41A. 如實施例1A至40A中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其中該抗體或其抗原結合片段經半胱胺酸工程改造。

【0577】 實施例42A. 一種醫藥組合物，該醫藥組合物包含如實施例1A至41A中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽及醫藥學上可接受之載劑。

【0578】 實施例43A. 一種治療個體之癌症的方法，該方法包括向該個體投予如實施例1A至41A中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽或如實施例42A之醫藥組合物。

【0579】 實施例44A. 如實施例1A至41A中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽或如實施例42A之醫藥組合物，其係用於治療癌症。

【0580】 實施例45A. 如實施例43A之方法或如實施例44A之用途，其中該癌症為實體腫瘤。

【0581】 實施例46A. 如實施例43A或45A之方法或如實施例44A或45A之用途，其中該癌症係選自由結腸直腸癌、神經內分泌癌、胃癌、肺癌、子宮癌、子宮頸癌、胰臟癌、食道癌、卵巢癌、甲狀腺癌、膀胱癌、子宮內膜癌、膀胱癌、子宮內膜癌、乳癌、肝癌、前列腺癌、胃癌、膽管癌及皮膚癌組成之群。

【0582】 實施例47A. 如實施例43A及45A至46A中任一項之方法或如實施例44A及45A至46A中任一項之用途，其中該癌症係選自由結腸直腸癌、肺癌、胃癌及胰臟癌組成之群。

【0583】 實施例48A. 如實施例43A及45A至47A中任一項之方法或如實施例44A及45A至47A中任一項之用途，其中該腫瘤表現高水準之CEACAM5。

【0584】 實施例49A. 如實施例48A之方法或用途，其中如藉由免疫組織化學所量測，該腫瘤之樣品中至少50%之腫瘤細胞評分大於2+強度。

【0585】 實施例50A. 如實施例43A及45A至47A中任一項之方法或如實施例44A及45A至47A中任一項之用途，其中該腫瘤表現中等水準之CEACAM5。

【0586】 實施例51A. 如實施例50A之方法或用途，其中如藉由免疫組織化學所量測，該腫瘤之樣品中至少1%且少於50%之腫瘤細胞評分 $\geq 2+$ 強度；或者如藉由免疫組織化學所量測，該腫瘤之樣品中至少50%之腫瘤細胞評分為1+強度。

【0587】 實施例52A. 如實施例43A及45A至47A中任一項之方法或如實施例44A及45A至47A中任一項之用途，其中該腫瘤表現任何水準之CEACAM5。

【0588】 實施例53A. 如實施例52A之方法，其中觀測到CEACAM5之反應性，但不認為該CEACAM5表現水準為中等的或高的。

【0589】 實施例54A. 如實施例43A及45A至53A中任一項之方法或如實施例44A至53A中任一項之用途，其中該抗體-藥物接合物或其鹽不會在該個體中誘導顯著水準之毒性。

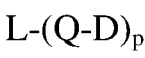
【0590】 實施例55A. 如實施例43A及45A至54A中任一項之方法或如實施例44A至52A中任一項之用途，其中該抗體-藥物接合物或其鹽在投予後引起腫瘤體積減小。

【0591】 實施例56A. 一種套組，該套組包含如實施例1A至41A中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽或如實施例42A之醫藥組合物。

所列舉之實施例

第 212 頁，共 376 頁(發明說明書)

【0592】 實施例1. 一種結合至CEACAM5之抗體-藥物接合物，其具有下式：

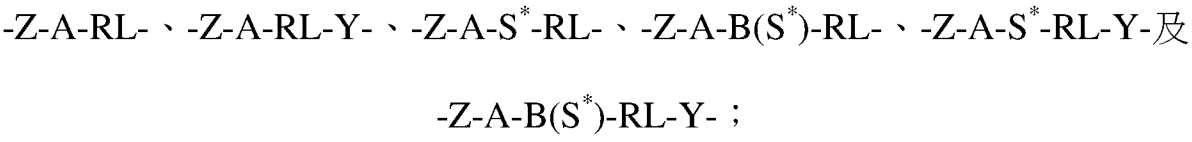


或其鹽，其中

L為包含結合至CEACAM5之抗體或其抗原結合片段之配位體單元；

下標p為1至16範圍內之整數；

Q為具有選自由以下組成之群之式的連接子單元：



其中Z為延伸體單元；

A為一鍵結或連接體單元；

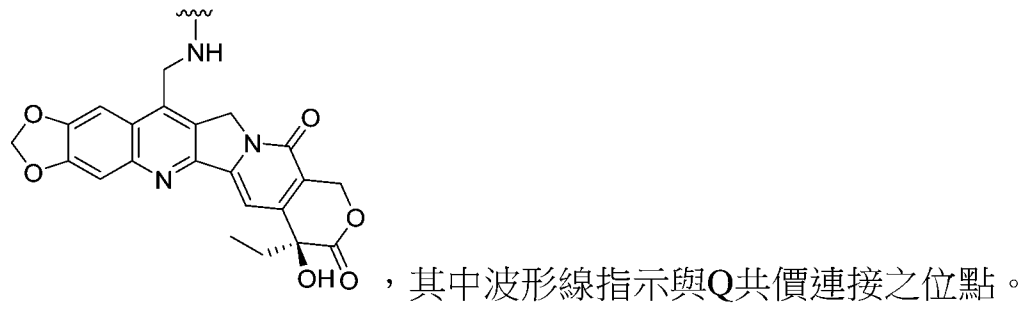
B為並聯連接體單元；

S^* 為分隔劑；

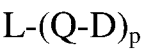
RL為糖苷單元；

Y為間隔體單元；且

D為具有下式之藥物單元：



【0593】 實施例2. 一種結合至CEACAM5之抗體-藥物接合物，其具有下式：



或其鹽，其中

L為包含結合至CEACAM5之抗體或其抗原結合片段之配位體單元，該抗體或其抗原結合片段包含

包含SEQ ID NO:1所示之胺基酸序列的CDR1-H；

包含SEQ ID NO:2所示之胺基酸序列的CDR2-H；

包含SEQ ID NO:3所示之胺基酸序列的CDR3-H；

包含SEQ ID NO:4所示之胺基酸序列的CDR1-L；

包含胺基酸序列NTR之CDR2-L；及

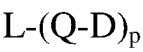
包含SEQ ID NO:6所示之胺基酸序列的CDR3-L；

下標p為1至16範圍內之整數；

Q為連接子單元；

且D為藥物單元，其中該藥物單元為拓樸異構酶I抑制劑。

【0594】 實施例3. 一種結合至CEACAM5之抗體-藥物接合物，其具有下式：



或其鹽，其中

L為包含結合至CEACAM5之抗體或其抗原結合片段之配位體單元，該抗體或其抗原結合片段包含

包含SEQ ID NO:7所示之胺基酸序列之可變重鏈結構域(VH)的CDR1-H、CDR2-H及CDR3-H，及

包含SEQ ID NO:8所示之胺基酸序列之可變輕鏈結構域(VL)的CDR1-L、
CDR2-L及CDR3-L；

下標p為1至16範圍內之整數；

Q為連接子單元；

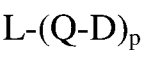
且D為藥物單元，其中該藥物單元為拓撲異構酶I抑制劑。

【0595】 實施例4. 如實施例1或實施例2之抗體-藥物接合物或其鹽，其中該
抗體或其抗原結合片段包含

包含SEQ ID NO:7所示之胺基酸序列之可變重鏈結構域(VH)的CDR1-H、
CDR2-H及CDR3-H，及

包含SEQ ID NO:8所示之胺基酸序列之可變輕鏈結構域(VL)的CDR1-L、
CDR2-L及CDR3-L。

【0596】 實施例5. 一種結合至CEACAM5之抗體-藥物接合物，其具有下
式：

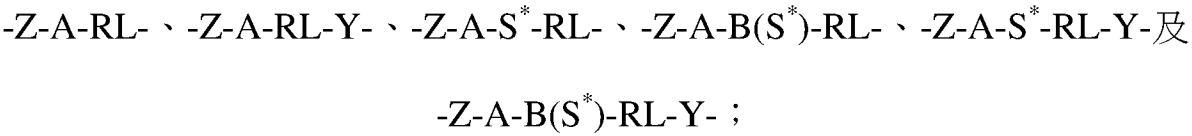


或其鹽，其中

L為包含結合至CEACAM5之抗體或其抗原結合片段之配位體單元；

下標p為1至16範圍內之整數；

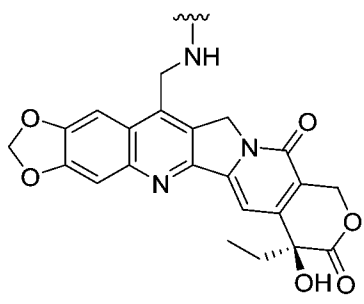
Q為具有選自由以下組成之群之式的連接子單元：



其中Z為延伸體單元；

A為一鍵結或連接體單元；

- B為並聯連接體單元；
- S*為分隔劑；
- RL為糖苷單元；
- Y為間隔體單元；且
- D為具有下式之藥物單元：



，其中波形線指示與Q共價連接之位點；且其中該抗體或其抗原結合片段包含

- 包含SEQ ID NO:1所示之胺基酸序列的CDR1-H；
- 包含SEQ ID NO:2所示之胺基酸序列的CDR2-H；
- 包含SEQ ID NO:3所示之胺基酸序列的CDR3-H；
- 包含SEQ ID NO:4所示之胺基酸序列的CDR1-L；
- 包含胺基酸序列NTR之CDR2-L；及
- 包含SEQ ID NO:6所示之胺基酸序列的CDR3-L。

【0597】 實施例6. 如實施例1、2及5中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其中該抗體或其抗原結合片段包含與SEQ ID NO: 7之胺基酸序列具有至少80%、85%、90%、95%或99%胺基酸序列一致性的可變重鏈結構域(VH)，及與SEQ ID NO: 8之胺基酸序列具有至少80%、85%、90%、95%或99%胺基酸序列一致性的可變輕鏈結構域(VL)。

【0598】 實施例7. 如實施例1至6中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其中該抗體或其抗原結合片段包含與SEQ ID NO:9所示之胺基酸序列具有至少80%、85%、90%、95%或99%胺基酸序列一致性的重鏈，及與SEQ ID NO:10所示之胺基酸序列具有至少80%、85%、90%、95%或99%胺基酸序列一致性的輕鏈。

【0599】 實施例8. 如實施例1至7中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其中該抗體或其抗原結合片段包含具有SEQ ID NO:9所示之胺基酸序列的重鏈，及具有SEQ ID NO:10所示之胺基酸序列的輕鏈。

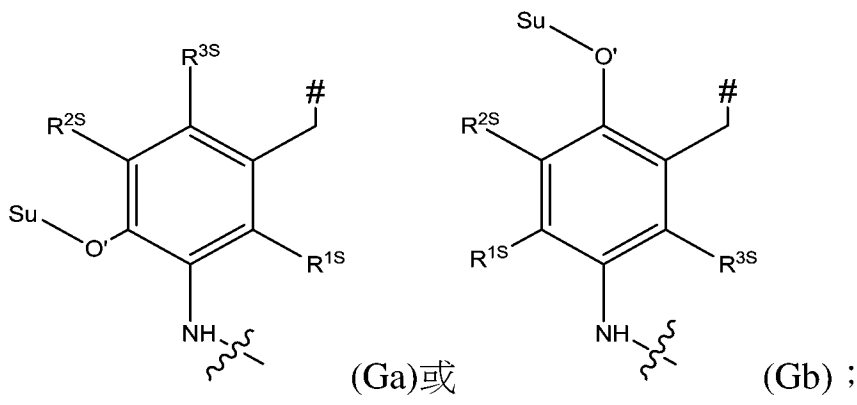
【0600】 實施例9. 如實施例1至8中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其中該抗體或其抗原結合片段為嵌合的或人源化的。

【0601】 實施例10. 如實施例1至9中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其中該抗體或抗原結合片段係選自由Fv、Fab、F(ab')₂、Fab'、dsFv、(dsFv)₂、scFv、sc(Fv)₂及雙功能抗體組成之群。

【0602】 實施例11. 如實施例1至10中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其中Q為具有式-Z-A-RL-之連接子單元。

【0603】 實施例12. 如實施例1及4至11中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其中RL為葡萄糖醛酸苷單元。

【0604】 實施例13. 如實施例1及4至12中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其中RL為具有下式之葡萄糖醛酸苷單元：



其中

Su為糖部分；

-O'-為氧糖苷鍵；

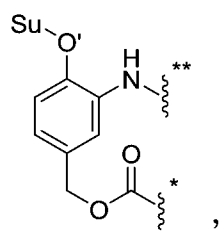
R^{1S}、R^{2S}及R^{3S}獨立地為氫、鹵素、-CN、-NO₂或其他拉電子基團、或推電子基團；

波形線指示直接地或間接地經由A或B或A及B連接至Z；且

#指示直接地或間接地經由介入官能基或其他部分連接至D或Y。

【0605】 實施例14. 如實施例13之抗體-藥物接合物或其鹽，其中#指示直接共價連接至D或Y。

【0606】 實施例15. 如實施例1及4至14中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其中RL為具有下式之葡萄糖醛酸苷單元：



其中

Su為糖部分；

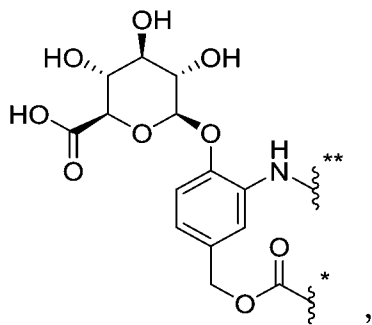
O'代表能夠由糖苷酶裂解之糖苷鍵之氧原子；

標有單星號(*)之波形線指示與D共價連接之位點；且

標有雙星號(**)之波形線指示與Q之其餘部分共價連接之位點。

【0607】 實施例16. 如實施例13至15中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其中Su為單醣之己醣形式。

【0608】 實施例17. 如實施例1及4至16中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其中該葡萄糖醛酸苷單元具有下式：



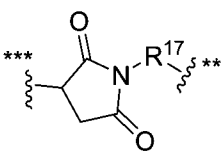
其中

標有單星號(*)之波形線指示與D共價連接之位點；且

標有雙星號(**)之波形線指示與Q之其餘部分共價連接之位點。

【0609】 實施例18. 如實施例1及4至17中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，或其鹽，其中Z包含丁二醯亞胺基-烷醯基部分，視情況具有水解形式之丁二醯亞胺環作為丁二酸醯胺部分。

【0610】 實施例19. 如實施例1及4至18中任一項之抗體-藥物接合物或其

鹽，其中Z為 ，視情況具有水解形式之丁二醯亞胺環作為丁二酸醯胺部分，

其中：

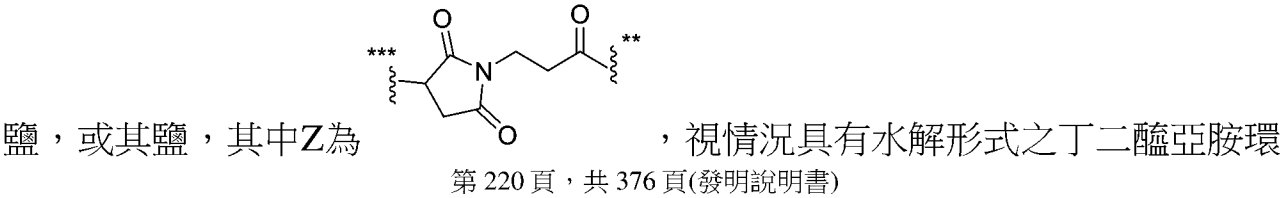
標有雙星號(**)之波形線指示與Q之其餘部分共價連接之位點；

標有三星號(***)之波形線指示與L之硫原子共價連接之點；且

R¹⁷為-C₁-C₁₀伸烷基-、C₁-C₁₀伸雜烷基-、-C₃-C₈碳環-、-O-(C₁-C₈伸烷基)-、
-伸芳基-、-C₁-C₁₀伸烷基-伸芳基-、-伸芳基-C₁-C₁₀伸烷基-、-C₁-C₁₀伸烷基-(C₃-C₈
碳環)-、-(C₃-C₈碳環)-C₁-C₁₀伸烷基-、-C₃-C₈雜環-、-C₁-C₁₀伸烷基-(C₃-C₈雜環)-、
-(C₃-C₈雜環)-C₁-C₁₀伸烷基-、-C₁-C₁₀伸烷基-C(=O)-、C₁-C₁₀伸雜烷基-C(=O)-、
-C₃-C₈碳環-C(=O)-、-O-(C₁-C₈伸烷基)-C(=O)-、-伸芳基-C(=O)-、-C₁-C₁₀伸烷基-
伸芳基-C(=O)-、-伸芳基-C₁-C₁₀伸烷基-C(=O)-、-C₁-C₁₀伸烷基-(C₃-C₈碳
環)-C(=O)-、-(C₃-C₈碳環)-C₁-C₁₀伸烷基-C(=O)-、-C₃-C₈雜環-C(=O)-、-C₁-C₁₀伸
烷基-(C₃-C₈雜環)-C(=O)-、-(C₃-C₈雜環)-C₁-C₁₀伸烷基-C(=O)-、-C₁-C₁₀伸烷基
-NH-、-C₁-C₁₀伸雜烷基-NH-、-C₃-C₈碳環-NH-、-O-(C₁-C₈伸烷基)-NH-、-伸芳基
-NH-、-C₁-C₁₀伸烷基-伸芳基-NH-、-伸芳基-C₁-C₁₀伸烷基-NH-、-C₁-C₁₀伸烷基
-(C₃-C₈碳環)-NH-、-(C₃-C₈碳環)-C₁-C₁₀伸烷基-NH-、-C₃-C₈雜環-NH-、-C₁-C₁₀伸
烷基-(C₃-C₈雜環)-NH-、-(C₃-C₈雜環)-C₁-C₁₀伸烷基-NH-、-C₁-C₁₀伸烷基-S-、C₁-C₁₀
伸雜烷基-S-、-C₃-C₈碳環-S-、-O-(C₁-C₈伸烷基)-S-、-伸芳基-S-、-C₁-C₁₀伸烷基-
伸芳基-S-、-伸芳基-C₁-C₁₀伸烷基-S-、-C₁-C₁₀伸烷基-(C₃-C₈碳環)-S-、-(C₃-C₈碳
環)-C₁-C₁₀伸烷基-S-、-C₃-C₈雜環-S-、-C₁-C₁₀伸烷基-(C₃-C₈雜環)-S-或-(C₃-C₈雜
環)-C₁-C₁₀伸烷基-S-。

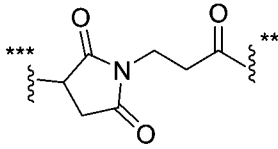
【0611】 實施例20. 如實施例19之抗體-藥物接合物或其鹽，其中R¹⁷為
-(CH₂)₂₋₅-C(=O)-。

【0612】 實施例21. 如實施例1及4至20中任一項之抗體-藥物接合物或其

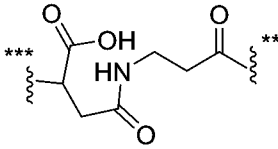


作為丁二酸醯胺部分，其中標有雙星號(**)之波形線指示與Q之其餘部分共價連接之位點；且標有三星號(***)之波形線指示與L之硫原子共價連接之點。

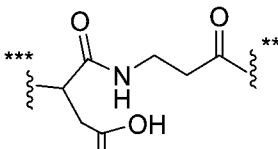
【0613】 實施例22. 如實施例1及4至21中任一項之抗體-藥物接合物或其

鹽，其中Z為 ，其中標有雙星號(**)之波形線指示與Q之其餘部分共價連接之位點；且標有三星號(***)之波形線指示與L之硫原子共價連接之點。

【0614】 實施例23. 如實施例1及4至21中任一項之抗體-藥物接合物或其

鹽，其中Z為 ，其中標有雙星號(**)之波形線指示與Q之其餘部分共價連接之位點；且標有三星號(***)之波形線指示與L之硫原子共價連接之點。

【0615】 實施例24. 如實施例1及4至21中任一項之抗體-藥物接合物或其

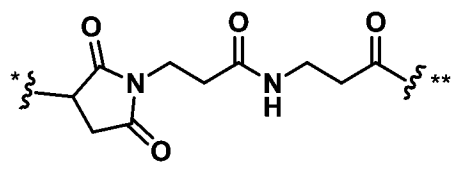
鹽，其中Z為 ，其中標有雙星號(**)之波形線指示與Q之其餘部分共價連接之位點；且標有三星號(***)之波形線指示與L之硫原子共價連接之點。

【0616】 實施例25. 如實施例1及4至24中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其中A為連接體單元。

【0617】 實施例26. 如實施例1及4至24中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，或其鹽，其中A具有下式：

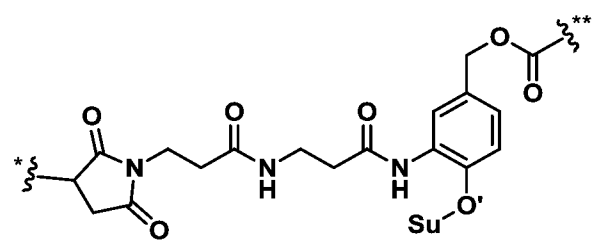
標有雙星號(**)之波形線指示與RL共價連接之位點；且
標有單星號(*)之波形線指示與Z共價連接之點。

【0619】 實施例28. 如實施例1、4至22及25至27中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其中-Z-A-具有下式：



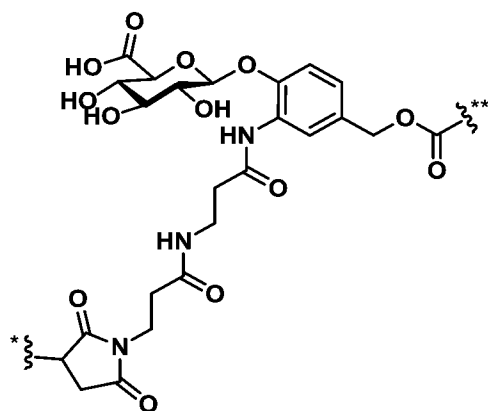
其中
標有雙星號(**)之波形線指示與RL共價連接之位點；且
標有單星號(*)之波形線指示與L共價連接之點。

【0620】 實施例29. 如實施例1、4至22及25至28中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其中-Z-A-RL-具有下式：



其中
Su為單醣之己醣形式；
-O'-代表能夠由糖苷酶裂解之糖苷鍵之氧原子；
標有雙星號(**)之波形線指示與D共價連接之位點；且
標有單星號(*)之波形線指示與L共價連接之點。

【0621】 實施例30. 如實施例1、4至22及25至28中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其中-Z-A-RL-具有下式：

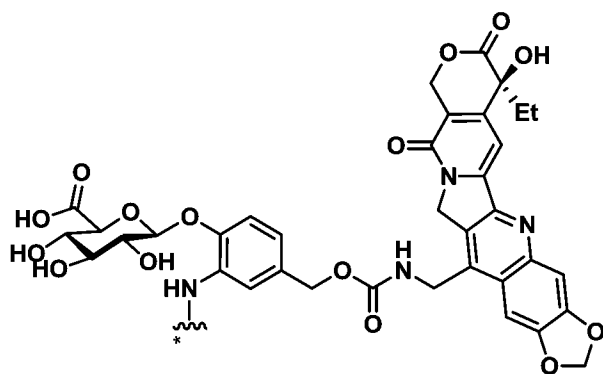


其中

標有雙星號(**)-之波形線指示與D共價連接之位點；且

標有單星號(*)-之波形線指示與L共價連接之點。

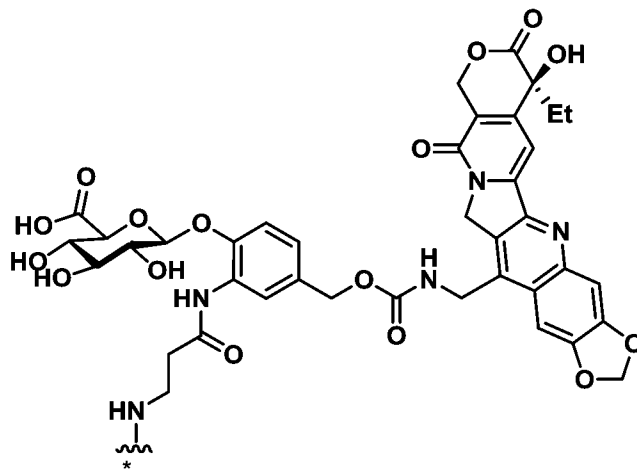
【0622】 實施例31. 如實施例1及4至30中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其中-RL-D-具有下式：



其中

標有單星號(*)-之波形線指示與A共價連接之點。

【0623】 實施例32. 如實施例1及4至30中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其中-A-RL-D具有下式：



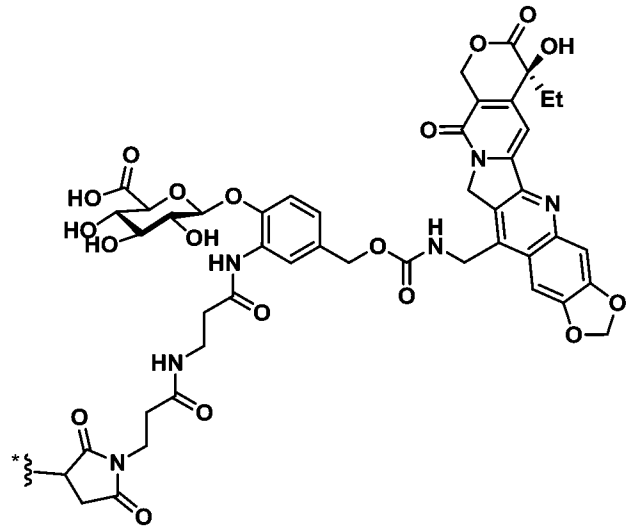
其中

標有單星號(*)之波形線指示與Z共價連接之點。

【0624】 實施例33. 如實施例1、4至10及12至29中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，或其鹽，其中S*為PEG基團。

【0625】 實施例34. 如實施例1至22、25至32中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，

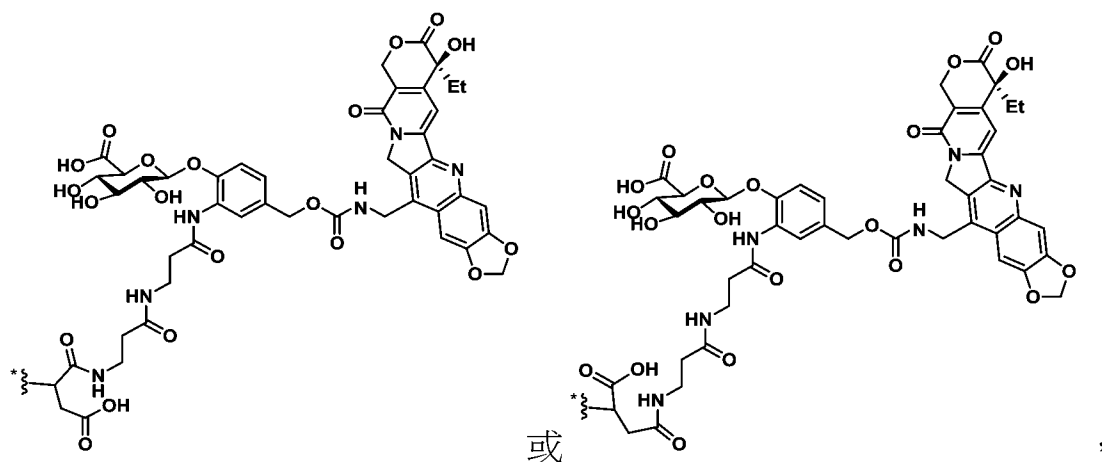
其中-Q-D-具有下式：



其中

標有單星號(*)之波形線指示與L共價連接之點。

【0626】 實施例35. 如實施例1至21、23至27、30至32及34中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其中-Q-D-具有下式：



其中

標有單星號(*)之波形線指示與L共價連接之點。

【0627】 實施例36. 如實施例1及4至35中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其中該藥物單元為拓撲異構酶I抑制劑。

【0628】 實施例37. 如實施例1至36中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其包含1至10之藥物單元與抗體比率(DAR)。

【0629】 實施例38. 如實施例1至37中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其中該DAR為約4或約8。

【0630】 實施例39. 如實施例1至37中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其中p為約1至約10之整數。

【0631】 實施例40. 如實施例1至37中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其中p為約4或約8之整數。

【0632】 實施例41. 如實施例1至40中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其中該連接子單元在半胱胺酸胺基酸殘基處連接至該抗體或抗原結合片段。

【0633】 實施例42. 如實施例41之抗體-藥物接合物或其鹽，其中該半胱胺酸為天然半胱胺酸。

【0634】 實施例43. 如實施例41或42中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其中該半胱胺酸位於該抗體或其抗原結合片段之鉸鏈區中。

【0635】 實施例44. 如實施例1至43中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其中該抗體或其抗原結合片段經半胱胺酸工程改造。

【0636】 實施例45. 一種抗體-藥物接合物或其鹽，其具有下式：

$$L-(Q-D)_8,$$

其中L包含結合至CEACAM5之抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段包含：

包含SEQ ID NO:1所示之胺基酸序列的CDR1-H；

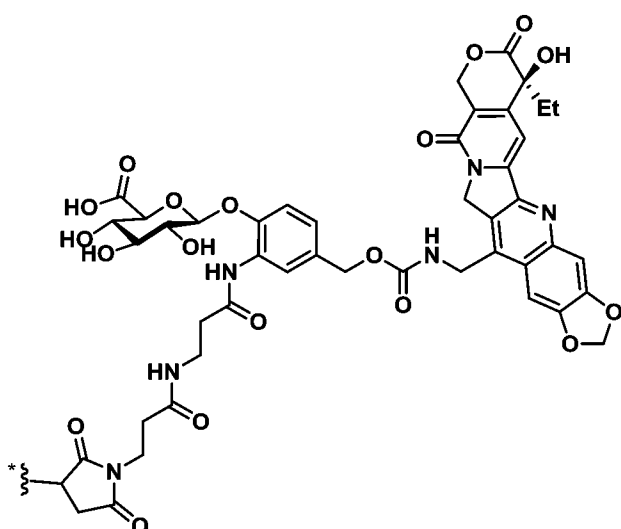
包含SEQ ID NO:2所示之胺基酸序列的CDR2-H；

包含SEQ ID NO:3所示之胺基酸序列的CDR3-H；

包含SEQ ID NO:4所示之胺基酸序列的CDR1-L；

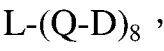
包含胺基酸序列NTR之CDR2-L；及

包含SEQ ID NO:6所示之胺基酸序列的CDR3-L；



且其中Q-D為

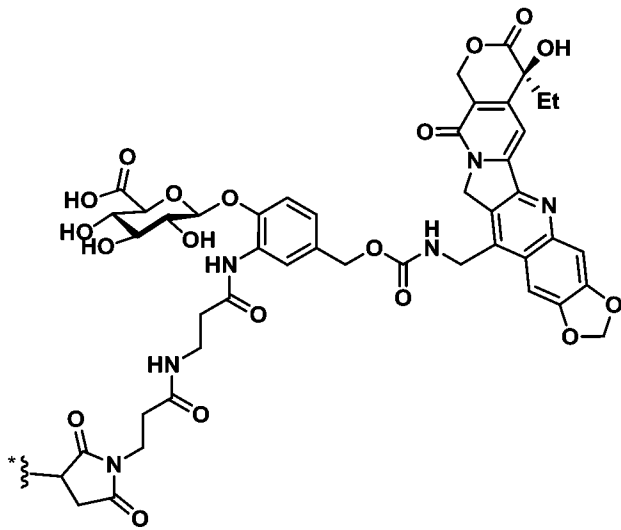
【0637】 實施例46. 一種抗體-藥物接合物或其鹽，其具有下式：



其中L包含結合至CEACAM5之抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段包含：

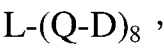
包含SEQ ID NO:7所示之胺基酸序列之可變重鏈結構域(VH)的CDR1-H、CDR2-H及CDR3-H，及

包含SEQ ID NO:8所示之胺基酸序列之可變輕鏈結構域(VL)的CDR1-L、CDR2-L及CDR3-L；



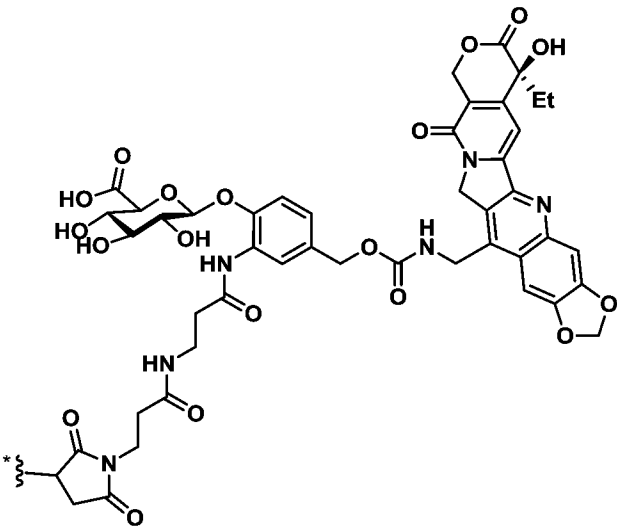
且其中Q-D為

【0638】 實施例47. 一種抗體-藥物接合物或其鹽，其具有下式：



其中L包含結合至CEACAM5之抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段包含：

具有SEQ ID NO:9所示之胺基酸序列的重鏈，及
具有SEQ ID NO:10所示之胺基酸序列的輕鏈；



【0639】 實施例48. 如實施例45之抗體-藥物接合物，其中該抗體或其抗原結合片段包括包含SEQ ID NO:7之胺基酸序列的可變重鏈結構域(VH)及包含SEQ ID NO: 8之胺基酸序列的可變輕鏈結構域(VL)。

【0640】 實施例49. 一種醫藥組合物，該醫藥組合物包含如實施例1至48中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽及醫藥學上可接受之載劑。

【0641】 實施例50. 一種治療個體之癌症的方法，該方法包括向該個體投予如實施例1至48中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽或如實施例49之醫藥組合物。

【0642】 實施例51. 如實施例1至48中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽或如實施例49之醫藥組合物，其係用於治療癌症。

【0643】 實施例52. 如實施例50之方法或如實施例51之用途，其中該癌症為實體腫瘤。

【0644】 實施例53. 如實施例50或52之方法或如實施例51或52之用途，其中該癌症係選自由結腸直腸癌、胃癌(stomach cancer/gastric cancer)、胃食道結合部癌、肺癌、子宮癌、子宮頸癌、胰臟癌、食道癌、卵巢癌、甲狀腺癌、膀胱癌、子宮內膜癌、膀胱癌、神經內分泌癌、子宮內膜癌、乳癌、肝癌、前列腺癌及膽管癌及皮膚癌組成之群。

【0645】 實施例54. 如實施例53之方法或用途，其中該個體患有非小細胞肺癌(NSCLC)、非鱗狀NSCLC (nsq-NSCLC)、鱗狀NSCLC (sq-NSCLC)或小細胞肺癌(SCLC)，或其任何組合。

【0646】 實施例55. 如實施例50或52至54之方法或如實施例51至54中任一項之用途，其中該個體在用如實施例1至48中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽或如實施例49之醫藥組合物治療之前已接受預治療。

【0647】 實施例56. 如實施例55之方法或用途，其中該預治療為化學療法或免疫療法。

【0648】 實施例57. 如實施例55或56之方法或用途，其中該預治療係選自抗代謝物、抗腫瘤劑、烷化劑及前藥劑。

【0649】 實施例58. 如實施例54至57中任一項之方法或用途，其中該個體患有小細胞肺癌(SCLC)，且已接受針對廣泛期疾病的基於鉑之療法及不超過3個前線之療法。

【0650】 實施例59. 如實施例54至57中任一項之方法或用途，其中該個體患有NSCLC (包括非鱗狀及鱗狀)，且已接受基於鉑之療法。

【0651】 實施例60. 如實施例54至57中任一項之方法或用途，其中該個體患有胰臟導管腺癌(PDAC)。

【0652】 實施例61. 如實施例60之方法或用途，其中該個體患有PDAC，且已接受1個前線之療法且在晚期或轉移性環境中接受不超過3個前線之療法。

【0653】 實施例62. 如實施例54至57中任一項之方法或用途，其中該個體患有結腸直腸癌(CRC)。

【0654】 實施例63. 如實施例62之方法或用途，其中該個體患有CRC，且在一或多個線路之療法中已接受含有氟嘧啶、奧沙利鉑及伊立替康之先前治療。

【0655】 實施例64. 如實施例54至57中任一項之方法或用途，其中該個體患有胃癌(GC)、胃食道結合部癌(GEJ)或其組合。

【0656】 實施例65. 如實施例64之方法或用途，其中該個體患有GC、GEJ或其組合，且已接受先前基於鉑及氟嘧啶之化學療法。

【0657】 實施例66. 如實施例50及52至65中任一項之方法或如實施例51至65中任一項之用途，其中該癌症為原發性的、轉移性的或癌病。

【0658】 實施例67. 如實施例50及52至66中任一項之方法或如實施例51至66中任一項之用途，其中該腫瘤表現高水準之CEACAM5。

【0659】 實施例68. 如實施例67之方法或用途，其中如藉由免疫組織化學所量測，該腫瘤之樣品中至少50%之腫瘤細胞評分大於2+強度。

【0660】 實施例69. 如實施例50及52至66中任一項之方法或如實施例51至66中任一項之用途，其中該腫瘤表現中等水準之CEACAM5。

【0661】 實施例70. 如實施例69之方法或用途，其中如藉由免疫組織化學所量測，該腫瘤之樣品中至少1%且少於50%之腫瘤細胞評分 ≥ 2 +強度；或者如藉由免疫組織化學所量測，該腫瘤之樣品中至少50%之腫瘤細胞評分為1+強度。

【0662】 實施例71. 如實施例50及52至66中任一項之方法或如實施例51至66中任一項之用途，其中該腫瘤表現任何水準之CEACAM5。

【0663】 實施例72. 如實施例71之方法，其中觀測到CEACAM5之反應性，但不認為該CEACAM5表現水準為中等的或高的。

【0664】 實施例73. 如實施例50及52至72中任一項之方法或如實施例51至72中任一項之用途，其中該抗體-藥物接合物或其鹽不會在該個體中誘導顯著水準之毒性。

【0665】 實施例74. 如實施例50及52至73中任一項之方法或如實施例51至73中任一項之用途，其中該抗體-藥物接合物或其鹽在投予後引起腫瘤體積減小。

【0666】 實施例75. 如實施例50及52至74中任一項之方法或如實施例51至74中任一項之用途，其中該抗體-藥物接合物之投予會殺死表現CEACAM5之腫瘤細胞。

【0667】 實施例76. 如實施例50及52至75中任一項之方法或如實施例51至75中任一項之用途，其中該抗體-藥物接合物之投予會殺死表現CEACAM5之腫瘤細胞及不表現CEACAM5之腫瘤細胞。

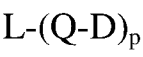
【0668】 實施例77. 如實施例50及52至76中任一項之方法或如實施例51至76中任一項之用途，其中該個體患有復發性、難治性或進行性疾病。

【0669】 實施例78. 如實施例50及52至77中任一項之方法或如實施例51至77中任一項之用途，其中該個體患有組織學或細胞學確認之轉移性或不可切除性實體腫瘤。

【0670】 實施例79. 一種套組，該套組包含如實施例1至48中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽或如實施例49之醫藥組合物。

所列舉之實施例

【0671】 實施例1B. 一種結合至CEACAM5之抗體-藥物接合物，其具有下式：

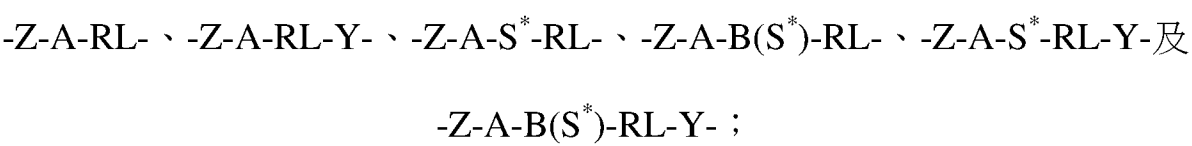


或其鹽，其中

L為包含結合至CEACAM5之抗體或其抗原結合片段之配位體單元；

下標p為1至16範圍內之整數；

Q為具有選自由以下組成之群之式的連接子單元：



其中Z為延伸體單元；

A為一鍵結或連接體單元；

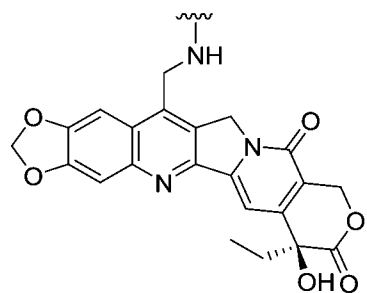
B為並聯連接體單元；

S^{*}為分隔劑；

RL為糖苷單元；

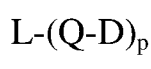
Y為間隔體單元；且

D為具有下式之藥物單元：



，其中波形線指示與Q共價連接之位點。

【0672】 實施例2B. 一種結合至CEACAM5之抗體-藥物接合物，其具有下式：



或其鹽，其中

L為包含結合至CEACAM5之抗體或其抗原結合片段之配位體單元，該抗體或其抗原結合片段包含

包含SEQ ID NO:1所示之胺基酸序列的CDR1-H；

包含SEQ ID NO:2所示之胺基酸序列的CDR2-H；

包含SEQ ID NO:3所示之胺基酸序列的CDR3-H；

包含SEQ ID NO:4所示之胺基酸序列的CDR1-L；

包含胺基酸序列NTR之CDR2-L；及

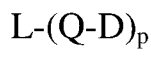
包含SEQ ID NO:6所示之胺基酸序列的CDR3-L；

下標p為1至16範圍內之整數；

Q為連接子單元；

且D為藥物單元，其中該藥物單元為拓撲異構酶I抑制劑。

【0673】 實施例3B. 一種結合至CEACAM5之抗體-藥物接合物，其具有下式：



或其鹽，其中

L為包含結合至CEACAM5之抗體或其抗原結合片段之配位體單元，該抗體或其抗原結合片段包含

包含SEQ ID NO:7所示之胺基酸序列之可變重鏈結構域(VH)的CDR1-H、CDR2-H及CDR3-H，及

包含SEQ ID NO:8所示之胺基酸序列之可變輕鏈結構域(VL)的CDR1-L、CDR2-L及CDR3-L；

下標p為1至16範圍內之整數；

Q為連接子單元；

且D為藥物單元，其中該藥物單元為拓撲異構酶I抑制劑。

【0674】 實施例4B. 如實施例1B或實施例2B之抗體-藥物接合物或其鹽，其中該抗體或其抗原結合片段包含

包含SEQ ID NO:7所示之胺基酸序列之可變重鏈結構域(VH)的CDR1-H、CDR2-H及CDR3-H，及

包含SEQ ID NO:8所示之胺基酸序列之可變輕鏈結構域(VL)的CDR1-L、CDR2-L及CDR3-L。

【0675】 實施例5B. 如實施例1B至4B中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其中該抗體或其抗原結合片段包含與SEQ ID NO:9所示之胺基酸序列具有至少80%、85%、90%、95%或99%胺基酸序列一致性的重鏈，及與SEQ ID NO:10所示之胺基酸序列具有至少80%、85%、90%、95%或99%胺基酸序列一致性的輕鏈。

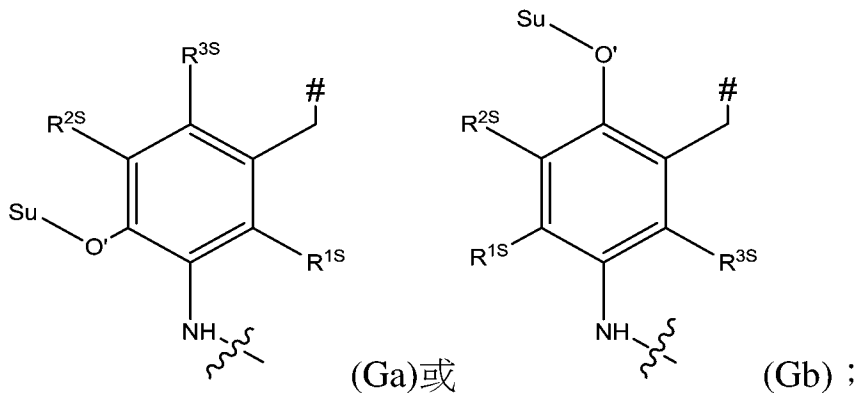
【0676】 實施例6B. 如實施例1B至5B中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其中該抗體或其抗原結合片段包含具有SEQ ID NO:9所示之胺基酸序列的重鏈，及具有SEQ ID NO:10所示之胺基酸序列的輕鏈。

【0677】 實施例7B. 如實施例1B至6B中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其中該抗體或其抗原結合片段為嵌合的或人源化的。

【0678】 實施例8B. 如實施例1B至7B中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其中該抗體或抗原結合片段係選自由Fv、Fab、F(ab')₂、Fab'、dsFv、(dsFv)₂、scFv、sc(Fv)₂及雙功能抗體組成之群。

【0679】 實施例9B. 如實施例1B至8B中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其中Q為具有式-Z-A-RL-之連接子單元。

【0680】 實施例10B. 如實施例1B及4B至9B中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其中RL為具有下式之葡萄糖醛酸苷單元：



其中

Su為糖部分；

-O'-為氧糖苷鍵；

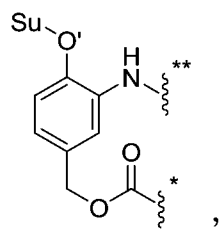
R^{1S}、R^{2S}及R^{3S}獨立地為氫、鹵素、-CN、-NO₂或其他拉電子基團、或推電子基團；

波形線指示直接地或間接地經由A或B或A及B連接至Z；且

#指示直接地或間接地經由介入官能基或其他部分連接至D或Y。

【0681】 實施例11B. 如實施例10B之抗體-藥物接合物或其鹽，其中#指示直接共價連接至D或Y。

【0682】 實施例12B. 如實施例1B及4B至11B中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其中RL為具有下式之葡萄糖醛酸苷單元：



其中

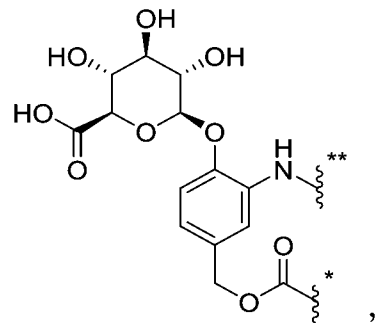
Su為糖部分；

O'代表能夠由糖苷酶裂解之糖苷鍵之氧原子；

標有單星號(*)之波形線指示與D共價連接之位點；且

標有雙星號(**)-之波形線指示與Q之其餘部分共價連接之位點。

【0683】 實施例13B. 如實施例12B中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其中該葡萄糖醛酸苷單元具有下式：



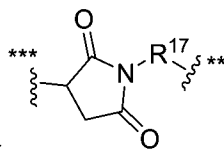
其中

標有單星號(*)之波形線指示與D共價連接之位點；且

標有雙星號(**)之波形線指示與Q之其餘部分共價連接之位點。

【0684】 實施例14B. 如實施例1B及4B至13B中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，或其鹽，其中Z包含丁二醯亞胺基-烷醯基部分，視情況具有水解形式之丁二醯亞胺環作為丁二酸醯胺部分。

【0685】 實施例15B. 如實施例1B及4B至14B中任一項之抗體-藥物接合物

或其鹽，其中Z為 ，視情況具有水解形式之丁二醯亞胺環作為丁二酸醯胺部分，

其中：

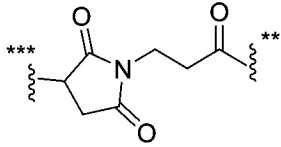
標有雙星號(**)之波形線指示與Q之其餘部分共價連接之位點；

標有三星號(***)之波形線指示與L之硫原子共價連接之點；且

R¹⁷為-C₁-C₁₀伸烷基-、C₁-C₁₀伸雜烷基-、-C₃-C₈碳環-、-O-(C₁-C₈伸烷基)-、-伸芳基-、-C₁-C₁₀伸烷基-伸芳基-、-伸芳基-C₁-C₁₀伸烷基-、-C₁-C₁₀伸烷基-(C₃-C₈碳環)-、-(C₃-C₈碳環)-C₁-C₁₀伸烷基-、-C₃-C₈雜環-、-C₁-C₁₀伸烷基-(C₃-C₈雜環)-、-(C₃-C₈雜環)-C₁-C₁₀伸烷基-、-C₁-C₁₀伸烷基-C(=O)-、C₁-C₁₀伸雜烷基-C(=O)-、-C₃-C₈碳環-C(=O)-、-O-(C₁-C₈伸烷基)-C(=O)-、-伸芳基-C(=O)-、-C₁-C₁₀伸烷基-伸芳基-C(=O)-、-伸芳基-C₁-C₁₀伸烷基-C(=O)-、-C₁-C₁₀伸烷基-(C₃-C₈碳環)-C(=O)-、-(C₃-C₈碳環)-C₁-C₁₀伸烷基-C(=O)-、-C₃-C₈雜環-C(=O)-、-C₁-C₁₀伸烷基-(C₃-C₈雜環)-C(=O)-、-(C₃-C₈雜環)-C₁-C₁₀伸烷基-C(=O)-、-C₁-C₁₀伸烷基-NH-、-C₁-C₁₀伸雜烷基-NH-、-C₃-C₈碳環-NH-、-O-(C₁-C₈伸烷基)-NH-、-伸芳基-NH-、-C₁-C₁₀伸烷基-伸芳基-NH-、-伸芳基-C₁-C₁₀伸烷基-NH-、-C₁-C₁₀伸烷基-(C₃-C₈碳環)-NH-、-(C₃-C₈碳環)-C₁-C₁₀伸烷基-NH-、-C₃-C₈雜環-NH-、-C₁-C₁₀伸

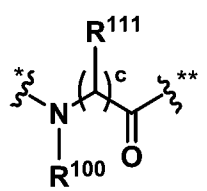
烷基-(C₃-C₈雜環)-NH-、-(C₃-C₈雜環)-C₁-C₁₀伸烷基-NH-、-C₁-C₁₀伸烷基-S-、-C₁-C₁₀伸雜烷基-S-、-C₃-C₈碳環-S-、-O-(C₁-C₈伸烷基)-S-、-伸芳基-S-、-C₁-C₁₀伸烷基-伸芳基-S-、-伸芳基-C₁-C₁₀伸烷基-S-、-C₁-C₁₀伸烷基-(C₃-C₈碳環)-S-、-(C₃-C₈碳環)-C₁-C₁₀伸烷基-S-、-C₃-C₈雜環-S-、-C₁-C₁₀伸烷基-(C₃-C₈雜環)-S-或-(C₃-C₈雜環)-C₁-C₁₀伸烷基-S-。

【0686】 實施例16B. 如實施例15B之抗體-藥物接合物或其鹽，其中R¹⁷為-(CH₂)₂₋₅-C(=O)-。

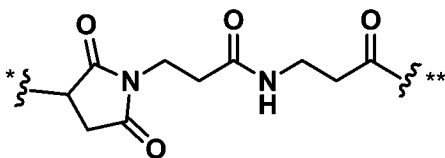
【0687】 實施例17B. 如實施例1B及4B至16B中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，或其鹽，其中Z為，視情況具有水解形式之丁二醯亞胺環作為丁二酸醯胺部分，其中標有雙星號(**)之波形線指示與Q之其餘部分共價連接之位點；且標有三星號(***)之波形線指示與L之硫原子共價連接之點。

【0688】 實施例18B. 如實施例1B及4B至17B中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其中A為連接體單元。

【0689】 實施例19B. 如實施例1B及4B至18B中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，或其鹽，其中A具有下式：



其中
標有雙星號(**)之波形線指示與RL共價連接之位點；
標有單星號(*)之波形線指示與Z共價連接之點；



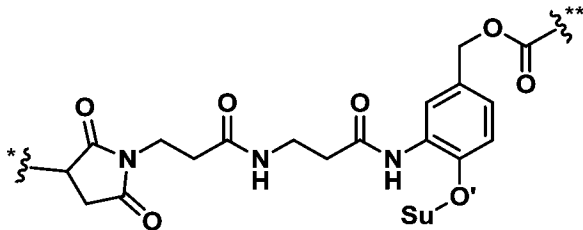
其中

標有雙星號(**)-之波形線指示與RL共價連接之位點；且

標有單星號(*)-之波形線指示與L共價連接之點。

【0692】 實施例22B. 如實施例1B、4B至17B及18B至21B中任一項之抗體-

藥物接合物或其鹽，其中-Z-A-RL-具有下式：



其中

Su為單醣之己醣形式；

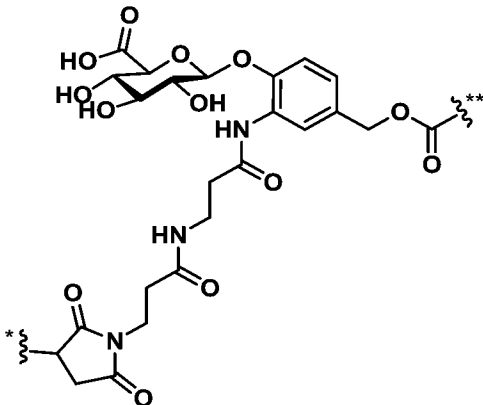
-O'-代表能夠由糖苷酶裂解之糖苷鍵之氧原子；

標有雙星號(**)-之波形線指示與D共價連接之位點；且

標有單星號(*)-之波形線指示與L共價連接之點。

【0693】 實施例23B. 如實施例1B、4B至17B及18B至22B中任一項之抗體-

藥物接合物或其鹽，其中-Z-A-RL-具有下式：

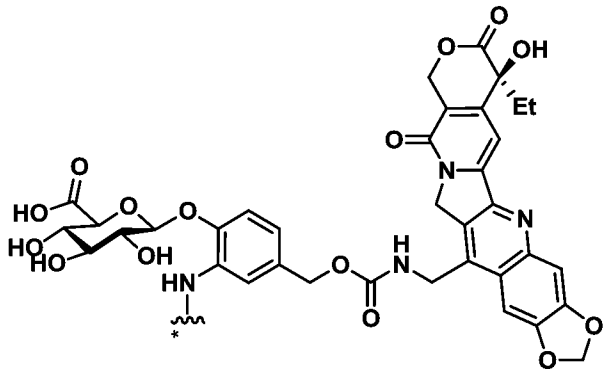


其中

標有雙星號(**)-之波形線指示與D共價連接之位點；且

標有單星號(*)-之波形線指示與L共價連接之點。

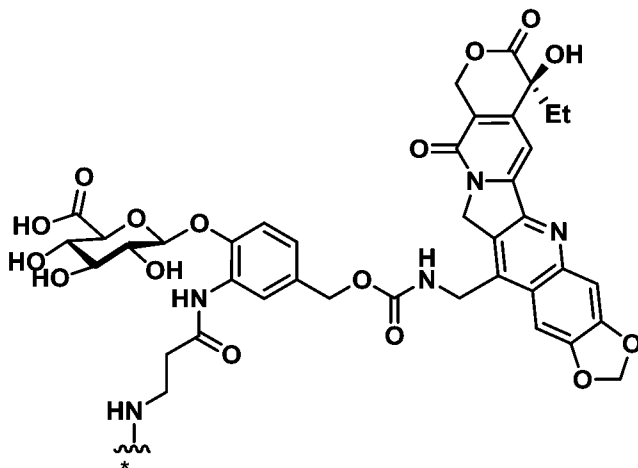
【0694】 實施例24B. 如實施例1B及4B至23B中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其中-RL-D-具有下式：



其中

標有單星號(*)-之波形線指示與A共價連接之點。

【0695】 實施例25B. 如實施例1B及4B至24B中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其中-A-RL-D具有下式：



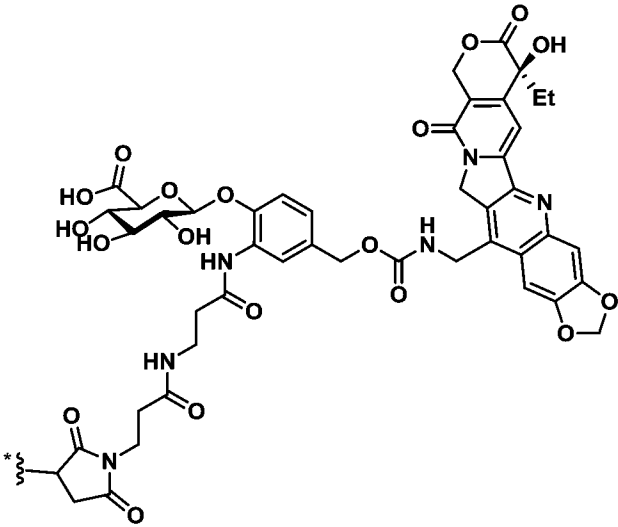
其中

標有單星號(*)-之波形線指示與Z共價連接之點。

【0696】 實施例26B. 如實施例1B、4B至8B及10B至22B中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，或其鹽，其中S*為PEG基團。

【0697】 實施例27B. 如實施例1B至25B中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，

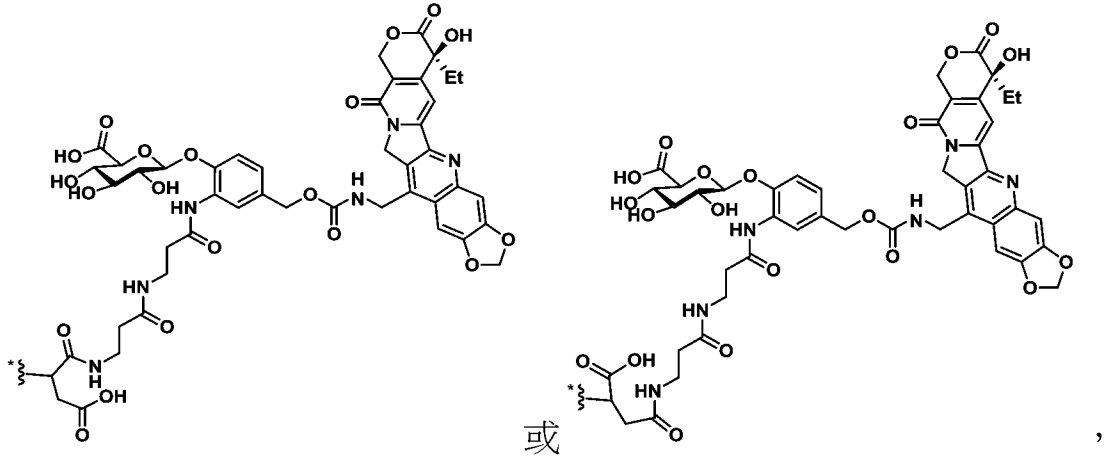
其中-Q-D-具有下式：



其中

標有單星號(*)之波形線指示與L共價連接之點。

【0698】 實施例28B. 如實施例1B至20B、23B至25B及27B中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其中-Q-D-具有下式：



其中

標有單星號(*)之波形線指示與L共價連接之點。

【0699】 實施例29B. 如實施例1B及4B至28B中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其中該藥物單元為拓撲異構酶I抑制劑。

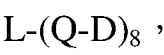
【0700】 實施例30B. 如實施例1B至29B中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其包含1至10之藥物單元與抗體比率(DAR)。

【0701】 實施例31B. 如實施例1B至30B中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其中該DAR為約4或約8。

【0702】 實施例32. 如實施例1B至31B中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其中該連接子單元在半胱胺酸胺基酸殘基處連接至該抗體或抗原結合片段。

【0703】 實施例33B. 如實施例1B至31B中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其中該抗體包含Fc區。

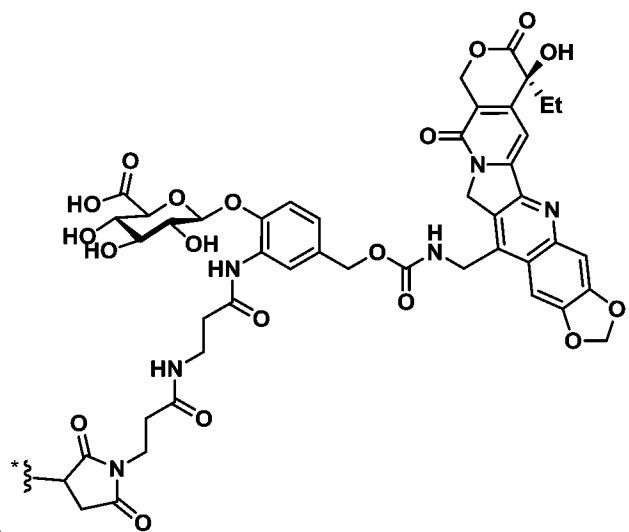
【0704】 實施例34B. 一種抗體-藥物接合物或其鹽，其具有下式：



其中L包含結合至CEACAM5之抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段包含：

具有SEQ ID NO:9所示之胺基酸序列的重鏈，及

具有SEQ ID NO:10所示之胺基酸序列的輕鏈；



且其中Q-D為

【0705】 實施例35B. 一種醫藥組合物，該醫藥組合物包含如實施例1B至34B中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽及醫藥學上可接受之載劑。

【0706】 實施例36B. 一種治療個體之癌症的方法，該方法包括向該個體投予如實施例1B至34B中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽或如實施例35B之醫藥組合物。

【0707】 實施例37B. 如實施例1B至34B中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽或如實施例35B之醫藥組合物，其係用於治療癌症。

【0708】 實施例38B. 如實施例36B之方法或如實施例37B之用途，其中該癌症為表現CEACAM5之癌症。

【0709】 實施例39B. 如實施例36B或實施例38B之方法或如實施例37B或實施例38B之用途，其中該癌症為實體腫瘤。

【0710】 實施例40B. 如實施例36B、38B或39B之方法或如實施例37B至39B之用途，其中該癌症係選自由結腸直腸癌、胃癌(stomach cancer/gastric cancer)、胃食道結合部癌、肺癌、子宮癌、子宮頸癌、胰臟癌、食道癌、卵巢

癌、甲狀腺癌、膀胱癌、子宮內膜癌、膀胱癌、神經內分泌癌、子宮內膜癌、乳癌、肝癌、前列腺癌及膽管癌及皮膚癌組成之群。

【0711】 實施例41B. 如實施例40B之方法或用途，其中該個體患有非小細胞肺癌(NSCLC)、非鱗狀NSCLC (nsq-NSCLC)、鱗狀NSCLC (sq-NSCLC)或小細胞肺癌(SCLC)、胰臟導管腺癌(PDAC)、結腸直腸癌(CRC)、胃癌(GC)、胃食道結合部癌(GEJ)或其任何組合。

【0712】 實施例42B. 如實施例36B或38B至41B之方法或如實施例37B至41B之用途，其中該個體在用如實施例1B至34B中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽或如實施例35B之醫藥組合物治療之前已接受預治療。

【0713】 實施例43B. 如實施例42B之方法或用途，其中該預治療為化學療法或免疫療法。

【0714】 實施例44B. 如實施例42B或43B之方法或用途，其中該預治療係選自抗代謝物、抗腫瘤劑、烷化劑及前藥劑。

【0715】 實施例45B. 如實施例42B至44B中任一項之方法或用途，其中該預治療係選自基於鉑之療法、氟嘧啶、奧沙利鉑、伊立替康或抗PD1/PDL1。

【0716】 實施例46B. 如實施例36B及38B至45B中任一項之方法或如實施例37B至45B中任一項之用途，其中該腫瘤表現高水準之CEACAM5。

【0717】 實施例47B. 如實施例36B及38B至46B中任一項之方法或如實施例37B至46B中任一項之用途，其中該癌症為原發性的、轉移性的或癌病。

【0718】 實施例48B. 如實施例36B及38B至47B中任一項之方法或如實施例37B至47B中任一項之用途，其中該抗體-藥物接合物之投予產生強旁觀者效應。

【0719】 實施例49B. 如實施例36B及38B至49B中任一項之方法或如實施例37B至49B中任一項之用途，其中該抗體-藥物接合物之投予產生低脫靶效應。

【0720】 實施例50B. 一種套組，該套組包含如實施例1B至34B中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽或如實施例35B之醫藥組合物。

實例

【0721】 提供以下實例，包括進行之實驗及取得之結果，該等實例僅用於說明之目的且不應解釋為限制所附申請專利範圍之範疇。

合成實例A -- 材料及方法

【0722】 除非另有指示，否則以下材料及方法適用於本文所述之合成程序。所有市售無水溶劑皆未經進一步純化即使用。起始材料、試劑及溶劑購自商業供應商(SigmaAldrich及Fischer)。藉由利用Biotage Isolera One™急驟純化系統(Charlotte, NC)之急驟管柱層析來純化產物。使用表A-F中所示之UPLC方法在與Waters Acuity™ UPLC系統連接之Waters單四極桿偵測器質譜儀上進行UPLC-MS。在配置有Wasters 2998 PDA偵測器之Waters 2454二元梯度模組溶劑遞送系統上進行製備型HPLC。除非另有說明，否則使用適當直徑之Phenomenex Max-RP 4 µm Synergi™ 80 Å 250 mm逆相管柱，用含0.05%三氟乙酸之水及含0.05%三氟乙酸之乙腈溶離來純化產物。

表A：管柱 - Waters Acuity UPLC BEH C18 2.1 × 50 mm，1.7 µm，逆相管柱，溶劑A - 0.1%甲酸水溶液，溶劑B - 含0.1%甲酸之乙腈(方法A)。

時間(分鐘)	流速(mL/min)	A%	B%	梯度
初始	0.5	97	3	
1.70	0.5	40	60	線性
2.00	0.5	5	95	線性
2.50	0.5	5	95	線性

2.80	0.5	97	3	線性
3.00	0.5	97	3	線性

表B：管柱 - Waters Acuity UPLC BEH C18 2.1 × 50 mm，1.7 μm，逆相管柱，
溶劑A - 0.1%甲酸水溶液，溶劑B - 含0.1%甲酸之乙腈(方法B)。

時間(分鐘)	流速(mL/min)	A%	B%	梯度
初始	0.6	97	3	
1.50	0.6	5	95	線性
2.40	0.6	5	95	線性
2.50	0.6	97	3	線性
2.80	0.6	97	3	線性

表C：管柱 - Kinetex F5 1.7 μm 100 Å，2.1 × 50 mm，逆相管柱，溶劑A - 0.1%
甲酸水溶液，溶劑B - 含0.1%甲酸之乙腈(方法C)。

時間(分鐘)	流速(mL/min)	A%	B%	梯度
初始	0.5	97	3	
2.50	0.5	40	95	線性
3.50	0.5	5	95	線性
3.75	0.5	97	3	線性
4.00	0.5	97	3	線性

表D：管柱 - Waters CORTECS C18 1.6 μm，2.1 × 50 mm，逆相管柱，溶劑
A - 0.1%甲酸水溶液，溶劑B - 含0.1%甲酸之乙腈(方法D)。

時間(分鐘)	流速(mL/min)	A%	B%	梯度
初始	0.6	97	3	
1.70	0.6	40	60	線性
2.00	0.6	5	95	線性
2.50	0.6	5	95	線性
2.80	0.6	97	3	線性
3.00	0.6	97	3	線性

表E：管柱 - Waters CORTECS C18 1.6 μm，2.1 × 50 mm，逆相管柱，溶劑
A - 0.1%甲酸水溶液，溶劑B - 含0.1%甲酸之乙腈(方法E)。

時間(分鐘)	流速(mL/min)	A%	B%	梯度
初始	0.6	97	3	
1.50	0.6	5	95	線性

2.40	0.6	5	95	線性
2.50	0.6	97	3	線性
2.80	0.6	97	3	線性

表F：管柱 - Waters CORTECS C8 1.6 μm，2.1 × 50 mm，逆相管柱，溶劑A - 0.1%甲酸水溶液，溶劑B - 含0.1%甲酸之乙腈(方法F)。

時間(分鐘)	流速(mL/min)	A%	B%	梯度
初始	0.6	97	3	
1.50	0.6	5	95	線性
2.40	0.6	5	95	線性
2.50	0.6	97	3	線性
2.80	0.6	97	3	線性

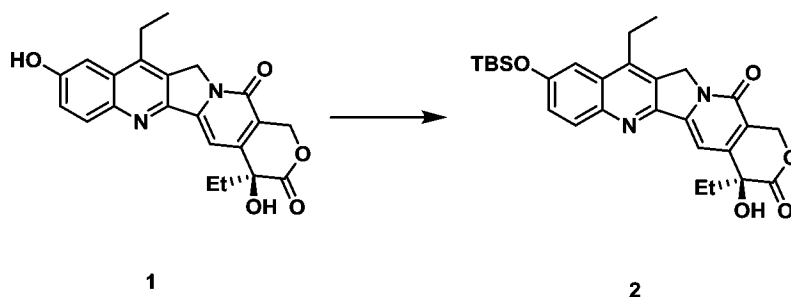
表G：縮寫列表

AcOH	乙酸
Boc	三級丁氧基羰基保護基
DCM	二氯甲烷
DIPEA	N,N-二異丙基乙胺
DMA	N,N-二甲基乙醯胺
DMF	N,N-二甲基甲醯胺
EtOAc	乙酸乙酯
EtOH	乙醇
Fmoc	胺基甲酸9-芴基甲酯
HATU	六氟磷酸1-[雙(二甲基胺基)亞甲基]-1H-1,2,3-三唑并[4,5-b]吡啶鎘3-氧化物
Hex	己烷
HPLC	高效液相層析
MeCN	乙腈
MeOH	甲醇
MP	3-順丁烯二醯亞胺基丙基
MS	質譜法
OSu	N-羥基丁二醯亞胺
PEG	聚乙二醇
PPTS	對甲苯磺酸吡啶鎘
Prep	製備型
TFA	三氟乙酸
TSTU	四氟硼酸N,N,N',N'-四甲基-O-(N-丁二醯亞胺基)脲鎘
UPLC	超高效液相層析

合成實例B -- 喜樹鹼化合物製備

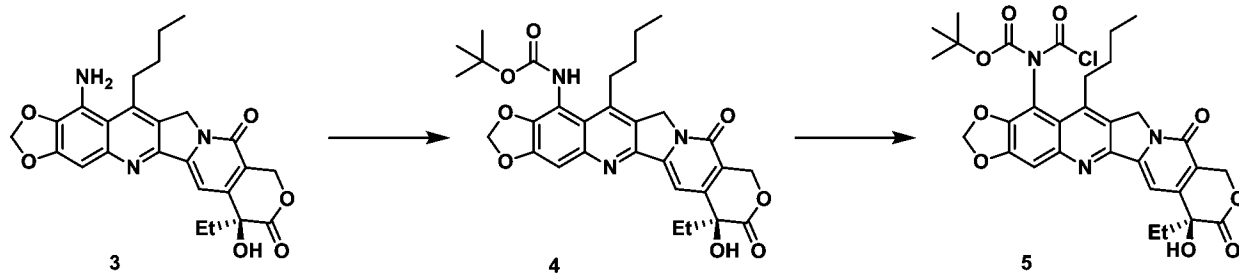
【0723】 以下實例中提供之喜樹鹼化合物可用於製備如本文所述之喜樹鹼-連接子化合物以及喜樹鹼接合物。

合成實例1



【0724】 將購自MedChemExpress之SN-38 (化合物**1**，160.0 mg，0.4077 mmol)懸浮於無水DCM (2 mL)中。添加DIPEA (0.22 mL，1.3 mmol)，繼而添加TBSCl (154 mg，1.02 mmol)。攪拌反應物30分鐘直至化合物**1**變得可溶，且藉由UPLC-MS觀測到完全轉化。用MeOH淬滅反應物，經二氧化矽塞過濾，且在真空中濃縮。用己烷濕磨所獲得之無色油狀物。產物自溶液中沈澱出。藉由過濾收集沈澱物且用己烷沖洗，得到呈灰白色固體狀之化合物**2** (TBS-SN-38) (200 mg，0.395 mmol，97%)。LC-MS (方法B)： $t_R = 1.86$ 分鐘；MS (m/z) $[M + H]^+$ 計算值 $C_{28}H_{35}N_2O_5Si$ 507.23，實測值506.96。

合成實例2

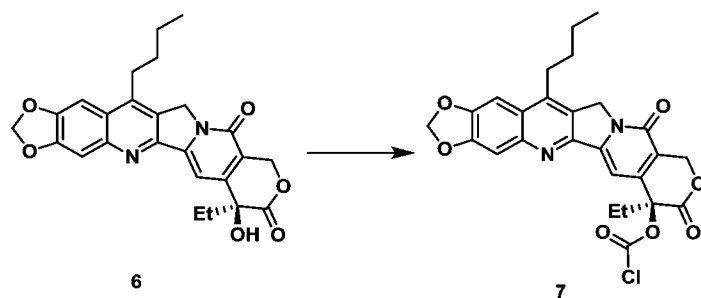


【0725】 根據*Bioconjugate Chem.* 2009, 20, 1242-1250所述之程序合成化合物**3**。將化合物**3** (50 mg，0.108 mmol)溶解於DCM (1 mL)中。將DMAP (13 mg，

0.11 mmol)添加至反應物中，繼而添加Boc₂O (24 mg，0.11 mmol)。攪拌反應物5分鐘，此時觀測到完全轉化為所需產物。藉由管柱層析(10G Biotage Ultra 0-5% MeOH/DCM)純化經保護之產物。在真空中濃縮含有所需產物之級分，得到呈黃色固體狀之化合物**4** (49 mg，0.087 mmol，80%)。LC-MS (方法A)： t_R = 2.24分鐘；MS (m/z) [M + H]⁺計算值C₃₀H₃₄N₃O₈ 564.23，實測值564.10。

【0726】將化合物**4** (49 mg，0.087 mmol)溶解於無水DCM (2 mL)中。添加DMAP (37 mg，0.304 mmol)且將反應物冷卻至0°C。在15分鐘內將以10 mg/mL溶解於DCM中之三光氣(12 mg，0.039 mmol)逐滴添加至反應物中。將2 μL等分試樣淬滅至98 μL MeOH稀釋液中且注射至UPLC-MS上。藉由UPLC-MS觀測到完全轉化為MeOH加合物。反應混合物(化合物**5**)可直接用於使用適合連接子之偶合步驟中。LC-MS (方法A)： t_R = 2.09分鐘；MS (m/z) [M + H]⁺計算值C₃₂H₃₆N₃O₁₀ 622.24，實測值622.02。

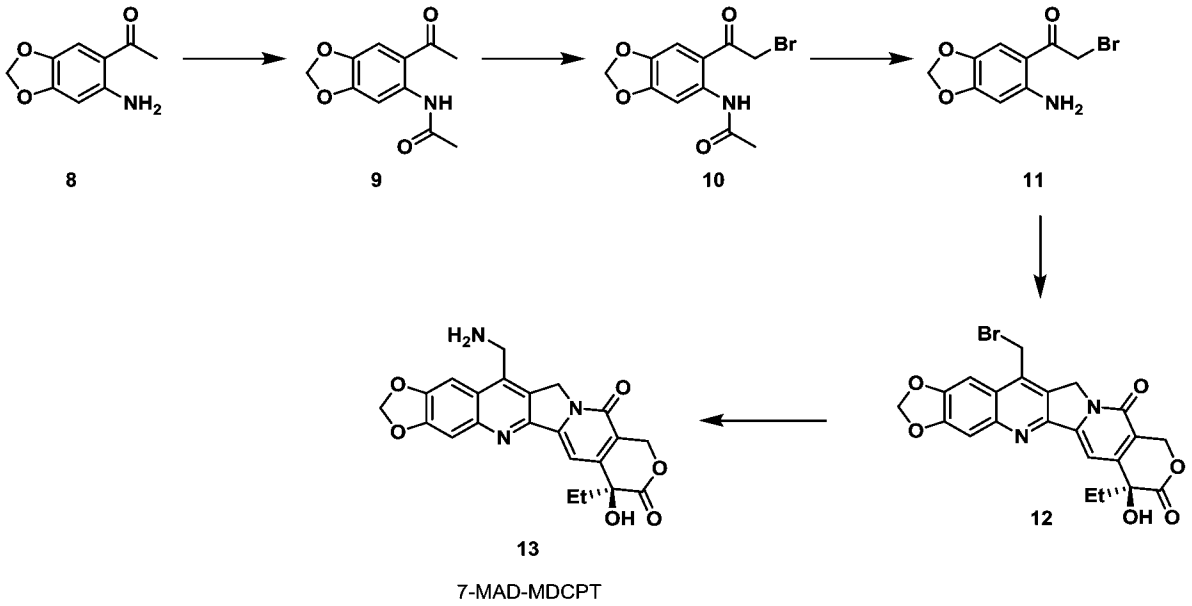
合成實例3



【0727】將根據*Bioconjugate Chem.* (2009) 20: 1242-1250中所述之程序合成之化合物**6** (150 mg，0.334 mmol)溶解於無水DCM (2 mL)中。添加DMAP (143 mg，1.17 mmol)。在5分鐘內逐滴添加溶解於無水DCM (50 mg/mL)中之三光氣(45 mg，0.15 mmol)。在室溫下攪拌反應物30分鐘。在98 μL MeOH稀釋液中淬滅反應混合物之2 μL等分試樣。觀測到幾乎完全轉化為MeOH碳酸鹽，指示形成氯甲

酸酯。如此獲得之化合物7未經進一步純化即用於使用適合連接子之偶合步驟中。LC-MS (方法A) : $t_R = 1.55$ 分鐘 ; MS (m/z) $[M + H]^+$ 計算值 $C_{27}H_{27}N_2O_8$ 507.18 , 實測值507.06。

合成實例4



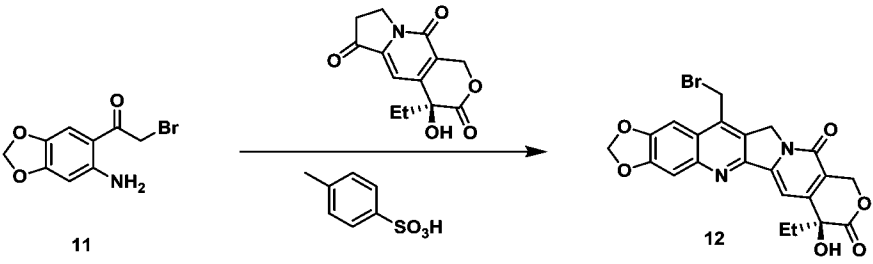
【0728】 將獲自TCI Research Chemicals (目錄號A1356)之6-胺基-3,4-(亞甲基二氧基)-苯乙酮(8 , 5.00 g , 27.9 mmol)溶解於DCM (100 mL)中。將反應物冷卻至0℃且添加DIPEA (7.29 mL , 41.9 mmol) , 繼而緩慢添加乙醯氯(2.49 mL , 34.9 mL) 。使反應物升溫至室溫且攪拌30分鐘。藉由UPLC-MS觀測到完全轉化。用MeOH (5 mL)淬滅反應物 , 且在真空中濃縮反應物 , 得到呈白色固體狀之化合物9 , 其未經進一步純化即用於下一步驟中。LC-MS (方法A) : $t_R = 1.37$; MS (m/z) $[M + H]^+$ 計算值 $C_{11}H_{12}NO_4$ 222.08 , 實測值222.11。

【0729】 將化合物9 (27.9 mmol)溶解於AcOH (100 mL)中。緩慢添加含HBr 33% w/w之AcOH (9.78 mL , 55.8 mmol) 。在15分鐘內逐滴添加溴(1.44 mL , 27.9 mmol) 。攪拌反應物30分鐘 , 此時觀測到轉化為所需產物。將反應物傾倒於冰水上 , 且藉由過濾收集沈澱物並用水洗滌。乾燥濾液 , 得到黃色粉末 , 其為所需

產物化合物**10**與起始原料及二溴化產物雜質之混合物，該混合物未經進一步純化即用於下一步驟中(7.2 g，24 mmol，86%)。LC-MS (方法A)： $t_R = 1.58$ 分鐘；MS (m/z) $[M + H]^+$ 計算值 $C_{11}H_{11}BrNO_4$ 299.99，實測值299.90。

【0730】將化合物**10** (7.2 g，24 mmol)溶解於EtOH (100 mL)中。添加濃HBr (5 mL)且將反應物加熱至回流持續60分鐘。觀測到幾乎完全轉化為去保護之產物。在真空中濃縮反應物，用DCM (200 mL)及H₂O (200 mL)稀釋。用DCM (3 × 200 mL)萃取水相，經MgSO₄乾燥所收集之有機相，過濾且在真空中濃縮。藉由管柱層析(0-10% MeOH/DCM)純化粗產物。濃縮含有含少量雜質之所需產物的級分，得到呈黃色粉末狀之化合物**11** (4.05 g，15.7 mmol，65%)。LC-MS (方法A)： $t_R = 1.57$ 分鐘；MS (m/z) $[M + H]^+$ 計算值 $C_9H_9BrNO_3$ 257.98，實測值257.71。

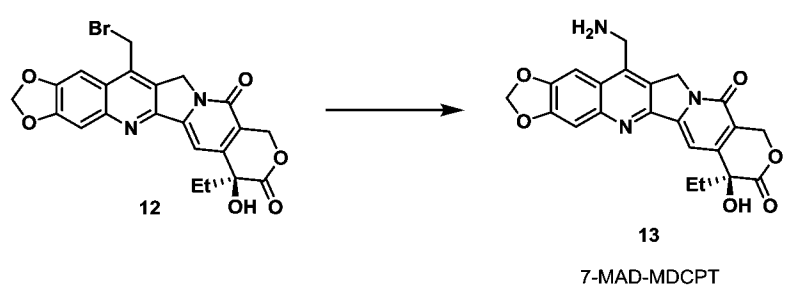
合成實例5



【0731】將化合物**11** (1.00 g，3.87 mmol)、p-TSA (667 mg，3.87 mmol)及4-乙基-4-羥基-7,8-二氫-1H-哌喃并[3,4-f]吡嗪-3,6,10(4H)-三酮(1.02 g，3.87 mmol，獲自Avra Laboratories Pvt. Ltd.)裝入燒瓶中。添加DCM (5 mL)以均化固體，接著在氮氣下蒸發。接著在高真空(1毫巴)下將純固體加熱至120°C持續60分鐘。將反應物冷卻至室溫，用H₂O沈澱粗產物，過濾且用H₂O洗滌。藉由管柱層析(0-10% MeOH/DCM)純化沈澱物。在真空中濃縮含有所需產物之級分，得到呈棕色固體狀之化合物**12** (989 mg，2.04 mmol，53%)。LC-MS (方法A)： $t_R = 1.62$

分鐘(通用方法UPLC)；MS (m/z) [M + H]⁺計算值C₂₂H₁₇BrN₂O₆ 485.03，實測值484.95。

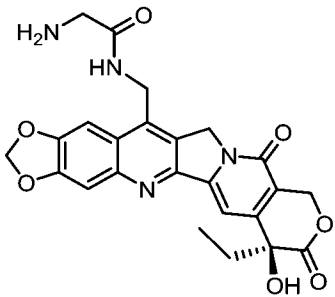
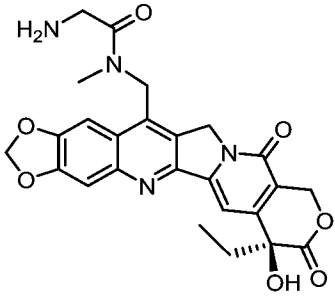
合成實例6



【0732】將化合物**12** (188 mg，0.387 mmol)溶解於EtOH (5 mL)中。添加六亞甲基四胺(163 mg，1.16 mmol)且在回流下攪拌反應物90分鐘。冷卻反應物且添加濃HCl水溶液(0.1 mL)。濃縮反應物且藉由製備型HPLC純化。凍乾含有所需產物之級分，得到呈灰白色固體狀之化合物**13** (109 mg，0.259 mmol，67%)。LC-MS (方法A)：*t_R* = 0.89；MS (m/z) [M + H]⁺計算值C₂₂H₂₀N₃O₆ 422.14，實測值422.16。

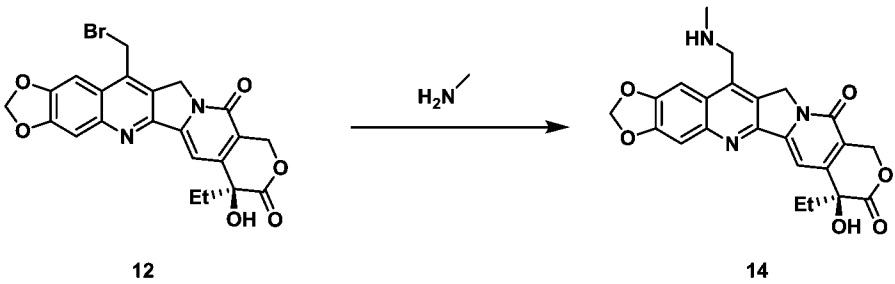
表H：由化合物**13** (7-MAD-MDCPT)製備之喜樹鹼化合物

編號	結構	母體精確質量	MS (m/z) [M + H] ⁺ 計算值	MS (m/z) 觀測值	<i>t_R</i>
13a		479.13	480.14	480.08	1.20

13b		478.15	479.16	479.11	1.05
13c		492.16	493.17	493.00	1.4

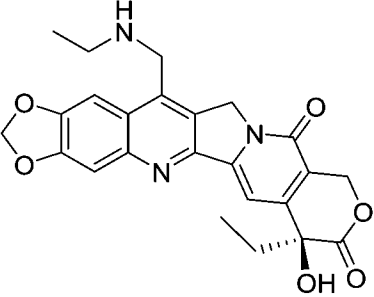
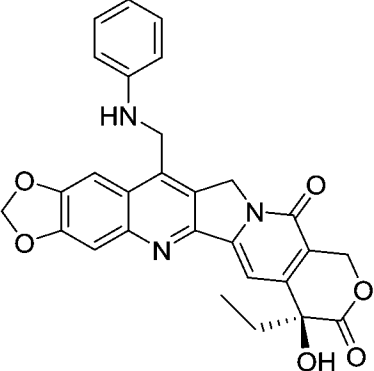
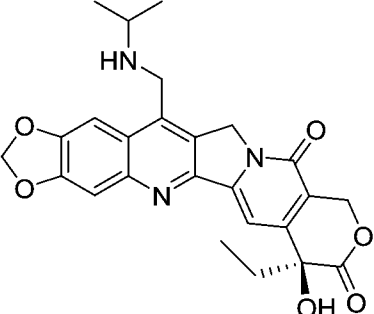
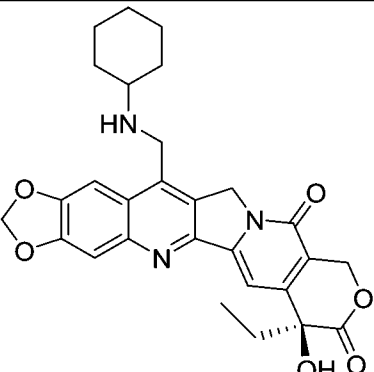
【0733】 表H之喜樹鹼化合物為例示性式W-CPT化合物，其分別經由共價連接至一級羥基或胺官能基之氧原子或氮原子而併入其中Q-D具有式-Z-A-S*-W-D或-Z-A-B(S*)-W-D之喜樹鹼的喜樹鹼接合物中或併入式Z'-A-S*-W-D或Z'-A-B(S*)-W-D之藥物連接子化合物中。

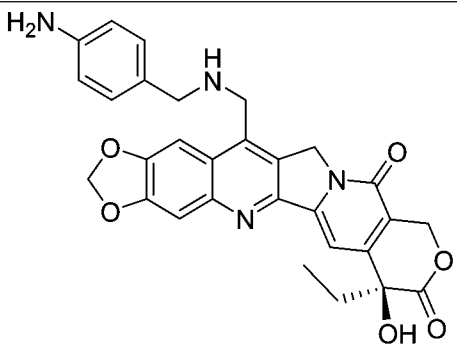
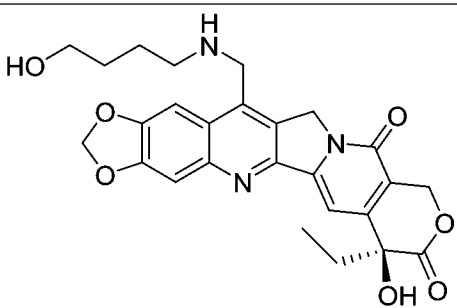
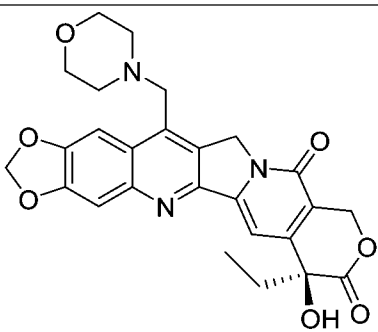
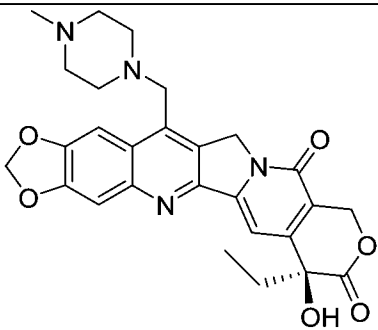
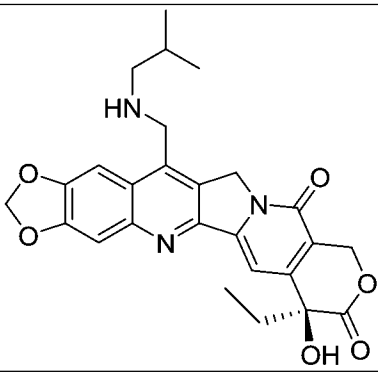
合成實例7

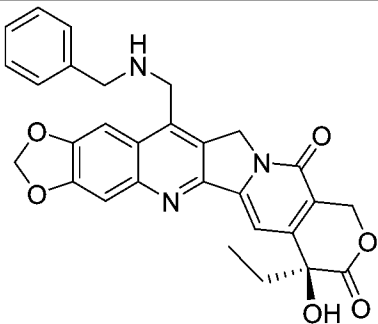
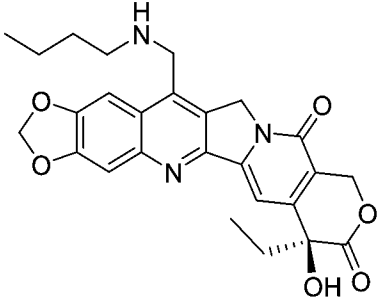
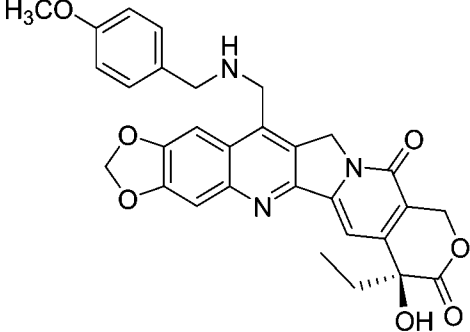
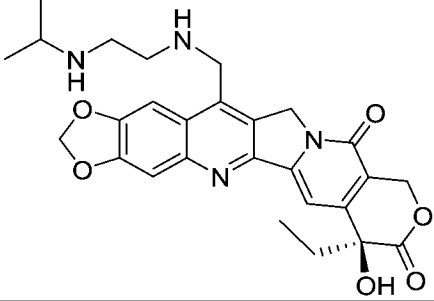
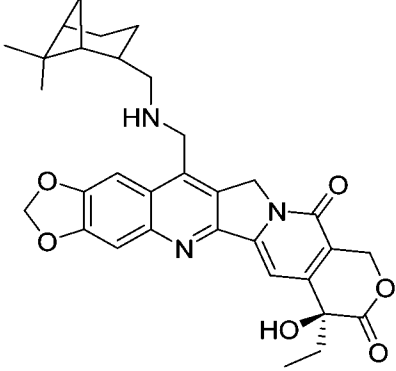


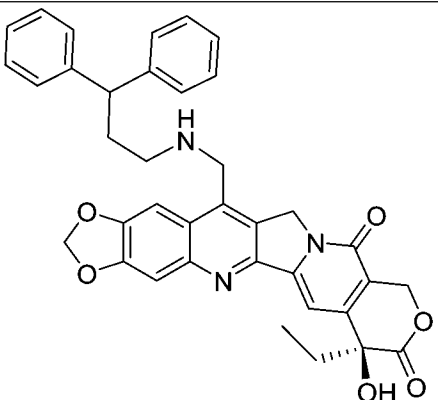
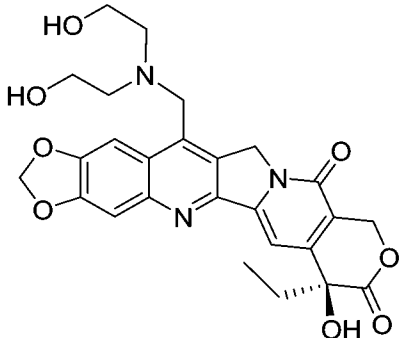
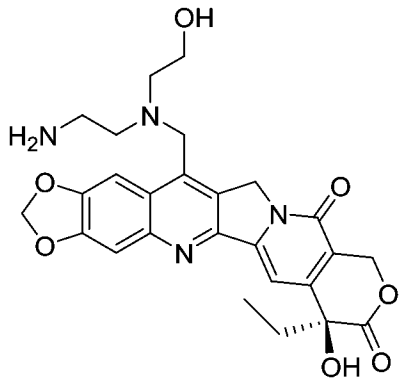
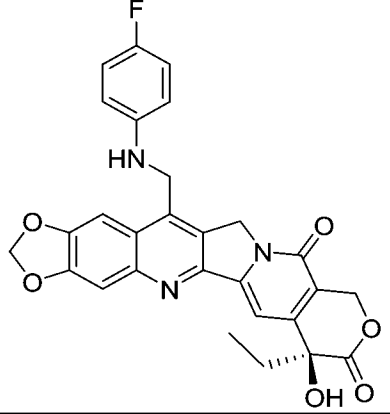
【0734】 將來自實例4之化合物**12** (10.0 mg，20.6 μmol)溶解於無水DMF (0.25 mL)中。添加甲胺(2M，於THF中，0.031 mL，62 μmol)。攪拌反應物30分鐘，接著用AcOH (20 μL)淬滅。藉由製備型HPLC純化反應物。凍乾含有所需產物(**14**)之級分，得到黃色固體(3.27 mg，7.51 μmol，36%)。LC-MS (方法D)： t_R = 1.57分鐘；MS (m/z) $[M + H]^+$ 計算值C₉H₉BrNO₃ 257.98，實測值257.71。 t_R = 0.93分鐘(方法A)；MS (m/z) $[M + H]^+$ 計算值C₂₃H₂₂N₃O₆ 436.15，實測值435.78。

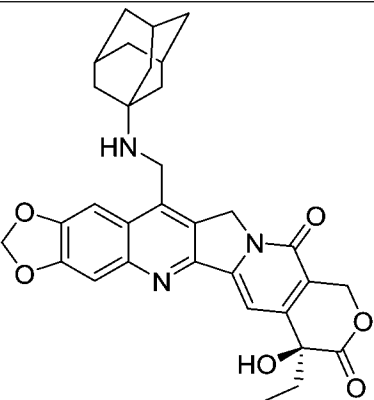
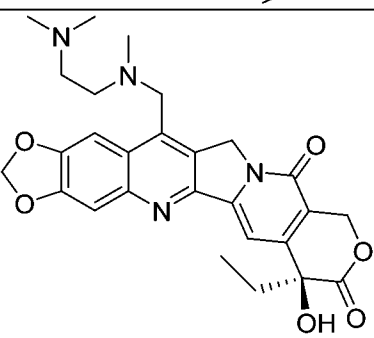
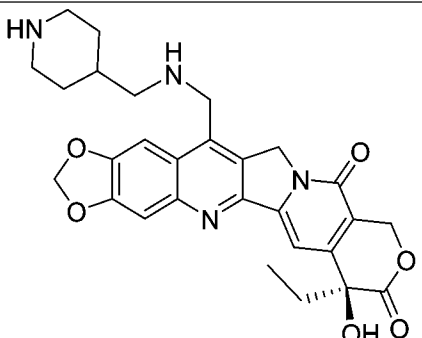
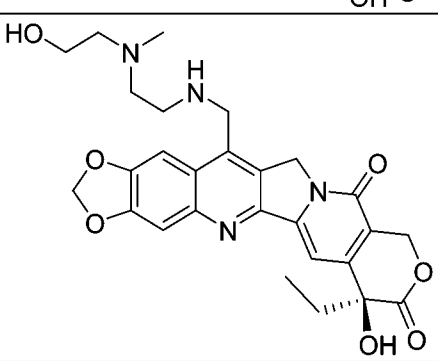
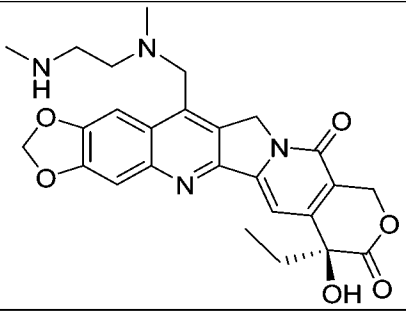
表I：根據合成實例7製備之其他喜樹鹼化合物

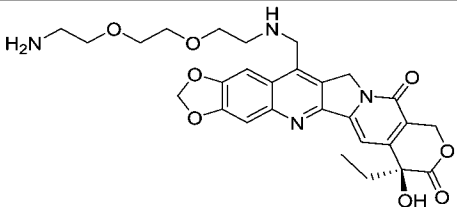
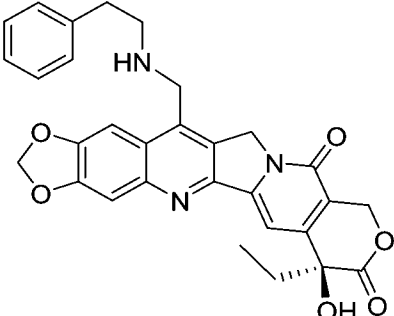
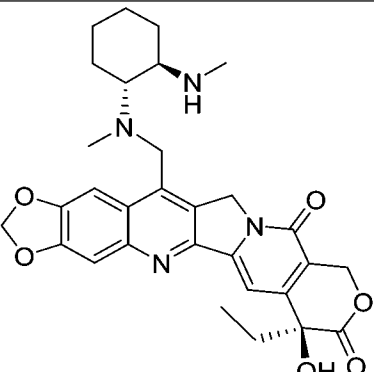
編號	結構	母體精確 質量	MS (m/z) [M + H] 計算值	MS (m/z) 觀測值	t _R *
14a		449.158685	450.17	450.14	1.19
14b		497.158685	498.17	498.05	1.22
14c		463.174336	464.18	464.00	0.98
14d		503.205636	504.22	504.16	1.16

14e		526.185235	527.20	526.08	1.11
14f		493.1849	494.19	493.88	1.03
14g		491.16925	492.18	491.74	1.19
14h		504.200885	505.21	504.93	1.10
14i		477.189986	478.20	478.26	1.30

14j		511.174336	512.18	512.21	1.20
14k		477.189986	478.20	477.68	1.13
14l		541.1849	542.19	542.37	1.30
14m		506.216535	507.23	507.94	0.76
14n		557.252586	558.26	557.89	1.51

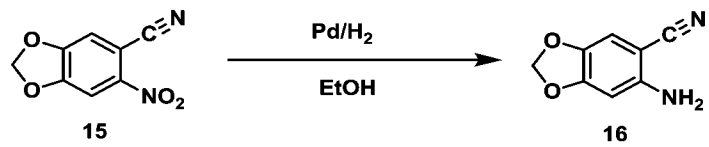
14o		615.236936	616.25	615.60	1.56
14p		509.179815	510.19	509.69	1.09
14q		508.195799	509.21	508.91	1.11
14r		515.149264	516.16	515.09	1.33

14s		555.236936	556.25	555.85	1.49
14t		506.216535	507.23	506.58	1.17
14u		518.216535	519.23	519.09	1.00
14v		522.211449	523.22	522.68	1.04
14w		492.200885	493.21	492.71	1.07

14x		552.222014	553.23	553.14	1.08
14y		525.189986	526.20	525.59	1.31
14z		546.247835	547.26	546.64	1.26

* LC-MS方法A

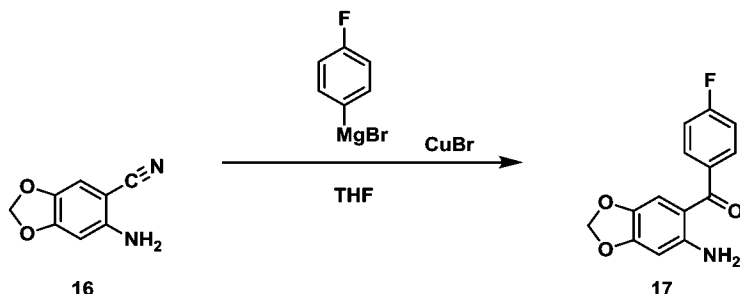
合成實例8



【0735】 如Heterocycles, (2007) 71: 39-48中所述，製備6-硝基-1,3-苯并二氧雜環戊烯-5-甲腈(化合物**15**，2.00 g，10.4 mmol)，接著溶解於EtOH (50 mL)中。將反應物置於氫氣氛圍下。將Pd/C (2.22 g，10% w/w，2.08 mmol)添加至反應物中，將其置於氫氣氛圍下。在室溫下攪拌反應物2小時。經矽藻土床過濾反應物，接著用MeOH沖洗。在真空中濃縮溶離液且藉由急驟層析(0-10% DCM/MeOH)純化。濃縮含有所需產物之級分，得到呈紅色固體狀之化合物**16** (1.46 g，9.00

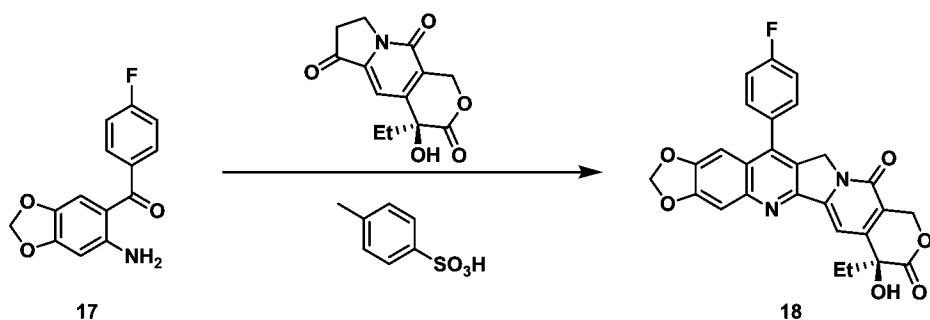
mmol, 87%)。LC-MS (方法D): $t_R = 1.14$ 分鐘; MS (m/z) $[M + H]^+$ 計算值 $C_8H_7N_2O_2$ 163.05, 實測值162.37。

合成實例9



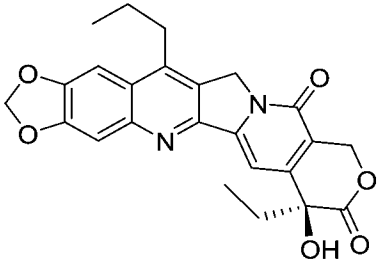
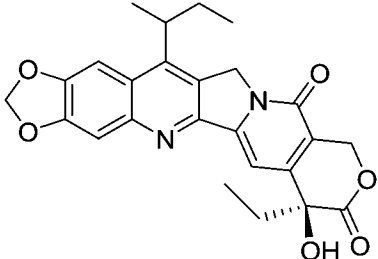
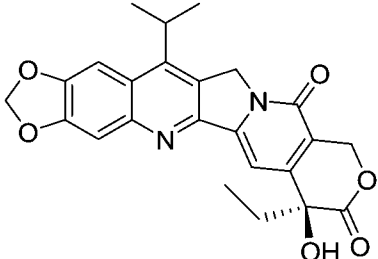
【0736】將6-氨基-1,3-苯并二氧雜環戊烯-5-甲腈(化合物**16**, 50 mg, 0.31 mmol)置於氮氣氛圍下且溶解於無水THF (1 mL)中。添加CuBr (1.5 mg, 0.010 mmol), 繼而添加含1M溴化4-氟苯基鎂之THF (1.23 mL)。將反應物加熱至60°C持續30分鐘, 接著冷卻至室溫。將15% H_2SO_4 溶液緩慢添加至反應物中, 接著攪拌30分鐘。將反應物傾倒至飽和 $NaHCO_3$ (50 mL)中, 接著用EtOAc (3×50 mL)萃取。經 $MgSO_4$ 乾燥有機物, 過濾且在真空中濃縮。藉由管柱層析(10G Biotage Ultra 0-10% EtOAc/己烷)純化粗產物。在真空中濃縮含有所需產物之級分, 得到呈紅色固體狀之化合物**17** (46.2 mg, 0.178 mmol, 58%)。LC-MS (方法D): $t_R = 1.81$ 分鐘; MS (m/z) $[M + H]^+$ 計算值 $C_{14}H_{11}FNO_3$ 260.07, 實測值259.46。

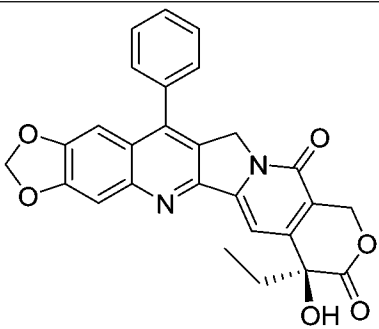
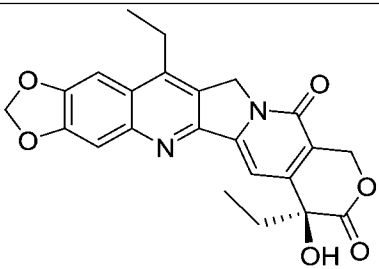
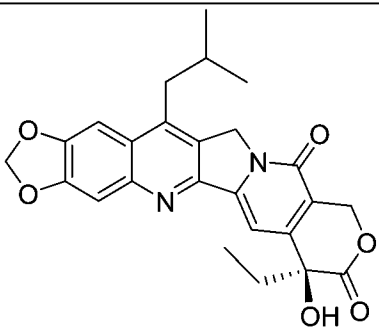
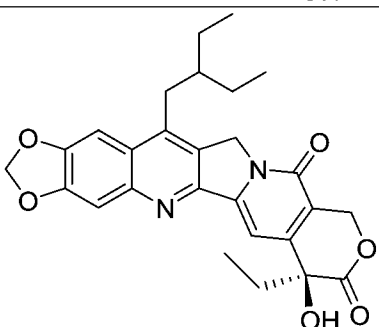
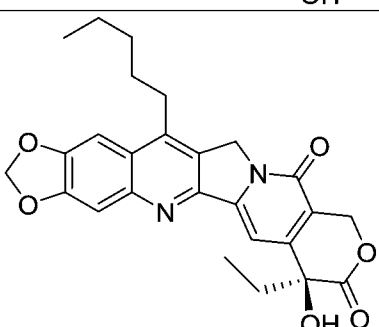
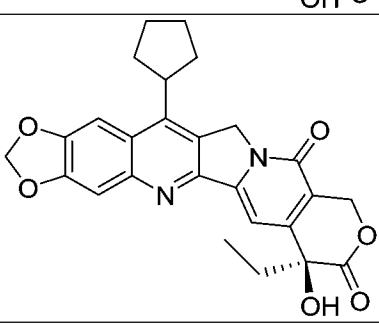
合成實例10

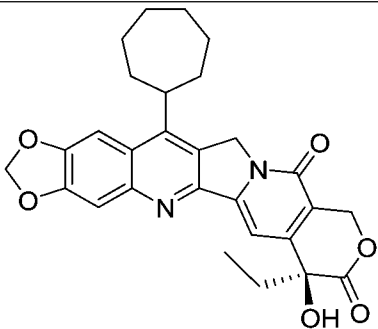
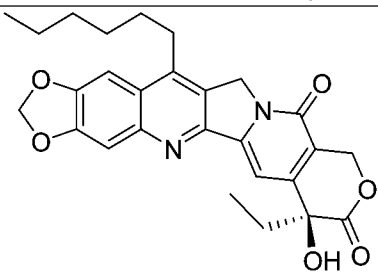
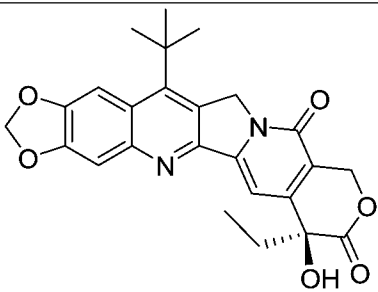
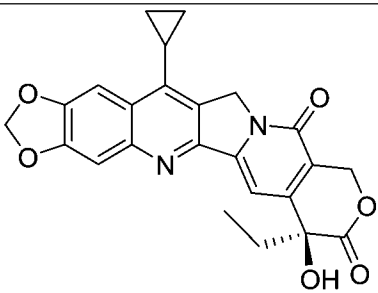
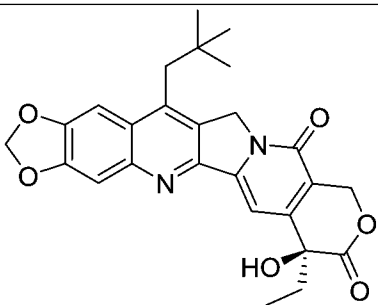
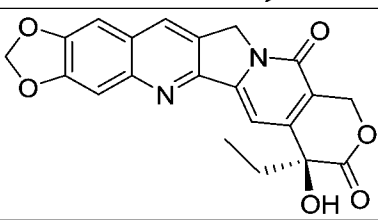


【0737】 將化合物**17** (46.2 mg , 0.178 mmol) 、p-TSA (30.7 mg , 0.178 mmol) 及4-乙基-4-羥基-7,8-二氫-1H-吡喃并[3,4-f]吡嗪-3,6,10(4H)-三酮(46.9 mg , 0.178 mmol , 獲自Avra Laboratories Pvt. Ltd.)裝入閃爍小瓶中。添加DCM (1 mL)以均化固體。在氮氣下濃縮溶劑。在高真空(1毫巴)下將純固體加熱至120℃持續60分鐘。在DCM (50 mL)中重構反應物，用H₂O洗滌，經MgSO₄乾燥有機相洗滌物，過濾且在真空中濃縮。藉由管柱層析(10G Biotage Ultra 0-10% MeOH/DCM)純化粗產物。在真空中濃縮含有所需產物(**18**)之級分，得到紅色固體(32.9 mg , 0.0676 mmol , 38%)。LC-MS (方法D)：t_R = 1.81分鐘；MS (m/z) [M + H]⁺計算值 C₂₇H₂₀FN₂O₆ 487.13，實測值487.19。

表J：根據實例9及10之程序製備之其他喜樹鹼化合物。

編號	結構	母體精確質量	MS (m/z) [M + H] ⁺ 計算值	MS (m/z)觀測值	t _R *
18a		434.147786	435.16	434.81	1.62
18b		448.163437	449.17	448.78	1.71
18c		434.147786	435.16	434.81	1.59

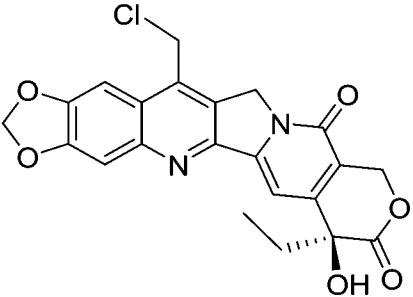
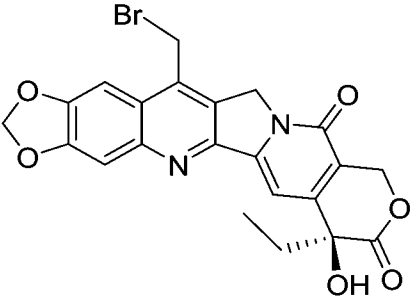
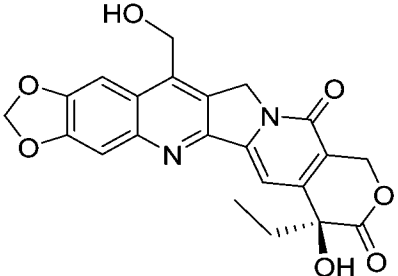
18d		468.132136	469.14	469.15	1.77
18e		420.132136	421.14	420.85	1.48
18f		448.163437	449.17	448.78	1.76
18g		476.194737	477.20	476.81	2.00
18h		462.179087	463.19	462.94	1.93
18i		460.163437	461.17	460.80	1.79

18j		488.194737	489.20	489.12	2.03
18k		476.194737	477.20	478.07	2.06
18l		448.163437	449.17	448.87	1.69
18m		432.132136	433.14	433.16	1.56
18n		462.179087	463.19	463.04	1.83
18o		392.100836	393.11	393.01	1.31

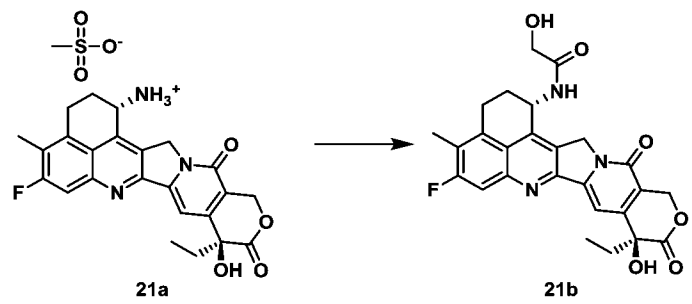
經由Biotage急驟管柱層析(CH₂Cl₂/MeOH 0-15%)純化，得到乙醯化SN-38 (**19**)。

MS (m/z)計算值435.15 (M+H)⁺，實測值435.07。

表K：如本文所述製備之喜樹鹼化合物：

實例編號	結構	母體精確質量	MS (m/z) [M + H] ⁺ 計算值	MS (m/z)觀測值	t _R
20a		440.077514	441.09	441.02	1.49
20b		484.026999	485.04	484.95	1.53
20c		422.11	423.12	423.04	1.29

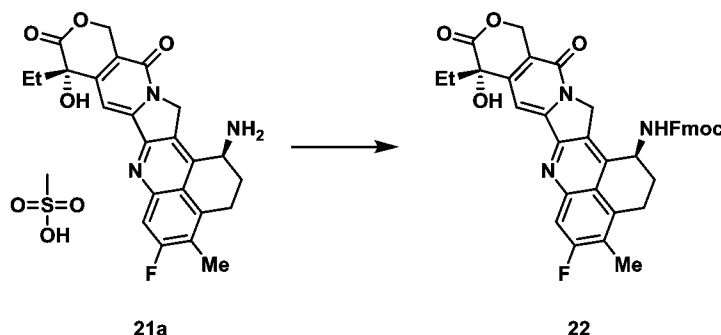
合成實例12



【0739】 將甲磺酸依喜替康(Exatecan mesylate) (化合物**21a**，20.0 mg，0.0376 mmol，獲自MedChemExpress目錄號 :HY-13631A)懸浮於無水DCM (1 mL)

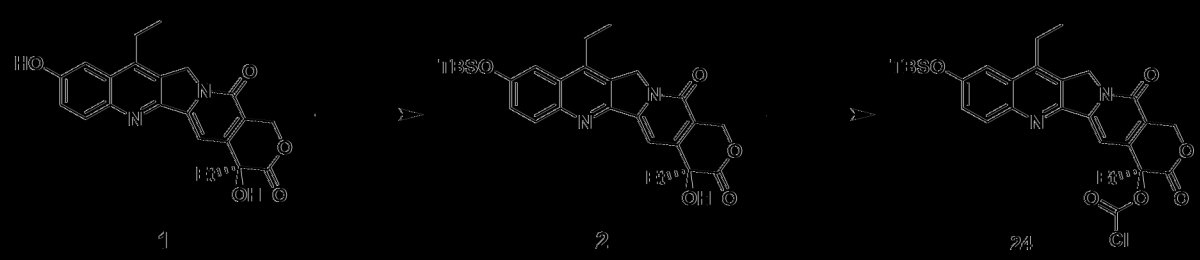
中。添加DIPEA (20.0 μ L , 0.0146 mmol) , 繼而添加乙醯氧基乙醯氯(5.0 μ L , 0.046 mmol) 。攪拌反應物30分鐘 , 接著用MeOH淬滅 , 且在真空中濃縮。將反應混合物再溶解於MeOH (1 mL)中。添加LiOH (20 mg) 。觀測到乙酸酯完全去保護。用AcOH淬滅。藉由製備型HPLC (10 mm 10-95% MeCN/H₂O 0.05% TFA)純化。在真空中濃縮含有所需產物之級分 , 得到呈黃色固體狀之化合物**21b** (15.3 mg , 0.0310 mmol , 82%) 。LC-MS (方法A) : t_R = 1.46分鐘 ; MS (m/z) [M + H]⁺計算值 C₂₆H₂₅N₃O₆ 494.17 , 實測值494.05 。

合成實例13



【0740】 將甲磺酸依喜替康(化合物**21a** , 20.0 mg , 0.0376 mol)溶解於MeCN (1 mL)及含0.75M NaHCO₃之H₂O中。添加Fmoc-OSu (19.0 mg , 0.0564 mmol)且攪拌反應物2小時30分鐘。用H₂O (50 mL)稀釋反應物 , 將pH調節至中性且用DCM (3 $\times$ 50 mL)萃取。經MgSO₄乾燥有機相 , 過濾且在真空中濃縮。藉由製備型TLC (0-5% MeOH/DCM)純化粗產物。刮下含有所需產物之條帶 , 在用10% MeOH/DCM洗滌下過濾 , 且在真空中濃縮溶離液 , 得到呈橙色固體狀之化合物**22** (19.1 mg , 0.0290 mmol , 77%) 。LC-MS (方法A) : t_R = 2.23分鐘 ; MS (m/z) [M + H]⁺計算值 C₃₉H₃₃FN₃O₆ 658.24 , 實測值658.09 。

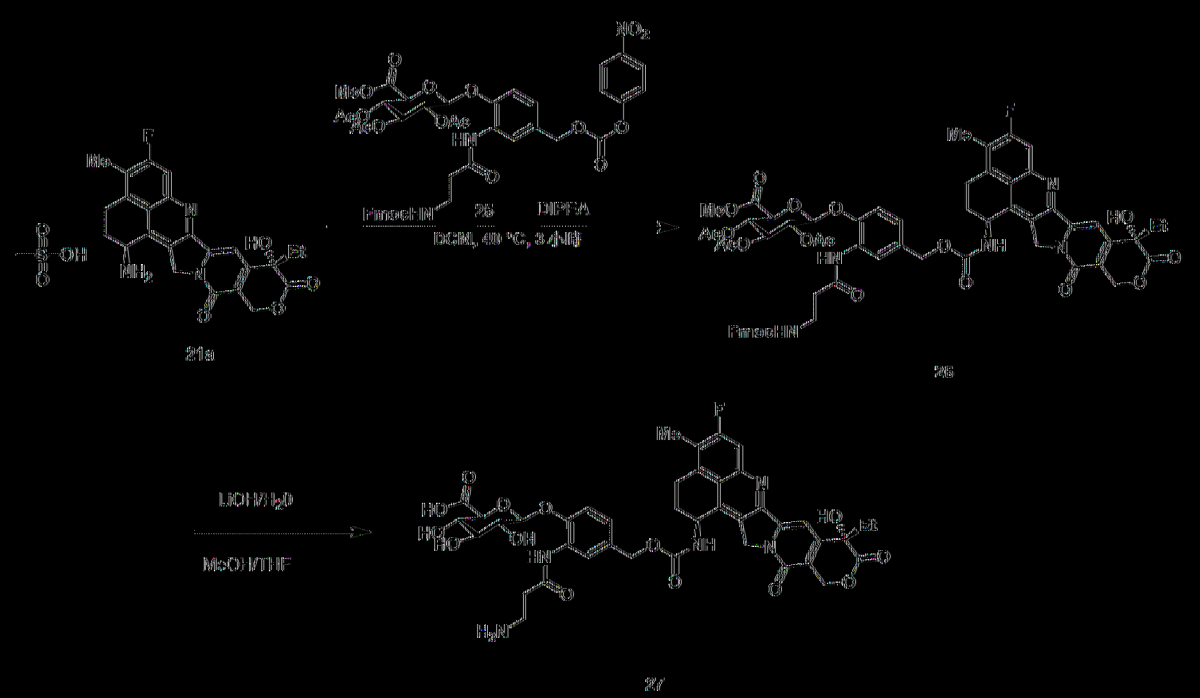
合成實例14



[0741] 將根據實例1製備之化合物2 (132 mg, 0.260 mmol)溶解於2 mL無水DCM中。添加DMAAP (111 mg, 0.911 mmol)。將三光氣(34.8 mg, 0.117 mmol)以50 mg/mL溶解於無水DCM中，且在5分鐘內將溶液逐滴添加至經攪拌之反應溶液中。將反應溶液之2 μ L等分試樣淬滅至98 μ L MeOH稀釋液中。15分鐘後，藉由HPLC-MS觀測到幾乎完全轉化為Me 碳酸鹽。含有化合物24之反應混合物立即用於本文所述之偶合反應中。

合成實例C. 製備替樹鹼藥物連接了化合物

合成實例15



[0742] 將甲磺酸依替替康(化合物21a, 5.00 mg, 9.41 μ mol)溶解於無水DCM中。添加DDPEA (5.0 μ L, 28 μ mol)，繼而添加先前[*JP*Bioconjugate Chem. (2006) 17: 831-840]所述之化合物25 (17.2 mg, 18.8 μ mol)。在40°C下攪拌反應物3

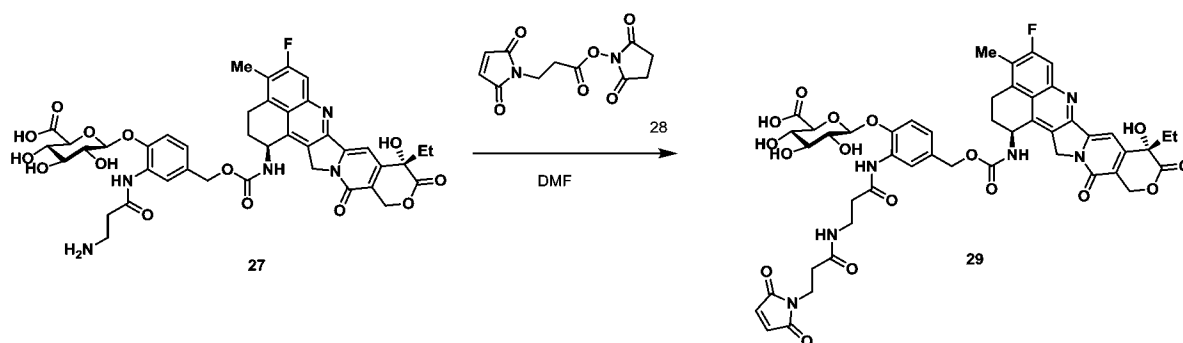
第 269 頁，共 376 頁(發明說明書)

小時。用MeOH淬滅反應物且在真空中濃縮。粗反應混合物用於下一步驟中。

LC-MS (方法A) : $t_R = 2.32$ 分鐘 ; MS (m/z) $[M + H]^+$ 計算值 $C_{63}H_{61}FN_5O_{19}$ 1210.39 , 實測值1210.08 。

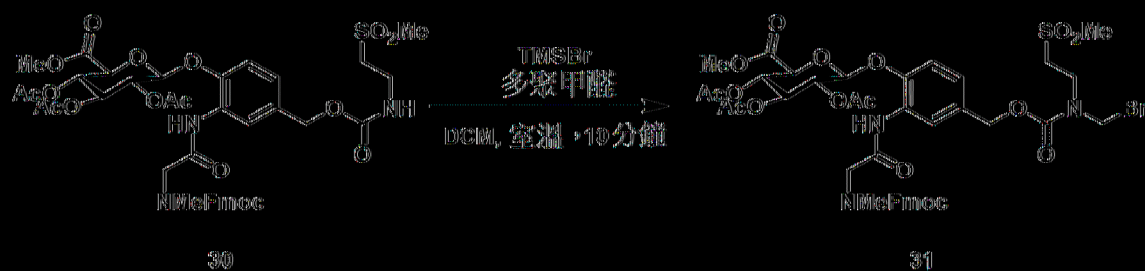
【0743】 將來自先前步驟之粗化合物**26** (9.41 μ mol)溶解於THF (1 mL)及含1M LiOH之MeOH (1 mL)中。攪拌反應物5分鐘，接著添加 H_2O 且再攪拌5分鐘。用AcOH (100 μ L)淬滅反應物，在真空中濃縮且藉由製備型HPLC (21 mm 5-60-95% MeCN/ H_2O 0.05% TFA)純化。凍乾含有所需產物之級分，得到呈黃色粉末狀之化合物**27** (1.1 mg, 1.3 μ mol)。LC-MS (方法A) : $t_R = 1.29$ 分鐘 ; MS (m/z) $[M + H]^+$ 計算值 $C_{41}H_{43}FN_5O_{14}$ 848.28，實測值848.03。

合成實例16



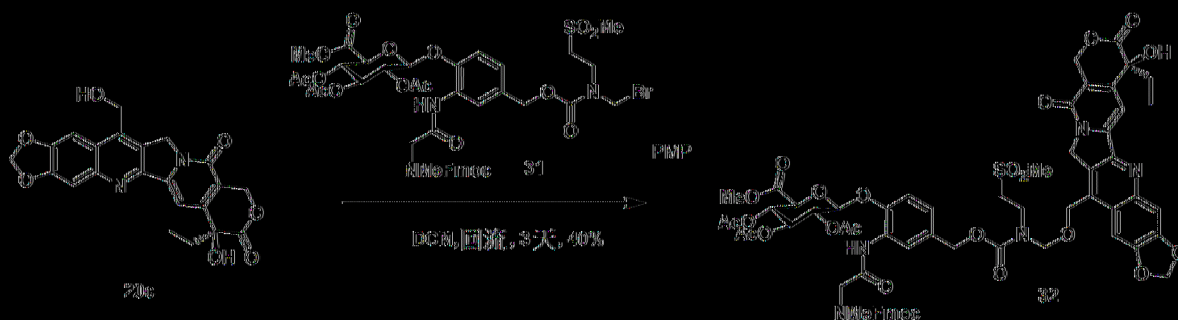
【0744】 將化合物**27** (1.1 mg, 1.3 μ mol)溶解於無水DMF (0.5 mL)中。添加DIPEA (1 μ L)，繼而添加購自TCI (CAS : 55750-62-4)之3-順丁烯二醯亞胺丙酸N-丁二醯亞胺酯(**28**, 0.63 mg, 2.4 μ mol)。攪拌反應物5分鐘。藉由UPLC-MS觀測到完全轉化。用AcOH (10 μ L)淬滅反應物，接著藉由製備型HPLC (10 mm 5-60-95% MeCN/ H_2O 0.05% TFA)純化。凍乾含有所需產物之級分，得到呈黃色粉末狀之化合物**29** (1.21 mg, 1.21 μ mol, 93%)。LC-MS (方法A) : $t_R = 1.52$ 分鐘 ; MS (m/z) $[M + H]^+$ 計算值 $C_{48}H_{48}FN_6O_{17}$ 999.31，實測值999.07。

合成實例17



[(0/45)] 將如實例21及22所述製備之化合物30 (210 mg, 0.234 mmol)溶解於實驗台DCM (3 mL)中。添加多聚甲醛(300-600 mg, xs)。在劇烈攪拌下，添加TMSBr (0.1 mL)。攪拌反應物10分鐘，此時藉由UPLC-MS觀測到完全轉化。經由注射器過濾器過濾反應混合物，用DCM (2×3 mL)沖洗，將甲苯(3 mL)添加至共沸物中，得到最終混合物。在真空中濃縮，得到白色固體。未經進一步純化即用於下一步驟中。使用MeOH稀釋液，藉由UPLC-MS觀測到MeOH淬滅之化合物。LC-MS (方法A)： t_R ：2.19分鐘；MS (m/z) $[M + Na]^+$ 計算值 $[C_{44}H_{51}N_3NaO_{18}S]$ 964.28，實測值965.17。

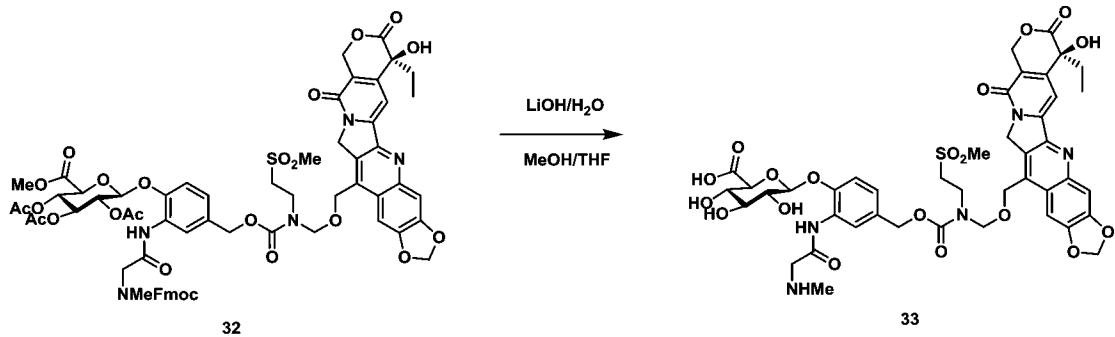
合成實例18



[(0/46)] 將化合物20c (20 mg, 0.047 mmol) (稱作7-BAD-MDCPT)與甲苯共沸3次，且使用前在高真空中乾燥。將來自實例16之粗化合物31 (231 mg, 0.234 mmol)溶解於無水DCM中，且添加1,2,2,6,6-五甲基哌啶(PMP, 51.4 μ L, 0.284 mmol)。添加鹼後，藉由UPLC-MS觀測到化合物31在溶液中發生最小程度之水解。將化合物31之溶液直接添加至藥物反應容器中，接著加熱至回流。化合物

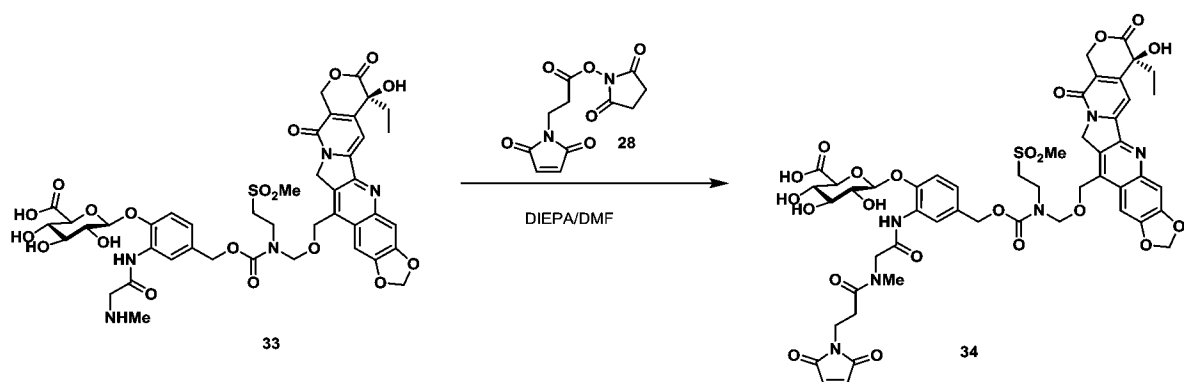
20c僅微溶於DCM。藉由UPLC-MS監測反應完成，此需要在回流下加熱3天。此後，用MeOH淬滅反應物，在真空中濃縮，且藉由FCC (Biotage 10G Ultra 0-10% MeOH/DCM)純化。濃縮含有所需產物(化合物**32**)之級分，得到黃色固體(50 mg，約50% w/w，0.019 mmol，40%)，其為約50% w/w具有二聚化水解連接子之混合物。t_R = 1.46分鐘(通用方法UPLC)；MS (m/z) [M + H]⁺計算值C₆₅H₆₆N₅O₂₄S 1332.38，實測值1332.54。

合成實例19



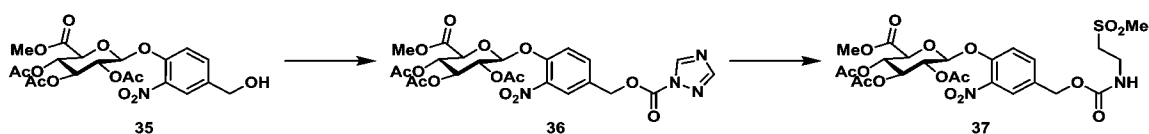
【0747】 將化合物**32** (50 mg, 50% w/w, 0.019 mmol)溶解於1:1 MeOH:THF (1 mL)中。添加LiOH (20 mg, 0.84 mmol)且攪拌60分鐘。添加水(0.5 mL)。藉由UPLC-MS觀測到完全轉化。用AcOH淬滅反應物，在真空中濃縮，且藉由製備型HPLC純化。凍乾含有所需產物之級分，得到所需產物，呈黃色固體狀之化合物**33** (5 mg, 0.005 mmol, 27%)。LC-MS (方法A)： t_R = 0.84分鐘；MS (m/z) [$M + H$]⁺計算值C₄₃H₄₈N₅O₁₉S 970.27，實測值969.92。

合成實例20



【0748】將化合物**33** (5 mg, 0.005 mmol)溶解於DMF (0.5 mL)中。添加DIPEA (10 μ L)，繼而添加3-(順丁烯二醯亞胺基)-丙酸N-羥基丁二醯亞胺酯(**28**，4.1 mg, 0.016 mmol)且攪拌45分鐘，此時藉由UPLC-MS觀測到完全轉化。用AcOH (20 μ L)淬滅反應物，且藉由製備型HPLC (10 mm Max-RP C12 5-60-95% MeCN/H₂O)純化。凍乾含有所需產物化合物**34**之級分，得到黃色粉末(2.33 mg，2.08 μ mol，40.3%)。LC-MS (方法A)： t_R = 1.35分鐘；MS (m/z) [M + H]⁺計算值 C₅₀H₅₃N₆O₂₂S 1121.29，實測值1121.25。

合成實例21

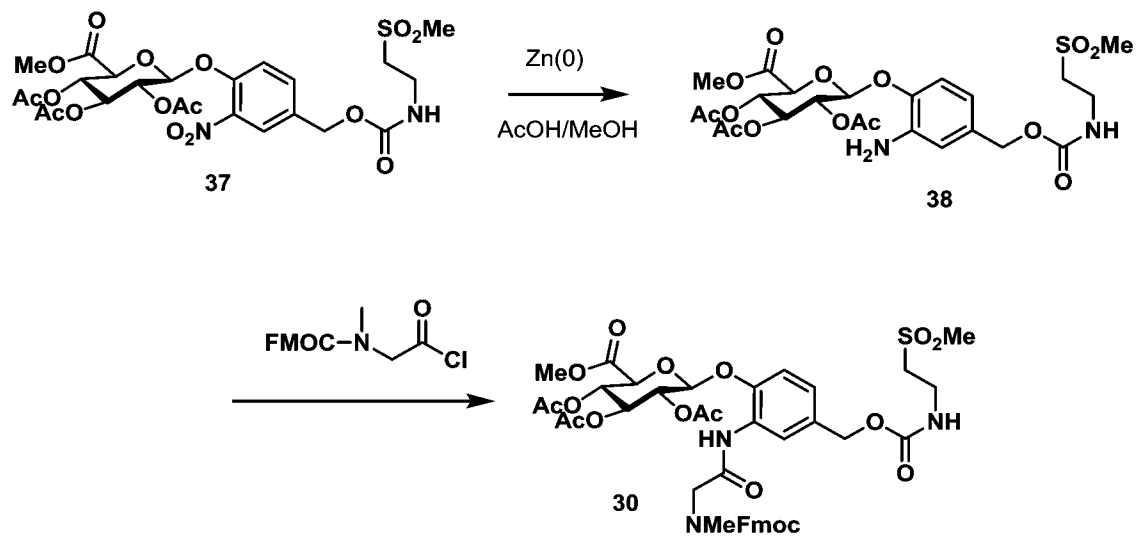


【0749】將根據Bioconjugate Chem. (2006) **17**: 831-840中之程序製備之化合物**35** (2.00 g, 4.12 mmol)溶解於無水DCM (20 mL)中。添加DIPEA (3.59 mL，20.60 mmol)，繼而添加1,1'-羰基-二(1,2,4-三唑) (744 mg，4.53 mmol)。攪拌反應物5分鐘，且含有化合物**36**之反應混合物用於下一步驟中。

【0750】向含有化合物**36** (4.12 mmol)之反應混合物中添加2-(甲基磺醯基)-乙胺(0.61 mL，6.2 mmol)。攪拌反應物5分鐘，此時藉由UPLC-MS觀測到完全轉化。在真空中濃縮反應物且藉由管柱層析(KP-Sil 100G 10-100% EtOAc/己

烷)純化。在真空中濃縮含有所需產物之級分，得到呈無色固體狀之化合物**37** (2.40 g，3.78 mmol，92%)。LC-MS (方法A)： $t_R = 1.71$ 分鐘；MS (m/z) $[M + Na]^+$ 計算值 $C_{24}H_{30}N_2NaO_{16}S$ 657.12，實測值656.93。

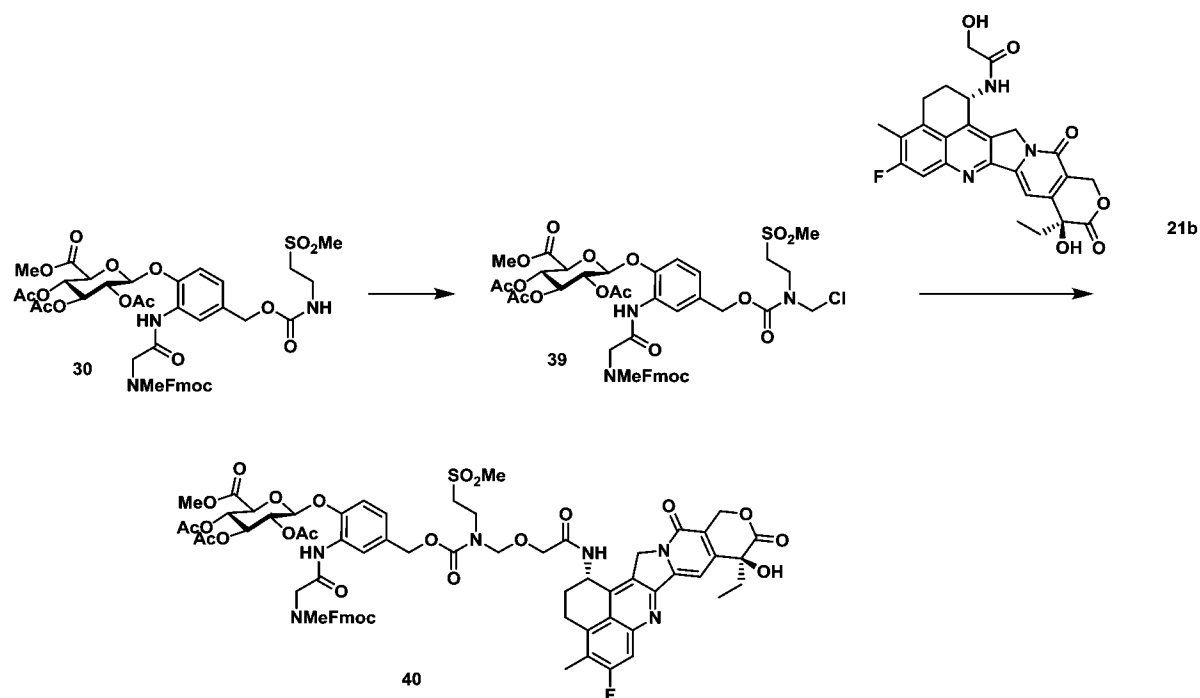
合成實例22



【0751】將化合物**37** (2.40 g，3.78 mmol)溶解於MeOH (20 mL)中。將AcOH (10 mL)添加至反應物中，繼而添加鋅粉(7.42 g，113 mmol)。攪拌反應物20分鐘，此時藉由UPLC-MS觀測到完全轉化。在用20% MeOH/DCM溶離下，經二氧化矽過濾反應物。濃縮溶離液且用於下一步驟中。

【0752】將粗化合物**38** (3.78 mmol)溶解於無水DCM (10 ml)中。添加DIPEA (3.30 mL，18.9 mmol)，繼而添加Fmoc-Sar-Cl (2.50 g，7.58 mmol)。攪拌反應物5分鐘，此時藉由UPLC-MS觀測到完全轉化。用MeOH淬滅反應物，在真空中濃縮且藉由管柱層析(KP-Sil 100G 10-100% EtOAc/己烷)純化。在真空中濃縮含有所需產物之級分，得到呈無色固體狀之化合物**30**。LC-MS (方法A)： $t_R = 2.17$ 分鐘；MS (m/z) $[M + H]^+$ 計算值 $C_{42}H_{48}N_3O_{17}S$ 898.27，實測值898.09。

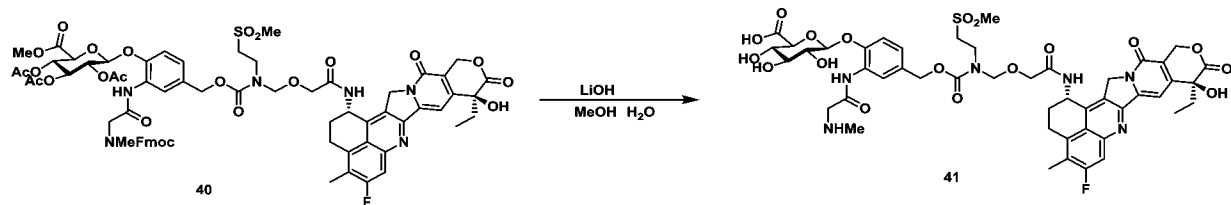
合成實例23



【0753】 將化合物**30** (200 mg, 0.223 mmol)溶解於DCM (2 mL)中。添加多聚甲醛(200 mg, 6.68 mmol)，繼而添加TMSCl (1 mL)。攪拌反應物15分鐘，接著過濾，用DCM (2 × 2 mL)沖洗，且添加甲苯(2 mL)以共沸得到最終混合物。濃縮溶離液，得到白色固體。粗化合物**39**立即用於下一步驟中。

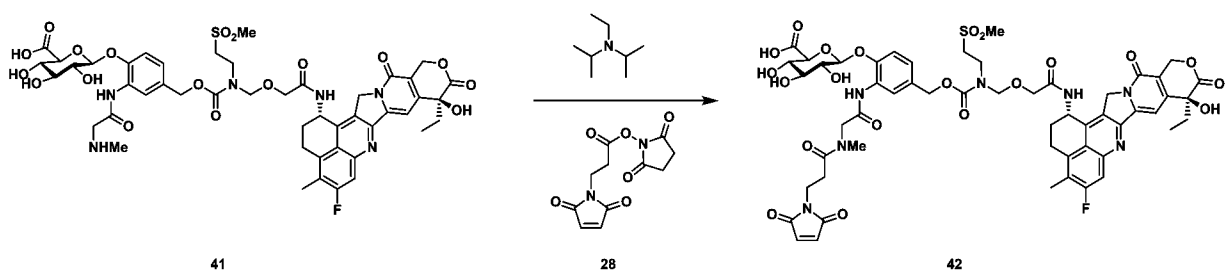
【0754】 將粗化合物**39** (0.223 mmol)溶解於無水DCM (1 mL)中。將DIPEA (0.047 mL, 0.27 mmol)添加至反應物中。將反應溶液直接添加至固體化合物**21-b** (22 mg, 0.045 mmol)中。攪拌反應物120分鐘。用MeOH淬滅反應物，在真空中濃縮且藉由管柱層析(0-10% MeOH/DCM)純化。在真空中濃縮含有所需產物及少量雜質之級分，得到呈白色固體狀之化合物**40** (30 mg, 80% w/w, 0.021 mmol, 48%)。LC-MS (方法A)： t_R = 2.25分鐘；MS (m/z) [M + H]⁺計算值C₆₉H₇₂FN₆O₂₃S 1403.44，實測值1404.03。

合成實例24



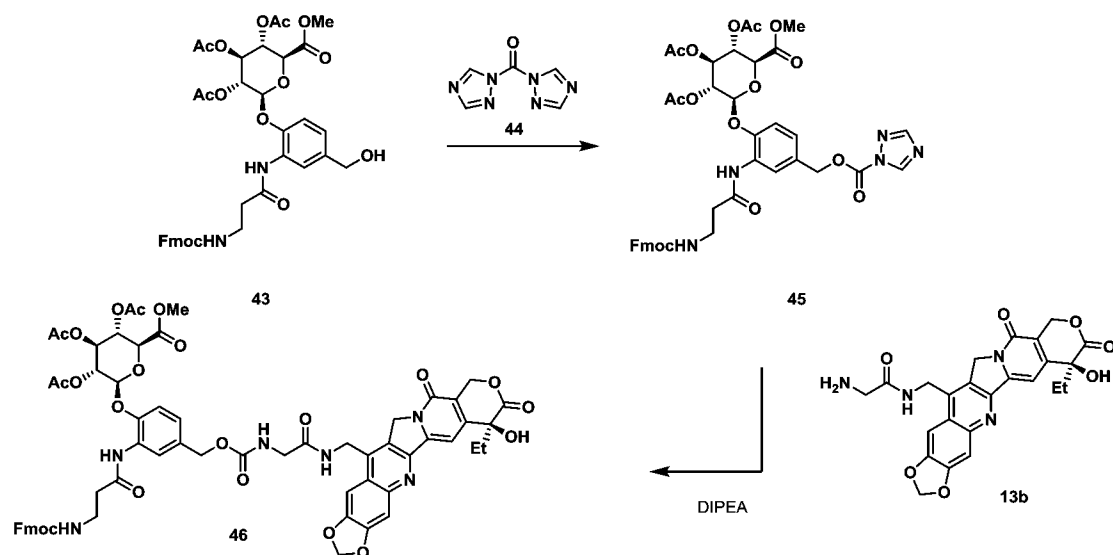
【0755】 將化合物**40** (30 mg, 0.021 mmol)溶解於MeOH (1 mL)中。將LiOH (25 mg, 1.1 mmol)添加至反應物中，且對反應物進行超音波處理以有助溶解。攪拌反應物10分鐘，接著添加H₂O (1 mL)。再攪拌反應物20分鐘，接著用AcOH淬滅。在真空中濃縮反應物且藉由製備型HPLC (21 mm 5-60-95% MeCN/H₂O 0.05% TFA)純化。純化含有所需產物之級分，得到呈白色固體狀之化合物**41** (14.5 mg, 0.0139 mmol, 65%)。LC-MS (方法A)：t_R = 1.29分鐘；MS (m/z) [M + H]⁺計算值C₄₇H₅₄FN₆O₁₈S 1041.32，實測值1041.24。

合成實例25



【0756】 將化合物**41** (14.5 mg, 0.0139 mmol)溶解於無水DMF (0.5 mL)中。添加DIPEA (15 μL, 0.084 mmol)，繼而添加3-(順丁烯二醯亞胺基)-丙酸N-羥基丁二醯亞胺酯(**28**, 11 mg, 0.042 mmol)。在室溫下攪拌反應物80 min。用AcOH淬滅反應物且藉由製備型HPLC (10 mm 5-60-95% MeCN/H₂O 0.05% TFA)純化。凍乾含有所需產物之級分，得到呈黃色固體狀之化合物**42** (2.24 mg, 1.88 μmol, 13%)。LC-MS (方法A)：t_R = 1.49分鐘；MS (m/z) [M + H]⁺計算值C₅₄H₅₉FN₇O₂₁S 1192.35，實測值1192.31。

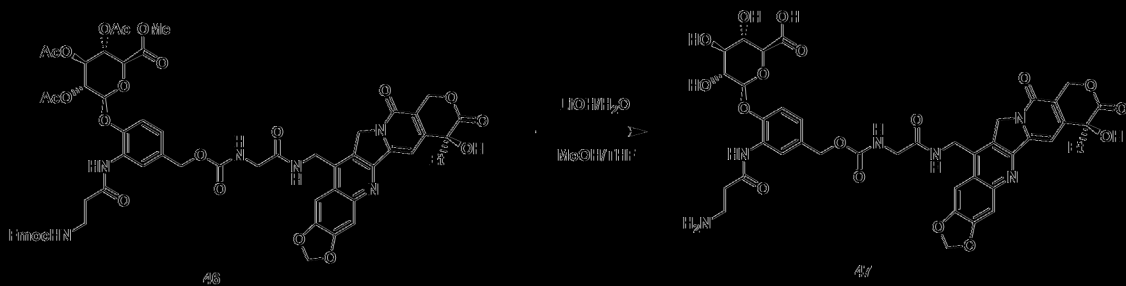
合成實例26



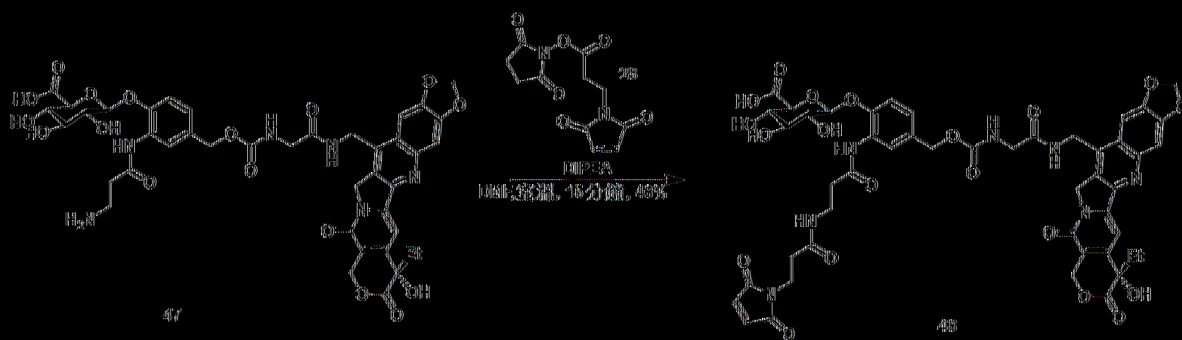
【0757】 將根據Bioconjugate Chem. (2006) 17: 831-840之程序製備之化合物**43** (200 mg, 0.267 mmol)溶解於DCM (1mL)中。添加羰基二-三唑(**44**, 131.52 mg, 0.801 mmol)且攪拌反應物30分鐘。藉由UPLC-MS觀測到完全轉化。用EtOAc (50 mL)稀釋反應物，且用H₂O (3 × 50 mL)洗滌。經MgSO₄乾燥有機物，過濾且在真空中濃縮，得到呈白色固體狀之化合物**45** (209 mg, 0.248 mmol, 93%)。LC-MS (方法D)：t_R = 2.07分鐘；MS (m/z) [M + H]⁺計算值C₄₁H₄₂N₅O₁₅ 844.27，實測值844.02。產物未經進一步純化即用於下一步驟中。

【0758】 將化合物**45** (100 mg, 0.119 mmol)及化合物**13b** (18 mg, 0.039 mmol) (稱作H-Gly-7-MAD-MDCPT)溶解於DMF (0.5 mL)中。添加DIPEA (0.1 mL)且在室溫下攪拌反應物。15分鐘後觀測到約50%轉化為所需產物化合物**46**，同時觀測到化合物**45**水解。註釋：藉由UPLC-MS，化合物**46**及水解產物具有相同滯留時間。用AcOH淬滅反應物且在真空中濃縮，接著藉由管柱層析(0-5% MeOH/DCM)純化。濃縮含有化合物**46**及50%化合物**13b**雜質之級分，得到白色固體(46 mg, 50% w/w, 0.018 mmol, 46%)。LC-MS (方法E)：t_R = 1.32分鐘；MS (m/z) [M + H]⁺計算值C₆₃H₆₁N₆O₂₂ 1253.38，實測值1253.47。

合成实例211

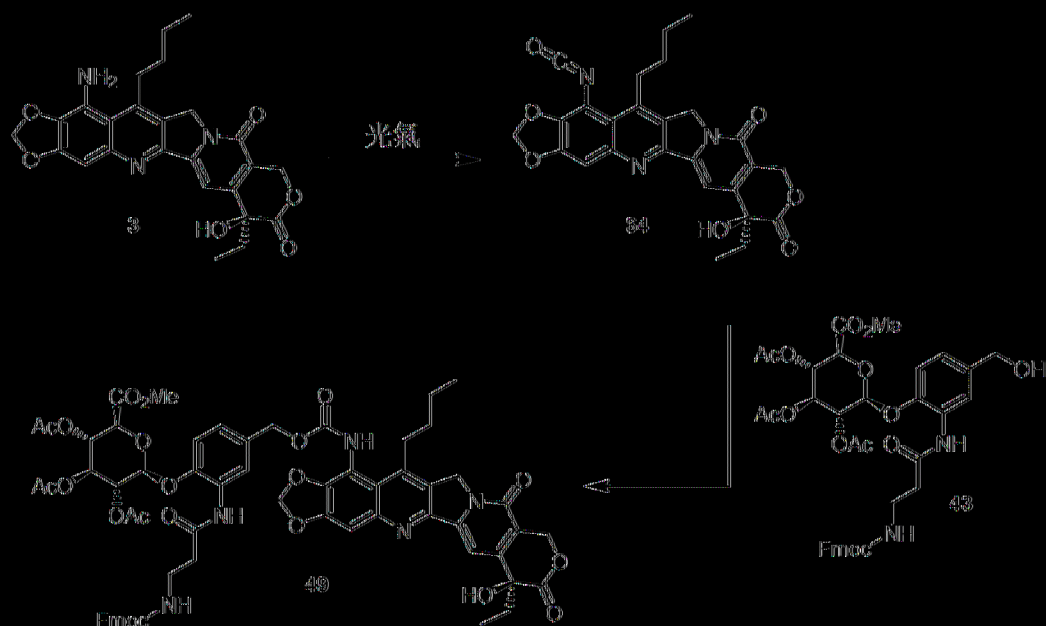


合戒實例28



Max. RP C12)再純化並凍乾產物，凍乾含有所需產物之級分，得到呈黃色固體狀之化合物48 (1.33 mg, 1.28 μ mol, 13.5%)。LC-MS (方法D)： t_R = 1.08分鐘；MS (m/z) [M+H]⁺計算值[C₄₈H₄₈N₇O₂₀] 1042.30，實測值1042.19。

合成實例29

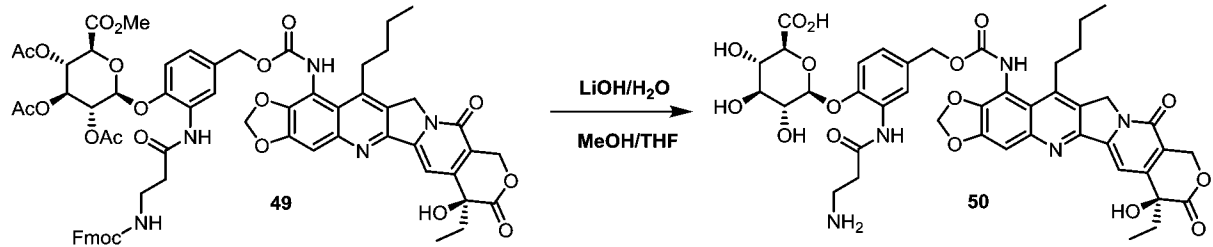


(0/61) 向火焰乾燥之燒瓶中裝入化合物3 (30 mg, 65 μ mol)，且用N₂吹掃。添加無水DCM (3.25 mL)，繼而添加光氣(20%，於甲苯中，1.2 mL)。將反應物加蓋且攪拌24小時。藉由將反應混合物摻入MeOH中且觀測胺基甲酸甲酯衍生物來確認異氰酸酯形成。LC-MS (方法A)： t_R = 1.58分鐘；MS m/z (ESI)實測值522.32。在N₂流下將反應物攪拌至乾，置於高真空下1小時，得到化合物64，其未經進一步純化即繼續使用。

(0/62) 將根據Bioconjugate Chem. (2006) 17: 831-840之程序製備之化合物43 (103 mg, 138 μ mol)溶解於無水DMF (1.5 mL)中，且添加至裝有化合物64 (32 mg, 65 μ mol)之燒瓶中。在N₂下攪拌反應物24小時，接著在真空中濃縮至乾。將粗混合物負載至1 mM析析板(chromatotron plate)。且用DCM/MeOH (1%、

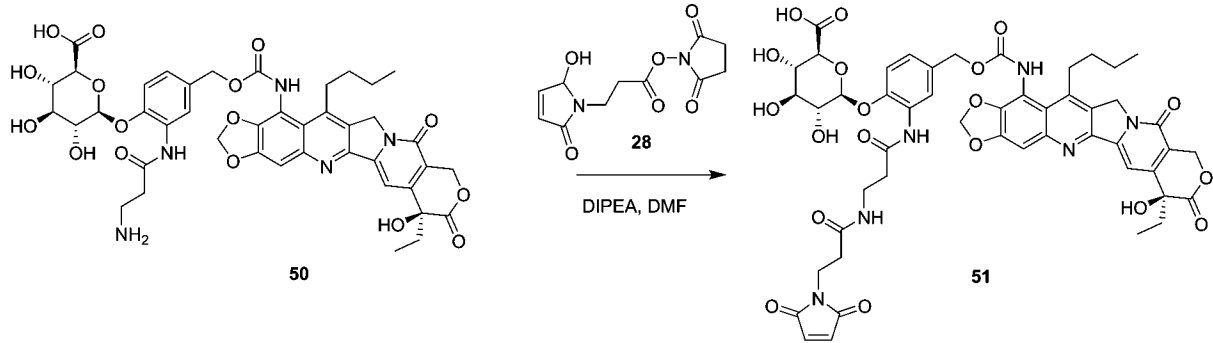
2%、3% MeOH梯度)溶離，得到化合物**49** (25 mg，31%)。LC-MS (方法A)： $t_R = 2.23$ 分鐘，MS (m/z)計算值1238.22 (M+H)⁺，實測值1238.40。

合成實例30



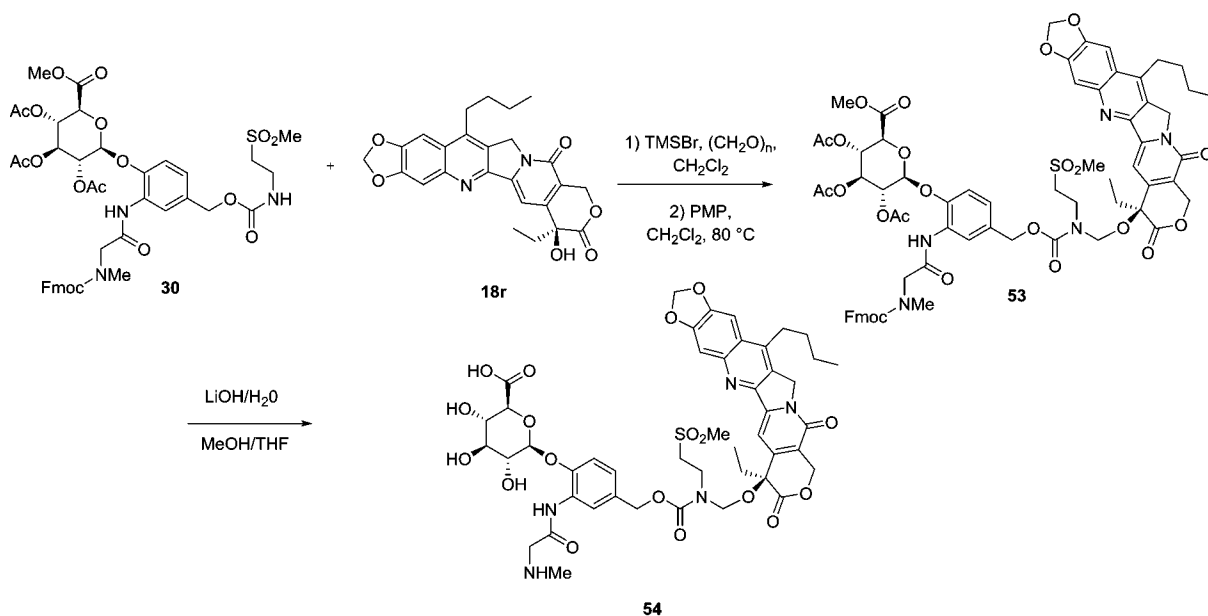
【0763】將化合物**49** (**3**，41 mg，33 μ mol)溶解於MeOH (1.1 mL)及THF (1.1 mL)中，接著冷卻至0℃。將LiOH單水合物(14 mg，333 μ mol)溶於H₂O (1.1 mL)中，接著在攪拌下逐滴添加至反應物中。使反應物升溫至室溫且在4.5小時後停止。在真空中移除MeOH及THF，添加DMSO以溶解，接著藉由製備型HPLC純化反應物，得到化合物**50** (9 mg，31%)。LC-MS (方法A)： $t_R = 1.16$ 分鐘；MS m/z (ES+)實測值876.23。

合成實例31



【0764】將3-(順丁烯二醯亞胺基)丙酸N-羥基丁二醯亞胺酯(**28**)溶解於無水DMF中且添加至化合物**50**中以達到30 mM最終濃度，繼而添加DIPEA。藉由LC-MS監測反應物。完成後，用乙酸中和溶液，濃縮，接著藉由製備型HPLC純化，得到化合物**51**。LC-MS (方法A)： $t_R = 1.36$ 分鐘，MS (m/z)計算值1026.96 (M+H)⁺，實測值1027.21。

合成實例32

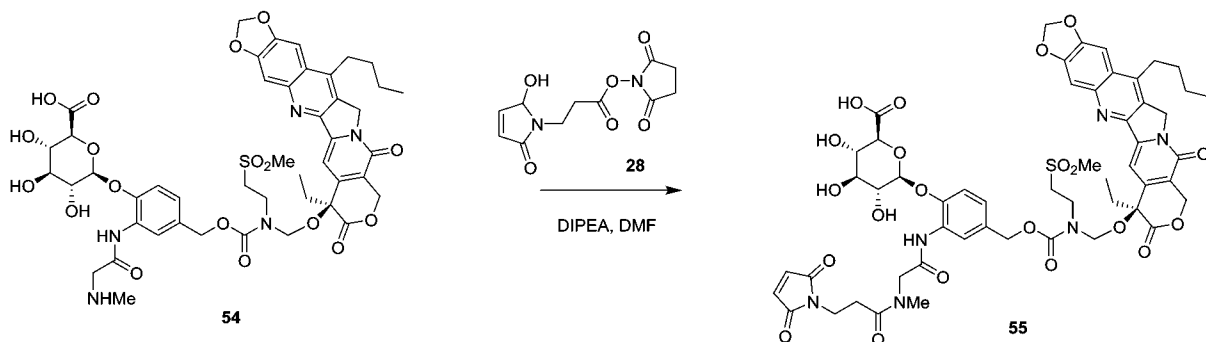


【0765】 在烘乾燒瓶中，將如實例21所述製備之化合物**30** (162 mg，180 μmol)溶解於無水二氯甲烷(1 mL)中，繼而添加多聚甲醛(10.8 mg，0.36 mmol)及TMSBr (250 μL ，1.40 mmol)。在室溫下攪拌溶液10分鐘，同時藉由用甲醇淬滅進行監測且藉由LC-MS觀測甲醇加合物之形成。過濾反應物，用無水甲苯及二氯甲烷洗滌，且在真空中乾燥3個循環，得到粗產物，其未經進一步純化即用於後續反應中。將粗化合物再溶解於無水二氯甲烷中，且添加至根據Bioconjugate Chem. (2009) 20: 1242-1250中之程序製備之化合物**18r** (32.3 mg，72 μmol)中，繼而添加1,2,2,6,6-五甲基哌啶(PMP，200 μL ，0.96 mmol)。將反應物加蓋，在80 $^{\circ}\text{C}$ 下微波處理2小時，且藉由LC-MS監測。完成後，移除溶劑且藉由製備型HPLC純化，得到所需產物，化合物**53**。MS (m/z)計算值1358.39 ($M+H$) $^{+}$ ，實測值1358.03。

【0766】 將粗化合物**53**溶解於MeOH及THF中，且冷卻至0 $^{\circ}\text{C}$ 。將含LiOH之H $_2$ O緩慢添加至反應燒瓶中以達到10 mM最終濃度。將反應物升溫至室溫，且

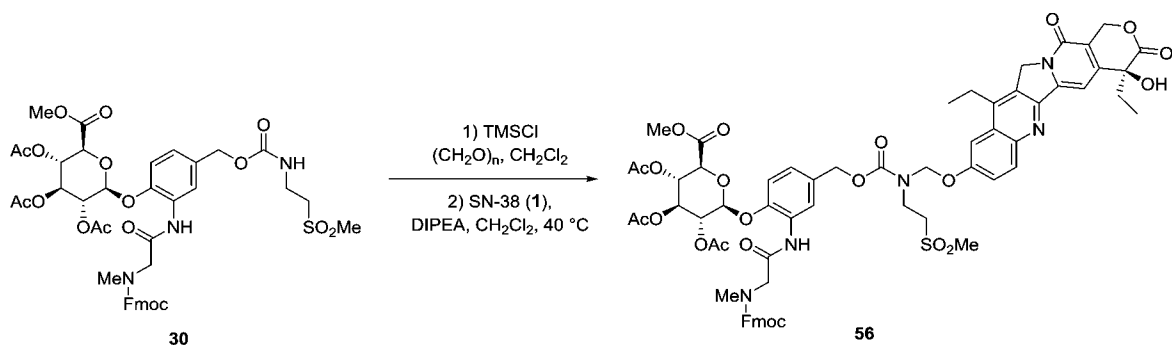
藉由LC-MS監測。完成後，用乙酸中和溶液，濃縮，接著藉由製備型HPLC純化，得到化合物**54**。MS (m/z)計算值996.01 (M+H)⁺，實測值996.36。

合成實例33



【0767】 將3-(順丁烯二醯亞胺基)丙酸N-羥基丁二醯亞胺酯(**28**)溶解於無水DMF中且添加至化合物**54**中以達到30 mM最終濃度，繼而添加DIPEA。藉由LC-MS監測反應物。完成後，用乙酸中和溶液，濃縮，接著藉由製備型HPLC純化，得到化合物**55**。LC-MS (方法A)：t_R = 1.75分鐘，MS (m/z)計算值1147.13 (M+H)⁺，實測值1147.02。

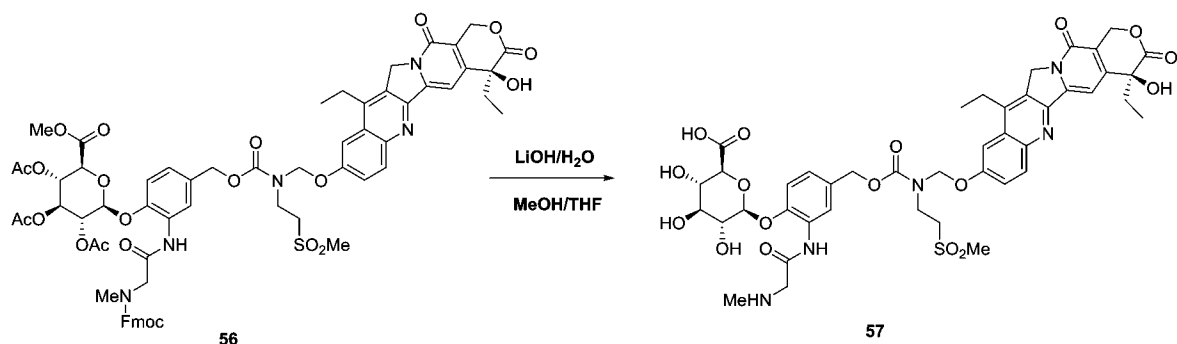
合成實例34



【0768】 在烘乾燒瓶中，將如實例21所述製備之化合物**30** (1235 mg，1.38 mmol)溶解於無水二氯甲烷(5 mL)中，繼而添加多聚甲醛(13.8 mg，0.46 mmol)及TMSCl (1.0 mL，7.88 mmol)。在室溫下攪拌溶液30分鐘，同時藉由用甲醇淬滅進行監測且藉由LC-MS觀測甲醇加合物之形成。甲醇加合物之MS (m/z)計算值942.29 (M+H)⁺，實測值942.28。過濾反應物，用無水甲苯及二氯甲烷洗滌，且

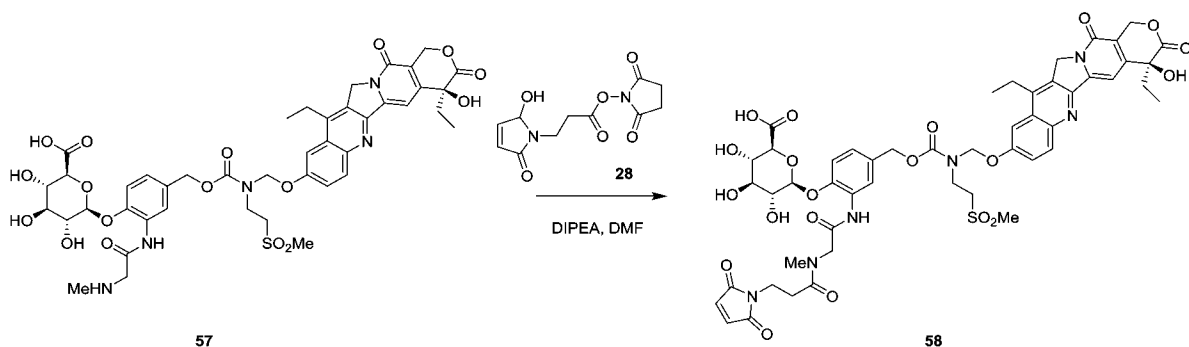
在真空中乾燥3個循環。將粗產物溶解於無水二氯甲烷(6 mL)及DIPEA (359 μ L, 2.06 mmol)中，且添加至含有SN-38 (化合物**1**, 90 mg, 0.23 mmol)之燒瓶中。將反應物加蓋且在40°C下攪拌18小時。在二氧化矽上經由Biotage急驟管柱層析($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 0-10%)純化反應混合物，得到化合物**56**。MS (m/z)計算值1302.40 ($\text{M}+\text{H}^+$)，實測值1302.36。

合成實例35



【0769】將化合物**56** (282.6 mg, 0.22 mmol)溶解於THF及MeOH中且在冰浴中冷卻至0°C。將LiOH (91.1 mg, 2.17 mmol)溶解於H₂O中且逐滴添加。在室溫下攪拌反應物且在45分鐘內完成。用乙酸中和反應物，濃縮，且直接藉由製備型HPLC純化，得到化合物**57**。

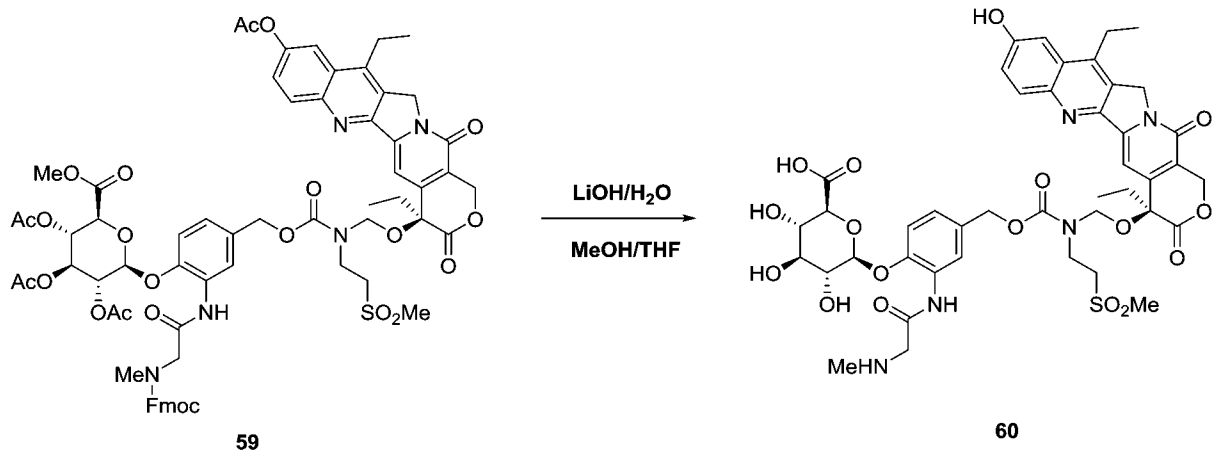
合成實例36



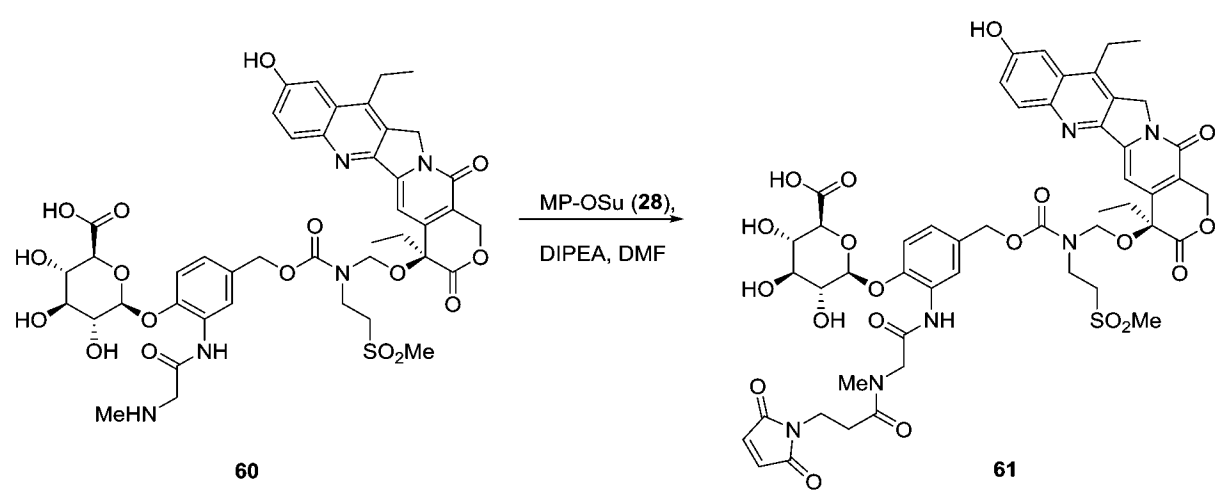
【0770】將3-(順丁烯二醯亞胺基)丙酸N-羥基丁二醯亞胺酯(**28**)溶解於DMF及DIPEA中，且添加至化合物**57**中。攪拌反應物3小時直至藉由LC-MS監測

mmol)。在室溫下攪拌溶液10分鐘，同時藉由用甲醇淬滅進行監測且藉由LC-MS觀測甲醇加合物之形成。過濾反應物，用無水甲苯及二氯甲烷洗滌，且在真空中乾燥3個循環。將粗產物溶解於無水二氯甲烷中且添加至化合物**19** (90.0 mg，0.21 mmol)中，繼而添加1,2,2,6,6-五甲基哌啶(3.90 mL，1.86 mmol)。將反應物加蓋且在40°C下攪拌18小時。在二氧化矽上經由Biotage急驟管柱層析(CH₂Cl₂/MeOH，0-10%)純化反應混合物，得到化合物**59**。MS (m/z)計算值1344.41 (M+H)⁺，實測值1344.46。

合成實例39

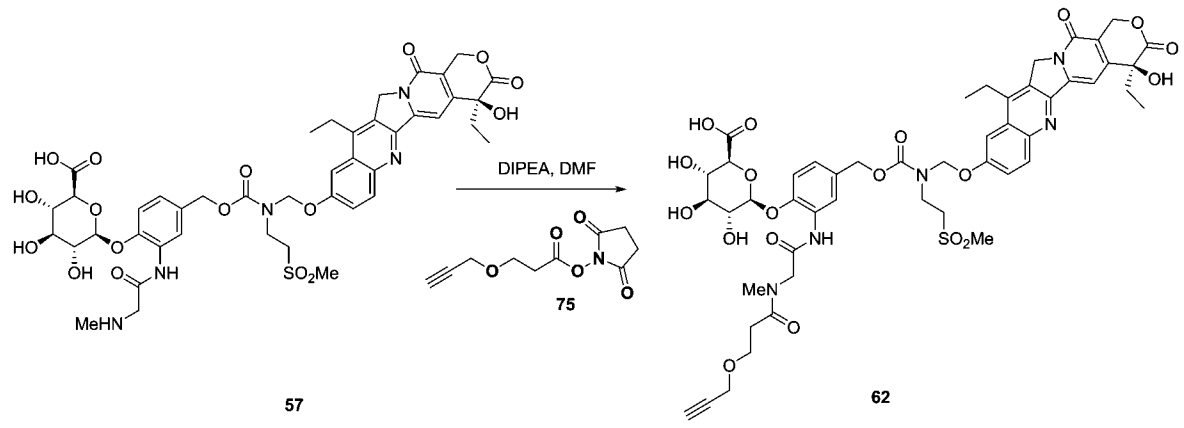


【0773】將化合物**59** (290.0 mg，0.22 mmol)溶解於THF及MeOH中且在冰浴中冷卻至0°C。將LiOH (90.5 mg，2.16 mmol)溶解於H₂O中且逐滴添加。在室溫下攪拌反應物且在45分鐘內完成。用乙酸中和反應物，濃縮，且直接藉由製備型HPLC純化，得到去保護之中間化合物**60**。



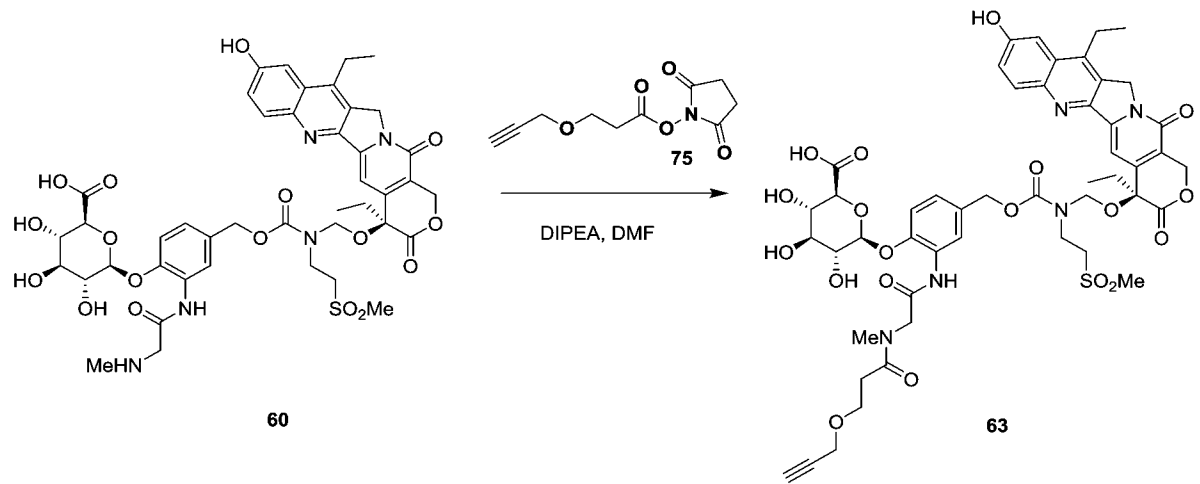
【0774】 將3-(順丁烯二醯亞胺基)丙酸N-羥基丁二醯亞胺酯(**28**) (稱作MP-OSu)溶解於DMF及DIPEA中，且添加至化合物**60**中。攪拌反應物3小時直至藉由LC-MS監測完成。用乙酸中和反應混合物且直接藉由製備型HPLC純化，得到化合物**61**。LC-MS (方法A)： $t_R = 1.42$ 分鐘，MS (m/z)計算值1091.31 (M+H)⁺，實測值1091.31。

合成實例40



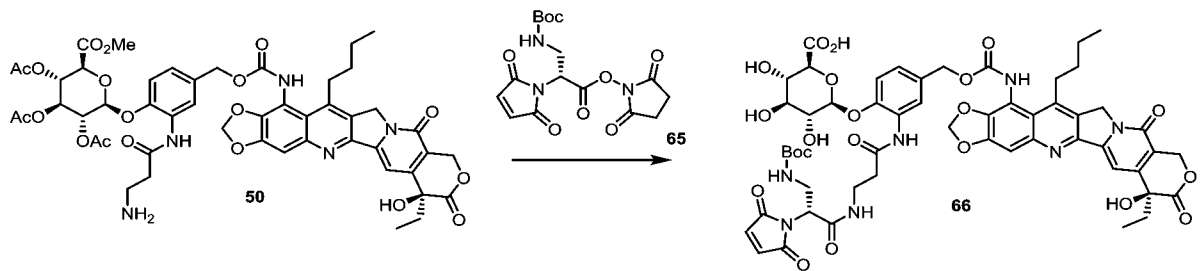
【0775】 將購自Click Chemistry Tools (CAS：1174157-65-3)之化合物**75** (3當量)溶解於DMF及DIPEA中，且添加至化合物**57**中。攪拌反應物3小時直至藉由LC-MS監測完成。用乙酸中和反應混合物且直接藉由製備型HPLC純化，得到化合物**62**。LC-MS (方法A)： $t_R = 1.43$ 分鐘，MS (m/z)計算值1050.06 (M+H)⁺，實測值1050.07。

合成實例41



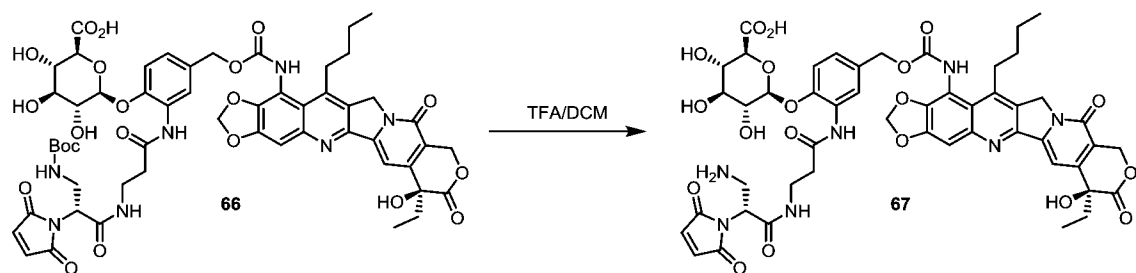
【0776】 根據實例37之程序製備化合物**63**。LC-MS (方法A)； $t_R = 1.44$ 分鐘；MS (m/z)計算值1050.06 ($M+H$)⁺，實測值1050。

合成實例41



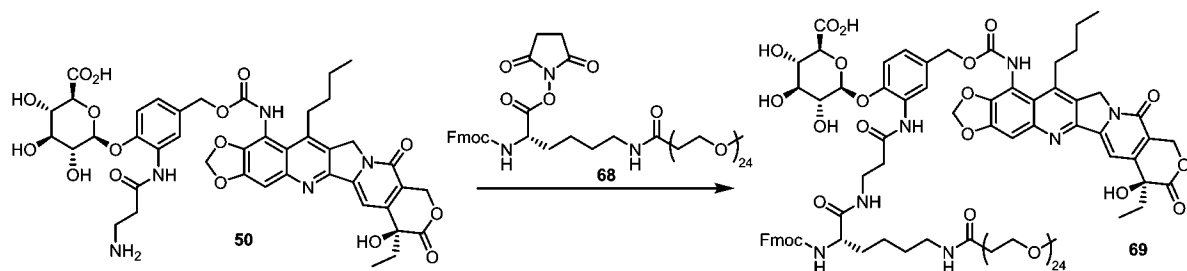
【0777】 根據Nature Biotechnology (2014) **32**: 1059-1065之程序製備之化合物**65** (6 mg，16 μ mol) (稱作mDPR(Boc)-OSu)溶解於無水DMF (0.25 mL)中，且添加至含有根據實例30之程序製備之化合物**50** (9 mg，10 μ mol)的燒瓶中。攪拌反應物，同時添加DIPEA (9 μ L)，且1.5小時內反應完成。接著用AcOH (9 μ L)淬滅反應物，在DMSO中稀釋，接著藉由製備型HPLC純化，得到化合物**66** (7 mg，61%)。LC-MS (方法A)： $t_R = 1.57$ 分鐘；MS m/z (ES+)實測值1143.51。

合成實例43



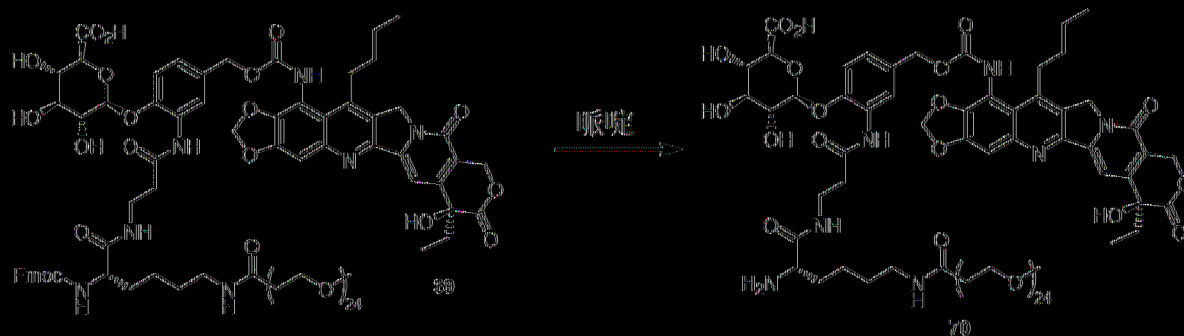
【0778】 在0℃下於無水DCM (0.54 mL)中攪拌化合物**66** (7 mg, 6 μ mol), 繼而逐滴添加TFA (0.06 mL)。在2.5小時內反應完成。在DMSO中稀釋反應物, 在真空中移除DCM, 接著藉由製備型HPLC純化, 得到化合物**67** (4 mg, 64%)。LC-MS (方法A): t_R = 1.18分鐘; MS m/z (ES+)實測值1041.22。

合成實例44



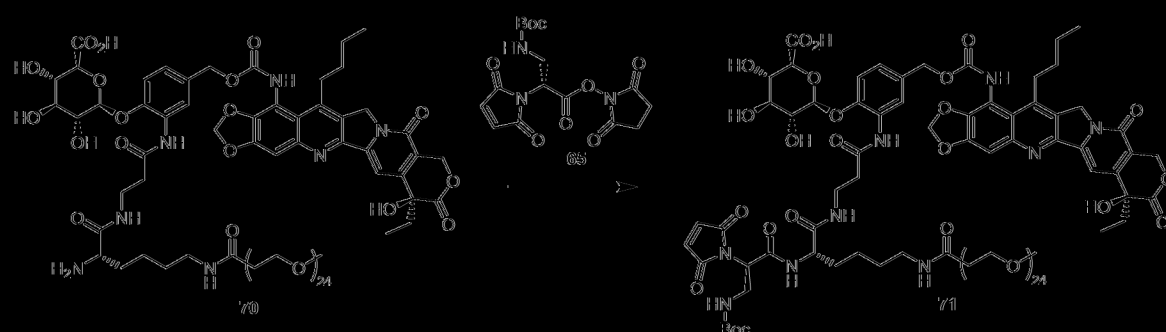
【0779】 將稱作Fmoc-Lys(PEG24)-OSu且根據WO 2017165851之程序製備之化合物**68** (86 mg, 56 μ mol)溶於無水DMF (0.93 mL)中, 且添加至裝有根據實例30之程序製備之化合物**50** (32 mg, 37 μ mol)的燒瓶中。添加DIPEA (32 μ L), 攪拌反應物1小時, 在DMSO中稀釋且藉由製備型HPLC純化, 得到化合物**69** (25 mg, 29%)。LC-MS (方法A): t_R = 1.68分鐘; MS m/z (ES+)實測值1163.50 (1/2質量)。

合成實例45



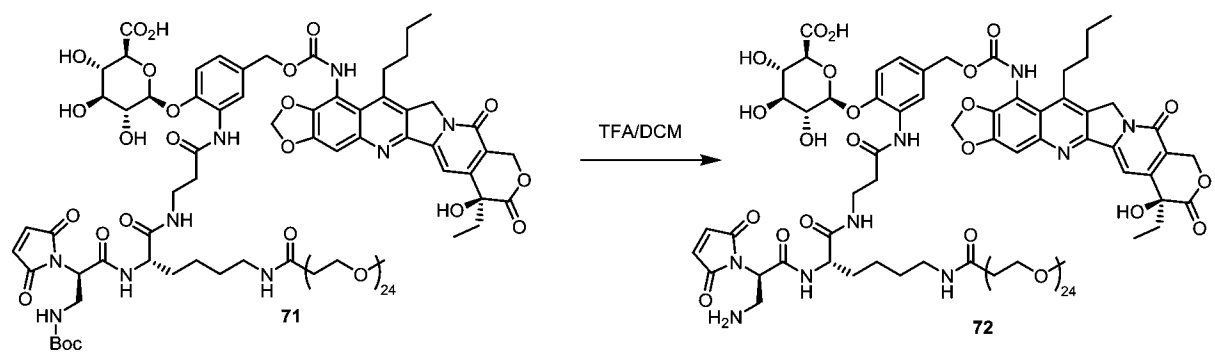
(O/80) 將化合物69 (10,25 mg, 11 μ mol)溶於含20%哌啶之DMF (0.55 mL)中且攪拌1小時。接著在DMSO中稀釋反應物且藉由製備型C18PLC純化，得到化合物70 (22 mg, 95%)。LC-MS (方法A): t_R : 1.31分鐘，MS m/z (ESI)實測值1052.41 (½質量)。

合成實例16



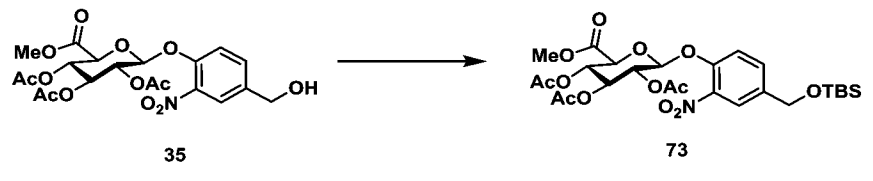
(O/81) 將化合物65 (8 mg, 21 μ mol) (稱作mDPr(Boc)-OSu)溶解於DMF (0.2 mL)中，接著轉移至含有化合物70 (11, 22 mg, 10 μ mol)之燒瓶中，繼而添加DMPEA (9 μ L)。攪拌反應物3小時，用AcOH (9 μ L)淬滅，在DMSO中稀釋，且藉由製備型C18PLC純化，得到化合物71 (12 mg, 51%)。LC-MS (方法A): t_R : 1.58分鐘；MS m/z (ESI)實測值1185.52 (½質量)。

合成實例17



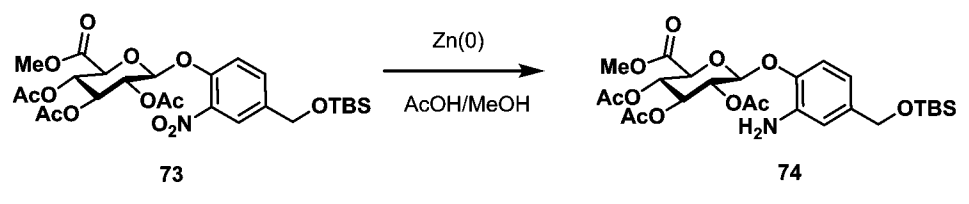
【0782】 將化合物**71**溶解於無水DCM (0.45 mL)中且冷卻至0°C。添加TFA (0.05 mL)且攪拌反應物3小時。接著用DMSO稀釋反應物，在真空中移除DCM，接著藉由製備型HPLC純化，得到化合物**72** (10 mg，88%)。LC-MS (方法A)：t_R= 1.32分鐘；MS m/z (ES+)實測值1135.85 (½質量)。

合成實例48



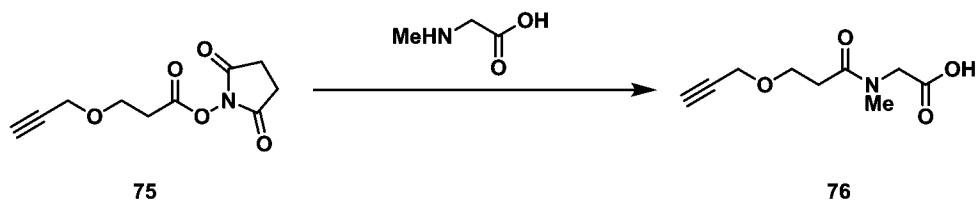
【0783】 將根據Bioconjugate Chem. (2006) **17**: 831-840中之程序製備之化合物**35** (660 mg，1.36 mmol)溶解於DCM (5 mL)中。添加DIPEA (0.71 mL，4.1 mmol)，繼而緩慢添加TBSOTf (0.34 mL，1.5 mmol)。攪拌反應物5分鐘，用MeOH淬滅且在真空中濃縮。藉由管柱層析(25G KP-Sil 10-80% EtOAc/己烷)純化粗產物。在真空中濃縮含有所需產物之級分，得到呈無色固體狀之化合物**73** (731 mg，1.22 mmol，90%)。LC-MS (方法A)：t_R = 2.44分鐘；MS (m/z) [M + Na]⁺計算值C₂₆H₃₇NNaO₁₃Si 622.19，實測值622.10。

合成實例49



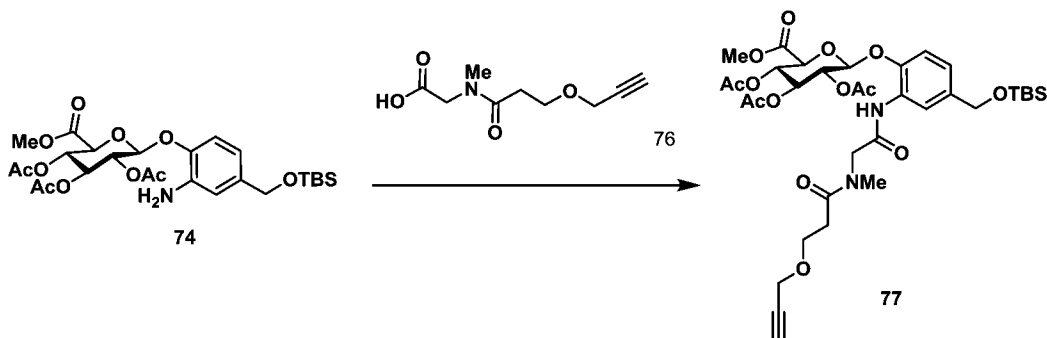
【0784】將化合物**73** (731 mg, 1.22 mmol)溶解於5:1 MeOH:AcOH (10 mL)中。將鋅粉(2.39 g, 36.6 mmol)添加至反應物中。攪拌反應物10分鐘，接著經矽藻土床過濾且用MeOH沖洗。濃縮溶離液且藉由管柱層析(25G KP-Sil 10-100% EtOAc/己烷)純化。濃縮含有所需產物之級分，得到呈無色固體狀之化合物**74** (693 mg, 1.22 mmol, 99%)。LC-MS (方法A)： t_R = 2.40分鐘；MS (m/z) $[M + H]^+$ 計算值 $C_{26}H_{40}NO_{11}Si$ 570.24，實測值571.08。

合成實例50



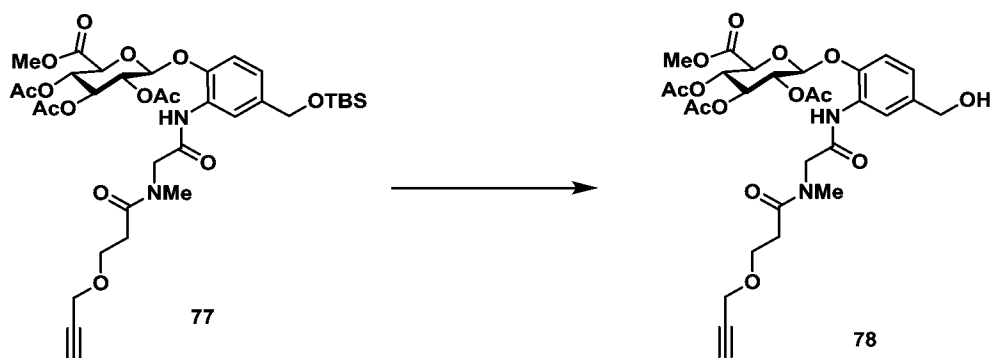
【0785】將稱作PropargOPr且獲自Click Chemistry Tools (CAS：1174157-65-3)之化合物**75** (1.05 g, 4.66 mmol)溶解於DMF (10 mL)中。添加H-Sar-OH (831 mg, 9.33 mmol) (其為N-甲基甘胺酸)及DIPEA (2.4 mL, 14 mmol)。攪拌反應物45分鐘，用AcOH淬滅，且藉由製備型HPLC純化。濃縮含有所需產物之級分，得到呈無色固體狀之化合物**76** (821.3 mg, 4.12 mmol, 88%)。LC-MS (方法A)： t_R = 0.81分鐘；MS (m/z) $[M + H]^+$ 計算值 $C_9H_{14}NO_4$ 200.09，實測值199.72。

合成實例51



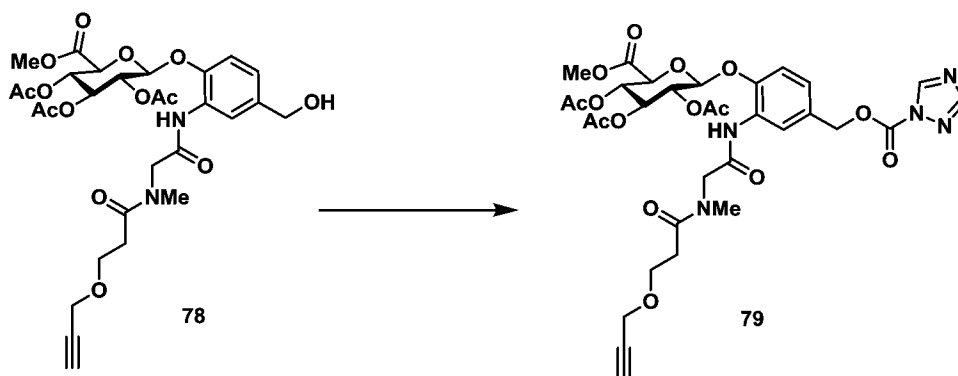
【0786】將來自實例49之化合物**74** (636 mg, 1.22 mmol)溶解於DMF (5 mL)中。將DIPEA (1.06 mL, 6.08 mmol)、來自實例50之化合物**76** (727 mg, 3.65 mmol)及HATU (1.38 g, 3.65 mmol)添加至反應物中。攪拌反應物90分鐘，接著在EtOAc (200 mL)中稀釋，用飽和NaHCO₃ (200 mL)及H₂O (2 × 200 mL)洗滌。經MgSO₄乾燥有機部分，過濾，且在真空中濃縮。藉由管柱層析(10-80% EtOAc/己烷)純化粗產物。濃縮含有所需產物之級分，得到呈無色固體狀之化合物**77** (823 mg, 1.10 mmol, 90%)。LC-MS (方法A)：t_R = 2.34分鐘；MS (m/z) [M + H]⁺計算值C₃₅H₅₁N₂O₁₄Si 751.31，實測值751.22。

合成實例52



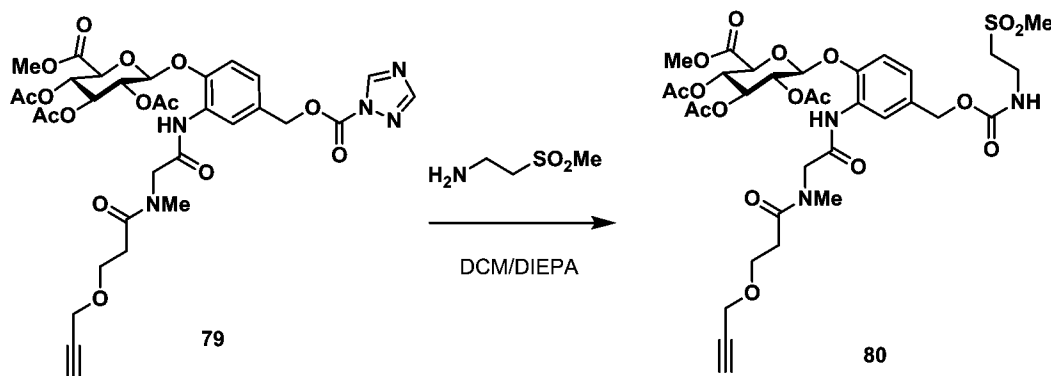
【0787】將化合物**77** (823 mg, 1.10 mmol)溶解於1:1:1 THF:H₂O:AcOH中且在室溫下攪拌24小時。在真空中濃縮反應物，用EtOAc (200 mL)稀釋，用飽和NaHCO₃ (3 × 200 mL)洗滌，經MgSO₄乾燥，過濾且在真空中濃縮，得到呈無色固體狀之化合物**78** (601 mg, 0.944 mmol, 86%)。LC-MS (方法A)：t_R = 1.55分鐘；MS (m/z) [M + H]⁺計算值C₂₉H₃₇N₂O₁₄ 637.22，實測值637.04。

合成實例53



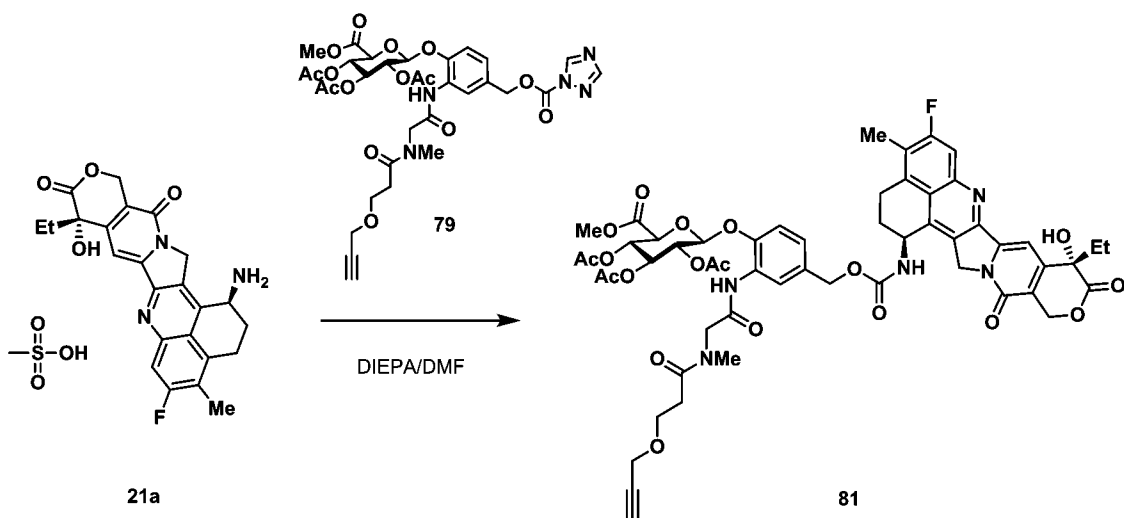
【0788】 將化合物**78** (300 mg, 0.47 mmol)溶解於DCM (2 mL)中。添加1,1'-羰基-二(1,2,4-三唑) (232 mg, 1.41 mmol)。攪拌反應物30分鐘，接著稀釋至EtOAc (50 mL)中，用H₂O (3 × 50 mL)洗滌，經MgSO₄乾燥，過濾且在真空中濃縮，得到呈無色固體狀之化合物**79** (340 mg, 0.465 mmol, 99%)，其未經純化即用於後續步驟中。LC-MS (方法A)：t_R = 1.68分鐘；MS (m/z) [M + H]⁺計算值C₃₂H₃₈N₅O₁₅ 732.24，實測值732.11。

合成實例54



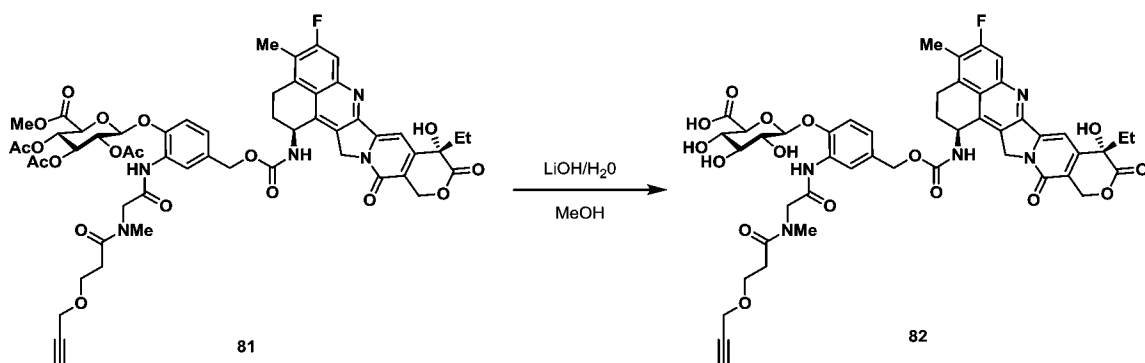
【0789】 將化合物**79** (200 mg, 0.273 mmol)溶解於DCM (2 mL)中。將購自Enamine之2-(甲基磺醯基)-乙胺(54 μL, 0.547 mmol)及DIPEA (0.14 mL, 0.82 mmol)添加至反應物中。攪拌反應物10分鐘，接著稀釋至EtOAc (50 mL)中，用1M HCl (3 × 50 mL)、H₂O (50 mL)洗滌，經MgSO₄乾燥，過濾，且在真空中濃縮，得到呈無色固體狀之化合物**80** (210 mg, 0.267 mmol, 98%)。LC-MS (方法A)；t_R = 1.64分鐘；MS (m/z) [M + H]⁺計算值C₃₃H₄₄N₃O₁₇S 786.24，實測值786.14。

合成實例55



【0790】 將甲磺酸依喜替康(**21a**，10.0 mg，0.0188 mmol)溶解於無水DMF (0.5 mL)中。將DIPEA (16 μ L，0.094 mmol)及化合物**79** (41.3 mg，0.0564 mmol)添加至反應物中。在60℃下加熱反應物5小時。用AcOH淬滅反應物且藉由製備型HPLC純化。凍乾含有所需產物之級分，得到呈黃色粉末狀之化合物**81** (1.4 mg，1.3 μ mol，6.8%)。LC-MS (方法A)： t_R = 2.10分鐘；MS (m/z) $[M + H]^+$ 計算值 $C_{54}H_{57}N_5FO_{19}$ 1098.36，實測值1098.51。

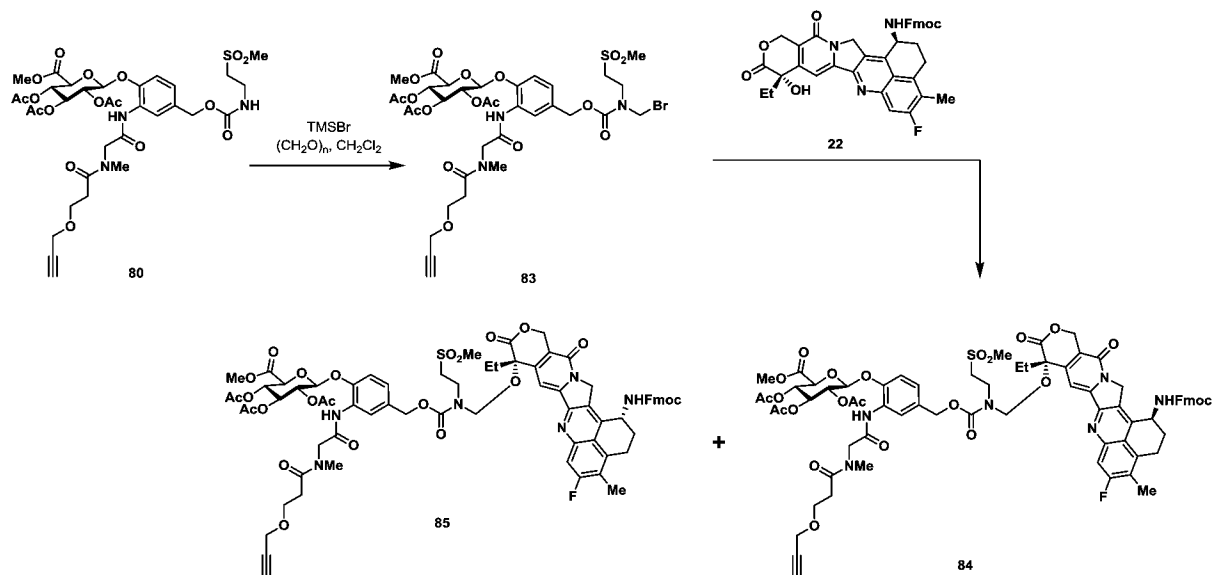
合成實例56



【0791】 將化合物**81** (1.4 mg，1.3 μ mol)溶解於MeOH (0.5 mL)中。添加LiOH (5 mg，0.209 mmol)，且對反應物進行超音波處理以有助溶解並攪拌5分鐘。將H₂O (0.5 mL)添加至反應物中且攪拌5分鐘，接著用AcOH淬滅並在真空中

濃縮。藉由製備型HPLC (10 mm 5-95% MeCN/H₂O)純化反應物。凍乾含有所需產物之級分，得到呈黃色粉末狀之化合物**82** (0.7 mg, 0.7 μmol, 57%)。LC-MS (方法A)：t_R = 1.62分鐘。MS (m/z) [M + H]⁺計算值C₄₇H₄₉FN₅O₁₆ 958.32，實測值958.62。

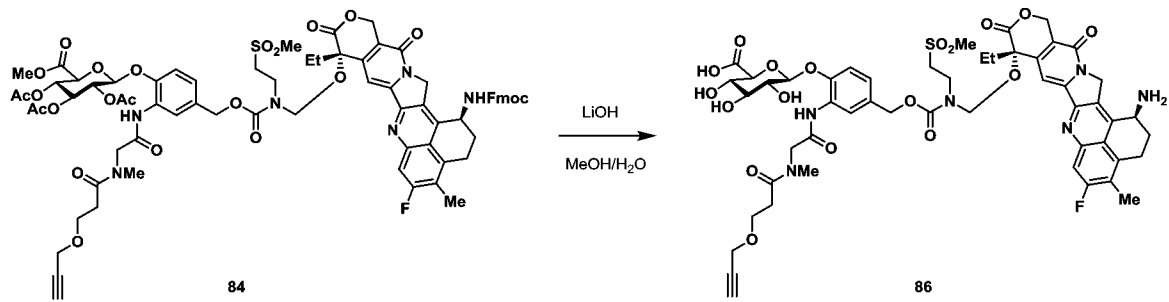
合成實例57



【0792】將化合物**80** (50.0 mg, 0.0636 mmol)溶解於DCM (1 mL)中。將多聚甲醛(100 mg, 3.3 mmol)添加至反應物中，繼而添加TMSBr (21 μL, 0.16 mmol)。攪拌反應物15分鐘。在MeOH中淬滅等分試樣，且藉由UPLC-MS觀測到完全轉化為MeOH加合物。經0.45 μm PTFE過濾器過濾反應物，用DCM (2 × 2 mL)沖洗，且添加甲苯(2 mL)以共沸得到最終混合物。濃縮溶離液，得到呈無色固體狀之化合物**83**，其立即用於下一步驟中。

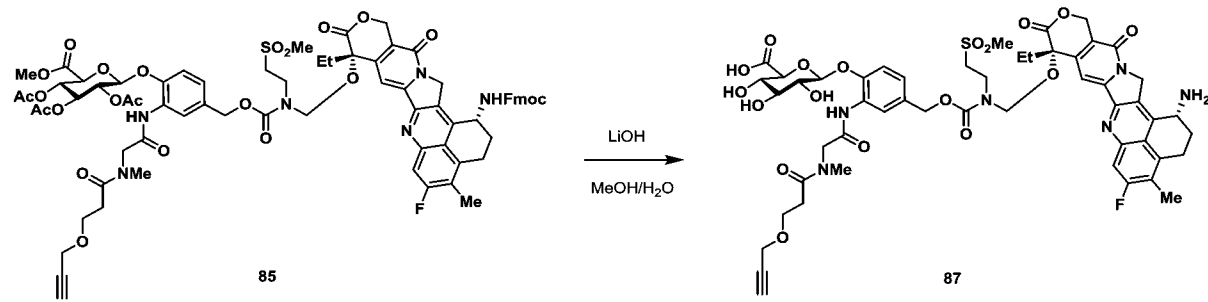
【0793】將化合物**83** (0.0636 mmol)溶解於無水DCM (0.5 mL)中。將1,2,2,6,6-五甲基哌啶(21 μL, 0.11 mmol)添加至反應物中，且將反應溶液直接添加至化合物**22**固體(12.0 mg, 0.0183 mmol)中。在室溫下攪拌反應物3.5小時，此時藉由UPLC-MS觀測到完全轉化。用AcOH淬滅反應物，濃縮且藉由製備型

HPLC (21 mm 10-95% MeCN/H₂O)純化。濃縮含有所需產物之級分，得到呈黃色固體狀之化合物**84** (5.4 mg, 3.7 μmol, 20%)。LC-MS (方法A)：t_R = 2.30分鐘；MS (m/z) [M + H]⁺計算值C₇₃H₇₆FN₆O₂₃S 1455.47，實測值1455.43。在真空中濃縮含有所觀測之產物(據推測為依喜替康Fmoc保護之胺的差向異構化)之級分，得到呈黃色固體狀之化合物**85** (2.1 mg, 1.4 μmol, 8%)。LC-MS (方法A)：t_R = 2.33分鐘；MS (m/z) [M + H]⁺計算值C₇₃H₇₆FN₆O₂₃S 1455.47，實測值1455.63。



【0794】將化合物**84** (5.4 mg, 3.7 μmol)溶解於MeOH (1 ml)中。添加LiOH (25 mg)且對反應物進行超音波處理以有助溶解。攪拌反應物10分鐘，且添加H₂O (1 mL)並再攪拌20分鐘。用AcOH淬滅反應物，濃縮，且藉由製備型HPLC (10 mm 5-60-95% MeCN/H₂O 0.05% TFA)純化。凍乾含有所需產物之級分，得到呈黃色粉末狀之化合物**86** (1.96 mg, 1.79 μmol, 48%)。LC-MS (方法A)：t_R = 1.22分鐘；MS (m/z) [M + H]⁺計算值C₅₁H₅₈FN₆O₁₈S 1093.35，實測值1093.56。

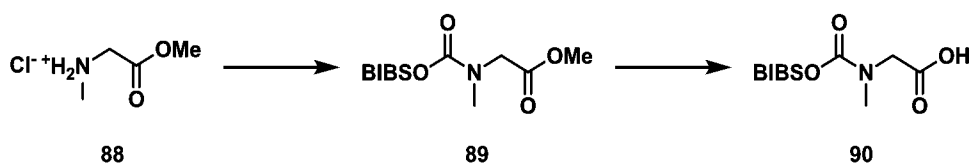
合成實例58



【0795】將來自實例57之化合物**85** (2.1 mg, 1.4 μmol)溶解於MeOH (1 mL)中。添加LiOH (25 mg)且對反應物進行超音波處理以有助溶解。攪拌反應物10

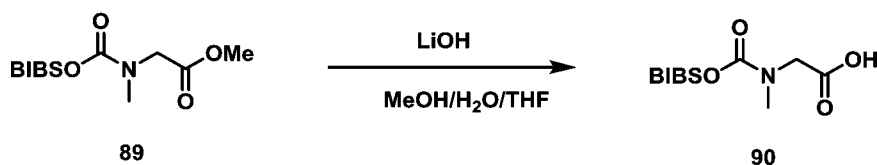
分鐘，且添加H₂O (1 mL)並再攪拌20分鐘。用AcOH淬滅反應物，濃縮，且藉由製備型HPLC (10 mm 5-60-95% MeCN/H₂O 0.05% TFA)純化。凍乾含有所需產物之級分，得到呈黃色粉末狀之化合物**87** (0.98 mg, 0.90 μmol, 62%)。LC-MS (方法A)：t_R = 1.40分鐘；MS (m/z) [M + H]⁺計算值C₅₁H₅₈FN₆O₁₈S 1093.35，實測值1093.18。

合成實例59



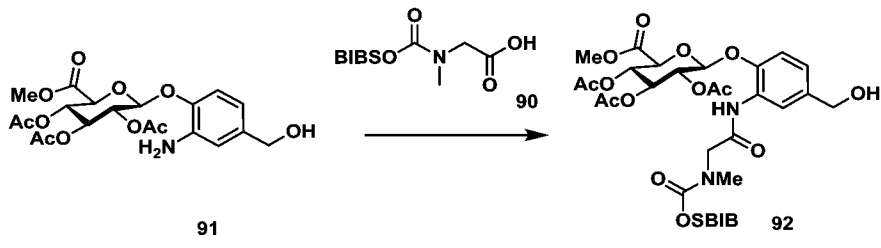
【0796】將肌胺酸甲酯HCl (**88**，5.00 g，35.8 mmol)懸浮於無水DCM (100 mL)中。添加DIPEA (18.7 mL，107.5 mmol)，且對反應物進行超音波處理並劇烈攪拌以溶解H-Sar-OMe。溶液略微不透明。將CO₂鼓泡通過反應物持續30分鐘。將購自Gelest, Inc.之三氟甲烷磺酸二-三級丁基異丁基矽烷酯(BIBSOTf，20 mL，72 mmol)添加至反應物中且攪拌1小時。將乾冰粒添加至反應混合物中。停止鼓泡後，濃縮反應物，用己烷(200 mL)稀釋，用1M HCl水溶液(3 × 200 mL)洗滌，經MgSO₄乾燥，過濾且在真空中濃縮。藉由管柱層析(0-10% EtOAc/己烷)純化粗產物。在9:1己烷:EtOAc染色劑KMnO₄中，R_f = 0.25。在真空中濃縮含有所需產物之級分，得到呈無色油狀之化合物**89** (10.38 mg, 30.03 mmol, 84%)。LC-MS (方法C)：t_R = 1.67分鐘；MS (m/z) [M + H]⁺計算值C₁₇H₃₆NO₄Si 346.24，實測值346.99。

合成實例60



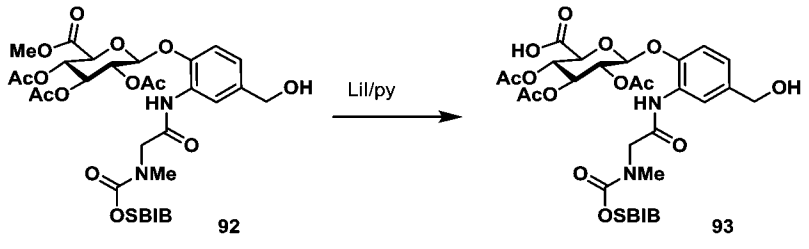
【0797】 將化合物**89**溶解於1:1:1 THF:MeOH:H₂O (60 mL)中。添加LiOH (1.80 g, 75.1 mmol)且攪拌反應物10分鐘，此時藉由UPLC-MS觀測到完全轉化。用AcOH淬滅反應物，在真空中濃縮且藉由管柱層析(0-10% MeOH/DCM)純化。在真空中濃縮含有所需產物之級分，得到呈無色固體狀之化合物**90** (8.79 mg, 26.5 mmol, 88%)。LC-MS (方法C)：t_R = 1.50分鐘；MS (m/z) [M + H]⁺計算值 C₁₆H₃₄NO₄Si 332.23，實測值331.86。

合成實例61



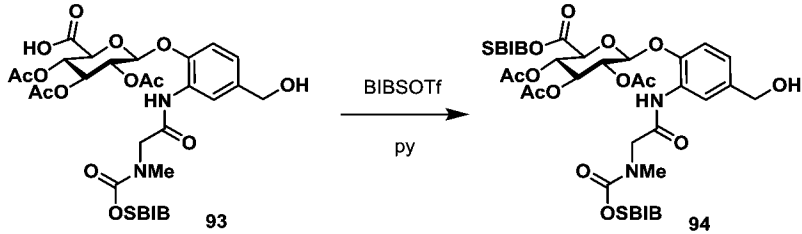
【0798】 將根據Bioconjugate Chem. (2006) 17: 831-840之方法製備之化合物**91** (4.00 g, 8.78 mmol)溶解於DCM (10 mL)中。添加來自實例60之BIBS-Sar-OH (**90**, 5.82 g, 17.6 mmol)，繼而添加EEDQ (6.52 g, 26.4 mmol)。攪拌反應物90分鐘。用EtOAc (200 mL)稀釋反應物，用1M HCL水溶液(3 × 200 mL)、飽和NaHCO₃ (3 × 200 mL)、水(200 mL)洗滌，經MgSO₄乾燥，過濾且在真空中濃縮。藉由管柱層析(0-60% EtOAc/己烷)純化粗產物。在真空中濃縮含有所需產物之級分，得到呈無色固體狀之化合物**92** (5.16, 6.71 mmol, 76%)。LC-MS：t_R = 1.58分鐘；MS (m/z) [M + H]⁺計算值 C₃₆H₅₇N₂O₁₄Si 769.36，實測值769.29。

合成實例62



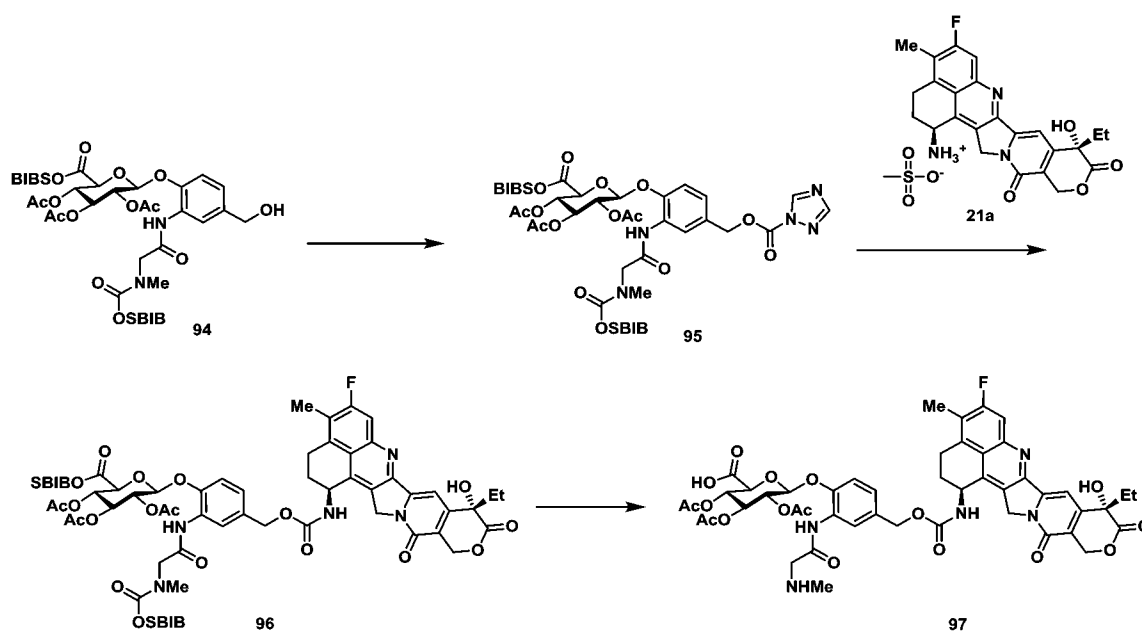
【0799】 將化合物**92** (2.70 g, 3.51 mmol)溶解於無水吡啶(10 mL)中。添加LiI (2.82 g, 21.1 mmol)，且將反應物密封並在115°C下加熱隔夜(約16小時)。用EtOAc (200 mL)稀釋反應物，用1M HCl水溶液(3 × 200 mL)洗滌，用H₂O洗滌，經MgSO₄乾燥，過濾且在真空中濃縮。藉由管柱層析(0-60% EtOAc/己烷)純化粗產物。在真空中濃縮含有所需產物之級分，得到呈無色固體狀之化合物**93** (2.06 g, 2.73 mmol, 78%)。LC-MS (方法C)：t_R = 1.50分鐘；MS (m/z) [M + H]⁺計算值C₃₅H₅₅N₂O₁₄Si 755.34，實測值755.32。

合成實例63



【0800】 將化合物**93** (700 mg, 0.927 mmol)溶解於吡啶(2 mL)中。添加購自Gelest Inc.之BIBSOTf (0.78 mL, 2.78 mmol)。攪拌反應物30分鐘，用EtOAc (50 mL)稀釋，用1M HCl (3 × 50 mL)洗滌，經MgSO₄乾燥，過濾且在真空中濃縮。藉由管柱層析(0-60% EtOAc/己烷)純化粗產物。在真空中濃縮含有所需產物之級分，得到呈無色固體狀之化合物**94** (723 mg, 0.758 mmol, 82%)。LC-MS (方法C)：t_R = 1.85分鐘；MS (m/z) [M + H]⁺計算值C₄₇H₈₁N₂O₁₄Si₂ 953.52，實測值953.34。

合成實例64

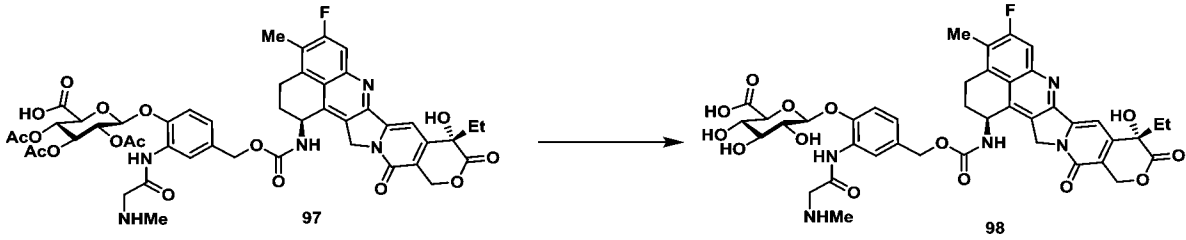


【0801】 將化合物**94** (723 mg, 0.758 mmol)溶解於DCM (2 mL)中，添加CDT (373 mg, 2.28 mmol)且攪拌反應物30分鐘。用EtOAc (50 mL)稀釋反應物，用H₂O (3 × 50 mL)洗滌，經MgSO₄乾燥，過濾且在真空中濃縮，得到呈無色固體狀之化合物**95** (790 mg, 0.753 mmol, 99%)，其未經進一步純化即用於下一步驟中。LC-MS (方法C)：t_R = 1.86分鐘；MS (m/z) [M + H]⁺計算值C₅₀H₈₂N₅O₁₅Si₂ 1048.53，實測值1049.29

【0802】 將化合物**95** (395 mg, 0.376 mmol)溶解於0.5 mL無水DMF中，且直接添加至甲磺酸依喜替康(**21-a**, 25 mg, 0.047 mmol)固體中，繼而添加DIPEA (0.081 mL, 0.47 mmol)。攪拌反應物隔夜(約15小時)。藉由UPLC-MS觀測到完全轉化。用EtOAc (20 mL)稀釋反應物，用飽和NH₄Cl (3 × 20 mL)洗滌，經MgSO₄乾燥，過濾且在真空中濃縮，得到呈粗產物形式之化合物**96**，其未經進一步純化即用於下一步驟中。LC-MS (方法C)：t_R = 1.89分鐘；MS (m/z) [M + H]⁺計算值C₇₂H₁₀₁N₅O₁₉Si₂ 1414.66，實測值1414.71。

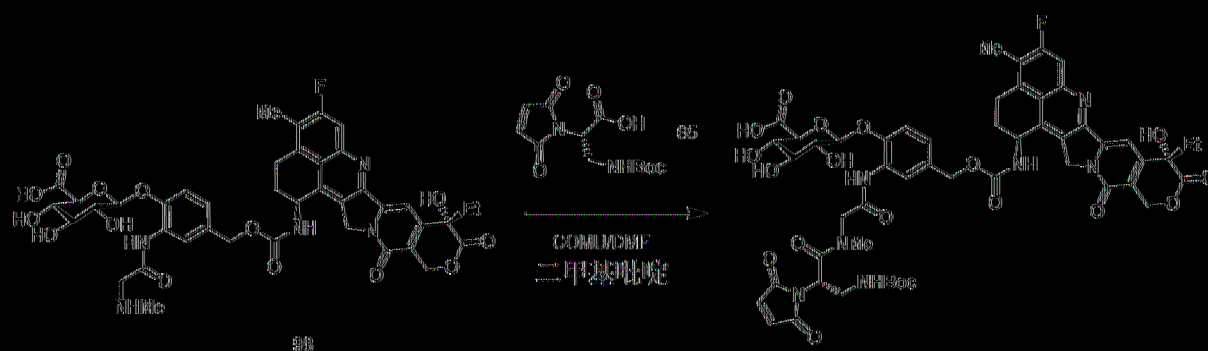
【0803】將粗化合物**96** (0.047 mmol)溶解於1 mL無水DMF中。添加AcOH (200 μ L)。將含1M TBAF之THF (0.28 mL)添加至反應物中。45分鐘後觀測到完全轉化。添加二氧化矽(100 mg)以淬滅氟化物。過濾反應物且藉由製備型HPLC (21 mm 10-95% MeCN/H₂O 0.05% TFA)純化。凍乾含有所需產物之級分，得到呈黃色粉末狀之化合物**97** (45 mg，0.046 mmol，98%)。LC-MS (方法A)： t_R = 1.53分鐘；MS (m/z) [M + H]⁺計算值C₄₇H₄₉N₅O₁₇ 974.31，實測值974.10。

合成實例65



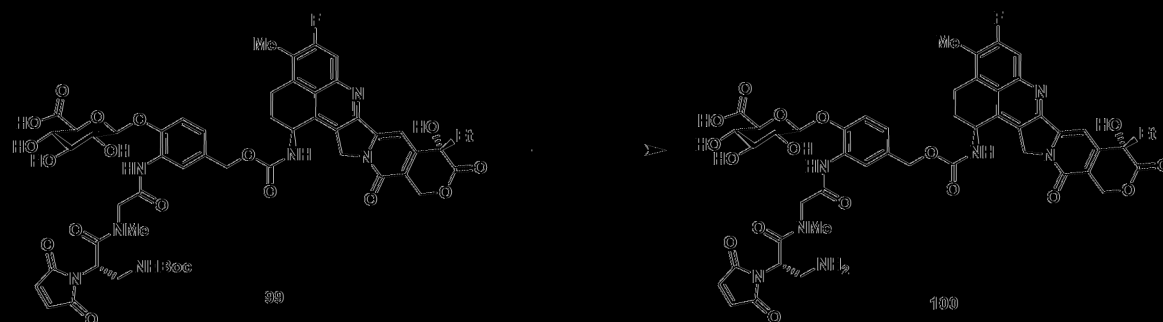
【0804】稀釋化合物**97** (45 mg，0.046 mmol)以形成10 mM DMSO溶液(4.6 mL)。添加PBS 7.4 (10 $\times$ ，4.6 mL)以製備5 mM溶液。添加800單位/mL乙醯酯酶溶液以形成2.5 mM藥物連接子溶液(9.2 mL)。在40°C下攪拌反應物隔夜(約15小時)。觀測到完全轉化。將反應物稀釋至200 mL冷MeOH中，離心，收集上清液，濃縮，且藉由製備型HPLC (21 mm 10-95% MeCN/H₂O 0.05% TFA)純化。凍乾含有所需產物之級分，得到呈黃色粉末狀之化合物**98** (30 mg，0.035 mmol)。LC-MS (方法A)： t_R = 1.30分鐘；MS (m/z) [M + H]⁺計算值C₄₁H₄₃N₅O₁₄ 848.28，實測值847.97。

合成實例66



(0805) 將藉由Nature Biotechnology (2014) 32: 1059-1062之程序製備之順丁烯二醯肟胺基-DPr(Boc)-OH (65, 26.6 mg, 0.0936 mmol)溶解於冷卻至0°C之0.5 mL無水DMF中。添加1,2-甲基吡啶(0.022 mL, 0.19 mmol)，繼而添加COMU (38.7 mg, 0.0905 mmol)。攪拌反應物30分鐘。將經活化之順丁烯二醯肟胺基-DPr(Boc)-OH溶液直接添加至化合物98 (30 mg, 0.035 mmol)固體中。攪拌反應物60分鐘，此時觀測到完全轉化。用AcOEt淬滅反應物，且藉由製備型HPLC (21 mm 10-95% MeCN/H₂O)純化。凍乾含有所需產物之級分，得到呈黃色固體狀之化合物99 (4.5 mg, 4.0 μmol, 13%)。LC-MS (方法A)：t_R：1.72分鐘；MS (m/z) [M+H]⁺計算值C₅₃H₅₇N₇O₁₉ 1114.37，實測值1114.69。

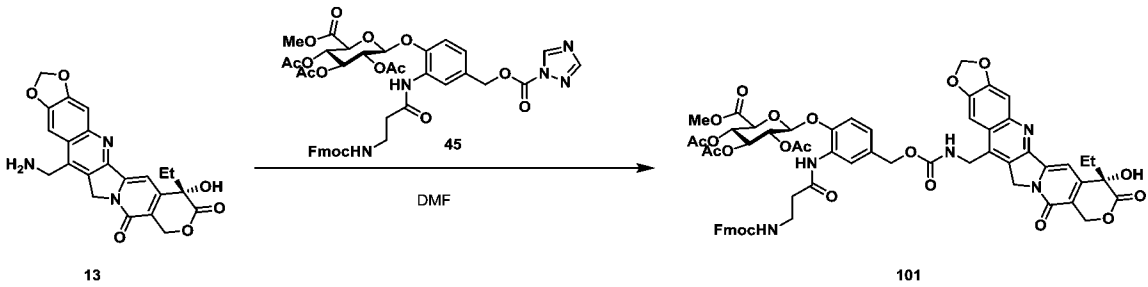
合成實例67



(0806) 將化合物99 (4.5 mg, 4.0 μmol)溶解於含20% TEA之DCM中。25分鐘後，藉由HPLC-MS觀測到完全轉化為化合物100。在真空中濃縮反應物，且藉由製備型HPLC (10mm 10-95% MeCN/H₂O 0.05% TEA)純化。凍乾含有所需產物

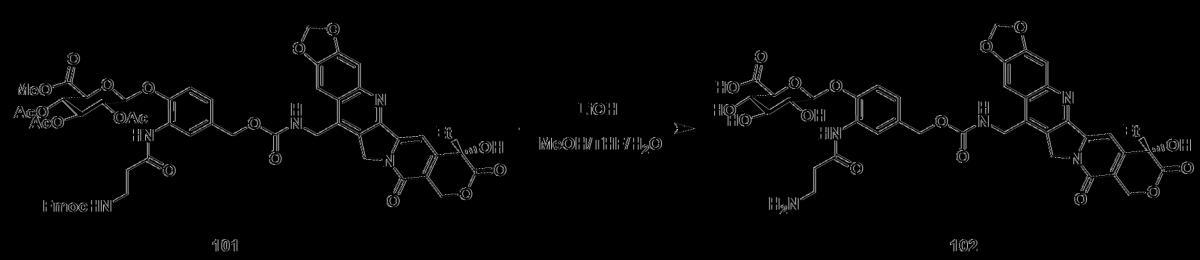
之級分，得到呈白色粉末狀之化合物**100** (3.91 mg，3.86 μ mol，96%)。LC-MS (方法A)： t_R = 1.31分鐘；MS (m/z) $[M + H]^+$ 計算值 $C_{48}H_{50}N_7O_{17}$ 1014.32，實測值1014.07。

合成實例68



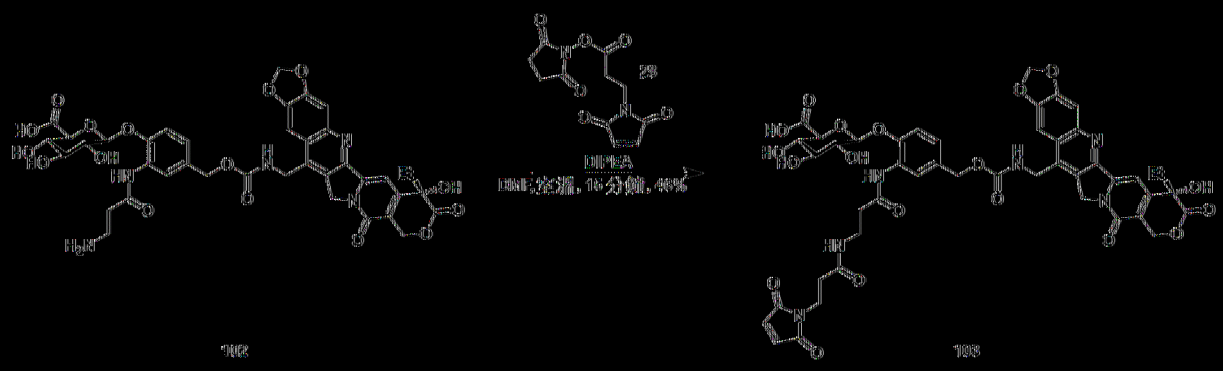
【0807】將根據實例26之程序製備之化合物**45** (82 mg，0.097 mmol)及化合物**13** (14 mg，0.033 mmol) (稱作7-MAD-MDCPT)溶解於DCM (2 mL)中，繼而溶解於DMF (0.5 mL)中。蒸發去DCM以將反應混合物濃縮至DMF中。30分鐘後未觀測到轉化為產物，另外未觀測到化合物**45**水解。將DIPEA (0.1 mL)添加至反應混合物中，隨後澄清紅色反應混合物變得不透明。在室溫下攪拌反應物隔夜(約15小時)。觀測到約50%藥物轉化為所需藥物連接子產物，剩餘約10%經活化之CDT連接子水解。[註釋：使用MeOH稀釋液進行UPLC-MS分析，在 $t = 30$ 分鐘(反應呈中性)觀測到連接子-CDT，在 $t = 15$ 小時(添加鹼後)觀測到連接子-OCOMe]。在45°C下於真空下緩慢濃縮反應物60分鐘。在60°C下加熱反應混合物4小時，直至藉由UPLC-MS觀測到完全轉化。在真空中濃縮反應物，接著藉由管柱層析(0-5% MeOH/DCM)純化。濃縮含有所需產物之級分，得到呈白色固體狀之化合物**101** (28 mg，0.023 mmol，70%)。LC-MS (方法A)： t_R = 2.17分鐘；MS (m/z) $[M + H]^+$ 計算值 $C_{61}H_{58}N_5O_{21}$ 1196.36，實測值1196.19。

合成實例69



[0808] 將化合物101 (28 mg, 0.023 mmol)溶解於MeOH (0.5 mL)及DMF (0.5 mL)中，添加LiOH (25 mg, 1.0 mmol) 對反應物進行超音波處理以溶解LiOH，接著攪拌。10分鐘後，添加水(0.5 mL)。90分鐘後，藉由HPLC-MS觀測到完全轉化為去保護之葡萄糖羧酸衍。添加哌啶(0.05 mL)。再經60分鐘後觀測到Fmoc完全去保護。用AcOH (0.2 mL)淬滅反應物。濃縮反應物，接著藉由製備型HPLC，使用10 mm Max-RP及5-60-95 MeCN/H₂O 0.05% TFA梯度純化。在真空中濃縮含有所需產物之級分，得到呈黃色固體狀之化合物102 (10.1 mg, 0.0121 mmol, 51.8%)。LC-MS (方法A)：t_R：1.05分鐘；MS (m/z) [M+H]⁺計算值C₃₉H₄₀N₅O₁₆ 834.25，實測值833.71。

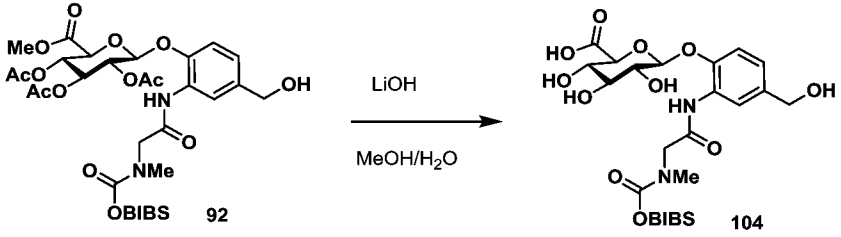
合成實例70



[0809] 將化合物102 (10.1 mg, 0.0121 mmol)溶解於DMF (0.2 mL)中。添加3-(順丁烯二酰基)丙酸N-羧基-L-丙氨酸(9.7 mg, 0.036 mmol)。添加DMPEA (13 μL, 0.073 mmol)。攪拌反應物15分鐘，此時藉由HPLC-MS觀測到完全轉化。用AcOH (0.05 mL)淬滅反應物，接著藉由製備型HPLC (10 mm Max-RP

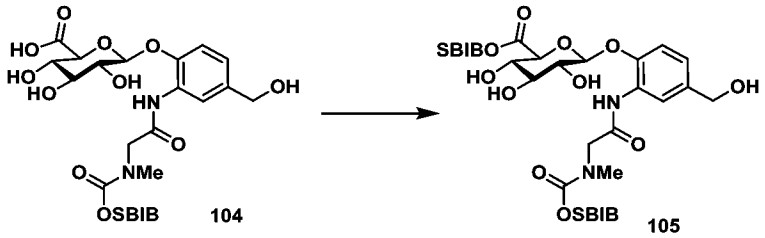
C12 5-60-95% MeCN/H₂O 0.05% TFA)純化。凍乾含有所需產物之級分，得到呈黃色粉末狀之化合物**103** (5.53 mg，0.00561 mmol，46.4%)。LC-MS (方法A) t_R = 1.24分鐘；MS (m/z) [M + H]⁺計算值C₄₆H₄₅N₆O₁₉ 985.27，實測值985.45。

合成實例71



【0810】 將根據實例60之程序製備之化合物**92** (500 mg，0.65 mmol)溶解於MeOH (10mL)中。添加LiOH (500 mg，21 mmol)。對反應物進行超音波處理，且攪拌5分鐘。添加H₂O，攪拌5分鐘。觀測到完全轉化。用AcOH淬滅反應物，在真空中濃縮且藉由製備型HPLC純化。在真空中濃縮含有所需產物之級分，得到呈無色固體狀之化合物**104** (295 mg，0.469 mmol，72%)。LC-MS (方法C)：t_R = 1.23分鐘；MS (m/z) [M + H]⁺計算值C₂₉H₄₉N₂O₁₁Si 629.31，實測值629.01。

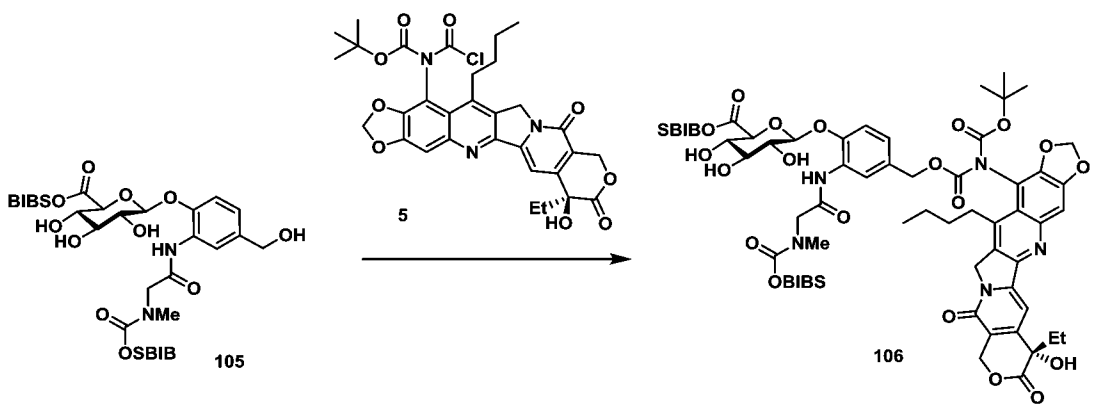
合成實例72



【0811】 將化合物**104** (295 mg，0.469 mmol)溶解於無水吡啶(5 mL)中且冷卻至0℃。在15分鐘內逐滴添加BIBSOTf (0.392 mL，1.41 mmol)，添加各化學計量當量後藉由UPLC-MS檢查完成。用EtOAc (100 mL)稀釋反應物，用1M HCl (3 × 100 mL)洗滌，經MgSO₄乾燥，過濾且在真空中濃縮。藉由管柱層析(50G KP-Sil，10-100% EtOAc/己烷)純化粗產物。濃縮含有所需產物之級分，得到呈

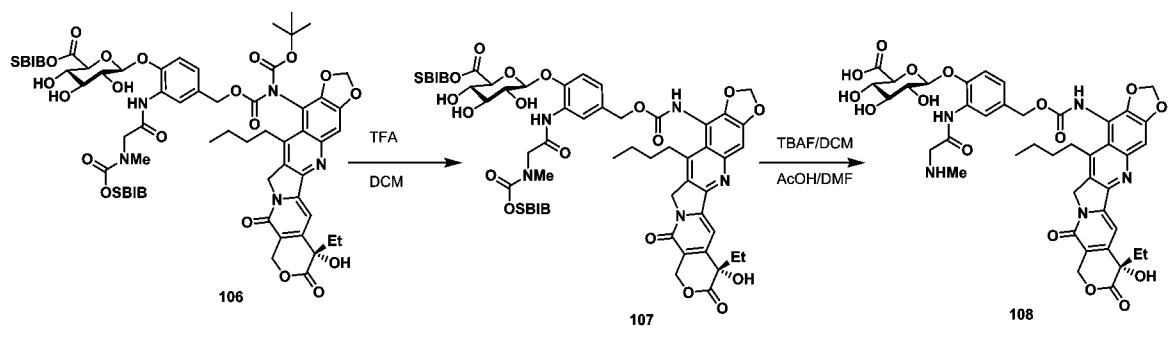
無色固體狀之化合物**105** (301 mg, 0.363 mmol, 77%)。LC-MS (方法C)： $t_R = 1.65$ 分鐘；MS (m/z) $[M + H]^+$ 計算值 $C_{41}H_{75}N_2O_{11}Si_2$ 827.49，實測值827.31。

合成實例73



【0812】將化合物**105** (218 mg, 0.264 mmol)溶解於無水DCM (1 mL)中且冷卻至0℃。將來自實例2之化合物**5** (0.087 mmol)反應溶液直接添加至DCM反應溶液中。在1小時內使反應混合物升溫至室溫。在室溫下攪拌16小時。用MeOH淬滅反應物，接著藉由急驟層析(50G KP-Sil 0-10% MeOH/DCM)純化。在真空中濃縮含有所需產物之級分，得到呈黃色固體狀之化合物**106** (66.1 mg, 0.0467 mmol, 53%)。LC-MS (方法C)： $t_R = 1.76$ 分鐘；MS (m/z) $[M + H]^+$ 計算值 $C_{72}H_{106}N_5O_{20}Si_2$ 1416.70，實測值1416.74。

合成實例74

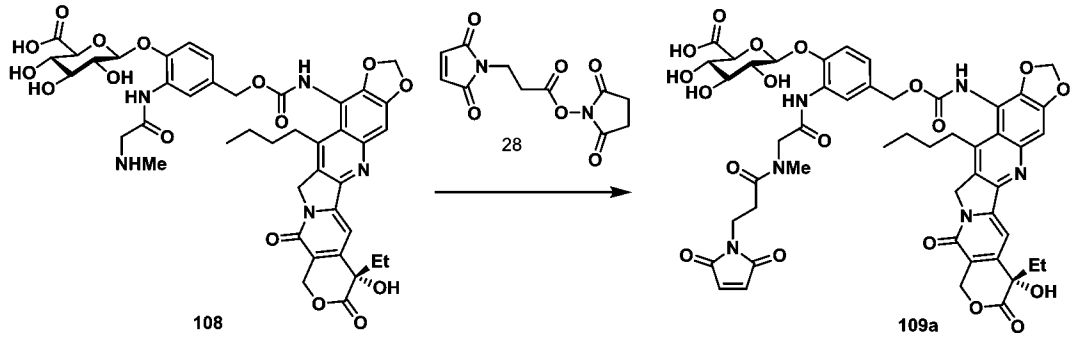


【0813】將化合物**106** (66.1 mg, 0.0467 mmol)溶解於DCM (2 mL)中。添加TFA (0.4 mL)。攪拌反應物20分鐘。藉由UPLC-MS觀測到完全轉化。在真空中

濃縮反應物，得到呈黃色固體狀之化合物**107**且未經進一步純化即用於下一步驟中。LC-MS (方法A)： $t_R = 1.68$ 分鐘；MS (m/z) $[M + H]^+$ 計算值 $C_{67}H_{98}N_5O_{18}Si_2$ 1316.64，實測值1316.80。

【0814】將粗化合物**107** (0.0467 mmol)溶解於無水DMF (1 mL)中。添加AcOH (200 μ L)，繼而添加含1M TBAF之THF (200 μ L)。在室溫下攪拌反應物30分鐘。藉由UPLC-MS觀測到完全轉化。添加二氧化矽(約100 mg)以淬滅氟陰離子。經注射器過濾器過濾反應混合物，用 2×1 mL 2:1 DMA:H₂O 10% AcOH沖洗，且藉由製備型HPLC (30 mm 10-95% MeCN/H₂O 0.05% TFA)純化。凍乾含有所需產物之級分，得到呈黃色粉末狀之化合物**108** (33.5 mg, 0.0383 mmol, 82%)。LC-MS (方法A)： $t_R = 1.16$ ；MS (m/z) $[M + H]^+$ 計算值 $C_{42}H_{45}N_5O_{16}$ 875.29，實測值875.82。

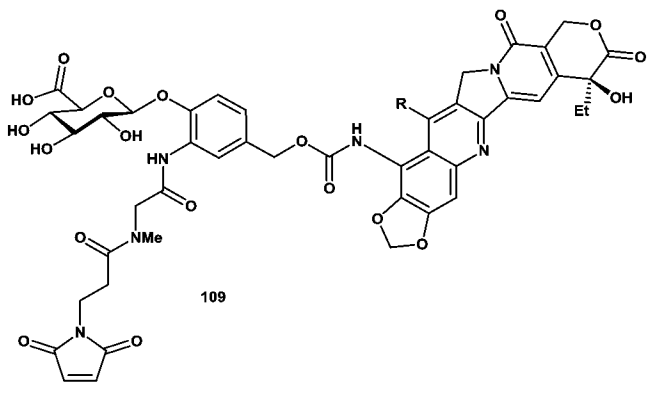
合成實例75



【0815】將化合物**108** (33.5 mg, 0.0383 mmol)溶解於DMF中。將DIPEA (0.040 mL, 0.23 mmol)添加至反應物中，繼而添加3-(順丁烯二醯亞胺基)丙酸N-羥基丁二醯亞胺酯(**28**, 30.6 mg, 115 μ mol)。攪拌反應物90分鐘。藉由UPLC-MS觀測到完全轉化。用AcOH淬滅反應物，且藉由製備型HPLC- 21 mm純化。凍乾含有所需產物之級分，得到呈黃色粉末狀之化合物**109a** (26.2 mg, 0.0255 mmol，

67%)。LC-MS (方法A)： $t_R = 1.39$ 分鐘；MS (m/z) $[M + H]^+$ 計算值 $C_{49}H_{51}N_6O_{19}$ 1027.32，實測值1026.88。

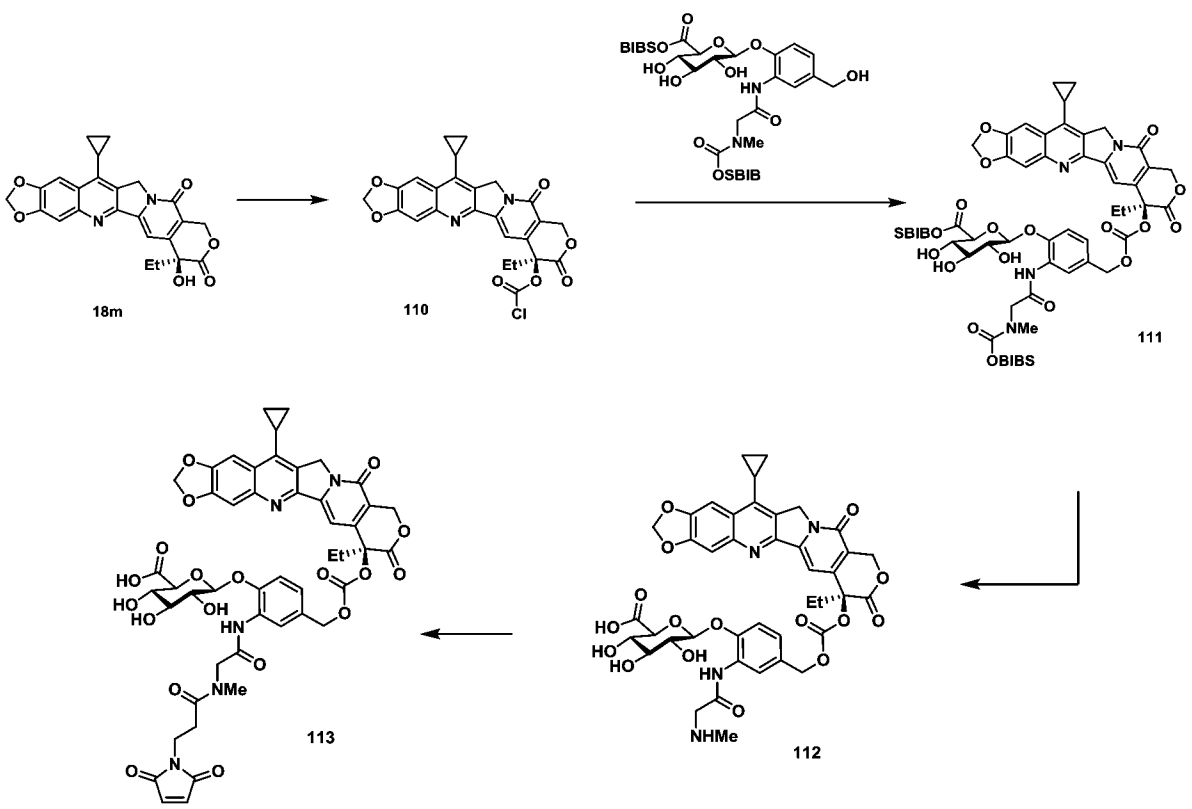
【0816】 使用實例10之化合物**18a-18p**中之任一者的類似程序來製備通式**109**之藥物連接子化合物



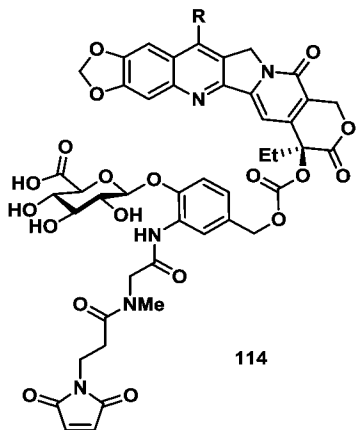
【0817】 其中R為實例10之化合物**18a-18p**中所提供之R基團中之任一者，包括自化合物**18q**起始合成之其中R為正戊基之化合物(化合物**109b**)。

合成實例76

【0818】 根據以下反應方案製備化合物**113**。



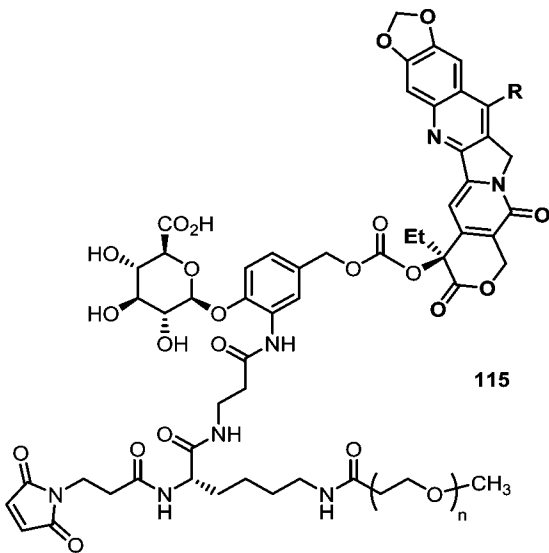
【0819】 使用實例10之化合物**18a-18p**中之任一者的類似程序來製備通式**114**之藥物連接子化合物：



【0820】 其中R為實例10之化合物**18a-18p**中所提供之R基團中之任一者，包括自化合物**18h**起始合成之其中R為正戊基之彼等化合物(化合物**114a**)及自化合物**6**起始合成之其中R為正丁基之彼等化合物(化合物**114b**)。

合成實例77

【0821】 按照實例76以及實例44及45之反應方案製備式**115**化合物：

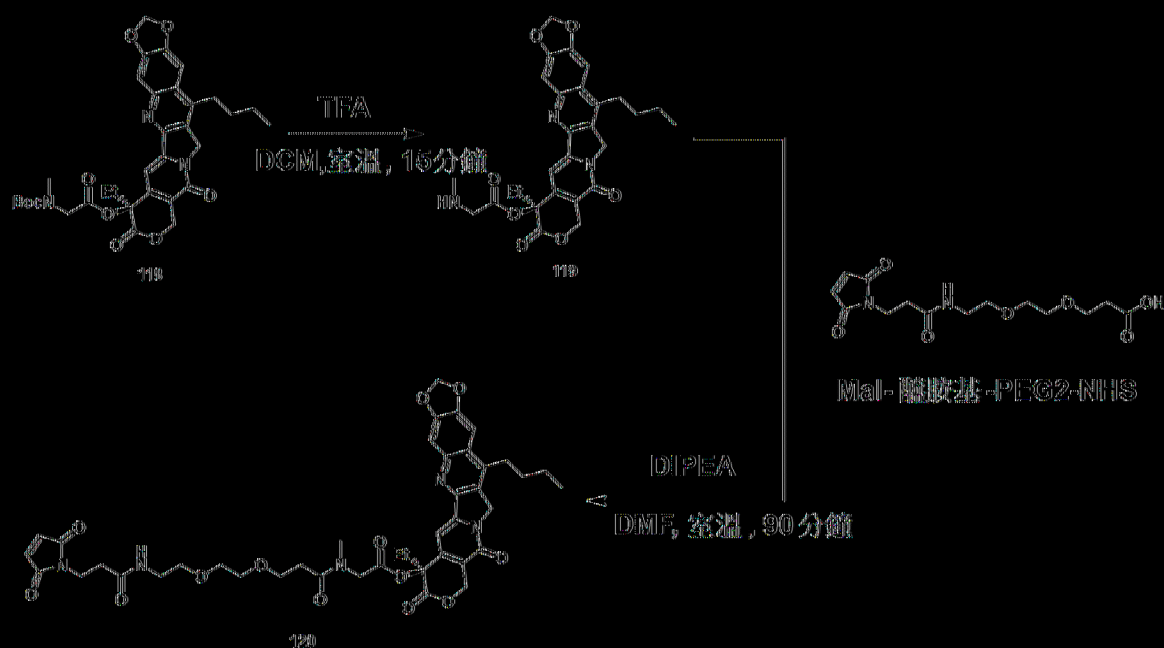


【0822】 其中下標n為4至24之整數且R為實例10之化合物**18a-18**中所提供之R基團中之任一者。

合成實例78

[(0826)] 將根據Bioconjugate Chem. (2009) 20: 1242-1250之程序製備之化合物6 (19.0 mg, 0.0424 mmol)溶解於無水DCM (0.5 mL)中。將DMAP (15.4 mg, 0.127 mmol)、Sc(OTf)₃ (12.5 mg, 0.0254 mmol)、Boc-Sar-OH (24.1 mg, 127 μmol)及DIC (21 μL, 136 μmol)添加至反應物中。攪拌反應物90分鐘。藉由管柱分析(0.5% MeOH/DCM)純化反應物。在真空中濃縮含有所需產物之級分, 得到呈黃色固體狀之化合物2。LC-MS (方法A): t_R: 1.52分鐘; MS (m/z) [M+H]⁺計算值C₃₃H₃₈N₃O₉ 620.26, 實測值619.96。

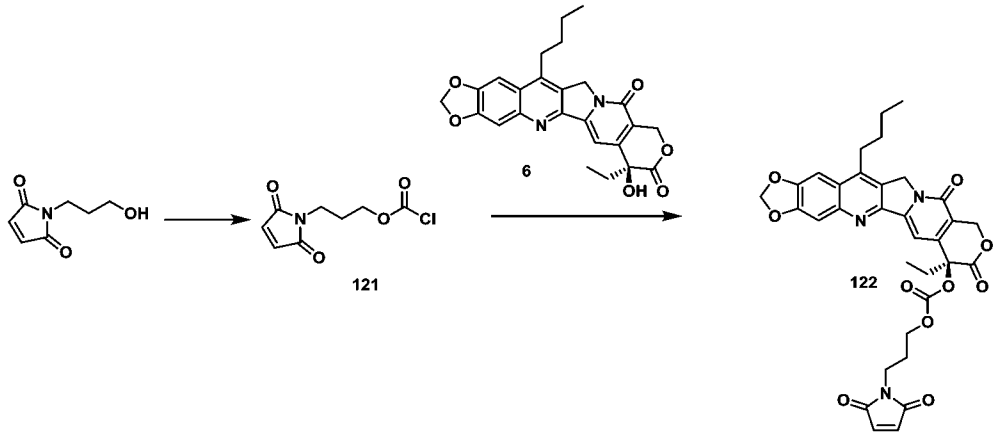
合成實例81



[(0827)] 將化合物118 (25.2 mg, 0.0407 mmol)溶解於含20% TFA之DCM (2 mL)中。攪拌反應物15分鐘, 此時藉由UPLC-MS觀測到完全轉化。在真空中濃縮反應物, 得到呈黃色固體狀之化合物119, 其未經進一步純化即用於下一步驟中。LC-MS (方法A): t_R: 0.93分鐘; MS (m/z) [M+H]⁺計算值C₂₈H₃₀N₃O₇ 520.21, 實測值519.87。

【0828】將粗產物**119** (0.0407 mmol)溶解於無水DMF (0.5 mL)中。添加DIPEA (35 μ L, 0.203 mmol)，繼而添加獲自Broadpharm (CAS：955094-26-5)之Mal-醯胺基-PEG2-NHS (52 mg, 0.122 mmol)。攪拌反應物90分鐘，用AcOH (50 μ L)淬滅，且藉由製備型HPLC純化。凍乾含有所需產物之級分，得到呈黃色粉末狀之化合物**120** (18.9 mg, 0.0228 mmol, 56%)。LC-MS (方法A)： t_R = 1.16分鐘；MS (m/z) $[M + H]^+$ 計算值 $C_{42}H_{48}N_5O_{13}$ 830.32，實測值829.86。化合物**120**為通式Z'-A-S*-W-CPT2之例示性藥物連接子化合物

合成實例82

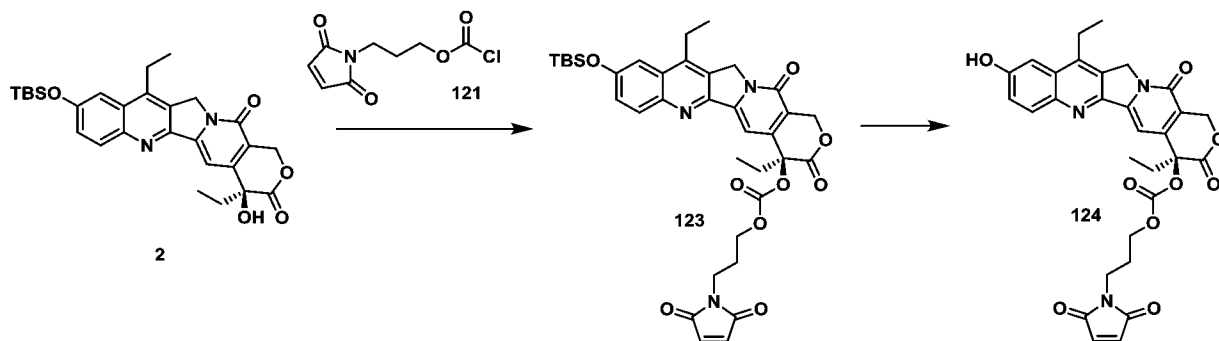


【0829】將N-(3-羥丙基)順丁烯二醯亞胺(455mg, 2.93 mmol)溶解於無水DCM (4 mL)中。添加含20%w/w光氣之甲苯，且攪拌反應物60分鐘，接著在氮氣流下濃縮，繼而在真空中濃縮，得到粗化合物**122**，將其在DCM中以50 mg/mL重構且直接用於下一步驟中。

【0830】將根據Bioconjugate Chem. (2009) 20: 1242-1250之程序製備之化合物**6** (10 mg, 0.022 mmol)溶解於無水DCM (0.5 mL)中。將DMAP (3 mg, 0.02 mmol)添加至反應物中。將先前步驟所製備之化合物**64**氯甲酸酯溶液(1 mL)添加至反應物中。攪拌反應物90分鐘。觀測到約50%轉化為所需產物。藉由FCC (10G Biotage Ultra 0-5% MeOH/DCM)純化反應物。在真空中濃縮含有所需產物之級

分，得到呈黃色固體狀之化合物**65** (7.5 mg，0.012 mmol，53%)。LC-MS (方法A)： $t_R = 2.17$ 分鐘；MS (m/z) $[M + H]^+$ 計算值 $C_{33}H_{32}N_3O_{10}$ 630.21，實測值629.98。化合物**122**為通式Z'-A-CPT2之例示性藥物連接子化合物

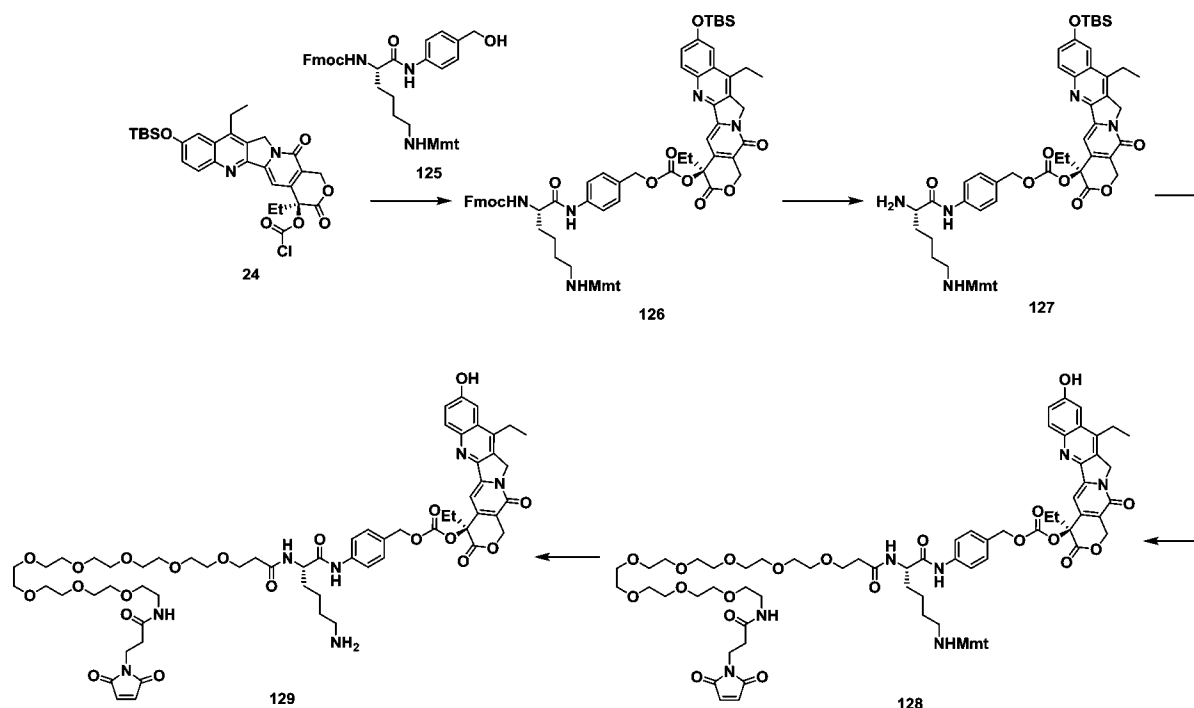
合成實例83



【0831】將根據實例1之程序製備之化合物**2** (45 mg，0.088 mmol)溶解於無水DCM (0.5 mL)中。將DIPEA (0.05 mL)及DMAP (11 mg，0.09 mmol)添加至反應物中。將先前所述之化合物**64**氯甲酸酯溶液(1.1 mL)添加至溶液中，且攪拌反應物60分鐘。觀測到約70%轉化為所需產物。用MeOH淬滅反應物，接著經二氧化矽(10% MeOH/DCM)過濾。濃縮溶離液，得到呈白色固體狀之化合物**123** (0.088 mmol)，其未經進一步純化即用於下一步驟中。LC-MS (方法B)： $t_R = 1.91$ 分鐘；MS (m/z) $[M + H]^+$ 計算值 $C_{36}H_{42}N_3O_9Si$ 688.27，實測值687.99。

【0832】將粗化合物**123** (0.088 mmol)溶解於DMF (2 mL)中。將AcOH (0.5 mL)添加至反應混合物中，繼而添加含1M TBAF之THF (0.440 mL，0.444 mmol)。攪拌反應物30分鐘，接著藉由製備型HPLC (21 mm 5-95% MeCN/H₂O 0.05% TFA)純化。凍乾含有所需產物之級分，得到呈黃色粉末狀之化合物**124** (10.24，0.01785 mmol，20%)。LC-MS (方法A)： $t_R = 1.24$ 分鐘；MS (m/z) $[M + H]^+$ 計算值 $C_{30}H_{28}N_3O_9$ 574.18，實測值573.90。化合物**124**為通式Z'-A-CPT3之例示性藥物連接子化合物。

合成實例84



【0833】 向根據實例14製備之化合物**24**氯甲酸酯反應混合物中添加根據Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters (2002) 12: 217-219之程序製備之固體化合物**125** (291 mg, 0.390 mmol)。10分鐘後藉由UPLC-MS觀測到轉化為產物。用MeOH淬滅反應物，在真空中濃縮，接著藉由管柱層析(0-10% MeOH/DCM)初步純化。濃縮含有具有雜質(遊離藥物、連接子)之所需產物的級分，得到呈微黃色固體狀之化合物**126**，其未經進一步純化即用於下一步驟中。LC-MS (方法C)： t_R = 1.85分鐘；MS (m/z) $[M + H]^+$ 計算值 $C_{77}H_{80}N_5O_{11}Si$ 1278.56，實測值1278.09。

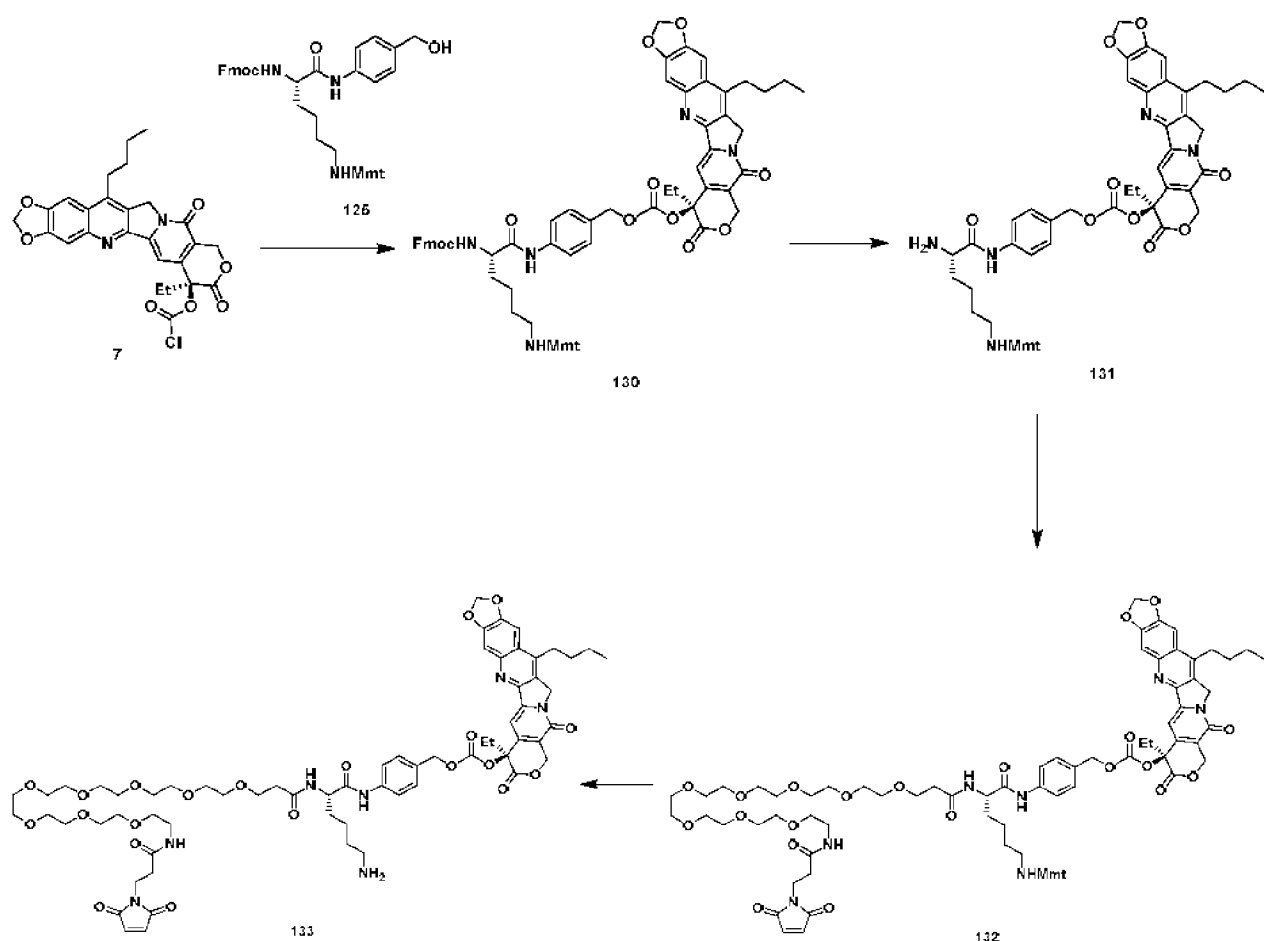
【0834】 將粗化合物**126**溶解於含50% Et_2NH 之DCM中。攪拌反應物30分鐘，此時藉由UPLC-MS觀測到完全Fmoc去保護。在真空中濃縮反應混合物。蒸發後，觀測到TBS保護基完全去保護。藉由管柱層析(0-10% MeOH/DCM)純化反應物。在真空中濃縮含有所需產物及少量雜質之級分，得到呈灰白色固體狀之化合物**127** (100 mg, 0.10 mmol, 41%)，其未經進一步純化即用於下一步驟中。

Rt = 1.03分鐘，疏水方法UPLC。MS (m/z) [M + H]⁺計算值C₅₆H₅₆N₅O₉ 942.41，實測值942.18。

【0835】 將粗化合物**127** (100 mg，0.10 mmol)溶解於無水DMF (2 mL)中。添加DIPEA (0.037 mL，0.212 mmol)，繼而添加MP-PEG8-OSu (81 mg，117 mmol)。5分鐘後，藉由UPLC-MS觀測到完全轉化。用MeOH及AcOH淬滅反應物，在真空中濃縮，得到粗化合物**128**，其未經進一步純化即用於下一步驟中。

【0836】 將粗化合物**128**溶解於含20% TFA之DCM中且攪拌1小時。在真空中濃縮反應物且藉由製備型HPLC純化。凍乾含有所需產物之級分，得到呈灰白色固體狀之化合物**129** (31.0 mg，0.0249 mmol，23%)。LC-MS (方法A)：t_R = 1.37分鐘；MS (m/z) [M + H]⁺計算值C₆₂H₈₂N₇O₂₀ 1244.56，實測值1243.93。化合物**129**為通式Z'-A-S*-W-RL-CPT3之例示性藥物連接子化合物

合成實例85



【0837】向來自實例3之化合物**7**氯甲酸酯溶液(0.334 mmol)中一次性添加根據Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters (2002) 12: 217-219之程序製備之化合物**125** (372 mg, 0.499 mmol)。攪拌反應物45分鐘。使用先前所述之樣品製備，觀測到氯甲酸酯幾乎完全轉化為所需產物。用MeOH淬滅反應物，在真空中濃縮且藉由FCC (50G KP-Sil 0-5% MeOH/DCM)使用分級梯度純化。在真空中濃縮含有所需產物及雜質混合物之級分，得到呈黃色固體狀之化合物**130** (450 mg, 約80% w/w, 0.294 mmol)，其未經進一步純化即用於下一步驟中。LC-MS (方法A)： $t_R = 1.61$ 分鐘；MS (m/z) $[M + H]^+$ 計算值 $C_{74}H_{70}N_5O_{12}$ 1220.50，實測值1220.16。

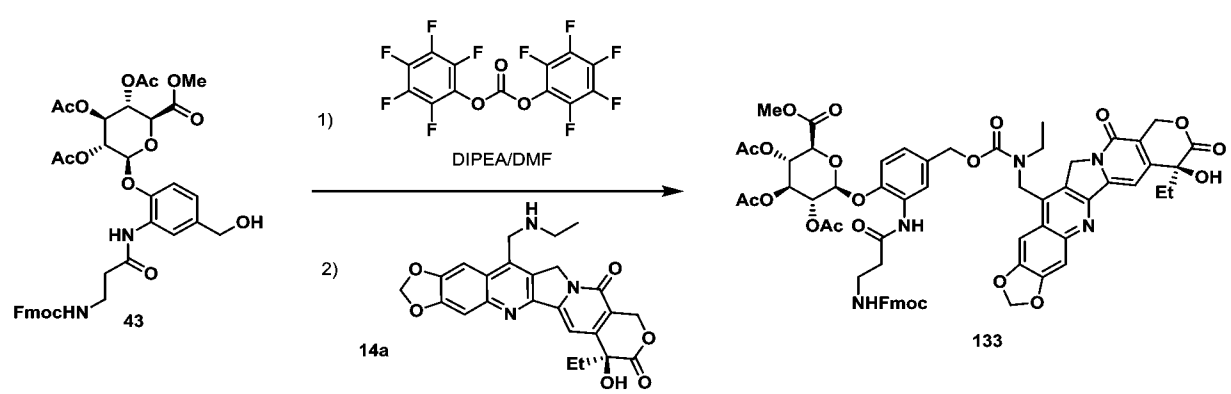
【0838】將粗化合物**130** (0.294 mmol)溶解於10 mL含50% Et_2HN 之DCM中。攪拌反應物30分鐘，此時藉由UPLC-MS觀測到幾乎完全轉化。在真空中濃縮反應物，得到呈黃色固體狀之化合物**131**，其未經進一步純化即用於下一步驟

中。LC-MS (方法A)： $t_R = 1.20$ 分鐘；MS (m/z) $[M + H]^+$ 計算值 $C_{59}H_{60}N_5O_{10}$ 998.43，實測值998.26。

【0839】將來自先前步驟之粗化合物**131** (0.294 mmol)溶解於無水DCM (5 mL)中。添加溶解於DMF (250 mg/mL)中之MP-Peg8-OSu (483 mg，0.701 mmol)。添加DIPEA (0.3 mL)且攪拌反應物30分鐘，此時藉由UPLC-MS觀測到完全轉化為化合物**132**。含有化合物**132**之反應混合物未經進一步純化即用於下一步驟中。LC-MS (方法A)： $t_R = 1.37$ 分鐘；MS (m/z) $[M + H]^+$ 計算值 $C_{85}H_{102}N_7O_{22}$ 1572.71，實測值1571.90。

【0840】淬滅含有粗化合物**132**之反應混合物(化合物**57**，0.294 mmol)且用TFA (1 mL)酸化。在室溫下攪拌反應物20分鐘，此時觀測到完全轉化。在真空中濃縮反應物且藉由製備型HPLC (30 mm C18 10-95% MeCN/H₂O 0.05% TFA)純化。凍乾含有所需產物之級分，得到呈黃色固體狀之化合物**133** (107 mg，0.0823 mmol，28%)。LC-MS (方法A)： $t_R = 1.17$ 分鐘；MS (m/z) $[M + H]^+$ 計算值 $C_{65}H_{86}N_7O_{21}$ 1300.59，實測值1300.69。化合物**133**為通式Z'-A-S*-W-RL-CPT2之例示性藥物連接子化合物。

合成實例86

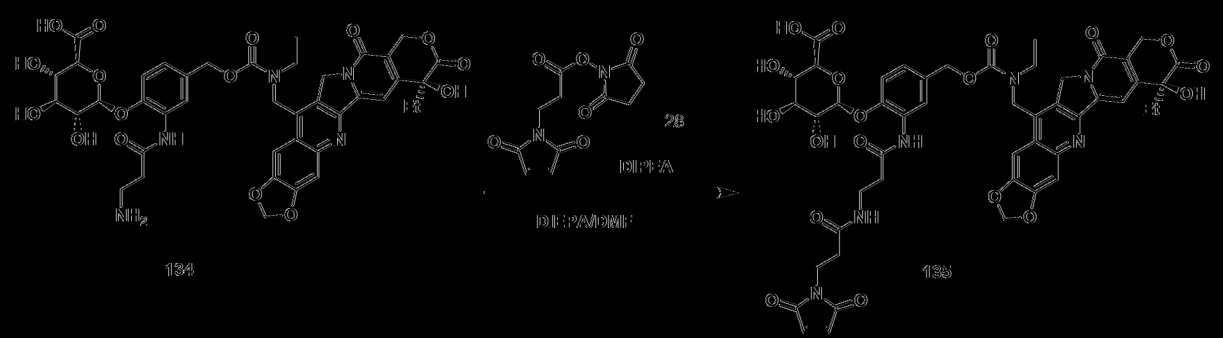


報單編號 A0202

第 318 頁，共 376 頁(發明說明書)

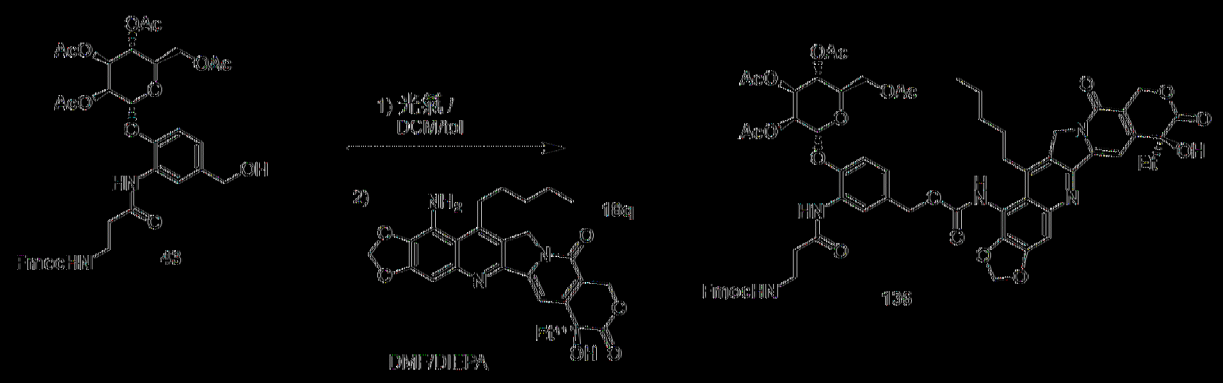
62%)。LC-MS (方法D)： t_{R} ：1.09分鐘；MS (m/z) [M+H]⁺計算值C₄₁H₄₄N₅O₁₆ 862.28，實測值862.16。

合成實例88



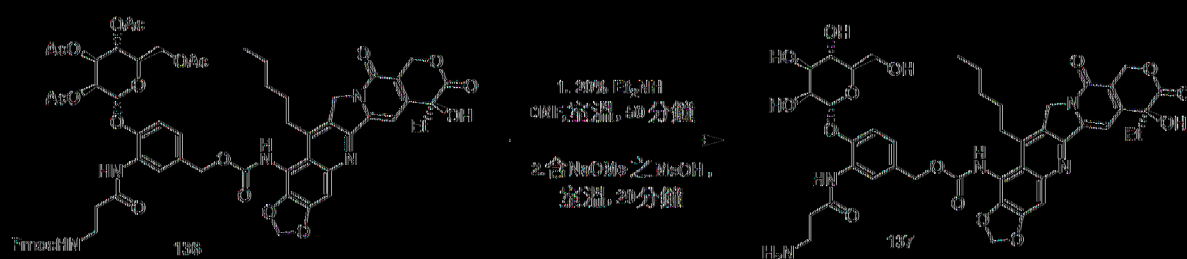
(0843) 向溶解於無水DMF (0.5 mL)及DMF/A (0.020 mL, 0.116 mmol)中之化合物134 (33.3 mg, 0.0386 mmol)中添加來自LCI America (產品編號S0427)之3-(順丁烯二酰基胺基)丙酸N-羥基-1,2,3-三酰基胺(28, 15.4 mg, 0.0580 mmol)。攪拌反應物30分鐘。5分鐘後，藉由HPLC-MS觀測到完全轉化。用AcOH (0.020 mL)淬滅反應物且藉由製備型HPLC，在21.2 × 250 mm Max-RP上，以5:40:95% MeCN/H₂O 0.05% TFA溶離進行純化。凍乾含有所需產物之級分，得到呈黃色粉末狀之化合物135 (21.85 mg, 0.02157 mmol, 55.8%)。LC-MS (方法D)： t_{R} ：1.27分鐘；MS (m/z) [M+H]⁺計算值C₄₈H₄₉N₆O₁₉ 1013.30，實測值1013.38。

合成實例89



[(0844)] 將實例10之化合物18g (100.0 mg, 0.2094 mmol)溶解於無水DCM (4 mL)中。將含20% w/w光氣之甲苯(2 mL, 3.51 mmol)添加至反應物中。攪拌反應物2小時，此時藉由98 μ L MeOH淬滅反應物之2 μ L等分試樣。藉由UPLC-MS觀測所形成之MeOH加合物而觀測到完全轉化為經活化之異氰酸酯中間體。在氮氣流下濃縮反應物，接著在高真空下進一步乾燥。將化合物13 (239.6 mg, 0.3141 mmol)溶解於無水DMF (1 mL)中，接著直接添加至經活化之異氰酸酯固體中。添加DIPEA (0.11 mL, 0.63 mmol)且攪拌反應物以溶解所有組分。攪拌反應物30分鐘，此時觀測到完全轉化。用MeOH淬滅反應物，在真空中濃縮，且藉由管柱析，在25G KP-Sil管柱上，以0-6% MeOH/DCM溶離進行純化。濃縮含有所需產物及藥物相關雜質之級分，得到呈黃色固體狀之化合物113 (186.6 mg, 0.1474 mmol, 70%)。產物未經進一步純化即用於下一步驟中。LC-MS (方法D)： t_R ：2.14分鐘；MS (m/z) [M+H]⁺計算值C₆₆H₆₈N₅O₂₁ 1266.44，實測值1266.57。

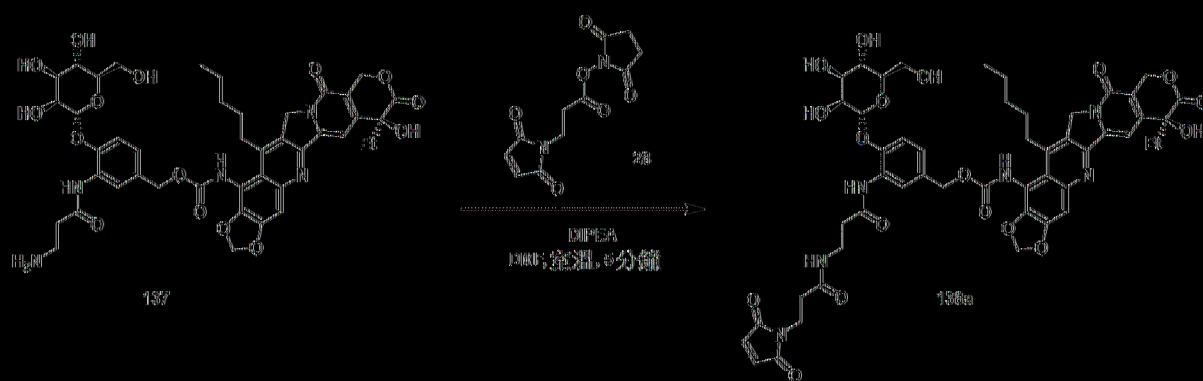
合成實例90



[(0845)] 將化合物136 (186.6 mg, 0.1474 mmol)溶解於含20% 三乙胺之DMF (2 mL)中。攪拌反應物50分鐘，此時觀測到troc保護基幾乎完全去保護。在真空中濃縮反應物且再溶解於MeOH (2 mL)中。添加[NaOMe (0.5 M, 於MeOH中，1.77 mL, 0.884 mmol)]且在室溫下攪拌反應物20分鐘。20分鐘後，藉由UPLC-MS

觀測到完全轉化。用AcOEt中和反應物，在真空中濃縮且藉由製備型HPLC，在 21.2×250 mm Max-RP管柱上，以5:40:95% MeCN/H₂O 0.05% TFA溶離進行純化。在真空中濃縮含有所需產物之級分，得到呈黃色固體狀之化合物13' (22.5 mg, 0.0257 mmol, 17%)。LC-MS (方法D): t_R : 1.13分鐘; MS (m/z) $[M+H]^+$ 計算值[C₁₃H₅₀N₅O₁₅] 876.33, 實測值876.22。

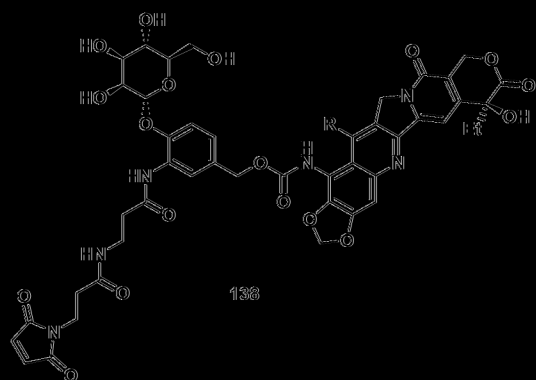
合成實例91



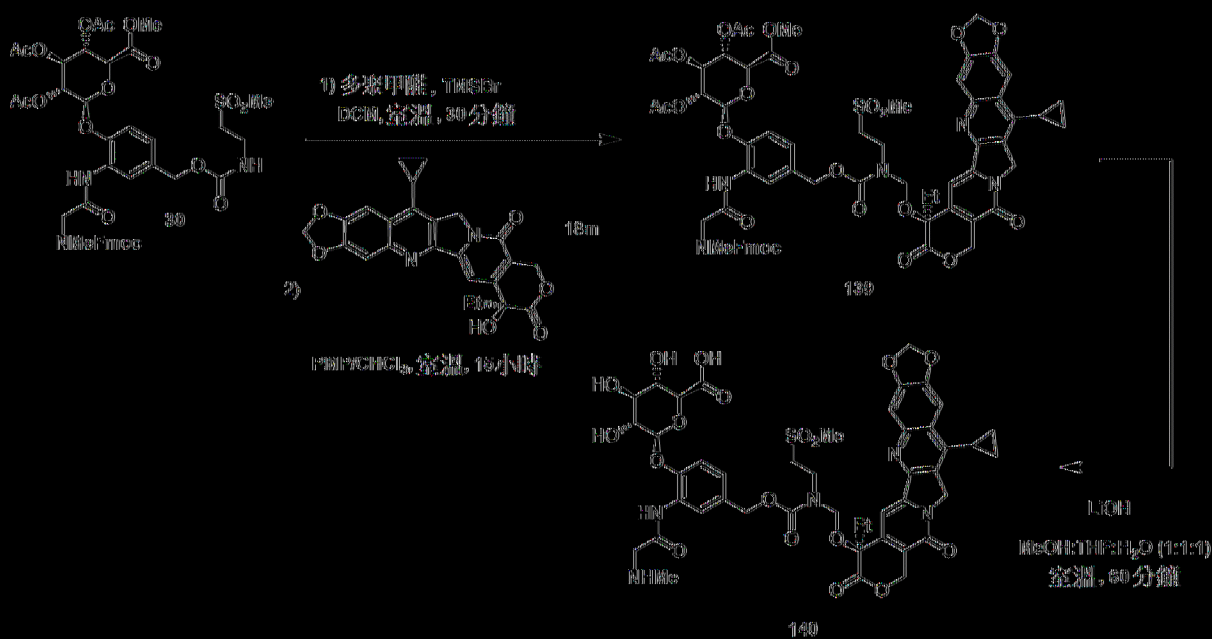
(0846) 將化合物13' (22.5 mg, 0.0257 mmol)溶解於無水DMF (0.5 mL)中。將DIPEA (0.027 mL, 0.15 mmol)添加至反應物中，繼而添加3-(順丁烯二酰肼基)丙酸N-羧基丁二酰肼(28, 20.5 mg, 0.0771 mmol, 購自TCI America, 產品編號S0427)。攪拌反應物5分鐘。藉由HPLC-MS觀測到完全轉化。用AcOEt (0.030 mL)淬滅反應物且藉由製備型HPLC，在 21.2×250 mm Max-RP管柱上，以5:40:95% MeCN/H₂O 0.05% TFA溶離進行純化。凍乾含有所需產物之級分，得到呈黃色粉末狀之化合物138a (11.36 mg, 0.01106 mmol, 43.1%)。LC-MS (方法D): t_R : 1.33分鐘; MS (m/z) $[M+H]^+$ 計算值[C₅₀H₅₅N₆O₁₈] 1027.36, 實測值1027.15。

合成實例92

(0847) 按照實例88-90之程序製備通式138之藥物連接子化合物：



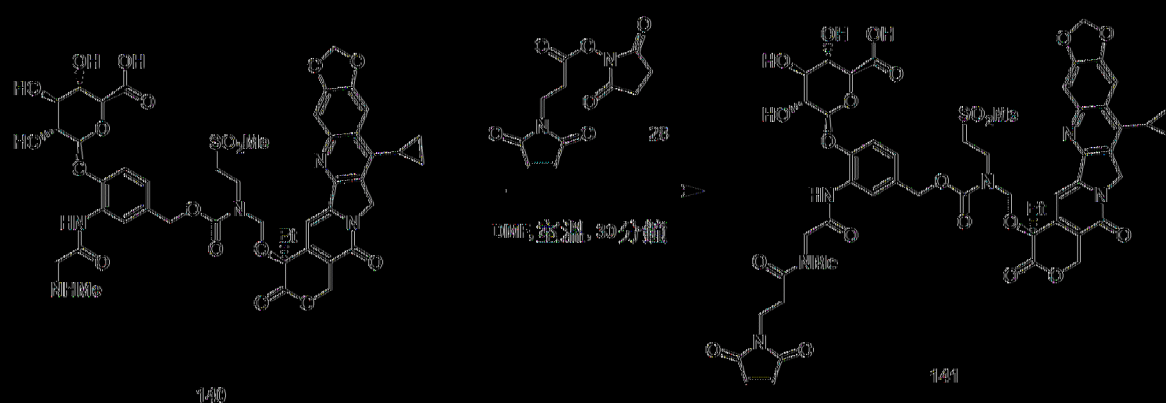
合成实例93



與甲苯共沸。將含甲基中間體溶解於無水 CHCl_3 (6 mL)中且直接添加化合物 18m，繼而添加1,2,2,6,6-五甲氧基哌啶(PMOP, 0.17 mL, 0.93 mmol)。在室溫下攪拌反應物15小時，用MeOH淬滅，且在真空中濃縮。含有化合物139之粗反應混合物未經純化即用於下一步驟中。

[(0850)] 將粗化合物139 (0.2313 mmol)溶解於1:1 MeOH: CHCl_3 (4 mL)中。添加LiOH (55.4 mg, 2.31 mmol)且攪拌反應物30分鐘。添加 H_2O (2 mL)且攪拌反應物30分鐘。用AcOH (0.1 mL)淬滅反應物，在真空中濃縮且藉由逆相急驟管柱解析，使用Biotage Ultra C18 60G管柱，以5:30-95% MeCN/ H_2O 0.1%甲酸之梯度分離進行純化。濃縮含有所需產物及雜質之級分且藉由製備型HPLC，使用21.2 × 250 mm Max-RP管柱，以5:30-95% MeCN/ H_2O 0.1%甲酸之梯度進行再純化。在真空中濃縮含有所需產物之級分，得到呈黃色固體狀之化合物140 (40.9 mg, 0.0417 mmol, 18%)。LC-MS (方法D)： t_R ：1.23分鐘；MS (m/z) $[\text{M}+\text{H}]^+$ 計算值 $\text{C}_{45}\text{H}_{50}\text{N}_5\text{O}_{18}\text{S}$ 980.29，實測值980.20。

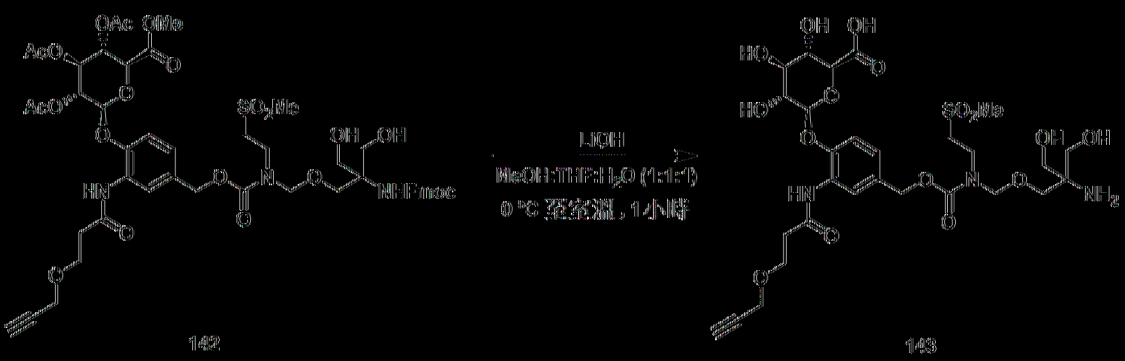
合成實例/4



[(0851)] 將化合物140 (40.9 mg, 0.0417 mmol)溶解於無水DMF (1 mL)中。添加DCEPA (43 μL , 0.25 mmol)，繼而添加3-(順丁烯二酰肼基)丙酸N-羰基丁二酰肼胺鹽(28, 33.3 mg, 0.125 mmol，購自TCI America，產品編號S0427)。攪

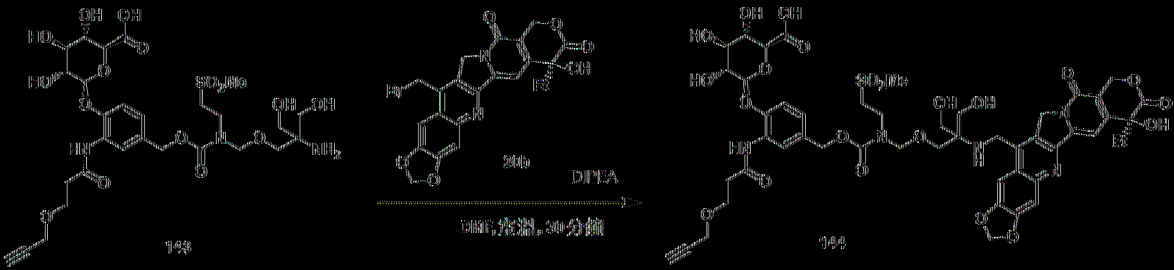
0.2264 mmol, 86%)。LC-MS (方法D) : t_R : 2.04分鐘 ; MS (m/z) $[M+H]^+$ 計算值 $C_{50}H_{60}N_3O_{21}S$ 1070.34, 實測值1070.42。

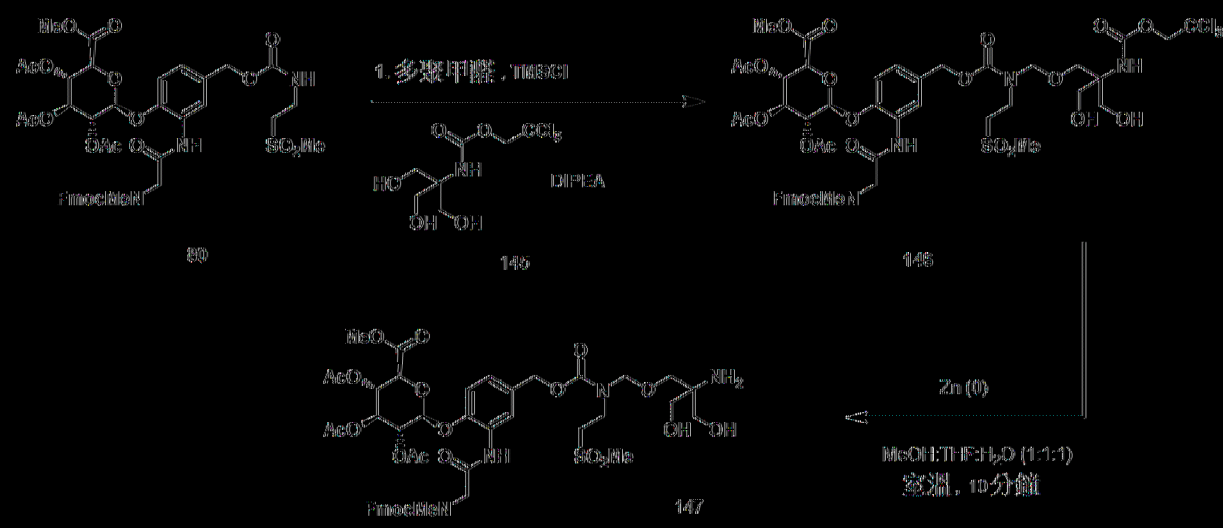
合成實例96



[0853] 將化合物142 (242.3 mg, 0.2264 mmol)溶解於1:1 MeOH:THF (4 mL)中且用冰/水浴冷卻。將LiOH (54 mg, 2.6 mmol)添加至反應物中且攪拌30分鐘。將H₂O (2 mL)添加至反應物中,升溫至室溫且攪拌30分鐘。觀測到完全轉化為去保護之產物。用AcOH中和反應物,在真空中濃縮,且藉由逆相急驟層析,使用Biotage C18 Ultra 30G管柱,以5-20-95% MeCN/H₂O 0.1%甲酸之梯度溶離進行純化。在真空中濃縮含有所需產物之級分,得到呈無色固體狀之化合物143 (88.3 mg, 0.125 mmol, 55%)。LC-MS (方法D) : t_R : 0.60分鐘 ; MS (m/z) $[M+H]^+$ 計算值 $C_{28}H_{42}N_3O_{16}S$ 708.23, 實測值707.84。

合成實例97



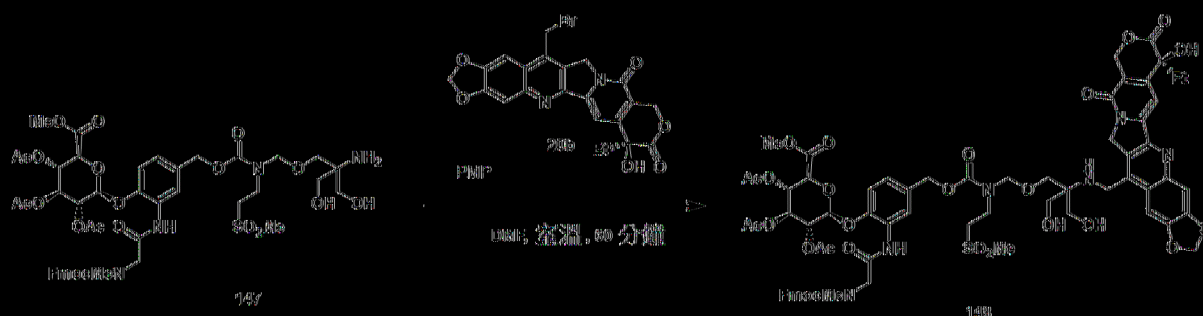


(0856) 將化合物80 (300 mg, 0.334 mmol)溶解於DCM (2 mL)中。添加多聚甲醛(300 mg, 10.0 mmol)，繼而添加TMSCl (1 mL)。攪拌反應物10分鐘，此時藉由將2 μ L等分試樣稀釋至98 μ L MeOH中，且藉由UPLC-MS觀測MeOH化合物而觀測到完全轉化。經注射器過濾器過濾反應物，用DCM (1 mL)洗滌，濃縮後添加甲苯(2 mL)以共沸得到最終混合物。在真空中濃縮溶離液，得到無色固體。在使用前將化合物145與甲苯共沸。將經活化之氯甲基化合物溶解於無水DCM (1 mL，經Mol Sieves超乾乾燥)中。添加DIPEA (0.23 mL, 1.3 mmol)，繼而添加化合物145。攪拌反應物30分鐘，此時觀測到完全轉化。用MeOH (0.1 mL)淬滅反應物，在真空中濃縮，得到呈無色固體狀之化合物146，其未經純化即用於下一步驟中。LC-MS (方法D)： t_R = 2.16分鐘；MS (m/z) [M+H]⁺計算值[C₅₀H₆₀Cl₃N₄O₂₂S] 1205.25，實測值1205.16。

(0857) 將粗化合物146 (0.334 mmol)溶解於1:1:1 MeOH:THF:AcOH (3 mL)中。添加鋅粉(218 mg, 3.34 mmol)，且攪拌反應物10分鐘。藉由UPLC-MS觀測到完全轉化為去保護之產物。過濾反應物，且濃縮溶離液。藉由製備型HPLC，使用30 $\times$ 250 mm Max-RP管柱，以5:30:50:95% MeCN/H₂O 0.1%甲酸純化粗產

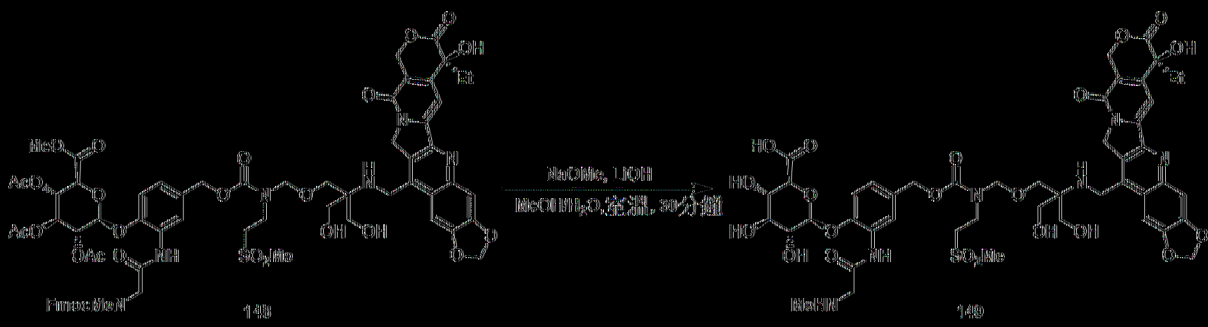
物。在真空中濃縮含有所需產物之級分直至體積減半，用飽和 NaHCO_3 使水溶液呈鹼性，接著用 CHCl_3 ($3 \times 50 \text{ mL}$)及 EtOAc ($3 \times 50 \text{ mL}$)萃取。合併有機物且經 MgSO_4 乾燥。過濾且在真空中濃縮，得到呈白色固體狀之化合物147 (103.4 mg, 0.1003 mmol, 30%)。LC-MS (方法D)： t_R ：1.65分鐘；MS (m/z) $[\text{M}+\text{H}]^+$ 計算值 $\text{C}_{47}\text{H}_{59}\text{N}_4\text{O}_{20}\text{S}$ 1031.34，實測值1031.42。

合成實例99



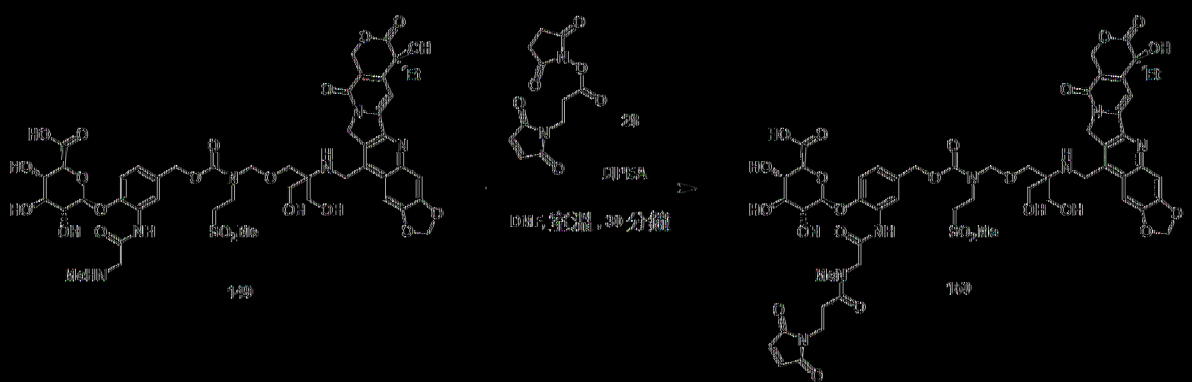
(0858) 將化合物147 (103.4 mg, 0.1003 mmol)溶解於無水 DMF (0.5 mL)中。添加1,2,2,6,6-五甲基哌啶(PMIP, 0.036 mL, 0.20 mmol)，繼而添加化合物20b (97.3 mg, 0.201 mmol)。攪拌反應物60分鐘，此時藉由UPLC-MS觀測到完全轉化。用 AcOH (0.030 mL)淬滅反應物，接著藉由逆相急驟管柱分析，使用50G Biotage C18超級管柱，以5-60-95% $\text{MeCN}/\text{H}_2\text{O}$ 0.1%甲酸之梯度溶離進行純化。濃縮含有所需產物之級分，得到呈灰白色固體狀之化合物148 (18.7 mg, 0.0130 mmol, 13%)。LC-MS (方法D)： t_R ：1.79分鐘；MS (m/z) $[\text{M}+\text{H}]^+$ 計算值 $\text{C}_{69}\text{H}_{75}\text{N}_6\text{O}_{26}\text{S}$ 1435.44，實測值1435.27。

合成實例100



[(0859)] 將化合物148 (18.7 mg, 0.0130 mmol)溶解於MeOH (1 mL)中。添加NaOMe (0.5 M, 於MeOH中, 0.026 mL, 0.013 mmol)中攪拌反應物30分鐘。添加H₂O (1 mL), 繼而添加LiOH (1.5 mg, 0.065 mmol)中攪拌反應物30分鐘。藉由HPLC-MS觀測到完全轉化為去保護之產物。用AcOH中和反應物, 濃縮且藉由製備型HPLC, 使用10 × 250 mm管柱, 以5-25-95% MeCN/H₂O 0.1%甲酸之梯度溶離進行純化。在真空中濃縮含有所需產物之級分, 得到呈黃色固體狀之化合物149 (3.9 mg, 0.0036 mmol, 28%)。LC-MS (方法D): t_R: 0.92分鐘; MS (m/z) [M+H]⁺計算值[C₄₇H₅₇N₆O₂₁S] 1073.33, 實測值1073.81。

合成實例101

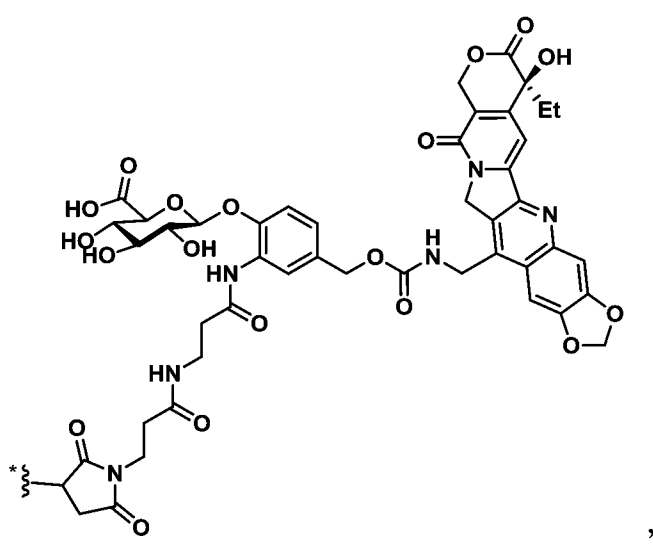


[(0860)] 將化合物149 (3.9 mg, 0.0036 mmol)溶解於無水DMF (0.2 mL)中。添加DMPEA (1.3 µL, 0.0073 mmol), 繼而添加[3-順丁烯-2-羰基氨基丙酸N,N'-二(羰基胺)] (1.1 mg, 0.0040 mmol, 購自TCI America, 產品編號S0427)。攪拌反應物30分鐘。藉由HPLC-MS觀測到完全轉化。用AcOH (5 µL)淬滅反應物且藉由製備

型HPLC，在10 × 250 mm MaxRP管柱上，以5-30-95% MeCN/H₂O 0.1%甲酸溶離進行純化。凍乾含有所需產物之級分，得到呈黃色粉末狀之化合物**126** (0.23 mg，0.19 μmol，5%)。R_t = 1.06分鐘，CORTECS C18通用方法UPLC。MS (m/z) [M + H]⁺計算值C₅₄H₆₂N₇O₂₄S 1224.36，實測值1224.46。

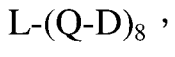
生物實例1. ADC1 DAR8對MKN45腫瘤細胞之細胞表面表現之CEACAM5的表觀親和力

【0861】對於下文所揭示之所有生物實例，ADC1為具有式L-(Q-D)_p之結合至CEACAM5之抗體-藥物接合物或其鹽，其中L為包含結合至CEACAM5之抗體或其抗原結合片段之配位體單元，代表藥物單元與抗體比率(DAR)之下標p為1至16範圍內之整數，其中-Q-D-具有下式：



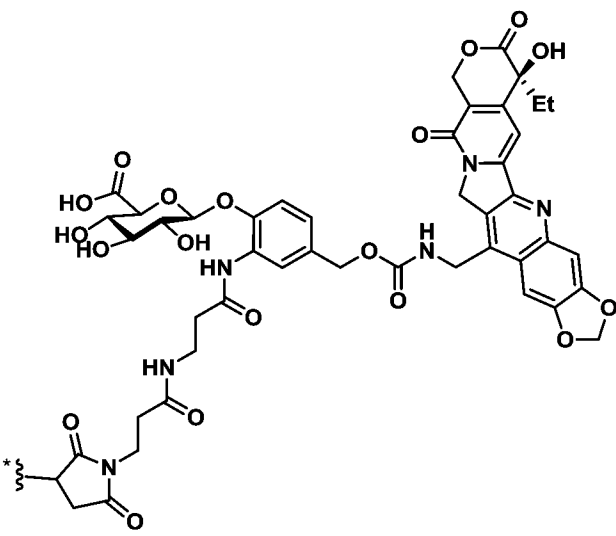
【0862】 在一些實施例中，DAR為4。在一些實施例中，DAR為8。

【0863】 在一些實施例中，ADC1為：



其中L包含結合至CEACAM5之抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段包含：

包含SEQ ID NO:9所示之胺基酸序列的重鏈，及
包含SEQ ID NO:10所示之胺基酸序列的輕鏈；



且其中Q-D為

【0864】 為評估ADC1 DAR8對MKN45腫瘤細胞之細胞表面表現之CEACAM5的表觀親和力，將MKN45腫瘤細胞以100,000個細胞/孔於90 μL檢定稀釋液(補充有5%胎牛血清及1%牛血清白蛋白之DMEM培養基)中鋪在96孔板上。以3 μM起始，在檢定稀釋液中對ADC1進行3倍連續稀釋，至多稀釋11次。在4℃下將各稀釋液以10 μL/孔添加至3個孔中持續30分鐘，接著用檢定稀釋液洗滌兩次。在4℃下將細胞再懸浮於100 μL/孔之與Alexa488 (Invitrogen；# A11013)接合之山羊抗人IgG中持續30分鐘，接著用檢定稀釋液洗滌兩次。離心且藉由添加100 μl/孔之檢定稀釋液使細胞再懸浮之後評估結合，且使用Attune流式細胞分析系統(ThermoFisher)讀取。使用SPEED軟體估算表觀解離常數(表觀K_D)。結果匯總於表1-1中。

【0865】 如表1-1所示，ADC1 DAR8以15.4 ± 18.1 nM之表觀K_D結合至MKN45腫瘤細胞之細胞表面表現之CEACAM5。

表1-1. ADC1 DAR 8對MKN45細胞之細胞表面表現之CEACAM5的活體外表觀
親和力

	表觀Kd (nM)							
	實驗 1	實驗 2	實驗 3	實驗 4	實驗 5	實驗 6	實驗 7	平均值 ± SD
ADC1 DAR 8	7.23	4.47	6.23	11.8 4	22.7 0	1.90	53.5 3	15.4 ± 18.1

生物實例2. DAR為8之ADC1與HEK293細胞株中穩定表現之人類FcRn的
結合

【0866】 將300,000個穩定過度表現由人類FcRn及b2-微球蛋白形成之蛋白質複合物的HEK293細胞懸浮於PBS pH 7.2或PBS pH 6.6中。在4℃下添加10 mg/ml DAR為8之ADC1或陽性對照IgG1同型抗體持續1小時，接著用200 mL PBS pH 7.2或PBS pH 6.6洗滌兩次。將細胞再懸浮於50 μL與Alexa488 (Invitrogen；# A11013)接合之山羊抗人IgG中，在4℃下於PBS pH 7.2或PBS pH 6.6中稀釋1小時，接著用PBS pH 7.2或PBS pH 6.6洗滌兩次。藉由使用MACSQuant流式細胞分析系統(Miltenyi)進行流式細胞分析術來評估結合。

【0867】 如圖1A及圖1B所示，如所預期，在pH 7.2下IgG1抗體或ADC1 DAR 8不與表現FcRN之細胞結合，而當pH為6.6時IgG1抗體及ADC1均結合至 huFcRn。

生物實例3：DAR為8之ADC1對一組腫瘤細胞株之活體外中靶細胞毒性

【0868】 MKN45、LS180及HCT116為在細胞表面分別具有CEACAM5之高表現、中等表現及無表現之腫瘤細胞株。將3,000個細胞/孔於90 μL培養基中鋪板，且在37℃ 5% CO₂下培育4小時。以3 μM起始，在培養基中對DAR為8之ADC1進行3倍連續稀釋，至多稀釋11次。將各稀釋液以10 μL/孔添加至經接種細胞之3

個孔中。在37°C 5% CO₂下將ADC1 DAR 8與細胞之混合物培育96小時。將Cell Titer-Glo reagent[®] (Promega；# G7571)以100 µL/孔添加至各孔中。使用Envision 2104讀板器(Perkin-Elmer)量測發光。使用SPEED軟體估算DAR為8之ADC1的細胞毒性及IC₅₀。

【0869】 下文所述之活性由半最大有效濃度(EC₅₀)給出，其對應於獲得50%活化所需之濃度。EC₅₀愈低，產生50%最大活化所需之化合物濃度愈低且效力愈高。EC₅₀ < 2 nM應視為展現活化；EC₅₀ ≥ 2 nM且 < 50 nM應展現中等活化。EC₅₀ ≥ 100 nM應視為不展現活化。

【0870】 如表3-1所示，對於分別具有高CEACAM5表現及中等CEACAM5表現之MKN45及LS180腫瘤細胞株，DAR為8之ADC1的細胞毒性IC₅₀為次奈莫耳級，而對於不表現CEACAM5之細胞株HCT116則無法計算，此係因為僅在所評價之ADC1 DAR 8之最高濃度下方出現一些細胞毒性。

表3-1. DAR為8之ADC1對具有不同CEACAM5表現之腫瘤細胞株的細胞毒性

劑	IC ₅₀		
	IC ₅₀ (nM)		
	MKN45	LS180	HCT116
	高	中等	無表現
DAR為8之ADC1	0.66	0.48	>100
	0.65	0.39	>200
	0.90	0.23	>300
	0.40	0.44	>300
	0.51	0.46	>300
平均值 ± SD	0.62 ± 0.19	0.40 ± 0.10	/

生物實例4：DAR為8之ADC1對一組正常細胞之活體外脫靶細胞毒性

【0871】 正常人類真皮纖維母細胞NHDF、人類臍靜脈內皮細胞HUVEC及正常人類支氣管上皮細胞NHBE為代表主要細胞類型之正常細胞。此等細胞中無

一者表現CEACAM5。將NHDF、HUVEC及NHBE分別以5,000、2,000或1,500個細胞/孔於90 µL培養基中鋪板，且在37°C/5% CO₂下培育4小時。以2 µM起始，在培養基中對DAR為8之ADC1進行3倍連續稀釋，至多稀釋11次。將各稀釋液以10 µL/孔添加至經接種細胞之3個孔中。在37°C/5% CO₂下將DAR為8之ADC1與細胞之混合物培育96小時。將Cell Titer-Glo reagent[®] (Promega; # G7571)以100 µL/孔添加至各孔中。使用Envision 2104讀板器(Perkin-Elmer)量測發光。使用SPEED軟體估算DAR為8之ADC1的細胞毒性及IC₅₀。

【0872】如表4-1所示，對於NHBE及NHDF細胞均無法計算DAR為8之ADC1的細胞毒性IC₅₀，此係因為僅在所評價之ADC1 DAR 8之最高濃度下方開始出現細胞毒性。對HUVEC細胞無細胞毒性。

表4-1. DAR為8之ADC1對正常細胞之活體外脫靶細胞毒性

		IC ₅₀ (nM)		
		HUVEC	NHDF	NHBE
DAR為8之ADC1	抗體結合能力(受體/細胞)	0	0	0
	實驗1	無細胞毒性	>200	>200
	實驗2	>200	>200	>200
	實驗3	>200	>200	>200

【0873】 ADC1 DAR8對CEACAM5陰性細胞不展現或展現極低細胞毒性，從而具有最佳化之耐受性及治療指數。

生物實例5：DAR為8之ADC1的旁觀者效應

【0874】 由CAS9及CEACAM5 gRNA慢病毒粒子(ThermoFisher，#A32064及A32042)對MKN45細胞之轉導得以產生MKN45-KO^{CAM5}，其由於CEACAM5基因剔除而不再表現CEACAM5蛋白質。由慢病毒粒子(Essen Biosciences/Sartorius，

4478)進一步轉導允許對細胞進行核限制性紅色螢光標記，得以產生 NLR-MKN45-KO^{CAM5}細胞株。

【0875】 將10,000個NLR-MKN45-KO^{CAM5}細胞或5,000個親本MKN45細胞株加上5,000個NLR-MKN45-KO^{CAM5}細胞於培養基中鋪在96孔板上。將10、1或0.1 nM之DAR為8之ADC1各自添加至3個孔中，且使用incucyte® S3 IC50534 (Essen Biosciences/Sartorius)歷時96小時每12小時對NLR-MKN45-KO^{CAM5}之數目進行計數。

【0876】 如表5-1所示，DAR為8之ADC1不直接抑制NLR-MKN45-KO^{CAM5}細胞之生長，而在劑量相關作用中，由MKN45釋放之活性代謝物經由旁觀者效應殺死共培養之NLR-MKN45-KO^{CAM5}。換言之，ADC對NLR-MKN45-KOCAM5之細胞毒性由以下介導：1/ 表現CEACAM5之MKN-45細胞之ADC內化、加工及活性代謝物釋放，及2/ 允許所釋放之活性代謝物擴散至鄰近 NLR-MKN45-KOCAM5並將其殺死之旁觀者活性。

表5-1. DAR為8之ADC1之旁觀者效應的評估

	單獨 NLR-MKN45-KO ^{CAM5}			MKN45與 NLR-MKN45-KO ^{CAM5} 之共 培養物		
DAR為8之ADC1 的濃度(nM)	0.1	1	10	0.1	1	10
NLR-MKN45-K O ^{CAM5} 之AUC	45886	41510	41778	38700	22044	18862
	46104	42951	41734	41736	22610	20473
	45529	44575	41195	36935	21707	19148
平均值	45839.7	43012	41569	39123.7	22120.3	19494.3
MKN45-KO ^{CAM5} 生長抑制%	0%	6.2%	9.3%	14.7%	51.7%	57.5%

【0877】 ADC1 DAR 8展現強旁觀者效應。

生物實例6：DAR為8之ADC1針對皮下植入雌性SCID小鼠中之源自CRC患者之異種移植腫瘤CR-IGR-0002P (腺癌，原發性結腸直腸腫瘤)的活體內功效評估

【0878】 針對皮下植入雌性SCID小鼠中之可量測的源自CRC患者之異種移植(PDX) CR-IGR-0002P腫瘤，以3個劑量對ADC1 DAR8進行評估。對照組不予治療。接合物之劑量以mg/kg給出。在腫瘤植入後第23天，藉由單次靜脈內(IV)推注以10、3及1 mg/kg進行投藥。

【0879】 為評估接合物之抗腫瘤活性，對動物進行稱重且用測徑器每週量測腫瘤2次。在最低點時產生20%體重減輕(組平均值)或10%或更多藥物死亡之劑量應視為毒性過高劑量。動物體重包括腫瘤重量。使用公式質量(mm³) = [長度(mm) × 寬度(mm)²]/2計算腫瘤體積。主要功效終點為ΔT/ΔC、中值消退百分比、部分及完全消退(PR及CR)。

【0880】 藉由自指定觀測日之腫瘤體積減去隨機化當天(分期日)之腫瘤體積來計算各腫瘤之各治療(T)及對照(C)之腫瘤體積變化。計算治療組之中值ΔT，且計算對照組之中值ΔC。接著計算比率ΔT/ΔC且以百分比表示：

$$\Delta T/\Delta C = (\Delta T/\Delta C) \times 100$$

【0881】 當ΔT/ΔC低於或等於40%時，劑量應視為具有治療活性；且當ΔT/ΔC低於或等於10%時，應視為極具活性。若ΔT/ΔC低於0，則劑量應視為具有高活性，且消退百分比已註明日期(*Plowman J, Dykes DJ, Hollingshead M, Simpson-Herren L及Alley MC. Human tumor xenograft models in NCI drug development. Feibig HH BA, Basel: Karger. 編; 1999 第101-125頁*)：

[(0882)] 腫瘤消退%：定義為治療組中指定觀測日之腫瘤體積與其隨機化當天之體積相比之減小%。

[(0883)] 在特定時間點日對於每隻動物，計算消退%。接著計算各組之中值消退%。

消退%(t時) =
$$\frac{\text{體積}_{i0} - \text{體積}_t}{\text{體積}_{i0}} \times 100$$

[(0884)] 部分消退(PR)：若腫瘤體積減小至治療開始時腫瘤體積之50%，則定義為部分消退。

[(0885)] 完全消退(CR)：當腫瘤體積=0 mm³時達到完全消退(當腫瘤體積無法記錄時應視為CR)。

[(0886)] 圖2顯示ADC1 DAR 8針對SCID雌性小鼠中源自CRC患者之異種移植腫瘤CR-IGR-0002P之抗腫瘤活性的評估。如圖2及表6.1所示，使用1、3及10 mg/kg之單次投藥時程，本研究中測試之接合物不會誘導毒性。

[(0887)] ADC1 DAR 8在10及3 mg/kg下具有高活性，其中AT/AC小於0%，腫瘤消退分別為100%及76%，分別為6 PR及6 PR/6，且分別為6及2 CR/6。其在1 mg/kg下極具活性，其中AT/AC等於10%。

[(0888)] 因此，ADC1 DAR 8對於治療CRC腫瘤為有效的。

表6.1. ADC1 DAR 8針對SCID雌性小鼠中源自CRC患者之異種移植腫瘤CR-IGR-0002P之抗腫瘤活性的評估。

劑	途徑/ 劑量 (mL/kg)	劑量 (mg/kg)	時程 (天)	藥物 死亡 (天)	最低點時每 隻小鼠之平 均體重變化 % (天)	中值 AT/AC ，以%表 示(D49)	中值 消退 % (D49)	消退 PR CR	註解
ADC1 DAR 8	IV (10mL/ Kg)	10	23	0/6	3.23 (D52)	< 0	100	6/6	高活性
		3	23	0/6	2.03 (D24)	< 0	76	6/6	2/

								6	
	1	23	0/6	-3.50 (D55)	10 (D38)	-	0/6	0/6	極具活性
對照	-	-	-	-2.88 (D55)	-	-	-	-	-

$\Delta T/\Delta C$ = 治療組與對照組之間腫瘤體積相對於基線之變化的中值比率；PR = 部分消退；CR = 完全消退

生物實例7：ADC1 DAR 8針對皮下植入雌性SCID小鼠中之源自CRC患者之異種移植腫瘤CR-IGR-0007P (腺癌，原發性結腸直腸腫瘤)的活體內功效評估

【0889】 針對皮下植入雌性SCID小鼠中之可量測CRC PDX

CR-IGR-0007P腫瘤，以3個劑量對ADC1 DAR 8進行評估。對照組不予治療。接合物之劑量以mg/kg給出。在腫瘤植入後第21天，藉由單次靜脈內(IV)推注以10、3及1 mg/kg進行投藥。

【0890】 如生物實例6所報導進行毒性及功效評估。

【0891】 如圖3及表7-1所示，使用1、3及10 mg/kg之單次投藥時程，本研究中測試之接合物不會誘導毒性。

【0892】 提供以下實例，包括進行之實驗及取得之結果，該等實例僅用於說明之目的且不應解釋為限制所附申請專利範圍之範疇。

【0893】 ADC1 DAR 8在10 mg/kg下具有高活性，其中 $\Delta T/\Delta C$ 小於0%，腫瘤消退為93%、6 PR /6及3 CR/6。其在3 mg/kg下極具活性，其中 $\Delta T/\Delta C$ 等於3%及1 PR /6；且在1 mg/kg下無活性，其中 $\Delta T/\Delta C$ 等於86%

【0894】 因此，ADC1 DAR 8對於治療CRC腫瘤為有效的。

表7-1. ADC1 DAR 8針對SCID雌性小鼠中源自CRC患者之異種移植腫瘤CR-IGR-0007P之抗腫瘤活性的評估

劑	途徑/ 劑量 (mL/kg)	劑量 (mg/kg)	時程 (天)	藥物 死亡 (天)	最低點時每 隻小鼠之平 均體重變化 % (天)	中值 $\Delta T/\Delta C$ ，以%表 示(D49)	中值 消退 % (天)	消退 PR	C R	註解
---	----------------------	---------------	-----------	-----------------	----------------------------------	---	----------------------	----------	--------	----

ADC1 DAR 8	IV (10mL/ Kg)	10	21	0/6	-2.43 (D24)	< 0	93 (D61)	6/6	3/ 6	高活性
		3	21	0/6	+0.02 (D27)	3 (D34)	-	1/6	0/ 6	極具活 性
		1	21	0/6	+1.68 (D42)	86	-	0/6	0/ 6	無活性
對照	-	-	-	-	-1.50 (D49)	-	-	-	-	-

$\Delta T/\Delta C$ = 治療組與對照組之間腫瘤體積相對於基線之變化的中值比率；PR = 部分消退；CR = 完全消退

生物實例8：ADC1 DAR 8針對皮下植入雌性SCID小鼠中之源自CRC患者之異種移植腫瘤CR-IGR-0048M (腺癌，轉移性結腸直腸腫瘤)的活體內功效評估

【0895】 針對皮下植入雌性SCID小鼠中之可量測CRC PDX

CR-IGR-0048M腫瘤，以2個劑量對DAR為8之ADC1進行評估。對照組不予治療。接合物之劑量以mg/kg給出。在腫瘤植入後第24天，藉由單次靜脈內(IV)推注以10及3 mg/kg進行投藥。

【0896】 如生物實例6所報導進行毒性及功效評估。

【0897】 如圖4及表8-1所示，使用3及10 mg/kg之單次投藥時程，本研究中測試之接合物不會誘導毒性。

【0898】 DAR為8之ADC1在10 mg/kg下具有高活性，其中 $\Delta T/\Delta C$ 小於0%，腫瘤消退為100%、6 PR/6及4 CR/6。其在3 mg/kg下具有微小活性，其中 $\Delta T/\Delta C$ 等於36%及1 PR /6。

【0899】 因此，ADC1 DAR 8對於治療CRC腫瘤為有效的。

表8-1. ADC1 DAR 8針對SCID雌性小鼠中源自人類CRC患者之異種移植腫瘤CR-IGR-0048M之抗腫瘤活性的評估

劑	途徑/ 劑量 (mL/kg)	劑量 (mg/kg)	時程 (天)	藥物 死亡 (天)	最低點時每 隻小鼠之平 均體重變化 % (天)	中值 $\Delta T/\Delta C$ ，以%表示 (D46)	中值 消退 % (天)	消退 PR CR	註解
ADC1	IV	10	24	0/6	-1.07 (D27)	< 0	100	6/6 4/6	高活性

DAR 8 (10mL/ Kg)	(D46)									
	3	24	0/6	-3.27 (D27)	36 (D38)	-	1/6	0/6	微小活性	
對照	-	-	-	-0.58 (D27)	-	-	-	-	-	-

ΔT/ΔC = 治療組與對照組之間腫瘤體積相對於基線之變化的中值比率；PR = 部分消退；CR = 完全消退

生物實例9：DAR為8之ADC1針對皮下植入雌性SCID小鼠中之源自CRC患者之異種移植腫瘤CR-IC-0016M (腺癌，轉移性結腸直腸腫瘤)的活體內功效評估

【0900】 針對皮下植入雌性SCID小鼠中之可量測結腸PDX CR-IC-0016M 腫瘤，以3個劑量對DAR為8之ADC1進行評估。對照組不予治療。接合物之劑量以mg/kg給出。在腫瘤植入後第21天，藉由單次靜脈內(IV)推注以10、3及1 mg/kg 進行投藥。

【0901】 如生物實例6所報導進行毒性及功效評估。

【0902】 如圖5及表9-1所示，使用1、3及10 mg/kg之單次投藥時程，本研究中測試之接合物不會誘導毒性。

【0903】 ADC1 DAR 8在10 mg/kg下具有高活性，其中ΔT/ΔC小於0%，腫瘤消退為86%、8 PR /8及2 CR /8。其在3 mg/kg下極具活性，其中ΔT/ΔC等於8%及1 PR /8；且在1 mg/kg下無活性，其中ΔT/ΔC等於45%。

【0904】 因此，DAR為8之ADC1對於治療CRC腫瘤為有效的。

表9-1.DAR為8之ADC1針對SCID雌性小鼠中源自CRC患者之異種移植腫瘤

CR-IC-0016M之抗腫瘤活性的評估

劑	途徑/ 劑量 (mL/kg)	劑量 (mg/kg)	時程 (天)	藥物 死亡 (天)	最低點時每 隻小鼠之平 均體重變化 % (天)	中值 ΔT/ΔC ，以%表 示(D41)	中值 消退 % (天)	消退		註解
								PR	CR	
ADC1 DAR 8	IV (10mL/	10	21	0/8	-1.95 (D24)	< 0	86 (D44)	8/8	2/8	高活性

	Kg)	3	21	0/8	-3.59 (D48)	8	-	1/8	0/8	極具活性
		1	21	0/8	-2.08 (D41)	45	-	0/8	0/8	無活性
對照	-	-	-	-	-5.23 (D35)	-	-	-	-	-

ΔT/ΔC = 治療組與對照組之間腫瘤體積相對於基線之變化的中值比率；PR = 部分消退；CR = 完全消退

生物實例10：DAR為8之ADC1針對皮下植入雌性SCID小鼠中之源自肺患

者之異種移植腫瘤LUN-NIC-0014 (Nsq-NSCLC，腺癌)的活體內功效評估

【0905】 針對皮下植入雌性SCID小鼠中之可量測肺PDX LUN-NIC-0014腫瘤，以3個劑量對DAR為8之ADC1進行評估。對照組不予治療。接合物之劑量以mg/kg給出。在腫瘤植入後第20天，藉由單次靜脈內(IV)推注以10、3及1 mg/kg進行投藥。

【0906】 如生物實例6所報導進行毒性及功效評估。

【0907】 如圖6及表10-1所示，使用1、3及10 mg/kg之單次投藥時程，本研究中測試之接合物不會誘導毒性。

【0908】 DAR為8之ADC1在10及3 mg/kg下具有高活性，其中ΔT/ΔC小於0%，腫瘤消退分別為83%及58%；分別為5 PR及4 PR /6，且對於最高劑量為3 CR /6。其在1 mg/kg下具有微小活性，其中ΔT/ΔC等於35%。

【0909】 因此，DAR為8之ADC1對於治療肺腫瘤為有效的。

表10-1. DAR為8之ADC1針對SCID雌性小鼠中源自肺患者之異種移植腫瘤

LUN-NIC-0014之抗腫瘤活性的評估

劑	途徑/ 劑量 (mL/kg)	劑量 (mg/kg)	時程 (天)	藥物 死亡 (天)	最低點時每 隻小鼠之平 均體重變化 % (天)	中值 ΔT/ΔC ，以%表 示(D36)	中值 消退 % (天)	消退 P R	消退 C R	註解
ADC1	IV	10	20	0/6	-1.23 (D22)	< 0	83 (D47)	5/6	3/6	高活性
DAR 8	(10mL/ Kg)	3	20	0/6	-3.43 (D39)	< 0	58 (D43)	4/6	0/6	高活性

	1	20	0/6	-5.25 (D32)	35 (D32)	-	0/6	0/6	微小活性
對照	-	-	-	-3.85 (D32)	-	-	-	-	-

ΔT/ΔC = 治療組與對照組之間腫瘤體積相對於基線之變化的中值比率；PR = 部分消退；CR = 完全消退

生物實例11：DAR為8之ADC1針對皮下植入雌性SCID小鼠中之源自肺患者之異種移植腫瘤LUN-NIC-0084 (Nsq-NSCLC，腺癌)的活體內功效評估

【0910】 針對皮下植入雌性SCID小鼠中之可量測肺PDX LUN-NIC-0084腫瘤，以3個劑量對DAR為8之ADC1進行評估。對照組不予治療。接合物之劑量以mg/kg給出。在腫瘤植入後第38天，藉由單次靜脈內(IV)推注以10、3及1 mg/kg進行投藥。

【0911】 如生物實例6所報導進行毒性及功效評估。

【0912】 如圖7及表11-1所示，使用1、3及10 mg/kg之單次投藥時程，本研究中測試之接合物不會誘導毒性。

【0913】 DAR為8之ADC1在10及3 mg/kg下具有高活性，其中ΔT/ΔC小於0%，腫瘤消退分別為100%及54%，分別為6 PR及3 PR /6，且分別為5 CR及2 CR /6 %。其在1 mg/kg下具有活性，其中ΔT/ΔC等於11%。

【0914】 因此，DAR為8之ADC1對於治療肺腫瘤為有效的。

表11-1. DAR為8之ADC1針對SCID雌性小鼠中源自肺患者之異種移植腫瘤LUN-NIC-0084之抗腫瘤活性的評估

劑	途徑/ 劑量 (mL/kg)	劑量 (mg/kg)	時程 (天)	藥物 死亡 (天)	最低點時每 隻小鼠之平 均體重變化 % (天)	中值 ΔT/ΔC ，以%表 示(D70)	中值 消退 % (天)	消退 P R	C R	註解
ADC1 DAR 8	IV (10mL/ Kg)	10	38	0/6	-1.83 (D46)	< 0	100 (D70)	6/ 6	5/6	高活性
		3	38	0/6	-2.00 (D42)	< 0	54 (D63)	3/ 6	2/6	高活性

	1	38	0/6	+1.53 (D38)	11	-	0/6	0/6	活性
對照	-	-	-	-0.20 (D70)	-	-	-	-	-

$\Delta T/\Delta C$ = 治療組與對照組之間腫瘤體積相對於基線之變化的中值比率；PR = 部分消退；CR = 完全消退

生物實例12：DAR為8之ADC1針對皮下植入雌性SCID小鼠中之源自肺患

者之異種移植腫瘤LUN-NIC-0004 (Nsq-NSCLC，腺癌)的活體內功效評估

【0915】 針對皮下植入雌性SCID小鼠中之可量測肺PDX LUN-NIC-0004腫瘤，以3個劑量對DAR為8之ADC1進行評估。對照組不予治療。接合物之劑量以mg/kg給出。在腫瘤植入後第58天，藉由單次靜脈內(IV)推注以10、3及1 mg/kg進行投藥。

【0916】 如生物實例6所報導進行毒性及功效評估。

【0917】 如圖8及表12-1所示，使用1、3及10 mg/kg之單次投藥時程，本研究中測試之接合物不會誘導毒性。

【0918】 DAR為8之ADC1在10 mg/kg下具有高活性，其中 $\Delta T/\Delta C$ 小於0%，腫瘤消退為96%、6 PR /6及3 CR /6 %。其在1 mg/kg下具有活性，其中 $\Delta T/\Delta C$ 等於31%；且在1 mg/kg下無活性，其中 $\Delta T/\Delta C$ 等於107%。

【0919】 因此，DAR為8之ADC1對於治療肺腫瘤為有效的。

表12-1. ADC1 DAR 8針對SCID雌性小鼠中源自肺患者之異種移植腫瘤

LUN-NIC-0004之抗腫瘤活性的評估

劑	途徑/ 劑量 (mL/kg)	劑量 (mg/kg)	時程 (天)	藥物 死亡 (天)	最低點時每 隻小鼠之平 均體重變化 % (天)	中值 $\Delta T/\Delta C$ ，以%表示 (D79)	中值 消退 % (天)	消退 PR CR	註解
ADC1 DAR 8	IV (10mL/ Kg)	10	58	0/6	-0.07 (D62)	< 0	96 (D106)	6/6 3/6	高活性
		3	58	0/6	+1.88 (D62)	31	-	0/6 0/6	活性
		1	58	0/6	+1.57 (D79)	107	-	0/6 0/6	無活性

對照	-	-	-	-	-5.90 (D79)	-	-	-	-	-
----	---	---	---	---	-------------	---	---	---	---	---

$\Delta T/\Delta C$ = 治療組與對照組之間腫瘤體積相對於基線之變化的中值比率；PR = 部分消退；
CR = 完全消退

生物實例13：DAR為8之ADC1針對皮下植入雌性SCID小鼠中之源自肺患者之異種移植腫瘤LUN-NIC-0008 (Sq-NSCLC)的活體內功效評估

【0920】 針對皮下植入雌性SCID小鼠中之可量測肺PDX LUN-NIC-0008腫瘤，以3個劑量對DAR為8之ADC1進行評估。對照組不予治療。接合物之劑量以mg/kg給出。在腫瘤植入後第28天，藉由單次靜脈內(IV)推注以10、3及1 mg/kg進行投藥。

【0921】 如生物實例6所報導進行毒性及功效評估。

【0922】 如圖9及表13-1所示，使用1、3及10 mg/kg之單次投藥時程，本研究中測試之接合物不會誘導毒性。

【0923】 DAR為8之ADC1在10、3及1 mg/kg下具有高活性，其中 $\Delta T/\Delta C$ 小於0%，腫瘤消退分別為100%、100%及66%；分別為6 PR、6 PR及4 PR /6；且分別為6 CR、6 CR及無CR /6 %。

【0924】 因此，DAR為8之ADC1對於治療肺腫瘤為有效的。

表13-1. ADC1 DAR 8針對SCID雌性小鼠中源自肺患者之異種移植腫瘤

LUN-NIC-0008之抗腫瘤活性的評估

劑	途徑/ 劑量 (mL/kg)	劑量 (mg/kg)	時程 (天)	藥物 死亡 (天)	最低點時每 隻小鼠之平 均體重變化 % (天)	中值 $\Delta T/\Delta C$ ，以%表 示(D45)	中值消 退% (D45)	消退		註解
								PR	CR	
ADC1 DAR 8	IV (10mL/ Kg)	10	28	0/6	-1.65 (D31)	< 0	100	6/6	6/6	高活性
		3	28	0/6	-5.10 (D31)	< 0	100	6/6	6/6	高活性
		1	28	0/6	-1.78 (D31)	< 0	68	4/6	0/6	高活性
對照	-	-	-	-	-7.36 (D44)	-	-	-	-	-

$\Delta T/\Delta C$ = 治療組與對照組之間腫瘤體積相對於基線之變化的中值比率；PR = 部分消退；
CR = 完全消退

生物實例14：DAR為8之ADC1針對皮下植入雌性SCID小鼠中之源自胃患者之異種移植腫瘤STO-IND-0006 (腺癌)的活體內功效評估

【0925】 針對皮下植入雌性SCID小鼠中之可量測之胃PDX STO-IND-0006 腫瘤，以3個劑量對DAR為8之ADC1進行評估。對照組不予治療。接合物之劑量以mg/kg給出。在腫瘤植入後第16天，藉由單次靜脈內(IV)推注以10、3及1 mg/kg 進行投藥。

【0926】 如生物實例6所報導進行毒性及功效評估。

【0927】 STO-IND-0006 PDX為可產生惡病質並誘導體重減輕且需要過早倫理安樂死之侵襲性腫瘤。如圖10及表14-1所示，使用1、3及10 mg/kg之單次投藥時程，本研究中測試之接合物不會誘導額外毒性。

【0928】 DAR為8之ADC1在10 mg/kg下具有高活性，其中 $\Delta T/\Delta C$ 小於0%，腫瘤消退為46%及4 PR /6。其在3 mg/kg下具有活性，其中 $\Delta T/\Delta C$ 等於28%；且在1 mg/kg下無活性，其中 $\Delta T/\Delta C$ 等於51%。

【0929】 因此，DAR為8之ADC1對於治療胃腫瘤為有效的。

表14-1. DAR為8之ADC1針對SCID雌性小鼠中源自胃患者之異種移植腫瘤
STO-IND-0006之抗腫瘤活性的評估

劑	途徑/ 劑量 (mL/kg)	劑量 (mg/kg)	時程 (天)	藥物 死亡 (天)	最低點時每 隻小鼠之平 均體重變化 % (天)	中值 $\Delta T/\Delta C$ ，以%表 示(D43)	中值 消退 % (天)	消退 PR	CR	註解
ADC1 DAR 8	IV (10mL/ Kg)	10	16	0/6	-9.52 (D41)	< 0	46 (D35)	4/6	0/6	高活性
		3	16	0/6	-11.58 (D37)	28	-	0/6	0/6	活性
		1	16	0/6	-13.05 (D40)	51	-	0/6	0/6	無活性
對照	-	-	-	-	-0.79 (D41)	-	-	-	-	-

$\Delta T/\Delta C$ = 治療組與對照組之間腫瘤體積相對於基線之變化的中值比率；PR = 部分消退；

CR = 完全消退

生物實例15：DAR為8之ADC1針對皮下植入雌性SCID小鼠中之源自胃患者之異種移植腫瘤SA-STO-0014 (腺癌)的活體內功效評估

【0930】 針對皮下植入雌性SCID小鼠中之可量測之胃PDX SA-STO-0014 腫瘤，以3個劑量對DAR為8之ADC1進行評估。對照組不予治療。接合物之劑量以mg/kg給出。在腫瘤植入後第20天，藉由單次靜脈內(IV)推注以10、3及1 mg/kg 進行投藥。

【0931】 如生物實例6所報導進行毒性及功效評估。

【0932】 如圖11及表15-1所示，使用1、3及10 mg/kg之單次投藥時程，本研究中測試之接合物不會誘導毒性。

【0933】 DAR為8之ADC1在10及3 mg/kg下具有高活性，其中 $\Delta T/\Delta C$ 小於0%，腫瘤消退分別為100%及34%，分別為6 PR及2 PR /6，且對於最高劑量為6 CR /6。其在1 mg/kg下具有微小活性，其中 $\Delta T/\Delta C$ 等於37%。

【0934】 因此，DAR為8之ADC1對於治療胃腫瘤為有效的。

表15-1. ADC1 DAR 8針對SCID雌性小鼠中源自胃患者之異種移植腫瘤

SA-STO-0014之抗腫瘤活性的評估

劑	途徑/ 劑量 (mL/kg)	劑量 (mg/kg)	時程 (天)	藥物 死亡 (天)	最低點時每 隻小鼠之平 均體重變化 % (天)	中值 $\Delta T/\Delta C$ ，以%表 示(D41)	中值 消退 % (天)	消退		註解
								PR	CR	
ADC1 DAR 8	IV (10mL/ Kg)	10	20	0/6	+1.13 (D23)	< 0	100 (D69)	6/6	6/6	高活性
		3	20	0/6	+0.73 (D27)	< 0	34 (D48)	2/6	0/6	高活性
		1	20	0/6	+0.98 (D27)	37	-	0/6	0/6	微小活 性
對照	-	-	-	-	+0.33 (D23)	-	-	-	-	-

$\Delta T/\Delta C$ = 治療組與對照組之間腫瘤體積相對於基線之變化的中值比率；PR = 部分消退；CR = 完全消退

生物實例16：DAR為8之ADC1針對皮下植入雌性SCID小鼠中之源自胃患者之異種移植腫瘤STO-IND-0007 (腺癌)的活體內功效評估

【0935】 針對皮下植入雌性SCID小鼠中之可量測之胃PDX STO-IND-0007 腫瘤，以3個劑量對DAR為8之ADC1進行評估。對照組不予治療。接合物之劑量以mg/kg給出。在腫瘤植入後第43天，藉由單次靜脈內(IV)推注以10、3及1 mg/kg 進行投藥。

【0936】 如生物實例6所報導進行毒性及功效評估。

【0937】 如圖12及表16-1所示，使用1、3及10 mg/kg之單次投藥時程，本研究中測試之接合物不會誘導毒性。

【0938】 DAR為8之ADC1在10及3 mg/kg下具有高活性，其中 $\Delta T/\Delta C$ 小於0%，腫瘤消退分別為91%及40%，分別為6 PR及3 PR /6，且對於最高劑量為3 CR /6。其在1 mg/kg下無活性，其中 $\Delta T/\Delta C$ 等於55%。

【0939】 因此，DAR為8之ADC1對於治療胃腫瘤為有效的。

表16-1. DAR為8之ADC1針對SCID雌性小鼠中源自胃患者之異種移植腫瘤 STO-IND-0007之抗腫瘤活性的評估

劑	途徑/ 劑量 (mL/kg)	劑量 (mg/kg)	時程 (天)	藥物 死亡 (天)	最低點時每 隻小鼠之平 均體重變化 % (天)	中值 $\Delta T/\Delta C$ ，以%表 示(D73)	中值 消退 % (天)	消退 PR CR	註解
ADC1 DAR 8	IV (10mL/ Kg)	10	43	0/6	-4.03 (D46)	< 0	91 (D77)	6/6 3/6	高活性
		3	43	0/6	-5.70 (D46)	< 0	40 (D70)	3/6 0/6	高活性
		1	43	0/6	-1.85 (D46)	55	-	0/6 0/6	無活性
對照	-	-	-	-	-4.07 (D67)	-	-	- -	-

$\Delta T/\Delta C$ = 治療組與對照組之間腫瘤體積相對於基線之變化的中值比率；PR = 部分消退；CR = 完全消退

生物實例17：在單小鼠試驗形式下DAR為8之ADC1在一組16個源自CRC患者之異種移植模型中之活體內功效評估

- 【0940】 單小鼠試驗(SMT)在於每個治療臂之每個PDX模型使用一隻動物，以評估抗腫瘤劑在更大篩選範圍上之功效，更能代表多樣化患者反應。
- 【0941】 在一組16個CRC PDX模型中以10 mg/kg對DAR為8之ADC1進行評估。劑量以mg/kg給出。藉由單次靜脈內(IV)推注，對皮下植入雌性SCID小鼠中之可量測CRC PDX腫瘤進行投藥。當腫瘤體積達到特定尺寸範圍(150-250mm³)時，將小鼠(每個PDX模型一隻小鼠)個別地參與以進行功效研究。
- 【0942】 為評估接合物之抗腫瘤活性，對動物進行稱重且用測徑器每週量測腫瘤2次。在最低點時產生20%體重減輕(組平均值)或10%或更多藥物死亡之劑量應視為毒性過高劑量。動物體重包括腫瘤重量。使用公式質量(mm³) = [長度(mm) × 寬度(mm)²]/2計算腫瘤體積。
- 【0943】 實體腫瘤對治療之反應的評估標準係基於臨床使用之RECIST準則(實體腫瘤反應評估準則)且專為SMT項目而定義。藉由時間t (Vt)與研究開始日t0 (V0)之間的腫瘤體積差異，根據RTV公式 = (Vt-V0) / V0 × 100來確定腫瘤對各種治療之反應。最佳反應經確定為治療後至少5天確定之RTV最小值且註明：最佳反應。
- 【0944】 根據RECIST準則，最佳應答可認定為完全反應(CR)：腫瘤消失；部分反應(PR)：腫瘤體積與基線相比至少減小30%；進行性疾病(PD)：腫瘤體積與基線相比增大超過20%；穩定疾病(SD)：既無足夠收縮來認定為PR，亦無足夠增大來認定為PD：

表17-1

最佳反應	RECIST準則
RTV > 20%	進行性疾病(PD)
-30% < RTV ≤ 20%	穩定疾病(SD)
RTV ≤ -30%	部分反應(PR)
RTV = -100%	完全反應(CR)

【0945】 使用10 mg/kg之單次投藥時程，ADC1 DAR 8不會誘導毒性。

【0946】 如圖13所示，自所評價之16個PDX模型(11個原發性結腸直腸腫瘤、4個轉移性腫瘤及1個癌腫瘤)，吾等觀測到3個完全反應(18.8%)及5個部分反應(31.2%)，亦即，8個客觀反應(50%)、7個穩定疾病(43.8%)及1個進行性疾病(6.2%)。在圖13中，藉由將時間t時之腫瘤體積相對於基線之變化與 $\Delta RTV = (V_t - V_0) / V_0 \times 100$ 進行比較來確定反應；反應準則改編自RECIST臨床準則；完全反應(CR)：腫瘤消失；部分反應(PR)：腫瘤體積與基線相比至少減小30%；進行性疾病(PD)：腫瘤體積與基線相比至少增大20%；穩定疾病(SD)：既無足夠收縮來認定為PR，亦無足夠增大來認定為PD。PDX模型依照對ADC1 DAR 8之敏感度增加進行排序。

【0947】 因此，DAR為8之ADC1對於治療胃腫瘤為有效的。

生物實例18：DAR為8之ADC 1及DAR為4之ADC1的大鼠毒性研究

【0948】 為表徵結合至CEACAM5且接合至喜樹鹼連接子之抗體作為8負載ADC (例如，DAR為8之ADC1)及4負載ADC (例如，DAR為4之ADC1)的毒性，且為評估ADC之暴露，在雌性大鼠中進行DAR為8之ADC1及DAR為4之ADC1的重複劑量靜脈內毒性研究，且評估毒物動力學及計算之DAR。

【0949】 向雌性斯普拉格道利大鼠(Sprague Dawley rat)每週靜脈內投予30或50 mg/kg之DAR為8之ADC1或50及75 mg/kg之DAR為4之ADC1持續4週，為耐受的。臨床病理變化一般極小，與劑量及時間點之相關性不一致，且包括嗜中

性球、單核細胞及血小板增加。第29天在淋巴器官(下頷淋巴結、脾及/或胸腺；極少至嚴重淋巴耗竭；所有劑量組)及腎(極少小管變性；僅在75mg/kg之DAR為4之ADC1給藥之組中發生)觀測到解剖病理學測試品相關之發現。截至第50天，淋巴及腎之發現完全或部分逆轉，而在肺中，在50mg/kg之DAR為8之ADC1給藥之組、50mg/kg之DAR為4之ADC1給藥之組及75mg/kg之DAR為4之ADC1給藥之組中觀測到極少至輕微肺泡巨噬細胞聚集(與75mg/kg之DAR為4之ADC1給藥之組中肺/總體重比率增加相關聯)。在50mg/kg之DAR為8之ADC1給藥之組中的兩隻動物及75mg/kg之DAR為4之ADC1給藥之組中的1隻動物中觀測到局部皮膚糜爛/潰瘍及/或炎症，且50mg/kg之DAR為8之ADC1給藥之組中的單隻動物出現局部輕微肺間質單核細胞浸潤；與測試品之關係不確定。

【0950】總之，DAR為8之ADC1在30及50 mg/kg/天重複投藥(Q1W × 4)後在大鼠中具有良好耐受性。DAR為8之ADC1在10 mg/kg單次劑量後誘導95%之疾病控制率及50%之整體反應率。

生物實例19：DAR為8之ADC1對於CEACAM5+細胞比例下降之旁觀者效應

【0951】將如生物實例5所述活體外產生之NLR-MKN45-KO^{CAM5}以如下比例範圍混合至親本MKN45細胞株中：以親本MKN45細胞株之5,000個細胞加上5,000個NLR-MKN45-KO^{CAM5}細胞(50%/50%)起始，降至親本MKN45細胞株之100個細胞加上9,900個NLR-MKN45-KO^{CAM5}細胞(1%/99%)。將細胞於培養基中鋪在96孔板中。將5 nM ADC1添加至3個孔中，且使用incucyte[®] S3 IC50534 (Essen Biosciences/Sartorius)歷時72小時內每6小時對NLR-MKN45-KO^{CAM5}之數目進行計數。

【0952】 結果匯總於表19-1中。經由旁觀者效應，ADC1誘導

NLR-MKN45-KO^{CAM5}之生長抑制，該生長抑制與共培養之親本MKN45細胞釋放之活性代謝物的量成比例。NLR-MKN45-KO^{CAM5}生長抑制自當兩種細胞類型以等比例(50%/50%)共培養時之49.8%降至當1%親本MKN45細胞與99% NLR-MKN45-KO^{CAM5}細胞混合時之10.7%。

表19-1

MKN45 % / NLR-MKN45-KO ^{CAM5} %	50/50	30/70	20/80	10/90	5/95	1/99
NLR-MKN45-KO ^{CAM5} 之 AUC	13363	15040	16189	17686	20412	23891
	13241	14853	16582	18648	21108	22997
	13298	15182	15519	19182	19740	24119
平均值	13301	15025	16097	18505	20420	23669
MKN45-KO ^{CAM5} 生長抑制%	49.8 %	43.3 %	39.2 %	30.1 %	22.9 %	10.7%

未經ADC1治療之細胞混合物的平均AUC：26491

生物實例20：DAR為8之ADC1在MKN45腫瘤細胞中之內化率

【0953】 使用Incucyte®活細胞技術(Essen Biosciences/Sartorius)及pH敏感性FabFluor-pH Red來研究ADC1之內化能力。在培養基(pH接近7)中，pH-Red染料幾乎無螢光。當ADC1與FabFluor-pH Red之複合物由培養中之細胞內化時，pH-Red分子在到達如核內體及溶酶體之酸性區室時發出強螢光。對所觀測之螢光信號進行定量。

【0954】 ADC1觀測到內化之快速時間依賴性增加，但培養基(僅細胞)對照並未觀測到，其中t_{1/2} [95% CI]為4.49小時[4.219；4.776]。

表20-1：ADC1內化t1/2之活體外評估

實驗	t _{1/2} (小時)		
	平行測定	平均值	95%信賴區間
實驗1	4.54	4.59	[4.106；5.071]
	4.80		

實驗2	4.42	4.52	[4.222 ; 4.813]
	4.64		
	4.40		
	4.51		
實驗3	4.35	4.37	[4.241 ; 4.504]
	4.33		
	4.43		

生物實例21：在單小鼠試驗形式下DAR為8之ADC1在一組19個源自胃患者之異種移植模型(19個腺癌，包括2個印戒(Signet-ring)細胞、2個轉移性腫瘤及1個胃食道結合部腫瘤)中之活體內功效評估

【0955】 單小鼠試驗(SMT)在於每個治療臂之每個源自患者之異種移植(PDX)模型使用一隻動物，以評估抗腫瘤劑在更大篩選範圍上之功效，更能代表多樣化患者反應。

【0956】 在一組19個針對胃癌之胃PDX模型中以10 mg/kg對DAR為8之ADC1進行評估。劑量以mg/kg給出。藉由單次靜脈內(IV)推注，對皮下植入雌性免疫缺陷小鼠中之可量測PDX腫瘤進行投藥。當腫瘤體積達到特定尺寸範圍(150-250mm³)時，將小鼠(每個PDX模型一隻小鼠)個別地參與以進行功效研究。對於各PDX模型，一隻小鼠未經治療作為對照，以監測腫瘤生長，但不用於活性分析。

【0957】 為評估接合物之抗腫瘤活性，對動物進行稱重，且用測徑器每週量測腫瘤2次。在最低點時產生20%體重減輕(組平均值)或10%或更多藥物死亡之劑量應視為毒性過高劑量。動物體重包括腫瘤重量。使用公式質量(mm³) = [長度(mm) × 寬度(mm)²]/2計算腫瘤體積。

【0958】 實體腫瘤對治療之反應的評估標準係基於臨床試驗中使用之RECIST準則(實體腫瘤反應評估準則)且專為SMT項目而定義。藉由時間t (Vt)與研究起點t0 (V0)之間的腫瘤體積差異，根據RTV公式 = (Vt-V0) / V0 × 100來確定

腫瘤對各種治療之反應。最佳反應經確定為治療後至少5天確定之RTV最小值且註明：最佳反應。

【0959】 根據RECIST準則，最佳反應為完全反應(CR)：腫瘤消失；部分反應(PR)：腫瘤體積與基線相比至少減小30%；進行性疾病(PD)：腫瘤體積與基線相比增大超過20%；穩定疾病(SD)：既無足夠收縮來認定為PR，亦無足夠增大來認定為PD：

表21-1

最佳反應	RECIST準則
RTV > 20%	進行性疾病(PD)
-30% < RTV ≤ 20%	穩定疾病(SD)
RTV ≤ -30%	部分反應(PR)
RTV = -100%	完全反應(CR)

【0960】 使用10 mg/kg之單次投藥時程，ADC1不會誘導毒性。

【0961】 圖14顯示在單小鼠試驗-最佳相對腫瘤收縮下ADC1在一組19個源自胃患者之異種移植模型中之抗腫瘤活性的評估。如圖14所示，自所評價之19個胃PDX模型，吾等觀測到2個完全反應(10.5%)及11個部分反應(58%)，亦即，13個客觀反應(68%)、3個穩定疾病(16%)及3個進行性疾病(16%)。

【0962】 在圖14中，藉由將時間t時之腫瘤體積相對於基線之變化與 $\Delta RTV = (V_t - V_0) / V_0 \times 100$ 進行比較來確定反應；反應準則改編自RECIST臨床準則；完全反應(CR)：腫瘤消失；部分反應(PR)：腫瘤體積與基線相比至少減小30%；進行性疾病(PD)：腫瘤體積與基線相比至少增大20%；穩定疾病(SD)：既無足夠收縮來認定為PR，亦無足夠增大來認定為PD。PDX模型依照對ADC1之敏感度增加進行排序。

【0963】 因此，ADC1對於減小胃癌之腫瘤體積為有效的。

生物實例22：在單小鼠試驗形式下DAR為8之ADC1在一組31個源自肺患者之異種移植模型(NSCLC、nsq-NSCLC及SCLC)中之活體內功效評估

【0964】如生物實例21所報導進行功效評估。在一組19個針對肺癌之胃PDX模型中以10 mg/kg對DAR為8之ADC1進行評估。

【0965】圖15顯示在單小鼠試驗-最佳相對腫瘤收縮下ADC1在一組19個源自胃患者之異種移植模型中之抗腫瘤活性的評估。如圖15所示，使用10 mg/kg之單次投藥時程，ADC1不會誘導毒性。自所評價之31個肺PDX模型(16個Sq-NSCLC、13個nsq-NSCLC、2個SCLC)，吾等觀測到8個完全反應(26%) (4個Sq-NSCLC、3個nsq-NSCLC、1個SCLC)及14個部分反應(45%) (1個SCLC、6個nsq-NSCLC、7個sq-NSCLC)，亦即，22個客觀反應(71%)、5個穩定疾病(16%) (2個nsq-NSCLC、3個sq-NSCLC)及4個進行性疾病 (13%) (2個nsq-NSCLC + 2個sq-NSCLC)。

【0966】在圖15中，藉由將時間t時之腫瘤體積相對於基線之變化與 $\Delta RTV = (V_t - V_0) / V_0 \times 100$ 進行比較來確定反應；反應準則改編自RECIST臨床準則；完全反應(CR)：腫瘤消失；部分反應(PR)：腫瘤體積與基線相比至少減小30%；進行性疾病(PD)：腫瘤體積與基線相比至少增大20%；穩定疾病(SD)：既無足夠收縮來認定為PR，亦無足夠增大來認定為PD。PDX模型依照對ADC1之敏感度增加進行排序。

【0967】此證明ADC1對於減小肺癌之腫瘤體積為有效的。

生物實例23：DAR為8之ADC1針對皮下植入雌性SCID小鼠中之源自胰臟患者之異種移植腫瘤IM-PAN-011 (mPDAC)之活體內功效評估

【0968】 針對皮下(s.c)植入雌性SCID小鼠中之可量測之源自胰臟患者之異種移植(PDX)腫瘤IM-PAN-011腫瘤，以3個劑量對DAR為8之ADC1進行評估。IM-PAN-011為轉移性胰臟導管腺癌(PDAC)。對照組不予治療。接合物之劑量以mg/kg給出。在腫瘤植入後第21天，藉由單次靜脈內(IV)推注以10、3及1 mg/kg進行投藥。

【0969】 為評估接合物之抗腫瘤活性，對動物進行稱重，且用測徑器每週量測腫瘤2次。在最低點時產生20%體重減輕(組平均值)或10%或更多藥物死亡之劑量應視為毒性過高劑量。動物體重包括腫瘤重量。使用公式質量(mm³) = [長度(mm) × 寬度(mm)²]/2計算腫瘤體積。主要功效終點為ΔT/ΔC、中值消退百分比、部分及完全消退(PR及CR)。

【0970】 藉由自指定觀測日之腫瘤體積減去首次治療當天(分期日)之腫瘤體積來計算各腫瘤之各治療(T)及對照(C)之腫瘤體積變化。計算治療組之中值ΔT，且計算對照組之中值ΔC。接著計算比率ΔT/ΔC且以百分比表示：

$$\Delta T/\Delta C = (\Delta T/\Delta C) \times 100$$

【0971】 當ΔT/ΔC低於或等於40%時，劑量應視為具有治療活性；且當ΔT/ΔC低於或等於10%時，應視為極具活性。若ΔT/ΔC低於0，則劑量應視為具有高活性，且消退百分比已註明日期(*Plowman J, Dykes DJ, Hollingshead M, Simpson-Herren L及Alley MC. Human tumor xenograft models in NCI drug development. Feibig HH BA, Basel: Karger. 編; 1999 第101-125頁*)：

【0972】 **腫瘤消退%**定義為治療組中指定觀測日之腫瘤體積與其首次治療第一天之體積相比之減小%。

[(09/3)| 在特定時間點上對於每隻動物，計算消退%。接著計算各組之中值消退%。

消退%(t時) =
$$\frac{\text{腫積}_{t_0} - \text{腫積}_t}{\text{腫積}_{t_0}} \times 100$$

[(09/4)| 部分消退(PR)：若腫瘤體積減小至治療開始時腫瘤體積之50%，則定義為部分消退。

[(09/5)| 完全消退(CR)：當腫瘤體積≤0 mm³時達到完全消退(當腫瘤體積無法記錄時應視為CR)。

[(09/6)| 使用1、3及10 mg/kg之單次投藥時程，本研究中測試之接合物不會誘導毒性。

[(09/7)| DAR為8之ADC1在3個測試劑量mg/kg下具有高活性，其中對於10 mg/kg之劑量，AT/AC小於0%，腫瘤消退為100%、6 PR/6及6 CR/6；對於3 mg/kg之劑量，AT/AC小於0%，腫瘤消退為100%、6 PR /6及5 CR/6；且對於1 mg/kg之劑量，AT/AC小於0%，腫瘤消退為73%、5 PR/6及2 CR/6。結果進一步匯總於圖16及表22.1中。

表22.1. ADC1針對SCID雌性小鼠中源自胰臟患者之異種移植腫瘤MCF-PAN-011

之抗腫瘤活性的評估。

劑	途徑/ 劑量 (mL/kg)	劑量 (mg/kg)	時程 (天)	藥物 死亡 (天)	最低劑時每 隻小鼠之平 均體重變化 % (天)	中值 AT/AC ，以%表 示(D36)	中值 消退 % (D36)	消退		註解
								PR	CR	
ADC1	IV	10	21	0/6	3.07 (D43)	< 0	100	6/6	6/6	高活性
	(10mL/	3	21	0/6	2.93 (D50)	< 0	100	6/6	5/6	高活性
	kg)	1	21	0/6	2.45 (D54)	< 0	73	5/6	2/6	高活性
對照					2.17 (D36)					
AT/AC = 治療組與對照組之間腫瘤體積相對於基線之變化的中值比率；PR = 部分消退；CR = 完全消退										

生物實例24：DAR為8之ADC1針對皮下植入雌性SCID小鼠中之源自胰臟患者之異種移植腫瘤SA-PAN-0077 (PDAC)之活體內功效評估

【0978】 針對皮下植入雌性SCID小鼠中之可量測之胰臟PDX SA-PAN-0077腫瘤，以3個劑量對DAR為8之ADC1進行評估。對照組不予治療。接合物之劑量以mg/kg給出。在腫瘤植入後第29天，藉由單次靜脈內(IV)推注以10、3及1 mg/kg進行投藥。

【0979】 如生物實例23所報導進行毒性及功效評估。

【0980】 使用1、3及10 mg/kg之單次投藥時程，本研究中測試之接合物不會誘導毒性。ADC1在10及3 mg/kg下具有高活性，其中 $\Delta T/\Delta C$ 小於0%，且分別地，腫瘤消退為100%、6 PR /6及5 CR/6，且腫瘤消退為80%、6 PR/6及1 CR/6。其在1 mg/kg下具有活性，其中 $\Delta T/\Delta C$ 等於36%。根據此等結果，ADC1可用於開發用於CRC適應症之治療性ADC。結果進一步匯總於圖17及表23-1中。

表23-1. ADC1針對SCID雌性小鼠中源自胰臟患者之異種移植腫瘤SA-PAN-0077之抗腫瘤活性的評估。

劑	途徑/劑量 (mL/kg)	劑量 (mg/kg)	時程 (天)	藥物 死亡 (天)	最低點時每 隻小鼠之平 均體重變化 % (天)	中值 $\Delta T/\Delta C$ ，以%表 示(D50)	中值 消退 % (D58)	消退 PR CR		註解
ADC1	IV (10mL/ Kg)	10	29	0/6	-5.18 (D37)	< 0	100	6/6	5/6	高活性
		3	29	0/6	-4.04 (D40)	< 0	80	6/6	1/6	高活性
		1	29	0/6	-0.18 (D37)	36	-	0/6	0/6	活性
對照	-	-	-	-	-0.54 (D35)	-	-	-	-	-

$\Delta T/\Delta C$ = 治療組與對照組之間腫瘤體積相對於基線之變化的中值比率；PR = 部分消退；CR = 完全消退

生物實例25：DAR為8之ADC1針對皮下植入雌性SCID小鼠中之源自胰臟患者之異種移植腫瘤IM-PAN-0006 (PDAC)之活體內功效評估

【0981】 針對皮下植入雌性SCID小鼠中之可量測之胰臟PDX IM-PAN-006 腫瘤，以3個劑量對DAR為8之ADC1進行評估。對照組不予治療。接合物之劑量以mg/kg給出。在腫瘤植入後第29天，藉由單次靜脈內(IV)推注以10、3及1 mg/kg 進行投藥。

【0982】 如生物實例23所報導進行毒性及功效評估。

【0983】 使用10、3及1 mg/kg之單次投藥時程，本研究中測試之接合物不會誘導毒性。

【0984】 ADC1在10及3 mg/kg下具有高活性，其中 $\Delta T/\Delta C$ 小於0%，且分別地，腫瘤消退為100%、6 PR /6及5 CR/6，且腫瘤消退為75%、6 PR/6及1 CR/6。其在1 mg/kg下無活性，其中 $\Delta T/\Delta C$ 等於44%。

【0985】 根據此等結果，ADC1可用於開發用於胰臟適應症之治療性ADC。

【0986】 結果進一步匯總於表25-1及圖18中。

表25-1. ADC1針對SCID雌性小鼠中源自胰臟患者之異種移植腫瘤IM-PAN-006 之抗腫瘤活性的評估

劑	途徑/ 劑量 (mL/kg)	劑量 (mg/kg)	時程 (天)	藥物 死亡 (天)	最低點時每 隻小鼠之平 均體重變化 % (天)	中值 $\Delta T/\Delta C$ ，以%表 示(D62)	中值 消退 % (天)	消退 PR CR	註解
ADC1	IV (10mL/ Kg)	10	29	0/6	-2.15 (D40)	< 0	100 (D62)	6/6 5/6	高活性
		3	29	0/6	+1.57 (D40)	< 0	75 (D58)	5/6 1/6	高活性
		1	29	0/6	-0.72 (D43)	40	-	0/6 0/6	無活性
對照	-	-	-	-	-2.20 (D43)	-	-	- -	-

$\Delta T/\Delta C$ = 治療組與對照組之間腫瘤體積相對於基線之變化的中值比率；PR = 部分消退；CR = 完全消退

生物實例26：DAR為8之ADC1針對皮下植入雌性SCID小鼠中之源自胰臟患者之異種移植腫瘤IM-PAN-003 (PDAC)之活體內功效評估

【0987】 針對皮下植入雌性SCID小鼠中之可量測之胰臟PDX

IMP-PAN-003腫瘤，以3個劑量對DAR為8之ADC1進行評估。對照組不予治療。接合物之劑量以mg/kg給出。在腫瘤植入後第21天，藉由單次靜脈內(IV)推注以10、3及1 mg/kg進行投藥。

【0988】 如生物實例23所報導進行毒性及功效評估。

【0989】 使用1、3及10 mg/kg之單次投藥時程，本研究中測試之接合物不會誘導毒性。ADC1在10及3 mg/kg下具有高活性，其中 $\Delta T/\Delta C$ 小於0%，且對於兩個劑量，腫瘤消退為100%、6 PR /6及6 CR/6。其在1 mg/kg下具有活性，其中 $\Delta T/\Delta C$ 等於13%及1 PR/6。根據此等結果，ADC1可用於開發用於CRC適應症之治療性ADC。結果進一步匯總於表26-1及圖19中。

表26-1. ADC1針對SCID雌性小鼠中源自胰臟患者之異種移植腫瘤IM-PAN-003之抗腫瘤活性的評估

劑	途徑/ 劑量 (mL/kg)	劑量 (mg/kg)	時程 (天)	藥物 死亡 (天)	最低點時每 隻小鼠之平 均體重變化 % (天)	中值 $\Delta T/\Delta C$ ，以%表示 (D41)	中值 消退 % (天)	消退 PR CR	註解
ADC1	IV (10mL/ Kg)	10	21	0/8	-3.90 (D27)	< 0	100 (D49)	6/6 6/6	高活性
		3	21	0/8	-2.73 (D27)	< 0	100 (D65)	6/6 6/6	高活性
		1	21	0/8	-1.48 (D24)	13	-	1/6 0/6	活性
對照	-	-	-	-	-2.98 (D24)	-	-	- -	-

$\Delta T/\Delta C$ = 治療組與對照組之間腫瘤體積相對於基線之變化的中值比率；PR = 部分消退；CR = 完全消退

生物實例27：研究患有晚期實體腫瘤之成人中DAR為8之ADC1的開放標籤

1期研究

【0990】 如本文所述，使用DAR為8之ADC1進行研究晚期實體腫瘤之開放標籤1期臨床試驗。本研究具有3個部分。研究之A部分及視情況存在之B部分鑑

定DAR為8之ADC1的適合劑量。C部分使用A部分及B部分之資訊來確定DAR為8之ADC1是否安全以及是否有效治療實體腫瘤癌症。

【0991】 所關注之疾患包括結腸直腸腫瘤、癌瘤、非小細胞肺癌、胃腫瘤、胰臟導管腺癌、胃食道結合部腺癌及小細胞肺癌。

【0992】 作為單一療法靜脈內投予DAR為8之ADC1。

【0993】 本研究使用之主要結果量度包括：

- 出現不良事件(AE)之參與者數目。AE為臨床研究參與者中發生之任何不良醫療事件，暫時與研究介入之使用相關，無論是否認為與研究介入相關。評估之時間範圍為直至最後一次研究治療後30-37天，至多約2年；

- 出現實驗室異常之參與者數目。評估之時間範圍為直至最後一次研究治療後30-37天，至多約2年；

- 因AE導致之劑量修改次數。評估之時間範圍為治療結束至至多約2年；

- 出現劑量限制性毒性(DLT)之參與者數目。評估之時間範圍為至多28天；

及

- 按劑量水準劃分之出現DLT之參與者數目。評估之時間範圍為至多28天。

【0994】 本研究使用之次要結果量度包括：

- 藥物動力學(PK)參數 - 濃度-時間曲線下面積(AUC)。AUC將使用描述性統計進行匯總。評估之時間範圍為直至最後一次研究治療後30-37天，至多約2年；

- PK參數 - 最大濃度(C_{max})。評估之時間範圍為直至最後一次研究治療後30-37天，至多約2年；

- PK參數 - 達到最大濃度之時間(T_{max})。評估之時間範圍為直至最後一次研究治療後30-37天，至多約2年；

- PK參數 - 谷濃度($C_{谷}$)。評估之時間範圍為直至最後一次研究治療後30-37天，至多約2年；
- 使用抗藥物抗體(ADA)之參與者數目。評估之時間範圍為直至最後一次研究治療後30-37天，至多約2年；
- 客觀反應率(ORR)：客觀反應率(ORR)定義為完全反應(CR)或部分反應(PR)之參與者比例，隨後如根據實體腫瘤反應評估(RECIST)版本1.1所評價進行確認。評估之時間範圍為直至研究結束且至多約2年；
- 最佳反應：參與者之最佳反應由根據RECIST版本1.1之經確認CR、經確認PR、穩定疾病(SD)、進行性疾病(PD)、不可評估(NE)或不適用(NA)之次序來確定。評估之時間範圍為直至研究結束且至多約2年；
- 反應持續時間(DOR)。DOR定義為自首次記錄客觀腫瘤反應(CR或PR)開始至根據RECIST版本1.1首次記錄腫瘤進展或至因任何原因導致死亡之時間。評估之時間範圍為直至研究結束且至多約2年；
- 無進展存活期(PFS)。PFS定義為自DAR為8之ADC1開始至首次記錄疾病進展(基於根據RECIST版本1.1之放射學評價)或任何原因導致死亡(以先到者為準)之時間。評估之時間範圍為直至研究結束且至多約2年；及
- 總存活期(OS)。OS定義為自DAR為8之ADC1開始至因任何原因導致死亡之日期的時間。評估之時間範圍為直至研究結束且至多約2年。

【0995】 納入準則包括：

- 腫瘤類型：
 - a. A部分(劑量遞增)之參與者必須患有組織學或細胞學確認之轉移性或非可切除性實體腫瘤惡性病。參與者必須患有復發性、難治性或進行性疾病，且

3. 在劑量最佳化及劑量擴展群組中，具有NSCLC nsq組織學、NSCLC sq組織學或SCLC之個體必須患有藉由中心IHC測試在 $\geq 1\%$ 之腫瘤細胞中以 $\geq 2+$ 之強度表現CEACAM5之腫瘤。

4. 以下研究部分中參與之個體應具有可達及以供活檢之腫瘤部位且同意活檢及/或提交歸檔組織：

a. 劑量最佳化

b. 疾病特異性擴展群組

5. 0或1之東部腫瘤合作組(ECOG)表現狀態評分。

6. 在基線時根據實體腫瘤反應評估(RECIST)版本1.1之可量測疾病。

7. 以下基線實驗室數據：

- 絕對嗜中性球計數(ANC) $\geq 1500/\mu\text{L}$

- 血紅素 $\geq 9 \text{ g/dL}$

- 血小板計數 $\geq 100,000/\mu\text{L}$

- 使用腎病飲食修正(MDRD)研究方程式(如適用)之個別估算腎小球濾過率

(GFR) $\geq 60 \text{ mL/min/1.73 m}^2$

- 對於患有吉爾伯特氏病(Gilbert's disease)或記錄有肝腫瘤累及之個體，血清膽紅素 $\leq$ 正常上限(ULN)之1.5倍或 $\leq$ ULN之3倍

- 對於具有肝轉移之參與者，丙胺酸轉胺酶(ALT)及天冬胺酸轉胺酶(AST) $\leq$ ULN之3倍或 $\leq$ ULN之5倍

8. 在以下條件下具有生育潛力(如章節10.4中所定義)之個體：

a. 在第一劑研究介入前72小時內，必須具有陰性血清懷孕測試(最低敏感度 25 mIU/mL或等效單位之 β 人類絨毛膜促性腺激素[β -hCG])結果。具有假陽性結果且有記錄證明個體未懷孕之個體符合參與條件。

b. 必須同意在研究期間以及在最後一劑ADC1 DAR8後至少7個月內不嘗試懷孕。

c. 必須同意自知情同意之時起不母乳哺育或捐獻卵子，且持續至最後一劑ADC1 DAR8後至少7個月。

d. 若發生可能導致懷孕之性行為，則必須一直使用至少2種可接受之節育方法(避孕)，其中至少1種方法必須自知情同意之時起高度有效，且持續至最後一劑ADC1 DAR8後至少7個月。

9. 在以下條件下可使人懷孕之個體：

a. 必須同意自知情同意之時起不捐獻精子，且持續至最後一劑ADC1 DAR8後至少4個月。

b. 若與有生育潛力之人發生可能導致懷孕之性行為，則必須一直使用至少2種可接受之節育方法(避孕)，其中至少1種方法必須自知情同意之時起高度有效，且持續至最後一劑ADC1 DAR8後至少4個月。

c. 若與懷孕或母乳哺育之人發生性行為，則必須自知情同意之時起一直使用保險套，且持續至最後一劑ADC1 DAR8後至少4個月。

10. 個體必須提供書面知情同意。

【0999】 排除準則包括：

1. 已知對ADC1 DAR8藥物調配物中所含之任何賦形劑超敏。

2. 先前暴露於CEACAM5靶向療法。

3. 先前用具有CPT有效負荷之ADC，諸如Enhertu (德曲妥珠單抗(trastuzumab deruxtecan))或Trodely (戈沙妥珠單抗(sacituzumab govitecan))治療。允許先前用伊立替康及其他非ADC拓撲異構酶抑制劑治療。

4. 在第一劑研究介入前3年內有另一種惡性病之病史，或有來自先前診斷之惡性病之殘留疾病的任何證據。轉移或死亡風險可忽略不計之惡性病(例如，5年總存活率(OS)≥90%)除外，諸如經充分治療之原位子宮頸癌、非黑色素瘤皮膚癌、局部前列腺癌、原位導管癌或I期子宮癌。

5. 與潛在惡性病相關之活動性腦/腦膜疾病。若先前中樞神經系統疾病已得到治療且個體在臨床上穩定(定義為在參與前至少2週未接受與腦/腦膜疾病相關之症狀的類固醇治療且並無持續之相關AE)，則具有與潛在惡性病相關之腦/腦膜疾病史之個體獲得許可。

6. 在第一劑研究介入前2週內任何不受控制之病毒、細菌或真菌感染，除非研究者認為臨床上不顯著(例如，甲癬)。允許常規抗微生物預防。

7. B型肝炎表面抗原表現(HBsAg+)及/或B型肝炎核心抗體(HBcAb+)呈陽性；B型肝炎DNA PCR檢定呈陰性之個體允許適當抗病毒預防。HBsAg+及/或HBcAb+呈陽性但B型肝炎DNA呈陰性之個體應在第1週期第1天之前轉診至肝病專家，且應根據活動時程經歷B型肝炎再活動監測。

8. 活動性C型肝炎感染(藉由PCR呈陽性或在過去6個月內接受C型肝炎抗病毒療法)。若已針對C型肝炎感染進行治療或已自發恢復之個體記錄有12週之持續病毒學反應(藉由PCR偵測不到C型肝炎病毒[HCV] RNA)，則獲得許可。

9. 已知對人類免疫缺陷病毒(HIV)呈陽性。

10. 在第一劑研究介入前6個月內記錄有腦血管事件(中風或短暫性缺血發作)、不穩定心絞痛、心肌梗塞、充血性心臟衰竭或符合紐約心臟協會III-IV類心臟症狀之病史。

11. 在第一劑研究介入前4週內進行大手術或在7天內進行小手術。在開始ADC1 DAR8治療之前，參與者必須已自手術引起之毒性或併發症中充分恢復。在治療期間已計劃進行大手術之參與者必須排除在研究之外。

12. 當前進行使用其他研究劑或其他全身性抗腫瘤劑之療法。

13. 若與醫療監測員討論後，潛在疾病在治療時已進展，則化學療法、放射療法、生物製劑及/或使用免疫療法之其他抗腫瘤治療在第一劑研究介入前4週內未完成，或在第一劑研究介入前2週內未完成。

14. 使用任何禁止之伴隨療法或程序進行治療。

15. 與潛在惡性病無關之2級或更高級別之肺病，或有2級或更高級別之藥物誘發之間質性肺病(ILD)或免疫檢查點抑制劑(ICI)相關之ILD病史。

16. 在參與前6個月內已患有需要全身性皮質類固醇治療之臨床顯著肺病(例如，間質性肺炎、肺炎、肺纖維化及嚴重放射性肺炎)，或經由在篩選期間進行之放射學成像及/或功能測試疑似患有此類疾病。

17. 患有活動性2級厭食、噁心或嘔吐及/或腸阻塞徵象之個體。

18. 在起始試驗治療6個月內有臨床顯著胃腸道出血、腸阻塞或胃腸道穿孔之病史。

19. 患有需要在第一劑ADC1 DAR8之2週內使用皮質類固醇(>10 mg每日普賴松(prednisone)或等效物)或其他免疫抑制藥物進行全身治療之疾患的個體(在

不存在活動性免疫疾病之情況下允許使用吸入、局部、眼內、鼻內及關節內類固醇，且允許使用類固醇前用藥以預防對放射學對比劑之超敏反應)。

20. 在研究者之觀點上估算預期壽命<12週。

21. 尚未恢復至基線或處於NCI CTCAE版本5.0 2級或更高級別的關於先前療法之任何臨床顯著毒性(脫髮除外)或研究者認為具有臨床顯著性之毒性。

22. 在第1週期第1天之前30天內接受活疫苗或減毒活疫苗(mRNA及複製缺陷型腺病毒疫苗不應視為減毒活疫苗)。

23. 在研究者之觀點上會損害個體接受或耐受計劃治療及追蹤之能力的其他嚴重潛在醫學狀況。

生物實例28：向雌性SCID小鼠進行單次靜脈內(3 mg/kg)投藥後DAR為8之ADC1的藥物動力學(PK)概況

材料及方法

雌性SCID小鼠之PK研究

【1000】 在SCID小鼠中進行實驗。在研究開始時，每個時間點使用三隻SCID雌性小鼠(體重在18-22 g範圍內)。

【1001】 在即時稀釋於相同緩衝液中之20 mM麩胺酸pH4.5緩衝液中製備DAR為8之ADC1儲備溶液(14.6 mg/mL)，且以3 mg/kg之單次靜脈內劑量投予至尾靜脈中，劑量體積為10 mL/kg。利用非連續採樣方法對動物進行評估，在5分鐘、2、4、24、72、168、336、504、672小時(0.0035、0.083、0.17、1、3、7、14、21及28天)進行採樣，研究持續時間為28天。在各時間點，將血液自心臟穿刺抽取至K3-EDTA收集裝置中。收集後立即將血液樣品置於濕冰上，接著離心。

【1002】藉由將用於總mAb之配位體結合檢定(LBA)及用於DAR (藥物抗體比率)分佈之LC-MS/MS檢定聯合來確定在各時間點總抗體接合藥物(總CD)之血漿濃度：

【1003】分析方法如下：

【1004】**配位體結合檢定(LBA)**：在讀取螢光(λ_{exc} 633 nm, λ_{emm} 650 nm)之前，由結合於Gyrolab xP微結構化圓片之鏈黴親和素珠粒上之抗CEACAM5-生物素進行捕獲且使用山羊抗hu-IgGFC-AlexaFluor示跡劑進行偵測。

【1005】**LC-MS/MS檢定**：藉由LC-MS/MS對匯集之小鼠血漿樣品確定ADC1之DAR。首先在Agilent Assay MAP Bravo上使用塗有生物素化CEACAM5之鏈黴親和素筒自血漿中純化抗CEACAM5 ADC。接著將所有樣品還原且在變性條件下藉由在質譜儀上進行LC-MS來分析。此分析促成輕鏈(LC)及重鏈(HC)之個別MS偵測(來自(完整) ADC之信號因此無法量測)。使用Waters Biopharmalynx軟體對LC及HC之個別DAR計算進行質譜反捲積，且假設LC/HC接合物質之所有可能組合發生的機率相同，則進一步使用LC及HC之DAR平均值以及相應百分比來計算ADC之DAR。

【1006】接著藉由將配位體結合檢定(LBA)獲得之總mAb濃度與如先前所述獲得之高解析度質譜儀(HRMS)正規化之ADC DAR反應相結合來計算各採樣時間點之個別DAR實體濃度。考慮到釋放藥物之質量、DAR實體負載之藥物數目及DAR實體之質量(例如，DAR為4或DAR為8之ADC的質量)，以莫耳濃度計算總抗體接合藥物濃度(總CD)。

【1007】定量下限(LLOQ)值為0.2 $\mu\text{g/mL}$ 。

藥物動力學分析

【1008】 使用Phoenix藥物動力學軟體來估算藥物動力學參數。使用與靜脈內投藥一致之非區室方法進行參數估算。由至多28天之血漿中之抗CEACAM5總CD個別濃度產生PK參數。值以三位有效數字表示。以低於定量限(BLQ)報告之濃度值指定為0值，以進行描述性統計計算。

結果

【1009】 在研究期間未觀測到臨床徵象或症狀。

【1010】 向雌性SCID小鼠單次IV (3 mg/kg)投予DAR為8之ADC1後獲得之抗CEACAM5總CD血漿濃度(µg/mL)的值報告於下表28-1中，且相應血漿濃度對比時間之概況示於圖20中。

表28-1. 以3 mg/kg向SCID小鼠單次靜脈內投予DAR為8之ADC1後，血漿中之抗

CEACAM5總CD及DAR實體濃度

		時間(天)								
		0.0035	0.083	0.17	1.0	3.0	7.0	14	21	28
量測之化合物	動物Id.	濃度 (µg/mL)								
總CD	Pool	2760	1940	1560	1110	1010	653	434	316	241
DAR8	Pool	1980	1240	943	440	193	69.6	43.5	28.6	17.2
DAR7	Pool	715	603	510	462	364	181	115	79.6	52.8
DAR6	Pool	63.1	99.0	95.2	178	293	211	139	101	75.5
DAR5	Pool	BLQ	BLQ	7.11	29.3	128	134	93.5	71.5	60.6
DAR4	Pool	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	31.6	48.3	35.8	29.0	28.1
DAR3	Pool	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	4.06	8.88	7.06	6.13	6.80

*：藉由LBA自總ADC濃度計算血漿濃度實體；ND：未偵測到；

**：BLQ (針對0.1 µg/mL之DAR實體評估之LOQ)

【1011】 單次靜脈內(3 mg/kg)投予DAR為8之ADC1後血漿中抗CEACAM5總CD及DAR實體之藥物動力學參數呈現於下表28-2中。

表28-2. 以3 mg/kg向SCID小鼠單次靜脈內投予DAR為8之ADC1後，血漿中之抗

CEACAM5總CD藥物動力學參數。

量測之化合物	C ₀ /C _{max} (nmol/L)	AUC (天.nmol/L)	CL (mL/天/kg)	V _{ass} (mL/kg)	t _{1/2z} (天)	DAR分佈 %AUC
總CD	2800	20400	8	149	15	---
DAR8	2020	3030	39	341	11	18
DAR7	720	5550	-	-	-	30
DAR6	63.1	6020	-	-	-	28
DAR5	NA	4490	-	-	-	17
DAR4	NA	2540	-	-	-	6
DAR3	NA	NC	-	-	-	1

NC：未計算出；NA：不適用

【1012】 靜脈內投予3 mg/kg後，至多28天(最後採樣時間)之血漿中之抗CEACAM5總CD濃度為可定量的。血漿清除率據估算為8 mL/天/kg，且穩態分佈體積為149 mL/kg，使得最終消除半衰期(t_{1/2})為約15天。

生物實例29：向雄性非人類靈長類動物(NHP)重複劑量靜脈內投藥後，DAR為8之ADC1的活體內蛋白水解代謝。

材料及方法

食蟹獼猴中之蛋白水解代謝PK

【1013】 在非人類/食蟹猴(食蟹獼猴)中進行NHP實驗。在研究開始時，每個時間點使用兩隻動物/性別(體重範圍為2.6-4.3 kg)。

【1014】 在海藻糖/20 mM麩胺酸pH4.5 (7% / 93%)緩衝液中製備DAR為8之ADC1儲備溶液(26.2 mg/mL)，且以Q2W × 3靜脈內劑量投予至隱靜脈中，劑量體積為2 mL/kg。利用連續採樣方法對動物進行評估，在5分鐘、2、4、6、24、48、72、168及336小時(0.0035、0.083、0.167、0.25、1、2、3、7及14天)進行採樣，研究持續時間為29天。在各時間點，將血液自股靜脈、隱靜脈及/或頭靜脈抽取至K3-EDTA收集裝置中。收集後立即將血液樣品置於濕冰上，接著離心。

【1015】 藉由以下自中而上之LC-MS檢定來確定NHP之血漿樣品中DAR為8之ADC1的活體內蛋白水解代謝概況：

【1016】 自中而上之LC-MS檢定：在塗有生物素化CEACAM5之Agilent AssayMAP Bravo鏈黴親和素筒上進行免疫捕獲，繼而用IdeS酶進行鉸鏈特異性消化，且在輕鏈(Lc)及Fd片段(Fd)之變性條件下藉由在Orbitrap Exploris 480質譜儀上進行微型LC結合HRMS來分析。

【1017】 使用Genedata Expressionist軟體進行蛋白質分配之質譜反捲積。

結果

【1018】 在所有血漿樣品中所偵測之主要蛋白質次單元為DAR 1 Lc及DAR 3 Fd，源自於用IdeS酶消化之非代謝DAR 8 ADC1。觀測到一些較低質量之蛋白水解代謝物，且將其歸因於DAR 0 Lc以及DAR 2及DAR 1 Fd，全部源自於SGD-7192之去接合。可精確地評價及追蹤所分析之血漿樣品中各載藥蛋白質次單元(非代謝及代謝物)之接合至Lc及Fd上之SGD-7192的水解。另外，偵測到更高質量之蛋白水解代謝物，且當前將其鑑定為經由鏈間二硫鍵之假定重組Lc及Fd鏈。

援引併入

【1019】 本文引用之所有參考文獻，包括專利、專利申請案、科學論文、教科書及類似文獻，以全文引用之方式併入。

非正式序列表

描述	序列	SEQ ID NO:
CDR1-H	GFVFSSYD	1
CDR-2H	ISSGGGIT	2
CDR-3H	AAHYFGSSGPFAY	3
CDR1-L	ENIFSY	4
CDR2-L	NTR	5
CDR3-L	QHHYGTPFT	6
VH	EVQLQESGPGGLVKPGGSLSLSCAASGFVFS SYDMSWVRQTPERGLEWVAYISSGGGITYA	7

	PSTVKGRFTVSRDNAKNTLYLQMNSLTSED TAVYYCAAHYFGSSGPFAYWGGTGLVTVSS	
VL	DIQMTQSPASLSASVGDRVITITCRASENIF SYLAWYQQKPGKSPKLLVYNTRTLAEGVPS RFSGSGSGTDFSLTISSLQPEDFATYYCQH HYGTPFTFGSGTKLEIK	8
重鏈	EVQLQESGPGGLVKPGGSLSLSCAASGFVFSYDM SWVRQTPERGLEWVAYISSGGGITYAPSTVKGRF TVSRDNAKNTLYLQMNSLTSEDTAVYYCAAHYF GSSGPFAYWGGTGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE LLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSPG	9
輕鏈	DIQMTQSPASLSASVGDRVITITCRASENIFSYLAW YQQKPGKSPKLLVYNTRTLAEGVPSRFSGSGSGT DFSLTISSLQPEDFATYYCQH HYGTPFTFGSGTKLEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNF YPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDST YLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVT KSFNRGEC	10
人類 CEACAM 5	MESPSAPPHRWCI PWQRLLLTASLLTFWNPPTTA KLTIESTPFNVAEGKEVLLLVHNL PQHLFGYSWY KGERVDGNRQIIIGYVIGTQQATPGPAYSGREIIP NASLLIQNIIQNDTG FYTLHVIKSDLVNEEATGQF RV YPELPKPSISSNNSKPVEDKDAVAFTCEPETQDAT YLWWVNNQSLPVSPRLQLSNGNRTLTLFNVTRN DTASYKCETQNPVSARRSDSVILNVLYGPDAPTIS PLNTSYRSGENLNLSCHAASNPPAQYSWVNGTF QQS TQELFIPNITVNNSGSYTCQAHNSDTGLNRTTVTT ITVYAEPPKPFITSNNSNPVEDEDAVALTCEPEIQ NTTYLWWVNNQSLPVSPRLQLSNDNRTLTL LSV TRNDVGPIECGIQNELSVDHSDPVILNVLYGPDD PTISPSYTYRPGVNLSLSCHAASNPPAQYSWLID GNIQQHTQ ELFISNITEKNSGLYTCQANNSASGHSRTTVKTIT	11

	VSAELPKPSISSNNSKPVEDKDAVAFTCEPEAQNTTYLWWVNGQSLPVSPRLQLSNGNRTLTLFNVRTNDARAYVCGIQNSVSANRSDPVTLDVLYGPDTPHSPPDSSYLSGANLNLSCHSASNPSPPQYSWRINGIPQHTQVL FIAKITPNNNGTYACFVSNLATGRNNSIVKSITVSASGTSPGLSAGATVGIMIGVLVGVALI	
鼠類 CEACAM 5	QLTIESRPFNVAEGKEVLLLAHNVSQNLFGYIWYKGERVDASRRIGSCVIRTQQITPGPAHSGRETIDFNASLLIQNVTSQDTGSYTIQVIKEDLVNEEATGQFRVYPELPKPYITSNNSNPIEDKDAVALTCEPETQD TTYLWWVNNQSLPVSPRLELSSDNRTLTVFNIPRNDTTSYK CETQNPVSVRRSDPVTNLNVLYGPDAPTISPLNTPYRAGEYLNLTCHAASNPTAQYFWFVNGTFQQSTQELFIPNITVNNSGSYMCQAHNSATGLNRRTTVTAITVYAELPKPYITSNNSNPIEDKDAVTLTCEPETQD TYLWWVNNQRLSVSSRLELSNDNRTLTVFNIPRNDTTFYECE TQNPVSVRRSDPVTNLNVLYGPDAPTISPLNTPYRAGENLNLSCHAASNPAAQYFWFVNGTFQQSTQELFIPNITVNNSGSYMCQAHNSATGLNRRTTVTAITVYVELPKPYISSNNSNPIEDKDAVTLTCEPVAENT TYLWWVNNQSLSVSPRLQLSNGNRILTLLSVTRNDTGOPYECGIQNSESAKRSDPVTNLNVTYGPDTPHSPPDLSYRSGANLNLSCHSDSNPSPPQYSWLINGTLRQHTQVLFISKITSNNNGAYACFVSNLATGRNNSIVKNISVSSGDSAPGSSGLSA	12

```
<?xml version="1.0" encoding="UTF-8"?>
<!DOCTYPE ST26SequenceListing PUBLIC "-//WIPO//DTD Sequence Listing 1.3//EN"
"ST26SequenceListing_V1_3.dtd">
<ST26SequenceListing originalFreeTextLanguageCode="en"
nonEnglishFreeTextLanguageCode="zh" dtdVersion="V1_3" fileName="112380-seq.xml"
softwareName="WIPO Sequence" softwareVersion="2.3.0" productionDate="2024-02-
22">
  <ApplicationIdentification>
    <IPOfficeCode>TW</IPOfficeCode>
    <ApplicationNumberText>112144316</ApplicationNumberText>
    <FilingDate>2023-11-16</FilingDate>
  </ApplicationIdentification>
  <ApplicantName languageCode="zh">美商西雅圖遺傳學公司</ApplicantName>
  <ApplicantNameLatin>Seagen Inc.</ApplicantNameLatin>
  <InventionTitle languageCode="zh">CEACAM5抗體-藥物接合物及其使用方法
</InventionTitle>
  <SequenceTotalQuantity>12</SequenceTotalQuantity>
  <SequenceData sequenceIDNumber="1">
    <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_qual>
            <INSDQualifier>
              <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
              <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
            </INSDQualifier>
            <INSDQualifier id="q2">
              <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
              <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            </INSDQualifier>
          </INSDFeature_qual>
        </INSDFeature>
      </INSDSeq_feature-table>
      <INSDSeq_sequence>GFVFSSYD</INSDSeq_sequence>
```

```
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 2">
  <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_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q4">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>ISSGGGIT</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 3">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>13</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..13</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
```

```
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q6">
  <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>AAHYFGSSGPFAY</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="4">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>6</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..6</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q8">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>ENIFSY</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="5">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length/>
    <INSDSeq_moltype/>
```

```

    <INSDSeq_division/>
    <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 6">
  <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_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="ql2">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>QHHYGTPFT</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 7">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>120</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..120</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>

```

```

    <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q14">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>EVQLQESGPGLVKPGGSLSLSCAASGFVFSYDMSWVRQTPERGLEWVAYISSGGGITYAPS
TVKGRFTVSRDNAKNTLYLQMNSLTSED TAVYYCAAHYFGSSGPFAYWGQGT LVT VSS</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="8">
  <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_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q16">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>DIQMTQSPASLSASVGDRVTITCRASENIFSYLAWYQQKPGKSPKLLVYNTRTLAEGVPSRF
SGSGSGTDFSLTISSLQPEDFATYYCQHHYGTPFTFGSGTKLEIK</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
```

```
<SequenceData sequenceIDNumber=" 9" >
  <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_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q24">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>EVQLQESGPGLVKPGGSLSLSCAASGFVFSSYDMSWVRQTPERGLEWVAYISSGGGITYAPS
    TVKGRFTVSRDNAKNTLYLQMNSLTSEDTAVYYCAAHYFGSSGPFAYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGT
    AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS
    CDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST
    YRVVSVLTVTLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV
    EWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</INSDSeq_seq
    uence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 10" >
  <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>
```

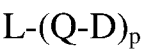
```
<INSDFeature_qual>
  <INSDQualifier>
    <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q26">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>DIQMTQSPASLSASVGDRVTITCRASENIFSYLAWYQQKPGKSPKLLVYNTRTLAEGVPSRF
SGSGSGTDFSLTISSLQPEDFATYYCQHHYGTPFTFGSGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR
EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</INSDSe
q_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="11">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>702</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..702</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q27">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
```


<INSDSeq_sequence>MESPSAPPHRWCIPWQRLLLTASLLTFWNPPTAKLTIESTPFNVAEGKEVLLL VHNLPQHL
FGYSWYKGERVDGNRQIGYVIGTQQATPGPAYSGREI IYPNASLLIQNI IQNDTGfYTLHV IKSDLVNEEATGQFRVYP
ELPKPSSISSNNSKPVEDKDAVAFTCEPETQDATYLWWVNNQSLPVSPRLQLSNGNRTLTLFNVTRNDTASYKCETQNPVS
ARRSDSVILNVLYGPDAPTISPLNTSYRSGENLNLSCHAASNPPAQYSWFVNGTFQQSTQELFIPNITVNNSGSYTCQAH
NSDTGLNRTTVTTITVYAEPPKPFITSNNSNPVEDEDAVALTCEPEIQNTTYLWWVNNQSLPVSPRLQLSNDNRTLTLSS
VTRNDVGPIYECGIQNELSVDHSDPVILNVLYGPDPTISPSYTYRPGVNLSSLCHAASNPPAQYSWLIDGNIQQHTQEL
FISNITEKNSGLYTCQANNSASGHSRTTVKTTITVSAELPKPSSISSNNSKPVEDKDAVAFTCEPEAQNTTYLWWVNGQSLP
VSPRLQLSNGNRTLTLFNVTRNDARAYVCGIQNSVSANRSDPVTLDVLYGPDPTIISPDPSSYLSGANLNLSCHSASNPS
PQYSWRINGIPQQHTQVLFIAKITPNNNGTYACFVSNLATGRNNSIVKSITVSASGTSPGLSAGATVGIMIGVLVGVALI
</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="12">
 <INSDSeq>
 <INSDSeq_length>654</INSDSeq_length>
 <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
 <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
 <INSDSeq_feature-table>
 <INSDFeature>
 <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
 <INSDFeature_location>1..654</INSDFeature_location>
 <INSDFeature_qual>
 <INSDQualifier>
 <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
 <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
 </INSDQualifier>
 <INSDQualifier id="q28">
 <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
 <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
 </INSDQualifier>
 </INSDFeature_qual>
 </INSDFeature>
 </INSDSeq_feature-table>
 <INSDSeq_sequence>QLTIESRPFNVAEGKEVLLL AHNVSQNLFGYIWKGERVDASRRIGSCVIRTQQITPGPAHS
GRETIDFNASLLIQNVTQSDTGSYTIQVIKEDLVNEEATGQFRVYPELPKPYITSNNSNPIEDKDAVALTCEPETQDTTY
LWWVNNQSLPVSPRLELSSDNRTLTVFNIPRNDTTSYKCETQNPVSRRSDPVTNLNVLYGPDAPTISPLNTPYRAGEYLN
LTCHAASNPTAQYFWFVNGTFQQSTQELFIPNITVNNSGSYMCQAHNSATGLNRTTVTAITVYAE LPKPYITSNNSNPIE
DKDAVTLTCEPETQDTTYLWWVNNQRLSVSSRLELSDNRTLTVFNIPRNDTTFYECETQNPVSRRSDPVTNLNVLYGPD
APTISPLNTPYRAGENLNLSCHAASNPAQYFWFVNGTFQQSTQELFIPNITVNNSGSYMCQAHNSATGLNRTTVTAITV
YVELPKPYISSNNSNPIEDKDAVTLTCEPVAENTTYLWWVNNQSLVSPRLQLSNGNRI LTLSSVTRNDTGPIYECGIQNS

ESAKRSDPVTNLNVTYGPDTPIISPPDLSYRSGANLNLSCHSDSNPSPQYSWLINGTLRQHTQVLFISKITSNNNGAYACF
VSNLATGRNNSIVKNISVSSGDSAPGSSGLSA</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
 </SequenceData>
</ST26SequenceListing>

【發明申請專利範圍】

【請求項1】 一種結合至CEACAM5之抗體-藥物接合物，其具有下式：

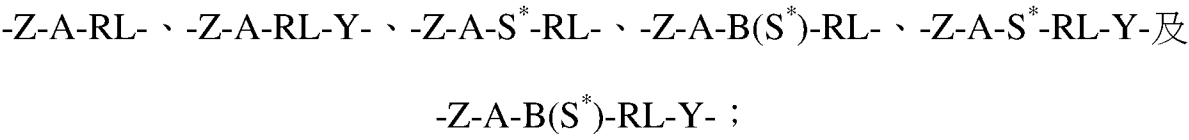


或其鹽，其中

L為包含結合至CEACAM5之抗體或其抗原結合片段之配位體單元；

下標p為1至16範圍內之整數；

Q為具有選自由以下組成之群之式的連接子單元：



其中Z為延伸體單元；

A為一鍵結或連接體單元；

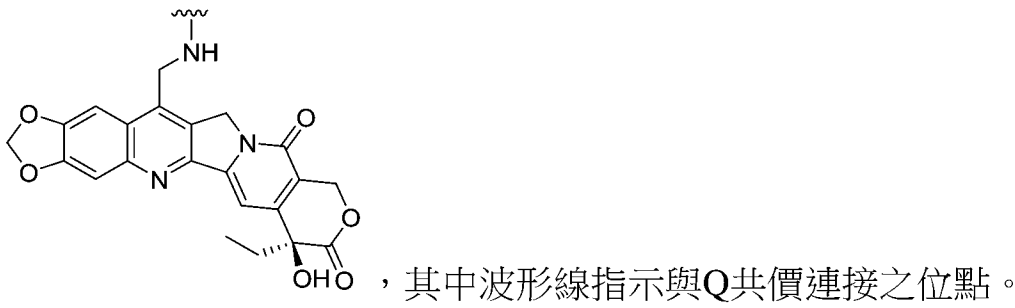
B為並聯連接體單元；

S^{*}為分隔劑；

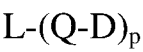
RL為糖苷單元；

Y為間隔體單元；且

D為具有下式之藥物單元：



【請求項2】 一種結合至CEACAM5之抗體-藥物接合物，其具有下式：



或其鹽，其中

L為包含結合至CEACAM5之抗體或其抗原結合片段之配位體單元，該抗體或其抗原結合片段包含

包含SEQ ID NO:1所示之胺基酸序列的CDR1-H；

包含SEQ ID NO:2所示之胺基酸序列的CDR2-H；

包含SEQ ID NO:3所示之胺基酸序列的CDR3-H；

包含SEQ ID NO:4所示之胺基酸序列的CDR1-L；

包含胺基酸序列NTR之CDR2-L；及

包含SEQ ID NO:6所示之胺基酸序列的CDR3-L；

下標p為1至16範圍內之整數；

Q為連接子單元；

且D為藥物單元，其中該藥物單元為拓撲異構酶I抑制劑。

【請求項3】 一種結合至CEACAM5之抗體-藥物接合物，其具有下式：

$$L-(Q-D)_p$$

或其鹽，其中

L為包含結合至CEACAM5之抗體或其抗原結合片段之配位體單元，該抗體或其抗原結合片段包含

包含SEQ ID NO:7所示之胺基酸序列之可變重鏈結構域(VH)的CDR1-H、CDR2-H及CDR3-H，及

包含SEQ ID NO:8所示之胺基酸序列之可變輕鏈結構域(VL)的CDR1-L、CDR2-L及CDR3-L；

下標p為1至16範圍內之整數；

Q為連接子單元；

且D為藥物單元，其中該藥物單元為拓撲異構酶I抑制劑。

【請求項4】 如請求項1或2之抗體-藥物接合物或其鹽，其中該抗體或其抗原結合片段包含

包含SEQ ID NO:7所示之胺基酸序列之可變重鏈結構域(VH)的CDR1-H、CDR2-H及CDR3-H，及

包含SEQ ID NO:8所示之胺基酸序列之可變輕鏈結構域(VL)的CDR1-L、CDR2-L及CDR3-L。

【請求項5】 如請求項1至4中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其中該抗體或其抗原結合片段包含與SEQ ID NO:9所示之胺基酸序列具有至少80%、85%、90%、95%或99%胺基酸序列一致性的重鏈，及與SEQ ID NO:10所示之胺基酸序列具有至少80%、85%、90%、95%或99%胺基酸序列一致性的輕鏈。

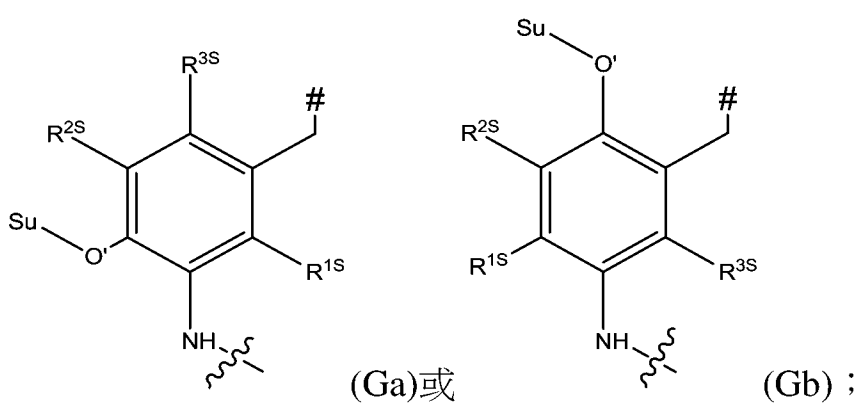
【請求項6】 如請求項1至5中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其中該抗體或其抗原結合片段包含具有SEQ ID NO:9所示之胺基酸序列的重鏈，及具有SEQ ID NO:10所示之胺基酸序列的輕鏈。

【請求項7】 如請求項1至6中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其中該抗體或其抗原結合片段為嵌合的或人源化的。

【請求項8】 如請求項1至7中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其中該抗體或抗原結合片段係選自由Fv、Fab、F(ab')₂、Fab'、dsFv、(dsFv)₂、scFv、sc(Fv)₂及雙功能抗體組成之群。

【請求項9】 如請求項1至8中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其中Q為具有式-Z-A-RL-之連接子單元。

【請求項10】 如請求項1及4至9中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其中RL為具有下式之葡萄糖醛酸苷單元：



其中

Su為糖部分；

-O'-為氧糖苷鍵；

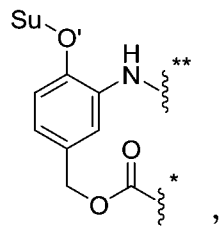
R^{1S}、R^{2S}及R^{3S}獨立地為氫、鹵素、-CN、-NO₂或其他拉電子基團、或推電子基團；

波形線指示直接地或間接地經由A或B或A及B連接至Z；且

#指示直接地或間接地經由介入官能基或其他部分連接至D或Y。

【請求項11】 如請求項10之抗體-藥物接合物或其鹽，其中#指示直接共價連接至D或Y。

【請求項12】 如請求項1及4至11中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其中RL為具有下式之葡萄糖醛酸苷單元：



其中

Su為糖部分；

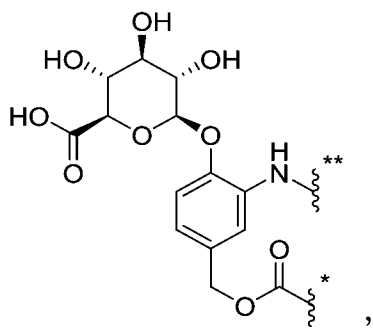
O'代表能夠由糖苷酶裂解之糖苷鍵之氧原子；

標有單星號(*)之波形線指示與D共價連接之位點；且

標有雙星號(**)之波形線指示與Q之其餘部分共價連接之位點。

【請求項13】 如請求項12之抗體-藥物接合物或其鹽，其中該葡萄糖醛酸苷

單元具有下式：



其中

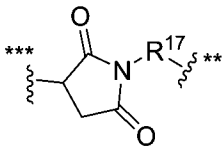
標有單星號(*)之波形線指示與D共價連接之位點；且

標有雙星號(**)之波形線指示與Q之其餘部分共價連接之位點。

【請求項14】 如請求項1及4至13中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，或其

鹽，其中Z包含丁二醯亞胺基-烷醯基部分，視情況具有水解形式之丁二醯亞胺環作為丁二酸醯胺部分。

【請求項15】 如請求項1及4至14中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其中Z

為 ，視情況具有水解形式之丁二醯亞胺環作為丁二酸醯胺部分，
其中：

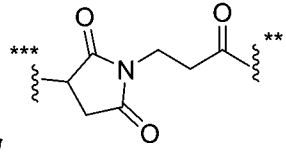
標有雙星號(**)之波形線指示與Q之其餘部分共價連接之位點；

標有三星號(***)之波形線指示與L之硫原子共價連接之位點；且

R^{17} 為 -C₁-C₁₀伸烷基-、C₁-C₁₀伸雜烷基-、-C₃-C₈碳環-、-O-(C₁-C₈伸烷基)-、-伸芳基-、-C₁-C₁₀伸烷基-伸芳基-、-伸芳基-C₁-C₁₀伸烷基-、-C₁-C₁₀伸烷基-(C₃-C₈碳環)-、-(C₃-C₈碳環)-C₁-C₁₀伸烷基-、-C₃-C₈雜環-、-C₁-C₁₀伸烷基-(C₃-C₈雜環)-、-(C₃-C₈雜環)-C₁-C₁₀伸烷基-、-C₁-C₁₀伸烷基-C(=O)-、C₁-C₁₀伸雜烷基-C(=O)-、-C₃-C₈碳環-C(=O)-、-O-(C₁-C₈伸烷基)-C(=O)-、-伸芳基-C(=O)-、-C₁-C₁₀伸烷基-伸芳基-C(=O)-、-伸芳基-C₁-C₁₀伸烷基-C(=O)-、-C₁-C₁₀伸烷基-(C₃-C₈碳環)-C(=O)-、-(C₃-C₈碳環)-C₁-C₁₀伸烷基-C(=O)-、-C₃-C₈雜環-C(=O)-、-C₁-C₁₀伸烷基-(C₃-C₈雜環)-C(=O)-、-(C₃-C₈雜環)-C₁-C₁₀伸烷基-C(=O)-、-C₁-C₁₀伸烷基-NH-、-C₁-C₁₀伸雜烷基-NH-、-C₃-C₈碳環-NH-、-O-(C₁-C₈伸烷基)-NH-、-伸芳基-NH-、-C₁-C₁₀伸烷基-伸芳基-NH-、-伸芳基-C₁-C₁₀伸烷基-NH-、-C₁-C₁₀伸烷基-(C₃-C₈碳環)-NH-、-(C₃-C₈碳環)-C₁-C₁₀伸烷基-NH-、-C₃-C₈雜環-NH-、-C₁-C₁₀伸烷基-(C₃-C₈雜環)-NH-、-(C₃-C₈雜環)-C₁-C₁₀伸烷基-NH-、-C₁-C₁₀伸烷基-S-、C₁-C₁₀伸雜烷基-S-、-C₃-C₈碳環-S-、-O-(C₁-C₈伸烷基)-S-、-伸芳基-S-、-C₁-C₁₀伸烷基-伸芳基-S-、-伸芳基-C₁-C₁₀伸烷基-S-、-C₁-C₁₀伸烷基-(C₃-C₈碳環)-S-、-(C₃-C₈碳環)-C₁-C₁₀伸烷基-S-、-C₃-C₈雜環-S-、-C₁-C₁₀伸烷基-(C₃-C₈雜環)-S-或-(C₃-C₈雜環)-C₁-C₁₀伸烷基-S-。

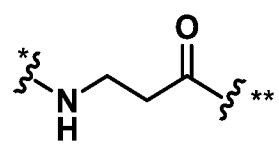
【請求項16】 如請求項15之抗體-藥物接合物或其鹽，其中 R^{17} 為 -(CH₂)₂₋₅-C(=O)-。

【請求項17】 如請求項1及4至16中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，或其

鹽，其中Z為 ，視情況具有水解形式之丁二醯亞胺環作為丁二

c為獨立選擇之1至10之整數。

【請求項20】 如請求項1及4至19中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其中A具有下式：

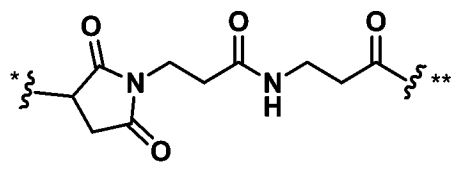


其中

標有雙星號(**)之波形線指示與RL共價連接之位點；且

標有單星號(*)之波形線指示與Z共價連接之點。

【請求項21】 如請求項1、4至17及18至20中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其中-Z-A-具有下式：

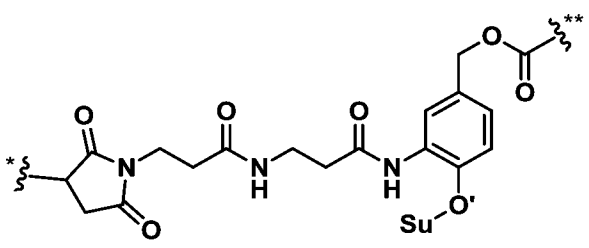


其中

標有雙星號(**)之波形線指示與RL共價連接之位點；且

標有單星號(*)之波形線指示與L共價連接之點。

【請求項22】 如請求項1、4至17及18至21中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其中-Z-A-RL-具有下式：



其中

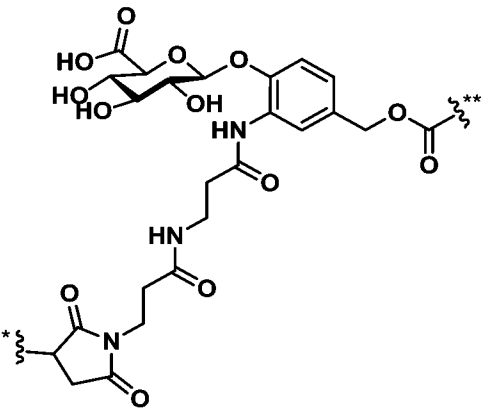
Su為單糖之己糖形式；

-O'-代表能夠由糖苷酶裂解之糖苷鍵之氧原子；

標有雙星號(**)-之波形線指示與D共價連接之位點；且

標有單星號(*)-之波形線指示與L共價連接之點。

【請求項23】 如請求項1、4至17及18至22中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其中-Z-A-RL-具有下式：

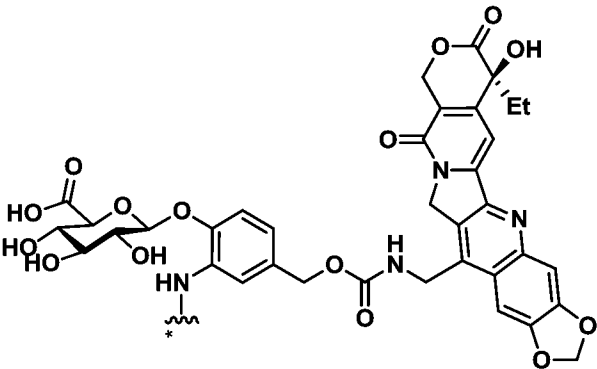


其中

標有雙星號(**)-之波形線指示與D共價連接之位點；且

標有單星號(*)-之波形線指示與L共價連接之點。

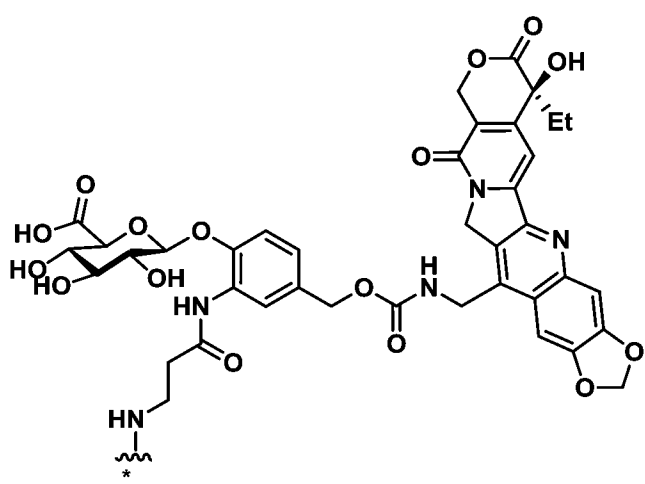
【請求項24】 如請求項1及4至23中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其中-RL-D-具有下式：



其中

標有單星號(*)-之波形線指示與A共價連接之點。

【請求項25】 如請求項1及4至24中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其中-A-RL-D具有下式：

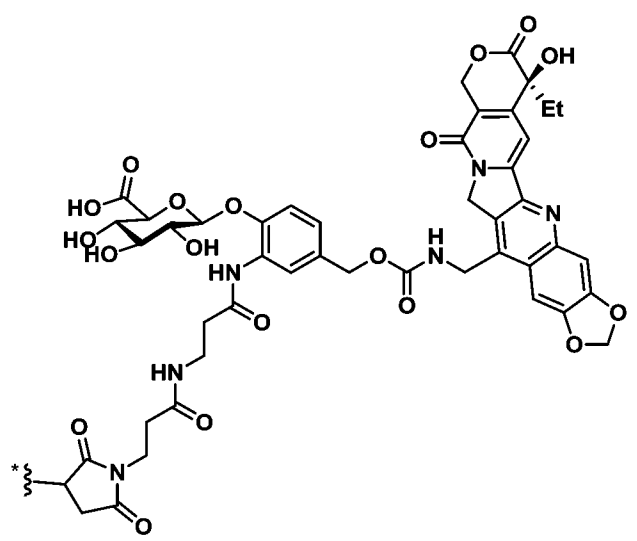


其中

標有單星號(*)之波形線指示與Z共價連接之點。

【請求項26】 如請求項1、4至8及10至22中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，或其鹽，其中S*為PEG基團。

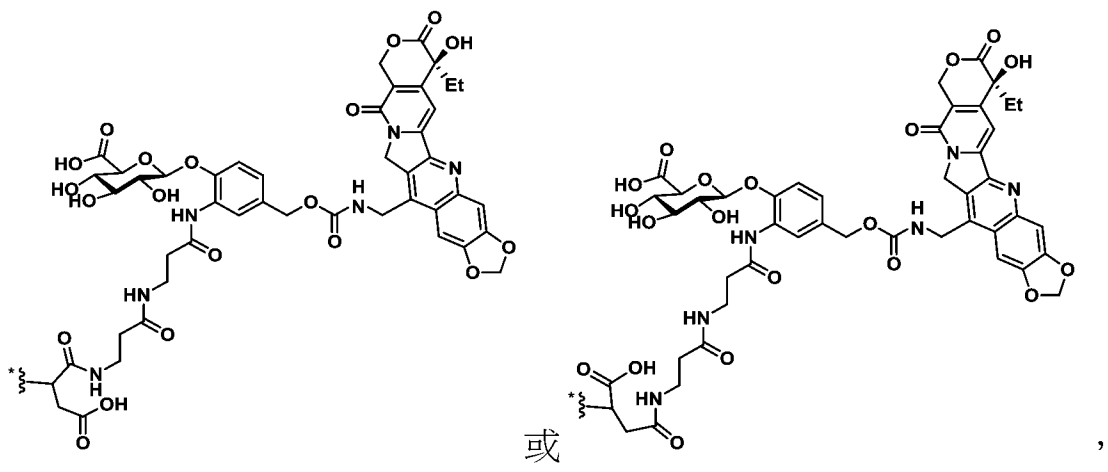
【請求項27】 如請求項1至25中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其中-Q-D-具有下式：



其中

標有單星號(*)之波形線指示與L共價連接之點。

【請求項28】 如請求項1至20、23至25及27中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其中-Q-D-具有下式：



其中

標有單星號(*)之波形線指示與L共價連接之點。

【請求項29】 如請求項1及4至28中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其中該藥物單元為拓樸異構酶I抑制劑。

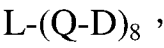
【請求項30】 如請求項1至29中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其包含1至10之藥物單元與抗體比率(DAR)。

【請求項31】 如請求項1至30中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其中該DAR為約4或約8。

【請求項32】 如請求項1至31中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其中該連接子單元在半胱胺酸胺基酸殘基處連接至該抗體或抗原結合片段。

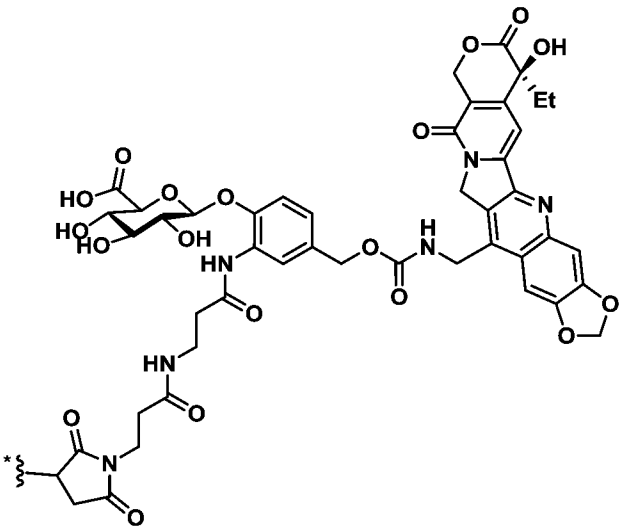
【請求項33】 如請求項1至31中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，其中該抗體包含Fc區。

【請求項34】 一種抗體-藥物接合物或其鹽，其具有下式：



其中L包含結合至CEACAM5之抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段包含：

- 具有SEQ ID NO:9所示之胺基酸序列的重鏈，及
- 具有SEQ ID NO:10所示之胺基酸序列的輕鏈；



且其中Q-D為 。

【請求項35】 一種醫藥組合物，該醫藥組合物包含如請求項1至34中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽，及醫藥學上可接受之載劑。

【請求項36】 一種治療個體之癌症的方法，其包括向該個體投予如請求項1至34中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽或如請求項35之醫藥組合物。

【請求項37】 如請求項1至34中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽或如請求項35之醫藥組合物，其係用於治療癌症。

【請求項38】 如請求項36之方法或如請求項37之用途，其中該癌症為表現CEACAM5之癌症。

【請求項39】 如請求項36或38之方法或如請求項37或38之用途，其中該癌症為實體腫瘤。

【請求項40】 如請求項36、38或39之方法或如請求項37至39之用途，其中該癌症係選自由結腸直腸癌、胃癌(stomach cancer/gastric cancer)、胃食道結合部癌、肺癌、子宮癌、子宮頸癌、胰臟癌、食道癌、卵巢癌、甲狀腺癌、膀胱癌、子宮內膜癌、膀胱癌、神經內分泌癌、子宮內膜癌、乳癌、肝癌、前列腺癌及膽管癌及皮膚癌組成之群。

【請求項41】 如請求項40之方法或用途，其中該個體患有非小細胞肺癌(NSCLC)、非鱗狀NSCLC (nsq-NSCLC)、鱗狀NSCLC (sq-NSCLC)或小細胞肺癌(SCLC)、胰臟導管腺癌(PDAC)、結腸直腸癌(CRC)、胃癌(GC)、胃食道結合部癌(GEJ)或其任何組合。

【請求項42】 如請求項36或38至41之方法或如請求項37至41之用途，其中該個體在用如請求項1至34中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽或如請求項35之醫藥組合物治療之前已接受預治療。

【請求項43】 如請求項42之方法或用途，其中該預治療為化學療法或免疫療法。

【請求項44】 如請求項42或43之方法或用途，其中該預治療係選自抗代謝物、抗腫瘤劑、烷化劑及前藥劑。

【請求項45】 如請求項42至44中任一項之方法或用途，其中該預治療係選自基於鉑之療法、氟嘧啶、奧沙利鉑(oxaliplatin)、伊立替康(irinotecan)或抗PD1/PDL1。

【請求項46】 如請求項36及38至45中任一項之方法或如請求項37至45中任一項之用途，其中該腫瘤表現高水準之CEACAM5。

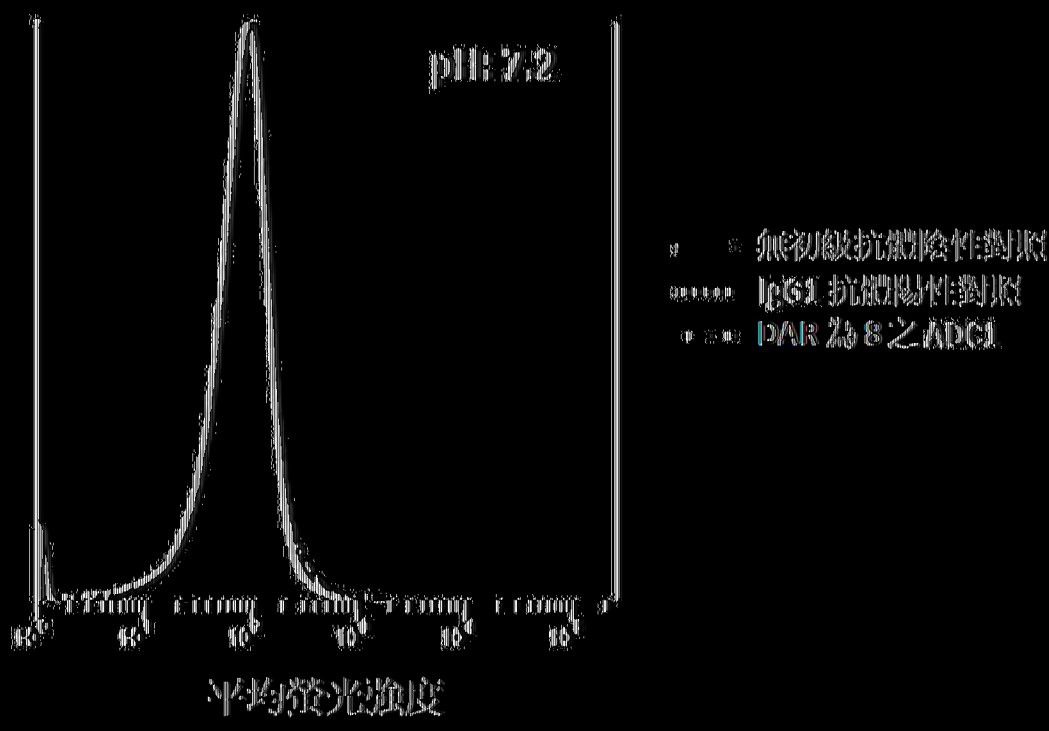
【請求項47】 如請求項36及38至46中任一項之方法或如請求項37至46中任一項之用途，其中該癌症為原發性的、轉移性的或癌病(carcinosis)。

【請求項48】 如請求項36及38至47中任一項之方法或如請求項37至47中任一項之用途，其中該抗體-藥物接合物之投予產生強旁觀者效應。

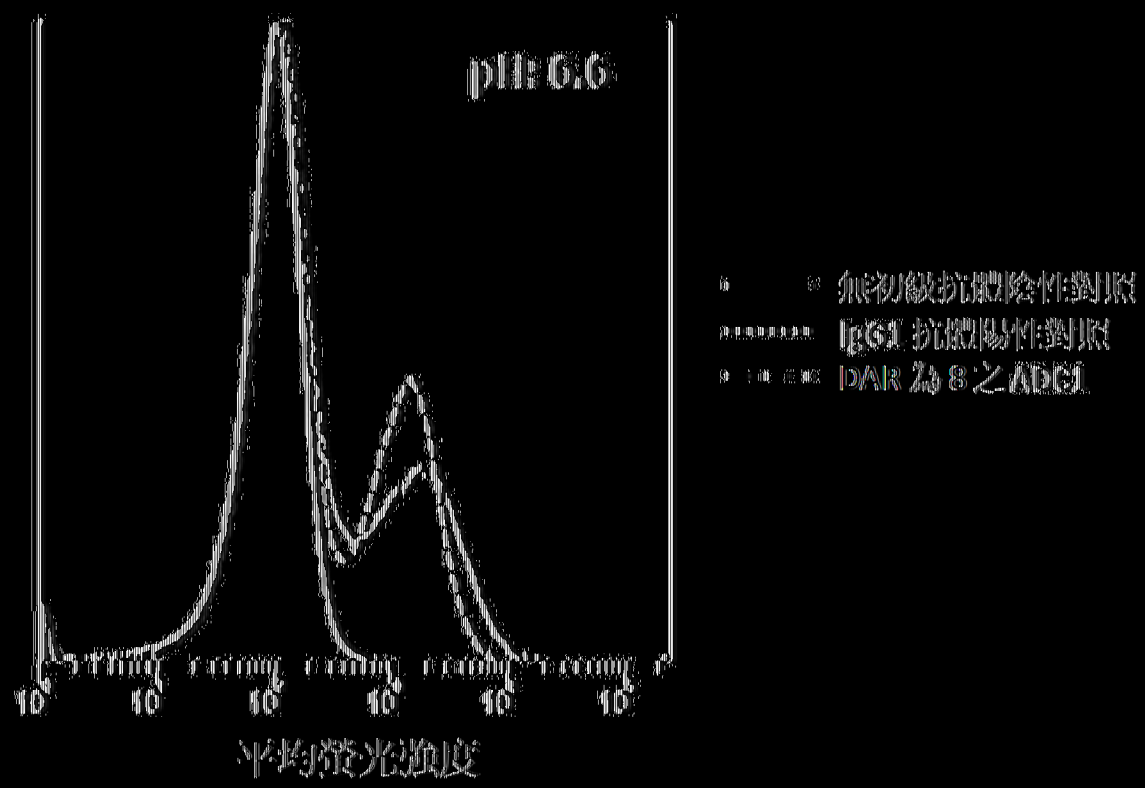
【請求項49】 如請求項36及38至49中任一項之方法或如請求項37至49中任一項之用途，其中該抗體-藥物接合物之投予產生低脫靶效應。

【請求項50】 一種套組，該套組包含如請求項1至34中任一項之抗體-藥物接合物或其鹽或如請求項35之醫藥組合物。

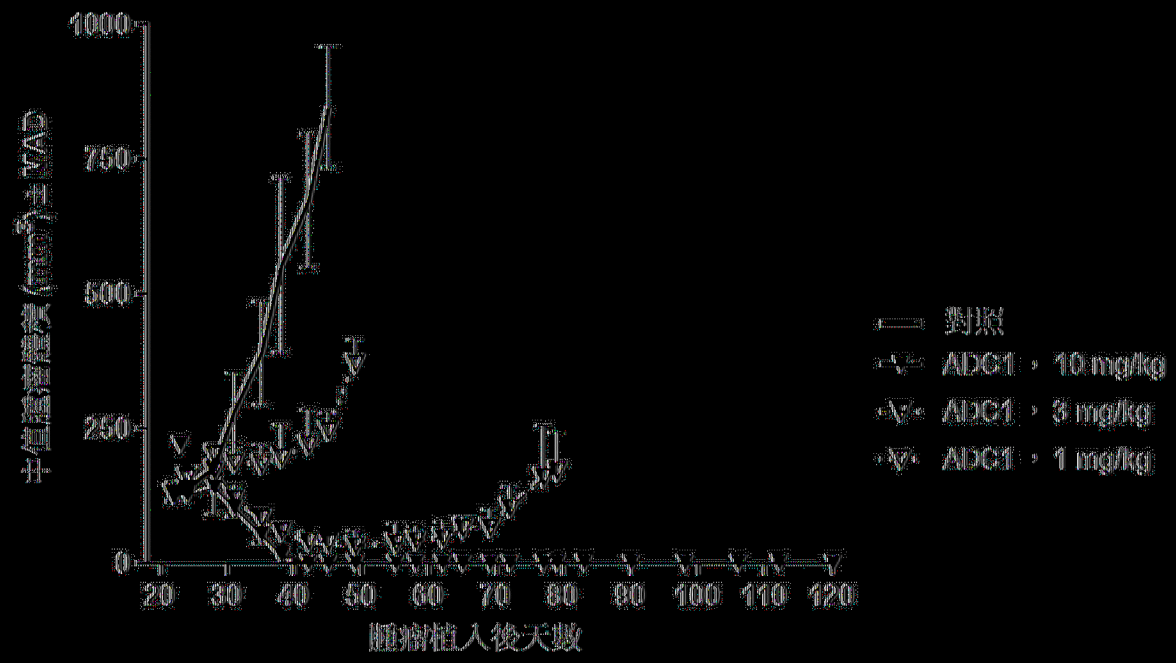
|(發明圖式)|



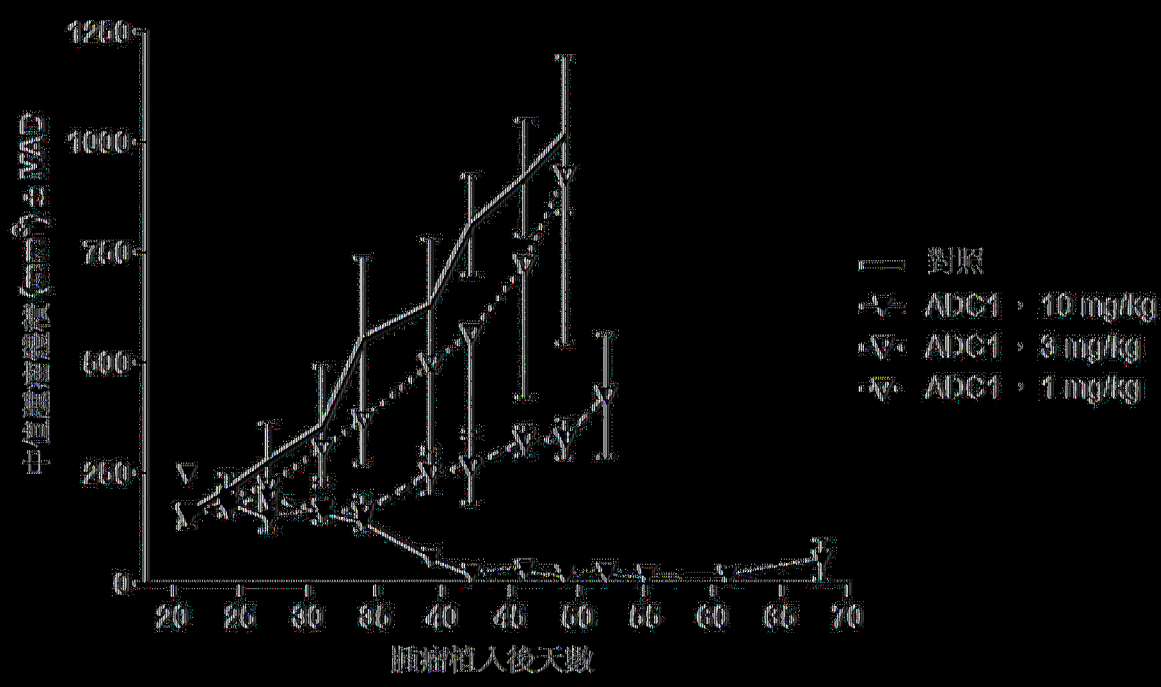
|(圖1A)|



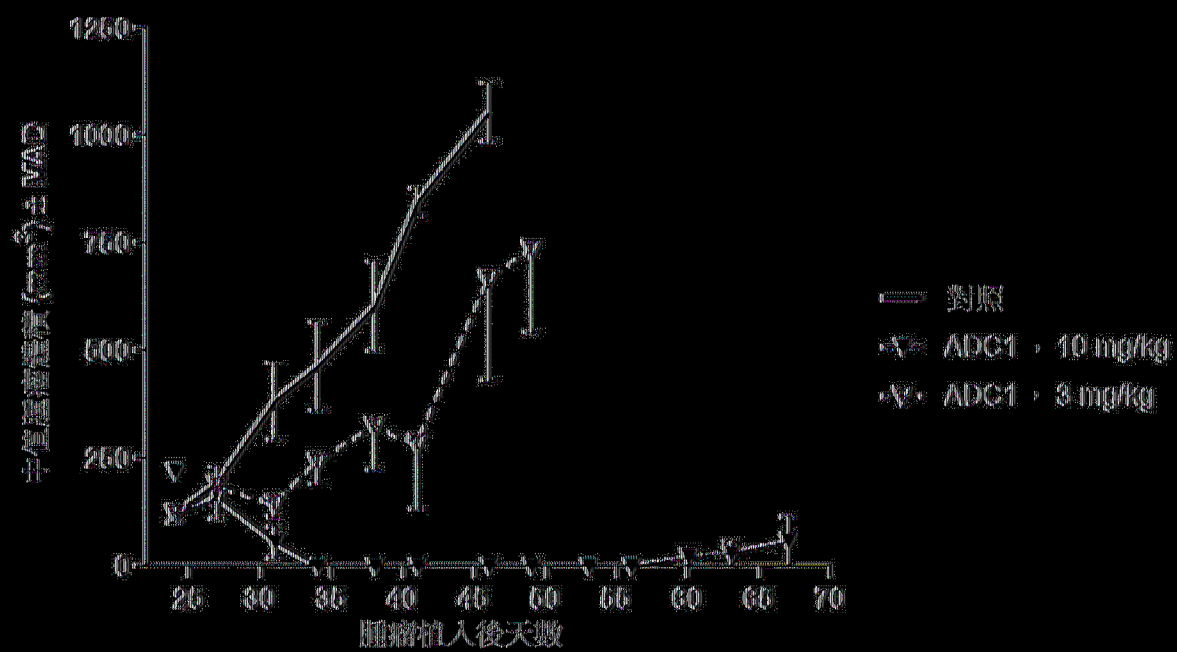
|(圖1B)|



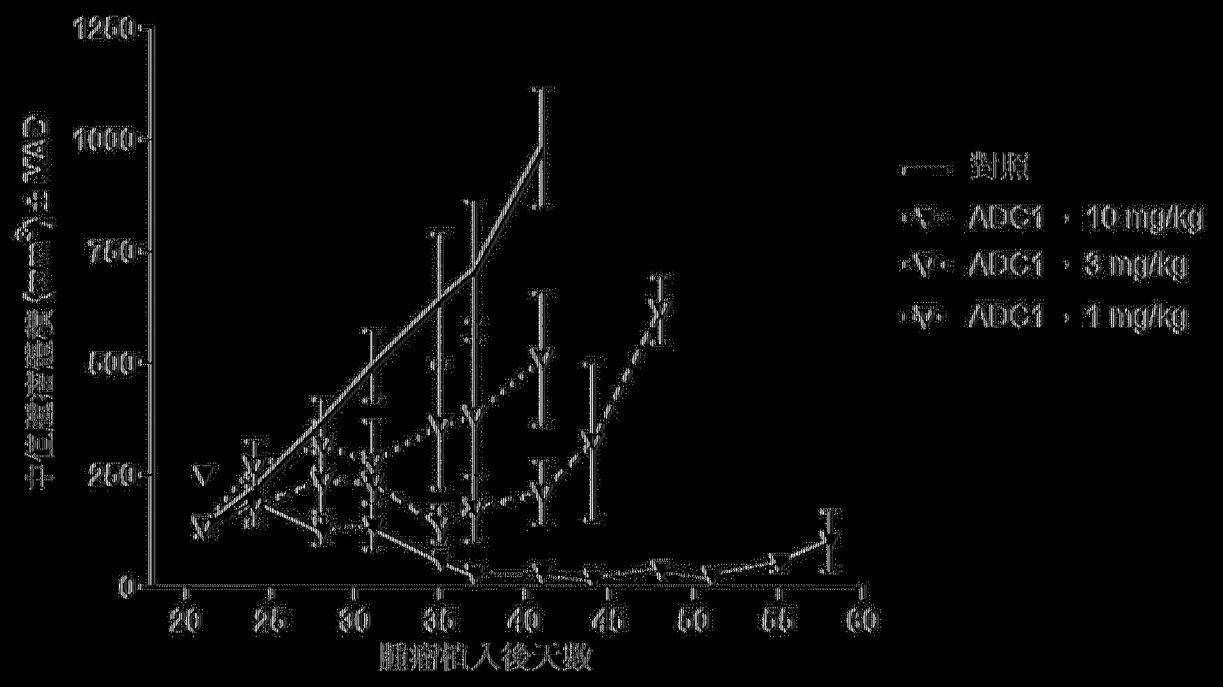
(圖2)



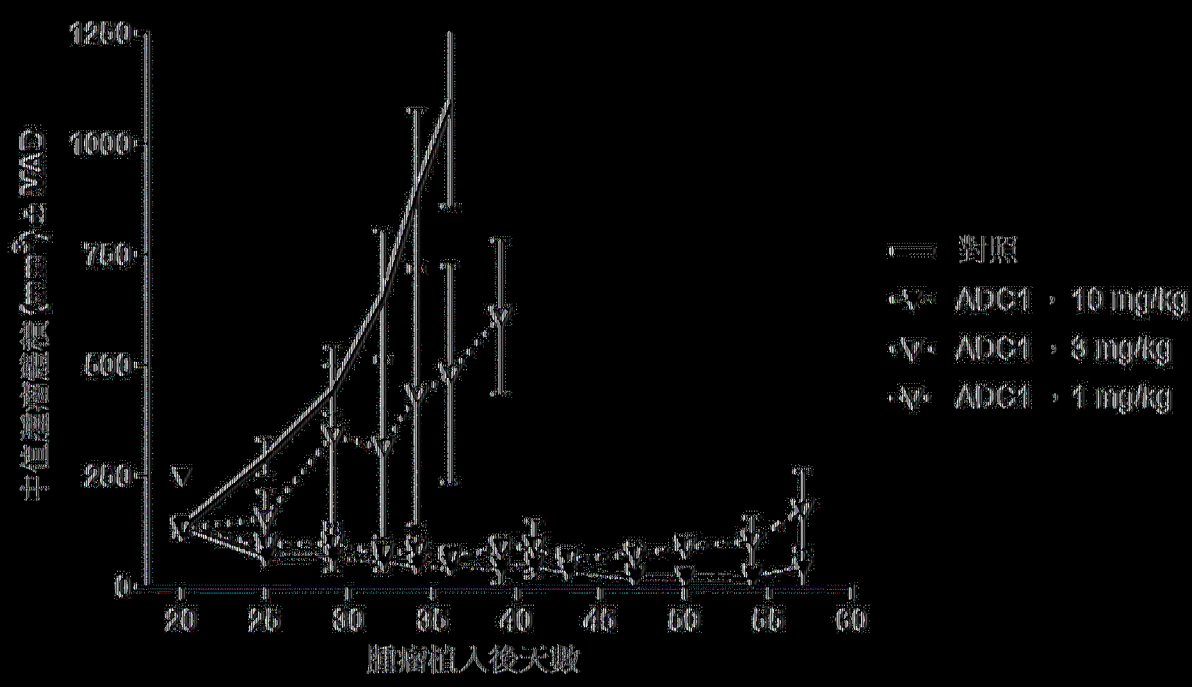
(圖3)



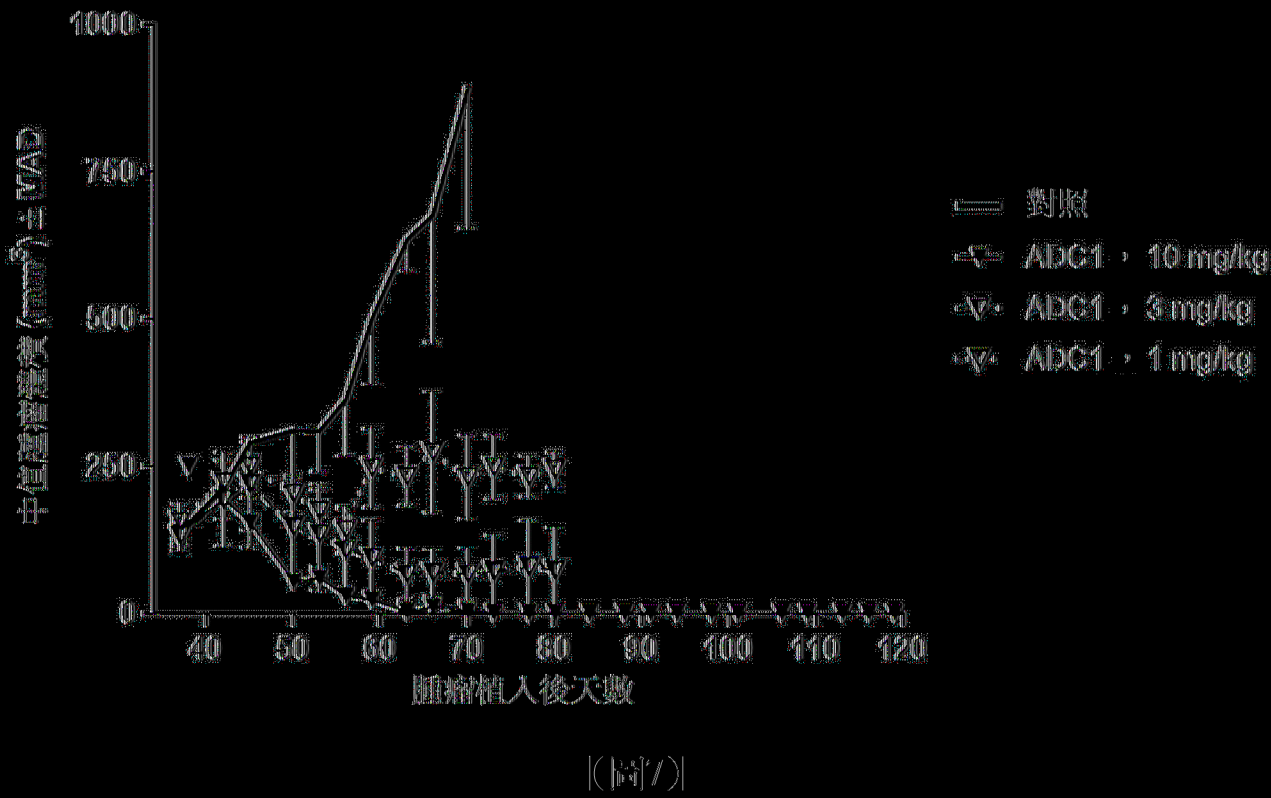
[(同4)]

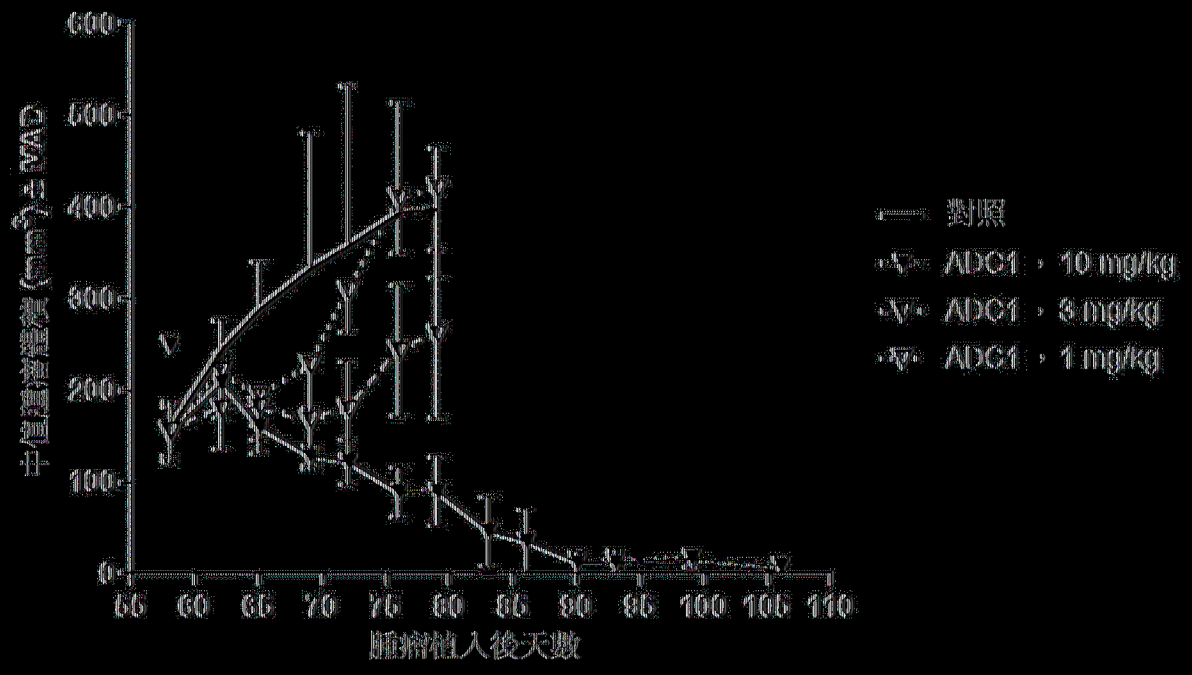


[(同5)]

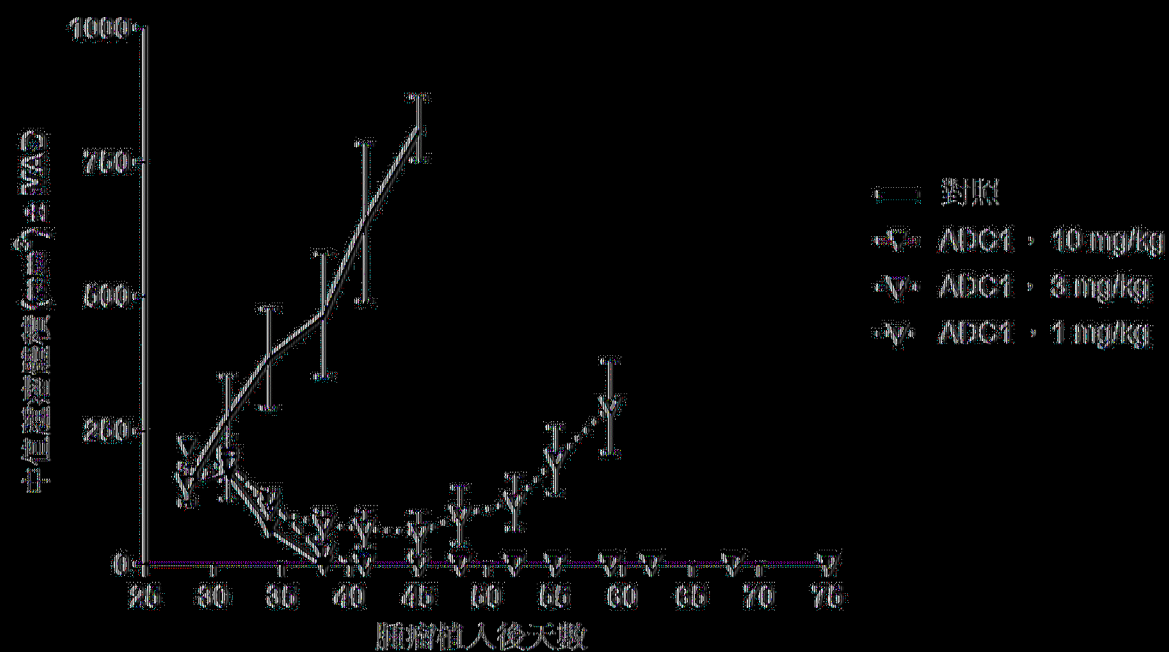


(同6)

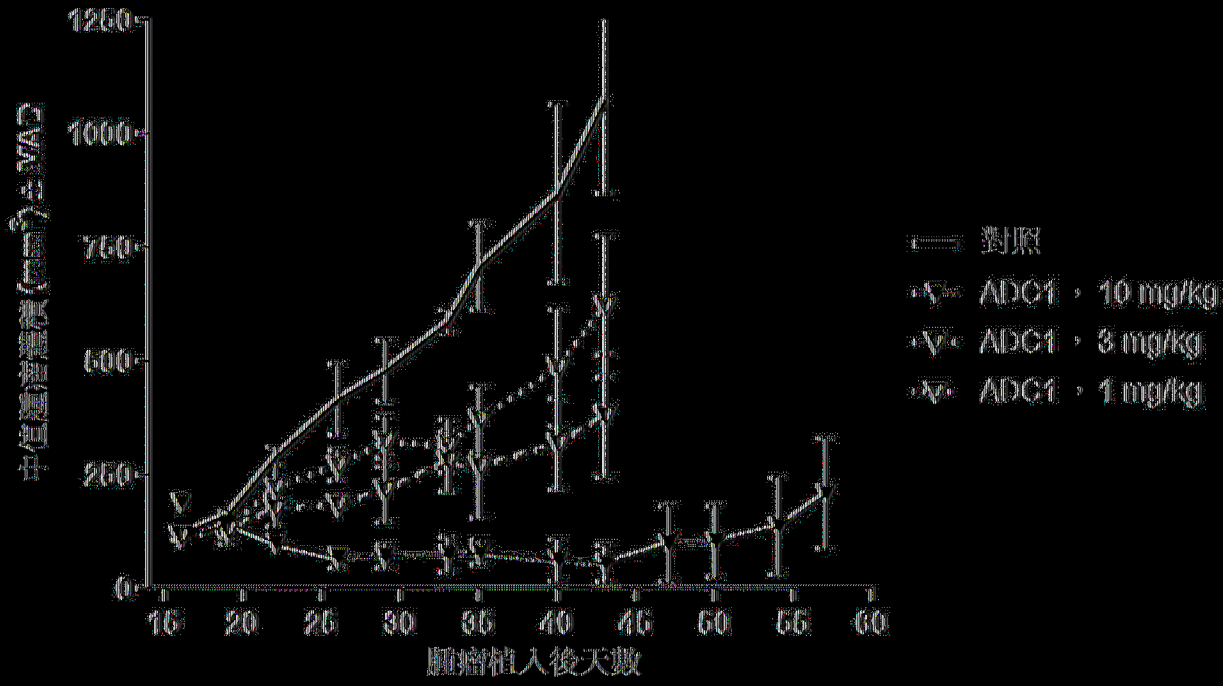




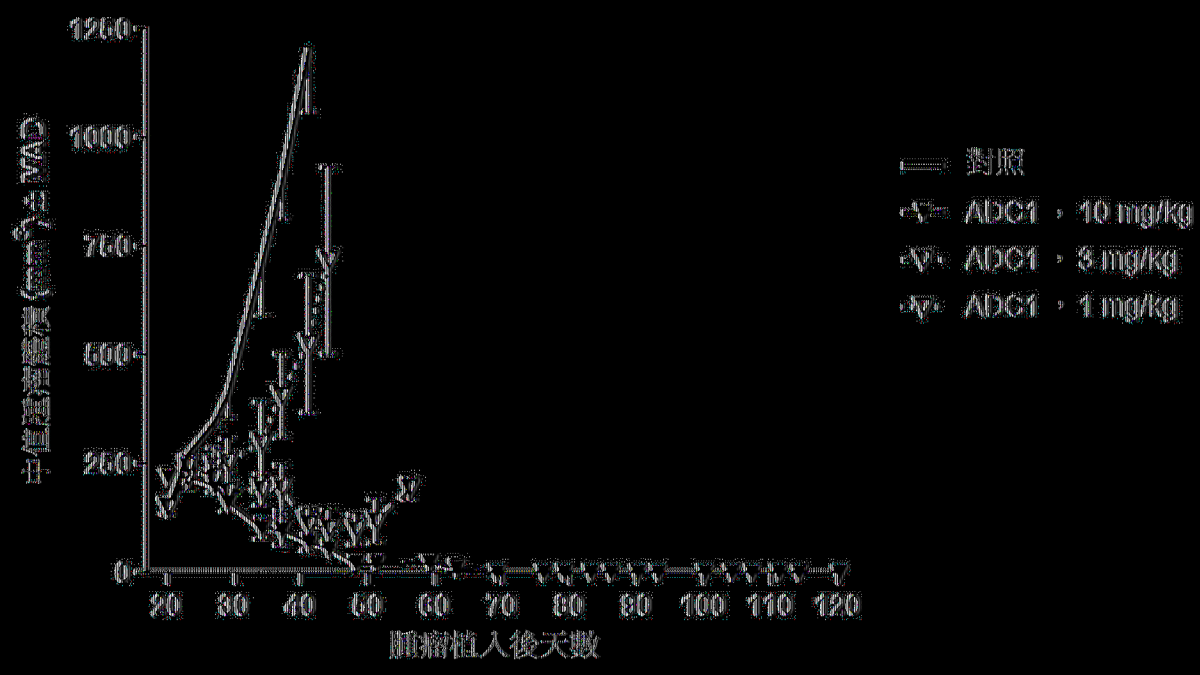
(圖8)



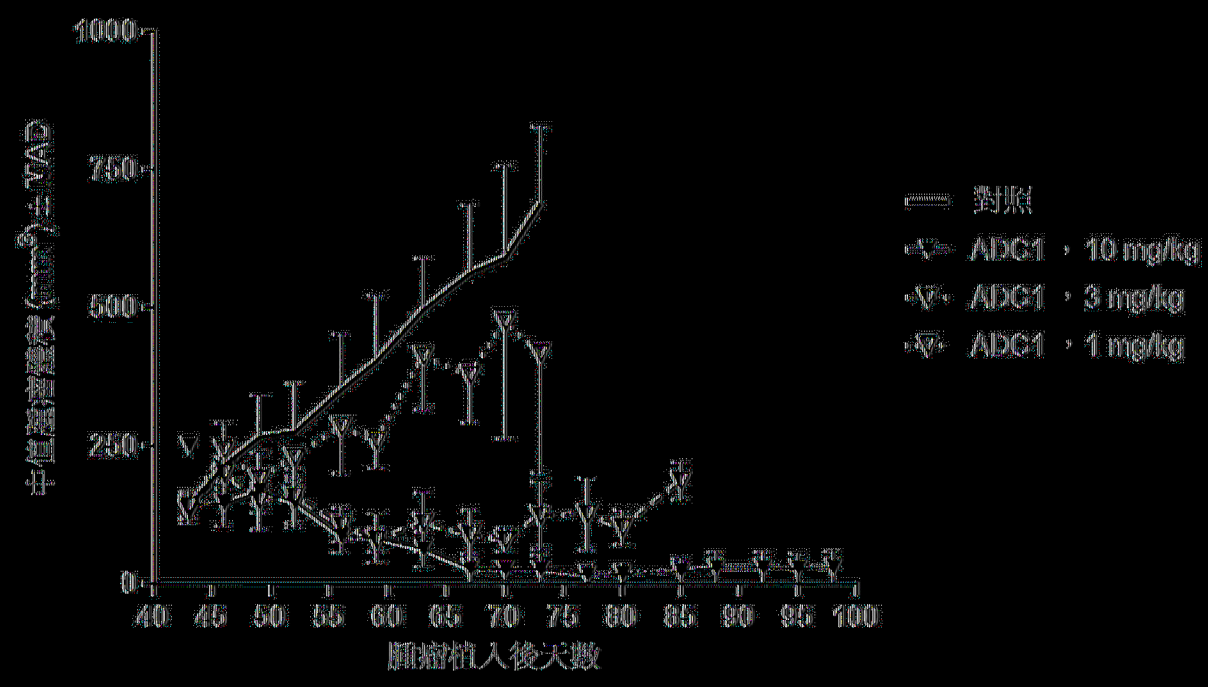
[(圖9)]



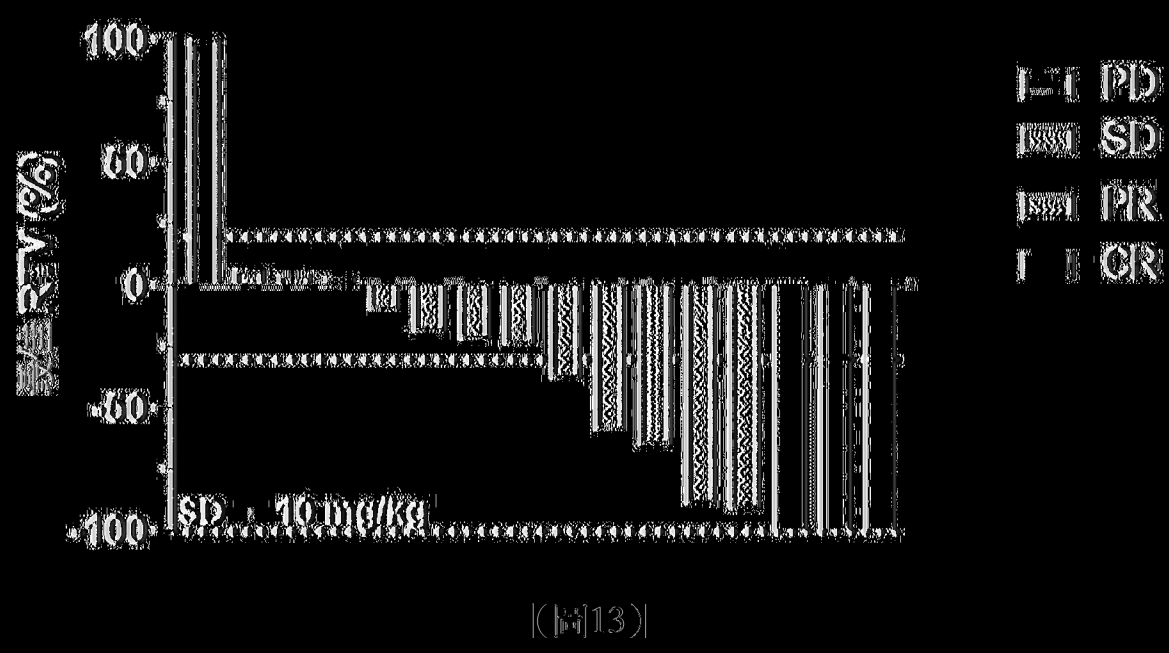
[(圖10)]

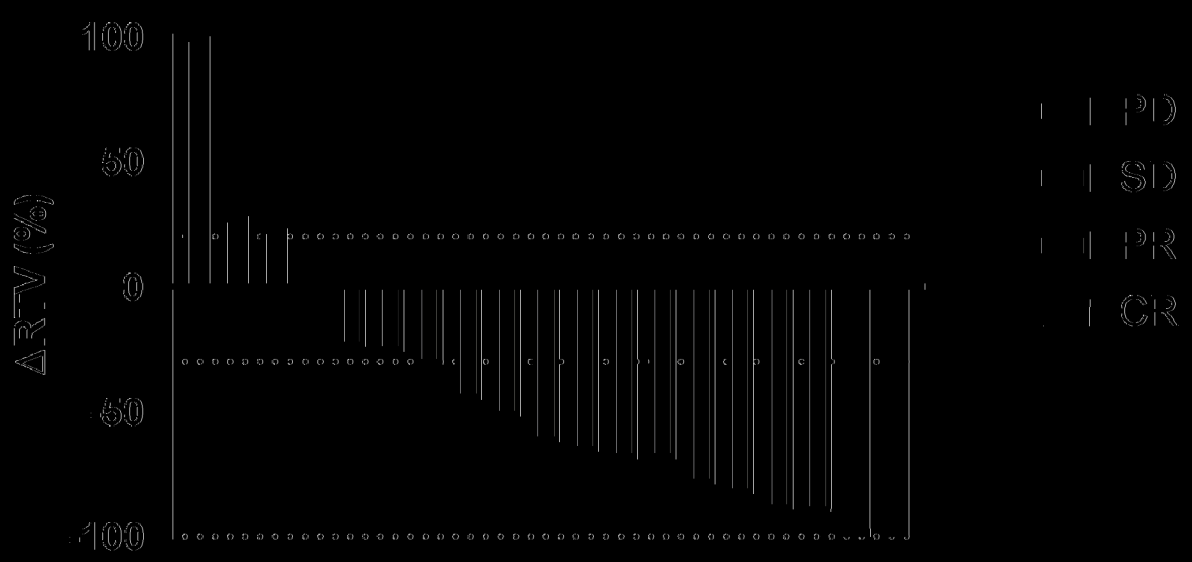


|(圖11)|

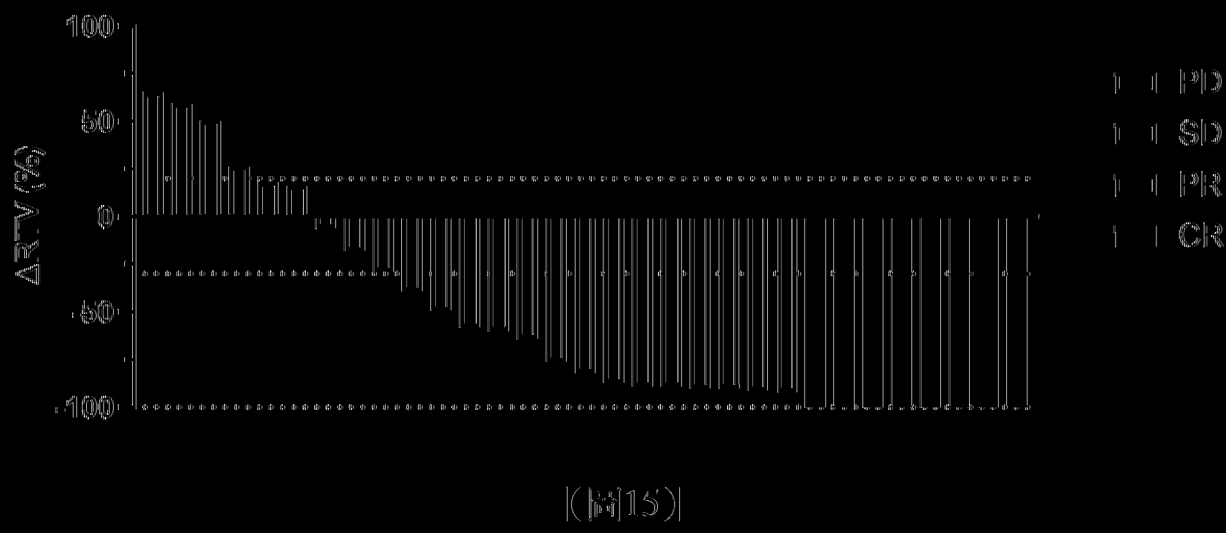


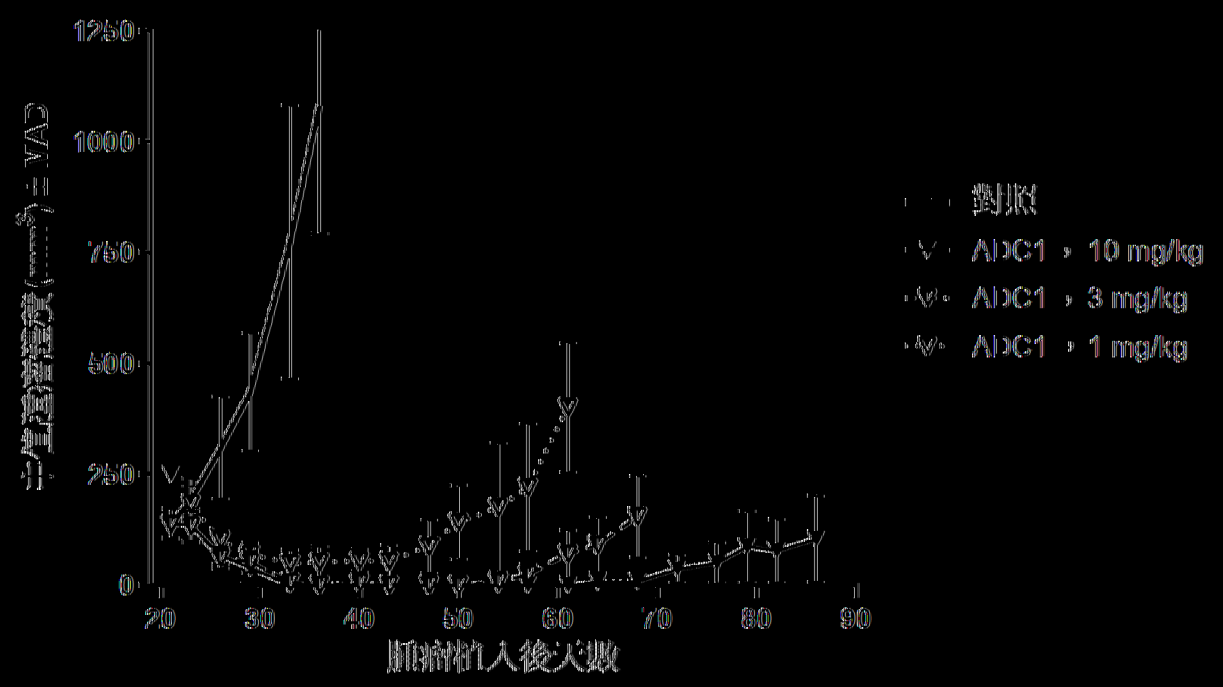
[(圖12)]



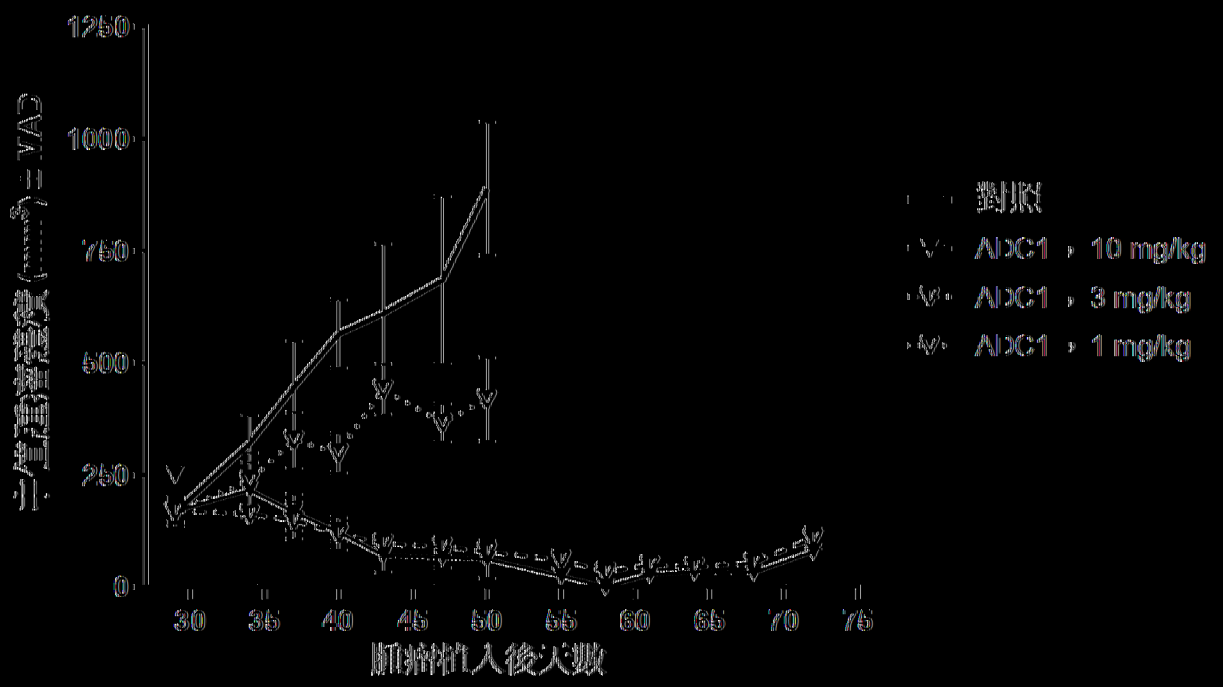


[(圖]14)]

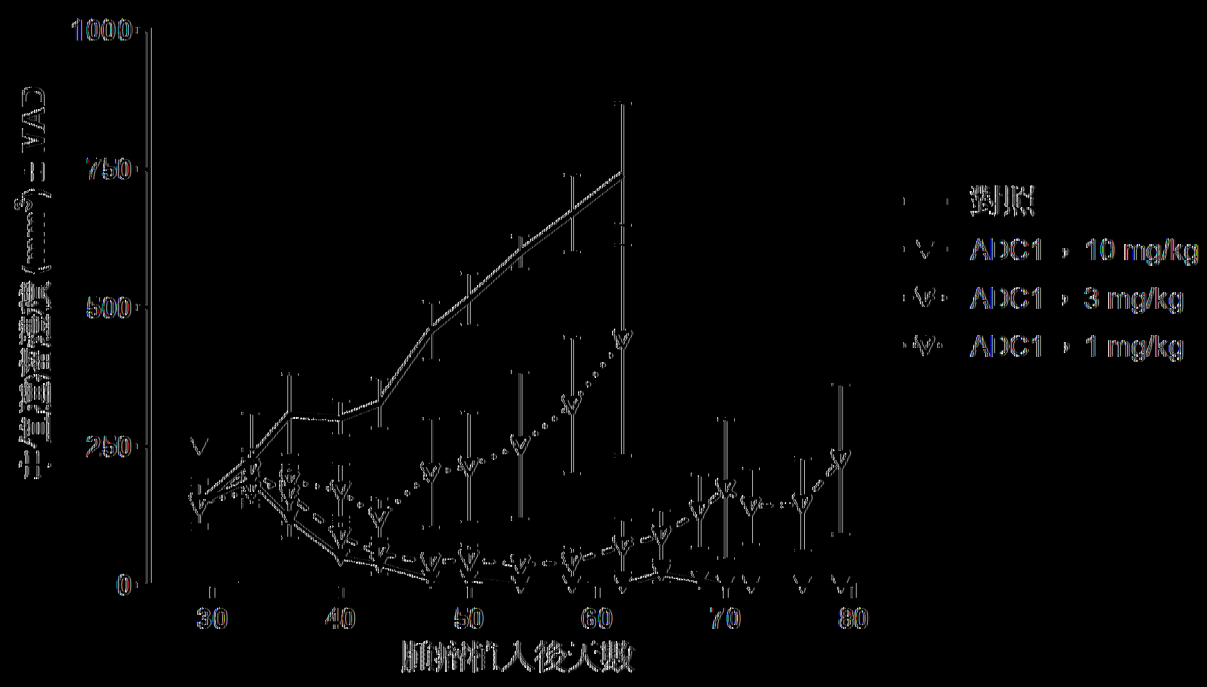




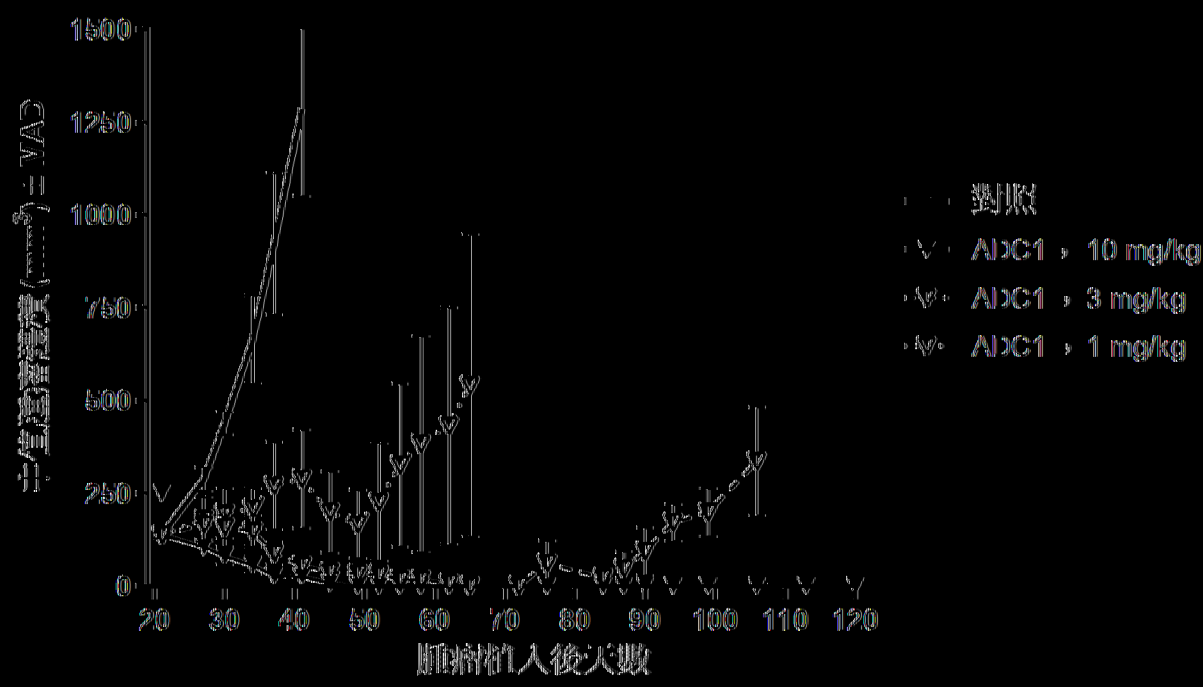
[(圖]16)]



[圖17]



[圖18]



[圖19]

