



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 202333799 A

(43)公開日：中華民國 112 (2023) 年 09 月 01 日

(21)申請案號：111149059

(22)申請日：中華民國 111 (2022) 年 12 月 20 日

(51)Int. Cl.：

*A61K47/68 (2017.01)**A61K47/06 (2006.01)**A61K51/04 (2006.01)**A61P35/00 (2006.01)**C07F15/00 (2006.01)**A61K103/00 (2006.01)*

(30)優先權：2021/12/20 美國

63/291,910

(71)申請人：加拿大商融合製藥公司 (加拿大) FUSION PHARMACEUTICALS INC. (CA)

加拿大

英商阿斯特捷利康英國股份有限公司 (英國) ASTRAZENECA UK LIMITED (GB)

英國

(72)發明人：阿葛希弗里安 薩達夫 AGHEVLIAN, SADAF (IR)；葛倫希坦 娜塔莉

GRINSHTEIN, NATALIE (CA)；達菲 依恩 R DUFFY, IAN R. (CA)；科斯特尼

克 托馬斯 I KOSTELNIK, THOMAS I. (CA)；科瑪 法蘭克 歐文 COMER,

FRANK IRVINE (US)；瑪莎 亞里夫 MAZOR, YARIV (US)；卡斯圖里安根 斯

里納斯 KASTURIRANGAN, SRINATH (US)；杜 群 DU, QUN (US)；楊 春寧

YANG, CHUNNING (US)；布坎南 安德魯 格里爾 BUCHANAN, ANDREW

GRIER (GB)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：47 項 圖式數：17 共 196 頁

(54)名稱

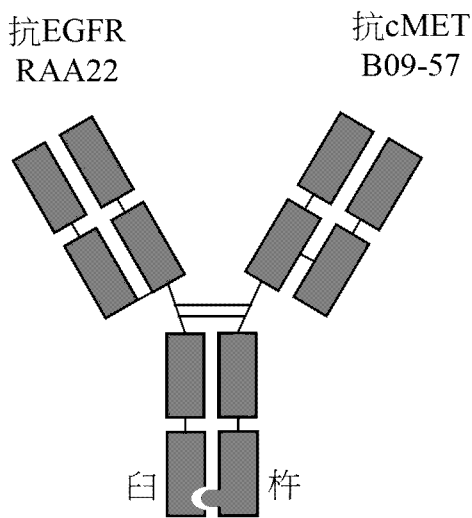
EGFR-cMET 靶向化合物及其用途

(57)摘要

本發明係關於化合物(例如放射免疫結合物)，其包括螯合部分或其金屬錯合物、連接基團及靶向 EGFR 及 cMET 兩者之抗體或其抗原結合片段。本發明亦係關於此類化合物之醫藥組合物以及使用此類化合物或醫藥組合物來治療例如癌症之病狀的方法。

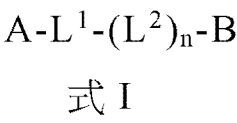
Compounds, e.g., radioimmunoconjugates, including a chelating moiety or a metal complex thereof, a linker, and an antibody or antigen-binding fragment thereof targeting both EGFR and cMET. Pharmaceutical compositions of such compounds and methods of treatment for conditions, e.g., cancer, using such compounds or pharmaceutical compositions.

指定代表圖：



【圖1A】

特徵化學式：



【發明摘要】

【中文發明名稱】

EGFR-cMET靶向化合物及其用途

【英文發明名稱】

EGFR-cMET-TARGETED COMPOUNDS AND USES THEREOF

【中文】

本發明係關於化合物(例如放射免疫結合物)，其包括螯合部分或其金屬錯合物、連接基團及靶向EGFR及cMET兩者之抗體或其抗原結合片段。本發明亦係關於此類化合物之醫藥組合物以及使用此類化合物或醫藥組合物來治療例如癌症之病狀的方法。

【英文】

Compounds, e.g., radioimmunoconjugates, including a chelating moiety or a metal complex thereof, a linker, and an antibody or antigen-binding fragment thereof targeting both EGFR and cMET. Pharmaceutical compositions of such compounds and methods of treatment for conditions, e.g., cancer, using such compounds or pharmaceutical compositions.

【指定代表圖】

圖1A

【代表圖之符號簡單說明】

無

【特徵化學式】

$A-L^1-(L^2)_n-B$

式 I

【發明說明書】

【中文發明名稱】

EGFR-cMET靶向化合物及其用途

【英文發明名稱】

EGFR-cMET-TARGETED COMPOUNDS AND USES THEREOF

【技術領域】

【先前技術】

【0001】 非小細胞肺癌(NSCLC)仍然為全球癌症相關死亡之主要原因。雖然隨著EGFR-酪胺酸激酶抑制劑(TKI)之發展，某些晚期NSCLC患者之預後已顯著改善，但長期存活之轉移性NSCLC患者仍很稀少。Lin等人之近期研究已顯示，接受埃羅替尼(erlotinib)或吉非替尼(gefitinib)治療之EGFR-突變轉移性NSCLC患者存活5年的發生率僅為14.6%。抗EGFR TKI易產生耐藥性且長期以來已知潛在耐藥性機制與EGFR突變及cMET過度表現共存。一種正在臨床測試之有前景的方法為埃萬妥單抗(amivantamab)，其為一種已經批准用於治療非小細胞肺癌之人類EGFR-cMET雙特異性抗體。靶向EGFR及cMET受體可增加治療對癌細胞的特異性。

【0002】 通常，抗體之功效取決於靶向細胞之數目。此外，耐藥性仍為靶向癌症療法所面對的主要挑戰，其中原發性(de novo)及獲得性耐藥性限制靶向療法之長期功效。耐藥性機制包括二次突變、致癌下游信號傳導模組之活化、配位體上調及替代生長因子受體之擴增。

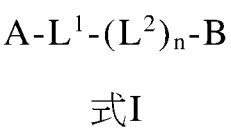
【0003】 因此，仍需要可靶向EGFR及cMET兩者而無以上缺點之經改良之治療劑(例如，癌症治療劑)。

【發明內容】

【0004】 本發明係關於靶向EGFR及cMET兩者之化合物(例如放射免疫結合物)、其醫藥組合物，及使用此類化合物或醫藥組合物治療癌症之方法。不同於裸抗體，放射免疫結合物無需阻斷受體功能即可具有治療功效；實際上其發射放射性粒子(例如 α 發射體)，該等放射性粒子靶向有限範圍內之周圍腫瘤細胞，由此防止任何脫靶相關的毒性。用於EGFR及cMET過度表現癌症之靶向EGFR-cMET之化合物(例如，放射免疫結合物)使用EGFR-cMET複合物進行抗體觸發之內化的能力以將靶向放射性核種特異性遞送至癌細胞內。抗體與正常健康組織/細胞上之任一受體的單價結合並不導致內化。

【0005】 在某些實施例中，所提供之化合物(例如放射免疫結合物)與一些當前已知之放射性治療劑相比表現出增加之排出速率(例如在向哺乳動物投與後)，同時仍維持治療功效。在一些實施例中，較快排出可藉由限制化合物保持在個體中之時間量而限制脫靶毒性。因此，在一些實施例中，所提供之化合物表現出減少之脫靶毒性。

【0006】 在一個態樣中，提供包含以下結構之化合物或其醫藥學上可接受之鹽：



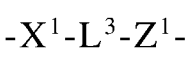
其中

- A為螯合部分或其金屬錯合物；
- B為抗體或其抗原結合片段；
- L^1 為鍵、C=O、C=S、視情況經取代之 C_1-C_6 烷基、視情況經取代之

C₁-C₆雜烷基、視情況經取代之芳基或視情況經取代之雜芳基；

n為1與5之間的整數(含本數)；及

L²各自獨立地具有式II結構：



式II

其中

X¹為-C(O)NR¹-*、-NR¹C(O)-*、-C(S)NR¹-*、-NR¹C(S)-*、-OC(O)NR¹-*、-NR¹C(O)O-*、-NR¹C(O)NR¹-、-CH₂-Ph-C(O)NR¹-*、-NR¹C(O)-Ph-CH₂-*、-CH₂-Ph-NH-C(S)NR¹-*、-NR¹C(S)-NH-Ph-CH₂-*、-O-或-NR¹-，其中「*」指示與L³之連接點，且R¹為氫、視情況經取代之C₁-C₆烷基、視情況經取代之C₁-C₆雜烷基、視情況經取代之芳基或視情況經取代之雜芳基；

L³為視情況經取代之C₁-C₅₀烷基或視情況經取代之C₁-C₅₀雜烷基；及

Z¹ 為 -CH₂-# 、 -C(O)-# 、 -C(S)-# 、 -OC(O)-# 、 -C(O)O-# 、 -NR²C(O)-# 、 -C(O)NR²-#或-NR²-#，其中「#」指示與B之連接點，且R²為氫、視情況經取代之C₁-C₆烷基、視情況經取代之C₁-C₆雜烷基、視情況經取代之芳基或視情況經取代之雜芳基，且

其中該抗體或其抗原結合片段包含能夠結合表皮生長因子受體(EGFR)之第一抗原結合域及能夠結合cMET之第二抗原結合域，

其中該第一抗原結合域包含：

i. 包含以下互補決定區(CDR)之重鏈可變(VH)區：

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 1之HCDR1

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 2之HCDR2

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 3之HCDR3，

或其變異體，其中HCDR1、HCDR2及HCDR3中之一或多者中之一或兩個或三個胺基酸經其他胺基酸取代；及

ii. 包含以下CDR之輕鏈可變(VL)區：

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 4之LCDR1

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 5之LCDR2

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 6之LCDR3，

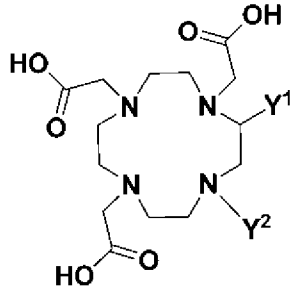
或其變異體，其中LCDR1、LCDR2及LCDR3中之一或多者中之一或兩個或三個胺基酸經其他胺基酸取代。

【0007】 在一些實施例中，式I中之變數A係選自由以下組成之群的螯合部分：DOTA (1,4,7,10-四氮雜環十二烷-1,4,7,10-四乙酸)、DOTMA (1R,4R,7R,10R)- $\alpha,\alpha',\alpha'',\alpha'''$ -四甲基-1,4,7,10-四氮雜環十二烷-1,4,7,10-四乙酸、DOTAM (1,4,7,10-肆(胺甲醯基甲基)-1,4,7,10-四氮雜環十二烷)、DOTPA (1,4,7,10-四氮雜環十二烷-1,4,7,10-四丙酸)、DO3AM-乙酸(2-(4,7,10-參(2-胺基-2-側氧基乙基)-1,4,7,10-四氮雜環十二烷-1-基)乙酸)、DOTA-GA酸酐(2,2',2''-(10-(2,6-二側氧基四氫-2H-吡喃-3-基)-1,4,7,10-四氮雜環十二烷-1,4,7-三基)三乙酸)、DOTP (1,4,7,10-四氮雜環十二烷-1,4,7,10-四(亞甲基膦酸))、DOTMP (1,4,6,10-四氮雜環癸烷-1,4,7,10-四亞甲基膦酸)、DOTA-4AMP (1,4,7,10-四氮雜環十二烷-1,4,7,10-肆(乙醯胺基-亞甲基膦酸)、CB-TE2A (1,4,8,11-四氮雜雙環[6.6.2]十六烷-4,11-二乙酸)、NOTA (1,4,7-三氮雜環壬烷-1,4,7-三乙酸)、NOTP (1,4,7-三氮雜環壬烷-1,4,7-三(亞甲基膦酸)、TETPA (1,4,8,11-四氮雜環十四烷-1,4,8,11-四丙酸)、TETA (1,4,8,11-四氮雜環十四烷-1,4,8,11-四乙酸)、

HEHA (1,4,7,10,13,16-六氮雜環十六烷-1,4,7,10,13,16-六乙酸)、PEPA (1,4,7,10,13-五氮雜環十五烷-N,N',N'',N''',N''''-五乙酸)、H₄octapa (N,N'-雙(6-羧基-2-吡啶基甲基)-乙二胺-N,N'-二乙酸)、H₂dedpa (1,2-[[6-(羧基)-吡啶-2-基]-甲胺基]乙烷)、H₆phospa (N,N'-(亞甲基膦酸酯)-N,N'-[6-(甲氧基羰基)吡啶-2-基]-甲胺基]乙烷)、TTHA (三伸乙基四胺-N,N,N',N'',N''',N''''-六乙酸)、DO2P (四氮雜環十二烷二甲烷膦酸)、HP-DO3A (經丙基四氮雜環十二烷三乙酸)、EDTA (乙二胺四乙酸)、去鐵胺 (Deferoxamine)、DTPA (二伸乙基三胺五乙酸)、DTPA-BMA (二伸乙基三胺五乙酸-雙甲基醯胺)及卟啉。

【0008】 在某些實施例中，式I中之變數A為DOTA (1,4,7,10-四氮雜環十二烷-1,4,7,10-四乙酸)或其金屬錯合物。

【0009】 在一些實施例中，化合物由式I-a表示，或其金屬錯合物：



式I-a

其中Y¹為-CH₂OCH₂(L²)_n-B、-C(O)(L²)_n-B或-C(S)(L²)_n-B，且Y²為-CH₂CO₂H；或

其中Y¹為H，且Y²為L¹-(L²)_n-B。在某些實施例中，Y¹為H。

【0010】 在一些實施例中，L¹為R^L-CH₂-CH₂-CH₂-CH₂-，且R^L為氫或-CO₂H。

【0011】 在某些實施例中，X¹為-C(O)NR¹-*或-NR¹C(O)-*，「*」指示與L³之連接點，且R¹為H。

【0012】 在某些實施例中， Z^1 為 $-\text{CH}_2-$ 。

【0013】 在一些實施例中， L^3 包含 $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{2-20}$ 。在一些實施例中， L^3 為 $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m(\text{CH}_2)_w$ ，其中 m 及 w 各自獨立地為0與10之間的整數(含本數)，且 m 及 w 中之至少一者不為0。

【0014】 在一些實施例中，金屬錯合物包含選自由以下組成之群的金屬：Bi、Pb、Y、Mn、Cr、Fe、Co、Zn、Ni、Tc、In、Ga、Cu、Re、鑷系元素及鈷系元素。在一些實施例中，金屬錯合物包含選自由以下組成之群的放射性核種： ^{44}Sc 、 ^{47}Sc 、 ^{55}Co 、 ^{60}Cu 、 ^{61}Cu 、 ^{62}Cu 、 ^{64}Cu 、 ^{67}Cu 、 ^{66}Ga 、 ^{67}Ga 、 ^{68}Ga 、 ^{82}Rb 、 ^{86}Y 、 ^{87}Y 、 ^{89}Zr 、 ^{90}Y 、 ^{97}Ru 、 ^{99}Tc 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{105}Rh 、 ^{109}Pd 、 ^{111}In 、 $^{117\text{m}}\text{Sn}$ 、 ^{149}Pm 、 ^{149}Tb 、 ^{153}Sm 、 ^{166}Ho 、 ^{177}Lu 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{198}Au 、 ^{199}Au 、 ^{201}Tl 、 ^{203}Pb 、 ^{211}At 、 ^{212}Pb 、 ^{212}Bi 、 ^{213}Bi 、 ^{223}Ra 、 ^{225}Ac 、 ^{227}Th 及 ^{229}Th 。

【0015】 在一些實施例中，變數A為螯合部分之金屬錯合物。在一些此類實施例中，金屬錯合物包含放射性核種。在一些實施例中，放射性核種為 α 發射體，例如選自由以下組成之群的 α 發射體：砒-211 (^{211}At)、鉍-212 (^{212}Bi)、鉍-213 (^{213}Bi)、鈾-225 (^{225}Ac)、鐳-223 (^{223}Ra)、鉛-212 (^{212}Pb)、釷-227 (^{227}Th)及錒-149 (^{149}Tb)或其子系。在一些實施例中，放射性核種為 ^{68}Ga 、 ^{111}In 、 ^{177}Lu 或 ^{225}Ac 。在一些實施例中，放射性核種為 ^{225}Ac 或其子系。

【0016】 在一些實施例中，式I化合物包含以下結構中之一者，或其金屬錯合物：

結合片段，第一抗原結合域包含：

i. 包含以下互補決定區(CDR)之重鏈可變(VH)區：

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 1之HCDR1

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 2之HCDR2

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 3之HCDR3；及

ii. 包含以下CDR之輕鏈可變(VL)區：

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 4之LCDR1

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 5之LCDR2

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 6之LCDR3。

【0020】 在一些實施例中，參考包括於式I化合物中之抗體或其抗原結合片段，第一抗原結合域包含：

a. 包含與SEQ ID NO: 15之胺基酸序列具有至少70%、至少80%、至少90%或至少95%序列一致性之胺基酸序列的VH區；及

b. 包含與SEQ ID NO: 16之胺基酸序列具有至少70%、至少80%、至少90%或至少95%序列一致性之胺基酸序列的VL區。

【0021】 在一些實施例中，參考包括於式I化合物中之抗體或其抗原結合片段，第二抗原結合域包含：

i. 包含以下CDR之VH區：

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 17之HCDR1

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 18之HCDR2

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 19之HCDR3，

或其變異體，其中HCDR1、HCDR2及HCDR3中之一或多者中之一或兩個或三個胺基酸經其他胺基酸取代；及

ii. 包含以下CDR之VL區：

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 20之LCDR1

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 21之LCDR2

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 22之LCDR3，

或其變異體，其中LCDR1、LCDR2及LCDR3中之一或多者中之一或兩個或三個胺基酸經其他胺基酸取代。

【0022】 在一些實施例中，參考包括於式I化合物中之抗體或其抗原結合片段，第二抗原結合域包含：

i. 包含以下CDR之VH區：

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 17之HCDR1

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 18之HCDR2

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 19之HCDR3；及

ii. 包含以下CDR之VL區：

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 20之LCDR1

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 21之LCDR2

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 22之LCDR3。

【0023】 在一些實施例中，參考包括於式I化合物中之抗體或其抗原結合片段，第二抗原結合域包含：

a. 包含與SEQ ID NO: 31之胺基酸序列具有至少70%、至少80%、至少90%或至少95%序列一致性之胺基酸序列的VH區；及

b. 包含與SEQ ID NO: 32之胺基酸序列具有至少70%、至少80%、至少90%或至少95%序列一致性之胺基酸序列的VL區。

【0024】 在一些實施例中，抗體或其抗原結合片段包含：

a. 能夠結合表皮生長因子受體(EGFR)之第一抗原結合域，其包含：

i. 包含以下互補決定區(CDR)之重鏈可變(VH)區：

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 1之HCDR1

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 2之HCDR2

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 3之HCDR3；及

ii. 包含以下CDR之輕鏈可變(VL)區：

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 4之LCDR1

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 5之LCDR2

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 6之LCDR3；及

b. 能夠結合cMET之第二抗原結合域，其包含：

i. 包含以下CDR之VH區：

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 17之HCDR1

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 18之HCDR2

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 19之HCDR3；及

ii. 包含以下CDR之VL區：

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 20之LCDR1

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 21之LCDR2

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 22之LCDR3。

【0025】 在一些實施例中，抗體或其抗原結合片段包含：

a. 第一重鏈，其中該第一重鏈包含該第一抗原結合域之VH區及第一重鏈恆定(CH)區或其片段；

b. 第一輕鏈，其中該第一輕鏈包含該第一抗原結合域之VL區，及

第一輕鏈恆定(CL)區或其片段；

c. 第二重鏈，其中該第二重鏈包含該第二抗原結合域之VH區及第二重鏈恆定(CH)區或其片段；及

d. 第二輕鏈，其中該第二輕鏈包含該第二抗原結合域之VL區，及第二輕鏈恆定(CL)區或其片段。

【0026】 在一些實施例中，第一及第二CH區各自包含與SEQ ID NO: 33之胺基酸序列具有至少70%、至少80%、至少90%或至少95%序列一致性之胺基酸序列。

【0027】 在一些實施例中，第一及第二重鏈形成雜二聚體，視情況其中第一及第二重鏈中之一者包含位置354處之半胱胺酸(C)殘基及位置366處之色胺酸(W)殘基，且該另一重鏈包含位置349處之半胱胺酸(C)殘基、位置407處之纈胺酸(V)殘基、位置366處之絲胺酸(S)及位置368處之丙胺酸(A)，其中該恆定區之編號係根據EU索引。

【0028】 在一些實施例中，抗體或其抗原結合片段包含：

a. 經修飾之CH區，其中該經修飾之CH區包含原生非半胱胺酸胺基酸至半胱胺酸胺基酸之取代；及

b. 經修飾之相應CL區，其中該經修飾之CL區包含原生非半胱胺酸胺基酸至半胱胺酸胺基酸之取代，

其中，以下中之任一者：

i. 該第一重鏈包含該經修飾之CH區且該第一輕鏈包含該經修飾之相應CL區；或

ii. 該第二重鏈包含該經修飾之CH區且該第二輕鏈包含該經修飾之相應CL區，且

其中該經修飾之CH區之經取代之半胱胺酸與該經修飾之相應輕鏈之該經取代之半胱胺酸可形成雙硫鍵。

【0029】 在一些實施例中，經修飾之CH區包含在位置126處原生非半胱胺酸胺基酸至半胱胺酸胺基酸之取代；且經修飾之相應CL區包含在位置121處原生非半胱胺酸胺基酸至半胱胺酸胺基酸之取代，其中該恆定區之編號係根據EU索引。

【0030】 在一些實施例中，第一及/或第二CH區包含突變以減少或消除抗體或其抗原結合片段與更多Fc γ 受體中之一者的結合。

【0031】 在一些實施例中，第一及/或第二CH區包含位置234處之苯丙胺酸、位置235處之麩胺酸及位置331處之絲胺酸，其中恆定區之編號係根據EU索引。

【0032】 在一些實施例中，式I化合物之特徵在於：

- a. 第一CH區包含與SEQ ID NO: 39中所示之序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性之胺基酸序列；
- b. 第二CH區包含與SEQ ID NO: 40中所示之序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性之胺基酸序列，
- c. 該第一CL區包含與SEQ ID NO: 41中所示之序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性之胺基酸序列；及
- d. 該第二CL區包含與SEQ ID NO: 34中所示之序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一

致性之胺基酸序列。

【0033】 在一些實施例中，抗體或其抗原結合片段包含：

- a. 第一重鏈，其包含與SEQ ID NO: 35中所示之序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性之胺基酸序列；
- b. 第二重鏈，其包含與SEQ ID NO: 36中所示之序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性之胺基酸序列；
- c. 第一輕鏈，其包含與SEQ ID NO: 37中所示之序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性之胺基酸序列；及
- d. 第二輕鏈，其包含與SEQ ID NO: 38中所示之序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性之胺基酸序列。

【0034】 在一些實施例中，式I化合物之特徵在於：

- a. 第一重鏈包含具有SEQ ID NO: 35中所示之序列的胺基酸序列；
- b. 第二重鏈包含具有SEQ ID NO: 36中所示之序列的胺基酸序列；
- c. 該第一輕鏈包含具有SEQ ID NO: 37中所示之序列的胺基酸序列；及
- d. 該第二輕鏈包含具有SEQ ID NO: 38中所示之序列的胺基酸序列。

【0035】 在一些實施例中，式I化合物之特徵在於：

- a. 能夠結合EGFR之第一抗原結合域能夠結合食蟹獼猴EGFR；

- b. 能夠結合EGFR之第一抗原結合域能夠結合小鼠EGFR；
- c. 能夠結合cMET之第二抗原結合域能夠結合食蟹獼猴cMET；
- d. 該第一抗原結合域對EGFR具有特異性；
- e. 該第二抗原結合域對cMET具有特異性；
- f. 該抗體或其抗原結合片段能夠同時結合EGFR及cMET；
- g. 該抗體或其抗原結合片段能夠內化至細胞中；
- h. 當在活體外細胞活力分析中量測時，該抗體或其抗原結合片段具有細胞毒性活性；及/或
- i. 該抗體或其抗原結合片段能夠阻斷EGFR及/或cMET之配位體依賴性信號傳導。

【0036】 在一些實施例中，式I化合物之特徵為第一抗原結合域能夠以具有以下K_d之親和力結合人類EGFR：

- a. 10與100 nM之間；
- b. 20與80 nM之間；
- c. 30與75 nM之間；或
- d. 35與50 nM之間。

【0037】 在一些實施例中，式I化合物之特徵在於第二抗原結合域能夠以具有以下K_d之親和力結合人類cMET：

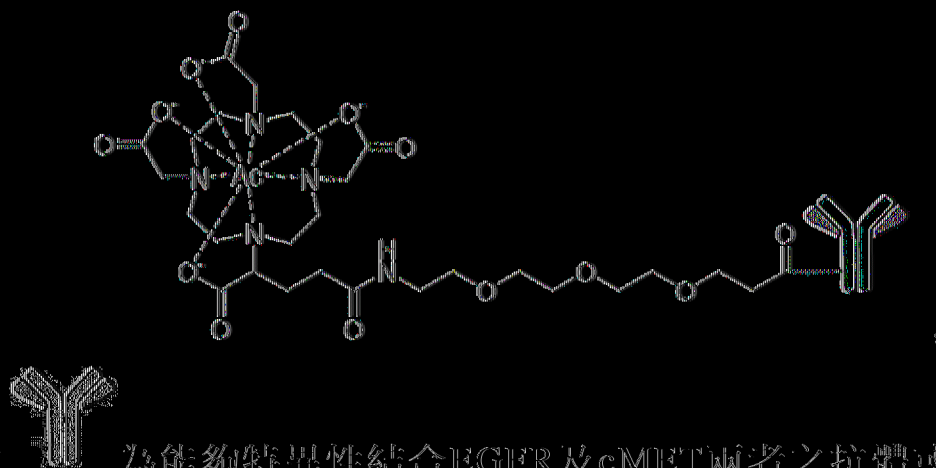
- a. 低於10 nM；或
- b. 低於5 nM。

【0038】 在一些實施例中，式I化合物之特徵在於第一抗原結合域能夠以低於包含抗體QD6之重鏈可變區序列及輕鏈可變區序列(分別為SEQ ID NO: 47及SEQ ID NO: 48中闡述之序列)之抗原結合域之親和力的親和

力結合人類EGFR。

[(0039)] 在一些實施例中，上文所描述之結合親和力係藉由表面電漿共振量測。

[(0040)] 在一些實施例中，式I化合物包含以下結構：



其中  為能夠特異性結合EGFR及cMET兩者之抗體或其抗原結合片段(例如，下文描述之EGFR-cMET單株雙特異性抗體RAA22/B09 Duet1Mab)。在一些實施例中，抗體或其抗原結合片段經由離胺酸殘基之側鏈胺基連接至 $A-L^1-(L^2)_n$ 。

[(0041)] 在另一態樣中，本發明亦係關於一種醫藥組合物，其包含一種上文所描述之化合物及醫藥學上可接受之載劑、稀釋劑或賦形劑。

[(0042)] 仍在本發明之範疇內的係一種治療癌症之方法，該方法包含向有需要之個體(例如人類)投與治療有效量之上文所描述之化合物或其各別組合物。

[(0043)] 在一些實施例中，癌症為選自由以下組成之群的實體腫瘤：腎上腺皮質癌、膀胱癌、乳癌、子宮頸癌、大腸直腸癌、子宮內膜腺癌、尤文氏肉瘤(Ewing's sarcoma)、膽囊癌、神經膠質瘤、頭頸癌(例如頭部及頸部鱗狀細胞癌或HNSCC)、肝癌、肺癌(例如非小細胞肺癌或NSCLC)、神經母細胞瘤、神經內分泌瘤、卵巢癌、胰臟癌(例如胰管腺癌

或PDAC)、前列腺癌、胃癌、腎細胞癌、唾液腺樣囊性癌、精母細胞型精原細胞瘤及葡萄膜黑色素瘤。

【0044】 在一些實施例中，癌症為肺癌、大腸直腸癌、胰臟癌或頭頸癌。

【0045】 在一些實施例中，本發明之治療方法進一步包含向有需要之個體(例如，人類)投與抗增生劑、放射敏化劑、免疫調控或免疫調節劑。

【0046】 仍在本發明之範疇內的係上文所描述之用於治療癌症之方法中的化合物或醫藥組合物。

【0047】 本發明進一步涵蓋上文所描述之化合物或醫藥組合物在製造用於治療癌症之藥劑中的用途。

【圖式簡單說明】

【0048】 圖 1A 及 圖 1B 分別為 RAA22/B09-57 及 QD6/B09-57 DuetMab之圖形描繪。顯示抗EGFR RAA22及QD6之Fab、抗cMET B09-57之Fab以及臼(Hole)及杵(Knob)重鏈。結構呈現係單個域結構之組合。

【0049】 圖2顯示使用抗原捕捉形式之並行結合研究係藉由Octet分析進行的。負載有人類cMET抗原之感測器首先暴露於抗體隨後與人類EGFR抗原進行連續結合及解離相互作用。Ass=結合；Diss=解離；NINTA=鎳-氨基三乙酸。

【0050】 圖3A顯示ELISA結果，該結果顯示EGFR及c-Met物種交叉反應性。高親和力單特異性EGFR IgG、QD6以及單價雙特異性EGFR/cMET DuetMAb、QD6/B09與人類、食蟹獼猴及小鼠EGFR結合。與QD6相比，親和力降低的單特異性EGFR IgG、RAA22與人類、食蟹獼

猴及小鼠EGFR結合較弱，且相對於二價親本IgG、RAA22，相對應的單價雙特異性EGFR/c-Met DuetMAb、RAA22/B09顯示與人類及食蟹獼猴EGFR的結合仍然較弱，而與小鼠EGFR標稱結合。單特異性c-Met IgG、B09以及所有雙特異性變異體顯示類似於與人類及食蟹獼猴c-Met之結合但未偵測到與小鼠c-Met之結合。

【0051】 圖3B顯示ELISA結果，該結果顯示EGFR及c-Met家族特異性。所測試之抗體中無一者顯示出與任何EGFR HER家族蛋白(HER2、HER3或HER4)或任何c-Met家族成員(Ron(CD136)或Semaphorin 3a)之任何明顯結合。

【0052】 圖4顯示RAA22/B09雙特異性mAb之內化及使用pHAb pH敏感性染料(Promega)標記之抗體目測向酸化細胞內區室之移行。對照抗體包括R347同型對照及單價雙特異性對照抗體抗EGFR RAA22/R347及抗cMET B09/R347。將pHAb標記之抗體與NCI-H1975肺癌細胞以1.25 $\mu\text{g/mL}$ 之濃度在含濕氣培育箱中在37°C及5% CO₂下培育。使用Cy3濾波器在Operetta高內涵成像系統上之指定時間點捕捉螢光影像。隨時間推移增加之細胞螢光強度視為內化及向酸性細胞內區室之移行的證據，經藉由pH敏感性螢光所量測。

【0053】 圖5顯示RAA22/B09雙特異性mAb之內化及向酸化細胞內區室之移行係使用pHAb pH敏感性染料標記之抗體觀測的，但細胞經0.625 $\mu\text{g/mL}$ 之較低濃度的抗體處理。

【0054】 圖6A顯示QD6/B09及RAA22/B09單株抗體(mAb)在H1975細胞中內化之動力學。(a)細胞質(藍色)用CellTracker Blue CMAC及2.5 $\mu\text{g/mL}$ 之QD6/B09-AlexaFluor647 (洋紅色，上圖)或2.5 $\mu\text{g/mL}$ 之

RAA22/B09AlexaFluor-647 (洋紅色，下圖)在內化開始時及在1小時後標記的細胞圖像疊加細胞經CellTracker Blue CMAC標記，隨後在2-8℃下與mAbs-AlexaFluor6457結合且進行內化條件：(37℃，70%濕度及5% CO₂)。

【0055】圖6B顯示QD6/B09及RAA22/B09單株抗體(mAb)在H1975細胞中內化之動力學。mAb-AlexaFluor647內化之時程藉由使用演算法(材料及方法)對動力學圖像進行定量分析來測定。使用算法(Vainshtein，2015)處理以5分鐘時間間隔獲取之動力學圖像以確定抗體在細胞質中的積聚。對於QD6/B09-AlexaFluor647 (紅色)對比RAA22/B09-AlexaFluor647 (藍色)，細胞質中之抗體信號標準化為細胞中之抗體螢光(細胞質中之部分)顯示三個獨立實驗中之一者。使用與方程 $F_{cyt}(t) = (1 - e^{-k_{int} \cdot t}) \cdot F_{max, cyt}$ 擬合之曲線根據內化時程計算內化速率常數(k_{int})，其中 $F_{max, cyt}$ 為每個細胞之細胞質強度與每個細胞之總強度的最大比率。自 k_{int} 計算的QD6/B09之 $T_{1/2}$ 為 37.5 ± 10.6 min，且RAA22/B09之 $T_{1/2}$ 為 43.2 ± 15.5 (自n=3)。

【0056】圖7A顯示QD6/B09 DuetMab及其各別單臂對照抗體之內化概況。內化概況經由各構築體之各別膜及細胞質信號之時程顯示。使用Opera共焦螢光顯微鏡獲得QD6/B09組。

【0057】圖7B顯示RAA22/B09 DuetMab及其各別單臂對照抗體之內化概況。內化概況經由各構築體之各別膜及細胞質信號之時程顯示。使用Zeiss轉盤共焦螢光顯微鏡獲得該組。QD6/B09及QD6/IgG之相同概況指示由QD6/B09 DuetMab之EGFR臂驅動之內化模式，而RAA22/B09 DuetMab需要EGFR及cMET臂兩者接合以高效內化。

【0058】 圖8A顯示RAA22/B09表現中度及高度目標c-MET及EGFR細胞表面受體之細胞中的內化概況。所示為H1975細胞中RAA22/B09-AF647之膜、細胞質及總信號。顯示2之一個代表性實驗。H1975細胞顯示總強度及膜強度之同時下降，表明抗體自細胞表面解離。

【0059】 圖8B等效於圖8A，但在HCC827細胞中。HCC827細胞在實驗時程具有穩定總信號。膜信號之降低為衍生之抗體內化。

【0060】 圖9A顯示RAA22/B09單臂對照抗體HCC827細胞中之內化。RAA22/IgG單臂之強度概況比RAA22/B09低約10倍，因為經由單臂結合與EGFR結合較弱

【0061】 圖9B顯示B09/IgG單臂自細胞膜解離，如總信號及膜信號隨時間推移同時下降所表明。

【0062】 圖10A為描繪包含螯合物、連接基團及交聯基團之雙官能螯合物之通用結構的示意圖。

【0063】 圖10B為描繪包含螯合物、連接基團及靶向部分之雙官能結合物之通用結構的示意圖。

【0064】 圖10C及圖10D為描繪本文所揭示之兩種例示性EGFR-cMET放射免疫結合物 $[^{177}\text{Lu}]$ -DOTA-抗EGFR-cMET及 $[^{225}\text{Ac}]$ -DOTA-抗EGFR-cMET之結構的示意圖。

【0065】 圖11為描繪雙官能螯合物4-{[11-側氧基-11-(2,3,5,6-四氟苯氧基)十一基]胺甲醯基}-2-[4,7,10-參(羧甲基)-1,4,7,10-四氮雜環十二烷-1-基]丁酸(化合物B)之合成的示意圖。化合物B之合成描述於實例6中。

【0066】 圖12為描繪雙官能螯合物4-{[2-(2-{2-[3-側氧基-3-(2,3,5,6-四氟苯氧基)丙氧基]乙氧基}乙氧基)乙基]胺甲醯基}-2-[4,7,10-參

(羧甲基)-1,4,7,10-四氮雜環十二烷-1-基]丁酸(化合物C)之合成的示意圖。化合物C之合成描述於實例7中。

【0067】 圖13係描繪用於合成 $[^{177}\text{Lu}]$ -化合物C-抗EGFR-cMET結合物(例如，下文所描述之化合物E及化合物F)之結合及放射性標記的示意圖。參見實例8。

【0068】 圖14A-14B顯示在不存在(總結合)或存在(非特異性結合) 4 μM 未經標記之抗體的情況下，化合物E與具有不同EGFR及c-MET表現量之不同細胞株的結合。特異性結合係藉由自總結合減去非特異性結合來計算。所示值為平均值 $\pm\text{SEM}$ ($n=3$)。參見實例9。

【0069】 圖15顯示在培育後2小時及24小時，化合物E (10 nM)在具有不同EGFR及c-MET表現量之HCC827細胞、HT29細胞、H441細胞及H1975細胞中內化(或活體外殘餘)的結果。所示值為平均值 $\pm\text{SEM}$ ($n=3$)。參見實例10。

【0070】 圖16A-16E顯示代表在各種動物模型中之生物分佈研究之結果的曲線圖，且在靜脈內注射之後在指定時間點在具有皮下異種移植物的雌性balb/c小鼠($n=3$)中注射化合物E (0.7MBq/2 μg)。每公克組織注射之劑量百分比(% ID/g)繪製於x軸上且顯示在4、24、48、96及168小時時之血液、骨骼、腦、心臟、腸、腎、肺、肝、胰臟、脾、胃、皮膚、尿液及膀胱及腫瘤。參見實例11。

【0071】 圖17A-17C顯示代表在雌性balb/c鼠($n=5$)之各種動物模型中靜脈內注射化合物F (50-400 nCi/2 μg)、冷性抗體及媒劑後之活體內功效研究結果的圖。參見實例12。

【實施方式】

相關申請案

【0072】 本申請案主張2021年12月20日申請之美國臨時專利申請案第63/291,910號之優先權，該申請案之全部內容以引用之方式併入本文中以用於所有目的。

【0073】 放射免疫結合物經設計以靶向在疾病狀態中上調之蛋白或受體，以遞送放射性有效負載來破壞及殺死相關細胞(放射免疫療法)。遞送放射性有效負載使得靶向 α 、 β 、 γ 粒子或鄂惹電子(Auger electron)發射，其可產生對DNA之直接影響(諸如單股或雙股DNA斷裂)或諸如旁觀者或交火作用之間接影響。

【0074】 放射免疫結合物通常含有生物靶向部分(例如能夠特異性結合至EGFR及cMET兩者之抗體或其抗原結合片段)、放射性核種(例如 α 或 β 發射體)及連接兩者之分子。當雙官能螯合物附接至生物靶向分子時形成結合物，從而在維持目標親和力的同時將結構改變降至最低。一旦經放射性標記，就形成最終放射免疫結合物。

【0075】 雙官能螯合物在結構上含有螯合物、連接基團及交聯基團(圖10A)。當開發新的雙官能螯合物時，大部分工作集中於分子之螯合部分。已描述具有與目標部分結合之各種環狀及非環狀結構之雙官能螯合物的若干實例。[Bioconjugate Chem. 2000, 11, 510-519；Bioconjugate Chem. 2012, 23, 1029-1039；Mol Imaging Biol. 2011, 13, 215-221，Bioconjugate Chem. 2002, 13, 110-115。]

【0076】 開發安全且有效的放射免疫結合物之關鍵因素之一為使功效最大化，同時使正常組織中之脫靶毒性降至最低。雖然此陳述為開發新藥物的核心原則之一，但應用於放射免疫治療劑提出新的挑戰。放射免疫

結合物不需要如治療抗體所需那般阻斷受體，或如抗體藥物結合物(「ADC」)所需那般的在細胞內釋放細胞毒性有效負載以具有治療功效。然而，有毒粒子之發射為由於一階(放射性)衰變而發生的事件，且在投與後可在身體內部任何位置隨機發生。一旦發射發生，在發射範圍內之周圍細胞可能發生損傷，導致潛在的脫靶毒性。因此，限制此等發射暴露於正常組織為開發新治療性放射免疫結合物之關鍵。

【0077】 減少脫靶暴露的一種潛在方法為更有效地自身體(例如自體內正常組織)移除放射性。一種機制為增加生物靶向劑之清除率。此方法可能需要鑑別縮短生物靶向劑之半衰期的方式，而此點對於生物靶向劑而言並未得到充分描述。無論機制如何，增加藥物清除率亦會對藥力學/功效產生負面影響，因為更快速地自身體移除藥物會降低作用部位之有效濃度，此又需要更高的總劑量且無法達成降低對正常組織之總放射性劑量的所需結果。

【0078】 其他努力集中於加速含有放射性部分之分子部分的代謝。為此目的，已做出一些努力以使用所謂的「可裂解連接基團」來提高放射性自生物靶向劑之裂解率。然而，在涉及放射免疫結合物時，可裂解連接基團被賦予不同的含義。**Cornelissen**等人已描述可裂解連接基團為藉以雙官能螯合物經由還原型半胱胺酸連接至生物靶向劑之可裂解連接基團，而其他已描述需要共同投與放射免疫結合物與裂解劑/酶以釋放的酶可裂解系統之用途[Mol Cancer Ther. 2013, 12(11), 2472-2482；Methods Mol Biol. 2009, 539, 191-211；Bioconjug Chem. 2003, 14(5), 927-33]。此等方法改變生物靶向部分之性質，就半胱胺酸連接而言，或自藥物開發角度來看不實用(酶可裂解系統)，因為就所提供之引文而言，需要投與兩

種藥劑。

【0079】 本發明尤其提供化合物，例如放射免疫結合物，其在分解代謝及/或代謝後自身體更有效去除，從而更有效地自身體去除放射性，同時維持治療功效。此出人意料的優越性藉由對雙官能螯合物之連接基團區域進行修飾來達成。

【0080】 在一些實施例中，所揭示之免疫結合物可例如藉由增加分解代謝/代謝產物之排出程度同時維持完整分子之藥物動力學而達成與已知雙官能螯合物相比時全身放射性之降低。在一些實施例中，此放射性之降低由分解代謝/代謝副產物之清除產生，而不會影響其他活體外及活體內特性，諸如結合特異性(活體外結合)、細胞保持力及活體內腫瘤攝取。因此，在一些實施例中，所提供之化合物在人體中達成降低的放射性，同時維持中靶活性。

定義

【0081】 依本文所使用，術語靶向部分之「結合(bind)」或「結合(binding)」意謂與目標分子(例如，如本文所描述之人類EGFR-cMET)至少暫時相互作用或結合或結合至目標分子。

【0082】 依本文所使用，術語「雙官能螯合物」係指包含螯合物、連接基團及交聯基團之化合物。參見例如圖10A。「交聯基團」為能夠藉由共價鍵接合兩個或更多個分子，例如接合雙官能螯合物及靶向部分之反應性基團。

【0083】 依本文所使用，術語「雙官能結合物」係指包含螯合物或其金屬錯合物、連接基團及靶向部分(例如抗體或其抗原結合片段)之化合物。參見例如圖10B。

【0084】依本文所使用，術語「癌症」係指任何由諸如腫瘤、贅瘤、癌瘤、肉瘤、白血病及淋巴瘤之惡性贅生性細胞增生引起之癌症。在一些實施例中，本發明之癌症包含表現EGFR及cMET之細胞(例如，腫瘤細胞)，諸如但不限於肺癌、大腸直腸癌、胰臟癌或頭頸癌。

【0085】依本文所使用，術語「螯合物」係指可在兩個或更多個點處與中心金屬或放射性金屬原子結合的有機化合物或其部分。

【0086】依本文所使用，術語「結合物」係指含有螯合基團或其金屬錯合物、連接基團且視情況含有靶向部分(例如抗體或其抗原結合片段)之分子。

【0087】依本文所使用，除非另外說明，否則當用於提及抗體或其片段(例如，IgG1、IgG2或IgG4恆定區)時，片語「恆定區」意欲涵蓋野生型恆定區及變異體(例如，與野生型恆定區之參考序列具有至少85%、至少90%、至少92%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%胺基酸序列一致性的恆定區)兩者。

【0088】依本文所使用，術語「化合物」意欲包括所描繪結構之所有立體異構體、幾何異構體及互變異構體。

【0089】本文所敘述或描述之化合物可為不對稱的(例如具有一或多個立構中心)。除非另外指明，否則意指所有立體異構體，諸如對映異構體及非對映異構體。本發明中所論述之含有經不對稱取代之碳原子的化合物可以光學活性或外消旋形式分離。如何自光學活性起始物質製備光學活性形式之方法為此項技術中已知的，諸如藉由解析外消旋混合物或立體選擇性合成來製備。

【0090】依本文所使用，「偵測劑」係指可用於藉由定位含有抗原

之細胞來診斷疾病的分子或原子。用偵測劑標記多肽之各種方法為此項技術中已知的。偵測劑之實例包括但不限於放射性同位素及放射性核種、染料(諸如用生物素-鏈黴抗生物素蛋白複合物)、對比劑、發光劑(例如異硫氰酸螢光素或FITC、若丹明(rhodamine)、鐳系磷光體、花青及近IR染料)及磁性劑(諸如釷螯合物)。

【0091】依本文所使用，術語「放射性核種」係指能夠進行放射性衰變之原子(例如 ^3H 、 ^{14}C 、 ^{15}N 、 ^{18}F 、 ^{35}S 、 ^{44}Sc 、 ^{47}Sc 、 ^{55}Co 、 ^{60}Cu 、 ^{61}Cu 、 ^{62}Cu 、 ^{64}Cu 、 ^{67}Cu 、 ^{75}Br 、 ^{76}Br 、 ^{77}Br 、 ^{89}Zr 、 ^{86}Y 、 ^{87}Y 、 ^{90}Y 、 ^{97}Ru 、 ^{99}Tc 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{105}Rh 、 ^{109}Pd 、 ^{111}In 、 ^{123}I 、 ^{124}I 、 ^{125}I 、 ^{131}I 、 ^{149}Pm 、 ^{149}Tb 、 ^{153}Sm 、 ^{166}Ho 、 ^{177}Lu 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{198}Au 、 ^{199}Au 、 ^{203}Pb 、 ^{211}At 、 ^{212}Pb 、 ^{212}Bi 、 ^{213}Bi 、 ^{223}Ra 、 ^{225}Ac 、 ^{227}Th 、 ^{229}Th 、 ^{66}Ga 、 ^{67}Ga 、 ^{68}Ga 、 ^{82}Rb 、 $^{117\text{m}}\text{Sn}$ 、 ^{201}Tl)。術語放射性核種(radioactive nuclide)、放射性同位素(radioisotope)或放射性同位素(radioactive isotope)亦可用於描述放射性核種(radionuclide)。如本文所描述，放射性核種可用作偵測劑。在一些實施例中，放射性核種可用作治療劑，例如 α 發射放射性核種。

【0092】依本文所使用，術語藥劑(例如前述結合物中之任一者)之「有效量」為足以實現有益或所需結果(諸如臨床結果)之量，且因此「有效量」視應用其之情形而定。例如，在治療性應用中，「有效量」可為足以治癒或至少部分遏制病症及其併發症之症狀，及/或實質上改善至少一種與疾病或醫學病狀相關之症狀的量。通常，在本發明之上下文中，「有效量」係本文所揭示之化合物(例如放射免疫結合物)的量，例如Ac-225-放射免疫結合物，其在其所投與之患者的一些部分中產生至少一些可量測

之治療反應或所需效果。例如，在癌症治療中，減少、預防、延遲、抑制或遏制疾病或病狀之任何症狀的藥劑或化合物將為治療上有效的。治療有效量之藥劑或化合物不需要治癒疾病或病狀，但可例如提供對疾病或病狀之治療，使得疾病或病狀之發作延遲、受阻或預防，使得疾病或病狀症狀得以改善，或使得疾病或病狀之時期有所改變。例如，疾病或病狀可能變得不太嚴重及/或個體之恢復加速。有效量可藉由投與單次劑量或多次(例如至少兩次、至少三次、至少四次、至少五次或至少六次)劑量來投與。

【0093】 依本文所使用，術語「免疫結合物」係指包括靶向部分之結合物，該靶向部分諸如抗體(或其抗原結合片段)、奈米抗體、親和抗體或來自纖維連接蛋白III型域之共有序列。在一些實施例中，免疫結合物包含每個靶向部分平均至少0.10個結合物(例如每個靶向部分平均至少0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1、2、3、4、5、6、7或8個結合物)。

【0094】 如本文所用，術語「放射性結合物」係指包括放射性同位素或放射性核種(諸如本文所描述之放射性同位素或放射性核種中之任一者)之任何結合物。

【0095】 依本文所使用，術語「放射免疫結合物」係指包括放射性同位素或放射性核種(諸如本文所描述之放射性同位素或放射性核種中之任一者)之任何免疫結合物。本發明中所提供之放射免疫結合物通常係指包含由放射性同位素或放射性核種形成之金屬錯合物的雙官能結合物。

【0096】 依本文所使用，術語「放射免疫療法」係指使用放射免疫結合物產生治療效果的方法。在一些實施例中，放射免疫療法可包括向有需要之個體投與放射免疫結合物，其中投與放射免疫結合物在個體中產生

治療效果。在一些實施例中，放射免疫療法可包括向細胞投與放射免疫結合物，其中投與放射免疫結合物殺死細胞。其中放射免疫療法涉及選擇性殺死細胞，在一些實施例中，該細胞為患有癌症之個體中的癌細胞。

【0097】 依本文所使用，術語「醫藥組合物」表示含有與醫藥學上可接受之賦形劑一起調配的本文所描述之放射免疫結合物的組合物。在一些實施例中，醫藥組合物係在政府監管機構之批准下製造或銷售，作為治療哺乳動物疾病之治療方案的一部分。醫藥組合物可經調配以例如用於以單位劑型(例如錠劑、膠囊、囊片、膠囊錠或糖漿)經口投與；用於局部投與(例如作為乳膏、凝膠、乳液或軟膏)；用於靜脈內投與(例如作為不含微粒栓塞之無菌溶液及適用於靜脈內使用之溶劑系統)；或呈本文所描述之任何其他調配物形式。

【0098】 依本文所使用，「醫藥學上可接受之賦形劑」係指除本文所描述之化合物以外的任何成分(例如能夠使活性化合物懸浮或溶解之媒劑)且具有在患者中無毒性及無發炎性之特性。賦形劑可包括例如：抗黏劑、抗氧化劑、黏合劑、包衣、壓製助劑、崩解劑、染料(著色)、潤滑劑、乳化劑、填充劑(稀釋劑)、成膜劑或包衣、調味劑、芳香劑、助滑劑(流動增強劑)、潤滑劑、防腐劑、印刷油墨、放射性保護劑、吸附劑、懸浮或分散劑、甜味劑或水合之水。例示性賦形劑包括但不限於：抗壞血酸、組胺酸、磷酸鹽緩衝液、丁基化羥基甲苯(BHT)、碳酸鈣、磷酸鈣(二元)、硬脂酸鈣、交聯羧甲纖維素、交聯聚乙炔吡咯啉酮、檸檬酸、交聯聚維酮、半胱胺酸、乙基纖維素、明膠、羥丙基纖維素、羥丙基甲基纖維素、乳糖、硬脂酸鎂、麥芽糖醇、甘露糖醇、甲硫胺酸、甲基纖維素、對羥基苯甲酸甲酯、微晶纖維素、聚乙二醇、聚乙炔吡咯啉酮、聚維酮、

預膠凝化澱粉、對羥基苯甲酸丙酯、棕櫚酸視黃酯、蟲膠、二氧化矽、羧甲基纖維素鈉、檸檬酸鈉、羥基乙酸澱粉鈉、山梨糖醇、澱粉(玉米)、硬脂酸、硬脂酸、蔗糖、滑石、二氧化鈦、維生素A、維生素E、維生素C及木糖醇。

【0099】 依本文所使用，術語「醫藥學上可接受之鹽」表示在合理醫學判斷之範疇內可用於與人類及動物之組織接觸而無異常毒性、刺激或過敏反應的本文所描述之化合物的彼等鹽。醫藥學上可接受之鹽在此項技術中為吾人所熟知。例如，醫藥學上可接受之鹽描述於：Berge等人, *J. Pharmaceutical Sciences* 66:1-19, 1977 及 *Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use*, (P.H. Stahl及C.G. Wermuth編), Wiley-VCH, 2008中。鹽可在本文所描述之化合物之最終分離及純化期間原位製備，或藉由使游離鹼基團與適合的有機酸反應而單獨製備。

【0100】 本發明化合物可具有可電離基團以使得能夠以醫藥學上可接受之鹽形式製備。此等鹽可為涉及無機或有機酸之酸加成鹽或在本發明之化合物之酸性形式的情況下，鹽可由無機或有機鹼製備。通常，化合物以製備為醫藥學上可接受之酸或鹼之加成產物的醫藥學上可接受之鹽形式製備或使用。適合的醫藥學上可接受之酸及鹼為此項技術中熟知的，諸如用於形成酸加成鹽之氫氯酸、硫酸、氫溴酸、乙酸、乳酸、檸檬酸或酒石酸，及用於形成鹼性鹽之氫氧化鉀、氫氧化鈉、氫氧化銨、咖啡鹼、各種胺。用於製備適合的鹽之方法為此項技術中公認的。

【0101】 代表性酸加成鹽包括乙酸鹽、己二酸鹽、海藻酸鹽、抗壞血酸鹽、天冬胺酸鹽、苯磺酸鹽、苯甲酸鹽、硫酸氫鹽、硼酸鹽、丁酸鹽、樟腦酸鹽、樟腦磺酸鹽、檸檬酸鹽、環戊烷丙酸鹽、二葡萄糖酸鹽、十

二烷基硫酸鹽、乙磺酸鹽、反丁烯二酸鹽、葡庚糖酸鹽、甘油磷酸鹽、半硫酸鹽、庚酸鹽、己酸鹽、氫溴酸鹽、鹽酸鹽、氫碘酸鹽、2-羥基-乙磺酸鹽、乳糖酸鹽、乳酸鹽、月桂酸鹽、月桂基硫酸鹽、蘋果酸鹽、順丁烯二酸鹽、丙二酸鹽、甲磺酸鹽、2-萘磺酸鹽、菸鹼酸鹽、硝酸鹽、油酸鹽、草酸鹽、棕櫚酸鹽、雙羥萘酸鹽、果膠酸鹽、過硫酸鹽、3-苯基丙酸鹽、磷酸鹽、苦味酸鹽、特戊酸鹽、丙酸鹽、硬脂酸鹽、丁二酸鹽、硫酸鹽、酒石酸鹽、硫氰酸鹽、甲苯磺酸鹽、十一烷酸鹽、戊酸鹽以及其他。代表性鹼金屬或鹼土金屬鹽包括鈉、鋰、鉀、鈣及鎂以及無毒性銨、四級銨及胺陽離子，包括但不限於銨、四甲銨、四乙銨、甲胺、二甲胺、三甲胺、三乙胺及乙胺。

【0102】 依本文所使用，術語「多肽」係指一串藉由肽鍵彼此連接之至少兩個胺基酸。在一些實施例中，多肽可包括至少3-5個胺基酸，其中之各者藉助於至少一個肽鍵連接至其他胺基酸。一般熟習此項技術者應瞭解多肽可包括一或多種「非天然」胺基酸或仍然能夠整合至多肽鏈中之其他實體。在一些實施例中，多肽可經糖基化，例如多肽可含有一或多個共價連接之糖部分。在一些實施例中，單一「多肽」(例如抗體多肽)可包含兩個或更多個個別多肽鏈，其可在一些情況下例如藉由一或多個雙硫鍵或其他方式彼此連接。

【0103】 「個體」意謂人類或非人類動物(例如哺乳動物)。

【0104】 「實質一致性」或「實質上一致」意謂當對兩個序列進行最佳比對時，多肽序列對應地具有與參考序列相同的多肽序列，或對應地具有指定百分比之在參考序列內之相應位置處相同的胺基酸殘基。例如，與參考序列「實質上一致」之胺基酸序列與參考胺基酸序列具有至少

50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致性。對於多肽，比較序列之長度一般應為至少5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、25、50、75、90、100、150、200、250、300或350個連續胺基酸(例如全長序列)。序列一致性可使用預設設定之序列分析軟體(例如Genetics Computer Group, University of Wisconsin Biotechnology Center, 1710 University Avenue, Madison, WI 53705之序列分析套裝軟體)來量測。此類軟體可藉由對各種取代、缺失及其他修飾指定同源性程度來匹配相似序列。

【0105】 依本文所使用，及如在此項技術中充分理解，「治療」病狀或病狀(例如本文所描述之病狀，諸如癌症)之「治療」為用於獲得有益或期望結果(諸如臨床結果)之方法。有益或期望結果可包括但不限於緩解或改善一或多種症狀或病狀；減輕疾病、病症或病狀之程度；使疾病、病症或病狀之狀態穩定(亦即不惡化)；預防疾病、病症或病狀之擴散；延遲或減緩疾病、病症或病狀之進展；改善或緩和疾病、病症或病狀；及緩解(無論部分或全部)，無論可偵測或不可偵測。「緩和」疾病、病症或病狀意謂相比於缺乏治療下的程度或時程而言疾病、病症或病狀之程度及/或不合需要的臨床表現減輕及/或進展之時程減緩或拉長。

【0106】 依本文所使用，除非另外具體說明，否則當參考定量值使用時，術語「約」或「大約」包括所敘述之定量值本身。依本文所使用，除非另外指明或自上下文推斷，否則術語「約」或「大約」係指相對於所敘述之定量值之 $\pm 10\%$ 的變化。

【0107】 依本文所使用，術語「靶向部分」係指能夠與給定目標結合之任何分子或分子之任何部分。術語「EGFR-cMET靶向部分」係指能

夠結合至EGFR及cMET兩者之靶向部分(例如抗體或其抗原結合片段)，例如抗EGFR-cMET抗體。

【0108】 依本文所使用，術語「片段」在用以指代EGFR或cMET片段時係指N端及/或C端截短之EGFR或cMET或其蛋白域。除非另外指出，否則根據本文所描述之實施例所使用之EGFR或cMET片段保留全長EGFR或cMET由如本發明中所描述之EGFR-cMET靶向部分識別及/或結合的能力。

【0109】 除非本文中另外指明或上下文中明顯矛盾，否則在描述本發明之上下文中(尤其在申請專利範圍之上下文中)使用術語「一(a)」及「一(an)」及「該」及類似指示應解釋為涵蓋單數及複數兩者。

【0110】 除非具體說明或自上下文顯而易見，否則依本文所使用，術語「或」應理解為包括性的且涵蓋「或」與「及」。

【0111】 本文所使用之術語「及/或」應視為指定特徵或組分中之各者在存在或不存在另一特徵或組分之情況下的特定揭示。

【0112】 除非另外指出，否則術語「包含」、「具有」、「包括」及「含有」應解釋為開放式術語(亦即，意謂「包括但不限於」)。術語「由……組成」被視為封閉式的。

【0113】 如本文所用，「抗體」係指多肽，其胺基酸序列包括特異性結合指定抗原或其片段的免疫球蛋白及其片段。根據本發明之抗體可屬於任何類型(例如IgA、IgD、IgE、IgG或IgM)或亞型(例如IgA1、IgA2、IgG1、IgG2、IgG3或IgG4)。一般熟習此項技術者應瞭解，抗體之特徵序列或部分可包括存在於抗體之一或多個區(例如可變區、高變區、恆定區、重鏈、輕鏈及其組合)中的胺基酸。此外，一般熟習此項技術者應瞭

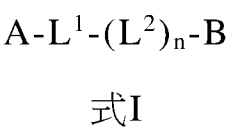
解，抗體之特徵序列或部分可包括一或多個多肽鏈，且可包括存在於同一多肽鏈中或不同多肽鏈中之序列要素。

【0114】 依本文所使用，「抗原結合片段」係指保留親本抗體之結合特徵之特異性的抗體之一部分。

【0115】 本發明之抗體或其抗原結合片段可經分離及/或實質上純化。

化合物，例如免疫結合物或放射免疫結合物

【0116】 在一個態樣中，本發明提供包含以下結構之化合物，例如免疫結合物或放射免疫結合物，或其醫藥學上可接受之鹽：



其中

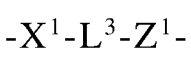
A為螯合部分或其金屬錯合物，

B為能夠結合至EGFR及cMET兩者之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段具有如本文所揭示之特徵；

L¹為鍵、C=O、C=S、視情況經取代之C₁-C₆烷基、視情況經取代之C₁-C₆雜烷基、視情況經取代之芳基或視情況經取代之雜芳基；

n為1與5之間的整數(含本數)；及

L²各自獨立地具有式II結構：



式II

其中

X¹為-C(O)NR¹-*、-NR¹C(O)-*、-C(S)NR¹-*、-NR¹C(S)-*、-

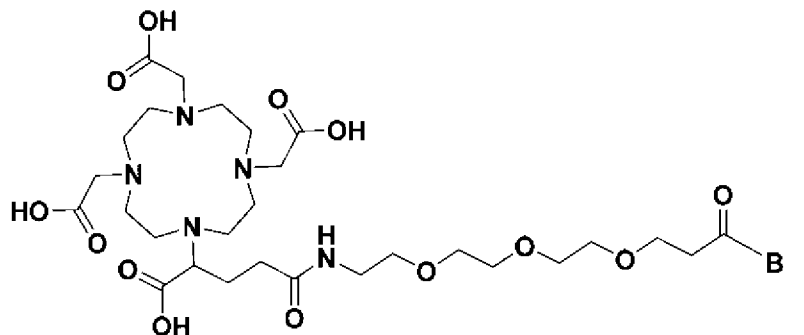
$\text{OC(O)NR}^1\text{-*}$ 、 $\text{-NR}^1\text{C(O)O-*}$ 、 $\text{-NR}^1\text{C(O)NR}^1\text{-*}$ 、 $\text{-CH}_2\text{-Ph-C(O)NR}^1\text{-*}$ 、 $\text{-NR}^1\text{C(O)-Ph-CH}_2\text{-*}$ 、 $\text{-CH}_2\text{-Ph-NH-C(S)NR}^1\text{-*}$ 、 $\text{-NR}^1\text{C(S)-NH-Ph-CH}_2\text{-*}$ 、 -O-* 或 $\text{-NR}^1\text{-*}$ ；其中「*」指示與 L^3 之連接點，且 R^1 為氫、視情況經取代之 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 烷基、視情況經取代之 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 雜烷基、或視情況經取代之芳基或雜芳基；

L^3 為視情況經取代之 $\text{C}_1\text{-C}_{50}$ 烷基或視情況經取代之 $\text{C}_1\text{-C}_{50}$ 雜烷基；及

Z^1 為 $\text{-CH}_2\text{-#}$ 、 -C(O)-# 、 -C(S)-# 、 -OC(O)-# 、 -C(O)O-# 、 $\text{-NR}^2\text{C(O)-#}$ 、 $\text{-C(O)NR}^2\text{-#}$ 或 $\text{-NR}^2\text{-#}$ ，其中「#」指示與 B 之連接點，且 R^2 為氫、視情況經取代之 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 烷基、視情況經取代之 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 雜烷基、視情況經取代之芳基或視情況經取代之雜芳基。

【0117】 烷基、雜烷基、芳基或雜芳基之典型取代基包括但不限於鹵基(例如， F 、 Cl 、 Br 、 I)、 OH 、 CN 、硝基、胺基、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{3-8} 環烷基、 C_{1-6} 雜烷基、 C_{1-6} 雜環烷基、鹵烷基(例如， CF_3)、烷氧基(例如， OCH_3)、烷基胺基(例如， NH_2CH_3)、磺醯基、芳基及雜芳基。

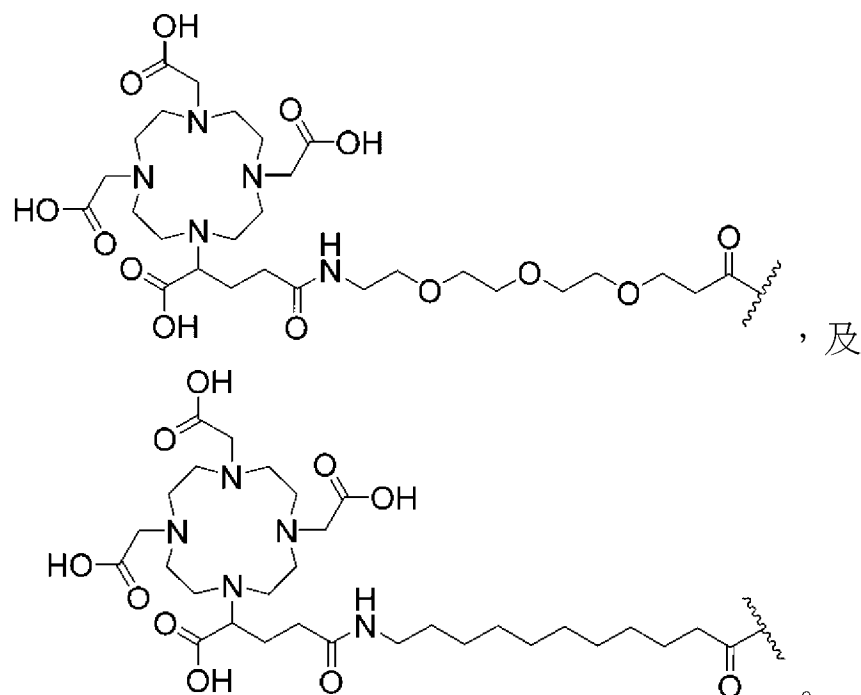
【0118】 在一些實施例中，化合物(例如免疫結合物或放射免疫結合物)具有或包含下文所示之結構，或其金屬錯合物：



其中 B 為如本文所揭示之 EGFR-cMET 抗體或其抗原結合片段。

【0119】 在一些實施例中，式I化合物包括以下結構中之一者，或其

金屬錯合物：



【0120】 在一些實施例中，所提供之化合物(例如免疫結合物或放射免疫結合物)能夠以至多約25 nM、至多約20 nM、至多約15 nM、至多約12.5 nM、至多約10 nM、至多約7.5 nM、至多約7 nM、至多約6.5 nM、至多約6 nM、至多約5 nM、至多約4 nM、至多約3.5 nM、至多約3 nM或至多約2.5 nM之Kd值結合至具有不同表現量之EGFR及cMET的不同細胞株。在一些實施例中，所提供之化合物(例如免疫結合物或放射免疫結合物)能夠以約15 nM、約12.5 nM、約10 nM、約7.5 nM、約7 nM、約6.5 nM、約6 nM、約5 nM、約4 nM、約3.5 nM、約3 nM或約2.5 nM之Kd值結合至具有不同表現量之EGFR及cMET的不同細胞株。

【0121】 在一些實施例中，如本文進一步描述，化合物(例如，免疫結合物或放射免疫結合物)包含螯合部分或其金屬錯合物，該金屬錯合物可包含放射性核種。在一些此類化合物中，螯合部分與EGFR-cMET靶向部分(例如，EGFR-cMET抗體)之平均比率或中值比率為八或更小、七或

更小、六或更小、五或更小、四或更小、三或更小、二或更小、或約一。
在一些化合物中，螯合部分與EGFR-cMET靶向部分(例如，EGFR-cMET
抗體)之平均比率或中值比率為約一。

【0122】 在一些實施例中，在向哺乳動物投與放射免疫結合物之後，由腸道途徑、腎臟途徑或兩種途徑排出的放射物質之比例(所投與之放射物質總量之比例)大於由已投與參考放射免疫結合物之類似哺乳動物排出的放射物質之比例。「參考免疫結合物」意謂已知放射免疫結合物，其與本文所描述之放射免疫結合物之差異至少為：(1)具有不同連接基團；(2)具有不同尺寸之靶向部分；及/或(3)不含靶向部分。在一些實施例中，參考放射免疫結合物係選自由以下組成之群： $[^{90}\text{Y}]$ -替伊莫單抗(ibrutumomab tiuxetan) (Zevalin (^{90}Y))及 $[^{111}\text{In}]$ -替伊莫單抗(Zevalin (^{111}In))。

【0123】 在一些實施例中，給定途徑或途徑集合排出的放射物質之比例比由已投與參考放射免疫結合物之類似哺乳動物藉由相同途徑排出的放射物質之比例高至少10%、至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少35%、至少40%、至少45%、至少50%、至少55%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%或至少95%。在一些實施例中，所排出放射物質之比例比由已投與參考放射免疫結合物之類似哺乳動物排出的放射物質之比例高至少1.5倍、至少2倍、至少2.5倍、至少3倍、至少3.5倍、至少4倍、至少4.5倍、至少5倍、至少6倍、至少7倍、至少8倍、至少9倍或至少10倍。排出程度可藉由此項技術中已知的方法量測，例如藉由量測尿液及/或糞便中之放射性及/或藉由量測一段時間內之全身放射性。亦參見例如國際專利公開案WO

2018/024869。

【0124】 在一些實施例中，排出程度係在投與後至少或約12小時、投與後至少或約24小時、投與後至少或約2天、投與後至少或約3天、投與後至少或約4天、投與後至少或約5天、投與後至少或約6天或投與後至少或約7天之時間段量測。

【0125】 在一些實施例中，在已向哺乳動物投與化合物(例如，免疫結合物或放射免疫結合物)後，相比於參考化合物(例如，參考結合物，例如參考免疫結合物，諸如參考放射免疫結合物)，該化合物(例如，免疫結合物或放射免疫結合物)表現出降低之脫靶結合效應(例如，毒性)。在一些實施例中，此降低之脫靶結合效應為如本文所描述亦展現較高排出速率之化合物(例如，免疫結合物或放射免疫結合物)之特徵。

靶向部分

【0126】 靶向部分包括能夠結合(例如能夠特異性結合、特異性結合至等)至給定目標，例如EGFR或cMET或EGFR-cMET之任何分子或分子之任何部分。在一些實施例中，靶向部分包含蛋白或多肽。在一些實施例中，靶向部分係選自由以下組成之群：抗體或其抗原結合片段、奈米抗體、親和抗體及來自纖維連接蛋白III型域(例如，辛替恩(Centyrin)或阿德奈汀(Adnectin))之共有序列。在一些實施例中，部分為靶向部分及治療部分兩者，亦即該部分能夠與給定目標結合且亦賦予治療益處。

【0127】 在一些實施例中，靶向部分具有至少50 kDa、至少75 kDa、至少100 kDa、至少125 kDa、至少150 kDa、至少175 kDa、至少200 kDa、至少225 kDa、至少250 kDa、至少275 kDa或至少300 kDa之分子量。

【0128】 在一些實施例中，靶向部分能夠特異性結合且抑制EGFR及cMET兩者。「抑制」意謂靶向部分至少部分抑制EGFR、cMET或兩者之一或多個功能。在一些實施例中，靶向部分削弱EGFR、cMET或兩者之下游信號傳導，例如使得抑制具有不同EGFR及cMET表現量之腫瘤細胞的生長。

目標

EGFR

【0129】 人類EGFR (亦稱為原癌基因c-ErbB-1，受體酪胺酸-蛋白激酶erbB-1及EC 2.7.10.1)為藉由UniProt P00533鑑別之蛋白。由人類EGFR基因(亦稱為ERBB、ERBB1及HER1)編碼之mRNA之替代性拼接產生四種同功異型物：同功異型物1 (UniProt: P00533-1，v2 (最後一次序列更新：1997年11月1日))；同功異型物2 (UniProt: P00533-2，v1)，其包含相對於同功異型物1之F404L及L405S取代，且缺少對應於同功異型物1之位置406至1210的胺基酸序列；同功異型物3 (UniProt: P00533-3，v1)，其包含同功異型物1之位置628至705的取代，且缺少對應於同功異型物1之位置706至1210的胺基酸序列；及同功異型物4 (UniProt: P00533-4)，其包含相對於同功異型物1之C628S取代，且缺少對應於同功異型物1之位置629至1210的胺基酸序列。

【0130】 EGFR之結構及功能在例如Ferguson, Annu Rev Biophys. (2008) 37: 353-373中進行綜述。EGFR為跨膜蛋白，其為表皮生長因子家族(EGF家族)之成員的受體。該受體包含較大細胞外區域、單個跨膜域、細胞內近膜域、酪胺酸激酶域及C端調節區。EGFR與配位體之結合在EGFR之C端調節區中誘發若干酪胺酸殘基(Y992、Y1045、Y1068、

Y1148及Y1173)之受體二聚化及自磷酸化。

【0131】 異常EGFR表現/活性涉及許多疾病，包括神經系統病症及許多癌症。

【0132】 在本說明書中，「EGFR」係指來自任何物種之EGFR且包括來自任何物種之EGFR同功異型物、片段、變異體或同源物。

cMet

【0133】 人類cMET (亦稱為肝細胞生長因子受體(HGFR)或酪胺酸-蛋白激酶Met)係藉由UniProt P08581鑑別之蛋白。由人類MET基因編碼之mRNA的替代性拼接產生三種同功異型物：同功異型物1 (UniProt: P08581-1, v4(最後一次序列更新：2009年7月7日)；同功異型物2 (UniProt: P08581-2)，其中胺基酸序列「STWWKEPLNIVSFLFCFAS」插入同功異型物1之位置755處；及同功異型物3 (UniProt: P08581-3)亦稱為Soluble met變異體4，其中對應於同功異型物1之位置755至764的胺基酸序列經「RHVNIALIQR」取代，且其進一步缺少對應於同功異型物1之位置765至1390的胺基酸序列。

【0134】 cMET之結構綜述於例如Gherardi, 2003中，該文獻以全文引用之方式併入本文中。cMET係由 α 鏈(50 kDa)及 β 鏈(145 kDa)經二硫鍵連接構成的雜二聚體。cMET包含N端Sema域，其介導與肝細胞生長因子(HGF)及細胞內激酶域之結合。細胞表面之配位體結合誘導cMET在其細胞內域上之自磷酸化，該細胞內域為下游信號傳導分子及若干信號傳導級聯之激活提供對接位點。

【0135】 cMET表現於上皮細胞表面之正常組織中。在許多人類腫瘤及癌症中觀察到cMET過度表現，其通常與轉移性表現型及不良預後相

關。已觀察到高水平cMET表現之癌症的實例包括非小細胞肺癌、胰臟癌、大腸直腸癌、頭頸部鱗狀細胞癌、乳癌及食道-胃癌。在此等癌症中，通常觀測到EGFR及cMET之共表現。

抗體或其抗原結合片段

【0136】術語「抗體」描述天然或部分或完全以合成方式產生之免疫球蛋白。抗體可為人類或人源化。抗體較佳係單株抗體。抗體之實例為免疫球蛋白同型，諸如免疫球蛋白G (IgG)及其同型子類，諸如IgG1、IgG2、IgG3及IgG4，以及其片段。

【0137】依本文所使用，術語「抗體」因此包括抗體片段，只要其顯示結合至相關目標分子即可。抗體片段之實例包括Fv、scFv、Fab、scFab、F(ab')₂、Fab₂、雙功能抗體、三功能抗體、scFv-Fc、微型抗體及單域抗體(例如，VhH)等。除非本文另有規定，否則依本文所使用，術語「抗體」因此等效於「抗體或其片段」。

【0138】抗體及其構築及使用方法為此項技術中熟知的且描述於例如Holliger及Hudson, Nature Biotechnology 23(9):1126-1136 (2005)中。有可能獲得單株及其他抗體且使用重組DNA技術之技術以產生其他保留原始抗體之特異性的抗體或嵌合分子。此類技術可涉及將一種抗體之CDR或可變區引入不同抗體中 (EP-A-184187、GB 2188638A 及 EP-A-239400)。

【0139】鑒於現今關於單株抗體之技術，可製備用於大部分抗原之抗體。抗原結合域可為抗體(例如，Fab片段)或合成抗體片段(例如，單鏈Fv片段(ScFv))之一部分。針對所選抗原之適合單株抗體可藉由已知技術，例如「Monoclonal Antibodies: A manual of techniques」，H Zola

(CRC Press, 1988)及「Monoclonal Hybridoma Antibodies: Techniques and Applications」, J G R Hurrell (CRC Press, 1982)中所揭露之技術製備。嵌合抗體由Neuberger, 1988論述。

【0140】根據本發明之抗體包含抗原結合域。「抗原結合域」描述結合至目標抗原之全部或部分的分子之一部分。當抗原較大時，抗體可僅與抗原之特定部分結合，該部分稱為抗原決定基。抗體抗原結合位點可由一或多個抗體可變域提供。抗體抗原結合位點較佳包含輕鏈可變(VL)區及重鏈可變(VH)區。抗原結合域之VH及VL區一起構成Fv區。

【0141】抗原結合域通常包含六個互補決定區(CDR)；三個在VH區中：HCDR1、HCDR2及HCDR3，且三個在VL區中：LCDR1、LCDR2及LCDR3。六個CDR共同定義抗原結合域之互補位，其為結合至目標抗原之抗原結合域的一部分。

【0142】VH區及VL區在各CDR之任一側包含構架區(FR)，其向CDR提供架構。自N端至C端，VH區包含以下結構：N端-[HFR1]-[HCDR1]-[HFR2]-[HCDR2]-[HFR3]-[HCDR3]-[HFR4]-C端；且VL區包含以下結構：N端-[LFR1]-[LCDR1]-[LFR2]-[LCDR2]-[LFR3]-[LCDR3]-[LFR4]-C端。

【0143】存在定義抗體CDR及FR之數種不同約定，諸如Kabat, 1991, Chothia, 1987中所描述之彼等，LeFranc, 2015中所描述之IMGT編號，及Retter, 2005中所描述之VBASE2。本文所描述之抗體之VH區及VL區的CDR及FR係根據Kabat (Kabat, 1991)定義。

【0144】包含至少兩個抗原結合域(其中之各者能夠結合至不同目標)之抗體可稱為「雙特異性抗體」。相比之下，僅結合單一目標(例如

EGFR或cMET)之抗體稱為「單特異性抗體」。本發明提供化合物(例如放射免疫結合物)，其包含雙特異性抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段包含能夠結合EGFR之第一抗原結合域及能夠結合cMET之第二抗原結合域。

抗EGFR抗原結合域

【0145】 能夠結合EGFR之抗原結合域包含能夠結合至EGFR之抗體的CDR。在一些實施例中，能夠結合EGFR之抗原結合域另外包含能夠結合至EGFR之抗體的FR。亦即，在一些實施例中，能夠結合EGFR之抗原結合域包含能夠結合至EGFR之抗體的VH區及VL區。

【0146】 在一些實施例中，能夠結合EGFR之抗原結合域包含VH區及VL區，其為或衍生自結合EGFR之抗體殖株RAA22之VH/VL區。

【0147】 在一些實施例中，能夠結合EGFR之抗原結合域包含抗EGFR抗體殖株RAA22之三個HCDR或三個LCDR，較佳三個VH CDR及三個VL CDR。抗體RAA22之VH及VL域序列描述於本文中，且該抗體之三個VH及三個VL域CDR可因此由該等序列確定。

【0148】 在一些實施例中，能夠結合EGFR之抗原結合域包含根據(1)之VH區：

(1)包含以下CDR之VH區：

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 1之HCDR1

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 2之HCDR2

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 3之HCDR3。

【0149】 在一些實施例中，能夠結合EGFR之抗原結合域包含根據(1)之VH區，其中該VH區另外包含根據以下(2)之FR：

(2) 具有胺基酸序列SEQ ID NO: 7之HFR1

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 8之HFR2

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 9之HFR3

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 10之HFR4，

或其變異體，其中一或多種HFR1、HFR2、HFR3或HFR4中之一或兩個或三個胺基酸經其他胺基酸取代。

【0150】 在一些實施例中，能夠結合EGFR之抗原結合域包含根據以下(3)之VH區：

(3)包含根據(1)之CDR及根據(2)之FR的VH區。

【0151】 在一些實施例中，能夠結合EGFR之抗原結合域包含根據(4)之VH區：

(4)包含與SEQ ID NO: 15之胺基酸序列具有至少70%序列一致性、更佳至少75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性中之一者之胺基酸序列的VH區。

【0152】 在一些實施例中，能夠結合EGFR之抗原結合域包含根據以下(5)之VL區：

(5)包含以下CDR之VL區：

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 4之LCDR1

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 5之LCDR2

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 6之LCDR3。

【0153】 在一些實施例中，能夠結合EGFR之抗原結合域包含根據以上(5)之VL區，其中VL區另外包含根據以下(6)之FR：

(6) 具有胺基酸序列SEQ ID NO: 11之LFR1

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 12之LFR2

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 13之LFR3

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 14之LFR4，

或其變異體，其中一或多種LFR1、LFR2、LFR3或LFR4中之一或兩個或三個胺基酸經另一胺基酸取代。

【0154】 在一些實施例中，能夠結合EGFR之抗原結合域包含VL區，該VL區包含根據以上(5)之CDR，及根據以上(6)之FR。

【0155】 在一些實施例中，能夠結合EGFR之抗原結合域包含根據以下(7)之VL區：

(7)包含與SEQ ID NO: 16之胺基酸序列具有至少70%序列一致性、更佳至少75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性中之一者之胺基酸序列的VL區。

【0156】 在一些實施例中，能夠結合EGFR之抗原結合域包含根據以上(1)至(4)中任一項之VH區及根據以上(5)至(7)中任一項之VL區。在一些實施例中，抗原結合域包含根據(1)、(3)及(4)中任一項之VH區及根據(5)及(7)中任一項之VL區。

抗cMET抗原結合域

【0157】 能夠結合cMET之抗原結合域包含能夠結合至cMET之抗體的CDR。在一些實施例中，能夠結合cMET之抗原結合域另外包含能夠結合至cMET之抗體的FR。亦即，在一些實施例中，能夠結合cMET之抗原結合域包含能夠結合至cMET之抗體的VH區及VL區。

【0158】 在一些實施例中，能夠結合cMET之抗原結合域包含VH區及VL區，其為或衍生自本文所描述之結合cMET之抗體殖株(亦即，抗cMET抗體殖株B09-GL)的VH/VL區。

【0159】 在一些實施例中，能夠結合cMET之抗原結合域包含結合cMET之抗體殖株B09-GL的三個HCDR或三個LCDR，較佳三個VH CDR及三個VL CDR。本文描述之抗體B09-GL的VH及VL域序列，及該等抗體之三個VH及三個VL域CDR可因此由該等序列確定。

【0160】 在一些實施例中，能夠結合cMET之抗原結合域包含根據以下(8)之VH區：

(8)包含以下CDR之VH區：

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 17之HCDR1

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 18之HCDR2

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 19之HCDR3。

【0161】 在一些實施例中，能夠結合cMET之抗原結合域包含根據以上(8)之VH區，其中該VH區另外包含根據以下(9)之FR：

(9) 具有胺基酸序列SEQ ID NO: 23之HFR1

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 24之HFR2

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 25之HFR3

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 26之HFR4，

或其變異體，其中一或多種HFR1、HFR2、HFR3或HFR4中之一或兩個或三個胺基酸經其他胺基酸取代。

【0162】 在一些實施例中，能夠結合cMET之抗原結合域包含根據以下(10)之VH：

(10)包含根據(8)之CDR及根據(9)之FR的VH區。

【0163】 在一些實施例中，能夠結合cMET之抗原結合域包含根據以下(11)之VH區：

(11)包含與SEQ ID NO: 31之胺基酸序列具有至少70%序列一致性、更佳至少75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性中之一者之胺基酸序列的VH區。

【0164】 在一些實施例中，能夠結合cMET之抗原結合域包含根據以下(12)之VL區：

(12)包含以下CDR之VL區：

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 20之LCDR1

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 21之LCDR2

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 22之LCDR3。

【0165】 在一些實施例中，能夠結合cMET之抗原結合域包含根據以上(12)之VL區，其中VL區另外包含根據以下(13)之FR：

(13) 具有胺基酸序列SEQ ID NO: 27之LFR1

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 28之LFR2

胺基酸序列為SEQ ID NO: 29之LFR3

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 30之LFR4，

或其變異體，其中一或多種LFR1、LFR2、LFR3或LFR4中之一或兩個或三個胺基酸經另一胺基酸取代。

【0166】 在一些實施例中，能夠結合cMET之抗原結合域包含根據以下(14)之VL區：

(14)包含根據(12)之CDR及根據(13)之FR的VL區。

【0167】 在一些實施例中，能夠結合cMET之抗原結合域包含根據以下(15)之VL區：

(15)包含與SEQ ID NO: 32之胺基酸序列具有至少70%序列一致性，更佳至少75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性中之一者之胺基酸序列的VL區。

【0168】 在一些實施例中，能夠結合cMET之抗原結合域包含根據以上(8)至(11)中任一項之VH區及根據以上(12)至(15)中任一項之VL區。

雙特異性抗體之抗原結合域

【0169】 本發明提供包含與放射性有效負載結合之抗體(亦即雙特異性抗體)或其抗原結合片段的化合物(例如放射免疫結合物)，其中放射免疫結合物之抗體或其抗原結合片段包含：第一抗原結合域，其包含能夠結合至EGFR之抗原結合域之CDR；及第二抗原結合域，其包含能夠結合至cMET之抗原結合域之CDR。在一些實施例中，第一抗原結合域包含能夠結合至EGFR之抗原結合域的CDR及FR，且第二抗原結合域包含能夠結合至cMET之抗原結合域的CDR及FR。亦即，在一些實施例中，化合物(例如放射免疫結合物)之抗體或抗原結合片段包含：第一抗原結合域，其包含能夠結合至EGFR之抗原結合域的VH區及VL區；及第二抗原結合域，其包含能夠結合至cMET之抗原結合域的VH區及VL區。

【0170】 在一些實施例中，能夠結合EGFR之第一抗原結合域包含VH區及VL區，其為或衍生自結合EGFR之抗體殖株RAA22之VH/VL區，且能夠結合cMET之第二抗原結合域包含VH區及VL區，其為或衍生自結

合cMET之抗體殖株B09-GL之VH/VL區。此類雙特異性抗體可稱為「RAA22/B09」或「RAA22/B09雙特異性抗體」。

【0171】 在一些實施例中，第一抗原結合域包含：

根據上述(1)至(4)中任一項之VH區及根據上述(5)至(7)中任一項之VL區；及

該第二抗原結合域包含：

根據上述(8)至(11)中任一項之VH區及根據上述(12)至(15)中任一項之VL區。

【0172】 在某些實施例中，本發明之化合物(例如放射免疫結合物)包含抗體或其抗原結合片段，其包含：

能夠結合表皮生長因子受體(EGFR)之第一抗原結合域；及

能夠結合cMET之第二抗原結合域，

其中該第一抗原結合域包含：

(i)包含以下互補決定區(CDR)之重鏈可變(VH)區：

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 1之HCDR1

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 2之HCDR2

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 3之HCDR3；及

(ii)包含以下CDR之輕鏈可變(VL)區：

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 4之LCDR1

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 5之LCDR2

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 6之LCDR3。

【0173】 在某些實施例中，第一抗原結合域包含：

包含與SEQ ID NO: 15之胺基酸序列具有至少70%序列一致性之胺基

酸序列的VH區；及

包含與SEQ ID NO: 16之胺基酸序列具有至少70%序列一致性之胺基酸序列的VL區，

及/或第二抗原結合域包含：

包含與SEQ ID NO: 31之胺基酸序列具有至少70%序列一致性之胺基酸序列的VH區；及

包含與SEQ ID NO: 32之胺基酸序列具有至少70%序列一致性之胺基酸序列的VL區。

恆定區

【0174】 在一些實施例中，本文所描述之化合物(例如放射免疫結合物)之抗體或其抗原結合片段包含免疫球蛋白重鏈恆定(CH)區。在一些實施例中，CH為或衍生自IgG (例如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4)、IgA (例如IgA1、IgA2)、IgD、IgE或IgM之重鏈恆定序列。

【0175】 在一些實施例中，CH區為人類免疫球蛋白G1恆定區(IGHG1；UniProt: P01857-1, v1；SEQ ID NO: 33)或其片段。

【0176】 在一些實施例中，CH區包含與SEQ ID NO: 39或40之胺基酸序列具有至少70%序列一致性，更佳至少75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性中之一者的胺基酸序列。

【0177】 在一些實施例中，化合物之抗體或其抗原結合片段(例如放射免疫結合物)包含重鏈，該重鏈包含如本文所描述之VH區及如本文所描述之CH區或由其組成。

【0178】 在一些實施例中，本文所描述之化合物(例如放射免疫結合

物)之抗體或其抗原結合片段包含免疫球蛋白輕鏈恆定(CL)區或其片段。在一些實施例中，CL區為或衍生自SEQ ID NO: 34中所示之 κ CL區。在一些實施例中，CL區為或衍生自SEQ ID NO: 41中所示之 λ CL區。在一些實施例中，化合物之抗體或其抗原結合片段(例如放射免疫結合物)包含：第一CL區，其為或衍生自SEQ ID NO: 34中所示之 κ CL區；及第二CL區，其為或衍生自SEQ ID NO: 41中所示之 λ CL區。

【0179】 在一些實施例中，本文所描述之化合物(例如放射免疫結合物)之抗體或其抗原結合片段包含：

第一重鏈，其中該第一重鏈包含該第一抗原結合域之VH區及第一重鏈恆定(CH)區或其片段；

第一輕鏈，其中該第一輕鏈包含該第一抗原結合域之VL區，及第一輕鏈恆定(CL)區或其片段；

第二重鏈，其中該第二重鏈包含該第二抗原結合域之VH區及第二重鏈恆定(CH)區或其片段；及

第二輕鏈，其中該第二輕鏈包含該第二抗原結合域之VL區，及第二輕鏈恆定(CL)區或其片段。

【0180】 應理解，當抗體或其抗原結合片段包含第一VH區及第一CH區時，此等區一起形成抗體或其抗原結合片段之第一重鏈，亦即，第一VH區及第一CH區彼此連接。類似地，第二VH區及第二CH區形成抗體或其抗原結合片段之第二重鏈；第一VL區及第一CL區形成抗體或其抗原結合片段之第一輕鏈；且第二VL區及第二CL區形成抗體或其抗原結合片段之第二輕鏈。

【0181】 在一些實施例中，化合物(例如放射免疫結合物)之抗體或

其抗原結合片段包含第一重鏈及第二重鏈，其中

(i)該第一重鏈包含與SEQ ID NO: 35中所示之重鏈之胺基酸序列具有至少70%序列一致性、更佳至少75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性中之一者的胺基酸序列；及

(ii)該第二重鏈包含與SEQ ID NO: 36中所示之重鏈之胺基酸序列具有至少70%序列一致性、更佳至少75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性中之一者的胺基酸序列。

【0182】 在一些實施例中，本文所描述之化合物(例如放射免疫結合物)之抗體或其抗原結合片段包含輕鏈，該輕鏈包含如本文所描述之VL區及如本文所描述之CL區或由其組成。

【0183】 在一些實施例中，本文所描述之化合物(例如放射免疫結合物)之抗體或其抗原結合片段包含第一及第二輕鏈，其中

(i) 該第一輕鏈包含與SEQ ID NO: 37中所示之輕鏈之胺基酸序列具有至少70%序列一致性、更佳至少75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性中之一者的胺基酸序列；及

(ii)該第二輕鏈包含與SEQ ID NO: 38中所示之輕鏈之胺基酸序列具有至少70%序列一致性、更佳至少75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性中之一者的胺基酸序列。

【0184】 本文所描述之化合物(例如放射免疫結合物)之抗體或其抗

原結合片段的CH、CL、重鏈及/或輕鏈可包含一或多種修飾，例如以消除或減少Fc效應功能、促進雜二聚體抗體或其抗原結合片段形成、以增加同源重鏈及輕鏈配對之功效及/或有助於如下文更詳細地描述之結合物形成。已經修飾之CH、CL、重鏈及輕鏈可分別稱為經修飾之CH、CL、重鏈及輕鏈。

【0185】 化合物(例如放射免疫結合物)之抗體或其抗原結合片段可包含重鏈之CH區中之突變以減少或消除抗體或其抗原結合片段與一或多種Fc γ 受體(諸如Fc γ RI、Fc γ RIIa、Fc γ RIIb、Fc γ RIII及/或補體)之結合。此類突變消除或減少Fc效應功能。減少或消除抗體與一或多種Fc γ 受體及補體之結合的突變已為吾人所知，且該等突變包括例如Organesyan, 2008中所描述之L234F/L235E/P331S之「三重突變」或「TM」。已知調節抗體效應功能之其他突變描述於例如Wang, 2018中。

【0186】 包含三重突變之CH區的實例為SEQ ID NO: 39及SEQ ID NO: 40。因此，在一些實施例中，第一及第二重鏈中之一者包含具有與SEQ ID NO: 39中所示之序列具有至少70%、至少80%、至少90%、至少95%或100%序列一致性之胺基酸序列的CH區且另一重鏈包含具有與SEQ ID NO: 40中所示之序列具有至少70%、至少80%、至少90%、至少95%或100%序列一致性之胺基酸序列的CH區，其中該等CH區中之一或兩者(較佳兩者)包含位置234處之苯丙胺酸、位置235處之麩胺酸及位置331處之絲胺酸，其中該等編號係根據EU索引。

【0187】 包含含有三重突變之CH區的本發明之重鏈的實例為SEQ ID NO: 35及SEQ ID NO: 36。因此，在一些實施例中，第一及第二重鏈中之一者具有與SEQ ID NO: 35中所示之序列具有至少70%、至少80%、

至少90%、至少95%或100%序列一致性之胺基酸序列，且另一重鏈具有與SEQ ID NO: 36中所示之序列具有至少70%、至少80%、至少90%、至少95%或100%序列一致性之胺基酸序列，其中該等具有鏈中之一或兩者(較佳兩者)包含位置234處之苯丙胺酸、位置235處之麩胺酸及位置331處之絲胺酸，其中該等編號係根據EU索引。

【0188】 化合物(例如放射免疫結合物)之抗體或其抗原結合片段的VL及CL區及VH區及CH1區一起構成Fab區。化合物(例如放射免疫結合物)之抗體或其抗原結合片段之其餘部分構成Fc區。

【0189】 除非另外規定，否則恆定域中之胺基酸殘基位置，包括如本文所描述之胺基酸序列、取代、缺失及插入之位置，係根據EU編號(Edelman, 2007)進行編號。

雙特異性格式

【0190】 本發明提供本文所揭示之化合物(例如放射免疫結合物)內的不對稱IgG樣雙特異性抗體或其抗原結合片段。不對稱雙特異性分子對各目標通常為單價。如例如Klein, 2012中所描述，認為單價雙特異性IgG之概念具有獨特治療棲位，因為其(i)不引起受體均二聚化，(ii)由於對各抗原之親合力喪失而對非目標組織之毒性可能降低，及(iii)當兩種抗原選擇性受限或大量表現於目標細胞上時具有較佳選擇性。因此，在一些實施例中，抗體或其抗原結合片段係不對稱IgG樣雙特異性抗體或其抗原結合片段。

【0191】 不對稱IgG樣雙特異性抗體涉及兩個不同重鏈之雜二聚化及同源輕鏈及重鏈之正確配對。重鏈之雜二聚化可藉由若干技術解決，諸如杵臼、CH3之靜電轉向、CH3股之交換工程域及白胺酸拉鏈。可藉由使

用此等重鏈雜二聚化技術中之一者以及使用共同輕鏈、CH1與CL之間的域交叉、重鏈及輕鏈與連接基團之偶合、自兩個單獨單株抗體之重鏈及輕鏈之活體外組裝、整個Fab域之界面工程或CH1/CL界面之二硫化物工程來確保正確輕鏈及重鏈之配對。

【0192】不對稱IgG樣雙特異性抗體之特定例示性形式稱為「DuetMab」。DuetMab抗體使用KIH技術進行2條不同重鏈之雜二聚化，且藉由用工程二硫鍵置換CH1-CL界面中之一者的原生二硫鍵來增加同源重鏈及輕鏈配對之功效。與DuetMab有關之發明可發現於例如美國專利第9,527,927號及Mazor, 2015中，其以全文引用之方式併入本文中。

【0193】在一些實施例中，化合物(例如放射免疫結合物)之抗體或其抗原結合片段包含：

(a) 經修飾之CH區，其中經修飾之重鏈包含原生非半胱胺酸胺基酸至半胱胺酸胺基酸之取代；及

(b) 經修飾之相應CL區，其中該經修飾之CL區包含原生非半胱胺酸胺基酸至半胱胺酸胺基酸之取代，

其中，以下中之任一者：

(i) 該第一重鏈包含該經修飾之CH區且該第一輕鏈包含該經修飾之相應CL區；或

(ii) 該第二重鏈包含該經修飾之CH區且該第二輕鏈包含該經修飾之相應CL區。

【0194】在一些實施例中，由原生非半胱胺酸胺基酸取代半胱胺酸胺基酸產生之經修飾CH區的經取代半胱胺酸及由原生非半胱胺酸胺基酸取代半胱胺酸胺基酸產生之經修飾相應CL區的經取代半胱胺酸可形成二

硫鍵。

【0195】 在一些實施例中，經修飾之CH區包含在位置126處原生非半胱胺酸胺基酸至半胱胺酸胺基酸之取代；且經修飾之相應CL區包含在位置121處原生非半胱胺酸胺基酸至半胱胺酸之取代，其中該恆定區之編號係根據EU索引。

【0196】 在一些實施例中，經修飾CH區包含在位置126處原生非半胱胺酸胺基酸至半胱胺酸胺基酸之取代及在位置219處原生半胱胺酸胺基酸至非半胱胺酸胺基酸之取代，例如取代為纈胺酸；且經修飾之相應CL區包含在位置121處原生非半胱胺酸胺基酸至半胱胺酸之取代及在位置214處原生半胱胺酸胺基酸至非半胱胺酸胺基酸之取代，例如取代為纈胺酸，其中恆定區之編號係根據EU索引。

【0197】 在一些實施例中，抗體或其抗原結合片段包含第二CH區及第二對應輕鏈，其中第二CH區及第二對應CL不包含原生非半胱胺酸胺基酸至半胱胺酸胺基酸之取代且不包含原生半胱胺酸至非半胱胺酸胺基酸之取代。

*化合物(例如放射免疫結合物)之抗體或其抗原結合片段的功能特性
結合親和力*

【0198】 本文所描述之放射免疫結合物的抗體或其抗原結合片段之特徵可為能夠結合EGFR之抗原結合域對EGFR具有特定親和力及/或能夠結合cMET之抗原結合域對cMET具有特定親和力。例如，化合物(例如放射免疫結合物)之抗體或其抗原結合片段對同源抗原(諸如人類、小鼠或食蟹獼猴EGFR或cMET)之結合親和力可藉由表面電漿子共振(SPR)，使用Biacore測定。結合親和力可使用抗體或其抗原結合片段，例如作為包含

能夠結合EGFR之第一抗原結合域及能夠結合cMET之第二抗原結合域的雙特異性抗體之一部分測定。或者，結合親和力可使用對EGFR或cMET具有單特異性之抗體或其抗原結合片段來測定。在一些實施例中，結合親和力係使用如本文所提供或本領域中已知的BIACore測定。

【0199】 結合親和力通常係藉由Kd (抗原結合域與其抗原之間的平衡解離常數)度量。眾所周知，Kd值愈低，抗原結合域之結合親和力愈高。例如，能夠以10 nM之Kd結合至目標之抗原結合域將視為以比能夠以100 nM之Kd結合至同一目標之抗原結合域更高的親和力結合該目標。

【0200】 提及人類EGFR可指包含EGFR之細胞外域的多肽，諸如具有SEQ ID NO: 42中所示之胺基酸序列的多肽。提及小鼠EGFR可指由可購自SinoBiological的目錄號為51091-M08H之分子產生的多肽。提及食蟹獼猴EGFR可指SEQ ID NO: 46中所示之胺基酸序列。提及人類cMET可指具有SEQ ID NO: 43中所示之胺基酸序列的多肽。提及小鼠cMET可指由可購自SinoBiological的目錄號為50622-M08H之分子產生的多肽。提及食蟹獼猴cMET可指SEQ ID NO: 44中所示之胺基酸序列。

EGFR親和力

【0201】 本文所描述之化合物(例如放射免疫結合物)之抗體或其抗原結合片段可包含能夠以低親和力結合EGFR之抗原結合域。依本文所使用，「低親和力」係指能夠以等於或高於10 nM之解離常數(Kd)結合人類EGFR的第一抗原結合域。包含此類低親和力EGFR抗原結合域之本文所描述之化合物(例如放射免疫結合物)的抗體或抗原結合片段可在正常組織中顯示降低的靶上毒性，諸如皮膚毒性，且因此與包含能夠以「更高親和力」結合人類EGFR之EGFR抗原結合域的結合物相比，具有改良之安全

概況。依本文所使用，「更高親和力」或「高親和力」係指能夠以低於10 nM之Kd結合人類EGFR的第一抗原結合域。

【0202】 能夠結合EGFR之抗原結合域可以具有等於或高於10 nM、15 nM、20 nM、25 nM、30 nM、35 nM或40 nM之Kd的親和力結合至人類EGFR。或者，能夠結合EGFR之抗原結合域可以10與100 nM之間、20與100 nM之間、30與100 nM之間、40與100 nM之間、10與80 nM之間、20與80 nM之間、30與80 nM之間、40與80 nM之間、10與70 nM之間、20與70 nM之間、30與70 nM之間、40與70 nM之間、10與60 nM之間、20與60 nM之間、30與60 nM之間、40與60 nM之間、10與50 nM之間、20與50 nM之間、30與50 nM之間或40與50 nM之間的Kd結合至人類EGFR。

【0203】 能夠結合EGFR之抗原結合域可結合至人類EGFR，其親和力低於包含分別如SEQ ID NO: 47及SEQ ID NO: 48中所示之抗體QD6之重鏈可變(VH)區序列及輕鏈可變(VL)區序列之抗原結合域的親和力。

【0204】 例如，能夠結合EGFR之抗原結合域可結合至人類EGFR，其親和力之Kd比包含分別在SEQ ID NO: 47及SEQ ID NO: 48中所示之抗體QD6之重鏈序列及輕鏈序列之抗原結合域結合人類EGFR的Kd高至少2倍、3倍、4倍、5倍、6倍或7倍。替代地，能夠結合EGFR之抗原結合域可結合至人類EGFR，其親和力之Kd比包含分別在SEQ ID NO: 47及SEQ ID NO: 48中所示之抗體QD6之重鏈序列及輕鏈序列之抗原結合域結合人類EGFR的Kd高2倍與10倍之間、高3倍與10倍之間、高4倍與10倍之間、高5倍與10倍之間、高6倍與10倍之間、高7倍與10倍之間、高2倍與9倍之間、高3倍與9倍之間、高4倍與9倍之間、高5倍與9倍之間、高6倍與9倍

之間、高7倍與9倍之間、高2倍與8倍之間、高3倍與8倍之間、高4倍與8倍之間、高5倍與8倍之間、高6倍與8倍之間、高7倍與8倍之間。

【0205】 能夠結合EGFR之抗原結合域可結合至人類EGFR，其親和力類似於包含分別在SEQ ID NO: 15及SEQ ID NO: 16中所示之抗體RAA22之重鏈可變區序列及輕鏈可變區序列之抗原結合域的親和力。例如，能夠結合EGFR之抗原結合域可結合至人類EGFR，其親和力之Kd與包含分別在SEQ ID NO: 15及SEQ ID NO: 16中所示之抗體RAA22之重鏈可變區序列及輕鏈可變區序列之抗原結合域結合人類EGFR之Kd相差小於5倍、相差小於4倍、相差小於3倍、相差小於2倍、相差小於1倍或相差小於0.5倍。

【0206】 能夠結合EGFR之抗原結合域亦可能夠結合食蟹獼猴EGFR。例如，能夠結合EGFR之抗原結合域可以具有小於700 nM、小於600 nM、小於500 nM、小於400 nM、小於300 nM或小於250 nM之Kd的親和力結合至食蟹獼猴EGFR。或者，能夠結合EGFR之抗原結合域可以具有100與700 nM之間、100與600 nM之間、100與500 nM之間、100與400 nM之間、100與300 nM之間、150與250 nM之間、100與200 nM之間的Kd之親和力結合至食蟹獼猴EGFR。能夠結合EGFR之抗原結合域可以比抗原結合域結合至人類EGFR之Kd高小於或等於10倍、9倍、8倍、7倍、6倍、5倍、4倍、3倍的Kd結合至食蟹獼猴EGFR。

【0207】 能夠結合EGFR之抗原結合域亦可能夠結合小鼠EGFR。例如，能夠結合EGFR之抗原結合域可以具有小於1 μ M、小於900 nM、小於800 nM、小於700 nM、小於600 nM或小於650 nM之Kd的親和力結合至小鼠EGFR。或者，能夠結合EGFR之抗原結合域可以100 nM與1 μ M之

間、200與900 nM之間、300與800 nM之間、400與700 nM之間、400與600 nM之間或450與550 nM之間的Kd結合至小鼠EGFR。

【0208】較佳地，能夠結合EGFR之抗原結合域能夠結合人類EGFR及食蟹獼猴EGFR。此交叉反應性係有利的，因為其允許在臨床前開發期間在食蟹獼猴中進行抗體及結合物之劑量及安全性測試。甚至更佳地，能夠結合EGFR之抗原結合域能夠結合人類EGFR、食蟹獼猴EGFR及小鼠EGFR。例如，能夠結合EGFR之抗原結合域可能夠結合人類EGFR、食蟹獼猴EGFR及小鼠EGFR，其Kd值如上文所陳述(例如人類EGFR Kd在10與100 nM之間、食蟹獼猴EGFR Kd在100與700 nM之間及小鼠EGFR Kd在100 nM與1 μ M之間)。

*cMET*親和力

【0209】能夠結合cMET之抗原結合域可以具有低於20 nM、15 nM、12 nM、11 nM、10 nM、9 nM、8 nM、7 nM、6 nM、5 nM、4 nM、3 nM或2.5 nM之Kd的親和力結合至人類cMET。或者，能夠結合cMET之抗原結合域可以具有1與20 nM之間、1與15 nM之間、1與10 nM之間、1與9 nM之間、1與8 nM之間、1與7 nM之間、1與6 nM之間、1與5 nM之間、1與4 nM之間、1與3 nM之間、1與2.5 nM之間或2與2.5 nM之間的Kd之親和力結合至人類cMET。

【0210】能夠結合cMET之抗原結合域可能能夠結合食蟹獼猴cMET。例如，可能能夠結合cMET之抗原結合域可以具有低於30 nM、25 nM、20 nM、15 nM、10 nM、9 nM、8 nM、7 nM、6 nM、5 nM、4 nM、3 nM或2.5 nM之Kd的親和力結合至食蟹獼猴cMET。或者，能夠結合cMET之抗原結合域可以具有1與20 nM之間、1與15 nM之間、1與10

nM之間、1與9 nM之間、1與8 nM之間、1與7 nM之間、1與6 nM之間、1與5 nM之間、1與4 nM之間、1與3 nM之間、1與2.5 nM之間或2與2.5 nM之間的Kd之親和力結合至食蟹獼猴cMET。能夠結合cMET之抗原結合域可以具有比結合至人類cMET之抗原結合域高小於或等於10倍、9倍、8倍、7倍、6倍、5倍、4倍、3倍、2倍、1倍之Kd的親和力結合至食蟹獼猴cMET。

【0211】較佳地，能夠結合cMET之抗原結合域能夠結合人類cMET及食蟹獼猴cMET。此交叉反應性係有利的，因為其允許在臨床前開發期間在食蟹獼猴中進行抗體之劑量及安全性測試。例如，能夠結合cMET之抗原結合域可能能夠以上文所示之Kd值結合人類cMET及食蟹獼猴cMET (例如Kd在1與20 nM之間的人類cMET及Kd在1與20 nM之間的食蟹獼猴cMET)。

特異性結合

【0212】本文所描述之化合物(例如放射免疫結合物)之抗體或其抗原結合片段可包含能夠特異性結合EGFR之抗原結合域。本文所描述之化合物(例如放射免疫結合物)之抗體或抗原結合片段可包含能夠特異性結合cMET之抗原結合域。本文所描述之化合物(例如放射免疫結合物)之抗體或抗原結合片段可包含能夠結合EGFR之第一抗原結合域，該第一抗原結合域為能夠特異性結合EGFR之第一抗原結合域；及能夠結合cMET之第二抗原結合域，該第二抗原結合域為能夠特異性結合cMET之第一抗原結合域。

【0213】術語「特異性」可指抗原結合域將不顯示與其特異性結合搭配物(此處為EGFR或cMET)以外之分子之任何顯著結合的情況。此類分

子稱為「非目標分子」。術語「特異性」亦適用於抗體或其抗原結合片段對特定抗原決定基(諸如EGFR或cMET上之抗原決定基)具有特異性的情況，該等抗原決定基係由許多抗原攜帶，在此情況下，抗體或其抗原結合片段將能夠與攜帶抗原決定基的各種抗原結合。

【0214】 在一些實施例中，若與非目標分子之結合程度小於抗體或其抗原結合片段與目標之結合的約10%，例如藉由ELISA、SPR、生物層干涉法(BLI)、微型熱泳(MST)或藉由放射免疫分析(RIA)所量測，則認為化合物(例如放射免疫結合物)之抗體或其抗原結合片段不顯示與非目標分子之任何顯著結合。或者，結合特異性可根據結合親和力反映，其中本文所描述之化合物(例如放射免疫結合物)之抗體或其抗原結合片段能夠以比對另一個非目標分子之親和力大至少0.1數量級的親和力結合至EGFR及/或cMET。在一些實施例中，本發明之化合物(例如放射免疫結合物)之抗體或其抗原結合片段能夠以比對另一個非目標分子之親和力大至少0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1.0、1.5或2.0數量級之一的親和力結合至EGFR及/或cMET。

【0215】 EGFR係ErbB受體家族之成員，該受體為四種密切相關的受體酪胺酸激酶之子族：EGFR、HER2、HER3及HER4。RAA22抗原結合域未顯示與HER2、HER3及HER4結合，表明此抗原結合域特異性結合EGFR。因此，在某些實施例中，能夠結合EGFR之抗原結合域不與HER2、HER3或HER4結合，或不顯示任何與HER2、HER3或HER4之顯著結合。

【0216】 cMET為受體酪胺酸激酶之子族的成員，其包括Ron及Sema 4a。B09-GL抗原結合域未顯示與Ron及Sema 4a之結合，表明此抗

原結合域特異性結合cMET。因此，在某些實施例中，能夠結合cMET之抗原結合域不與Ron、Sema 4a結合或不顯示任何與Ron、Sema 4a之顯著結合。

同時接合

【0217】 包含能夠結合EGFR之第一抗原結合域及能夠結合本文所描述之cMET之第二抗原結合域的本發明中之化合物(例如放射免疫結合物)之抗體或其抗原結合片段的特徵可為該等兩個抗原結合域同時接合其各別EGFR及cMET目標之能力。預期具有同時接合EGFR及cMET之能力的本發明所揭示之化合物(例如放射免疫結合物)之抗體或其抗原結合片段為有利的，因為已知許多腫瘤共表現EGFR及cMET兩者且因此可藉由本發明之化合物靶向。因此，在一些實施例中，本發明所揭示之化合物(例如放射免疫結合物)之抗體或其抗原結合片段能夠同時接合EGFR及cMET。

【0218】 量測同時接合之此等方法的其他細節可見於實例中。

抗體(或其抗原結合片段)內化

【0219】 本文所描述之化合物(例如放射免疫結合物)之抗體或其抗原結合片段之特徵可為其介導有效內化之能力。

【0220】 可藉由使活細胞與抗體或其抗原結合片段接觸，且在足夠的內化時段後偵測抗體(或其抗原結合片段)或化合物(例如放射免疫結合物)來分析細胞對抗體或其抗原結合片段(或包含該抗體或其抗原結合片段之化合物(例如放射免疫結合物))之內化。內化可藉由偵測抗體(或其抗原結合片段)或化合物(例如放射免疫結合物)之定位來測定。在抗體(或其抗原結合片段)或化合物(例如放射免疫結合物)保持在細胞表面上(例如在細

胞表面上偵測到及/或在細胞內部未偵測到)之情況下，確定抗體(或其抗原結合片段)或化合物(例如放射免疫結合物)未經內化。在細胞內部偵測到抗體(或其抗原結合片段)或化合物(例如放射免疫結合物)(例如定位至細胞質或細胞器)之情況下，確定抗體(或其抗原結合片段)或化合物(例如放射免疫結合物)已經內化。

【0221】 用於觀察抗體(或其抗原結合片段)或化合物(例如放射免疫結合物)是否能夠介導有效內化之例示性方法涉及用在酸性pH下呈現螢光之pH敏感染料標記抗體及將此等經標記之抗體或結合物添加至細胞。內化至細胞可藉由監測螢光來偵測。若所觀測之螢光在一定時段內(例如48小時)大於經標記之未結合對照抗體(或其抗原結合片段)或化合物(例如放射免疫結合物)之螢光，則認為抗體(或其抗原結合片段)或化合物(例如放射免疫結合物)能夠介導內化且遞送至溶酶體。觀察抗體(或其抗原結合片段)內化之此方法的其他細節可見於實例中。

【0222】 包含能夠結合EGFR之第一抗原結合域及能夠結合cMET之第二抗原結合域的化合物(例如放射免疫結合物)之抗體或其抗原結合片段的特徵可為其與EGFR或cMET單特異性對照相比時介導更有效內化的能力。預期表現出此特性之化合物(例如放射免疫結合物)之抗體或其抗原結合片段為有利的，因為預期其對共表現兩個目標之腫瘤細胞顯示更大選擇性，且可使抗體或其抗原結合片段在未顯示顯著水平之共表現的正常組織中之影響降至最低。

【0223】 在一些實施例中，本發明提供包含抗體或抗原結合片段之化合物(例如免疫結合物或放射免疫結合物)，該等抗體或抗原結合片段包含重鏈可變域及輕鏈可變域，其中重鏈可變域包含CDR-H1、CDR-H2及

CDR-H3，且輕鏈可變域包含CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3，其中CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3係下文提供之序列附錄中描述之抗體的彼等。

【0224】 在一些實施例中，提供包含抗體或抗原結合片段之化合物(例如免疫結合物或放射免疫結合物)，該等抗體或抗原結合片段為序列附錄中所示之抗體之變異體，因為此類抗體或抗原結合片段具有CDR序列，該等CDR序列與序列附錄中所描述之抗體之CDR序列相差不超過三個胺基酸殘基(例如三個或兩個或一個胺基酸殘基)/CDR。在一些實施例中，提供包含抗體或抗原結合片段之化合物(例如免疫結合物或放射免疫結合物)，該等抗體或抗原結合片段為序列附錄中所示之抗體之變異體，因為此類抗體或抗原結合片段具有一組六個CDR，該等CDR序列與序列附錄中所描述之抗體之CDR總體相差不超過三個胺基酸殘基(例如三個或兩個或一個胺基酸殘基)。

【0225】 在一些實施例中，提供包含抗體或抗原結合片段之化合物(例如免疫結合物或放射免疫結合物)，該等抗體或抗原結合片段包含重鏈可變域及輕鏈可變域，該等重鏈可變域及輕鏈可變域包含序列附錄中所描述之抗體的重鏈可變域及輕鏈可變序列。在一些實施例中，提供包含抗體或抗原結合片段之化合物(例如免疫結合物或放射免疫結合物)，該等抗體或抗原結合片段為序列附錄中所示之抗體之變異體，因為此類抗體或抗原結合片段具有(1)包含與序列附錄中所描述之抗體之重鏈可變域之胺基酸序列至少85%、至少87.5%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致之胺基酸序列的重鏈域；及(2)包含與序列附錄中之相同抗體之輕鏈

可變域之胺基酸序列至少85%、至少87.5%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致之胺基酸序列的輕鏈域。

序列附錄

抗EGFR抗體殖株RAA22之CDR序列

HCDR1: DNDFIS (SEQ ID NO: 1)

HCDR2: AIVAVIRITETIYAQKIQD (SEQ ID NO: 2)

HCDR3: RI MSAISGPGAPIJM (SEQ ID NO: 3)

LCDR1: TGTSSDVGGYNYVS (SEQ ID NO: 4)

LCDR2: DVSKRPS (SEQ ID NO: 5)

LCDR3: SSYTSSDITIJ (SEQ ID NO: 6)

抗EGFR抗體殖株RAA22之FR序列

HFR1: QVQLVQSGAIYKKPGSSVKVSCKASGGITIS (SEQ ID NO: 7)

HFR2: WVRQAPGQGILWMG (SEQ ID NO: 8)

HFR3: RVKITTADISTRTIYMIQLSSIRSEDTAVYYCAR (SEQ ID NO: 9)

HFR4: WGQGILVTVSS (SEQ ID NO: 10)

LFR1: QSALTQPRSVSGSPGQSVTISC (SEQ ID NO: 11)

LFR2: WYQQHPGKAPKIMY (SEQ ID NO: 12)

LFR3: GVPDRFSGSKSGNTASITISGLQAIEDIADYYC (SEQ ID NO: 13)

LFR4: FGGGTKITVL (SEQ ID NO: 14)

抗EGFR抗體殖株RAA22之重鏈可變(VH)區之胺基酸序列(SEQ ID NO: 15)

QVQLVQSGAIYKKPGSSVKVSCKASGGITISDNDFISWVRQAPGQGILWMGAIVAVIRITETIYAQKIQDRVKITTADISTRTIYMIQLSSIRSEDTAVYYCARRI MSAISGPGAPIJLWGQGILVTVSS

抗EGFR抗體殖株RAA22之輕鏈可變(VL)區之胺基酸序列(SEQ ID NO: 16) :

QSALTQPRSVSGSPGQSVTISCITGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKIMYDVS KRPSGVPDRFSGSKSGNTASITISGLQAIEDIADYYCSSYTSSDITIJIFGGGTKITVL

抗c-Met抗體殖株B09-GL之CDR序列

HCDR1: DYYIH (SEQ ID NO: 17)
HCDR2: WMNPN SGN TGYA QKI QG (SEQ ID NO: 18)
HCDR3: GQGY IHS (SEQ ID NO: 19)
LCDR1: RASIGIYHWLA (SEQ ID NO: 20)
LCDR2: KASSI AS (SEQ ID NO: 21)
LCDR3: QQYSNYPPT (SEQ ID NO: 22)

抗c-Met抗體抗株B09-G1之HFR序列

HFR1: QVQI.VQSGAI.VKKPGASVKV SCKASGYIT'T (SEQ ID NO: 23)
HFR2: WVRQATGQGIJFWMG (SEQ ID NO: 24)
HFR3: RVIMIRIDTISISTAYMDL.SSIRSIIDTAVYYCAR (SEQ ID NO: 25)
HFR4: WGQGITMVTIVSS (SEQ ID NO: 26)
LFR1: DIQMTQSPSTLSASVGD RVTTC (SEQ ID NO: 27)
LFR2: WYQQKPGKAPKIJY (SEQ ID NO: 28)
LFR3: GVPSRISGSGSGITFTLTSSIQPDDFAITYYC (SEQ ID NO: 29)
LFR4: FGGGITKIDK (SEQ ID NO: 30)

抗c-Met抗體抗株B09-G1之重鏈可變(VH)區之胺基酸序列(SEQ ID NO: 31):
QVQI.VQSGAI.VKKPGASVKV SCKASGYIT'DYYIHWVRQATGQGIJFWMGWMNPN
SGN TGYA QKI QGRVIMIRIDTISISTAYMDL.SSIRSIIDTAVYYCAR GQGYIHSWGQG
ITMVTIVSS

抗c-Met抗體抗株B09-G1之輕鏈可變(VL)區之胺基酸序列(SEQ ID NO: 32):
DIQMTQSPSTLSASVGD RVTTCRASIGIYHWLA WYQQKPGKAPKIJYKASSI ASG
VPSRISGSGSGITFTLTSSIQPDDFAITYYCQQYSNYPPTFGGGITKIDK

人類免疫球蛋白1重鏈恆定(CH)區之胺基酸序列(SEQ ID NO: 33):
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAI.GCI.VKIDYFPIEPVTVSWNSGALTSGVTHHPAVL
QSSGLYSISLVVTVPSSTLGTQTYICNVNIDKPSNITKVIDKKVITPKSCDKTHTCPPCPAP
IDLGGPSVFIAPPKPKDITLMISRTPFVTCVVVDVSHEDPEVKINWYVIDGVIIVINAK
ITKPRIDQYNSTYRVVSVLTVLIHQDWLNGKIYKCKVSNKAI.PAPIIKITSKAKGQPR
IDPQVYITPPSRIDITLKNQVSLTCLVKGIYPSDIAVIEWESNGQPIFNKYITTPPVLDSD
GSMFLYSKLTVIDKSRWQQGNVIFSCSVMIIEALINITYTQKSLISLSPGK

野生型人類免疫球蛋白1c恆定區之胺基酸序列(SEQ ID NO: 34):

RTVAAPSAVINPPSIDQIKSGTASVYCLINNIYPRIDAKVQWKVDNALQSGNSQIESYI
IQDPSKDSITYSLSSILITLSKADYMEKIKVYAQEVNIQGLSSIPYIKSDNRGIC

「EGFR-cMET TM」抗體中抗EGFR重鏈之胺基酸序列(SEQ ID NO: 35)：

以下取代加粗LL加下劃線：

三重突變(TM；L234R、L235E及P331S)；「杯」突變(L366W)；鏈間半胱胺酸突變(R126C及C219V)；穩定半胱胺酸突變(S354C)，其中殘基編號係根據EU索引。

QVQILVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGITFSIDNDFSWVRQAPGQGLISWMGAIVAVF
RITITYAQKIQDRVKITADISIRITTYMIELSSIRSIQITAVYYCARRIMSAISGPGAPIJL
MWGQGGLVITVSSASTKGPSVCPILAPSSKSTISGGTAAALGCLVKDYITPPVITVSWNSG
ALITSGVITITPAVILQSSGILYSISSVVTVPSSSI.GITQTYICNVNIHKPSNITKVDKRVIPKS
YIDKTHITCPPCPAPIQTEGGPSVITITPPKPKDITIMISRTPEVITCVVVDVSHDDPIYVKITN
WYVDGVIETINAKITKPRITIQYNSTYRVVSVLTITVIHQDWLNGKISYKCKVSNIKALPA
SHDKTISKAKGQPRITPQVYITPPCRITGMITKNQVSIWCLVKGIYPSDIAVITWISNGQP
ITNNYKITTPPVITDSDGSITITLYSKIITVDKSRWQQGNVITSCSVMIIEAIIINITYITQKSLSL
SPGK

「EGFR-cMET TM」抗體中抗c-Met重鏈之胺基酸序列(SEQ ID NO: 36)：

以下取代加粗LL加下劃線：

三重突變(TM；L234R、L235E及P331S)；「FL」突變(L366S、L368A及Y407V)；及穩定半胱胺酸突變(Y349C)，其中殘基編號係根據EU索引。

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFIDYYHWVRQAIGQGIEWMGWMNPN
SGNTGYAQKIQGRVIMIRDTISISTAYMIESSIRSDITAVYYCARGQGYTHSWGQG
TMVTVSSASTKGPSVITPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYITPIPVTVSWNSGAILTSGV
HITPAVQLSSGLYSISSVVIVPSSSI GTQIYICNVNIHKPSNITKVIDKRVIPKSCDKTHT
CPPCPAPITTEGGPSVITLPPKPKDITLMISRITPEVITCVVVDVSIHEDPIVKINWYVDGV
IEVINAKITKPIIEQYNSTYRVVSVITVLIHQDWLNGKIEYKCKVSNKALPASPHEKTSK
AKGQPRITPQVCIITPPSRITETITKNQVSI SCAYVKGITYPSDIAVIHWISNGQPIENNYKTITP
PVIDSDIGSIITLVSKIITVDKSRWQQGNVITSCSVMIIEALJINHYTQKSLISLSPGK

EGFR-cMET TM, 抗體中抗EGFR輕鏈之胺基酸序列(SEQ ID NO:
37) :

以下取代加粗且加下劃線：

S121C及C214V，其中編號係根據EU索引]

QSAITQRRSVSGSPGOSYITSCITGTSIDYGGITNVVSWYQOHGKAPKIMIVYSKR
SGVPIRISGSKSGNTASTITSGIQMIDYDYCSSYISSDTIITGGGTIKITAVIGQHC
AATSVITITPCSTIITQANKATLACISDITPGAVITAWKADSSPIKAGMTITPSKQ
SNNKYIAASSYISITITQWKSHRSYSCQYTHGSIYKIVAPITVS

EGFR-cMET TM, 抗體中抗c-Met輕鏈之胺基酸序列(SEQ ID NO:
38) :

DIQMTQSPSTISASVGDRTITTCRASIEGIYHWLAWYQQKPGKAPKIJYKASSIASG
VPSRISGSGSGNTITITSSIQPIDITATYYCQQYSNYPPITGGGTIKITDKRTVAAPSVI
ITPPSDIEQLKSGITASVVCILNNITPPIAKVQWKVDNALQSGNSQISVTHIQDSKDSIT
SLSSITITLSKADYIKIKVYACIEVITMQGLSSPVTKSLNRGIEC

經修飾以包括「杆」突變、形成穩定二硫橋鍵之半胱胺酸、無半胱
胺酸插入且具有TM的人類免疫球蛋白IG1 CH區之胺基酸序列(SEQ ID NO:
39) :

以下取代加粗且加下劃線：

三重突變(TM；L234R、L235R及P331S)；「杆」突變(L366W)；鏈
間半胱胺酸突變(R126C及C219V)；穩定半胱胺酸突變(S354C)，其中殘
基編號係根據EU索引]。

ASIKGPSVCPILAPSSKSTSGGTAAIGCLVKDYIFPIPVTVSWNSGALISGVIIITPAVL
 QSSGLYSISSVVIVPSSSLGTQIYICNVNIHKPSNITKVDKRVIEPKSVDKITITCPPCPAP
 IETEGGPSVITLTPPKPKDITLMISRITPIVTCVVVDVSDIDPIEVKINWYVIDGVIIVINAK
 ITKPRITIQYNSTYRVVSVLTVIHQDWINGKIYKCKVSNKALPASPDKTISKAKGQPR
 ITPQVYITLPPCRITETMTKNQVSLWCLVKGIYPSDIAVIWISNGQPIENNYKITTPPVIJDS
 DGSITILYSKILTVDKSRWQQGNVIFSCSVMIIEAIIHNHYTQKSLISLSPGK

經修飾以包括「F1」突變、形成穩定二硫橋鍵之半胱胺酸、無半胱胺酸插入且具有TM的人類免疫球蛋白G1 CII區之胺基酸序列(SEQ ID NO: 40)：

以下取代加粗且加下劃線：

三重突變(TM；L234E、L235E及P331S)；「F1」突變(L366S、L368A及Y407V)；及穩定半胱胺酸突變(Y349C)，其中殘基編號係根據EU索引。

ASIKGPSVITLAPSSKSTSGGTAAIGCLVKDYIFPIPVTVSWNSGALISGVIIITPAVL
 QSSGLYSISSVVIVPSSSLGTQIYICNVNIHKPSNITKVDKRVIEPKSCDKITITCPPCPAP
 IETEGGPSVITLTPPKPKDITLMISRITPIVTCVVVDVSDIDPIEVKINWYVIDGVIIVINAK
 ITKPRITIQYNSTYRVVSVLTVIHQDWINGKIYKCKVSNKALPASPDKTISKAKGQPR
 ITPQVCITLPPSRITETMTKNQVSLSCAVKGIYPSDIAVIWISNGQPIENNYKITTPPVIJDS
 DGSITILYSKILTVDKSRWQQGNVIFSCSVMIIEAIIHNHYTQKSLISLSPGK

經修飾以包括S121C及C214V取代之人類免疫球蛋白恆定區之胺基酸序列(SEQ ID NO: 41)：

GQPKAAPSVTLITPQCSITTLQANKATILVCIISDITYPGAVTVAWKADSSPVKAGVIEITT
 PSKQSNNKYAASSYLSTLPEQWKSIIRSYSCQVITHEGSTIVIEKTVAPITFYS

人類IgG1R細胞外域之胺基酸序列(SEQ ID NO: 42)：

ITHTKKVCQGTSNKLITQIGITITIDITLISLRMINNCIEVVLGNITITVQQRNYDIISITKIT
 IQIEVAGYVILAIKITVIERITLITLQIRGNMYIINSYALAVLSNYDANKITGLKITLPMR
 NITQITLIGAVRISNNPAILCNVLSIQWRDITVSSDITLNNMSMDITQNIILGSCQKCDPSCP
 NGSCWGAGITENCQKITKIIICAAQQCSGRCRGKSPSDCCIIINQCAAGCTIGPRIISDCLVC
 RKITRIDITATCKIDITCPPIMLYNPITITYQMIDVNPIGKYSEGATCVKKCPERNYVVITDNGS

CVRACGAIDSYIMIDGVRKCKKCI:GPCRKVCNGIGIGI:KDSI.SINATNIKIDKNCI
SISGDIJIII.PVAIRGDSIFITITPPIIDPQI:JDI.KTVKI:ITGIIJJAQWPIENRITDIJIAITENI.
IIRGRITKQIGQI:SI.AVVSI.NITSI.GIRSI.KI:ISDGDVHSIGNKNI.CYANITINWKKIJ:G
TSGQKTKIISNRGI:NSCKATGQVCHAI.CSPH:GCWGP:PRDCVSCRNVSRGR:ICVDKC
NIJ:EGIPRI:IVINSI:CIQCHPE:CLPQAMNITCTGRGPDNCIQCAHYIDGPHCVKTCPA
GVMGI:NNIT.VWKYADAGHVCII.CHPNCTYGCITGPGI:EGCP:INGPKIPS

人類*c-Met*細胞外域之胺基酸序列(SEQ ID NO: 43) :

IECKIEALAKSIEMNVNMKYQIPNITAIETPIQNVIIIDIIIIIT.GATNYITYVI.NI:EDI.QKV
AI:YKTIGPVIJ:IIIDCI:PCQDCSSKANI.SGGVWKIDNINMAI.VVIDITYYIDDIJISCGSVN
RGITCQRHIVITPINITADIQSI:VHCIE:SPQII:IPSQCPDCVVSAL.GAKVI.SSVKIDRI:NI:
VGNITINSSYI:PDIIPIJISISVRRIKI:TKDGFMI:ITDQSYIDVI.PI:IRDSYPIKYVIAIT:
NNITYI:ITVQRI:ITJDAQITITIRIRI:CSINSGIJISYMI:MPIJ:CIJITKKKKRSTTKK:VI:
NIJ.QAAYVSKPGAQIARQIGASINDDIJFGVFAQSKPIDSAI:PMDRSAMCAI:PIKYVN
IDITNKIVNKNNVRCI.QII:YGPNIIDICI:NRITIJRNSSGCI:ARRDI:YRIT:ITAI.QRV
IJ:MGQI:SEVIJISISITIKGDITIANIJGTSIGRI:MQVVVSRSRGPSTPIIVNIJJDSDIPVS
PI:VIVITITJNQNGYIT.VITGKKITKPI:NGI.GCRII:QSCSQCI.SAPPIVQCGWCHDKC
VRSI:CI.SGITWTQQICI.PAIYKVI:INSAPIJ:GGITRI:ITCGWID:GIRKNNKIDIKK:IR
VIJ.GNIESCI:ITISITMNITKCI:VGPAMNKIINMSIISNGHGI:ITQYSIT:SYVIDPVI:
SISPKYGP:MAGGITIJIT:ITGNYI.NSGNSRIISIGGK:ITCIJ:KSVSNSI:ICYT:PAQITSTI:
AVKIKIDIANRI:ITSI:SYRI:DPVYI:IIPI:TKSI:SGGSITIGVGKNI.NSVSVPRMVINVI
I:AGRNI:TVACQIIRSNSI:ICCI:ITPSI.QQI.NI.QI:PIKTKAI:IMIDGII.SKYITDIJYVINP
VITKPI:IKPVMISMGNIDNVIJIKGNIDIDPIAVKGI:VIJ:KVGNIKSCITNIJISIAVLCIV
PNDIJJKI:INSI:INIIWKQAISSTVI.GKVIVQPDQNI:IT

食蟹獼猴*c-Met*細胞外域之胺基酸序列(SEQ ID NO: 44) :

IECKIEALAKSIEMNVNMKYQIPNITAIETAIQNVIIIDIIIIIT.GATNYITYVI.NI:EDI.QKV
AI:YKTIGPVIJ:IIIDCI:PCQDCSSKANI.SGGVWKIDNINMAI.VVIDITYYIDDIJISCGSVN
RGITCQRHIVITPINITADIQSI:VHCIE:SPQII:IPNQCPDCVVSAL.GAKVI.SSVKIDRI:NI:
VGNITINSSYI:PDIIPIJISISVRRIKI:TKDGFMI:ITDQSYIDVI.PI:IRDSYPIKYVIAIT:
NNITYI:ITVQRI:ITJNAQITITIRIRI:CSINSGIJISYMI:MPIJ:CIJITKKKKRSTTKK:VI:
NIJ.QAAYVSKPGAQIARQIGASINDDIJFGVFAQSKPIDSAI:PMDRSAMCAI:PIKYVN
IDITNKIVNKNNVRCI.QII:YGPNIIDICI:NRITIJRNSSGCI:ARRDI:YRAIT:ITAI.QRV

DIJMGQISIVIJTSISITVKGDIJIANIGTSGRIMQVVVSRSGPSTPIIVNIJJDSIIP
VSPFVIVIJPI.NQNGYIT.VVTGKKTKIPJ.NGLGCRH:QSCSQCL.SAPPIVQCGWCH
DKCVRSD:CPSGTWTQQICI.PAIYKVFPT.SAPIJGGTRLJTCGWDI:GIRRNKKIDJ.KK
TRVIJ.GNI:SCITJJSISIMNTJ.KCTVGPAMNKJINMSJISNGIGTITQYSTIT:SYVDPII
TSSIPKYGPMAGGITJITJTGNYJNSGNSRIISIGGKTCITJ.KSVSNSIJ:ECYITPAQITSTI:
FAVKIKNDLANRI:TSIT:SYRI:DPVYI:IMP:TKSI:SGGSIT:GVGKNIJISVSVPRMVINV
JIAGRNI:TVACQIIRSNSJ:ICCTITPSI.QQINJ.QIPI.KTKAJT:MIJ:DGJ.SKYITDJYVJ
NPVITKPI:TKPVMISMGNJ:NVJ:JJKGNIDDPJ:AVKGI:VJ.KVGKNSCJENJIIJISJ:AVJ.C
TVPNDIJ.KJ.NSJJ.NJ:WKQAJSSITVLGKVI:VQPDQNI:T

食蟹獼猴EGFR細胞外域之胺基酸序列(SEQ ID NO: 46) :
IIEKKKYCOGITSNKL.TOLGTHEDIHLSLORMINNOIAVIGNIDITVQORNYDI:SHJKT
IQIVAGYVLI:ENTYIRIPIJINJ.QIRGNIMYYTNSYALAVISNYDANKTGLKIJ.PMR
NIQPIJIGAYRISNNPAILONVISTQWRDINSSITJ.SNMSMDITQNIJ:GSCQKCDPSCI
NGSCWGA:GIEPNCOKI:TKHCAQOCSSGRORGRKSRSDCCINQCAAGCTGIRISIDCI:VC
RKHRRDITCKNDITCPIIMJYNPITTYQMI:VNP:RGGKSI:GATCMCKCPRNYAV:IDHGS
CYRACGADSYMMIDOVYKCKKCTGPRKVCNGIGIGIEKDIJSINATNKHUKNCI
SISGDIJIIIPVATRGDSINTHTPIIDPOJIDIKJVKIETGHIJQAWPINRITDIJIANI
JHJRGRIKQHQQISLAVASINISISLGRSIRKIDSQGDYJISGNKNIC:YANTJNWKI:UG
TSSOKIKIISNRGINSCKATGQVCIATCSPIOCVGNITRIDCVSCQNVSRGRICVDRK
NIJHIGIPRI:VINSIDICQCHICLPQVMNITCIGRGIDNCIOCAMYIDOPHCVKTCPA
GYMGJNNITLVWKYADAGHVCILCIPNCITVGCITGPIJ:GCAIRNCKIPS

抗EGFR抗體航株QD6之VII區之胺基酸序列(SEQ ID NO: 47) :
QVQI.VQSGAJVKKPGSSVKVSCKASGGIT:SDNDI:SWVRQAPGQGIJ:WMGAIVAVV
RTIT:YAQKTFQDRVKITADISITRTITYMID.SSIRSDITAVYYCARRIMSAISGPGAPIJ.
MWGQGITLVTVSS

抗EGFR抗體航株QD6之VL區之胺基酸序列(SEQ ID NO: 48) :
QSALITQPRSVSGSPGQSVITSCITGTTSSIDVGGYNYVSWYQQIIPGKAPKIMYIDVSI:RP
SGVPIIDIT:SGSKSGNTASIJTSGLQAJID:ADYYCI:SYTSSIDITJITGGGIGIKITVL

螯合部分或其金屬錯合物

螯合部分

〔0226〕 適合的螯合部分之實例包括但不限於DOTA (1,4,7,10-四羧
雜環十二烷-1,4,7,10-四乙酸)、DOTMA (1R,4R,7R,10R)- $\alpha,\alpha',\alpha'',\alpha'''$ -四甲

基-1,4,7,10-四氮雜環十二烷-1,4,7,10-四乙酸、DOTAM (1,4,7,10-肆(胺甲醯基甲基)-1,4,7,10-四氮雜環十二烷)、DOTPA (1,4,7,10-四氮雜環十二烷-1,4,7,10-四丙酸)、DO3AM-乙酸(2-(4,7,10-參(2-胺基-2-側氧基乙基)-1,4,7,10-四氮雜環十二烷-1-基)乙酸)、DOTA-GA酸酐(2,2',2''-(10-(2,6-二側氧基四氫-2H-哌喃-3-基)-1,4,7,10-四氮雜環十二烷-1,4,7-三基)三乙酸、DOTP (1,4,7,10-四氮雜環十二烷-1,4,7,10-四(亞甲基膦酸))、DOTMP (1,4,6,10-四氮雜環癸烷-1,4,7,10-四亞甲基膦酸、DOTA-4AMP (1,4,7,10-四氮雜環十二烷-1,4,7,10-肆(乙醯胺基-亞甲基膦酸)、CB-TE2A (1,4,8,11-四氮雜雙環[6.6.2]十六烷-4,11-二乙酸)、NOTA (1,4,7-三氮雜環壬烷-1,4,7-三乙酸)、NOTP (1,4,7-三氮雜環壬烷-1,4,7-三(亞甲基膦酸)、TETPA (1,4,8,11-四氮雜環十四烷-1,4,8,11-四丙酸)、TETA (1,4,8,11-四氮雜環十四烷-1,4,8,11-四乙酸)、HEHA (1,4,7,10,13,16-六氮雜環十六烷-1,4,7,10,13,16-六乙酸)、PEPA (1,4,7,10,13-五氮雜環十五烷-N,N',N'',N''',N''''-五乙酸)、H₄octapa (N,N'-雙(6-羧基-2-吡啶基甲基)-乙二胺-N,N'-二乙酸)、H₂dedpa (1,2-[[6-(羧基)-吡啶-2-基]-甲胺基]乙烷)、H₆phospa (N,N'-(亞甲基膦酸酯基)-N,N'-[6-(甲氧基羰基)吡啶-2-基]-甲基-1,2-二胺基乙烷)、TTHA (三伸乙基四胺-N,N,N',N'',N''',N''''-六乙酸)、DO2P (四氮雜環十二烷二甲烷膦酸)、HP-DO3A (羥丙基四氮雜環十二烷三乙酸)、EDTA (乙二胺四乙酸)、去鐵胺、DTPA (二伸乙基三胺五乙酸)、DTPA-BMA (二伸乙基三胺五乙酸-雙甲基醯胺)、HOPO (八齒羥基吡啶酮)或卟啉。

【0227】 較佳地，螯合部分係選自DOTA (1,4,7,10-四氮雜環十二烷-1,4,7,10-四乙酸)、DOTMA (1R,4R,7R,10R)- α , α' , α'' , α''' -四甲基-

1,4,7,10-四氮雜環十二烷-1,4,7,10-四乙酸)、DOTAM (1,4,7,10-肆(胺甲醯基甲基)-1,4,7,10-四氮雜環十二烷)、DO3AM-乙酸(2-(4,7,10-參(2-胺基-2-側氧基乙基)-1,4,7,10-四氮雜環十二烷-1-基)乙酸)、DOTP (1,4,7,10-四氮雜環十二烷-1,4,7,10-四(亞甲基膦酸))、DOTA-4AMP (1,4,7,10-四氮雜環十二烷-1,4,7,10-肆(乙醯胺基-亞甲基膦酸))、NOTA (1,4,7-三氮雜環壬烷-1,4,7-三乙酸)及HP-DO3A (10-(2-羥丙基)-1,4,7-四氮雜環十二烷-1,4,7-三乙酸)。

【0228】 在一些實施例中，螯合部分為DOTA。

【0229】 在一些實施例中，化合物包含螯合部分之金屬錯合物。例如，螯合基團可用於與金屬，諸如錳、鐵及釷以及同位素(例如，一般能量範圍為60至10,000 keV之同位素)，諸如本文所論述之放射性同位素及放射性核種中之任一者的金屬螯合物組合中。

【0230】 在一些實施例中，螯合部分可用作偵測劑，且包含此類可偵測螯合部分之化合物可因此用作診斷劑或治療診斷劑。

放射性同位素及放射性核種

【0231】 在一些實施例中，金屬錯合物包含放射性核種。適合之放射性同位素及放射性核種之實例包括但不限於³H、¹⁴C、¹⁵N、¹⁸F、³⁵S、⁴⁴Sc、⁴⁷Sc、⁵⁵Co、⁶⁰Cu、⁶¹Cu、⁶²Cu、⁶⁴Cu、⁶⁶Ga、⁶⁷Ga、⁶⁷Cu、⁶⁸Ga、⁷⁵Br、⁷⁶Br、⁷⁷Br、⁸²Rb、⁸⁹Zr、⁸⁶Y、⁸⁷Y、⁹⁰Y、⁹⁷Ru、⁹⁹Tc、^{99m}Tc、¹⁰⁵Rh、¹⁰⁹Pd、¹¹¹In、¹²³I、¹²⁴I、¹²⁵I、¹³¹I、¹⁴⁹Pm、¹⁴⁹Tb、¹⁵³Sm、¹⁶⁶Ho、¹⁷⁷Lu、^{117m}Sn、¹⁸⁶Re、¹⁸⁸Re、¹⁹⁸Au、¹⁹⁹Au、²⁰¹Tl、²⁰³Pb、²¹¹At、²¹²Pb、²¹²Bi、²¹³Bi、²²³Ra、²²⁵Ac、²²⁷Th及²²⁹Th。

【0232】 在一些實施例中，金屬錯合物包含選自以下之放射性核

種：⁴⁴Sc、⁴⁷Sc、⁵⁵Co、⁶⁰Cu、⁶¹Cu、⁶²Cu、⁶⁴Cu、⁶⁷Cu、⁶⁶Ga、⁶⁷Ga、⁶⁸Ga、⁸²Rb、⁸⁶Y、⁸⁷Y、⁸⁹Zr、⁹⁰Y、⁹⁷Ru、⁹⁹Tc、^{99m}Tc、¹⁰⁵Rh、¹⁰⁹Pd、¹¹¹In、^{117m}Sn、¹⁴⁹Pm、¹⁴⁹Tb、¹⁵³Sm、¹⁶⁶Ho、¹⁷⁷Lu、¹⁸⁶Re、¹⁸⁸Re、¹⁹⁸Au、¹⁹⁹Au、²⁰¹Tl、²⁰³Pb、²¹¹At、²¹²Pb、²¹²Bi、²¹³Bi、²²³Ra、²²⁵Ac、²²⁷Th及²²⁹Th。

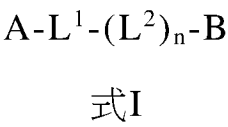
【0233】在某些實施例中，金屬錯合物包含選自⁶⁸Ga、⁸⁹Zr、⁹⁰Y、¹¹¹In、¹⁷⁷Lu及²²⁵Ac之放射性核種。在某些實施例中，金屬錯合物包含¹⁷⁷Lu或²²⁵Ac之放射性核種。

【0234】在一些實施例中，放射性核種為α發射體，例如砒-211 (²¹¹At)、鉍-212 (²¹²Bi)、鉍-213 (²¹³Bi)、銻-225 (²²⁵Ac)、鐳-223 (²²³Ra)、鉛-212 (²¹²Pb)、釷-227 (²²⁷Th)或鉍-149 (¹⁴⁹Tb)或其子系。在一些實施例中，α-發射體為銻-225 (²²⁵Ac)或其子系。

【0235】在某些實施例中，金屬錯合物包含²²⁵Ac之α發射體或其子系。

連接基團

【0236】本發明之化合物包含以下式I結構：

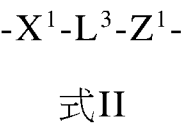


其中變數中之各者定義於上文發明內容章節中。

【0237】式I化合物中之各者包含呈-L¹-(L²)_n-形式之連接部分，其中：

L¹為鍵、C=O、C=S、視情況經取代之C₁-C₆烷基、視情況經取代之C₁-C₆雜烷基、視情況經取代之芳基或視情況經取代之雜芳基；

n為1與5之間的整數(含本數)；及
各L²獨立地具有以下結構：

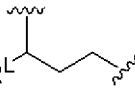


其中：

X¹為-C(O)NR¹-*、-NR¹C(O)-*、-C(S)NR¹-*、-NR¹C(S)-*、-OC(O)NR¹-*、-NR¹C(O)O-*、-NR¹C(O)NR¹-*、-CH₂-Ph-C(O)NR¹-*、-NR¹C(O)-Ph-CH₂-*、-CH₂-Ph-NH-C(S)NR¹-*、-NR¹C(S)-NH-Ph-CH₂-*、-O-*或-NR¹-*；其中「*」指示與L³之連接點，且R¹為氫、視情況經取代之C₁-C₆烷基、視情況經取代之C₁-C₆雜烷基或視情況經取代之芳基或雜芳基；

L³為視情況經取代之C₁-C₅₀烷基或視情況經取代之C₁-C₅₀雜烷基(例如(CH₂CH₂O)₂₋₂₀)；及

Z¹為-CH₂-#、-C(O)-#、-C(S)-#、-OC(O)-#、-C(O)O-#、-NR²C(O)-#、-C(O)NR²-#或-NR²-#，其中「#」指示與B之連接點，且R²為氫、視情況經取代之C₁-C₆烷基、視情況經取代之C₁-C₆雜烷基、視情況經取代之芳基或視情況經取代之雜芳基。

【0238】 在一些實施例中，L¹為視情況經取代之C₁-C₆烷基或視情況經取代之C₁-C₆雜烷基。在某些實施例中，L¹為經取代之C₁-C₆烷基或經取代之C₁-C₆雜烷基，取代基包含雜芳基(例如，六員含氮雜芳基)。在一些實施例中，L¹為C₁-C₆烷基。例如，L¹為-CH₂CH₂-。在一些實施例中，L¹為鍵。在一些實施例中，L¹為，其中R^L為氫或-CO₂H。

【0239】 在一些實施例中，X¹為-C(O)NR¹-*、-NR¹C(O)-*或-

NR¹-，「*」指示與L³之連接點，且R¹為氫、視情況經取代之C₁-C₆烷基、視情況經取代之C₁-C₆雜烷基、視情況經取代之芳基或視情況經取代之雜芳基。在一些實施例中，X¹為-C(O)NR¹-*，「*」指示與L³之連接點，且R¹為氫。

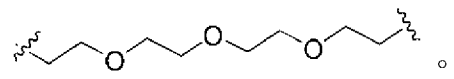
【0240】 在一些實施例中，L³為視情況經取代之C₁-C₅₀烷基(例如，C₃-C₃₀烷基、C₃-C₂₅烷基、C₃-C₂₀烷基、C₃-C₁₅烷基、C₃-C₁₀烷基、C₅-C₃₀烷基、C₅-C₂₅烷基、C₅-C₂₀烷基、C₅-C₁₅烷基及C₅-C₁₀烷基)或視情況經取代之C₁-C₅₀雜烷基(例如，C₃-C₃₀雜烷基、C₃-C₂₅雜烷基、C₃-C₂₀雜烷基、C₃-C₁₅雜烷基、C₃-C₁₀雜烷基、C₅-C₃₀雜烷基、C₅-C₂₅雜烷基、C₅-C₂₀雜烷基、C₅-C₁₅雜烷基及C₅-C₁₀雜烷基)。例示性C₁-C₅₀雜烷基為C₅-C₃₀聚乙二醇(例如，C₅-C₂₅聚乙二醇、C₅-C₂₀聚乙二醇、C₅-C₁₅聚乙二醇)。在某些實施例中，L³為C₅-C₂₅聚乙二醇、C₅-C₂₀聚乙二醇或C₅-C₁₅聚乙二醇。

【0241】 在一些實施例中，L³為視情況經取代之C₁-C₅₀雜烷基(例如C₁-C₄₀雜烷基、C₁-C₃₀雜烷基、C₁-C₂₀雜烷基、C₂-C₁₈雜烷基、C₃-C₁₆雜烷基、C₄-C₁₄雜烷基、C₅-C₁₂雜烷基、C₆-C₁₀雜烷基、C₈-C₁₀雜烷基、C₄雜烷基、C₆雜烷基、C₈雜烷基、C₁₀雜烷基、C₁₂雜烷基、C₁₆雜烷基、C₂₀雜烷基或C₂₄雜烷基)。

【0242】 在一些實施例中，L³為包含聚乙二醇(PEG)部分的視情況經取代之C₁-C₅₀雜烷基，該聚乙二醇部分包含1至20個氧化乙烯(-O-CH₂-CH₂-)單元，例如2個氧化乙烯單元(PEG2)、3個氧化乙烯單元(PEG3)、4個氧化乙烯單元(PEG4)、5個氧化乙烯單元(PEG5)、6個氧化乙烯單元(PEG6)、7個氧化乙烯單元(PEG7)、8個氧化乙烯單元(PEG8)、

9個氧化乙烯單元(PEG9)、10個氧化乙烯單元(PEG10)、12個氧化乙烯單元(PEG12)、14個氧化乙烯單元(PEG14)、16個氧化乙烯單元(PEG16)或18個氧化乙烯單元(PEG18)。

【0243】 在某些實施例中， L^3 為包含聚乙二醇(PEG)部分的視情況經取代之 C_{1-50} 雜烷基，該聚乙二醇部分包含1至20個氧化乙烯($-O-CH_2-CH_2-$)單元或其部分。例如， L^3 包含如下所示之PEG3：

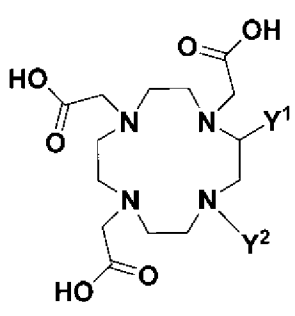


【0244】 在一些實施例中， L^3 為 $(CH_2CH_2O)_m(CH_2)_w$ ，且 m 及 w 各自獨立地為0與10之間的整數(含本數)，且 m 及 w 中之至少一者不為0。

【0245】 在一些實施例中， L^3 為經取代之 C_1-C_{50} 烷基或經取代之 C_1-C_{50} 雜烷基，取代基包含雜芳基(例如六員含氮雜芳基)。

【0246】 在一些實施例中， Z^1 為 CH_2 、 $C=O$ 或 NR^1 ；其中 R^1 為H、視情況經取代之 C_1-C_6 烷基、視情況經取代之 C_1-C_6 雜烷基、視情況經取代之芳基或視情況經取代之雜芳基。

【0247】 在某些實施例中， $A-L^1-(L^2)_n-B$ 可由式I-a表示，或其金屬錯合物：



式I-a

其中 Y^1 為 $-CH_2OCH_2(L^2)_n-B$ 、 $-C(O)(L^2)_n-B$ 或 $-C(S)(L^2)_n-B$ ，且 Y^2 為 $-CH_2CO_2H$ ；或其中 Y^1 為H，且 Y^2 為 $L^1-(L^2)_n-B$ 。

交聯基團

【0248】 在一些實施例中，化合物(例如，放射免疫結合物)係使用包含螯合物、連接基團及交聯基團之雙官能螯合物來合成。一旦形成化合物(例如，放射免疫結合物)，則交聯基團可不存在於化合物(例如，放射免疫結合物)中。

【0249】 在一些實施例中，化合物(例如放射免疫結合物)包含交聯基團而非靶向部分或除靶向部分以外(例如在一些實施例中，式I中之B包含交聯基團)。

【0250】 交聯基團為能夠藉由共價鍵接合兩個或更多個分子之反應性基團。交聯基團可用於將連接基團及螯合部分連接至治療或靶向部分。交聯基團亦可用於將連接基團及螯合部分活體內連接至目標。在一些實施例中，交聯基團為胺基反應性、甲硫胺酸反應性或硫醇反應性交聯基團，或包含分選酶識別序列。在一些實施例中，胺基反應性或硫醇反應性交聯基團包含活化酯(諸如羥基琥珀醯亞胺酯、2,3,5,6-四氟苯酚酯、4-硝基苯酚酯或亞胺酸酯)、酸酐、硫醇、二硫化物、順丁烯二醯亞胺、疊氮化物、炔烴、應變炔烴、應變烯烴、鹵素、磺酸酯、鹵乙醯基、胺、醯肼、二氮環丙烯、膦、四吡、異硫氰酸酯或氧氮環丙烷。在一些實施例中，分選酶識別序列可包含末端甘胺酸-甘胺酸-甘胺酸(GGG)及/或LPTXG胺基酸序列，其中X為任何胺基酸。一般熟習此項技術者應理解，交聯基團之使用不限於本文所揭示之特定構築體，而是可包括其他已知交聯基團。

醫藥組合物

【0251】 在一個態樣中，本發明提供包含本文所揭示之化合物的醫藥組合物。此類醫藥組合物可經調配用於多種藥物遞送系統。一或多種生理學上可接受之賦形劑或載劑亦可包括於醫藥組合物中以進行適當調配。

與本發明一起使用之適合相容調配物之非限制性實例包括 *Remington's Pharmaceutical Sciences*, Mack Publishing Company, Philadelphia, PA, 第17版, 1985中所描述之調配物。藥物遞送方法之簡要綜述參見例如 Langer (Science. 249:1527-1533, 1990)。

【0252】醫藥組合物可經調配用於本文所論述之多種投與途徑中之任一者(參見例如本文中之「投與及劑量」子部分), 涵蓋藉由諸如積存注射或可侵蝕植入物或組分之方式進行持續釋放投與。因此, 本發明提供包括溶解或懸浮於可接受之載劑中的本文所揭示之藥劑(例如放射免疫結合物)的醫藥組合物, 該可接受之載劑較佳為水性載劑, 例如水、緩衝水、生理鹽水或PBS等。在一些實施例中, 醫藥組合物含有醫藥學上可接受之輔助物質以接近生理條件, 諸如pH調節劑及緩衝劑、張力調節劑、潤濕劑或清潔劑等。在一些實施例中, 醫藥組合物經調配用於經口遞送, 且可視情況含有用於調配諸如錠劑或膠囊之單位劑型之惰性成分, 諸如黏合劑或填充劑。在一些實施例中, 醫藥組合物經調配用於局部投與, 且可視情況含有用於調配乳膏、軟膏、凝膠、糊劑或滴眼劑之惰性成分, 諸如溶劑或乳化劑。

【0253】在一些實施例中, 所提供之醫藥組合物藉由習知滅菌技術滅菌, 例如可經無菌過濾。所得水溶液可按原樣封裝使用或凍乾。凍乾製劑可例如在投與之前與無菌水性載劑組合。製劑之pH通常將在3與11之間, 更佳在5與9之間或在6與8之間, 且最佳在6與7之間, 諸如6至6.5。所得固體形式之組合物可例如以多個單次劑量單位封裝, 各單位含有固定量之上述一或多種藥劑, 諸如封裝於錠劑或膠囊之密封封裝中。固體形式之醫藥組合物亦可封裝於用於靈活量之容器中, 諸如封裝於經設計以用於局

部適用之乳膏或軟膏之可擠壓管中。

治療方法

【0254】 在一個態樣中，本發明提供治療方法，其包含向有需要之個體投與如本文所揭示之化合物(例如，放射免疫結合物)。

個體

【0255】 在一些所揭示之方法中，向個體投與療法(例如包含治療劑)。在一些實施例中，個體為哺乳動物，例如人類。

【0256】 在一些實施例中，個體患有癌症或有罹患癌症之風險。例如，個體可能已診斷出患有癌症。例如，癌症可為原發性癌症或轉移性癌症。個體可患有任何階段之癌症，例如I期、II期、III期或IV期，具有或不具有淋巴結受累及具有或不具有癌轉移。所提供之化合物(例如，放射免疫結合物)及組合物可預防或減少癌症之進一步生長及/或以其他方式改善癌症(例如，預防或減少癌轉移)。在一些實施例中，個體未患癌症但已確定有罹患癌症之風險，例如因為存在一或多個風險因素，諸如環境暴露、存在一或多個基因突變或變異體、家族病史等。在一些實施例中，個體尚未診斷出患有癌症。

【0257】 在一些實施例中，癌症為包含表現EGFR及cMET之細胞的任何癌症。在某些實施例中，癌症為肺癌、大腸直腸癌、胰臟癌或頭頸癌。

投與及劑量

【0258】 本文所揭示之化合物(例如，放射免疫結合物)及其醫藥組合物可藉由多種投與途徑中之任一者投與，包括全身及局部投與途徑。

【0259】 全身投與途徑包括非經腸途徑及經腸途徑。在一些實施例

中，化合物(例如，放射免疫結合物)或其醫藥組合物藉由非經腸途徑投與，例如靜脈內、動脈內、腹膜內、皮下、顱內或皮內。在一些實施例中，化合物(例如，放射免疫結合物)或其醫藥組合物經靜脈內投與。在一些實施例中，化合物(例如，放射免疫結合物)或其醫藥組合物藉由經腸投與途徑投與，例如經胃腸道或經口。

【0260】 局部投與途徑包括但不限於瘤周注射及瘤內注射。

【0261】 可投與醫藥組合物以用於放射治療計劃、診斷及/或治療性治療。當出於放射治療計劃或診斷目的投與時，可以診斷有效劑量及/或對確定治療有效劑量有效的量向個體投與化合物(例如，放射免疫結合物)。在治療性應用中，醫藥組合物可以足以治癒或至少部分遏制病症及其併發症之症狀的量投與已患有病狀(例如癌症)之個體(例如人類)。足以實現此目的之量定義為「治療有效量」，亦即足以實質上改善至少一種與疾病或醫學病狀相關之症狀的化合物之量。例如，在癌症治療中，減少、預防、延遲、抑制或遏制疾病或病狀之任何症狀的藥劑或化合物將為治療上有效的。治療有效量之藥劑或化合物不需要治癒疾病或病狀，但可例如提供對疾病或病狀之治療，使得疾病或病狀之發作延遲、受阻或預防，使得疾病或病狀症狀得以改善，或使得疾病或病狀之時期有所改變。例如，疾病或病狀可能變得不太嚴重及/或個體之恢復加速。在一些實施例中，以對放射治療計劃有效之量向個體投與第一劑量之化合物(例如，放射免疫結合物)或組合物，接著以治療有效量投與第二劑量或一組劑量之化合物(例如，放射免疫結合物)或組合物。

【0262】 為治療包含表現EGFR及cMET之細胞的癌症，本發明之方法通常包含以對放射治療計劃有效之量向有需要之個體(例如人類)投與第

一劑量之上文所提供之化合物或組合物，隨後以治療有效量投與後續劑量之上文所提供之化合物或組合物。

【0263】 在一些實施例中，以第一劑量投與之化合物或組合物與以第二劑量投與之化合物或組合物相同。

【0264】 在一些實施例中，以第一劑量投與之化合物或組合物與以第二劑量投與之化合物或組合物不同。

【0265】 治療有效量可視疾病或病狀之嚴重程度及個體之其他特徵(例如，體重)而定。用於個體(例如哺乳動物，諸如人類)之所揭示化合物(例如，放射免疫結合物)及組合物之治療有效量可由一般熟習此項技術者在考慮個體差異(例如，個體年齡、體重及狀況之差異)的情況下確定。

【0266】 在一些實施例中，所揭示化合物(例如，放射免疫結合物)表現出增強的靶向癌細胞之能力。在一些實施例中，所揭示化合物(例如，放射免疫結合物)之有效量比對未結合及/或非放射標記靶向部分之治療作用的等效劑量低(例如，小於或等於等效劑量之約90%、75%、50%、40%、30%、20%、15%、12%、10%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%、0.5%或0.1%)。

【0267】 可進行包括有效量之本文所揭示之醫藥組合物的單次或多次投與，劑量水平及模式由治療醫師選擇。劑量及投與時程可基於個體之疾病或病狀之嚴重程度來確定及調整，在整個治療過程中可根據臨床醫師通常實踐之方法或本文所描述之彼等方法進行監測。

【0268】 以下特定實例應理解為僅為說明性的，且無論如何不以任何方式限制本發明之其餘部分。

實例

實例1 - RAA22/B09 DuetMab設計及構築

【0269】 此實例描述產生能夠結合EGFR及c-Met兩者之雙特異性抗體分子。

1.1 抗cMET抗體0021U3-B09之分離及鑑別

【0270】 cMET特異性scFv抗體係在重組哺乳動物表現之生物素標記單體人類cMET (MedImmune)上之一系列重複淘選選擇循環中自大型原始人類scFV噬菌體呈現庫分離，基本上如(Vaughan，1996)所描述。來自第2輪選擇輸出之ScFv表現於細菌周質中，且在HGF:cMET HTRF® (均相時間解析螢光)配位體受體抑制結合分析中針對其抑制人類cMET受體與HGF配位體結合的能力篩選。選擇展現強抑制作用之最佳結果且對其進行DNA定序。獨特基因隨後轉化為人類免疫球蛋白G2 (IgG2)抗體且在哺乳動物細胞中產生，基本上如(Persic；1997)所描述。隨後基於經純化之抗體在HGF:cMET HTRF®結合分析中的抑制作用對其進行評級。選擇最有效的抗體0021U3-B09進行進一步表徵。

1.2 抗cMET抗體0021U3-B09之最佳化。

【0271】 為了將潛在免疫原性最小化，將0021U3-B09之可變構架區中之非游標(Vernier)構架殘基(Foote及Winter 1992)進行特異性靶向且變異以匹配最接近人類生殖系序列。在VH區，七個胺基酸殘基經突變以匹配參考人類生殖系序列IGHV1-8*01。在VL區中，三個殘基經突變以匹配參考人類生殖系序列IGKV1-5*03。VH及VL區中之所有殘基成功地變成生殖系殘基而不喪失活性。使用基於雜交之突變誘發方法對0021U3-B09進行親和力最佳化，基本上如(Kunkel 1985)所描述。使用標準分子生物學技術，藉由VH互補決定區3 (CDR3)之寡核苷酸定向突變誘發產生來

源於0021U3-B09序列之大型scFv庫。對庫進行基於親和力之溶液相選擇以選擇對人類及食蟹獼猴cMET抗原具有較高親和力之變異體。針對HGF:cMET HTRF®結合分析中之改良抑制活性，篩選來自靶向CDR之選擇輸出的含scFv周質粗提取物。對與親本0021U3-B09相比展現顯著改良之抑制作用的變異體進行DNA定序且將獨特基因轉化為人類IgG2。隨後基於純化抗體之抑制作用對其進行評級。選擇最有效的抗體B09-57進行進一步表徵。

1.3 抗EGFR抗體Tdev-0004之分離及鑑別

【0272】 EGFR特異性scFv抗體係在重組哺乳動物表現之生物素標記單體人類EGFR (MedImmune)上之一系列重複淘選選擇循環中自大型原始人類scFV噬菌體呈現庫分離，基本上如(Vaughan, 1996)所描述。針對在ELISA中與人類及食蟹獼猴EGFR之結合，篩選來自第3輪選擇輸出之呈現scFV噬菌體。選擇顯示交叉反應性之最佳結果且對其進行DNA定序。獨特基因隨後轉化為人類免疫球蛋白G1 (IgG1)抗體且在哺乳動物細胞中產生，基本上如(Persic; 1997)所描述。隨後藉由流動式細胞量測術基於經純化之抗體與表現EGFR之細胞株A431的結合對其進行評級。選擇展現特異性細胞結合之抗體Tdev-0004進行進一步表徵。

1.4 抗EGFR抗體Tdev-0004之最佳化。

【0273】 變異體RAA22及QD6係藉由最佳化抗EGFR Tdev-0004 mAb衍生。Tdev-0004之VL構架與參考人類生殖系序列IGLV2-11*01/IGLJ2具有100% 匹配 (參見 https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/igblast/Idlink.cgi?seqname=IGLV2-11*01&taxid=9606&dbname=IG_DB%2Fimgt.Homo_sapiens.V.f.orf.p)，然而，VH構架與最接近人類生殖系IGHV1-69*01/JH4具

有 79% 同源性 (參見 https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/igblast/Idlink.cgi?seqname=IGHV1-69*01&taxid=9606&dbname=IG_DB%2Fimgt.Homo_sapiens.V.f.orf.p)。為使潛在免疫原性最小化，首先藉由使所有 13 個非生殖系構架殘基突變來使 VH 區完全生殖系化。生殖系化後，完全生殖系化變異體與食蟹獼猴 EGFR 之結合顯著減弱。為恢復與食蟹獼猴 EGFR 之結合，選擇性回復突變四個非生殖系殘基 K68、I73、R76 及 T78。胺基酸殘基藉由 Kabat 編號系統 (Kabat 及 Wu 1991) 編號。所得部分生殖系化變異體 (命名為 H4) 用作親和力最佳化之模板序列。變異體 H4 根據製造商說明書，使用 QuikChange Lightning 多定點突變誘發套組 (Agilent) 藉由所有六個 CDR 之簡約突變誘發進行親和力最佳化。將單一胺基酸經突變誘發之 VH 及 VL 庫在細菌中表現為 Fab 片段且針對在 ELISA 中與人類及食蟹獼猴 EGFR 之改良結合篩選。對與親本 H4 相比展現改良之結合的變異體進行 DNA 定序且將獨特基因轉化為人類 IgG1。變異體 RAA22 經鑑別為 CDRH3 中具有單一突變。為了進一步提高親和力，將個別陽性突變合併以建立組合庫，該組合庫針對與人類及食蟹獼猴 EGFR 之結合增強的變異體經篩選。變異體 QD6 經鑑別為 CDRL2、CDRL3 及 CDRH3 中具有四個組合突變。

1.5 產生單價雙特異性抗 EGFR/cMET DuetMab 抗體。

【0274】 抗 cMET mAb B09-57 及抗 EGFR mAb RAA22 及 QD6 之可變域用於在 DuetMab 平台 (Mazor, 2015) 之主鏈上構築單價雙特異性抗 EGFR/cMET 抗體。具體而言，將抗 cMET B09-57 之 VH 基因插入攜帶「杵」突變 (T366W) 及替代鏈間半胱胺酸突變 (F126C 及 C219V) 之人類 γ -1 恆定重鏈中。B09-57 之 VL 基因同框插入人類 κ 恆定域中，該人類 κ 恆定域

攜帶經設計以與「杵」重鏈配對的相應的替代鏈間半胱胺酸突變(S121C及C214V)。類似地，將抗EGFR RAA22及親和力最佳化之QD6的VH基因插入至攜帶「臼」突變(T366S、L368A及Y407V)之人類 γ -1恆定重鏈中，而RAA22及B09-57之VL基因同框插入至經設計以與「臼」重鏈配對之人類 λ 恆定域中。此外，「杵」及「臼」重鏈之CH3域中之兩個殘基突變為半胱胺酸(「杵」中之S354C及「臼」中之Y349C)以形成穩定化二硫橋鍵。Fc域經進一步工程改造為在絲胺酸239 (C239i / 「Maia」)後攜帶半胱胺酸插入，其經設計以實現攜帶順丁烯二醯亞胺之細胞毒性藥物的位點特異性結合(Dimasi，2017)。胺基酸殘基藉由Kabat編號系統(Kabat及Wu 1991)編號。組裝之單價雙特異性抗EGFR/cMET DuetMab抗體表示為RAA22/B09-57及QD6/B09-57 (圖1)。DuetMab抗體如先前所描述由哺乳動物細胞產生(Mazor，2017)。

【0275】 亦公認若減少或移除Fc主鏈之效應功能，則有可能減輕免疫毒性且改良藥物動力學。因此，吾等亦引入先前已顯示降低抗體分子中之Fc效應功能的L234F/L235E/P331S (EU編號)之「三重突變體(TM)」(Organesyan，2008；Hay，2016)。此等TM構築體經工程改造以使得c-MET臂攜帶「臼」突變且EGFR臂攜帶「杵」突變。

【0276】 所產生之包含其中引入TM的來自RAA22及B09之可變區的「EGFR-cMET TM」DuetMab具有下表中所示之胺基酸序列：

	「EGFR-cMET TM」
EGFR重鏈	35
c-Met重鏈	36
EGFR輕鏈	37
c-Met輕鏈	38

實例2 - 生物化學及生物物理學特性

【0277】此實例測試 RAA22、QD6 及 B09-57 單株抗體及 RAA22/B09-57 及 QD6/B09-57 雙特異性抗體分子之各種生物化學及生物物理學特性，包括其分別與 EGFR 及 c-Met 之結合親和力及其其同時結合兩種抗原之能力。

2.1 DuetMab 及親本 mAb 對 EGFR 及 cMET 之結合親和力。

【0278】在 25°C 下藉由 SPR 在 BIAcore T200 儀器 (GE Healthcare, Pittsburgh, PA) 上使用抗體捕捉分析測定 EGFR-cMET DuetMAb 對於重組人類、食蟹獼猴及鼠類 EGFR 及 cMET 抗原的動力學速率常數 (k_{on} 及 k_{off}) 及平衡解離常數 (K_d)。小鼠抗人類 IgG 固定在具有約 2000 共振單位 (RU) 之最終表面密度的 CM4 感測器晶片上。亦在此感測器晶片上使用相同固定方案製備參考流動池表面。在儀器緩衝液 (HBS-EP 緩衝液；0.01 M HEPES, pH 7.4, 0.15 M NaCl, 3 mM EDTA, 及 0.005% P-20) 中製備 5-20 nM 測試及對照品抗體，以及在儀器緩衝液中經純化之 EGFR (0.27-200 nM 人類, 0.4-900 nM 食蟹獼猴, 及 4-1000 nM 鼠類) 或 cMET 蛋白 (0.27-66 nM 人類及 0.27-22 nM 食蟹獼猴) 的 3 倍連續稀釋液。利用連續方法進行動力學量測。首先以 10 μ L/分鐘之流動速率將抗體注射於捕捉表面。一旦所捕捉抗體之結合穩定，則將單一濃度之分析物以 75 μ L/分鐘之流動速率注射於捕捉及參考表面兩者。所得結合反應曲線產生結合期資料。注射分析物之後，隨後將流速切換回儀器緩衝液 15 分鐘以收集解離期資料，然後用 10 mM 甘胺酸 (pH 1.5) 脈衝 1 分鐘，以使晶片上所捕捉之抗體之表面再生。自各濃度之分析物的兩次注射，記錄針對測試及對照品抗體的結合反應。此外，在整個注射系列中穿插若干次緩衝液注射。選擇緩衝液與參考細胞反應一起使用，以校正注射假影及/或非特異性結合相互作用之原始

資料集，通常稱「雙重參考」。將所校正之結合資料全局擬合於1:1結合模型(Biacore T200評估軟體2.0，GE Healthcare，Pittsburgh，PA)。以 k_{off}/k_{on} 形式測定之所計算之動力學參數(k_{on} 及 k_{off})及Kd顯示於表1中。

表1 DuetMab及親本IgG對EGFR及cMET抗原之動力學				
抗體	抗原	$K_{on} (M^{-1} s^{-1})$	$K_{off} (s^{-1})$	Kd (nM)
RAA22 IgG	人類EGFR	4.41×10^4	2.06×10^{-3}	46.6
	食蟹獼猴EGFR	3.54×10^4	6.01×10^{-3}	169.8
	小鼠EGFR	4.03×10^4	1.90×10^{-2}	488.0
	人類cMET			
	食蟹獼猴cMET	在200 nM處未偵測到結合		
	小鼠cMET			
QD6 IgG	人類EGFR	1.48×10^5	2.92×10^{-4}	2.0
	食蟹獼猴EGFR	1.14×10^5	2.88×10^{-4}	2.5
	小鼠EGFR	1.67×10^5	7.35×10^{-4}	4.4
	人類cMET			
	食蟹獼猴cMET	未偵測到		
	小鼠cMET			
B09-57 IgG	人類EGFR			
	食蟹獼猴EGFR	在200 nM處未偵測到結合		
	小鼠EGFR			
	人類cMET	5.63×10^5	8.82×10^{-4}	1.6
	食蟹獼猴cMET	1.04×10^6	1.94×10^{-3}	1.9
	小鼠cMET	在200 nM處未偵測到結合		
RAA22/B09-57 DuetMab	人類EGFR	4.47×10^4	2.01×10^{-3}	45.0
	食蟹獼猴EGFR	2.78×10^4	5.48×10^{-3}	197.0
	小鼠EGFR	3.54×10^4	2.06×10^{-2}	575.4
	人類cMET	4.43×10^5	9.86×10^{-4}	2.2
	食蟹獼猴cMET	9.74×10^5	2.12×10^{-3}	2.2
	小鼠cMET	未偵測到		
QD6/B09-57 DuetMab	人類EGFR	6.35×10^4	3.74×10^{-4}	5.9
	食蟹獼猴EGFR	2.10×10^5	5.85×10^{-4}	2.8
	小鼠EGFR	1.26×10^5	7.80×10^{-4}	6.2
	人類cMET	4.25×10^5	6.96×10^{-4}	1.6
	食蟹獼猴cMET	9.58×10^5	2.06×10^{-3}	2.2
	小鼠cMET	未偵測到		

^aND：未偵測到。使用BIACore儀器對可溶性單體形式之EGFR及cMET進行動力學量測。Kd係以由資料之非線性擬合得到的 k_{off}/k_{on} 之比率加以計算。

【0279】自以上資料可見，雙特異性抗體分子QD6/B09-57以高親和力(約2 nM Kd)結合人類c-Met且以高親和力(約6 nM Kd)結合人類EGFR，而雙特異性抗體分子RAA22/B09-57以類似高親和力(約2 nM Kd)結合人類cMet，但與QD6/B09-57相比以較低親和力(約45 nM Kd)結合人類EGFR。

2.2 DuetMab與EGFR及cMET之同時結合

【0280】與重組人類EGFR及cMET蛋白之同時結合研究係藉由生物層干涉法在Octet384儀器上量測，基本上如(Mazor, 2015)所描述。簡言之，最初在NI-NTA生物感測器上捕捉分析緩衝液[$\text{PBS pH } 7.2$ ， 3 mg/mL 牛血清白蛋白(BSA)、 0.05% (v/v) Tween 20]中 $5 \text{ }\mu\text{g/mL}$ 之經His標記之cMET抗原。在移除任何未結合蛋白的洗滌步驟之後，各別裝載生物感測器首先與 66 nM 抗體且隨後與 500 nM EGFR抗原經歷連續結合及解離相互作用。使用Octet384軟體v.9.0由資料之非線性擬合計算結合及解離曲線。如圖2所示，DuetMab展現同時與兩種抗原結合，而親本抗cMET IgG展現僅與cMET特異性結合，且兩種抗EGFR IgG展現不與裝載cMET之感測器結合。

2.3 EGFR及cMet特異性

【0281】藉由ELISA測定EGFR及cMET物種旁系同源物及密切相關家族成員之特異性。簡言之，在PBS中製備 $1 \text{ }\mu\text{g/mL}$ 的抗原溶液且將50微升塗佈至一半面積之ELISA分析盤上。盤經洗滌且在室溫下用含有 0.005% Tween-20 (PBS-T)之 1% BSA/PBS阻斷一個小時。將孔在PBS-T中洗滌4次。如圖3所示，所使用之初級抗體為：R374 (非結合IgG1同型對照抗體)、B09 (抗cMET抗體)、QD6 (抗EGFR抗體)、RAA22 (抗EGFR

抗體)、QD6/B09 (雙特異性EGFR/c-MET DuetMAb)、RAA22/B09 (雙特異性EGFR/c-MET DuetMAb)、PaniX (抗EGFR抗體)、MetMab (抗cMET抗體)及Mab11311 (抗HER4抗體)。孔與50微升在PBS-T中以1:3稀釋系列稀釋之指定初級抗體一起保溫，在10 $\mu\text{g/mL}$ 開始且在0.002 $\mu\text{g/mL}$ 結束，除了HER4結合mAb對照MAB1131之外，其中該等系列在1 $\mu\text{g/mL}$ 開始。將孔在PBS-T中洗滌4次，隨後向各孔中添加在PBS-T中以1:5000稀釋的50 μl 異型絲抗人類Fab HRP標記之二級抗體，且在室溫下保溫一小時。將50微升TMB受質溶液添加至所有孔且在室溫下保溫5-30分鐘，直至在陽性對照孔中觀測到強信號。將50微升TMB停止溶液添加至所有孔且在SpectraMax M5微量盤讀取器上讀取450 nm處之吸光度。資料在SoftMax Pro 5軟體中進行分析且使用GraphPad Prism 7繪圖軟體進行繪圖。

【0282】為確定物種交叉反應性，如上文所描述進行ELISA分析。如圖3A所示，高親和力EGFR IgG、QD6以及單價雙特異性EGFR/cMET DuetMAb、QD6/B09與人類、食蟹獼猴及小鼠EGFR結合，且在ELISA分析中得到穩定信號。相比之下，與QD6相比，親和力較低之EGFR IgG RAA22與人類、食蟹獼猴及小鼠EGFR之結合更弱。與小鼠EGFR之結合較弱，但可偵測。相對於二價親本IgG、RAA22，相應單價雙特異性EGFR/cMET DuetMAb、RAA22/B09仍顯示與人類及食蟹獼猴EGFR之結合更弱，而與小鼠EGFR標稱結合。cMET IgG、B09以及所有雙特異性變異體均顯示類似於與人類及食蟹獼猴cMET之結合。未偵測到任何抗體與小鼠cMET之結合。此等結果與在BIAcore儀器上藉由表面電漿子共振量測所測定之結合動力學一致(上表1)。

【0283】如圖3B所示，親本IgG或衍生物雙特異性抗體未顯示與任

何EGFR HER家族蛋白HER2、HER3或HER4之顯著結合。類似地，抗體中無一者顯示與cMET家族成員、Ron (CD136)或Semaphorin 3a之顯著結合。

【0284】 此等結果顯示親本IgG及所得雙特異性抗體與其同源目標特異性結合，而與密切相關之家族物種無可偵測之結合。

實例3-使用pH敏感染料監測抗體內化及移行至酸化區室

【0285】 正常非腫瘤組織中之目標表現可導致毒性，其藉由減少至目標組織之有效負載遞送來減少抗體結合物之治療窗。本發明之化合物(例如放射免疫結合物)之雙特異性抗體或其抗原結合片段的設計意欲使結合物在展現極少或無目標共表現之正常組織中的影響降至最低，同時使抗體分子(亦即有效負載遞送媒劑)遞送至共表現兩個目標之腫瘤細胞的影響降至最低。為了評估使用EGFR親和力降低之雙特異性抗體(RAA22/B09)之雙重靶向是否提供相對於單目標接合的選擇性優點，吾等使用pH敏感染料標記之抗體進行研究以比較雙特異性mAb對比包含雙特異性之單價親本抗體的內化效率。

【0286】 使用經pHAb pH敏感染料(Promega)標記之抗體促進抗體內化及移行至酸化細胞內區室(諸如溶酶體及胞內體)之可視化。此染料在pH>7時表現出極低螢光，但在酸性pH下變成強烈螢光，在大約pH 5時達到最大值。簡言之，根據製造商的建議，用pHAb胺反應性染料標記抗體。經標記之抗體為：R347 IgG1同型對照、單價雙特異性對照抗體抗EGFR抗體RAA22/R347及抗cMET B09/R347，以及EGFR/cMET單價雙特異性抗體RAA22/B09。將共表現適當水平之EGFR (約33,000相對受體密度)及cMET (約50,000相對受體密度)的NCI-H1975肺癌細胞以100微升

體積以 2×10^5 個細胞/毫升之密度在補充有10%胎牛血清之RPMI生長培養基中接種至底部透明的黑壁96孔分析盤中。盤在含濕氣保溫箱中在37℃及5% CO₂下培養隔夜。隨後將盤在冰上冷卻30分鐘，隨後在預冷卻生長培養基中添加不同濃度的pHAb標記之雙特異性及單價對照抗體。將培養物在冰上再冷卻30分鐘，且隨後使用Cy3濾波器在Operetta高內涵成像系統上讀取螢光且將此初始讀數指定為時間零。將盤移回至37℃保溫箱且在3、6、24、30及48小時獲取額外讀數。

【0287】 使用1.25 µg/mL pHAb標記之mAb處理NCI H1975細胞之代表性內化實驗如圖4所示。非結合IgG1同型對照抗體R347在任何時間點皆未顯示可偵測之螢光。EGFR/cMET雙特異性抗體RAA22/B09在3小時後顯現細胞內螢光且螢光強度持續增加至處理後48小時。單價EGFR結合對照抗體RAA22/R347在24小時開始顯示極弱的螢光，其在48小時無顯著增加。單價單特異性cMET結合對照抗體B09/R347在24小時顯示適度的螢光，在48小時進一步增加。然而，與雙特異性RAA22/B09相比，單特異性cMET抗體之螢光信號強度適中，表明雙特異性抗體比此處所測試之雙重目標表現細胞株中之單特異性親本抗體具有更高的內化效率。當用0.625 µg/mL之pHAb標記之mAb處理細胞時，雙特異性抗體與單特異性對照之間的差異甚至更加顯著(圖5)。單特異性抗體顯示極少螢光，即使在48小時亦是如此，而雙特異性RAA22/B09抗體在3小時再次顯示細胞內螢光且螢光強度持續增加至處理後48小時。此等結果與雙重靶向雙特異性抗體介導有效內化至共表現EGFR及cMET兩者之細胞中的假設一致。同時，與雙特異性抗體相比，單特異性親本抗體顯示減少之攝取及螢光強度。此等結論之邏輯延伸表明雙特異性抗體在僅表現一個而不是兩個目標

之組織中可表現得更像單特異性抗體，此通常適用於EGFR及cMET。特別值得注意的是，標記為降低親和力EGFR對照mAb RAA22/R347之pHAb表現出可忽略的攝取及螢光。此降低之與EGFR之結合可使抗體結合物在表現顯著水平之EGFR但極少或無cMET表現的正常組織(諸如皮膚)中之影響降至最低。

實例4-使用共聚焦顯微鏡監測抗體內化

【0288】 使用活細胞共焦螢光顯微鏡術活體外評估經標記DuetMab：RAA22/B09及QD6/B09抗體之內化動力學。

4.1 材料及方法

【0289】 H1975 及 HCC827 細胞來自 ATCC。RAA22/B09、QD6/B09及單臂衍生物係來自MedImmune。QD6/B09及單臂特異性對照QD6/IgG及B09/IgG (其中IgG Fab臂來源於非特異性人類IgG1 NMGC)係來自MedImmune。RAA22/B09及來源於非特異性人類IgG1 R347之單臂特異性對照RAA22/IgG及B09/IgG係來自MedImmune。RPMI (11875-093)、HEPES (15630106)、丙酮酸鈉(11360070)、AlexaFluor® 647 (A-20186)單株抗體標記套組、Zeba™旋轉脫鹽柱(87767)及CellTracker™ Blue CMAC (C2110)係來自Life Technologies (Carlsbad, CA)。Accutase細胞分離溶液(423201)係來自BioLegend (San Diego, CA)。HyClone熱滅活胎牛血清(SH30071.03HI)係來自GE Life Sciences (Marlborough, MA)。PBS (21-040)係來自Corning Incorporated (Corning, NY)。FcR阻斷試劑(130-059-901)係來自Miltenyi Biotec Inc. (Auburn, CA)。聚丙烯圓底試管(352063)係來自BD Biosciences (San Jose, CA)。CellCarrier384孔微量板係來自PerkinElmer Inc. (目錄號

6007550, Waltham, MA)。

製備AlexaFluor結合物

【0290】 根據製造商之說明，使用抗體標記套組，使單株抗體與AlexaFluor-647染料結合。簡言之，將50-100微克抗體在碳酸氫鈉緩衝液(pH=8.3)中與反應性染料試劑在室溫下輕微攪拌下保溫1小時。根據製造商之說明，使用帶有1X PBS平衡之40K MWCO的Zeba™旋塗脫鹽柱藉由尺寸排阻層析移除未併入之染料。

培養及製備用於染色之細胞

【0291】 使用含有10%胎牛血清(FBS)之培養基RPMI-1640在CO₂保溫箱中在T-75培養瓶中將黏附H1975或HCC827細胞培養至初始接種後的80-90%融合。在實驗當天，使Accutase將在T-75燒瓶中生長之黏附單層解離成細胞懸浮液。以300xg離心5分鐘，使用1xPBS將經分離之細胞洗滌兩次。隨後，將細胞以 2×10^6 個細胞/毫升之濃度再懸浮於無苯酚RPMI中且用於染色。

用於成像之細胞染色

【0292】 將 2×10^6 個細胞/毫升之細胞懸浮液與1 μ M在無苯酚RPMI中在37°C下在CO₂保溫箱中製備之CellTracker™ Blue CMAC一起保溫30分鐘。在4°C下以300xg離心5分鐘，藉由使用無苯酚RPMI洗滌兩次移除未併入之CellTracker™ Blue CMAC染料。隨後將細胞在冰上冷卻且用每 1×10^6 個細胞之10 μ l FcR阻斷劑阻斷15分鐘。將 2×10^5 個細胞等分至5 mL圓底試管中且與最終濃度為2.5 μ g/mL之螢光抗體一起保溫。在4°C下藉由離心移除未結合之螢光試劑後，將細胞再懸浮於含有100 mM HEPES、1 mM丙酮酸鈉及1% FBS之無苯酚RPMI中。以每孔5,000個細胞之密度將

細胞轉移至384孔成像盤之多個孔中，且在4°C下以2,200 rpm短暫離心2分鐘，隨後進行圖像採集。

使用共焦螢光顯微鏡術採集細胞圖像

【0293】 成像盤(384孔格式)中之染色細胞成像於如先前所描述之Opera共焦螢光成像系統上(Vainshtein, 2015)或轉移至具有40X/1.2NA LCIPlan Apo物鏡之Zeiss Axio Observer.Z1倒置顯微鏡上(Carl Zeiss Microscopy, Thornwood, NY)。對於使用Zeiss顯微鏡之實驗，使用保溫箱XLmulti S DARK (PeCon GmbH, Erbach, Germany)將成像環境保持在37°C、5% CO₂及70%濕度。樣品由405、488、561及63 nm固態雷射(Carl Zeiss Microscopy, Thornwood, NY)照射。使用帶有Evolve 512 EMCCD (Photometrics, Tuscon, AZ)之Yokogawa CSU-X1 Spinning Disk Unit (Yokogawa Electric Corporation, Tokyo, Japan)在指定時間採集一系列影像。在圖像採集之前，使用染色細胞之等分試樣測定曝光參數，諸如雷射功率、曝光時間、相機增益等。使用ZEN 2.3 (Carl Zeiss Microscopy, Thornwood, NY)處理影像且使用Columbus軟體(PerkinElmer, Waltham, MA)分析。

內化圖像分析算法

【0294】 先前(Vainsthein, 2015)已描述用於抗體內化量化的算法，其具有以下更新及修改。用於迭代圖像處理之參考通道來源於細胞之CellTracker™ Blue CMAC (CTB)染色。信號通道仍來源於成像器之抗體-AlexaFluor-647通道。藉由算法使用算法定義之參數處理圖像，該等參數最初設定為預設值，且隨後針對各細胞類型及實驗進行最佳化。圖像之CTB染色用於識別細胞，使用定限以偵測圖像上強度高於其周圍之區域，

排除螢光強度信號低於定限的區域。剩餘經識別之細胞對象指定為「總細胞」。在形態特性區域($120\text{-}600\text{ }\mu\text{m}^2$ 之間的對象)及圓度(>0.5)上進一步選擇過濾細胞。隨後使用算法定義之參數圍繞對象邊界構築所接受細胞中之「膜區域」及「細胞質區域」。各區域中之螢光強度用於監測抗體相關之AlexaFluor-647信號。各區域之螢光強度報導為所接受細胞中所有像素之總和的平均值。

【0295】 細胞質中抗體相關之螢光的積聚用於量化抗體內化之動力學。為確保由細胞染色及螢光強度中之變化所致的結果之可比較性，在各時間點藉由總細胞信號標準化細胞質信號且使用以下等式指定為內化分數：內化分數=強度(細胞質) / (強度(細胞質)+強度(膜))。使用以下等式藉由資料之曲線擬合自內化時程計算內化速率常數 k_{int} ： $F_{cyt}(t) = (1 - e^{-k_{int} \cdot t}) \cdot F_{max, cyt}$ ，其中 $F_{max, cyt}$ 為每個細胞之細胞質強度與每個細胞之總強度的最大比率。使用GraphPad Prism (GraphPad Software，La Jolla，CA)進行資料之曲線擬合。內化之半衰期($T_{1/2}$)計算為 $\ln(2)$ 與 k_{int} 之比率。

4.2 RAA22/B09及QD6/B09之活體外內化

【0296】 AlexaFluor647 (AF647)主要標記之DuetMab的內化動力學：使用表現EGFR及c-MET之細胞株H1975在活體外評估RAA22/B09及QD6/B09抗體。各抗體預結合至細胞且隨後使用活細胞共焦螢光顯微鏡術監測抗體自細胞表面至細胞質的移位。**圖6**顯示兩種抗體在經受內化條件前($T=0$)主要位於細胞表面上且在1小時後($T=1\text{ h}$)移位至細胞質區域(藍色)。在內化時程中每5分鐘採集動力學圖像，且使用定量算法(參見上文)處理以測定內化動力學常數及半衰期。**圖6B**顯示QD6/B09及RAA22/B09之極相似的內在動力學，半衰期分別為 $37.5 \pm 10.6\text{ min}$ 及 43.2 ± 15.5 。

【0297】 為了評估抗體內化之模式且研究各臂對DuetMab之整體內化的貢獻，吾等評估單臂特異性對照抗體分子QD6/IgG及B09/IgG相對於雙重QD6/B09，以及RAA22/IgG及B09/IgG相對於雙重RAA22/B09在表現EGFR及c-MET兩者之H1975細胞中的內化。因為僅一個臂對目標受體具有特異性，所以對照抗體僅可經由一個受體內化，該受體消除雙受體靶向及交聯作為內化模式。

【0298】 QD6/B09 (圖7A)及RAA22/B09 (圖7B)之內化曲線呈現相似的模式，即膜mAb-Fl647信號一致減少，細胞質中之mAb-AF647信號相應增加，此為內化之典型曲線。然而，其單臂構築體顯示極其不同的內化曲線。單臂QD6/IgG具有與QD6/B09 DuetMab幾乎相同的內化時程(圖7A，左側圖及中間圖)，表明QD6/B09雙重之內化主要由分子之EGFR臂驅動，其中B09臂之貢獻最小。實際上，B09/IgG構築體顯示極小內化水平(圖7B，右側圖)。膜信號之快速及廣泛減少對應於細胞質信號之非常適中的增加，其可能歸因於預結合之B09/IgG自細胞表面上之c-MET受體廣泛解離。抗體解離隨後引起B09/IgG之適度內化。此等結果顯示QD6/B09雙重之內化主要由分子之EGFR臂驅動，其中B09臂之貢獻最小。

【0299】 相比之下，RAA22/B09 DuetMab在與其單臂對照抗體相比時顯示非常不同之內化曲線。如圖7B所示，RAA22/B09 DuetMab之細胞質強度值比RAA22-IgG及B09-IgG分別高10.98及4.70倍。雖然B09/IgG之低效內化可歸因於其明顯的解離(如上文所論述)，但RAA22/IgG確實經歷了快速內化。然而，由於EGFR臂之親和力較低，RAA22/IgG分子之數量比RAA22-B09 DuetMab小10.98倍(基於螢光強度)。與單臂構築體相比，進入細胞質的雙重RAA22/B09 mAb之量顯著增加，表明兩個抗體臂

必須與目標受體接合以驅動內化。此發現表明QD6/B09及RAA22/B09 DuetMab具有不同的內化機制，其中QD6/B09主要由EGFR臂驅動，但RAA22/B09需要EGFR及c-MET臂兩者接合。

4.3 RAA22/B09在具有不同目標受體水平之細胞株中的內化

【0300】 由於EGFR及c-MET臂兩者與目標受體之結合促進H1975細胞中RAA22/B09受體內化，所以吾等檢查了EGFR及c-MET受體數目之增加是否會影響內化特性。藉由西方墨點法(Western Blot)測定之各別受體水平為：在H1975細胞中EGFR為約33,000且c-MET為約50,000，在HCC827細胞中EGFR為約790,000且c-MET為約523,000。H1975 (中受體)及HCC827 (高受體)細胞中RAA22/B09之內化曲線顯示在HCC827細胞中內化顯著增加(圖8)。

【0301】 正如EGFR及c-MET RAA22/B09整體水平各別增加23.9倍和10.4倍所預期，與HCC827細胞之結合平均比H1975高8.9倍($T=0$ ， 3.1×10^7 MFI對比 3.5×10^6 MFI)。HCC827細胞中之內化水平(根據峰值細胞質強度判斷)高21.7倍，表明在表現高水平之目標受體的細胞中，進入細胞質之抗體濃度顯著較高。重要的是，除明顯不同的強度以外，HCC827與H1975細胞之間的內化曲線(隨時間變化的膜及細胞質信號)亦顯著不同。在高表現HCC827細胞中，RAA22/B09-AF647膜信號之降低對應於RAA22-B09細胞質信號之相互增加，其中總RAA22/B09信號在時程內保持不變，表明雙臂抗體與兩個受體之強烈相互作用及隨後內化。在H1975細胞中，總強度及膜強度同時降低，表明預結合抗體之部分可能已自細胞表面解離且未能內化至細胞內。對於RAA22/IgG及B09/IgG在HCC827細胞中之內化，觀測到指示解離之類似特徵，其中單臂接合未顯

現有效結合且易於解離(圖9A及圖9B)。此資料表明當RAA22/B09在H1975細胞中進行內化時，存在受體相互作用之混合模式(單臂及雙臂接合)。總之，此等資料表明目標細胞受體表現量為RAA22/B09內化程度及效率的重要決定因素。

實例5.放射性藥品之一般材料及方法

【0302】 銾-177作為0.05 N鹽酸溶液中之三氯化銾可獲自ITM Medical Isotopes；銾-111，作為0.05 N鹽酸溶液中之三氯化銾，可獲自BWXT；且銾-225作為三硝酸銾-225可獲自Oak Ridge National Laboratories或作為三氯化銾-225獲自Canadian Nuclear Laboratories。

【0303】 分析型HPLC-MS可使用Waters Acquity HPLC-MS系統進行，該系統由Waters Acquity Binary溶劑管理器、Waters Acquity樣品管理器(樣品冷卻至10℃)、Waters Acquity管柱管理器(管柱溫度30℃)、Waters Acquity光二極體陣列偵測器(在254 nm及214 nm處監測)、具有電噴霧電離之Waters Acquity TQD及Waters Acquity BEH C18 2.1×50 (1.7 μm)管柱構成。可使用包含Waters 1525 Binary HPLC泵、Waters 2489 UV/可見光偵測器(在254 nm及214 nm處監測)及Waters XBridge Prep phenyl或C18 19×100 mm (5 μm)管柱之Waters HPLC系統進行製備型HPLC。

【0304】 HPLC溶離方法1：Waters Acquity BEH C18 2.1×50 mm (1.7 μm)管柱；移動相A：H₂O (0.1% v/v TFA)；移動相B：乙腈(0.1% v/v TFA)；流動速率= 0.3 mL/min；初始= 90% A，3-3.5 min = 0% A，4 min = 90% A，5 min = 90% A。

【0305】 HPLC溶離方法2：Waters XBridge Prep Phenyl 19×100

mm (5 μ m)管柱；移動相A：H₂O (0.1% v/v TFA)；移動相B：乙腈(0.1% v/v TFA)；流動速率：10 mL/min；初始= 80% A，13 min = 0% A。

【0306】 HPLC溶離方法3：Waters Acquity BEH C18 2.1×50 mm (1.7 μ m)管柱；移動相A：H₂O (0.1% v/v TFA)；移動相B：乙腈(0.1% v/v TFA)；流動速率= 0.3 mL/min；初始= 90% A，8 min = 0% A，10 min = 0% A，11 min = 90% A，12 min = 90% A。

【0307】 HPLC溶離方法4：Waters XBridge Prep C18 OBD 19×100 mm (5 μ m)管柱；移動相A：H₂O (0.1% v/v TFA)；移動相B：乙腈(0.1% v/v TFA)；流動速率：10 mL/min；初始= 80% A，3 min = 80% A，13 min = 20% A，18 min = 0% A。

【0308】 HPLC溶離方法5：Waters XBridge Prep C18 OBD 19×100 mm (5 μ m)管柱；移動相A：H₂O (0.1% v/v TFA)；移動相B：乙腈(0.1% v/v TFA)；流動速率：10 mL/min；初始= 90% A，3 min = 90% A，13 min = 0% A，20 min = 0% A。

【0309】 HPLC溶離方法6：Waters XBridge Prep C18 OBD 19×100 mm (5 μ m)管柱；移動相A：H₂O (0.1% v/v TFA)；移動相B：乙腈(0.1% v/v TFA)；流動速率：10 mL/min；初始= 75% A，13 min = 0% A，15 min = 0% A。

【0310】 HPLC溶離方法7：Waters XBridge Prep C18 OBD 19×100 mm (5 μ m)管柱；移動相A：H₂O (0.1% v/v TFA)；移動相B：乙腈(0.1% v/v TFA)；流動速率：10 mL/min；初始= 80% A，12 min = 0% A，15 min = 0% A。

【0311】 HPLC溶離方法8：Waters XBridge Prep C18 OBD 19×100

mm (5 μ m)管柱；移動相A：H₂O (0.1% v/v TFA)；移動相B：乙腈(0.1% v/v TFA)；流動速率：10 mL/min；初始= 90% A，12 min = 0% A，15 min = 0% A。

【0312】分析型尺寸排阻層析(SEC)可使用Waters系統進行，該系統包含Waters 1525 Binary HPLC泵、Waters 2489 UV/可見光偵測器(在280 nm處監測)、Bioscan Flow Count放射性偵測器(FC-3300)及TOSOH TSKgel G3000SWxl 7.8×300 mm管柱。等度SEC方法可具有例如mL/min之流動速率，移動相為0.1 M磷酸鹽、0.6 M NaCl、0.025%疊氮化鈉，pH = 7。

【0313】可使用MALDI Bruker Ultraflex extreme 光譜儀來進行MALDI-MS (正離子)。

【0314】放射性薄層層析(放射性TLC)可用Bioscan AR-2000成像掃描儀進行，且可在iTLC-SG玻璃微纖維層析紙(Agilent Technologies，SGI0001)盤上使用檸檬酸鹽緩衝液(0.1 M，pH 5.5)進行。

實例6. 4-{[11-側氧基-11-(2,3,5,6-四氟苯氧基)十一基]胺甲醯基}-2-[4,7,10-參(羧甲基)-1,4,7,10-四氮雜環十二烷-1-基]丁酸(化合物B)之合成

【0315】雙官能螯合物4-{[11-側氧基-11-(2,3,5,6-四氟苯氧基)十一基]胺甲醯基}-2-[4,7,10-參(羧甲基)-1,4,7,10-四氮雜環十二烷-1-基]丁酸(化合物B)可根據圖11中所提供之流程合成。向5-(三級丁氧基)-5-側氧基-4-(4,7,10-參(2-(三級丁氧基)-2-側氧基乙基)-1,4,7,10-四氮雜環十二烷-1-基)戊酸(DOTA-GA-(tBu)₄，50 mg，0.07 mmol)於ACN (2.0 mL)中之溶液中添加DSC (50 mg，0.21 mmol)，接著添加吡啶(0.20 mL，2.48 mmol)。將反應物在室溫下攪拌1小時。在室溫下，向反應混合物中添加

11-胺基十一烷酸(70 mg, 0.36 mmol), 接著添加PBS溶液(1.0 mL)。將反應物在室溫下攪拌72小時。反應混合物用針筒過濾器過濾且藉由製備型HPLC使用方法6直接純化, 得到中間物2-A。

【0316】 在室溫下, 向中間物2-A (40 mg, 0.03 mmol)、TFP (90 mg, 0.54 mmol)及EDC (40 mg, 0.27 mmol)於ACN (1.0 mL)中之溶液中添加吡啶(0.05 mL, 50 mg, 0.62 mmol)。將溶液在室溫下攪拌24小時。反應物藉由製備型HPLC使用方法7直接純化, 在使用Biotage V10快速蒸發器濃縮後得到呈蠟狀物之中間物2-B。

【0317】 將中間物2-B溶解於DCM/TFA (1.0 mL/2.0 mL)中, 且將其在室溫下攪拌24小時。反應物藉由空氣流濃縮且藉由製備型HPLC使用方法8直接純化, 濃縮後得到呈透明蠟狀物之化合物B。藉由HPLC-MS分離方法3分析等分試樣。

【0318】 ^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ 7.99 - 7.88 (m, 1H), 7.82 (t, J = 5.5 Hz, 1H), 3.78 (broad s, 4H), 3.43 (broad s, 12H), 3.08 (broad s, 4H), 3.00 (m, 3H), 2.93 (broad s, 3H), 2.77 (t, J = 7.2 Hz, 2H), 2.30 (broad s, 2H), 1.88 (broad s, 2H), 1.66 (p, J = 7.3 Hz, 2H), 1.36 (m, 4H), 1.32 - 1.20 (m, 9H)。

實例7. 4- {[2-(2-{2-[3-側氧基-3-(2,3,5,6-四氟苯氧基)丙氧基]乙氧基}乙氧基)乙基]胺甲醯基}-2-[4,7,10-參(羧甲基)-1,4,7,10-四氮雜環十二烷-1-基]丁酸(化合物C)之合成

【0319】 雙官能螯合物4- {[2-(2-{2-[3-側氧基-3-(2,3,5,6-四氟苯氧基)丙氧基]乙氧基}乙氧基)乙基]胺甲醯基}-2-[4,7,10-參(羧甲基)-1,4,7,10-四氮雜環十二烷-1-基]丁酸(化合物C)可根據圖12中所提供之流程

合成。

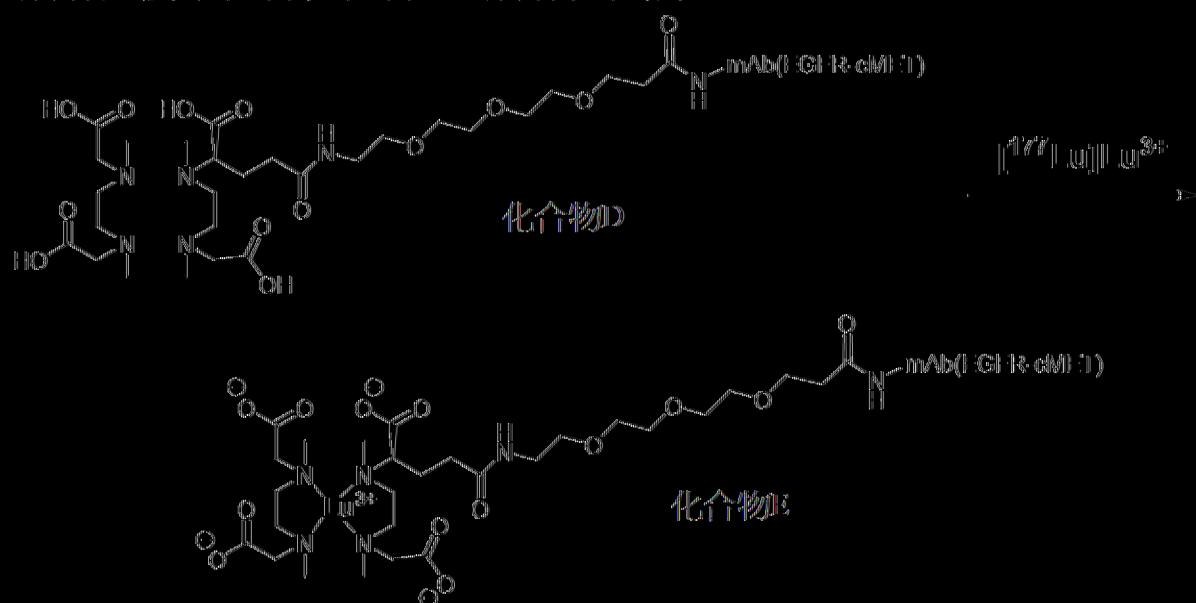
【0320】 向5-(三級丁氧基)-5-側氧基-4-(4,7,10-參(2-(三級丁氧基)-2-側氧基乙基)-1,4,7,10-四氮雜環十二烷-1-基)戊酸(DOTA-GA(tBu)₄ , 100 mg , 0.143 mmol)於ACN (8.0 mL)中之溶液中添加DSC (73 mg , 0.285 mmol)及吡啶(0.80 mL , 9.89 mmol)。將反應混合物在環境溫度下攪拌90分鐘。將此溶液添加至100 mL圓底燒瓶中之胺基-PEG3-酸之半溶液(63 mg , 0.285 mmol於1.2 mL DMF中)中。在環境溫度下4小時後，反應物藉由在空氣流下濃縮至乾燥來處理。粗物質藉由HPLC溶離方法2純化(將粗物質溶解於6 mL之20% ACN/H₂O中)。合併含有產物之溶離份且真空濃縮，且接著與ACN (3 × 2 mL)共蒸發。

【0321】 向含有中間物1-A (82 mg , 60 μmol)之小瓶中添加ACN (2 mL)、NEt₃ (50 μL , 360 μmol , 6當量)、HBTU (23 mg , 60 μmol , 1當量)及TFP溶液(50 mg , 300 μmol , 5當量，溶解於250 μL ACN中)。將所得澄清溶液在環境溫度下攪拌3小時。反應物藉由在空氣流下將溶液濃縮至乾燥來處理，且接著用ACN/H₂O (1:1，總計3 mL)稀釋，且經由製備型HPLC使用溶離方法4純化。合併含有產物之溶離份且真空濃縮，且接著與ACN (3 × 2 mL)共蒸發。獲得呈透明殘餘物之中間物1-B。

【0322】 向含有中間物1-B (67 mg , 64 μmol)之小瓶中添加DCM (2 mL)及TFA (2 mL)。將所得溶液在環境溫度下攪拌16小時。再添加TFA (2 mL)，且將反應物在環境溫度下攪拌6小時。將反應物在空氣流下濃縮至乾燥，粗產物最終溶解於ACN/H₂O (1 mL之10% ACN/H₂O)中。粗反應溶液隨後藉由製備型HPLC使用溶離方法5純化。合併含有產物之溶離份，冷凍且凍乾。獲得呈白色固體狀之化合物C。藉由HPLC-MS溶離方法3分

溶液裝載至5 mL Cytiva HiTrap Butyl HP (HIC)濾筒上(HIC濾筒首先用含有吐溫的乙酸鈉緩衝鹽水(SABST; 50 mL)預處理,接著用乙酸鉍溶液(50 mL; 0.42 g/mL)預處理。用乙酸鉍溶液(10 mL)洗滌HIC濾筒,隨後用SABST (約10 mL)溶離產物。將產物溶液用SABST稀釋至約15 mL,且裝載至經SABST (250 mL)預處理之Cytiva 15 mL HiPrep 26/10脫鹽濾筒上。使用SABST (約16 mL)溶離產物溶離份,得到透明無色液體,其中使用尺寸排阻層析-高效液相層析(SEC-HPLC)之分析指示形成化合物D (15.9 mL, 14.8 mg/mL, 234.9 mg, 78%)。使用基質輔助雷射解吸電離飛行時間(MALDI-TOF)質譜法測定5.3之螯合物對抗體比率(CAR),且由EGFR-cMET抗體與免疫結合物化合物D之間的質量對電荷比率之差計算。

8.2 放射免疫結合物化合物E之放射性合成



[0325] 向1.5 mL埃彭道夫管(Eppendorf tube)中裝入化合物D (0.100 mL; 2.00 mg/mL; 0.200 mg)之SABST溶液,接著裝入 $[^{177}\text{Lu}]\text{LuCl}_3$ (2.2mCi)之0.04 M HCl溶液。在室溫下20分鐘後,反應混合物(矽膠(SG)盤, 0.02 M檸檬酸鹽緩衝液(5% MeOH)作為移動相)之HPLC

指示形成化合物F (448 μL , 0.680 mg/mL , 0.053 mCi/mg比活性 , >99%放射化學純度 , 及>99%化學純度)。

實例9. [^{177}Lu]-化合物C-抗EGFR-cMET結合物之活體外結合

【0327】 進行研究以評估[^{177}Lu]-化合物C-抗EGFR-cMET結合物(亦即化合物E)與四種不同細胞株：HCC827細胞、HT29細胞、H441細胞及H1975細胞之受體結合親和力。此研究遵循下文所描述之程序。

【0328】 此分析之目的係確保放射免疫結合物保持包括HT29、H441、HT29、HCC827及H1975之表現EGFR及/或cMET之細胞株中原生抗體的結合特徵。在實驗前一天，將細胞($1.5\text{-}2\times 10^5$)接種於含500 μL 補充培養基之48孔微量盤中。在分析開始時，細胞用PBS洗滌一次，且隨後在不存在及存在4 μM 冷性抗體的情況下用增加濃度之化合物E (0.05 nM至100 nM)處理[分別為總結合(TB)及非特異性結合(NSB)]。盤在4 $^{\circ}\text{C}$ 下輕微振盪培育約3小時。在培育之後，細胞用PBS洗滌兩次且隨後用1% Triton-X-100裂解。將裂解物轉移至 γ 計數管且與化合物E標準物一起在Wizard 1470 γ 計數器上運行以測定各裂解物之放射性的量(以每分鐘計數(CPM)計)。使用標準蛋白定量分析來分析來自各孔(25 μL)之剩餘裂解物的蛋白含量。

【0329】 針對結合物濃度繪製總和、特異性及非特異性結合值(fmol/mg)，如圖14A至圖14B中示出。Kd及Bmax藉由特異性結合資料與單點雙曲線模型之曲線擬合導出(Graph Pad Prism軟體，第9版)。結合資料顯示Kd之所需值。在HCC827 (2861 ± 207)及HT29 (2351 ± 237)中觀測到最高Bmax (fmol/mg)，隨後H441 (1195 ± 153)及H1975 (498 ± 42)。

【0330】 觀測到，EGFR-cMET結合物，亦即化合物E表現出與

HCC827細胞之約9.9 nM、用HT29細胞之約5.7 nM、用H441細胞之約15.5 nM及用H1975細胞之約6.0 nM的高結合親和力。

實例10. [^{177}Lu]-化合物C-抗EGFR-cMET結合物之內化結合

【0331】 此內化分析經設計以測定放射性標記-連接基團抗體衍生物之細胞保留程度。該分析依賴於EGFR-cMET受體在結合至抗體時內化之固有能力及追蹤放射性標記化合物之能力。此處，恆定量之放射免疫結合物與四種不同細胞株一起培育固定持續時間且藉由計算內化放射性之量作為總細胞相關放射強度之百分比測定殘餘化。

【0332】 進行研究以根據下文所描述之方案評估[^{177}Lu]-化合物C-抗EGFR-cMET結合物(亦即化合物E)與四種不同細胞株：HCC827細胞、HT29細胞、H441細胞及H1975細胞之內化。

【0333】 此分析經設計以測定放射免疫結合物化合物E之細胞保留程度。簡言之，將上述細胞株以 3×10^5 個細胞/孔之濃度接種於三個含完全培養基之24孔盤中(0小時、2小時及24小時培育時間)。次日，傾析培養基，細胞用無菌PBS洗滌一次，且隨後在37°C下用化合物E (10 nM)處理2-3小時。在培育後，立即將所有盤置於冰上且將培養基丟棄至經預先標記之(非結合) γ 計數管中。細胞用無菌PBS洗滌一次，平緩振盪且傾析至(未結合標記之) γ 管中。在4°C下將強酸性洗滌緩衝液(pH 2.5, 500 μL)添加至0小時時間點持續5分鐘，且隨後將緩衝液收集至預標記(膜結合) γ 計數管中。隨後在室溫下用300 μL 1% Triton X-100平緩振盪細胞裂解30分鐘。將250 μL 細胞裂解物轉移至 γ 計數管中且計數10分鐘。在4°C下，將弱酸洗滌緩衝液(pH 4.6, 500 μL)添加至2小時及24小時盤中保持15分鐘。隨後將緩衝液收集至預標記(膜結合) γ 計數管中。將1 mL之升溫培養

基添加至盤中以分別在37°C下進一步培育2及24小時。在規定培育時間之後，將盤置於冰上且以以下方式處理-傾析培養基且收集至預標記(流出) γ 管中。隨後用1 ml冷PBS洗滌盤一次且添加至流出管中。將強酸性洗滌緩衝液添加至所有孔且將盤在冰上培育5分鐘。隨後將酸洗溶離份收集至預標記(再循環) γ 管中。在室溫下用300 μ L 1% Triton X-100裂解細胞30分鐘。將250 μ L細胞裂解物轉移至預標記(保留) γ 計數管中且計數10分鐘。將25 μ L細胞裂解物溶離份轉移至96孔盤用於蛋白定量(Pierce BCA蛋白分析)。

【0334】 內化研究之結果顯示於圖15中。殘餘化百分比測定為CPM (裂解物)或CPM (流出+再循環+裂解物)。在HCC827中觀測到培育後24小時之最低流出百分比，隨後為HT29、H441及H1975 (分別為約25%、30%、35%及45%)。在此情況下，EGFR+cMET受體表現量與細胞保留之間似乎存在相關性。

實例11. [^{177}Lu]-化合物C-抗EGFR-cMET結合物在各種動物模型中之活體內生物分佈

【0335】 依據下述方案，使用五種不同細胞株異種移植小鼠模型評估[^{177}Lu]-DOTA-抗EGFR-cMET結合物，亦即化合物E之活體內生物分佈。

【0336】 腫瘤接種：細胞用PBS洗滌且用0.25%胰蛋白酶EDTA分離。所收集之細胞再懸浮於PBS與Matrigel (BD, Oakville ON)之1:1混合物中，濃度如下：

HCC827：50 $\times$ 10⁶個細胞/毫升

HT29：20 $\times$ 10⁶個細胞/毫升

H1975: 50×10^6 個細胞/毫升

H292: 30×10^6 個細胞/毫升

H441: 50×10^6 個細胞/毫升

【0337】 將100 μL 該等混合物皮下注射至5至7週齡雌性Balb/c NCI無胸腺NCr-nu/nu小鼠(Charles River Laboratories)的右側腹。放射性注射在接種後約7-10天開始，此時腫瘤體積達到150-200 mm^3 ，但HCC827異種移植物在接種後3週達到相同大小。

【0338】 生物分佈研究：五組3隻具有皮下腫瘤(上文所描述)之小鼠經由側尾靜脈經靜脈內注射200 μL 含有約0.74 MBq ^{177}Lu (約2 μg 抗體)的化合物E。在注射後之指定時間點(4小時、24小時、48小時、96小時及168小時)，每時間點一組用異氟醚麻醉，經由心臟穿刺放血，隨後安樂死，藉由解剖採集血液及不同器官。腫瘤及器官用PBS沖洗任何殘餘血液，吸乾且收集至預稱重 γ 計數管中。使用 γ 計數器來量測組織樣品中所含有的每分鐘放射數，隨後使用校準標準轉化為放射強度之衰減校正 μCi 。將放射強度量測值及樣品重量用於計算每公克組織體重所注射劑量之百分比(%ID/g)。

【0339】 結果表示為每公克組織注射劑量百分比(% ID/g)且描繪於圖16A至圖16E中。化合物E之生物分佈研究顯示IgG之典型生物分佈特徵，其在正常器官中具有可接受之攝取水平。在H292>H441>HT29及H1975異種移植物中分別觀測到最高腫瘤攝取(% ID/g) [約75% (96小時、168小時)、約35% (48小時、96小時)、約29% (48小時、96小時)及約20% (48小時、96小時)]。在HCC827異種移植模型中，腫瘤攝取(% ID/g)在48小時達到峰值(其中約25%化合物E)，且在注射後96小時及168小時下降至

約17%。由於腫瘤生長速度緩慢，未對HCC827異種移植模型實行治療研究。

實例12. [^{225}Ac]-化合物C-抗EGFR-cMET結合物在各種動物模型中之活體內功效

【0340】 研究經設計以評估不同劑量之銨-225標記之放射免疫結合物化合物F相比於冷性抗體殖株及/或媒劑對照的功效。

【0341】 功效研究係用四種遞增劑量之化合物F (^{225}Ac 放射性標記之EGFR-cMET抗體)進行的且與冷性抗體及/或媒劑對照進行比較。使用H441、HT29及H1975腫瘤異種移植物進行治療功效研究。對於各研究，6-7組荷瘤動物(n=5)經由側尾靜脈經靜脈內注射200 μL 化合物。化合物F在20 mM檸檬酸鈉pH 5.5、0.82% NaCl及0.01% Tween-80緩衝劑中調配，以50-400奈米居里(nCi)之放射強度投與。作為對照，非放射性標記、非結合抗體以等效於研究中所測試之化合物F之最高放射強度劑量的蛋白質量投與。用游標測徑規在兩個維度中，每週2-3次進行腫瘤量測持續至少60天。腫瘤長度定義為最長維度，寬度垂直於腫瘤長度量測。同時對動物進行稱重。每日評估整體身體情況及一般行為。根據測徑規量測結果計算作為橢球之腫瘤體積(mm^3)：腫瘤生長表示為相對腫瘤體積(RTV)，其為在第X天所量測之腫瘤體積除以在給藥日所量測之腫瘤體積。在所有模型中，200 nCi及400 nCi引起所有小鼠之長期腫瘤消退(圖17A至圖17C)。在H441模型中觀測到最佳反應，其中50 nCi及100 nCi劑量均顯示若干小鼠中之腫瘤抑制及消退。在H1975模型中，50 nCi顯著延遲在所有小鼠中之腫瘤生長，且100 nCi處理組顯示包括延遲腫瘤生長、腫瘤抑制及消退之混合反應。在HT29模型中，除了一隻小鼠在100 nCi顯

示腫瘤抑制以外，未觀測到50 nCi或100 nCi劑量之功效。

參考文獻

上文引用許多公開案以更充分地描述及揭示本發明及本發明所涉及之當前最新技術。此等參考文獻之完整引用提供如下。此等參考文獻中之各者的全部內容併入本文中。

Ariyawutyakorn, 2016	Ariyawutyakorn, W., S. Saichaemchan, 及M. Varella-Garcia, <i>Understanding and Targeting MET Signaling in Solid Tumors - Are We There Yet?</i> Journal of Cancer, 2016. 7 (6): 第633-649頁。
Arteaga, 2014	Arteaga, C.L.及J.A. Engelman, <i>ERBB receptors: from oncogene discovery to basic science to mechanism-based cancer therapeutics.</i> Cancer Cell, 2014. 25 (3): 第282-303頁。
Bachleitner-Hofmann, 2008	Bachleitner-Hofmann, T., 等人, <i>HER kinase activation confers resistance to MET tyrosine kinase inhibition in MET oncogene-addicted gastric cancer cells.</i> Mol Cancer Ther, 2008. 7 : 第3499-3508頁。
Bardelli, 2013	Bardelli, A., 等人, <i>Amplification of the MET Receptor Drives Resistance to Anti-EGFR Therapies in Colorectal Cancer.</i> Cancer Discovery, 2013. 3 (6): 第658-673頁。
Bean, 2007	Bean, J., 等人, <i>MET amplification occurs with or without T790M mutations in EGFR mutant lung tumors with acquired resistance to gefitinib or erlotinib.</i> Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2007. 104 (52): 第20932-20937頁。
Belalcazar, 2010	Belalcazar, A., 等人, <i>Targeting the Met pathway in lung cancer.</i> Expert review of anticancer therapy, 2012. 12 (4): 第519-528頁。
Benedettini, 2010	Benedettini, E., 等人, <i>Met activation in non-small cell lung cancer is associated with de novo resistance to EGFR inhibitors and the development of brain metastasis.</i> The American journal of pathology, 2010. 177 (1): 第415-423頁。
Bertotti, 2015	Bertotti, A.及F. Sassi, <i>Molecular Pathways: Sensitivity and Resistance to Anti-EGFR Antibodies.</i> Clinical Cancer Research, 2015。
Birchmeier, 2003	Birchmeier, C., 等人, <i>Met, metastasis, motility and more.</i> Nat Rev Mol Cell Biol, 2003. 4 : 第915-925頁。
Boccaccio, 2014	Boccaccio, C., P. Luraghi, 及P.M. Comoglio, <i>MET-Mediated Resistance to EGFR Inhibitors: An Old Liaison Rooted in Colorectal Cancer Stem Cells.</i> 2014. 第3647-3651頁。
Bouattour, 2018	Bouattour, M., 等人, <i>Recent developments of c-Met as a therapeutic target in hepatocellular carcinoma.</i> Hepatology (Baltimore, Md.), 2018. 67 (3): 第1132-1149頁。
Cappuzzo, 2009	Cappuzzo, F., 等人, <i>Increased MET gene copy number negatively affects survival of surgically resected non-small-cell lung cancer patients.</i> J Clin Oncol, 2009. 27 (10): 第1667-74頁。
Chan, 2017	Chan, D.L.H., 等人, <i>Epidermal growth factor receptor (EGFR) inhibitors for</i>

	<i>metastatic colorectal cancer</i> . Cochrane Database Syst Rev, 2017. 6 : 第CD007047頁。
Chong, 2013	Chong, C.R.及P.A. Janne, <i>The quest to overcome resistance to EGFR-targeted therapies in cancer</i> . Nature medicine, 2013. 19 (11): 第1389-1400頁。
Chothia, 1987	Chothia, C.及Lesk, A.M., <i>Canonical structures for the hypervariable regions of immunoglobulins</i> . J. Mol. Biol. 1987, 196:901-917
Choueiri, 2017	Choueiri, T.K., 等人, <i>Biomarker-Based Phase II Trial of Savolitinib in Patients With Advanced Papillary Renal Cell Cancer</i> . J Clin Oncol, 2017. 35 (26): 第2993-3001頁。
Corso, 2010	Corso, S., 等人, <i>Activation of HER family members in gastric carcinoma cells mediates resistance to MET inhibition</i> . Molecular Cancer, 2010. 9 (1): 第121頁。
Cunningham, 2004	Cunningham, D., 等人, <i>Cetuximab monotherapy and cetuximab plus irinotecan in irinotecan-refractory metastatic colorectal cancer</i> . N Engl J Med, 2004. 351 (4): 第337-45頁。
De Bacco, 2012	De Bacco, F., 等人, <i>The MET Oncogene Is a Functional Marker of a Glioblastoma Stem Cell Subtype</i> . Cancer research, 2012. 72 (17): 第4537-4550頁。
Dimasi, 2017	Dimasi等人 <i>Efficient Preparation of Site-Specific Antibody-Drug Conjugates Using Cysteine Insertion</i> . Mol Pharmaceuticals, 2017, 14(5) 1501-1516
Dokala, 2005	Dokala, A.及S.S. Thakur, <i>Extracellular region of epidermal growth factor receptor: a potential target for anti-EGFR drug discovery</i> . Oncogene, 2016. 36 : 第2337頁。
Engelman, 2007	Engelman, J.A., 等人, <i>MET amplification leads to gefitinib resistance in lung cancer by activating ERBB3 signaling</i> . Science, 2007. 316 : 第1039-1043。
Garber, 2014	Garber, K., <i>MET inhibitors start on road to recovery</i> . Nature reviews. Drug discovery, 2014. 13 (8): 第563-565頁。
Gherardi, 2013	Gherardi等人, <i>Functional map and domain structure of MET, the product of the c-met protooncogene and receptor for hepatocyte growth factor/scatter factor</i> . Proc Natl Acad Sci U.S.A, 2003, 100(21): 12039-12044
Giordano, 1989	Giordano, S., 等人, <i>Tyrosine kinase receptor indistinguishable from the c-met protein</i> . Nature, 1989. 339 : 第155-156頁。
Gisterek, 2011	Gisterek, I., 等人, <i>Prognostic role of c-met expression in breast cancer patients</i> . Rep Pract Oncol Radiother, 2011. 16 (5): 第173-7頁。
Gou, 2016	Gou, L.Y., 等人, <i>The coexistence of MET over-expression and an EGFR T790M mutation is related to acquired resistance to EGFR tyrosine kinase inhibitors in advanced non-small cell lung cancer</i> . Oncotarget, 2016。
Guo, 2008	Guo, A., 等人, <i>Signaling networks assembled by oncogenic EGFR and c-Met</i> . Proceedings of the National Academy of Sciences, 2008. 105 (2): 第692-697頁。
Guo, 2014	Guo, B., 等人, <i>Prognostic value of MET gene copy number and protein expression in patients with surgically resected non-small cell lung cancer: a meta-analysis of published literatures</i> . PLoS One, 2014. 9 (6): 第e99399頁。
Haura, 2013	Haura, E.B. 及M.A.及Smith, <i>Signaling Control by Epidermal Growth Factor</i>

	<i>Receptor and MET: Rationale for Cotargeting Strategies in Lung Cancer.</i> Journal of Clinical Oncology, 2013. 31 (32): 第4148頁。
Hay, 2016	Hay等人, <i>Targeting CD73 in the tumor microenvironment with MEDI9447.</i> Oncoimmunology, 2016 5(8):e1208875。
Huang, 2014	Huang, L., 等人, <i>MET expression plays differing roles in non-small-cell lung cancer patients with or without EGFR mutation.</i> Journal of thoracic oncology : official publication of the International Association for the Study of Lung Cancer, 2014. 9 (5): 第725-728頁。
Jimeno, 2009	Jimeno, A., 等人, <i>KRAS mutations and sensitivity to epidermal growth factor receptor inhibitors in colorectal cancer: practical application of patient selection.</i> J Clin Oncol, 2009. 27 (7): 第1130-6頁。
Jun, 2013	Jun, H.J., R.T. Bronson, 及A. Charest, <i>Inhibition of EGFR induces a c-MET driven stem cell population in Glioblastoma.</i> Stem cells (Dayton, Ohio), 2013。
Kabat, 1991	Kabat, E.A. 等人 <i>Sequences of Proteins of Immunological Interest</i> , 第5版. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991
Karamouzis, 2009	Karamouzis, M.V., P.A. Konstantinopoulos, 及A.G. Papavassiliou, <i>Targeting MET as a strategy to overcome crosstalk-related resistance to EGFR inhibitors.</i> The Lancet Oncology, 2009. 10 (7): 第709-717頁。
Kim, 2017a	Kim, J.H., B.J. Kim, 及H.S. Kim, <i>Clinicopathological impacts of high c-Met expression in head and neck squamous cell carcinoma: a meta-analysis and review.</i> Oncotarget, 2017. 8 (68): 第113120-113128頁。
Kim, 2017b	Kim, J.H., B.J. Kim, 及H.S. Kim, <i>Clinicopathological impacts of high c-Met expression in renal cell carcinoma: a meta-analysis and review.</i> Oncotarget, 2017. 8 (43): 第75478-75487頁。
Kim, 2017c	Kim, J.H., 等人, <i>Prognostic value of c-Met overexpression in hepatocellular carcinoma: a meta-analysis and review.</i> Oncotarget, 2017. 8 (52): 第90351-90357頁。
Klein, 2012	Klein等人 <i>Progress in overcoming the chain association issue in bispecific heterodimeric IgG antibodies.</i> MAbs, 2012, 4:653-63
Knickelbein, 2015	Knickelbein, K.及L. Zhang, <i>Mutant KRAS as a critical determinant of the therapeutic response of colorectal cancer.</i> Genes Dis, 2015. 2 (1): 第4-12頁。
Kondo, 2013	Kondo, S., 等人, <i>Clinical impact of c-Met expression and its gene amplification in hepatocellular carcinoma.</i> International journal of clinical oncology, 2013. 18 (2): 第207-213頁。
Lacouture, 2006	Lacouture, M.E., <i>Mechanisms of cutaneous toxicities to EGFR inhibitors.</i> Nature reviews.Cancer, 2006. 6 (10): 第803-812頁。
LeFranc, 2015	LeFranc, M.P. 等人, <i>IMGT®, the international ImMunoGeneTics information system® 25 years on.</i> , Nucleic Acids Res. 2015, 43(資料庫期刊):D413-22。
Li, 2011	Li, C., 等人, <i>c-Met Is a Marker of Pancreatic Cancer Stem Cells and Therapeutic Target.</i> Gastroenterology, 2011. 141 (6):第2218-2227.e5頁。
Liska, 2011	Liska, D., 等人, <i>HGF Rescues Colorectal Cancer Cells from EGFR Inhibition via MET Activation.</i> Clinical Cancer Research, 2011. 17 (3): 第472-482頁。
Liu, 2015	Liu, Y., 等人, <i>Prognostic value of c-Met in colorectal cancer: a meta-analysis.</i> World J Gastroenterol, 2015. 21 (12): 第3706-10頁。

Luraghi, 2014	Luraghi, P., 等人, <i>MET Signaling in Colon Cancer Stem-like Cells Blunts the Therapeutic Response to EGFR Inhibitors</i> . Cancer research, 2014. 74 (6): 第 1857-1869頁。
Madoz-Gúrpide, 2016	Madoz-Gúrpide, J., 等人, <i>Activation of MET pathway predicts poor outcome to cetuximab in patients with recurrent or metastatic head and neck cancer</i> . 2016. 第1-13頁。
Marano, 2015	Marano, L., 等人, <i>c-Met targeting in advanced gastric cancer: An open challenge</i> . Cancer letters, 2015. 365 (1): 第30-36頁。
Mazor, 2017	Mazor, Y., 等人, <i>Enhanced tumor-targeting selectivity by modulating bispecific antibody binding affinity and format valence</i> . Sci Rep, 2017. 7 : 第 40098頁。
Mazor, 2015	Mazor, Y., 等人, <i>Insights into the molecular basis of a bispecific antibody's target selectivity</i> . MAbs, 2015. 7 (3): 第461-9.頁。
McDermott, 2010	McDermott, U., 等人, <i>Acquired Resistance of Non-Small Cell Lung Cancer Cells to MET Kinase Inhibition Is Mediated by a Switch to Epidermal Growth Factor Receptor Dependency</i> . Cancer research, 2010. 70 (4): 第1625-1634 頁。
Miyamoto, 2011	Miyamoto, M., 等人, <i>Prognostic significance of overexpression of c-Met oncoprotein in cholangiocarcinoma</i> . British journal of cancer, 2011. 105 (1): 第131-138頁。
Mo, 2017	Mo, H.N.及P. Liu, <i>Targeting MET in cancer therapy</i> . Chronic Dis Transl Med, 2017. 3 (3): 第148-153頁。
Moores, 2016	Moores, S.L., 等人, <i>A Novel Bispecific Antibody Targeting EGFR and cMet that is Effective Against EGFR Inhibitor- Resistant Lung Tumors</i> . Cancer research, 2016。
Neuberger, 1988	Neuberger等人, 1988, 8th International Biotechnology Symposium Part 2, 792-799
Nicholson, 2001	Nicholson, R.I., J.M. Gee, 及M.E. Harper, <i>EGFR and cancer prognosis</i> . Eur J Cancer, 2001. 37 : 第9-15頁。
Organ, 2011	Organ, S.L.及M.S. Tsao, <i>An overview of the c-MET signaling pathway</i> . Therapeutic advances in medical oncology, 2011. 3 (增刊1): 第S7-S19頁。
Organesyan, 2008	Organesyan等人 <i>Structural characterization of a human Fc fragment engineered for lack of effector functions</i> . Acta Crystallogr D Biol Crystallogr. 2008 ;64(Pt 6):700-4。
Ou, 2016	Ou, S.-H.I., N. Agarwal, 及S.M. Ali, <i>High MET amplification level as a resistance mechanism to osimertinib (AZD9291) in a patient that symptomatically responded to crizotinib treatment post-osimertinib progression</i> . Lung Cancer, 2016. 98 (增刊C): 第59-61頁。
Persic, 1997	Persic等人 <i>An integrated vector system for the eukaryotic expression of antibodies or their fragments after selection from phage display libraries</i> . Gene, 1997, 187: 9-18.
Peters, 2012	Peters, S.及A.A. Adjei, <i>MET: a promising anticancer therapeutic target</i> . Nature reviews.Clinical oncology, 2012. 9 (6): 第314-326頁。
Prat, 1991	Prat, M., 等人, <i>The receptor encoded by the human c-MET oncogene is expressed in hepatocytes, epithelial cells and solid tumors</i> . International

	journal of cancer.Journal international du cancer, 1991. 49 (3): 第323-328頁。
Puri, 2008	Puri, N.及R. Salgia, <i>Synergism of EGFR and c-Met pathways, cross-talk and inhibition, in non-small cell lung cancer</i> . J Carcinog, 2008. 7 : 第9頁。
Remon, 2018	Remon, J., 等人, <i>Osimertinib and other third-generation EGFR TKI in EGFR-mutant NSCLC patients</i> . Ann Oncol, 2018. 29 (增刊1): 第i20-i27頁。
Retter, 2005	Retter, I., 等人, " <i>VBASE2, an integrative V gene database</i> ." Nucl. Acids Res. 2005, 33 (增刊1): D671-D674
Rho, 2009	Rho, J.K., 等人, <i>The role of MET activation in determining the sensitivity to epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors</i> . Molecular cancer research : MCR, 2009. 7 (10): 第1736-1743頁。
Rocha-Lima, 2007	Rocha-Lima, C.M., 等人, <i>EGFR targeting of solid tumors</i> . Cancer control : journal of the Moffitt Cancer Center, 2007. 14 (3): 第295-304頁。
Sacco, 2015	Sacco, J.J.及M.J. Clague, <i>Dysregulation of the Met pathway in non-small cell lung cancer: implications for drug targeting and resistance</i> . Transl Lung Cancer Res, 2015. 4 (3): 第242-52頁。
Saltz, 2004	Saltz, L.B., 等人, <i>Phase II trial of cetuximab in patients with refractory colorectal cancer that expresses the epidermal growth factor receptor</i> . J Clin Oncol, 2004. 22 (7): 第1201-8頁。
Seshacharyulu, 2012	Seshacharyulu, P., 等人, <i>Targeting the EGFR signaling pathway in cancer therapy</i> . Expert Opinion on Therapeutic Targets, 2012. 16 (1): 第15-31頁。
Sierra, 2011	Sierra, J.R.及M.-S. Tsao, <i>c-MET as a potential therapeutic target and biomarker in cancer</i> . Therapeutic Advances in Medical Oncology, 2011. 3 (1 suppl): 第S21-S35頁。
Sohn, 2014	Sohn, J., 等人, <i>cMET Activation and EGFR-Directed Therapy Resistance in Triple-Negative Breast Cancer</i> . Journal of Cancer, 2014. 5 (9): 第745-753頁。
Suda, 2010	Suda, K., 等人, <i>Reciprocal and complementary role of MET amplification and EGFR T790M mutation in acquired resistance to kinase inhibitors in lung cancer</i> . Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research, 2010. 16 (22): 第5489-5498頁。
Troiani, 2016	Troiani, T., 等人, <i>Therapeutic value of EGFR inhibition in CRC and NSCLC: 15 years of clinical evidence</i> . ESMO open, 2016. 1 (5): 第e000088頁。
Trusolino, 2010	Trusolino, L., A. Bertotti, 及P. Comoglio, <i>MET signalling: principles and functions in development, organ regeneration and cancer</i> . Nature reviews.Molecular cell biology, 2010. 11 (12): 第834頁。
Vainshtein, 2015	Vainshtein等人, <i>Quantitative measurement of the target-mediated internalization kinetics of biopharmaceuticals</i> , Pharm Res., 2015. 32 : 286-299。
Vaughan, 1996	Vaughan, 等人, <i>Human antibodies with sub-nanomolar affinities isolated from a large non-immunized phage display library</i> , Nat Biotechnol., 1996. 14 : 第309頁
Vecchione, 2011	Vecchione, L., 等人, <i>EGFR-targeted therapy</i> . Special Issue - Gastroenterology, 2011. 317 (19): 第2765-2771頁。
Vsiansky, 2018	Vsiansky, V., 等人, <i>Prognostic role of c-Met in head and neck squamous cell cancer tissues: a meta-analysis</i> . Scientific Reports, 2018. 8 (1): 第10370頁。

Wang, 2018	Wang, X.等人, <i>IgG Fc engineering to modulate antibody effector functions</i> Protein Cell . 2018;9(1):63-73
Wu, 2017	Wu, Y.-L., 等人, <i>Does c-Met remain a rational target for therapy in patients with EGFR TKI-resistant non-small cell lung cancer?</i> Cancer Treatment Reviews, 2017. 61 : 第70-81頁。
Xu, 2016	Xu, Y.P., 等人, <i>C-Met as a Molecular Marker for Esophageal Squamous Cell Carcinoma and Its Association with Clinical Outcome.</i> Journal of Cancer, 2016. 7 (5): 第587-594頁。
Yan, 2015	Yan, S., 等人, <i>Prognostic significance of c-Met in breast cancer: a meta-analysis of 6010 cases.</i> Diagn Pathol, 2015. 10 : 第62頁。
Zhang, 2016	Zhang, Y., Z. Du, 及M. Zhang, <i>Biomarker development in MET-targeted therapy.</i> Oncotarget, 2016. 7 (24): 第37370-37389頁。
Zhang, 2015	Zhang, Y.W., <i>Promise and challenges on the horizon of MET-targeted cancer therapeutics.</i> World J Biol Chem, 2015. 6 (2): 第16-27頁。
Zucali, 2008	Zucali, P.A., 等人, <i>Role of cMET expression in non-small-cell lung cancer patients treated with EGFR tyrosine kinase inhibitors.</i> Annals of Oncology, 2008. 19 (9): 第1605-1612頁。

對於標準分子生物學技術，參見 Sambrook, J., Russel, D.W. *Molecular Cloning, A Laboratory Manual*. 第3版. 2001, Cold Spring Harbor, New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press

其他實施例

【0342】 雖然本發明已結合其具體實施例進行描述，但應理解，其能夠進行進一步修改，且本申請案意欲涵蓋本發明之任何變化、使用或改編，其總體上遵循本發明之原理且包括在本發明所涉及之技術內已知或慣用實踐範圍內出現的相對於本發明之此類偏離，且可應用於上文闡述之基本特徵。

```

<?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="C252898SEQA.xml"
softwareName="WIPO Sequence" softwareVersion="2.2.0" productionDate="2023-04-
06">
  <ApplicationIdentification>
    <IPOfficeCode>US</IPOfficeCode>
    <ApplicationNumberText></ApplicationNumberText>
    <FilingDate></FilingDate>
  </ApplicationIdentification>
  <ApplicantFileReference>FPI-033W0</ApplicantFileReference>
  <EarliestPriorityApplicationIdentification>
    <IPOfficeCode>US</IPOfficeCode>
    <ApplicationNumberText>63/291,910</ApplicationNumberText>
    <FilingDate>2021-12-20</FilingDate>
  </EarliestPriorityApplicationIdentification>
  <ApplicantName languageCode="zh">加拿大商融合製藥公司(FUSION PHARMACEUTICALS
INC.)</ApplicantName>
  <ApplicantNameLatin>FUSION PHARMACEUTICALS INC.</ApplicantNameLatin>
  <InventionTitle languageCode="zh">EGFR-cMET靶向化合物及其用途</InventionTitle>
  <SequenceTotalQuantity>51</SequenceTotalQuantity>
  <SequenceData sequenceIDNumber="1">
    <INSDSeq>
      <INSDSeq_length>5</INSDSeq_length>
      <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
      <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
      <INSDSeq_feature-table>
        <INSDFeature>
          <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
          <INSDFeature_location>1..5</INSDFeature_location>
          <INSDFeature_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>
    <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>DNDFS</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 2" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>17</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_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>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>AIVAVFRTETYAQKFQD</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 3" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>15</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
```

```
<INSDSeq_feature-table>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..15</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_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>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>RLMSAISGPGAPLLM</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="4">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>14</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..14</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_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>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
```



```

        </INSDFeature_qual>
    </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>TGTSSDVGGYNYVS</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="5">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>7</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>
                <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
                <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
                <INSDFeature_qual>
                    <INSDQualifier>
                        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
                        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                    <INSDQualifier id="q10">
                        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
                        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
                        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                </INSDFeature_qual>
            </INSDFeature>
        </INSDSeq_feature-table>
        <INSDSeq_sequence>DVSKRPS</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="6">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>11</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>
                <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>

```

```
<INSDFeature_location>1..11</INSDFeature_location>
<INSDFeature_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>
    <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>SSYTSSDTLEI</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="7">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>30</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..30</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="ql4">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
```

```
<INSDSeq_sequence>QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFS</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 8">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>14</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..14</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="ql6">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>WVRQAPGQGLEWMG</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 9">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>32</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..32</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
```

```
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q18">
  <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>RVKITADISTRRTYMESSLRSEDTAVYYCAR</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="10">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>11</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..11</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q20">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>WGQGTLLTVSS</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
```

```

<SequenceData sequenceIDNumber="11">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>22</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..22</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q22">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>QSALTQPRSVSGSPGQSVTISC</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="12">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>15</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..15</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>

```

```
<INSDQualifier id="q24">
  <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>WYQQHPGKAPKLMY</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="13">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>32</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..32</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_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>
          <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
        </INSDQualifier>
      </INSDFeature_qual>
    </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GVPDRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYC</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="14">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>10</INSDSeq_length>
```

```

<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..10</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_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>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>FGGGTKLTVL</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="15">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>124</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..124</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q30">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>

```

```

    <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSDNDFSWVRQAPGQGLEWMGAIVAVFRTETYAQ
KFQDRVKITADISTRTTYMELSSLRSEDTAVYYCARRLMSAISGPGAPLLMWGQGTLVTVSS</INSDSeq_sequence
>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="16">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>111</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..111</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q32">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>QSALTQPRSVSGSPGQSVTISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMIDVSKRPSGVPD
RFGSGKSGNTASLTISGLQAEDADYYCSSYTSSDTLEIFGGGTKLTVL</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="17">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>5</INSDSeq_length>
```



```

<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..5</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q34">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>DYIYIH</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="18">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>17</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q36">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>

```

```

    <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>WMNPNSGNTGYAQKFQG</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="19">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>7</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q38">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>GQGYTHS</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="20">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>11</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
```

```
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..11</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q40">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>RASEGIYHWLA</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="21">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>7</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q42">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
```

```

    </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>KASSLAS</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 22" >
  <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="q44">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>QQYSNYPPT</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 23" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>30</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..30</INSDFeature_location>

```

```
<INSDFeature_qual>
  <INSDQualifier>
    <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q46">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
    <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="24">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>14</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..14</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q48">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>WVRQATGQGLEWMG</INSDSeq_sequence>
```

```
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 25" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>32</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..32</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q50">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>RVTMTRDTSISTAYMELSSLRSED TAVYYCAR</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 26" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>11</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..11</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
```

```

    <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q52">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
    <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>WGQGTMTVSS</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="27">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>23</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..23</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q54">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITC</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="28">
```

```

<INSDSeq>
  <INSDSeq_length>15</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..15</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_qual>
        <INSDQualifier>
          <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
          <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
        </INSDQualifier>
        <INSDQualifier id="q56">
          <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
          <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
        </INSDQualifier>
      </INSDFeature_qual>
    </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>WYQQKPGKAPKLLIY</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="29">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>32</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..32</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q58">

```



```

    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
    <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>GVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPDFATYYC</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 30">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>10</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..10</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q60">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>FGGGTKLEIK</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 31">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>116</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
```

```
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..116</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q62">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYIHWVRQATGQGLEWMGWMNPNSGNTGYAQ
KFQGRVTMTTRDTSISTAYMELSSLRSED TAVYYCARGQGYTHSWGQGTMTVTSS</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="32">
  <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="q64">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
```

```

    <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASEGIYHWLAWYQQKPGKAPKLLIYKASSLASGVPSRF
SGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQQYSNYPPTFGGGTKLEIK</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 33" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>330</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..330</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q66">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL
YSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV
TCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ
GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 34" >
```

```
<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="q68">
          <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
          <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
        </INSDQualifier>
      </INSDFeature_qual>
    </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK
  DSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="35">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>454</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..454</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
```

```
<INSDQualifier id="q70">
  <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSDNDFSWVRQAPGQGLEWMGAIVAVFRTETYAQ
KFQDRVKITADISTRTTYMELSSLRSEDTAVYYCARRLMSAISGPGAPLLMWGQGTTLTVTVSSASTKGPSVCPLAPSSKST
SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV
EPKSVDKTHTCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ
YNSTYRVVSVLTVHLQDNLNGKEYCKVSNKALPASIIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCREEMTKNQVSLWCLVKGFYPS
DIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</INSDSe
q_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="36">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>446</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..446</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q72">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
```

```
<INSDSeq_sequence>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYIHWVRQATGQGLEWMGWMNPNSGNTGYAQ
KFQGRVTMTRDTSISTAYMELSSLRSED TAVYYCARGQGYTHSWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG
CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKT
HTCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV
SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASIIEKTISKAKGQPREPQVCTLPSSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWES
NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</INSDSeq_sequen
ce>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 37">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>217</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..217</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q74">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>QSALTQPRSVSGSPGQSVTISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMIIYDVSKRPSGVPD
RFGSGKSGNTASLTISGLQAED EADYYCSSYTSSDTLEIFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPCSEELQANKATLVCLIS
DFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTEVS</INS
DSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 38">
  <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="q76">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASEGIYHWLAWYQQKPGKAPKLLIYKASSLASGVPSRF
SGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQQYSNYPPTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR
EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</INSDSe
q_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="39">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>330</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..330</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
```

```
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q78">
  <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>ASTKGPSVCPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL
YSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSVDKTHTCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV
TCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASIEKTIKA
KGQPREPQVYTLPPCREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ
GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="40">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>330</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..330</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
            <INSDQualifier id="q80">
              <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
              <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
              <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
            </INSDQualifier>
          </INSDFeature_qual>
        </INSDFeature>
      </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL
YSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV
```



```
TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASIIEKTISKA
KGQPREPQVCTLPSSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQ
GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="41">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>106</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..106</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q82">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GQPKAAPSVTLFPPCSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSSPVKAGVETTTPSKQS
  NNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTEVS</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="42">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>621</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
```

```
<INSDFeature_location>1..621</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
  <INSDQualifier>
    <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q84">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
    <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>LEEKKVCQGTSNKLTQLGTFEDHFLSLQRMFNCEVVLGNLEITYVQRNYDLSFLKTIQEVA
GYVLI ALNTVERIPLNLQI IRGNMYYENSYALAVLSNYDANKTGLKELPMRNLQEILHGAVRFSNNPALCNVESIQWRD
IVSSDFLSNMSMDFQNHLSGSCQKCDPSCPNGSCWGAGEENCQKLTKI ICAQQCSGRCRGKSPSDCCHNQCAAGCTGPRES
DCLVCRKFRDEATCKDTCPLMLYNPTTYQMDVNPEGKYSFGATCVKKCPRNYVVTDHGSCVRACGADSYEMEEDGVRKC
KKCEGPCRKVCNGIGIGEFKDSLSINATNIKHFKNCTSI SGDLHILPVAFRGDSFTHTPPLDPQELDILKTVKEITGFL
IQAWPENRTDLHAFENLEI IRGRTKQHGGQFSLAVVSLNITSLGLRSLKEISDGDV IISGNKNLCYANTINWKKLFGTSGQ
KTKI IISNRGENSCKATGQVCHALCSPEGCWGPEPRDCVSCRNVSRGRECVDKCNLLEGEPREFVENSECIQCHPECLPQA
MNI TCTGRGPDNCIQAHYIDGPHCVKTCAPAGVMGENNTLVWKYADAGHVCHLCHPNCTYGCTGPGLEGCP TNGPKIPS<
/INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="43">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>908</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..908</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
```

```
<INSDQualifier id="q86">
  <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>ECKEALAKSEMNVNMKYQLPNFTAETPIQNVILHEHHIFLGATNYIYVLNEEDLQKVAEYKT
GPVLEHPDCFPQCDCSSKANLSGGVWKDNIINMALVVDITYDDQLISCGSVNRGTCQRHVFPNHTADIQSEVHCIFSPQI
EEPSQCPDCVVSALGAKVLSSVKDRFINFFVGNTINSSYFPDHLPLHSISVRRLKETKDGMFLTDQSYIDVLPFRDSYP
IKYVHAFESNNFIYFLTVQRETLDQTFHTRIIRFCSINSGLHSEMPLECI LTKRKKRSTKKEVFNIIQAAYVSKPG
AQLARQIGASLNDDILFGVFAQSKPDSAEPMDRSAMCAFP IKYVNDFFNKIVNKNVRCLOHFGYGNHEHCFNRTLLRNS
SGCEARRDEYRTEFTTALQRVDLFMGQFSEVLLTSISTFIKGDLTIANLGTSEGRFMQVVVSRSGPSTPHVNFLLDSDHPV
SPEVIVEHTLNQNGYTLVITGKKITKIPLNGLGCRHFQSCSQCLSAPPFVQCGWCHDKCVRSEECLSGTWTQQICLPAIY
KVFPNSAPLEGGTRLTICGWDFGFRNNKFDLKKTRVLLGNESCTLTLESTMTNLKCTVGPAMNKHFNMSIIISNGHGT
TQYSTFSYVDPVITSISPKYGPMAGGTLLTLTGNYLNSGNSRHISIGGKTCTLKSVSNSILECYTPAQTISTEFAVKLKI
DLANRETSIFSYPREDPIVYIEIHPKTSFISGGSTITGVGKNLSVSVPRMVINVHEAGRNF TVACQHRSNSEIICCTTPSL
QQNLNLPLKTKAFFMLDGI LSKYFDLIYVHNPFVKPFKEKPVMI SMGNENVLEIKGNDIDPEAVKGEVLKVGKSCENIH
LHSEAVLCTVPNDLLKLNSELNIEWKQAISSTVLGKVIVQPDQNF</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="44">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>908</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..908</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q88">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
```

```

    <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>ECKEALAKSEMNVNMKYQLPNFTAETA IQNVILHEHHIFLGATNYIYVLNEEDLQKVAEYKT
GPVLEHPDCFPQCDCSSKANLSGGVWKDNINMALVVDITYDDQLISCGSVNRGTCQRHVFPHNHTADIQSEVHCIFSPQI
EEPNCPCDCVVSALGAKVLSSVKDRFINFFVGNTINSSYFPHHPLHSISVRRLKETKDGMFLTDQSYIDVLPFRDSYP
IKYIHAFESNNFIYFLTVQRETLNAQTFHTRIIRFCSLNSGLHSYMEMPLECILTEKRKKRSTKKEVFNILQAAYVSKPG
AQLARQIGASLNDDILFGVFAQSKPDSAEPMDRSAMCAFP IKYVNDFFNKIVNKNVVRCLQHFYGPNEHECFNRTLLRNS
SGCEARRDEYRAEFTTALQRVDLFMGQFSEVLLTSISTFVKGDLTIANLGTSEGRFMQVVVSRSGPSTPHVNFLLDSHPV
SPEVIVEHPLNQNGYTLVVTGKKITKIPLNGLGCRHFQSCSQCLSAPPFVQCGWCHDKCVRSEECPSGTWTQQICLPAIY
KVFPTSAPLEGGTRLTICGWDFGFRNKNKFDLKKTRVLLGNESCTLTLESTMTNLKCTVGPAMNKHFNMSIIISNGHGT
TQYSTFSYVDPIITSISPKYGPMAGGTLLTLTGNYLNSGNSRHISIGGKTCTLKSVSNSILECYTPAQTISTEFAVKLKI
DLANRETSIFSYPREDPIVYIEIHPTKSFISGGSTITGVGKNLHSVSVPRMVINVHEAGRNFTVACQHRSNSEIICCTTPSL
QQNLNLPLKTKAFFMLDILSKYFDLIYVHNPVFKPFKEKPMISMGNENVLEIKGNDIDPEAVKGEVLKVGNGKSCENIH
LHSEAVLCTVPNDLLKLNSELNIEWKQAISSTVLGKVIIVQPDQNF</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="45">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length/>
    <INSDSeq_moltype/>
    <INSDSeq_division/>
    <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="46">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>621</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..621</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
```

```
<INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q91">
  <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>LEEKKVCQGTSNKLTQLGTFEDHFLSLQRMFNNCEVVLGNLEITYVQRNYDLSFLKTIQEVA
GYVLIALNTVERIPLNLQIIRGNMYYSYALAVLSNYDANKTGLKELPMRNLQEILHGAVRFSNNPALCNVESIQWRD
IVSSEFLSNMSMDFQNHLSGSCQKCDPSCPNWSCWGAGEENCQKLTKIICAQQCSGRCRGKSPSDCCHNQCAAGCTGPRES
DCLVCRKFRDEATCKDTCPLMLYNPTTYQMDVNPEGKYSFGATCVKKCPRNYVVTDHGSCVRACGADSYEMEEDGVRKC
KKCEGPCRKVCNGIGIGEFKDTLSINATNIKHFKNCTISGDLHILPVAFRGDSFTHTPPLDPQELDILKTVKEITGFL
IQAWPENRTDLHAFENLEIRGRKQHGQFSLAVVSLNITSLGLRSLKEISDGDVVISGNKNLCYANTINWKKLFGTSSQ
KTKIISNRGENSCKATGQVCHALCSPEGCWGPEPRDCVSCQNVSRGRECVDKCNILEGEPREFVENSECIQCHPECLPQV
MNICTCTGRPDNCIQCAHYIDGPHCVKTCAPAGVMGENNTLVWKYADAGHVCHLCHPNCTYGTGPGLEGCARNGPKIPS<
/INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="47">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>124</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..124</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q93">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
```

```

    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSDNDFSWVRQAPGQGLEWMGAIVAVVRTETYAQ
KFQDRVKITADISTRTTYMELSSLRSEDYAVYYCARRLMSAISGPGAPLLMWGQGTLVTVSS</INSDSeq_sequence
>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 48">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>111</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..111</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q95">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>QSALTQPRSVSGSPGQSVTISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMIYDVSERPSGVPD
RFSGSKSGNTASLTISGLQAEDYCYFSYTSSDTLEIFGGGTKLTVL</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 49">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>19</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>

```

```
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..19</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q97">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>智人</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>STWWKEPLNIVSFLFCFAS</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="50">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>10</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..10</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q99">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>智人</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
```

```

    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>RHVNIALIQ</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="51">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>5</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..5</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q100">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>VARIANT</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>4</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q101">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Any amino acid</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>任何胺基酸</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>

```

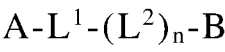


```
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>LPTXG</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
</ST26SequenceListing>
```

【發明申請專利範圍】

【請求項1】

一種包含式I結構之化合物或其醫藥學上可接受之鹽：



式I

其中

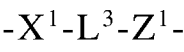
A為螯合部分或其金屬錯合物；

B為抗體或其抗原結合片段；

L¹為鍵、C=O、C=S、視情況經取代之C₁-C₆烷基、視情況經取代之C₁-C₆雜烷基、視情況經取代之芳基或視情況經取代之雜芳基；

n為1與5之間的整數(含本數)；及

L²各自獨立地具有式II結構：



式II

其中

X¹為-C(O)NR¹-*、-NR¹C(O)-*、-C(S)NR¹-*、-NR¹C(S)-*、-OC(O)NR¹-*、-NR¹C(O)O-*、-NR¹C(O)NR¹-、-CH₂-Ph-C(O)NR¹-*、-NR¹C(O)-Ph-CH₂-*、-CH₂-Ph-NH-C(S)NR¹-*、-NR¹C(S)-NH-Ph-CH₂-*、-O-或-NR¹-，其中「*」指示與L³之連接點，且R¹為氫、視情況經取代之C₁-C₆烷基、視情況經取代之C₁-C₆雜烷基、視情況經取代之芳基或視情況經取代之雜芳基；

L³為視情況經取代之C₁-C₅₀烷基或視情況經取代之C₁-C₅₀雜烷基；及

Z^1 為 $-\text{CH}_2-\#$ 、 $-\text{C}(\text{O})-\#$ 、 $-\text{C}(\text{S})-\#$ 、 $-\text{OC}(\text{O})-\#$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{O}-\#$ 、 $-\text{NR}^2\text{C}(\text{O})-\#$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{NR}^2-\#$ 或 $-\text{NR}^2-\#$ ，其中「#」指示與B之連接點，且 R^2 為氫、視情況經取代之 C_1-C_6 烷基、視情況經取代之 C_1-C_6 雜烷基、視情況經取代之芳基或視情況經取代之雜芳基，及其中該抗體或其抗原結合片段包含能夠結合表皮生長因子受體(epidermal growth factor receptor；EGFR)之第一抗原結合域及能夠結合cMET之第二抗原結合域，

其中該第一抗原結合域包含：

i. 包含以下互補決定區(complementarity determining region；CDR)之重鏈可變(heavy chain variable；VH)區：

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 1之HCDR1

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 2之HCDR2

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 3之HCDR3，

或其變異體，其中HCDR1、HCDR2及HCDR3中之一或多者中之一或兩個或三個胺基酸經其他胺基酸取代；及

ii. 包含以下CDR之輕鏈可變(light chain variable；VL)區：

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 4之LCDR1

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 5之LCDR2

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 6之LCDR3，

或其變異體，其中LCDR1、LCDR2及LCDR3中之一或多者中之一或兩個或三個胺基酸經其他胺基酸取代。

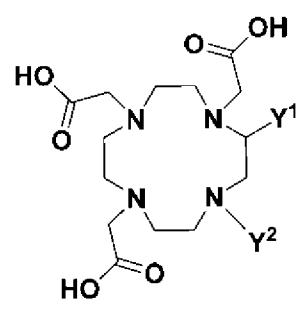
【請求項2】

如請求項1之化合物，其中該螯合部分係選自由以下組成之群：

DOTA (1,4,7,10-四氮雜環十二烷-1,4,7,10-四乙酸)、DOTMA (1R,4R,7R,10R)- $\alpha,\alpha',\alpha'',\alpha'''$ -四甲基-1,4,7,10-四氮雜環十二烷-1,4,7,10-四乙酸、DOTAM (1,4,7,10-肆(胺甲醯基甲基)-1,4,7,10-四氮雜環十二烷)、DOTPA (1,4,7,10-四氮雜環十二烷-1,4,7,10-四丙酸)、DO3AM-乙酸(2-(4,7,10-參(2-胺基-2-側氧基乙基)-1,4,7,10-四氮雜環十二烷-1-基)乙酸)、DOTA-GA酸酐(2,2',2''-(10-(2,6-二側氧基四氫-2H-哌喃-3-基)-1,4,7,10-四氮雜環十二烷-1,4,7-三基)三乙酸)、DOTP (1,4,7,10-四氮雜環十二烷-1,4,7,10-四(亞甲基膦酸))、DOTMP (1,4,6,10-四氮雜環癸烷-1,4,7,10-四亞甲基膦酸)、DOTA-4AMP (1,4,7,10-四氮雜環十二烷-1,4,7,10-肆(乙醯胺基-亞甲基膦酸)、CB-TE2A (1,4,8,11-四氮雜雙環[6.6.2]十六烷-4,11-二乙酸)、NOTA (1,4,7-三氮雜環壬烷-1,4,7-三乙酸)、NOTP (1,4,7-三氮雜環壬烷-1,4,7-三(亞甲基膦酸)、TETPA (1,4,8,11-四氮雜環十四烷-1,4,8,11-四丙酸)、TETA (1,4,8,11-四氮雜環十四烷-1,4,8,11-四乙酸)、HEHA (1,4,7,10,13,16-六氮雜環十六烷-1,4,7,10,13,16-六乙酸)、PEPA (1,4,7,10,13-五氮雜環十五烷-N,N',N'',N''',N''''-五乙酸)、H₄octapa (N,N'-雙(6-羧基-2-吡啶基甲基)-乙二胺-N,N'-二乙酸)、H₂dedpa (1,2-[[6-(羧基)-吡啶-2-基]-甲胺基]乙烷)、H₆phospa (N,N'-(亞甲基膦酸酯)-N,N'-[6-(甲氧基羰基)吡啶-2-基]-甲基-1,2-二胺基乙烷)、TTHA (三伸乙基四胺-N,N,N',N'',N''',N''''-六乙酸)、DO2P (四氮雜環十二烷二甲烷膦酸)、HP-DO3A (經丙基四氮雜環十二烷三乙酸)、EDTA (乙二胺四乙酸)、去鐵胺(Deferoxamine)、DTPA (二伸乙基三胺五乙酸)、DTPA-BMA (二伸乙基三胺五乙酸-雙甲基醯胺)及卟啉。

【請求項3】

如請求項2之化合物，其中該化合物由式I-a表示，或為其金屬錯合物：

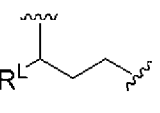


式I-a

其中Y¹為-CH₂OCH₂(L²)_n-B、-C(O)(L²)_n-B或-C(S)(L²)_n-B，且Y²為-CH₂CO₂H；或

其中Y¹為H，且Y²為L¹-(L²)_n-B。

【請求項4】

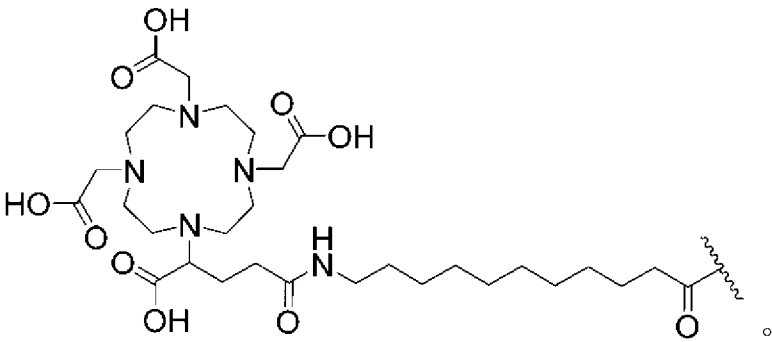
如請求項1至3中任一項之化合物，其中L¹為 ，其中R^L為氫或-CO₂H。

【請求項5】

如請求項1至4中任一項之化合物，

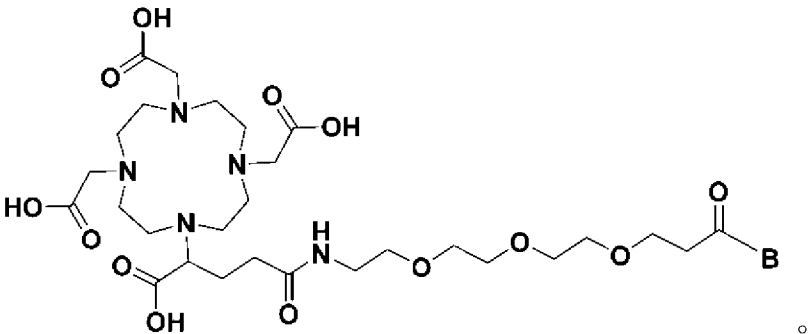
其中該金屬錯合物包含選自由以下組成之群的金屬：Bi、Pb、Y、Mn、Cr、Fe、Co、Zn、Ni、Tc、In、Ga、Cu、Re、鑼系元素及銻系元素；或

其中該金屬錯合物含有選自由以下組成之群的放射性核種：⁴⁴Sc、⁴⁷Sc、⁵⁵Co、⁶⁰Cu、⁶¹Cu、⁶²Cu、⁶⁴Cu、⁶⁷Cu、⁶⁶Ga、⁶⁷Ga、⁶⁸Ga、⁸²Rb、⁸⁶Y、⁸⁷Y、⁸⁹Zr、⁹⁰Y、⁹⁷Ru、⁹⁹Tc、^{99m}Tc、¹⁰⁵Rh、¹⁰⁹Pd、¹¹¹In、^{117m}Sn、¹⁴⁹Pm、¹⁴⁹Tb、¹⁵³Sm、¹⁶⁶Ho、¹⁷⁷Lu、¹⁸⁶Re、¹⁸⁸Re、¹⁹⁸Au、¹⁹⁹Au、²⁰¹Tl、²⁰³Pb、²¹¹At、²¹²Pb、²¹²Bi、²¹³Bi、²²³Ra、²²⁵Ac、²²⁷Th



【請求項12】

如請求項1之化合物，其中該化合物包含以下結構，或其金屬錯合物：



【請求項13】

如請求項1至12中任一項之化合物，其中A為螯合部分之金屬錯合物，且該金屬錯合物包含放射性核種。

【請求項14】

如請求項13之化合物，其中該放射性核種為⁶⁸Ga、¹¹¹In、¹⁷⁷Lu或²²⁵Ac。

【請求項15】

如請求項13之化合物，其中該放射性核種為²²⁵Ac。

【請求項16】

如請求項13之化合物，其中該放射性核種為選自由以下組成之群的α發射體：砒-211 (²¹¹At)、鉍-212 (²¹²Bi)、鉍-213 (²¹³Bi)、鈾-225

(²²⁵Ac)、鐳-223 (²²³Ra)、鉛-212 (²¹²Pb)、釷-227 (²²⁷Th)及錒-149 (¹⁴⁹Tb)或其子系。

【請求項17】

如請求項16之化合物，其中該 α 發射體為²²⁵Ac或其子系。

【請求項18】

如前述請求項中任一項之化合物，其中該第一抗原結合域包含：

i. 包含以下互補決定區(CDR)之重鏈可變(VH)區：

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 1之HCDR1

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 2之HCDR2

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 3之HCDR3；及

ii. 包含以下CDR之輕鏈可變(VL)區：

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 4之LCDR1

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 5之LCDR2

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 6之LCDR3。

【請求項19】

如前述請求項中任一項之化合物，其中該第一抗原結合域能夠以低於包含抗體QD6之重鏈可變區序列及輕鏈可變區序列(分別為SEQ ID NO: 47及SEQ ID NO: 48所示之序列)之抗原結合域能夠結合至人類EGFR之親和力的親和力結合至人類EGFR。

【請求項20】

如前述請求項中任一項之化合物，其中該第一抗原結合域包含：

a. 包含與SEQ ID NO: 15之胺基酸序列具有至少70%、至少80%、至少90%或至少95%序列一致性之胺基酸序列的VH區；及

b. 包含與SEQ ID NO: 16之胺基酸序列具有至少70%、至少80%、至少90%或至少95%序列一致性之胺基酸序列的VL區。

【請求項21】

如前述請求項中任一項之化合物，其中該第二抗原結合域包含：

i. 包含以下CDR之VH區：

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 17之HCDR1

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 18之HCDR2

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 19之HCDR3，

或其變異體，其中HCDR1、HCDR2及HCDR3中之一或多者中之一或兩個或三個胺基酸經其他胺基酸取代；及

ii. 包含以下CDR之VL區：

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 20之LCDR1

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 21之LCDR2

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 22之LCDR3，

或其變異體，其中LCDR1、LCDR2及LCDR3中之一或多者中之一或兩個或三個胺基酸經其他胺基酸取代。

【請求項22】

如請求項21之化合物，其中該第二抗原結合域包含：

i. 包含以下CDR之VH區：

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 17之HCDR1

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 18之HCDR2

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 19之HCDR3；及

ii. 包含以下CDR之VL區：

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 20之LCDR1

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 21之LCDR2

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 22之LCDR3。

【請求項23】

如請求項21或22之化合物，其中該第二抗原結合域包含：

- a. 包含與SEQ ID NO: 31之胺基酸序列具有至少70%、至少80%、至少90%或至少95%序列一致性之胺基酸序列的VH區；及
- b. 包含與SEQ ID NO: 32之胺基酸序列具有至少70%、至少80%、至少90%或至少95%序列一致性之胺基酸序列的VL區。

【請求項24】

如前述請求項中任一項之化合物，其中該抗體或其抗原結合片段包含：

- a. 第一重鏈，其中該第一重鏈包含該第一抗原結合域之該VH區，及第一重鏈恆定(heavy chain constant；CH)區或其片段；
- b. 第一輕鏈，其中該第一輕鏈包含該第一抗原結合域之該VL區，及第一輕鏈恆定(light chain constant；CL)區或其片段；
- c. 第二重鏈，其中該第二重鏈包含該第二抗原結合域之該VH區，及第二重鏈恆定(CH)區或其片段；及
- d. 第二輕鏈，其中該第二輕鏈包含該第二抗原結合域之該VL區，及第二輕鏈恆定(CL)區或其片段。

【請求項25】

如請求項24之化合物，其中該第一CH區及該第二CH區各自包含與SEQ ID NO: 33之胺基酸序列具有至少70%、至少80%、至少90%或至少

95%序列一致性之胺基酸序列。

【請求項26】

如請求項24或25之化合物，其中該第一重鏈及該第二重鏈形成雜二聚體，視情況其中該第一重鏈及該第二重鏈中之一者包含位置354處之半胱胺酸(C)殘基及位置366處之色胺酸(W)殘基，且另一重鏈包含位置349處之半胱胺酸(C)殘基、位置407處之纈胺酸(V)殘基、位置366處之絲胺酸(S)及位置368處之丙胺酸(A)，其中該恆定區之編號係根據EU索引。

【請求項27】

如請求項24至26中任一項之化合物，其中該抗體或其抗原結合片段包含：

- a. 經修飾之CH區，其中該經修飾之CH區包含將原生非半胱胺酸胺基酸取代成半胱胺酸胺基酸；及
- b. 經修飾之相應CL區，其中該經修飾之CL區包含將原生非半胱胺酸胺基酸取代成半胱胺酸胺基酸，

其中，以下中之任一者：

- i. 該第一重鏈包含該經修飾之CH區且該第一輕鏈包含該經修飾之相應CL區；或
- ii. 該第二重鏈包含該經修飾之CH區且該第二輕鏈包含該經修飾之相應CL區，及

其中該經修飾之CH區之經取代半胱胺酸與經修飾之相應輕鏈之經取代半胱胺酸可形成雙硫鍵。

【請求項28】

如請求項27之化合物，其中該經修飾之CH區包含在位置126處原生

非半胱胺酸胺基酸取代成半胱胺酸胺基酸；且該經修飾之相應CL區包含在位置121處原生非半胱胺酸胺基酸取代成半胱胺酸胺基酸，其中該恆定區之編號係根據EU索引。

【請求項29】

如請求項24至28中任一項之化合物，其中該第一CH區及/或該第二CH區包含突變以減少或消除該抗體或其抗原結合片段與多種Fc γ 受體中之一者的結合。

【請求項30】

如請求項24至29中任一項之化合物，其中該第一CH區及/或該第二CH區包含位置234處之苯丙胺酸、位置235處之麩胺酸及位置331處之絲胺酸，其中該恆定區之編號係根據EU索引。

【請求項31】

如請求項24至30中任一項之化合物，其中：

- a. 該第一CH區包含與SEQ ID NO: 39中所示之序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性之胺基酸序列；
- b. 該第二CH區包含與SEQ ID NO: 40中所示之序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性之胺基酸序列，
- c. 該第一CL區包含與SEQ ID NO: 41中所示之序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性之胺基酸序列；及
- d. 該第二CL區包含與SEQ ID NO: 34中所示之序列具有至少90%、

91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性之胺基酸序列。

【請求項32】

如前述請求項中任一項之化合物，其中該抗體或其抗原結合片段包含：

a. 第一重鏈，其包含與SEQ ID NO: 35中所示之序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性之胺基酸序列；

b. 第二重鏈，其包含與SEQ ID NO: 36中所示之序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性之胺基酸序列；

c. 第一輕鏈，其包含與SEQ ID NO: 37中所示之序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性之胺基酸序列；及

d. 第二輕鏈，其包含與SEQ ID NO: 38中所示之序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性之胺基酸序列。

【請求項33】

如請求項32之化合物，其中：

a. 該第一重鏈包含具有SEQ ID NO: 35中所示之序列的胺基酸序列；

b. 該第二重鏈包含具有SEQ ID NO: 36中所示之序列的胺基酸序列；

c. 該第一輕鏈包含具有SEQ ID NO: 37中所示之序列的胺基酸序列；及

d. 該第二輕鏈包含具有SEQ ID NO: 38中所示之序列的胺基酸序列。

【請求項34】

如前述請求項中任一項之化合物，其中：

- a. 能夠結合EGFR之該第一抗原結合域能夠結合食蟹獼猴EGFR；
- b. 能夠結合EGFR之該第一抗原結合域能夠結合小鼠EGFR；
- c. 能夠結合cMET之該第二抗原結合域能夠結合食蟹獼猴cMET；
- d. 該第一抗原結合域對EGFR具有特異性；
- e. 該第二抗原結合域對cMET具有特異性；
- f. 該抗體或其抗原結合片段能夠同時接合EGFR及cMET；
- g. 該抗體或其抗原結合片段能夠被內化至細胞中；
- h. 當以活體外細胞存活分析中量測時，該抗體或其抗原結合片段具有細胞毒性活性；及/或
- i. 該抗體或其抗原結合片段能夠阻斷EGFR及/或cMET之配位體依賴性信號傳導。

【請求項35】

如請求項1之化合物，其中：

(a)該第一抗原結合域包含：

i. 包含以下互補決定區(CDR)之重鏈可變(VH)區：

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 1之HCDR1

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 2之HCDR2

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 3之HCDR3；及

ii. 包含以下CDR之輕鏈可變(VL)區：

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 4之LCDR1

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 5之LCDR2

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 6之LCDR3；及

(b)該第二抗原結合域包含：

i. 包含以下CDR之VH區：

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 17之HCDR1

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 18之HCDR2

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 19之HCDR3；及

ii. 包含以下CDR之VL區：

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 20之LCDR1

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 21之LCDR2

具有胺基酸序列SEQ ID NO: 22之LCDR3。

【請求項36】

如前述請求項中任一項之化合物，其中該第一抗原結合域能夠以具有以下K_d之親和力結合人類EGFR：

- a. 10與100 nM之間；
- b. 20與80 nM之間；
- c. 30與75 nM之間；或
- d. 35與50 nM之間。

【請求項37】

如前述請求項中任一項之化合物，其中該第二抗原結合域能夠以具

有以下Kd之親和力結合人類cMUT：

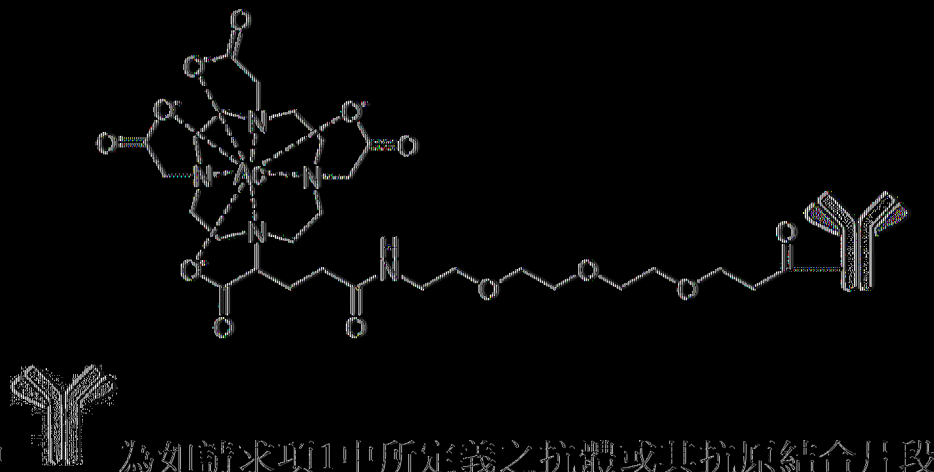
- a. 低於10 nM；或
- b. 低於5 nM。

[(請求項38)]

如請求項19、36及37中任一項之化合物，其中該親和力係藉由表面電漿共振量測。

[(請求項39)]

如請求項1之化合物，其中該化合物包含以下結構：



[(請求項40)]

如請求項39之化合物，其中該抗體或其抗原結合片段經由離胺酸殘基之側鏈胺基連接至 $\text{A}(\text{L}^1)(\text{L}^2)_n$ 。

[(請求項41)]

一種醫藥組合物，其包含如請求項1至40中任一項之化合物及醫藥學上可接受之載劑、稀釋劑或賦形劑。

[(請求項42)]

一種治療癌症之方法，該方法包含向有需要之個體投與治療有效量之如請求項1至40中任一項之化合物或如請求項41之組合物。

【請求項43】

如請求項42之方法，其中該癌症為選自由以下組成之群的實體腫瘤癌：腎上腺皮質癌、膀胱癌、乳癌、子宮頸癌、大腸直腸癌、子宮內膜腺癌、尤文氏肉瘤(Ewing's sarcoma)、膽囊癌、神經膠質瘤、頭頸癌、肝癌、肺癌、神經母細胞瘤、神經內分泌癌、卵巢癌、胰臟癌、前列腺癌、腎細胞癌、唾液腺樣囊性癌、精母細胞型精原細胞瘤及葡萄膜黑色素瘤。

【請求項44】

如請求項43之方法，其中該癌症為肺癌、大腸直腸癌、胰臟癌或頭頸癌。

【請求項45】

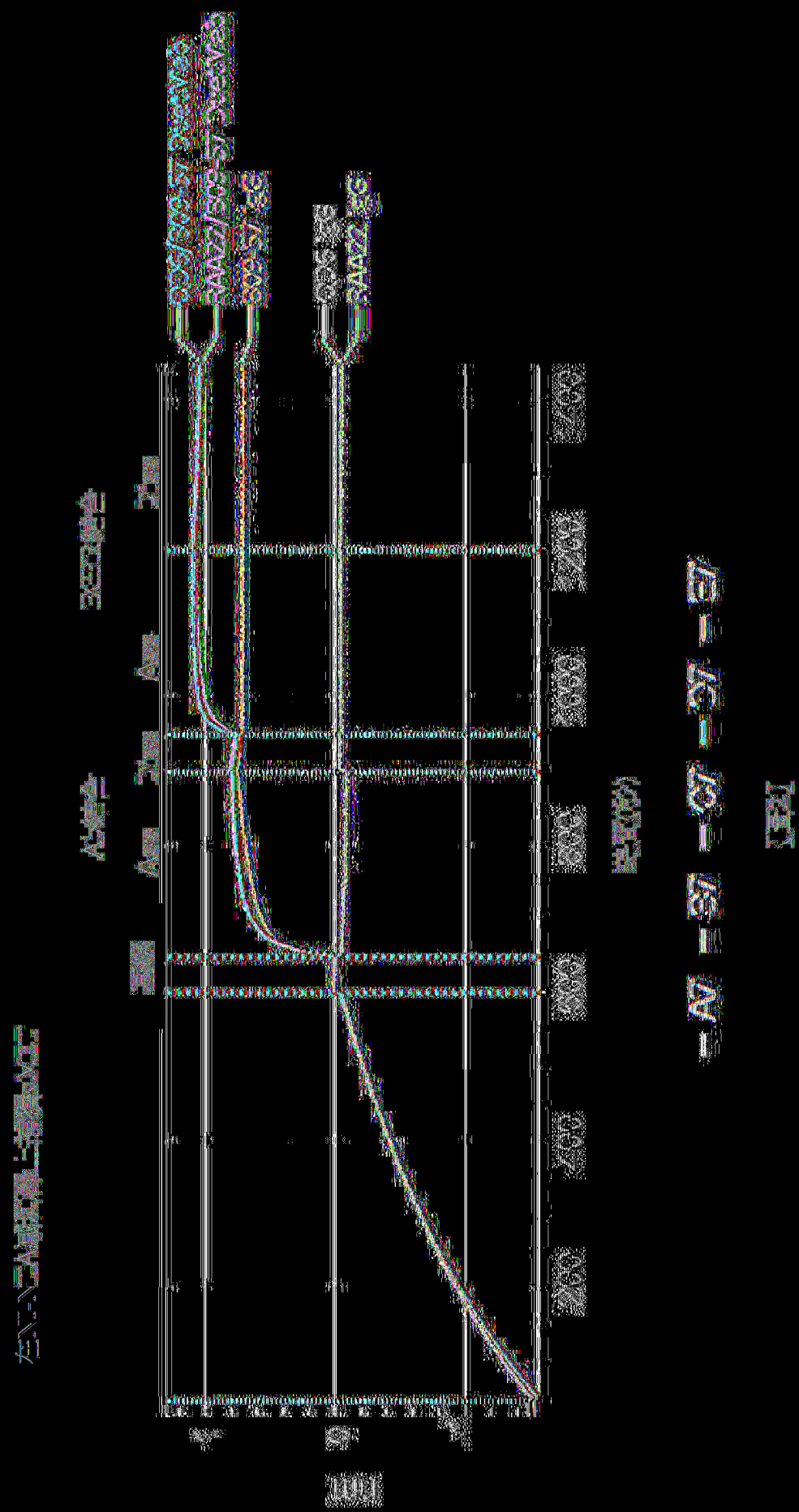
如請求項42至44中任一項之方法，其進一步包含投與抗增生劑、放射敏化劑或免疫調節劑。

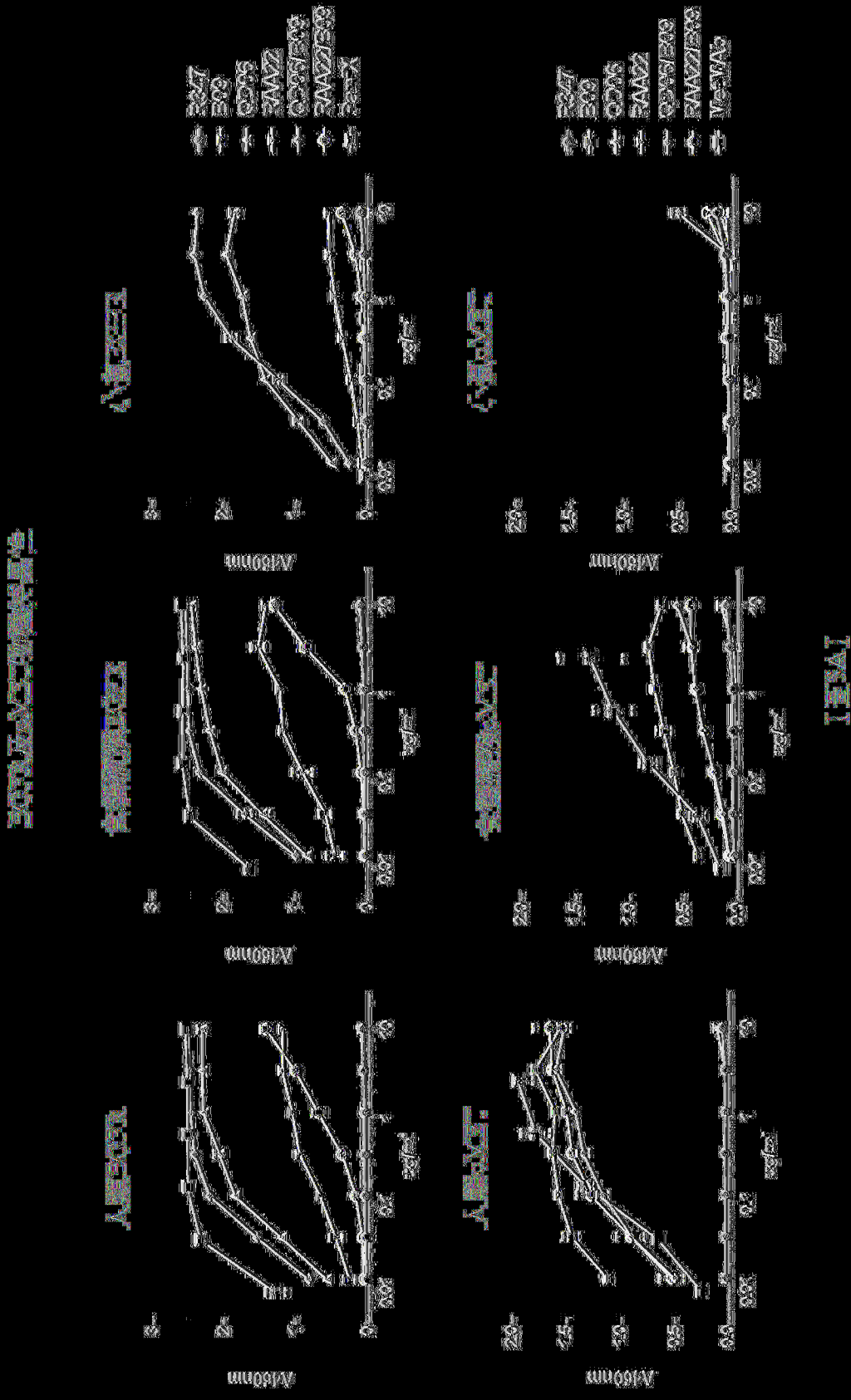
【請求項46】

如請求項1至40中任一項之化合物或如請求項41之醫藥組合物，其用於治療癌症之方法中。

【請求項47】

一種如請求項1至40中任一項之化合物或如請求項41之醫藥組合物之用途，其係用於製造用以治療癌症之藥劑。





右側線路配置図

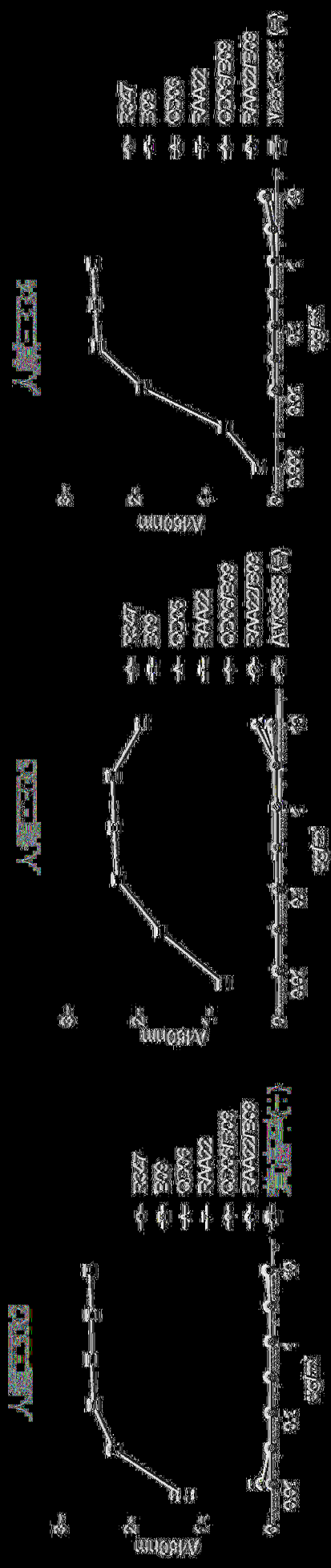


表 2 各種ノイズ源の発生率 (dB)

ノイズ源		発生率 (dB)					
		0	3	6	24	30	48
ノイズ源	RA22/R347	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001
	R347/B00	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001
	RA22/B00	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001
	RA22/B00	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001
	RA22/B00	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001

三A染整量産A5大台

173

PAW221R31

603/1730

3/22/2008



22



圖 10

圖 11

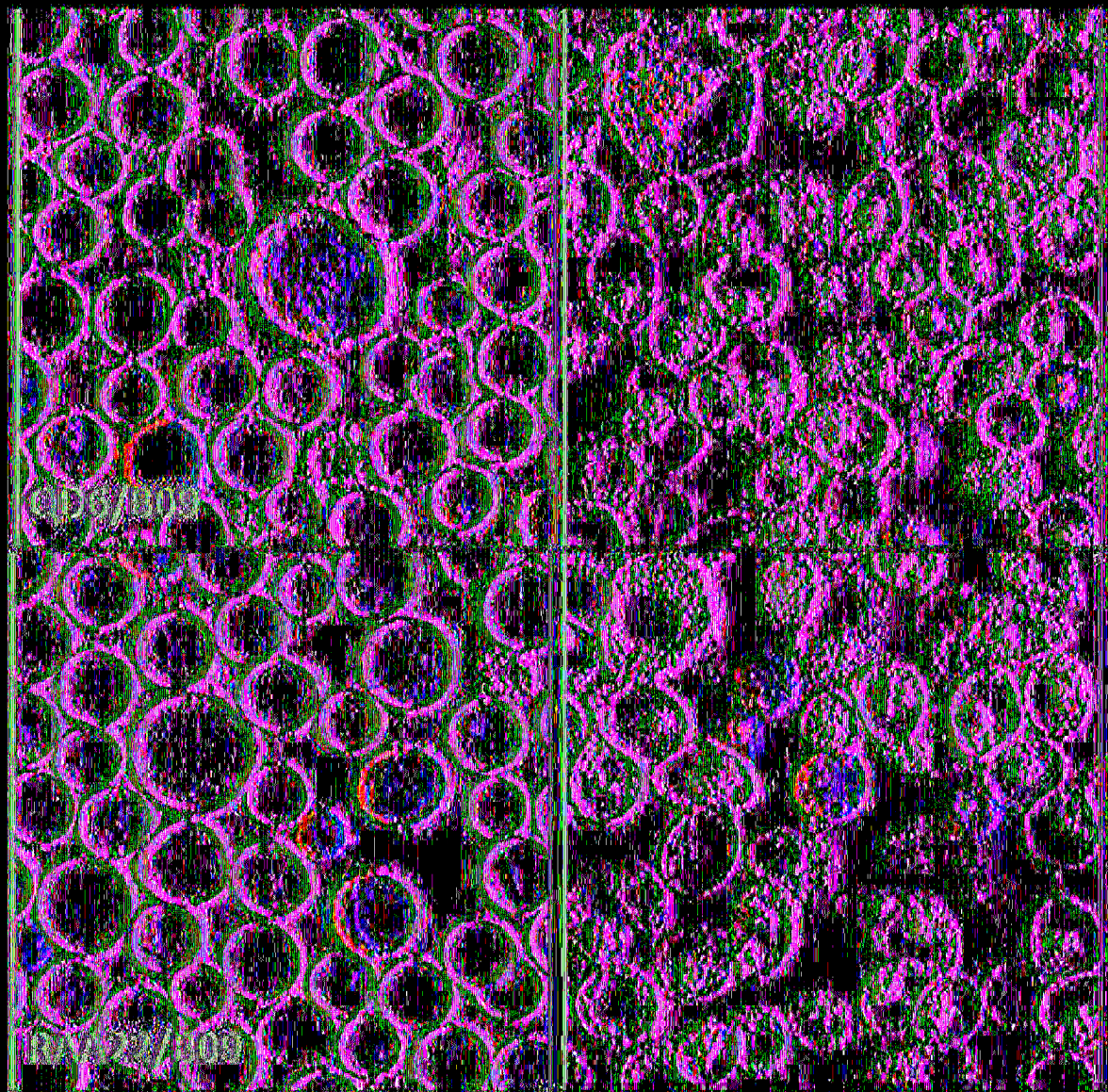
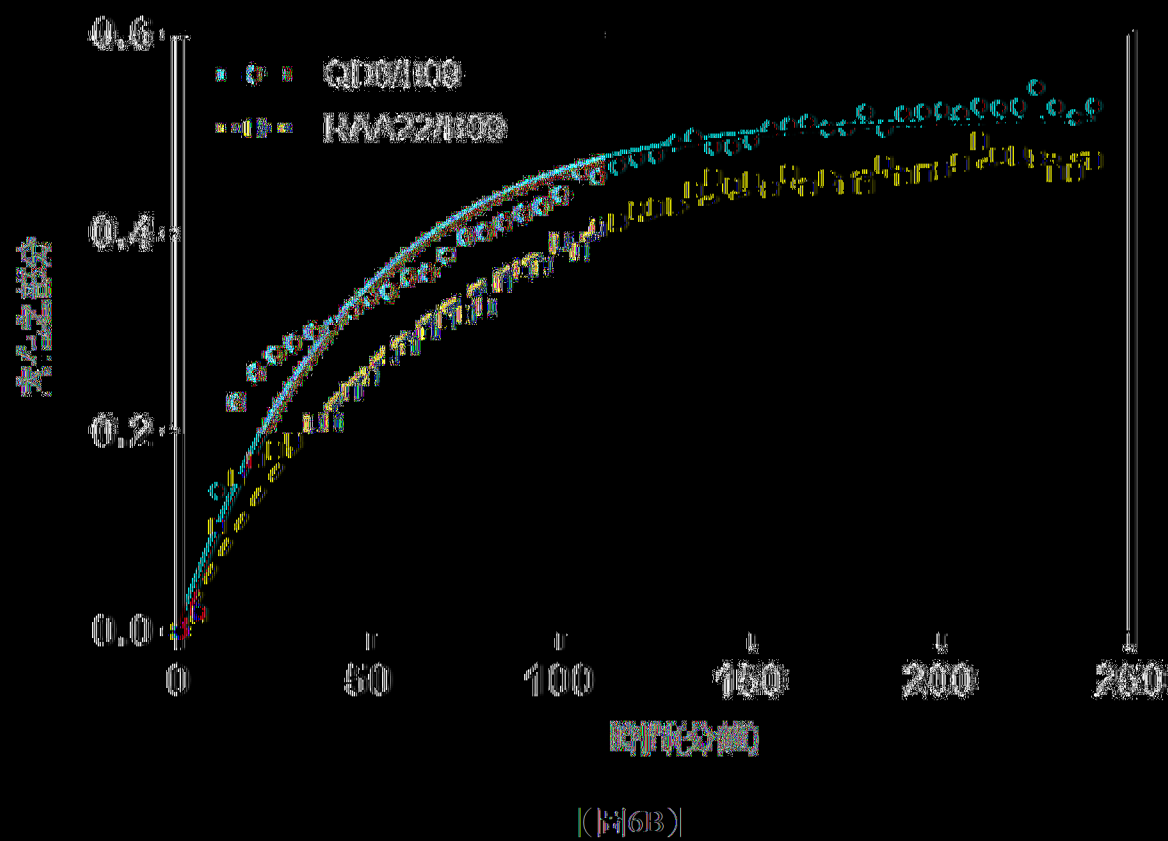
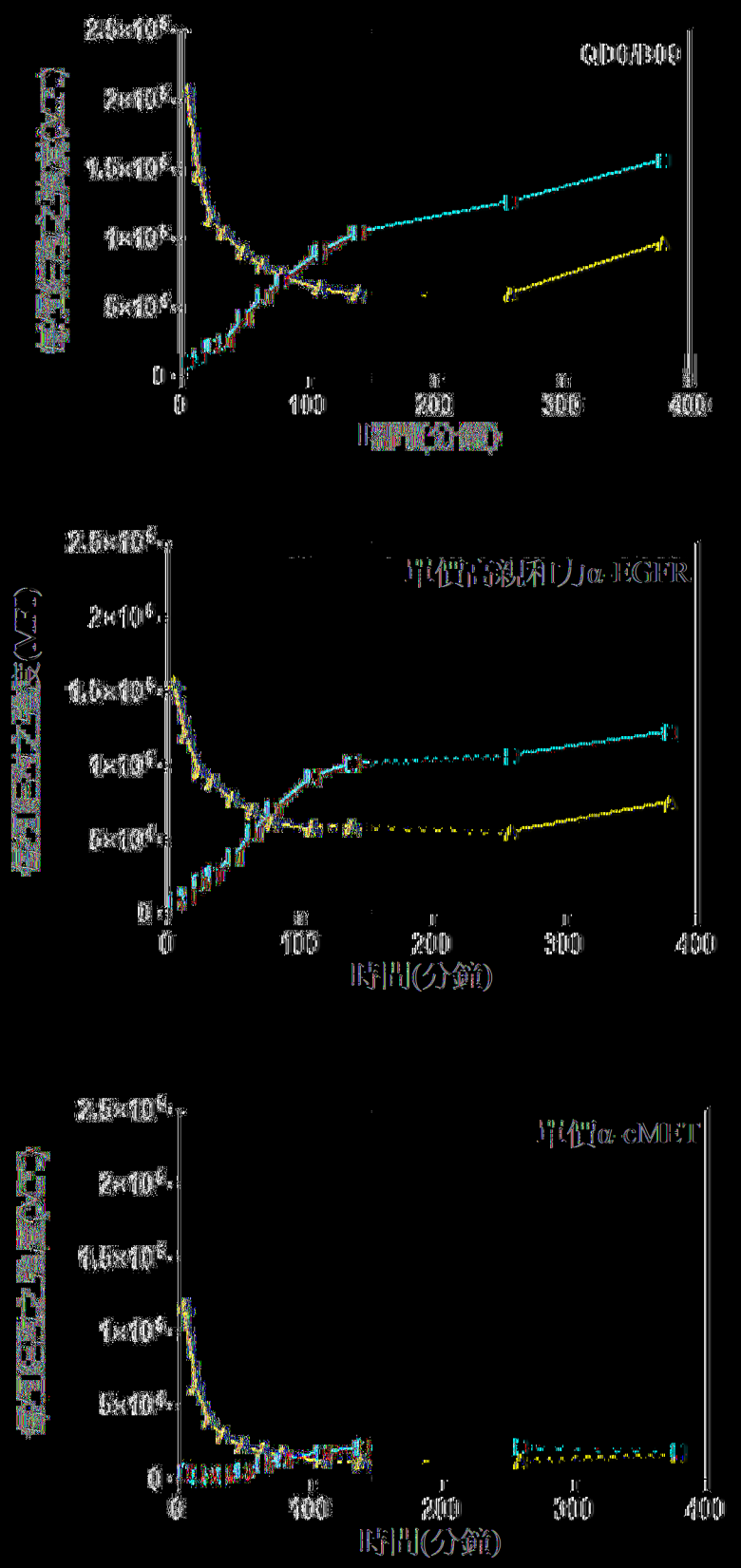


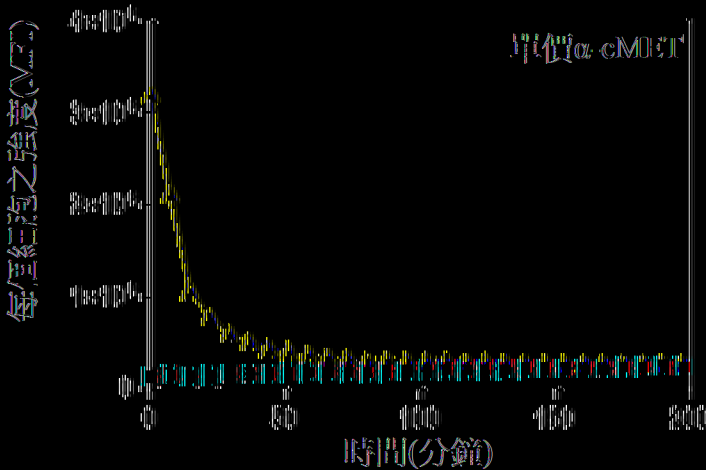
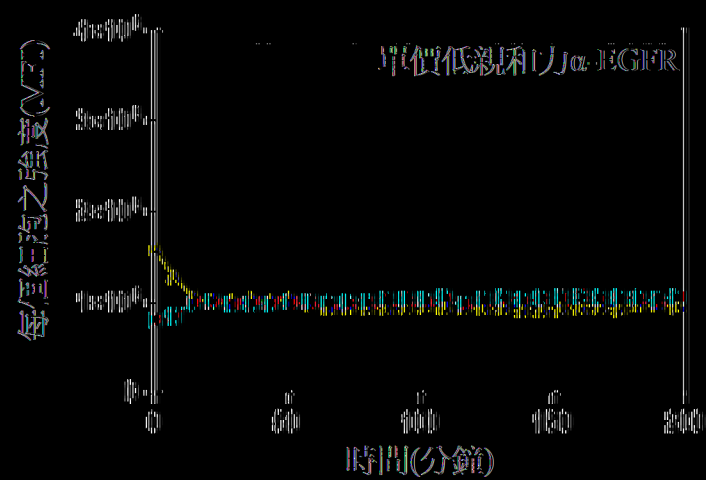
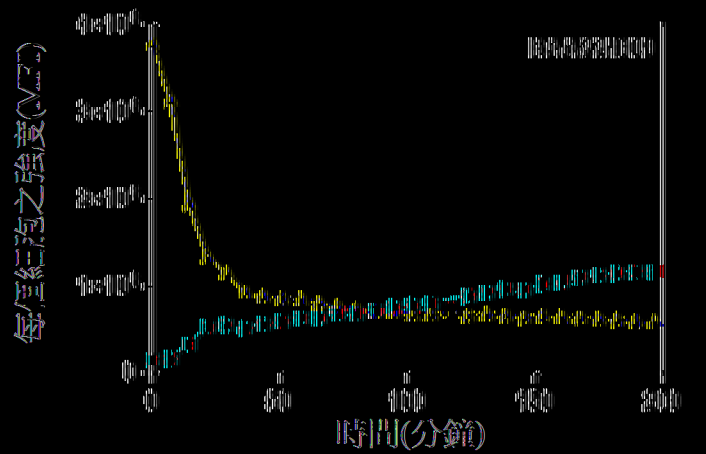
圖 10 及 11





(F/A) = 細胞質強度 (F/A) = 膜強度

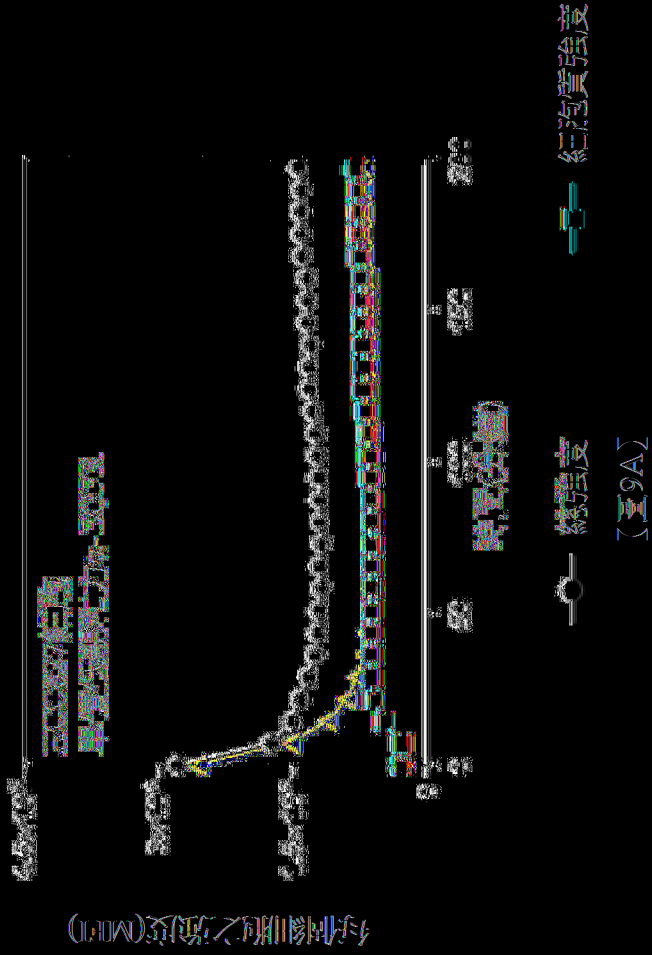
(F/A)

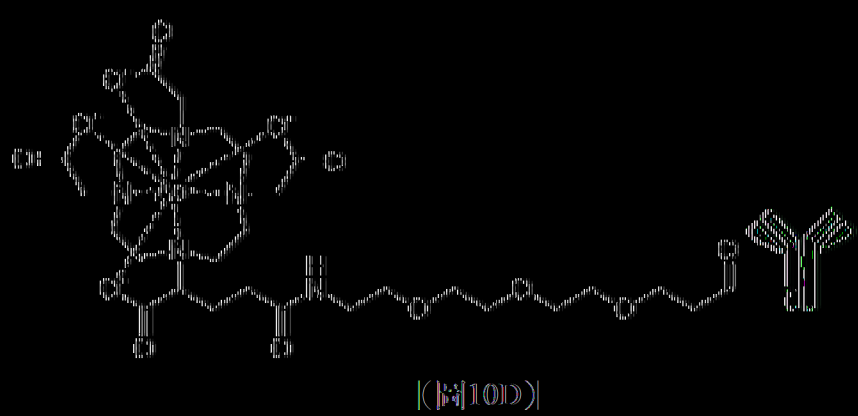
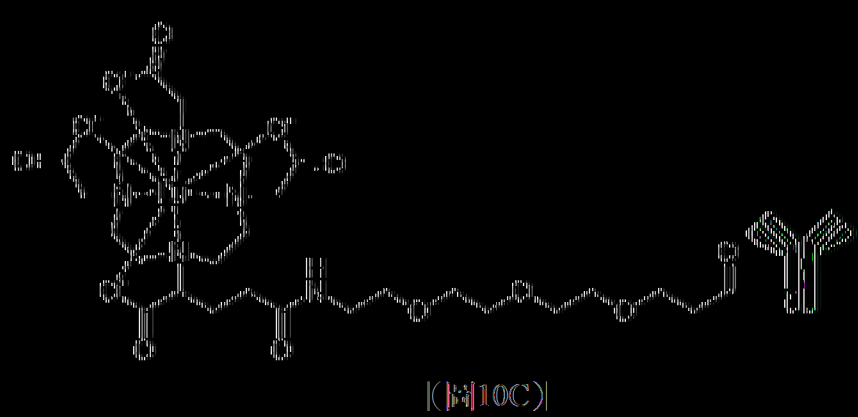
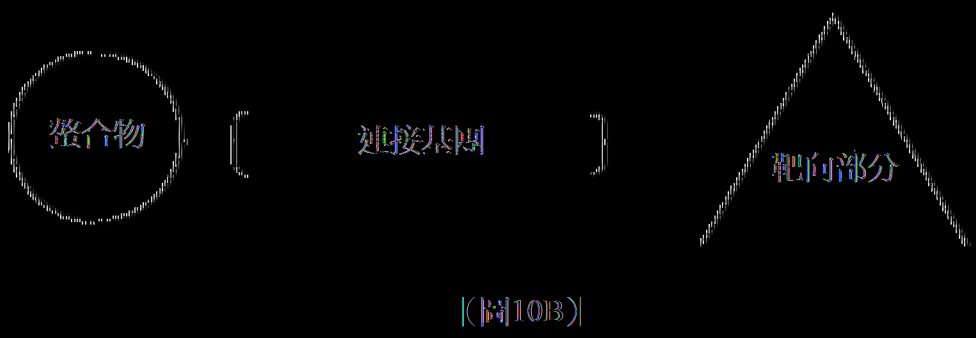


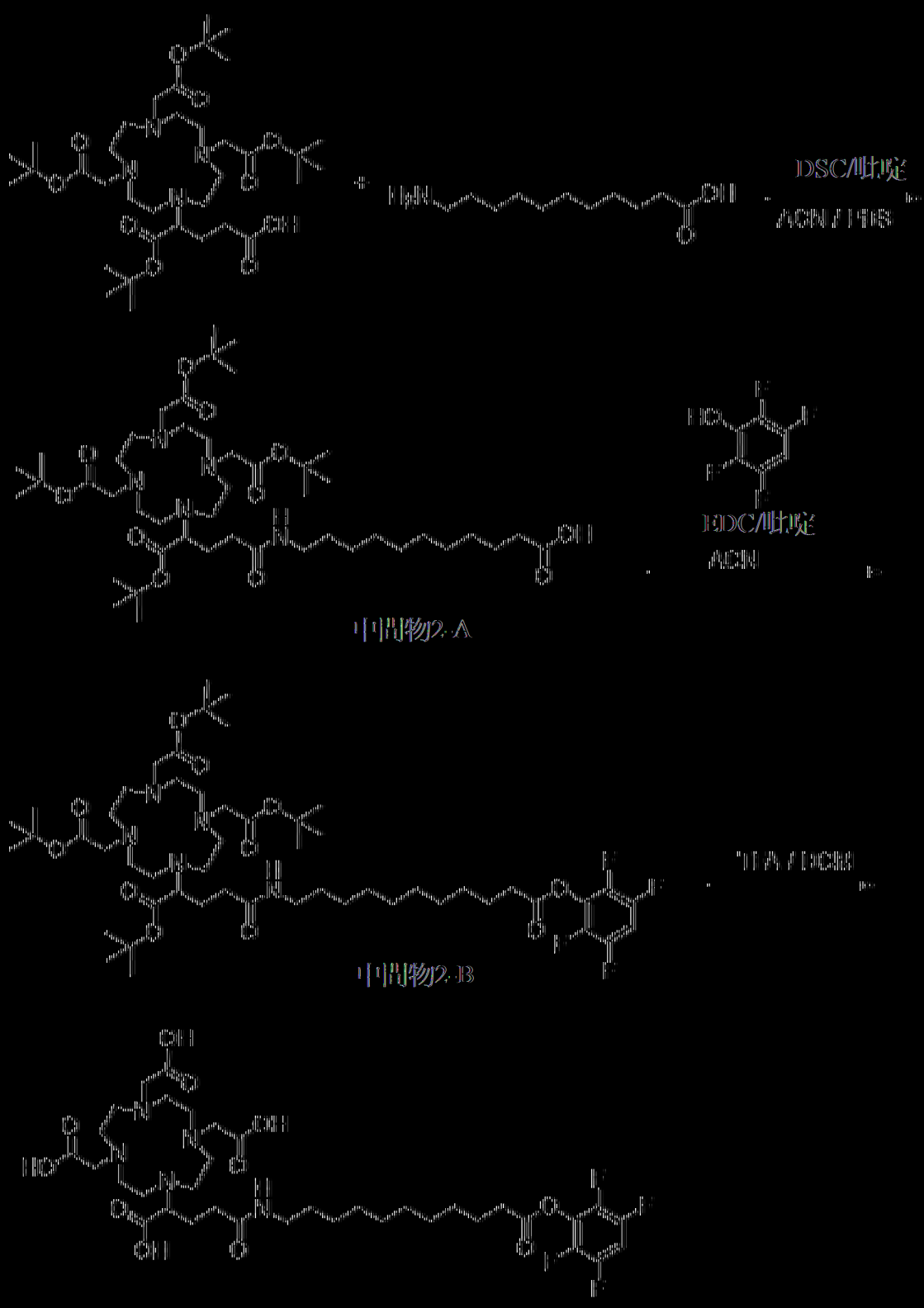
● (●) ● 細胞質強度

● (●) ● 膜強度

(圖7B)







[(圖11)]

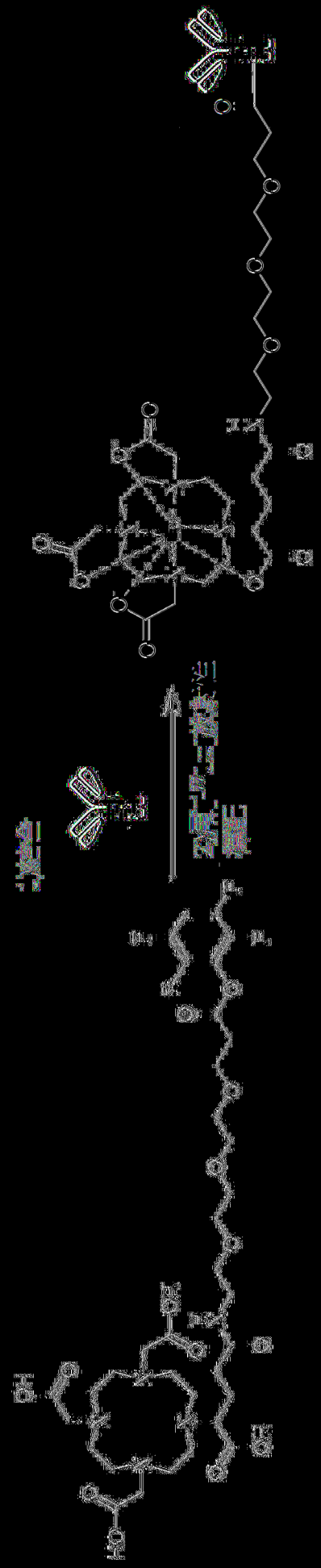
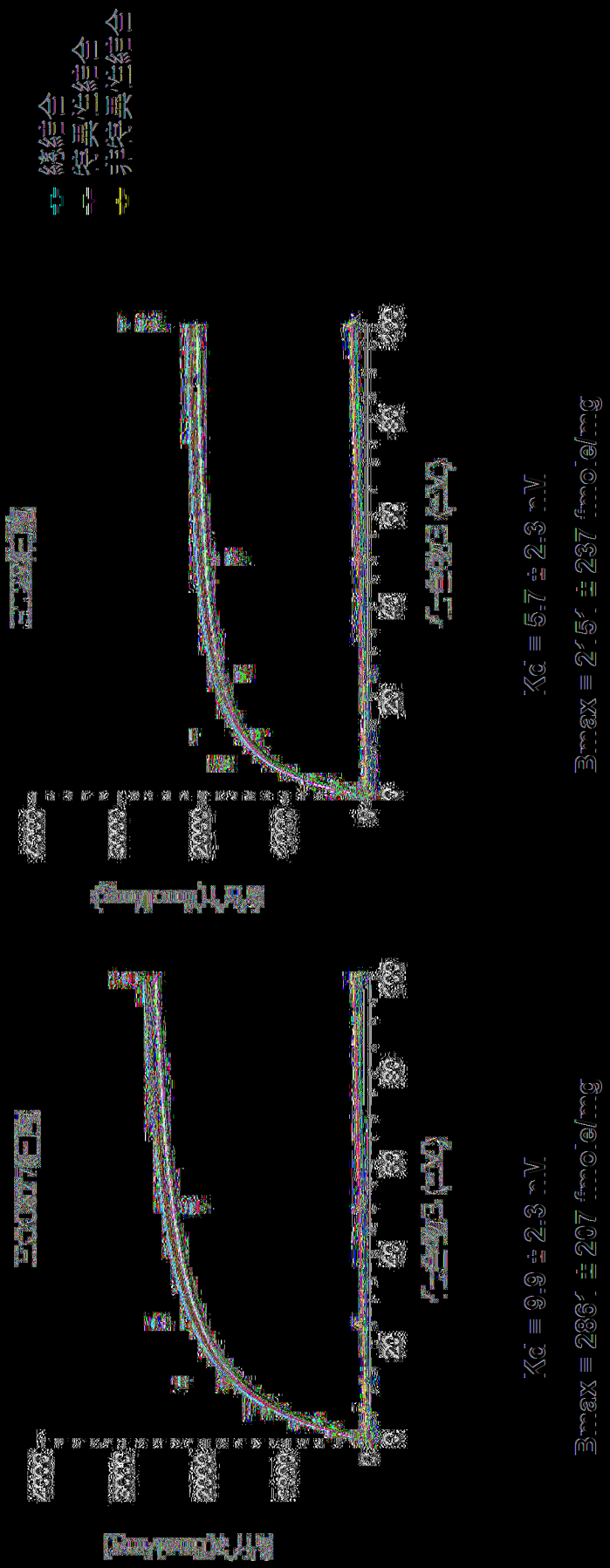


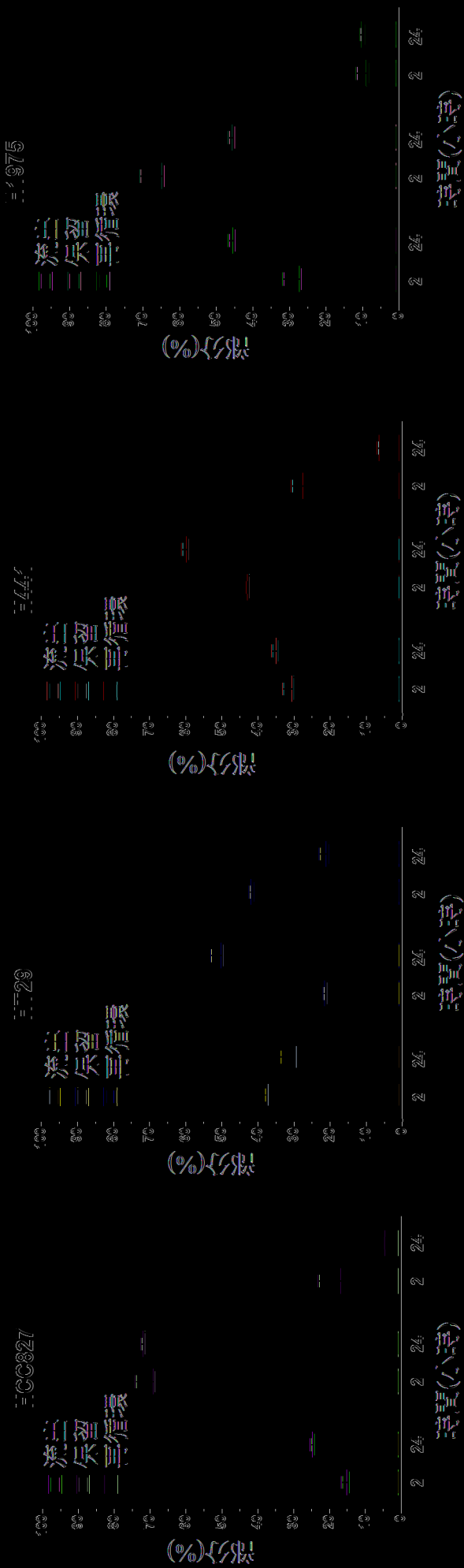
圖 13 顯示特異性結合至EGFR及cVE之RAA22/B09 DecVas，其中該結構經主雜胺殘基之與DNA結合物結合。

【圖13】



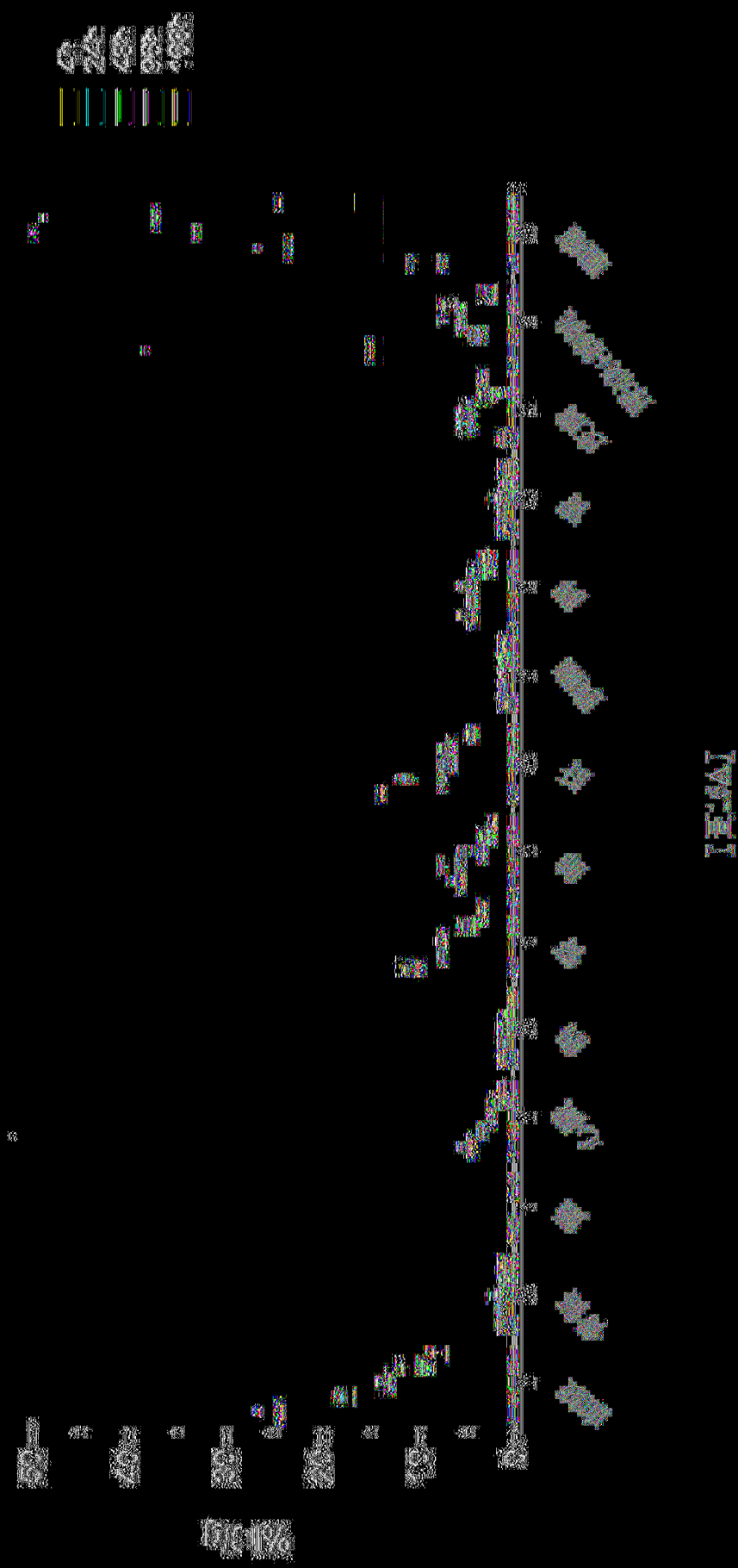
(圖 1)

化合物3-6-12

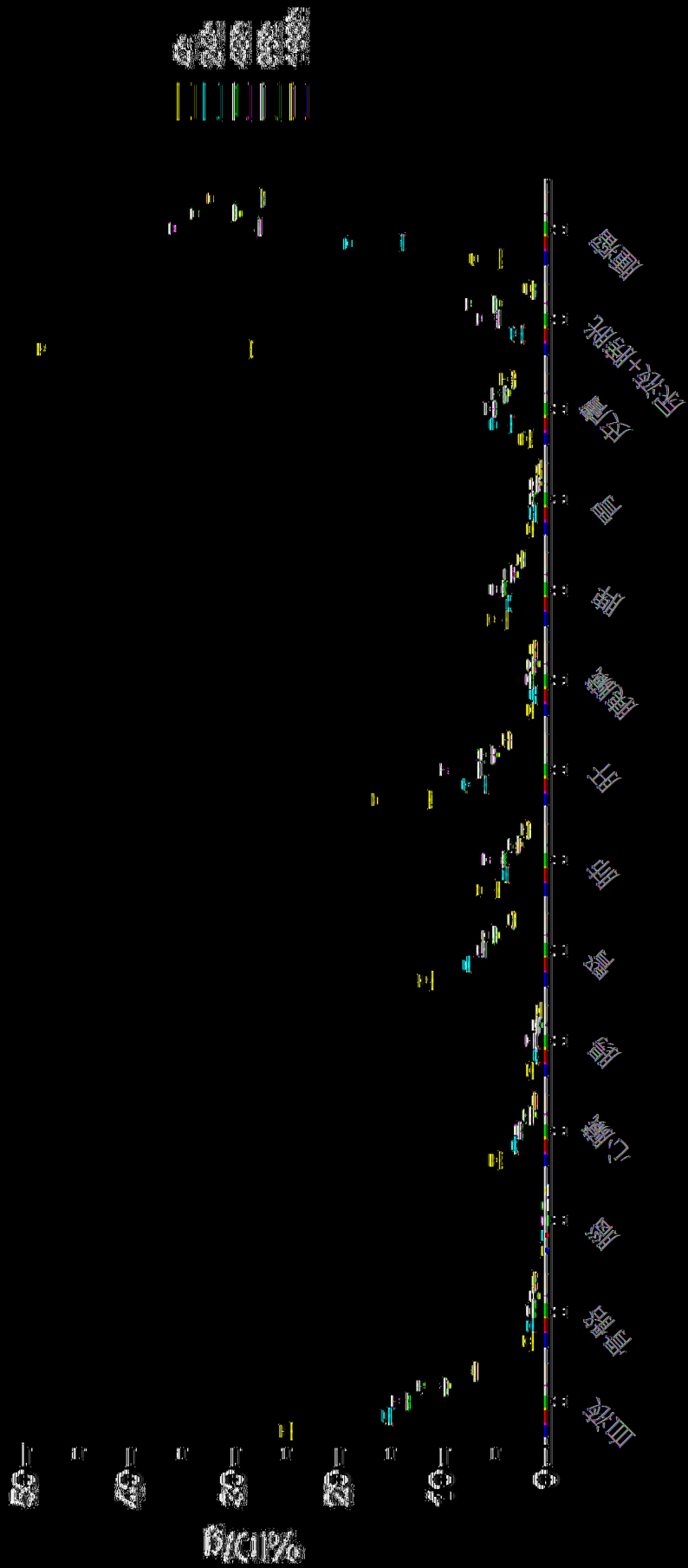


[圖 5]

化合物3在3,4,5-三羟基苯之生物分析研究

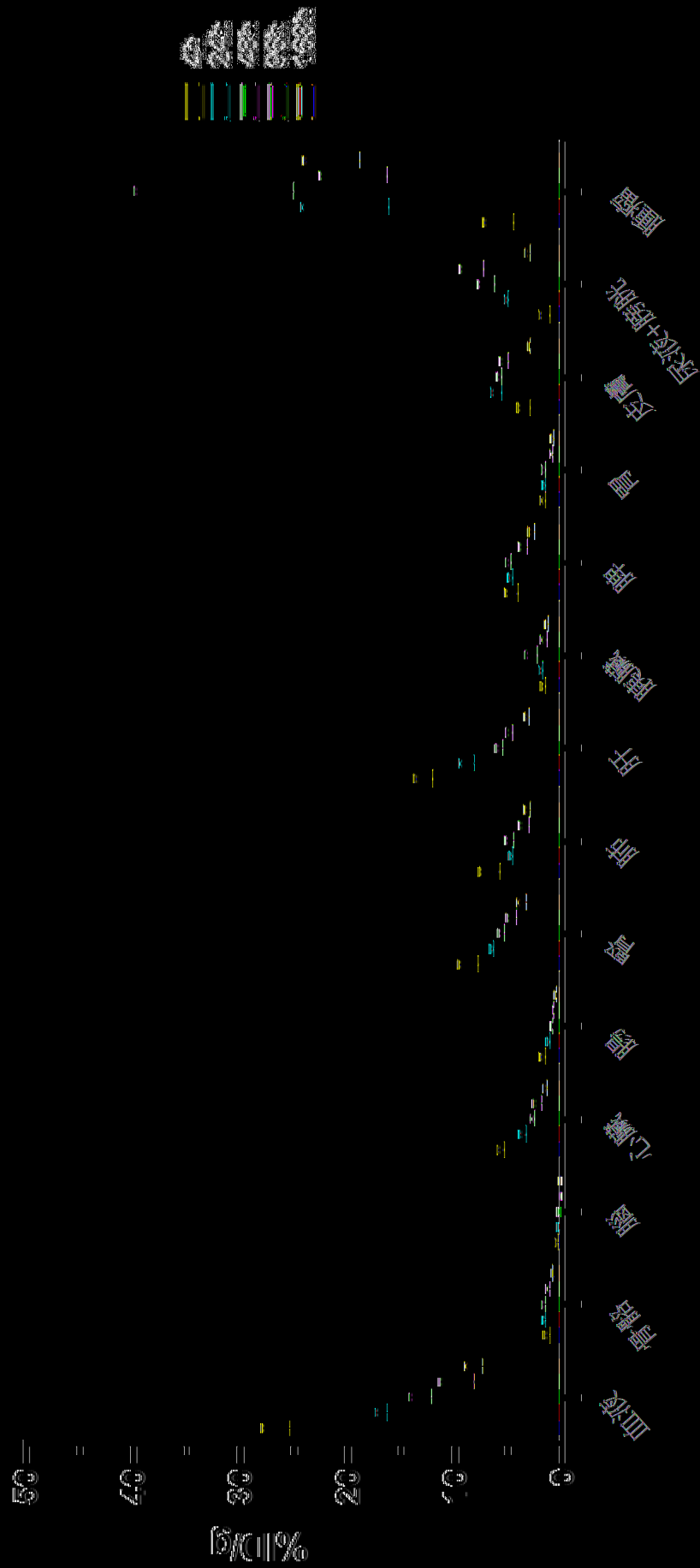


化合物3在29模型中之生物分布研究



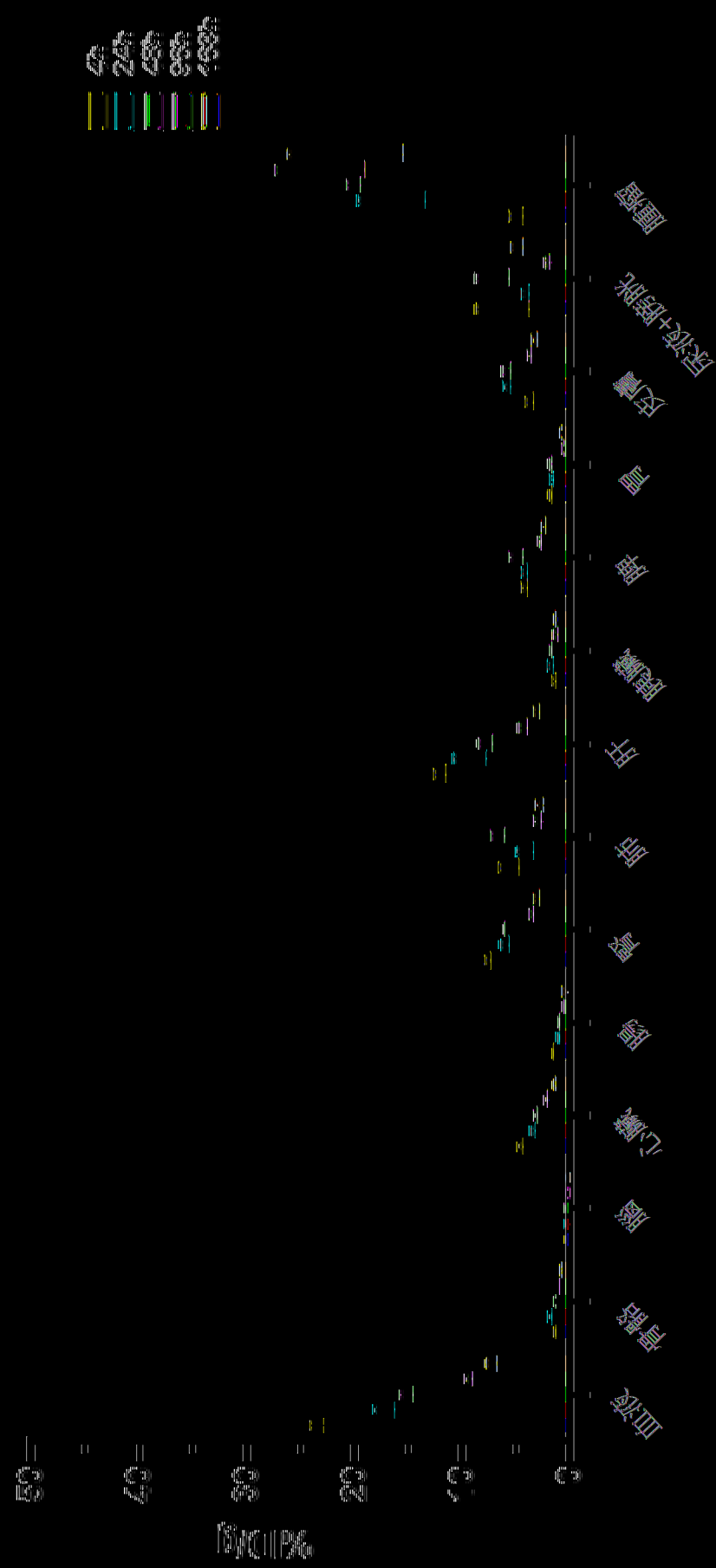
【圖63】

圖 10 化合物 3 在 HCC827 模型中之生物分布研究



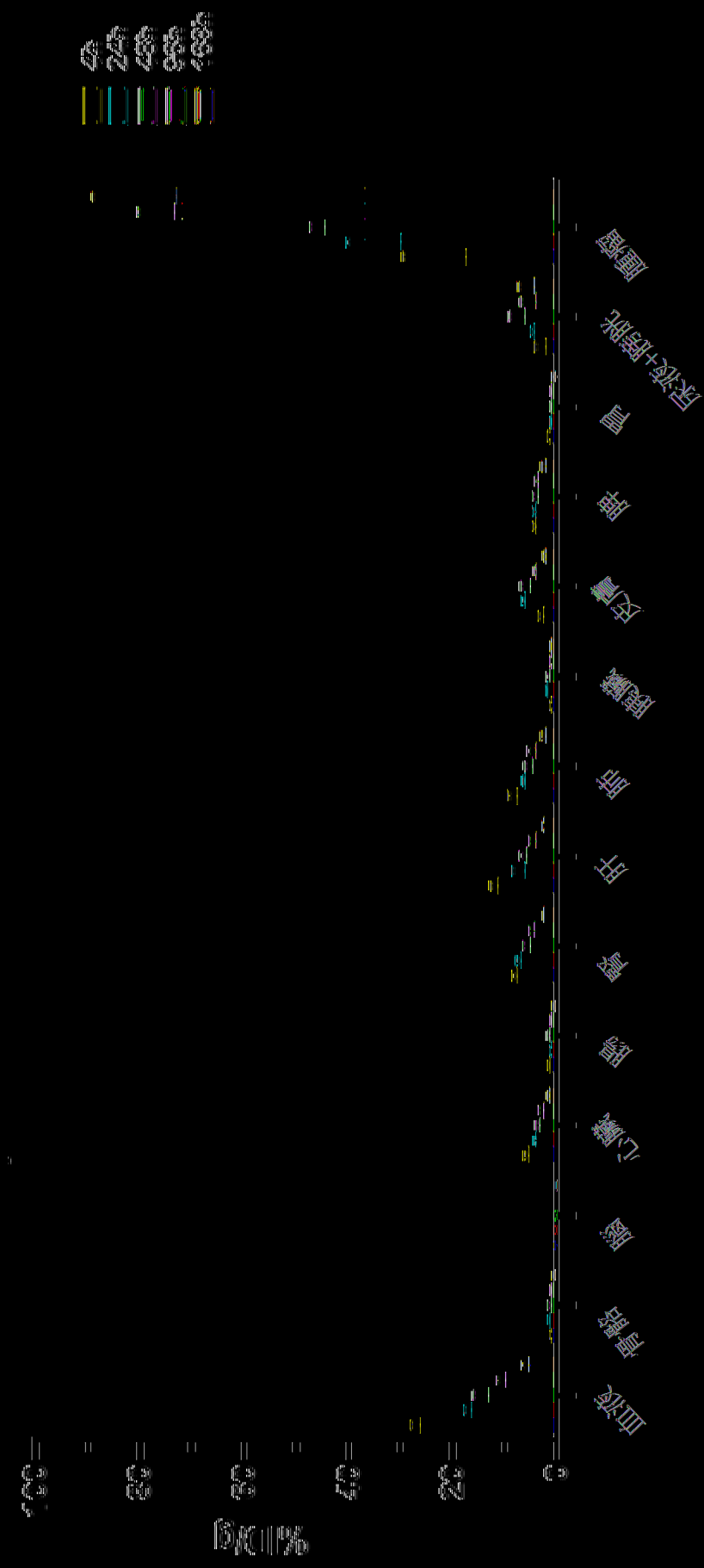
【圖 10】

化合物3在C57BL/6J小鼠各组织中的生物分布研究



【C9: Ⅱ】

化合物E在H292模型中之生物分布研究



【圖6E】

信令勿忘三三異種移禮模亞二之方效

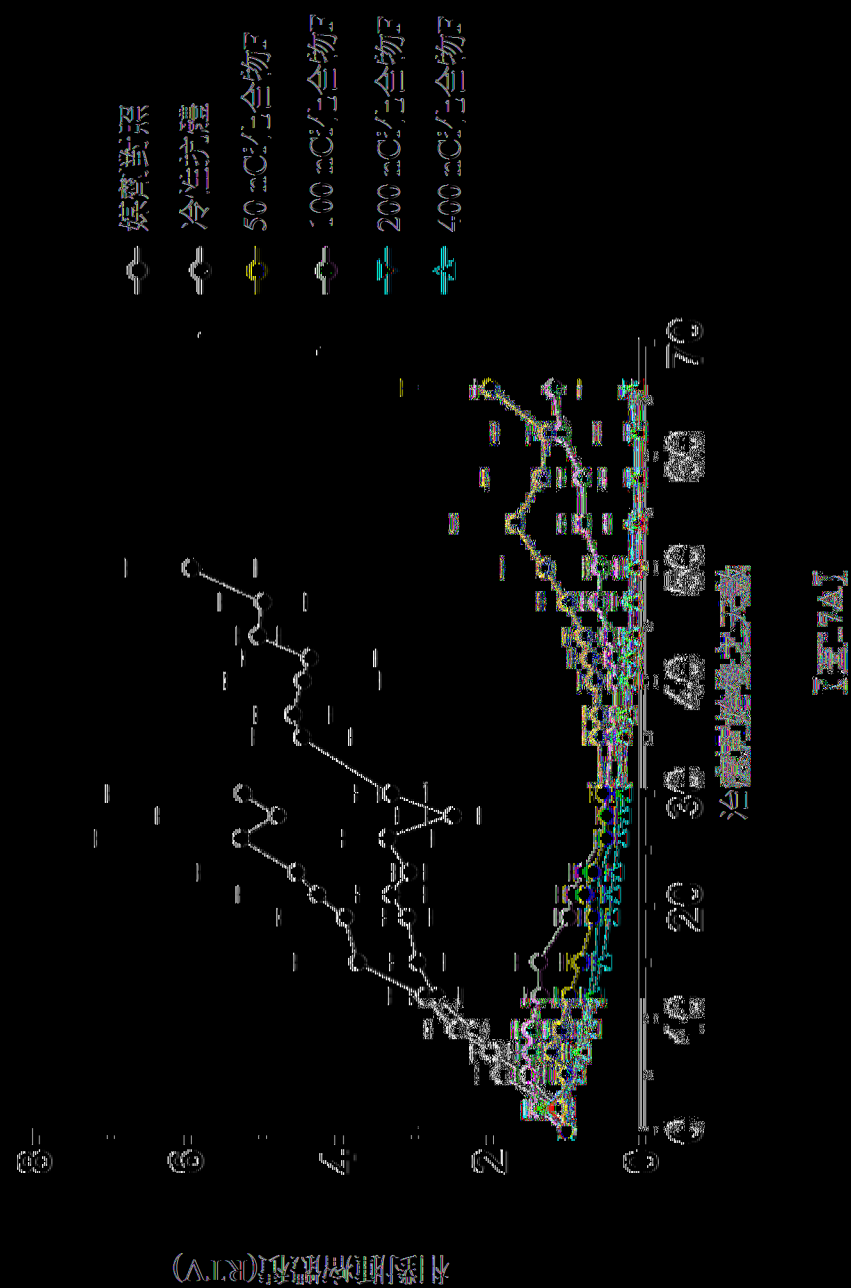


圖 29 各種移動模型之比較

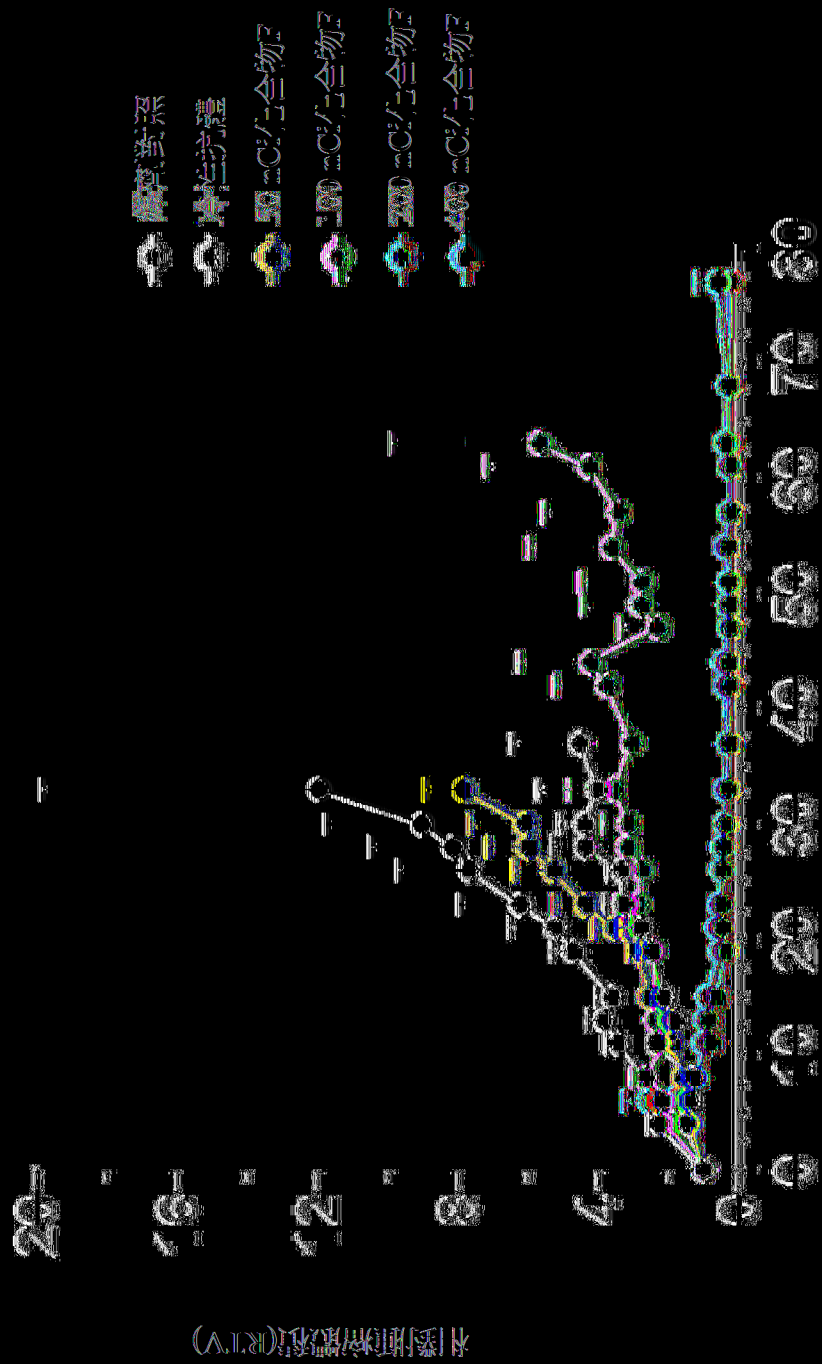


圖 30 各種移動模型之比較

11149059