



(21)申請案號：110140602

(22)申請日：中華民國 110 (2021) 年 11 月 01 日

(51)Int. Cl.：

*A61K47/64 (2017.01)**A61K47/65 (2017.01)**A61K47/62 (2017.01)**A61P35/00 (2006.01)*

(30)優先權：2020/10/30

美國

63/108,020

2021/06/07

美國

63/197,926

(71)申請人：英商阿法克塔生命科學有限公司(英國) AVACTA LIFE SCIENCES LIMITED (GB)
英國美商杜夫特學院信託管理公司(美國) TRUSTEES OF TUFTS COLLEGE (US)
美國(72)發明人：巴斯藍 阿姆里克 BASRAN, AMRIK (GB)；文森 馬修 P VINCENT,
MATTHEW P. (US)；真肯斯 艾瑪 JENKINS, EMMA (GB)；亞當 艾絲黛兒
ADAM, ESTELLE (FR)；巴克歐文欽 威廉 BACHOVCHIN, WILLIAM (US)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：57 項 圖式數：28 共 245 頁

(54)名稱

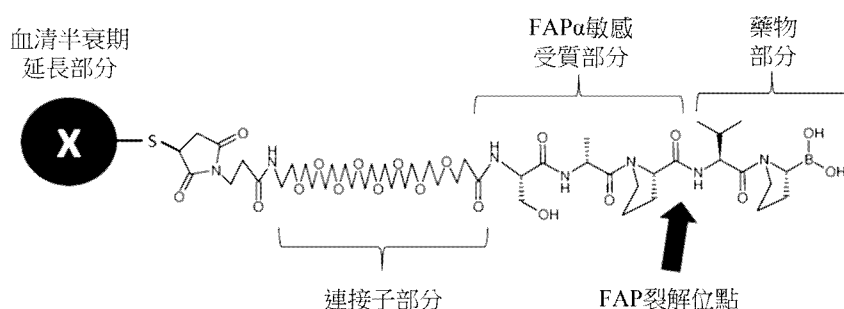
FAP 活化之血清延長半衰期治療結合物

(57)摘要

本文揭示具有延長循環血清半衰期之治療結合物。該等治療結合物包含經由纖維母細胞活化蛋白 α (FAP α)-可裂解連接子連接至半衰期延長部分的治療部分。亦提供使用該等治療結合物之方法。

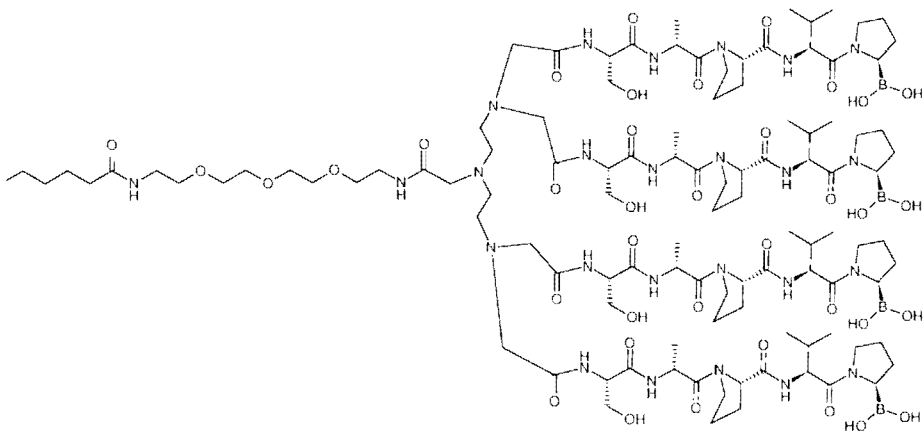
Disclosed herein are therapeutic conjugates having an extended circulating serum half-life. The therapeutic conjugates comprise a therapeutic moiety linked to a half-life extension moiety via a fibroblast activation protein, alpha (FAP α)-cleavable linker. Methods of using the therapeutic conjugates are also provided.

指定代表圖：



【圖1】

特徵化學式：



【發明摘要】

【中文發明名稱】

FAP活化之血清延長半衰期治療結合物

【英文發明名稱】

FAP-ACTIVATED SERUM EXTENDED HALF-LIFE THERAPEUTIC
CONJUGATES

【中文】

本文揭示具有延長循環血清半衰期之治療結合物。該等治療結合物包含經由纖維母細胞活化蛋白 α (FAP α)-可裂解連接子連接至半衰期延長部分的治療部分。亦提供使用該等治療結合物之方法。

【英文】

Disclosed herein are therapeutic conjugates having an extended circulating serum half-life. The therapeutic conjugates comprise a therapeutic moiety linked to a half-life extension moiety via a fibroblast activation protein, alpha (FAP α)-cleavable linker. Methods of using the therapeutic conjugates are also provided.

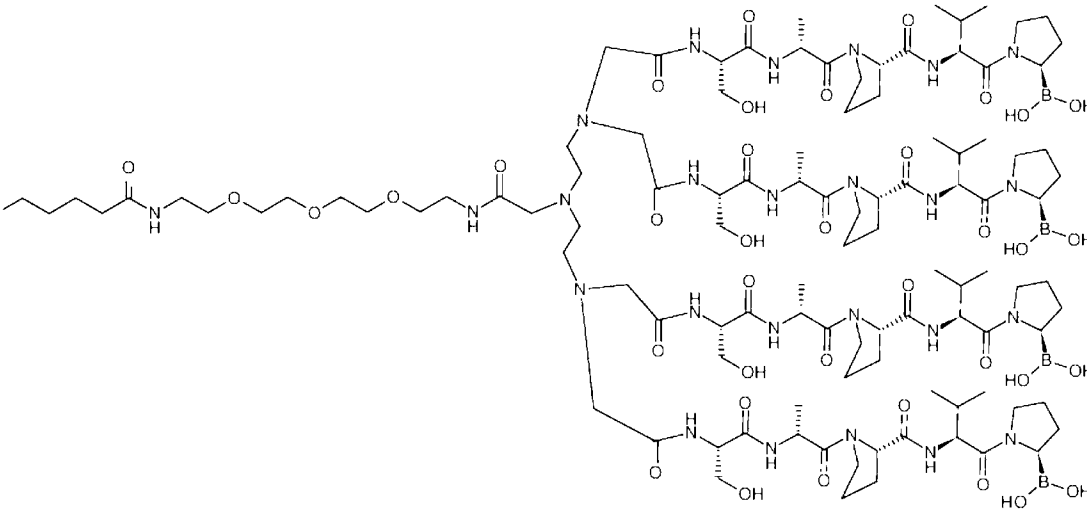
【指定代表圖】

圖1

【代表圖之符號簡單說明】

無

【特徵化學式】



【發明說明書】

【中文發明名稱】

FAP活化之血清延長半衰期治療結合物

【英文發明名稱】

FAP-ACTIVATED SERUM EXTENDED HALF-LIFE THERAPEUTIC
CONJUGATES

【技術領域】

【先前技術】

【0001】 各種治療藥物由於免疫相關毒性及其他劑量限制性因素而缺乏實際功效，例如誘發先天性免疫反應之藥物；然而，此等藥物對於全身性用途通常具有過大毒性。此係因為全身性先天性免疫活化極大地限制可投與之劑量。因此，最大耐受劑量在許多個體中未達至治療水準。

【發明內容】

【0002】 本發明揭示治療劑或顯影劑之血清半衰期延長之藥物結合物，該等藥物結合物具有包括FAP α 受質之連接子，該受質可由纖維母細胞活化蛋白 α (FAP α)選擇性裂解以在裂解位點釋放治療部分。在藉由FAP受質之FAP α 裂解後，藥物結合物以其活性形式或以容易代謝(或以其他方式轉化)為其活性形式之形式釋放治療部分。亦揭示包含該等藥物結合物之醫藥組合物以及使用該等藥物結合物治療特徵為FAP α 上調之病症的方法。

【0003】 在一些態樣中，為治療性結合物，其經設計以在個體之腫瘤微環境中釋放治療有效量之藥物(或其他治療部分)而不在該個體中誘發急性毒性。出人意料地，本發明之結合物能夠局部遞送治療有效量之藥

物，即使在不存在細胞結合(例如靶向)部分之情況下亦如此。本發明之結合物包括半衰期延長部分及可裂解連接子而非靶向部分或其他細胞特異性導向機制，其使得藥物(或其他治療部分)能夠特定地在腫瘤微環境中局部積聚及釋放。半衰期延長部分使得藥物能夠局部積聚，而特異性使用藉由FAP α -一種以高水準存在於腫瘤微環境中之酶特異性裂解的可裂解連接子實現。因此，連接子藉由FAP α 特異性裂解引起腫瘤微環境中治療有效量之藥物的局部釋放，而無毒副作用通常與藥物之全身遞送相關。

【0004】 本發明之一些態樣提供一種治療結合物，其包含經由FAP α -可裂解連接子連接至半衰期延長部分之治療部分，其中治療結合物之活體內循環血清半衰期為至少48小時，且該結合物不包含以 1×10^{-6} M或更低之 K_d 結合至細胞之細胞表面蛋白質之細胞結合部分。

【0005】 本發明之其他態樣提供一種治療結合物，其包含經由FAP α -可裂解連接子連接至半衰期延長部分之治療部分，其中治療結合物之活體內循環血清半衰期為至少48小時，且結合物不包含結合至腫瘤微環境中之細胞之細胞表面蛋白質的細胞結合部分。

【0006】 本發明之又其他態樣提供一種治療結合物，其包含經由FAP α -可裂解連接子連接至半衰期延長部分之治療部分，其中治療結合物之活體內循環血清半衰期相對於未連接至半衰期延長部分之治療部分之循環血清半衰期延長至少2倍，且該結合物不包含以 1×10^{-6} M或更低之 K_d 結合至細胞之細胞表面蛋白質的細胞結合部分。

【0007】 本發明之其他態樣提供一種治療結合物，其包含經由FAP α -可裂解連接子連接至半衰期延長部分之治療部分，其中治療結合物之循環血清半衰期相對於未連接至半衰期延長部分之治療部分之循環血清

半衰期延長至少2倍，且結合物不包含結合至腫瘤微環境中之細胞之細胞表面蛋白質的細胞結合部分。

【0008】 不連接至半衰期延長部分之治療部分在本文中稱為「游離」治療部分(亦即，由結合物藉由FAP α 裂解而產生的治療部分之母分子)。

【0009】 在一些實施例中，半衰期延長部分包含血清蛋白質。舉例而言，血清蛋白質可選自纖維結合蛋白、運鐵蛋白及人類血清白蛋白(HSA)。

【0010】 在一些實施例中，半衰期延長部分包含結合至血清蛋白質之分子。舉例而言，結合至血清蛋白質之分子可為纖維結合蛋白、運鐵蛋白或HSA。

【0011】 在一些實施例中，結合至血清蛋白質之分子為結合至血清蛋白質之分子為抗體。抗體可例如為Fab、F(ab)₂、F(ab')、F(ab')₂、F(ab')₃、Fd、Fv、二硫鍵聯Fv、dAb或sdAb（或NANOBODY®）、CDR、scFv、(scFv)₂、二-scFv、雙-scFv、tascFv（串聯scFv）、AVIBODY®（例如雙功能抗體、三功能抗體及四功能抗體）、T細胞接合子(BiTE®)、Fc、scFv-Fc、Fcab、mAb₂、小模組免疫醫藥(SMIP)、Genmab/單抗體(unibody)或雙抗體(duobody)、V-NAR域、IgNAR、微型抗體、IgGACH2、DVD-Ig、前抗體(probody)、胞內抗體(intrabody)或多特異性抗體。

【0012】 在一些實施例中，結合至血清蛋白質之分子為非抗體分子。非抗體分子例如可為親和抗體、AFFIMER®多肽、阿菲林、抗運載蛋白、三聚體(atrimer)、高親和性多聚體(avimer)、錨蛋白重複蛋白

(DARPin)、FN3 骨架(例如阿德奈汀(Adnectins)、辛替恩(Centyrins))、菲諾體(fynomer)、孔尼茲(Kunitz)域、奈米菲汀(nanofitin)、前奈汀(pronectins)、三功能抗體、雙環肽或Cys結。本發明涵蓋結合至血清蛋白質之其他非抗體分子。

【0013】 在一些實施例中，半衰期延長部分包含以重組方式工程改造之stefin多肽之變體(亦即AFFIMER®多肽)。

【0014】 在一些實施例中，以重組方式工程改造之stefin多肽之變體(亦即AFFIMER®多肽)包含與SEQ ID NO: 110-132中之任一者之胺基酸序列具有至少70%、至少80%、至少90%或100%一致性之胺基酸序列。

【0015】 在一些實施例中，半衰期延長部分包含抗體Fc域，其視情況來自IgA、IgD、IgE、IgG或IgM或其子類別。

【0016】 在一些實施例中，半衰期延長部分包含生物相容性聚合物，其視情況選自由以下組成之群：聚(乙二醇)(PEG)、羥乙基澱粉、XTENT™聚合物及脯胺酸-丙胺酸-絲胺酸聚合物。

【0017】 在一些實施例中，治療結合物由式： $X-L^1-SRS-L^2-TM$ 中之一者表示，其中X為半衰期延長部分， L^1 為間隔基或鍵，SRS為可藉由FAP α 裂解之受質識別序列， L^2 為自分解型連接子(例如，其在FAP α 裂解之後代謝或以其他方式消除以釋放游離治療部分)或鍵，且TM為治療部分。

【0018】 在一些實施例中，治療結合物由式 $X-(L^1-SRS-L^2-TM)_n$ ； $X-L^1-(SRS-L^2-TM)_n$ ； $(X)_m-(L^1-SRS-L^2-TM)_n$ ；或 $(X)_m-L^1-(SRS-L^2-TM)_n$ 中之一者表示，其中X為半衰期延長部分， L^1 為間隔基或鍵，SRS為可藉

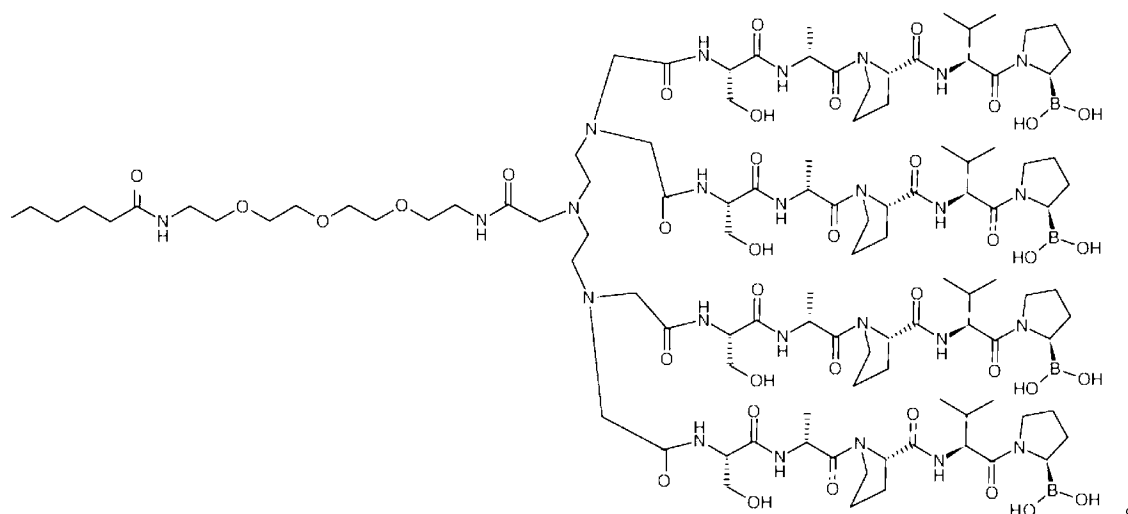
由FAP α 裂解之受質識別序列， L^2 為自分解型連接子或鍵，TM為治療部分， m 為1至6之整數，且 n 為1至500，視情況1至100、1至10或1至5之整數。

【0019】 在一些實施例中，治療結合物包含能夠活體內化學結合至患者血清中之循環中之白蛋白或其他蛋白質的部分。在一些實施例中，治療結合物由式 $Y-L^1-SRS-L^2-TM$ ； $Y-(L^1-SRS-L^2-TM)_n$ ；或 $Y-L^1-(SRS-L^2-TM)_n$ 中之一者表示，其中 L^1 、SRS、 L^2 及TM如上文所定義，且Y為能夠活體內化學交聯至蛋白質之反應性基團。

【0020】 在一些實施例中，Y為能夠化學交聯至蛋白質中所存在之游離胺(諸如離胺酸之側鏈)的反應性基團。非限制性實例包括連接子，該連接子包括NHS (N-羥基丁二醯亞胺)，諸如圖6A中所示。

【0021】 在一些實施例中，Y為能夠化學交聯至蛋白質中所存在之游離硫醇基(諸如半胱胺酸之側鏈)的反應性基團。非限制性實例包括連接子，該連接子包括順丁烯二醯亞胺，諸如圖6B中所示。

【0022】 在一些實施例中，治療結合物為：



【0023】 在一些實施例中，FAP α -可裂解連接子為寡肽。在一些實施例中，寡肽包含視情況經由一鍵或自分解型連接子及/或N端封端基團共

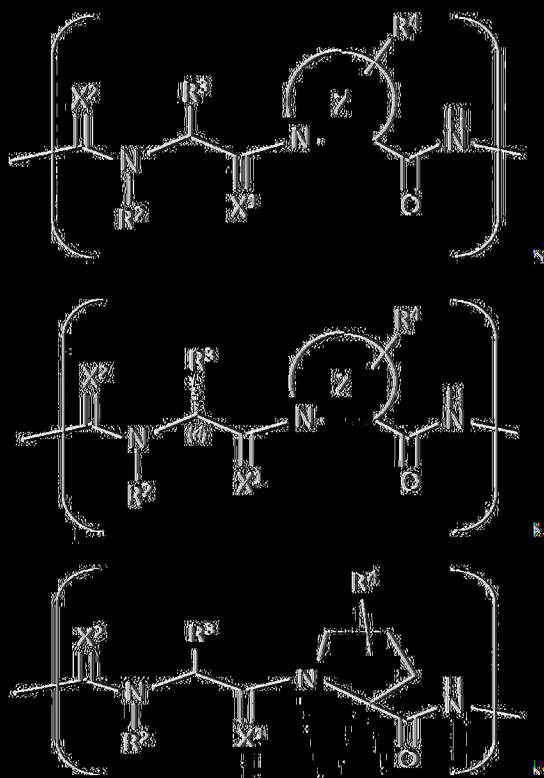
質連接至治療部分之C端脯胺酸。在一些實施例中，鍵為可藉由EAP之蛋白水解活性裂解之鍵，例如醯胺鍵。在一些實施例中，EAP α 可裂解連接子有助於EAP之P1'特異性(藉由EAP識別為P1'殘基)。

[0024] 在一些實施例中，鍵可藉由EAP α 之蛋白水解活性裂解，視情況其中鍵為醯胺鍵。

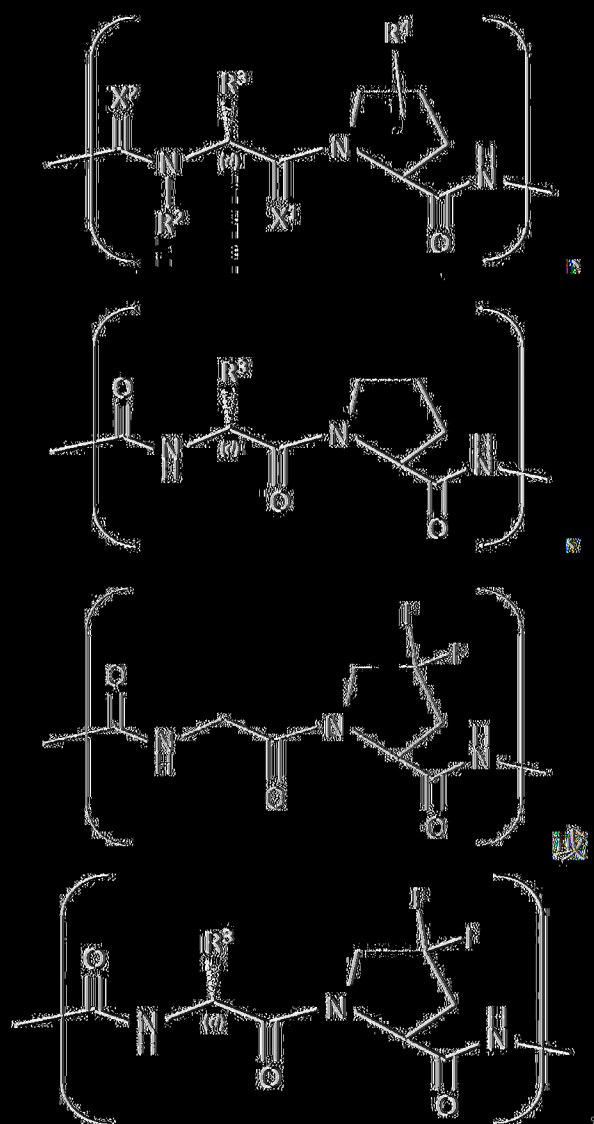
[0025] 在一些實施例中，自分解型連接子包含雜環自分解型部分，視情況His-Ala、對胺基苯甲氧基羧基(PABC)或2,4-雙(羥甲基)苯胺。

[0026] 在一些實施例中，EAP α 可裂解連接子包含選自D-Ala-Pro、PPGP (SEQ ID NO: 136)、(D/E)-(R/K)-G-(E/D)-(L/S)-G-P (SEQ ID NO: 137)、DRGETGP (SEQ ID NO: 138)及GPAX (SEQ ID NO: 139)之序列，視情況D-Ala-Pro序列或D-Ser序列。

[0027] 在一些實施例中，如前述技術方案中任一項之治療結合物，其中EAP α 可裂解連接子之受質識別序列(SRS)由以下表示：



第 6 頁(發明說明書)



其中R²為氫或(C₁-C₆)烷基或氫，R³為氫或分支鏈或直鏈低碳數烷基，例如低碳數烷基，諸如甲基(若(d)為胺基酸側鏈，則R³不為氫)，R⁴為分支鏈或直鏈低碳數烷基，諸如羥甲基(例如絲胺酸)或1-羥乙基(例如蘇胺酸)(或在一個實施例中，R⁴為羥甲基)，X¹為O或S，及/或X²為O或S。

[0028] 在一些實施例中，EAPα可裂解連接子之受質識別序列包含第三胺基位置，視情況在(d)-Ala之N端(或在該位置中且由R³形成之其他(d)-胺基酸)，且視情況其中第三胺基酸位置處之胺基酸為絲胺酸或蘇胺酸。

【0029】 在一些實施例中，FAP α -可裂解連接子之針對FAP α 裂解之 kcat/Km 比針對藉由脯胺醯基內肽酶 (EC 3.4.21.26 ; PREP) 裂解之 kcat/Km 大至少10倍、至少100倍、1000倍、5000倍或10,000倍。

【0030】 在一些實施例中，治療部分為細胞毒性劑，亦即，當自治療結合物釋放時，引起目標細胞在投與治療結合物之濃度下之細胞死亡。

【0031】 在一些實施例中，治療部分為細胞生長抑制劑，亦即，當自治療結合物釋放時，其引起目標細胞在投與治療結合物之濃度下之有絲分裂阻滯或靜止。

【0032】 在一些實施例中，治療部分為表觀遺傳劑，亦即，其在自治療結合物釋放時，引起目標細胞在投與治療結合物之濃度下之表觀遺傳改變，此可例如引起細胞分化(或去分化)成另一細胞表型。

【0033】 在一些實施例中，治療部分為化學治療藥物部分。舉例而言，化學治療藥物部分可為紫杉烷、基於鉑之製劑或蛋白酶體抑制劑。本發明涵蓋其他化學治療藥物部分。

【0034】 在一些實施例中，紫杉烷係選自由太平洋紫杉醇 (paclitaxel)、多西他賽(docetaxel)及卡巴利他索(cabazitaxel)組成之群。在一些實施例中，紫杉烷為太平洋紫杉醇。本發明涵蓋其他紫杉烷。

【0035】 在一些實施例中，基於鉑之製劑係選自由以下組成之群：奧沙利鉑(oxaliplatin)、順鉑、卡鉑、蔡達鉑(nedaplatin)、吡鉑、菲鉑、特瑞鉑(tripltatin)、螺鉑(spiroplatin)、賽特鉑(satraplatin)、異丙鉑(iproplatin)及賽特鉑。在一些實施例中，基於鉑之製劑為奧沙利鉑。本發明涵蓋其他基於鉑之製劑。

【0036】 在一些實施例中，蛋白酶體抑制劑係選自由以下組成之

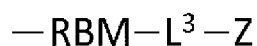
群：硼替佐米(bortezomib)、雷克塔西汀(lactacystin)、二硫龍(disulfiram)、表沒食子兒茶素-3-沒食子酸酯、馬瑞佐米(marizomib) (鹽孢菌素A)、奧普洛佐米(oprozomib) (ONX-0912)、迪蘭佐米(delanzomib) (CEP-18770)、埃普黴素(epoxomicin)及 β -羥基 β -甲基丁酸酯。本發明涵蓋其他蛋白酶體抑制劑。

【0037】 在一些實施例中，治療部分在活體內誘導先天性免疫(適應性免疫)反應。在一些實施例中，治療部分為急性毒性的。急性毒性描述例如由單次暴露或在短時間(例如，少於24小時)內多次暴露產生之藥物的不良作用。急性毒性之不良作用通常出現在藥物投與14天內。在一些實施例中，治療部分係選自TLR促效劑、RIG-I促效劑、iDASH抑制劑及STING促效劑。在一些實施例中，治療部分為Val-boroPro (塔拉司他(Talabostat))。

【0038】 在一些實施例中，治療部分包括受體之配位體，諸如當自治療結合物釋放時能夠結合至細胞表面受體之胞外配位體結合域的配位體。例示性受體配位體包括生長抑制素、膽囊收縮素-2 (CCK2)、葉酸、鈴蟾素(bombesin)、釋放胃泌素之肽、神經調壓素、P物質、類升糖素肽1、神經肽Y及彼等配位體之類似物。受體配位體本身可具有藥理學活性或可用於遞送結合之藥物部分、毒素或放射性同位素。

【0039】 在一些實施例中，治療部分由通式 RBM-(Z)_p 表示，其中RBM為受體結合部分，Z為細胞毒性、細胞生長抑制或表觀遺傳部分或含有放射性同位素之部分，且p為0 (Z不存在)或1至8之整數。在一些實施例中，p為1。

【0040】 在一些實施例中，治療部分係由以下通式表示：



其中RBM為受體結合部分，Z為細胞毒性、細胞生長抑制或表觀遺傳部分或含有放射性同位素之部分，且 L^3 為一鍵或可裂解或不可裂解連接子。舉例而言， L^3 可為酸不穩定或酶敏感之連接子(諸如包括組織蛋白酶裂解位點)，使得Z視受體結合部分RBM而定經由細胞結合在部分-RBM- L^3 -Z之內化時胞內釋放。

【0041】 在一些實施例中，治療部分具有比游離治療部分之循環血清半衰期長至少5、10、25、50、100或甚至1000倍的循環血清半衰期。治療部分之循環血清半衰期為藥物動力學參數，其定義為將血清中之治療部分之濃度降低50%所花費之時間。

【0042】 在一些實施例中，治療部分之循環血清半衰期為至少10、25、50、100、200或300小時。

【0043】 在一些實施例中，持續至少10、24、48、72、96或120小時之時段，治療結合物在表現目標FAP α 之組織中產生的游離治療部分之濃度為在全身循環中歷經相同時間段之游離治療部分之濃度的至少2、5、10、20、50、75或100倍。舉例而言，游離治療部分濃度之此類差異可發生於FAP α 表現腫瘤與血清之間的個體中。

【0044】 在一些實施例中，當投與具有FAP α +腫瘤之個體時，治療結合物產生游離治療部分之腫瘤內濃度為或高於針對該游離治療部分之抗腫瘤活性之EC₅₀持續至少10、24、48、72、96或120小時之時段。

【0045】 在一些實施例中，當投與具有FAP α +腫瘤之個體時，治療結合物具有至少2、5、10、25、50、100或500之針對抗腫瘤活性的治療指數。治療指數(TI)為藥物之相對安全性的定量量測結果。其為對引起毒

性的量(TI亦被稱作治療比率)產生治療效果的治療劑的量的比較。

【0046】 在一些實施例中，當向具有FAP α +腫瘤之個體投與時，治療結合物之針對抗腫瘤活性之治療指數比游離治療部分之治療指數大至少2、10、50、100、250、500、1000、5000或10,000倍。

【0047】 在一些實施例中，當在等效劑量基礎上比較時，相對於游離治療部分較大百分比之游離治療部分位於表現FAP α 之目標組織中，視情況其中位於目標組織中之游離治療部分相對於其他組織(諸如血液、肝或心臟)之比率比等效劑量之治療結合物相對於游離治療部分大至少2、5、10、100或1000倍。

【0048】 在一些實施例中，治療結合物之最大耐受劑量比游離治療部分之最大耐受劑量大至少2、5、10、100或1000倍。最大耐受劑量為在特定時間段內不會引起不可接受副作用或明顯毒性之治療部分(例如藥物)之最高劑量。可在臨床試驗中藉由測試對不同人群之增加劑量直至發現具有可接受副作用之最高劑量來測定最大耐受劑量。

【0049】 在一些實施例中，治療結合物之細胞滲透率比游離治療部分之細胞滲透率小至少50%、60%、70%、80%、90%、95%、98%、99%或99.9%。

【0050】 在一些實施例中，治療結合物之循環半衰期比游離治療部分之循環半衰期長至少25%、50%、75%、100%、150%、200%、500%、750%或1000%。

【0051】 在一些實施例中，治療結合物相對於游離治療部分具有小於50%、60%、70%、80%、90%、95%、98%、99%、99.9%或99.99%之針對腫瘤細胞之細胞毒性或細胞溶解活性。

【0052】 在一些態樣中，本文亦提供一種組合物，其包含前述段落中之任一者之治療結合物及醫藥學上可接受之賦形劑。

【0053】 在一些態樣中，本文進一步提供一種方法，其包含向個體投與前述段落中之任一者之治療結合物或組合物，其中該個體具有患病組織，視情況為癌症。

【0054】 在一些實施例中，治療結合物或組合物之投與量相對於未治療之對照個體有效增加該個體的腫瘤微環境中的乳酸脫氫酶(LDH)釋放至少0.5倍或至少1倍。在一些實施例中，治療結合物或組合物以使個體腫瘤微環境中之LDH釋放有效增加約0.5倍、約0.6倍、約0.7倍、約0.8倍、約0.9倍、約1倍、約1.5倍或約2倍之量投與。在一些實施例中，治療結合物或組合物以使個體腫瘤微環境中之LDH釋放有效增加約0.5倍至約1.5倍、約0.5倍至約2倍或約1倍至約2倍之量投與。

【0055】 在一些實施例中，在投與治療結合物或組合物後，患病組織(視情況，腫瘤)之體積在約2-3週時減小至少50%、至少60%或至少70%。在一些實施例中，患病組織(視情況，腫瘤)之體積減小約50%、約55%、約60%、約65%、約70%、約75%或約80%。在一些實施例中，患病組織(視情況，腫瘤)之體積減小約50%至約60%、或約50%至約70%、或約50%至約80%。

【0056】 一些態樣提供一種如前述段落中之任一者之治療結合物或組合物，其用於處理患病組織，視情況癌症之方法中。

【0057】 其他態樣提供前述段落中之任一者之治療結合物之用途，其用於製造用以處理患病組織，視情況癌症之藥劑。

【0058】 本發明之一些態樣提供一種治療結合物，其包含經由

FAP α -可裂解連接子連接至半衰期延長部分之化學治療劑部分，其中該化學治療劑部分在活體內誘發先天性免疫反應及/或急性毒性，該治療結合物之活體內循環血清半衰期為至少48小時，且該治療結合物不包含以 1×10^{-6} M或更低之 K_d 結合至細胞的細胞表面蛋白質之細胞結合部分。在一些實施例中，化學治療部分係選自TLR促效劑、RIG-I促效劑、iDASH抑制劑及STING促效劑。在一些實施例中，化學治療部分為Val-boroPro (塔拉司他)。在一些實施例中，半衰期延長部分係抗體Fc域。在一些實施例中，半衰期延長部分為HSA。在一些實施例中，半衰期延長部分為以重組方式工程改造之stefin多肽之變體(亦即AFFIMER®多肽)，其視情況包含與SEQ ID NO: 110-132中之任一者之胺基酸序列具有至少70%、至少80%、至少90%或100%一致性之胺基酸序列。

【圖式簡單說明】

【0059】

圖1為說明本文所描述之延長半衰期治療結合物之實施例的示意圖。在圖式中，「X」表示半血清樣延伸部分，在此情況下，蛋白質經由具有半胱胺酸殘基之硫醇側鏈之順丁烯二醯亞胺結合物連接至包括FAP α 受質序列之連接子，該連接子包括在連接子之FAP裂解時釋放之藥物部分(I-DASH抑制劑纈胺酸-硼脯胺酸表示)。

圖2為展示本文所描述之治療結合物之實例之抗腫瘤活性的圖式，如藉由結腸癌小鼠模型中之腫瘤體積指示。「SQT-Gly V.2-6325」組為無靶向細胞部分之治療結合物。「AVA04-182」組包含靶向細胞之部分。

圖3為展示在腫瘤中及在以所示劑量水準投與治療結合物之後之血清中游離Val-boroPro (塔拉司他)之量的圖式。

圖4A-4B為展示單獨投與之塔拉司他之EC₅₀的圖式(**圖4A**)及在小鼠及大鼠中投與本文所描述之治療結合物的圖式(**圖4B**)。

圖5A-5D為描繪在投與媒劑之後小鼠之腫瘤體積及體重變化百分比的圖(**圖5A**)：包含細胞結合部分之結合物(**圖5B**)，及本文所描述之治療結合物(**圖5B**之結合物不具有細胞結合部分) (**圖5C**)。亦量測圖5C中小鼠之體重變化百分比(**圖5D**)。

圖6A為「6325」之結構，即例示性FAP活化之I-DASH抑制劑，其包括NHS群組以結合至蛋白質之離胺酸殘基。**圖6B**為「6323」之結構，即例示性FAP活化之I-DASH抑制劑，其包括用於結合至蛋白質之離胺酸殘基之順丁烯二醯亞胺基。**圖6C**為「6501」之結構，即例示性四分支鏈FAP活化之I-DASH抑制劑，其包括用於結合至蛋白質之離胺酸殘基之順丁烯二醯亞胺基。

圖7為展示具有媒劑(對照)、MSA-6325 (與6325結合之小鼠血清白蛋白)及PEG-6325 (6325與SUNBRIGHT PTE-200 PA (20KDa 4組功能性PEG)反應)之CT26-mFAP+小鼠隨時間推移腫瘤體積變化之圖式。

圖8A-8B為展示在CT26-mFAP+小鼠(具有與6325結合之人類Fc片段(**圖8A**)或與6325結合之完整人類IgG抗體(**圖8B**))中隨時間推移之個別動物腫瘤體積生長曲線之圖式。

圖9說明對於基於FAP活化之生長抑制素類似物(奧曲肽(octreotide))之結合物的例示性通用結構，其中X為半衰期延長部分，L1為間隔基或鏈，X1及X2獨立地為O或S，R2為氫或(C1-C6)烷基或氫，R3為氫或分支鏈或直鏈低碳數烷基，例如甲基之低碳數烷基，R4為分支鏈或直鏈低碳數烷氧基，諸如羥甲基(例如絲胺酸)或1-羥乙基(例如蘇胺酸)(在一個實施

例中，R4為羥甲基)，L3為一鍵或可裂解或不可裂解連接子，且Z為細胞毒性、細胞生長抑制或表觀遺傳部分或含有放射性同位素之部分。

圖10說明對於基於FAP活化之葉酸之結合物的例示性通用結構，其中X為半衰期延長部分，L1為間隔基或一鍵，X1及X2獨立地為O或S，R2為氫或(C1-C6)烷基或氫，R3為氫或分支鏈或直鏈低碳數烷基，例如甲基之低碳數烷基，R4為分支鏈或直鏈低碳數烷氧基，諸如羥甲基(例如絲胺酸)或1-羥乙基(例如蘇胺酸) (在一個實施例中，R4為羥甲基)，X3為O或N(H)，L3為一鍵或可裂解或不可裂解連接子，且Z為細胞毒性、細胞生長抑制或表觀遺傳部分或含有放射性同位素之部分。

圖11為基於FAP活化之葉酸之SMDC維塔利德(vintafolide)之圖示，其由FAP受質識別序列(展示用於蛋白質結合之連接子)、葉酸靶向配位體、肽間隔基、自分解型二硫化物連接子及細胞毒性藥物脫乙醯基長春鹼單肼(DAVLBH)構成。

圖12為併有FAP受質識別序列(展示用於蛋白質結合之連接子)、葉酸靶向部分、自分解型二硫化物連接子及親水性聚乙二醇化二肽間隔基(溶解間隔基)及紫杉烷類SB-T-1214 (其為化學治療藥物紫杉醇之衍生物)的FAP活化之葉酸-紫杉烷類結合物的圖示(參見Seitz等人*Bioorg. Med. Chem.*, 2015, 23, 2187-2194)。

圖13A-13B說明FAP活化之葉酸-小紅莓(圖13A)及硫醇化物(圖13B)HDAC抑制劑之結構。

圖14展示FAP活化之葉酸-細胞毒劑結合物，其併有FAP受質識別序列(展示用於蛋白質結合之連接子)、葉酸靶向部分、自分解型二硫化物連接子及抗微管蛋白細胞毒性類美登素藥物部分DM4。

圖15說明FAP活化之葉酸-MMAE之結構。

圖16說明喜樹鹼之結構。

圖17包括展示在存在(空心條柱)或不存在(灰色實心條柱) rhFAP α 下乳酸脫氫酶(LDH，細胞焦亡之標記)釋放至來自經各種型式之FAP活化之I-DASH抑制劑6325 (Hu IgG1 Fc-6325、Hu IgG1-6325、MSA-6325、SQT-Gly V.2-6325、SQT-Gly CF-6325或SQT-Gly CG-6325)中之一者培養之J774A.1小鼠巨噬細胞細胞株細胞之培養上清液中持續24小時之倍數增加的圖式。未處理之對照用於各組實驗，且亦進行Val-boroPro (VbP)對照實驗(資料未示出)，所有值均表示為平均值 $\pm$ SEM。經由多個T測試在GraphPad Prism中進行無FAP α 相對於+FAP α 之統計分析。*， $P < 0.05$ ；**， $P < 0.01$ ；***， $P < 0.001$ 。

圖18A-18B為展示藉由量測游離SH來量測硫醇(SH)基團結合至化合物順丁烯二醯亞胺連接子前藥6323 (圖18A)及6501 (圖18B)之圖式。

圖19A-19B為展示在存在或不存在5057，FAP α -特異性抑制劑之情況下，在攜帶CT26-mFAP腫瘤小鼠血清中(圖19A)及在腫瘤樣本中(圖19B)自Hu IgG1 Fc-6325釋放之VbP之藥物動力學的圖式。各時間點包括每組三隻小鼠。

圖20A-20B為展示SQT-Gly結合物(圖20A)及Hu IgG1 Fc結合物(圖20B)之功效的圖式，在同基因型小鼠大腸癌模型(CT26-mFAP⁺小鼠)中量測隨時間推移之腫瘤體積。

圖21包括展示在小鼠大腸癌模型(CT26-mFAP⁺小鼠)中自小鼠血清及腫瘤中之不同FAP活化之前藥釋放的VbP之藥物動力學及組織分佈的圖式。量測係使用液體層析-質譜分析(LC-MS)進行。各給藥組係由5個群組

之子組組成，表示除24 μg 3892之外的1、4、6、24及48小時收集時間點(n=3隻/組)，其僅由1、4及24小時組成。

圖 22A-22B 包括展示在小鼠大腸癌模型(CT26-mFAP⁺小鼠)中自SQT-Gly V.2-結合物(圖22A)及IgG Fc-結合物(圖22B)釋放之VbP之藥物動力學及組織分佈的圖式。量測係使用LC-MS進行。各給藥組係由5個群組之子組組成，表示1、4、6、24及48小時收集時間點(n=3隻/組)。

圖 23 為描繪非腫瘤攜帶BALB/c小鼠水準中之FAP活化之前藥G-CSF血清細胞介素反應的圖式。展示在200 μg /小鼠下投與媒劑(PBS)、42CQ-6501及42CQ-6501+MSA之後小鼠血清中之G-CSF水準。

圖 24A-24B 為展示化合物順丁烯二醯亞胺連接子前藥(6323)與以重組方式工程改造之stefin多肽之變體(AFFIMER[®])-Fc蛋白之鉸鏈區半胱胺酸殘基之結合的圖式。結合係以每莫耳還原之SH (每SQTGlyCF 4 SH) 0、10、20及40莫耳6323之反應比率進行。游離SH基團相對於反應比率之改變展示於圖24A中。用每SH 40 6323之反應比率進行定時結合反應，其中在添加6323之後0、5、10、15及20分鐘時停止反應。6323與SQTGlyCF之結合動力學與每SH基團40 6323之反應比率展示於圖24B中。

圖 25A-25B 為展示在攜帶CT26-mFAP小鼠中投與42CQ-6501之後所釋放之VbP之藥物動力學的圖式。各給藥組係由5個群組之子組組成，表示1、4、6、24及48小時收集時間點(n=3隻/組)。藉由LC-MS量測血清(圖25A)及腫瘤(圖25B)樣本中之VbP。

圖 26A-26B 為展示42CQ-6323結合物(圖26A)及42CQ-6501結合物(圖26B)±MSA之功效的圖式，在同基因型小鼠大腸癌模型(CT26-mFAP⁺小鼠)中量測隨時間推移之腫瘤體積。

圖27A-27B為展示在野生型及FAP α 基因剔除小鼠(n=3隻/組)中在投與42CQ-6323結合物(圖27A)及42CQ-6501結合物(圖27B)之後所釋放之VbP的藥物動力學的圖式。

圖28為「3892」，即VbP之例示性前藥之結構。

【實施方式】

相關申請案

【0060】 本申請案主張2020年10月30日申請之US 63/108,020及2021年6月7日申請之US 63/197,926之35 U.S.C. § 119(e)下的權益，該等申請案以全文引用之方式併入本文中。

【0061】 本文所提供之資料出乎意料地表明，本發明之治療結合物可在無細胞結合(例如細胞靶向)部分之情況下全身性遞送，但仍能夠將治療有效量之治療部分(例如藥物)遞送至目標患病組織，同時維持優於直接遞送(例如藉由相同投與途徑)之治療部分之治療指數的治療指數。本文所描述之治療結合物包含半衰期延長部分及FAP α -可裂解連接子，其在組合時使得治療部分能夠在腫瘤微環境(或表現FAP α 之其他目標組織)中之局部積聚及釋放，同時減少表現FAP α 之非目標組織在低於目標組織之水準下之暴露。因此，本文所提供之治療結合物展現以下中之一或多者：(1)由於前藥之局部化FAP α 裂解及延長的循環血清半衰期而達成目標組織中之所釋放治療部分之最大有效濃度的較高百分比的優良功效及/或能力；及(2)由於在較低全身性C_{max}濃度下投與之能力及/或相對於親本治療部分降低的全身性毒性而改良之治療指數(TI)。

【0062】 本文描述治療結合物，其包含經由纖維母細胞活化蛋白，即 α (FAP α)-可裂解連接子連接至半衰期延長部分的治療部分。此等結合

物之各組分詳細描述於下文中。

半衰期延長部分

【0063】 在一些實施例中，治療結合物包含半衰期延長部分。半衰期延長部分延長治療部分之活體內循環血清半衰期。循環血清半衰期為治療部分在血清中之濃度或量減小一半(50%)所花費之時間量。可藉由隨時間推移量測個體血清中之治療部分之濃度，以實驗方式確定半衰期時間。可使用下式計算半衰期： $0.693 \times (V_d/CL)$ ，其中 V_d 表示分佈體積且 CL 表示間隙。分佈體積為以在血漿中所觀測到之相同濃度含有治療部分之總量所需的理論體積(例如體內治療部分之量與以血液、血漿及以間質液之游離形式量測的治療部分之濃度的比率)。間隙為每單位時間自其完全移除治療部分之血漿的體積。亦可使用高效液相層析(HPLC)、螢光分析、放射性分析、放射免疫分析及元素質譜分析來測定半衰期。

【0064】 相對於未連接至半衰期延長部分之分子的循環血清半衰期，半衰期延長部分可使分子之循環血清半衰期延長至少2倍。在一些實施例中，相對於未連接至半衰期延長部分之分子的循環血清半衰期，半衰期延長部分使分子之循環血清半衰期延長至少3倍、至少4倍、至少5倍、至少6倍、至少7倍、至少8倍、至少9倍、至少10倍、至少20倍或至少30倍。在一些實施例中，相對於未連接至半衰期延長部分之分子的循環血清半衰期，半衰期延長部分使分子之循環血清半衰期延長2倍至5倍、2倍至10倍、3倍至5倍、3倍至10倍、15倍至5倍、4倍至10倍或5倍至10倍。

【0065】 在一些實施例中，相對於未連接至半衰期延長部分之治療部分之循環血清半衰期，半衰期延長部分使治療部分之循環血清半衰期延長至少10小時、至少12小時、至少15小時、至少20小時、至少24小時、

至少48小時、至少72小時、或至少96小時，例如在活體內投與之後至少1週。

【0066】 在一些實施例中，治療部分在人類個體中具有至少10小時之循環血清半衰期。在一些實施例中，治療部分在人類個體中具有至少24小時之血清半衰期。在一些實施例中，治療部分在人類個體中具有至少48小時之血清半衰期。在一些實施例中，治療部分在人類個體中具有至少72小時之血清半衰期。在一些實施例中，治療部分在人類個體中具有至少96小時之血清半衰期。在一些實施例中，治療部分在人類個體中具有至少120小時之血清半衰期。在一些實施例中，治療部分在人類個體中具有至少144小時之血清半衰期。在一些實施例中，治療部分在人類個體中具有至少168小時之血清半衰期。在一些實施例中，治療部分在人類個體中具有至少192小時之血清半衰期。在一些實施例中，治療部分在人類個體中具有至少216小時之血清半衰期。在一些實施例中，治療部分在人類個體中具有至少240小時之血清半衰期。在一些實施例中，治療部分在人類個體中具有至少264小時之血清半衰期。在一些實施例中，治療部分在人類個體中具有至少288小時之血清半衰期。在一些實施例中，治療部分在人類個體中具有至少312小時之血清半衰期。在一些實施例中，治療部分在人類個體中具有至少336小時之血清半衰期。在一些實施例中，治療部分在人類個體中具有至少360小時之血清半衰期。在一些實施例中，治療部分在人類個體中具有24至360小時、48至360小時、72至360小時、96至360小時或120至360小時之血清半衰期。

【0067】 血清蛋白質及抗體Fc域為如本文所提供可用作半衰期延長部分之兩種主要蛋白質之非限制性實例。Fc及血清蛋白質結合物兩者不僅

藉由增加治療部分之大小，且亦皆利用人體之天然再循環機制：新生Fc受體FcRn來延長半衰期。此等蛋白質與FcRn之pH依賴性結合可防止核內體中治療結合物之降解。使用此等蛋白質之結合物可具有在3-16天範圍內之半衰期。包括抗體Fc域或血清蛋白質之結合物可改良治療部分之可溶性及穩定性。

血清蛋白質

【0068】 在一些實施例中，半衰期延長部分包含血清蛋白質(例如人類血液(例如血清)中之蛋白質之天然存在形式或經修飾形式)。血清蛋白質可為例如纖維結合蛋白、運鐵蛋白或白蛋白。

【0069】 在一些實施例中，血清蛋白質為纖維結合蛋白。纖維結合蛋白為一種具有細胞外受質之高分子量(約440 kDa)醣蛋白，其結合至稱為整合素之跨膜受體蛋白。其以蛋白質二聚體形式存在，包括藉由一對C端二硫鍵連接之兩個幾乎一致多肽鏈。各纖維結合蛋白次單元之分子量為230-250 kDa，且含有三種類型之模組：I型、II型及III型。所有三個模組係由兩個反平行 β -片構成，產生 β -夾層結構；然而，I型及II型係藉由鏈內二硫鍵而穩定化，而III型模組不含任何二硫鍵。III型模組中不存在二硫鍵使得其在施加力下部分展開。纖維結合蛋白亦結合至其他細胞外受質蛋白質，諸如膠原蛋白、纖維蛋白及硫酸乙醯肝素蛋白多糖(例如多配體蛋白聚糖)。纖維結合蛋白以蛋白質二聚體形式存在，該二聚體係由藉由一對二硫鍵連接之兩種幾乎一致單體組成。纖維結合蛋白係由單一基因產生，但其前mRNA之替代性剪接引起數種同功異型物之產生。

【0070】 在一些實施例中，血清蛋白質為運鐵蛋白。運鐵蛋白為脊椎動物中所發現之醣蛋白，其經由血漿之運輸結合至鐵(Fe)且因此介導鐵

(Fe)經由血漿之運輸。其產生於肝臟中且含有用於兩個Fe³⁺原子之結合位點。人類運鐵蛋白係由TF基因編碼且產生為76 kDa醣蛋白。運鐵蛋白醣蛋白緊密但可逆地結合鐵。儘管結合至運鐵蛋白之鐵小於全身鐵之0.1% (4 mg)，但其形成轉換率(25 mg/24 h)最高的最重要的鐵池。運鐵蛋白具有約80 kDa之分子量且含有兩個特異性高親和力Fe(III)結合位點。運鐵蛋白對Fe(III)之親和力極高(在pH 7.4下，結合常數為1020 M⁻¹)，但隨pH降低至低於中性而逐漸減小。運鐵蛋白不僅限於與鐵結合且亦限於不同金屬離子。

【0071】 在一些實施例中，血清蛋白質為人類血清白蛋白(HSA)。HSA係由ALB基因編碼之蛋白質。HSA為一種血清半衰期為約20天之585個胺基酸多肽(大致67 kDa)，且主要負責維持膠態滲透血壓、血液pH值以及大量內源性及外源性配位體之運輸及分佈。HSA具有三個結構上同源之域(域I、II及III)，幾乎完全呈 α -螺旋構形且藉由17個二硫橋鍵高度穩定。代表性HSA序列係由UniProtKB初級寄存編號P02768提供且可包括其其他人類同功異型物。

血清蛋白質結合分子

【0072】 在一些實施例中，半衰期延長部分包含結合至血清蛋白質之分子，諸如經由肽或蛋白質結合域非共價結合至血清蛋白質之蛋白質，諸如抗體(包括其抗原結合部分)。抗體之實例包括(但不限於)：Fab、F(ab)₂、F(ab')、F(ab')₂、F(ab')₃、Fd、Fv、二硫鍵聯Fv、dAb或sdAb(或NANOBODY®)、CDR、scFv、(scFv)₂、二-scFv、雙-scFv、tascFv(串聯scFv)、AVIBODY(例如雙功能抗體、三功能抗體及四功能抗體)、T細胞接合子(BiTE)、Fc、scFv-Fc、Fcab、mAb2、小模組免疫醫藥

(SMIP)、Genmab/單抗體(unibody)或雙抗體(duobody)、V-NAR域、IgNAR、微型抗體、IgGACH2、DVD-Ig、前抗體(probody)、胞內抗體(intrabody)及多特異性抗體。其他實例提供於US 2005/0287153中，其以全文引用之方式併入本文中。

【0073】 在一些實施例中，血清蛋白質結合分子為與血清白蛋白締合之疏水性部分，諸如醯基化肽(例如Zorzi等人, *Nature Communications* 第8卷: 16092 (2017)中之醯基化七肽，利拉魯肽(Liraglutide)之醯基)。

【0074】 在一些實施例中，結合至血清蛋白質之分子為非抗體分子，其非限制性實例包括親和抗體、AFFIMER®多肽、阿菲林、抗運輸蛋白、三聚體、高親和性多聚體、錨蛋白重複蛋白、FN3骨架(例如阿德奈汀、辛替恩)、菲諾體、孔尼茲域、奈米菲汀、前奈汀、三功能抗體、雙環肽或Cys結。

【0075】 在一些實施例中，結合諸如HSA之血清蛋白質之分子包含AFFIMER®多肽。AFFIMER®多肽為小型、高度穩定之多肽(例如蛋白質)，其為以重組方式工程改造之stefin多肽之變體。因此，術語「AFFIMER®多肽」在本文中可與術語「以重組方式工程改造之stefin多肽之變體」互換使用。stefin多肽為胰抑素超家族(一種涵蓋含有多個胰抑素樣序列之蛋白質的家族)中之蛋白質子組。胰抑素家族之stefin子群為相對較小(約100個胺基酸)的單域蛋白質。其未接受已知之轉譯後修飾且不含二硫鍵，此表明其將能夠在廣泛範圍之細胞外及細胞內環境中相同地摺疊。Stefin A為具有98個胺基酸之單體、單鏈、單域蛋白。已知stefin A之結構，促進stefin A合理突變成AFFIMER®多肽。胰抑素之唯一已知的生物活性為抑制組織蛋白酶活性，其使得能夠詳盡地測試經工程改造之蛋白

質之殘餘生物活性。

【0076】 AFFIMER®多肽呈現兩種肽環及N端序列，其皆可以與單株抗體類似之方式隨機結合至具有高親和力及特異性之所需目標蛋白。藉由stefin A蛋白質骨架使兩種肽穩定限制肽可採用之可能構形，相較於游離肽庫增加結合親和力及特異性。此等經工程改造之非抗體結合蛋白質經設計以模擬不同應用中單株抗體之分子識別特徵。可進行對stefin A多肽序列之其他部分之改變，其中此類變化改良此等親和力試劑之特性，諸如增加穩定性，例如使其在一系列溫度及pH值下穩定。在一些實施例中，AFFIMER®多肽包括衍生stefin A之序列，與stefin A野生型序列，諸如人類stefin A共用實質性鑑別。在一些實施例中，AFFIMER®多肽具有與對應於人類stefin A之序列共有至少25%、35%、45%、55%或60%一致性之胺基酸序列。舉例而言，AFFIMER®多肽可具有共有至少70%、至少80%、至少85%、至少90%、至少92%、至少94%、至少95%一致性之胺基酸序列，例如其中序列變異不會不利地影響骨架結合至所需目標之能力，且例如其並不恢復或產生生物功能，諸如野生型stefin A所具有之彼等功能，但該等功能在本文所描述之突變變化中經消除。

【0077】 抗HSA AFFIMER®多肽包含AFFIMER®多肽，其中至少一種溶劑可接近之環來自具有胺基酸序列之野生型stefin A蛋白以使得AFFIMER®多肽能夠選擇性地結合HSA，且在一些實施例中，其中 K_d 為 10^{-6} M或更低。

【0078】 在一些實施例中，AFFIMER®多肽以 1×10^{-9} M至 1×10^{-6} M之 K_d 在pH 7.4至7.6下結合至HSA。在一些實施例中，AFFIMER®多肽以 1×10^{-6} M或更低之 K_d 在pH 7.4至7.6下結合至HSA。在一些實施例中，

AFFIMER®多肽以 1×10^{-7} M或更低之 K_d 在pH 7.4至7.6下結合至HSA。在一些實施例中，AFFIMER®多肽以 1×10^{-8} M或更低之 K_d 在pH 7.4至7.6下結合至HSA。在一些實施例中，AFFIMER®多肽以 1×10^{-9} M或更低之 K_d 在pH 7.4至7.6下結合至HSA。在一些實施例中，AFFIMER®多肽以 1×10^{-10} M或更低之 K_d 在pH 7.4至7.6下結合至HSA。在一些實施例中，AFFIMER®多肽以 1×10^{-11} M或更低之 K_d 在pH 7.4至7.6下結合至HSA。在一些實施例中，AFFIMER®多肽以 1×10^{-9} M至 1×10^{-6} M之 K_d 在pH 7.4下結合至HSA。在一些實施例中，AFFIMER®多肽以 1×10^{-6} M或更低之 K_d 在pH 7.4下結合至HSA。在一些實施例中，AFFIMER®多肽以 1×10^{-7} M或更低之 K_d 在pH 7.4下結合至HSA。在一些實施例中，AFFIMER®多肽以 1×10^{-8} M或更低之 K_d 在pH 7.4下結合至HSA。在一些實施例中，AFFIMER®多肽以 1×10^{-9} M或更低之 K_d 在pH 7.4下結合至HSA。在一些實施例中，AFFIMER®多肽以 1×10^{-10} M或更低之 K_d 在pH 7.4下結合至HSA。在一些實施例中，AFFIMER®多肽以 1×10^{-11} M或更低之 K_d 在pH 7.4下結合至HSA。

【0079】 在一些實施例中，抗HSA AFFIMER®多肽衍生自具有主鏈序列且其中環2 (稱為(Xaa)_n)及環4 (稱為(Xaa)_m)中之一或兩者經替代環序列(Xaa)_n及(Xaa)_m置換以具有通式(I)：

$$\text{FR1}-(\text{Xaa})_n-\text{FR2}-(\text{Xaa})_m-\text{FR3} \text{ (I)},$$

其中 FR1 為 與 MIPGGLSEAK PATPEIQEIV DKVKPQLEEK TNETYGKLEA VQYKTQVLA (SEQ ID NO: 1)具有至少70%一致性之胺基酸序列；FR2為與GTNYYIKVRA GDNKYMHLKV FKSL (SEQ ID NO: 2) 具有至少 70% 一致性之胺基酸序列；FR3 為 與 EDLVLTGYQV

DKNKDDELGTG F (SEQ ID NO: 3)具有至少70%一致性之胺基酸序列；
Xaa在每次出現時個別地為胺基酸；且n為選自3至20之整數，且m為3至20之整數。

【0080】 在一些實施例中，FR1為與SEQ ID NO: 1具有80%-98%、82%-98%、84%-98%、86%-98%、88%-98%、90%-98%、92%-98%、94%-98%或96%-98%同源性之多肽序列。在一些實施例中，FR1為與SEQ ID NO: 1具有80%、82%、84%、86%、88%、90%、92%、94%、96%或95%同源性之多肽序列。在一些實施例中，FR1為SEQ ID NO: 1之多肽序列。在一些實施例中，FR2為與SEQ ID NO: 2具有至少80%-96%、84%-96%、88%-96%或92%-96%同源性之多肽序列。在一些實施例中，FR2為與SEQ ID NO: 2具有至少80%、84%、88%、92%或96%同源性之多肽序列。在一些實施例中，FR2為與SEQ ID NO: 2具有至少80%、85%、90%、95%或甚至98%一致性之多肽序列。在一些實施例中，FR2為SEQ ID NO: 2之多肽序列。在一些實施例中，FR3為與SEQ ID NO: 3具有至少80%-95%、85%-95%或90%-95%同源性之多肽序列。在一些實施例中，FR3為與SEQ ID NO: 3具有至少80%、85%、90%或95%同源性之多肽序列。在一些實施例中，FR3為SEQ ID NO: 3之多肽序列。

【0081】 在一些實施例中，抗HSA AFFIMER®多肽包含通式(II)中所示之胺基酸序列：

MIP-Xaa1-
GLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVLA-
(Xaa)_n-Xaa2-TNYIYKVRAGDNKYMHLKVF-Xaa3-Xaa4-Xaa5-(Xaa)_m-
Xaa6-D-Xaa7-VLTGYQVDKNKDDELGTGF (SEQ ID NO: 4) (II)，

其中Xaa在每次出現時個別地為胺基酸；n為3至20之整數，且m為3至20之整數；Xaa1為Gly、Ala、Val、Arg、Lys、Asp或Glu；Xaa2為Gly、Ala、Val、Ser或Thr；Xaa3為Arg、Lys、Asn、Gln、Ser、Thr；Xaa4為Gly、Ala、Val、Ser或Thr；Xaa5為Ala、Val、Ile、Leu、Gly或Pro；Xaa6為Gly、Ala、Val、Asp或Glu；且Xaa7為Ala、Val、Ile、Leu、Arg或Lys。

【0082】 在一些實施例中，Xaa1為Gly、Ala、Arg或Lys。在一些實施例中，Xaa1為Gly或Arg。在一些實施例中，Xaa2為Gly、Ala、Val、Ser或Thr。在一些實施例中，Xaa2為Gly或Ser。在一些實施例中，Xaa3為Arg、Lys、Asn、Gln、Ser、Thr。在一些實施例中，Xaa3為Arg、Lys、Asn或Gln。在一些實施例中，Xaa3為Lys或Asn。在一些實施例中，Xaa4為Gly、Ala、Val、Ser或Thr。在一些實施例中，Xaa4為Gly或Ser。在一些實施例中，Xaa5為Ala、Val、Ile、Leu、Gly或Pro。在一些實施例中，Xaa5為Ile、Leu或Pro。在一些實施例中，Xaa5為Leu或Pro。在一些實施例中，Xaa6為Gly、Ala、Val、Asp或Glu。在一些實施例中，Xaa6為Ala、Val、Asp或Glu。在一些實施例中，Xaa6為Ala或Glu。在一些實施例中，Xaa7為Ala、Val、Ile、Leu、Arg或Lys。在一些實施例中，Xaa7為Ile、Leu或Arg。在一些實施例中，Xaa7為Leu或Arg。

【0083】 在一些實施例中，抗HSA AFFIMER®包含通式(III)中所表示之胺基酸序列：

MIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYK
T
QVLA-(Xaa)_n-STNYIYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP-(Xaa)_m-ADR

VLTGYQVDKNKDDELTGF (SEQ ID NO: 5) (III) ,

其中Xaa在每次出現時個別地為胺基酸；n為3至20之整數，且m為3至20之整數。在一些實施例中，n為3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20。在一些實施例中，n為8至10、7至11、6至12、5至13、4至14或3至15。在一些實施例中，m為3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20。在一些實施例中，m為8至10、7至11、6至12、5至13、4至14或3至15。

【0084】 在一些實施例中，(Xaa)_n由式(IV)表示：

aa1-aa2-aa3-aa4-aa5-aa6-aa7-aa8-aa9 (IV) ,

其中aa1為具有中性極性親水性側鏈之胺基酸；aa2為具有中性非極性疏水性側鏈之胺基酸；aa3為具有中性非極性疏水性側鏈之胺基酸；aa4為具有中性極性親水性的側鏈之胺基酸；aa5為具有帶正電極性親水性側鏈之胺基酸；aa6為具有帶正電極性親水性側鏈之胺基酸；aa7為具有中性非極性疏水性側鏈之胺基酸；aa8為具有中性非極性疏水性側鏈之胺基酸；且aa9為具有中性非極性親水性側鏈之胺基酸。

【0085】 在一些實施例中，(Xaa)_m由式(V)表示：

aa1-aa2-aa3-aa4-aa5-aa6-aa7-aa8-aa9 (V) ,

其中aa1為具有中性非極性疏水性側鏈之胺基酸；aa2為具有帶正電極性親水性側鏈之胺基酸；aa3為具有中性非極性疏水性側鏈之胺基酸；aa4為具有帶正電極性親水性側鏈之胺基酸；aa5為具有中性極性親水性側鏈之胺基酸；aa6為具有中性極性親水性側鏈之胺基酸；aa7為具有帶負電極性親水性側鏈之胺基酸；aa8為具有帶正電極性親水性側鏈之胺基酸；且aa9為具有中性非極性親水性側鏈之胺基酸。

【0086】 具有中性非極性親水性側鏈之胺基酸之實例包括半胱胺酸(Cys)及甘胺酸(Gly)。在一些實施例中，具有中性非極性親水性側鏈之胺基酸為Cys。在一些實施例中，具有中性非極性親水性側鏈之胺基酸為Gly。

【0087】 具有中性非極性疏水性側鏈之胺基酸之實例包括丙胺酸(Ala)、異白胺酸(Ile)、白胺酸(Leu)、甲硫胺酸(Met)、苯丙胺酸(Phe)、脯胺酸(Pro)、色胺酸(Trp)及纈胺酸(Val)。在一些實施例中，具有中性非極性疏水性側鏈之胺基酸為Ala。在一些實施例中，具有中性非極性疏水性側鏈之胺基酸為Ile。在一些實施例中，具有中性非極性疏水性側鏈之胺基酸為Leu。在一些實施例中，具有中性非極性疏水性側鏈之胺基酸為Met。在一些實施例中，具有中性非極性疏水性側鏈之胺基酸為Phe。在一些實施例中，具有中性非極性疏水性側鏈之胺基酸為Pro。在一些實施例中，具有中性非極性疏水性側鏈之胺基酸為Trp。在一些實施例中，具有中性非極性疏水性側鏈之胺基酸為Val。

【0088】 具有中性極性親水性側鏈之胺基酸之實例包括天冬醯胺(Asn)、麩醯胺酸(Gln)、絲胺酸(Ser)、蘇胺酸(Thr)及酪胺酸(Tyr)。在一些實施例中，具有中性極性親水性側鏈之胺基酸為Asn。在一些實施例中，具有中性極性親水性側鏈之胺基酸為Gln。在一些實施例中，具有中性極性親水性側鏈之胺基酸為Ser。在一些實施例中，具有中性極性親水性側鏈之胺基酸為Thr。在一些實施例中，具有中性極性親水性側鏈之胺基酸為Tyr。

【0089】 具有帶正電極性親水性側鏈之胺基酸之實例包括精胺酸(Arg)、組胺酸(His)及離胺酸(Lys)。在一些實施例中，具有帶正電極性親

水性側鏈之胺基酸為Arg。在一些實施例中，具有帶正電極性親水性側鏈之胺基酸為His。在一些實施例中，具有帶正電極性親水性側鏈之胺基酸為Lys。

【0090】 具有帶負電極性親水性側鏈之胺基酸之實例包括天冬胺酸(Asp)及麩胺酸(Glu)。在一些實施例中，具有帶負電極性親水性側鏈之胺基酸為Asp。在一些實施例中，具有帶負電極性親水性側鏈之胺基酸為Glu。

【0091】 在一些實施例中，(Xaa)_n由式(IV)表示：

aa1-aa2-aa3-aa4-aa5-aa6-aa7-aa8-aa9 (IV)，

其中aa1為選自Asp、Gly、Asn及Val之胺基酸；aa2為選自Trp、Tyr、His及Phe之胺基酸；aa3為選自Trp、Tyr、Gly、Trp及Phe之胺基酸；aa4為選自Gln、Ala及Pro之胺基酸；aa5為選自Ala、Gln、Glu、Arg及Ser之胺基酸；aa6為選自Lys、Arg及Tyr之胺基酸；aa7為選自Trp及Gln之胺基酸；aa8為選自Pro及His之胺基酸；及/或aa9為選自His、Gly及Gln之胺基酸。在一些實施例中，aa1為Asp。在一些實施例中，aa1為Gly。在一些實施例中，aa1為Asn。在一些實施例中，aa2為Trp。在一些實施例中，aa2為Tyr。在一些實施例中，aa2為His。在一些實施例中，aa2為Phe。在一些實施例中，aa3為Trp。在一些實施例中，aa3為Tyr。在一些實施例中，aa3為Gly。在一些實施例中，aa3為Trp。在一些實施例中，aa3為Phe。在一些實施例中，aa4為Gln。在一些實施例中，aa4為Ala。在一些實施例中，aa4為Pro。在一些實施例中，aa5為Ala。在一些實施例中，aa5為Gln。在一些實施例中，aa5為Glu。在一些實施例中，aa5為Arg。在一些實施例中，aa5為Ser。在一些實施例中，aa6為Lys。

在一些實施例中，aa6為Arg。在一些實施例中，aa6為Tyr。在一些實施例中，aa7為Trp。在一些實施例中，aa7為Gln。在一些實施例中，aa8為Pro。在一些實施例中，aa8為His。在一些實施例中，aa9為His。在一些實施例中，aa9為Gly。在一些實施例中，aa9為Gln。

【0092】 在一些實施例中，(Xaa)_m由式(IV)表示：

aa1-aa2-aa3-aa4-aa5-aa6-aa7-aa8-aa9 (IV)，

其中aa1為選自Tyr、Phe、Trp及Asn之胺基酸；aa2為選自Lys、Pro、His、Ala及Thr之胺基酸；aa3為選自Val、Asn、Gly、Gln、Ala及Phe之胺基酸；aa4為選自His、Thr、Lys、Trp、Lys、Val及Arg之胺基酸；aa5為選自Gln、Ser、Gly、Pro及Asn之胺基酸；aa6為選自Ser、Tyr、Glu、Leu、Lys及Thr之胺基酸；aa7為選自Ser、Asp、Val及Lys之胺基酸；aa8為選自Gly、Leu、Ser、Pro、His、ASP及Arg之胺基酸；及/或aa9為選自Gly、Gln、Glu及Ala之胺基酸。在一些實施例中，aa1為Tyr。在一些實施例中，aa1為Phe。在一些實施例中，aa1為Trp。在一些實施例中，aa1為Asn。在一些實施例中，aa2為Lys。在一些實施例中，aa2為Pro。在一些實施例中，aa2為His。在一些實施例中，aa2為Ala。在一些實施例中，aa2為Thr。在一些實施例中，aa3為Val。在一些實施例中，aa3為Asn。在一些實施例中，aa3為Gly。在一些實施例中，aa3為Gln。在一些實施例中，aa3為Ala。在一些實施例中，aa3為Phe。在一些實施例中，aa4為His。在一些實施例中，aa4為Thr。在一些實施例中，aa4為Lys。在一些實施例中，aa4為Trp。在一些實施例中，aa4為Lys。在一些實施例中，aa4為Val。在一些實施例中，aa4為Arg。在一些實施例中，aa5為Gln。在一些實施例中，aa5為Ser。在一些實施例中，aa5為

Gly。在一些實施例中，aa5為Pro。在一些實施例中，aa5為Asn。在一些實施例中，aa6為Ser。在一些實施例中，aa6為Tyr。在一些實施例中，aa6為Glu。在一些實施例中，aa6為Leu。在一些實施例中，aa6為Lys。在一些實施例中，aa6為Thr。在一些實施例中，aa7為Ser。在一些實施例中，aa7為Asp。在一些實施例中，aa7為Val。在一些實施例中，aa7為Lys。在一些實施例中，aa8為Gly。在一些實施例中，aa8為Leu。在一些實施例中，aa8為Ser。在一些實施例中，aa8為Pro。在一些實施例中，aa8為His。在一些實施例中，aa8為Asp。在一些實施例中，aa8為Arg。在一些實施例中，aa9為Gly。在一些實施例中，aa9為Gln。在一些實施例中，aa9為Glu。在一些實施例中，aa9為Ala。

【0093】 在一些實施例中，(Xaa)_n由式(V)表示：

Asn-aa1-aa2-Gln-Gln-Arg-Arg-Trp-Pro-Gly (V) (SEQ ID NO: 140)，

其中aa1為選自Trp及Phe之胺基酸；且aa2為選自Tyr及Phe之胺基酸。在一些實施例中，aa1為Trp。在一些實施例中，aa1為Phe。在一些實施例中，aa2為Tyr。在一些實施例中，aa2為Phe。

【0094】 在一些實施例中，(Xaa)_n由式(VI)表示：

aa1-aa2-Trp-aa3-aa4-Lys-Trp-Pro-aa5 (VI) (SEQ ID NO: 141)，

其中aa1為選自Asp及Gly之胺基酸；aa2為選自Trp、Tyr及Phe之胺基酸；aa3為選自Gln及Ala之胺基酸；aa4為選自Ala及Ser之胺基酸；且aa5為選自His及Gly之胺基酸。在一些實施例中，aa1為Asp。在一些實施例中，aa1為Gly。在一些實施例中，aa2為Trp。在一些實施例中，aa2為Tyr。在一些實施例中，aa2為Phe。在一些實施例中，aa3為Gln。在一些

實施例中，aa3為Ala。在一些實施例中，aa4為Ala。在一些實施例中，aa4為Ser。在一些實施例中，aa5為His。在一些實施例中，aa5為Gly。

【0095】 在一些實施例中，(Xaa)_n由式(VII)表示：

aa1-aa2-aa3-aa4-aa5-aa6-Trp-Pro-Gly (VII)，

其中aa1為選自Gly及Asn之胺基酸；aa2為選自Tyr、Phe、Trp及His之胺基酸；aa3為選自Trp、Tyr及Phe之胺基酸；aa4為選自Ala及Gln之胺基酸；aa5為選自Ala、Ser、Gln及Arg之胺基酸；且aa6為選自Lys、Arg及Tyr之胺基酸。在一些實施例中，aa1為Gly。在一些實施例中，aa1為Asn。在一些實施例中，aa2為Tyr。在一些實施例中，aa2為Phe。在一些實施例中，aa2為Trp。在一些實施例中，aa2為His。在一些實施例中，aa3為Trp。在一些實施例中，aa3為Tyr。在一些實施例中，aa3為Phe。在一些實施例中，aa4為Ala。在一些實施例中，aa4為Gln。在一些實施例中，aa5為Ala。在一些實施例中，aa5為Ser。在一些實施例中，aa5為Gln。在一些實施例中，aa5為Arg。在一些實施例中，aa6為Lys。在一些實施例中，aa6為Arg。在一些實施例中，aa6為Tyr。

【0096】 在一些實施例中，(Xaa)_n由式(IX)表示：

Gly-aa1-aa2-Ala-aa3-aa4-Trp-Pro-Gly (IX) (SEQ ID NO: 142)，

其中aa1為選自Tyr、Phe及His之胺基酸；aa2為選自Trp及Tyr之胺基酸；aa3為選自Ala、Ser及Arg之胺基酸；且aa4為選自Lys及Tyr之胺基酸。在一些實施例中，aa1為Tyr。在一些實施例中，aa1為Phe His。在一些實施例中，aa1為His。在一些實施例中，aa2為Trp。在一些實施例中，aa2為Tyr。在一些實施例中，aa3為Ala。在一些實施例中，aa3為Ser。在一些實施例中，aa3為Arg。在一些實施例中，aa4為Lys。在一些實施例

中，aa4為Tyr。

【0097】 在一些實施例中，(Xaa)_n由式(X)表示：

aa1-aa2-aa3-Gln-aa4-aa5-Trp-Pro-aa6 (X)，

其中aa1為選自Asp及Asn之胺基酸；aa2為選自Trp及Phe之胺基酸；aa3為選自Trp、Tyr及Phe之胺基酸；aa4為選自Ala、Gln及Arg之胺基酸；aa5為選自Lys及Arg之胺基酸；且aa6為選自His及Gly之胺基酸。在一些實施例中，aa1為Asp。在一些實施例中，aa1為Asn。在一些實施例中，aa2為Trp。在一些實施例中，aa2為Phe。在一些實施例中，aa3為Trp。在一些實施例中，aa3為Tyr。在一些實施例中，aa3為Phe。在一些實施例中，aa4為Ala。在一些實施例中，aa4為Gln。在一些實施例中，aa4為Arg。在一些實施例中，aa5為Lys。在一些實施例中，aa5為Arg。在一些實施例中，aa6為His。在一些實施例中，aa6為Gly。

【0098】 在一些實施例中，抗HSA AFFIMER®多肽包含選自SEQ ID NO: 6-56、134-135中之任一者之環2胺基酸序列(表1)。在一些實施例中，抗HSA AFFIMER®多肽包含選自SEQ ID NO: 57-109中之任一者之環4胺基酸序列(表1)。

表1. HSA AFFIMER®多肽環序列之實例

名稱	環2	SEQ ID NO:	環4	SEQ ID NO:
HSA-00	WTQPKNEHH	134	RFKYFAHYQ	57
HSA-01	HLKHTDAQP	135	FHDFWHRRW	58
HSA-02	HDQDVLHAW	6	DWYHYWWEV	59
HSA-03	KFHRQEWAD	7	STRSIHVTT	60
HSA-04	PEDFWDPEH	8	KQH HHYLDK	61
HSA-05	VVRTTGHVV	9	HSAQDREIP	62
HSA-06	YWWFCTGQS	10	WVQSGYNSQ	63
HSA-07	IHHRQARSL	11	AVFWGKWSD	64
HSA-08	SHRRRAYIW	12	QSFDKPWTT	65

名稱	環2	SEQ ID NO:	環4	SEQ ID NO:
HSA-09	WDSHHWRAP	13	HYPLKYSFE	66
HSA-10	DKRVKYGQ	14	WHHPWHRNR	67
HSA-11	SDWVYALQL	15	DPWWAWVVW	68
HSA-12	FWFWY	16	FDNQDLIQY	69
HSA-13	VRDWPWNTF	17	EKKNWYKWD	70
HSA-14	QKKRDEDYI	18	DRHKSRWGI	71
HSA-15	GVHEEPRKL	19	LNPFTPSVT	72
HSA-16	EWVQKHWP	20	YKGALLNHD	73
HSA-17	NFFQRRWPG	21	WKFRNTERG	74
HSA-18	DWWQAKWPH	22	YKVHQSSGG	75
HSA-19	GIWQSRWPG	23	FHPIAGRPW	76
HSA-20	GYWAAKWPG	24	FPNTSYDLQ	77
HSA-21	GFYADHWPG	25	FAHYNLKSG	78
HSA-22	NWYQQRWPG	26	WHNYGESSG	79
HSA-23	GFYARHWPG	27	KFYYADHQW	80
HSA-24	DFWKAHWPG	28	YTHADPHSQ	81
HSA-25	DFYSVRWPG	29	FGVPQLGAG	82
HSA-26	YWAANHASK	30	YSGFPFAGF	83
HSA-27	IKRLEHWEY	31	WFSWPYTPL	84
HSA-28	EWDSPWSEN	32	YYHPSIQST	85
HSA-29	KHKNLRWPF	33	FLGWKDTV	86
HSA-30	RHFPKQTNW	34	DWWKWWWAK	87
HSA-31	VWGPEYQH	35	NAGWPLVPE	88
HSA-32	TWKNNGQDV	36	YALDPFGGK	89
HSA-33	ATWLNYYLP	37	GYKFWGVSD	90
HSA-34	DQESLFLNN	38	QGKQYILLR	91
HSA-35	GFYAQHWP	39	YKRHSAHDY	92
HSA-36	GHYARYWPG	40	WAQKSKVHQ	93
HSA-37	GFWASKWPG	41	FTAVSKKDA	94
HSA-38	GFWQRKWP	42	WGDKENIWF	95
HSA-39	VWPADNDLK	43	WSGHPWVQK	96
HSA-40	HWAWTSPGY	44	YADYPLSPK	97
HSA-41/ HSA-52	NFFQRRWPG	45	WKFRNTDRG	98
HSA-42	HSHRLKGQ	46	QTVATHYHY	99
HSA-43	YQNTIFLSI	47	WHAKHLLSH	100
HSA-44	FQDQFTWSQ	48	SGIKKADSV	101

名稱	環2	SEQ ID NO:	環4	SEQ ID NO:
HSA-45	GEPHWPWQA	49	KANLINVKS	102
HSA-46	ADPRHPWVE	50	WKSHVEVRS	103
HSA-47	FHKRFQSQG	51	WVTQKYIIQ	104
HSA-48	EWQNRWPN	52	WEHAKDWPT	105
HSA-49	EWYQTRWPG	53	FHSKVLDKA	106
HSA-50	EFWQRHWP	54	YGAQKQAVW	107
HSA-51	KFYERHWP	55	FSASHFTSQ	108
共有	GWQRRWPG	56	X ₁ X ₂ AX ₃ KX ₄ DX ₅ Q	109

【0099】 在一些實施例中，(Xaa)_n包含與SEQ ID NO: 6-55、134-135中之任一者之胺基酸序列具有至少80%或至少90%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，(Xaa)_n包含與SEQ ID NO: 6-55、134-135中之任一者之胺基酸序列具有80%至90%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，(Xaa)_n包含SEQ ID NO: 6-55、134-135中之任一者之胺基酸序列。

【0100】 在一些實施例中，(Xaa)_n包含與SEQ ID NO: 22、24、26、35、40、41及45中之任一者之胺基酸序列具有至少80%或至少90%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，(Xaa)_n包含與SEQ ID NO: 22之胺基酸序列具有至少80%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，(Xaa)_n包含與SEQ ID NO: 24之胺基酸序列具有至少80%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，(Xaa)_n包含與SEQ ID NO: 26之胺基酸序列具有至少80%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，(Xaa)_n包含與SEQ ID NO: 35之胺基酸序列具有至少80%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，(Xaa)_n包含與SEQ ID NO: 40之胺基酸序列具有至少80%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，(Xaa)_n包含與SEQ ID NO: 41之胺基酸序列具有至少80%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，(Xaa)_n包含與SEQ ID NO: 45之胺基酸序列具有至少80%一致性之胺基酸序列。在一些實施例

中，(Xaa)_n包含與SEQ ID NO: 22之胺基酸序列具有至少90%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，(Xaa)_n包含與SEQ ID NO: 24之胺基酸序列具有至少90%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，(Xaa)_n包含與SEQ ID NO: 26之胺基酸序列具有至少90%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，(Xaa)_n包含與SEQ ID NO: 35之胺基酸序列具有至少90%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，(Xaa)_n包含與SEQ ID NO: 40之胺基酸序列具有至少90%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，(Xaa)_n包含與SEQ ID NO: 41之胺基酸序列具有至少90%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，(Xaa)_n包含與SEQ ID NO: 45之胺基酸序列具有至少90%一致性之胺基酸序列。

【0101】 在一些實施例中，(Xaa)_n包含與SEQ ID NO: 22、24、26、35、40、41及45中之任一者之胺基酸序列具有80%至90%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，(Xaa)_n包含與SEQ ID NO: 22之胺基酸序列具有80%至90%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，(Xaa)_n包含與SEQ ID NO: 24之胺基酸序列具有80%至90%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，(Xaa)_n包含與SEQ ID NO: 26之胺基酸序列具有80%至90%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，(Xaa)_n包含與SEQ ID NO: 35之胺基酸序列具有80%至90%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，(Xaa)_n包含與SEQ ID NO: 40之胺基酸序列具有80%至90%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，(Xaa)_n包含與SEQ ID NO: 41之胺基酸序列具有80%至90%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，(Xaa)_n包含與SEQ ID NO: 45之胺基酸序列具有80%至90%一致性之胺基酸序列。

【0102】 在一些實施例中，(Xaa)_n包含SEQ ID NO: 22、24、26、

35、40、41及45中之任一者之胺基酸序列。在一些實施例中，(Xaa)_n包含SEQ ID NO: 22之胺基酸序列。在一些實施例中，(Xaa)_n包含SEQ ID NO: 24之胺基酸序列。在一些實施例中，(Xaa)_n包含SEQ ID NO: 26之胺基酸序列。在一些實施例中，(Xaa)_n包含SEQ ID NO: 35之胺基酸序列。在一些實施例中，(Xaa)_n包含SEQ ID NO: 40之胺基酸序列。在一些實施例中，(Xaa)_n包含SEQ ID NO: 41之胺基酸序列。在一些實施例中，(Xaa)_n包含SEQ ID NO: 45之胺基酸序列。

【0103】 在一些實施例中，(Xaa)_m包含與SEQ ID NO: 57-108中之任一者之胺基酸序列具有至少80%或至少90%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，(Xaa)_m包含與SEQ ID NO: 57-108中之任一者之胺基酸序列具有80%至90%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，(Xaa)_m包含SEQ ID NO: 57-108中之任一者之胺基酸序列。

【0104】 在一些實施例中，(Xaa)_m包含與SEQ ID NO: 75、77、79、88、93、94及98中之任一者之胺基酸序列具有至少80%或至少90%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，(Xaa)_m包含與SEQ ID NO: 75之胺基酸序列具有至少80%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，(Xaa)_m包含與SEQ ID NO: 77之胺基酸序列具有至少80%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，(Xaa)_m包含與SEQ ID NO: 79之胺基酸序列具有至少80%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，(Xaa)_m包含與SEQ ID NO: 88之胺基酸序列具有至少80%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，(Xaa)_m包含與SEQ ID NO: 93之胺基酸序列具有至少80%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，(Xaa)_m包含與SEQ ID NO: 94之胺基酸序列具有至少80%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，(Xaa)_m包含與SEQ ID

NO: 98之胺基酸序列具有至少80%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，(Xaa)_m包含與SEQ ID NO: 75之胺基酸序列具有至少90%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，(Xaa)_m包含與SEQ ID NO: 77之胺基酸序列具有至少90%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，(Xaa)_m包含與SEQ ID NO: 79之胺基酸序列具有至少90%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，(Xaa)_m包含與SEQ ID NO: 88之胺基酸序列具有至少90%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，(Xaa)_m包含與SEQ ID NO: 93之胺基酸序列具有至少90%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，(Xaa)_m包含與SEQ ID NO: 94之胺基酸序列具有至少90%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，(Xaa)_m包含與SEQ ID NO: 98之胺基酸序列具有至少90%一致性之胺基酸序列。

【0105】 在一些實施例中，(Xaa)_m包含與SEQ ID NO: 75、77、79、88、93、94及98中之任一者之胺基酸序列具有80%至90%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，(Xaa)_m包含SEQ ID NO: 75、77、79、88、93、94及98中之任一者之胺基酸序列。在一些實施例中，(Xaa)_m包含與SEQ ID NO: 75之胺基酸序列具有80%至90%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，(Xaa)_m包含與SEQ ID NO: 77之胺基酸序列具有80%至90%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，(Xaa)_m包含與SEQ ID NO: 79之胺基酸序列具有80%至90%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，(Xaa)_m包含與SEQ ID NO: 88之胺基酸序列具有80%至90%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，(Xaa)_m包含與SEQ ID NO: 93之胺基酸序列具有80%至90%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，(Xaa)_m包含與SEQ ID NO: 94之胺基酸序列具有80%至90%一致性之胺基酸序列。在一些實

施例中，(Xaa)_m包含與SEQ ID NO: 98之胺基酸序列具有80%至90%一致性之胺基酸序列。

【0106】 在一些實施例中，抗HSA AFFIMER®多肽包含選自SEQ ID NO: 110-116及133中之任一者之胺基酸序列(表2)。

表2. HSA AFFIMER®多肽序列之實例

名稱	序列	SEQ ID NO:
HSA-18	MIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQ YKTQVLADWWQAKWPHSTNYYIKVRAGDNKYMHLKVF NGPYKVHQSSGGADRVLTGYQVDKNKDDELTGF	110
HSA-20	MIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQ YKTQVLAGYWAAKWPGSTNYYIKVRAGDNKYMHLKVFN GPFNTSYDLQADRVLTGYQVDKNKDDELTGF	111
HSA-22	MIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQ YKTQVLANWYQQRWPGSTNYYIKVRAGDNKYMHLKVFN GPWHNYGESSGADRVLTGYQVDKNKDDELTGF	112
HSA-31	MIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQ YKTQVLAVWGPEYQHQSTNYYIKVRAGDNKYMHLKVFN GPNAGWPLVPEADRVLTGYQVDKNKDDELTGF	113
HSA-36	MIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQ YKTQVLAGHYARYWPGSTNYYIKVRAGDNKYMHLKVFN GPWAQSKSVHQADRVLTGYQVDKNKDDELTGF	114
HSA-37	MIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQ YKTQVLAGFWASKWPGSTNYYIKVRAGDNKYMHLKVFN GPFTA VSKKDAADRVLTGYQVDKNKDDELTGF	115
HSA-41	MIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQ YKTQVLANFFQRRWPGSTNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNG PWKFRNTDRGADRVLTGYQVDKNKDDELTGF	116
HSA-52	MIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQ YKTQVLANFFQRRWPGSTNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNG PWKFRNTDRGADRVLTGYQVDKNKDDELTGFAAAGGRA EQKLISEEDLGCAENLYFQGGAAGHHHHH	133

【0107】 在一些實施例中，抗HSA AFFIMER®多肽包含與SEQ ID NO: 110-116及133中之任一者之胺基酸序列具有至少80%或至少90%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，抗HSA AFFIMER®多肽包含與SEQ

ID NO: 110之胺基酸序列具有至少80%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，抗HSA AFFIMER®多肽包含與SEQ ID NO: 111之胺基酸序列具有至少80%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，抗HSA AFFIMER®多肽包含與SEQ ID NO: 112之胺基酸序列具有至少80%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，抗HSA AFFIMER®多肽包含與SEQ ID NO: 113之胺基酸序列具有至少80%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，抗HSA AFFIMER®多肽包含與SEQ ID NO: 114之胺基酸序列具有至少80%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，抗HSA AFFIMER®多肽包含與SEQ ID NO: 115之胺基酸序列具有至少80%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，抗HSA AFFIMER®多肽包含與SEQ ID NO: 116之胺基酸序列具有至少80%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，抗HSA AFFIMER®多肽包含與SEQ ID NO: 133之胺基酸序列具有至少80%一致性之胺基酸序列。

【0108】 在一些實施例中，抗HSA AFFIMER®多肽包含與SEQ ID NO: 110之胺基酸序列具有至少90%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，抗HSA AFFIMER®多肽包含與SEQ ID NO: 111之胺基酸序列具有至少90%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，抗HSA AFFIMER®多肽包含與SEQ ID NO: 112之胺基酸序列具有至少90%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，抗HSA AFFIMER®多肽包含與SEQ ID NO: 113之胺基酸序列具有至少90%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，抗HSA AFFIMER®多肽包含與SEQ ID NO: 114之胺基酸序列具有至少90%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，抗HSA AFFIMER®多肽包含與SEQ ID NO: 115之胺基酸序列具有至少90%一致性之胺基酸序列。在一些實施

例中，抗HSA AFFIMER®多肽包含與SEQ ID NO: 116之胺基酸序列具有至少90%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，抗HSA AFFIMER®多肽包含與SEQ ID NO: 133之胺基酸序列具有至少90%一致性之胺基酸序列。

【0109】 在一些實施例中，抗HSA AFFIMER®多肽包含與SEQ ID NO: 110-116及133中之任一者之胺基酸序列具有80%至90%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，抗HSA AFFIMER®多肽包含SEQ ID NO: 110-116及133中之任一者之胺基酸序列。在一些實施例中，抗HSA AFFIMER®多肽包含與SEQ ID NO: 110之胺基酸序列具有80%至90%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，抗HSA AFFIMER®多肽包含與SEQ ID NO: 111之胺基酸序列具有80%至90%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，抗HSA AFFIMER®多肽包含與SEQ ID NO: 112之胺基酸序列具有80%至90%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，抗HSA AFFIMER®多肽包含與SEQ ID NO: 113之胺基酸序列具有80%至90%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，抗HSA AFFIMER®多肽包含與SEQ ID NO: 114之胺基酸序列具有80%至90%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，抗HSA AFFIMER®多肽包含與SEQ ID NO: 115之胺基酸序列具有80%至90%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，抗HSA AFFIMER®多肽包含與SEQ ID NO: 116之胺基酸序列具有80%至90%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，抗HSA AFFIMER®多肽包含與SEQ ID NO: 133之胺基酸序列具有80%至90%一致性之胺基酸序列。

【0110】 在一些實施例中，本文所提供之抗HSA AFFIMER®多肽連接至另一分子且延長彼分子(例如治療多肽)之半衰期。本文中提供一系

列具有一系列結合親和力之抗HSA AFFIMERS[®]，例如與其他物種(諸如小鼠及獼猴(獼猴)猴)交叉反應。在一些實施例中，此等抗HSA AFFIMERS[®]構成稱為AFFIMER XT[™]平台。此等抗HSA AFFIMERS[®]已在活體內藥物動力學(PK)研究中展示以控制方式延長任何其他AFFIMER[®]多肽治療之血清半衰期，該多肽治療在例如大腸桿菌中進行之單一基因融合中結合。AFFIMER XT[™]亦可用於延長其他肽或蛋白質治療之半衰期。

【0111】 術語半衰期係指對於諸如治療AFFIMER[®]多肽之物質失去其一半藥理學或生理活性或濃度所花費之時間量。生物半衰期可受物質之消除、排泄、降解(例如酶促降解)或體內某些器官或組織中之吸收及濃度影響。生物半衰期可例如藉由測定物質之血漿濃度達至其穩態水準一半所花費之時間(「血漿半衰期」)來評估。

【0112】 在一些實施例中，抗HSA AFFIMER[®]多肽活體內延長分子(例如治療多肽)之血清半衰期。舉例而言，相對於不連接至抗HSA AFFIMER[®]多肽之分子之半衰期，抗HSA AFFIMER[®]多肽可使分子之半衰期延長至少2倍。在一些實施例中，相對於不連接至抗HSA AFFIMER[®]多肽之分子之半衰期，抗HSA AFFIMER[®]多肽使分子之半衰期延長至少3倍、至少4倍、至少5倍、至少6倍、至少7倍、至少8倍、至少9倍、至少10倍、至少20倍或至少30倍。在一些實施例中，相對於不連接至抗HSA AFFIMER[®]多肽之分子之半衰期，抗HSA AFFIMER[®]多肽使分子之半衰期延長2倍至5倍、2倍至10倍、3倍至5倍、3倍至10倍、15倍至5倍、4倍至10倍或5倍至10倍。在一些實施例中，相對於不連接至抗HSA AFFIMER[®]多肽之分子之半衰期，抗HSA AFFIMER[®]多肽使分子之半衰

期延長至少6小時、至少12小時、至少24小時、至少48小時、至少72小時、至少96小時，例如在活體內投與之後至少1週。

【0113】 在一些實施例中，抗HSA AFFIMER®多肽具有延長的血清半衰期且包含選自SEQ ID NO: 117-127中之任一者之胺基酸序列(表3)。

表3. 半衰期延長串聯融合AFFIMER®多肽序列之實例

序列	SEQ ID NO:
MIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVL <u>AKEHGPDSWW</u> STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP <u>OEKNQWVEE</u> ADRVLTGYQVDKNKDDELTGFGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGG SGGGSMIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQ YKTQVL <u>NFFQRRWPG</u> STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP <u>WKFR</u> <u>NTDRG</u> ADRVLTGYQVDKNKDDELTGF	117
MIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVL <u>AKEHGPDSWW</u> STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP <u>OEKNQWVEE</u> ADRVLTGYQVDKNKDDELTGFAEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAA AKEAAKMIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAV QYKTQVL <u>NFFQRRWPG</u> STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP <u>WKFR</u> <u>RNTDRG</u> ADRVLTGYQVDKNKDDELTGF	118
MIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVL <u>AHAYGPRDWD</u> STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP <u>PADHVLEEA</u> DRVLTGYQVDKNKDDELTGFGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGG GGGGSMIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQY KTQVL <u>NFFQRRWPG</u> STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP <u>WKFRN</u> <u>TDRG</u> ADRVLTGYQVDKNKDDELTGF	119
MIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVL <u>AHAYGPRDWD</u> STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP <u>PADHVLEEA</u> DRVLTGYQVDKNKDDELTGFAEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAA KEAAKMIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQ YKTQVL <u>NFFQRRWPG</u> STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP <u>WKFR</u> <u>NTDRG</u> ADRVLTGYQVDKNKDDELTGF	120
MIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVL <u>AKEYGPEEWW</u> STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP <u>GDYEQVLIHA</u> DRVLTGYQVDKNKDDELTGFGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGG GGGGSMIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQY KTQVL <u>NFFQRRWPG</u> STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP <u>WKFRN</u> <u>TDRG</u> ADRVLTGYQVDKNKDDELTGF	121
MIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVL	122

序列	SEQ ID NO:
<u>AKEYGPEEW</u> STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP <u>GDYEQVLIHA</u> DRVLTGYQVDKNKDDELTGFAEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAA KEAAAKMIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQ YKTQVL <u>ANFFQRRWPG</u> STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP <u>WKFR</u> <u>NTDRG</u> ADRVLTGYQVDKNKDDELTGF	
MIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVL <u>AREGRODWVL</u> STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP <u>WVPFPHQQLA</u> DRVLTGYQVDKNKDDELTGFAEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAA KEAAAKMIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQ YKTQVL <u>AREGRODWVL</u> STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP <u>WVPF</u> <u>PHQQL</u> ADRVLTGYQVDKNKDDELTGFAEAAAKEAAAKEAAAKEAA AKEAAAKEAAAKMIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYG KLEAVQYKTQVL <u>ANFFQRRWPG</u> STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNG <u>PWKFRNTDRG</u> ADRVLTGYQVDKNKDDELTGF	123
MIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVL <u>AREGRODWVL</u> STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP <u>WVPFPHQQLA</u> DRVLTGYQVDKNKDDELTGFAEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAA KEAAAKMIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQ YKTQVL <u>ANFFQRRWPG</u> STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP <u>WKFR</u> <u>NTDRG</u> ADRVLTGYQVDKNKDDELTGFAEAAAKEAAAKEAAAKEAA AKEAAAKEAAAKMIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYG KLEAVQYKTQVL <u>AREGRODWVL</u> STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFN GP <u>WVPFPHQQL</u> ADRVLTGYQVDKNKDDELTGF	124
MIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVL <u>ANFFQRRWPG</u> STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP <u>PWKFRNTDRGA</u> DRVLTGYQVDKNKDDELTGFAEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAA KEAAAKMIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQ YKTQVL <u>AREGRODWVL</u> STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP <u>WVPF</u> <u>PHQQL</u> ADRVLTGYQVDKNKDDELTGFAEAAAKEAAAKEAAAKEAA AKEAAAKEAAAKMIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYG KLEAVQYKTQVL <u>AREGRODWVL</u> STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFN GP <u>WVPFPHQQL</u> ADRVLTGYQVDKNKDDELTGF	125
MIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVL <u>AREGRODWVL</u> STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP <u>WVPFPHQQLA</u> DRVLTGYQVDKNKDDELTGFAEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAA KEAAAKMIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQ YKTQVL <u>AREGRODWVL</u> STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP <u>WVPF</u> <u>PHQQL</u> ADRVLTGYQVDKNKDDELTGFAEAAAKEAAAKEAAAKEAA AKEAAAKEAAAKMIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYG KLEAVQYKTQVL <u>ANFFQRRWPG</u> STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNG <u>PWKFRNTDRG</u> ADRVLTGYQVDKNKDDELTGFC	126
MIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVL	127

序列	SEQ ID NO:
<u>AFALPEFEYM</u> STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP <u>PMIRRKNEV</u> ADRVLTGYQVDKNKDDELTGFAEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAKEAAKMIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVLA <u>AFALPEFEYM</u> STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP <u>PMIRRKNEV</u> ADRVLTGYQVDKNKDDELTGFAEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAKEAAKMIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVLA <u>NFFQRRWPG</u> STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP <u>WKFRNTDRG</u> ADRVLTGYQVDKNKDDELTGF	
MIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVLA <u>AGGGGGGGGG</u> STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP <u>GGGGGGGGGG</u> ADRVLTGYQVDKNKDDELTGFAEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAKEAAKMIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVLA <u>AGGGGGGGGG</u> STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP <u>GGGGGGGGGG</u> ADRVLTGYQVDKNKDDELTGFAEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAKEAAKMIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVLA <u>NFFQRRWPG</u> STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP <u>WKFRNTDRG</u> ADRVLTGYQVDKNKDDELTGF	128
MIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVLA <u>AREGRQDWVL</u> STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP <u>WVFPFHQQLA</u> DRVLTGYQVDKNKDDELTGFAEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAKEAAKMIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVLA <u>AREGRQDWVL</u> STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP <u>WVFPFHQQLA</u> ADRVLTGYQVDKNKDDELTGF	129
MIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVLA <u>AREGRQDWVL</u> STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP <u>WVFPFHQQLA</u> DRVLTGYQVDKNKDDELTGFAEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAKEAAKMIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVLA <u>AREGRQDWVL</u> STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP <u>WVFPFHQQLA</u> ADRVLTGYQVDKNKDDELTGFC	130
MIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVLA <u>NFFQRRWPG</u> STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP <u>WKFRNTDRGA</u> DRVLTGYQVDKNKDDELTGFAEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAKEAAKMIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVLA <u>NFFQRRWPG</u> STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP <u>WKFRNTDRG</u> ADRVLTGYQVDKNKDDELTGF	131
MIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVLA <u>NFFQRRWPG</u> STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP <u>WKFRNTDRGA</u> DRVLTGYQVDKNKDDELTGFGGGGGSGGGGGSGGGGGSGGGGGSGGGGGSGGGGSMIPRGLSEAKPATPEIQEIVDKVKPQLEEKTNETYGKLEAVQYKTQVLA <u>NFFQRRWPG</u> STNYYIKVRAGDNKYMHLKVFNGP <u>WKFRNTDRG</u> ADRVLTGYQVDKNKDDELTGF	132

【0114】 在一些實施例中，抗HSA AFFIMER®多肽包含與SEQ ID NO: 117-127中之任一者之胺基酸序列具有至少80%或至少90%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，抗HSA AFFIMER®多肽包含與SEQ ID NO: 117之胺基酸序列具有至少80%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，抗HSA AFFIMER®多肽包含與SEQ ID NO: 118之胺基酸序列具有至少80%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，抗HSA AFFIMER®多肽包含與SEQ ID NO: 119之胺基酸序列具有至少80%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，抗HSA AFFIMER®多肽包含與SEQ ID NO: 120之胺基酸序列具有至少80%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，抗HSA AFFIMER®多肽包含與SEQ ID NO: 121之胺基酸序列具有至少80%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，抗HSA AFFIMER®多肽包含與SEQ ID NO: 122之胺基酸序列具有至少80%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，抗HSA AFFIMER®多肽包含與SEQ ID NO: 123之胺基酸序列具有至少80%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，抗HSA AFFIMER®多肽包含與SEQ ID NO: 124之胺基酸序列具有至少80%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，抗HSA AFFIMER®多肽包含與SEQ ID NO: 125之胺基酸序列具有至少80%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，抗HSA AFFIMER®多肽包含與SEQ ID NO: 126之胺基酸序列具有至少80%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，抗HSA AFFIMER®多肽包含與SEQ ID NO: 127之胺基酸序列具有至少80%一致性之胺基酸序列。

【0115】 在一些實施例中，抗HSA AFFIMER®多肽包含與SEQ ID NO: 117之胺基酸序列具有至少90%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，抗HSA AFFIMER®多肽包含與SEQ ID NO: 118之胺基酸序列具有至

少90%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，抗HSA AFFIMER®多肽包含與SEQ ID NO: 119之胺基酸序列具有至少90%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，抗HSA AFFIMER®多肽包含與SEQ ID NO: 120之胺基酸序列具有至少90%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，抗HSA AFFIMER®多肽包含與SEQ ID NO: 121之胺基酸序列具有至少90%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，抗HSA AFFIMER®多肽包含與SEQ ID NO: 122之胺基酸序列具有至少90%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，抗HSA AFFIMER®多肽包含與SEQ ID NO: 123之胺基酸序列具有至少90%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，抗HSA AFFIMER®多肽包含與SEQ ID NO: 124之胺基酸序列具有至少90%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，抗HSA AFFIMER®多肽包含與SEQ ID NO: 125之胺基酸序列具有至少90%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，抗HSA AFFIMER®多肽包含與SEQ ID NO: 126之胺基酸序列具有至少90%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，抗HSA AFFIMER®多肽包含與SEQ ID NO: 127之胺基酸序列具有至少90%一致性之胺基酸序列。

【0116】 在一些實施例中，抗HSA AFFIMER®多肽包含與SEQ ID NO: 117-127中之任一者之胺基酸序列具有80%至90%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，抗HSA AFFIMER®多肽包含SEQ ID NO: 117-127中之任一者之胺基酸序列。在一些實施例中，抗HSA AFFIMER®多肽包含與SEQ ID NO: 117之胺基酸序列具有80%至90%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，抗HSA AFFIMER®多肽包含與SEQ ID NO: 118之胺基酸序列具有80%至90%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，抗HSA AFFIMER®多肽包含與SEQ ID NO: 119之胺基酸序列具有80%至90%一

致性之胺基酸序列。在一些實施例中，抗HSA AFFIMER®多肽包含與SEQ ID NO: 120之胺基酸序列具有80%至90%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，抗HSA AFFIMER®多肽包含與SEQ ID NO: 121之胺基酸序列具有80%至90%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，抗HSA AFFIMER®多肽包含與SEQ ID NO: 122之胺基酸序列具有80%至90%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，抗HSA AFFIMER®多肽包含與SEQ ID NO: 123之胺基酸序列具有80%至90%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，抗HSA AFFIMER®多肽包含與SEQ ID NO: 124之胺基酸序列具有80%至90%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，抗HSA AFFIMER®多肽包含與SEQ ID NO: 125之胺基酸序列具有80%至90%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，抗HSA AFFIMER®多肽包含與SEQ ID NO: 126之胺基酸序列具有80%至90%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，抗HSA AFFIMER®多肽包含與SEQ ID NO: 127之胺基酸序列具有80%至90%一致性之胺基酸序列。

Fc域

【0117】 在一些實施例中，半衰期延長部分包含抗體Fc域。術語「Fc域」包括抗體Fc域之功能片段。治療結合物可包含例如經由FAP-可裂解連接子(在本文中亦稱為「Fc融合物」)連接至治療部分之抗體之Fc區(其促進效應功能及藥物動力學)。在一些實施例中，Fc融合物可經二聚以形成Fc融合物均二聚體，或使用非一致Fc域以形成Fc融合物雜二聚體。

【0118】 存在若干個選擇人類抗體之Fc域用於產生本發明之治療結合物之原因。基本原理為產生穩定蛋白質，其足夠大以展現與抗體相比類似之藥物動力學概況；及利用由Fc域賦予之特性；此包括涉及以下之救助

新生FcRn受體路徑：內飲作用後FcRn介導之Fc融合物再循環至細胞表面，避免溶酶體降解及引起釋放回血流中，因此有助於延長血清半衰期。另一明顯益處為Fc域結合至蛋白質A，此可簡化治療結合物產生期間之下游加工且允許治療結合物之高度純之製劑的產生。

【0119】 在一些實施例中，Fc域包括抗體之恆定區，不包括第一恆定區免疫球蛋白域。因此，Fc域係指IgA、IgD及IgG之最後兩個恆定區免疫球蛋白域，以及IgE及IgM之最後三個恆定區免疫球蛋白域，以及此等域之N端柔性鉸鏈。對於IgA及IgM，Fc可包括J鏈。對於IgG，Fc包含免疫球蛋白域Oy2及Cy3以及Oy1與Oy2之間的鉸鏈。儘管Fc域之邊界可能有所不同，但人類IgG重鏈Fc區通常定義為包含殘基C226或P230至其羧基末端，其中編號係根據如Kabat中所闡述之EU索引(Kabat等人, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 第5版, Public Health Service, NIH, Bethesda, Md. (1991))。Fc可指單獨此區域或在完全抗體、抗體片段或Fc融合蛋白之情形下的此區域。已在許多不同Fc位置處觀測到多形現象且亦包括作為如本文所用之Fc域。

【0120】 Fc域包括抗體Fc域之功能片段。功能性Fc片段保持結合FcRn之能力。功能性Fc片段結合至FcRn但不具有效應功能。Fc區或其片段與FcRn結合之能力可藉由此項技術中已知之標準結合分析來測定。例示性效應功能包括C1q結合；補體依賴性細胞毒性(CDC)；Fc受體結合；抗體依賴性細胞介導之細胞毒性(ADCC)；吞噬作用；以及細胞表面受體(例如B細胞受體；BCR)之下調。此類效應功能可使用此項技術中已知之用於評估此類抗體效應功能之各種分析法評估。

【0121】 在一例示性實施例中，Fc域衍生自IgG1子類，然而，亦可

使用其他子類(例如IgG2、IgG3及IgG4)。在一些實施例中，Fc域衍生自IgG1子類且進一步包含LALA突變。

【0122】 Fc域、功能性Fc片段及特定序列之其他非限制性實例提供於WO 2019/236567中，其以引用之方式併入本文中。

生物相容性聚合物

【0123】 廣泛多種生物相容性大分子聚合物及其他分子可用作半衰期延長部分。聚合物之分子量可具有廣泛範圍，包括(但不限於)約100 Da與約100,000 Da或更大之間。聚合物之分子量可在約100 Da與約100,000 Da之間，包括(但不限於)：100,000 Da、95,000 Da、90,000 Da、85,000 Da、80,000 Da、75,000 Da、70,000 Da、65,000 Da、60,000 Da、55,000 Da、50,000 Da、45,000 Da、40,000 Da、35,000 Da、30,000 Da、25,000 Da、20,000 Da、15,000 Da、10,000 Da、9,000 Da、8,000 Da、7,000 Da、6,000 Da、5,000 Da、4,000 Da、3,000 Da、2,000 Da、1,000 Da、900 Da、800 Da、700 Da、600 Da、500 Da、400 Da、300 Da、200 Da及100 Da。在一些實施例中，聚合物之分子量在約100 Da與約50,000 Da之間。在一些實施例中，聚合物之分子量在約100 Da與約40,000 Da之間。在一些實施例中，聚合物之分子量在約1,000 Da與約40,000 Da之間。在一些實施例中，聚合物之分子量在約5,000 Da與約40,000 Da之間。在一些實施例中，聚合物之分子量在約10,000 Da與約40,000 Da之間。

【0124】 出於半衰期延長之目的，已研發出多種方法，包括聚乙二醇化、聚唾液酸化、羥乙基澱粉化、糖基化或與柔性及親水性胺基酸鏈(500至600個胺基酸)融合之重組PEG類似物(參見Chapman, (2002) *Adv*

Drug Deliv Rev. 54. 531-545 ; Schlapschy等人, (2007) *Prot Eng Des Sel.* 20, 273-283 ; Contermann (2011) *Curr Op Biotechnol.* 22, 868-876 ; Jevsevar等人, (2012) *Methods Mol Biol.* 901, 233- 246)。

【0125】 可用作半衰期延長部分之生物相容性聚合物之實例包括(但不限於)：聚烷基醚及其烷氧基封端類似物(例如聚氧乙二醇、聚氧乙烯/丙二醇及其甲氧基或乙氧基封端類似物，尤其聚氧乙二醇，後者亦稱為聚乙二醇或PEG)；離散PEG (dPEG)；聚乙烯吡咯啉酮；聚烷基醚；聚噁唑啉、聚烷基噁唑啉及聚羥烷基噁唑啉；聚丙稀醯胺、聚烷基丙稀醯胺及聚羥烷基丙稀醯胺(例如聚羥丙基甲基丙稀醯胺及其衍生物)；聚羥烷基丙稀酸酯；聚唾液酸及其類似物；親水性肽序列；多醣及其衍生物，包括聚葡萄糖及聚葡萄糖衍生物，例如羧基甲基聚葡萄糖、硫酸聚葡萄糖、胺基聚葡萄糖；纖維素及其衍生物，例如羧甲基纖維素、羥烷基纖維素；甲殼素及其衍生物，例如聚葡萄糖胺糖、丁二醯聚葡萄糖胺糖、羧甲基甲殼素、羧甲基聚葡萄糖胺糖；玻尿酸及其衍生物；澱粉；海藻酸鹽；硫酸軟骨素；白蛋白；普魯蘭(pullulan)及羧甲基普魯蘭；聚胺基酸及其衍生物，例如聚麩胺酸、聚離胺酸、聚天冬胺酸、聚天冬醯胺；順丁烯二酸酐共聚物，諸如：苯乙烯順丁烯二酸酐共聚物、二乙烯基乙基醚順丁烯二酸酐共聚物；聚乙醇；其共聚物；其三元共聚物；其混合物；及前述各者之衍生物。

【0126】 所選聚合物可為水溶性的，使得其之治療結合物為在水性環境，諸如生理環境中不沈澱之組分。水溶性聚合物可為任何結構形式，包括(但不限於)線性、叉狀或分支形。在一些實施例中，水溶性聚合物為聚(烷二醇)，諸如聚(乙二醇) (PEG)，但亦可使用其他水溶性聚合物。舉

例而言，在本發明之一些實施例中使用PEG，其限制條件為所選擇之特定PEG之特性延長根據本發明之治療結合物之循環血清半衰期。

【0127】 在一些實施例中，生物相容性聚合物係選自由聚(乙二醇)、羥乙基澱粉、XTEN及脯胺酸-丙胺酸-絲胺酸聚合物組成之群。

【0128】 聚合物之其他非限制性實例提供於WO 2019/236567中，其以引用之方式併入本文中。

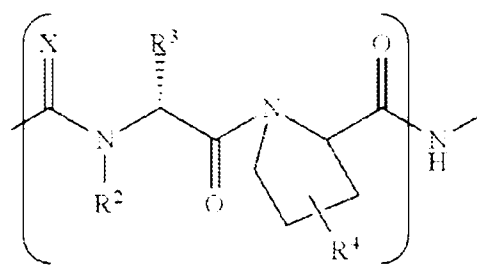
纖維母細胞活化蛋白， α (FAP α)-可裂解連接子

【0129】 在一些實施例中，治療結合物包含纖維母細胞活化蛋白 α (FAP α)-可裂解連接子，其將半衰期延長部分連接至治療部分。FAP α ，即II型跨膜絲胺酸蛋白酶為表現於受質纖維母細胞中之腫瘤相關抗原(Chai等人, *Acta Pharmacologica Sinica*, 2018, 39: 415-424)。FAP α 之表現幾乎完全受限於腫瘤塊，因為其在正常健康成人組織中幾乎不可偵測。纖維母細胞在腫瘤微環境中經歷形態轉化，該腫瘤微環境之特徵在於與腫瘤等級無關之FAP表現實質性增加(Henry等人, *Clin Cancer Res*, 2007, 13(6): 1736)。

【0130】 FAP為DASH家族之脯胺酸後裂解酶，其在脯胺酸殘基之後選擇性裂解肽受質。不希望受理論所束縛，認為在治療結合物中包括FAP α -可裂解連接子將允許治療部分保持無活性直至治療結合物接近FAP α 為止，此時，FAP α 裂解連接子，活化治療部分。由於FAP α 存在於腫瘤組織中且不存在於健康組織中，因此治療部分將主要接近腫瘤組織/在腫瘤組織內活化。

【0131】 在一些實施例中，連接子包含可藉由FAP α 裂解之受質識別序列(SRS)。舉例而言，在一些實施例中，SRS藉由FAP α 裂解且由下式

表示：



其中，R²表示H或(C₁-C₆)烷基，例如為H；R³表示H或(C₁-C₆)烷基，例如為甲基、乙基、丙基或異丙基；R⁴不存在或表示(C₁-C₆)烷基、-OH、-NH₂或鹵素；X表示O或S；且NH表示胺，若L²為自分解型連接子，則其為L²之一部分，若L²為一鍵，則其為治療部分之一部分。

【0132】 在一些實施例中，FAP α -可裂解連接子或SRS由以下表示：

[illegible]

R^2 為氫或 (C_1-C_6) 烷基。在一些實施例中， R^2 為氫。

R^3 為氫或分支鏈或直鏈低碳數烷基，例如甲基之低碳數烷基。若(d)為胺基酸側鏈，則 R^3 不為氫。

R^4 為分支鏈或直鏈低碳數烷氧基，諸如羥甲基(例如絲胺酸)或1-羥乙基(例如蘇胺酸)。在一個實施例中， R^4 為羥甲基。

X^1 為O或S。

X^2 為O或S。

【0133】 在一些實施例中，FAP α -可裂解連接子或SRS包含第三胺基位置(例如N端至(d)-Ala)。在一些實施例中，來自裂解位點之此位置P3為絲胺酸。在一些實施例中，其為蘇胺酸。

【0134】 在一些實施例中，連接子包含可藉由FAP α 裂解之受質識別序列(SRS)，諸如D-Ala-Pro。在一些實施例中，可藉由FAP α 裂解之SRS序列為PPGP (SEQ ID NO: 136)、(D/E)-(R/K)-G-(E/D)-(T/S)-G-P (SEQ ID NO: 137)、DRGETGP (SEQ ID NO: 138)、GPAX (SEQ ID NO: 139) (其中X為任何胺基酸) (Aggarwal等人, *Biochemistry*. 2008; 47(3): 1076-1086 ; Ji等人, *Angew Chem Int Ed Engl*. 2016; 55(3):1050-1055)。

間隔基

【0135】 在一些實施例中，治療結合物包含半衰期延長部分與可藉由FAP α 裂解之受質識別序列(SRS)之間の間隔基或鏈(L^1)。

【0136】 間隔基可為任何分子，例如一或多個核苷酸、胺基酸、化學官能基。在一些實施例中，間隔基為肽連接子(例如兩個或更多個胺基酸)。間隔基不應不利地影響多肽之表現、分泌或生物活性。在一些實施例中，間隔基無抗原性且不引起免疫反應。免疫反應包括來自先天性免疫系統及/或後天性免疫系統之反應。因此，免疫反應可為細胞介導反應及/

或體液免疫反應。免疫反應可為例如T細胞反應、B細胞反應、自然殺手(NK)細胞反應、單核球反應及/或巨噬細胞反應。本文涵蓋其他細胞反應。在一些實施例中，連接子為非蛋白質編碼的。

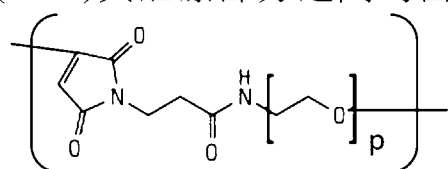
【0137】 在一些實施例中， L^1 為烴(直鏈或環狀)，諸如6-順丁烯二醯亞胺基己醯基、順丁烯二醯亞胺基丙醯基及順丁烯二醯亞胺基乙基環己烷-1-甲酸酯，或 L^1 為N-丁二醯亞胺基4-(2-吡啶基硫基)戊酸酯、N-丁二醯亞胺基4-(N-順丁烯二醯亞胺基甲基)環己烷-1甲酸酯、N-丁二醯亞胺基(4-碘-乙醯基)胺基苯甲酸酯。

【0138】 在一些實施例中， L^1 為聚醚，諸如聚(乙二醇)或其他親水性連接子。舉例而言，在CBM包括硫醇(諸如半胱胺酸殘基)之情況下， L^1 可為經由順丁烯二醯亞胺部分偶合至硫醇基之聚乙二醇。

【0139】 根據本發明使用之連接子之非限制性實例描述於2019年12月12日公佈之國際公開案第WO 2019/236567號中，其以引用之方式併入本文中。

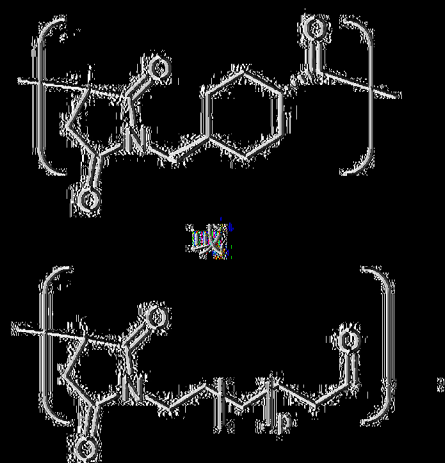
自分解型連接子

【0140】 在一些實施例中，治療結合物包含針對FAP α 之受質識別序列(SRS)與治療部分之間的自分解型連接子(L^2)，諸如下式中所表示：



其中， p 表示1至100、較佳6至50、更佳6至12之整數。

【0141】 在其他實施例中，在CBM包括硫醇且 L^1 為經由順丁烯二醯亞胺部分偶合至硫醇基之烴部分之情況下， L^1 可如下式中所表示：



其中，p表示1至20、較佳1至4之整數。

〔0142〕 自分解型部分可定義為能夠使兩個間隔開之化學部分共同共價鍵聯至正常穩定分子、藉助於酶促裂解自分子釋放間隔開之化學部分中之一者的雙官能化學基團；及在酶促裂解之後，自發地自雙官能化學基團之剩餘部分裂解以釋放該間隔開之化學部分之另一者。因此，在一些實施例中，自分解型部分在其末端中之一者處藉由醯胺鍵直接或間接經由間隔基單元共價連接至配位體且在其另一端共價連接至側接治療部分之化學反應性位點(官能基)。用自分解型部分使治療部分衍生可使藥物具有較低藥理學活性(例如毒性較小)或完全不具有活性，直至藥物裂解。

〔0143〕 治療結合物一般在循環中穩定，或至少在不存在能夠使受質識別序列(FAPα)可裂解連接子)與自分解型部分之間的醯胺鍵裂解的酶下應如此。在治療結合物暴露至適合的酶(FAPα)時，醯胺鍵裂解，引發自發的自分解型反應從而引起共價連接自分解型部分至治療部分之鍵的裂解，藉此影響游離治療部分以其未衍生化或藥理學活性形式釋放。結合物中之自分解型部分併有一或多個雜原子且藉此提供改進之溶解性，提高裂解速率且減小結合物聚集之傾向。

〔0144〕 在一些實施例中， L^2 為苯甲基氨基羰基。在其他實施例中，自分解型連接子 L^2 為 $-NH-(CH_2)_4-C(=O)-$ 或 $-NH-(CH_2)_3-C(=O)-$ 。在

第 58 頁(發明說明書)

其他實施例中，自分解型連接子 L^2 為p-胺基苯甲氧基羰基(PABC)。在其他實施例中，自分解型連接子 L^2 為2,4-雙(羥甲基)苯胺。

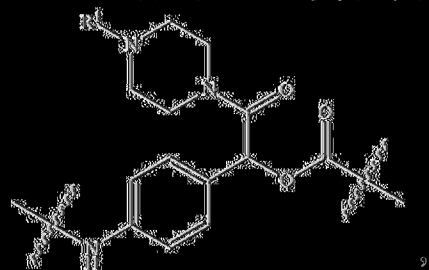
【0145】 本發明之治療結合物可採用共價連接至治療部分及可裂解受質識別序列之雜環自分解型部分。自分解型部分可定義為能夠將兩個間隔開之化學部分共同共價連接至通常穩定分子的雙官能化學基團，藉助於酶促裂解自該分子釋放該等間隔開之化學部分中之一者，以及在該酶促裂解之後，自雙官能化學基團之剩餘部分自然地裂解，從而釋放該等間隔開之化學部分中之另一者。根據本發明，該自分解型部分在其末端中之一端可直接或間接經由間隔基單元藉由醯胺鍵共價連接至配位體，且在其另一端共價連接至側接藥物之化學反應位點(官能基)。用自分解型部分使治療部分衍生可使藥物具有較低藥理學活性(例如毒性較小)或完全不具有活性，直至藥物裂解。

【0146】 治療結合物一般在循環中穩定，或至少在不存在能夠使受質識別序列與自分解型部分之間的醯胺鍵裂解的酶下應如此。然而，在治療結合物暴露至適合的酶時，醯胺鍵裂解，引發自發的自分解型反應從而引起共價連接自分解型部分至藥物之鍵的裂解，藉此影響游離治療部分以其未衍生化或藥理學活性形式釋放。

【0147】 在一些實施例中，本發明之結合物中之自分解型部分併入一或多個雜原子且藉此提供改進之溶解性，提高裂解速率且減少結合物聚集之傾向。本發明之雜環自分解型連接子構築體優於非雜環PAB型連接子之此等提高可產生出人意料及意外之生物特性，諸如增加之功效、減少之毒性及更合乎需要之藥物動力學。

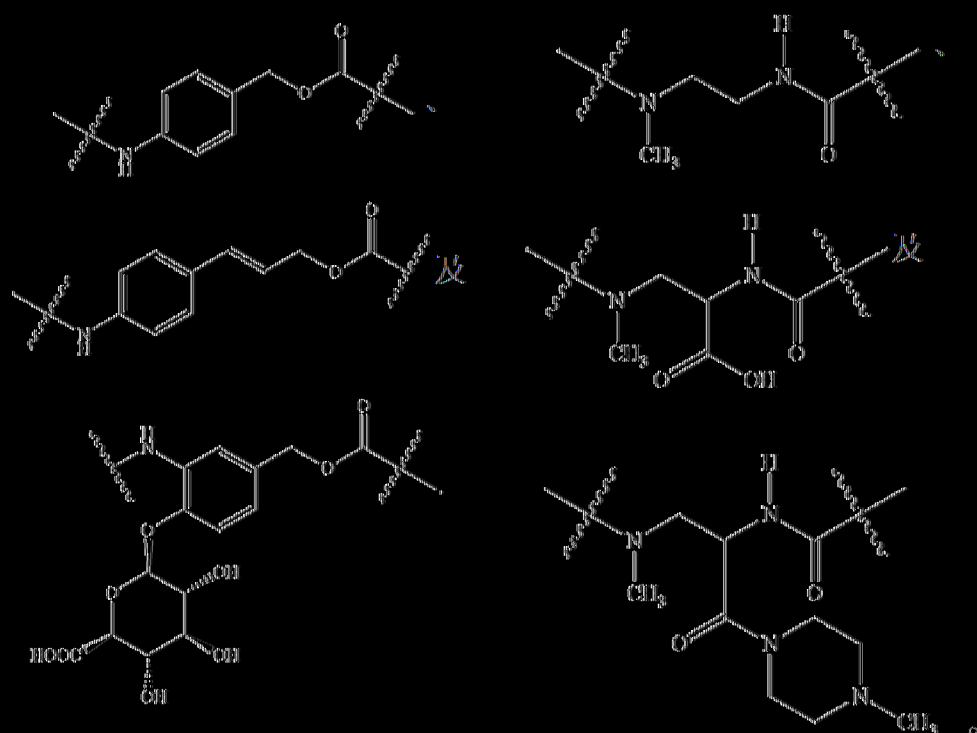
【0148】 在一些實施例中， L^2 為苯甲氧羰基。

[0149] 在一些實施例中， L^2 為



其中 R^1 為氫，未經取代或經取代之 C_{1-3} 烷基，或未經取代或經取代之雜環基。在一些實施例中， R^1 為氫。在某些情況下， R^1 為甲基。

[0150] 在一些實施例中， L^2 係選自



[0151] 在一些實施例中，自分解型部分 L_2 係選自



其中

U為O、S或 NR^6 ；

Q為 CR^4 或N；

V^1 、 V^2 及 V^3 獨立地為 CR^4 或N，其限制條件為對於式II及式III，Q、 V^1 及 V^2 中之至少一者為N；

T為側接該治療部分之NH、 NR^6 、O或S；

R^1 、 R^2 、 R^3 及 R^4 獨立地選自H、F、Cl、Br、I、OH、 $-N(R^5)_2$ 、 $-N(R^5)_3^+$ 、 C_1 - C_8 烷基鹵、羧酸根、硫酸根、胺基磺酸根、磺酸根、 $-SO_2R^5$ 、 $-S(=O)R^5$ 、 $-SR^5$ 、 $-SO_2N(R^5)_2$ 、 $-C(=O)R^5$ 、 $-CO_2R^5$ 、 $-C(=O)N(R^5)_2$ 、 $-CN$ 、 $-N_3$ 、 $-NO_2$ 、 C_1 - C_8 烷氧基、經鹵基取代之 C_1 - C_8 烷基、聚伸乙基氧基、膦酸根、磷酸根、 C_1 - C_8 烷基、 C_1 - C_8 經取代之烷基、 C_2 - C_8 烯基、 C_2 - C_8 經取代之烯基、 C_2 - C_8 炔基、 C_2 - C_8 經取代之炔基、 C_6 - C_{20} 芳基、 C_6 - C_{20} 經取代之芳基、 C_1 - C_{20} 雜環及 C_1 - C_{20} 經取代之雜環；或在連在一起時， R^2 與 R^3 形成羰基($=O$)或具有3至7個碳原子之螺碳環；以及

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

其中 C_1 - C_8 經取代之烷基、 C_2 - C_8 經取代之烯基、 C_2 - C_8 經取代之炔基、 C_6 - C_{20} 經取代之芳基及 C_2 - C_{20} 經取代之雜環獨立地經一或多個選自以下之取代基取代：F、Cl、Br、I、OH、 $-N(R^5)_2$ 、 $-N(R^5)_3^+$ 、 C_1 - C_8 烷基鹵、羧酸根、硫酸根、胺基磺酸根、磺酸根、 C_1 - C_8 烷基磺酸根、 C_1 - C_8 烷胺基、4-二烷胺基吡錠、 C_1 - C_8 烷羥基、 C_1 - C_8 烷基硫醇、 $-SO_2R^5$ 、 $-S(=O)R^5$ 、 $-SR^5$ 、 $-SO_2N(R^5)_2$ 、 $-C(=O)R^5$ 、 $-CO_2R^5$ 、 $-C(=O)N(R^5)_2$ 、 $-CN$ 、 $-N_3$ 、 $-NO_2$ 、 C_1 - C_8 烷氧基、 C_1 - C_8 三氟烷基、 C_1 - C_8 烷基、 C_3 - C_{12} 碳環、 C_6 - C_{20} 芳基、 C_2 - C_{20} 雜環、聚伸乙基氧基、膦酸根及磷酸根。

【0152】 應理解當T為NH時，其衍生自側接治療部分之一級胺(-

NH₂) (在偶合至該自分解型部分前)，且當T為N時，其衍生自側接治療部分之二級胺(-NH-) (在偶合至該自我分解型部分前)。類似地，當T為O或S時，其衍生自分別在偶合至該自分解型部分前側接治療部分之羥基(-OH)或硫氫基(-SH)。

【0153】 在一些實施例中，自分解型連接子L²為-NH-(CH₂)₄-C(=O)-或-NH-(CH₂)₃-C(=O)-。

【0154】 在一些實施例中，自分解型連接子L²為p-胺基苯甲氧基羰基(PABC)。

【0155】 在一些實施例中，自分解型連接子L²為2,4-雙(羥甲基)苯胺。

【0156】 容易適用於本文所描述之治療結合物中之自分解型連接子之其他實例教示於例如美國專利7,754,681；WO 2012/074693A1；US 9,089,614；EP 1,732,607；WO 2015/038426A1 (其全部以引用之方式併入)；Walther等人「Prodrugs in medicinal chemistry and enzyme prodrug therapies」*Adv Drug Deliv Rev.* 2017年9月1日; 118:65-77；及Tranoy-Opalinski等人「Design of self-immolative linkers for tumour-activated prodrug therapy」, *Anticancer Agents Med Chem.* 2008年8月;8(6):618-37；其中每一者之教示內容以引用之方式併入本文中。

【0157】 根據本發明使用之自分解型連接子之又其他非限制性實例描述於2019年12月12日公佈之國際公開案第WO 2019/236567號中，其以引用之方式併入本文中。

治療部分

【0158】 在一些實施例中，治療部分(-TM)為免疫誘導劑，諸如誘

發導致先天性及/或適應性免疫反應活化之發炎的藥劑。

【0159】 在一些實施例中，治療部分(-TM)為細胞毒性劑，亦即，其當自治療結合物釋放時在投與治療結合物之濃度下引起目標細胞之細胞死亡。

【0160】 在一些實施例中，治療部分(-TM)為細胞生長抑制劑，亦即，其在自治療結合物釋放時在投與治療結合物之濃度下引起目標細胞之有絲分裂停滯或靜止。

【0161】 在一些實施例中，治療部分(-TM)為表觀遺傳劑，亦即，其在自治療結合物釋放時，引起目標細胞在投與治療結合物之濃度下之表觀遺傳改變，此可例如引起細胞分化(或去分化)成另一細胞表型。

【0162】 在一些實施例中，治療部分係由以下通式表示：



其中RBM為受體結合部分，Z為細胞毒性、細胞生長抑制或表觀遺傳部分或含有放射性同位素之部分，且p為0 (Z不存在)或1至8之整數。在一些實施例中，p為1。

【0163】 在一些實施例中，治療部分係由以下通式表示：



其中RBM為受體結合部分，Z為細胞毒性、細胞生長抑制或表觀遺傳部分或含有放射性同位素之部分，且L³為一鍵或可裂解或不可裂解連接子。舉例而言，L³可為酸不穩定或酶敏感之連接子(諸如包括組織蛋白酶裂解位點)，使得Z視受體結合部分RBM而定經由細胞結合在部分-RBM-L³-Z之內化時胞內釋放。

【0164】 為進一步說明，受體結合部分(RBM)可為受體之配位體，

諸如當自治療結合物釋放時能夠結合至細胞表面受體之胞外配位體結合域之配位體。例示性受體配位體包括生長抑制素、膽囊收縮素-2 (CCK2)、葉酸(folate/folic acid)、鈴蟾素、釋放胃泌素之肽、降鈣素、催產素、EGF、 α -黑色素細胞刺激激素、微胃泌素、神經調壓素、P物質、類升糖素肽1、神經肽Y及彼等配位體之類似物。受體配位體自身可具有藥理學活性或自身具有，或可用於將結合治療部分(例如藥物部分)、毒素或放射性同位素遞送至(且較佳遞送至)表現受體之細胞。

【0165】 額外實例包括其中受體結合部分為配合基或選自由以下組成之群的受體促效劑之實施例：葉酸衍生物(結合至葉酸受體及在卵巢癌及其他惡性病中過度表現之蛋白質) (Low, PS等人2008, *acc. chem. res.*41, 120-9)；麩胺酸脲衍生物(結合至前列腺特異性膜抗原，用於前列腺癌細胞之表面標記) (Hillier, SM等人, 2009, *Cancer res.*69, 6932-40)；生長抑素(亦稱為生長激素抑制激素(GHIH)或生長激素釋放抑制因子(SRIF)或生長激素釋放抑制激素)及其同系物，諸如奧曲肽(octreotide) (善寧(Sandostatin))及蘭瑞肽(lanreotide) (索嗎特啉(Somatuline)) (特定言之對於神經內分泌腫瘤、GH產生垂體腺瘤、副神經節瘤、非功能性垂體腺瘤、嗜鉻細胞瘤(pheochromocytomas) (Ginj, M.,等人, 2006, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 103,16436-41)，以下腫瘤中之生長抑素受體亞型(sst1、sst2、sst3、sst4及sst5)、GH分泌垂體腺瘤(Reubi JC, L及olt, AM1984J. *Clin. Endocrinol Metab* 59: 1148-51；Re JC, L及olt AM 1987 *Clin. Endocrinol Metab* 65: 65. C.73；Moyse E,等人, *J Clin Endocrinol Metab* 61: 98-103)、胃腸胰臟腫瘤(Reubi JC,等人, 1987J *Clin Endocrinol Metab* 65: 1127-34；Reubi, J.C,等人, 1990Cancer Res 50: 5969-77)、嗜鉻細胞

瘤(Epel-baum J,等人, 1995J Clin Endocrinol Metab80: 1837-44 ; Reubi J C,等人, 1992J Clin Endocrinol Metab 74: 1082-9)、神經母細胞瘤(Prevost G,1996 neoendocrinology 63: 188) 197 ; Mortel, Mill.L,等人, 1994 Amob J P102: 752-752)、甲狀腺髓性癌(Reubi, J.C,等人, 1991Lab 64: 7J, 1987J, 1987, 等人, 1987J, 1987J); 針對大腸癌之小鼠結腸受體、小鼠結腸受體、小鼠結腸受體、小鼠結腸受體、小鼠結腸受體、小鼠結腸受體、小鼠結腸受體、小鼠; somatic體細胞亞型(CCK); 鈴蟾素 (Pyr-Gln-Arg-Leu-Gly-Asn-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-Met-NH₂) (SEQ ID NO: 143)或胃泌素釋放肽(GRP)及其受體子類(BB1 , GRP受體子類(BB2)、BB3及BB4) (Ohlsson, b.,等人, 1999, Sc and j.gastroenterology 34(12) 1224-9 ; weber, HC,2009, cur. opin. endocri. dib. obesity16(1): 66-71, Gonzalez N,等人, 2008, cur. opin. endocri. dib. obesity 15(1), 58-64); 神經調壓素受體及其受體亞型(NTR1 、NTR2 、NTR3); P物質受體及其受體亞型(例如針對膠質腫瘤之NK1受體 , Hennig I M, 等人1995int. J. cancer 61, 786-792); 神經肽Y (npy)受體及其受體亞型(Y1-Y6); 導向肽包括RGD (Arg-Gly-Asp)、NGR (Asn-Gly-Arg)、二聚及多聚環狀RGD 肽 (例如 cRGDfV) (Laakkonen P, Vuorine K.2010, Integr Biol (Camb). sub.2 (7-8): 326-337 ; ChenK, Chen X.2011, Theranostics.1: 189-200 ; Garanger E,等人, Anti-Cancer Agents Med. 7(5): 552-558 ; Kerr, JS等人, Anticancer Research,19(2A), 959-968 ; Thumshirn, G,等人, 2003Chem. Eur.J.9, 7-2725)及TAASGVRSMH (SEQ ID NO: 144)或LTLRWVGLMS (SEQ ID NO: 145) (硫酸軟骨素蛋白聚糖NG2受體)及針對細胞表面表現(RG受體)之F3 (核仁素受體結合肽)(胺基酸受體31、

BTE-Gly-26、WO 31、92-26、Biodamen K.31、Biodamen K.326；及 K.32, Biodamn. 31, Biodamn K.32；及K.32, Biodamn. 9, JP 31, 9, K, 9, K, 9, 第35號, 第20號, 第35號, No., proc.nat.acad.sci.usa 99(11), 7444-9)；細胞穿透肽(CPP) (Nakase I,等人, 2012, J.Control Release.159(2), 181-188)；肽激素，諸如促黃體生成激素釋放激素(LHRH)之促效劑及拮抗劑、促性腺激素釋放激素(GnRH)促效劑，藉由靶向促卵泡激素(FSH)及促黃體生成激素(LH)起作用以及睪固酮產生，諸如布舍瑞林(buserelin) (Pyr-His-Trp-Ser-Tyr-D-Ser (OtBu) -Leu-Arg-Pro-NHEt) (SEQ ID NO: 146)、高那瑞林(gonadorelin) (Pyr-His-Trp-Ser-Tyr-Gly-Leu-Arg-Pro-Gly-NH₂) (SEQ ID NO: 147)、戈舍瑞林(goserelin) (Pyr-His-Trp-Ser-Tyr-D-Ser (OtBu) -Leu-Arg-Pro-AzGly-NH₂) (SEQ ID NO: 148)、黑拉瑞林(Himallarelin) (Pyr-His-Trp-Ser-Tyr-D-His (N-Bn) -Leu-Arg-Pro-NHEt) (SEQ ID NO: 149)、亮丙立德(leuprolide) (Pyr-His-Trp-Ser-Tyr-D-Leu-Leu-Arg-Pro-NHEt) (SEQ ID NO: 150)、那法瑞林(nafarelin) (Pyr-His-Trp-Ser-Tyr-2 Nal-Leu-Arg-Pro-Gly-NH₂) (SEQ ID NO: 151)、曲普瑞林(Triptorelin) (Pyr-His-Trp-Ser-Tyr-D-Trp-Leu-Arg-Pro-Gly-NH₂) (SEQ ID NO: 152)、那法瑞林、托洛林(desloralin)、阿貝瑞林(Aberelin) (Ac-D-2Nal-D-4-氯Phe-D-3- (3-吡啶醇) Ala-Ser- (N-Me) Tyr-D-Asn-Leu-異丙基Lys-Pro-DAla-NH₂) (SEQ ID NO: 153)、西曲瑞克(Cetrorelix) (Ac-D-2Nal-D-4-氯-Phe-D-3- (3-吡啶醇) Ala-Ser-Tyr-D-Cit-Leu-Arg-Pro-D-Ala-NH₂) (SEQ ID NO: 154)、地加瑞克(degarelix) (Ac-D-2Nal-D-4-氯Phe-D-3- (3-吡啶醇) Ala-Ser-4-胺基Phe (L-羥基) -D-4-胺基Phe (胺甲醯基) -Leu-異丙基Lys-Pro-D-Ala-NH₂) (SEQ ID NO: 155)

及高良薑(galangal) (Ac-D-2Nal-D-4-氯Phe-D-3- (3-吡啶醇) Ala-Ser-Tyr-D- (N9, N10-二乙基) -高Arg-Leu- (N9, N10-二乙基) -高Arg-Pro-D-Ala-NH₂) (SEQ ID NO: 156) (Thundimadathil, J., J.Aminoacids in Urology3(3): 127-140 ; Debruyne, F.,2006, Future Oncology,2 (6); 677 696 ; Schally A.V; Nagy, A.1999Eur J Endocrinol 141: 1-14 ; Koppan M, 等人 1999 Protate 38: 151-158) ; 圖案識別受體(PRR)諸如鐸樣受體(TLR) , C型凝集素及結節狀受體(NLR) (Fukata, M.等人, 2009, Semin. 21, Immunol 242-253 ; Maisoneune euonymus, C.等人, 2014, J.Ach.56, J.56.56, J.2011., J.56, J.2011.56, J.2011, 19870, 19856, USA, 14, III, V.56, III, V.11, III. Short peptides, GRGDSPK (SEQ ID NO: 157)及環狀RGD五肽, 諸如環-(RGDfV) (SEQ ID NO: 160) (L1)及其衍生物(環-(-N (Me) R-GDfV) SEQ ID NO: 158)、環-(R-Sar-DfV) SEQ ID NO: 159)、環-(RG-N (Me) D-fV) SEQ ID NO: 176)、環(RGD-N (Me) fV) SEQ ID NO: 177)、環(RGDf-N (Me) V-) (西侖吉肽(cilengitide))) SEQ ID NO: 178) 具有針對整合素受體之高親和力 (Dechantsreiter, MA 等人, 1999J.Med.chem.42,3033-40, Goodman, SL, 等人, 2002J.Med.chem.45, 1045-51)。

【0166】 在一些實施例中, 受體結合部分結合至整合素 $\alpha v \beta 3$ 、胃泌素釋放肽受體(GRPR)、生長抑制素受體(諸如生長抑制素受體亞型2)、黑皮素原受體、膽囊收縮素-2受體、神經肽Y受體或神經調壓素受體。

【0167】 在一些實施例中, 受體結合部分結合至葉酸受體 α , 且可為葉酸受體配位體, 諸如葉酸或葉酸類似物(諸如依他葉酸(etarfolatide)、維塔利德(vintafolide)、甲醯四氫葉酸及甲胺喋呤)。

【0168】 在一些實施例中，受體結合部分結合至生長抑制素受體，且可為生長抑制素或生長抑制素類似物，諸如奧曲酸(octreotate)、奧曲肽(octreotide)或噴曲肽(pentetreotide)。

【0169】 在一些實施例中，受體結合部分結合至 α IIB β 3，且可為 α IIB β 3靶向之配位體，諸如RGD或RGD類似物(亦即，二聚體或多聚類似物)，包括例示性環狀RGD肽樣環(-Arg-Gly-Asp-D-Phe Val- [「c(RGDfV)」]) (SEQ ID NO: 160)、c(RGDfK) (SEQ ID NO: 161)、c(RGDfC) (SEQ ID NO: 162)、c(RADfC) (SEQ ID NO: 163)、c(RADfK) (SEQ ID NO: 164)、c(RGDfE) (SEQ ID NO: 165)、c(RADfE) (SEQ ID NO: 166)、RGDSK(SEQ ID NO: 167)、RADSK(SEQ ID NO: 168)、RGDS(SEQ ID NO: 169)、c(RGDyC) (SEQ ID NO: 170)、c(RADyC) (SEQ ID NO: 171)、c(RGDyE) (SEQ ID NO: 172)、c(RGDyK) (SEQ ID NO: 173)、c(RADyK) (SEQ ID NO: 174)及H-E[c(RGDyK)]₂ (SEQ ID NO: 175)、EMD 12194、DMP728、DMP757及SK&F107260。

【0170】 在一些實施例中，基於其在活體內誘發先天性免疫反應之能力選擇治療部分。先天性免疫反應包括對通常為病毒或細菌來源之外源性核酸或蛋白質的細胞反應，導致細胞介素表現及釋放以及細胞死亡增加。因此，先天性免疫反應可藉由細胞介素(例如1型干擾素)之表現或活性水準或干擾素調節基因(例如類鐸受體)之表現量來量測。在一些實施例中，先天性免疫反應係藉由顆粒球群落刺激因子(G-CSF)之表現或活性水準來量測。反應亦可藉由細胞死亡之水準來量測。

【0171】 在一些實施例中，治療結合物誘發相比於單獨治療部分較低之先天性免疫反應。舉例而言，在一些實施例中，治療結合物誘發之先

天性免疫反應比單獨投與治療部分時所誘發之先天性免疫反應低至少10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或100%。

【0172】 在一些實施例中，治療部分為急性毒性的。如本文所用，「急性毒性的」部分係指在投與個體14天內具有不良作用之部分。將急性毒性與慢性毒性或累積毒性進行比較，其中治療部分隨時間推移之堆積產生治療部分之毒性。

【0173】 可使用任何方法量測毒性。在一些實施例中，毒性係藉由肝臟活性來量測。在一些實施例中，毒性係藉由腎臟活性來量測。在一些實施例中，毒性係藉由胰臟活性來量測。

【0174】 在一些實施例中，毒性係藉由評估循環肝酶，諸如天冬胺酸轉胺酶(AST)及/或丙胺酸轉胺酶(ALT)來量測。治療部分投與後之時間點處之AST及/或ALT水準可與投與前所獲得之基線值進行比較，例如與未接受治療部分之對照動物之基線值進行比較，或與自先前實驗(歷史對照)或自文獻已知與正常動物相關之基線值進行比較。

【0175】 在一些實施例中，毒性係藉由評估鹼性磷酸酶(ALP)水準來量測。在投與治療部分後之時間點處之ALP水準可與投與前所獲得之基線值進行比較，例如與未接受治療部分之對照動物之基線值進行比較，或與先前實驗(歷史對照)或文獻中之正常動物相關之基線值進行比較。

【0176】 在一些實施例中，毒性係藉由評估總膽紅素(TBIL)水準來量測。在投與治療部分之後之時間點處之TBIL水準可與在投與前所獲得之基線值進行比較，例如與未接受治療部分之對照動物之基線值進行比較或與來自先前實驗(歷史對照)或來自文獻之正常動物相關之基線值進行比較。

【0177】 在一些實施例中，毒性係藉由評估白蛋白水準來量測。在投與治療部分之後之時間點處之白蛋白水準可與投與前所獲得之基線值進行比較，例如與未接受治療部分之對照動物之基線值進行比較，或與自先前實驗(歷史對照)或自文獻已知與正常動物相關之基線值進行比較。

【0178】 在一些實施例中，毒性係藉由評估血清葡萄糖水準來量測。在投與治療部分之後之時間點處之血清葡萄糖水準可與投與前所獲得之基線值進行比較，例如與未接受治療部分之對照動物之基線值進行比較，或與自先前實驗(歷史對照)或自文獻已知與正常動物相關之基線值進行比較。

【0179】 在一些實施例中，毒性係藉由評估乳酸脫氫酶(LDH)水準來量測。在治療部分投與之後之時間點處之乳酸脫氫酶(LDH)水準可與投與前所獲得之基線值進行比較，例如與未接受治療部分之對照動物之基線值進行比較，或與來自先前實驗(歷史對照)或自文獻已知與正常動物相關之基線值進行比較。

【0180】 不希望受理論所束縛，認為治療結合物保持治療部分具有活性直至FAP α 裂解連接子。以此方式，治療結合物並不為急性毒性的且具有高於游離治療部分之治療指數(TI)。TI為藉由比較引起治療作用之治療部分(或結合物)之量與引起毒性之治療部分(或結合物)之量來計算的治療部分之相對安全性之定量量度。在一些實施例中，當全身遞送時治療結合物之治療指數(TI)比游離治療部分之全身遞送大至少2倍，例如比游離治療部分之全身遞送大至少5倍、10倍、20倍、30倍、40倍、50倍、100倍、250倍、500倍或甚至1000倍。在一些實施例中，當全身給與時，治療結合物之治療指數(TI)比游離治療部分之治療指數大至少5倍，例如大

至少10倍、20倍、30倍、40倍、50倍、75倍或甚至100倍。

【0181】 以此方式，可以治療劑量(例如75 nM、80 nM、85 nM、90 nM、95 nM、100 nM、125 nM、150 nM、175 nM、200 nM或更大之腫瘤內濃度)投與如本文所描述之先前歸因於劑量限制性毒性(例如塔拉司他)無效之治療部分(藥物)。

【0182】 本文所提供之治療部分可為前藥，其為呈其前藥形式惰性(例如具有降低的全身性毒性風險，具有降低的細胞滲透性)但藉由FAP α -可裂解連接子裂解而活化之藥物(例如具有10 kD或更低之分子量之小分子)。在裂解時，治療部分釋放至患病組織(例如腫瘤)之細胞外空間中，其中其可引起局部發炎反應，促進免疫細胞浸潤，且在一些實施例中，誘發先天性免疫反應。當患病組織為腫瘤時，活化治療部分亦可降解腫瘤受質及/或殺死腫瘤細胞。

【0183】 在一些實施例中，游離治療部分與細胞內目標相互作用且治療部分之藥理學作用取決於游離治療部分為細胞可滲透的，亦即，且能夠與其細胞內目標相互作用，而當結合子-藥物結合物之一部分時，治療部分基本上為細胞不可滲透的。舉例而言，結合子-藥物結合物細胞內之累積速率小於游離治療部分之速率的50%，例如小於游離治療部分之速率的25%、10%、5%、1%或甚至小於0.1%。舉例而言，游離治療部分之藥理學作用的EC₅₀比結合子-藥物結合物小(有效)至少2倍，例如比結合子-藥物結合物小至少5倍、10倍、20倍、30倍、40倍、50倍、100倍、250倍、500倍或甚至1000倍。

【0184】 在一些實施例中，游離治療部分與細胞外目標相互作用且當共價連接至L¹時治療部分之藥理學作用基本上減弱。舉例而言，游離治

療部分之藥理學作用的EC50比結合子-藥物結合物小(有效)至少2倍，例如比結合子-藥物結合物小至少5倍、10倍、20倍、30倍、40倍、50倍、100倍、250倍、500倍或甚至1000倍。

【0185】 在一些實施例中，當全身性遞送時，結合子-藥物結合物之治療指數比游離治療部分之全身遞送大至少2倍，例如比游離治療部分之全身遞送大至少5倍、10倍、20倍、30倍、40倍、50倍、100倍、250倍、500倍或甚至1000倍。

【0186】 在一些實施例中，游離治療部分為免疫調節劑，其包括充當先天性免疫路徑反應之免疫活化劑及/或誘導劑之藥物部分。在一些實施例中，游離治療部分誘發IFN- α 之產生。在一些實施例中，游離治療部分誘發促炎性細胞介素之產生。在一些實施例中，游離治療部分誘發IL-1 β 之產生。在一些實施例中，游離治療部分誘發IL-18之產生。

【0187】 在一些實施例中，游離治療部分促進包括NK、 $\gamma\delta$ T及CD8+ T細胞之擴增及存活。

【0188】 在一些實施例中，游離治療部分為損傷相關分子模式分子。在一些實施例中，游離治療部分為病原相關分子模式分子。

【0189】 本文中使用之治療部分包括例如官方美國藥典(United States Pharmacopeia)、官方美國順勢療法藥典(Homeopathic Pharmacopeia of the United States)、官方國民處方集(National Formulary)或其任何補充物中所公認之治療部分，且包括(但不限於)：小分子化學物質/藥物、聚核苷酸(例如RNA干擾分子，諸如miRNA、siRNA、shRNA及反義RNA)及多肽(例如抗體)。可用作本文所提供之治療分子之類別包括(但不限於)：重組蛋白、抗體、細胞毒素劑、抗代謝

物、烷基化劑、抗生素、生長因子(例如紅血球生成素、顆粒球群落刺激因子(G-CSF)、顆粒球-巨噬細胞群落刺激因子(GM-CSF)、角質細胞生長因子))、細胞介素、趨化因子、干擾素(例如干擾素- α 、干擾素- β 、干擾素- γ)、血液因子(例如因子VIII、因子Vila、因子IX、凝血酶、抗凝血酶)、抗有絲分裂劑、毒素、凋亡劑(例如DNA烷基化劑)、拓撲異構酶抑制劑、內質網應激誘導劑、鉑化合物、抗代謝物、長春鹼、紫杉烷、埃博黴素(epothilones)、酶抑制劑、受體拮抗劑、酪胺酸激酶抑制劑、放射增敏劑、化學治療組合療法、受體trap、受體配位體、血管生成劑、抗血管生成劑、抗凝血劑及溶血栓劑(例如組織纖維蛋白溶酶原活化因子、水蛭素、蛋白C)、神經傳遞素、紅血球生成-刺激劑、胰島素、生長激素(例如人類生長激素(hGH)、促卵泡激素)、代謝激素(例如腸促胰島素)、重組IL-1受體拮抗劑及雙特異性T細胞接合分子(BITEs[®])。

【0190】 在一些實施例中，游離治療部分為環狀二核苷酸。在一些實施例中，游離藥物部分為ADU-S100。在一些實施例中，游離藥物部分對癌症相關纖維母細胞(CAF)具有細胞毒性。

【0191】 在一些實施例中，游離治療部分使腫瘤相關巨噬細胞群極化朝向M1巨噬細胞及/或抑制M2巨噬細胞免疫抑制活性。

【0192】 在一些實施例中，游離治療部分加速T細胞激活及/或樹突狀細胞遷移。

【0193】 在一些實施例中，游離治療部分諸如藉由阻斷免疫抑制功能或至淋巴結及/或腫瘤微環境之遷移來抑制或消耗Treg細胞。

【0194】 在一些實施例中，治療部分為化學治療藥物部分。化學治療藥物部分之實例包括(但不限於)：基於鉑之藥物(例如奧沙利鉑、順

鉑、卡鉑、螺鉑、異丙鉑、賽特鉑等)、烷基化劑(例如環磷醯胺、異環磷醯胺、苯丁酸氮芥、白消安、美法侖、氮芥、烏拉莫司汀、噻替派及亞硝基脲)、抗代謝物(例如5-氟尿嘧啶(5-FU)、硫唑嘌呤、甲胺喋呤、甲醯四氫葉酸、卡培他濱(capecitabine)、阿糖胞苷、氟尿苷、氟達拉賓、吉西他濱、培美曲塞及雷替曲塞)、植物鹼(例如長春新鹼、長春鹼、長春瑞賓、長春地辛、鬼臼毒素、太平洋紫杉醇(紫杉醇)及多西他賽)、拓撲異構酶抑制劑(例如伊立替康(CPT-11; 開普拓)、拓撲替康、安吡啶、依託泊苷(VP16)、磷酸依託泊苷及替尼泊甙)、抗腫瘤抗生素(例如小紅莓、阿德力黴素、道諾黴素、表柔比星、放射菌素、博萊黴素、絲裂黴素、米托蒽醌及普卡黴素)、酪胺酸激酶抑制劑(例如吉非替尼(geftinib) (IRESSA®)、舒尼替尼(sunitinib) (SUTENT®; SU11248)、埃羅替尼(erlotinib) (TARCEVA®; OSI-1774)、拉帕替尼(lapatinib) (GW572016; GW2016)、卡奈替尼(canertinib) (C11033)、司馬西尼(semaxinib) (SU5416)、凡塔藍尼(vatalanib) (PTK787/ZK222584)、索拉非尼(sorafenib) (BAY 43-9006)、伊馬替尼(imatinib) (GLEEVEC®; STI571)、達沙替尼(dasatinib) (BMS-354825)、來氟米特(leflunomide) (SU101)、凡德他尼(vandetanib) (ZACTIMA™; ZD6474)其醫藥學上可接受之鹽、其立體異構體、其衍生物、其類似物及其組合。

【0195】 治療部分之其他非限制性實例提供於WO 2019/236567中，其以引用之方式併入本文中。

紫杉烷/類紫杉醇

【0196】 在一些實施例中，治療部分為紫杉烷。紫杉烷為一類雙萜類。紫杉烷類藥物之主要作用機制為破壞微管功能。微管為細胞分裂所必

需的，且紫杉烷使微管中之GDP結合之微管蛋白穩定，藉此在防止解聚合時抑制細胞分裂過程。因此，在本質上，紫杉烷為有絲分裂抑制劑。與紫杉烷相比，長春花生物鹼經由抑制微管蛋白聚合來防止有絲分裂紡錘體形成。因此，紫杉烷及長春花植物鹼均命名為紡錘體毒物或有絲分裂毒物，但其以不同方式作用。亦認為紫杉烷為輻射敏化的。紫杉烷之非限制性實例包括太平洋紫杉醇、多西他賽及卡巴利他索。

基於鉑之製劑

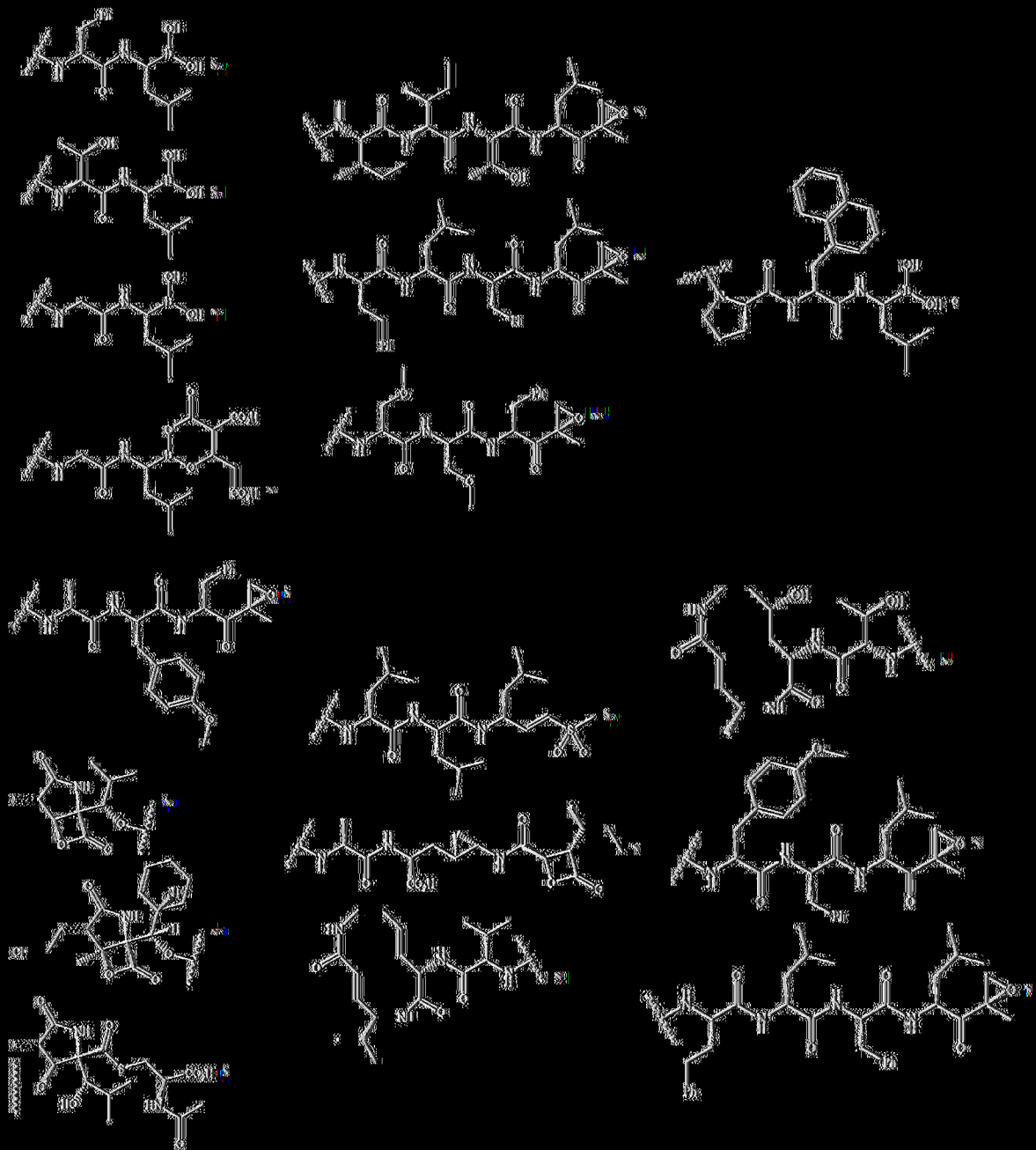
【0197】 在一些實施例中，治療部分為基於鉑之製劑。基於鉑之抗腫瘤藥物(非正式地稱為鉑)為通常用於治療癌症之化學治療劑。基於鉑之抗腫瘤劑引起DNA作為單加合物交聯、股交聯、股內交聯或DNA蛋白質交聯。其大部分作用於鳥嘌呤之相鄰N-7位置，從而形成1,2股內交聯。所得交聯抑制癌細胞中之DNA修復及/或DNA合成。基於鉑之抗腫瘤劑由於與烷基化抗腫瘤劑類似之作用有時描述為「類烷基化」，但其不具有烷基。基於鉑之製劑之非限制性實例包括奧沙利鉑、順鉑、卡鉑、蔡達鉑、吡鉑、菲鉑、特瑞鉑、螺鉑、賽特鉑、異丙鉑及賽特鉑。

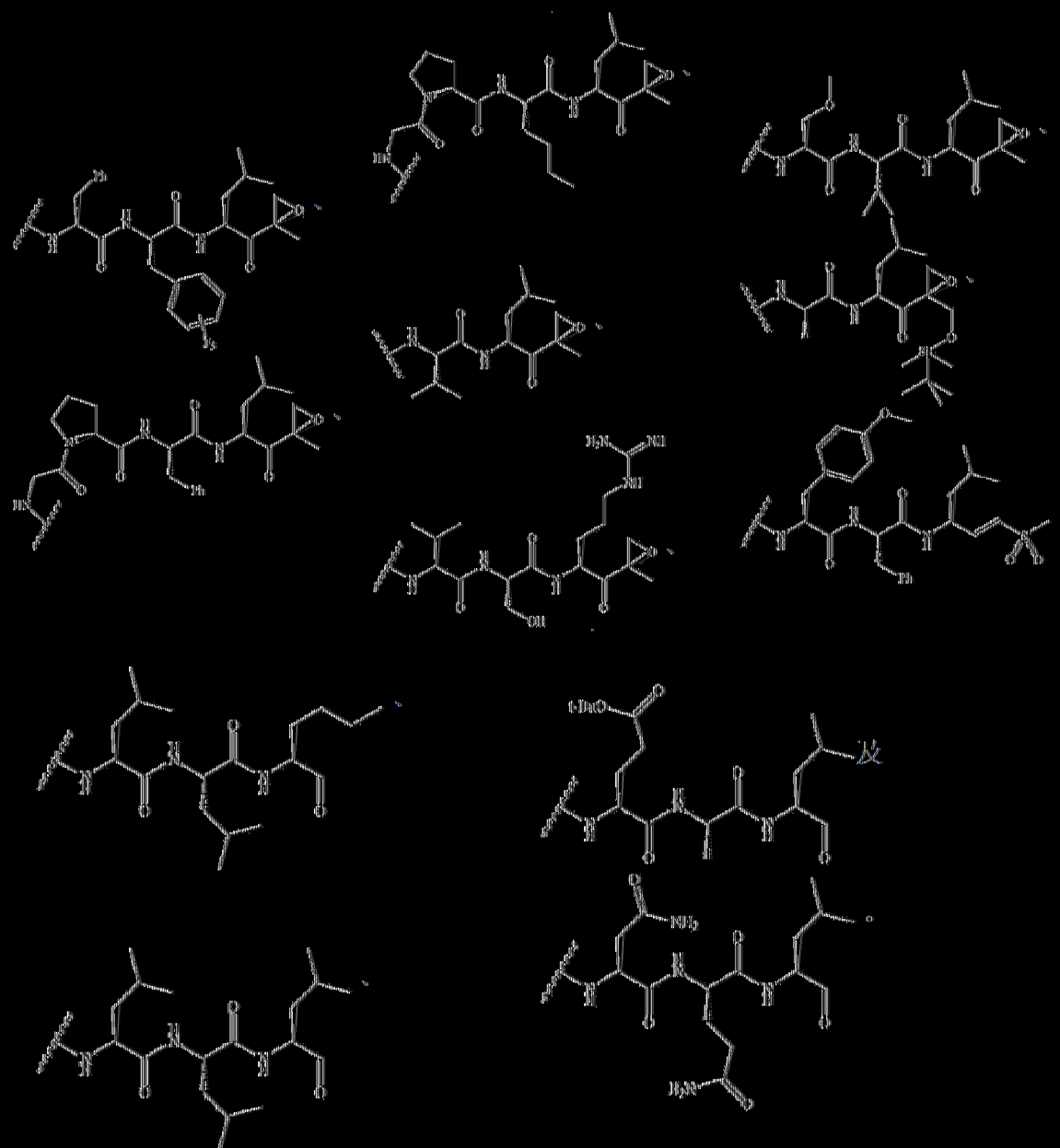
蛋白酶體抑制劑

【0198】 在一些實施例中，治療部分為蛋白酶體抑制劑。蛋白酶體抑制劑為阻斷蛋白酶體作用之藥物，分解蛋白質之細胞複合物。可能涉及多種機制，但蛋白酶體抑制可防止促凋亡因子(諸如p53蛋白)之降解，允許贅生性細胞中之計劃性細胞死亡之活化，視促凋亡路徑之抑制而定。舉例而言，硼替佐米導致胞內肽之水準之快速且劇烈變化。蛋白酶體抑制劑之非限制性實例包括硼替佐米、雷克塔西汀、二硫龍、表沒食子兒茶素-3-沒食子酸酯、馬瑞佐米(鹽孢菌素A)、奧普洛佐米(ONX-0912)、迪蘭佐

米(CHEP-18770)、埃普德素及 β -羥基 β -甲基丁酸酯。

〔0199〕 例示性蛋白酶體抑制劑包括





鐸樣受體促效劑

[0200] 在一些實施例中，游離治療部分為鐸樣受體(TLR)促效劑，諸如選自由TLR1/2促效劑、TLR2促效劑、TLR3促效劑、TLR4促效劑、TLR5促效劑、TLR6/2促效劑、TLR7促效劑、TLR7/8促效劑、TLR7/9促效劑、TLR8促效劑、TLR9促效劑及TLR11促效劑組成之群，較佳選自由TLR3促效劑、TLR7促效劑、TLR7/8促效劑及TLR9促效劑組成之群。鐸樣受體(TLR)促效劑參與活化先天性及適應性免疫反應。大部分TLR促效劑活化專業抗原呈遞細胞(APC)，諸如樹突狀細胞且與T細胞

第 77 頁(發明說明書)

相互作用。由於TLR為先天性免疫之中心，TLR促效劑已用於增強TLR活性且實際上活化先天性免疫反應。TLR促效劑為單股DNA之典型地包含CpG二核苷酸模體之短合成伸長部。

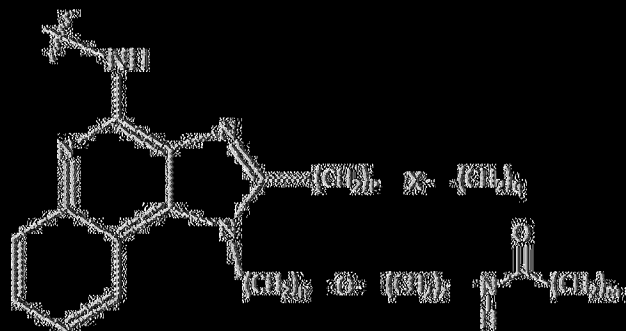
【0201】 鐸樣受體(TLR)促效劑之實例包括(但不限於)：TLR1/2促效劑、TLR2促效劑、TLR3促效劑(例如PolyTC)、TLR4促效劑(例如S型脂多醣、太平洋紫杉醇、脂質A及單磷醯基脂質A)、TLR5促效劑(例如鞭毛蛋白(flagellin))、TLR6/2促效劑(例如MALP-2)、TLR7促效劑、TLR7/8促效劑(例如嘎德莫特(gardiquimod)、咪喹莫特(imiquimod)、洛索立賓(loxoribine)及雷西莫特(R848))、TLR7/9促效劑(例如硫酸羥基氯奎(hydroxychloroquine sulfate))、TLR8促效劑(例如莫托莫特(motolimod) (VTX-2337))、TLR9促效劑(例如CpG-ODN)及TLR11促效劑(例如肌動蛋白抑制蛋白)。

【0202】 可用作結合物中之治療部分之TLR促效劑的實例包括S-27609、CL307、UC-IV150、咪喹莫特、嘎德莫特、雷西莫特、莫托莫特、VTS-1463GS-9620、GSK2245035、TMX-101、TMX-201、TMX-202、艾沙托立賓(isatoribine)、AZD8848、MEDI9197、3M-051、3M-852、3M-052、3M-854A、S-34240、KU34B或CL663或適當時具有用於直接連接及自受質識別序列釋放或藉由連接於自分解型連接子之適當官能基的其類似物。

【0203】 TLR促效劑之實例，尤其TLR7促效劑、TLR8促效劑及TLR7/8促效劑之實例包括：艾沙托立賓、洛索立賓、溴匹立明(bropirimine)、咪喹莫特、雷西莫特、嘎德莫特、CL097、3M-002、R848、SM360320、CL264、3M-003、IMDQ、PF-04878691、莫托莫德

(VTX-2337)及GSK2245035。參見例如2019年12月12日公佈之國際公開案第WO 2019/236567號，關於前述TLR促效劑之化學結構。

[(0204)] 在一些實施例中，治療部分為以下通式中所表示之TRL7/8促效劑



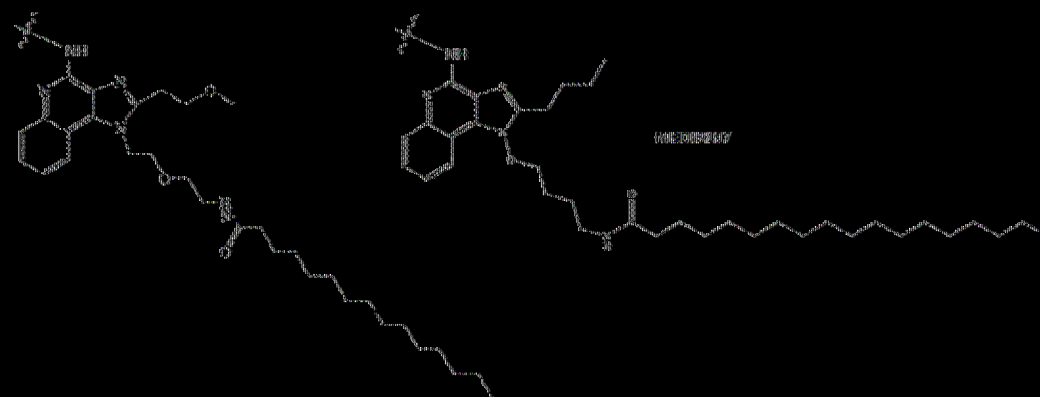
其中

X為CH₂、O、S或N，例如CH₂、O或N；

m為0（來自N至O之直接鍵），或1至5之整數，例如1或2；n為1至5之整數；

m為1至20之整數，例如1至16；

p為0（來自環至X之直接鍵），或1至5之整數，例如1或2；且q為1至5之整數，例如1或2。舉例而言，TRL促效劑為TRL7/8促效劑，諸如以下中之一者：



[(0205)] 國際公開案第WO 2008/135791號及第WO 2016/141092號亦描述具有經由TLR7起作用之免疫調節特性之咪唑并噻啉化合物類別。

【0206】容易適用於用作結合物之治療部分之TRL促效劑的其他實例揭示於例如以下中：Yoo等人「Structure-activity relationships in Toll-like receptor 7 agonistic 1H-imidazo[4,5- c]pyridines」 *Org. Biomol. Chem.*, 2013, 11, 6526-6545；Fletcher等人「Masked oral prodrugs of Toll-like receptor 7 agonists: a new approach for the treatment of infectious disease」, 2006 *Current opinion in investigational drugs* (London, England). 7. 702-708；及Pryde等人「The discovery of a novel prototype small molecule TLR7 agonist for the treatment of hepatitis C virus infection」 *Med. Chem. Commun.*, 2011, 2, 185-189。

【0207】根據本發明使用之TLR促效劑之其他非限制性實例描述於2019年12月12日公佈之國際公開案第WO 2019/236567號中，其以引用之方式併入本文中。

【0208】熟習此項技術者亦應瞭解，尤其在使用自分解型連接子下，TRL促效劑可與連接子經由除如上所示之胺外之官能基，諸如經由游離羥基偶合。

視黃酸誘導基因I (RIG-I)促效劑

【0209】在一些實施例中，游離治療部分為RIG-1促效劑。視黃酸誘導基因I (RIG-1)促效劑用於誘發先天性免疫反應。RIG-I引起1型干擾素(IFN1)反應。在其活化後，RIG-I活化其RIG-I炎性體，引起細胞焦亡，亦即計劃性細胞死亡之免疫原性機制以及誘導促炎性細胞介素(Elion等人, *Oncotarget*. 2018; 9(48): 29007-29017)。細胞焦亡引起質膜中形成空隙，導致低滲細胞溶脹及胞內內容物之滲漏，包括危險相關分子模式(DAMP)。DAMP及細胞介素引起局部急性發炎免疫反應。

【0210】 RIG-I促效劑之實例包括KIN700、KIN1148、KIN600、KIN500、KIN100、KIN101、KIN400、KIN2000、RGT100及SD-9200。

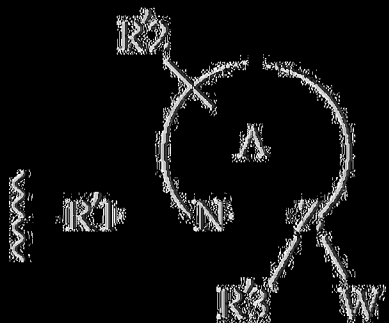
【0211】 根據本發明使用之RIG-I促效劑之其他非限制性實例描述於2019年12月12日公佈之國際公開案第WO 2019/236567號中，其以引用之方式併入本文中。

iDASH抑制劑

【0212】 在一些實施例中，游離治療部分為抑制DPP8及DPP9之酶活性且誘導活體外及/或活體內巨噬細胞細胞焦亡的免疫-DASH抑制劑。iDASH抑制劑為DPP4、DPP8及DPP9(脯胺酸後裂解酶)之抑制劑，且充當涉及DASH酶之免疫查核點之檢查點抑制劑。抑制此等目標酶(其包括胞內目標及胞外目標兩者)引起T細胞細胞毒性增加(癌細胞抗原釋放，引起癌細胞死亡)、樹突狀細胞遷移增加(癌症抗原呈遞)、免疫刺激性細胞介素增加(APC及T細胞激活及活化)、瘤內CXCL10半衰期增加(T細胞遷移至腫瘤)、T細胞浸潤至腫瘤、T細胞識別癌細胞、及耗乏骨髓源性抑制細胞(MDSC)及損傷MDSC之免疫抑制活性。iDASH抑制劑之非限制性實例描述於WO 2019/236567中，其全部內容以引用之方式併入本文中。

【0213】 在一些實施例中，iDASH抑制劑為DASH酶DPP8及DPP9(且在一些實施例中，亦為DPP-4及/或FAP)之醯胺抑制劑。

【0214】 在一些實施例中，iDASH抑制劑為DASH酶DPP8及DPP9(且在一些實施例中，亦為DPP-4及/或FAP)之二肽醯胺抑制劑。在一些實施例中，iDASH抑制劑二肽醯胺在P1位置具有脯胺酸或脯胺酸類似物。主題iDASH抑制劑可藉由免疫介導之機制介導腫瘤消退。主題iDASH抑制



A表示包括N及C α 碳之4-8員雜環

%表示C或N；

酸酯或酮)a硫羰基(諸如硫酯、硫乙酸酯或硫甲酸酯)、胺基、醯基胺基、醯胺基、氰基、硝基、疊氮基、硫酸根、磺酸根、磺醯胺基- $(\text{CH}_2)_m\text{-R7}$ 、 $(\text{CH}_2)_m\text{-OH}$ 、 $(\text{CH}_2)_m\text{-O-}$ 低碳數烷基、 $(\text{CH}_2)_m\text{-O-}$ 低碳數烯基、 $(\text{CH}_2)_n\text{-O-}$ $(\text{CH}_2)_m\text{-R7}$ 、 $(\text{CH}_2)_m\text{-SH}$ 、 $(\text{CH}_2)_m\text{-S-}$ 低碳數烷基、 $(\text{CH}_2)_m\text{-S-}$ 低碳數烯基- $(\text{CH}_2)_n\text{-S-}$ $(\text{CH}_2)_m\text{-R7}$ ；

若X為N，則R'3表示氫，若X為C，則R'3表示氫或鹵素、低碳數烷基、低碳數烯基、低碳數炔基、羰基(諸如羧基、酯、甲酸酯或酮)、硫羰基(諸如硫酯、硫乙酸酯或硫甲酸酯)、胺基、醯基胺基、醯胺基、氰基、硝基、疊氮基、硫酸根、磺酸根、磺醯胺基、 $(\text{CH}_2)_m\text{-R7}$ 、 $(\text{CH}_2)_m\text{-OH}$ 、 $(\text{CH}_2)_m\text{-O-}$ 低碳數烷基、 $(\text{CH}_2)_m\text{-O-}$ 低碳數烯基、 $(\text{CH}_2)_n\text{-O-}$ $(\text{CH}_2)_m\text{-R7}$ 、 $(\text{CH}_2)_m\text{-SH}$ 、 $(\text{CH}_2)_m\text{-S-}$ 低碳數烷基、 $(\text{CH}_2)_m\text{-S-}$ 低碳數烯基、 $(\text{CH}_2)_n\text{-S-}$ $(\text{CH}_2)_m\text{-R7}$ ；

R5表示H、烷基、烯基、炔基、 -C(X1)(X2)X3 、 $(\text{CH}_2)_m\text{-R7}$ 、 $(\text{CH}_2)_n\text{-OH}$ 、 $(\text{CH}_2)_n\text{-O-}$ 烷基、 $(\text{CH}_2)_n\text{-O-}$ 烯基、 $(\text{CH}_2)_n\text{-O-}$ 炔基、 $(\text{CH}_2)_n\text{-O-}$ $(\text{CH}_2)_m\text{-R7}$ 、 $(\text{CH}_2)_n\text{-SH}$ 、 $(\text{CH}_2)_n\text{-S-}$ 烷基、 $(\text{CH}_2)_n\text{-S-}$ 烯基、 $(\text{CH}_2)_n\text{-S-}$ 炔基、 $(\text{CH}_2)_n\text{-S-}$ $(\text{CH}_2)_m\text{-R7}$ 、 $\text{-C(O)C(O)}_n\text{H2}$ 、 -C(O)C(O)OR'7 ；

R6表示氫、鹵素、烷基、烯基、炔基、芳基、 $(\text{CH}_2)_m\text{-R7}$ 、 $(\text{CH}_2)_m\text{-OH}$ 、 $(\text{CH}_2)_m\text{-O-}$ 低碳數烷基、 $(\text{CH}_2)_m\text{-O-}$ 低碳數烯基、 $(\text{CH}_2)_n\text{-O-}$ $(\text{CH}_2)_m\text{-R7}$ 、 $(\text{CH}_2)_m\text{-SH}$ 、 $(\text{CH}_2)_m\text{-S-}$ 低碳數烷基、 $(\text{CH}_2)_m\text{-S-}$ 低碳數烯基、 $(\text{CH}_2)_n\text{-S-}$ $(\text{CH}_2)_m\text{-R7}$ ，

R7在每次出現時表示經取代或未經取代之芳基、芳烷基、環烷基、環烯基或雜環；

R'7在每次出現時表示氫或經取代或未經取代之烷基、烯基、芳基、芳烷基、環烷基、環烯基或雜環；且

Y1及Y2可獨立或共同地為OH或能夠水解成羥基之基團，包括環狀衍生物，其中Y1及Y2經由環結構(諸如四甲基乙二醇或其類似物)中具有5至8個原子之環連接，

R50表示O或S；

R51表示N₃、SH₂、NH₂、NO₂或O-R'7；

R52表示氫、低碳數烷基、胺、OR'7或醫藥學上可接受之鹽，或R51及R52與其所附接之磷原子連在一起完成在環結構中具有5至8個原子之雜環

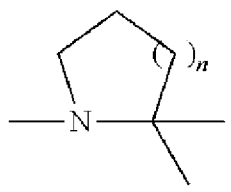
X1表示鹵素；

X2及X3各自表示氫或鹵素

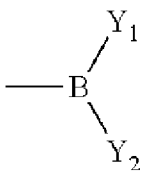
m為零或在1至8範圍內之整數；且

n為1至8範圍內之整數。

【0217】 在較佳實施例中，環A為5、6或7員環，例如由下式表示：

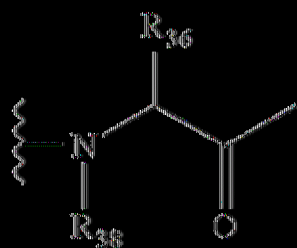


且更佳地5或6員環(例如n為1或2，但n亦可為3或4)。該環可視情況經進一步取代。



【0218】 在較佳實施例中，W表示

【0219】 在較佳實施例中，R'1為



其中R36為較小疏水性基團，例如低碳烷基或鹵素且R38為氫，或R36與R37一起形成包括N及C α 碳之4/7員雜環，如上文關於A所定義。

[(0220)] 在較佳實施例中，R²不存在，或表示較小疏水性基團，諸如低碳數烷基或鹵素。

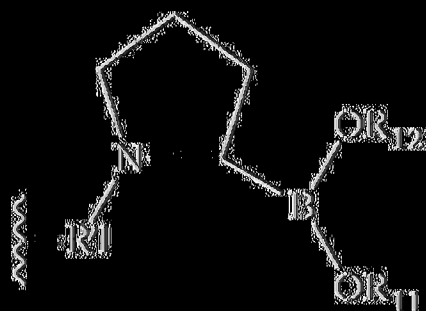
[(0221)] 在較佳實施例中，R³為氫或較小疏水性基團，諸如低碳數烷基或鹵素。

[(0222)] 在較佳實施例中，R⁵為氫或鹵化低碳數烷基。

[(0223)] 在較佳實施例中，X1為氫，且X2及X3若為鹵素，則為氫。

[(0224)] 任何可水解轉化成前述化合物中之任一者的化合物，包括酰胺及鹵化物，以及包括縮醛、半縮醛、縮酮及半縮酮之羰基同等物，以及環狀二肽類似物，亦視為同等物。

[(0225)] 在一些較佳實施例中，主題方法利用胺基酸之酰胺類似物作為免疫-DASH抑制劑。舉例而言，本發明涵蓋硼-脯胺鹽基衍生物在主題方法中之使用。本發明之例示性酰胺衍生抑制劑係由以下通式表示：

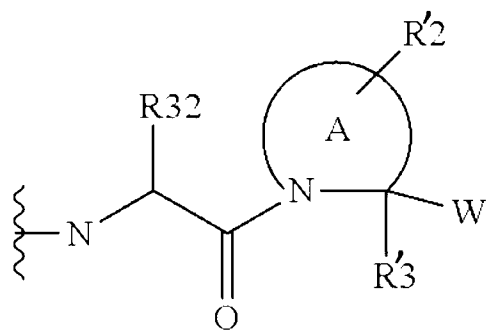


其中

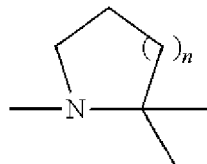
R'1表示C端連接之胺基酸殘基或胺基酸類似物，或C端連接之肽或肽類似物，其胺末端與L1形成共價，或若L1為一鍵，則與受質識別序列形成共價；以及

R11及R12各自獨立地表示氫、烷基或醫藥學上可接受之鹽，或R11及R12與其所附接之O-B-O原子一起完成環結構中具有5至8個原子之雜環。

【0226】 在一些實施例中，免疫-DASH抑制劑為在P1特異性位置包括脯胺醯基或其類似基團且在P2特異性位置包括非極性(及較佳疏水性)胺基酸，例如非極性胺基酸，諸如丙胺酸、白胺酸、異白胺酸、纈胺酸、脯胺酸、苯丙胺酸、色胺酸或甲硫胺酸的肽或肽模擬物，或其類似物。在其他實施例中，P2位置為具有帶電側鏈之胺基酸，諸如精胺酸、離胺酸、天冬胺酸或麩胺酸。舉例而言，免疫-DASH抑制劑可包括Ala-Pro或Val-Pro二肽序列或其同等物，且以以下通式表示：



【0227】 在較佳實施例中，環A為5、6或7員環，例如由下式表示：



【0228】 在一些較佳實施例中，R32為較小疏水性基團，例如低碳數烷基或鹵素。

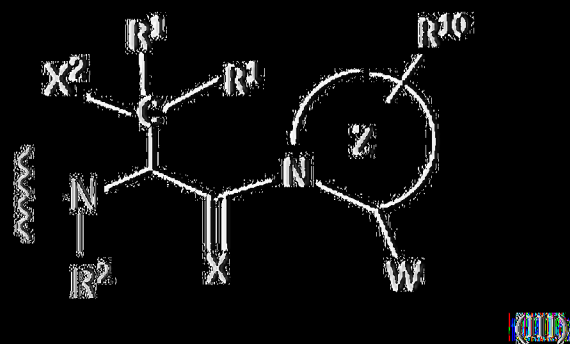
【0229】 在一些較佳實施例中，R32為-低碳烷基-胍、-低碳數烷基-

胺、低碳數烷基-C(O)OH，諸如 $-(CH_2)_m-NH-C(O-N)(NH_2)$ 、 $-(CH_2)_m-NH_2$ 或 $-(CH_2)_m-COOH$ ，其中 m 為1-6且較佳為1-3。

〔0230〕 在較佳實施例中， R^2 不存在，或表示較小疏水性基團，諸如低碳數烷基或鹵素。

〔0231〕 在較佳實施例中， R^3 為氫或較小疏水性基團，諸如低碳數烷基或鹵素。

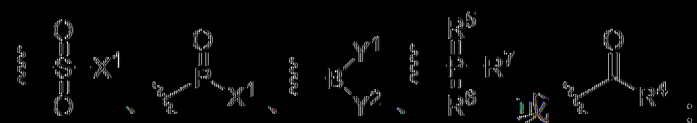
〔0232〕 本發明之另一態樣係關於由式III表示之免疫EDASII抑制劑或其醫藥鹽：



其中

環Z表示包括N及C α 碳之4-10員雜環；

W表示-CN、-CH₂-NR⁴，即與該目標之活性位點殘基反應之官能基，或



X為O或S；

X₂為H、鹵素或低碳數烷基；

Y₁及Y₂獨立地為OH，或與其所附接之硼原子一起表示可水解成酮酸之基團，或與其所附接之硼原子一起形成可水解成酮酸之5-8員環；

R₁在每次出現時獨立地表示鹵素、低碳數烷基、低碳數烯基、低碳

數炔基、羰基、硫羰基、胺基、醯基胺基、醯胺基、氰基、硝基、疊氮基、硫酸根、磷酸根、磺醯胺基、 $-\text{CF}_3$ 、 $-(\text{CH}_2)_m\text{-R3}$ 、 $-(\text{CH}_2)_m\text{OH}$ 、 $-(\text{CH}_2)_m\text{-O-低碳數烷基}$ 、 $-(\text{CH}_2)_m\text{-O-低碳數烯基}$ 、 $-(\text{CH}_2)_n\text{-O-}(\text{CH}_2)_m\text{-R3}$ 、 $-(\text{CH}_2)_m\text{-SH}$ 、 $-(\text{CH}_2)_m\text{-S-低碳數烷基}$ 、 $-(\text{CH}_2)_m\text{-S-低碳數烯基}$ 或 $-(\text{CH}_2)_n\text{-S-}(\text{CH}_2)_m\text{-R3}$ ；

R2在每次出現時表示氫、低碳數烷基、低碳數炔基、 $-(\text{CH}_2)_m\text{-R3}$ 、 C(=O)-烷基 、 C(=O)-烯基 、 C(=O)-炔基 或 $\text{C(=O)-}(\text{CH}_2)_m\text{-R3}$ ；

R3在每次出現時表示氫或經取代或未經取代之低碳數烷基、低碳數烯基、芳基、芳烷基、環烷基、環烯基或雜環；

R4表示氫、低碳數烷基、低碳數烯基、低碳數炔基、 $-(\text{CH}_2)_m\text{-R3}$ 、 $(\text{CH}_2)_n\text{-OH}$ 、 $-(\text{CH}_2)_n\text{-O-低碳數烷基}$ 、 $-(\text{CH}_2)_n\text{-O-烯基}$ 、 $-(\text{CH}_2)_n\text{-O-炔基}$ 、 $-(\text{CH}_2)_n\text{-O-}(\text{CH}_2)_m\text{-R7}$ 、 $-(\text{CH}_2)_n\text{-SH}$ 、 $-(\text{CH}_2)_n\text{-S-低碳數烷基}$ 、 $-(\text{CH}_2)_n\text{-S-低碳數烯基}$ 、 $-(\text{CH}_2)_n\text{-S-低碳數炔基}$ 、 $-(\text{CH}_2)_n\text{-S-}(\text{CH}_2)_m\text{-R3}$ 、 C(O)C(O)NH_2 或 C(O)C(O)OR8 ；

R5表示O或S；

R6表示N3、SH、NH2、NO2或OR8；

R7表示氫、低碳數烷基、胺、OR8或醫藥學上可接受之鹽，或R5及R6與其所附接之磷原子連在一起完成在環結構中具有5至8個原子之雜環；

R8表示氫、經取代或未經取代之烷基、烯基、芳基、芳烷基、環烷基、環烯基或雜環基；

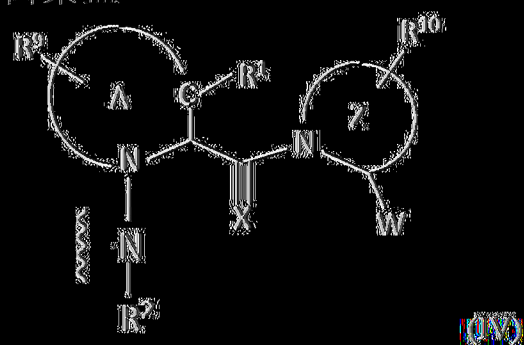
R10不存在或表示一至三個其隨附之環Z之取代，其中之每一者可獨立地為鹵素、低碳數烷基、低碳數烯基、低碳數炔基、羰基(諸如羧基、

酯、甲酸酯或酮)、硫羰基(諸如硫酯、硫乙酸酯或硫甲酸酯)、胺基、醯基胺基、醯胺基、氰基、異氰基、硫氰基、異硫氰基、氰酸酯基、硝基、疊氨基、硫酸根、磺酸根、磺醯胺基、低碳數烷基-C(O)OH、-O-低碳數烷基-C(O)OH、-胍基； $-(CH_2)_m-R^1$ 、 $-(CH_2)_m-OH$ 、 $-(CH_2)_m-O$ -低碳數烷基、 $-(CH_2)_m-O$ -低碳數烯基、 $-(CH_2)_n-O-(CH_2)_m-R^3$ 、 $-(CH_2)_m-SH$ 、 $-(CH_2)_m-S$ -低碳數烷基、 $-(CH_2)_m-S$ -低碳數烯基、 $-(CH_2)_n-S-(CH_2)_m-R^3$ ；

n 為0、1、2或3；且

m 為0、1、2或3。

〔0233〕 本發明之另一態樣係關於由式IV表示之免疫EDASE抑制劑或其醫藥鹽：

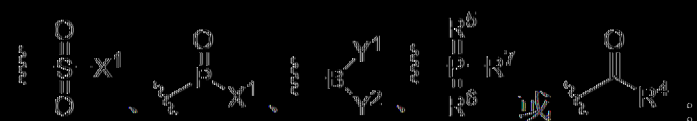


其中

環A表示包括N之3-10員環結構；

環Z表示包括N及C α 碳之4-10員雜環；

W表示-CN、-CH $_2$ -NR $_4$ ，即與該目標之活性位點殘基反應之官能基，或



X為O或S；

X1表示鹵素；

Y1及Y2獨立地為OH，或與其所附接之硼原子一起表示可水解成酮酸之基團，或與其所附接之硼原子一起形成可水解成酮酸之5-8員環；

R1表示鹵素、低碳數烷基、低碳數烯基、低碳數炔基、羰基、硫羰基、胺基、醯基胺基、醯胺基、氰基、硝基、疊氮基、硫酸根、磺酸根、磺醯胺基、 $-\text{CF}_3$ 、 $-(\text{CH}_2)_m\text{-R3}$ 、 $-(\text{CH}_2)_m\text{OH}$ 、 $-(\text{CH}_2)_m\text{-O-}$ 低碳數烷基、 $-(\text{CH}_2)_m\text{-O-}$ 低碳數烯基、 $-(\text{CH}_2)_n\text{-O-}(\text{CH}_2)_m\text{-R3}$ 、 $-(\text{CH}_2)_m\text{-SH}$ 、 $-(\text{CH}_2)_m\text{-S-}$ 低碳數烷基、 $-(\text{CH}_2)_m\text{-S-}$ 低碳數烯基或 $-(\text{CH}_2)_n\text{-S-}(\text{CH}_2)_m\text{-R3}$ ；

R2在每次出現時表示氫、低碳數烷基、低碳數炔基、 $-(\text{CH}_2)_m\text{-R3}$ 、 C(=O)- 烷基、 C(=O)- 烯基、 C(=O)- 炔基或 $\text{C(=O)-}(\text{CH}_2)_m\text{-R3}$ ；

R3在每次出現時表示氫或經取代或未經取代之低碳數烷基、低碳數烯基、芳基、芳烷基、環烷基、環烯基或雜環；

R4表示氫、低碳數烷基、低碳數烯基、低碳數炔基、 $-(\text{CH}_2)_m\text{-R3}$ 、 $-(\text{CH}_2)_n\text{-OH}$ 、 $-(\text{CH}_2)_n\text{-O-}$ 低碳數烷基、 $-(\text{CH}_2)_n\text{-O-}$ 烯基、 $-(\text{CH}_2)_n\text{-O-}$ 炔基、 $-(\text{CH}_2)_n\text{-O-}(\text{CH}_2)_m\text{-R7}$ 、 $-(\text{CH}_2)_n\text{-SH}$ 、 $-(\text{CH}_2)_n\text{-S-}$ 低碳數烷基、 $-(\text{CH}_2)_n\text{-S-}$ 低碳數烯基、 $-(\text{CH}_2)_n\text{-S-}$ 低碳數炔基、 $-(\text{CH}_2)_n\text{-S-}(\text{CH}_2)_m\text{-R3}$ 、 C(O)C(O)NH_2 或 C(O)C(O)OR8 ；

R5表示O或S；

R6表示N3、SH、NH2、NO2或OR8；

R7表示氫、低碳數烷基、胺、OR8或醫藥學上可接受之鹽，或R5及R6與其所附接之磷原子連在一起完成在環結構中具有5至8個原子之雜環；

R8表示氫、經取代或未經取代之烷基、烯基、芳基、芳烷基、環烷基、環烯基或雜環基；

R9及R10不存在或各自獨立地表示一至三個其隨附之環A或環Z之取代，其中之每一者可獨立地為鹵素、低碳數烷基、低碳數烯基、低碳數炔基、羰基(諸如羧基、酯、甲酸酯或酮)、硫羰基(諸如硫酯、硫乙酸酯或硫甲酸酯)、胺基、醯基胺基、醯胺基、氰基、異氰基、硫氰基、異硫氰基、氰酸酯基、硝基、疊氮基、硫酸根、磺酸根、磺醯胺基、 $-(CH_2)_m$ -R7、 $-(CH_2)_m$ -OH、 $-(CH_2)_m$ -O-低碳數烷基、 $-(CH_2)_m$ -O-低碳數烯基、 $-(CH_2)_n$ -O- $(CH_2)_m$ -R3、 $-(CH_2)_m$ -SH、 $-(CH_2)_m$ -S-低碳數烷基、 $-(CH_2)_m$ -S-低碳數烯基、 $-(CH_2)_n$ -S- $(CH_2)_m$ -R3；

n為0、1、2或3；以及

m為0、1、2或3。

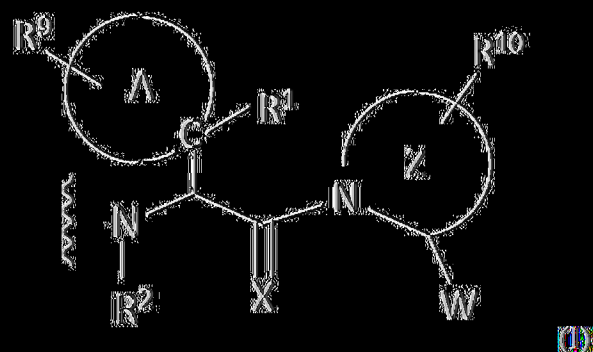
【0234】 在一些較佳實施例中，免疫-DASH抑制劑為DASH酶DPP8及DPP9 (及視情況亦為DPP-4及/或FAP)之醯胺抑制劑。

【0235】 在一些較佳實施例中，免疫-DASH抑制劑為DASH酶DPP8及DPP9 (及視情況亦為DPP-4及/或FAP)之二肽醯胺抑制劑。在一些較佳實施例中，免疫-DASH抑制劑二肽醯胺在P1位置具有脯胺酸或脯胺酸類似物。主題免疫-DASH抑制劑可藉由免疫介導之機制介導腫瘤消退。主題免疫-DASH抑制劑誘發巨噬細胞之細胞焦亡，且直接或間接地具有諸如免疫原性調節之活性，使腫瘤細胞對抗原特異性CTL殺死敏感，改變免疫-細胞亞群及功能，經由調節樹突狀細胞遷移加速T細胞激活，及引起通用T細胞介導之抗腫瘤活性。

【0236】 在一些實施例中，主題免疫-DASH抑制劑與PD-1抑制劑之組合可作為涉及一或多種其他化學治療劑、免疫腫瘤學藥劑或輻射之療法之一部分投與。其亦可用作包括腫瘤疫苗、授受細胞療法、基因療法、

溶瘤病毒療法及其類似療法之療法的一部分。

[0237] 在一些實施例中，本發明方法之免疫-DASII抑制劑係由式I或其醫藥鹽表示：

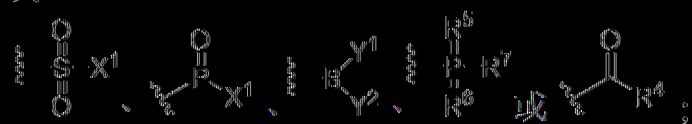


其中

環A表示3-10員環結構；

環Z表示包括N及C α 碳之4-10員雜環；

W表示-CN、-CH₂-NR₄，即與該目標之活性位點殘基反應之官能基，或



X為O或S；

X1表示鹵素；

Y1及Y2獨立地為OH，或與其所附接之硼原子一起表示可水解成硼酸之基團，或與其所附接之硼原子一起形成可水解成硼酸之5-8員環；

R1表示鹵素、低碳數烷基、低碳數烯基、低碳數炔基、羧基、硫羧基、胺基、醯基胺基、醯胺基、氨基、硝基、疊氨基、硫酸根、磺酸根、磺醯胺基、-CH₃、-(CH₂)_m-R3、-(CH₂)_m-OH、-(CH₂)_m-O-低碳數烷基、-(CH₂)_m-O-低碳數烯基、-(CH₂)_n-O-(CH₂)_m-R3、-(CH₂)_m-SH、-(CH₂)_m-S-低碳數烷基、-(CH₂)_m-S-低碳數烯基或-(CH₂)_n-S-(CH₂)_m-R3；

R2在每次出現時表示氫、低碳數烷基、低碳數炔基、 $-(CH_2)_m-R3$ 、 $-C(=O)-$ 烷基、 $-C(=O)-$ 烯基、 $-C(=O)-$ 炔基或 $-C(=O)-(CH_2)_m-R3$ ；

R3在每次出現時表示氫或經取代或未經取代之低碳數烷基、低碳數烯基、芳基、芳烷基、環烷基、環烯基或雜環；

R4表示氫、低碳數烷基、低碳數烯基、低碳數炔基、 $-(CH_2)_m-R3$ 、 $-(CH_2)_n-OH$ 、 $-(CH_2)_n-O-$ 低碳數烷基、 $-(CH_2)_n-O-$ 烯基、 $-(CH_2)_n-O-$ 炔基、 $-(CH_2)_n-O-(CH_2)_m-R7$ 、 $-(CH_2)_n-SH$ 、 $-(CH_2)_n-S-$ 低碳數烷基、 $-(CH_2)_n-S-$ 低碳數烯基、 $-(CH_2)_n-S-$ 低碳數炔基、 $-(CH_2)_n-S-(CH_2)_m-R3$ 、 $-C(O)C(O)NH_2$ 或 $-C(O)C(O)OR8$ ；

R5表示O或S；

R6表示 $N3$ 、SH、 NH_2 、 NO_2 或 $OR8$ ；

R7表示氫、低碳數烷基、胺、 $OR8$ 或醫藥學上可接受之鹽，或R5及R6與其所附接之磷原子連在一起完成在環結構中具有5至8個原子之雜環；

R8表示氫、經取代或未經取代之烷基、烯基、芳基、芳烷基、環烷基、環烯基或雜環基；

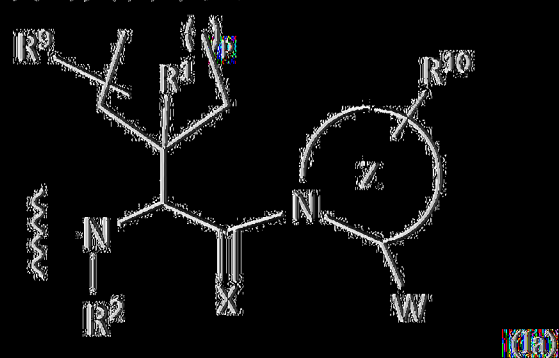
R9及R10不存在或各自獨立地表示一個、二個或三個其隨附之環A或環Z之取代，其中之每一者可獨立地為鹵素、低碳數烷基、低碳數烯基、低碳數炔基、羰基(諸如羧基、酯、甲酸酯或酮)、硫羰基(諸如硫酯、硫乙酸酯或硫甲酸酯)、胺基、醯基胺基、醯胺基、氰基、異氰基、硫氰基、異硫氰基、氰酸酯基、硝基、疊氮基、硫酸根、磷酸根、磺醯胺基、低碳數烷基- $C(O)OH$ 、 $-O-$ 低碳數烷基- $C(O)OH$ 、-胍基； $-(CH_2)_m-R7$ 、 $-(CH_2)_m-OH$ 、 $-(CH_2)_m-O-$ 低碳數烷基、 $-(CH_2)_m-O-$ 低碳數烯基、

$(CH_2)_n \cdot O \cdot (CH_2)_m \cdot R^3$ 、 $\cdot (CH_2)_m \cdot SH$ 、 $\cdot (CH_2)_m \cdot S \cdot$ 低碳數烷基、 $\cdot (CH_2)_m \cdot S \cdot$ 低碳數烯基、 $\cdot (CH_2)_n \cdot S \cdot (CH_2)_m \cdot R^3$ ；

n 為 0、1、2 或 3；以及

m 為 0、1、2 或 3。

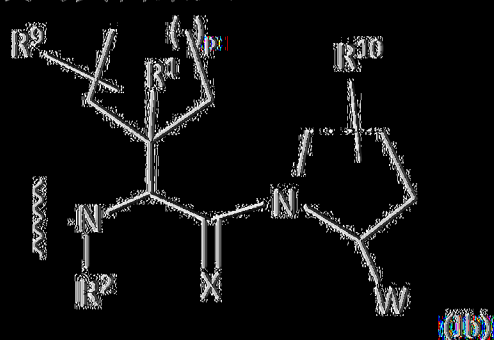
[0238] 在一些實施例中，式 I 之免疫-DASH 抑制劑表示於式 Ia 中，或為其醫藥鹽：



其中 X、W、Z、 R^1 、 R^2 、 R^9 及 R^{10} 如上文關於式 I 所定義，且 p 為 1、2 或 3。

[0239] 在 Ia 之一些較佳實施例中： R^1 為低碳數烷基； R^9 不存在或在每次出現時獨立地為低碳數烷基、 $\cdot OH$ 、 $\cdot NH_2$ 、 $\cdot N_3$ 、 $\cdot$ 低碳數烷基- $C(O)OH$ 、 $\cdot O \cdot$ 低碳數烷基、 $\cdot O \cdot$ 低碳數烷基- $C(O)OH$ 、 $\cdot$ 醚基；X 為 O；各 R^2 為氫， R^{10} 不存在或表示 $\cdot OH$ 、 $\cdot NH_2$ 、 $\cdot CN$ 或 $\cdot N_3$ 之單一取代；且 W 為 $\cdot B(OH)_2$ 或 $\cdot CN$ (且更佳為 $\cdot B(OH)_2$)。

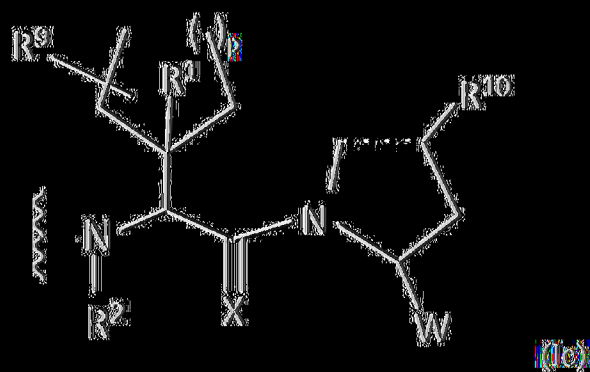
[0240] 在一些實施例中，式 I 之免疫-DASH 抑制劑表示於式 Ib 中，或為其醫藥鹽：



其中X、W、R¹、R²、R⁹及R¹⁰如上文關於式I所定義，且p為1、2或3。

[0241] 在Ib之一些較佳實施例中：R¹為低碳數烷基；R⁹不存在或在每次出現時獨立地為低碳數烷基、-OH、-NH₂、-N₃、-低碳數烷基-C(O)OH、-O-低碳數烷基、-O-低碳數烷基-C(O)OH、-醚基；X為O；各R²為氫，R¹⁰不存在或表示-OH、-NH₂、-CN或-N₃之單一取代；且W為-B(OH)₂或-CN (且更佳為-B(OH)₂)。

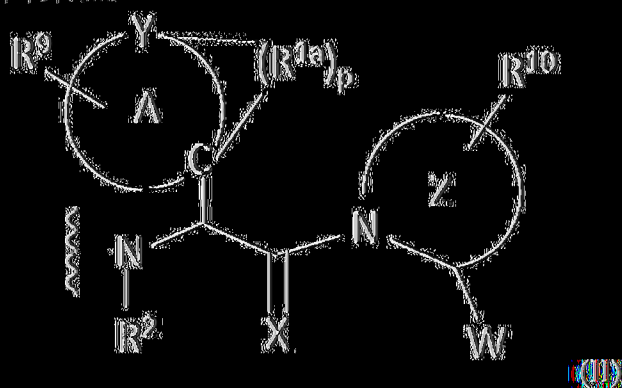
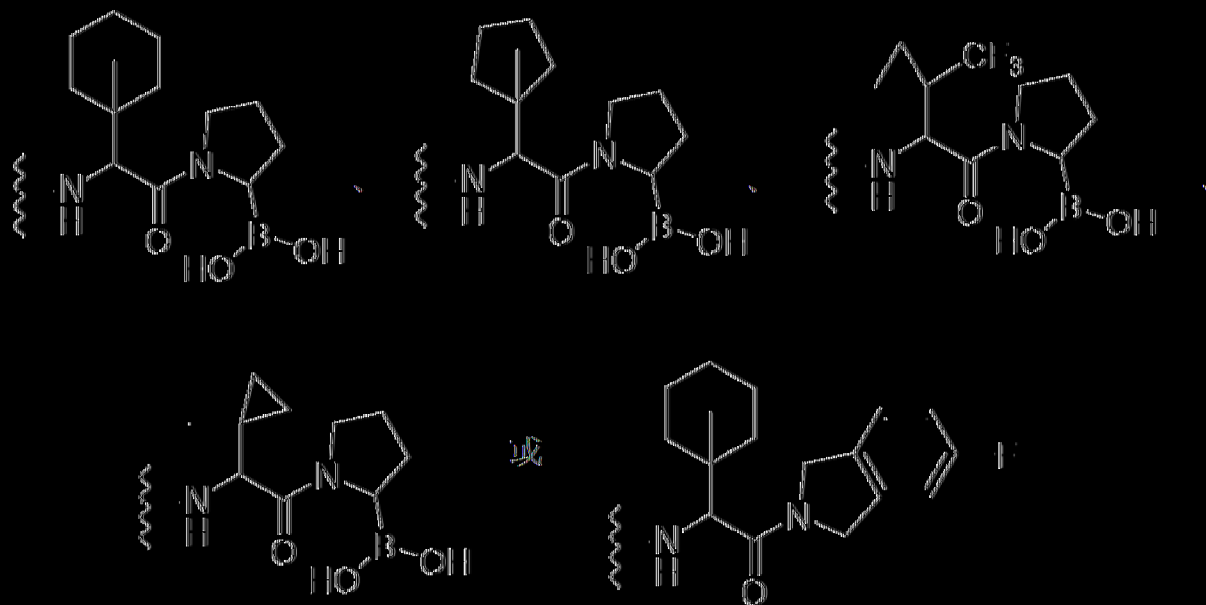
[0242] 在一些實施例中，式I之免疫-DASEI抑制劑表示於式Ic中，或為其醫藥鹽：



其中X、W、R¹、R²、R⁹及R¹⁰如上文關於式I所定義，且p為1、2或3。

[0243] 在Ic之一些較佳實施例中：R¹為低碳數烷基；R⁹不存在或在每次出現時獨立地為低碳數烷基、-OH、-NH₂、-N₃、-低碳數烷基-C(O)OH、-O-低碳數烷基、-O-低碳數烷基-C(O)OH、-醚基；X為O；各R²為氫，R¹⁰不存在或表示-OH、-NH₂、-CN或-N₃之單一取代；且W為-B(OH)₂或-CN (且更佳為-B(OH)₂)。

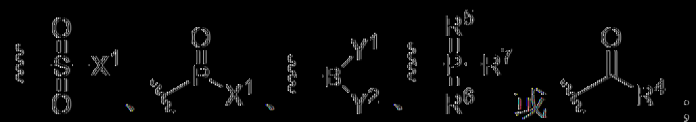
[0244] 在一些實施例中，免疫-DASEI抑制劑由以下表示：



美 國

環A以及R1a在每次出現時表示7-12員多環結構：

環%表示包括N及C α 碳之4-10員雜環



X为O或S

X1表示函数 0 9

Y為C或N；

Y1及Y2獨立地為OH，或與其所附接之硼原子一起表示可水解成硼酸之基團，或與其所附接之硼原子一起形成可水解成硼酸之5-8員環；

R1a表示低碳數烷基、 $-(CH_2)_m-$ 、 $-(CH_2)_m-O-(CH_2)_m-$ ； $-(CH_2)_m-N-(CH_2)_m-$ ；或 $-(CH_2)_m-S-(CH_2)_m-$ 。

R2在每次出現時表示氫、低碳數烷基、低碳數炔基、 $-(CH_2)_m-R3$ 、 $-C(=O)-$ 烷基、 $-C(=O)-$ 烯基、 $-C(=O)-$ 炔基或 $-C(=O)-(CH_2)_m-R3$ ；

R3在每次出現時表示氫或經取代或未經取代之低碳數烷基、低碳數烯基、芳基、芳烷基、環烷基、環烯基或雜環；

R4表示氫、低碳數烷基、低碳數烯基、低碳數炔基、 $-(CH_2)_m-R3$ 、 $-(CH_2)_n-OH$ 、 $-(CH_2)_n-O-$ 低碳數烷基、 $-(CH_2)_n-O-$ 烯基、 $-(CH_2)_n-O-$ 炔基、 $-(CH_2)_n-O-(CH_2)_m-R7$ 、 $-(CH_2)_n-SH$ 、 $-(CH_2)_n-S-$ 低碳數烷基、 $-(CH_2)_n-S-$ 低碳數烯基、 $-(CH_2)_n-S-$ 低碳數炔基、 $-(CH_2)_n-S-(CH_2)_m-R3$ 、 $-C(O)C(O)NH_2$ 或 $-C(O)C(O)OR8$ ；

R5表示O或S；

R6表示N3、SH、NH₂、NO₂或OR8；

R7表示氫、低碳數烷基、胺、OR8或醫藥學上可接受之鹽，或R5及R6與其所附接之磷原子連在一起完成在環結構中具有5至8個原子之雜環；

R8表示氫、經取代或未經取代之烷基、烯基、芳基、芳烷基、環烷基、環烯基或雜環基；

R9及R10不存在或各自獨立地表示一個、二個或三個其隨附之環A或環Z之取代，其中之每一者可獨立地為鹵素、低碳數烷基、低碳數烯基、

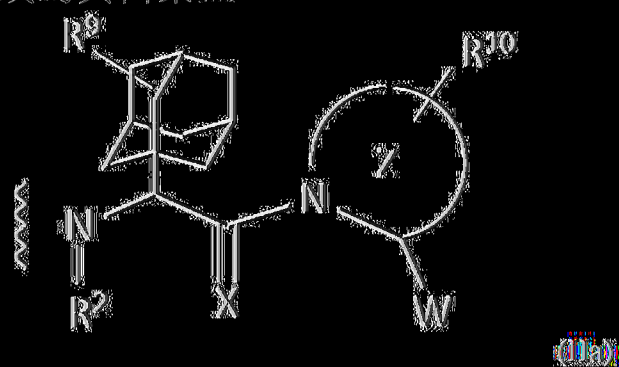
低碳數炔基、羧基(諸如羧基、酯、甲酸酯或酮)、硫羧基(諸如硫酯、硫乙酸酯或硫甲酸酯)、胺基、鹽基胺基、鹽胺基、氰基、異氰基、硫氰基、異硫氰基、氰酸酯基、硝基、疊氮基、硫酸根、磺酸根、磺醯胺基、低碳數烷基-C(O)OH、-O-低碳數烷基-C(O)OH、-胍基； $-(CH_2)_m-R^1$ 、 $-(CH_2)_m-OH$ 、 $-(CH_2)_m-O$ -低碳數烷基、 $-(CH_2)_m-O$ -低碳數烯基、 $-(CH_2)_m-O-(CH_2)_m-R^3$ 、 $-(CH_2)_m-SH$ 、 $-(CH_2)_m-S$ -低碳數烷基、 $-(CH_2)_m-S$ -低碳數烯基、 $-(CH_2)_m-S-(CH_2)_m-R^3$ ；

n 為0、1、2或3；

m 為0、1、2或3；且

p 為1、2或3。

[0246] 在一些實施例中，式III之免疫-DASEI抑制劑表示於式IIIa中，或為其醫藥鹽：

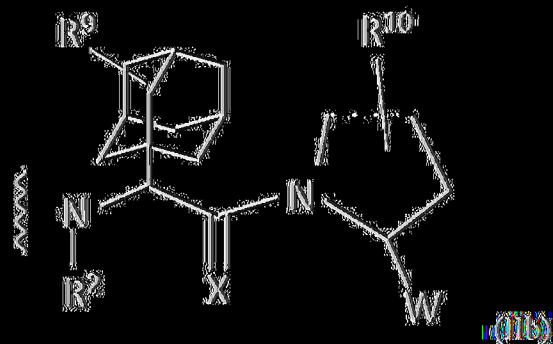


其中X、W、Z、R²、R⁹及R¹⁰如上文關於式III所定義。

[0247] 在IIIa之一些較佳實施例中：R⁹在每次出現時獨立地為低碳數烷基、-OH、-NH₂、-N₃、-低碳數烷基-C(O)OH、-O-低碳數烷基、-O-低碳數烷基-C(O)OH、-胍基；X為O；各R²為氫，R¹⁰不存在或表示-OH、-NH₂、-CN或-N₃之單一取代；且W為-B(OH)₂或-CN（且更佳為-B(OH)₂）。

[0248] 在一些實施例中，式III之免疫-DASEI抑制劑表示於式IIIb

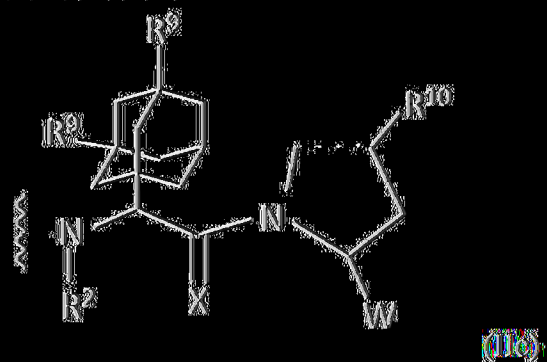
中，或為其醫藥鹽：



其中X、W、R₂、R₉及R₁₀如上文關於式III所定義。

[0249] 在IIIb之一些較佳實施例中：R₉或在每次出現時獨立地為低碳數烷基、-OH、-NH₂、-N₃、-低碳數烷基-C(O)OH、-O-低碳數烷基、-O-低碳數烷基-C(O)OH、-胍基；X為O；各R₂為氫，R₁₀不存在或表示-OH、-NH₂、-CN或-N₃之單一取代；且W為-B(OH)₂或-CN（且更佳為-B(OH)₂）。

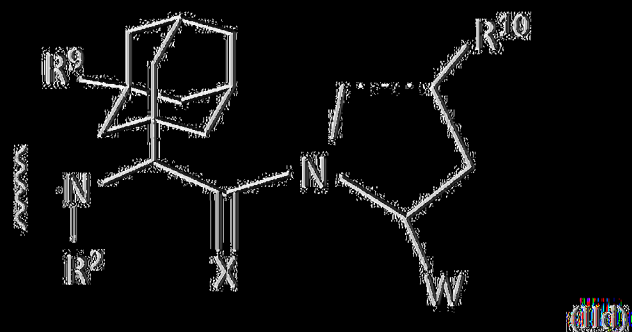
[0250] 在一些實施例中，式III之免疫-DASEI抑制劑表示於式IIIc中，或為其醫藥鹽：



其中X、W、R₂、R₉及R₁₀如上文關於式III所定義。

[0251] 在IIIc之一些較佳實施例中：R₉在每次出現時獨立地為低碳數烷基、-OH、-NH₂、-N₃、-低碳數烷基-C(O)OH、-O-低碳數烷基、-O-低碳數烷基-C(O)OH、-胍基；X為O；各R₂為氫，R₁₀不存在或表示-OH、-NH₂、-CN或-N₃之單一取代；且W為-B(OH)₂或-CN（且更佳為-B(OH)₂）。

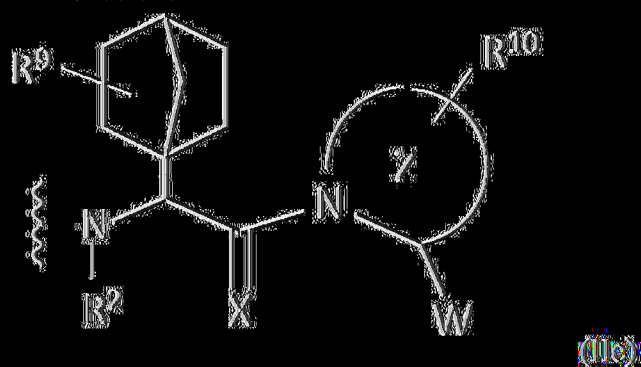
〔0252〕 在一些實施例中，式III之免疫-DASEI抑制劑表示於式III_d中，或為其醫藥鹽：



其中X、W、R²、R⁹及R¹⁰如上文關於式III所定義。

〔0253〕 在III_d之一些較佳實施例中：R⁹在每次出現時獨立地為低碳數烷基、-OH、-NH₂、-N₃、-低碳數烷基-C(O)OH、-O-低碳數烷基、-O-低碳數烷基-C(O)OH、-胍基；X為O；各R²為氫，R¹⁰不存在或表示-OH、-NH₂、-CN或-N₃之單一取代；且W為-B(OH)₂或-CN（且更佳為-B(OH)₂）。

〔0254〕 在一些實施例中，式III之免疫-DASEI抑制劑表示於式III_e中，或為其醫藥鹽：

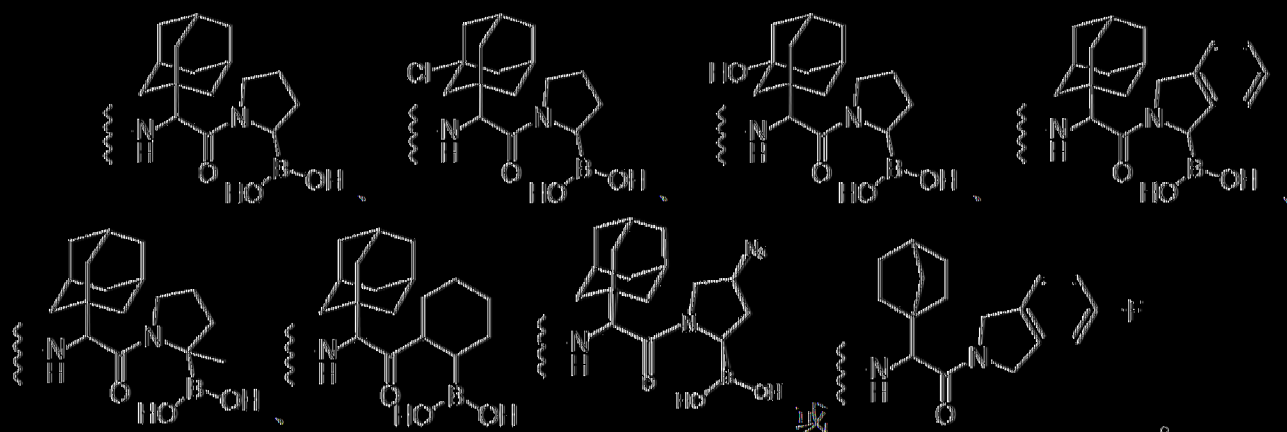


其中X、W、Z、R²、R⁹及R¹⁰如上文關於式III所定義。

〔0255〕 在III_e之一些較佳實施例中：R⁹在每次出現時獨立地為低碳數烷基、-OH、-NH₂、-N₃、-低碳數烷基-C(O)OH、-O-低碳數烷基、-O-低碳數烷基-C(O)OH、-胍基；X為O；各R²為氫，R¹⁰不存在或表示-OH、-NH₂、-CN或-N₃之單一取代；Z為吡咯啉或哌啶環（且更佳為吡咯啉）。

吡環)；ILW為-B(OH)₂或-CN (且更佳為-B(OH)₂)。

[(0256)] 在一些實施例中，免疫-iDASE抑制劑為以下中之一者：



[(0257)] 根據本發明使用之iDASE抑制劑之其他非限制性實例描述於2019年12月12日公佈之國際公開案第WO 2019/23656/號中，其以引用之方式併入本文中。

干擾素基因刺激蛋白(STING)促效劑

[(0258)] 在一些實施例中，游離治療部分為STING促效劑。干擾素基因刺激蛋白(STING)促效劑結合至STING，活化STING路徑，其促進I κ K相關激酶TANK結合激酶1 (TBK1)信號傳導。TBK1信號傳導活化腫瘤微環境中免疫細胞中之核因子- κ B (NF- κ B)及干擾素調節因子3 (IRF3)。其活化引起促炎性細胞介素(包括干擾素(IFN))之產生。IFN- β 之表現促進CD8 α^+ 及CD103 $^+$ 樹突狀細胞之腫瘤相關抗原交叉呈遞至細胞毒性T淋巴球(CTL)。此產生針對腫瘤細胞之CTL介導之免疫反應且引起腫瘤細胞溶解。

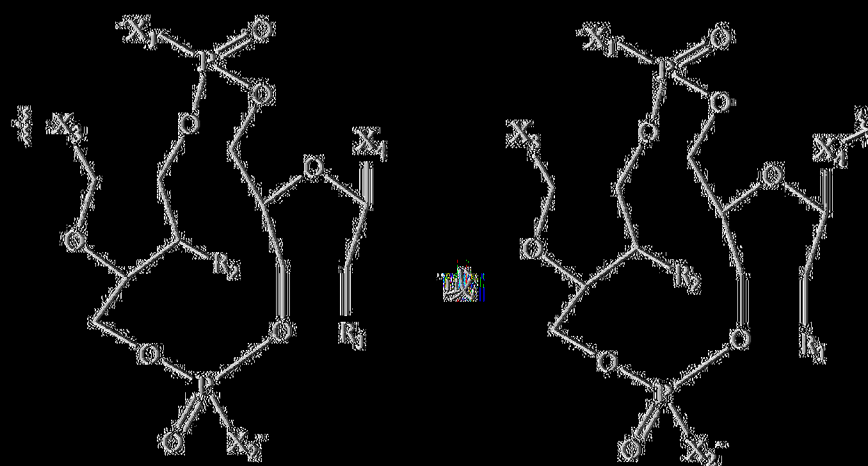
[(0259)] STING促效劑包括環二核苷酸及其衍生物，諸如經修飾之環二核苷酸，包括例如經修飾之核鹼基、經修飾之核糖或經修飾之磷酸酯鍵。在一些實施例中，經修飾之環狀二核苷酸包含經修飾之磷酸鍵，例如硫代磷酸。在一些實施例中，STING促效劑包含具有2',5'或3',5'磷酸酯鍵

之環狀二核苷酸(例如經修飾之環狀二核苷酸)。在一些實施例中，STING 促效劑包括圍繞磷酸酯鍵具有Rp或Sp立體化學之環二核苷酸。

【0260】 在一些實施例中，STING促效劑為Rp、Rp二硫基2', 3' c-二-AMP (例如Rp, Rp-二硫基c- [A (2', 5') pA (3', 5') p])或其環狀二核苷酸類似物。在一些實施例中，STING促效劑為美國專利公開案US 2015/0056224中所描述之化合物。在一些實施例中，STING促效劑為c-[G (2', 5') pG (3', 5') p]，即其經二硫基核糖O-取代之衍生物。在一些實施例中，STING促效劑為c- [A (2', 5') pA (3', 5') p]或其經二硫基核糖O-取代之衍生物。在一些實施例中，STING促效劑為c- [G (2', 5') pA (3', 5') p]或其經二硫基核糖O-取代之衍生物。在一些實施例中，STING促效劑為2'-O-炔丙基-環-[A (2', 5') pA (3', 5') p] (2'-O-炔丙基-ML-CDA)。

【0261】 STING促效劑亦包括咕噸酮(xanthone)及其衍生物，包括黃酮乙酸(FAA)、二苯并呋喃-乙酸(XAA)、二甲基二苯并呋喃酮-4-乙酸(DMXAA)及其衍生物。STING促效劑之實例包括ADU-S100 (ML-RR-S2-CDA或MIW815)、MK-1454、瓦迪美占(5,6-二甲基二苯并呋喃酮-4-乙酸(DMXAA))、2'3'-cGAMP、c-二-GMP、3'3'-cGAMP及ML-RR-CDA。

【0262】 STING促效劑之非限制性實例包括以如下通式之一者表示之促效劑：



其中

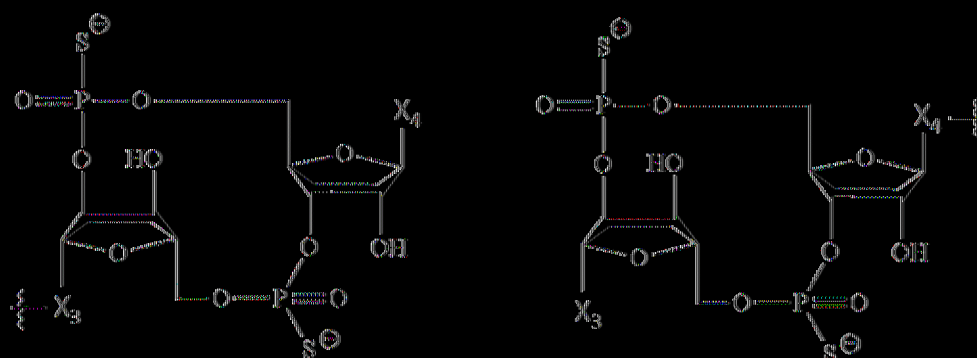
X_1 及 X_2 獨立地為O或S，且較佳為相同的(O、O或S、S)；

X_3 及 X_4 獨立地為嘌呤，諸如鳥嘌呤或鳥嘌呤類似物，或嘧啶，且其中波浪線指示與L1之共價附接位點，或其中L1為與受質識別序列之鍵；

R_1 及 R_2 獨立地為H、經基、鹵素(較佳Br或Cl)或視情況經取代之1至18個碳原子及0至3個雜原子之直鏈烷基、視情況經取代之1-9個碳原子之烯基、視情況經取代之1-9個碳原子之炔基或視情況經取代之芳基，其中一或多個取代基(若存在)可獨立地選自由以下組成之群： C_{1-6} 烷基直鏈或分支鏈、苯甲基、鹵素、三鹵甲基、 C_{1-6} 烷氧基、 $-NO_2$ 、 $-NCl_2$ 、 $-OH$ 、 $-O$ 、 $-COOR'$ 或 $-OR'$ ，其中 R_1 及 R_2 兩者均不為H，

R' 為H或低碳數烷基、 $-CH_2OH$ 或 $-CONH_2$ 。

[(0263)] 在一些實施例中，STING促效劑以下式其中之一者表示：



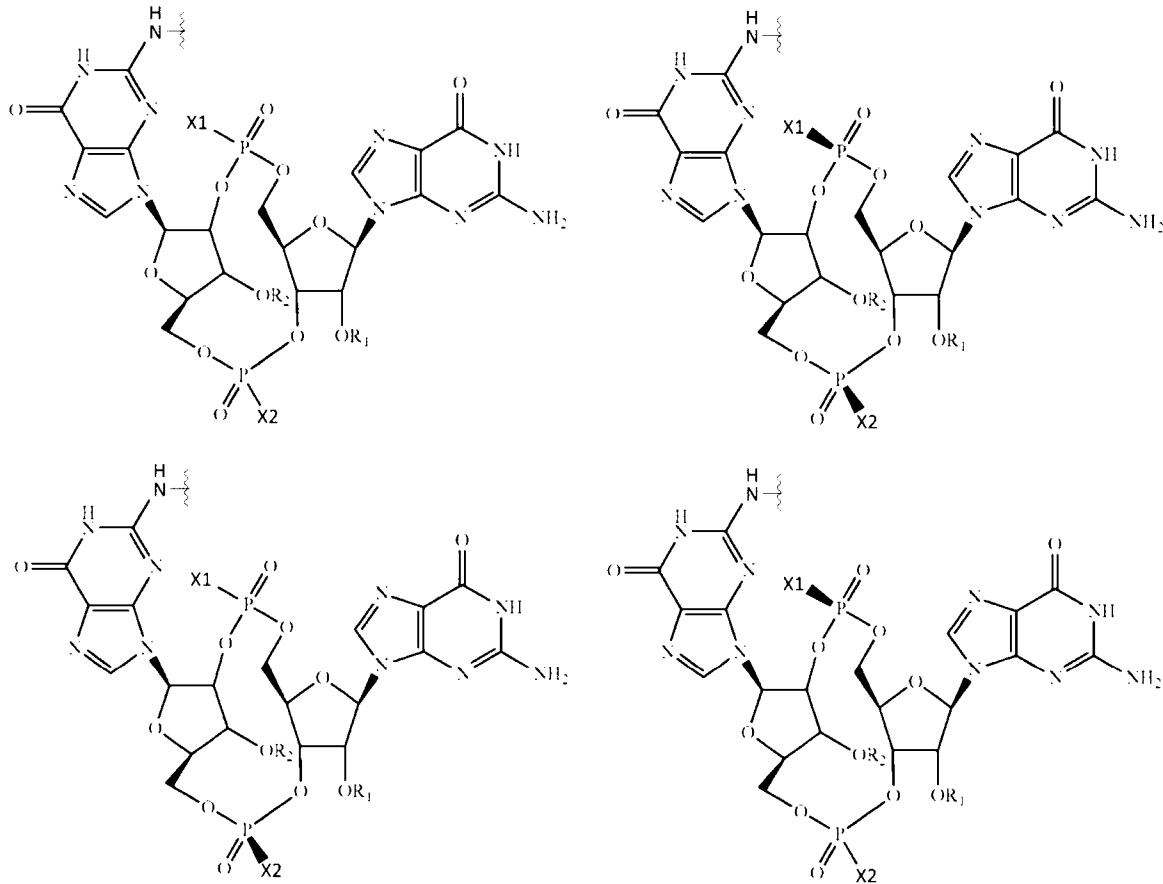
[(0264)] 在以上STING促效劑結構中， X_3 及 X_4 可各自獨立地為例如

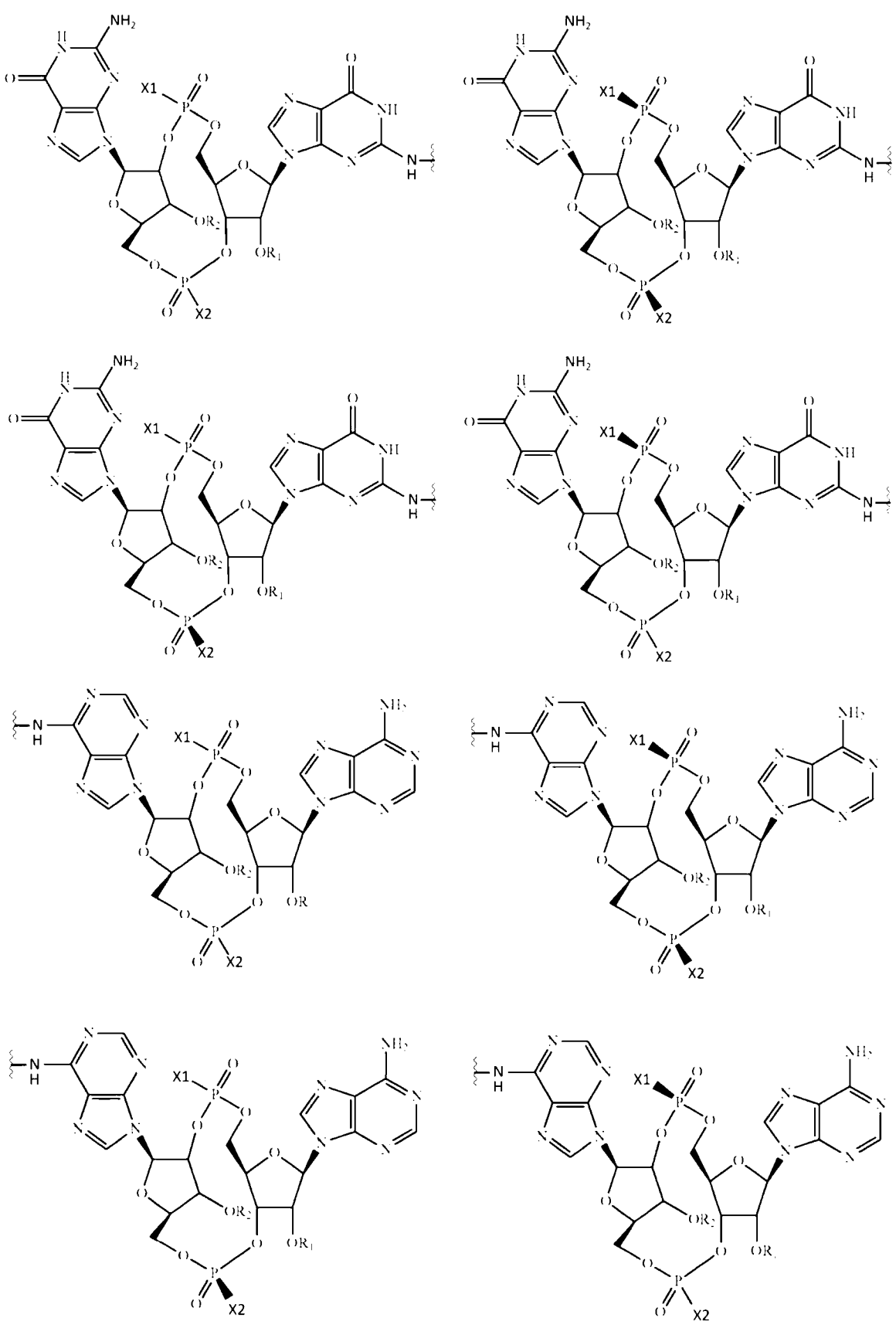
9-嘌呤、9-腺嘌呤、9-鳥嘌呤、9-次黃嘌呤、9-黃嘌呤、9-尿酸或9-異鳥嘌呤，限制條件為X₃或X₄中之一者包括在L²為自分解型連接子下與L²共用一鍵之官能基，或在L²為一鍵之情況下與DM共用一鍵之官能基。

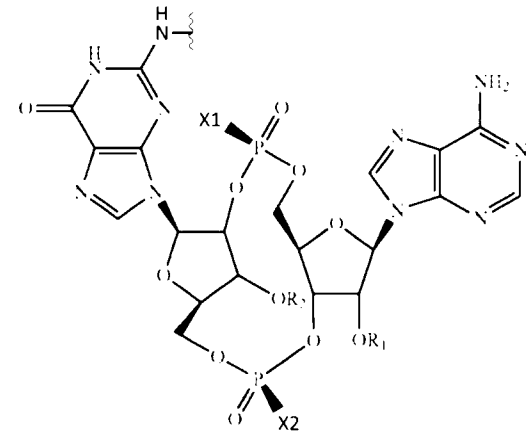
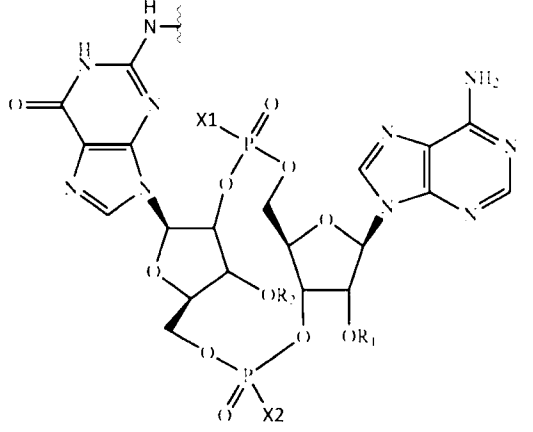
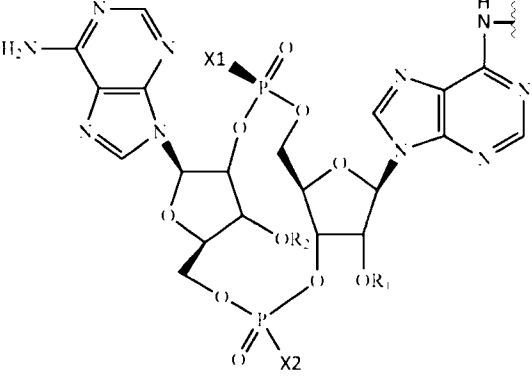
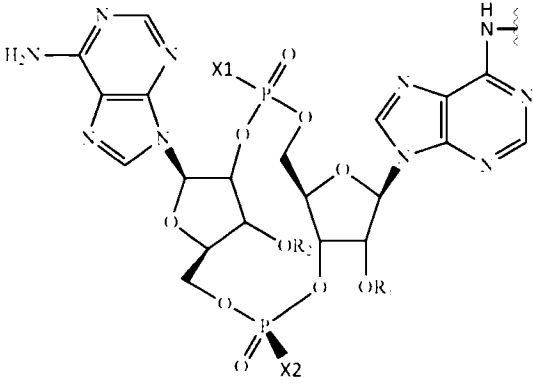
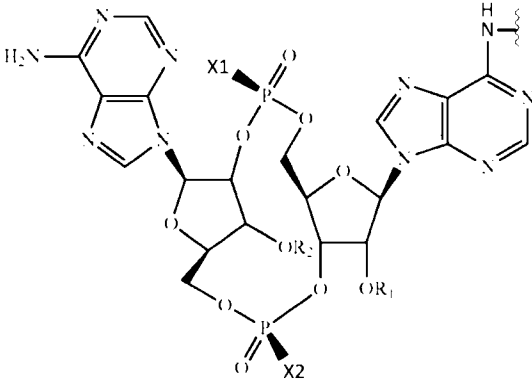
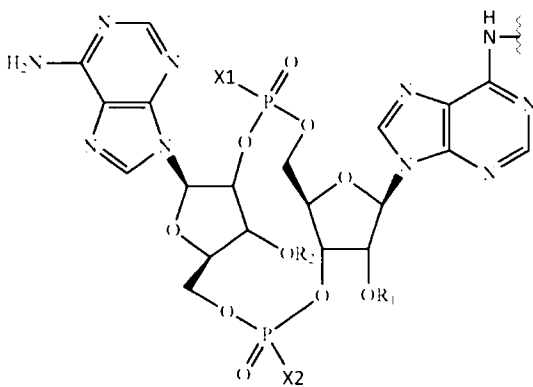
【0265】 X₃及X₄可相同或不同。

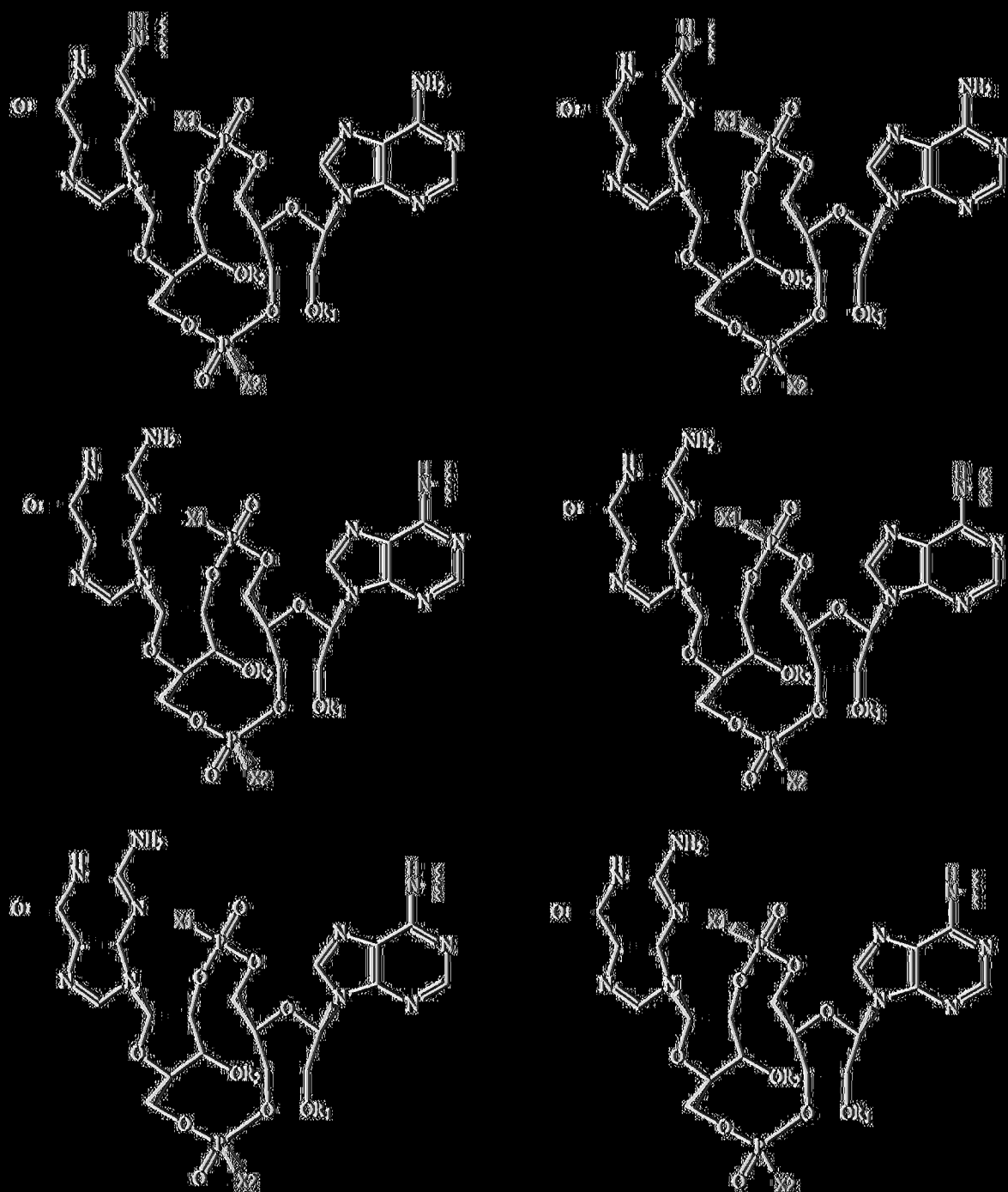
【0266】 在一些實施例中，STING促效劑可呈主要Rp,Rp或Rp,Sp立體異構體形式提供。在一些實施例中，STING促效劑可呈主要Rp,Rp立體異構體形式提供。

【0267】 例示性STING促效劑包括：

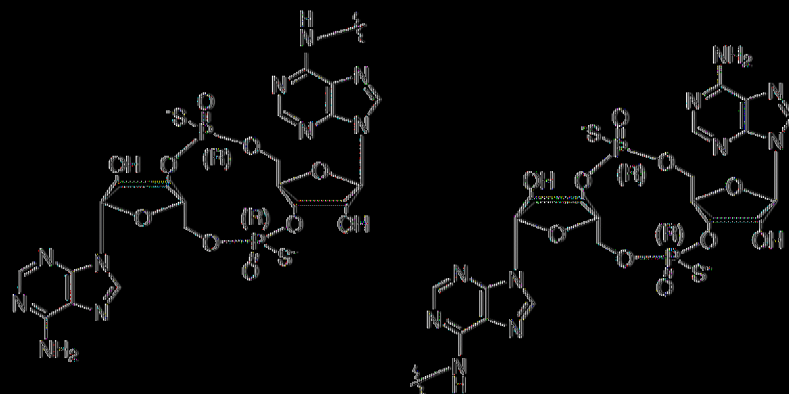




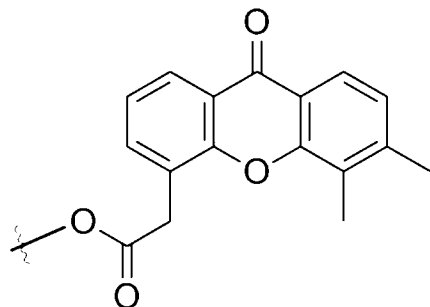




[0268] 在一些實施例中，STING促效劑以下結構中之一者表示：



【0269】 可用作本發明結合子結合物中之藥物部分的再一STING促效劑為



【0270】 熟習此項技術者亦應瞭解，尤其在使用自分解型連接子下，STING促效劑可與連接子經由除如上所示之胺外之官能基，諸如經由游離羥基偶合。

【0271】 根據本發明使用之STING促效劑之非限制性實例描述於2019年12月12日公佈之國際公開案第WO 2019/236567號中，其以引用之方式併入本文中。STING促效劑之其他實例描述於國際公開案第WO 2017/123669號及第WO 2015/077354號以及美國專利公開案第US 2015/0056224號中，其中之每一者特此以引用之方式併入。

【0272】 熟習此項技術者亦應瞭解，尤其在使用自分解型連接子下，STING促效劑可與連接子經由除如上所示之胺外之官能基，諸如經由游離羥基偶合。

蒽環黴素

【0273】 在一些實施例中，藥物部分為蒽環黴素或其衍生物，較佳小紅莓或能夠誘發腫瘤細胞之免疫原性細胞死亡之其他類似物。

【0274】 蒽環黴素及其類似物特別包括(但不限於)：小紅莓、道諾黴素、表柔比星、艾達黴素、吡柔比星、伐柔比星(valrubicin)、阿克拉黴素、米托蒽醌、放射菌素、博萊黴素、普卡黴素(plicamycin)及絲裂黴

^{169}Eu 、 ^{177}Lu 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{189}Re 、 ^{191}Os 、 ^{193}Pt 、 ^{194}Ir 、 ^{197}Hg 、 ^{199}Au 、 ^{203}Pb 、 ^{211}At 、 ^{212}Pb 、 ^{212}Bi 及 ^{213}Bi 。螯合劑使金屬配位之條件由例如Gansow等人, 美國專利第4,831,175號、第4,454,106號及第4,472,509號描述。螯合劑之實例包括1,4,7-三氮雜環壬烷-N,N',N''-三乙酸(NOTA) 1,4,7,10-四氮雜環十二烷-N,N',N'',N'''-四乙酸(DOTA) 1,4,8,11-四氮雜環十四烷-N,N',N'',N'''-四乙酸(TETA)。

治療結合物組合物及使用方法

【0276】 在一些實施例中，治療結合物與醫藥學上可接受之賦形劑一起調配以形成組合物。在一些實施例中，用醫藥學上可接受之賦形劑調配FAP α 可裂解連接子或SRS以形成組合物。若經聯邦政府或州政府之監管機構批准或可經其批准或在美國藥典或其他一般公認之藥典中列出用於動物，包括人類，則分子或其他物質/藥劑視為「醫藥學上可接受的」。賦形劑可為與治療結合物組合投與之任何惰性(非活性)、無毒劑。醫藥學上可接受之賦形劑包含此項技術中已知之多種物質，包括(但不限於)：醣(諸如葡萄糖、乳糖及其類似物)、防腐劑(諸如抗微生物劑)、復原助劑、著色劑、鹽水(諸如磷酸鹽緩衝鹽水)及緩衝劑。

【0277】 在一些實施例中，向個體投與治療結合物或組合物。個體可為任何動物(例如哺乳動物)，包括(但不限於)：人類、非人類靈長類動物、犬科動物、貓科動物及嚙齒動物。「個體」係指人類個體。在一些實施例中，個體具有患病組織，諸如癌症。

【0278】 因此，可向個體投與治療結合物或組合物以治療患病組織，諸如癌症。在一些實施例中，治療結合物用於製造供治療患病組織(例如癌症)用之藥劑。癌症之非限制性實例包括皮膚癌(例如黑色素瘤或

非黑色素瘤，諸如基底細胞或鱗狀細胞)、肺癌、前列腺癌、乳癌、結腸直腸癌、腎臟(腎)癌、膀胱癌、非霍奇金氏淋巴瘤(non - Hodgkin's lymphoma)、甲狀腺癌、子宮內膜癌、外分泌癌及胰臟癌。本文涵蓋其他癌症。如此項技術中已知，術語治療係指緩解至少一種與疾病(例如癌症)相關之症狀的方法。症狀可為疾病之身體、心理或病理學表現。與各種疾病相關之症狀為已知的。為治療或預防特定病狀，如本文所提供之治療結合物應以有效量投與，該量可為用於治療或預防病狀之任何量。因此，在一些實施例中，有效量為用於緩解與所治療之特定疾病相關之症狀的量。舉例而言，已知用於確定各種治療分子之有效量的方法。

【0279】投與途徑包括靜脈內、肌肉內、瘤內、腹膜內、鼻內及皮下。本發明涵蓋其他投與途徑。

【0280】因此，本發明之治療結合物可經調配用於靜脈內、肌肉內、瘤內、腹膜內、鼻內或皮下投與。

實例

實例1-治療結合物之抗腫瘤活性

【0281】產生包含經由FAP α -可裂解連接子結合於塔拉司他(Val-boroPro)之Fc的治療結合物且注射至同基因型模型CT26-mFAP+小鼠中，該等小鼠用於小鼠結腸癌且具有FAP α 基因嵌入。在20天內量測小鼠中之腫瘤體積九次。如圖2中可見，注射治療結合物(「SQT-Gly」組)之小鼠之腫瘤體積比注射包含細胞結合部分(之治療結合物「AVA04-182組)及對照之其對應小鼠中之一些更低。不希望受理論所束縛，認為AVA04-182組未如同SQT-Gly組起作用，因為其藉由抗藥物抗體清除。

【0282】亦進行藥物動力學研究。亦以不同劑量注射治療結合物且

歷經50小時量測游離塔拉司他之量。如**圖3**中可見，治療結合物展示優先瘤內暴露於FAP-釋放之iDASH抑制劑。

實例2-EC₅₀研究

【0283】 進行半數最大有效濃度(EC₅₀)研究以檢查單獨投與塔拉司他之小鼠與大鼠(**圖4A**)及投與包含塔拉司他之治療結合物之小鼠與大鼠(**圖4B**)之間的差異。當單獨投與塔拉司他時，塔拉司他最大耐受劑量(MTD)在小鼠腫瘤模型中為約3 mg/m²且在大鼠中為0.18 mg/m²。亦即，塔拉司他MTD為1/17腫瘤模型EC₅₀ (**圖4A**)。相比之下，當作為治療結合物之一部分投與塔拉司他時，在小鼠模型中MTD為160 mg/m²且大鼠之EC₅₀大於500 mg/m² (**圖4B**)。作為治療結合物之一部分之塔拉司他可以治療有效劑量投與大鼠及小鼠。

實例3-活體內腫瘤研究

【0284】 向CT26-mFAP+小鼠注射媒劑(**圖5A**)、包含細胞結合部分之治療結合物(**圖5B**)、或經由FAP α -可裂解連接子結合至塔拉司他(Val-boroPro)之Fc (**圖5C**)，且歷經22天量測腫瘤體積。在媒劑組中，10隻小鼠中之零隻展示腫瘤體積減少且在研究結束之前(約第20天)處死所有小鼠。在接受包含細胞結合部分之治療結合物之組中，10隻小鼠中之三隻具有減少回至基線之腫瘤體積。相比之下，本文所描述之治療結合物(無細胞結合部分)導致十隻中之六隻具有在研究期間減少回至基線之腫瘤體積。此外，在研究期間量測小鼠之體重且計算體重變化百分比(**圖5D**)。所量測之小鼠中無一者具有大於15%之體重變化百分比。

【0285】 在另一組實驗中，向CT26-mFAP+小鼠注射媒劑(對照)、200 μ g或400 μ g MSA-6325 (與6325結合之小鼠血清白蛋白)或740 μ g

PEG-6325 (與SUNBRIGHT PTE-200 PA反應之6325，20KDa 4組功能性PEG)，且隨時間推移量測腫瘤體積之變化(圖7)。「6325」(圖6A)為包括NHS群組以結合至蛋白質之離胺酸殘基之例示性FAP活化之I-DASH抑制劑。

【0286】在另一組實驗中，向CT26-mFAP+小鼠注射與6325結合之人類Fc片段(圖8A)或與6325結合之完整人類IgG抗體(圖8B)，且隨時間推移量測腫瘤體積變化。

實例4-活體外研究

【0287】在其他活體外研究中，測試若干結合物在不存在及存在FAP α 下誘導J774細胞中之細胞焦亡的能力。簡言之，將J774A.1小鼠巨噬細胞細胞株細胞在存在或不存在最終濃度為25 nM之rhFAP α 下在具有VbP之連續10倍稀釋液(資料未示出)或FAP活化之I-DASH抑制劑(Hu IgG1 Fc-6325、Hu IgG1-6325、MSA-6325、SQT-Gly V.2-6325、SQT-Gly CF-6325或SQT-Gly CG-6325)中之一者的重複孔中培養24小時。各實驗包括未處理之對照。在培育之後，釋放至培養上清液中之乳酸脫氫酶(LDH，細胞焦亡之標記)之水準係使用根據製造商說明書之CytoTox 96非放射性細胞毒性分析來量測。結果以LDH釋放之倍數增加形式展示於圖17中。所測試之所有結合物在具有或不具有統計學上顯著之FAP α 之情況下展現明顯分化。對於單獨的VbP(資料未示出)而言不為此情形，表明變化反應歸因於藉由FAP α 活化前藥。

【0288】在額外研究中，檢測兩種前藥(6323及6501 (圖6C))與huIgG1 Fc之鉸鏈區半胱胺酸殘基之結合。簡言之，將化合物順丁烯二醯亞胺連接子前藥(6323及6501)以100 mM之濃度溶解於DMSO中。將6323

或6501添加至還原的Fc中且在室溫下培育樣本。未反應之6323或6501用Zeba旋轉管柱移除。在量測游離硫醇(SH)基團之前，再次使樣本還原，且藉由使樣本再次在Zeba旋轉去鹽管柱上通過來移除二硫蘇糖醇(DTT)。硫醇基之結合係藉由使用Ellman試劑量測游離SH基團來測定。使用66500 $\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ 之消光係數，由在280 nm下之吸光度測定還原Fc樣本之濃度。結合係以每莫耳還原之SH (每Fc 4 SH) 0、10、20及40莫耳6323或6501之反應比率進行。Fc上之游離SH基團之數目藉由結合至6323 (圖18A)或6501 (圖18B)而減少表示為游離SH基團相對於反應比率之變化。

【0289】 進行6323與AFFIMER®-Fc蛋白之結合相關之研究。將化合物順丁烯二醯亞胺連接子前藥(6323)以100 mM之濃度溶解於DMSO中。自在280 nm下之吸光度測定還原之SQTGlyCF樣本之濃度。將6323添加至經還原之SQTGlyCF中，且在室溫下培育樣本。未反應之6323用Zeba旋轉管柱移除。在量測游離SH基團之前，再次如上文所描述使樣本還原以確保任何未反應之半胱胺酸減少。硫醇基之結合係藉由使用Ellman試劑量測游離SH基團來測定。使用14,150 $\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ 之消光係數由412 nm下之吸光度測定硫醇之濃度。

【0290】 每SQTGlyCF之硫醇之數目計算為硫醇濃度與蛋白質濃度之比率($[\text{SH}]/[\text{SQTGlyCF}]$)。結合係以每莫耳還原之SH (每SQTGlyCF 4 SH) 0、10、20及40莫耳6323之反應比率進行。游離SH基團相對於反應比率之改變展示於圖24A中。用每SH 40 6323之反應比率進行定時結合反應，其中在添加6323之後0、5、10、15及20分鐘時停止反應。6323與SQTGlyCF之結合動力學與每SH基團40 6323之反應比率展示於圖24B中。

實例5-藥物動力學研究(腫瘤小鼠模型)

【0291】 在鼠類癌症模型中檢驗不同化合物之藥物動力學。小鼠(BALB/c)在右側腹皮下接種 5×10^5 個CT26-mFAP細胞。使腫瘤建立，其後，用或不用5057 (FAP α 抑制劑)處理動物24小時。隨後，用hu IgG1 Fc-6325 (Fc-6325, 200 μ g/隻動物)處理動物1、4、6、24及48小時。在指定時間點處，收集血液及腫瘤樣本以在LC-MS上量測Val-boroPro (VbP)。在所有時間點處，用Fc-6325處理在腫瘤中產生比在血清中更高濃度之VbP。FAP α 抑制劑顯著地降低VbP之含量，24小時及48小時時腫瘤中之VbP之值大於1-6小時。認為此係由於FAP抑制在6-24小時時段期間減弱。展示血清(圖19A)或腫瘤(圖19B)樣本之VbP (nM)隨時間(小時)推移之濃度。各時間點包括每組3隻小鼠。

【0292】 接下來，測試不同化合物之結合物。小鼠(n=10隻/組，BALB/c)在右側腹皮下接種 5×10^5 個CT26-mFAP細胞。一旦腫瘤體積平均為大致50-100 mm³，則腹膜內注射結合物。一週兩次投與處理持續3週。展示具有媒劑(對照)或SQT-Gly結合物(圖20A)或Hu IgG1 Fc結合物(圖20B)之CT26-mFAP⁺小鼠中腫瘤體積隨時間推移之變化。在圖20A-20B中，虛線表示每週兩次(BIW)給藥。所測試之SQT-Gly結合物如下：與6325 (NHS)或6323 (MAL)結合之SQT-Gly V.2 (IgG1 Fc)及與6325或6323結合之SQT-Gly CF (IgG1 LALA Fc)。所測試之hu IgG1 Fc結合物如下：與6325或6323或6501 (四聚前藥；圖6C)結合之Hu IgG1 Fc片段。所有經結合物處理之小鼠在第20天相較於媒劑對照組具有減小的腫瘤大小。NHS (6325)或MAL (6323或6501)結合物之功效在SQT-Gly與hu IgG1 Fc之半衰期延長版本之間相當。

【0293】 另外，檢測自不同FAP活化之前藥釋放之VbP的藥物動力學及組織分佈。小鼠(BALB/c)在右側腹皮下接種 5×10^5 個CT26-mFAP細胞。使腫瘤建立，其後，動物經由24 μg 3892 (3892之結構展示於圖28中)、1138 μg 3892、52 μg 6323、56 μg 6325或1113 μg 6435 (N-Ac-Lys-6325)之200 μL 腹膜內注射來給藥。各給藥組係由5個群組之子組組成，表示除24 μg 3892之外的1、4、6、24及48小時收集時間點($n=3$ 隻/組)，其僅由1、4及24小時組成。在收集時間點處，收集血液及腫瘤樣本以在LC-MS上量測VbP水準。在前藥投與後血清及腫瘤中之VbP濃度相對於時間表示於圖21中。相較於僅20 μg VbP，1138 μg 劑量之3892及1113 μg 劑量之6435 (N-Ac-Lys-6325)分別表示所釋放之VbP之25 $\times$ 及10 $\times$ 當量。兩者均展現類似於單獨的VbP的血清及腫瘤分佈概況，其中峰值濃度在給藥之後1小時出現，隨後隨時間推移穩定下降。選擇24 μg 3892、52 μg 6325及56 μg 6325之較低前藥劑量以表示含有與結合物相關之VbP濃度的估算值。6323及6325兩者產生大致200 nM腫瘤VbP之濃度，其在早期時間點處保持穩定，隨後自24至48小時增加至400 nM。

【0294】 隨後，檢測自SQT-Gly V.2-結合物及IgG Fc-結合物釋放之VbP的藥物動力學及組織分佈。小鼠(BALB/c)在右側腹皮下接種 5×10^5 個CT26-mFAP細胞。使腫瘤建立，其後動物經由SQT-Gly V.2-6323、SQT-Gly V.2-6325、小鼠IgG2a Fc-6325或Hu IgG1 Fc-6325之(200 μg /200 μL)腹膜內注射來給藥。各給藥組係由5個群組之子組組成，表示1、4、6、24及48小時收集時間點($n=3$ 隻/組)。在收集時間點處，收集血液及腫瘤樣本以使用LC-MS量測VbP水準。展示投與SQT-Gly V.2-結合物(圖22A)或IgG Fc-結合物((22B)後血清及腫瘤中之VbP濃度相對於時間

變化。

【0295】 評估 SQT-Gly V.2-6323之血清及腫瘤PK/TD曲線以與SQT-Gly V.2-6325比較。儘管SQT-Gly V.2-6325之血清VbP水準在所有測試時間點保持較低(<10 nM)，但SQT-Gly V.2-6323在1小時時產生高於SQT-Gly V.2-6325之峰值>10倍(37對3 nM)，潛在地表明MAL結合位點增加了由血清FAP進行之前藥裂解之可接近性。SQT-Gly V.2-6323之腫瘤VbP水準亦較高，其可進一步支持MAL結合物之前藥活化增加。

【0296】 評估Mu IgG2a Fc-6325以與Hu IgG1 Fc-6325進行比較。可能的是後者之功效不僅歸因於其作為延長的半衰期前藥之設計，且亦由於由外來抗原(Hu IgG1 Fc)之存在觸發之繼發性免疫反應的結果。由於Mu IgG2a Fc具有小鼠來源，因此其經設計以繞過此問題。兩者之PK/TD曲線非常類似。對於針對Hu IgG1 Fc-6325未觀測到的24-48小時之間的Mu IgG2a Fc-6325觀測到的腫瘤中之VbP含量降低；然而，其可表明小鼠結合物之半衰期短於人類結合物。

實例6-基於42CQ之結合物

【0297】 檢測非腫瘤攜帶BALB/c小鼠中之FAP活化之前藥G-CSF血清細胞介素反應。在每處理組5隻小鼠中，以200 µg/隻小鼠向11-12週齡雌性BALB/c小鼠注射媒劑(PBS)、42CQ-6501或42CQ-6501+MSA。

【0298】 已知單獨VbP引發較大血清G-CSF反應。儘管成信細胞介素募集在腫瘤免疫性中起重要作用，但其在血清中之存在表示全身性反應，其可導致不合需要之不良作用。篩選一組基於42CQ之結合物以評估其是否引起相較於VbP減弱之血清G-CSF反應。42CQ為經設計以結合至血清白蛋白(SEQ ID NO: 133)之AFFIMER®多肽。因此，在具有或不具有

預結合至MSA之情況下製備基於42CQ之結合物(具有6501)以確定兩種調配物之間是否存在明顯差異。

【0299】 在給藥後六小時，收集血液以使用小鼠G-CSF Quantikine ELISA套組量測血清中之G-CSF。在測試劑量下，相比於經媒劑處理之小鼠，42CQ-6501誘導G-CSF之血清濃度顯著增加，而具有MSA之預結合42CQ-6501導致相比於42CQ-6501之血清濃度顯著減弱(圖23)。

【0300】 隨後，檢測CT26-mFAP腫瘤攜帶小鼠中之42CQ-6501結合物之藥物動力學。簡言之，BALB/c小鼠在右側腹皮下接種 5×10^5 個CT26-mFAP細胞。使腫瘤建立，其後動物經由100或200 μg /隻動物之42CQ-6501之腹膜內注射來給藥。各給藥組係由5個群組之子組組成，表示1、4、6、24及48小時收集時間點($n=3$ 隻/組)。在收集時間點處，收集血液及腫瘤樣本以在LC-MS上量測VbP水準。展示投與100或200 μg /隻動物之42CQ-6501之後血清(圖25A)及腫瘤(圖25B)中之VbP濃度相對於時間之變化。對於兩種劑量之42CQ-6501，在所有時間點處VbP之平均血清含量均在低於腫瘤含量4與15倍之間。

【0301】 在另一實驗中，檢測基於42CQ之結合物 $\pm$ MSA對同基因型鼠類結腸癌(CT26)模型中之腫瘤生長之影響。小鼠($n=10$ 隻/組，BALB/c)在右側腹皮下接種 5×10^5 個CT26-mFAP細胞。MSA預結合可減弱VbP之全身性釋放，因此在具有或不具有MSA預結合之情況下測試42CQ-6323及42CQ-6501結合物之功效。一旦腫瘤體積平均為大致 $50\text{-}100\text{ mm}^3$ ，則腹膜內注射基於42CQ結合物 $\pm$ MSA。42-6323 $\pm$ MSA及42-6501 $\pm$ MSA之腫瘤生長抑制分別展示於圖26A及26B中。虛線表示BIW給藥。除無MSA之42CQ-6501以外，所有經基於42CQ之結合物處理之小鼠的腫瘤大小相較

於對照減小。

【0302】在額外實驗中，在野生型(WT)及FAP α 基因剔除(KO)小鼠中，檢測自FAP α 活化之AFFIMER®前藥(42CQ-6323及42CQ-6501)釋放之VbP的藥物動力學。非腫瘤攜帶WT或FAP α KO小鼠(n=3隻/組)經由腹膜內注射200 μ g/隻動物之42CQ-6323、42CQ-6323-MSA、42CQ-6501或42CQ-6501-MSA來給藥。在給藥後0 (給藥前)、15、30、60、120及240分鐘及給藥後24小時收集血液以在LC-MS上量測血漿中之VbP濃度。投與200 μ g/隻動物之42CQ-6323 $\pm$ MSA或42CQ6501 $\pm$ MSA後之血漿中之VbP濃度相對於時間之變化分別表示於圖27A及27B中。

【0303】在任何時間點在FAP α 基因剔除小鼠中未偵測到VbP。與6323結合物相比，血漿中之VbP水準對於6501結合物更大，與6501結合物之更有效的藥物AFFIMER®染色蛋白比率(DAR)一致。在注射之前與白蛋白之預結合似乎限制血液中之VbP的初始峰值(將MSA基團與非MSA基團進行比較)。

【0304】本文所揭示之全部參考文獻、專利及專利申請案根據各自所引述之主題、以引用之方式併入，在一些情況下可涵蓋整個文獻。

【0305】除非明確相反指示，否則如在本文說明書及申請專利範圍中使用之不定冠詞「一(a/an)」應理解為意謂「至少一個」。

【0306】亦應理解，除非截然相反地指示，否則在本文所主張之包括超過一個步驟或操作之任何方法中，該方法之步驟或操作之次序無需侷限於敘述該方法之步驟或操作之順序。

【0307】在申請專利範圍中以及在上述說明書中，諸如「包含」、「包括」、「攜帶」、「具有」、「含有」、「涉及」、「擁有」、

「由……構成」及其類似片語之全部過渡性片語應理解為開放的，亦即意謂包括但不限於。僅過渡片語「由……組成」及「基本上由……組成」應分別為封閉或半封閉過渡片語，如美國專利局手冊專利考察程序(United States Patent Office Manual of Patent Examining Procedures)第2111.03節中所闡述。

【0308】 在數值前的術語「約」及「基本上」意謂所列舉數值之 $\pm 10\%$ 。

【0309】 在提供數值範圍之情況下，在範圍之上端與下端之間之各值均在本文中具體考慮及描述。

【序列表】

<110> 英商阿法克塔生命科學有限公司(Avacta Life Sciences Limited)
美商杜夫特學院信託管理公司(Trustees of Tufts College)

<120> FAP活化之血清延長半衰期治療結合物

<130> A1224.70010W000

<140> Not Yet Assigned
<141> Concurrently Herewith

<150> US 63/197,926
<151> 2021-06-07

<150> US 63/108,020
<151> 2020-10-30

<160> 178

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 49
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 1

Met Ile Pro Gly Gly Leu Ser Glu Ala Lys Pro Ala Thr Pro Glu Ile
1 5 10 15

Gln Glu Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn
20 25 30

Glu Thr Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu
35 40 45

Ala

<210> 2

<211> 24
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 2

Gly Thr Asn Tyr Tyr Ile Lys Val Arg Ala Gly Asp Asn Lys Tyr Met
1 5 10 15

His Leu Lys Val Phe Lys Ser Leu
20

<210> 3
<211> 21
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 3

Glu Asp Leu Val Leu Thr Gly Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp
1 5 10 15

Glu Leu Thr Gly Phe
20

<210> 4
<211> 134
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<220>
<221> misc_feature
<222> (4)..(4)
<223> Xaa可爲Gly、Ala、Val、Arg、Lys、Asp或Glu

<220>

<221> misc_feature
<222> (50)..(69)
<223> Xaa可爲任何天然存在之胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (53)..(69)
<223> 可缺失

<220>
<221> misc_feature
<222> (70)..(70)
<223> Xaa可爲Gly、Ala、Val、Ser或Thr

<220>
<221> misc_feature
<222> (91)..(91)
<223> Xaa可爲Arg、Lys、Asn、Gln、Ser、Thr

<220>
<221> misc_feature
<222> (92)..(92)
<223> Xaa可爲Gly、Ala、Val、Ser或Thr

<220>
<221> misc_feature
<222> (93)..(93)
<223> Xaa可爲Ala、Val、Ile、Leu、Gly或Pro

<220>
<221> misc_feature
<222> (94)..(113)
<223> Xaa可爲任何天然存在之胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (97)..(113)
<223> 可缺失

<220>
<221> misc_feature
<222> (114)..(114)
<223> Xaa可爲Gly、Ala、Val、Asp或Glu

<220>
<221> misc_feature
<222> (116)..(116)
<223> Xaa可爲Ala、Val、Ile、Leu、Arg或Lys

<400> 4

Met Ile Pro Xaa Gly Leu Ser Glu Ala Lys Pro Ala Thr Pro Glu Ile
1 5 10 15

Gln Glu Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn
20 25 30

Glu Thr Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu
35 40 45

Ala Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
50 55 60

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Thr Asn Tyr Tyr Ile Lys Val Arg Ala Gly
65 70 75 80

Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
85 90 95

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
100 105 110

Xaa Xaa Asp Xaa Val Leu Thr Gly Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp
115 120 125

Asp Glu Leu Thr Gly Phe
130

<210> 5
<211> 134
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<220>
<221> misc_feature
<222> (50)..(69)
<223> Xaa可爲任何天然存在之胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (53)..(69)
<223> 可缺失

<220>
<221> misc_feature
<222> (94)..(113)
<223> Xaa可爲任何天然存在之胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (97)..(113)
<223> 可缺失

<400> 5

Met Ile Pro Arg Gly Leu Ser Glu Ala Lys Pro Ala Thr Pro Glu Ile
1 5 10 15

Gln Glu Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn
20 25 30

Glu Thr Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu
35 40 45

Ala Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
50 55 60

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Ser Thr Asn Tyr Tyr Ile Lys Val Arg Ala Gly
65 70 75 80

Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Asn Gly Pro Xaa Xaa Xaa
85 90 95

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
100 105 110

Xaa Ala Asp Arg Val Leu Thr Gly Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp
115 120 125

Asp Glu Leu Thr Gly Phe
130

<210> 6
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 6

His Asp Gln Asp Val Leu His Ala Trp
1 5

<210> 7
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 7

Lys Phe His Arg Gln Glu Trp Ala Asp
1 5

<210> 8
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 8

Pro Glu Asp Phe Trp Asp Pro Glu His
1 5

<210> 9
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 9

Val Val Arg Thr Thr Gly His Val Val
1 5

<210> 10

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 10

Tyr Trp Trp Phe Cys Thr Gly Gln Ser
1 5

<210> 11

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 11

Ile His His Arg Gln Ala Arg Ser Leu
1 5

<210> 12

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 12

Ser His Arg Arg Arg Ala Tyr Ile Trp
1 5

<210> 13
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 13

Trp Asp Ser His His Trp Arg Ala Pro
1 5

<210> 14
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 14

Asp Lys Arg Val Lys Tyr Gly Gln
1 5

<210> 15
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 15

Ser Asp Trp Val Tyr Ala Leu Gln Leu
1 5

<210> 16
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 16

Phe Trp Trp Phe Trp Tyr
1 5

<210> 17

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 17

Val Arg Asp Trp Pro Trp Asn Thr Phe
1 5

<210> 18

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 18

Gln Lys Lys Arg Asp Glu Asp Tyr Ile
1 5

<210> 19

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 19

Gly Val His Glu Glu Pro Arg Lys Leu
1 5

<210> 20
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 20

Glu Trp Trp Gln Lys His Trp Pro Ser
1 5

<210> 21
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 21

Asn Phe Phe Gln Arg Arg Trp Pro Gly
1 5

<210> 22
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 22

Asp Trp Trp Gln Ala Lys Trp Pro His
1 5

<210> 23
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 23

Gly Ile Trp Gln Ser Arg Trp Pro Gly
1 5

<210> 24

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 24

Gly Tyr Trp Ala Ala Lys Trp Pro Gly
1 5

<210> 25

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 25

Gly Phe Tyr Ala Asp His Trp Pro Gly
1 5

<210> 26

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 26

Asn Trp Tyr Gln Gln Arg Trp Pro Gly
1 5

<210> 27

<211> 9

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 27

Gly Phe Tyr Ala Arg His Trp Pro Gly
1 5

<210> 28
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 28

Asp Phe Trp Lys Ala His Trp Pro Gly
1 5

<210> 29
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 29

Asp Phe Tyr Ser Val Arg Trp Pro Gly
1 5

<210> 30
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 30

Tyr Trp Ala Ala Asn His Ala Ser Lys
1 5

<210> 31
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 31

Ile Lys Arg Leu Glu His Trp Glu Tyr
1 5

<210> 32
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 32

Glu Trp Asp Ser Pro Trp Ser Glu Asn
1 5

<210> 33
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 33

Lys His Lys Asn Leu Arg Trp Pro Phe
1 5

<210> 34
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 34

Arg His Phe Pro Lys Gln Thr Asn Trp
1 5

<210> 35

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 35

Val Trp Gly Pro Glu Tyr Gln His Gln
1 5

<210> 36

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 36

Thr Trp Lys Asn Asn Gly Gln Asp Val
1 5

<210> 37

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 37

Ala Thr Trp Leu Asn Tyr Tyr Leu Pro
1 5

<210> 38
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 38

Asp Gln Glu Ser Leu Phe Leu Asn Asn
1 5

<210> 39
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 39

Gly Phe Tyr Ala Gln His Trp Pro Asp
1 5

<210> 40
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 40

Gly His Tyr Ala Arg Tyr Trp Pro Gly
1 5

<210> 41
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 41

Gly Phe Trp Ala Ser Lys Trp Pro Gly
1 5

<210> 42

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 42

Gly Phe Trp Gln Arg Lys Trp Pro Asn
1 5

<210> 43

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 43

Val Trp Pro Ala Asp Asn Asp Leu Lys
1 5

<210> 44

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 44

His Trp Ala Trp Thr Ser Pro Gly Tyr
1 5

<210> 45
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 45

Asn Phe Phe Gln Arg Arg Trp Pro Gly
1 5

<210> 46
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 46

His His Ser His Arg Leu Lys Gly Gln
1 5

<210> 47
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 47

Tyr Gln Asn Thr Ile Phe Leu Ser Ile
1 5

<210> 48
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 48

Phe Gln Asp Gln Phe Thr Trp Ser Gln
1 5

<210> 49

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 49

Gly Glu Pro His Trp Pro Trp Gln Ala
1 5

<210> 50

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 50

Ala Asp Pro Arg His Pro Trp Val Glu
1 5

<210> 51

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 51

Phe His Lys Arg Phe Gln Ser Gln Gly
1 5

<210> 52

<211> 9

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 52

Glu Trp Trp Gln Asn Arg Trp Pro Asn
1 5

<210> 53
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 53

Glu Trp Tyr Gln Thr Arg Trp Pro Gly
1 5

<210> 54
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 54

Glu Phe Trp Gln Arg His Trp Pro Gly
1 5

<210> 55
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 55

Lys Phe Tyr Glu Arg His Trp Pro Gly
1 5

<210> 56
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 56

Gly Trp Trp Gln Arg Arg Trp Pro Gly
1 5

<210> 57
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 57

Arg Phe Lys Tyr Phe Ala His Tyr Gln
1 5

<210> 58
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 58

Phe His Asp Phe Trp His Arg Arg Trp
1 5

<210> 59
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 59

Asp Trp Tyr His Tyr Trp Trp Glu Val
1 5

<210> 60

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 60

Ser Thr Arg Ser Ile His Val Thr Thr
1 5

<210> 61

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 61

Lys Gln His His His Tyr Leu Asp Lys
1 5

<210> 62

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 62

His Ser Ala Gln Asp Arg Glu Ile Pro
1 5

<210> 63
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 63

Trp Val Gln Ser Gly Tyr Asn Ser Gln
1 5

<210> 64
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 64

Ala Val Phe Trp Gly Lys Trp Ser Asp
1 5

<210> 65
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 65

Gln Ser Phe Asp Lys Pro Trp Thr Thr
1 5

<210> 66
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 66

His Tyr Pro Leu Lys Tyr Ser Phe Glu
1 5

<210> 67

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 67

Trp His His Pro Trp His Arg Asn Arg
1 5

<210> 68

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 68

Asp Pro Trp Trp Ala Trp Val Val Trp
1 5

<210> 69

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 69

Phe Asp Asn Gln Asp Leu Ile Gln Tyr
1 5

<210> 70
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 70

Glu Lys Lys Asn Trp Tyr Lys Trp Asp
1 5

<210> 71
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 71

Asp Arg His Lys Ser Arg Trp Gly Ile
1 5

<210> 72
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 72

Leu Asn Pro Phe Thr Pro Ser Val Thr
1 5

<210> 73
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 73

Tyr Lys Gly Ala Leu Leu Asn His Asp
1 5

<210> 74

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 74

Trp Lys Phe Arg Asn Thr Glu Arg Gly
1 5

<210> 75

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 75

Tyr Lys Val His Gln Ser Ser Gly Gly
1 5

<210> 76

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 76

Phe His Pro Ile Ala Gly Arg Pro Trp
1 5

<210> 77

<211> 9

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 77

Phe Pro Asn Thr Ser Tyr Asp Leu Gln
1 5

<210> 78
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 78

Phe Ala His Tyr Asn Leu Lys Ser Gly
1 5

<210> 79
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 79

Trp His Asn Tyr Gly Glu Ser Ser Gly
1 5

<210> 80
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 80

Lys Phe Tyr Tyr Ala Asp His Gln Trp
1 5

<210> 81
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 81

Tyr Thr His Ala Asp Pro His Ser Gln
1 5

<210> 82
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 82

Phe Gly Val Pro Gln Leu Gly Ala Gly
1 5

<210> 83
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 83

Tyr Ser Gly Phe Pro Phe Ala Gly Phe
1 5

<210> 84
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 84

Trp Phe Ser Trp Pro Tyr Thr Pro Leu
1 5

<210> 85

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 85

Tyr Tyr His Pro Ser Ile Gln Ser Thr
1 5

<210> 86

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 86

Phe Leu Gly Trp Lys Asp Thr Val Val
1 5

<210> 87

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 87

Asp Trp Trp Lys Trp Trp Trp Ala Lys
1 5

<210> 88
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 88

Asn Ala Gly Trp Pro Leu Val Pro Glu
1 5

<210> 89
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 89

Tyr Ala Leu Asp Pro Phe Gly Gly Lys
1 5

<210> 90
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 90

Gly Tyr Lys Phe Trp Gly Val Ser Asp
1 5

<210> 91
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 91

Gln Gly Lys Gln Tyr Ile Leu Leu Arg
1 5

<210> 92

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 92

Tyr Lys Arg His Ser Ala His Asp Tyr
1 5

<210> 93

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 93

Trp Ala Gln Lys Ser Lys Val His Gln
1 5

<210> 94

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 94

Phe Thr Ala Val Ser Lys Lys Asp Ala
1 5

<210> 95
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 95

Trp Gly Asp Lys Glu Asn Ile Trp Phe
1 5

<210> 96
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 96

Trp Ser Gly His Pro Trp Val Gln Lys
1 5

<210> 97
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 97

Tyr Ala Asp Tyr Pro Leu Ser Pro Lys
1 5

<210> 98
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 98

Trp Lys Phe Arg Asn Thr Asp Arg Gly
1 5

<210> 99

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 99

Gln Thr Val Ala Thr His Tyr His Tyr
1 5

<210> 100

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 100

Trp His Ala Lys His Leu Leu Ser His
1 5

<210> 101

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 101

Ser Gly Ile Lys Lys Ala Asp Ser Val
1 5

<210> 102

<211> 9

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 102

Lys Ala Asn Leu Ile Asn Val Lys Ser
1 5

<210> 103
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 103

Trp Lys Ser His Val Glu Val Arg Ser
1 5

<210> 104
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 104

Trp Val Thr Gln Lys Tyr Ile Ile Gln
1 5

<210> 105
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 105

Trp Glu His Ala Lys Asp Trp Pro Thr
1 5

<210> 106
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 106

Phe His Ser Lys Val Leu Asp Lys Ala
1 5

<210> 107
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 107

Tyr Gly Ala Gln Lys Gln Ala Val Trp
1 5

<210> 108
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 108

Phe Ser Ala Ser His Phe Thr Ser Gln
1 5

<210> 109
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(2)
<223> Xaa可爲任何天然存在之胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (4)..(4)
<223> Xaa可爲任何天然存在之胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (6)..(6)
<223> Xaa可爲任何天然存在之胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (8)..(8)
<223> Xaa可爲任何天然存在之胺基酸

<400> 109

Xaa Xaa Ala Xaa Lys Xaa Asp Xaa Gln
1 5

<210> 110
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 110

Met Ile Pro Arg Gly Leu Ser Glu Ala Lys Pro Ala Thr Pro Glu Ile
1 5 10 15

Gln Glu Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn
20 25 30

Glu Thr Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu

35 40 45

Ala Asp Trp Trp Gln Ala Lys Trp Pro His Ser Thr Asn Tyr Tyr Ile
50 55 60

Lys Val Arg Ala Gly Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Asn
65 70 75 80

Gly Pro Tyr Lys Val His Gln Ser Ser Gly Gly Ala Asp Arg Val Leu
85 90 95

Thr Gly Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp Glu Leu Thr Gly Phe
100 105 110

<210> 111
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 111

Met Ile Pro Arg Gly Leu Ser Glu Ala Lys Pro Ala Thr Pro Glu Ile
1 5 10 15

Gln Glu Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn
20 25 30

Glu Thr Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu
35 40 45

Ala Gly Tyr Trp Ala Ala Lys Trp Pro Gly Ser Thr Asn Tyr Tyr Ile
50 55 60

Lys Val Arg Ala Gly Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Asn
65 70 75 80

Gly Pro Phe Pro Asn Thr Ser Tyr Asp Leu Gln Ala Asp Arg Val Leu

859095

Thr Gly Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp Glu Leu Thr Gly Phe
100105110

<210> 112
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 112

Met Ile Pro Arg Gly Leu Ser Glu Ala Lys Pro Ala Thr Pro Glu Ile
151015

Gln Glu Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn
202530

Glu Thr Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu
354045

Ala Asn Trp Tyr Gln Gln Arg Trp Pro Gly Ser Thr Asn Tyr Tyr Ile
505560

Lys Val Arg Ala Gly Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Asn
65707580

Gly Pro Trp His Asn Tyr Gly Glu Ser Ser Gly Ala Asp Arg Val Leu
859095

Thr Gly Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp Glu Leu Thr Gly Phe
100105110

<210> 113
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 113

Met Ile Pro Arg Gly Leu Ser Glu Ala Lys Pro Ala Thr Pro Glu Ile
1 5 10 15

Gln Glu Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn
20 25 30

Glu Thr Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu
35 40 45

Ala Val Trp Gly Pro Glu Tyr Gln His Gln Ser Thr Asn Tyr Tyr Ile
50 55 60

Lys Val Arg Ala Gly Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Asn
65 70 75 80

Gly Pro Asn Ala Gly Trp Pro Leu Val Pro Glu Ala Asp Arg Val Leu
85 90 95

Thr Gly Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp Glu Leu Thr Gly Phe
100 105 110

<210> 114

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 114

Met Ile Pro Arg Gly Leu Ser Glu Ala Lys Pro Ala Thr Pro Glu Ile
1 5 10 15

Gln Glu Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn
20 25 30

Glu Thr Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu
35 40 45

Ala Gly His Tyr Ala Arg Tyr Trp Pro Gly Ser Thr Asn Tyr Tyr Ile
50 55 60

Lys Val Arg Ala Gly Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Asn
65 70 75 80

Gly Pro Trp Ala Gln Lys Ser Lys Val His Gln Ala Asp Arg Val Leu
85 90 95

Thr Gly Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp Glu Leu Thr Gly Phe
100 105 110

<210> 115
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 115

Met Ile Pro Arg Gly Leu Ser Glu Ala Lys Pro Ala Thr Pro Glu Ile
1 5 10 15

Gln Glu Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn
20 25 30

Glu Thr Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu
35 40 45

Ala Gly Phe Trp Ala Ser Lys Trp Pro Gly Ser Thr Asn Tyr Tyr Ile
50 55 60

Lys Val Arg Ala Gly Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Asn
65 70 75 80

Gly Pro Phe Thr Ala Val Ser Lys Lys Asp Ala Ala Asp Arg Val Leu
85 90 95

Thr Gly Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp Glu Leu Thr Gly Phe
100 105 110

<210> 116
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 116

Met Ile Pro Arg Gly Leu Ser Glu Ala Lys Pro Ala Thr Pro Glu Ile
1 5 10 15

Gln Glu Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn
20 25 30

Glu Thr Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu
35 40 45

Ala Asn Phe Phe Gln Arg Arg Trp Pro Gly Ser Thr Asn Tyr Tyr Ile
50 55 60

Lys Val Arg Ala Gly Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Asn
65 70 75 80

Gly Pro Trp Lys Phe Arg Asn Thr Asp Arg Gly Ala Asp Arg Val Leu
85 90 95

Thr Gly Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp Glu Leu Thr Gly Phe
100 105 110

<210> 117
<211> 254
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 117

Met Ile Pro Arg Gly Leu Ser Glu Ala Lys Pro Ala Thr Pro Glu Ile
1 5 10 15

Gln Glu Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn
20 25 30

Glu Thr Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu
35 40 45

Ala Lys Glu His Gly Pro Asp Ser Trp Trp Ser Thr Asn Tyr Tyr Ile
50 55 60

Lys Val Arg Ala Gly Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Asn
65 70 75 80

Gly Pro Gln Glu Lys Asn Gln Trp Val Glu Glu Ala Asp Arg Val Leu
85 90 95

Thr Gly Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp Glu Leu Thr Gly Phe
100 105 110

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
115 120 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Met Ile
130 135 140

Pro Arg Gly Leu Ser Glu Ala Lys Pro Ala Thr Pro Glu Ile Gln Glu
145 150 155 160

Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn Glu Thr
165 170 175

Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu Ala Asn
180 185 190

Phe Phe Gln Arg Arg Trp Pro Gly Ser Thr Asn Tyr Tyr Ile Lys Val
195 200 205

Arg Ala Gly Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Asn Gly Pro
210 215 220

Trp Lys Phe Arg Asn Thr Asp Arg Gly Ala Asp Arg Val Leu Thr Gly
225 230 235 240

Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp Glu Leu Thr Gly Phe
245 250

<210> 118
<211> 255
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 118

Met Ile Pro Arg Gly Leu Ser Glu Ala Lys Pro Ala Thr Pro Glu Ile
1 5 10 15

Gln Glu Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn
20 25 30

Glu Thr Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu
35 40 45

Ala Lys Glu His Gly Pro Asp Ser Trp Trp Ser Thr Asn Tyr Tyr Ile
50 55 60

Lys Val Arg Ala Gly Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Asn
65 70 75 80

Gly Pro Gln Glu Lys Asn Gln Trp Val Glu Glu Ala Asp Arg Val Leu
85 90 95

Thr Gly Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp Glu Leu Thr Gly Phe
100 105 110

Ala Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys
115 120 125

Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Met
130 135 140

Ile Pro Arg Gly Leu Ser Glu Ala Lys Pro Ala Thr Pro Glu Ile Gln
145 150 155 160

Glu Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn Glu
165 170 175

Thr Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu Ala
180 185 190

Asn Phe Phe Gln Arg Arg Trp Pro Gly Ser Thr Asn Tyr Tyr Ile Lys
195 200 205

Val Arg Ala Gly Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Asn Gly
210 215 220

Pro Trp Lys Phe Arg Asn Thr Asp Arg Gly Ala Asp Arg Val Leu Thr
225 230 235 240

Gly Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp Glu Leu Thr Gly Phe
245 250 255

- <210> 119
- <211> 254
- <212> PRT
- <213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 119

Met Ile Pro Arg Gly Leu Ser Glu Ala Lys Pro Ala Thr Pro Glu Ile
1 5 10 15

Gln Glu Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn
20 25 30

Glu Thr Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu
35 40 45

Ala His Ala Tyr Gly Pro Arg Asp Trp Asp Ser Thr Asn Tyr Tyr Ile
50 55 60

Lys Val Arg Ala Gly Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Asn
65 70 75 80

Gly Pro Pro Ala Asp His Val Leu Glu Glu Ala Ala Asp Arg Val Leu
85 90 95

Thr Gly Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp Glu Leu Thr Gly Phe
100 105 110

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
115 120 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Met Ile
130 135 140

Pro Arg Gly Leu Ser Glu Ala Lys Pro Ala Thr Pro Glu Ile Gln Glu
145 150 155 160

Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn Glu Thr
165 170 175

Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu Ala Asn

180185190

Phe Phe Gln Arg Arg Trp Pro Gly Ser Thr Asn Tyr Tyr Ile Lys Val
195200205

Arg Ala Gly Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Asn Gly Pro
210215220

Trp Lys Phe Arg Asn Thr Asp Arg Gly Ala Asp Arg Val Leu Thr Gly
225230235240

Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp Glu Leu Thr Gly Phe
245250

<210> 120
<211> 255
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 120

Met Ile Pro Arg Gly Leu Ser Glu Ala Lys Pro Ala Thr Pro Glu Ile
151015

Gln Glu Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn
202530

Glu Thr Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu
354045

Ala His Ala Tyr Gly Pro Arg Asp Trp Asp Ser Thr Asn Tyr Tyr Ile
505560

Lys Val Arg Ala Gly Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Asn
65707580

Gly Pro Pro Ala Asp His Val Leu Glu Glu Ala Ala Asp Arg Val Leu

859095

Thr Gly Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp Glu Leu Thr Gly Phe
100105110

Ala Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys
115120125

Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Met
130135140

Ile Pro Arg Gly Leu Ser Glu Ala Lys Pro Ala Thr Pro Glu Ile Gln
145150155160

Glu Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn Glu
165170175

Thr Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu Ala
180185190

Asn Phe Phe Gln Arg Arg Trp Pro Gly Ser Thr Asn Tyr Tyr Ile Lys
195200205

Val Arg Ala Gly Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Asn Gly
210215220

Pro Trp Lys Phe Arg Asn Thr Asp Arg Gly Ala Asp Arg Val Leu Thr
225230235240

Gly Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp Glu Leu Thr Gly Phe
245250255

- <210> 121
- <211> 254
- <212> PRT
- <213> 人工序列

- <220>
- <223> 合成

<400> 121

Met Ile Pro Arg Gly Leu Ser Glu Ala Lys Pro Ala Thr Pro Glu Ile
1 5 10 15

Gln Glu Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn
20 25 30

Glu Thr Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu
35 40 45

Ala Lys Glu Tyr Gly Pro Glu Glu Trp Trp Ser Thr Asn Tyr Tyr Ile
50 55 60

Lys Val Arg Ala Gly Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Asn
65 70 75 80

Gly Pro Gly Asp Tyr Glu Gln Val Leu Ile His Ala Asp Arg Val Leu
85 90 95

Thr Gly Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp Glu Leu Thr Gly Phe
100 105 110

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
115 120 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Met Ile
130 135 140

Pro Arg Gly Leu Ser Glu Ala Lys Pro Ala Thr Pro Glu Ile Gln Glu
145 150 155 160

Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn Glu Thr
165 170 175

Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu Ala Asn
180 185 190

Phe Phe Gln Arg Arg Trp Pro Gly Ser Thr Asn Tyr Tyr Ile Lys Val
195 200 205

Arg Ala Gly Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Asn Gly Pro
210 215 220

Trp Lys Phe Arg Asn Thr Asp Arg Gly Ala Asp Arg Val Leu Thr Gly
225 230 235 240

Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp Glu Leu Thr Gly Phe
245 250

<210> 122
<211> 255
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 122

Met Ile Pro Arg Gly Leu Ser Glu Ala Lys Pro Ala Thr Pro Glu Ile
1 5 10 15

Gln Glu Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn
20 25 30

Glu Thr Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu
35 40 45

Ala Lys Glu Tyr Gly Pro Glu Glu Trp Trp Ser Thr Asn Tyr Tyr Ile
50 55 60

Lys Val Arg Ala Gly Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Asn
65 70 75 80

Gly Pro Gly Asp Tyr Glu Gln Val Leu Ile His Ala Asp Arg Val Leu
85 90 95

Thr Gly Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp Glu Leu Thr Gly Phe
100 105 110

Ala Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys
115 120 125

Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Met
130 135 140

Ile Pro Arg Gly Leu Ser Glu Ala Lys Pro Ala Thr Pro Glu Ile Gln
145 150 155 160

Glu Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn Glu
165 170 175

Thr Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu Ala
180 185 190

Asn Phe Phe Gln Arg Arg Trp Pro Gly Ser Thr Asn Tyr Tyr Ile Lys
195 200 205

Val Arg Ala Gly Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Asn Gly
210 215 220

Pro Trp Lys Phe Arg Asn Thr Asp Arg Gly Ala Asp Arg Val Leu Thr
225 230 235 240

Gly Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp Glu Leu Thr Gly Phe
245 250 255

<210> 123
<211> 398
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 123

Met	Ile	Pro	Arg	Gly	Leu	Ser	Glu	Ala	Lys	Pro	Ala	Thr	Pro	Glu	Ile
1				5					10					15	
Gln	Glu	Ile	Val	Asp	Lys	Val	Lys	Pro	Gln	Leu	Glu	Glu	Lys	Thr	Asn
			20					25					30		
Glu	Thr	Tyr	Gly	Lys	Leu	Glu	Ala	Val	Gln	Tyr	Lys	Thr	Gln	Val	Leu
		35					40					45			
Ala	Arg	Glu	Gly	Arg	Gln	Asp	Trp	Val	Leu	Ser	Thr	Asn	Tyr	Tyr	Ile
	50					55					60				
Lys	Val	Arg	Ala	Gly	Asp	Asn	Lys	Tyr	Met	His	Leu	Lys	Val	Phe	Asn
65					70					75					80
Gly	Pro	Trp	Val	Pro	Phe	Pro	His	Gln	Gln	Leu	Ala	Asp	Arg	Val	Leu
				85					90					95	
Thr	Gly	Tyr	Gln	Val	Asp	Lys	Asn	Lys	Asp	Asp	Glu	Leu	Thr	Gly	Phe
			100					105					110		
Ala	Glu	Ala	Ala	Ala	Lys	Glu	Ala	Ala	Ala	Lys	Glu	Ala	Ala	Ala	Lys
		115					120				125				
Glu	Ala	Ala	Ala	Lys	Glu	Ala	Ala	Ala	Lys	Glu	Ala	Ala	Ala	Lys	Met
	130					135					140				
Ile	Pro	Arg	Gly	Leu	Ser	Glu	Ala	Lys	Pro	Ala	Thr	Pro	Glu	Ile	Gln
145					150					155					160
Glu	Ile	Val	Asp	Lys	Val	Lys	Pro	Gln	Leu	Glu	Glu	Lys	Thr	Asn	Glu
				165					170					175	
Thr	Tyr	Gly	Lys	Leu	Glu	Ala	Val	Gln	Tyr	Lys	Thr	Gln	Val	Leu	Ala
			180					185					190		
Arg	Glu	Gly	Arg	Gln	Asp	Trp	Val	Leu	Ser	Thr	Asn	Tyr	Tyr	Ile	Lys

195200205

Val Arg Ala Gly Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Asn Gly
210215220

Pro Trp Val Pro Phe Pro His Gln Gln Leu Ala Asp Arg Val Leu Thr
225230235240

Gly Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp Glu Leu Thr Gly Phe Ala
245250255

Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu
260265270

Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Met Ile
275280285

Pro Arg Gly Leu Ser Glu Ala Lys Pro Ala Thr Pro Glu Ile Gln Glu
290295300

Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn Glu Thr
305310315320

Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu Ala Asn
325330335

Phe Phe Gln Arg Arg Trp Pro Gly Ser Thr Asn Tyr Tyr Ile Lys Val
340345350

Arg Ala Gly Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Asn Gly Pro
355360365

Trp Lys Phe Arg Asn Thr Asp Arg Gly Ala Asp Arg Val Leu Thr Gly
370375380

Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp Glu Leu Thr Gly Phe
385390395

<210> 124
<211> 398
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 124

Met Ile Pro Arg Gly Leu Ser Glu Ala Lys Pro Ala Thr Pro Glu Ile
1 5 10 15

Gln Glu Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn
20 25 30

Glu Thr Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu
35 40 45

Ala Arg Glu Gly Arg Gln Asp Trp Val Leu Ser Thr Asn Tyr Tyr Ile
50 55 60

Lys Val Arg Ala Gly Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Asn
65 70 75 80

Gly Pro Trp Val Pro Phe Pro His Gln Gln Leu Ala Asp Arg Val Leu
85 90 95

Thr Gly Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp Glu Leu Thr Gly Phe
100 105 110

Ala Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys
115 120 125

Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Met
130 135 140

Ile Pro Arg Gly Leu Ser Glu Ala Lys Pro Ala Thr Pro Glu Ile Gln
145 150 155 160

Glu	Ile	Val	Asp	Lys	Val	Lys	Pro	Gln	Leu	Glu	Glu	Lys	Thr	Asn	Glu	
				165					170					175		
Thr	Tyr	Gly	Lys	Leu	Glu	Ala	Val	Gln	Tyr	Lys	Thr	Gln	Val	Leu	Ala	
			180					185					190			
Asn	Phe	Phe	Gln	Arg	Arg	Trp	Pro	Gly	Ser	Thr	Asn	Tyr	Tyr	Ile	Lys	
	195						200					205				
Val	Arg	Ala	Gly	Asp	Asn	Lys	Tyr	Met	His	Leu	Lys	Val	Phe	Asn	Gly	
	210					215					220					
Pro	Trp	Lys	Phe	Arg	Asn	Thr	Asp	Arg	Gly	Ala	Asp	Arg	Val	Leu	Thr	
225					230				235						240	
Gly	Tyr	Gln	Val	Asp	Lys	Asn	Lys	Asp	Asp	Glu	Leu	Thr	Gly	Phe	Ala	
				245					250					255		
Glu	Ala	Ala	Ala	Lys	Glu	Ala	Ala	Ala	Lys	Glu	Ala	Ala	Ala	Lys	Glu	
		260						265						270		
Ala	Ala	Ala	Lys	Glu	Ala	Ala	Ala	Lys	Glu	Ala	Ala	Ala	Lys	Met	Ile	
	275							280					285			
Pro	Arg	Gly	Leu	Ser	Glu	Ala	Lys	Pro	Ala	Thr	Pro	Glu	Ile	Gln	Glu	
	290						295					300				
Ile	Val	Asp	Lys	Val	Lys	Pro	Gln	Leu	Glu	Glu	Lys	Thr	Asn	Glu	Thr	
305					310					315					320	
Tyr	Gly	Lys	Leu	Glu	Ala	Val	Gln	Tyr	Lys	Thr	Gln	Val	Leu	Ala	Arg	
			325						330					335		
Glu	Gly	Arg	Gln	Asp	Trp	Val	Leu	Ser	Thr	Asn	Tyr	Tyr	Ile	Lys	Val	
		340						345						350		
Arg	Ala	Gly	Asp	Asn	Lys	Tyr	Met	His	Leu	Lys	Val	Phe	Asn	Gly	Pro	

355 360 365

Trp Val Pro Phe Pro His Gln Gln Leu Ala Asp Arg Val Leu Thr Gly
370 375 380

Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp Glu Leu Thr Gly Phe
385 390 395

<210> 125
<211> 398
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 125

Met Ile Pro Arg Gly Leu Ser Glu Ala Lys Pro Ala Thr Pro Glu Ile
1 5 10 15

Gln Glu Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn
20 25 30

Glu Thr Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu
35 40 45

Ala Asn Phe Phe Gln Arg Arg Trp Pro Gly Ser Thr Asn Tyr Tyr Ile
50 55 60

Lys Val Arg Ala Gly Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Asn
65 70 75 80

Gly Pro Trp Lys Phe Arg Asn Thr Asp Arg Gly Ala Asp Arg Val Leu
85 90 95

Thr Gly Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp Glu Leu Thr Gly Phe
100 105 110

Ala Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys

115 120 125

Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Met
130 135 140

Ile Pro Arg Gly Leu Ser Glu Ala Lys Pro Ala Thr Pro Glu Ile Gln
145 150 155 160

Glu Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn Glu
165 170 175

Thr Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu Ala
180 185 190

Arg Glu Gly Arg Gln Asp Trp Val Leu Ser Thr Asn Tyr Tyr Ile Lys
195 200 205

Val Arg Ala Gly Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Asn Gly
210 215 220

Pro Trp Val Pro Phe Pro His Gln Gln Leu Ala Asp Arg Val Leu Thr
225 230 235 240

Gly Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp Glu Leu Thr Gly Phe Ala
245 250 255

Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu
260 265 270

Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Met Ile
275 280 285

Pro Arg Gly Leu Ser Glu Ala Lys Pro Ala Thr Pro Glu Ile Gln Glu
290 295 300

Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn Glu Thr
305 310 315 320

Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu Ala Arg
325 330 335

Glu Gly Arg Gln Asp Trp Val Leu Ser Thr Asn Tyr Tyr Ile Lys Val
340 345 350

Arg Ala Gly Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Asn Gly Pro
355 360 365

Trp Val Pro Phe Pro His Gln Gln Leu Ala Asp Arg Val Leu Thr Gly
370 375 380

Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp Glu Leu Thr Gly Phe
385 390 395

<210> 126
<211> 399
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 126

Met Ile Pro Arg Gly Leu Ser Glu Ala Lys Pro Ala Thr Pro Glu Ile
1 5 10 15

Gln Glu Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn
20 25 30

Glu Thr Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu
35 40 45

Ala Arg Glu Gly Arg Gln Asp Trp Val Leu Ser Thr Asn Tyr Tyr Ile
50 55 60

Lys Val Arg Ala Gly Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Asn
65 70 75 80

Gly Pro Trp Val Pro Phe Pro His Gln Gln Leu Ala Asp Arg Val Leu
85 90 95

Thr Gly Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp Glu Leu Thr Gly Phe
100 105 110

Ala Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys
115 120 125

Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Met
130 135 140

Ile Pro Arg Gly Leu Ser Glu Ala Lys Pro Ala Thr Pro Glu Ile Gln
145 150 155 160

Glu Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn Glu
165 170 175

Thr Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu Ala
180 185 190

Arg Glu Gly Arg Gln Asp Trp Val Leu Ser Thr Asn Tyr Tyr Ile Lys
195 200 205

Val Arg Ala Gly Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Asn Gly
210 215 220

Pro Trp Val Pro Phe Pro His Gln Gln Leu Ala Asp Arg Val Leu Thr
225 230 235 240

Gly Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp Glu Leu Thr Gly Phe Ala
245 250 255

Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu
260 265 270

Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Met Ile

275 280 285

Pro Arg Gly Leu Ser Glu Ala Lys Pro Ala Thr Pro Glu Ile Gln Glu
290 295 300

Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn Glu Thr
305 310 315 320

Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu Ala Asn
325 330 335

Phe Phe Gln Arg Arg Trp Pro Gly Ser Thr Asn Tyr Tyr Ile Lys Val
340 345 350

Arg Ala Gly Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Asn Gly Pro
355 360 365

Trp Lys Phe Arg Asn Thr Asp Arg Gly Ala Asp Arg Val Leu Thr Gly
370 375 380

Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp Glu Leu Thr Gly Phe Cys
385 390 395

<210> 127
<211> 398
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 127

Met Ile Pro Arg Gly Leu Ser Glu Ala Lys Pro Ala Thr Pro Glu Ile
1 5 10 15

Gln Glu Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn
20 25 30

Glu Thr Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu

35 40 45

Ala Phe Ala Leu Pro Glu Phe Glu Tyr Met Ser Thr Asn Tyr Tyr Ile
50 55 60

Lys Val Arg Ala Gly Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Asn
65 70 75 80

Gly Pro Pro Met Ile Arg Arg Lys Asn Glu Val Ala Asp Arg Val Leu
85 90 95

Thr Gly Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp Glu Leu Thr Gly Phe
100 105 110

Ala Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys
115 120 125

Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Met
130 135 140

Ile Pro Arg Gly Leu Ser Glu Ala Lys Pro Ala Thr Pro Glu Ile Gln
145 150 155 160

Glu Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn Glu
165 170 175

Thr Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu Ala
180 185 190

Phe Ala Leu Pro Glu Phe Glu Tyr Met Ser Thr Asn Tyr Tyr Ile Lys
195 200 205

Val Arg Ala Gly Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Asn Gly
210 215 220

Pro Pro Met Ile Arg Arg Lys Asn Glu Val Ala Asp Arg Val Leu Thr
225 230 235 240

Gly Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp Glu Leu Thr Gly Phe Ala
245 250 255

Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu
260 265 270

Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Met Ile
275 280 285

Pro Arg Gly Leu Ser Glu Ala Lys Pro Ala Thr Pro Glu Ile Gln Glu
290 295 300

Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn Glu Thr
305 310 315 320

Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu Ala Asn
325 330 335

Phe Phe Gln Arg Arg Trp Pro Gly Ser Thr Asn Tyr Tyr Ile Lys Val
340 345 350

Arg Ala Gly Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Asn Gly Pro
355 360 365

Trp Lys Phe Arg Asn Thr Asp Arg Gly Ala Asp Arg Val Leu Thr Gly
370 375 380

Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp Glu Leu Thr Gly Phe
385 390 395

<210> 128
<211> 398
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 128

Met	Ile	Pro	Arg	Gly	Leu	Ser	Glu	Ala	Lys	Pro	Ala	Thr	Pro	Glu	Ile
1				5					10					15	
Gln	Glu	Ile	Val	Asp	Lys	Val	Lys	Pro	Gln	Leu	Glu	Glu	Lys	Thr	Asn
			20					25					30		
Glu	Thr	Tyr	Gly	Lys	Leu	Glu	Ala	Val	Gln	Tyr	Lys	Thr	Gln	Val	Leu
		35					40					45			
Ala	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Thr	Asn	Tyr	Tyr	Ile
50						55					60				
Lys	Val	Arg	Ala	Gly	Asp	Asn	Lys	Tyr	Met	His	Leu	Lys	Val	Phe	Asn
65					70					75					80
Gly	Pro	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Ala	Asp	Arg	Val	Leu
				85					90					95	
Thr	Gly	Tyr	Gln	Val	Asp	Lys	Asn	Lys	Asp	Asp	Glu	Leu	Thr	Gly	Phe
			100					105						110	
Ala	Glu	Ala	Ala	Ala	Lys	Glu	Ala	Ala	Ala	Lys	Glu	Ala	Ala	Ala	Lys
		115						120				125			
Glu	Ala	Ala	Ala	Lys	Glu	Ala	Ala	Ala	Lys	Glu	Ala	Ala	Ala	Lys	Met
	130					135					140				
Ile	Pro	Arg	Gly	Leu	Ser	Glu	Ala	Lys	Pro	Ala	Thr	Pro	Glu	Ile	Gln
145					150					155					160
Glu	Ile	Val	Asp	Lys	Val	Lys	Pro	Gln	Leu	Glu	Glu	Lys	Thr	Asn	Glu
				165					170					175	
Thr	Tyr	Gly	Lys	Leu	Glu	Ala	Val	Gln	Tyr	Lys	Thr	Gln	Val	Leu	Ala
			180					185						190	
Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Thr	Asn	Tyr	Tyr	Ile
															Lys

195200205

Val Arg Ala Gly Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Asn Gly
210215220

Pro Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Ala Asp Arg Val Leu Thr
225230235240

Gly Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp Glu Leu Thr Gly Phe Ala
245250255

Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu
260265270

Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Met Ile
275280285

Pro Arg Gly Leu Ser Glu Ala Lys Pro Ala Thr Pro Glu Ile Gln Glu
290295300

Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn Glu Thr
305310315320

Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu Ala Asn
325330335

Phe Phe Gln Arg Arg Trp Pro Gly Ser Thr Asn Tyr Tyr Ile Lys Val
340345350

Arg Ala Gly Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Asn Gly Pro
355360365

Trp Lys Phe Arg Asn Thr Asp Arg Gly Ala Asp Arg Val Leu Thr Gly
370375380

Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp Glu Leu Thr Gly Phe
385390395

<210> 129
<211> 255
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 129

Met Ile Pro Arg Gly Leu Ser Glu Ala Lys Pro Ala Thr Pro Glu Ile
1 5 10 15

Gln Glu Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn
20 25 30

Glu Thr Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu
35 40 45

Ala Arg Glu Gly Arg Gln Asp Trp Val Leu Ser Thr Asn Tyr Tyr Ile
50 55 60

Lys Val Arg Ala Gly Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Asn
65 70 75 80

Gly Pro Trp Val Pro Phe Pro His Gln Gln Leu Ala Asp Arg Val Leu
85 90 95

Thr Gly Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp Glu Leu Thr Gly Phe
100 105 110

Ala Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys
115 120 125

Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Met
130 135 140

Ile Pro Arg Gly Leu Ser Glu Ala Lys Pro Ala Thr Pro Glu Ile Gln
145 150 155 160

Glu Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn Glu
165 170 175

Thr Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu Ala
180 185 190

Arg Glu Gly Arg Gln Asp Trp Val Leu Ser Thr Asn Tyr Tyr Ile Lys
195 200 205

Val Arg Ala Gly Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Asn Gly
210 215 220

Pro Trp Val Pro Phe Pro His Gln Gln Leu Ala Asp Arg Val Leu Thr
225 230 235 240

Gly Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp Glu Leu Thr Gly Phe
245 250 255

<210> 130
<211> 256
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 130

Met Ile Pro Arg Gly Leu Ser Glu Ala Lys Pro Ala Thr Pro Glu Ile
1 5 10 15

Gln Glu Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn
20 25 30

Glu Thr Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu
35 40 45

Ala Arg Glu Gly Arg Gln Asp Trp Val Leu Ser Thr Asn Tyr Tyr Ile
50 55 60

Lys Val Arg Ala Gly Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Asn
65 70 75 80

Gly Pro Trp Val Pro Phe Pro His Gln Gln Leu Ala Asp Arg Val Leu
85 90 95

Thr Gly Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp Glu Leu Thr Gly Phe
100 105 110

Ala Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys
115 120 125

Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Met
130 135 140

Ile Pro Arg Gly Leu Ser Glu Ala Lys Pro Ala Thr Pro Glu Ile Gln
145 150 155 160

Glu Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn Glu
165 170 175

Thr Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu Ala
180 185 190

Arg Glu Gly Arg Gln Asp Trp Val Leu Ser Thr Asn Tyr Tyr Ile Lys
195 200 205

Val Arg Ala Gly Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Asn Gly
210 215 220

Pro Trp Val Pro Phe Pro His Gln Gln Leu Ala Asp Arg Val Leu Thr
225 230 235 240

Gly Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp Glu Leu Thr Gly Phe Cys
245 250 255

<210> 131

<211> 255
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 131

Met Ile Pro Arg Gly Leu Ser Glu Ala Lys Pro Ala Thr Pro Glu Ile
1 5 10 15

Gln Glu Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn
20 25 30

Glu Thr Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu
35 40 45

Ala Asn Phe Phe Gln Arg Arg Trp Pro Gly Ser Thr Asn Tyr Tyr Ile
50 55 60

Lys Val Arg Ala Gly Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Asn
65 70 75 80

Gly Pro Trp Lys Phe Arg Asn Thr Asp Arg Gly Ala Asp Arg Val Leu
85 90 95

Thr Gly Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp Glu Leu Thr Gly Phe
100 105 110

Ala Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys
115 120 125

Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Met
130 135 140

Ile Pro Arg Gly Leu Ser Glu Ala Lys Pro Ala Thr Pro Glu Ile Gln
145 150 155 160

Glu Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn Glu

165170175

Thr Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu Ala
180185190

Asn Phe Phe Gln Arg Arg Trp Pro Gly Ser Thr Asn Tyr Tyr Ile Lys
195200205

Val Arg Ala Gly Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Asn Gly
210215220

Pro Trp Lys Phe Arg Asn Thr Asp Arg Gly Ala Asp Arg Val Leu Thr
225230235240

Gly Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp Glu Leu Thr Gly Phe
245250255

<210> 132
<211> 254
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 132

Met Ile Pro Arg Gly Leu Ser Glu Ala Lys Pro Ala Thr Pro Glu Ile
151015

Gln Glu Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn
202530

Glu Thr Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu
354045

Ala Asn Phe Phe Gln Arg Arg Trp Pro Gly Ser Thr Asn Tyr Tyr Ile
505560

Lys Val Arg Ala Gly Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Asn

65

70

75

80

Gly Pro Trp Lys Phe Arg Asn Thr Asp Arg Gly Ala Asp Arg Val Leu

859095

Thr Gly Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp Glu Leu Thr Gly Phe

100105110

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly

115120125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Met Ile

130135140

Pro Arg Gly Leu Ser Glu Ala Lys Pro Ala Thr Pro Glu Ile Gln Glu

145150155160

Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn Glu Thr

165170175

Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu Ala Asn

180185190

Phe Phe Gln Arg Arg Trp Pro Gly Ser Thr Asn Tyr Tyr Ile Lys Val

195200205

Arg Ala Gly Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Asn Gly Pro

210215220

Trp Lys Phe Arg Asn Thr Asp Arg Gly Ala Asp Arg Val Leu Thr Gly

225230235240

Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp Glu Leu Thr Gly Phe

245250

<210> 133

<211> 149

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 133

Met Ile Pro Arg Gly Leu Ser Glu Ala Lys Pro Ala Thr Pro Glu Ile
1 5 10 15

Gln Glu Ile Val Asp Lys Val Lys Pro Gln Leu Glu Glu Lys Thr Asn
20 25 30

Glu Thr Tyr Gly Lys Leu Glu Ala Val Gln Tyr Lys Thr Gln Val Leu
35 40 45

Ala Asn Phe Phe Gln Arg Arg Trp Pro Gly Ser Thr Asn Tyr Tyr Ile
50 55 60

Lys Val Arg Ala Gly Asp Asn Lys Tyr Met His Leu Lys Val Phe Asn
65 70 75 80

Gly Pro Trp Lys Phe Arg Asn Thr Asp Arg Gly Ala Asp Arg Val Leu
85 90 95

Thr Gly Tyr Gln Val Asp Lys Asn Lys Asp Asp Glu Leu Thr Gly Phe
100 105 110

Ala Ala Ala Gly Gly Arg Ala Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp
115 120 125

Leu Gly Cys Ala Glu Asn Leu Tyr Phe Gln Gly Gly Ala Ala Gly His
130 135 140

His His His His His
145

<210> 134

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 134

Trp Thr Gln Pro Lys Asn Glu His His
1 5

<210> 135

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 135

His Leu Lys His Thr Asp Ala Gln Pro
1 5

<210> 136

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 136

Pro Pro Gly Pro
1

<210> 137

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(1)
<223> Xaa可爲Asp或Glu

<220>
<221> misc_feature
<222> (2)..(2)
<223> Xaa可爲Arg或Lys

<220>
<221> misc_feature
<222> (4)..(4)
<223> Xaa可爲Asp或Glu

<220>
<221> misc_feature
<222> (5)..(5)
<223> Xaa可爲Thr或Ser

<400> 137

Xaa Xaa Gly Xaa Xaa Gly Pro
1 5

<210> 138
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 138

Asp Arg Gly Glu Thr Gly Pro
1 5

<210> 139
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<220>
<221> misc_feature
<222> (4)..(4)

<223> Xaa可爲任何天然存在之胺基酸

<400> 139

Gly Pro Ala Xaa
1

<210> 140

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<220>

<221> misc_feature

<222> (2)..(2)

<223> Xaa可爲Trp或Phe

<220>

<221> misc_feature

<222> (3)..(3)

<223> Xaa可爲Tyr或Phe

<400> 140

Asn Xaa Xaa Gln Gln Arg Arg Trp Pro Gly
1 5 10

<210> 141

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(1)

<223> Xaa可爲Asp或Gly

<220>

<221> misc_feature

<222> (2)..(2)

<223> Xaa可爲Trp、Tyr或Phe

<220>

<221> misc_feature

<222> (4)..(4)

<223> Xaa可爲Gln或Ala

<220>

<221> misc_feature

<222> (5)..(5)

<223> Xaa可爲Ala或Ser

<220>

<221> misc_feature

<222> (9)..(9)

<223> Xaa可爲His或Gly

<400> 141

Xaa Xaa Trp Xaa Xaa Lys Trp Pro Xaa
1 5

<210> 142

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<220>

<221> misc_feature

<222> (2)..(2)

<223> Xaa可爲Tyr、Phe或His

<220>

<221> misc_feature

<222> (3)..(3)

<223> Xaa可爲Trp或Tyr

<220>

<221> misc_feature

<222> (5)..(5)

<223> Xaa可爲Ala、Ser或Arg

<220>

<221> misc_feature

<222> (6)..(6)

<223> Xaa可爲Lys或Tyr

<400> 142

Gly Xaa Xaa Ala Xaa Xaa Trp Pro Gly
1 5

<210> 143

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(1)

<223> Xaa可爲焦麩胺酸

<400> 143

Xaa Gln Arg Leu Gly Asn Gln Trp Ala Val Gly His Leu Met
1 5 10

<210> 144

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 144

Thr Ala Ala Ser Gly Val Arg Ser Met His
1 5 10

<210> 145

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 145

Leu Thr Leu Arg Trp Val Gly Leu Met Ser
1 5 10

<210> 146

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(1)

<223> Xaa可爲焦麩胺酸

<400> 146

Xaa His Trp Ser Tyr Ser Leu Arg Pro
1 5

<210> 147

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(1)

<223> Xaa可爲焦麩胺酸

<400> 147

Xaa His Trp Ser Tyr Gly Leu Arg Pro Gly
1 5 10

<210> 148

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(1)
<223> Xaa可爲焦麩胺酸

<400> 148

Xaa His Trp Ser Tyr Ser Leu Arg Pro
1 5

<210> 149
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(1)
<223> Xaa可爲焦麩胺酸

<400> 149

Xaa His Trp Ser Tyr His Leu Arg Pro
1 5

<210> 150
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(1)
<223> Xaa可爲焦麩胺酸

<400> 150

Xaa His Trp Ser Tyr Leu Leu Arg Pro
1 5

<210> 151
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(1)
<223> Xaa可為焦麩胺酸

<400> 151

Xaa His Trp Ser Tyr Leu Arg Pro Gly
1 5

<210> 152
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(1)
<223> Xaa可為焦麩胺酸

<400> 152

Xaa His Trp Ser Tyr Trp Leu Arg Pro Gly
1 5 10

<210> 153
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 153

Phe Ala Ser Tyr Asn Leu Lys Pro Ala
1 5

<210> 154

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 154

Phe Ala Ser Trp Lys Arg Pro Ala
1 5

<210> 155

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 155

Phe Ala Ser Phe Phe Leu Lys Pro Ala
1 5

<210> 156

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 156

Phe Ala Ser Tyr Arg Leu Arg Pro Ala
1 5

<210> 157
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 157

Gly Arg Gly Asp Ser Pro Lys
1 5

<210> 158
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 158

Asn Arg Gly Asp Phe Val
1 5

<210> 159
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<220>
<221> misc_feature
<222> (2)..(2)
<223> Xaa可為肌胺酸

<400> 159

Arg Xaa Asp Phe Val
1 5

<210> 160
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 160

Arg Gly Asp Phe Val
1 5

<210> 161
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 161

Arg Gly Asp Phe Lys
1 5

<210> 162
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 162

Arg Gly Asp Phe Cys
1 5

<210> 163
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 163

Arg Ala Asp Phe Cys
1 5

<210> 164

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 164

Arg Ala Asp Phe Lys
1 5

<210> 165

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 165

Arg Gly Asp Phe Glu
1 5

<210> 166

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 166

Arg Ala Asp Phe Glu
1 5

<210> 167

<211> 5

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 167

Arg Gly Asp Ser Lys
1 5

<210> 168
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 168

Arg Ala Asp Ser Lys
1 5

<210> 169
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 169

Arg Gly Asp Ser
1

<210> 170
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 170

Arg Gly Asp Tyr Cys
1 5

<210> 171
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 171

Arg Ala Asp Tyr Cys
1 5

<210> 172
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 172

Arg Gly Asp Tyr Glu
1 5

<210> 173
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 173

Arg Gly Asp Tyr Lys
1 5

<210> 174
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 174

Arg Ala Asp Tyr Lys
1 5

<210> 175

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 175

His Glu Arg Gly Asp Tyr Lys Arg Gly Asp Tyr Lys
1 5 10

<210> 176

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 176

Arg Gly Asn Asp Phe Val
1 5

<210> 177

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 177

Arg Gly Asp Asn Phe Val
1 5

<210> 178
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 178

Arg Gly Asp Phe Asn Val
1 5

【發明申請專利範圍】

【請求項1】

一種治療結合物，其包含經由纖維母細胞活化蛋白 α (FAP α)-可裂解連接子連接至半衰期延長部分的治療部分，其中該治療結合物之活體內循環血清半衰期為至少48小時，且該結合物不包含以 1×10^{-6} M或更低之 K_d 結合至細胞的細胞表面蛋白質之細胞結合部分。

【請求項2】

一種治療結合物，其包含經由纖維母細胞活化蛋白 α (FAP α)-可裂解連接子連接至半衰期延長部分的治療部分，其中該治療結合物之活體內循環血清半衰期相對於游離治療部分之循環血清半衰期延長超過2倍，且該結合物不包含以 1×10^{-6} M或更低之 K_d 結合至細胞的細胞表面蛋白質之細胞結合部分。

【請求項3】

如請求項1或2之治療結合物，其中該半衰期延長部分包含血清蛋白質。

【請求項4】

如請求項3之治療結合物，其中該血清蛋白質係選自纖維結合蛋白、運鐵蛋白及人類血清白蛋白(HSA)。

【請求項5】

如請求項1至4中任一項之治療結合物，其中該半衰期延長部分包含結合至視情況選自纖維結合蛋白、運鐵蛋白及HSA之血清蛋白質的分子。

【請求項6】

如請求項5之治療結合物，其中結合至血清蛋白質之該分子為視情況

選自由以下組成之群的抗體：Fab、F(ab)₂、F(ab')、F(ab')₂、F(ab')₃、Fd、Fv、二硫鍵聯之Fv、dAb或sdAb（或NANOBODY®）、CDR、scFv、(scFv)₂、di-scFv、bi-scFv、tascFv（串聯scFv）、AVIBODY®（例如雙功能抗體、三功能抗體及四功能抗體）、T細胞接合子(BiTE®)、Fc、scFv-Fc、Fcab、mAb₂、小模組免疫醫藥(SMIP)、Genmab/單抗體(unibody)或雙抗體(duobody)、V-NAR域、IgNAR、微型抗體、IgGACH2、DVD-Ig、前抗體(probody)、胞內抗體(intrabody)及多特異性抗體。

【請求項7】

如請求項5之治療結合物，其中結合至血清蛋白質之該分子為非抗體分子，其視情況選自由以下組成之群：親和抗體、AFFIMER®多肽、阿菲林(affilin)、抗運載蛋白(anticalin)、三聚體(atrimer)、高親和性多聚體(avimer)、錨蛋白重複蛋白(DARPin)、FN3骨架（例如阿德奈汀(Adnectins)、辛替恩(Centyrins)）、菲諾體(fynomer)、孔尼茲(Kunitz)域、奈米菲汀(nanofitin)、前奈汀(pronectins)、三功能抗體(tribody)、雙環肽及Cys結。

【請求項8】

如請求項7之治療結合物，其中該半衰期延長部分包含以重組方式工程改造之stefin多肽之變體(亦即，AFFIMER®多肽)。

【請求項9】

如請求項8之治療結合物，其中以重組方式工程改造之stefin多肽之變體(AFFIMER®多肽)包含與SEQ ID NO: 110-132中之任一者之胺基酸序列具有至少70%、至少80%、至少90%或100%一致性之胺基酸序列。

【請求項10】

如請求項1或2之治療結合物，其中該半衰期延長部分包含抗體Fc域，其視情況來自IgA、IgD、IgE、IgG或IgM或其子類別。

【請求項11】

如請求項1或2之治療結合物，其中該半衰期延長部分包含生物相容性聚合物，其視情況選自由以下組成之群：聚(乙二醇) (PEG)、羥乙基澱粉、XTENTTM聚合物及脯胺酸-丙胺酸-絲胺酸聚合物。

【請求項12】

如前述請求項中任一項之治療結合物，其由下式中之一者表示：

$X-L^1-SRS-L^2-TM$ ，其中

X為半衰期延長部分，

L^1 為間隔基或鍵，

SRS為可藉由FAP α 裂解之受質識別序列；

L^2 為自分解型連接子或鍵，且

TM為治療部分。

【請求項13】

如前述請求項中任一項之治療結合物，其由下式中之一者表示：

$X-(L^1-SRS-L^2-TM)_n$ ；

$X-L^1-(SRS-L^2-TM)_n$ ；

$(X)_m-(L^1-SRS-L^2-TM)_n$ ；或

$(X)_m-L^1-(SRS-L^2-TM)_n$

其中

X為半衰期延長部分，

L^1 為間隔基或鍵，

SRS 為可藉由 $FAP\alpha$ 裂解之受質識別序列；

L^2 為自分解型連接子或鍵，

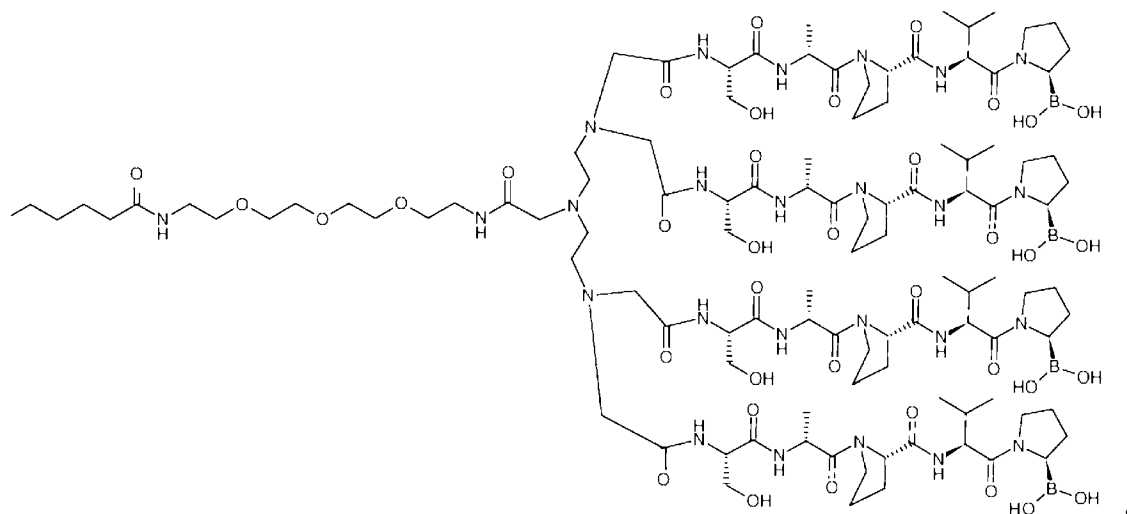
TM 為治療部分，

m 為 1 至 6 之整數，且

n 為 1 至 500、視情況 1 至 100、1 至 10 或 1 至 5 之整數。

【請求項 14】

如前述請求項中任一項之治療結合物，其包含：



【請求項 15】

如前述請求項中任一項之治療結合物，其中該 $FAP\alpha$ -可裂解連接子為寡肽。

【請求項 16】

如請求項 15 之治療結合物，其中該寡肽包含視情況經由一鍵或自分解型連接子及/或 N 端封端基團共價連接至該治療部分的 C 端脯胺酸。

【請求項 17】

如請求項 16 之治療結合物，其中該鍵可藉由 $FAP\alpha$ 之蛋白水解活性裂解，視情況其中該鍵為醯胺鍵。

[(請求項18)]

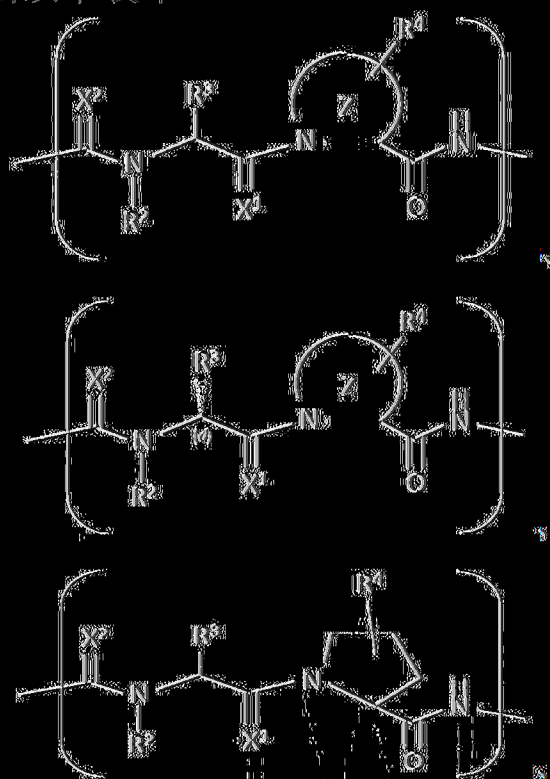
如請求項12至17中任一項之治療結合物，其中該自分解型連接子包含雜環自分解型部分，視情況為His-Ala、對胺基苯甲氧基羰基(PABC)或2,4-雙(經甲基)苯胺。

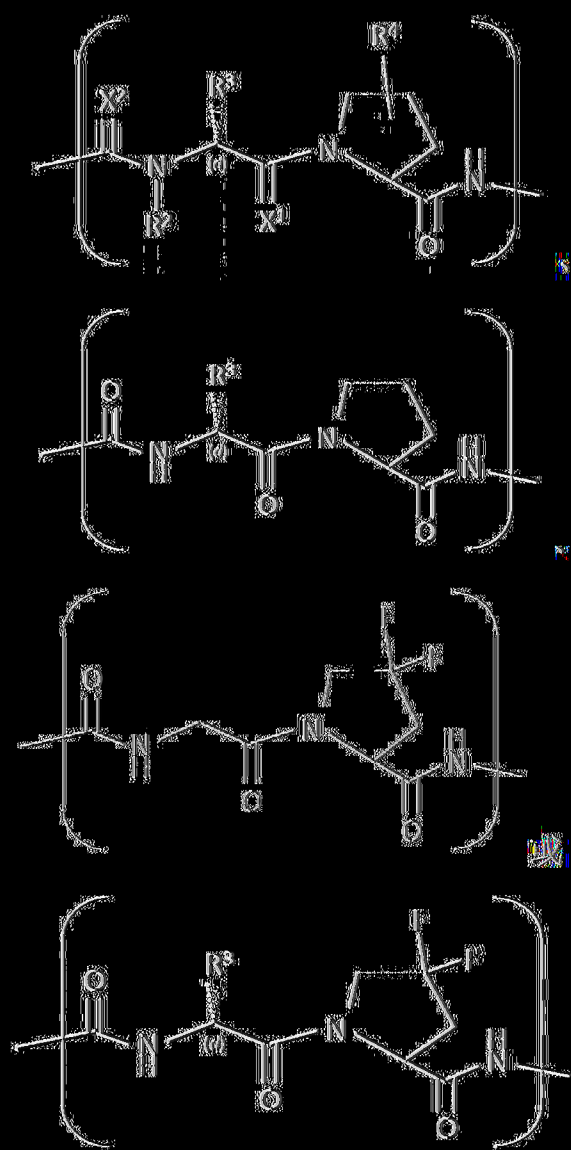
[(請求項19)]

如前述請求項中任一項之治療結合物，其中該BAP_α可裂解連接子包含選自以下之序列：D-Ala-Pro、PPGP (SEQ ID NO: 136)、(D/E)-(R/K)-G-(E/D)-(T/S)-G-P (SEQ ID NO: 137)、DRGETGP (SEQ ID NO: 138)及GPAX (SEQ ID NO: 139)，視情況為D-Ala-Pro序列或D-Ser序列。

[(請求項20)]

如前述請求項中任一項之治療結合物，其中該BAP_α可裂解連接子之該受質識別序列(SRS)由以下表示：





其中

R²為氫或(C₁-C₆)烷基，

R³為氫或分支鏈或直鏈低碳數烷基，

R⁴為分支鏈或直鏈低碳數烷基，

X¹為O或S，及/或

X²為O或S。

[(請求項21)]

如前述請求項中任一項之治療結合物，其中該RAPα可裂解連接子之該受質識別序列包含第三胺基位置，視情況為至(d)-Ala之N端，且視情況

其中該第三胺基酸位置處之該胺基酸為絲胺酸或蘇胺酸。

【請求項22】

如前述請求項中任一項之治療結合物，其中該治療部分為細胞毒性劑。

【請求項23】

如前述請求項中任一項之治療結合物，其中該治療部分為細胞生長抑制劑。

【請求項24】

如前述請求項中任一項之治療結合物，其中該治療部分為表觀遺傳劑。

【請求項25】

如請求項1至21中任一項之治療結合物，其中該治療部分為化學治療藥物部分。

【請求項26】

如請求項25之治療結合物，其中該化學治療藥物部分係選自由以下組成之群：紫杉烷、基於鉑之製劑及蛋白酶體抑制劑。

【請求項27】

如請求項26之治療結合物，其中該紫杉烷係選自由太平洋紫杉醇(paclitaxel)、多西他賽(docetaxel)及卡巴利他索(cabazitaxel)組成之群。

【請求項28】

如請求項26之治療結合物，其中該基於鉑之製劑係選自由以下組成之群：奧沙利鉑(oxaliplatin)、順鉑、卡鉑、萘達鉑(nedaplatin)、吡鉑(picoplatin)、菲鉑(phenanthriplatin)、特瑞鉑(triplatin)、螺鉑

(spiroplatin)、賽特鉑(satraplatin)、異丙鉑(iproplatin)及賽特鉑。

【請求項29】

如請求項26之治療結合物，其中該蛋白酶體抑制劑係選自由以下組成之群：硼替佐米(bortezomib)、雷克塔西汀(lactacystin)、二硫龍(disulfiram)、表沒食子兒茶素-3-沒食子酸酯、馬瑞佐米(marizomib) (鹽孢菌素A)、奧普洛佐米(oprozomib) (ONX-0912)、迪蘭佐米(delanzomib) (CEP-18770)、埃普黴素(epoxomicin)及 β -羥基 β -甲基丁酸酯。

【請求項30】

如前述請求項中任一項之治療結合物，其中該治療部分在活體內誘導先天性免疫反應。

【請求項31】

如前述請求項中任一項之治療結合物，其中該治療部分係急性毒性。

【請求項32】

如前述請求項中任一項之治療結合物，其中該治療部分係選自TLR促效劑、RIG-I促效劑、iDASH抑制劑及STING促效劑。

【請求項33】

如前述請求項中任一項之治療結合物，其中該治療部分為Val-boroPro (塔拉司他(Talabostat))。

【請求項34】

如前述請求項中任一項之治療結合物，其中該治療部分包含受體配位體。

【請求項35】

如請求項34之治療結合物，其中該受體配位體係選自生長抑制素、膽囊收縮素-2 (CCK2)、葉酸、鈴蟾素(bombesin)、釋放胃泌素之肽、神經調壓素、P物質、類升糖素肽1、神經肽Y及其類似物。

【請求項36】

如前述請求項中任一項之治療結合物，其中該治療部分由以下表示：



其中RBM為受體結合部分，Z為細胞毒性、細胞生長抑制性或表觀遺傳部分或含有放射性同位素之部分，且p為0 (Z不存在)或1至8之整數。

【請求項37】

如請求項36之治療結合物，其中p為1。

【請求項38】

如前述請求項中任一項之治療結合物，其中該治療部分由以下表示：



其中RBM為受體結合部分，Z為細胞毒性、細胞生長抑制性或表觀遺傳部分或含有放射性同位素之部分，且L³為一鍵或可裂解或不可裂解連接子。

【請求項39】

如請求項38之治療結合物，其中L³包含對酸不穩定或對酶敏感之連接子。

【請求項40】

如請求項39之治療結合物，其中L³包含組織蛋白酶裂解位點。

【請求項41】

如前述請求項中任一項之治療結合物，其中該治療部分之循環血清半衰期比該游離治療部分之循環血清半衰期延長至少5、10、25、50、100或甚至1000倍。

【請求項42】

如前述請求項中任一項之治療結合物，其中該治療部分之循環血清半衰期為至少10、25、50、100、200或300小時。

【請求項43】

如前述請求項中任一項之治療結合物，其中在歷經至少10、24、48、72、96或120小時之時間，該治療結合物在表現目標FAP α 之組織中產生的游離治療部分之濃度為在全身循環中歷經相同時間期之游離治療部分之濃度的至少2、5、10、20、50、75或100倍。

【請求項44】

如前述請求項中任一項之治療結合物，其中當投與具有FAP α +腫瘤之個體時，該治療結合物產生游離治療部分之腫瘤內濃度為或高於針對該游離治療部分之抗腫瘤活性之EC₅₀持續至少10、24、48、72、96或120小時之時間。

【請求項45】

如前述請求項中任一項之治療結合物，其中當投與具有FAP α +腫瘤之個體時，該治療結合物針對抗腫瘤活性具有的治療指數為至少2、5、10、25、50、100或500。

【請求項46】

如前述請求項中任一項之治療結合物，其中當投與具有FAP α +腫瘤

之個體時，該治療結合物針對抗腫瘤活性之治療指數比該游離治療部分之治療指數大至少2、10、50、100、250、500、1000、5000或10,000倍。

【請求項47】

如前述請求項中任一項之治療結合物，其中當基於等效劑量比較時，相對於游離治療部分，較大百分比之游離治療部分定位於表現FAP α 之目標組織中，視情況其中針對該治療結合物相對於游離治療部分之等效劑量，定位於該目標組織中相對於其他組織(諸如血液、肝臟或心臟)中之游離治療部分的比率大於至少2、5、10、100或1000倍。

【請求項48】

如前述請求項中任一項之治療結合物，其中該治療結合物之最大耐受劑量比游離治療部分之最大耐受劑量大至少2、5、10、100或1000倍。

【請求項49】

如前述請求項中任一項之治療結合物，其中該治療結合物之細胞滲透率比游離治療部分之細胞滲透率小至少50%、60%、70%、80%、90%、95%、98%、99%或99.9%。

【請求項50】

如前述請求項中任一項之治療結合物，其中該治療結合物之該循環半衰期比游離治療部分之該循環半衰期長至少25%、50%、75%、100%、150%、200%、500%、750%或1000%。

【請求項51】

如前述請求項中任一項之治療結合物，其中該治療結合物相對於游離治療部分具有小於50%、60%、70%、80%、90%、95%、98%、99%、99.9%或99.99%的針對腫瘤細胞之細胞毒性或細胞溶解活性。

【請求項52】

一種組合物，其包含如前述請求項中任一項之治療結合物及醫藥學上可接受之賦形劑。

【請求項53】

一種方法，其包含向個體投與如前述請求項中任一項之治療結合物或組合物，其中該個體具有患病組織，視情況為癌症。

【請求項54】

如請求項53之方法，其中相對於未治療之對照個體，該治療結合物或組合物之投與量使該個體腫瘤微環境中的乳酸脫氫酶(LDH)釋放有效增加至少0.5倍或至少1倍。

【請求項55】

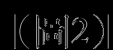
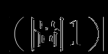
如請求項53或54之方法，其中在投與該治療結合物或組合物之後約2-3週時，該患病組織，視情況為腫瘤之體積縮小至少50%、至少60%或至少70%。

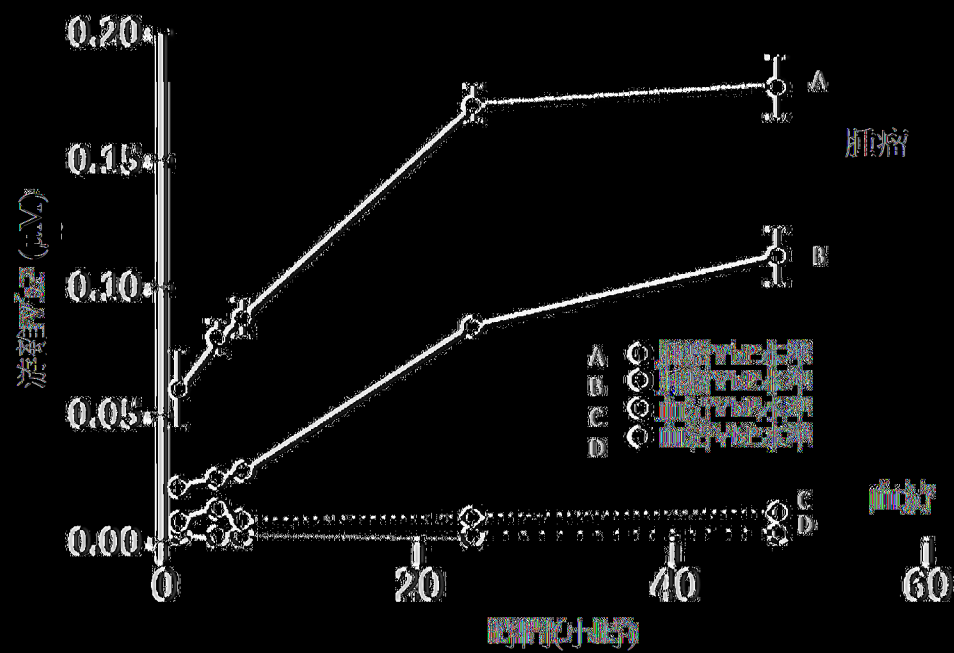
【請求項56】

如前述請求項中任一項之治療結合物或組合物，其用於治療患病組織，視情況為癌症之方法中。

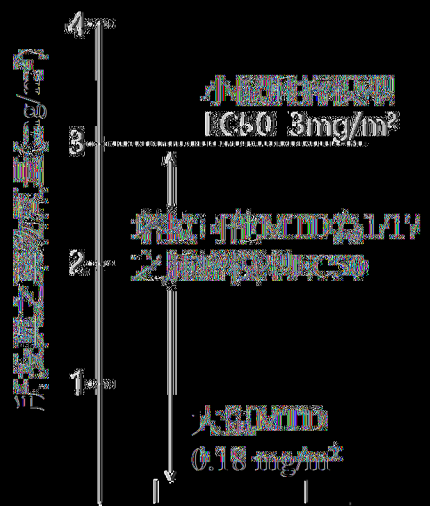
【請求項57】

一種如前述請求項中任一項之治療結合物之用途，其用於製造供治療患病組織，視情況為癌症用之藥劑。

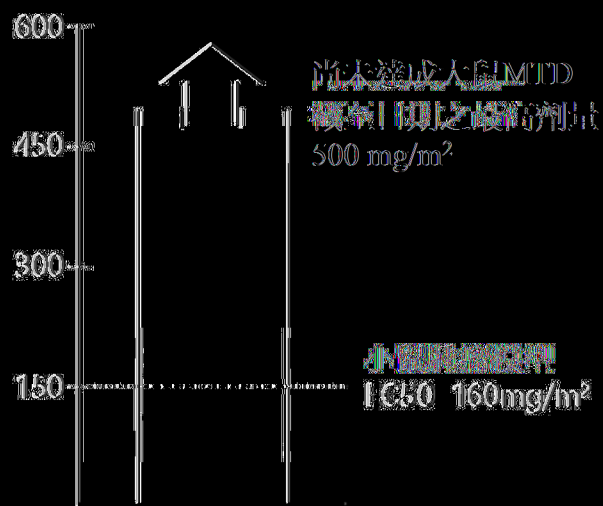




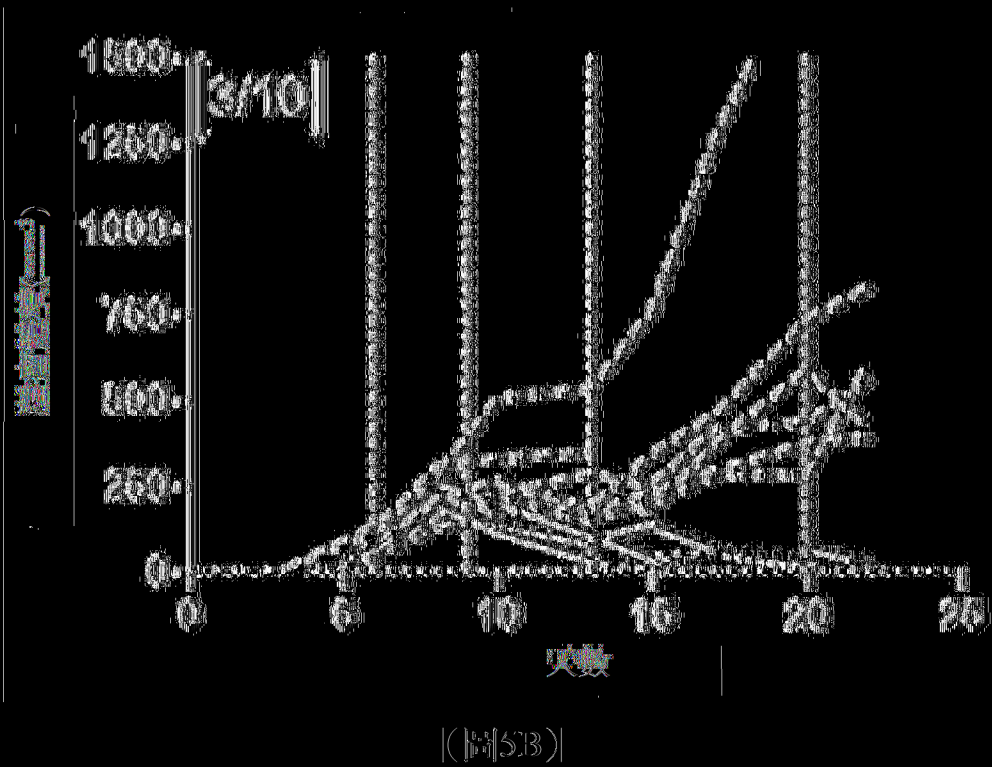
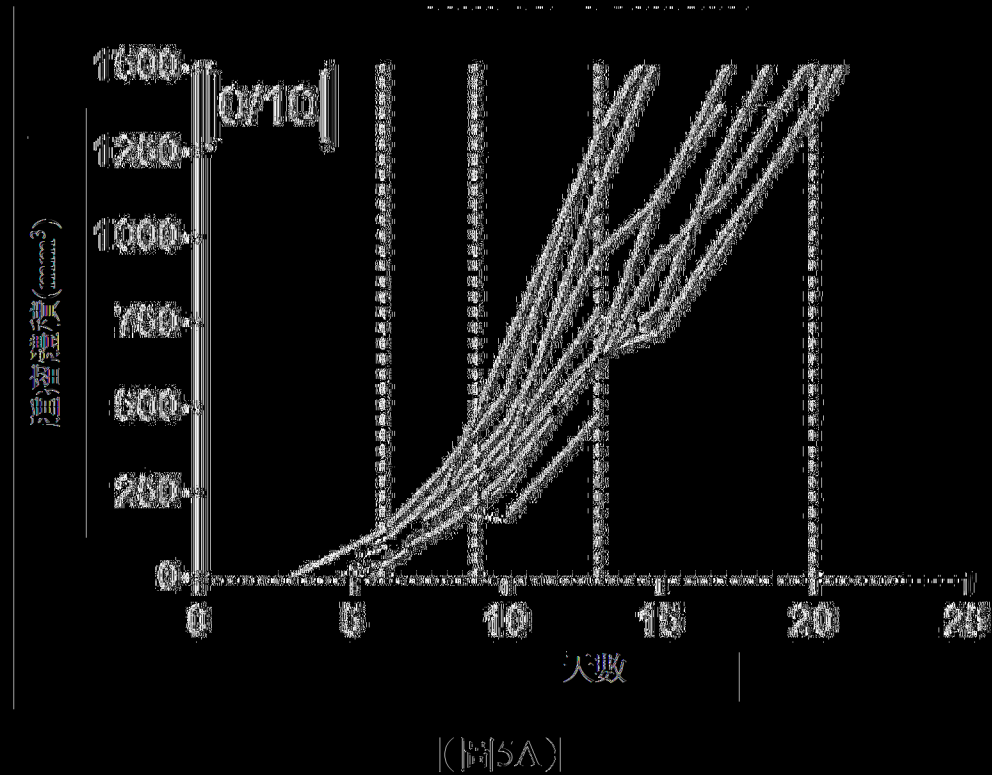
(圖3)

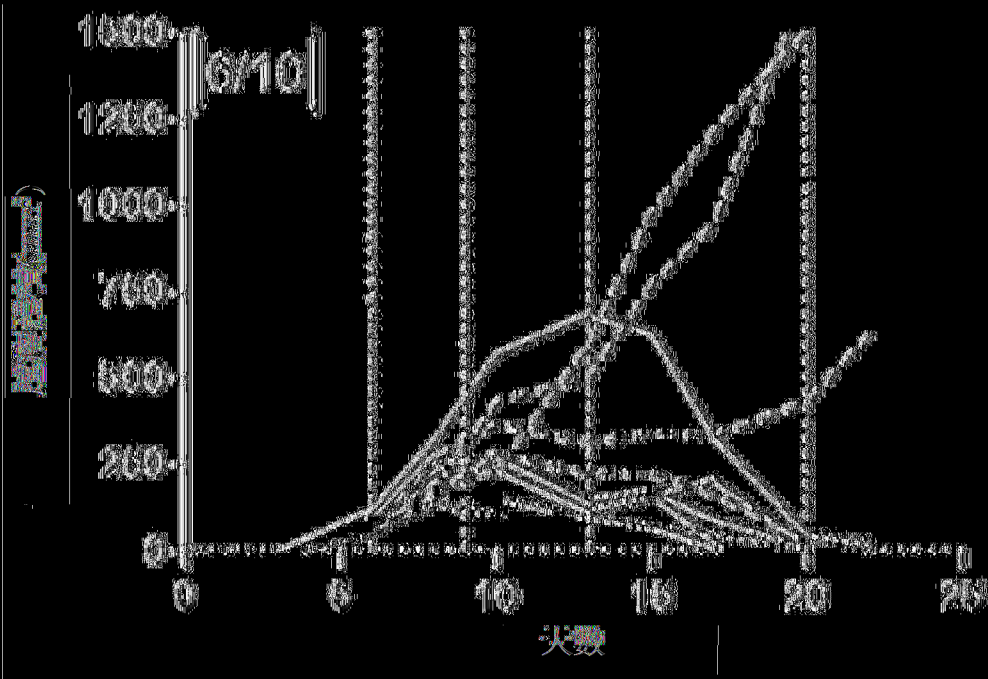


(圖4A)

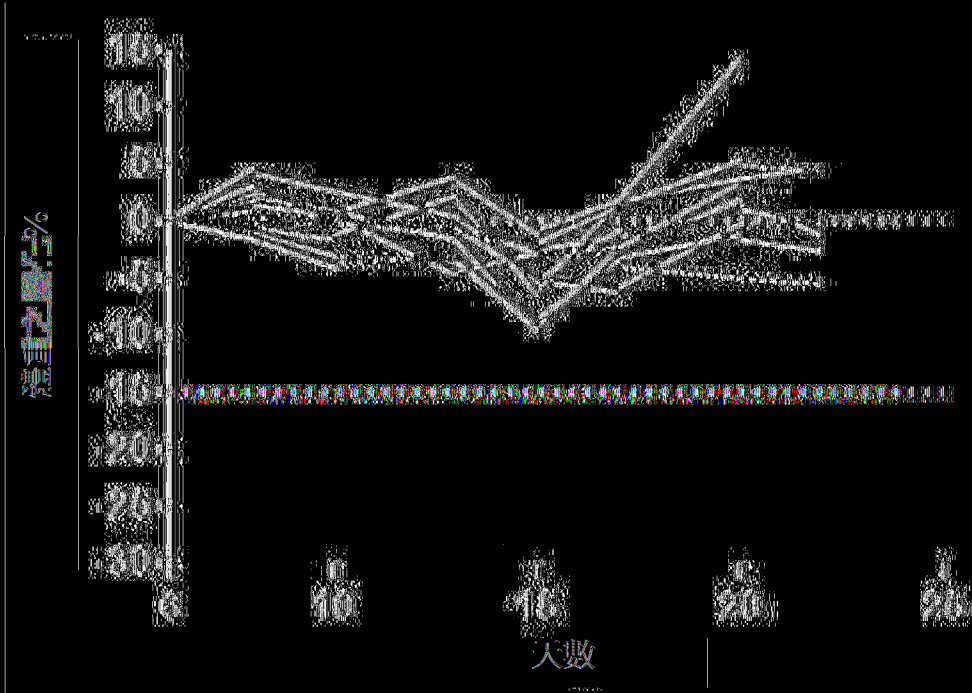


(圖4B)

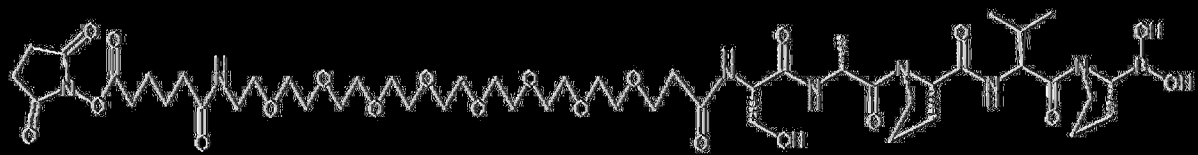




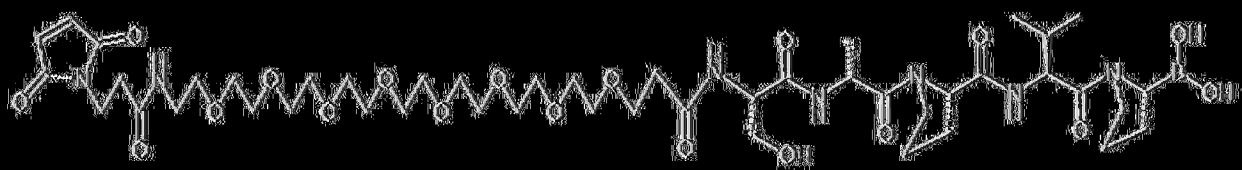
(圖5C)



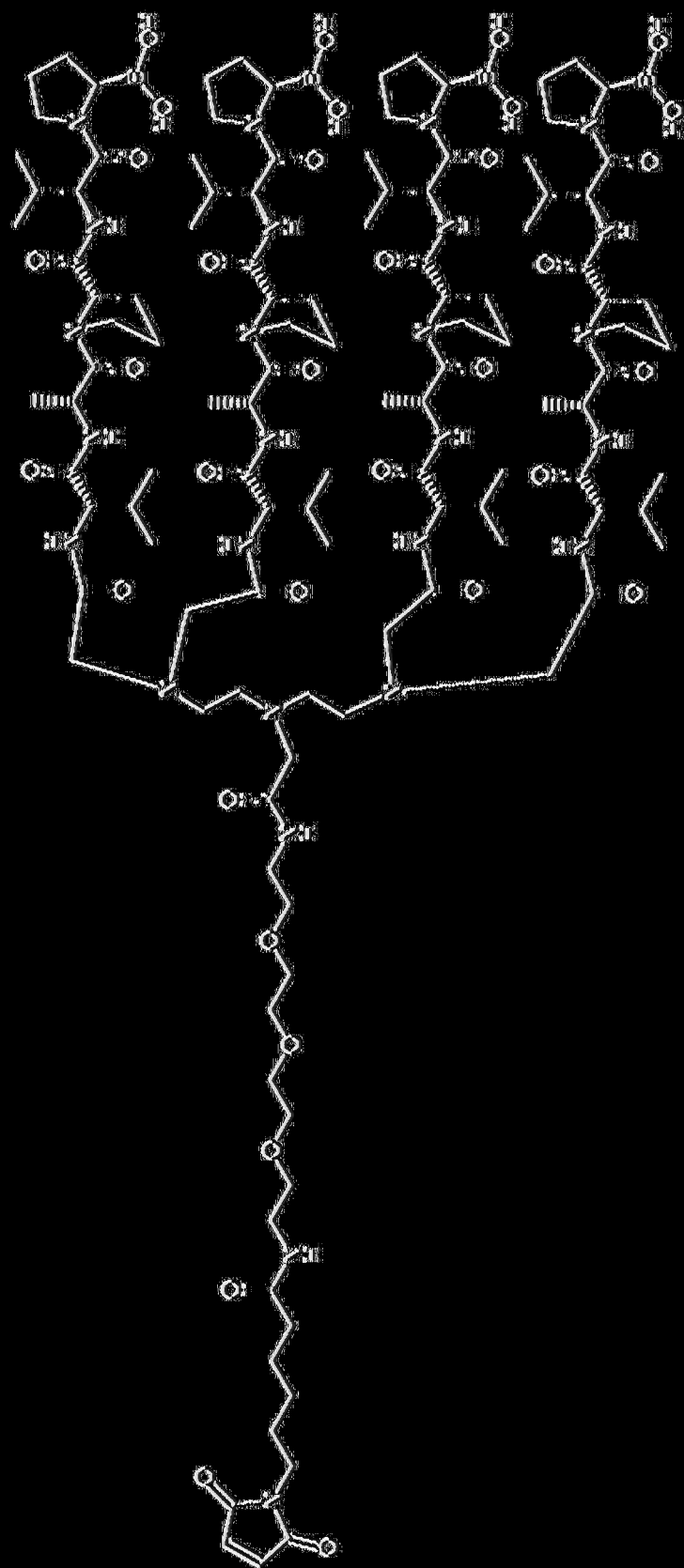
(圖5D)



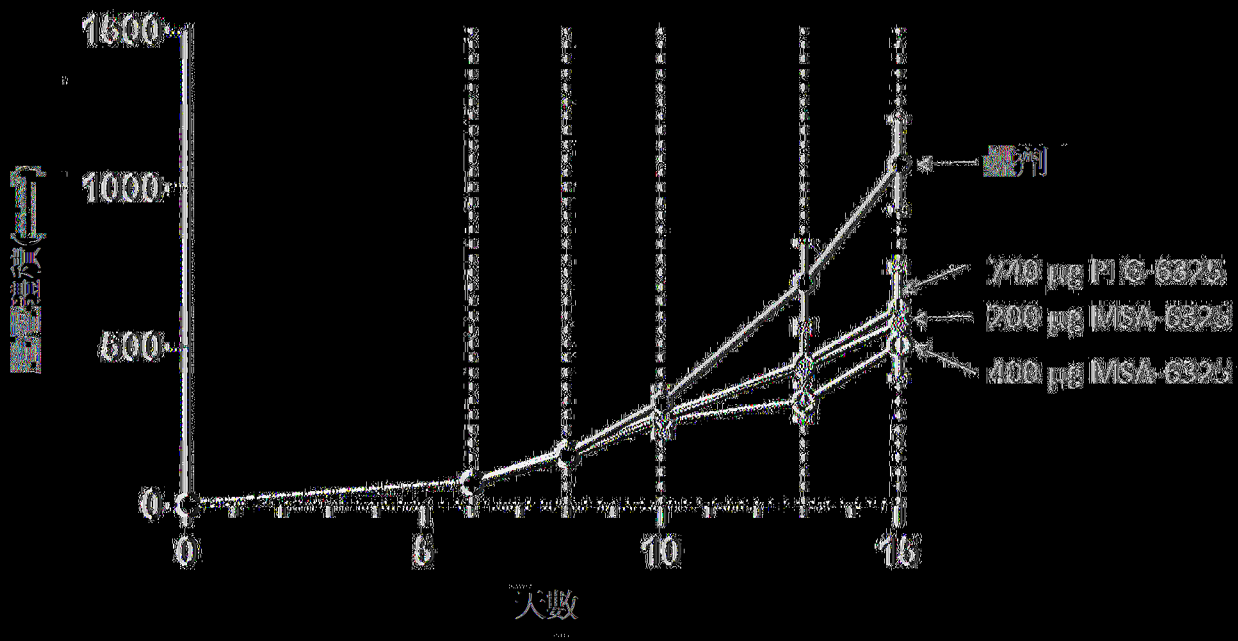
[(6A)]



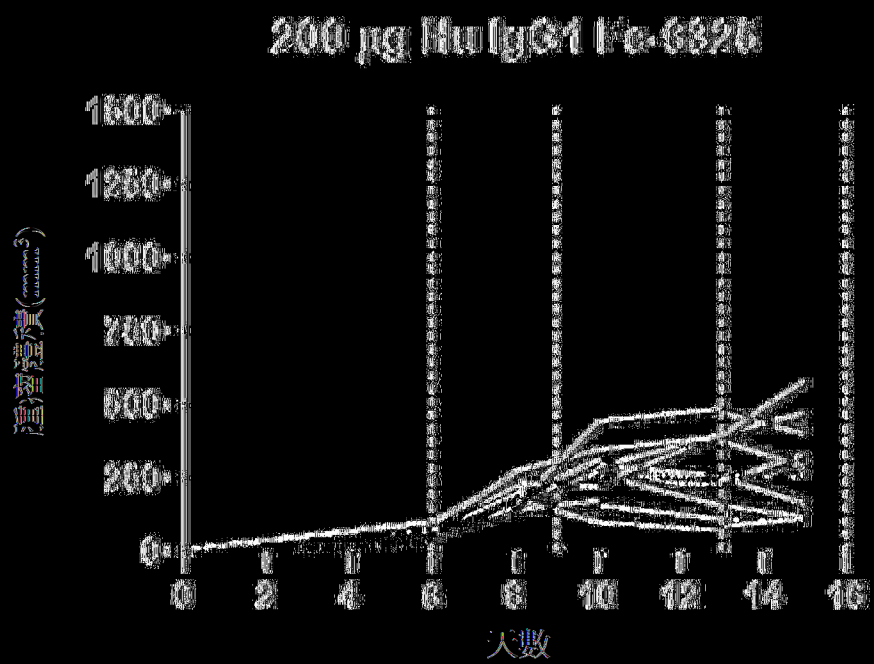
[(6B)]



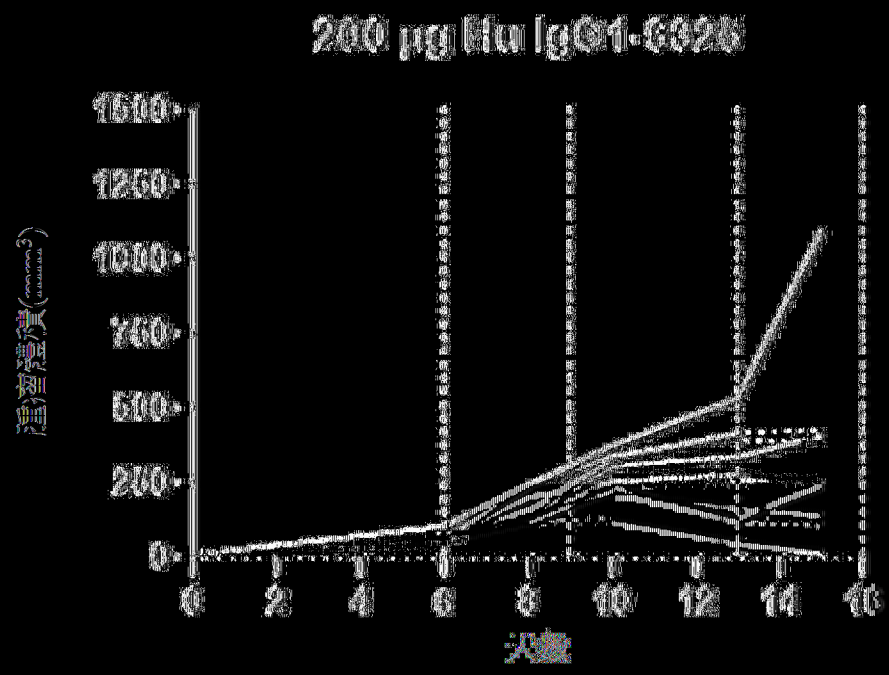
[091]



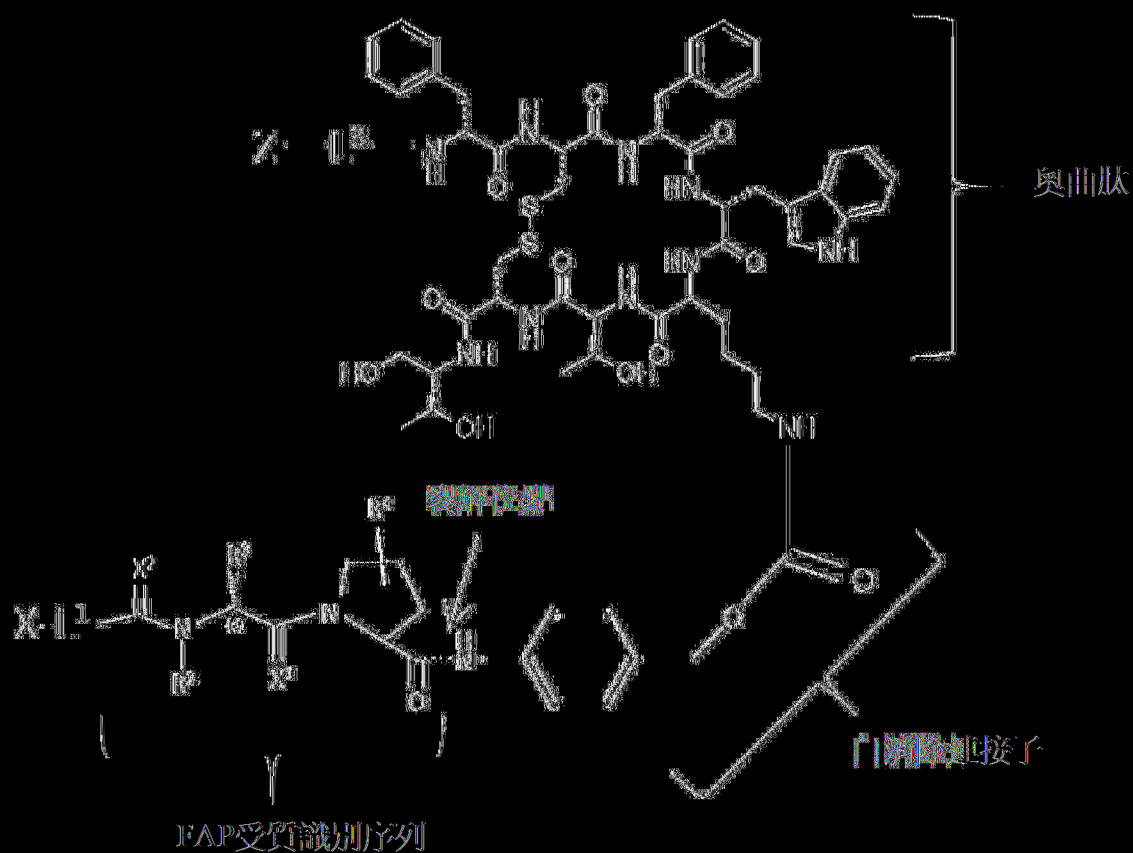
(圖)



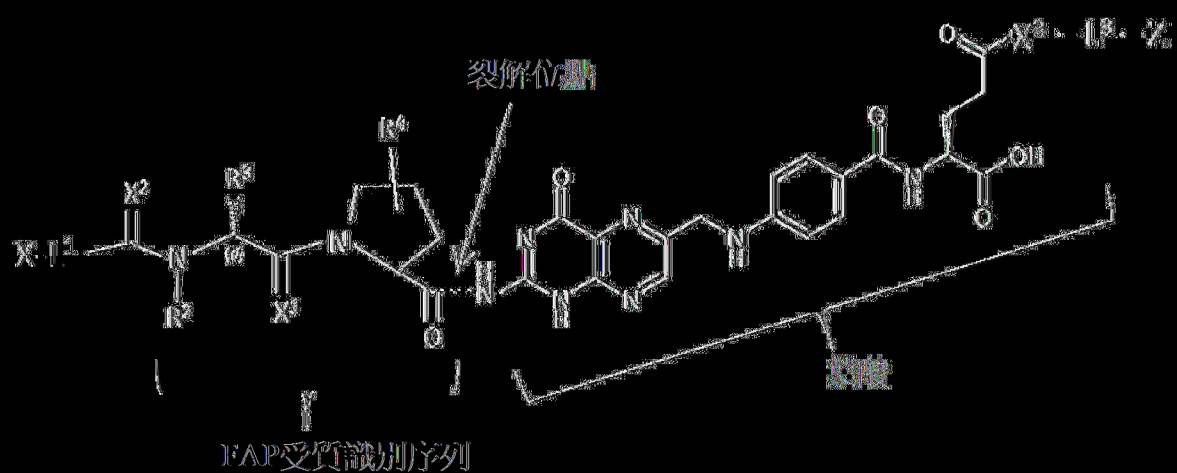
(圖8A)



(圖8B)



|(圖9)|



|(圖10)|

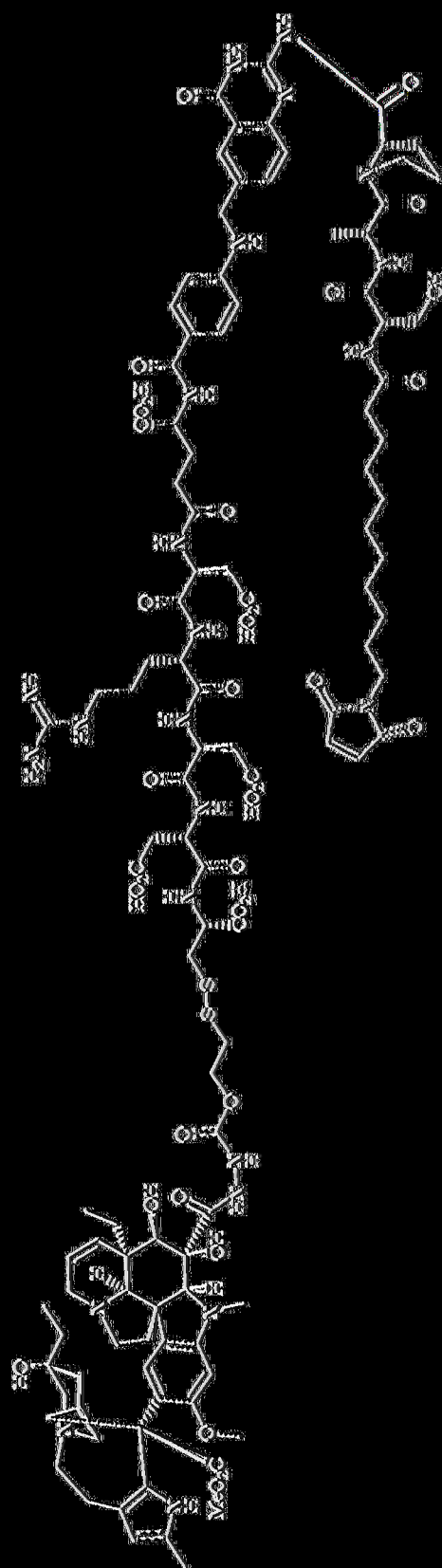


圖 1

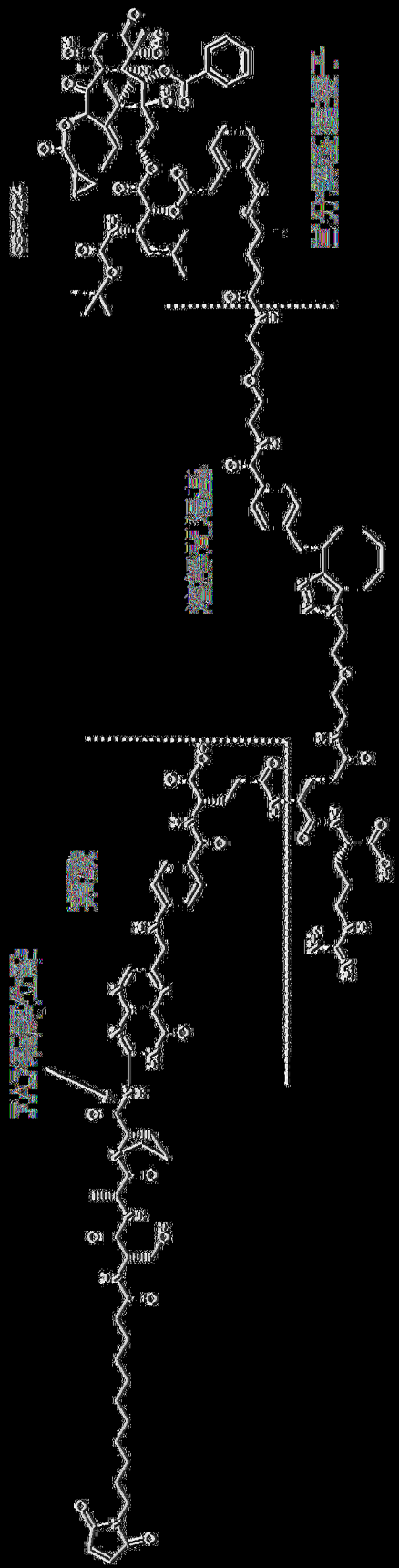
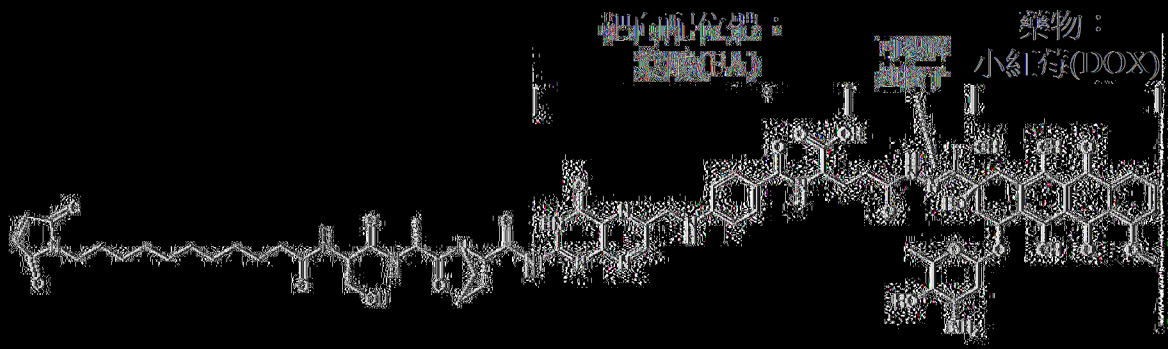
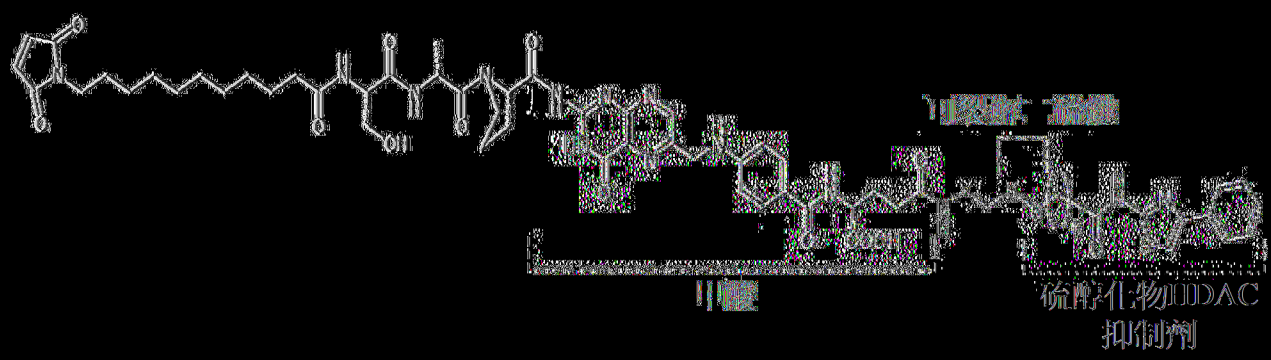


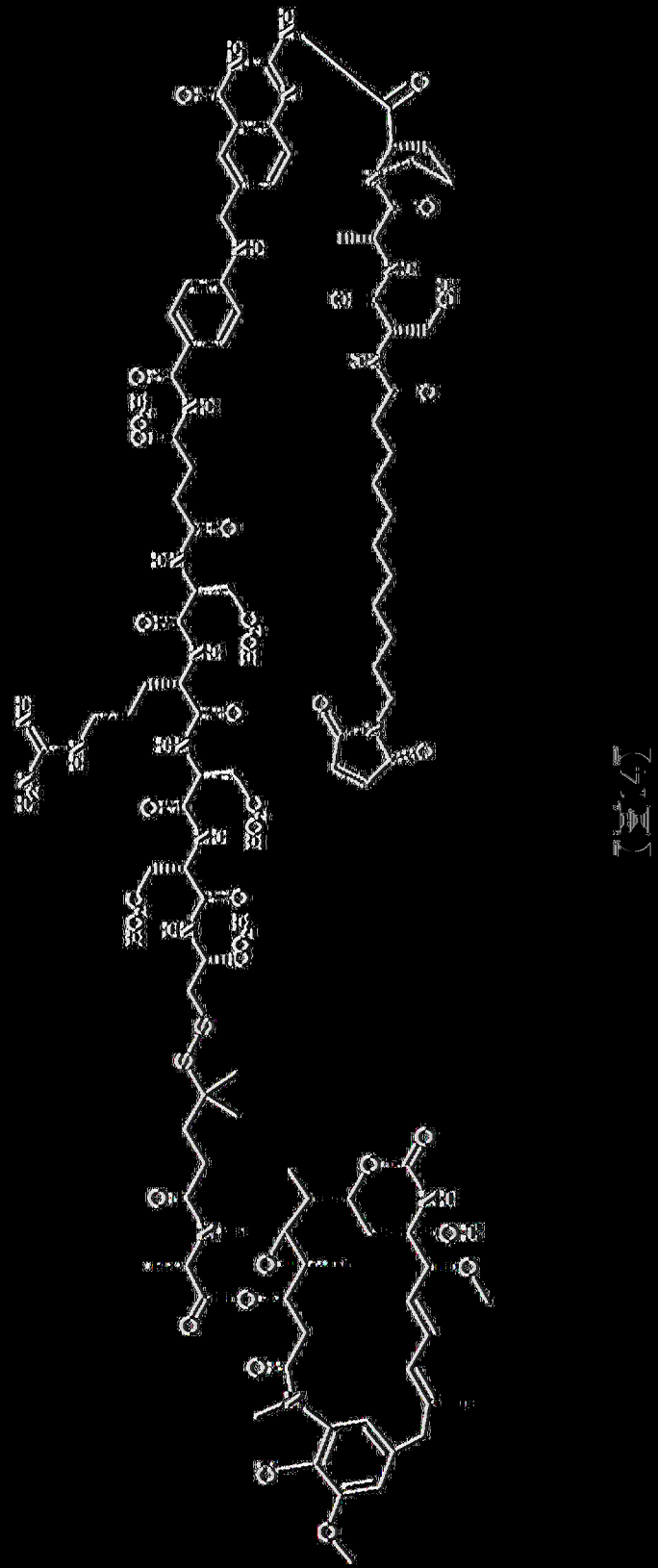
圖 2

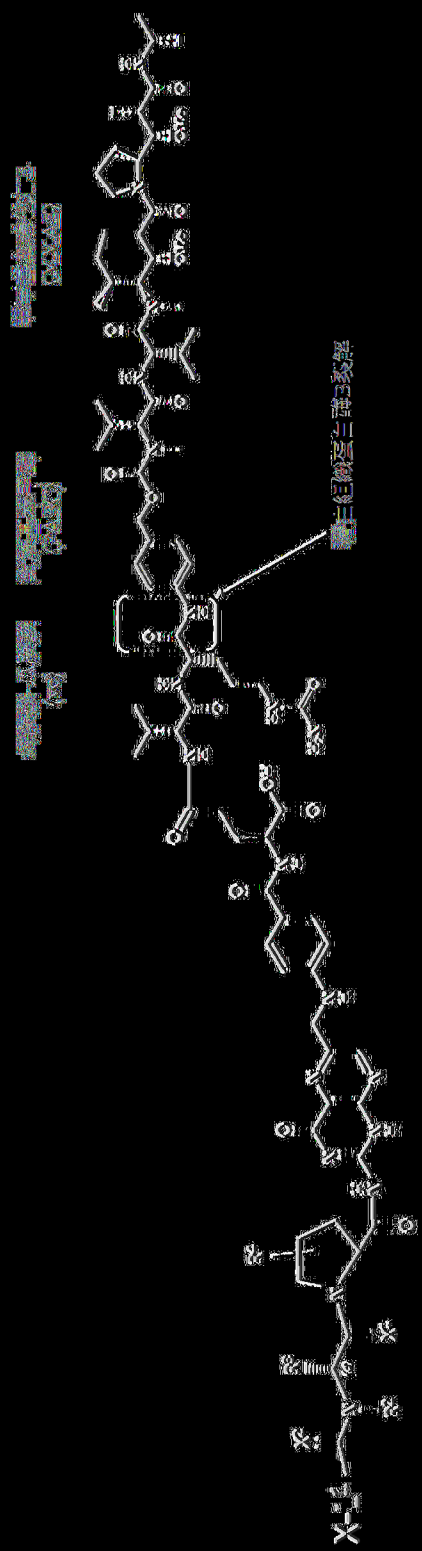


(圖13A)



(圖13B)





(S.5)

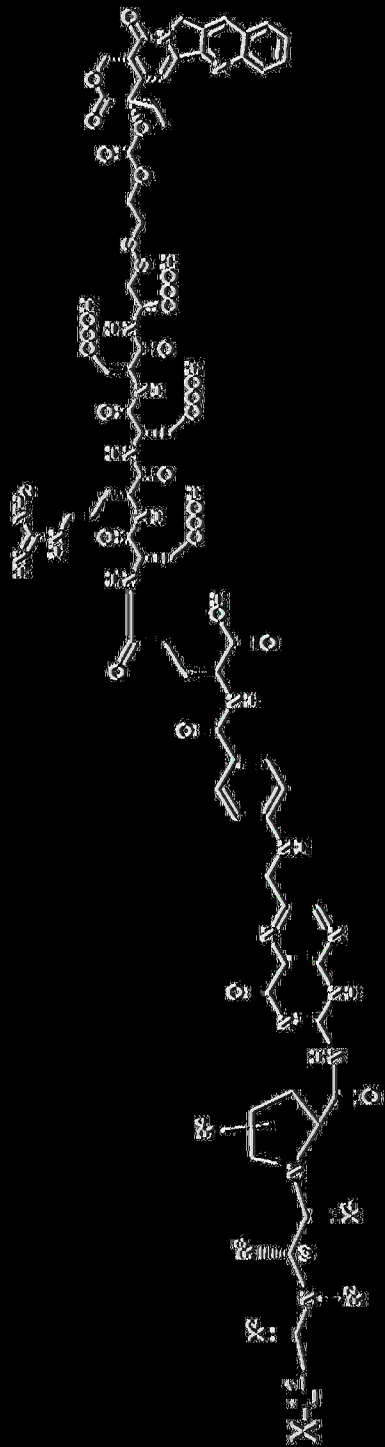
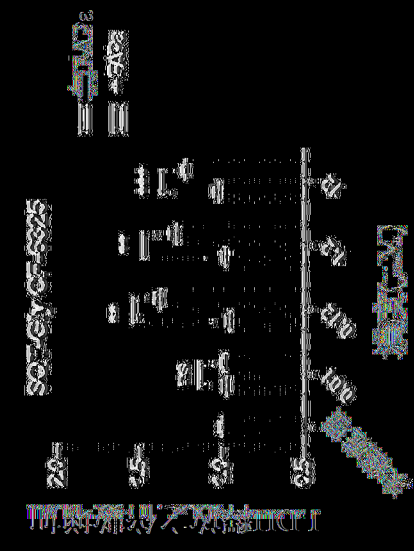
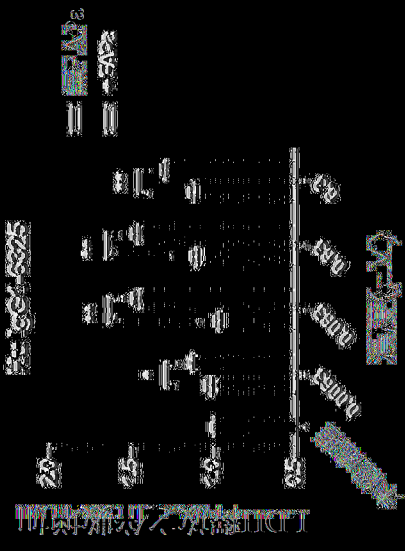
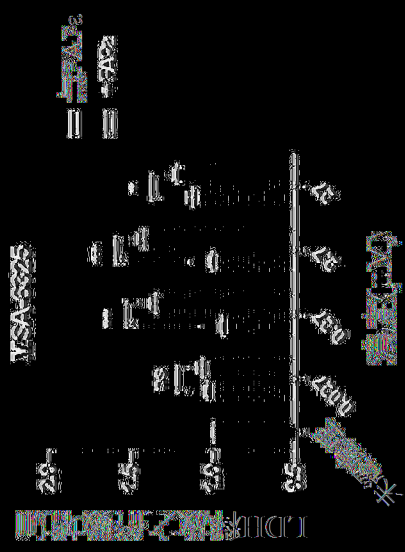
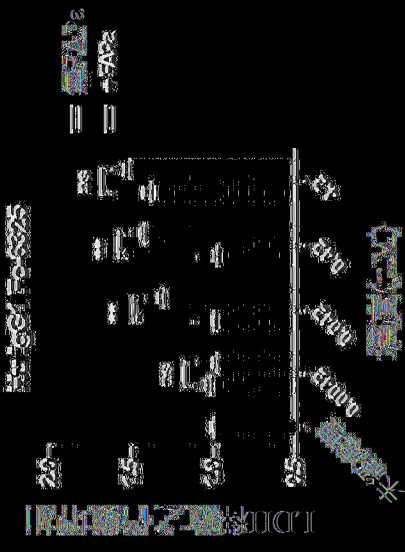
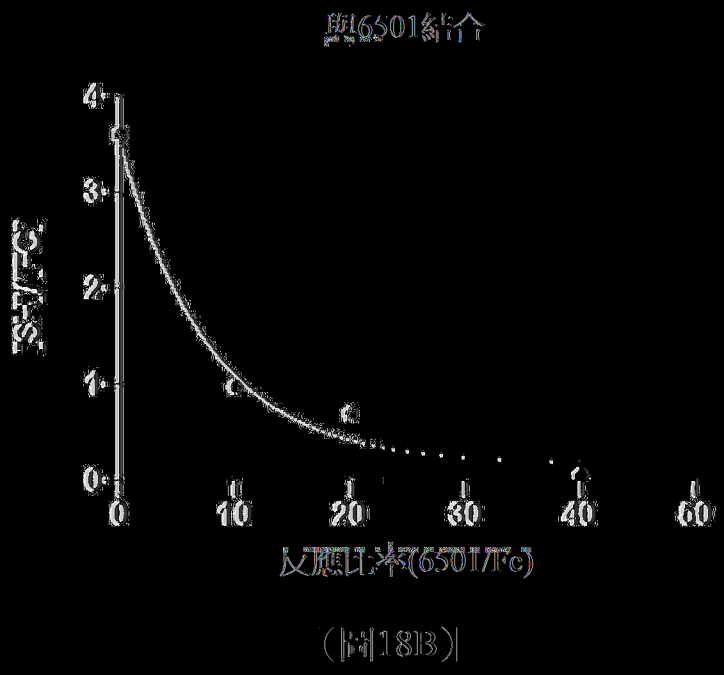
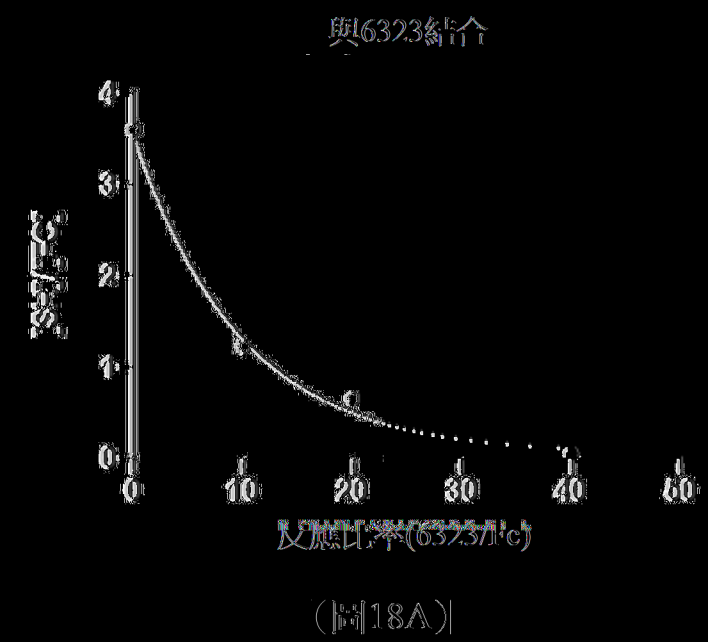


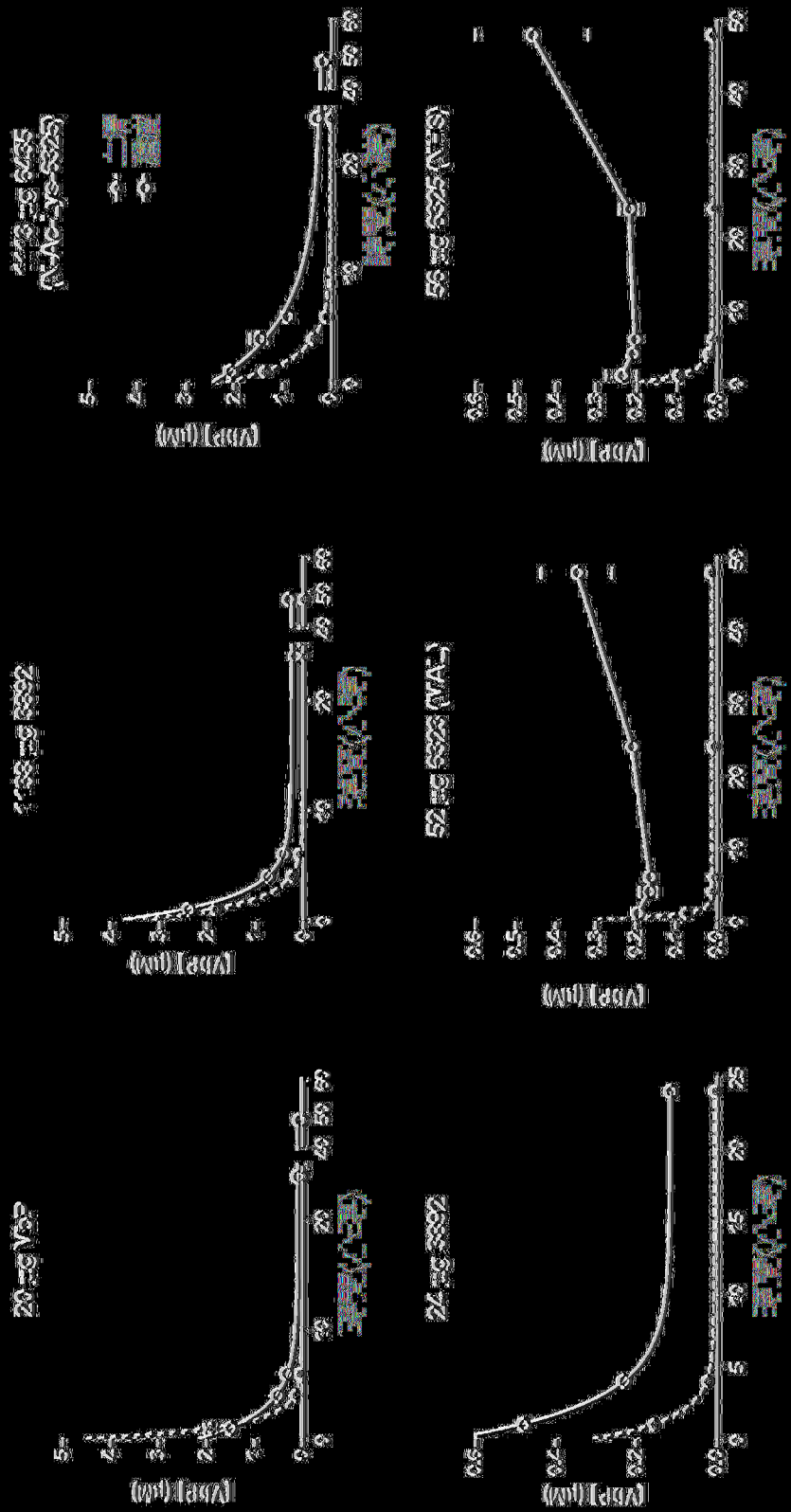
圖 6



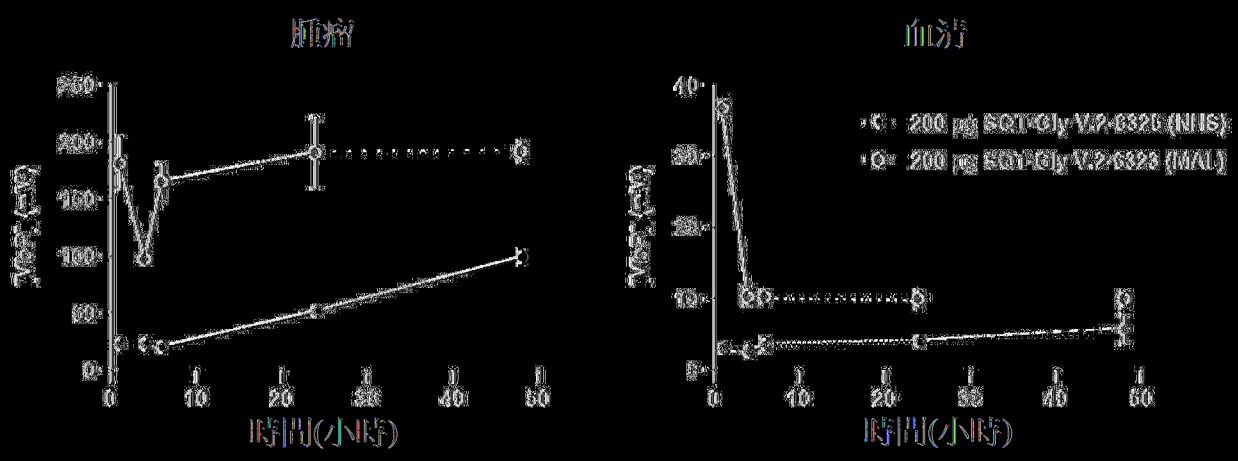
[圖 7]



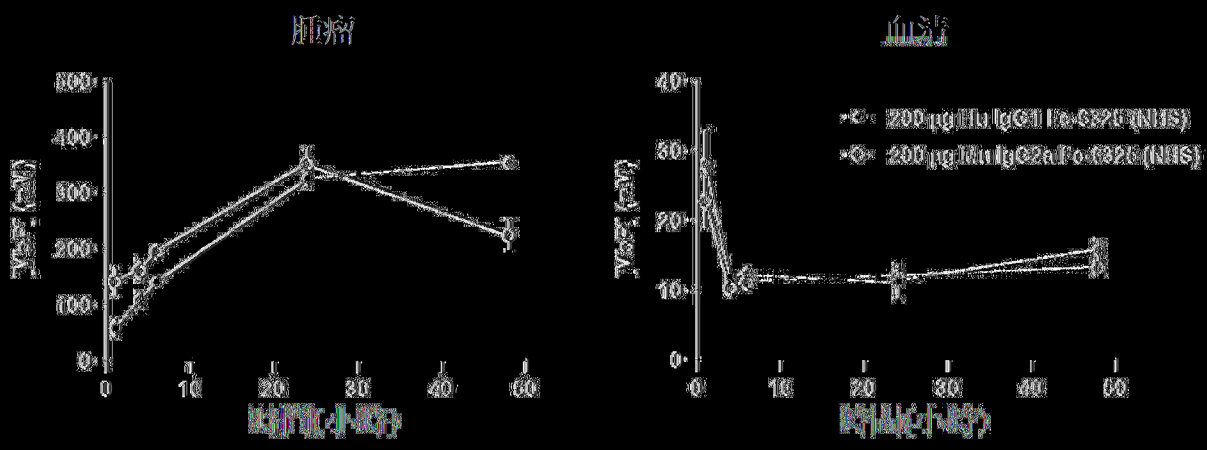




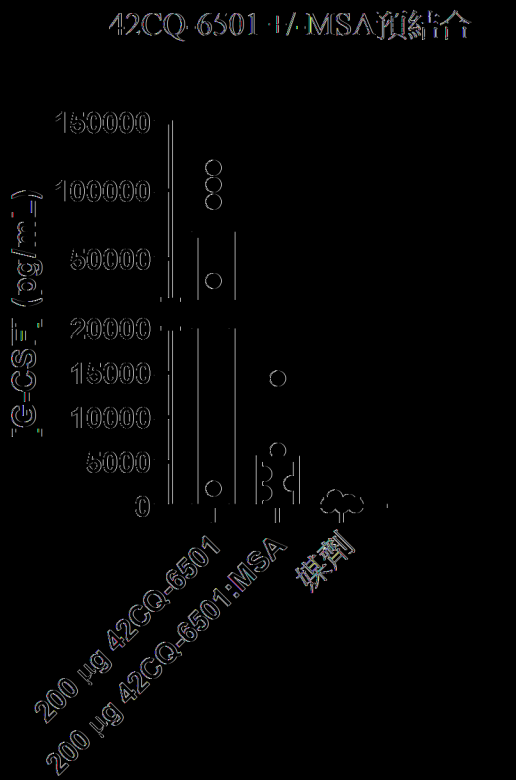
[Table 1]



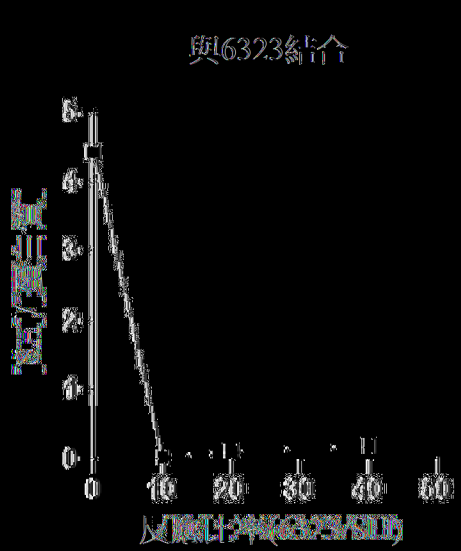
[(FIG)22A]



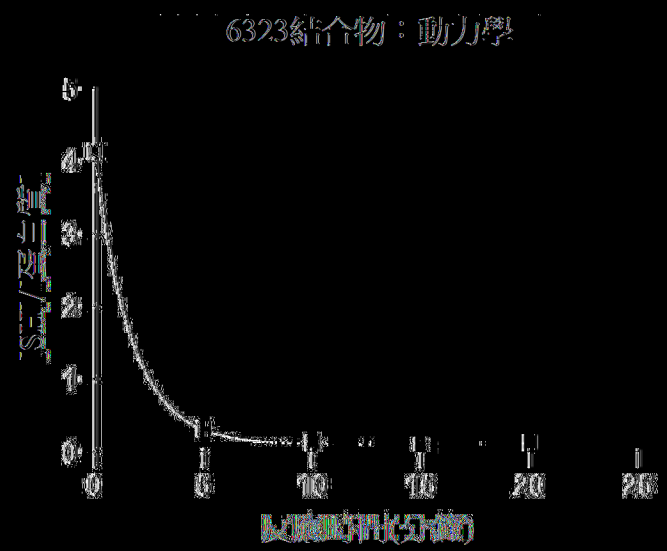
[(FIG)22B]



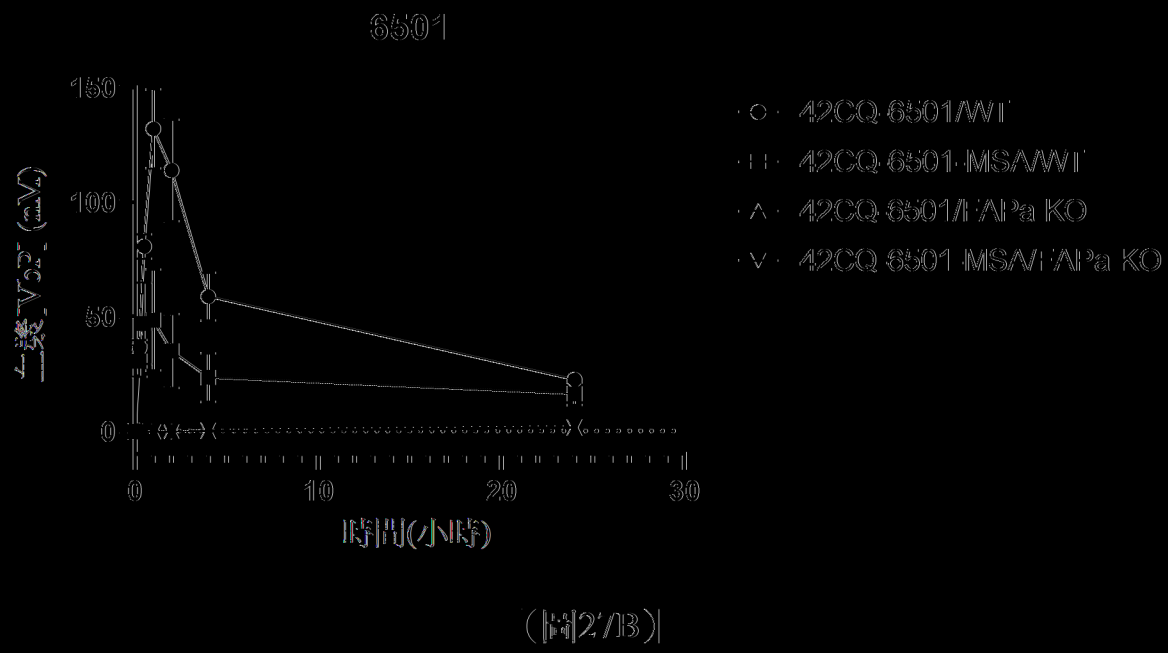
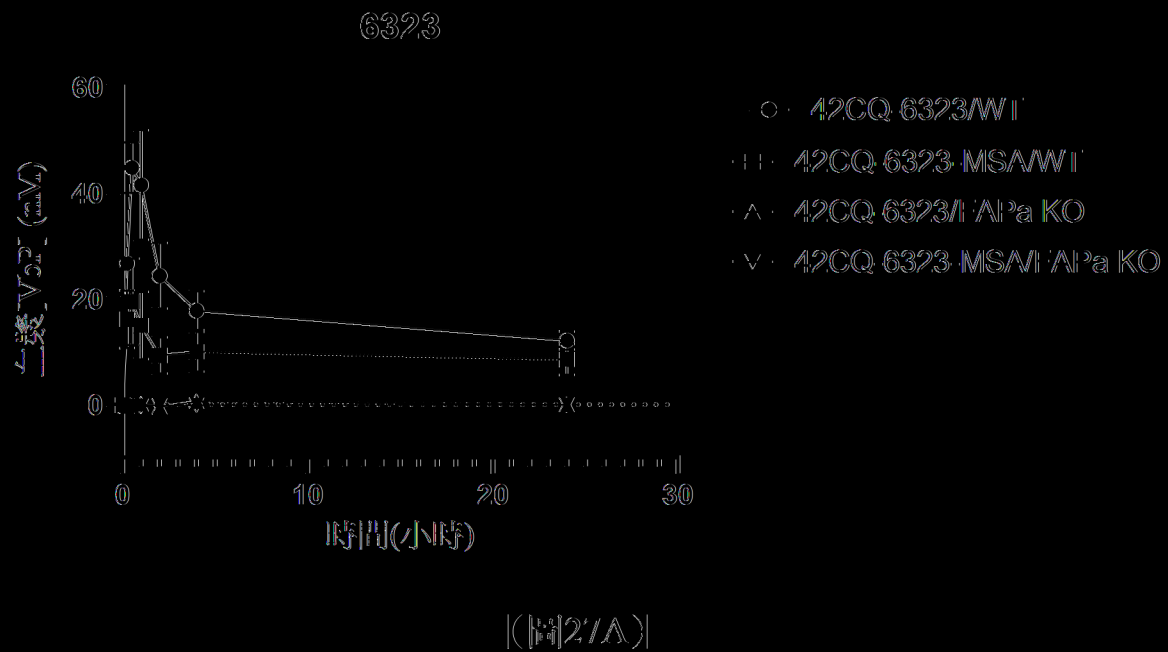
(圖23)

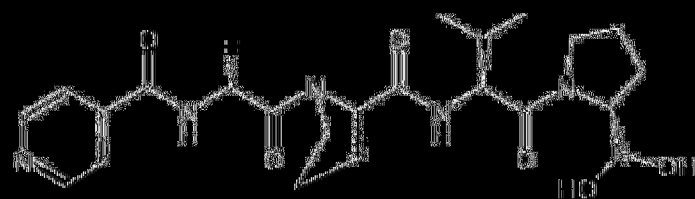


(圖24A)



(圖24B)





[(28)]