



(12) 发明专利



(10) 授权公告号 CN 110536703 B

(45) 授权公告日 2024. 07. 12

(21) 申请号 201880025195.1

(22) 申请日 2018.04.20

(65) 同一申请的已公布的文献号  
申请公布号 CN 110536703 A

(43) 申请公布日 2019.12.03

(30) 优先权数据

1706223.3 2017.04.20 GB  
1706224.1 2017.04.20 GB  
1706225.8 2017.04.20 GB  
1706226.6 2017.04.20 GB  
1706227.4 2017.04.20 GB  
1706228.2 2017.04.20 GB  
1706229.0 2017.04.20 GB  
1706230.8 2017.04.20 GB  
1706231.6 2017.04.20 GB

(85) PCT国际申请进入国家阶段日  
2019.10.15

(86) PCT国际申请的申请数据  
PCT/EP2018/060209 2018.04.20

(87) PCT国际申请的公布数据  
W02018/193102 EN 2018.10.25

(73) 专利权人 ADC治疗有限公司

地址 瑞士埃帕兰日

专利权人 免疫医疗有限公司

(72) 发明人 帕特丘斯·亨德里克斯·科内利斯·瓦·贝克尔  
延斯·维特纳 约翰·哈特利  
弗朗西丝卡·扎马尔基

(74) 专利代理机构 上海弼兴律师事务所 31283  
专利代理师 薛琦

(51) Int.Cl.

A61K 47/68 (2006.01)  
A61K 31/7068 (2006.01)  
A61K 31/706 (2006.01)  
A61K 31/502 (2006.01)  
A61K 45/06 (2006.01)  
A61P 35/00 (2006.01)

(56) 对比文件

CN 102036660 A, 2011.04.27  
W0 2016053107 A1, 2016.04.07

审查员 杜正午

权利要求书2页 说明书108页  
序列表80页 附图9页

(54) 发明名称

使用抗AXL抗体-药物缀合物的组合法

(57) 摘要

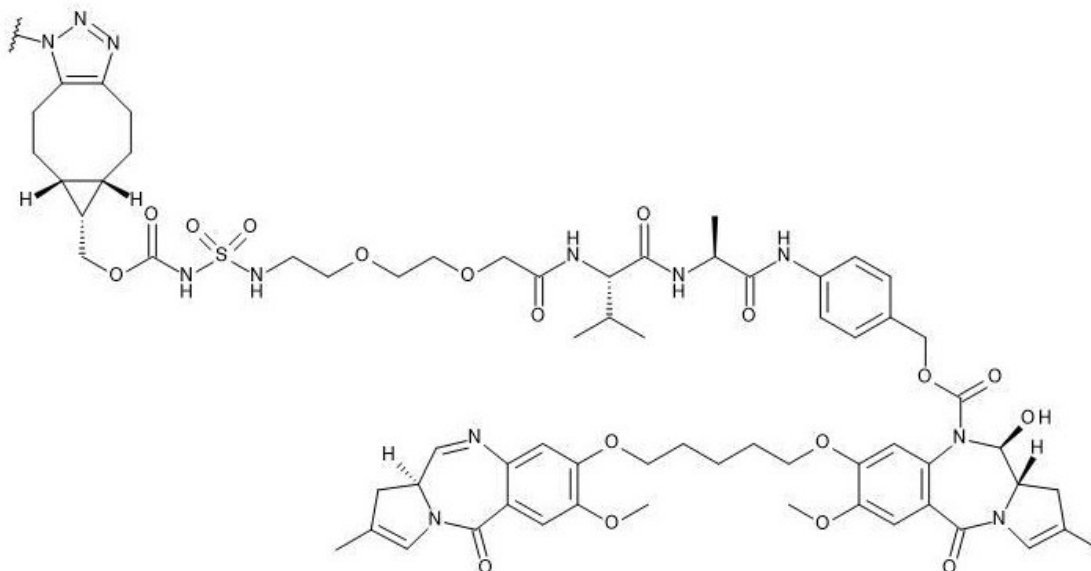
本公开涉及用于治疗病理病状(例如癌症)的组合法。具体地,本公开涉及包括用抗体药物缀合物(ADC)和第二药剂治疗的组合法。

1. 一种用于治疗个体的癌症的含ADCxAXL的第一药物和含第二药剂的第二药物的组合,其中所述ADCxAXL具有以下化学结构:

Ab - (DL)<sub>p</sub> (I)

其中:

DL是:



p为1至8, Ab是与AXL结合的抗体, 所述抗体包含:

(a) 重链, 所述重链包含具有氨基酸序列SEQ ID NO.5的VH CDR1、具有氨基酸序列SEQ ID NO.6的VH CDR2以及具有氨基酸序列SEQ ID NO.7的VH CDR3; 和

(b) 轻链, 所述轻链包含具有氨基酸序列SEQ ID NO.8的VL CDR1、具有氨基酸序列SEQ ID NO.9的VL CDR2以及具有氨基酸序列SEQ ID NO.10的VL CDR3。

2. 如权利要求1所述的组合, 其中所述抗体包含具有氨基酸序列SEQ ID NO.1的VH结构域和具有氨基酸序列SEQ ID NO.2的VL结构域。

3. 如权利要求1所述的组合, 其中所述抗体包含具有氨基酸序列SEQ ID NO.3的重链和具有氨基酸序列SEQ ID NO.4的轻链。

4. 如权利要求1所述的组合, 其中与所述抗体连接的结构是N-[糖]-DL, 其中N为天冬酰胺残基, [糖]表示糖残基。

5. 如权利要求4所述的组合, 其中所述糖残基为GlcNAc残基, 且p为1至4。

6. 如权利要求4所述的组合, 其中所述天冬酰胺残基为SEQ ID NO.3的位置297或302处的天冬酰胺。

7. 如权利要求1所述的组合, 其中所述第二药剂为氟达拉滨或阿糖胞苷。

8. 如权利要求1所述的组合, 其中所述第二药剂是PD1拮抗剂。

9. 如权利要求8所述的组合, 其中所述PD1拮抗剂选自派姆单抗、纳武单抗、MEDI0680、PDR001、卡瑞利珠单抗、AUNP12、皮地利珠单抗、Cemiplimab、AMP-224、BGB-A317和BGB-108。

10. 如权利要求1所述的组合, 其中所述第二药剂是PD-L1拮抗剂。

11. 如权利要求10所述的组合, 其中所述PD-L1拮抗剂选自阿特殊单抗、BMS-936559、德瓦鲁单抗和MSB0010718C。

12. 如权利要求1所述的组合,其中所述第二药剂是糖皮质激素诱导的TNFR相关蛋白激动剂。

13. 如权利要求12所述的组合,其中所述糖皮质激素诱导的TNFR相关蛋白激动剂选自MEDI1873、TRX518、GWN323、MK-1248、MK-4166、BMS-986156和INCAGN1876。

14. 如权利要求1所述的组合,其中所述第二药剂是OX40激动剂。

15. 如权利要求14所述的组合,其中所述OX40激动剂选自MEDI0562、MEDI6383、MOXR0916、RG7888、OX40mAb24、INCAGN1949、GSK3174998和PF-04518600。

16. 如权利要求1所述的组合,其中所述第二药剂是CTLA-4拮抗剂。

17. 如权利要求16所述的组合,其中所述CTLA-4拮抗剂选自伊匹单抗和替西木单抗。

18. 如权利要求1所述的组合,其中所述第二药剂为低甲基化剂。

19. 如权利要求18所述的组合,其中所述低甲基化剂为阿扎胞苷。

20. 如权利要求18所述的组合,其中所述低甲基化剂为地西他滨。

21. 如权利要求1所述的组合,其中所述第二药剂为PARP抑制剂。

22. 如权利要求21所述的组合,其中所述PARP抑制剂选自奥拉帕尼、CEP-9722、他唑来膦、鲁卡帕尼、伊尼帕利、维利帕尼、尼拉帕利、BGB-290、3-氨基苯甲酰胺和E7016。

23. 如权利要求1所述的组合,其中所述第二药剂为上调HER2表达的药剂。

24. 如权利要求23所述的组合,其中所述上调HER2表达的药剂选自吉西他滨和他莫昔芬。

25. 如权利要求1所述的组合,其中所述第二药剂为AXL激酶抑制剂。

26. 如权利要求25所述的组合,其中所述AXL激酶抑制剂选自BGB324、TP0903、吉特替尼、卡博替尼、SGI7079、Merestinib、amuvatinib、博舒替尼、MGCD265和foretinib。

27. 如权利要求1所述的组合,其中所述第二药剂为BRAF抑制剂。

28. 如权利要求27所述的组合,其中所述BRAF抑制剂选自维罗非尼、PLX4720、达帕非尼、索拉非尼、康奈非尼和GDC0879。

29. 如权利要求1所述的组合,其中所述第二药剂为MEK抑制剂。

30. 如权利要求29所述的组合,其中所述MEK抑制剂选自曲美替尼、考比替尼、比美替尼、司美替尼、PD-325901、CI-1040、PD035901、U0126和TAK-733。

31. 一种含如权利要求1~6任一项所述的ADCxAXL和如权利要求7~30任一项所述的第二药剂的药物组合物。

32. 一种试剂盒,其包含:

含如权利要求1~6任一项所述的ADCxAXL的第一药物;

含如权利要求7~30任一项所述的第二药剂的第二药物;以及任选地,

包装插页,其包括用于将所述第一药物与所述第二药物组合施用至个体以治疗癌症的说明书。

33. 如权利要求1~30任一项所述的组合或如权利要求31所述的药物组合物在制备治疗个体的癌症的药物中的用途,其中所述癌症选自包括以下的组:乳腺癌、肺癌、肾癌和胰腺癌。

## 使用抗AXL抗体-药物缀合物的组合疗法

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求全部于2017年4月20日提交的GB1706231.6、GB1706230.8、GB1706229.0、GB1706228.2、GB1706227.4、GB1706226.6、GB1706225.8和GB1706224.1、GB1706223.3的权益。

### 技术领域

[0003] 本公开涉及用于治疗病理病状(例如癌症)的组合疗法。具体地,本公开涉及包括用抗体药物缀合物(ADC)和第二药剂治疗的组合疗法。

### 背景技术

[0004] 抗体疗法

[0005] 已经建立抗体疗法以用于靶向治疗患有癌症、免疫学和血管生成病症的受试者(Carter,P.(2006)Nature Reviews Immunology 6:343-357)。使用抗体-药物缀合物(ADC)(即免疫缀合物)用于在癌症治疗中局部递送细胞毒性剂或细胞生长抑制剂(即用于杀死或抑制肿瘤细胞的药物)将药物部分靶向递送至肿瘤,并在所述肿瘤中进行细胞内积累,而全身施用这些未缀合的药物试剂可能造成对正常细胞而言不可接受水平的毒性(Xie等人(2006)Expert.Opin.Biol.Ther.6(3):281-291;Kovtun等人(2006)Cancer Res.66(6):3214-3121;Law等人(2006)Cancer Res.66(4):2328-2337;Wu等人(2005)Nature Biotech.23(9):1137-1145;Lambert J.(2005)Current Opin.in Pharmacol.5:543-549;Hamann P.(2005)Expert Opin.Ther.Patents 15(9):1087-1103;Payne,G.(2003)Cancer Cell 3:207-212;Trail等人(2003)Cancer Immunol.Immunother.52:328-337;Syrigos和Epenetos(1999)Anticancer Research 19:605-614)。

[0006] AXL

[0007] Axl是受体酪氨酸激酶亚家族的成员。虽然与其他受体酪氨酸激酶类似,但是Axl蛋白表示了与IgI和FNIII重复序列并置的细胞外区域的独特结构,并且具有包含细胞内结构域的细胞内区域,所述细胞内结构域的一部分是激酶结构域。Axl通过结合生长因子如维生素K依赖性蛋白生长终止特异性基因6(Gas6)将信号从细胞外基质转导到细胞质中。可以切割Axl的细胞外结构域,并且可以释放65kDa的可溶性细胞外结构域。切割增强受体转换并产生部分活化的激酶(O'Bryan JP等人(1995)J Bioi Chern.270(2):551-557)。

[0008] 与人Axl基因和基因产物有关的结构信息描述于W02003/068983中。以下专利公布还涉及Axl或其他酪氨酸激酶受体:US5468634;US6087144;US5538861;US5968508;US6211142;US6235769;W01999/49894;W02000/76309;W02001/16181和W02001/32926。

[0009] Axl参与刺激细胞增殖。具体而言,Axl是也与结肠癌和黑素瘤相关的慢性髓性白血病相关致癌基因。它紧邻位于19q13.1-q13.2处的bc13致癌基因。Axl基因在脊椎动物物种中是进化上保守的,并且在发育期间在间充质中表达。

[0010] 在与Gas6配体相互作用时,Axl变为自身磷酸化的,并发生信号转导事件的级联。

已知PI3K、AKT、src、Bad、14-3-3、PLC、ERK、S6K(丝裂原

[0011] 调节激酶)和STAT各自均参与此级联。Gas6具有富含 $\gamma$ -羧基谷氨酸的区域(GLA结构域),其允许Ca<sup>++</sup>依赖性结合膜磷脂。Gas6是一种弱丝裂原,并在经受TNF诱导的细胞毒性或生长因子去除的应激的NIH3T3成纤维细胞中具有抗细胞凋亡作用。在NIH3T3中,Gas6与Ax1的结合导致PI3K、AKT、src和Bad的活化。

[0012] 研究表明,Ax1在肿瘤形成中起着许多不同的作用。Ax1是血管生成行为的关键调节因子,包括内皮细胞迁移、增殖和管形成。Ax1也是人乳腺癌细胞在体内形成肿瘤所必需的,这表明Ax1调节对新血管形成和肿瘤发生都至关重要的过程(Holland S.等人,Cancer Res 2005;65(20),2005年10月15日)。

[0013] Ax1受体酪氨酸激酶的活性与肿瘤转移呈正相关。更具体地,研究表明Ax1增强MMP-9的表达,所述MMP-9是Ax1介导的侵袭所需要的。Ax1通过活化NF-BK和Brg-1诱导MMP-9活性来促进细胞侵袭(Tai,K-Y等人,Oncogene(2008),27,4044-4055)。Ax1在人神经胶质瘤细胞中过表达,并且可用于预测患有多形性胶质母细胞瘤(GBM)的患者的预后不良(Vajkoczy P.等人,PNAS,2006年4月11日,第103卷,第15期,5799-5804;Hutterer M.等人,Clinical Cancer Res 2008;14(1)2008年1月1日;)。与其微创对应物相比,Ax1在高侵袭性肺癌细胞系中也相对过表达(Shieh,Y-S等人,Neoplasia,第7卷,第12期,2005年12月,1058-1064)。因此Ax1被认为在肿瘤侵袭和进展中起重要作用。

[0014] 同样,Ax1在高侵袭性乳腺癌细胞中表达,但在低侵袭性乳腺癌细胞中不表达。更具体地,Ax1信号传导的抑制(通过显性失活的Ax1突变体、针对Ax1的细胞外结构域的抗体或通过Ax1的短发夹RNA敲低)降低了高侵袭性乳腺癌细胞的运动性和侵入性。小分子Ax1抑制剂干扰乳腺癌细胞的运动性和侵袭性。因此,Ax1被理解为信号传导网络中控制乳腺癌细胞的运动性/侵袭性的关键元件(Zhang,Y-X等人,Cancer Res 2008;68(6),2008年3月15日)。

[0015] 在系膜细胞中,发现Gas6具有促有丝分裂作用,这表明可能在肾小球硬化的进展中起作用。有证据表明Gas6/Ax1途径也在肾小球肾炎中起作用(Y Yanagita M.等人,The Journal of Clinical Investigation;2002,110(2)239-246)。进一步研究表明,Gas6在动脉损伤模型中促进内皮细胞的存活。血管紧张素II通过其AT1受体显示出增加血管平滑肌细胞中的Ax1 mRNA和蛋白受体(Melaragno M.G.等人,Circ Res.,1998,83(7):697-704)。Ax1还显示参与免疫系统中的细胞粘附、细胞增殖和稳态调节(Lu Q.,2001)Science 293(5528):306311)。在Ax1活化后,观察到以下现象:抑制细胞凋亡、增加成纤维细胞和内皮细胞的“正常”细胞(未转化的)存活、血管平滑肌细胞(VSMC)迁移(Ax1激酶的失活阻断迁移)、增强血管壁中的新内膜形成(Melaragno M.G.等人,Trends Cardiovasc Med.,1999,(Review)9(8):250-253)以及参与病变形成和动脉粥样硬化的进展。

[0016] 抗AXLADC的治疗用途

[0017] 已经建立了包含抗AXL抗体(抗AXL-ADC)的抗体药物缀合物在治疗例如癌症中的功效-参见例如W02016/166297、W02016/166302、GB1702029.8、GB1719906.8和PCT/EP2018/053163。

[0018] 继续研究以进一步改善抗AXL ADC的功效、耐受性和临床效用。为此,本发明人已经鉴定了临床上有利的组合疗法,其中抗AXL ADC与至少一种第二药剂组合施用。

## 发明内容

[0019] 本发明人已经确定,向个体施用ADC和第二药剂的组合产生意想不到的临床优势。

[0020] 因此,在一方面,本公开提供了一种用于治疗个体的病症的方法,所述方法包括向所述个体施用有效量的ADC和第二药剂。

[0021] 所述病症可以是增殖性疾病,例如癌症。癌症包括转移性癌症和转移性癌细胞,例如循环肿瘤细胞,其可以在体液诸如血液或淋巴液中循环。特别感兴趣的癌症包括但不限于乳腺癌、肺癌、胃癌、头颈癌、结肠直肠癌、肾癌、胰腺癌、子宫癌、肝癌、膀胱癌、子宫内膜癌和前列腺癌以及淋巴瘤(例如非霍奇金淋巴瘤,NHL)和白血病(特别是急性髓性白血病,AML)。

[0022] 其他感兴趣的病症包括其中Ax1过表达或其中Ax1拮抗作用将提供临床益处的任何病状。这些病症包括免疫病症、心血管病症、血栓形成、糖尿病、免疫检查点病症或纤维变性病症(纤维化),诸如斜视(strabismus)、硬皮病、瘢痕疙瘩、肾源性系统性纤维化、肺纤维化、特发性肺纤维化(IPF)、囊性纤维化(CF)、系统性硬化症、心脏纤维化、非酒精性脂肪性肝炎(NASH)、其他类型的肝纤维化、原发性胆汁性肝硬化、肾纤维化、癌症和动脉粥样硬化。

[0023] 增殖性疾病的特征可在于存在包含AXL+ve和AXL-ve细胞的肿瘤。

[0024] 增殖性疾病的特征可在于存在由AXL-ve肿瘤细胞组成的肿瘤,任选地其中AXL-ve肿瘤细胞与AXL+ve非肿瘤细胞相关。

[0025] 靶肿瘤或肿瘤细胞可以是实体瘤的全部或部分。

[0026] “实体瘤”在本文中应理解为包括在本文中更详细地讨论的实体血液学癌症,例如淋巴瘤(霍奇金淋巴瘤或非霍奇金淋巴瘤)。

[0027] 实体瘤可以是肿瘤,包括非血液学癌症,包含AXL+ve肿瘤细胞或由AXL+ve肿瘤细胞组成。实体瘤可以是肿瘤,包括非血液学癌症,其浸润有AXL+ve细胞,例如AXL+ve免疫抑制性树突细胞、NK细胞或巨噬细胞;这类实体瘤可能缺乏AXL的表达(即,包含AXL-ve肿瘤细胞或由AXL-ve肿瘤细胞组成)。

[0028] 例如,实体瘤可以是具有高水平的浸润性AXL+ve细胞的肿瘤,例如浸润性树突细胞、NK细胞或巨噬细胞(Paolino,M.等人,Cancers 2016,8,97;doi:10.3390/cancers8100097)。因此,实体瘤可以是胰腺癌、乳腺癌、结肠直肠癌、胃癌和食道癌、白血病和淋巴瘤、黑素瘤、非小细胞肺癌、卵巢癌、肝细胞癌、肾细胞癌和头颈癌。

[0029] ADC可以是抗AXL-ADC,例如本文所述的ADCxAXL。

[0030] 第二药剂可以是PD1拮抗剂、PD-L1拮抗剂、GITR激动剂、OX40激动剂、CTLA-4拮抗剂、氟达拉滨或阿糖胞苷、低甲基化药剂、PARP抑制剂(PARPi)、上调HER2表达的药剂、AXL抑制剂(AXLi)、BRAF抑制剂(BRAFi)或MEK抑制剂(MEKi)。

[0031] 个体可以是人类。个体可能患有癌症,或者可能已经确定患有癌症。个体可能具有或已经确定具有AXL+癌症或AXL+肿瘤相关的非肿瘤细胞。个体可能具有或已经确定具有AXL+癌症或AXL+肿瘤相关的非肿瘤细胞。

[0032] 个体可能患有或已经确定患有PD-L1+癌症。

[0033] 在所公开的方法中,ADC可以在第二药剂之前、与第二药剂同时或在第二药剂之后施用。所公开的方法可包括向个体施用另外的化学治疗剂。

[0034] -----

[0035] 在另一方面,本公开提供了一种包含ADC的第一组合物,其用于在治疗个体的病症的方法中使用,其中所述治疗包括将所述第一组合物与包含第二药剂的第二组合物组合施用。

[0036] 此方面还提供了一种包含第二药剂的第一组合物,其用于在治疗个体的病症的方法中使用,其中所述治疗包括将所述第一组合物与包含ADC的第二组合物组合施用。

[0037] 所述病症可以是增殖性疾病,例如癌症。癌症包括转移性癌症和转移性癌细胞,例如循环肿瘤细胞,其可以在体液诸如血液或淋巴液中循环。特别感兴趣的癌症包括但不限于乳腺癌、肺癌、胃癌、头颈癌、结肠直肠癌、肾癌、胰腺癌、子宫癌、肝癌、膀胱癌、子宫内膜癌和前列腺癌以及淋巴瘤(例如非霍奇金淋巴瘤,NHL)和白血病(特别是急性髓性白血病,AML)。

[0038] 其他感兴趣的病症包括其中Ax1过表达或其中Ax1拮抗作用将提供临床益处的任何病状。这些病症包括免疫病症、心血管病症、血栓形成、糖尿病、免疫检查点病症或纤维变性病症(纤维化),诸如斜视(strabismus)、硬皮病、瘢痕疙瘩、肾源性系统性纤维化、肺纤维化、特发性肺纤维化(IPF)、囊性纤维化(CF)、系统性硬化症、心脏纤维化、非酒精性脂肪性肝炎(NASH)、其他类型的肝纤维化、原发性胆汁性肝硬化、肾纤维化、癌症和动脉粥样硬化。

[0039] 增殖性疾病的特征可在于存在包含AXL+ve和AXL-ve细胞的肿瘤。

[0040] 增殖性疾病的特征可在于存在由AXL-ve肿瘤细胞组成的肿瘤,任选地其中AXL-ve肿瘤细胞与AXL+ve非肿瘤细胞相关。

[0041] 靶肿瘤或肿瘤细胞可以是实体瘤的全部或部分。

[0042] “实体瘤”在本文中应理解为包括在本文中更详细地讨论的实体血液学癌症,例如淋巴瘤(霍奇金淋巴瘤或非霍奇金淋巴瘤)。

[0043] 实体瘤可以是肿瘤,包括非血液学癌症,包含AXL+ve肿瘤细胞或由AXL+ve肿瘤细胞组成。实体瘤可以是肿瘤,包括非血液学癌症,其浸润有AXL+ve细胞,例如AXL+ve免疫抑制性树突细胞、NK细胞或巨噬细胞;这类实体瘤可能缺乏AXL的表达(即,包含AXL-ve肿瘤细胞或由AXL-ve肿瘤细胞组成)。

[0044] ADC可以是抗AXL-ADC,例如本文所述的ADCxAXL。

[0045] 第二药剂可以是PD1拮抗剂、PD-L1拮抗剂、GITR激动剂、OX40激动剂、CTLA-4拮抗剂、氟达拉滨或阿糖胞苷、低甲基化药剂、PARP抑制剂(PARPi)、上调HER2表达的药剂、AXL抑制剂(AXLi)、BRAF抑制剂(BRAFi)或MEK抑制剂(MEKi)。

[0046] 个体可以是人类。个体可能患有癌症,或者可能已经确定患有癌症。个体可能具有或已经确定具有AXL+癌症或AXL+肿瘤相关的非肿瘤细胞。个体可能具有或已经确定具有AXL+癌症或AXL+肿瘤相关的非肿瘤细胞。

[0047] 个体可能患有或已经确定患有PD-L1+癌症。

[0048] 第一组合物可以在第二组合物之前、与第二组合物同时或在第二组合物之后施用。治疗可包括向个体施用另外的化学治疗剂。

[0049] -----

[0050] 在另一方面,本公开提供了ADC在制备用于治疗个体的病症的药物中的用途,其中所述药物包含ADC,并且其中所述治疗包括将所述药物与包含第二药剂的组合物组合施用。

[0051] 此方面还提供了第二药剂在制备用于治疗个体的病症的药物中的用途,其中所述

药物包含第二药剂,并且其中所述治疗包括将所述药物与包含ADC的组合物组合施用。

[0052] 所述病症可以是增殖性疾病,例如癌症。癌症包括转移性癌症和转移性癌细胞,例如循环肿瘤细胞,其可以在体液诸如血液或淋巴液中循环。特别感兴趣的癌症包括但不限于乳腺癌、肺癌、胃癌、头颈癌、结肠直肠癌、肾癌、胰腺癌、子宫癌、肝癌、膀胱癌、子宫内膜癌和前列腺癌以及淋巴瘤(例如非霍奇金淋巴瘤,NHL)和白血病(特别是急性髓性白血病,AML)。

[0053] 其他感兴趣的病症包括其中Ax1过表达或其中Ax1拮抗作用将提供临床益处的任何病状。这些病症包括免疫病症、心血管病症、血栓形成、糖尿病、免疫检查点病症或纤维变性病症(纤维化),诸如斜视、硬皮病、瘢痕疙瘩、肾源性系统性纤维化、肺纤维化、特发性肺纤维化(IPF)、囊性纤维化(CF)、系统性硬化症、心脏纤维化、非酒精性脂肪性肝炎(NASH)、其他类型的肝纤维化、原发性胆汁性肝硬化、肾纤维化、癌症和动脉粥样硬化。

[0054] 增殖性疾病的特征可在于存在包含AXL+ve和AXL-ve细胞的肿瘤。

[0055] 增殖性疾病的特征可在于存在由AXL-ve肿瘤细胞组成的肿瘤,任选地其中AXL-ve肿瘤细胞与AXL+ve非肿瘤细胞相关。

[0056] 靶肿瘤或肿瘤细胞可以是实体瘤的全部或部分。

[0057] “实体瘤”在本文中应理解为包括在本文中更详细地讨论的实体血液学癌症,例如淋巴瘤(霍奇金淋巴瘤或非霍奇金淋巴瘤)。

[0058] 实体瘤可以是肿瘤,包括非血液学癌症,包含AXL+ve肿瘤细胞或由AXL+ve肿瘤细胞组成。实体瘤可以是肿瘤,包括非血液学癌症,其浸润有AXL+ve细胞,例如AXL+ve免疫抑制性树突细胞、NK细胞或巨噬细胞;这类实体瘤可能缺乏AXL的表达(即,包含AXL-ve肿瘤细胞或由AXL-ve肿瘤细胞组成)。

[0059] ADC可以是抗AXL-ADC,例如本文所述的ADCxAXL。

[0060] 第二药剂可以是PD1拮抗剂、PD-L1拮抗剂、GITR激动剂、OX40激动剂、CTLA-4拮抗剂、氟达拉滨或阿糖胞苷、低甲基化药剂、PARP抑制剂(PARPi)、上调HER2表达的药剂、AXL抑制剂(AXLi)、BRAF抑制剂(BRAFi)或MEK抑制剂(MEKi)。

[0061] 个体可以是人类。个体可能患有癌症,或者可能已经确定患有癌症。个体可能具有或已经确定具有AXL+癌症或AXL+肿瘤相关的非肿瘤细胞。个体可能具有或已经确定具有AXL+癌症或AXL+肿瘤相关的非肿瘤细胞。

[0062] 个体可能患有或已经确定患有PD-L1+癌症。

[0063] 所述药物可以在组合物之前、与组合物同时或在组合物之后施用。治疗可包括向个体施用另外的化学治疗剂。

[0064] -----

[0065] 本公开的另一方面提供了一种试剂盒,其包含:

[0066] 包含ADC的第一药物;

[0067] 包含第二药剂的第二药物;以及任选地,

[0068] 包装插页,其包括用于将第一药物与第二药物组合施用至个体以治疗病症的说明书。

[0069] 此方面还提供了一种试剂盒,其包含含有ADC的药物和包装插页,所述包装插页包括用于将所述药物与包含第二药剂的组合物组合施用至个体以治疗病症的说明书。



[0070] 此方面还提供了一种试剂盒,其包含含有第二药剂的药物和包装插页,所述包装插页包括用于将所述药物与包含ADC的组合物组合施用至个体以治疗病症的说明书。

[0071] 所述病症可以是增殖性疾病,例如癌症。癌症包括转移性癌症和转移性癌细胞,例如循环肿瘤细胞,其可以在体液诸如血液或淋巴液中循环。特别感兴趣的癌症包括但不限于乳腺癌、肺癌、胃癌、头颈癌、结肠直肠癌、肾癌、胰腺癌、子宫癌、肝癌、膀胱癌、子宫内膜癌和前列腺癌以及淋巴瘤(例如非霍奇金淋巴瘤,NHL)和白血病(特别是急性髓性白血病,AML)。

[0072] 其他感兴趣的病症包括其中Ax1过表达或其中Ax1拮抗作用将提供临床益处的任何病状。这些病症包括免疫病症、心血管病症、血栓形成、糖尿病、免疫检查点病症或纤维变性病症(纤维化),诸如斜视、硬皮病、瘢痕疙瘩、肾源性系统性纤维化、肺纤维化、特发性肺纤维化(IPF)、囊性纤维化(CF)、系统性硬化症、心脏纤维化、非酒精性脂肪性肝炎(NASH)、其他类型的肝纤维化、原发性胆汁性肝硬化、肾纤维化、癌症和动脉粥样硬化。

[0073] 增殖性疾病的特征可在于存在包含AXL+ve和AXL-ve细胞的肿瘤。

[0074] 增殖性疾病的特征可在于存在由AXL-ve肿瘤细胞组成的肿瘤,任选地其中AXL-ve肿瘤细胞与AXL+ve非肿瘤细胞相关。

[0075] 靶肿瘤或肿瘤细胞可以是实体瘤的全部或部分。

[0076] “实体瘤”在本文中应理解为包括在本文中更详细地讨论的实体血液学癌症,例如淋巴瘤(霍奇金淋巴瘤或非霍奇金淋巴瘤)。

[0077] 实体瘤可以是肿瘤,包括非血液学癌症,包含AXL+ve肿瘤细胞或由AXL+ve肿瘤细胞组成。实体瘤可以是肿瘤,包括非血液学癌症,其浸润有AXL+ve细胞,例如AXL+ve免疫抑制性树突细胞、NK细胞或巨噬细胞;这类实体瘤可能缺乏AXL的表达(即,包含AXL-ve肿瘤细胞或由AXL-ve肿瘤细胞组成)。

[0078] ADC可以是抗AXL-ADC,例如本文所述的ADCxAXL。

[0079] 第二药剂可以是PD1拮抗剂、PD-L1拮抗剂、GITR激动剂、OX40激动剂、CTLA-4拮抗剂、氟达拉滨或阿糖胞苷、低甲基化药剂、PARP抑制剂(PARPi)、上调HER2表达的药剂、AXL抑制剂(AXLi)、BRAF抑制剂(BRAFi)或MEK抑制剂(MEKi)。

[0080] 个体可以是人类。个体可能患有癌症,或者可能已经确定患有癌症。个体可能具有或已经确定具有AXL+癌症或AXL+肿瘤相关的非肿瘤细胞。个体可能具有或已经确定具有AXL+癌症或AXL+肿瘤相关的非肿瘤细胞。

[0081] 个体可能患有或已经确定患有PD-L1+癌症。

[0082] 包含ADC的药物或组合物可以在包含第二药剂的药物或组合物之前、与包含第二药剂的药物或组合物同时、或在包含第二药剂的药物或组合物之后施用。治疗可包括向个体施用另外的化学治疗剂。

[0083] -----

[0084] 在又另一方面,本公开提供了一种包含ADC和第二药剂的组合物。

[0085] 本公开的此方面还提供了一种治疗个体的病症的方法,所述方法包括向所述个体施用有效量的包含ADC和第二药剂的所述组合物。

[0086] 本公开的此方面还提供了包含ADC和第二药剂的组合物,其用于在治疗个体病症的方法中使用。

[0087] 本公开的此方面还提供了包含ADC和第二药剂的组合物在制备用于治疗个体的病症的药物中的用途。

[0088] 本公开的此方面还提供了一种试剂盒,其包括含有ADC和第二药剂的组合物以及用于将所述药物施用至个体以治疗病症的一组说明书。

[0089] 所述病症可以是增殖性疾病,例如癌症。癌症包括转移性癌症和转移性癌细胞,例如循环肿瘤细胞,其可以在体液诸如血液或淋巴液中循环。特别感兴趣的癌症包括但不限于乳腺癌、肺癌、胃癌、头颈癌、结肠直肠癌、肾癌、胰腺癌、子宫癌、肝癌、膀胱癌、子宫内膜癌和前列腺癌以及淋巴瘤(例如非霍奇金淋巴瘤,NHL)和白血病(特别是急性髓性白血病,AML)。

[0090] 其他感兴趣的病症包括其中Ax1过表达或其中Ax1拮抗作用将提供临床益处的任何病状。这些病症包括免疫病症、心血管病症、血栓形成、糖尿病、免疫检查点病症或纤维变性病症(纤维化),诸如斜视(strabismus)、硬皮病、瘢痕疙瘩、肾源性系统性纤维化、肺纤维化、特发性肺纤维化(IPF)、囊性纤维化(CF)、系统性硬化症、心脏纤维化、非酒精性脂肪性肝炎(NASH)、其他类型的肝纤维化、原发性胆汁性肝硬化、肾纤维化、癌症和动脉粥样硬化。

[0091] 增殖性疾病的特征可在于存在包含AXL+ve和AXL-ve细胞的肿瘤。

[0092] 增殖性疾病的特征可在于存在由AXL-ve肿瘤细胞组成的肿瘤,任选地其中AXL-ve肿瘤细胞与AXL+ve非肿瘤细胞相关。

[0093] 靶肿瘤或肿瘤细胞可以是实体瘤的全部或部分。

[0094] “实体瘤”在本文中应理解为包括在本文中更详细地讨论的实体血液学癌症,例如淋巴瘤(霍奇金淋巴瘤或非霍奇金淋巴瘤)。

[0095] 实体瘤可以是肿瘤,包括非血液学癌症,包含AXL+ve肿瘤细胞或由AXL+ve肿瘤细胞组成。实体瘤可以是肿瘤,包括非血液学癌症,其浸润有AXL+ve细胞,例如AXL+ve免疫抑制性树突细胞、NK细胞或巨噬细胞;这类实体瘤可能缺乏AXL的表达(即,包含AXL-ve肿瘤细胞或由AXL-ve肿瘤细胞组成)。

[0096] ADC可以是抗AXL-ADC,例如本文所述的ADCxAXL。

[0097] 第二药剂可以是PD1拮抗剂、PD-L1拮抗剂、GITR激动剂、OX40激动剂、CTLA-4拮抗剂、氟达拉滨或阿糖胞苷、低甲基化药剂、PARP抑制剂(PARPi)、上调HER2表达的药剂、AXL抑制剂(AXLi)、BRAF抑制剂(BRAFi)或MEK抑制剂(MEKi)。

[0098] 个体可以是人类。个体可能患有癌症,或者可能已经确定患有癌症。个体可能具有或已经确定具有AXL+癌症或AXL+肿瘤相关的非肿瘤细胞。个体可能具有或已经确定具有AXL+癌症或AXL+肿瘤相关的非肿瘤细胞。

[0099] 个体可能患有或已经确定患有PD-L1+癌症。

[0100] 治疗可包括向个体施用另外的化学治疗剂。

[0101] -----

## 具体实施方式

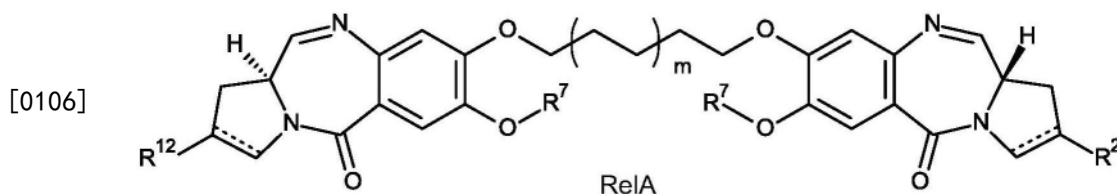
[0102] 抗体药物缀合物(ADC)

[0103] 本公开涉及改善的ADC和第二药剂的组合物。

[0104] 本公开的ADC提供PBD二聚体,其具有通过与如下定义的抗体缀合的PBD部分中的

一个上的N10位置连接的接头。

[0105] 本公开适用于将PBD化合物提供给受试者中的优选部位。缀合物允许释放不保留接头的任何部分的活性PBD化合物。不存在可能影响PBD化合物反应性的短截线。因此,式(I)缀合物将释放化合物RelA:



[0107] 本发明中PBD二聚体与抗体之间的特定连接优选在细胞外是稳定的。在运输或递送到细胞中之前,抗体-药物缀合物(ADC)优选是稳定的并且保持完整,即抗体保持与药物部分连接。接头在靶细胞外是稳定的,并且可以在细胞内以某种有效的速率切割。有效的接头将:(i)维持抗体的特异性结合特性;(ii)允许细胞内递送缀合物或药物部分;(iii)保持稳定和完整,即未切割,直至缀合物已被递送或运输至其靶部位;并且(iv)维持PBD药物部分的细胞毒性、细胞杀伤作用或细胞抑制作用。ADC的稳定性可以通过标准分析技术测量,例如质谱、HPLC和分离/分析技术LC/MS。

[0108] 式RelA化合物的递送通过酶(例如组织蛋白酶)作用于连接基团,特别是缬氨酸-丙氨酸二肽部分而在式(I)缀合物的所需活化部位处实现。

[0109] 本公开还特别涉及使用GB1702029.8、GB1719906.8、PCT/EP2018/053163公开的和本文所述的抗AXL ADC的治疗。

[0110] 抗AXL ADC

[0111] 如本文所用,术语“AXL-ADC”是指其中抗体组分是抗AXL抗体的ADC。术语“PBD-ADC”是指其中药物组分是吡咯并苯并二氮杂 $\text{草}$ (PBD)弹头的ADC。术语“抗AXL-ADC”是指其中抗体组分是抗AXL抗体并且药物组分是PBD弹头的ADC。

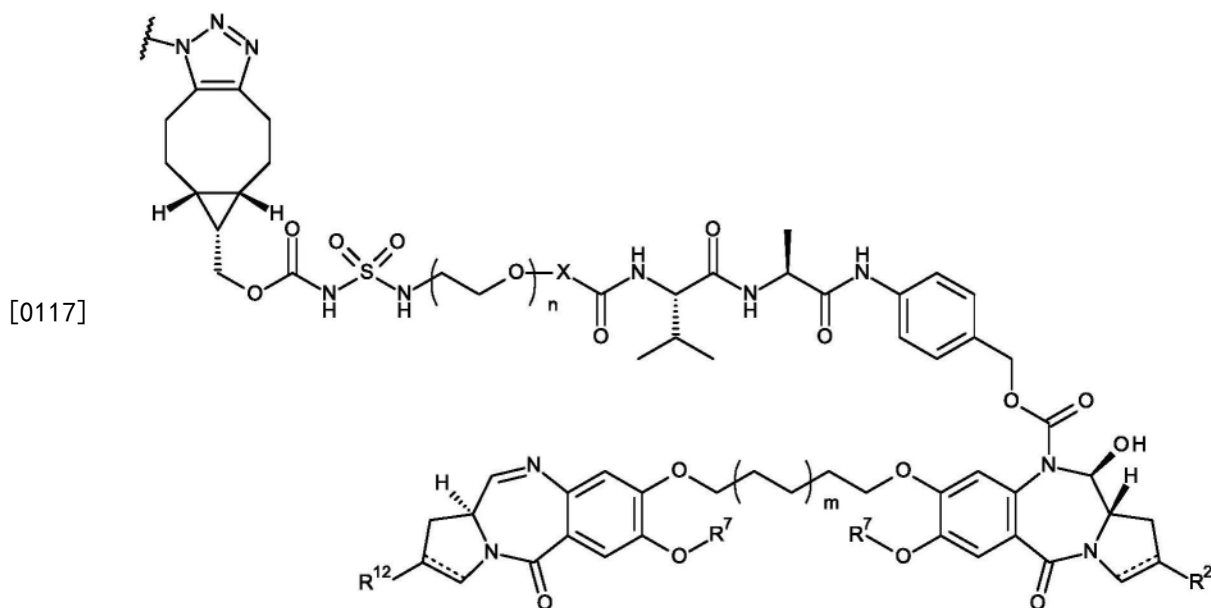
[0112] ADC可包含式(I)缀合物:

[0113]  $\text{Ab}-(\text{DL})_p$  (I)

[0114] 其中:

[0115] Ab是与AXL结合的抗体;

[0116] DL是



[0118] 其中:

[0119] X选自包括以下的组:单键、 $-\text{CH}_2-$ 和 $-\text{C}_2\text{H}_4-$ ;

[0120] n是1至8;

[0121] m是0或1;

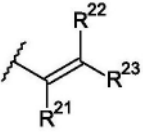
[0122]  $\text{R}^7$ 为甲基或苯基;

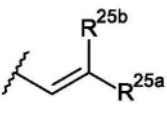
[0123] 当C2与C3之间存在双键时, $\text{R}^2$ 选自由以下组成的组:

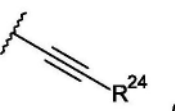
[0124] (ia)  $\text{C}_{5-10}$ 芳基,其任选地被一个或多个选自包括以下的组的取代基取代:卤素、硝基、氰基、醚、羧基、酯、 $\text{C}_{1-7}$ 烷基、 $\text{C}_{3-7}$ 杂环基以及双-氧基- $\text{C}_{1-3}$ 亚烷基;

[0125] (ib)  $\text{C}_{1-5}$ 饱和的脂族烷基;

[0126] (ic)  $\text{C}_{3-6}$ 饱和的环烷基;

[0127] (id)  其中 $\text{R}^{21}$ 、 $\text{R}^{22}$ 和 $\text{R}^{23}$ 中的每一个独立地选自H、 $\text{C}_{1-3}$ 饱和烷基、 $\text{C}_{2-3}$ 烯基、 $\text{C}_{2-3}$ 炔基和环丙基,其中所述 $\text{R}^{12}$ 基团中的碳原子总数不超过5;

[0128] (ie)  其中 $\text{R}^{25a}$ 和 $\text{R}^{25b}$ 中的一个为H并且另一个选自:苯基,所述苯基任选地被选自卤素、甲基、甲氧基的基团取代;吡啶基;以及苯硫基;以及

[0129] (if)  其中 $\text{R}^{24}$ 选自:H;  $\text{C}_{1-3}$ 饱和烷基;  $\text{C}_{2-3}$ 烯基;  $\text{C}_{2-3}$ 炔基;环丙基;苯基,所述苯基任选地被选自卤素、甲基、甲氧基的基团取代;吡啶基;以及苯硫基;

[0130] 当C2与C3之间存在单键时, $\text{R}^2$ 为

[0131]  其中 $\text{R}^{26a}$ 和 $\text{R}^{26b}$ 独立地选自H、F、 $\text{C}_{1-4}$ 饱和烷基、 $\text{C}_{2-3}$ 烯基,所述烷基和烯

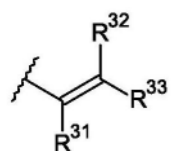
基任选地被选自 $C_{1-4}$ 烷基酰氨基和 $C_{1-4}$ 烷基酯的基团取代；或者，当 $R^{26a}$ 和 $R^{26b}$ 中的一个为H时，另一个选自腈和 $C_{1-4}$ 烷基酯；

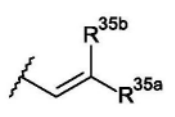
[0132] 当 $C2'$ 与 $C3'$ 之间存在双键时， $R^{12}$ 选自由以下组成的组：

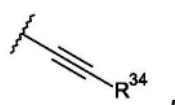
[0133] (ia)  $C_{5-11}$ 芳基，其任选地被一个或多个选自包括以下的组的取代基取代：卤素、硝基、氰基、醚、羧基、酯、 $C_{1-7}$ 烷基、 $C_{3-7}$ 杂环基以及双-氧基- $C_{1-3}$ 亚烷基；

[0134] (ib)  $C_{1-5}$ 饱和的脂族烷基；

[0135] (ic)  $C_{3-6}$ 饱和的环烷基；

[0136] (id)  其中 $R^{31}$ 、 $R^{32}$ 和 $R^{33}$ 中的每一个独立地选自H、 $C_{1-3}$ 饱和烷基、 $C_{2-3}$ 烯基、 $C_{2-3}$ 炔基和环丙基，其中所述 $R^{12}$ 基团中的碳原子总数不超过5；

[0137] (Ie)  其中 $R^{35a}$ 和 $R^{35b}$ 中的一个为H并且另一个选自：苯基，所述苯基任选地被选自卤素、甲基、甲氧基的基团取代；吡啶基；以及苯硫基；以及

[0138] (if)  其中 $R^{24}$ 选自：H； $C_{1-3}$ 饱和烷基； $C_{2-3}$ 烯基； $C_{2-3}$ 炔基；环丙基；苯基，所述苯基任选地被选自卤素、甲基、甲氧基的基团取代；吡啶基；以及苯硫基；

[0139] 当 $C2'$ 与 $C3'$ 之间存在单键时， $R^{12}$ 为

[0140]  其中 $R^{36a}$ 和 $R^{36b}$ 独立地选自H、F、 $C_{1-4}$ 饱和烷基、 $C_{2-3}$ 烯基，所述烷基和烯基任选地被选自 $C_{1-4}$ 烷基酰氨基和 $C_{1-4}$ 烷基酯的基团取代；或者，当 $R^{36a}$ 和 $R^{36b}$ 中的一个为H时，另一个选自腈和 $C_{1-4}$ 烷基酯；

[0141] 并且p为1至约8。

[0142] 先前已经显示此类ADC可用于治疗表达AXL的癌症（参见例如GB1702029.8、GB1719906.8和PCT/EP2018/053163，所述专利以引用的方式整体并入本文）。

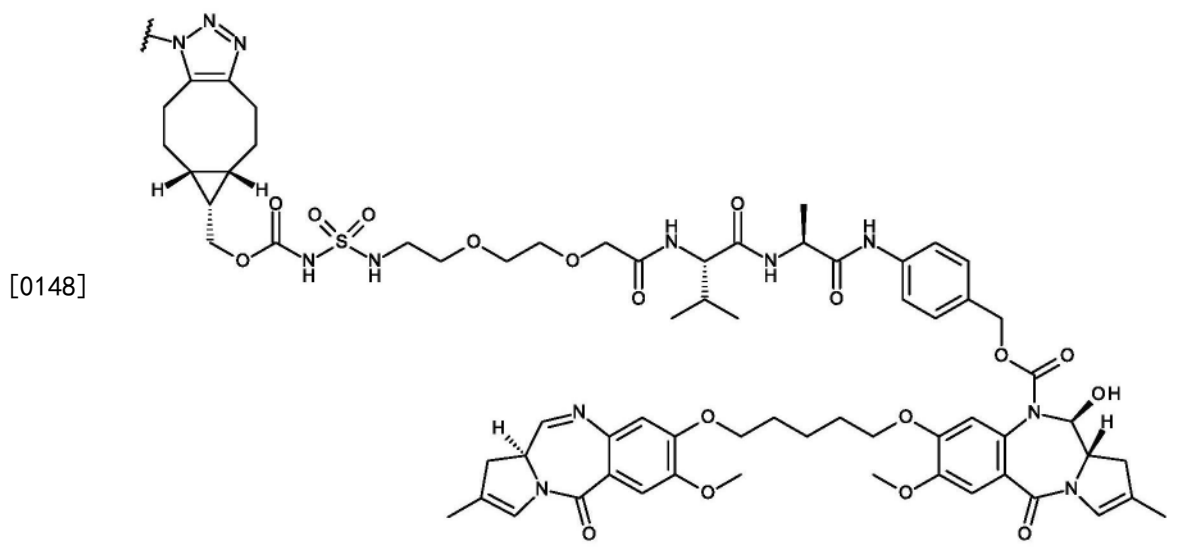
[0143] 术语抗AXL-ADC可包括GB1702029.8中描述的任何实施方案。特别地，在优选实施方案中，ADC可具有以下化学结构：

[0144]  $Ab-(DL)_p$  (I)

[0145] 其中：

[0146] Ab是与AXL结合的抗体；

[0147] DL是：



其中Ab是抗AXL抗体。

[0149] DL可以通过抗体天冬酰胺残基(例如根据Kabat的编号系统的Asn297)的侧链与抗体缀合。与抗体连接的结构可以是N-[糖]-DL,其中N是天冬酰胺残基,并且[糖]表示糖残基,例如GlcNAc残基。p可以是1至4,优选地2。

[0150] 在一些实施方案中,Ab是结合AXL的抗体,所述抗体包含:

[0151] (a) 具有根据SEQ ID NO.3的序列的重链,其中DL通过SEQ ID NO.3的位置302处的天冬酰胺与抗体缀合;以及

[0152] (b) 具有根据SEQ ID NO.4的序列的轻链。

[0153] DL实施方案

[0154] X

[0155] 在一些实施方案中,X是单键。

[0156] 在其他实施方案中,X是-CH<sub>2</sub>-。

[0157] 在另外的实施方案中,X是-C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>-。

[0158] 在一些实施方案中,n为1至4。

[0159] 在这些实施方案中的一些实施方案中,n是1。

[0160] 在这些实施方案中的其他实施方案中,n是2。

[0161] 在这些实施方案中的其他实施方案中,n是4。

[0162] R<sup>7</sup>

[0163] 在一个实施方案中,R<sup>7</sup>是甲基。

[0164] 在另一个实施方案中,R<sup>7</sup>是苯基。

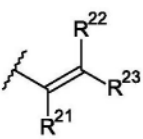
[0165] R<sup>2</sup>

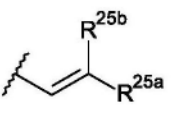
[0166] 当C2与C3之间存在双键时,R<sup>2</sup>选自:

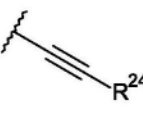
[0167] (a) C<sub>5-10</sub>芳基,其任选地被选自包括以下的组的一个或多个取代基取代:卤素、硝基、氰基、醚、C<sub>1-7</sub>烷基、C<sub>3-7</sub>杂环基以及双-氧基-C<sub>1-3</sub>亚烷基;

[0168] (b) C<sub>1-5</sub>饱和的脂族烷基;

[0169] (c) C<sub>3-6</sub>饱和的环烷基;

[0170] (d)  其中R<sup>21</sup>、R<sup>22</sup>和R<sup>23</sup>中的每一个独立地选自H、C<sub>1-3</sub>饱和烷基、C<sub>2-3</sub>烯基、C<sub>2-3</sub>炔基和环丙基,其中所述R<sup>2</sup>基团中的碳原子总数不超过5;

[0171] (e)  其中R<sup>25a</sup>和R<sup>25b</sup>中的一个为H,另一个选自:苯基,所述苯基任选地被选自卤素甲基、甲氧基的基团取代;吡啶基;以及苯硫基;以及

[0172] (f)  其中R<sup>24</sup>选自:H;C<sub>1-3</sub>饱和烷基;C<sub>2-3</sub>烯基;C<sub>2-3</sub>炔基;环丙基;苯基,所述苯基任选地被选自卤素甲基、甲氧基的基团取代;吡啶基;以及苯硫基。

[0173] 当R<sup>2</sup>是C<sub>5-10</sub>芳基时,其可以是C<sub>5-7</sub>芳基。C<sub>5-7</sub>芳基可以是苯基或C<sub>5-7</sub>杂芳基,例如呋喃基、苯硫基和吡啶基。在一些实施方案中,R<sup>2</sup>优选地为苯基。在其他实施方案中,R<sup>12</sup>优选地为苯硫基,例如苯硫-2-基和苯硫-3-基。

[0174] 当R<sup>2</sup>是C<sub>5-10</sub>芳基时,其可以是C<sub>8-10</sub>芳基,例如喹啉基或异喹啉基。喹啉基或异喹啉基可以通过任何可用的环位置结合到PBD核。例如,喹啉基可以是喹啉-2-基、喹啉-3-基、喹啉-4-基、喹啉-5-基、喹啉-6-基、喹啉-7-基和喹啉-8-基。这些喹啉基中喹啉-3-基和喹啉-6-基可以是优选的。异喹啉基可以是异喹啉-1-基、异喹啉-3-基、异喹啉-4-基、异喹啉-5-基、异喹啉-6-基、异喹啉-7-基和异喹啉-8-基。这些异喹啉基中异喹啉-3-基和异喹啉-6-基可能是优选的。

[0175] 当R<sup>2</sup>是C<sub>5-10</sub>芳基时,其可以具有任意数量的取代基。其优选地具有1至3个取代基,更优选地1和2个,并且最优选地是单取代基团。取代基可以在任何位置。

[0176] 当R<sup>2</sup>是C<sub>5-7</sub>芳基时,单个取代基优选地是在不与所述化合物其余部分的键合相邻的环原子上,即其优选地为在与所述化合物其余部分的键合的β或γ位上。因此,当C<sub>5-7</sub>芳基是苯基时,取代基优选地在间位或对位,并且更优选地在对位。

[0177] 当R<sup>2</sup>是C<sub>8-10</sub>芳基,例如喹啉基或异喹啉基时,其可以在喹啉或异喹啉环的任何位置具有任何数量的取代基。在一些实施方案中,其具有一个、两个或三个取代基,并且这些取代基可以是在近端环和远端环或两者上(如果多于一个取代基)。

[0178] R<sup>2</sup>取代基,当R<sup>2</sup>是C<sub>5-10</sub>芳基时

[0179] 如果当R<sup>2</sup>为C<sub>5-10</sub>芳基时R<sup>2</sup>上的取代基是卤素,则所述取代基优选地为F或Cl,更优选地为Cl。

[0180] 如果当R<sup>2</sup>为C<sub>5-10</sub>芳基时R<sup>2</sup>上的取代基是醚,则在一些实施方案中所述取代基可以是烷氧基,例如C<sub>1-7</sub>烷氧基(例如甲氧基、乙氧基)或在一些实施方案中其可以是C<sub>5-7</sub>芳氧基(例如苯氧基、吡啶氧基、呋喃氧基)。烷氧基本身可以进一步被取代,例如被氨基(例如二甲基氨基)取代。

[0181] 如果当R<sup>2</sup>是C<sub>5-10</sub>芳基时R<sup>2</sup>上的取代基是C<sub>1-7</sub>烷基,则所述取代基可以优选地是C<sub>1-4</sub>烷基(例如甲基、乙基、丙基、丁基)。

[0182] 如果当R<sup>2</sup>是C<sub>5-10</sub>芳基时R<sup>2</sup>上的取代基是C<sub>3-7</sub>杂环基,则在一些实施方案中所述取代

基可以是C<sub>6</sub>含氮杂环基,例如吗啉代、硫代吗啉代、哌啶基、哌嗪基。这些基团可以通过氮原子与PBD部分的其余部分结合。这些基团可以进一步被例如C<sub>1-4</sub>烷基取代。如果C<sub>6</sub>含氮杂环基是哌嗪基,则所述其他取代基可以是在第二个氮环原子上。

[0183] 如果当R<sup>2</sup>为C<sub>5-10</sub>芳基时R<sup>2</sup>上的取代基是双-氧基-C<sub>1-3</sub>亚烷基,则此取代基优选地为双-氧基-亚甲基或双-氧基-亚乙基。

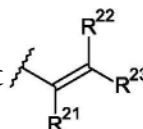
[0184] 如果当R<sup>2</sup>为C<sub>5-10</sub>芳基时R<sup>2</sup>上的取代基是酯,则此取代基优选地为甲酯或乙酯。

[0185] 当R<sup>2</sup>是C<sup>5-10</sup>芳基时,特别优选的取代基包括甲氧基、乙氧基、氟、氯、氰基、双-氧基-亚甲基、甲基-哌嗪基、吗啉代和甲基-苯硫基。R<sup>2</sup>的其他特别优选的取代基是二甲基氨基丙氧基和羧基。

[0186] 当R<sup>2</sup>是C<sub>5-10</sub>芳基时,特别优选的取代的R<sup>2</sup>基团包括但不限于4-甲氧基-苯基、3-甲氧基苯基、4-乙氧基-苯基、3-乙氧基-苯基、4-氟-苯基、4-氯-苯基、3,4-二氧亚甲基-苯基、4-甲基苯硫基、4-氰基苯基、4-苯氧基苯基、喹啉-3-基和喹啉-6-基、异喹啉-3-基和异喹啉-6-基、2-噻吩基、2-呋喃基、甲氧基萘基和萘基。另一种可能的取代的R<sup>2</sup>基团是4-硝基苯基。特别感兴趣的R<sup>2</sup>基团包括4-(4-甲基哌嗪-1-基)苯基和3,4-二氧基亚甲基-苯基。

[0187] 当R<sup>2</sup>是C<sub>1-5</sub>饱和脂族烷基时,其可以是甲基、乙基、丙基、丁基或戊基。在一些实施方案中,其可以是甲基、乙基或丙基(正戊基或异丙基)。在这些实施方案中的一些实施方案中,其可以是甲基。在其他实施方案中,其可以是丁基或戊基,其可以是直链或支链的。

[0188] 当R<sup>2</sup>是C<sub>3-6</sub>饱和环烷基时,其可以是环丙基、环丁基、环戊基或环己基。在一些实施方案中,其可以是环丙基。

[0189] 在R<sup>2</sup>是时,R<sup>21</sup>、R<sup>22</sup>和R<sup>23</sup>中的每一个独立地选自H、C<sub>1-3</sub>饱和烷基、C<sub>2-3</sub>烯基、C<sub>2-3</sub>炔基和环丙基,其中R<sup>2</sup>基团中的碳原子总数不超过5个。在一些实施方案中,R<sup>2</sup>基团中的碳原子总数不超过4个或不超过3个。

基、C<sub>2-3</sub>炔基和环丙基,其中R<sup>2</sup>基团中的碳原子总数不超过5个。在一些实施方案中,R<sup>2</sup>基团中的碳原子总数不超过4个或不超过3个。

[0190] 在一些实施方案中,R<sup>21</sup>、R<sup>22</sup>和R<sup>23</sup>中的一个H,其他两个基团选自H、C<sub>1-3</sub>饱和烷基、C<sub>2-3</sub>烯基、C<sub>2-3</sub>炔基和环丙基。

[0191] 在其他实施方案中,R<sup>21</sup>、R<sup>22</sup>和R<sup>23</sup>中的两个是H,另一个基团选自H、C<sub>1-3</sub>饱和烷基、C<sub>2-3</sub>烯基、C<sub>2-3</sub>炔基和环丙基。

[0192] 在一些实施方案中,非H的基团选自甲基和乙基。在这些实施方案中的一些实施方案中,非H的基团是甲基。

[0193] 在一些实施方案中,R<sup>21</sup>是H。

[0194] 在一些实施方案中,R<sup>22</sup>是H。

[0195] 在一些实施方案中,R<sup>23</sup>是H。

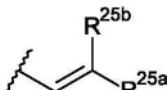
[0196] 在一些实施方案中,R<sup>21</sup>和R<sup>22</sup>是H。

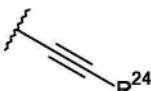
[0197] 在一些实施方案中,R<sup>21</sup>和R<sup>23</sup>是H。

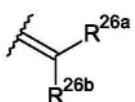
[0198] 在一些实施方案中,R<sup>22</sup>和R<sup>23</sup>是H。

[0199] 特别感兴趣的R<sup>2</sup>基团是:.



[0200] 当 $R^2$ 为  时,  $R^{25a}$ 和 $R^{25b}$ 中的一个为H, 另一个选自: 苯基, 所述苯基任选地被选自卤素、甲基、甲氧基的基团取代; 吡啶基; 以及苯硫基。在一些实施方案中, 非H的基团是任选取代的苯基。如果苯基任选的取代基是卤素, 则其优选地是氟。在一些实施方案中, 苯基是未被取代的。

[0201] 当 $R^2$ 为  时,  $R^{24}$ 选自: H;  $C_{1-3}$ 饱和烷基;  $C_{2-3}$ 烯基;  $C_{2-3}$ 炔基; 环丙基; 苯基, 所述苯基任选地被选自卤素、甲基、甲氧基的基团取代; 吡啶基; 以及苯硫基。如果苯基任选的取代基是卤素, 则其优选地是氟。在一些实施方案中, 苯基是未被取代的。在一些实施方案中,  $R^{24}$ 选自H、甲基、乙基、乙烯基和乙炔基。在这些实施方案中的一些实施方案中,  $R^{24}$ 选自H和甲基。

[0202] 当C2与C3之间存在单键时, 当 $R^2$ 为  时, 其中 $R^{26a}$ 和 $R^{26b}$ 独立地选自H、F、 $C_{1-4}$ 饱和烷基、 $C_{2-3}$ 烯基, 所述烷基和烯基任选地被选自 $C_{1-4}$ 烷基酰氨基和 $C_{1-4}$ 烷基酯的基团取代; 或者, 当 $R^{26a}$ 和 $R^{26b}$ 中的一个为H时, 另一个选自腈和 $C_{1-4}$ 烷基酯;

[0203] 在一些实施方案中, 优选地是,  $R^{26a}$ 和 $R^{26b}$ 均为H。

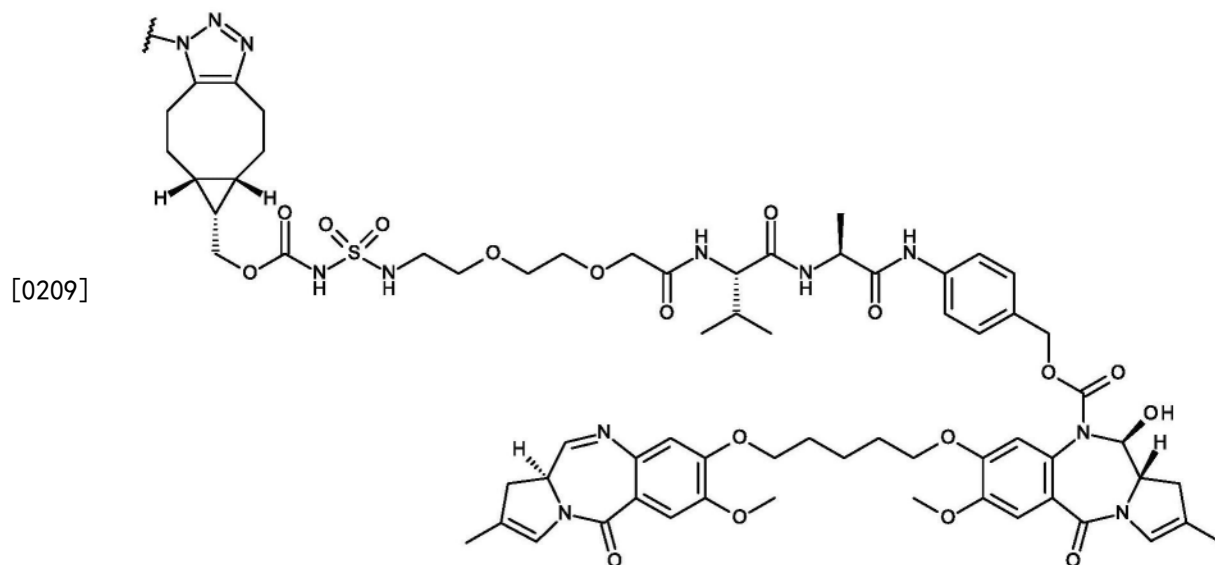
[0204] 在其他实施方案中, 优选地是,  $R^{26a}$ 和 $R^{26b}$ 均为甲基。

[0205] 在另外的实施方案中, 优选地是,  $R^{26a}$ 和 $R^{26b}$ 中的一个为H, 另一个选自 $C_{1-4}$ 饱和烷基、 $C_{2-3}$ 烯基, 所述烷基和烯基任选地被取代。在这些另外的实施方案中, 可以进一步优选地是, 非H的基团选自甲基和乙基。

[0206]  $R^{12}$

[0207]  $R^2$ 的上述优选方案同样适用于 $R^{12}$ 。

[0208] 在本发明的一个优选实施方案中, DL是



[0210] 上述DL可以优选地包含在具有式 $Ab-(DL)_p$ 的ADC中, 其中Ab是结合至AXL的抗体。DL可以通过抗体天冬酰胺残基 (例如根据Kabat的编号系统的Asn297) 的侧链与抗体缀合。

与抗体连接的结构可以是N-[糖]-DL,其中N是天冬酰胺残基,[糖]表示糖残基,例如GlcNAc残基。p可以是1至4,例如2。

[0211] 例如,在一个实施方案中,本发明提供一种具有下式的缀合物:

[0212]  $Ab - ([N] - [GlcNAc] - DL)_2$  (II)

[0213] 其中:

[0214] Ab是一种抗体,其包含:

[0215] (a) 两条重链,每条重链具有根据SEQ ID NO.3的序列;以及

[0216] (b) 两条轻链,每条轻链具有根据SEQ ID NO.4的序列;

[0217] [N]是每个SEQ ID NO.3的位置302处的天冬酰胺的侧链;

[0218] [GlcNAc]是N-酰基葡萄糖胺残基;并且

[0219] DL是上文刚描述的药物-接头。

[0220] 抗AXL ADC的抗体组分

[0221] 在一个方面,抗体是结合AXL的抗体。

[0222] 1H12

[0223] 在一些实施方案中,抗体包含VH结构域,所述VH结构域包含具有氨基酸序列SEQ ID NO.7的VH CDR3。在一些实施方案中,VH结构域还包含具有氨基酸序列SEQ ID NO.6的VH CDR2和/或具有氨基酸序列SEQ ID NO.5的VH CDR1。在一些实施方案中,抗体包含VH结构域,所述VH结构域包含具有氨基酸序列SEQ ID NO.5的VH CDR1、具有氨基酸序列SEQ ID NO.6的VH CDR2以及具有氨基酸序列SEQ ID NO.7的VH CDR3。在优选实施方案中,抗体包含具有根据SEQ ID NO.1的序列的VH结构域。

[0224] 抗体还可包含VL结构域。在一些实施方案中,抗体包含VL结构域,所述VL结构域包含具有氨基酸序列SEQ ID NO.10的VL CDR3。在一些实施方案中,VL结构域还包含具有氨基酸序列SEQ ID NO.9的VL CDR2和/或具有氨基酸序列SEQ ID NO.8的VL CDR1。在一些实施方案中,抗体包含VL结构域,所述VL结构域包含具有氨基酸序列SEQ ID NO.8的VL CDR1、具有氨基酸序列SEQ ID NO.9的VL CDR2以及具有氨基酸序列SEQ ID NO.10的VL CDR3。在优选实施方案中,抗体包含具有根据SEQ ID NO.2的序列的VL结构域。

[0225] 在优选实施方案中,抗体包含VH结构域和VL结构域。优选地,VH包含序列SEQ ID NO.1并且VL结构域包含序列SEQ ID NO.2。

[0226] VH和VL结构域可配对以便形成结合AXL的抗体抗原结合位点。

[0227] 在一些实施方案中,抗体是完整抗体,其包含与VL结构域配对的VH结构域,VH和VL结构域具有与SEQ ID NO.2配对的序列SEQ ID NO.1。

[0228] 在一些实施方案中,抗体包含具有序列SEQ ID NO.3的重链,其与具有序列SEQ ID NO.4的轻链配对。在一些实施方案中,抗体是完整抗体,其包含具有序列SEQ ID NO.3的两条重链,每条重链与具有序列SEQ ID NO.4的轻链配对。

[0229] 在一个方面,抗体是已经如下文所述进行修饰(或进一步修饰)的如本文所述的抗体。在一些实施方案中,抗体是本文公开的抗体的人源化、去免疫化或表面重构型式。

[0230] 在一些实施方案中,抗体是完全人单克隆IgG1抗体,优选地IgG1,κ。

[0231] 在一个方面,抗体是已经如下所述进行了修饰(或进一步修饰)的如本文所述的抗体。在一些实施方案中,抗体是本文公开的抗体的人源化、去免疫化或表面重构形式。

[0232] 用于本公开的各方面的最优选的抗AXL-ADC是如下文所述的ADCxAXL。

[0233] 5F11

[0234] 在一些实施方案中,抗体包含VH结构域,所述VH结构域包含具有氨基酸序列SEQ ID NO.15的VH CDR3。在一些实施方案中,VH结构域还包含具有氨基酸序列SEQ ID NO.14的VH CDR2和/或具有氨基酸序列SEQ ID NO.13的VH CDR1。在一些实施方案中,抗体包含VH结构域,所述VH结构域包含具有氨基酸序列SEQ ID NO.13的VH CDR1、具有氨基酸序列SEQ ID NO.14的VH CDR2以及具有氨基酸序列SEQ ID NO.15的VH CDR3。

[0235] 在一些实施方案中,抗体包含具有根据SEQ ID NO.11的序列的VH结构域。在一些实施方案中,抗体包含具有根据SEQ ID NO.19的序列的VH结构域。在一些实施方案中,抗体包含具有根据SEQ ID NO.20的序列的VH结构域。在一些实施方案中,抗体包含具有根据SEQ ID NO.21的序列的VH结构域。

[0236] 抗体还可包含VL结构域。在一些实施方案中,抗体包含VL结构域,所述VL结构域包含具有氨基酸序列SEQ ID NO.18的VL CDR3。在一些实施方案中,VL结构域还包含具有氨基酸序列SEQ ID NO.17的VL CDR2和/或具有氨基酸序列SEQ ID NO.16的VL CDR1。在一些实施方案中,抗体包含VL结构域,所述VL结构域包含具有氨基酸序列SEQ ID NO.16的VL CDR1、具有氨基酸序列SEQ ID NO.17的VL CDR2以及具有氨基酸序列SEQ ID NO.18的VL CDR3。

[0237] 在一些实施方案中,抗体包含具有根据SEQ ID NO.22的序列的VL结构域。

[0238] 在优选实施方案中,抗体包含VH结构域和VL结构域。在一些实施方案中,VH包含具有氨基酸序列SEQ ID NO.13的VH CDR1、具有氨基酸序列SEQ ID NO.14的VH CDR2以及具有氨基酸序列SEQ ID NO.15的VH CDR3;并且VL结构域包含具有氨基酸序列SEQ ID NO.16的VL CDR1、具有氨基酸序列SEQ ID NO.17的VL CDR2以及具有氨基酸序列SEQ ID NO.18的VL CDR3。

[0239] 在一些实施方案中,抗体包含具有序列SEQ ID NO.19的VH结构域和具有序列SEQ ID NO.22的VL结构域。在一些实施方案中,抗体包含具有序列SEQ ID NO.20的VH结构域和具有序列SEQ ID NO.22的VL结构域。在一些实施方案中,抗体包含具有序列SEQ ID NO.21的VH结构域和具有序列SEQ ID NO.22的VL结构域。

[0240] 在一个方面,抗体是已经如下文所述进行修饰(或进一步修饰)的如本文所述的抗体。在一些实施方案中,抗体是本文公开的抗体的人源化、去免疫化或表面重构型式。

[0241] 在一些实施方案中,抗体是完全人单克隆IgG1抗体,优选地IgG1,κ。

[0242] 在一个方面,抗体是已经如下所述进行了修饰(或进一步修饰)的如本文所述的抗体。在一些实施方案中,抗体是本文公开的抗体的人源化、去免疫化或表面重构形式。

[0243] 抗体的修饰

[0244] 可对本文公开的抗体进行修饰。例如,以使它们对人类受试者的免疫原性较低。这可使用本领域技术人员熟悉的许多技术中的任一种来实现。这些技术中的一些更详细地描述于下文中。

[0245] 人源化

[0246] 用于减小非人抗体或抗体片段的体内免疫原性的技术包括那些称作“人源化”的技术。

[0247] “人源化抗体”是指一种多肽,其包含人类抗体的至少一部分的修饰可变区,其中可变区的一部分,优选基本上小于完整人可变结构域的部分已被来自非人物种的相应序列所取代,并且其中修饰可变区连接于另一种蛋白的至少另一部分,优选人类抗体的恒定区。表述“人源化抗体”包括人类抗体,其中一个或多个互补决定区(“CDR”)氨基酸残基和/或一个或多个框架区(“FW”或“FR”)氨基酸残基被来自啮齿动物或其他非人抗体中的类似位点的氨基酸残基取代。表述“人源化抗体”还包括免疫球蛋白氨基酸序列变体或其片段,其包含基本上具有人免疫球蛋白的氨基酸序列的FR以及基本上具有非人免疫球蛋白的氨基酸序列的CDR。

[0248] 非人(例如,鼠)抗体的“人源化”形式是包含源自非人免疫球蛋白的最小序列的嵌合抗体。或者,以另一种方式看,人源化抗体是人类抗体,其还包含来自非人(例如鼠类)抗体的选择的序列来代替人类序列。人源化抗体可以包含来自相同或不同物种并且不显著改变其结合和/或生物活性的保守性氨基酸取代或非天然残基。此类抗体是包含源自非人免疫球蛋白的最小序列的嵌合抗体。

[0249] 存在多种人源化技术,包括‘CDR移植’、‘定向选择’、‘去免疫化’、‘表面重构(resurfacing)’(也被称为‘镶面(veneering)’）、‘复合抗体’、‘人类序列含量优化(Human String Content Optimisation)’和框架改组。

[0250] CDR移植

[0251] 在此技术中,人源化抗体是人免疫球蛋白(受体抗体),其中来自受体抗体的互补决定区(CDR)的残基被来自非人物种(供体抗体)诸如小鼠、大鼠、骆驼、牛、山羊、或兔的CDR的具有所需特性的残基所置换(实际上,非人CDR被‘移植’到人框架上)。在一些情况下,人免疫球蛋白的框架区(FR)残基被对应非人残基置换(当例如特定FR残基对抗原结合具有显著影响时,这可能会发生)。

[0252] 此外,人源化抗体可以包含如下残基,其既不存在于受体抗体也不存在于输入的CDR或框架序列中。进行这些修饰以进一步完善和最大化抗体性能。因此,通常,人源化抗体将包含至少一个以及(在一个方面)两个可变结构域中的全部,其中所有或(基本上)所有的高变环对应于非人免疫球蛋白的那些高变环,并且所有或基本上所有的FR区是人免疫球蛋白序列的那些FR区。人源化抗体任选地还将包含至少一部分的免疫球蛋白恒定区(Fc)或人免疫球蛋白的免疫球蛋白恒定区。

[0253] 定向选择

[0254] 所述方法包括将对于特定表位具有特异性的给定非人抗体的 $V_H$ 或 $V_L$ 结构域与人 $V_H$ 或 $V_L$ 文库组合,并相对于感兴趣的抗原来选择特定人V结构域。然后将这种选择的人VH结合与VL文库组合以生成完全人VHxVL组合。所述方法描述于Nature Biotechnology(N.Y.)12,(1994)899-903。

[0255] 复合抗体

[0256] 在此方法中,在最终抗体分子内组合来自人类抗体的氨基酸序列的两个或更多区段。通过以组合形式组合多个人VH和VL序列片段来构建它们,所述组合限制或避免在最终复合抗体V区中的人T细胞表位。在需要时,通过交换有助于或编码T细胞表位的V区区段与避免T细胞表位的替代区段来限制或避免T细胞表位。这种方法描述于US 2008/0206239 A1。

[0257] 去免疫化

[0258] 此方法涉及从治疗性抗体(或其他分子)的V区除去人类(或其他第二物种)T细胞表位。通过例如与MHC结合基序的数据库(如“基序”数据库,位于www.wehi.edu.au)相比较来分析治疗性抗体V区序列中MHC II类-结合基序的存在。任选地,可以利用计算线程方法诸如由Altuvia等人(J.Mol.Biol.249244-250(1995))所设计的那些方法来确定MHC II类-结合基序;在这些方法中,测试来自V区序列的连续重叠肽的与MHC II类蛋白的结合能。然后此数据可以与关于涉及成功呈现的肽的其他序列特征的信息组合,所述信息诸如两亲性、Rothbard基序以及组织蛋白酶B和其他加工酶的切割位点。

[0259] 一旦已确定潜在的第二物种(例如人类)T细胞表位,则通过改变一个或多个氨基酸来消除它们。修饰氨基酸通常是在T细胞表位本身内,但就蛋白质的一级或二级结构而言也可以相邻于表位(并且因此在一级结构中可能并不相邻)。最典型地,通过取代进行改变,但在一些情况下,氨基酸添加或缺失将更合适。

[0260] 可以通过重组DNA技术来完成所有改变,以使得可以通过重组宿主的表达并利用很好建立的方法诸如定位诱变来制备最终分子。然而,也可以使用蛋白质化学或分子改变的任何其他方式。

[0261] 表面重构

[0262] 此方法包括:

[0263] (a)通过构建非人抗体可变区的三维模型来确定非人(例如啮齿动物)抗体(或其片段)的可变区的构象结构;

[0264] (b)利用来自足够数量的非人和人类抗体可变区重链和轻链的x射线晶体结构的相对可达性分布来生成序列对比,以给予一组重链和轻链框架位置,其中在98%的所述足够数量的非人抗体重链和轻链中序列对比位置是相同的;

[0265] (c)利用在步骤(b)中生成的所述一组框架位置,将非人抗体定义为人源化的一组重链和轻链的表面暴露的氨基酸残基;

[0266] (d)从人类抗体氨基酸序列中,鉴定一组重链和轻链的表面暴露的氨基酸残基,其与在步骤(c)中定义的所述一组表面暴露的氨基酸残基最密切相同,其中来自人类抗体的重链和轻链是或不是天然成对的;

[0267] (e)在待人源化的非人抗体的氨基酸序列中,用在步骤(d)中确定的所述一组重链和轻链的表面暴露的氨基酸残基取代在步骤(c)中定义的所述一组重链和轻链的表面暴露的氨基酸残基;

[0268] (f)构建由在步骤(e)中指定的取代产生的非人抗体的可变区的三维模型;

[0269] (g)通过比较在步骤(a)和(f)中构建的三维模型,从在步骤(c)或(d)中确定的所述组,确定在待人源化的非人抗体的互补决定区的任何残基的任何原子的5埃内的任何氨基酸残基;以及

[0270] (h)将在步骤(g)中确定的任何残基从人类改变到初始非人氨基酸残基,从而定义非人抗体人源化的一组表面暴露的氨基酸残基;前提条件是,无需首先进行步骤(a),但必须在步骤(g)之前进行。

[0271] 超人源化

[0272] 所述方法比较非人序列与功能性人类种系基因库。选择了编码与非人序列相同或

密切相关的规范结构的那些人类基因。那些选择的在CDR内具有最高同源性的人类基因被选作FR供体。最后,将非人CDR移植到这些人类FR上。这种方法描述于专利WO 2005/079479 A2。

[0273] 人类序列含量优化

[0274] 这种方法比较了非人(例如小鼠)序列与人类种系基因库并且差异被评定为人类序列含量(HSC),其在潜在的MHC/T细胞表位的水平定量序列。然后通过最大化靶序列的HSC而不是使用全局同一性措施来使靶序列人源化以生成多种不同的人源化变体(描述于Molecular Immunology,44,(2007)1986-1998中)。

[0275] 框架改组

[0276] 将非人抗体的CDR框内融合于涵盖所有已知的重链和轻链人类种系基因框架的cDNA库。然后通过例如淘选噬菌体展示抗体文库来选择人源化抗体。这描述于Methods 36, 43-60(2005)。

[0277] 使用叠氮化物修饰抗体

[0278] 可通过以下三步方法制备抗体以用于与药物接头缀合:

[0279] (1) 在合适的表达系统(例如CHO细胞系)中表达具有核心N-聚糖的抗体(Ab)。所述核心N-聚糖通常与重链的根据Kabat编号系统的Asn-297缀合;

[0280] (2) 利用内切糖苷酶修剪所有聚糖同种型(复合、杂合、高甘露糖)以留下核心GlcNAc;以及

[0281] (3) 酶促转移至具有用于与药物接头缀合的叠氮基团的N-乙酰半乳糖残基的核心GlcNAc。

[0282] 以上方法的综述阐述于van Geel,R.等人,Bioconjugate Chemistry,2015,26, 2233-2242;DOI:10.1021/acs.bioconjchem.5b00224中。或者,可使用一锅法-参见实施例。

[0283] ADCxAXL

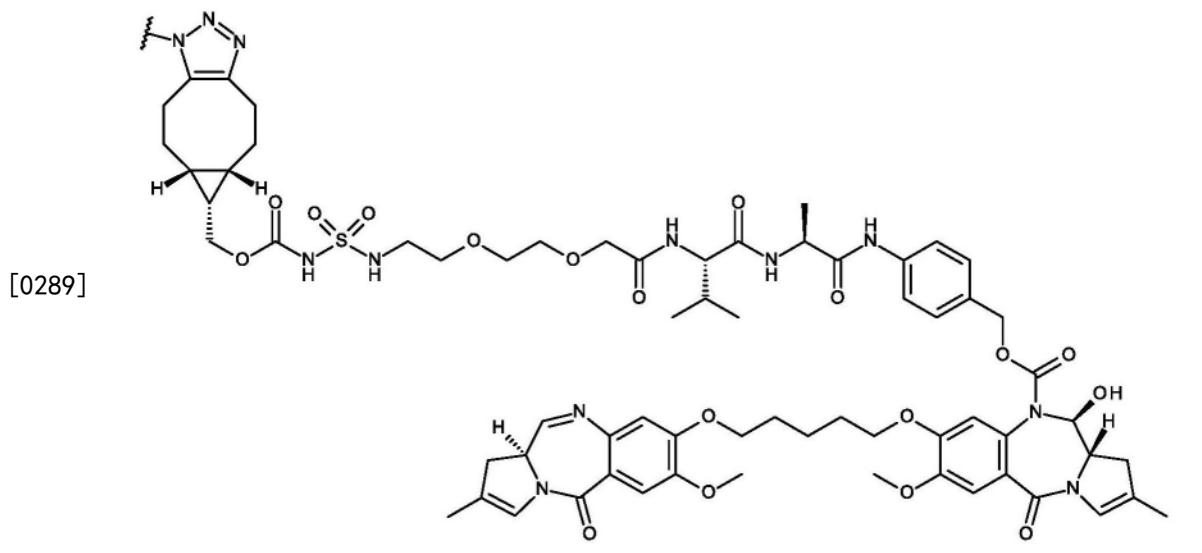
[0284] ADCxAXL是一种抗体药物缀合物,其由通过可切割接头与吡咯并苯并二氮杂~~草~~ (PBD)弹头连接的抗人AXL的人源化抗体组成。ADCxAXL的作用机制取决于AXL结合。AXL特异性抗体将抗体药物缀合物(ADC)靶向表达AXL的细胞。结合时,ADC内化并转运至溶酶体,在所述溶酶体中蛋白酶敏感性接头被切割并且游离PBD二聚体在靶细胞内释放。由于RNA聚合酶的直接抑制或相关转录因子的相互作用的抑制,释放的PBD二聚体以序列选择性方式抑制转录。PBD二聚体产生共价交联,其不会扭曲DNA双螺旋并且不被核苷酸切除修复因子识别,从而允许更长的有效期(Hartley 2011)。

[0285] 所述二聚体具有以下化学结构:

[0286] Ab- (DL)<sub>p</sub>

[0287] 其中:

[0288] DL是:



[0290] Ab是与AXL结合的抗体,所述抗体包含:

[0291] (a) 具有根据SEQ ID NO.3的序列的重链;

[0292] (b) 具有根据SEQ ID NO.4的序列的轻链。

[0293] 应注意,“具有序列”具有与“包含序列”相同的含义;特别地,在一些实施方案中,ADCxAXL的重链被表达为具有额外的末端‘K’残基(因此,终止...SPGK),其中末端K任选地在翻译后去除以改善最终治疗ADC产物的同质性。

[0294] DL可以通过在SEQ ID NO.3的位置302处的天冬酰胺的侧链与抗体缀合。与抗体连接的结构可以是N-[GlcNAc]-DL,其中N是天冬酰胺残基,并且[GlcNAc]表示GlcNAc残基。p可以高达2,并且通常大于1.9。

[0295] 定义

[0296] AXL结合

[0297] 如本文所用的“第一靶蛋白”(FTP)可以是AXL。

[0298] 如本文所用,“结合AXL”用于意指抗体以比非特异性配偶体诸如牛血清白蛋白(BSA, Genbank登录号CAA76847,版本号CAA76847.1 GI:3336842,记录更新日期:2011年1月7日下午02:30)更高的亲和力结合AXL。在一些实施方案中,当在生理条件下测量时,抗体以比抗体对BSA的缔合常数高至少2、3、4、5、10、20、50、100、200、500、1000、2000、5000、 $10^4$ 、 $10^5$ 或 $10^6$ 倍的缔合常数( $K_d$ )结合AXL。本发明的抗体可以高亲和力结合AXL。例如,在一些实施方案中,抗体可以等于或小于约 $10^{-6}$ M,例如 $1 \times 10^{-6}$ 、 $10^{-7}$ 、 $10^{-8}$ 、 $10^{-9}$ 、 $10^{-10}$ 、 $10^{-11}$ 、 $10^{-12}$ 、 $10^{-13}$ 或 $10^{-14}$ 的 $K_d$ 结合AXL。

[0299] 如本文所用,“结合AXL”用于意指抗体以比非特异性配偶体诸如牛血清白蛋白(BSA, Genbank登录号CAA76847,版本号CAA76847.1 GI:3336842,记录更新日期:2011年1月7日下午02:30)更高的亲和力结合AXL。在一些实施方案中,当在生理条件下测量时,抗体以比抗体对BSA的缔合常数高至少2、3、4、5、10、20、50、100、200、500、1000、2000、5000、104、105或106倍的缔合常数( $K_a$ )结合AXL。本发明的抗体可以高亲和力结合AXL。例如,在一些实施方案中,抗体可以等于或小于约 $10^{-6}$ M,例如 $1 \times 10^{-6}$ 、 $10^{-7}$ 、 $10^{-8}$ 、 $10^{-9}$ 、 $10^{-10}$ 、 $10^{-11}$ 、 $10^{-12}$ 、 $10^{-13}$ 或 $10^{-14}$ 的KD结合AXL。

[0300] AXL是受体酪氨酸激酶的人类TAM家族的成员。在一些实施方案中,AXL多肽对应于

Genbank登录号AAH32229,版本号AAH32229.1 GI:21619004,记录更新日期:2012年3月6日下午01:18(SEQ ID NO.9)。在一个实施方案中,编码AXL多肽的核酸对应于Genbank登录号M76125,版本号M76125.1 GI:292869,记录更新日期:2010年6月23日上午08:53。在一些实施方案中,AXL多肽具有序列SEQ ID NO.23。

[0301] 取代基

[0302] 如本文所用的短语“任选取代的”是指可以是未取代的或可以被取代的母体基团。

[0303] 除非另有说明,否则如本文所用的术语“取代的”是指具有一个或多个取代基的母体基团。术语“取代基”在本文中以常规含义使用,并且是指与母体基团共价连接或适当时稠合的化学部分。多种取代基是众所周知的,并且它们的形成和引入到各种母体基团中的方法也是众所周知的。

[0304] 取代基的实例在下面更详细地描述。

[0305]  $C_{1-12}$ 烷基:如本文所用的术语“ $C_{1-12}$ 烷基”是指通过从具有1至12个碳原子的烃化合物的碳原子除去一个氢原子得到的单价部分,其可以是脂族或脂环族的,并且可以是饱和或不饱和的(例如部分不饱和的、完全不饱和的)。如本文所用的术语“ $C_{1-4}$ 烷基”是指通过从具有1至4个碳原子的烃化合物的碳原子除去一个氢原子得到的单价部分,其可以是脂族或脂环族的,并且可以是饱和或不饱和的(例如部分不饱和的、完全不饱和的)。因此,术语“烷基”包括下面讨论的亚类烯基、炔基、环烷基等。

[0306] 饱和烷基的实例包括但不限于甲基( $C_1$ )、乙基( $C_2$ )、丙基( $C_3$ )、丁基( $C_4$ )、戊基( $C_5$ )、己基( $C_6$ )和庚基( $C_7$ )。

[0307] 饱和直链烷基的实例包括但不限于甲基( $C_1$ )、乙基( $C_2$ )、正丙基( $C_3$ )、正丁基( $C_4$ )、正戊基(戊基)( $C_5$ )、正己基( $C_6$ )和正庚基( $C_7$ )。

[0308] 饱和支链烷基的实例包括异丙基( $C_3$ )、异丁基( $C_4$ )、仲丁基( $C_4$ )、叔丁基( $C_4$ )、异戊基( $C_5$ )和新戊基( $C_5$ )。

[0309]  $C_{2-12}$ 烯基:如本文所用的术语“ $C_{2-12}$ 烯基”是指具有一个或多个碳-碳双键的烷基。

[0310] 不饱和烯基的实例包括但不限于乙烯基(ethenyl)(乙烯基(vinyl),  $-\text{CH}=\text{CH}_2$ )、1-丙烯基( $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_3$ )、2-丙烯基(烯丙基,  $-\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}_2$ )、异丙烯基(1-甲基乙烯基,  $-\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}_2$ )、丁烯基( $C_4$ )、戊烯基( $C_5$ )和己烯基( $C_6$ )。

[0311]  $C_{2-12}$ 炔基:如本文所用的术语“ $C_{2-12}$ 炔基”是指具有一个或多个碳-碳三键的烷基。

[0312] 不饱和炔基的实例包括但不限于乙炔基( $-\text{C}\equiv\text{CH}$ )和2-丙炔基(炔丙基,  $-\text{CH}_2-\text{C}\equiv\text{CH}$ )。

[0313]  $C_{3-12}$ 环烷基:如本文所用的术语“ $C_{3-12}$ 环烷基”是指也为环基的烷基;即,通过从环烃(碳环)化合物的脂环族环原子除去一个氢原子而得到的单价部分,所述部分具有3至7个碳原子,包括3至7个环原子。

[0314] 环烷基的实例包括但不限于衍生自以下的那些:

[0315] 饱和单环烃化合物:

[0316] 环丙烷( $C_3$ )、环丁烷( $C_4$ )、环戊烷( $C_5$ )、环己烷( $C_6$ )、环庚烷( $C_7$ )、甲基环丙烷( $C_4$ )、二甲基环丙烷( $C_5$ )、甲基环丁烷( $C_5$ )、二甲基环丁烷( $C_6$ )、甲基环戊烷( $C_6$ )、二甲基环戊烷( $C_7$ )和甲基环己烷( $C_7$ );

[0317] 不饱和单环烃化合物:



[0318] 环丙烯(C<sub>3</sub>)、环丁烯(C<sub>4</sub>)、环戊烯(C<sub>5</sub>)、环己烯(C<sub>6</sub>)、甲基环丙烯(C<sub>4</sub>)、二甲基环丙烯(C<sub>5</sub>)、甲基环丁烯(C<sub>5</sub>)、二甲基环丁烯(C<sub>6</sub>)、甲基环戊烯(C<sub>6</sub>)、二甲基环戊烯(C<sub>7</sub>)和甲基环己烯(C<sub>7</sub>);以及

[0319] 饱和多环烃化合物:

[0320] 降莰烷(C<sub>7</sub>)、降蒎烷(C<sub>7</sub>)、降莰烷(C<sub>7</sub>)。

[0321] C<sub>3-20</sub>杂环基:如本文所用的术语“C<sub>3-20</sub>杂环基”是指通过从杂环化合物的环原子除去一个氢原子而得到的单价部分,所述部分具有3至20个环原子,其中1至10个是环杂原子。优选地,每个环具有3至7个环原子,其中1至4个是环杂原子。

[0322] 在此上下文中,前缀(例如C<sub>3-20</sub>、C<sub>3-7</sub>、C<sub>5-6</sub>等)表示环原子的数目或环原子的数目范围,无论是碳原子还是杂原子。例如,如本文所用的术语“C<sub>5-6</sub>杂环基”是指具有5或6个环原子的杂环基。

[0323] 单环杂环基的实例包括但不限于衍生自以下的那些:

[0324] N<sub>1</sub>:氮杂环丙烷(C<sub>3</sub>)、氮杂环丁烷(C<sub>4</sub>)、吡咯烷(四氢吡咯)(C<sub>5</sub>)、吡咯啉(例如3-吡咯啉、2,5-二氢吡咯)(C<sub>5</sub>)、2H-吡咯或3H-吡咯(异吡咯、异唑)(C<sub>5</sub>)、哌啶(C<sub>6</sub>)、二氢吡啶(C<sub>6</sub>)、四氢吡啶(C<sub>6</sub>)、氮杂**草**(C<sub>7</sub>);

[0325] O<sub>1</sub>:环氧乙烷(C<sub>3</sub>)、氧杂环丁烷(C<sub>4</sub>)、氧杂环戊烷(四氢呋喃)(C<sub>5</sub>)、氧杂环戊二烯(oxole)(二氢呋喃)(C<sub>5</sub>)、噁烷(四氢吡喃)(C<sub>6</sub>)、二氢吡喃(C<sub>6</sub>)、吡喃(C<sub>6</sub>)、噁庚英(C<sub>7</sub>);

[0326] S<sub>1</sub>:环硫乙烷(C<sub>3</sub>)、硫杂环丁烷(thietane)(C<sub>4</sub>)、硫杂环戊烷(thiolane)(四氢噻吩)(C<sub>5</sub>)、硫杂环己烷(thiane)(四氢噻喃)(C<sub>6</sub>)、硫杂环庚烷(C<sub>7</sub>);

[0327] O<sub>2</sub>:二氧戊烷(C<sub>5</sub>)、二噁烷(C<sub>6</sub>)和二氧杂环庚烷(C<sub>7</sub>);

[0328] O<sub>3</sub>:三噁烷(C<sub>6</sub>);

[0329] N<sub>2</sub>:咪唑烷(C<sub>5</sub>)、吡唑烷(二氮杂环戊烷(diazolidine))(C<sub>5</sub>)、咪唑啉(C<sub>5</sub>)、吡唑啉(二氢吡唑)(C<sub>5</sub>)、哌嗪(C<sub>6</sub>);

[0330] N<sub>1</sub>O<sub>1</sub>:四氢噁唑(C<sub>5</sub>)、二氢噁唑(C<sub>5</sub>)、四氢异噁唑(C<sub>5</sub>)、二氢异噁唑(C<sub>5</sub>)、吗啉(C<sub>6</sub>)、四氢噁嗪(C<sub>6</sub>)、二氢噁嗪(C<sub>6</sub>)、噁嗪(C<sub>6</sub>);

[0331] N<sub>1</sub>S<sub>1</sub>:噻唑啉(C<sub>5</sub>)、噻唑烷(C<sub>5</sub>)、硫代吗啉(C<sub>6</sub>);

[0332] N<sub>2</sub>O<sub>1</sub>:噁二嗪(C<sub>6</sub>);

[0333] O<sub>1</sub>S<sub>1</sub>:噁噻唑(oxathiole)(C<sub>5</sub>)和氧硫杂环己烷(oxathiane)(噻噁烷(thioxane))(C<sub>6</sub>);以及

[0334] N<sub>1</sub>O<sub>1</sub>S<sub>1</sub>:氧杂噻嗪(oxathiazine)(C<sub>6</sub>)。

[0335] 取代的单环杂环基的实例包括衍生自环状形式的糖的那些,例如呋喃糖(C<sub>5</sub>),例如阿拉伯呋喃糖、来苏呋喃糖、呋喃核糖和木呋喃酮;以及吡喃糖(C<sub>6</sub>),例如别吡喃糖、阿卓吡喃糖、吡喃葡萄糖、吡喃甘露糖、吡喃古洛糖、吡喃艾杜糖、吡喃半乳糖和塔罗吡喃糖。

[0336] C<sub>5-20</sub>芳基:如本文所用的术语“C<sub>5-20</sub>芳基”是指通过从芳族化合物的芳环原子除去一个氢原子得到的单价部分,所述部分具有3至20个环原子。如本文所用的术语“C<sub>5-7</sub>芳基”是指通过从芳族化合物的芳环原子除去一个氢原子得到的单价部分,所述部分具有5至7个环原子,并且如本文所用的术语“C<sub>5-10</sub>芳基”是指通过从芳族化合物的芳环原子除去一个氢原子得到的单价部分,所述部分具有5至10个环原子。优选地,每个环具有5至7个环原子。

[0337] 在此上下文中,前缀(例如C<sub>3-20</sub>、C<sub>5-7</sub>、C<sub>5-6</sub>、C<sub>5-10</sub>等)表示环原子的数目或环原子的数

目范围,无论是碳原子还是杂原子。例如,如本文所用的术语“C<sub>5-6</sub>芳基”是指具有5或6个环原子的芳基。

[0338] 环原子可以是所有碳原子,与“碳芳基”中一样。

[0339] 碳芳基的实例包括但不限于衍生自苯(即苯基)(C<sub>6</sub>)、萘(C<sub>10</sub>)、蒽(azulene)(C<sub>10</sub>)、蒽(C<sub>14</sub>)、菲(C<sub>14</sub>)、并四苯(C<sub>18</sub>)和芘(C<sub>16</sub>)的那些。

[0340] 包含稠环(其中至少一个是芳环)的芳基的实例包括但不限于衍生自茛满(例如2,3-二氢-1H-茛)(C<sub>9</sub>)、茛(C<sub>9</sub>)、异茛(C<sub>9</sub>)、四氢化萘(1,2,3,4-四氢化萘(C<sub>10</sub>))、茛(acenaphthene)(C<sub>12</sub>)、茛(C<sub>13</sub>)、茛(phenalene)(C<sub>13</sub>)、醋菲(acephenanthrene)(C<sub>15</sub>)和醋蒽(aceanthrene)(C<sub>16</sub>)的基团。

[0341] 或者,环原子可包含一个或多个杂原子,与“杂芳基”中一样。单环杂芳基的实例包括但不限于衍生自以下的那些:

[0342] N<sub>1</sub>:吡咯(唑)(C<sub>5</sub>)、吡啶(吡啶)(C<sub>6</sub>);

[0343] O<sub>1</sub>:呋喃(氧杂环戊二烯)(C<sub>5</sub>);

[0344] S<sub>1</sub>:噻吩(硫杂环戊二烯)(C<sub>5</sub>);

[0345] N<sub>1</sub>O<sub>1</sub>:噁唑(C<sub>5</sub>)、异噁唑(C<sub>5</sub>)、异噁唑(C<sub>6</sub>);

[0346] N<sub>2</sub>O<sub>1</sub>:噁二唑(呋咱)(C<sub>5</sub>);

[0347] N<sub>3</sub>O<sub>1</sub>:噁三唑(C<sub>5</sub>);

[0348] N<sub>1</sub>S<sub>1</sub>:噻唑(C<sub>5</sub>)、异噻唑(C<sub>5</sub>);

[0349] N<sub>2</sub>:咪唑(1,3-二唑)(C<sub>5</sub>)、吡唑(1,2-二唑)(C<sub>5</sub>)、哒嗪(1,2-二嗪)(C<sub>6</sub>)、嘧啶(1,3-二嗪)(C<sub>6</sub>) (例如胞嘧啶、胸腺嘧啶、尿嘧啶)、吡嗪(1,4-二嗪)(C<sub>6</sub>);

[0350] N<sub>3</sub>:三唑(C<sub>5</sub>)、三嗪(C<sub>6</sub>);以及

[0351] N<sub>4</sub>:四唑(C<sub>5</sub>)。

[0352] 包含稠环的杂芳基的实例包括但不限于:

[0353] 衍生自苯并呋喃(O<sub>1</sub>)、异苯并呋喃(O<sub>1</sub>)、吡啶(N<sub>1</sub>)、异吡啶(N<sub>1</sub>)、中氮茛(N<sub>1</sub>)、吡啶啉(N<sub>1</sub>)、异吡啶啉(N<sub>1</sub>)、嘌呤(N<sub>4</sub>) (例如,腺嘌呤、鸟嘌呤)、苯并咪唑(N<sub>2</sub>)、吡唑(N<sub>2</sub>)、苯并噁唑(N<sub>1</sub>O<sub>1</sub>)、苯并异噁唑(N<sub>1</sub>O<sub>1</sub>)、苯并二氧杂环戊烯(O<sub>2</sub>)、苯并呋咱(N<sub>2</sub>O<sub>1</sub>)、苯并三唑(N<sub>3</sub>)、苯并噻吩(S<sub>1</sub>)、苯并噻唑(N<sub>1</sub>S<sub>1</sub>)、苯并噻二唑(N<sub>2</sub>S<sub>2</sub>)的C<sub>9</sub>(具有2个稠合环);

[0354] 衍生自色烯(O<sub>1</sub>)、异色烯(O<sub>1</sub>)、色满(O<sub>1</sub>)、异色满(O<sub>1</sub>)、苯并二噁烷(O<sub>2</sub>)、喹啉(N<sub>1</sub>)、异喹啉(N<sub>1</sub>)、喹啉(N<sub>1</sub>)、苯并噁唑(N<sub>1</sub>O<sub>1</sub>)、苯并二嗪(N<sub>2</sub>)、吡啶并吡啶(N<sub>2</sub>)、喹啉啉(N<sub>2</sub>)、喹啉啉(N<sub>2</sub>)、噌啉(N<sub>2</sub>)、酞嗪(N<sub>2</sub>)、萘啶(N<sub>2</sub>)、蝶啶(N<sub>4</sub>)的C<sub>10</sub>(具有2个稠合环);

[0355] 衍生自苯并二氮杂萘(N<sub>2</sub>)的C<sub>11</sub>(具有2个稠合环);

[0356] 衍生自咪唑(N<sub>1</sub>)、二苯并呋喃(O<sub>1</sub>)、二苯并噻吩(S<sub>1</sub>)、咪唑(N<sub>2</sub>)、嘧啶(perimidine)(N<sub>2</sub>)、吡啶并咪唑(N<sub>2</sub>)的C<sub>13</sub>(具有3个稠合环);以及

[0357] 衍生自吡啶(N<sub>1</sub>)、咕吨(O<sub>1</sub>)、噻吨(S<sub>1</sub>)、氧杂蒽(O<sub>2</sub>)、吩噻嗪(O<sub>1</sub>S<sub>1</sub>)、吩嗪(N<sub>2</sub>)、吩噻嗪(N<sub>1</sub>O<sub>1</sub>)、吩噻嗪(N<sub>1</sub>S<sub>1</sub>)、噻蒽(S<sub>2</sub>)、菲啶(N<sub>1</sub>)、菲咯啉(N<sub>2</sub>)、吩嗪(N<sub>2</sub>)的C<sub>14</sub>(具有3个稠合环)。

[0358] 上述基团,无论是单独的还是另一取代基的一部分,自身可任选地被一个或多个选自自身和下面列出的额外取代基取代。

[0359] 卤素:-F、-Cl、-Br和-I。

[0360] 羟基:-OH。

[0361] 醚：-OR，其中R是醚取代基，例如C<sub>1-7</sub>烷基（也称为C<sub>1-7</sub>烷氧基，其在下文中讨论）、C<sub>3-20</sub>杂环基（也称为C<sub>3-20</sub>杂环氧基）或C<sub>5-20</sub>芳基（也称为C<sub>5-20</sub>芳氧基），优选地C<sub>1-7</sub>烷基。

[0362] 烷氧基：-OR，其中R是烷基，例如C<sub>1-7</sub>烷基。C<sub>1-7</sub>烷氧基的实例包括但不限于-OMe（甲氧基）、-OEt（乙氧基）、-O(nPr)（正丙氧基）、-O(iPr)（异丙氧基）、-O(nBu)（正丁氧基）、-O(sBu)（仲丁氧基）、-O(iBu)（异丁氧基）和-O(tBu)（叔丁氧基）。

[0363] 羧基（羧酸）：-C(=O)OH。

[0364] 酯（羧酸酯(carboxylate)、羧酸酯(carboxylic acid ester)、氧羰基）：-C(=O)OR，其中R是酯取代基，例如C<sub>1-7</sub>烷基、C<sub>3-20</sub>杂环基或C<sub>5-20</sub>芳基，优选地C<sub>1-7</sub>烷基。酯基的实例包括但不限于-C(=O)OCH<sub>3</sub>、-C(=O)OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、-C(=O)OC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>、和-C(=O)OPh。

[0365] 氨基：-NR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>，其中R<sup>1</sup>和R<sup>2</sup>独立地是氨基取代基，例如氢、C<sub>1-7</sub>烷基（也称为C<sub>1-7</sub>烷基氨基或二-C<sub>1-7</sub>烷基氨基）、C<sub>3-20</sub>杂环基或C<sub>5-20</sub>芳基，优选地H或C<sub>1-7</sub>烷基，或在“环状”氨基的情况下，R<sup>1</sup>和R<sup>2</sup>与它们所连接的氮原子一起形成具有4至8个环原子的杂环。氨基可以是伯(-NH<sub>2</sub>)、仲(-NHR<sup>1</sup>)或叔(-NHR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>)，并且在呈阳离子形式时，可以是季(-+NR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>R<sup>3</sup>)。氨基的实例包括但不限于-NH<sub>2</sub>、-NHCH<sub>3</sub>、-NHC(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、-N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、-N(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>和-NHPh。环状氨基的实例包括但不限于氮杂环丙烷子基、氮杂环丁烷子基、吡咯烷子基、哌啶子基、哌嗪子基、吗啉代和硫代吗啉代。

[0366] 酰氨基（氨基甲酰基(carbamoyl)、氨基甲酰基(carbamyl)、氨基羰基、甲酰胺）：-C(=O)NR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>，其中R<sup>1</sup>和R<sup>2</sup>独立地是氨基取代基，如对氨基所定义的。酰氨基的实例包括但不限于-C(=O)NH<sub>2</sub>、-C(=O)NHCH<sub>3</sub>、-C(=O)N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、-C(=O)NHCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>和-C(=O)N(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>，以及其中R<sup>1</sup>和R<sup>2</sup>与它们所连接的氮原子一起形成杂环结构的酰氨基，例如与在哌啶子基羰基、吗啉代羰基、硫代吗啉代羰基和哌嗪基羰基中一样。

[0367] 硝基：-NO<sub>2</sub>。

[0368] 叠氮基：-N<sub>3</sub>。

[0369] 氰基（腈、甲腈）：-CN。

[0370] 药物负载量

[0371] 药物负载量是每个抗体（例如抗体）的PBD药物的平均数量。

[0372] 可以通过常规方法诸如UV、反相HPLC、HIC、质谱法、ELISA测定和电泳来表征在由缀合反应制备ADC时每个抗体的药物的平均数量。还可以确定就p而言ADC的定量分布。通过ELISA，可确定ADC的特定制剂中的p的平均值(Hamblett等人(2004)Clin.Cancer Res.10:7063-7070;Sanderson等人(2005)Clin.Cancer Res.11:843-852)。然而，通过ELISA的抗体-抗原结合和检测限，无法辨别p(药物)值的分布。此外，用于检测抗体-药物缀合物的ELISA测定不能确定在何处药物部分连接于抗体，诸如重链或轻链片段、或特定氨基酸残基。在一些情况下，可以通过诸如反相HPLC或电泳等方式实现其中p是一定值的均质ADC与具有其他药物负载量的ADC的分离、纯化和表征。此类技术也适用于其他类型的缀合物。

[0373] 对于本发明的抗体-药物缀合物，p受到抗体上的连接位点的数量（即叠氮基团的数量）的限制。例如，抗体可仅具有一个或两个可连接药物接头的叠氮基团。

[0374] 通常，在缀合反应期间，将小于理论最大值的药物部分缀合于抗体。可以若干种不同的方式控制ADC的负载量（药物/抗体比率），所述方式包括：(i)限制药物-接头中间体(D-L)或接头试剂相对于抗体的摩尔过量，以及(ii)限制缀合反应时间或温度。

[0375] 在抗体的多于一个亲核或亲电子基团与药物-接头中间体或接头试剂反应、接着与药物部分试剂反应的情况下,那么所得产物是ADC化合物与连接于抗体的药物部分的分布(例如1、2、3等)的混合物。液相色谱法诸如聚合物逆相(PLRP)和疏水性相互作用(HIC)可按照药物负载量值来分离混合物中的化合物。可以分离具有单药物负载量值(p)的ADC的制剂,然而,这些单负载量值ADC可能仍然是非均匀混合物,因为所述药物部分可以经由接头连接在抗体上的不同位点处。

[0376] 因此,本发明的抗体-药物缀合物组合物包括其中抗体具有一个或多个PBD药物部分以及其中药物部分可以连接于抗体的不同氨基酸残基处的抗体-药物缀合物化合物的混合物。

[0377] 在一个实施方案中,每个抗体的二聚体吡咯并苯并二氮杂~~草~~基团的平均数目范围为1至8。在一些实施方案中,所述范围选自1至4、1至4、2至4以及1至3。

[0378] 在一些实施方案中,每个抗体存在一个或两个二聚体吡咯并苯并二氮杂~~草~~基团。

[0379] 包括其他形式

[0380] 除非另外指明,否则上文包括这些取代基的熟知的离子、盐、溶剂合物和受保护形式。例如,提及羧酸(-COOH)还包括其阴离子(羧酸根)形式(-COO<sup>-</sup>)、盐或溶剂合物以及常规受保护形式。类似地,提及氨基包括氨基的质子化形式(-N<sup>+</sup>HR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>)、盐或溶剂合物(例如盐酸盐)以及氨基的常规受保护形式。类似地,提及羟基还包括其阴离子形式(-O<sup>-</sup>)、盐或溶剂合物以及常规受保护形式。

[0381] 盐

[0382] 可方便或可期望制备、纯化和/或处理活性化合物的对应盐,例如药学上可接受的盐。药学上可接受的盐的实例论述于Berge等人,J.Pharm.Sci.,66,1-19(1977)中。

[0383] 例如,如果化合物是阴离子型或具有可为阴离子的官能团(例如,-COOH可以是-COO<sup>-</sup>),那么可与合适的阳离子形成盐。合适的无机阳离子的实例包括但不限于碱金属离子,诸如Na<sup>+</sup>和K<sup>+</sup>;碱土金属阳离子,诸如Ca<sup>2+</sup>和Mg<sup>2+</sup>;以及其他阳离子,诸如Al<sup>3+</sup>。合适的有机阳离子的实例包括但不限于铵离子(即NH<sub>4</sub><sup>+</sup>)和取代的铵离子(例如NH<sub>3</sub>R<sup>+</sup>、NH<sub>2</sub>R<sub>2</sub><sup>+</sup>、NHR<sub>3</sub><sup>+</sup>、NR<sub>4</sub><sup>+</sup>)。一些合适的取代的铵离子的实例是衍生自以下的那些铵离子:乙胺、二乙胺、二环己胺、三乙胺、丁胺、乙二胺、乙醇胺、二乙醇胺、哌嗪、苄胺、苄基苄胺、胆碱、葡甲胺和氨基丁三醇以及氨基酸,诸如赖氨酸和精氨酸。常见季铵离子的实例为N(CH<sub>3</sub>)<sub>4</sub><sup>+</sup>。

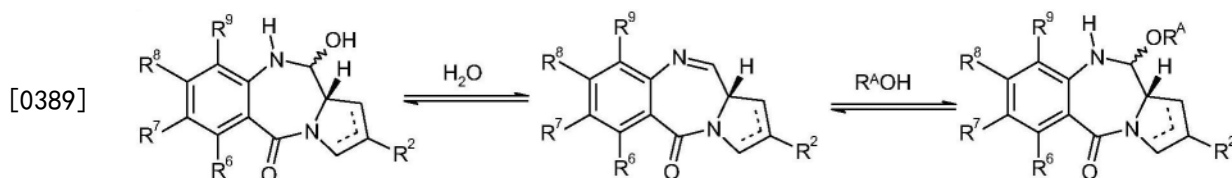
[0384] 如果化合物是阳离子型或具有可为阳离子的官能团(例如,-NH<sub>2</sub>可以是-NH<sub>3</sub><sup>+</sup>),那么可与合适的阴离子形成盐。合适无机阴离子的实例包括但不限于衍生自以下无机酸的那些无机阴离子:盐酸、氢溴酸、氢碘酸、硫酸、亚硫酸、硝酸、亚硝酸、磷酸和亚磷酸。

[0385] 合适的无机阴离子的实例包括但不限于衍生自以下有机酸的那些无机阴离子:2-乙酰氧基苯甲酸、乙酸、抗坏血酸、天冬氨酸、苯甲酸、樟脑磺酸、肉桂酸、柠檬酸、乙二胺四乙酸、乙二磺酸、乙磺酸、富马酸、葡庚糖酸、葡萄糖酸、谷氨酸、乙醇酸、羟基马来酸、羟基萘甲酸、羧乙磺酸、乳酸、乳糖酸、月桂酸、马来酸、苹果酸、甲磺酸、粘酸、油酸、草酸、棕榈酸、双羧萘酸、泛酸、苯乙酸、苯磺酸、丙酸、丙酮酸、水杨酸、硬脂酸、琥珀酸、对氨基苯磺酸、酒石酸、甲苯磺酸、三氟乙酸和戊酸。合适聚合物有机阴离子的实例包括但不限于衍生自以下聚合物酸的那些聚合物有机阴离子:鞣酸、羧甲基纤维素。

[0386] 溶剂合物

[0387] 可方便或可期望制备、纯化和/或处理活性化合物的对应溶剂合物。本文在常规意义上使用的术语“溶剂合物”是指溶质(例如活性化合物、活性化合物的盐)和溶剂的复合物。如果溶剂为水,那么溶剂合物可合宜地称为水合物,例如一水合物、二水合物、三水合物等。

[0388] 本发明包括溶剂加成到下文所示的PBD部分的亚胺键的化合物,其中溶剂是水或醇( $R^A\text{OH}$ ,其中 $R^A$ 是 $C_{1-4}$ 烷基):



[0390] 这些形式可以被称为PBD的甲醇胺和甲醇胺醚形式(如以上关于 $R^{10}$ 的节段中所描述的)。这些平衡(equilibria)的剩余部分(balance)取决于发现化合物的条件以及所述部分本身的性质。

[0391] 可以固体形式分离这些特定化合物,例如通过冷冻干燥。

[0392] 异构体

[0393] 本发明的某些化合物可以一种或多种特定的几何、光学、对映异构体、非对映异构体、差向异构体、阻转异构体、立体异构体、互变异构体、构象异构体或端基差向异构体形式存在,包括但不限于顺式-和反式-形式;E-和Z-形式;c-、t-和r-形式;内-和外-形式;R-、S-和内消旋-形式;D-和L-形式;d-和l-形式;(+)和(-)形式;酮-、烯醇-和烯醇化物-形式;顺式(syn-)和反式(anti-)形式;顺错-和反错-形式; $\alpha$ -和 $\beta$ -形式;直立键和平伏键形式;船-、椅-、扭曲-、信封-和半椅-形式;以及其组合,在下文将其统称为“异构体”(或“异构体形式”)。

[0394] 术语“手性”是指具有不可与其镜像配偶体重叠的特性的分子,而术语“非手性”是指可与其镜像配偶体重叠的分子。

[0395] 术语“立体异构体”是指具有相同化学组成,但关于原子或基团在空间中的排列不同的化合物。

[0396] “非对映异构体”是指具有两个或更多个手性中心并且其分子不为彼此的镜像的立体异构体。非对映异构体具有不同物理性质,例如熔点、沸点、光谱性质和反应性。非对映异构体的混合物可在诸如电泳和色谱的高分辨率分析程序下分离。

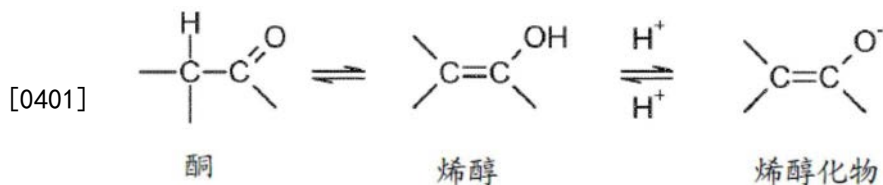
[0397] “对映异构体”是指化合物的彼此不可重叠镜像的两种立体异构体。

[0398] 本文使用的立体化学定义和惯例通常遵循S.P.Parker编McGraw-Hill Dictionary of Chemical Terms(1984)McGraw-Hill Book Company, New York;以及Eliel, E.和Wilken, S., “Stereochemistry of Organic Compounds”, John Wiley & Sons, Inc., New York, 1994。本发明的化合物可以含有不对称或手性中心,并且因此以不同的立体异构体形式存在。预期本发明的化合物的所有立体异构体形式,包括但不限于非对映异构体、对映异构体和阻转异构体以及其混合物(如外消旋混合物),均构成本发明的一部分。许多有机化合物以光学活性形式存在,即它们能够使平面偏振光的平面旋转。在描述光学活性化合物时,前缀D和L或R和S用于表示分子围绕其手性中心的绝对构型。前缀d和l或(+)和(-)用于指示化合物旋转平面偏振光的标志,其中(-)或l意指化合物是左旋的。以(+)或d

为前缀的化合物是右旋的。对于给定化学结构,这些立体异构体为相同的,除了它们是彼此的镜像以外。特定立体异构体还可称为对映异构体,并且此类异构体的混合物常称为对映异构混合物。对映异构体的50:50混合物称为外消旋混合物或外消旋物,其可在化学反应或过程中不存在立体选择性或立体特异性时出现。术语“外消旋混合物”及“外消旋物”是指两种对映异构物质的缺乏光学活性的等摩尔混合物。

[0399] 应注意,除了如下文针对互变异构形式所讨论的之外,如本文所用的术语“异构体”中明确排除结构(或构造)异构体(即,原子之间的连接不同,而非仅原子在空间中的位置不同的异构体)。例如,提及甲氧基- $\text{OCH}_3$ 不应解释为提及其结构异构体羟基甲基- $\text{CH}_2\text{OH}$ 。类似地,提及邻-氯苯基不解释为提及其结构异构体间-氯苯基。然而,提及一类结构可很好地包括落入所述类别内的结构异构体形式(例如 $\text{C}_{1-7}$ 烷基包括正丙基和异丙基;丁基包括正丁基、异丁基、仲丁基和叔丁基;甲氧基苯基包括邻甲氧基苯基、间甲氧基苯基和对甲氧基苯基)。

[0400] 以上排除不涉及互变异构体形式,例如酮、烯醇和烯醇化物形式,与例如以下互变异构体对中一样:酮/烯醇(以下所示)、亚胺/烯胺、酰胺/亚氨基醇、脘/脘、亚硝基/肟、硫酮/烯硫醇、N-亚硝基/羟基偶氮以及硝基/酸硝基。



[0402] 术语“互变异构体”或“互变异构形式”是指经由低能量位垒互相转化的不同能量的结构异构体。举例来说,质子互变异构体(也称为质子异变互变异构体)包括经由质子迁移的互相转化,诸如酮-烯醇和亚胺-烯胺异构化。化合价互变异构体包括通过使一些键合电子重组来进行的互相转化。

[0403] 注意,在术语“异构体”中明确包括具有一个或多个同位素取代的化合物。例如,H可呈任何同位素形式,包括 $^1\text{H}$ 、 $^2\text{H}$ (D)和 $^3\text{H}$ (T);C可呈任何同位素形式,包括 $^{12}\text{C}$ 、 $^{13}\text{C}$ 和 $^{14}\text{C}$ ;O可呈任何同位素形式,包括 $^{16}\text{O}$ 和 $^{18}\text{O}$ 等。

[0404] 可并入本发明的化合物中的同位素的实例包括氢、碳、氮、氧、磷、氟以及氯的同位素,诸如但不限于 $^2\text{H}$ (氘,D)、 $^3\text{H}$ (氚)、 $^{11}\text{C}$ 、 $^{13}\text{C}$ 、 $^{14}\text{C}$ 、 $^{15}\text{N}$ 、 $^{18}\text{F}$ 、 $^{31}\text{P}$ 、 $^{32}\text{P}$ 、 $^{35}\text{S}$ 、 $^{36}\text{Cl}$ 以及 $^{125}\text{I}$ 。本发明的各种同位素标记的化合物,例如向其中并入放射性同位素诸如 $^3\text{H}$ 、 $^{13}\text{C}$ 和 $^{14}\text{C}$ 的那些化合物。此类同位素标记的化合物可用于代谢研究、反应动力学研究、检测或成像技术,诸如正电子发射断层扫描(PET)或单光子发射计算机断层扫描(SPECT),包括药物或底物组织分布测定法,或可用于患者的放射性治疗。本发明的氘标记或取代的治疗性化合物可以具有改善的与分布、代谢和排泄(ADME)相关的DMPK(药物代谢和药物动力学)特性。用较重同位素诸如氘进行的取代可提供由较大代谢稳定性产生的某些治疗优点,例如体内半衰期增加或剂量要求减少。 $^{18}\text{F}$ 标记化合物可用于PET或SPECT研究。通常可以通过进行在下文描述的方案中或实施例和制备中公开的程序,通过用易于获得的同位素标记的试剂取代非同位素标记的试剂来制备本发明的同位素标记的化合物及其前药。另外,用更重同位素(尤其是氘(即, $^2\text{H}$ 或D))进行的取代可提供由较高代谢稳定性产生的某些治疗性优点,例如体内半衰期增加或剂量需求降低或治疗指数改善。应理解的是,在此上下文中氘被视为取代基。可以通过同

位素富集系数来定义这种较重同位素(尤其是氘)的浓度。在本发明的化合物中,未特别指定为特定同位素的任何原子旨在表示该原子的任何稳定的同位素。

[0405] 除非另外指明,否则提及具体化合物包括所有此类异构体形式,包括其(全部或部分)外消旋混合物和其他混合物。用于制备(例如,非对称合成)和分离(例如,分级结晶和色谱方法)此类异构体形式的方法是本领域中已知的,或通过采用本文中教导的方法或已知方法以已知方式而容易地获得。

[0406] 第二药剂

[0407] 最近开发的增强抗肿瘤免疫力的药剂正在迅速改变对广泛范围的癌症的治疗。然而,这些治疗在所有癌症类型中都无效,反应通常不持久,并且许多患者从治疗中受益很少或没有受益。肿瘤学领域的普遍假设是,仅免疫疗法与其他治疗方案的组合才能最终治愈癌症患者。

[0408] ADC对一系列癌症类型具有良好的耐受性和活性,并且可能是提高治疗的反应率和持久性的组合疗法的一种组分。本公开的目的是将ADC与第二药剂组合。

[0409] 如本文所述的第二药剂可以是免疫肿瘤学(I0)药物。

[0410] 免疫肿瘤学(I0)药物是一种依赖于人体免疫系统以帮助对抗癌症的癌症疗法,其已显示出增强的抗肿瘤反应持久性。存在不同类型的I0,包括但不限于PD1抑制剂、PD-L1抑制剂、CLTL4抑制剂、GITR激动剂和OX40激动剂。由于相当一部分患者不能通过单药免疫疗法治愈并最终复发,因此需要与替代性I0药物或不同治疗方式的组合治疗(参见KS Peggs等人2009,Clinical and Experimental Immunology,157:9-19[doi:10.1111/j.1365-2249.2009.03912.x];DM Pardoll 2012[doi:10.1038/nrc3239])。

[0411] 免疫原性细胞死亡(ICD)是一种特殊形式的细胞死亡,其可刺激针对死细胞抗原(由垂死细胞释放)的免疫反应,并且被认为是诱导适应性免疫反应并改善抗癌治疗的效果的最佳方法之一。此过程通常不是次最佳的,需要组合策略来试图恢复细胞死亡的完全免疫原性以用于治疗目的。存在若干种可以诱导ICD的抗肿瘤剂,诸如各种蒽环类抗生素(包括阿霉素、表柔比星和伊达比星)、烷化剂(包括奥沙利铂和环磷酰胺)、拓扑异构酶II抑制剂米托蒽醌和蛋白酶体抑制剂硼替佐米。

[0412] 抗体-药物缀合物(包括具有PBD弹头的那些缀合物)可能特别适合作为组合配偶体,因为它们与常规化学疗法相比更具靶向性并且预期向浸润细胞提供增加的抗原呈递,如对于基于奥利斯他汀的ADC所示。

[0413] 因此,将ADC与I0组合可以具有双重益处:一方面,ADC将直接杀死表达靶标的肿瘤,从而提供即时的抗肿瘤活性;另一方面,由ADC介导的细胞杀伤诱导的免疫原性细胞死亡可能会促进与I0作为单一药剂施用相比,更强和更持久的适应性免疫反应。

[0414] 第二药剂可以是:

[0415] (a) PD1拮抗剂,例如派姆单抗、纳武单抗、MEDI0680、PDR001(spartalizumab)、卡瑞利珠单抗(Camrelizumab)、AUNP12、皮地利珠单抗(Pidilizumab)、Cemiplimab(REGN-2810)、AMP-224、BGB-A317(替雷利珠单抗(Tisleizumab))或BGB-108;

[0416] (b) PD-L1拮抗剂,例如阿特珠单抗(atezolizumab)(Tecentriq)、BMS-936559/MDX-1105、德瓦鲁单抗(durvalumab)/MEDI4736、或MSB0010718C(阿维鲁单抗(Avelumab));

[0417] (c) GITR(糖皮质激素诱导的TNFR相关蛋白)激动剂,例如MEDI1873、TRX518、

GWN323、MK-1248、MK-4166、BMS-986156或INCAGN1876;

[0418] (d) OX40激动剂,例如MEDI0562、MEDI6383、MOXR0916、RG7888、OX40mAb24、INCAGN1949、GSK3174998或PF-04518600; (e) CTLA-4拮抗剂,例如伊匹单抗(商品名Yervoy)或替西木单抗(Tremelimumab)(最初由Pfizer开发,现为Medimmune);

[0419] (f) 氟达拉滨或阿糖胞苷;

[0420] (g) 低甲基化剂,例如胞苷类似物-例如5-氮杂胞苷(阿扎胞苷)和5-氮杂-2'-脱氧胞苷(地西他滨);或者

[0421] (h) PARP抑制剂(PARPi),诸如奥拉帕尼(Olaparib)、CEP-9722、BMN-673/他唑来膦(talazoparib)、卢卡帕尼(Rucaparib)、伊尼帕利(Iniparib)/SAR24-550/BSI-201、维利帕尼(Veliparib)(ABT-888)、尼拉帕利(Niraparib)/MK-4827、BGB-290、3-氨基苯甲酰胺和E7016;

[0422] (i) 上调HER2表达的药剂,诸如吉西他滨和他莫昔芬;

[0423] (j) AXL-激酶抑制剂(AXLi),例如BGB324(bemcentinib)、TP0903、吉特替尼(ASP2215)、卡博替尼(XL184)、SGI7079、Merestinib、amuvatinib(MP-470)、博舒替尼(SKI-606)、MGCD265和foretinib(GSK1363089/XL880);

[0424] (k) BRAF抑制剂(BRAFi),例如维罗非尼、PLX4720、达帕非尼、索拉非尼、康奈非尼(Encorafenib)和GDC0879;或者

[0425] (l) MEK抑制剂(MEKi),例如曲美替尼、考比替尼、比美替尼(Binimetinib)、司美替尼(Selumetinib)、PD-325901、CI-1040、PD035901、U0126和TAK-733。

[0426] 下文更详细地描述这些类别的第二药剂中的每一种。

[0427] PD1拮抗剂

[0428] 程序性死亡受体I(PD1)是一种免疫抑制性受体,其主要在活化的T细胞和B细胞上表达。已显示与其配体的相互作用在体外和体内均减弱T细胞反应。已显示PD1与其配体之一PD-L1之间的相互作用的阻断可增强肿瘤特异性CD8+T细胞免疫力,并且因此可能有助于免疫系统清除肿瘤细胞。

[0429] PD1(由基因Pdcd1编码)是与CD28和CTLA-4相关的免疫球蛋白超家族成员。已显示PD1在接合其配体(PD-L1和/或PD-L2)后负性调节抗原受体信号传导。已解决了鼠类PD1的结构以及小鼠PD1与人类PD-L1的共晶结构(Zhang,X.等人,(2004)Immunity 20:337-347; Lin等人,(2008)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 105:301 I-6)。PD1和类似家族成员是I型跨膜糖蛋白,其含有负责结合配体的Ig可变型(V型)结构域和负责结合信号传导分子的胞质尾区。PD1的胞质尾区含有两个基于酪氨酸的信号传导基序,即ITIM(基于免疫受体酪氨酸的抑制基序)和ITSM(基于免疫受体酪氨酸的开关基序)。

[0430] 在人类中,已在通过免疫组织化学评估的许多原发性肿瘤活检物中发现了PD1(在肿瘤浸润性淋巴细胞上)和/或PD-L1(在肿瘤细胞上)的表达。这些组织包括肺癌、肝癌、卵巢癌、子宫颈癌、皮肤癌、结肠癌、神经胶质瘤、膀胱癌、乳腺癌、肾癌、食道癌、胃癌、口腔鳞状细胞癌、尿路上皮细胞癌和胰腺癌以及头颈部肿瘤(Brown,J.A.等人.,(2003)J Immunol.170:1257-1266;Dong H.等人,(2002)Nat.Med.8:793-800;Wintterle等人,(2003)Cancer Res.63:7462-7467;Strome,S.E.等人,(2003)Cancer Res.63:6501-6505;Thompson,R.H.等人,(2006)Cancer Res.66:3381-5;Thompson等人,(2007)Clin.Cancer



Res.13:I 757-6I;Nomi,T.等人,(2007)Clin.Cancer Res.13:2I5I-7)。更引人注目的是,肿瘤细胞上的PD-配体表达与多种肿瘤类型的癌症患者的不良预后相关(综述于Okazaki和Honjo,(2007)Int.Immunol.I9:813-824)。

[0431] 迄今为止,许多研究已表明PD1与其配体(PD-L1和PD-L2)的相互作用导致体外和体内淋巴细胞增殖的抑制。PD1/PD-L1相互作用的阻断可以导致肿瘤特异性T细胞免疫力增强,并且因此有助于免疫系统清除肿瘤细胞。为了解决这个问题,进行了许多研究。在侵袭性胰腺癌的鼠类模型中(Nomi,T.等人(2007)Clin.Cancer Res.13:2I5I-2I57),已证实了PD1/PD-L1阻断的治疗功效。施用针对PD1或PD-L1的抗体显著抑制了肿瘤生长。抗体阻断有效地促进肿瘤反应性CD8+T细胞浸润到肿瘤中,导致抗肿瘤效应物上调,所述效应物包括IFN  $\gamma$ 、颗粒酶带穿孔素。此外,作者表明,PD1阻断可以与化学疗法有效组合,以产生协同效应。在另一项研究中,使用小鼠鳞状细胞癌模型,PD1或PD-L1的抗体阻断显著抑制了肿瘤生长(Tsushima,F.等人,(2006)Oral Oncol.42:268-274)。

[0432] “PD1拮抗剂”是指通过抑制PD1信号传导刺激免疫反应的任何化学化合物或生物分子。

[0433] 为了检查例如PD1活性的增强程度,用潜在的活化剂或抑制剂处理包含给定例如蛋白质、基因、细胞或生物体的样品或测定物,并将其与用无活性对照分子处理的对照样品进行比较。对照样品指定为相对活性值100%。当相对于对照的活性值为约90%或更少,通常为85%或更少,更通常为80%或更少,最通常为75%或更少,通常为70%或更少,更通常为65%或更少,最通常为60%或更少,通常为55%或更少,通常为50%或更少,更通常为45%或更少,最通常为40%或更少,优选为35%或更少,更优选为30%或更少,还更优选为25%或更少,并且最优选为少于20%时,实现抑制。当相对于对照的活性值为高约110%,通常为高至少120%,更通常为高至少140%,更通常为高至少160%,通常为高至少180%,更通常为高至少2倍,最通常为高至少2.5倍,通常为高至少5倍,更通常为高至少10倍,优选为高至少20倍,更优选为高至少40倍,并且最优选为高超过40倍时,实现活化。

[0434] 将靶向第一靶蛋白(FTP)的ADC与PD1抑制剂组合是有利的,因为一方面,ADC将直接杀死FTP阳性肿瘤细胞,而另一方面,PD1抑制剂将参与患者自身的免疫系统以消除癌细胞。在FTP(+)肿瘤细胞旁边,FTP(+)肿瘤细胞附近的FTP阴性肿瘤细胞可被在细胞杀死CD19(+)或CD22(+)细胞后释放的PBD-二聚体的旁观者机制杀死。因此,ADC将直接杀死肿瘤细胞。

[0435] 由以PBD二聚体杀死的细胞得以释放肿瘤相关抗原将触发免疫系统,这将通过使用在来自许多不同肿瘤类型的大部分肿瘤浸润淋巴细胞(TIL)上表达的程序性细胞死亡蛋白1(PD1)抑制剂进一步增强。通过减少肿瘤内TReg细胞的数量和/或抑制活性,阻断PD1途径可以增强针对从由ADC杀死的肿瘤释放的抗原的抗肿瘤免疫反应。

[0436] PD1的主要功能是在对感染进行抗炎反应时限制T细胞的活性并限制自身免疫力。当T细胞被活化时诱导PD1表达,并且其自身配体之一的结合抑制参与T细胞活化的激酶。因此,在肿瘤环境中,这可能转化为主要的免疫抗性,因为许多肿瘤被TReg细胞高度浸润,这可能进一步抑制效应子免疫反应。可以通过将PD1抑制剂与ADC组合使用来减轻这种抗性机制。

[0437] 适合用作本公开中的第二药剂的PD1拮抗剂包括:

- [0438] a) PD1拮抗剂,其抑制PD1与其配体结合配偶体的结合。
- [0439] b) PD1拮抗剂,其抑制PD1与PD-L1的结合。
- [0440] c) PD1拮抗剂,其抑制PD-1与PDL2的结合。
- [0441] d) PD1拮抗剂,其抑制PD-1与PDL1和PDL2的结合。
- [0442] e) 部分(a)至(d)的作为抗体的PD1拮抗剂。
- [0443] 适合用作本公开中的第二药剂的特定PD1拮抗剂包括:
- [0444] a) 派姆单抗(商标名Keytruda)
- [0445] i. CAS编号→1374853-91-4
- [0446] (参见<http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)
- [0447] ii. NCBI Pubchem参考→254741536
- [0448] (参见<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)
- [0449] iii. DrugBank参考→DB09037
- [0450] (参见<https://www.drugbank.ca/>)
- [0451] iv. 唯一标识码(UNII)→DPT003T46P
- [0452] (参见<http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem-UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm>)
- [0453] b) 纳武单抗(商标名Opdivo)
- [0454] i. CAS编号→946414-94-4
- [0455] (参见<http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)
- [0456] ii. DrugBank参考→DB09035
- [0457] (参见<https://www.drugbank.ca/>)
- [0458] c) MEDI0680(以前为AMP-514)
- [0459] -如W02014/055648、W02015/042246、W02016/127052、W02017/004016、W02012/145493、US8609089、W02016/007235、W02016/011160; Int. J. Mol. Sci. 2016年7月; 17(7): 1151, doi:10.3390/ijms17071151; 以及Drug Discov Today, 2015年9月; 20(9): 1127-34. doi:10.1016/j.drudis.2015.07.003所述。
- [0460] -还参见临床试验NCT02271945和NCT02013804: <https://clinicaltrials.gov/ct2/home>
- [0461] d) PDR001(spartalizumab)
- [0462] i. CAS编号→1935694-88-4
- [0463] (参见<http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)
- [0464] ii. 唯一标识码(UNII)→Q0G25L6Z8Z
- [0465] (参见<http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem-UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm>)
- [0466] -如W02016/007235和W02016/011160所述
- [0467] -NCI汇总代码→C121625
- [0468] (参见<https://ncit.nci.nih.gov/ncitbrowser/>)
- [0469] e) 卡瑞利珠单抗[INCSHR-1210] (Incyte)
- [0470] i. CAS编号→1798286-48-2



[0499] k) AMP-224

[0500] 参见临床试验NCT02298946, <https://clinicaltrials.gov/ct2/home>

[0501] -----

[0502] 在一些实施方案中,PD1多肽对应于Genbank登录号AAC51773,版本号AAC51773.1,记录更新日期:2010年6月23日上午9:24。在一个实施方案中,编码PD1多肽的核酸对应于Genbank登录号U64863,版本号U64863.1,记录更新日期:2010年6月23日上午9:24。在一些实施方案中,PD1多肽对应于Uniprot/Swiss-Prot登录号Q15116。

[0503] PD-L1拮抗剂

[0504] “PD-L1拮抗剂”是指通过抑制PD-L1信号传导刺激免疫反应的任何化学化合物或生物分子。

[0505] 为了检查例如PD-L1活性的增强程度,用潜在的活化剂或抑制剂处理包含给定例如蛋白质、基因、细胞或生物体的样品或测定物,并将其与用无活性对照分子处理的对照样品进行比较。对照样品指定为相对活性值100%。当相对于对照的活性值为约90%或更少,通常为85%或更少,更通常为80%或更少,最通常为75%或更少,通常为70%或更少,更通常为65%或更少,最通常为60%或更少,通常为55%或更少,通常为50%或更少,更通常为45%或更少,最通常为40%或更少,优选为35%或更少,更优选为30%或更少,还更优选为25%或更少,并且最优选为少于20%时,实现抑制。当相对于对照的活性值为高约110%,通常为高至少120%,更通常为高至少140%,更通常为高至少160%,通常为高至少180%,更通常为高至少2倍,最通常为高至少2.5倍,通常为高至少5倍,更通常为高至少10倍,优选为高至少20倍,更优选为高至少40倍,并且最优选为高超过40倍时,实现活化。

[0506] 将靶向第一靶蛋白(FTP)阳性淋巴瘤和白血病的ADC与PD-L1抑制剂组合是有利的,因为一方面,ADC将直接杀死FTP阳性肿瘤细胞,而另一方面,PD-L1抑制剂将参与患者自身的免疫系统以消除癌细胞。

[0507] 在FTP(+)肿瘤细胞旁边,FTP(+)肿瘤细胞附近的靶标阴性肿瘤细胞可被在细胞杀死FTP(+)细胞后释放的PBD-二聚体的旁观者机制杀死。因此,ADC将直接杀死肿瘤细胞。由以PBD二聚体杀死的细胞得以释放肿瘤相关抗原将触发免疫系统,这将通过使用程序性细胞死亡蛋白1配体抑制剂(PD-L1,也称为B7-H1或CD274)进一步增强。

[0508] PD-L1通常在来自许多不同人类肿瘤的肿瘤细胞表面上调。干扰肿瘤上表达的PD1配体将避免肿瘤微环境中的免疫抑制,并且因此使用PDL1抑制剂阻断PD1途径可增强针对从由ADC杀死的肿瘤释放的抗原的抗肿瘤免疫反应。

[0509] 将靶向第一靶蛋白(FTP)的ADC与PD1抑制剂组合是有利的,因为一方面,ADC将直接杀死FTP阳性肿瘤细胞,而另一方面,PD1抑制剂将参与患者自身的免疫系统以消除癌细胞。在FTP(+)肿瘤细胞旁边,FTP(+)肿瘤细胞附近的FTP阴性肿瘤细胞可被在细胞杀死CD19(+)或CD22(+)细胞后释放的PBD-二聚体的旁观者机制杀死。因此,ADC将直接杀死肿瘤细胞。

[0510] 适合用作本公开中的第二药剂的PD-L1拮抗剂包括PD-L1拮抗剂,其为:

[0511] (a) PD-L1结合拮抗剂;

[0512] (b) 抑制PD-L1与PD1的结合;

[0513] (c) 抑制PD-L1与B7-1的结合;

- [0514] (d) 抑制PD-L1与PD1和B7-1二者的结合;
- [0515] (e) 抗PD-L1抗体。
- [0516] 适合用作本公开中的第二药剂的特定PD-L1拮抗剂包括:
- [0517] a) 阿特殊单抗 (MPDL3280A, 商标名Tecentriq)
- [0518] i. CAS编号→1380723-44-3
- [0519] (参见<http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)
- [0520] ii. DrugBank参考→DB11595
- [0521] (参见<https://www.drugbank.ca/>)
- [0522] iii. 唯一标识码 (UNII) →52CMI0WC3Y
- [0523] (参见<http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem-UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm>)
- [0524] b) BMS-936559/MDX-1105
- [0525] I. CAS编号→1422185-22-5
- [0526] (参见<http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)
- [0527] II. 参见临床试验NCT02028403, <https://clinicaltrials.gov/ct2/home>
- [0528] III. 关于抗体序列, 特别是关于以下抗体, 参见W02007/005874
- [0529] i. 具有以下的抗体:
- [0530] a. VH CDR1=DYGFS
- [0531] b. VH CDR2=WITAYNGNTNYAQLQG
- [0532] c. VH CDR3=DYFYGMDV
- [0533] d. VL CDR1=RASQSVSSYLV
- [0534] e. VL CDR2=DASNRAT
- [0535] f. VL CDR3=QQRSNWPRT
- [0536] ii. 具有以下的抗体:
- [0537] a. VH CDR1=TYAIS
- [0538] b. VH CDR2=GIIPIFGKAHYAQKFQG
- [0539] c. VHCDR3=KFHFVSGSPFGMDV
- [0540] d. VL CDR1=RASQSVSSYLA
- [0541] e. VL CDR2=DASNRAT
- [0542] f. VL CDR3=QQRSNWPT
- [0543] iii. 具有以下的抗体:
- [0544] a. VH CDR1=SYDVH
- [0545] b. VH CDR2=WLHADTGITKFSQKFQG
- [0546] c. VH CDR3=ERIQLWFDY
- [0547] d. VL CDR1=RASQGISSWLA
- [0548] e. VL CDR2=AASSLQS
- [0549] f. VL CDR3=QQYNSYPYT
- [0550] c) 德瓦鲁单抗/MEDI4736
- [0551] i. CAS编号→1428935-60-7

[0552] (参见<http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

[0553] ii.唯一标识码(UNII)→28X28X90KV

[0554] (参见<http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem-UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm>)

[0555] iii.VH序列

[0556] EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYWMSWVRQAP  
GKGLEWVANIKQDGSEKYYVDSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNS  
[0557] LRAEDTAVYYCAREGGWFGELAFDYWGQGTLLTVSS

[0558] iv.VL序列

EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCRASQRVSSSYLAWYQQKPG  
[0559] QAPRLLIYDASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC  
QQYGSLPWTFGQGTKVEIK

[0560] d)阿维鲁单抗/MSB0010718C

[0561] i.CAS编号→1537032-82-8

[0562] (参见<http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

[0563] ii.唯一标识码(UNII)→KXG2PJ551I

[0564] (参见<http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem-UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm>)

[0565] -----

[0566] 在一些实施方案中,PD-L1多肽对应于Genbank登录号AAF25807,版本号AAF25807.1,记录更新日期:2010年3月10日下午10:14。在一个实施方案中,编码PD1多肽的核酸对应于Genbank登录号AF177937,版本号AF177937.1,记录更新日期:2010年3月10日下午10:14。在一些实施方案中,PD1多肽对应于Uniprot/Swiss-Prot登录号Q9NZQ7。

[0567] GITR激动剂

[0568] 如本文所用,术语“糖皮质激素诱导的TNF受体”(本文中缩写为“GITR”)也称为TNF受体超家族18(TNFRSF18、CD357)、TEASR和312C2,是指肿瘤坏死因子/神经生长因子受体家族的成员。GITR是241个氨基酸的I型跨膜蛋白,其特征存在于细胞外结构域中的三个半胱氨酸假重复序列,并且特异性地保护T细胞受体诱导的细胞凋亡,尽管它不保护细胞免于其他凋亡信号,包括Fas触发、地塞米松治疗或UV照射(Nocentini, G.等人(1997) Proc.Natl.Acad.Sci.USA 94:6216-622)。

[0569] GITR活化增加对肿瘤和病毒感染的抗性,参与自身免疫/炎症过程并且调节白细胞外渗(Nocentini同上;Cuzzocrea等人(2004) J Leukoc.Biol.76:933-940;Shevach等人(2006) Nat.Rev.Immunol.6:613-618;Cuzzocrea等人(2006) J Immunol.177:631-641;以及Cuzzocrea等人(2007) FASEB J 21:I 17-I29)。在肿瘤小鼠模型中,激动剂GITR抗体DTA-1与拮抗剂CTLA-4抗体组合,并且在一些测试组小鼠中显示出晚期肿瘤完全消退的协同结果(Ko等人(2005) J Exp.Med.195:885-891)。

[0570] 具有三种剪接变体的人GITR(hGITR)的核酸和氨基酸序列是已知的,并且可以在

例如GenBank登录号gi:40354198、gi:23238190、gi:23238193和gi:23238196中找到。

[0571] “GITR激动剂”是指通过活化GITR信号传导刺激免疫反应的任何化学化合物或生物分子。还设想了GITR结合配偶体可溶性GITR-L蛋白。

[0572] 为了检查例如GITR活性的增强程度,用潜在的活化剂或抑制剂处理包含给定例如蛋白质、基因、细胞或生物体的样品或测定物,并将其与用无活性对照分子处理的对照样品进行比较。对照样品指定为相对活性值100%。当相对于对照的活性值为约90%或更少,通常为85%或更少,更通常为80%或更少,最通常为75%或更少,通常为70%或更少,更通常为65%或更少,最通常为60%或更少,通常为55%或更少,通常为50%或更少,更通常为45%或更少,最通常为40%或更少,优选为35%或更少,更优选为30%或更少,还更优选为25%或更少,并且最优选为少于20%时,实现抑制。当相对于对照的活性值为高约110%,通常为高至少120%,更通常为高至少140%,更通常为高至少160%,通常为高至少180%,更通常为高至少2倍,最通常为高至少2.5倍,通常为高至少5倍,更通常为高至少10倍,优选为高至少20倍,更优选为高至少40倍,并且最优选为高超过40倍时,实现活化。

[0573] 将靶向第一靶蛋白(FTP)阳性淋巴瘤和白血病的ADC与GITR激动剂组合是有利的,因为一方面,ADC将直接杀死FTP阳性肿瘤细胞,而另一方面,GITR激动剂将参与患者自身的免疫系统以消除癌细胞。在FTP(+)肿瘤细胞旁边,FTP(+)肿瘤细胞附近的靶标阴性肿瘤细胞可被在细胞杀死FTP(+)细胞后释放的PBD-二聚体的旁观者机制杀死。因此,ADC将直接杀死肿瘤。由以PBD二聚体杀死的细胞得以释放肿瘤相关抗原将触发免疫系统,这将通过使用GITR激动剂进一步增强。

[0574] GITR(糖皮质激素诱导的TNFR相关蛋白)在活化的T细胞上瞬时表达,并在T-regs上以高水平组成型表达,活化后进一步诱导。GITR通过其配体GITRL的连接刺激效应子和调节性CD4<sup>+</sup>T细胞的增殖和功能。这促进T细胞存活,并分化成效应细胞,同时消除抑制作用。因此,用ADC靶向FTP(+)肿瘤导致抗原细胞死亡将是有益的,而GITR激动剂诱导更强、持久的免疫反应。

[0575] 适合用作本公开中的第二药剂的特定GITR激动剂包括:

[0576] a) MEDI1873,由MedImmune开发的GITR配体融合蛋白

[0577] -参见W02016/196792、US20160304607

[0578] -NCI汇总代码→C124651

[0579] (参见<https://ncit.nci.nih.gov/ncitbrowser>)

[0580] -还参见临床试验NCT023126110:<https://clinicaltrials.gov/ct2/home>

[0581] -参见Tigue NJ、Bamber L、Andrews J等人MEDI1873,a potent, stabilized hexameric agonist of human GITR with regulatory T-cell targeting potential. *Oncoimmunology*. 2017;6(3):e1280645.

[0582] doi:10.1080/2162402X.2017.1280645.

[0583] b) INCAGN1876,一种靶向糖皮质激素诱导的TNFR相关蛋白或GITR的激动剂抗体。在与路德维希癌症研究中心(Ludwig Cancer Research)合作期间发现。INCAGN1876正在与Incyte共同开发

[0584] -参见临床试验NCT02583165和NCT03277352:<https://clinicaltrials.gov/ct2/home>

[0585] c) TRX518, 一种由Leap Therapeutics开发的具有免疫调节活性的人源化无糖基化 (Fc禁用) IgG1抗G1TR mAb

[0586] ○关于序列58、60-63参见W02006/105021;以及关于序列1-7参见EP2175884:

[0587] ■包含以下序列的VL (CDR加下划线):

EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCKASQNVGTNVAWYQQKPG

[0588] QAPRLLIYSASYRYSGIPARFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDF

VYYCQQYNTDPLTFGGGTKVEIK

[0589] ■包含以下序列的VH (CDR加下划线):

QVTLRESGPALVKPTQTLTLTCTFSGFSLTSGMGVGVWIRQPP

[0590] GKALEWLAHIWWDDDKYYNPSLKSRITISKDTSKNQVVLTM

MDPVDTATYYCARTRRYFPFAYWGQGLVTVS

QVTLRESGPALVKPTQTLTLTCTFSGFSLTSGMGVGVWIRQPP

[0591] GKALEWLAHIWWDDDKYYQPSLKSRITISKDTSKNQVVLTM

MDPVDTATYYCARTRRYFPFAYWGQGLVTVS

[0592] ○参见临床试验NCT01239134和NCT02628574:<https://clinicaltrials.gov/ct2/home>

[0593] ○NCI汇总代码→C95023

[0594] (参见<https://ncit.nci.nih.gov/ncitbrowser>)

[0595] d) GWN323, 一种抗G1TR激动性单克隆抗体, 其活化多种类型T细胞上可见的G1TR。GWN323由Novartis开发

[0596] -参见W02016/196792

[0597] -NCI汇总代码→C128028

[0598] (参见<https://ncit.nci.nih.gov/ncitbrowser>)

[0599] -参见临床试验NCT02740270:<https://clinicaltrials.gov/ct2/home>

[0600] e) MK-1248, 一种人源化IgG4抗人糖皮质激素诱导的肿瘤坏死因子受体 (G1TR) 激动性单克隆抗体 (MoAb), 其具有显著降低的效应子功能

[0601] -参见临床试验NCT02553499:<https://clinicaltrials.gov/ct2/home>

[0602] -MK-1248具有与MK4166相同的CDR (参见Sukumar等人, Cancer Res.2017)

[0603] f) MK-4166, 一种人源化IgG1抗人糖皮质激素诱导的肿瘤坏死因子受体 (G1TR) 激动性单克隆抗体 (MoAb), 其具有潜在的免疫调节活性 (参见Sukumar等人, Cancer Res.2017)。

[0604] -参见临床试验NCT02132754:<https://clinicaltrials.gov/ct2/home>

[0605] -参见Sukumar等人, (2017), Cancer Research.77.canres.1439.2016.10.1158/0008-5472.CAN-16-1439。

[0606] -NCI汇总代码C116065

[0607] (参见<https://ncit.nci.nih.gov/ncitbrowser/>)



[0608] g) BMS-986156, 一种抗人糖皮质激素诱导的肿瘤坏死因子受体 (GITR; 肿瘤坏死因子超家族成员18; TNFRSF18; CD357) 激动性单克隆抗体

[0609] -参见临床试验NCT02598960:<https://clinicaltrials.gov/ct2/home>

[0610] -NCI汇总代码C132267

[0611] (参见<https://ncit.nci.nih.gov/ncitbrowser/>)

[0612] -----

[0613] W02011/028683和W02006/105021中提供了激动剂抗GITR抗体的序列。

[0614] -----

[0615] 在一些实施方案中, GITR多肽对应于Genbank登录号AAD22635, 版本号AAD22635.1, 记录更新日期: 2010年3月10日下午09:42。在一个实施方案中, 编码GITR多肽的核酸对应于Genbank登录号AF125304, 版本号AF125304.1, 记录更新日期: 2010年3月10日下午09:42。在一些实施方案中, GITR多肽对应于Uniprot/Swiss-Prot登录号Q9Y5U5。

[0616] OX40激动剂

[0617] OX40 (CD134; TNFRSF4) 是TNFR超家族的成员, 并且在抗原特异性引发期间由CD4和CD8 T细胞表达。在TCR/CD3交联后, OX40表达很大程度上是瞬时的, 并且存在炎性细胞因子。在不存在活化信号的情况下, 相对较少的成熟T细胞亚群在生物学相关水平上表达OX40。产生最佳“杀伤”CD8 T细胞反应需要T细胞受体活化加共刺激, 这可以通过使用OX40激动剂连接OX40来提供。这种活化机制增强T细胞分化和细胞溶解功能, 从而导致抗肿瘤免疫力增强。因此, 用ADC靶向FTP(+) 肿瘤导致抗原细胞死亡将是有益的, 而OX40激动剂诱导更强、持久的免疫反应。

[0618] OX40激动剂可选自由OX40激动剂抗体、OX40L激动剂片段、OX40寡聚体受体和OX40免疫粘附素组成的组。在一些实施方案中, OX40结合激动剂是三聚体OX40L-Fc蛋白。

[0619] 在一些实施方案中, OX40结合激动剂是包含OX40L的一个或多个细胞外结构域的OX40L激动剂片段。在一些实施方案中, OX40结合激动剂是结合人OX40的OX40激动剂抗体。在一些实施方案中, OX40激动剂抗体耗尽表达人OX40的细胞。在一些实施方案中, OX40激动剂抗体耗尽体外表达人OX40的细胞。在一些实施方案中, 细胞是CD4+效应T细胞。在一些实施方案中, 细胞是Treg细胞。在一些实施方案中, 耗尽通过ADCC和/或吞噬作用进行。在一些实施方案中, 耗尽通过ADCC进行。在一些实施方案中, OX40激动剂抗体以小于或等于约1nM的亲和力结合人OX40。在一些实施方案中, 与用抗人OX40激动剂抗体治疗前的增殖和/或细胞因子产生相比, OX40激动剂抗体增加CD4+效应T细胞增殖和/或增加由CD4+效应T细胞进行的细胞因子产生。在一些实施方案中, 细胞因子是 $\gamma$ 干扰素。在一些实施方案中, OX40激动剂抗体增加记忆T细胞增殖和/或增加由记忆细胞进行的细胞因子产生。在一些实施方案中, 细胞因子是 $\gamma$ 干扰素。在一些实施方案中, OX40激动剂抗体抑制Treg功能。在一些实施方案中, OX40激动剂抗体抑制效应T细胞功能的Treg抑制。在一些实施方案中, 效应T细胞功能是效应T细胞增殖和/或细胞因子产生。在一些实施方案中, 效应T细胞是CD4+效应T细胞。在一些实施方案中, OX40激动剂抗体增加表达OX40的靶细胞中的OX40信号转导。在一些实施方案中, 通过监测NF $\kappa$ B下游信号传导来检测OX40信号转导。

[0620] “OX40激动剂”是指通过活化OX40信号传导来刺激免疫反应的任何化学化合物或生物分子。

[0621] 为了检查例如OX40活性的增强程度,用潜在的活化剂或抑制剂处理包含给定例如蛋白质、基因、细胞或生物体的样品或测定物,并将其与用无活性对照分子处理的对照样品进行比较。对照样品指定为相对活性值100%。当相对于对照的活性值为约90%或更少,通常为85%或更少,更通常为80%或更少,最通常为75%或更少,通常为70%或更少,更通常为65%或更少,最通常为60%或更少,通常为55%或更少,通常为50%或更少,更通常为45%或更少,最通常为40%或更少,优选为35%或更少,更优选为30%或更少,还更优选为25%或更少,并且最优选为少于20%时,实现抑制。当相对于对照的活性值为高约110%,通常为高至少120%,更通常为高至少140%,更通常为高至少160%,通常为高至少180%,更通常为高至少2倍,最通常为高至少2.5倍,通常为高至少5倍,更通常为高至少10倍,优选为高至少20倍,更优选为高至少40倍,并且最优选为高超过40倍时,实现活化。

[0622] 将靶向第一靶蛋白(FTP)阳性淋巴瘤和白血病的ADC与OX40激动剂组合是有利的,因为一方面,ADC将直接杀死FTP阳性肿瘤细胞,而另一方面,OX40激动剂将参与患者自身的免疫系统以消除癌细胞。在FTP(+)肿瘤细胞旁边,FTP(+)肿瘤细胞附近的靶标阴性肿瘤细胞可被在细胞杀死FTP(+)细胞后释放的PBD-二聚体的旁观者机制杀死。因此,ADC将直接杀死肿瘤。由以PBD二聚体杀死的细胞得以释放肿瘤相关抗原将触发免疫系统,这将通过使用OX40激动剂进一步增强。

[0623] 适合作本公开中的第二药剂的特定OX40激动剂包括:

[0624] a) MEDI0562(也称为Tavolixizumab、Tavolimab)

[0625] a) CAS编号→1635395-25-3

[0626] (参见<http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

[0627] b) 唯一标识码(UNII)→4LU9B48U4D

[0628] (参见<http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem-UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm>)

[0629] -参见临床试验NCT02318394:<https://clinicaltrials.gov/ct2/home>

[0630] -如W02015/095423、W02015/153514、W02016/073380和W02016/081384中所述

[0631] -NCI汇总代码→C120041

[0632] (参见<https://ncit.nci.nih.gov/ncitbrowser/>)

[0633] -重链序列:

QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCAVYGGSFSSGYWNWIRKHP  
GKGLYIGYISYNGITYHNPSLKSRLTNRDTSKNQYSLQLNSVTPE  
DTAVYYCARYKYDYDGGHAMDYWGQGLVTVSSASTKGPSVFP  
LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA  
VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV  
[0634] KSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV  
VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL  
TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT  
LPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTP  
PVLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQK  
SLSLSPG

[0635] -轻链序列:

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQKPGK  
APKLLIYYTSKLHSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQ  
[0636] QGSALPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCL  
LNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTL  
TLISKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN R GEC

[0637] b) MEDI6383 (Efizonerimod alfa)

[0638] a) CAS编号→1635395-27-5

[0639] (参见<http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

[0640] b) 唯一标识码 (UNII) →1MH7C2X8KE

[0641] (参见[http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/  
SubstanceRegistrationSystem-UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm](http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem-UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm))

[0642] -参见临床试验NCT02221960:<https://clinicaltrials.gov/ct2/home>

[0643] -如W02015/095423、W02016/081384和W02016/189124中所述

[0644] -NCI汇总代码→C118282

[0645] (参见<https://ncit.nci.nih.gov/ncitbrowser/>)

[0646] -氨基酸序列 (来自W02016/189124的序列号17):

ESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV  
[0647] VVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSV  
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYT

[0648] LPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP  
PVLDSGDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQK  
SLSLSLGKDQDKIEALSSKVQQLERSIGLKDLAMADLEQKVLEME  
ASTQVSHRYPRIQSIKVQFTEYKKEKGFILTSQKEDEIMKVQNNNSV  
IINCDFGYLISLKGYSQEVNISLHYQKDEEPLFQLKKVRSVNSLM  
VASLTYKDKVYLVNTTDDNTSLDDFHVNGGELILIHQNPGEFCVL

[0649] c) MOXR0916 (也称为RG7888、Pogalizumab), 一种人源化抗OX40单克隆抗体

[0650] a) CAS编号→1638935-72-4

[0651] (参见<http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

[0652] b) 唯一标识码 (UNII) →C78148TF1D

[0653] (参见<http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem-UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm>)

[0654] c) NCI汇总代码→C121376

[0655] (参见<https://ncit.nci.nih.gov/ncitbrowser/>)

[0656] d) OX40mAb24 (9B12)

[0657] a) OX40mAb24是9B12的人源化版本。9B12是针对人OX40 (CD134) 细胞外结构域的鼠类IgG1、抗OX40 mAb (Weinberg, A.D.等人J Immunother 29, 575-585 (2006))。

[0658] b) 对于OX40mAb24 VH序列, 参见W02016/057667序列号59, 对于VL序列, 参见序列号29 (序列号32是替代性VL):

[0659] VH序列

QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCAVYGGSFSSGYWNWIRKHP  
[0660] GKGLEYYIGYISYNGITYHNPSLKSRLTNRDTSKNQYSLQLNSVTPE  
DTAVYYCARYKYDYDGGHAMDYWGQGTLVTVSS

[0661] VL序列

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQDISNYLNWYQQKPGK  
[0662] APKLLIYYTSKLHSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQ  
QGSALPWTFGQGGTKVEIK

[0663] e) INCAGN1949

[0664] a) 参见Gonzalez等人2016, DOI:10.1158/1538-7445.AM2016-3204

[0665] b) 参见临床试验NCT02923349: <https://clinicaltrials.gov/ct2/home>

[0666] c) 抗体序列公开在W02016/179517A1中:

[0667] i. 特别是, 包含以下序列的抗体:

[0668] VH CDR1→GSAMH

[0669] VH CDR2→RIRSKANSYATAYAASVKG

[0670] VH CDR3→GIYDSSGYDY

[0671] VL CDR1→RSSQSLLHSNGYNYLD

[0672] VL CDR2→LGSNRAS

[0673] VL CDR3→MQALQTPLT

[0674] ii. 例如, 包含以下序列的抗体:

[0675] VH→

EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSGSAMHWVRQAS

[0676] GKGLEWVGRIRSKANSYATAYAASVKGRFTISRDDSKNTAYLQM  
NSLKTEDTAVYYCTSGIYDSSGYDYWGQGTLVTVSS

[0677] VL→

DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHSNGYNYLDWYLQ

[0678] KPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVG  
VYYCMQALQTPLTFGGGTKVEIK

[0679] g) GSK3174998, 一种人源化IgG1激动性抗OX40单克隆抗体 (mAb)

[0680] - 参见临床试验NCT02528357: <https://clinicaltrials.gov/ct2/home>

[0681] h) PF-04518600 (PF-8600), 一种靶向OX40蛋白的研究性完全人单克隆抗体 (mAb)

[0682] - 参见专利WO 2017/130076 A1

[0683] - 参见临床试验NCT02315066: <https://clinicaltrials.gov/ct2/home> - NCI汇总  
代码→C121927

[0684] (参见<https://ncit.nci.nih.gov/ncitbrowser/>)

[0685] -----

[0686] 在一些实施方案中, OX40多肽对应于Genbank登录号CAA53576, 版本号CAA53576.1, 记录更新日期: 2011年2月2日上午10:10。在一个实施方案中, 编码OX40多肽的核酸对应于Genbank登录号X75962, 版本号X75962.1, 记录更新日期: 2011年2月2日上午10:10。在一些实施方案中, OX40多肽对应于Uniprot/Swiss-Prot登录号P43489。

[0687] CTLA拮抗剂

[0688] CTLA4 (CD152) 在活化的T细胞上表达, 并作为共抑制剂以在CD28介导的T细胞活化后保持T细胞反应受抑制。据信CTLA4在TCR接合后调节幼稚和记忆T细胞早期活化的幅度, 并且是影响抗肿瘤免疫力和自身免疫力的中枢抑制途径的一部分。CTLA4仅在T细胞上表达, 并且其配体CD80 (B7.1) 和CD86 (B7.2) 的表达主要局限于抗原呈递细胞、T细胞和其他免疫介导细胞。据报告阻断CTLA4信号传导途径的拮抗性抗CTLA4抗体增强T细胞活化。一种此类抗体伊匹单抗在2011年被FDA批准用于治疗转移性黑色素瘤。另一种抗CTLA4抗体替西木单抗在III期试验中测试以用于治疗晚期黑色素瘤, 但与当时的标准治疗 (替莫唑胺或达卡巴嗪) 相比, 没有显著增加患者的总体存活率。

[0689] “CTLA4激动剂”是指通过抑制CTLA4信号传导刺激免疫反应的任何化学化合物或生物分子。

[0690] 为了检查例如CTLA4活性的增强程度, 用潜在的活化剂或抑制剂处理包含给定例如蛋白质、基因、细胞或生物体的样品或测定物, 并将其与用无活性对照分子处理的对照样品进行比较。对照样品指定为相对活性值100%。当相对于对照的活性值为约90%或更少,

通常为85%或更少,更通常为80%或更少,最通常为75%或更少,通常为70%或更少,更通常为65%或更少,最通常为60%或更少,通常为55%或更少,通常为50%或更少,更通常为45%或更少,最通常为40%或更少,优选为35%或更少,更优选为30%或更少,还更优选为25%或更少,并且最优选为少于20%时,实现抑制。当相对于对照的活性值为高约110%,通常为高至少120%,更通常为高至少140%,更通常为高至少160%,通常为高至少180%,更通常为高至少2倍,最通常为高至少2.5倍,通常为高至少5倍,更通常为高至少10倍,优选为高至少20倍,更优选为高至少40倍,并且最优选为高超过40倍时,实现活化。

[0691] 将靶向第一靶蛋白(FTP)阳性淋巴瘤和白血病的ADC与CTLA4抑制剂组合是有利的,因为一方面,ADC将直接杀死FTP阳性肿瘤细胞,而另一方面,CTLA4抑制剂将参与患者自身的免疫系统以消除癌细胞。在FTP(+)肿瘤细胞旁边,FTP(+)肿瘤细胞附近的靶标阴性肿瘤细胞可被在细胞杀死FTP(+)细胞后释放的PBD-二聚体的旁观者机制杀死。因此,ADC将直接杀死肿瘤。由以PBD二聚体杀死的细胞得以释放肿瘤相关抗原将触发免疫系统,这将通过使用在许多不同肿瘤类型的大部分肿瘤浸润淋巴细胞(TIL)上表达的CTLA4抑制剂进一步增强。

[0692] CTLA4(CD152)的主要功能是调节T细胞活化早期阶段的幅度,并且因此其抵消T细胞共刺激受体CD28在肿瘤微环境中的活性。因此,阻断CTLA4途径可以增强效应CD4+T细胞活性的增强,同时其抑制TReg细胞依赖性免疫抑制。因此,用ADC靶向FTP(+)肿瘤导致抗原细胞死亡将是有益的,而CTLA4阻断诱导更强的免疫、持久的反应。

[0693] 适合用作本公开中的第二药剂的特定CTLA4拮抗剂包括:

[0694] a) 伊匹单抗

[0695] i. CAS编号→477202-00-9

[0696] (参见<http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

[0697] ii. 唯一标识码(UNII)→6T8C155666

[0698] (参见<http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem-UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm>)

[0699] b) 替西木单抗

[0700] i. CAS编号→745013-59-6

[0701] (参见<http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

[0702] ii. 唯一标识码(UNII)→QEN1X95CIX

[0703] (参见<http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem-UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm>)

[0704] iii. VH序列

GVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVA  
VIWYDGSNKYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAV  
YYCARDPRGATLYYYYYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPL  
APCSRSTSESTAALG CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH [SEQ  
ID NO.1]

[0706] iv. VL序列

PSSLSASVGDRTTITCRASQSINSYLDWYQQKPGKAPKLLIYA  
[0707] ASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYYSTPFT  
FGPGTKVEIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRE  
AKV [SEQ ID NO.2]

[0708] -----

[0709] 在一些实施方案中,CTLA多肽对应于Genbank登录号AAL07473,版本号AAL07473.1,记录更新日期:2010年3月11日上午01:28。在一个实施方案中,编码CTLA4多肽的核酸对应于Genbank登录号AF414120,版本号AF414120.1,记录更新日期:2010年3月11日上午01:28。在一些实施方案中,OX40多肽对应于Uniprot/Swiss-Prot登录号P16410。

[0710] 氟达拉滨和阿糖胞苷

[0711] 具有不同作用机制的药剂的组合是用于对抗癌症的既定治疗原则。当显示协同作用时和/或当观察到降低的毒性时,这可以是增加抗肿瘤活性的方法。抗体-药物缀合物(包括具有PBD弹头的那些)可能特别适合作为组合配偶体,因为与常规化疗相比,它们更具靶向性。由于PBD二聚体以共价方式交联DNA,所以将它们与通过不同机制干扰DNA合成的其他药剂组合可以提供益处。这种潜在组合的实例是氟达拉滨和阿糖胞苷。

[0712] 氟达拉滨

[0713] 氟达拉滨或磷酸氟达拉滨(Fludara)是一种用于治疗血液系统恶性肿瘤,诸如白血病和淋巴瘤的化学治疗药。它是一种嘌呤类似物,通过干扰核糖核苷酸还原酶(RNAR)和DNA聚合酶来干扰DNA。它对分裂细胞和静息细胞都有活性。氟达拉滨还显示出抑制ERCC1转录,并且这可以解释氟达拉滨与PBD二聚体SJG136(SG2000)之间观察到的针对慢性淋巴细胞白血病细胞的协同作用。CLAG/CLAG-M-克拉屈滨是另一种抑制RNR的嘌呤类似物。

[0714] 将靶向第一靶蛋白(FTP)阳性淋巴瘤和白血病的ADC与氟达拉滨组合是有利的,因为一方面,ADC将通过依赖于DNA交联的机制直接杀死FTP阳性肿瘤细胞,从而导致细胞凋亡,而另一方面,氟达拉滨将抑制细胞RNA和DNA聚合酶,同时还抑制解析由PBD二聚体诱导的DNA交联所需的DNA修复酶。

[0715] 为了证明ADC与氟达拉滨协同作用,一组FTP(+)细胞系将用一系列浓度的ADC和氟达拉滨二者共同处理。作为阴性对照,同一组细胞系将用一系列浓度的氟达拉滨和非靶向对照ADC或用一系列浓度的ADC和媒介物共同处理。温育后,将测量两个参数:表面FTP的量(如通过流式细胞术测定)和组合的体外细胞毒性(如通过CellTiter-Glo®或MTS测定法测定)。通过将细胞活力数据转化为受影响的分数并使用CalcuSyn分析程序计算组合指数来计算细胞毒性协同作用。

[0716] CAS编号→21679-14-1

[0717] (参见<http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

[0718] ii.NCBI公共化学参考→657237

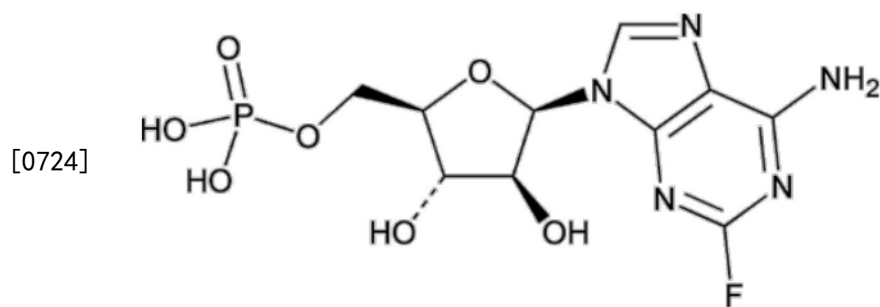
[0719] (参见<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)

[0720] iii.IUPHAR/BPS参考→4802

[0721] (参见<http://www.guidetopharmacology.org/>)

[0722] iv.唯一标识码(UNII)→1X9VK901SC

[0723] (参见<http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem-UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm>)



[0725] 式I, 氟达拉滨: [(2R,3R,4S,5R)-5-(6-氨基-2-氟-嘌呤-9-基)-3,4-二羟基-氧杂环戊烷-2-基]甲氧基磷酸

[0726] 阿糖胞苷

[0727] 阿糖胞苷或胞嘧啶阿拉伯糖苷 (Cytosar-U或Depocyt) 是一种用于治疗血液系统恶性肿瘤, 诸如急性髓性白血病 (AML) 和非霍奇金淋巴瘤的抗代谢化学治疗药。它也被称为 ara-C (阿拉伯呋喃糖基胞苷)。它通过干扰DNA合成来杀死癌细胞。它被活跃地代谢为胞嘧啶阿拉伯糖苷三磷酸, 其在细胞周期保持在S期 (DNA合成) 时会损害DNA。因此, 需要DNA复制进行有丝分裂的快速分裂细胞受到的影响最大。胞嘧啶阿拉伯糖苷还抑制DNA合成所需的DNA和RNA聚合酶和核苷酸还原酶。

[0728] 将靶向第一靶蛋白 (FTP) 阳性淋巴瘤和白血病的ADC与阿糖胞苷组合是有利的, 因为一方面, ADC将通过依赖于DNA交联的机制直接杀死FTP阳性肿瘤细胞, 从而导致细胞凋亡, 而另一方面, 阿糖胞苷会抑制细胞RNA和DNA聚合酶, 同时也抑制DNA合成。

[0729] 为了证明ADC与阿糖胞苷协同作用, 一组FTP(+) 细胞系将用一系列浓度的ADC和阿糖胞苷共同处理。作为阴性对照, 同一组细胞系将用一系列浓度的阿糖胞苷和非靶向对照ADC或用一系列浓度的ADC和媒介物共同处理。温育后, 将测量两个参数: 表面FTP的量 (如通过流式细胞术测定) 和组合的体外细胞毒性 (如通过 **CellTiter-Glo®** 或MTS测定法测定)。通过将细胞活力数据转化为受影响的部分并使用CalcuSyn分析程序计算组合指数来计算细胞毒性协同作用 (参见实施例4)。

[0730] CAS编号→147-94-4

[0731] (参见<http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

[0732] ii. NCBI公共化学参考→6253

[0733] (参见<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)

[0734] iii. IUPHAR/BPS参考→4827

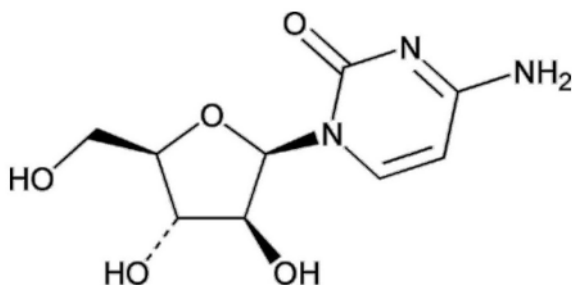
[0735] (参见<http://www.guidetopharmacology.org/>)

[0736] iv. 唯一标识码 (UNII) →04079A1RDZ

[0737] (参见<http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem-UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm>)



[0738]



[0739] 式II,阿糖胞苷:4-氨基-1-[(2R,3S,4R,5R)-3,4-二羟基-5-(羟甲基)氧杂环戊烷-2-基]嘧啶-2-酮

[0740] 低甲基化剂

[0741] 术语“低甲基化剂”是指一类干扰DNA甲基化的化合物,所述DNA甲基化是将甲基添加到胞嘧啶嘧啶环的5-位置或腺嘌呤嘌呤环的6位置上的氮中。DNA甲基化稳定地改变细胞中的基因表达模式,即降低基因表达(即对于维生素D受体而言)。低甲基化剂是能够抑制甲基化从而导致先前高度甲基化的沉默基因表达的化合物。胞苷类似物诸如5-氮杂胞苷(阿扎胞苷)和5-氮杂-2'-脱氧胞苷(地西他滨)是最常用的低甲基化剂。这些化合物通过与催化甲基化反应的酶(即DNA甲基转移酶)结合来起作用。

[0742] 为了检查低甲基化程度,用潜在的活化剂或抑制剂处理包含给定例如蛋白质、基因、细胞或生物体的样品或测定物,并将其与用无活性对照分子处理的对照样品进行比较。对照样品指定为相对活性值100%。当相对于对照的活性值为约90%或更少,通常为85%或更少,更通常为80%或更少,最通常为75%或更少,通常为70%或更少,更通常为65%或更少,最通常为60%或更少,通常为55%或更少,通常为50%或更少,更通常为45%或更少,最通常为40%或更少,优选为35%或更少,更优选为30%或更少,还更优选为25%或更少,并且最优选为少于20%时,实现抑制。当相对于对照的活性值为高约110%,通常为高至少120%,更通常为高至少140%,更通常为高至少160%,通常为高至少180%,更通常为高至少2倍,最通常为高至少2.5倍,通常为高至少5倍,更通常为高至少10倍,优选为高至少20倍,更优选为高至少40倍,并且最优选为高超过40倍时,实现活化。

[0743] 将靶向第一靶蛋白(FTP)阳性淋巴瘤和白血病的ADC与低甲基化剂组合是有利的,因为一方面,ADC将直接杀死FTP阳性肿瘤细胞,另一方面,低甲基化剂将干扰DNA甲基化。此干扰是通过在该序列中引起去甲基化进行,这不利地影响细胞调节蛋白能够结合DNA/RNA底物的方式。此活性与ADC协同作用,因为PBD二聚体以共价方式交联DNA,因此将它们与通过不同机制干扰DNA合成的其他药剂组合提供了益处。

[0744] 适合用作本公开中的第二药剂的特定低甲基化剂包括:

[0745] a) 5-氮杂胞苷(阿扎胞苷)

[0746] i. CAS编号→320-67-2

[0747] (参见<http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

[0748] ii. NCBI公共化学参考→9444

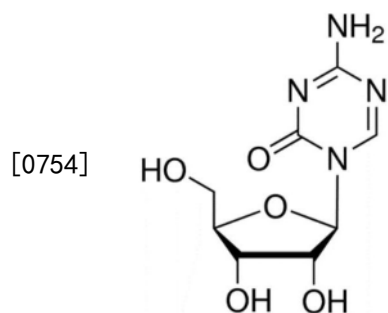
[0749] (参见<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)

[0750] iii. IUPHAR/BPS参考→6796

[0751] (参见<http://www.guidetopharmacology.org/>)

[0752] iv. 唯一标识码(UNII)→M801H13NRU

[0753] (参见 <http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem-UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm>)



[0755] 式III, 5-氮杂胞苷:4-氨基-1-β-D-呋喃核糖基-1,3,5-三嗪-2(1H)-酮

[0756] b) 5-氮杂-2'-脱氧胞苷(地西他滨)

[0757] i. CAS编号→2353-33-5

[0758] (参见 <http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

[0759] ii. NCBI公共化学参考→451668

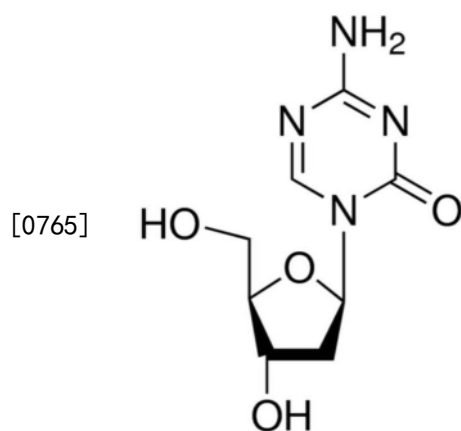
[0760] (参见 <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)

[0761] iii. IUPHAB则BPS参考→6805

[0762] (参见 <http://www.guidetopharmacology.org/>)

[0763] iv. 唯一标识码 (UNII) →776B62CQ27

[0764] (参见 <http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem-UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm>)



[0766] 式IV, b) 5-氮杂-2'-脱氧胞苷:4-氨基-1-(2-脱氧-β-D-赤-戊呋喃糖基)-1,3,5-三嗪-2(1H)-酮

[0767] PARP抑制剂

[0768] 聚(二磷酸腺苷[ADP])核糖聚合酶(PARP)是参与广泛范围的细胞功能的酶家族,包括DNA转录、DNA损伤反应、基因组稳定性维持、细胞周期调节和细胞死亡。PARP-1是该组中最丰富且最具特征的蛋白质。在肿瘤学中,其通过碱基切除修复(BER)途径修复单链DNA断裂(SSB)的重要作用一直是高度关注的焦点,并且已经开发了若干种PARP-1抑制剂(PARPi)(包括但不限于奥拉帕尼、CEP-9722、他唑来膦、卢卡帕尼、伊尼帕利、维利帕尼和尼拉帕利)并在临床上进行测试。在癌症治疗中,PARPi主要通过阻止DNA损伤的修复,最终导致细胞死亡来起作用。

[0769] PARP由以下四个感兴趣的结构域组成:DNA结合结构域、半胱天冬酶切割结构域、自动修饰结构域和催化结构域。DNA结合结构域由两个锌指基序组成。在受损DNA(碱基对切除)存在下,DNA结合结构域将结合DNA并诱导构象转变。已经表明,这种结合独立于其他结构域而发生。这是基于PARP的半胱天冬酶切割抑制的程序性细胞死亡模型中不可或缺的。自动修饰结构域负责在催化后从DNA释放蛋白质。此外,它在切割诱导的失活中起着不可或缺的作用。

[0770] PARP存在于细胞核中。主要作用是通过发送参与SSB修复的酶促机制的信号来检测并启动对代谢、化学或辐射诱导的单链DNA断裂(SSB)的即时细胞反应。一旦PARP检测到SSB,它就会与DNA结合,发生结构变化,并开始合成聚合二磷酸腺苷核糖(聚(ADP-核糖)或PAR)链,其作为其他DNA修复酶的信号。靶酶包括DNA连接酶III(LigIII)、DNA聚合酶 $\beta$ (pol $\beta$ )和支架蛋白,例如X射线交叉互补基因1(XRCC1)。修复后,PAR链通过聚(ADP-核糖)糖水解酶(PARG)降解。

[0771] 需要NAD<sup>+</sup>作为产生ADP-核糖单体的底物。已经认为PARP的过度活化可能耗尽细胞NAD<sup>+</sup>的储存并诱导逐渐的ATP耗尽和坏死细胞死亡,因为抑制葡萄糖氧化。但最近提出,抑制己糖激酶活性会导致糖酵解缺陷。(参见Andrabi,PNAS 2014)。在下文中应注意,PARP在程序性细胞死亡期间通过半胱天冬酶-3切割而失活。

[0772] PARP酶在许多细胞功能中是必需的,包括炎性基因的表达:PARP1是平滑肌细胞响应于TNF而诱导ICAM-1基因表达所必需的。

[0773] PBD是在链霉菌属中发现的一类天然存在的抗肿瘤抗生素。PBD二聚体通过两条DNA链的交联来发挥其细胞毒性作用模式,这导致复制的阻断和肿瘤细胞死亡。重要的是,由PBD二聚体形成的交联相对不扭曲DNA结构,使得它们隐藏DNA修复机制,所述机制通常在人类肿瘤中受损,与正常组织相反。

[0774] 将基于PBD的ADC与PARPi(包括但不限于奥拉帕尼、CEP-9722、他唑来膦、卢卡帕尼、伊尼帕利、维利帕尼和尼拉帕利)组合是有利的,因为由PBD二聚体引起的受损DNA的修复受到PARP抑制阻断,因此导致DNA损伤积累,从而导致癌细胞死亡。

[0775] 为了证明用基于PBD的ADC和PARPi治疗实体瘤来源的细胞系具有加成或协同的抗肿瘤作用,一组实体瘤来源的细胞系将用一系列浓度的各ADC和PARPi处理。温育后,将测量组合的体外细胞毒性(如通过CellTiter-Glo®或MTS测定来测定)。通过将细胞活力数据转化为受影响的分数并使用CalcuSyn分析程序计算组合指数来计算细胞毒性协同作用。

[0776] “PARP抑制剂”是指降低PARP活性的任何化学化合物或生物分子。

[0777] 为了检查例如PARP活性的抑制程度,用潜在的活化剂或抑制剂处理包含给定例如蛋白质、基因、细胞或生物体的样品或测定物,并将其与用无活性对照分子处理的对照样品进行比较。对照样品指定为相对活性值100%。当相对于对照的活性值为约90%或更少,通常为85%或更少,更通常为80%或更少,最通常为75%或更少,通常为70%或更少,更通常为65%或更少,最通常为60%或更少,通常为55%或更少,通常为50%或更少,更通常为45%或更少,最通常为40%或更少,优选为35%或更少,更优选为30%或更少,还更优选为25%或更少,并且最优选为少于20%时,实现抑制。

[0778] 适用于本公开的特定PARPi包括:

[0779] a) 奥拉帕尼

[0780] i.CAS编号→763113-22-0

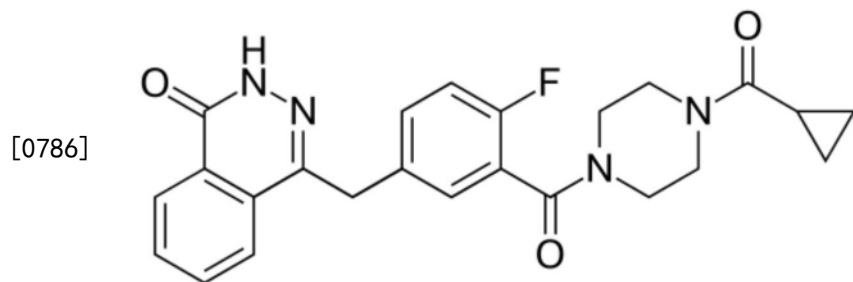
[0781] (参见<http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

[0782] ii.NCBI公共化学参考→23725625

[0783] (参见<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)

[0784] iii.唯一标识码 (UNII) →WOH1JD9AR8

[0785] (参见<http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem-UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm>)

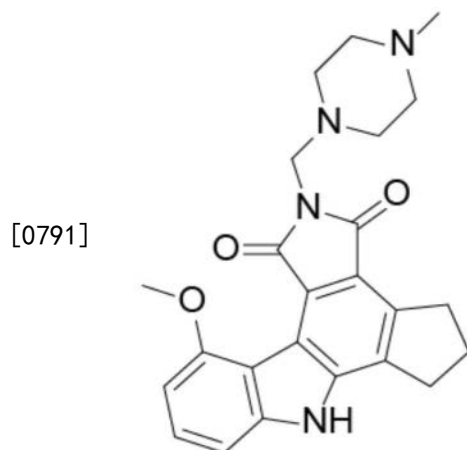


[0787] 式V, 奥拉帕尼4-[(3-[(4-环丙基羰基)哌嗪-1-基]羰基)-4-氟苯基]甲基(2H)酞嗪-1-酮

[0788] b) CEP-9722

[0789] i.CAS编号→916574-83-9

[0790] (参见<http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)



[0792] 式VI, CEP-9722: 11-甲氧基-2-((4-甲基哌嗪-1-基)甲基)-4,5,6,7-四氢-1H-环戊[a]吡咯并[3,4-c]咪唑-1,3(2H)-二酮

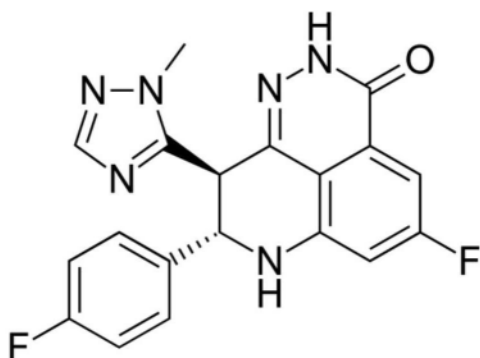
[0793] c) BMN-673/他唑来膦

[0794] i.CAS编号→1207456-01-6

[0795] (参见<http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

[0796] ii.唯一标识码 (UNII) →9QHX048FRV

[0797]



[0798] 式VII,他唑来膦:(8S,9R)-5-氟-8-(4-氟苯基)-9-(1-甲基-1H-1,2,4-三唑-5-基)-2,7,8,9-四氢-3H-吡啶并[4,3,2-de]酞嗪-3-酮

[0799] d) 卢卡帕尼

[0800] i. CAS编号→283173-50-2

[0801] (参见<http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

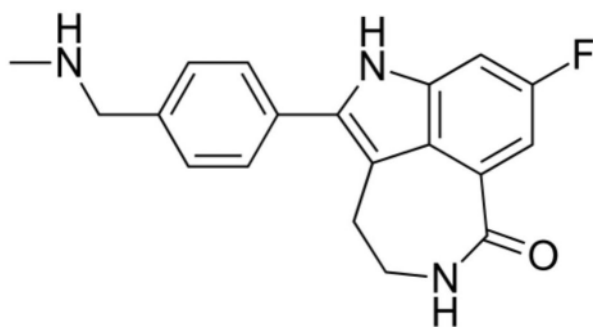
[0802] ii. NCBI公共化学参考→9931954

[0803] (参见<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)

[0804] iii. 唯一标识码 (UNII) →8237F3U7EH

[0805] (参见<http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem-UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm>)

[0806]



[0807] 式VIII,卢卡帕尼:8-氟-2-{4-[(甲基氨基)甲基]苯基}-1,3,4,5-四氢-6H-氮杂并[5,4,3-cd]吲哚-6-酮

[0808] e) 伊尼帕利/SAR24-550/BSI-201

[0809] i. CAS编号→160003-66-7

[0810] (参见<http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

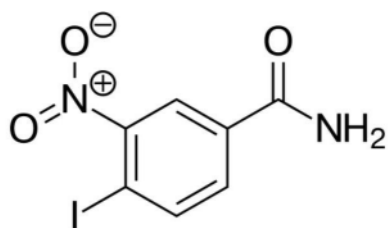
[0811] ii. NCBI公共化学参考→9796068

[0812] (参见<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)

[0813] iii. 唯一标识码 (UNII) →2ZWI7KHK8F

[0814] (参见<http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem-UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm>)

[0815]



[0816] 式IX, 伊尼帕利: 4-碘-3-硝基苯甲酰胺

[0817] f) 维利帕尼 (ABT-888)

[0818] i. CAS编号→912444-00-9

[0819] (参见<http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

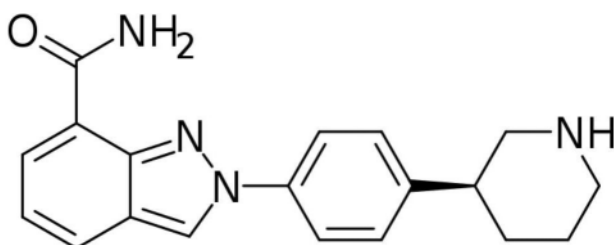
[0820] ii. NCBI公共化学参考→11960529

[0821] (参见<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)

[0822] iii. 唯一标识码 (UNII) →0104K0631N

[0823] (参见<http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem-UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm>)

[0824]



[0825] 式X, 维利帕尼: 2-((R)-2-甲基吡咯烷-2-基)-1H-苯并咪唑-4-甲酰胺

[0826] g) 尼拉帕利/MK-4827

[0827] i. CAS编号→1038915-60-4

[0828] (参见<http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

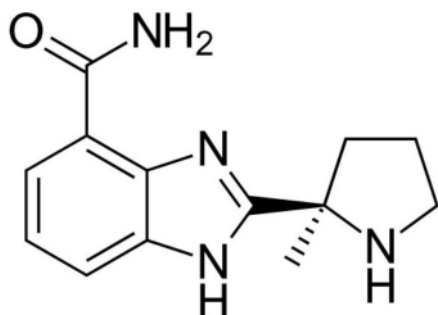
[0829] ii. NCBI公共化学参考→24958200

[0830] (参见<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)

[0831] iii. 唯一标识码 (UNII) →HMC2H89N35

[0832] (参见<http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem-UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm>)

[0833]



[0834] 式XI, 尼拉帕利: 2-[4-[(3S)-3-哌啶基]苯基]咪唑-7-甲酰胺

[0835] h) BGB-290

[0836] i. CAS编号→1820833-75-7

[0837] (参见<http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

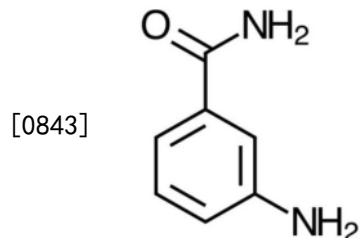
[0838] i) 3-氨基苯甲酰胺

[0839] i. CAS编号→3544-24-9

[0840] (参见<http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

[0841] ii. NCBI公共化学参考→1645

[0842] (参见<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)

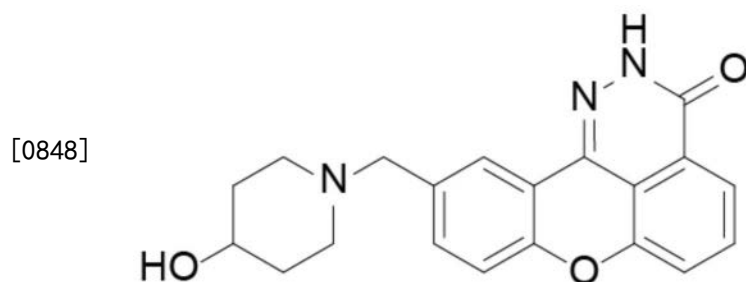


[0844] 式XII: 3-氨基苯甲酰胺

[0845] j) E7016

[0846] i. CAS编号→902128-92-1

[0847] (参见<http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)



[0849] 式XIII, E706: 苯并吡喃并(4,3,2-de)酞嗪-3(2H)-酮, 10-((4-羟基-1-哌啶基)甲基) -

[0850] -----

[0851] 在一些实施方案中, PARP多肽是PARP1, 其对应于Genbank登录号AAA60137, 版本号AAA60137.1, 记录更新日期: 2010年6月23日上午8:48。在一个实施方案中, 编码PARP1多肽的核酸对应于Genbank登录号M18112, 版本号M18112.1, 记录更新日期: 2010年6月23日上午8:48。在一些实施方案中, PARP1多肽对应于Uniprot/Swiss-Prot登录号P09874。

[0852] 上调HER2表达的药剂

[0853] “上调HER2表达”的药剂是指增加肿瘤细胞表面上HER2蛋白的量的任何化学化合物或生物分子。

[0854] 为了检查增强程度, 用潜在的活化剂处理包含给定例如蛋白质、基因、细胞或生物体的样品或测定物, 并将其与用无活性对照分子处理的对照样品进行比较。对照样品指定为相对表达值100%。当相对于对照的表达值为高约110%, 通常为高至少120%, 更通常为高至少140%, 更通常为高至少160%, 通常为高至少180%, 更通常为高至少2倍, 最通常为高至少2.5倍, 通常为高至少5倍, 更通常为高至少10倍, 优选为高至少20倍, 更优选为高至少40倍, 并且最优选为高超过40倍时, 实现活化。

[0855] 在本公开中适合用作第二药剂的上调HER2表达的特定药剂包括:

[0856] a) 吉西他滨

[0857] i. CAS编号→95058-81-4

[0858] (参见<http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

[0859] ii. NCBI公共化学参考→60750

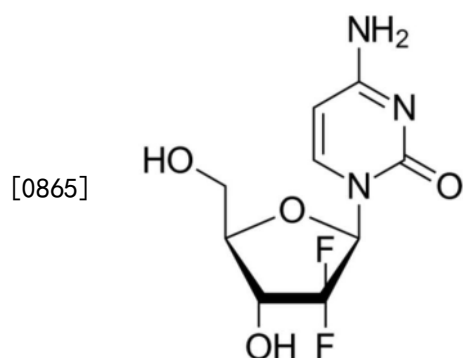
[0860] (参见<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)

[0861] iii. DrugBank参考→DB00441

[0862] (参见<https://www.drugbank.ca/>)

[0863] iv. 唯一标识码 (UNII) →B76N6SBZ8R

[0864] (参见<http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem-UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm>)



[0866] 式XIV, 吉西他滨: 4-氨基-1-(2-脱氧-2,2-二氟-β-D-赤-呋喃戊糖基) 嘧啶-2(1H)-酮

[0867] b) 他莫昔芬

[0868] i. CAS编号→10540-29-1

[0869] (参见<http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

[0870] ii. NCBI公共化学参考→2733526

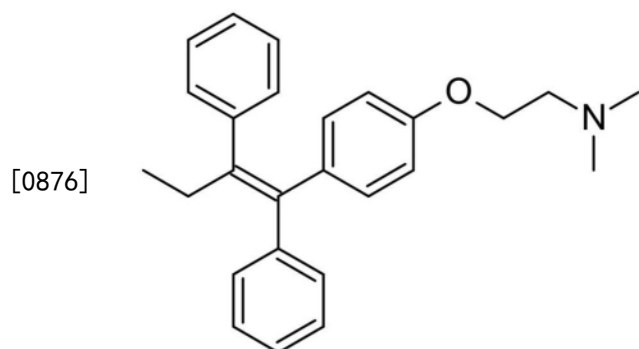
[0871] (参见<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)

[0872] iii. DrugBank参考→DB00675

[0873] (参见<https://www.drugbank.ca/>)

[0874] iv. 唯一标识码 (UNII) →094ZI81Y45

[0875] (参见<http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem-UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm>)



[0877] 式XV, 他莫昔芬: (Z)-2-[4-(1,2-二苯基丁-1-烯基) 苯氧基]-N,N-二甲基乙胺



[0878] 吉西他滨是上调HER2的优选药剂。

[0879] AXLi

[0880] 本文所述的第二药剂可以是AXL抑制剂。

[0881] “AXL抑制剂”是指减少AXL信号传导的任何化学化合物或生物分子。

[0882] 为了检查例如AXL活性的抑制程度,用潜在的活化剂或抑制剂处理包含给定例如蛋白质、基因、细胞或生物体的样品或测定物,并将其与用无活性对照分子处理的对照样品进行比较。对照样品指定为相对活性值100%。当相对于对照的活性值为约90%或更少,通常为85%或更少,更通常为80%或更少,最通常为75%或更少,通常为70%或更少,更通常为65%或更少,最通常为60%或更少,通常为55%或更少,通常为50%或更少,更通常为45%或更少,最通常为40%或更少,优选为35%或更少,更优选为30%或更少,还更优选为25%或更少,并且最优选为少于20%时,实现抑制。当相对于对照的活性值为高约110%,通常为高至少120%,更通常为高至少140%,更通常为高至少160%,通常为高至少180%,更通常为高至少2倍,最通常为高至少2.5倍,通常为高至少5倍,更通常为高至少10倍,优选为高至少20倍,更优选为高至少40倍,并且最优选为高超过40倍时,实现活化。

[0883] 已经显示用例如AXL抑制剂TP0903和BGB324抑制AXL会降低DNA修复基因的表达并减小同源重组修复机制的效率。因此,AXL抑制引起细胞中的HR缺乏状况,使其对DNA损伤剂敏感。

[0884] 将ADC与AXLi (包括但不限于BGB324和TP0903) 组合是有利的,因为一方面,ADC将诱导AXL阳性癌细胞系中的DNA损伤,而另一方面,用AXLi处理将减小同源重组修复机制的效率,使细胞对PBD二聚体诱导的DNA损伤更敏感,从而导致DNA损伤的累积,进而导致癌细胞死亡。

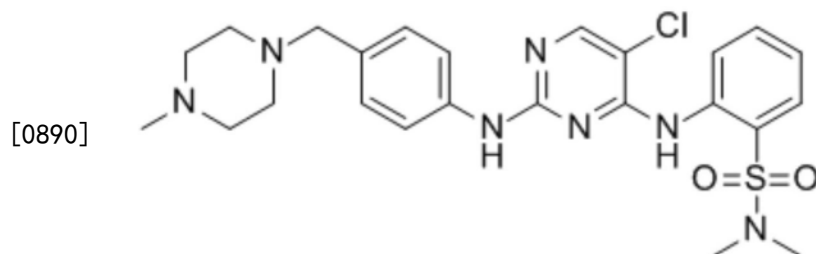
[0885] 为了证明将AXL阳性癌细胞系用ADC和AXLi (包括但不限于BGB324和TP0903) 共同处理具有加成或协同的抗肿瘤作用,一组细胞系(包括但不限于MDA-MB-157和SKLU1) 将用一系列浓度的ADC和AXLi BGB324或TP-093共同处理。温育后,将测量组合的体外细胞毒性(如通过 **CellTiter-Glo®** 或MTS测定进行测定)。

[0886] 适合用作本公开中的第二药剂的特定AXL抑制剂包括:

[0887] a) TP0903

[0888] i. CAS编号→1341200-45-0

[0889] (参见<http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)



[0891] 式XVI: 2-((5-氯-2-((4-((4-甲基哌嗪-1-基)甲基)苯基)氨基)嘧啶-4-基)氨基)-N,N-二甲基苯磺酰胺[TP0903]

[0892] b) BGB324

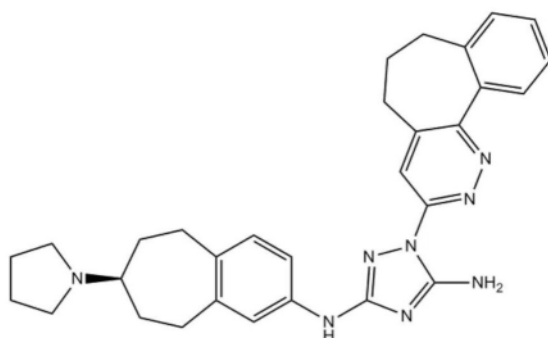
[0893] i. CAS编号→1037624-75-1

[0894] (参见<http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

[0895] ii.唯一标识码 (UNII) → 0ICW2LX8AS

[0896] (参见<http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem-UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm>)

[0897]



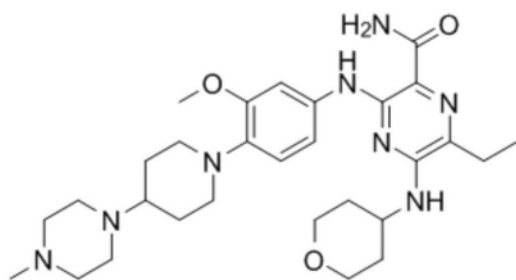
[0898] 式XVII:1-(6,7-二氢-5H-苯并[2,3]环庚并[2,4-d]吡嗪-3-基)-3-N-[(7S)-7-吡咯烷-1-基-6,7,8,9-四氢-5H-苯并[7]轮烯-3-基]-1,2,4-三唑-3,5-二胺[BGB324]

[0899] e) 吉特替尼 (ASP2215)

[0900] i. CAS编号 → 1254053-43-4

[0901] (参见<http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

[0902]



[0903] 式XVIII:6-乙基-3-((3-甲氧基-4-(4-(4-甲基哌嗪-1-基)哌啶-1-基)苯基)氨基)-5-((四氢-2H-吡喃-4-基)氨基)吡嗪-2-甲酰胺[吉特替尼]

[0904] f) 卡博替尼

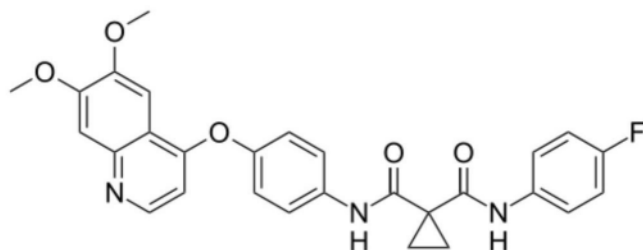
[0905] i. CAS编号 → 849217-68-1

[0906] (参见<http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

[0907] ii.唯一标识码 (UNII) → 1C39JW444G

[0908] (参见<http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem-UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm>)

[0909]

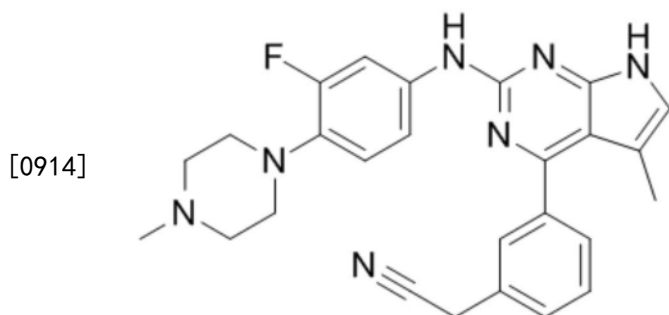


[0910] 式XIX:N-(4-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)苯基)-N'-(4-氟苯基)环丙烷-1,1-二甲酰胺[卡博替尼]

[0911] g) SGI7079

[0912] i. CAS编号→1239875-86-5

[0913] (参见<http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

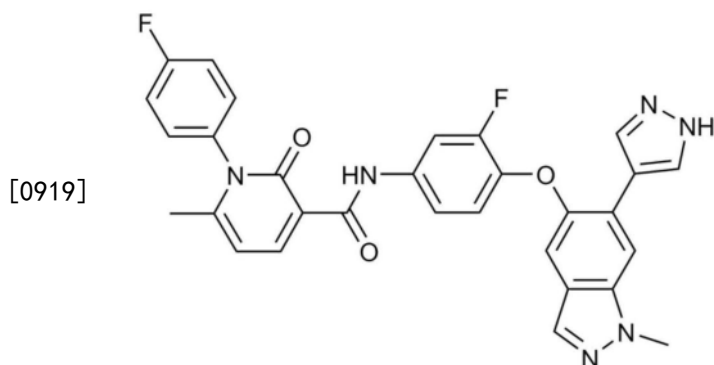


[0915] 式XX: 2-(3-(2-((3-氟-4-(4-甲基哌嗪-1-基)苯基)氨基)-5-甲基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)苯基)乙腈[SGI7079]

[0916] h) Merestinib

[0917] i. CAS编号→1206799-15-6

[0918] (参见<http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)



[0920] 式XXI: N-(3-氟-4-{{[1-甲基-6-(1H-吡唑-4-基)-1H-吡唑-5-基]氧基}苯基}-1-(4-氟苯基)-6-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-甲酰胺[Merestinib]

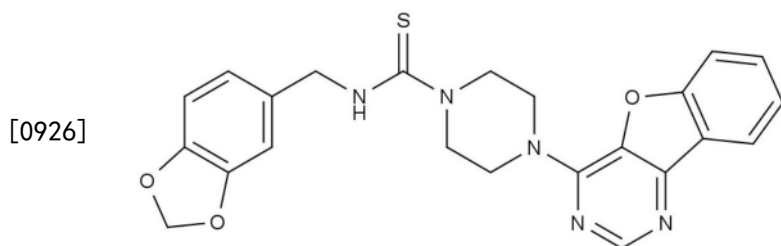
[0921] i) amuvatinib (MP-470)

[0922] i. CAS编号→850879-09-3

[0923] (参见<http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

[0924] ii. 唯一标识码 (UNII) → S09S6QZB4R

[0925] (参见<http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem-UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm>)



[0927] 式XXII: N-(1,3-苯并二氧杂环戊烯-5-基甲基)-4-([1]苯并呋喃并[3,2-d]嘧啶-4-基)哌嗪-1-硫代甲酰胺[Amuvatinib]

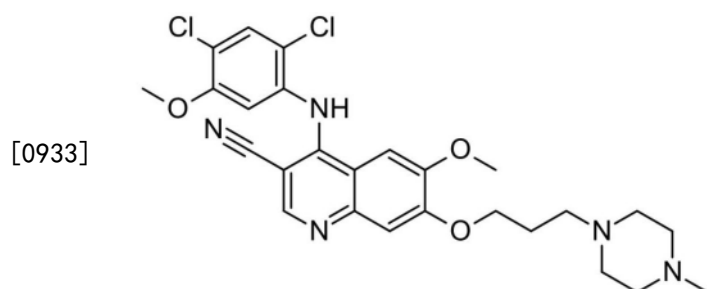
[0928] j) 博舒替尼 (SKI-606)

[0929] i. CAS编号→380843-75-4

[0930] (参见<http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

[0931] ii.唯一标识码 (UNII) → 5018V4AEZ0

[0932] (参见<http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem-UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm>)



[0934] 式XXIII:4-[(2,4-二氯-5-甲氧基苯基)氨基]-6-甲氧基-7-[3-(4-甲基哌嗪-1-基)丙氧基]喹啉-3-腈[博舒替尼]

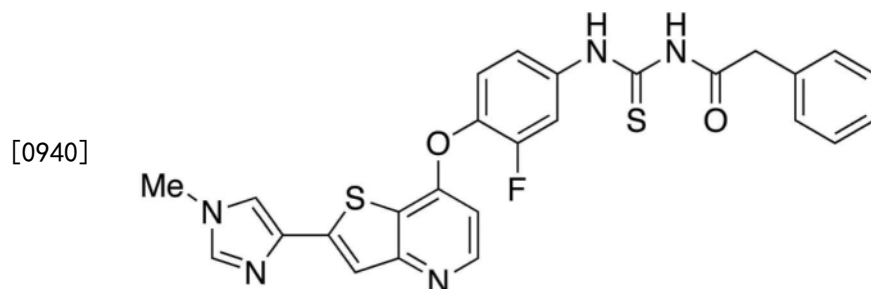
[0935] k)MGCD265

[0936] i.CAS编号→875337-44-3

[0937] (参见<http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

[0938] ii.唯一标识码 (UNII) → 93M6577H9D

[0939] (参见<http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem-UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm>)



[0941] 式XXIV:N-(3-氟-4-(2-(1-甲基-1H-咪唑-4-基)噻吩并(3,2-b)吡啶-7-基氧基)苯基氨基甲酰基硫代)-2-苯基乙酰胺[MGCD265]

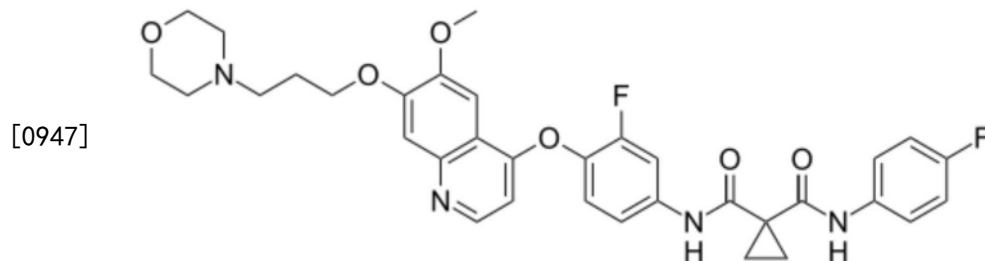
[0942] 1)foretinib(GSK1363089/XL880)

[0943] i.CAS编号→849217-64-7

[0944] (参见<http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

[0945] ii.唯一标识码 (UNII) → 81FH7VK1C4

[0946] (参见<http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem-UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm>)



[0948] 式XXV:N1' - [3-氟-4-[[6-甲氧基-7-(3-吗啉代丙氧基)-4-喹啉基]氧基]苯基]-N1-(4-氟苯基)环丙烷-1,1-二甲酰胺[Foretinib]

[0949] BRAFi

[0950] 如本文所述的第二药剂可以是BRAF抑制剂。

[0951] “BRAF抑制剂”是指降低BRAF活性的任何化学化合物或生物分子。

[0952] 为了检查例如BRAF活性的抑制程度,用潜在的活化剂或抑制剂处理包含给定例如蛋白质、基因、细胞或生物体的样品或测定物,并将其与用无活性对照分子处理的对照样品进行比较。对照样品指定为相对活性值100%。当相对于对照的活性值为约90%或更少,通常为85%或更少,更通常为80%或更少,最通常为75%或更少,通常为70%或更少,更通常为65%或更少,最通常为60%或更少,通常为55%或更少,通常为50%或更少,更通常为45%或更少,最通常为40%或更少,优选为35%或更少,更优选为30%或更少,还更优选为25%或更少,并且最优选为少于20%时,实现抑制。当相对于对照的活性值为高约110%,通常为高至少120%,更通常为高至少140%,更通常为高至少160%,通常为高至少180%,更通常为高至少2倍,最通常为高至少2.5倍,通常为高至少5倍,更通常为高至少10倍,优选为高至少20倍,更优选为高至少40倍,并且最优选为高超过40倍时,实现活化。

[0953] B-Raf (BRAF) 是生长信号转导蛋白激酶的Raf激酶家族的成员。此蛋白质在调节MAP激酶/ERK信号传导途径中起作用,其影响细胞分裂、分化和分泌。

[0954] B-Raf是丝氨酸/苏氨酸特异性蛋白激酶。因此,它催化ATP对靶蛋白上的共有序列中的丝氨酸和苏氨酸残基进行的磷酸化,从而产生ADP和磷酸化蛋白作为产物。由于它是一种高度调节的信号转导激酶,因此B-Raf必须首先结合Ras-GTP,之后才能具有作为酶的活性。一旦B-Raf被活化,保守的蛋白激酶催化核心通过经由双分子亲核取代促进ATP的 $\gamma$ -磷酸基团上的活化底物丝氨酸或苏氨酸羟基氧原子的亲核攻击而使蛋白质底物磷酸化。

[0955] BRAF突变存在于癌症中,包括非霍奇金淋巴瘤、结肠直肠癌、恶性黑色素瘤、乳头状甲状腺癌、非小细胞肺癌、肺腺癌、脑肿瘤(包括胶质母细胞瘤和毛细胞星形细胞瘤)以及炎症性疾病如rheumatoid arthritis病。突变可导致不受控制的生长,特别是在黑色素瘤中。例如,已知B-Raf中的V600E突变在黑色素瘤突变基因中驱动细胞增殖。此类突变使突变BRAF基因具有组成型活性,从而驱动黑色素瘤增殖。通过抑制突变的B-Raf,阻断细胞增殖并诱导细胞凋亡(受控细胞死亡)。

[0956] 此类潜在组合的实例是BRAF抑制剂,例如维罗非尼和达帕非尼。这些BRAF抑制剂直接抑制B-Raf蛋白。

[0957] 将靶向AXL阳性肿瘤的ADC与BRAFi组合是有利的,因为一方面,ADC将通过依赖于DNA交联的机制直接杀死AXL阳性肿瘤细胞,从而导致细胞凋亡,而另一方面,BRAFi将通过抑制BRAF来干扰细胞增殖。

[0958] 为了证明ADC与BRAFi协同作用,将一组AXL(+)细胞系(包括但不限于MDA-MB231、NCI-H1299和SNU12细胞)用一系列浓度的ADC和BRAFi共同处理。作为阴性对照,同一组细胞系将用一系列浓度的MEKi或一系列浓度的ADC和媒介物共同处理。温育后,将通过MTS测定确定组合的体外细胞毒性。为了确定细胞毒性,通过每孔添加MTS并在37°C下温育4小时来测量细胞活力。与未处理的对照相比,计算细胞活力百分比。通过将细胞活力数据转化为受影响的分数并使用CalcuSyn分析程序计算组合指数(表1)来计算细胞毒性协同作用。

[0959] 适合用作本公开中的第二药剂的特定BRAF抑制剂包括:

[0960] a) 维罗非尼

[0961] i. CAS编号→918504-65-1

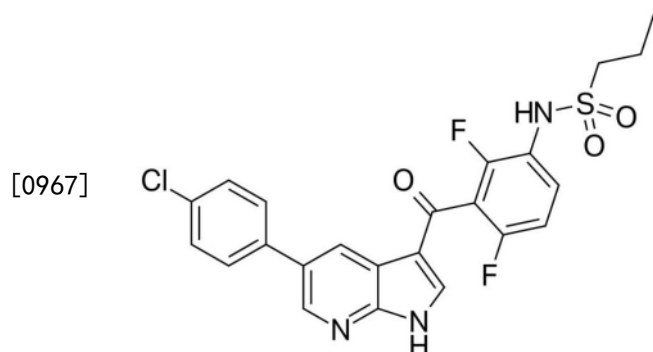
[0962] (参见<http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

[0963] ii. DrugBank参考→DB08881

[0964] (参见<https://www.drugbank.ca/>)

[0965] iii. 唯一标识码 (UNII) →207SMY3FQT

[0966] (参见<http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem-UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm>)



[0968] 式XXVI: N-(3-{[5-(4-氯苯基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基]羰基}-2,4-二氟苯基)丙烷-1-磺酰胺[维罗非尼]

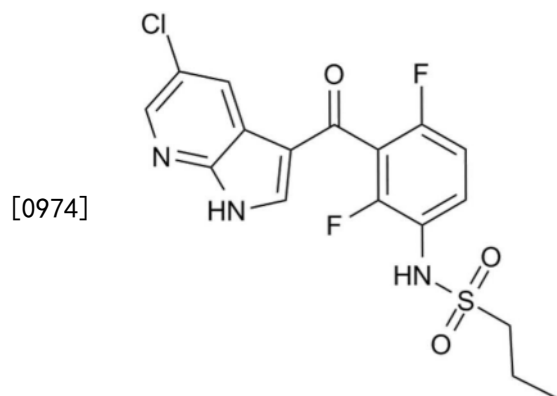
[0969] b) PLX4720

[0970] i. CAS编号→918505-84-7

[0971] (参见<http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

[0972] ii. 唯一标识码 (UNII) →EQY31R08HA

[0973] (参见<http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem-UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm>)



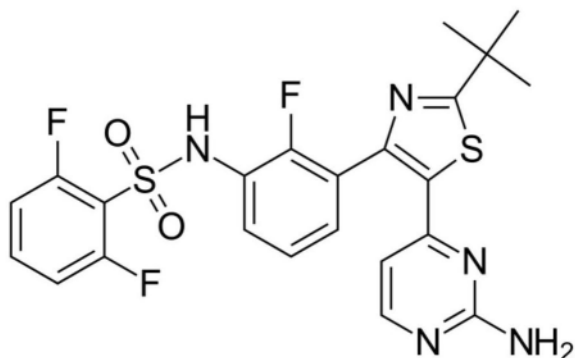
[0975] 式XXVII: N-(3-(5-氯-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-羰基)-2,4-二氟苯基)丙烷-1-磺酰胺[PLX4720]

[0976] c) 达帕非尼

[0977] i. CAS编号→1195765-45-7

[0978] (参见<http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

[0979]



[0980] 式XXVIII:N-{3-[5-(2-氨基嘧啶-4-基)-2-叔丁基-1,3-噻唑-4-基]-2-氟苯基}-2,6-二氟苯磺酰胺[达帕非尼]

[0981] d) 索拉非尼

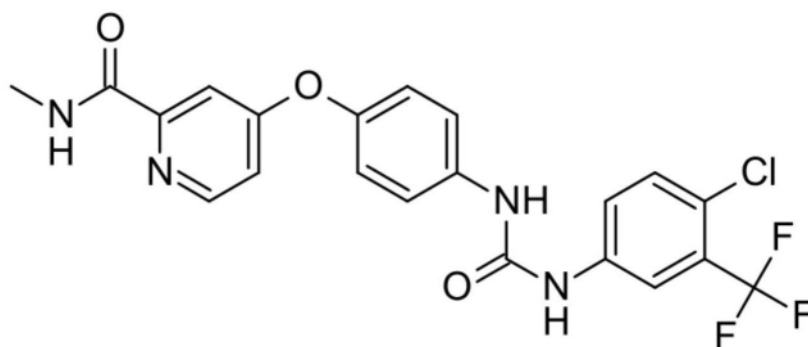
[0982] i. CAS编号→284461-73-0

[0983] (参见<http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

[0984] ii. 唯一标识码 (UNII) →9Z0Q3TZI87

[0985] (参见<http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem-UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm>)

[0986]



[0987] 式XXIX:4-[4-[[4-氯-3-(三氟甲基)苯基]氨基甲酰基氨基]苯氧基]-N-甲基-吡啶-2-甲酰胺[索拉非尼]

[0988] e) 康奈非尼

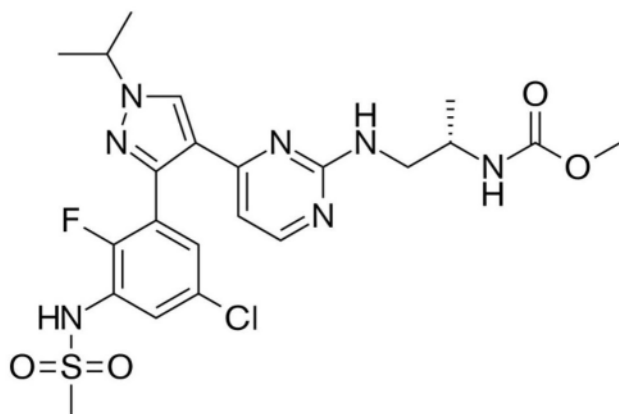
[0989] i. CAS编号→1269440-17-6

[0990] (参见<http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

[0991] ii. 唯一标识码 (UNII) →8L7891MRB6

[0992] (参见<http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem-UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm>)

[0993]



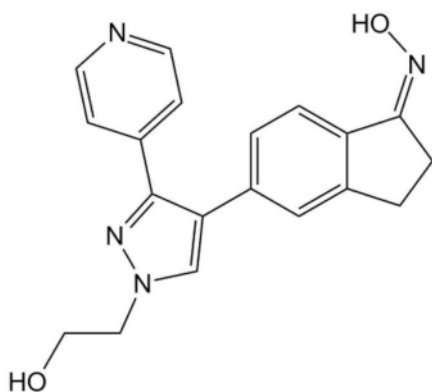
[0994] 式XXX: [(2S)-1-{[4-(3-{5-氯-2-氟-3-[(甲基磺酰基)氨基]苯基}-1-异丙基-1H-吡唑-4-基)-2-嘧啶基]氨基}-2-丙基]氨基甲酸甲酯[康奈非尼]

[0995] f) GDC0879

[0996] i. CAS编号→905281-76-7

[0997] (参见<http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

[0998]



[0999] 式XXXI: (E)-2,3-二氢-5-[1-(2-羟乙基)-3-(4-吡啶基)-1H-吡唑-4-基]-1H-茚-1-酮[康奈非尼]

[1000] MEKi

[1001] 如本文所述的第二药剂可以是MEK抑制剂。

[1002] “MEK抑制剂”是指降低MEK1和/或MEK2活性的任何化学化合物或生物分子。

[1003] 人类中的MEK1由MAP2K1基因编码。MEK1是双特异性蛋白激酶家族的成员,其充当促分裂原活化蛋白(MAP)激酶激酶。MAP激酶也称为细胞外信号调节激酶(ERK),其充当多种生化信号的整合点。此蛋白激酶位于MAP激酶的上游,并且在多种细胞外信号和细胞内信号活化后刺激MAP激酶的酶活性。作为MAP激酶信号转导途径的必要组分,此激酶参与许多细胞过程,例如增殖、分化、转录调节和发育。

[1004] 人类中的MEK2由MAP2K2基因编码。由此基因编码的蛋白质是属于MAP激酶激酶家族的双特异性蛋白激酶。已知此激酶在有丝分裂原生长因子信号转导中起关键作用。所述激酶磷酸化并因此活化MAPK1/ERK2和MAPK3/ERK1。

[1005] 为了检查例如MEK活性的抑制程度,用潜在的活化剂或抑制剂处理包含给定例如蛋白质、基因、细胞或生物体的样品或测定物,并将其与用无活性对照分子处理的对照样品进行比较。对照样品指定为相对活性值100%。当相对于对照的活性值为约90%或更少,通



通常为85%或更少,更通常为80%或更少,最通常为75%或更少,通常为70%或更少,更通常为65%或更少,最通常为60%或更少,通常为55%或更少,通常为50%或更少,更通常为45%或更少,最通常为40%或更少,优选为35%或更少,更优选为30%或更少,还更优选为25%或更少,并且最优选为少于20%时,实现抑制。当相对于对照的活性值为高约110%,通常为高至少120%,更通常为高至少140%,更通常为高至少160%,通常为高至少180%,更通常为高至少2倍,最通常为高至少2.5倍,通常为高至少5倍,更通常为高至少10倍,优选为高至少20倍,更优选为高至少40倍,并且最优选为高超过40倍时,实现活化。

[1006] 合适的MEK抑制剂的实例是曲美替尼、考比替尼、比美替尼和司美替尼。MEK抑制剂抑制促分裂原活化蛋白激酶激酶MEK1和/或MEK2。MAP/ERK途径中的缺陷可导致不受控制的生长,尤其是在黑素瘤中。

[1007] 一些MEK抑制剂(例如曲美替尼)抑制MEK1和MEK2,并且被批准用于治疗患有BRAF V600E突变的转移性黑素瘤的患者。如上所述,V600E突变使突变BRAF基因具有组成型活性,从而驱动黑素瘤增殖。通过抑制MAP/ERK途径,阻断细胞增殖并诱导细胞凋亡(受控细胞死亡)。

[1008] 将靶向AXL阳性肿瘤的ADC与MEKi组合是有利的,因为一方面,ADC将通过依赖于DNA交联的机制直接杀死AXL阳性肿瘤细胞,从而导致细胞凋亡,而另一方面,MEKi将通过抑制MAP/ERK细胞信号传导途径来干扰细胞增殖。

[1009] 为了显示ADC与MEKi协同作用,将一组AXL(+)细胞系(包括但不限于MDA-MB231、H1299和SNU12C细胞)用一系列浓度的ADC和MEKi共同处理。作为阴性对照,同一组细胞系将用一系列浓度的MEKi或一系列浓度的ADC和媒介物共同处理。温育后,将通过MTS测定确定组合的体外细胞毒性。为了确定细胞毒性,通过每孔添加MTS并在37°C下温育4小时来测量细胞活力。与未处理的对照相比,计算细胞活力百分比。通过将细胞活力数据转化为受影响的分数的并使用CalcuSyn分析程序计算组合指数来计算细胞毒性协同作用。

[1010] 适合用作本公开中的第二药剂的特定MEK抑制剂包括:

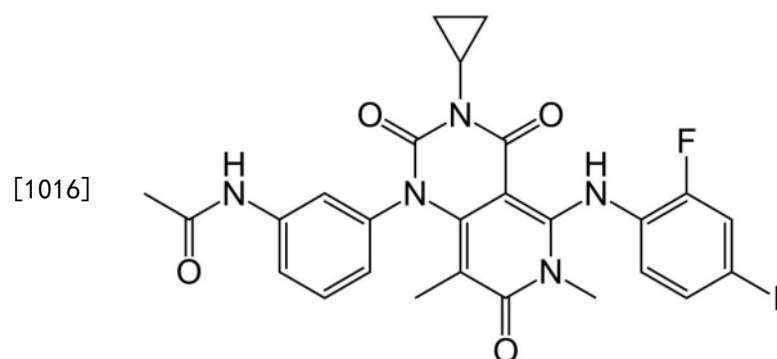
[1011] a) 曲美替尼

[1012] i. CAS编号→871700-17-3

[1013] (参见<http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

[1014] ii. 唯一标识码(UNII)→33E86K87QN

[1015] (参见<http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem-UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm>)



[1017] 式XXXII: N-(3-{3-环丙基-5-[ (2-氟-4-碘苯基) 氨基]-6,8-二甲基-2,4,7-三氧

代-3,4,6,7-四氢吡啶并[4,3-d]嘧啶-1(2H)-基}苯基)乙酰胺

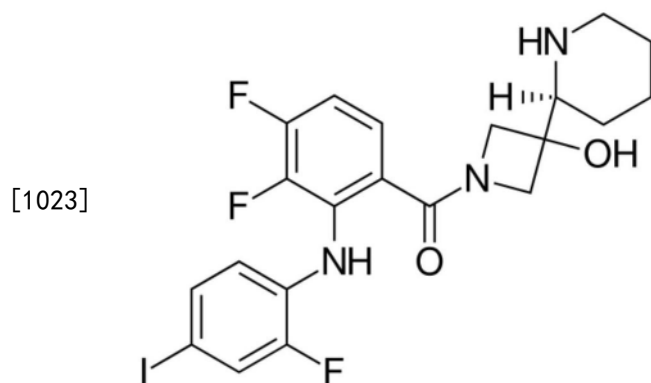
[1018] b) 考比替尼

[1019] i. CAS编号→934660-93-2

[1020] (参见<http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

[1021] ii. 唯一标识码 (UNII) →ER29L26N1X

[1022] (参见<http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem-UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm>)



[1024] 式XXXIII: (S)-[3,4-二氟-2-(2-氟-4-碘苯基氨基)苯基][3-羟基-3-(哌啶-2-基)氮杂环丁烷-1-基]甲酮

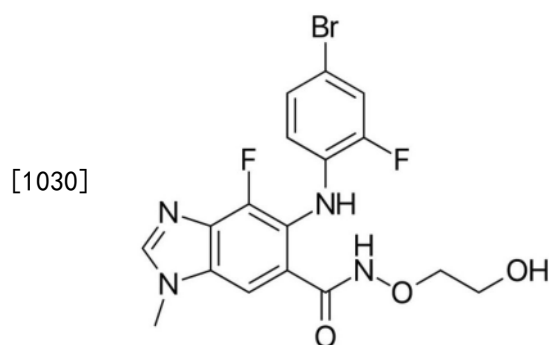
[1025] c) 比美替尼

[1026] i. CAS编号→606143-89-9

[1027] (参见<http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

[1028] ii. 唯一标识码 (UNII) →181R97MR71

[1029] (参见<http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem-UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm>)



[1031] 式XXIV: 5-((4-溴-2-氟苯基)氨基)-4-氟-N-(2-羟基乙氧基)-1-甲基-1H-苯并[d]咪唑-6-甲酰胺

[1032] d) 司美替尼

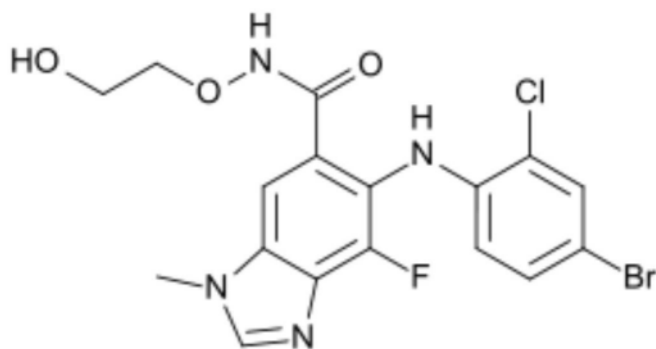
[1033] i. CAS编号→606143-52-6

[1034] (参见<http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

[1035] ii. 唯一标识码 (UNII) →6UH91I579U

[1036] (参见<http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem-UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm>)

[1037]



[1038] 式XXXV: 6-(4-溴-2-氯苯胺基)-7-氟-N-(2-羟基乙氧基)-3-甲基苯并咪唑-5-甲酰胺

[1039] e) PD-325901

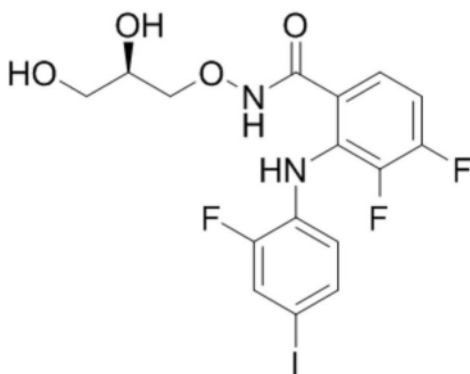
[1040] i. CAS编号→391210-10-9

[1041] (参见<http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

[1042] ii. 唯一标识码 (UNII) →86K0J5AK6M

[1043] (参见<http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem-UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm>)

[1044]



[1045] 式XXXVI: N-[(2R)-2,3-二羟基丙氧基]-3,4-二氟-2-(2-氟-4-碘苯胺基)苯甲酰胺

[1046] f) CI-1040

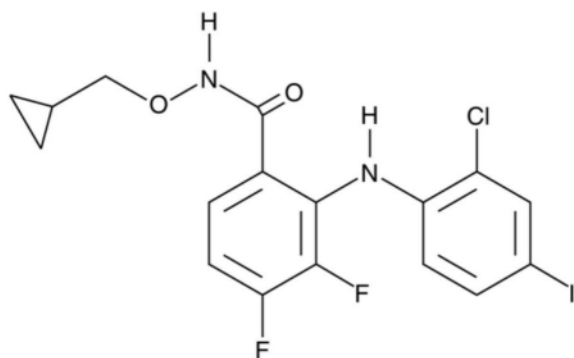
[1047] i. CAS编号→212631-79-3

[1048] (参见<http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

[1049] ii. 唯一标识码 (UNII) →R3K9Y00J04

[1050] (参见<http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem-UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm>)

[1051]



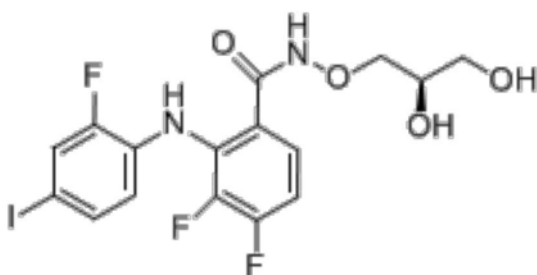
[1052] 式XXXVII:2-[(2-氯-4-碘苯基)氨基]-N-(环丙基甲氧基)-3,4-二氟-苯甲酰胺

[1053] g)PD035901

[1054] i.CAS编号→391210-10-9

[1055] (参见<http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

[1056]



[1057] 式XXXVIII:PD035901

[1058] h)U0126

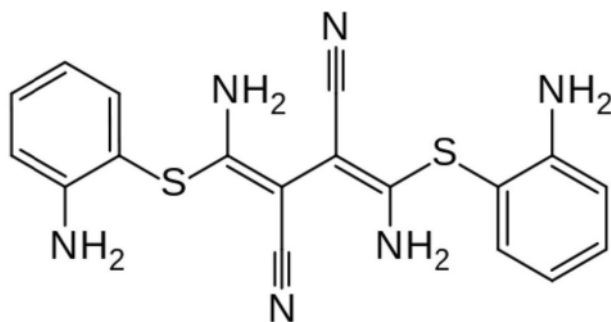
[1059] i.CAS编号→218601-62-8

[1060] (参见<http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

[1061] ii.唯一标识码(UNII)→8027P94HLL

[1062] (参见<http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem-UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm>)

[1063]



[1064] 式XXXIX:1,4-二氨基-2,3-二氰基-1,4-双(2-氨基苯硫基)丁二烯

[1065] i)TAK-733

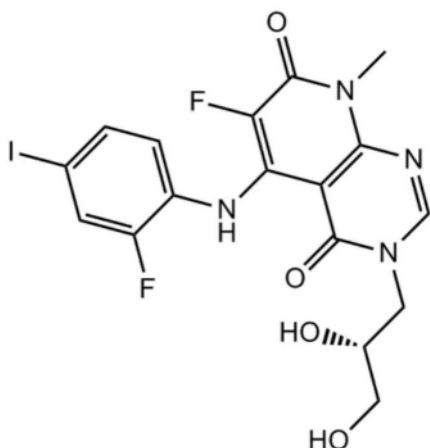
[1066] iii.CAS编号→1035555-63-5

[1067] (参见<http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

[1068] iv.唯一标识码(UNII)→5J61HSP0QJ

[1069] (参见<http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem-UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm>)

[1070]



[1071] 式XL: 3-[(2R)-2,3-二羟基丙基]-6-氟-5-(2-氟-4-碘苯胺基)-8-甲基吡啶并[2,3-d]嘧啶-4,7-二酮

[1072] -----

[1073] 在一些实施方案中, BRAF多肽对应于Genbank登录号AAA35609, 版本号AAA35609.2, 记录更新日期: 2010年6月23日上午9:41。在一个实施方案中, 编码BRAF多肽的核酸对应于Genbank登录号M95712, 版本号M95712.2, 记录更新日期: 2010年6月23日上午9:41。在一些实施方案中, BRAF多肽对应于Uniprot/Swiss-Prot登录号P15056。

[1074] 在一些实施方案中, MEK1多肽对应于Genbank登录号AAA36318, 版本号AAA36318.1, 记录更新日期: 2010年6月23日上午8:48。在一个实施方案中, 编码MEK1多肽的核酸对应于Genbank登录号L05624, 版本号L05624.1, 记录更新日期: 2010年6月23日上午8:48。在一些实施方案中, MEK1多肽对应于Uniprot/Swiss-Prot登录号Q02750。

[1075] 在一些实施方案中, MEK2多肽对应于Genbank登录号AAH00471, 版本号AAH00471.1, 记录更新日期: 2014年9月23日下午03:30。在一个实施方案中, 编码MEK2多肽的核酸对应于Genbank登录号BC000471, 版本号BC000471.2, 记录更新日期: 2014年9月23日下午03:30。在一些实施方案中, MEK2多肽对应于Uniprot/Swiss-Prot登录号P36507。

[1076] 所述组合的有利性质

[1077] ADC和第二药剂在单独用作单一药剂时已经证明具有临床效用-例如, 在癌症的治疗中。然而, 如本文所述, 预期ADC和第二药剂的组合与单独使用ADC或第二药剂进行治疗相比提供以下一个或多个优点:

[1078] 1) 有效治疗更广泛范围的癌症;

[1079] 2) 有效治疗抵抗性或难治性形式的病症诸如癌症以及患有在缓解期后复发的病症诸如癌症的个体;

[1080] 3) 增加治疗反应率; 和/或

[1081] 4) 增加治疗持久性。

[1082] 如本文所用, 有效治疗更广泛范围的癌症意味着在用组合治疗后, 在更大范围的公认癌症类型中观察到完全反应。也就是说, 从先前未报告完全响应于单独ADC或第二药剂的癌症类型中可以看到完全反应。

[1083] 如本文所用, 对抵抗性、难治性或复发形式的有效治疗意味着在用组合治疗后, 在对用单独ADC或第二药剂进行治疗部分或完全抵抗或难治的个体(例如, 单独使用任一种

药剂治疗后均未显示反应或仅显示部分反应的个体或患有复发性病症的个体)中观察到完全反应。在一些实施方案中,用ADC/第二药剂组合治疗后,在至少10%对用单独ADC或第二药剂进行的治疗部分或完全抵抗或难治的个体中观察到完全反应。在一些实施方案中,用ADC/第二药剂组合治疗后,在至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%、至少95%、至少98%或至少99%对用单独ADC或第二药剂进行的治疗部分或完全抵抗或难治的个体中观察到完全反应。

[1084] 如本文所用,增加的治疗反应率意味着在用组合治疗后,在比单独用ADC或第二药剂进行治疗后观察到的更大比例的个体中观察到完全反应。在一些实施方案中,用ADC/第二药剂组合治疗后,在至少10%治疗个体中观察到完全反应。在一些实施方案中,用ADC/第二药剂组合治疗后,在至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%、至少95%、至少98%或至少99%治疗个体中观察到完全反应。

[1085] 如本文所用,增加的治疗持久性意味着用组合治疗的个体中的完全反应的平均持续时间长于单独用ADC或第二药剂治疗后达到完全反应的个体中的平均持续时间。在一些实施方案中,用ADC/第二药剂组合治疗后完全反应的平均持续时间为至少6个月。在一些实施方案中,用ADC/第二药剂组合治疗后完全反应的平均持续时间为至少12个月、至少18个月、至少24个月、至少3年、至少4年、至少5年、至少6年、至少7年、至少8年、至少9年、至少10年、至少15年、或至少20年。

[1086] ‘完全反应’在本文中用于是指个体中不存在疾病的任何临床证据。可以使用本领域中的适当方法(例如CT或PET扫描)或在适当情况下使用活检来评估证据。实现完全反应所需的剂量数目可以是一、二、三、四、五、十个或更多个。在一些实施方案中,个体在施用第一剂量后不超过一年达到完全反应,例如在施用第一剂量后不超过6个月、不超过3个月、不超过一个月、不超过两星期、或不超过一星期。

[1087] 治疗的病症

[1088] 本文所述的组合疗法包括具有抗癌活性的效应的那些疗法。具体地,在某些方面,疗法包括通过接头与PBD药物部分(即毒素)缀合(即共价连接)的抗体。当药物不与抗体缀合时,PBD药物具有细胞毒性作用。因此,通过与抗体缀合来调节PBD药物部分的生物活性。本公开的抗体-药物缀合物(ADC)选择性地有效剂量的细胞毒性剂递送至肿瘤组织,由此可实现更大的选择性,即更低的有效剂量。

[1089] 因此,在一个方面,本公开提供组合疗法,其包括施用结合用于治疗的第一靶蛋白的ADC,其中所述方法包括基于靶蛋白的表达选择受试者。

[1090] 在一方面,本公开提供一种组合疗法,其具有指定所述疗法适合用于被确定为适合此类用途的受试者的标签。标签可以指定所述疗法适合用于具有第一靶蛋白表达,例如第一靶蛋白的过表达的受试者。标签可以指定受试者患有特定类型的癌症。

[1091] 第一靶蛋白优选地为AXL。所述病症可能是增殖性疾病,例如癌症,诸如乳腺癌、肺癌、胃癌、头颈癌、结肠直肠癌、肾癌、胰腺癌、子宫癌、肝癌、膀胱癌、子宫内膜癌和前列腺癌以及淋巴瘤(例如非霍奇金淋巴瘤,NHL)和白血病(特别是急性髓性白血病,AML)。所述病症可能是免疫障碍、心血管障碍、血栓形成、糖尿病、免疫检查点疾病或纤维变性病症(纤维化),诸如斜视、硬皮病、瘢痕疙瘩、肾源性系统性纤维化、肺纤维化、特发性肺纤维化(IPF)、囊泡性纤维化(CF)、系统性硬化病、心肌纤维化、非酒精性脂肪性肝炎(NASH)、其他类型的

肝纤维化、原发性胆汁性肝硬化、肾纤维化、癌症以及动脉粥样硬化。标签可以指定受试者患有AXL+癌症。

[1092] 在另一方面,还提供了如本文描述的组合物用于治疗增殖性疾病。本公开的另一方面提供了缀合物化合物在制造用于治疗增殖性疾病的药物中的用途。

[1093] 本领域普通技术人员能够容易地确定候选组合疗法是否治疗任何特定细胞类型的增殖性病状。例如,下文描述了可方便地用来评估由特定化合物提供的活性的测定。

[1094] 本文描述的组合物可用于治疗增殖性疾病。术语“增殖性疾病”涉及过度或异常细胞的不需要的或不受控制的细胞增殖,这是不期望的,诸如肿瘤或增生性生长(无论是在体外或体内)。

[1095] 增殖性病状的实例包括但不限于良性、恶化前和恶性细胞增殖,包括但不限于赘生物和肿瘤(例如组织细胞瘤、神经胶质瘤、星形细胞瘤、骨瘤)、癌症(例如肺癌、小细胞肺癌、胃肠癌、肠癌、结肠癌、乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌、睾丸癌、肝癌、肾癌、膀胱癌、胰腺癌、脑癌、肉瘤、骨肉瘤、卡波西肉瘤、黑素瘤)、淋巴瘤、白血病、牛皮癣、骨病、纤维增殖性病状(例如结缔组织的纤维增殖性病状)、以及动脉粥样硬化。特别感兴趣的癌症包括但不限于白血病和卵巢癌。

[1096] 可治疗任何类型的细胞,包括但不限于肺、胃肠道(包括例如肠、结肠)、乳房(乳腺)、卵巢、前列腺、肝脏(肝)、肾脏(肾)、膀胱、胰腺、大脑和皮肤。

[1097] 特别感兴趣的病症包括但不限于癌症,包括转移性癌症和转移性癌细胞,诸如循环肿瘤细胞,其可被发现在体液诸如血液或淋巴液中循环。特别感兴趣的癌症包括乳腺癌、肺癌、胃癌、头颈癌、结肠直肠癌、肾癌、胰腺癌、子宫癌、肝癌、膀胱癌、子宫内膜癌和前列腺癌以及淋巴瘤(例如,非霍奇金淋巴瘤,NHL)和白血病(尤其是急性骨髓性白血病,AML)。

[1098] 其他感兴趣的病症包括其中Ax1过表达或其中Ax1拮抗作用将提供临床益处的任何病状。这些病症包括免疫障碍、心血管障碍、血栓形成、糖尿病、免疫检查点病症、纤维变性病症(纤维化)或增殖性疾病诸如癌症,特别是转移性癌症。此外,已知Ax1在许多上皮源性癌症中起作用。

[1099] 感兴趣的纤维化病症包括斜视、硬皮病、瘢痕疙瘩、肾源性系统性纤维化、肺纤维化、特发性肺纤维化(IPF)、囊泡性纤维化(CF)、系统性硬化病、心肌纤维化、非酒精性脂肪性肝炎(NASH)、其他类型的肝纤维化、原发性胆汁性肝硬化、肾纤维化、癌症以及动脉粥样硬化。在这些疾病中,组织中纤维化的长期发展导致受累器官的架构显著改变并且随后造成器官功能缺陷。由于对器官的这一持续磨损过程,涉及纤维化的许多疾病通常是进展性病状并且具有不良长期预后(参见Rockey,D.C.、Bell,P.D.和Hill,J.A.(2015),N.Engl.Med.,第372卷,第1138-1149页)。

[1100] 增殖性疾病的特征可在于存在包含AXL+ve和AXL-ve细胞的肿瘤。

[1101] 增殖性疾病的特征可在于存在由AXL-ve肿瘤细胞组成的肿瘤,任选地其中AXL-ve肿瘤细胞与AXL+ve非肿瘤细胞相关。

[1102] 靶肿瘤或肿瘤细胞可以是实体瘤的全部或部分。

[1103] “实体瘤”在本文中应理解为包括在本文中更详细地讨论的实体血液学癌症,例如淋巴瘤(霍奇金淋巴瘤或非霍奇金淋巴瘤)。

[1104] 实体瘤可以是肿瘤,包括非血液学癌症,包含AXL+ve肿瘤细胞或由AXL+ve肿瘤细

胞组成。实体瘤可以是肿瘤,包括非血液学癌症,其浸润有AXL+ve细胞,例如AXL+ve免疫抑制性树突细胞、NK细胞或巨噬细胞;这类实体瘤可能缺乏AXL的表达(即,包含AXL-ve肿瘤细胞或由AXL-ve肿瘤细胞组成)。

[1105] 预期本公开的组合法可用于治疗各种疾病或病症,例如特征在于肿瘤抗原过表达的疾病或病症。示例性病状或过度增殖性病症包括良性或恶性肿瘤、白血病、血液病以及淋巴恶性肿瘤。其他病状或过度增殖性病症包括神经元病症、神经胶质病症、星形细胞病症、下丘脑病症、腺病症、巨噬细胞病症、上皮病症、间质病症、囊胚腔病症、炎性病症、血管生成和免疫学病症,包括自身免疫性病症和移植物抗宿主病(GVHD)。

[1106] 通常,待治疗的疾病或病症是过度增殖性疾病,诸如癌症。本文待治疗的癌症的实例包括但不限于癌瘤、淋巴瘤、胚细胞瘤、肉瘤和白血病或淋巴恶性肿瘤。此类癌症的更具体实例包括鳞状细胞癌(例如上皮鳞状细胞癌)、肺癌(包括小细胞肺癌、非小细胞肺癌、肺腺癌和肺鳞状细胞癌)、腹膜癌、肝细胞癌、胃癌(包括胃肠癌)、胰腺癌、成胶质细胞瘤、子宫颈癌、卵巢癌、肝癌、膀胱癌、肝细胞瘤、乳腺癌、结肠癌、直肠癌、结肠直肠癌、子宫内膜或子宫癌、唾液腺癌、肾癌、前列腺癌、外阴癌、甲状腺癌、肝癌、肛门癌、阴茎癌以及头颈癌。

[1107] 组合法可用于治疗的自身免疫疾病包括风湿性病症(例如类风湿性关节炎、肖格伦综合征(Sjögren's syndrome)、硬皮病、狼疮(诸如SLE和狼疮性肾炎)、多肌炎/皮肌炎、冷沉球蛋白血症、抗磷脂抗体综合征和牛皮癣性关节炎)、骨关节炎、自身免疫性肠胃及肝脏病症(例如炎症肠病(例如溃疡性结肠炎和克罗恩氏病)、自身免疫性胃炎和恶性贫血、自身免疫性肝炎、原发性胆汁性肝硬化、原发性硬化性胆管炎和乳糜泻)、血管炎(例如ANCA相关血管炎,包括丘-斯血管炎(Churg-Strauss vasculitis)、韦格纳肉芽肿病和多动脉炎(polyarteriitis))、自身免疫性神经系统病症(例如,多发性硬化、视性眼阵挛-肌阵挛综合征(opsoclonus myoclonus syndrome)、重症肌无力、视神经脊髓炎、帕金森病、阿尔茨海默病和自身免疫性多发性神经病)、肾脏病症(例如肾小球性肾炎、古德帕斯丘综合征(Goodpasture's syndrome)和贝尔热病(Berger's disease))、自身免疫性皮肤病病症(例如,牛皮癣、风疹、荨麻疹、寻常性天疱疮、大疱性类天疱疮和皮肤红斑狼疮)、血液系统病症(例如,血小板减少性紫癜、血栓性血小板减少性紫癜、输血后紫癜和自身免疫性溶血性贫血)、动脉粥样硬化、葡萄膜炎、自身免疫性听觉疾病(例如,内耳疾病和听力丧失)、白塞氏病(Behcet's disease)、雷诺氏综合征(Raynaud's syndrome)、器官移植、移植物抗宿主病(GVHD)以及自身免疫性内分泌失调(例如,糖尿病相关自身免疫性疾病诸如胰岛素依赖型糖尿病(IDDM)、爱迪生病(Addison's disease)以及自身免疫性甲状腺病(例如格雷夫斯病(Graves' disease)和甲状腺炎))。更优选的此类疾病包括例如类风湿性关节炎、溃疡性结肠炎、ANCA相关血管炎、狼疮、多发性硬化、肖格伦综合征、格雷夫斯病、IDDM、恶性贫血、甲状腺炎和肾小球肾炎。

[1108] 在一些方面,受试者患有选自以下的增殖性疾病:癌症例如乳腺癌、肺癌、胃癌、头颈癌、结肠直肠癌、肾癌、胰腺癌、子宫癌、肝癌、膀胱癌、子宫内膜癌和前列腺癌以及淋巴瘤(例如,非霍奇金淋巴瘤,NHL)和白血病(尤其是急性骨髓性白血病,AML)。在一些方面,受试者患有选自以下的病症:免疫障碍、心血管障碍、血栓形成、糖尿病、免疫检查点病症、或纤维化病症(纤维化)如斜视、硬皮病、瘢痕疙瘩、肾源性系统性纤维化、肺纤维化、特发性肺纤维化(IPF)、囊泡性纤维化(CF)、系统性硬化病、心肌纤维化、非酒精性脂肪性肝炎(NASH)、



其他类型的肝纤维化、原发性胆汁性肝硬化、肾纤维化、癌症以及动脉粥样硬化。标签可以指定受试者患有AXL+癌症。乳腺癌和AML是特别感兴趣的癌症。

[1109] 在一些方面,受试者患有特征可在于存在包含AXL+ve和AXL-ve细胞的肿瘤的增殖性疾病。

[1110] 增殖性疾病的特征可在于存在由AXL-ve肿瘤细胞组成的肿瘤,任选地其中AXL-ve肿瘤细胞与AXL+ve非肿瘤细胞相关。

[1111] 靶肿瘤或肿瘤细胞可以是实体瘤的全部或部分。

[1112] “实体瘤”在本文中应理解为包括在本文中更详细地讨论的实体血液学癌症,例如淋巴瘤(霍奇金淋巴瘤或非霍奇金淋巴瘤)。

[1113] 实体瘤可以是肿瘤,包括非血液学癌症,包含AXL+ve肿瘤细胞或由AXL+ve肿瘤细胞组成。实体瘤可以是肿瘤,包括非血液学癌症,其浸润有AXL+ve细胞,例如AXL+ve免疫抑制性树突细胞、NK细胞或巨噬细胞;这类实体瘤可能缺乏AXL的表达(即,包含AXL-ve肿瘤细胞或由AXL-ve肿瘤细胞组成)。

[1114] 患者选择

[1115] 在某些方面,在施用治疗之前,选择适合于用组合治疗进行治疗的个体。

[1116] 如本文所用,被认为适合于治疗的个体是预期受益于所述治疗或对所述治疗有反应的那些个体。个体可能患有或疑似患有癌症或具有患癌症的风险。个体可能已经诊断为癌症。具体地,个体可能患有或疑似患有淋巴瘤或具有患淋巴瘤的风险。在一些情况下,个体可能患有或疑似患有实体癌或具有患实体癌的风险,所述实体癌具有表达第一靶蛋白的肿瘤相关性非肿瘤细胞,例如表达第一靶蛋白的浸润细胞。

[1117] 在一些方面,基于第一靶蛋白的表达量或模式选择个体。在一些方面,基于细胞表面的第一靶蛋白的表达进行选择。

[1118] 在某些方面,靶标是第二靶蛋白。在一些方面,基于细胞表面的第二靶蛋白的表达进行选择。

[1119] 在一些方面,基于细胞表面的第一靶蛋白和第二靶蛋白的水平进行选择。

[1120] 在一些情况下,确定靶标在特定感兴趣组织中的表达。例如,在淋巴组织或肿瘤组织的样品中。在一些情况下,确定靶标的系统性表达。例如,在循环流体样品,例如血液、血浆、血清或淋巴液中。

[1121] 在一些方面,由于样品中存在靶标表达,选择适合于治疗的个体。在那些情况下,无靶标表达的个体可能被认为不适合于治疗。

[1122] 在其他方面,靶标表达水平用于选择适合于治疗的个体。当靶标表达水平高于阈值水平时,确定个体适合于治疗。

[1123] 在一些方面,样品细胞中第一靶蛋白和/或第二靶蛋白的存在表明所述个体适合于用包含ADC和第二药剂的组合进行治疗。在其他方面,第一靶蛋白和/或第二靶蛋白表达的量必须高于阈值水平以表明个体适合于治疗。在一些方面,与对照相比样品中第一靶蛋白和/或第二靶蛋白定位发生改变的结果表明此个体适合于治疗。

[1124] 在一些方面,如果从淋巴结或额外节点位点获得的细胞与针对第一靶蛋白和/或第二靶蛋白的抗体反应,如通过IHC确定,则表明个体适合于治疗。

[1125] 在一些方面,如果样品中所有细胞的至少5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、

40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或更多细胞表达第一靶蛋白,则确定患者适合于治疗。在本文公开的一些方面,如果样品中至少10%的细胞表达第一靶蛋白,则确定患者适合于治疗。

[1126] 在一些方面,如果样品中所有细胞的至少5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或更多细胞表达第二靶蛋白,则确定患者适合于治疗。在本文公开的一些方面,如果样品中至少10%的细胞表达第二靶蛋白,则确定患者适合于治疗。

[1127] 第一靶蛋白优选地为AXL。

[1128] 第二靶蛋白可以是PD1、PDL1、GITR、OX40、CTLA、PARPi、MEK1、MEK2或BRAF。第二靶蛋白优选地为PD-L1。

[1129] 样品

[1130] 样品可包括或可源自:一定量的血液;一定量来自个体血液的血清,其可包括去除纤维蛋白凝块和血细胞后获得的血液的流体部分;一定量的胰液;组织样品或活检物;或从所述个体分离的细胞。

[1131] 可从任何组织或体液获得样品。在某些方面,样品可包括或可源自来自所述个体的组织样品、活检物、切除或分离细胞。

[1132] 在某些方面,样品是组织样品。样品可以是肿瘤组织的样品,例如癌性肿瘤组织。可以通过肿瘤活检获得样品。在一些方面,样品是淋巴组织样品,例如淋巴样病变样品或淋巴结活检物。在某些情况下,样品是皮肤活检物。

[1133] 在一些方面,样品取自体液,更优选地为循环通过身体的体液。因此,样品可以是血液样品或淋巴样品。在某些情况下,样品是尿液样品或唾液样品。

[1134] 在某些情况下,样品是血液样品或血液源性样品。血液源性样品可以是个体血液的选定部分,例如包含选定细胞的级分或血浆或血清级分。

[1135] 包含选定细胞的级分可包含感兴趣的细胞类型,其可包括白细胞(WBC),特别是外周血单核细胞(PBC)和/或粒细胞、和/或红细胞(RBC)。因此,根据本公开的方法可以涉及检测血液、白细胞、外周血单核细胞、粒细胞和/或红细胞中的第一靶多肽或核酸。

[1136] 样品可以是新鲜的或存档的。例如,存档组织可以来自个体的第一次诊断,或者是复发时的活检物。在某些方面,样品是新鲜的活检物。

[1137] 第一靶多肽优选地为AXL。

[1138] 个体身份

[1139] 个体可以是动物、哺乳动物、胎盘哺乳动物、有袋目哺乳动物(例如,袋鼠、袋熊)、单孔目动物(例如,鸭嘴兽)、啮齿目动物(例如,豚鼠、仓鼠、大鼠、小鼠)、鼠类(例如,小鼠)、兔类动物(例如,兔)、禽类(例如,鸟)、犬科动物(例如,狗)、猫科动物(例如,猫)、马科动物(例如,马)、猪(porcine)(例如,猪(pig))、绵羊(例如,羊)、牛(例如,奶牛)、灵长目动物、类人猿(例如,猴或猿猴)、猴(例如,狨猴、狒狒)、猿(例如,大猩猩、黑猩猩、猩猩、长臂猿)或人类。

[1140] 此外,个体可以是它的任何发育形式,例如胎儿。在一个优选的实施方案中,个体是人类。术语“受试者”、“患者”和“个体”在本文中可互换使用。

[1141] 在一些情况下,个体患有、疑似患有或已经诊断为增殖性疾病,其特征存在于存在包

含AXL+ve和AXL-ve细胞的肿瘤。肿瘤可以由AXL-ve肿瘤细胞组成,任选地其中AXL-ve肿瘤细胞与AXL+ve非肿瘤细胞相相关。靶肿瘤或肿瘤细胞可以是实体瘤的全部或部分。实体瘤可以是肿瘤,包括非血液学癌症,其包含AXL+ve肿瘤细胞或由AXL+ve肿瘤细胞组成。实体瘤可以是肿瘤,包括非血液学癌症,其浸润有AXL+ve细胞,例如AXL+ve免疫抑制性树突细胞、NK细胞或巨噬细胞;此类实体瘤可能缺乏AXL的表达(即,包含AXL-ve肿瘤细胞或由AXL-ve肿瘤细胞组成)。

[1142] 在本文公开的一些方面,个体患有或疑似患有癌症或已经被鉴定为患有癌症的风险。在本文公开的一些方面,个体已经诊断为癌症。个体可能已经诊断为癌症,诸如乳腺癌、肺癌、胃癌、头颈癌、结肠直肠癌、肾癌、胰腺癌、子宫癌、肝癌、膀胱癌、子宫内膜癌和前列腺癌以及淋巴瘤(例如非霍奇金淋巴瘤,NHL)和白血病(特别是急性髓性白血病,AML)。乳腺癌和AML是特别感兴趣的癌症。

[1143] 在本文公开的一些方面,个体患有或疑似患有或已经被鉴定为患有以下疾病或已经诊断为以下疾病:免疫障碍、心血管障碍、血栓形成、糖尿病、免疫检查点病症、或纤维化病症(纤维化),诸如斜视、硬皮病、瘢痕疙瘩、肾源性系统性纤维化、肺纤维化、特发性肺纤维化(IPF)、囊泡性纤维化(CF)、系统性硬化病、心肌纤维化、非酒精性脂肪性肝炎(NASH)、其他类型的肝纤维化、原发性胆汁性肝硬化、肾纤维化、癌症以及动脉粥样硬化。

[1144] 在一些情况下,个体已经诊断为含有表达AXL+的浸润细胞的实体癌。

[1145] 个体可能正在经历或已经历针对此癌症的治疗性治疗。受试者先前可能接受过或未接受过ADCxAXL。在某些情况下,癌症是乳腺癌或AML。

[1146] 对照

[1147] 在一些方面,将个体中的靶表达与对照中的靶表达进行比较。对照可用于支持染色的有效性,并可用于鉴定实验性人为因素。

[1148] 在一些情况下,对照可以是参考样品或参考数据集。参考可以是先前从具有已知适合度的个体获得的样品。参考可以由分析参考样品获得的数据集。

[1149] 对照可以是已知靶分子存在或以高水平表达的阳性对照,或已知靶分子不存在或以低水平表达的阴性对照。

[1150] 对照可以是来自已知受益于治疗的个体的组织样品。组织可以具有与正测试样品相同的类型。例如,可以将来自个体的肿瘤组织样品与来自已知适合于治疗的个体(例如先前已对治疗有反应的个体)的肿瘤组织的对照样品进行比较。

[1151] 在一些情况下,对照可以是与测试样品相同的个体获得的样品,但是来自已知为健康的组织。因此,可以将来自个体的癌组织样品与非癌组织样品进行比较。

[1152] 在一些情况下,对照是细胞培养物样品。

[1153] 在一些情况下,在与抗体温育之前分析测试样品以确定该样品固有的背景染色水平。

[1154] 在某些情况下,使用同种型对照。同种型对照使用与靶特异性抗体相同类别的抗体,但不与样品发生免疫反应。此类对照可用于区分靶特异性抗体的非特异性相互作用。

[1155] 所述方法可包括血液病理学家对形态学和免疫组织化学的解释,以确保对测试结果的准确解释。所述方法可以涉及确认表达模式与预期模式相关。例如,在分析第一靶蛋白和/或第二靶蛋白表达的量的情况下,此方法可以涉及确认在测试样品中表达被观察为具

有细胞质成分的膜染色。此方法可以涉及确认靶信号与噪声的比率高于阈值水平,从而允许在特定和非特定背景信号之间进行清楚的区别。

[1156] 第一靶蛋白优选地为AXL。

[1157] 第二靶蛋白可以是PD1、PDL1、GITR、OX40、CTLA、PARPi、MEK1、MEK2或BRAF。第二靶蛋白优选地为PD-L1。

[1158] 治疗方法

[1159] 如本文在治疗病状的上下文中所用的术语“治疗”一般涉及治疗和疗法,不论人类还是动物(例如在兽医应用中),其中获得一些所需的治疗效果,例如,抑制病状的进展,并且包括降低进展速率、终止进展速率、消退病状、改善病状和治愈病状。还包括作为预防性措施的治疗(即预防、防止)。

[1160] 如本文所用的术语“治疗有效量”或“有效量”涉及当根据需要的治疗方案施用,有效产生与合理的益处/风险比相匹配的一些所需治疗效果的活性化合物,或包含活性化合物的材料、组合物或剂型的量。

[1161] 相似地,如本文所用的术语“预防性地有效量”涉及当根据需要的治疗方案施用,有效产生与合理的益处/风险比相匹配的一些所需预防效果的活性化合物,或包含活性化合物的材料、组合物或剂型的量。

[1162] 本文公开了治疗方法。还提供了一种治疗方法,其包括向需要治疗的受试者施用治疗有效量的ADC和第二药剂。术语“治疗有效量”是足以对受试者显示益处的量。这样的益处可以是至少改善至少一种症状。施用的实际量以及施用的速率和时程将取决于待治疗对象的特性和严重性。治疗处方,例如对剂量的决定,是在全科医生和其他医生的责任范围内。可测试受试者以根据本文公开的方法确定他们接受治疗的资格。治疗方法可包括使用本文公开的方法确定受试者是否有资格接受治疗的步骤。

[1163] ADC可包含抗AXL抗体。ADC可包含作为PBD二聚体的药物。ADC可以是抗AXL-ADC,并且尤其是ADCxAXL。ADC可以是GB1702029.8、GB1719906.8或PCT/EP2018/053163中公开的ADC。

[1164] 第二药剂可以是:

[1165] (a) PD1拮抗剂,例如派姆单抗、纳武单抗、MEDI0680、PDR001(spartalizumab)、卡瑞利珠单抗(Camrelizumab)、AUNP12、皮地利珠单抗(Pidilizumab)、Cemiplimab(REGN-2810)、AMP-224、BGB-A317(替雷利珠单抗(Tisleizumab))或BGB-108;

[1166] (b) PD-L1拮抗剂,例如阿特珠单抗(atezolizumab)(Tecentriq)、BMS-936559/MDX-1105、德瓦鲁单抗(durvalumab)/MEDI4736、或MSB0010718C(阿维鲁单抗(Avelumab));

[1167] (c) GITR(糖皮质激素诱导的TNFR相关蛋白)激动剂,例如MEDI1873、TRX518、GWN323、MK-1248、MK-4166、BMS-986156或INCAGN1876;

[1168] (d) OX40激动剂,例如MEDI0562、MEDI6383、MOXR0916、RG7888、OX40mAb24、INCAGN1949、GSK3174998或PF-04518600; (e) CTLA-4拮抗剂,例如伊匹单抗(商品名Yervoy)或替西木单抗(最初由Pfizer开发,现为Medimmune);

[1169] (f) 氟达拉滨或阿糖胞苷;

[1170] (g) 低甲基化剂,例如胞苷类似物-例如5-氮杂胞苷(阿扎胞苷)和5-氮杂-2'-脱氧胞苷(地西他滨);或者

[1171] (h) PARP抑制剂 (PARPi), 诸如奥拉帕尼 (Olaparib)、CEP-9722、BMN-673/他唑来膦 (talazoparib)、卢卡帕尼 (Rucaparib)、伊尼帕利 (Iniparib)/SAR24-550/BSI-201、维利帕尼 (Veliparib) (ABT-888)、尼拉帕利 (Niraparib)/MK-4827、BGB-290、3-氨基苯甲酰胺和 E7016;

[1172] (i) 上调HER2表达的药剂, 诸如吉西他滨和他莫昔芬;

[1173] (j) AXL-激酶抑制剂 (AXLi), 例如BGB324 (bemcentinib)、TP0903、吉特替尼 (ASP2215)、卡博替尼 (XL184)、SGI7079、Merestinib、amuvatinib (MP-470)、博舒替尼 (SKI-606)、MGCD265和foretinib (GSK1363089/XL880);

[1174] (k) BRAF抑制剂 (BRAFi), 例如维罗非尼、PLX4720、达帕非尼、索拉非尼、康奈非尼和GDC0879;或

[1175] (l) MEK抑制剂 (MEKi), 例如曲美替尼、考比替尼、比美替尼、司美替尼、PD-325901、CI-1040、PD035901、U0126和TAK-733。

[1176] 治疗可以包括根据待治疗的病状同时或依次施用单独地或与其他治疗进一步组合的ADC/第二药剂组合。治疗和疗法的实例包括但不限于化学疗法 (施用活性剂, 包括例如药物, 诸如化学治疗剂); 手术; 以及放射疗法。

[1177] 不考虑作用机理, “化学治疗剂”是适用于治疗癌症的化合物。化学治疗剂的类别包括但不限于: 烷化剂、抗代谢物、纺锤体毒物植物生物碱、细胞毒素/抗肿瘤抗生素、拓扑异构酶抑制剂、抗体、光敏剂以及激酶抑制剂。化学治疗剂包括在“靶向治疗”和常规化学疗法中使用的化合物。

[1178] 化学治疗剂的实例包括: 来那度胺 (REVLIMID®, Celgene)、伏立诺他 (ZOLINZA®, Merck)、帕比司他 (FARYDAK®, Novartis)、莫西司他 (Mocetinostat) (MGCD0103)、依维莫司 (ZORTRESS®, CERTICAN®, Novartis)、苯达莫司汀 (TREAKISYM®, RIBOMUSTIN®, LEVACT®, TREANDA®, Mundipharma International)、厄洛替尼 (TARCEVA®, Genentech/OSI Pharm.)、多西他赛 (TAXOTERE®, Sanofi-Aventis)、5-FU (氟尿嘧啶、5-氟尿嘧啶, CAS号51-21-8)、吉西他滨 (GEMZAR®, Lilly)、PD-0325901 (CAS号391210-10-9, Pfizer)、顺铂 (顺式二胺、二氯铂 (II), CAS号15663-27-1)、卡铂 (CAS号41575-94-4)、紫杉醇 (TAXOL®, Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, N.J.)、曲妥单抗 (HERCEPTIN®, Genentech)、替莫唑胺 (4-甲基-5-氧代-2,3,4,6,8-五氮杂双环[4.3.0]壬-2,7,9-三烯-9-甲酰胺, CAS号85622-93-1, TEMODAR®, TEMODAL®, Schering Plough)、他莫昔芬 ((Z)-2-[4-(1,2-二苯基丁-1-烯基)苯氧基]-N,N-二甲基乙胺, NOLVADEX®, ISTUBAL®, VALODEX®) 和多柔比星 (ADRIAMYCIN®)、Akti-1/2、HPPD以及雷帕霉素。

[1179] 化学治疗剂的更多实例包括: 奥沙利铂 (ELOXATIN®, Sanofi)、硼替佐米 (VELCADE®, Millennium Pharm.)、索坦 (SUNITINIB®, SU11248, Prizer)、来曲唑 (FEMARA®, Novartis)、甲磺酸伊马替尼 (GLEEVEC®, Novartis)、XL-518 (Mek抑制

剂,Exelixis,W0 2007/044515)、ARRY-886(Mek抑制剂,AZD6244,Array BioPharma,Astra Zeneca)、SF-1126(PI3K抑制剂,Semafore Pharmaceuticals)、BEZ-235(PI3K抑制剂,Novartis)、XL-147(PI3K抑制剂,Exelixis)、PTK787/ZK 222584(Novartis)、氟维司群(**FASLODEX®**, AstraZeneca)、甲酰四氢叶酸(亚叶酸)、雷帕霉素(西罗莫司, **RAPAMUNE®**, Wyeth)、拉帕替尼(**TYKERB®**, GSK572016, Glaxo Smith Kline)、洛那法尼(**SARASAR™**, SCH 66336, Schering Plough)、索拉非尼(**NEXAVAR®**, BAY43-9006, Bayer Labs)、吉非替尼(**IRESSA®**, AstraZeneca)、伊立替康(**CAMPTOSAR®**, CPT-11, Pfizer)、替吡法尼(**ZARNESTRA™**, Johnson&Johnson)、ABRAXANE™(无聚氧乙烯蓖麻油)、紫杉醇的白蛋白工程化纳米颗粒制剂(American Pharmaceutical Partners, Schaumburg, IL)、凡德他尼(rINN, ZD6474, **ZACTIMA®**, AstraZeneca)、苯丁酸氮芥(chlorambucil)、AG1478、AG1571(SU 5271; Sugen)、替西罗莫司(**TORISEL®**, Wyeth)、帕唑帕尼(GlaxoSmithKline)、坎磷酰胺(canfosfamide) (**TELCYTA®**, Telik)、噻替哌和环磷酰胺(**CYTOXAN®**、**NEOSAR®**); 烷基磺酸酯, 诸如白消安、英丙舒凡和哌泊舒凡; 氮杂环丙烷, 诸如苯佐替哌(benzodopa)、卡波醌、美妥替派(meturedopa)和乌瑞替哌(uredopa); 乙烯亚胺和甲基密胺, 包括六甲蜜胺、三亚乙基蜜胺、三亚乙基磷酰胺、三亚乙基硫代磷酰胺和三羟甲基密胺; 多聚乙酰(acetogenin) (尤其是布拉它辛(bullatacin)和布拉它辛酮(bullatacinone)); 喜树碱(包括合成类似物拓扑替康); 苔藓抑素; 卡利他汀(callystatin); CC-1065(包括其阿多来新、卡折来新和比折来新合成类似物); 念珠藻素(cryptophycin) (尤其是念珠藻素1和念珠藻素8); 尾海兔素; 多卡霉素(duocarmycin) (包括合成类似物KW-2189和CB1-TM1); 艾榴塞洛素(eleutherobin); 水鬼蕉碱(pancratistatin); 萨科迪汀(sarcodictyin); 海绵抑素(spongistatin); 氮芥, 诸如苯丁酸氮芥、萘氮芥、氯磷酰胺、雌莫司汀、异环磷酰胺、氮芥(mechlorethamine)、盐酸氧氮芥、美法仑、新恩比兴、苯芥胆甾醇、泼尼莫司汀、曲洛磷胺、乌拉莫司汀; 亚硝基脲, 诸如卡莫司汀、氯脲霉素、福莫司汀、洛莫司汀、尼莫司汀和雷莫司汀(ranimustine); 抗生素, 诸如烯二炔抗生素(例如加利车霉素、加利车霉素  $\gamma$  1 I、加利车霉素  $\omega$  1 I (Angew Chem. Intl. Ed. Engl. (1994) 33:183-186); 达内霉素、达内霉素A; 二膦酸盐, 诸如氯膦酸盐; 埃斯佩拉霉素(esperamicin); 以及新制癌菌素发色团和相关色素蛋白烯二炔抗生素发色团)、阿克拉霉素(aclacinomycin)、放线菌素、安曲霉素(authramycin)、重氮丝氨酸、博莱霉素、放线菌素C、卡拉比星(carabycin)、洋红霉素、嗜癌菌素、色霉素(chromomycinis)、放线菌素D、道诺霉素、地托比星、6-重氨基-5-氧代-L-正亮氨酸、吗啉代-多柔比星、氰基吗啉代-多柔比星、2-吡咯啉并-多柔比星和脱氧多柔比星)、表柔比星、依索比星、伊达比星、奈莫柔比星、麻西罗霉素、丝裂霉素(诸如丝裂霉素C)、霉酚酸、诺加霉素、橄榄霉素、培洛霉素、泊非霉素、嘌呤霉素、三铁阿霉素、罗多比星、链黑菌素、链脲菌素、杀结核菌素、乌苯美司、净司他丁(zinostatin)、佐柔比星; 抗代谢物, 诸如甲氨蝶呤和5-氟尿嘧啶(5-FU); 叶酸类似物, 诸如二甲叶酸、甲氨蝶呤、蝶罗呤、三甲曲沙; 嘌呤类似物, 诸如氟达拉滨、6-巯基嘌呤、硫咪嘌呤、硫鸟嘌呤; 嘧啶类似物, 诸如安西他滨、阿扎胞苷、6-氮杂尿苷、卡莫氟、阿糖胞苷、二脱氧尿苷、去氧氟尿苷、依诺他滨、氟尿苷; 雄激素, 诸如卡普睾酮、屈他雄酮丙酸

酯、环硫雄醇、美雄烷、睾内酯；抗肾上腺素类(anti-adrenal)，诸如氨鲁米特、米托坦、曲洛司坦；叶酸补充剂，诸如亚叶酸(frolic acid)；醋葡萄糖内酯；醛磷酸胺糖苷；氨基乙酰丙酸；恩尿嘧啶；安吡啶；贝拉布昔(bestrabucil)；比生群；依达曲沙；地佛法明(defofamine)；秋水仙胺；地吡醌；依氟鸟氨酸；依利醋铵(elliptinium acetate)；埃博霉素；依托格鲁；硝酸镓；羟基脲；香菇多糖(lentinan)；氯尼达明(lonidainine)；类美登醇(maytansinoid)，诸如美登素和安丝菌素；米托胍脲；米托蒽醌；莫皮达明(mopidanmol)；根瘤菌剂(nitraerine)；喷司他丁；苯来美特(phenamet)；吡柔比星；洛索蒽醌；鬼臼酸；2-乙基酰肼；甲基苄肼；**PSK®**多糖复合物(JHS Natural Products, Eugene, OR)；雷佐生；根霉素；西佐喃(sizofiran)；锗螺胺；细交链孢菌酮酸(tenuazonic acid)；三亚胺醌；2,2',2''-三氯三乙胺；单端孢霉烯类(尤其是T-2毒素、疣孢菌素A(verracurin A)、杆孢菌素A和蛇形菌素(anguidine))；乌拉坦(urethan)；长春地辛；达卡巴嗪；甘露醇氮芥；二溴甘露醇；二溴卫矛醇；哌泊溴烷；加西托辛(gacytosine)；阿拉伯糖苷("Ara-C")；环磷酸胺；噻替哌；6-硫鸟嘌呤；巯基嘌呤；甲氨蝶呤；铂类似物，诸如顺铂和卡铂；长春花碱；依托泊苷(VP-16)；异环磷酸胺；米托蒽醌；长春新碱；长春瑞滨(**NAVELBINE®**)；诺消灵(novantrone)；替尼泊苷；依达曲沙；道诺霉素；氨基蝶呤；卡培他滨(**XELODA®**, Roche)；伊班膦酸盐；CPT-11；拓扑异构酶抑制剂RFS 2000；二氟甲基鸟氨酸(DMF0)；类维生素A，诸如维甲酸；以及前述任一者的药学上可接受的盐、酸和衍生物。可以使用药剂的组合，例如CHP(多柔比星、泼尼松、环磷酸胺)或CHOP(多柔比星、泼尼松、环磷酸胺、长春新碱)。

[1180] 在“化学治疗剂”的定义中还包括：(i) 抗激素剂，其用来调节或抑制对肿瘤的激素作用诸如抗雌激素和选择性雌激素受体调节剂(SERM)，包括例如他莫昔芬(包括**NOLVADEX®**；枸橼酸他莫昔芬)、雷洛昔芬(raloxifene)、屈洛昔芬、4-羟基他莫昔芬、曲沃昔芬、雷洛昔芬(keoxifene)、LY117018、奥那司酮和**FARESTON®**(枸橼酸托瑞米芬)；(ii) 芳香酶抑制剂，其抑制酶芳香酶(所述芳香酶调节肾上腺中雌激素的产生)，例如像4(5)-咪唑、氨鲁米特、**MEGASE®**(醋酸甲地孕酮)、**AROMASIN®**(依西美坦；Prizer)、福美坦、法倔唑、**RIVISOR®**(伏氯唑)、**FEMARA®**(来曲唑；Novartis)和**ARIMIDEX®**(阿纳托唑；AstraZeneca)；(iii) 抗雄激素诸如氟他胺、尼鲁米特、比卡鲁胺、亮丙瑞林和戈舍瑞林；以及曲沙他滨(1,3-二氧戊环核苷酸胞嘧啶类似物)；(iv) 蛋白激酶抑制剂诸如MEK抑制剂(WO 2007/044515)；(v) 脂质激酶抑制剂；(vi) 反义寡核苷酸，尤其是抑制涉及异常细胞增殖的信号通路中的基因表达的那些反义寡核苷酸，例如，PKC- $\alpha$ 、Raf和H-Ras，诸如奥利默森(**GENASENSE®**, Genta公司)；(vii) 核糖酶诸如VEGF表达抑制剂(例如，**ANGIOZYME®**)和HER2表达抑制剂；(viii) 疫苗，诸如基因治疗疫苗，例如**ALLOVECTIN®**、**LEUVECTIN®**和**VAXID®**；**PROLEUKIN®**rIL-2；拓扑异构酶1抑制剂诸如**LURTOTECAN®**；**ABARELIX®**rmRH；(ix) 抗血管生成剂诸如贝伐珠单抗(**AVASTIN®**, Genentech)；以及任何前述项的药学上可接受的盐、酸和衍生物。

[1181] 在“化学治疗剂”的定义中还包括治疗性抗体，诸如阿仑单抗(Campath)、贝伐单抗(**AVASTIN®**, Genentech)；西妥昔单抗(**ERBITUX®**, Imclone)；帕尼单抗(**VECTIBIX®**, Amgen)、利妥昔单抗(**RITUXAN®**, Genentech/Biogen Idec)、奥法木单

抗(**ARZERRA®**, GSK)、帕妥珠单抗(PERJETA™、OMNITARG™, 2C4, Genentech)、曲妥单抗(**HERCEPTIN®**, Genentech)、托西莫单抗(Bexxar, Corixa)、MDX-060 (Medarex) 以及抗体药物缀合物、吉妥珠单抗、奥佐米星(**MYLOTARG®**, Wyeth)。

[1182] 与本公开的缀合物组合的具有作为化学治疗剂的治疗潜力的人源化单克隆抗体包括:阿仑珠单抗、阿泊珠单抗、阿塞珠单抗、那他珠单抗、巴品珠单抗、贝伐珠单抗、莫比伐单抗、莫坎妥珠单抗、西利珠单抗、赛妥珠单抗、西弗斯妥单抗(cidfusituzumab)、西地珠单抗(cidtuzumab)、达利珠单抗、依库珠单抗、依法珠单抗、依帕珠单抗、厄利珠单抗、非维珠单抗、芳妥珠单抗、吉妥珠单抗奥唑米星、奥英妥珠单抗、伊匹单抗、拉贝珠单抗、林妥珠单抗、马妥珠单抗、美泊利单抗、莫维珠单抗、莫妥维珠单抗(motovizumab)、那他珠单抗、尼妥珠单抗、诺洛维珠单抗(nolovizumab)、努马维珠单抗(numavizumab)、奥瑞珠单抗、奥马珠单抗、帕利珠单抗、帕考珠单抗、帕氟珠单抗(pecfusituzumab)、帕妥珠单抗(pectuzumab)、帕妥珠单抗、培克珠单抗、ralivizumab、雷珠单抗、热利维珠单抗(reslivizumab)、瑞利珠单抗、热西维珠单抗(resyvizumab)、罗维珠单抗、卢利珠单抗、西罗珠单抗、西利珠单抗、索土珠单抗、替他珠单抗、他度珠单抗、他利珠单抗、特非珠单抗、托珠单抗、托利珠单抗、曲妥珠单抗、西莫白介素单抗、图库斯珠单抗(tucusituzumab)、乌吗维珠单抗(umavizumab)、乌珠单抗和维西珠单抗。

[1183] 根据本公开的组合物优选地为药物组合物。根据本公开的并根据本公开使用的药物组合物,除活性成分(即缀合物化合物)之外,还可以包含药学上可接受的赋形剂、载体、缓冲剂、稳定剂或本领域技术人员熟知的其他材料。所述物质应为无毒的并且应不干扰活性成分的功效。载体或其他材料的确切性质将取决于施用途,所述施用途可以是口服、或通过注射,例如皮肤、皮下、或静脉内注射。

[1184] 用于口服施用的药物组合物可以是片剂、胶囊剂、粉剂或液体形式。片剂可以包含固体载体或佐剂。液体药物组合物通常包含液体载体诸如水、石油、动物油或植物油、矿物油或合成油。可包含生理盐水溶液、葡萄糖或其他糖溶液或二醇类诸如乙二醇、丙二醇或聚乙二醇。胶囊剂可以包含固体载体诸如明胶。

[1185] 对于静脉内、皮肤或皮下注射、或在痛苦部位处的注射,活性成分将具有肠胃外可接受的水性溶液的形式,所述水性溶液是无热原的并具有适宜的pH、等渗性和稳定性。本领域的相关技术人员使用例如等渗媒介物诸如氯化钠注射液、林格氏注射液、乳酸林格氏注射液完全能够制备合适的溶液。根据需要,可以包含防腐剂、稳定剂、缓冲剂、抗氧化剂和/或其他添加剂。

[1186] 剂量

[1187] 本领域的技术人员应认识到,ADC和/或第二药剂以及包含这些活性成分的组合物的适当剂量可在各个受试者之间不同。确定最佳剂量一般将涉及在治疗益处的水平与任何风险或有害副作用之间进行平衡。所选剂量水平将取决于各种因素,包括但不限于具体化合物的活性、施用途、施用时间、化合物的排泄速率、治疗持续时间、组合使用的其他药物、化合物和/或材料,病状的严重性以及受试者的种族、性别、年龄、体重、病状、一般健康状况和以前病史。化合物的量和施用途将最终由医师、兽医或临床医生酌定,但是总体上将剂量选择成在作用部位获得局部浓度,其实现所需效果而不导致大致上有害或有毒的副



作用。

[1188] 在某些方面,ADC的剂量通过在从受试者获得的样品中观察到的第一靶蛋白的表达来确定。因此,样品中第一靶蛋白的表达水平或定位可指示需要更高或更低剂量的ADC。例如,第一靶蛋白的高表达水平可以指示更高剂量的ADC将是合适的。在一些情况下,第一靶蛋白的高表达水平可以指示除了ADC之外还需要施用另一种药剂。例如,将ADC与化学治疗剂一起施用。第一靶蛋白的高表达水平可指示更具攻击性的治疗。

[1189] 在某些方面,第二药剂的剂量通过在从受试者获得的样品中观察到的第二靶蛋白的表达来确定。因此,样品中第二靶蛋白的表达水平或定位可指示需要更高或更低剂量的第二药剂。例如,第二靶蛋白的高表达水平可指示更高剂量的第二药剂将是合适的。在一些情况下,第二靶蛋白的高表达水平可指示除了第二药剂之外还需要施用另一种药剂。例如,将第二药剂与化学治疗剂一起施用。第二靶蛋白的高表达水平可指示更具攻击性的治疗。

[1190] 在某些方面,剂量水平通过在从受试者获得的样品中的肿瘤细胞上第一靶蛋白的表达来确定。例如,当靶肿瘤由表达第一靶蛋白的肿瘤细胞组成或包含所述肿瘤细胞时。

[1191] 在某些方面,剂量水平通过在与靶肿瘤相关的细胞上第一靶蛋白的表达来确定。例如,靶肿瘤可以是由表达第一靶蛋白的肿瘤细胞组成或包含所述肿瘤细胞的实体瘤。例如,靶肿瘤可以是由不表达第一靶蛋白的肿瘤细胞组成或包含所述肿瘤细胞的实体瘤。表达第一靶蛋白的细胞可以是与靶肿瘤相关的肿瘤细胞或非肿瘤细胞。例如,表达第一靶蛋白的细胞可以是浸润实体瘤的细胞,所述实体瘤包含不表达第一靶蛋白的肿瘤细胞或由所述肿瘤细胞组成。

[1192] 施用可在整个治疗过程中以一次剂量、连续或间歇地(例如在适当的时间间隔下,以分剂量)实现。确定最有效施用方式和剂量的方法为本领域技术人员熟知并且将随着用于治疗制剂、治疗目的、所治疗的靶细胞和所治疗的受试者而变化。单次或多次施用可根据由治疗医师、兽医或临床医生选择的剂量水平和模式来执行。

[1193] 一般来讲,每种活性化合物的合适剂量范围为约100ng至约25mg(更通常地为约1μg至约10mg)/千克受试者体重/天。当活性化合物为盐、酯、酰胺、前药等时,施用量基于母体化合物来计算,因此待使用的实际重量成比例增加。

[1194] 在一个实施方案中,根据以下剂量方案将每种活性化合物施用至人类受试者:约100mg,每日3次。

[1195] 在一个实施方案中,根据以下剂量方案将每种活性化合物施用至人类受试者:约150mg,每日2次。

[1196] 在一个实施方案中,根据以下剂量方案将每种活性化合物施用至人类受试者:约200mg,每日2次。

[1197] 然而,在一个实施方案中,根据以下剂量方案将每种缀合物化合物施用至人类受试者:约50或约75mg,每日3次或4次。

[1198] 在一个实施方案中,根据以下剂量方案将每种缀合物化合物施用至人类受试者:约100或约125mg,每日2次。

[1199] 对于ADC,在其为具有PBD的ADC时,上文描述的剂量可以适用于缀合物(包括PBD部分和与抗体的接头)或适用于有效量的提供的PBD化合物,例如在切割接头后可释放的化合物的量。

[1200] 第一靶蛋白优选地为AXL。ADC可包含抗AXL抗体。ADC可包含作为PBD二聚体的药物。ADC可以是抗AXL-ADC,尤其是ADCxAXL。ADC可以是GB1702029.8、GB1719906.8和PCT/EP2018/053163中公开的ADC。

[1201] 第二药剂可以是PD1拮抗剂。合适的PD1拮抗剂包括派姆单抗、纳武单抗、MEDI0680、PDR001、卡瑞利珠单抗、AUNP12、皮地利珠单抗、REGN-2810和BGB-108。

[1202] 抗体

[1203] 术语“抗体”在本文中以最广泛的意义使用并且具体地涵盖单克隆抗体、多克隆抗体、二聚体、多聚体、多特异性抗体(例如,双特异性抗体)、完整抗体(也称为“全长”抗体)和和抗体片段,只要它们显示所期望的生物活性,例如结合第一靶蛋白的能力(Miller等人(2003) *Jour. of Immunology* 170:4854-4861)。抗体可以是鼠类、人类、人源化、嵌合的或源自其他物种,例如兔、山羊、绵羊、马或骆驼。

[1204] 抗体是由免疫系统生成的能够识别并结合特异性抗原的蛋白质。(Janeway, C., Travers, P., Walport, M., Shlomchik (2001) *Immuno Biology*, 第5版, Garland Publishing, New York)。靶抗原通常具有由在多种抗体上的互补决定区(CDR)所识别的许多结合位点,也被称为表位。特异性地结合于不同表位的每种抗体具有不同的结构。因此,一种抗原可以具有多于一种的对应抗体。抗体可包括全长免疫球蛋白分子或全长免疫球蛋白分子的免疫活性部分,即一种包含免疫特异性地结合感兴趣的靶的抗原或其部分的抗原结合位点的分子,此类靶包括但不限于癌细胞或产生与自身免疫疾病相关的自身免疫抗体的细胞。免疫球蛋白可以是任何类型(例如IgG、IgE、IgM、IgD和IgA)、类别(例如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1和IgA2)或亚类或同种异型(例如人类G1m1、G1m2、G1m3、非G1m1[即,除G1m1以外的任何同种异型]、G1m17、G2m23、G3m21、G3m28、G3m11、G3m5、G3m13、G3m14、G3m10、G3m15、G3m16、G3m6、G3m24、G3m26、G3m27、A2m1、A2m2、Km1、Km2和Km3)的免疫球蛋白分子。免疫球蛋白可以源自任何物种,包括人类、鼠类或兔起源。

[1205] “抗体片段”包含全长抗体的一部分,通常为其抗原结合区或可变区。抗体片段的实例包括Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>和scFv片段;双抗体;线性抗体;由Fab表达文库产生的片段、抗独特型(抗-Id)抗体、CDR(互补决定区)以及以上任一者的免疫特异性地结合于癌细胞抗原、病毒抗原或微生物抗原的表位结合片段、单链抗体分子;以及形成自抗体片段的多特异性抗体。

[1206] 如在本文中所使用的,术语“单克隆抗体”是指获自基本上同质性的抗体的群体的抗体,即,除了可少量存在的可以天然发生的突变以外,构成群体的单独抗体是相同的。单克隆抗体是高度特异性的,是针对单一的抗原位点。此外,与包括针对不同决定子(表位)的不同抗体的多克隆抗体制剂相比,每种单克隆抗体是针对在抗原上的单一决定子。除特异性外,单克隆抗体的优势还在于,其合成不会受到其他抗体的污染。修饰语“单克隆”表明,抗体的特性是获自抗体的基本同质群体,而并不应当被解释为需要通过任何特定方法来生产抗体。例如,根据本公开使用的单克隆抗体可以通过首先由Kohler等人(1975) *Nature* 256:495描述的杂交瘤方法来制备,或可以通过重组DNA方法来制备(参见,US 4816567)。单克隆抗体也可以使用Clackson等人(1991) *Nature*, 352:624-628; Marks等人(1991) *J. Mol. Biol.*, 222:581-597中描述的技术从噬菌体抗体文库中分离,或者从携带完全人免疫球蛋白系统的转基因小鼠(Lonberg (2008) *Curr. Opinion* 20(4):450-459)中分离。

[1207] 本文中的单克隆抗体特别包括“嵌合”抗体,其中一部分的重链和/或轻链与源自特定物种或属于特定抗体类别或亚类的抗体中的相应序列相同或同源,同时所述链的其余部分与在源自另一物种或属于另一抗体类别或亚类的抗体中的相应序列相同或同源;以及此类抗体的片段,只要它们显示所期望的生物活性(US 4816567;以及Morrison等人(1984) Proc.Natl.Acad.Sci.USA,81:6851-6855)。嵌合抗体包括“灵长类化”抗体,其包含源自非人灵长类动物(例如旧大陆猴或猿)的可变结构域抗原结合序列和人恒定区序列。

[1208] 本文中的“完整抗体”是这样一种抗体,其包含VL和VH结构域,以及轻链恒定结构域(CL)和重链恒定结构域CH1、CH2和CH3。恒定结构域可以是天然序列恒定结构域(例如人天然序列恒定结构域)或其氨基酸序列变体。完整抗体可以具有一种或多种“效应子功能”,其是指可归因于抗体的Fc区(天然序列Fc区或氨基酸序列变体Fc区)的那些生物活性。抗体效应子功能的实例包括C1q结合;补体依赖性细胞毒性;Fc受体结合;抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC);吞噬作用;以及细胞表面受体(诸如B细胞受体和BCR)的下调。

[1209] 根据它们的重链的恒定结构域的氨基酸序列,完整抗体可以被指定为不同的“类别”。存在五种主要类别的完整抗体:IgA、IgD、IgE、IgG和IgM,并且这些类别中的若干个可进一步分成“亚类”(同种型),例如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA和IgA2。对应于不同类别的抗体的重链恒定结构域分别被称为 $\alpha$ 、 $\delta$ 、 $\epsilon$ 、 $\gamma$ 和 $\mu$ 。不同类别的免疫球蛋白的亚基结构和三维构型是熟知的。

[1210] 抗PD-L1抗体是本领域已知的,并且可用于本文公开的方法。这些抗体包括阿特殊单抗(MPDL3280;CAS号1380723-44-3)、阿维鲁单抗(MSB0010718C;CAS号1537032-82-8)和德瓦鲁单抗b(CAS号1428935-60-7)。

## 附图说明

[1211] 现在将参考附图讨论说明本公开的原理的实施方案和实验,其中:

[1212] 图1.序列

[1213] 图2.根据本发明的缀合物与AXL的结合

[1214] 图3.根据本发明的缀合物的体内功效

[1215] 图4.SN12C细胞中ADCxAXL与阿糖胞苷之间的体外协同作用

[1216] 图5.SN12C细胞中ADCxAXL与氟达拉滨之间的体外协同作用

[1217] 图6.SN12C细胞中ADCxAXL与地西他滨之间的体外协同作用

[1218] 图7.SN12C细胞中ADCxAXL与奥拉帕尼之间的体外协同作用

[1219] 图8.SN12C细胞中ADCxAXL与吉西他滨之间的体外协同作用

[1220] 本公开包括所描述的方面和优选特征的组合,除了这种组合明显是不允许的或者明确避免的情况。

[1221] 本文所用的章节标题仅出于组织目的,并且不应解释为限制所描述的主题。

[1222] 现将参考附图,通过举例的方式说明本公开的多个方面和实施方案。其他方面和实施方案对于本领域技术人员而言将是明显的。本文提及的所有文献均以引用的方式并入本文。

[1223] 贯穿本说明书(包括所附权利要求书),除非上下文另有要求,否则词语“包含(comprise)”和变型诸如“包含(comprises)”或“包含(comprising)”应理解为暗示包括所

陈述的整数或步骤或者整数或步骤的组,但不排除任何其他整数或步骤或者整数或步骤的组。

[1224] 必须注意,除非本文另外清楚指示,否则如本说明书和所附权利要求书中所用,单数形式“一个/种(a/an)”和“所述(the)”包括多个提及物。范围可在本文中表达为从“约”一个特定值起和/或至“约”另一个特定值。当表达这类范围时,另一个实施方案包括从所述一个特定值和/或至所述另一个特定值。类似地,在通过使用先行词“约”将值表达为近似值时,应理解特定值形成另一个实施方案。

[1225] 一些实施方案:

[1226] 以下段落描述了本公开的一些具体实施方案:

[1227] 1.一种用于治疗个体的癌症的方法,所述方法包括向所述个体施用有效量的ADCxAXL和第二药剂。

[1228] 2.一种包含ADCxAXL的第一组合物,其用于治疗个体的癌症的方法中,其中所述治疗包括将所述第一组合物与包含第二药剂的第二组合物组合施用。

[1229] 3.一种包含第二药剂的第一组合物,其用于治疗个体的病症的方法中,其中所述治疗包括将所述第一组合物与包含ADCxAXL的第二组合物组合施用。

[1230] 4.ADCxAXL在制备用于治疗个体的癌症的药物中的用途,其中所述药物包含ADCxAXL,并且其中所述治疗包括将所述药物与包含第二药剂的组合物组合施用。

[1231] 5.第二药剂在制备用于治疗个体的癌症的药物中的用途,其中所述药物包含第二药剂,并且其中所述治疗包括将所述药物与包含ADCxAXL的组合物组合施用。

[1232] 6.一种试剂盒,其包含:

[1233] 包含ADCxAXL的第一药物;

[1234] 包含第二药剂的第二药物;以及任选地,

[1235] 包装插页,其包括用于将所述第一药物与所述第二药物组合施用至个体以治疗癌症的说明书。

[1236] 7.一种试剂盒,其包含含有ADCxAXL的药物和包装插页,所述包装插页包括用于将所述药物与包含第二药剂的组合物组合施用至个体以治疗癌症的说明书。

[1237] 8.一种试剂盒,其包含含有第二药剂的药物和包装插页,所述包装插页包括用于将所述药物与包含ADCxAXL的组合物组合施用至个体以治疗癌症的说明书。

[1238] 9.一种包含ADCxAXL和第二药剂的药物组合物。

[1239] 10.一种治疗个体的癌症的方法,所述方法包括向所述个体施用有效量的根据段落9所述的组合物。

[1240] 11.根据段落9所述的组合物,其用于治疗个体的癌症的方法中。

[1241] 12.根据段落9所述的组合物在制备用于治疗个体的癌症的药物中的用途。

[1242] 13.一种试剂盒,其包含根据段落9所述的组合物和一组用于将所述药物施用至个体以治疗癌症的说明书。

[1243] 14.根据任何以上段落所述的组合物、方法、用途或试剂盒,其中所述治疗包括在所述第二药剂之前、与所述第二药剂同时或在所述第二药剂之后施用ADCxAXL。

[1244] 15.根据任何以上段落所述的组合物、方法、用途或试剂盒,其中所述治疗还包括施用化学治疗剂。

- [1245] 16. 根据任何以上段落所述的组合物、方法、用途或试剂盒,其中所述个体是人类。
- [1246] 17. 根据任何以上段落所述的组合物、方法、用途或试剂盒,其中所述个体患有病症或已被确定患有癌症。
- [1247] 18. 根据任何以上段落所述的组合物、方法、用途或试剂盒,其中所述个体患有或已被确定患有癌症,所述癌症的特征在于存在包含AXL+ve和AXL-ve细胞的肿瘤。
- [1248] 19. 根据任何以上段落所述的组合物、方法、用途或试剂盒,其中所述个体患有或已被确定患有癌症,所述癌症的特征在于存在包含AXL-ve肿瘤细胞或由AXL-ve肿瘤细胞组成的肿瘤。
- [1249] 20. 根据任何以上段落所述的组合物、方法、用途或试剂盒,其中所述癌症或肿瘤是实体瘤的全部或部分。
- [1250] 21. 根据任何以上段落所述的组合物、方法、用途或试剂盒,其中所述个体患有或已被确定患有癌症,所述癌症表达AXL或AXL+肿瘤相关的非肿瘤细胞,例如AXL+浸润细胞。
- [1251] 22. 根据段落21所述的组合物、方法、用途或试剂盒,其中所述AXL+浸润细胞是树突细胞、NK细胞或巨噬细胞。
- [1252] 23. 根据任何以上段落所述的组合物、方法、用途或试剂盒,其中所述个体患有或已被确定患有表达PD-L1的癌症。
- [1253] 24. 根据以上段落中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒,其中所述治疗与单独使用ADCxAXL或所述第二药剂的治疗相比:
- [1254] a) 有效治疗更广泛范围的病症,
- [1255] b) 有效治疗抵抗性、难治性或复发性病症,
- [1256] c) 具有增加的反应率,和/或
- [1257] d) 具有增加的持久性。
- [1258] 25. 根据以上段落中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒,其中所述癌症选自包括以下的组:乳腺癌、肺癌、胃癌、头颈癌、结肠直肠癌、肾癌、胰腺癌、子宫癌、肝癌、膀胱癌、子宫内膜癌、前列腺癌、非霍奇金淋巴瘤、NHL、AML)、免疫障碍、心血管障碍、血栓形成、糖尿病、免疫检查点病症或纤维变性病症。
- [1259] 26. 根据段落1至25中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒,其中所述第二药剂是PD1拮抗剂。
- [1260] 27. 根据段落26所述的组合物、方法、用途或试剂盒,其中所述PD1拮抗剂选自派姆单抗、纳武单抗、MEDI0680、PDR001 (spartalizumab)、卡瑞利珠单抗、AUNP12、皮地利珠单抗、Cemiplimab (REGN-2810)、AMP-224、BGB-A317 (替雷利珠单抗) 和BGB-108。
- [1261] 28. 根据段落1至25中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒,其中所述第二药剂是PD-L1拮抗剂。
- [1262] 29. 根据段落28所述的组合物、方法、用途或试剂盒,其中所述PD-L1拮抗剂选自阿特珠单抗 (Tecentriq)、BMS-936559/MDX-1105、德瓦鲁单抗/MEDI4736和MSB0010718C (阿维鲁单抗)。
- [1263] 30. 根据段落1至25中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒,其中所述第二药剂是GITR(糖皮质激素诱导的TNFR相关蛋白) 激动剂。
- [1264] 31. 根据段落30所述的组合物、方法、用途或试剂盒,其中所述GITR(糖皮质激素诱

导的TNFR相关蛋白)激动剂选自MEDI1873、TRX518、GWN323、MK-1248、MK 4166、BMS-986156和INCAGN1876。

[1265] 32. 根据段落1至25中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒,其中所述第二药剂是OX40激动剂。

[1266] 33. 根据段落32所述的组合物、方法、用途或试剂盒,其中所述OX40激动剂选自MEDI0562、MEDI6383、MOXR0916、RG7888、OX40mAb24、INCAGN1949、GSK3174998和PF-04518600。

[1267] 34. 根据段落1至25中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒,其中所述第二药剂是CTLA-4拮抗剂。

[1268] 35. 根据段落34所述的组合物、方法、用途或试剂盒,其中所述CTLA-4拮抗剂选自伊匹单抗或替西木单抗。

[1269] 36. 根据段落1至25中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒,其中所述第二药剂为氟达拉滨。

[1270] 37. 根据段落1至25中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒,其中所述第二药剂为阿糖胞苷。

[1271] 38. 根据段落1至25中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒,其中所述第二药剂为低甲基化剂。

[1272] 39. 根据段落38所述的组合物、方法、用途或试剂盒,其中所述低甲基化剂为阿扎胞苷。

[1273] 40. 根据段落38所述的组合物、方法、用途或试剂盒,其中所述低甲基化剂为地西他滨。

[1274] 41. 根据段落1至25中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒,其中所述第二药剂为PARP抑制剂(PARPi)。

[1275] 42. 根据段落41所述的组合物、方法、用途或试剂盒,其中所述PARPi选自奥拉帕尼、CEP-9722、BMN-673/他唑来膦、鲁卡帕尼、伊尼帕利/SAR24-550/BSI-201、维利帕尼(ABT-888)、尼拉帕利/MK-4827、BGB-290、3-氨基苯甲酰胺和E7016。

[1276] 43. 根据段落1至25中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒,其中所述第二药剂为上调HER2表达的药剂。

[1277] 44. 根据段落41所述的组合物、方法、用途或试剂盒,其中所述上调HER2表达的药剂选自吉西他滨和他莫昔芬。

[1278] 45. 根据段落1至25中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒,其中所述第二药剂为AXL抑制剂(AXLi)。

[1279] 46. 根据段落45所述的组合物、方法、用途或试剂盒,其中所述AXLi选自BGB324(bemcentinib)、TP0903、吉特替尼(ASP2215)、卡博替尼(XL184)、SGI7079、Merestinib、amuvatinib(MP-470)、博舒替尼(SKI-606)、MGCD265和foretinib(GSK1363089/XL880)。

[1280] 47. 根据段落1至25中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒,其中所述第二药剂为BRAF抑制剂(BRAF<sub>i</sub>)。

[1281] 48. 根据段落47所述的组合物、方法、用途或试剂盒,其中所述BRAF<sub>i</sub>选自维罗非尼、PLX4720、达帕非尼、索拉非尼、康奈非尼和GDC0879。

[1282] 49. 根据段落1至25中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒,其中所述第二药剂为MEK抑制剂(MEKi)。

[1283] 50. 根据段落49所述的组合物、方法、用途或试剂盒,其中所述AXLi选自曲美替尼、考比替尼、比美替尼、司美替尼、PD-325901、CI-1040、PD035901、U0126和TAK-733。

[1284] 发明陈述

[1285] 1. 一种用于治疗个体的病症的方法,所述方法包括向所述个体施用有效量的ADC和第二药剂。

[1286] 2. 一种包含ADC的第一组合物,其用于治疗个体的病症的方法中,其中所述治疗包括将所述第一组合物与包含第二药剂的第二组合物组合施用。

[1287] 3. 一种包含第二药剂的第一组合物,其用于治疗个体的病症的方法中,其中所述治疗包括将所述第一组合物与包含ADC的第二组合物组合施用。

[1288] 4. ADC在制备用于治疗个体的病症的药物中的用途,其中所述药物包含ADC,并且其中所述治疗包括将所述药物与包含第二药剂的组合物组合施用。

[1289] 5. 第二药剂在制备用于治疗个体的病症的药物中的用途,其中所述药物包含第二药剂,并且其中所述治疗包括将所述药物与包含ADC的组合物组合施用。

[1290] 6. 一种试剂盒,其包含:

[1291] 包含ADC的第一药物;

[1292] 包含第二药剂的第二药物;以及任选地,

[1293] 包装插页,其包括用于将所述第一药物与所述第二药物组合施用至个体以治疗病症的说明书。

[1294] 7. 一种试剂盒,其包含含有ADC的药物和包装插页,所述包装插页包括用于将所述药物与包含第二药剂的组合物组合施用至个体以治疗病症的说明书。

[1295] 8. 一种试剂盒,其包含含有第二药剂的药物和包装插页,所述包装插页包括用于将所述药物与包含ADC的组合物组合施用至个体以治疗病症的说明书。

[1296] 9. 一种包含ADC和第二药剂的药物组合物。

[1297] 10. 一种治疗个体的病症的方法,所述方法包括向所述个体施用有效量的根据段落9所述的组合物。

[1298] 11. 根据段落9所述的组合物,其用于治疗个体的病症的方法中。

[1299] 12. 根据段落9所述的组合物在制备用于治疗个体的病症的药物中的用途。

[1300] 13. 一种试剂盒,其包含根据段落9所述的组合物和一组用于将所述药物施用至个体以治疗病症的说明书。

[1301] 14. 根据任何以上段落所述的组合物、方法、用途或试剂盒,其中所述治疗包括在所述第二药剂之前、与所述第二药剂同时或在所述第二药剂之后施用ADC。

[1302] 15. 根据任何以上段落所述的组合物、方法、用途或试剂盒,其中所述治疗还包括施用化学治疗剂。

[1303] 16. 根据任何以上段落所述的组合物、方法、用途或试剂盒,其中所述个体是人类。

[1304] 17. 根据任何以上段落所述的组合物、方法、用途或试剂盒,其中所述个体患有病症或已被确定患有病症。

[1305] 18. 根据段落17所述的组合物、方法、用途或试剂盒,其中所述个体患有或已被确

定患有癌症,所述癌症表达第一靶蛋白(FTP)或FTP+肿瘤相关的非肿瘤细胞,例如FTP+浸润细胞。

[1306] 19.根据任何以上段落所述的组合物、方法、用途或试剂盒,其中所述个体患有或已被确定患有表达第二靶蛋白(STP)的癌症。

[1307] 20.根据任何以上段落所述的组合物、方法、用途或试剂盒,其中所述治疗与单独使用所述ADC或所述第二药剂治疗相比:

[1308] a)有效治疗更广泛范围的病症,

[1309] b)有效治疗抵抗性、难治性或复发性病症,

[1310] c)具有增加的反应率,和/或

[1311] d)具有增加的持久性。

[1312] 21.根据任何以上段落所述的组合物、方法、用途或试剂盒,其中所述ADC是抗-AXL ADC。

[1313] 22.根据段落21所述的组合物、方法、用途或试剂盒,其中所述抗-AXL ADC是ADCxAXL。

[1314] 23.根据任何以上段落所述的组合物、方法、用途或试剂盒,其中所述FTP为AXL。

[1315] 24.根据任何以上段落所述的组合物、方法、用途或试剂盒,其中所述病症是一种增殖性疾病。

[1316] 25.根据段落24所述的组合物、方法、用途或试剂盒,其中所述病症是癌症。

[1317] 26.根据任何以上段落所述的组合物、方法、用途或试剂盒,其中所述个体患有或已被确定患有癌症,所述癌症的特征在于存在包含AXL+ve和AXL-ve细胞的肿瘤。

[1318] 27.根据任何以上段落所述的组合物、方法、用途或试剂盒,其中所述个体患有或已被确定患有癌症,所述癌症的特征在于存在包含AXL-ve肿瘤细胞或由AXL-ve肿瘤细胞组成的肿瘤。

[1319] 28.根据任何以上段落所述的组合物、方法、用途或试剂盒,其中所述癌症或肿瘤是实体瘤的全部或部分。

[1320] 29.根据任何以上段落所述的组合物、方法、用途或试剂盒,其中所述病症选自包括以下的组:乳腺癌、肺癌、胃癌、头颈癌、结肠直肠癌、肾癌、胰腺癌、子宫癌、肝癌、膀胱癌、子宫内膜癌、前列腺癌、非霍奇金淋巴瘤、NHL、AML、免疫障碍、心血管障碍、血栓形成、糖尿病、免疫检查点病症或纤维变性病症。

[1321] 30.根据任何以上段落所述的组合物、方法、用途或试剂盒,其中所述STP为PD-L1。

[1322] 31.根据段落1至30中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒,其中所述第二药剂是PD1拮抗剂。

[1323] 32.根据段落31所述的组合物、方法、用途或试剂盒,其中所述PD1拮抗剂选自派姆单抗、纳武单抗、MEDI0680、PDR001(spartalizumab)、卡瑞利珠单抗、AUNP12、皮地利珠单抗、Cemiplimab(REGN-2810)、AMP-224、BGB-A317(替雷利珠单抗)和BGB-108。

[1324] 33.根据段落1至30中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒,其中所述第二药剂是PD-L1拮抗剂。

[1325] 34.根据段落33所述的组合物、方法、用途或试剂盒,其中所述PD-L1拮抗剂选自阿特珠单抗(Tecentriq)、BMS-936559/MDX-1105、德瓦鲁单抗/MEDI4736和MSB0010718C(阿维



鲁单抗)。

[1326] 35. 根据段落1至30中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒,其中所述第二药剂是GITR(糖皮质激素诱导的TNFR相关蛋白)激动剂。

[1327] 36. 根据段落35所述的组合物、方法、用途或试剂盒,其中所述GITR(糖皮质激素诱导的TNFR相关蛋白)激动剂选自MEDI1873、TRX518、GWN323、MK-1248、MK 4166、BMS-986156和INCAGN1876。

[1328] 37. 根据段落1至30中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒,其中所述第二药剂是OX40激动剂。

[1329] 38. 根据段落37所述的组合物、方法、用途或试剂盒,其中所述OX40激动剂选自MEDI0562、MEDI6383、MOXR0916、RG7888、OX40mAb24、INCAGN1949、GSK3174998和PF-04518600。

[1330] 39. 根据段落1至30中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒,其中所述第二药剂是CTLA-4拮抗剂。

[1331] 40. 根据段落39所述的组合物、方法、用途或试剂盒,其中所述CTLA-4拮抗剂选自伊匹单抗或替西木单抗。

[1332] 41. 根据段落1至30中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒,其中所述第二药剂为氟达拉滨。

[1333] 42. 根据段落1至30中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒,其中所述第二药剂为阿糖胞苷。

[1334] 43. 根据段落1至30中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒,其中所述第二药剂为低甲基化剂。

[1335] 44. 根据段落43所述的组合物、方法、用途或试剂盒,其中所述低甲基化剂为阿扎胞苷。

[1336] 45. 根据段落43所述的组合物、方法、用途或试剂盒,其中所述低甲基化剂为地西他滨。

[1337] 46. 根据段落1至30中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒,其中所述第二药剂为PARP抑制剂(PARPi)。

[1338] 47. 根据段落46所述的组合物、方法、用途或试剂盒,其中所述PARPi选自奥拉帕尼、CEP-9722、BMN-673/他唑来膦、鲁卡帕尼、伊尼帕利/SAR24-550/BSI-201、维利帕尼(ABT-888)、尼拉帕利/MK-4827、BGB-290、3-氨基苯甲酰胺和E7016。

[1339] 48. 根据段落1至30中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒,其中所述第二药剂为上调HER2表达的药剂。

[1340] 49. 根据段落48所述的组合物、方法、用途或试剂盒,其中所述上调HER2表达的药剂选自吉西他滨和他莫昔芬。

[1341] 50. 根据段落1至30中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒,其中所述第二药剂为AXL抑制剂(AXLi)。

[1342] 51. 根据段落50所述的组合物、方法、用途或试剂盒,其中所述AXLi选自BGB324(bemcentinib)、TP0903、吉特替尼(ASP2215)、卡博替尼(XL184)、SGI7079、Merestinib、amuvatinib(MP-470)、博舒替尼(SKI-606)、MGCD265、和foretinib(GSK1363089/XL880)。

[1343] 52. 根据段落1至30中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒,其中所述第二药剂为BRAF抑制剂(BRAFi)。

[1344] 53. 根据段落52所述的组合物、方法、用途或试剂盒,其中所述BRAFi选自维罗非尼、PLX4720、达帕非尼、索拉非尼、康奈非尼和GDC0879。

[1345] 54. 根据段落1至30中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒,其中所述第二药剂为MEK抑制剂(MEKi)。

[1346] 55. 根据段落54所述的组合物、方法、用途或试剂盒,其中所述AXLi选自曲美替尼、考比替尼、比美替尼、司美替尼、PD-325901、CI-1040、PD035901、U0126和TAK-733。

[1347] 实施例

[1348] 在以下实施例中:

[1349] -FTP优选地是AXL。

[1350] -适用于实施例中的表达AXL的细胞系包括MDA-MB231、NCI-H1299和SN12C。

[1351] -疾病A-结肠直肠癌

[1352] -疾病B-胃癌

[1353] 疾病C-胰腺癌

[1354] 实施例1

[1355] 为了表明PBD-ADC可以诱导ICD并因此可以是与免疫肿瘤学(IO)药物的合适的组合剂,将表达第一靶蛋白(FTP)的细胞系与依托泊苷(阴性对照)和奥沙利铂(阳性对照)、1 $\mu$ g/mL ADC、1 $\mu$ g/mL抗FTP(ADC中的抗体)和1 $\mu$ g/mL B12-SG3249(非结合对照ADC,具有与ADC相同的PBD有效载荷)一起温育0、6、24和48小时。

[1356] 温育后,将通过流式细胞术测量AnnexinV-/PI+(早期凋亡细胞)的量连同表面钙网蛋白和HSP-70的上调。将通过IRE1磷酸化、ATF4和JNK磷酸化的RNA印迹分析来测量ER应激。

[1357] 实施例2

[1358] 在一个单独实验中,将表达FTP的细胞系与依托泊苷(阴性对照)和奥沙利铂(阳性对照)、1 $\mu$ g/mL ADC(具有PBD二聚体弹头的靶向FTP的ADC)、1 $\mu$ g/mL抗FTP(ADC中的抗体)和1 $\mu$ g/mL B12-SG3249(非结合对照ADC,具有与ADC相同的PBD有效载荷)一起温育0、6、24和48小时。

[1359] 温育后,洗涤细胞,并再进料人类树突细胞(DC)24小时。随后通过增加CD86在DC群体上的表面表达(通过流式细胞术测定)并通过测量DC介导的IL-8和MIP2释放来测量DC的活化。

[1360] 实施例3

[1361] 本研究的目的是初步评估该组合的安全性、耐受性、药理学和临床活性

[1362] 已选择以下癌症类型进行研究:疾病A、疾病B和疾病C

[1363] 两种药物都存在作为单一药剂的疗效的证据:

[1364] • ADC(参见,例如GB1702029.8、GB1719906.8和PCT/EP2018/053163)

[1365] • 第二药剂(参见KS Peggs等人2009,Clinical and Experimental Immunology, 157:9-19[doi:10.1111/j.1365-2249.2009.03912.x])

[1366] 本研究的主要目的是探讨这些药剂是否可以安全组合,并且如果可以,将确定适

于进一步研究的剂量和方案。所述研究还将评估每种组合是否诱导肿瘤的药理学变化,这将表明潜在的临床益处。

[1367] 此外,它将提供以下初步证据,与使用单一药剂ADC或第二药剂的治疗的公布数据相比,组合可增加反应率和反应持久性。

[1368] 每个疾病组可以包括先前用第二药剂治疗的患者的子组,以探索组合疗法是否可以克服对第二药剂治疗的抵抗性。对于每种疾病,不意图应用特定的分子选择,因为目前可获得的数据通常不支持在批准的分子诊断测试的基础上排除患者。

[1369] ADC起始剂量的基本原理

[1370] 已经为ADC建立的RDE (每三周以ug/kg施用一次) 将用于本研究中的所有患者。为了确保患者安全,将使用低于RDE的起始剂量;起始剂量水平将是研究ADC1中仍可证明患者益处的水平,这表明参加此类剂量水平的患者将通过参与该研究而获得至少一些益处。

[1371] 第二药剂起始剂量的基本原理

[1372] 已经为第二药剂建立的RDE (每三周以ug/kg施用一次) 将用于本研究中的所有患者。为了确保患者安全,将使用低于RDE的起始剂量;起始剂量水平将是研究SA1中仍可证明患者益处的水平,这表明参加此类剂量水平的患者将通过参与该研究而获得至少一些益处。

[1373] 目的和相关终点

[1374]

目的	终点
<b>主要目的</b> 为了表征 ADC 与第二药剂组合的安全性和耐受性，并确定用于未来研究的推荐剂量和方案	治疗紧急 AE 和 SAE 的频率和严重程度 基线和基线后实验室参数与生命体征之间的变化 第一轮治疗期间剂量限制毒性(DLT)的发生率(仅限剂量递增) 剂量中断频率和剂量减少
<b>次要目的</b> 为了评估 ADC 与第二药剂组合的临床活性 为了表征两种化合物 ADC 和第二药剂各自的药代动力学(PK)曲线 对 ADC 的免疫原性和 ADA 的证据	ORR、DOR、PFS、OS 每种化合物的 AUC 和 Cmax 用 ADC 治疗之前、期间和之后的抗药物抗体(ADA)
<b>探索目的</b> 为了检查 PK 曲线与安全性/耐受性和功效的潜在相关性 为了表征肿瘤中免疫浸润的变化 为了表征血浆中细胞因子循环水平的变化和循环免疫细胞中活化标记的变化	每种化合物的 AUC 和/或 Cmax 或化合物测量值与任何安全性或功效变量之间的相关系数 治疗前和治疗中的肿瘤活检物的免疫组织化学， 血浆或血清中免疫相关细胞因子的测量(例如通过 ELISA)；循环免疫细胞中活化标记的染色水平(例如 FACS)

[1375] 研究设计

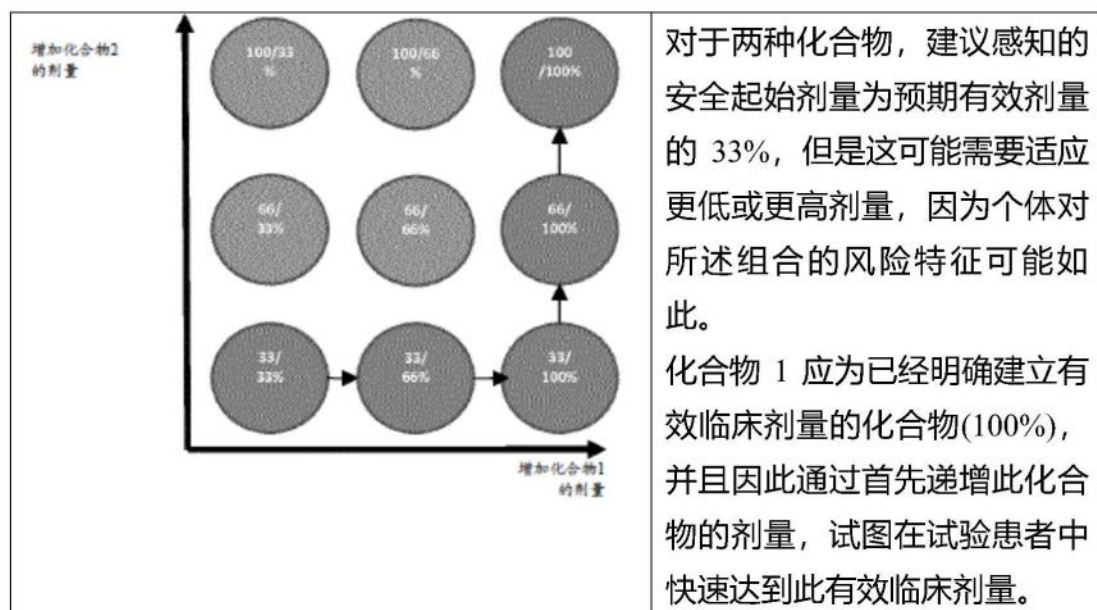
[1376] 此Ib期、多中心、开放性研究用于表征患有疾病A、疾病B和疾病C的患者中ADC与第二药剂组合的安全性、耐受性、药代动力学 (PK)、药效动力学 (PD) 和抗肿瘤活性。

[1377] 此研究包括剂量递增部分，然后是剂量扩展部分。

[1378] 对于ADC和第二药剂，剂量递增将从降低的起始剂量 (与其各自推荐的2期或许可剂量水平相比) 开始，以保证患者安全。每种化合物的起始剂量为RDE的33 % (或50 %)。随后，首先将第二药剂的剂量递增，直至达到RDE或许可剂量，或者出于耐受性原因必要时使用较低剂量。然后，将ADC的剂量递增，直到达到组合治疗的RDE。

[1379] 这在下图中可视化：

[1380]



[1381] 如果确定剂量组合是安全的，则可以在另外的患者中测试以确认该剂量水平的安全性和耐受性。可以进一步调整每种化合物的剂量，和/或可以修改方案。

[1382] 组合的剂量递增将基于在第一个(或前两个，TBC)治疗周期中观察到的任何剂量限制毒性(Dose Limiting Toxicity, DLT)通过贝叶斯逻辑回归模型(Bayesian Logistic Regression Model, BLRM)来指导。使用BLRM是一种明确建立的方法，其用于估计癌症患者的最大耐受剂量(MTD)/推荐的扩展剂量(recommended dose for expansion, RDE)。自适应BLRM将通过控制过量用药的剂量递增(Escalation With Overdose Control, EWOC)原则来指导，以控制研究中未来患者的DLT风险。使用贝叶斯响应自适应模型用于小型数据集已被FDA和EMA(“小群体临床试验指南(Guideline on clinical trials in small populations)”，2007年2月1日)接受，并得到众多出版物的认可(Babb等人1998，Neuenschwander等人2008)。

[1383] 新剂量组合由研究人员和赞助商研究人员在剂量递增安全回访(DESC)中基于患者耐受性和安全性信息(包括DLT风险的BLRM总结，如果适用)与决定时可获得的PK、PD和初步活动信息的审查来决定。

[1384] 一旦确定了组合的MTD/RDE，可以启动研究的扩展部分以进一步评估安全性、耐受性和初步功效。

[1385] ■对于与IO的组合，肿瘤中免疫浸润的变化也将在目标疾病适应症的联合治疗后进行表征。

[1386] 鉴于本研究中药剂的可用的先前临床经验，预期在大多数情况下，可以在不测试大量剂量水平或方案的情况下鉴定组合剂量。为了评估组合的药效动力学活性，将要求患者在基线时进行肿瘤活检，并在约两个治疗周期后再次进行肿瘤活检。

[1387] ■对于IO组合：免疫细胞(包括淋巴细胞和巨噬细胞)的肿瘤浸润的变化程度将有助于决定任何潜在的益处。

[1388] 剂量递增部分

[1389] 在此研究的剂量递增部分期间，患者将用静脉内施用的固定剂量的ADC治疗，并且增加第二药剂的剂量直至达到第二药剂的RDE。随后，增加ADC的剂量(在不同的组中)，同时

使第二药剂的剂量保持恒定。

[1390] 将在每个递增群组中治疗2至约3或4名患有疾病A、疾病B或疾病C的患者,直至确定MTD/RDE的确定。

[1391] 在第二名患者参加剂量水平1之前将进行24小时观察。每个剂量水平的DLT观察期为1个周期(3周)或2个周期(6周),如由有关当局对于I0治疗强制要求的,此后将对下一群组确定是否递增到下一剂量水平、保持在当前剂量水平或递减到先前剂量水平。将不从剂量水平1递减。不允许患者内的剂量递增。

[1392] 除非2名或更多名患者在任何给定剂量水平的第一个周期内具有完整的DLT信息,否则不允许剂量递增。剂量递增将通过使用目标DLT率为30%且等效间隔为20%至35%的mCRM以及控制过量用药的剂量递增(EWOC)且无剂量跳跃来确定。

[1393] 患者将被分配到主动登记的群组中。在完成一个治疗周期后,将在每种组合中进行剂量递增。将密切监测所有登记患者的安全性评估,包括不良事件(AE)和实验室价值,以便鉴定任何DLT。将定义单个MTD/RDE;将不会建立疾病特异性MTD/RDE。

[1394] 在剂量递增指导委员会(DESC)的监督下,将为DE实施mCRM。在审查所有可用的安全数据后,DESC将确认每个递增剂量水平。来自该剂量水平和先前剂量水平的患者的PK数据也可以为决策提供信息。在基于新出现的PK、PD、毒性或反应数据确定MTD之前,DESC可以停止剂量递增。

[1395] 如果研究中至少1名患者达到部分反应或更好,或者如果DESC认为有必要进一步评估PK或PD数据以确定RDE,则可以在任何剂量水平包括其他患者以进一步评估安全性和耐受性。

[1396] 在连续对3个群组(或至少6个患者)分配相同剂量水平后,将停止剂量递增。如果未达到MTD,则将确定推荐的扩展剂量(RDE)。在确定MTD/RDE之前,至少6名患者必须用此组合治疗。

[1397] 希望在剂量递增期间从患者获得成对的肿瘤活检物。对这些活检物的分析将有助于更好地理解组合的剂量与药效动力学活性之间的关系。

[1398] 由剂量递增指导委员会进行安全监督

[1399] 由ADC治疗和研究人员组成的DESC将在DE期间持续审查患者安全性,以确定mCRM规定的剂量递增方案是否需要修改。除安全性观察外,PK和/或PD数据也可以为决策提供信息。在ADC治疗与研究人员协商后,可以分配中等剂量。DESC可继续在第2部分中提供监督。不会使用正式的数据安全监控委员会(DSMB)。

[1400] 剂量扩展部分

[1401] 一旦设定MTD/RDE,就可以开始剂量扩展部分。扩展部分的主要目的是进一步评估在MTD/RDE下的研究治疗的安全性和耐受性,并相对于历史单一药剂疗效数据,获得对组合疗效的初步了解。

[1402] 一个重要的探索目的是评估肿瘤中的免疫浸润响应于治疗的变化。这将在从患者收集的成对肿瘤活检物中,在以MTD/RDE下治疗的患者中的最少10对可评估活检物(活检标本必须包含足够用于分析的肿瘤)中进行评估。如果这不可行,可以停止收集这些活检物。计划在每个研究组中治疗最少10至20名患者,

[1403] 将开放若干个不同的研究组,每种疾病一个研究组。在剂量扩展中可以运行总共

九个研究组。如果对任何这些组的登记不可行,那么可以在满足10至20个患者目标之前,关闭此组的登记。

[1404] 在每个治疗组中,将允许治疗最多约6名接受过先前单次施用(即未组合)第二药剂治疗并且进展的患者。如果组合显示有克服对单次施用第二药剂的先前治疗的抵抗性的希望,则可以增加此数量。

[1405] 患者群体

[1406] 本研究将在患有如上所述的晚期疾病A、疾病B或疾病C的成年患者中进行。研究者或指定人员必须确保只有符合以下所有纳入标准并且没有排除标准的患者才能在本研究中接受治疗。

[1407] 纳入标准

[1408] 有资格纳入本研究的患者必须满足以下所有标准:

[1409] 1. 必须在任何程序之前获得书面知情同意书

[1410] 2. 年龄18岁。

[1411] 3. 患有晚期/转移性癌症、患有通过RECIST版本1.1确定的可测量的疾病的患者,其尽管已经进行标准治疗但仍有进展或对标准治疗不耐受,或者不存在标准治疗。患者必须符合以下组中的一个:

[1412] • 疾病A

[1413] • 疾病B

[1414] • 疾病C

[1415] 4. ECOG体力状态0-1 (或2TBC)

[1416] 5. TBC: 患者必须有适合进行活检的疾病部位,并根据治疗机构的指南成为肿瘤活检的候选者。患者必须愿意在基线时进行新的肿瘤活检,并在本研究的治疗期间再次进行。

[1417] 6. 允许先前使用第二药剂或相关化合物(即相同的MOA)进行治疗

[1418] 排除标准

[1419] 符合本研究资格的患者不得满足以下任何标准:

[1420] 1. 对其他mAb (适用时,或在与ADC相同的骨架mAb或对相同的IO mAb) 有严重超敏反应的病史

[1421] 2. 人类血清ADA对与ADC中一样的mAb骨架呈阳性的既知病史

[1422] 3. 仅中枢神经系统 (CNS) 疾病 (适用时)

[1423] 4. 有症状的CNS转移或软脑膜病的证据(脑MRI或以前记录的脑脊液 (CSF) 细胞学)

[1424] ➤ 以前治疗的无症状的CNS转移是允许的,前提是最后一次治疗(全身性抗癌治疗和/或局部放射治疗)在给药第1天前 $\geq 8$ 周完成,除了允许递减使用低剂量类固醇除外)

[1425] ➤ 患有离散硬脑膜转移的患者符合资格。

[1426] 5. 具有超出如下定义的范围实验室值的患者:

[1427] • 血清肌酐 $\leq 1.5 \times$  ULN。如果血清肌酐 $> 1.5$ ,则肌酐清除率(使用Cockcroft-Gault公式计算或测量)必须 $> 60 \text{ mL/min/1.73m}^2$ 才能使患者符合条件

[1428] • 总胆红素 $> 1.5 \times$  ULN,除了吉尔伯特综合征患者,其在总胆红素 $> 3.0 \times$  ULN或直接胆红素 $> 1.5 \times$  ULN时被排除

[1429] • 丙氨酸氨基转移酶 (ALT)  $> 3 \times$  ULN,除了患有肝脏肿瘤的患者,其在ALT $> 5 \times$

ULN时被排除

[1430] • 天冬氨酸氨基转移酶 (AST)  $> 3 \times$  ULN,除了患有肝脏肿瘤的患者,其在AST $> 5 \times$  ULN时被排除

[1431] • 绝对中性粒细胞计数 $< 1.0 \times 10^9/L$

[1432] • 血小板计数 $< 75 \times 10^9/L$

[1433] • 血红蛋白 (Hgb)  $< 8 g/dL$

[1434] • 钾、镁、钙或磷酸盐异常 $> CTCAE$  1级,尽管有适当的替代疗法

[1435] 6. 心脏功能受损或临床上显著的心脏病,包括以下任一种:

[1436] • 临床上显著和/或不受控制的心脏病,例如需要治疗的充血性心力衰竭 (NYHA III级或IV级)或由收缩血压 (SBP) 160mm Hg和/或舒张血压 (DBP) 100mm Hg定义的不受控制的高血压,不管是否服用抗高血压药物。

[1437] • 先天性长QT综合征,使用Fridericia校正进行筛查ECG时,对于女性,QTcF $> 470$  毫秒,或对于男性 $> 450$ 毫秒

[1438] • 急性心肌梗死或不稳定型心绞痛 $< 3$ 个月(研究开始前数月)

[1439] • 临床上显著的瓣膜病,记录到心脏功能受损

[1440] • 有症状的心包炎

[1441] • 心肌病的病史或持续记录

[1442] • 通过超声心动图 (ECHO) 或多门控采集 (MUGA) 扫描确定,左心室射血分数 (LVEF)  $< 40\%$

[1443] • 任何临床上显著的心律失常的病史或存在,例如心室、室上性、节律性心律失常或传导异常 (TBC合格者:.....需要心脏起搏器或不用药物控制)

[1444] • 存在不稳定的心房颤动(心室反应率 $> 100bpm$ )。

[1445] ➤ 注意:如果患者不符合其他心脏排除标准,可以登记患有稳定的心房颤动的患者。

[1446] • 完全性左束支传导阻滞 (LBBB),双分支传导阻滞

[1447] • 任何临床上显著的ST段和/或T波异常

[1448] 7. 由于先前的IO治疗导致治疗中断的毒性。如果这些毒性不会导致先前治疗的中断,则不排除药物相关的皮疹的或对内分泌病采用替代疗法进行充分治疗的患者。

[1449] 8. 患有活动性、已知或疑似自身免疫疾病的患者。允许登记患有白癜风、I型糖尿病、由于自身免疫性疾病仅需要激素替代而导致的残留甲状腺功能减退症、不需要全身治疗的牛皮癣、或者预期在不存在外部触发的情况下不会复发的病状的受试者,只要可以避免触发。

[1450] 9. 人类免疫缺陷病毒 (HIV) 或活动性乙型肝炎 (HBV) 或丙型肝炎 (HCV) 病毒感染

[1451] ➤ 测试不能强制合格。如果患者处于患有未确诊的HCV的风险(例如注射吸毒史),应考虑HCV的测试。

[1452] 10. 恶性疾病,除了在本研究中治疗的疾病之外。这种排除的例外情况包括以下:在研究治疗前2年内治愈并且未复发的恶性肿瘤;完全切除的基底细胞和鳞状细胞皮肤癌;任何被认为是无痛的并且从不需要治疗的恶性肿瘤;以及完全切除的任何类型的原位癌。

[1453] 11. 在第一剂量的研究治疗的2周内进行全身性抗癌治疗。对于具有重大延迟毒性



的细胞毒性剂,例如丝裂霉素C和亚硝基脲,清除期被指定为4周。对于接受抗癌免疫疗法诸如CTLA-4拮抗剂的患者,清除期被指定为6周。

[1454] 12. 活动性腹泻CTCAE 2级或与慢性腹泻相关的疾病(诸如肠易激综合征、炎症肠病)

[1455] 13. 存在2: 由于先前的癌症治疗导致的CTCAE 2级毒性(除了脱发、外周神经病和耳毒性,其在 $\geq$ CTCAE 3级时被排除)。

[1456] 14. 需要全身性抗生素治疗的活动性感染。

[1457] 15. 上消化道的活动性溃疡或胃肠道出血

[1458] 16. 活动性出血素因或口服抗维生素K药物(除了低剂量华法林和阿司匹林或同等药,只要 $INR \leq 2.0$ )

[1459] 17. 活动性自身免疫疾病、被认为是自身免疫来源的运动神经病以及其他CNS自身免疫疾病

[1460] 18. 需要伴随免疫抑制剂或长期使用肾上腺皮质激素治疗的患者,除了:

[1461] ➤ 在肾上腺皮质功能不全的情况下替代给药类固醇

[1462] ➤ 允许局部、吸入、鼻腔和眼用类固醇

[1463] 19. 在开始研究治疗的4周内使用任何针对传染病(例如流感、水痘、肺炎球菌)的活疫苗(注意,在整个研究期间不允许使用活疫苗)

[1464] 20. 研究药物开始前 $<2$ 周使用造血集落刺激生长因子(例如G-CSF、GM-CSF、M-CSF)。允许红细胞刺激剂,只要在第一剂量的研究治疗之前至少2周开始。

[1465] 21. 在第一剂量的研究治疗的2周内进行大手术(注意,纵隔镜检查、插入中心静脉进入装置或插入饲管不被认为是大手术)。

[1466] 22. 在第一剂量的研究药物的2周内进行放射治疗,除了对有限区域进行姑息性放射治疗,例如用于治疗骨痛或局部疼痛的肿块。为了评估对治疗的反应,患者必须患有尚未被照射的其余可测量疾病。

[1467] 23. 在第一剂量的研究治疗的2周内参与介入性研究性研究。

[1468] 24. 在研究者的判断中,由于安全考虑、对临床研究程序的顺应性或对研究结果的解释,任何医学病症都将阻止患者参与临床研究。

[1469] 25. 性欲旺盛的男性,除非他们在服用药物时并在停止研究治疗后持续90天在性交期间使用安全套,并且在此期间不应该生育孩子。切除输精管的男性也需要使用避孕套,以防止通过精液递送药物。

[1470] 26. 怀孕或哺乳期妇女,其中怀孕被定义为女性受孕后直至妊娠终止的状态,其通过阳性hCG实验室试验确认。在罕见的内分泌分泌瘤的情况下,hCG水平可能高于正常限值但患者没有怀孕。在这些情况下,应该重复血清hCG测试(具有未上升结果)和阴道/盆腔超声以排除怀孕。在确认结果并与医疗代表讨论后,这些患者可以进入研究。

[1471] 27. 具有生育潜力的妇女,定义为所有生理上能够怀孕的妇女,除非她们在研究治疗期间和最后任一剂量的研究治疗后持续90天使用高效避孕方法。高效避孕方法包括:

[1472] • 完全禁欲(当这符合患者的优选和惯常的生活方式时。定期禁欲(例如,日历、排卵、症状体温、排卵后方法)和戒断是不可接受的避孕方法

[1473] • 在进行研究治疗前至少6周,女性绝育(进行外科双侧卵巢切除术,不管是否采

用子宫切除术)、全子宫切除术或输卵管结扎术。仅在卵巢切除术的情况下,仅在通过随访激素水平评估确认了女性的生殖状态时

[1474] • 男性绝育(筛查前至少6个月)。对于研究中的女性患者,输精管切除的男性伴侣应是该患者的唯一伴侣。

[1475] • 使用口服(雌激素和孕酮)、注射或植入的组合激素避孕方法或放置宫内节育器(IUD)或宫内节育系统(IUS)或具有相当疗效的其他形式的激素避孕(失败率<1%),例如激素阴道环或透皮激素避孕。

[1476] ➤ 在使用口服避孕的情况下,女性应在进行研究治疗前最少3个月内服用同一种药丸。

[1477] ➤ 如果女性患有12个月的自然(自发性)闭经且具有适当的临床特征(例如适合年龄的血管舒缩症状的病史)或至少6周前进行过外科双侧卵巢切除术(不管是否采用子宫切除术)或输卵管结扎,则认为女性是绝经后的并且不具有生育潜力。仅在卵巢切除术的情况下,仅当通过随访激素水平评估确认女性的生殖状态时,才认为她不具有生育潜力。

[1478] 剂量限制性毒性和剂量修改指南

[1479] 剂量限制性毒性(DLT)被定义为在21天DLT评估期间发生的根据研究者判断被认为至少可能与ADC相关的任何以下事件。与主要疾病或另一种病因明确且直接相关的毒性不包括在此定义中。

[1480] DLT定义

[1481] 血液学DLT被定义为:

[1482] ■ 3级或4级发热性中性粒细胞减少症或中性粒细胞减少性感染

[1483] ■ 4级中性粒细胞减少症持续>7天

[1484] ■ 4级血小板减少症

[1485] ■ 3级血小板减少症伴有临床上显著出血,或需要血小板输注的3级血小板减少症

[1486] ■ 需要输血的3级贫血

[1487] ■ 4级贫血

[1488] 非血液学DLT被定义为:

[1489] ■ 4级非血液学毒性

[1490] ■ 3级非血液学毒性持续>3天,尽管存在最佳的支持治疗或医疗干预

[1491] ■ 一例Hy's定律( $AST$ 和/或 $ALT > 3 \times ULN$ 和胆红素 $> 2 \times ULN$ ,并且初期未发现胆汁淤积(血清碱性磷酸酶( $ALP$ )活性 $< 2 \times ULN$ ),并且没有其他原因可以解释增加的转氨酶和血清总胆红素组合,诸如病毒性甲型肝炎、乙型肝炎或丙型肝炎、既往或急性肝病、或其他能够引起所观察到的损伤的药物)

[1492] ■ 3级或更高级的超敏反应/输注相关反应(无论是否术前用药)。3级超敏反应/输注相关反应,其在发病后8小时内消退,适当的临床管理不符合DLT的条件。

[1493] ■ LVEF从基线降低至 $< 40\%$ 或 $> 20\%$

[1494] ■ 4级肿瘤溶解综合征(3级TLS不会构成DLT,除非其导致不可逆的终末器官损害)

[1495] 以下条件不被视为非血液学DLT:

[1496] • 3级疲劳持续 $\leq 7$ 天

[1497] • 在没有术前用药时的3级腹泻、恶心或呕吐,其治疗有反应并且3级事件在3天

内至少改善1级或者7天内达到 $\leq 1$ 级。

[1498] • AST或ALT升高 $\geq 5 \times \text{ULN}$ 但 $\leq 8 \times \text{ULN}$ ,未发生胆红素同时升高,在发病后5天内降级至 $\leq 2$ 级。

[1499] • 如果没有胰腺炎的临床体征或症状,3级血清脂肪酶或血清淀粉酶持续 $\leq 7$ 天

[1500] 经历通过适当医学管理消退或稳定的DLT的患者可以在与赞助商协商后由研究人员自行决定继续治疗。

[1501] 剂量修改

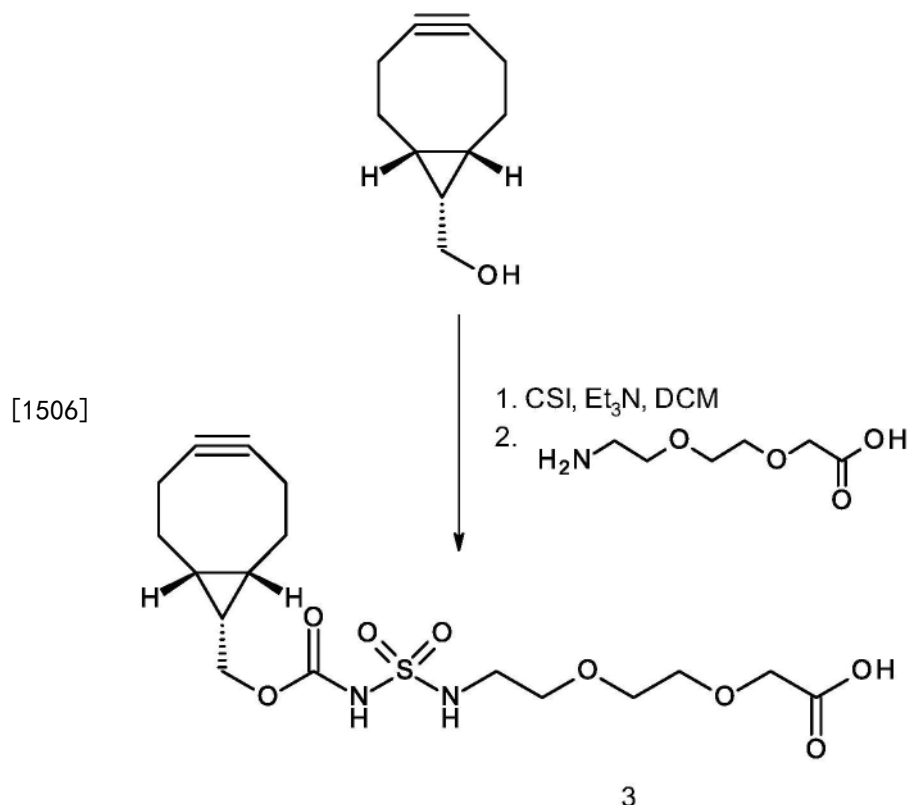
[1502] 特定毒性管理指南详见下表。对于表中未指定的事件的管理,以下内容可作为研究人员的指导:

AE 等级	ADC 管理指南
1	无需调整剂量。
2	<p><u>第一次出现:</u></p> <p>考虑保持一种或两种药物,直至改善至<math>\leq 1</math>级或基线。可以跳过多达 1 个剂量的一种或两种药物以允许改善。如果在从一种或两种药物的计划(但错过)的最后一个剂量的 21 天内发生改善至<math>\leq 1</math>级或基线,则在随后的治疗周期中以原始指定剂量水平继续使用一种或两种药物。</p> <p>如果在从计划(但错过)的最后一个剂量的 21 天内未发生改善至<math>\leq 1</math>级或基线,则永久停用一种或两种药物。</p> <p><u>第二次出现:</u></p> <p>保持一种或两种药物,直至改善至<math>\leq 1</math>级或基线。可以跳过多达 1 个剂量的一种或两种药物以允许消退。如果在从计划(但错过)的最后一个剂量的 21 天内发生改善至<math>\leq 1</math>级或基线,则在随后的治疗周期中以低于原始指定剂量的 1 个剂量水平继续使用一种或两种药物。如果在从计划(但错过)的最后一个剂量的 21 天内未发生改善至<math>\leq 1</math>级或基线,则永久停用一种或两种药物。</p> <p><u>第三次出现:</u></p> <p>永久停用一种或两种药物。</p>
3	<u>第一次出现:</u>

[1503]

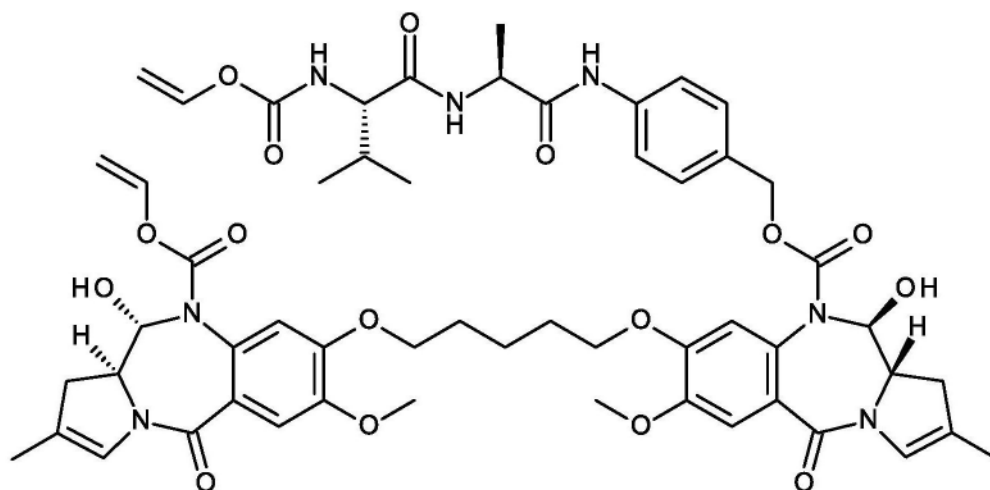
[1504]	保持一种或两种药物, 直至改善至 $\leq 1$ 级或基线。可以跳过多达 1 个剂量的一种或两种药物以允许改善, 然后在随后的治疗周期中以低于原始指定剂量的 1 个剂量水平继续使用。 <u>第二次出现:</u> 永久停用一种或两种药物。
4	永久停用一种或两种药物。

## [1505] 实施例4: 中间体3的合成



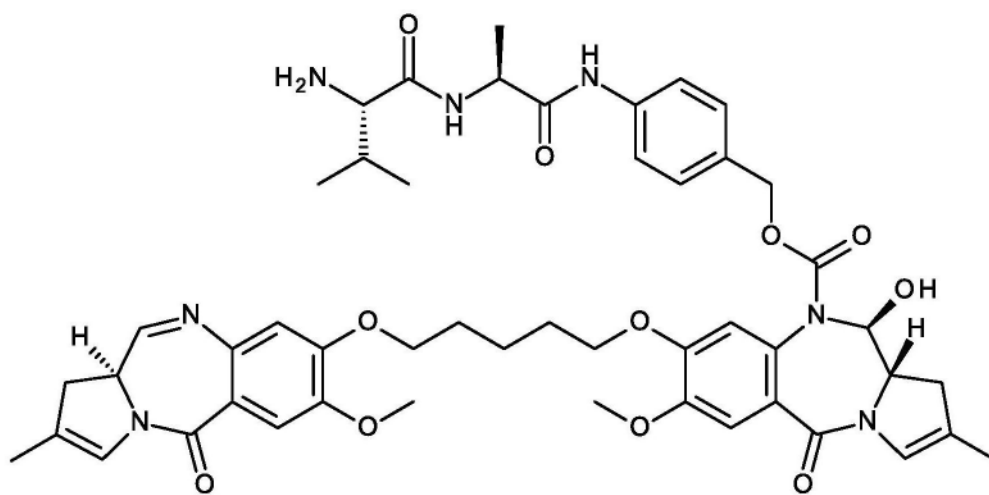
[1507] 在N<sub>2</sub>气氛下将BCN醇(0.384g, 2.55mmol)在MeCN(25mL)中的溶液冷却至0℃, 并逐滴添加氯磺酰基异氰酸酯(CSI)(0.255mL, 415mg, 2.93mmol, 1.15当量)。搅拌15分钟后, 逐滴添加Et<sub>3</sub>N(1.42mL, 1.03g, 10.2mmol, 4当量)并且再继续搅拌10分钟。接着, 添加2-(2-(2-氨基乙氧基)乙氧基)乙酸(1.0g, 6.1mmol, 2.4当量)在H<sub>2</sub>O(5mL)中的溶液, 将反应混合物在室温下搅拌2小时。此后, 添加CHCl<sub>3</sub>(50mL)和H<sub>2</sub>O(100mL), 并分离各层。向分液漏斗中的水层添加CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(100mL)并在分离各层之前用1N HCl将pH调节至4。将水层用CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(2×100mL)萃取两次, 将有机层合并并干燥(Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)、过滤并浓缩。在二氧化硅上通过瓶柱色谱纯化残余物, 用CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>至CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>中的20% MeOH洗脱。得到为无色粘性蜡状物的0.42g(1.0mmol, 39%)的3。

## [1508] 实施例5: 药物接头的合成

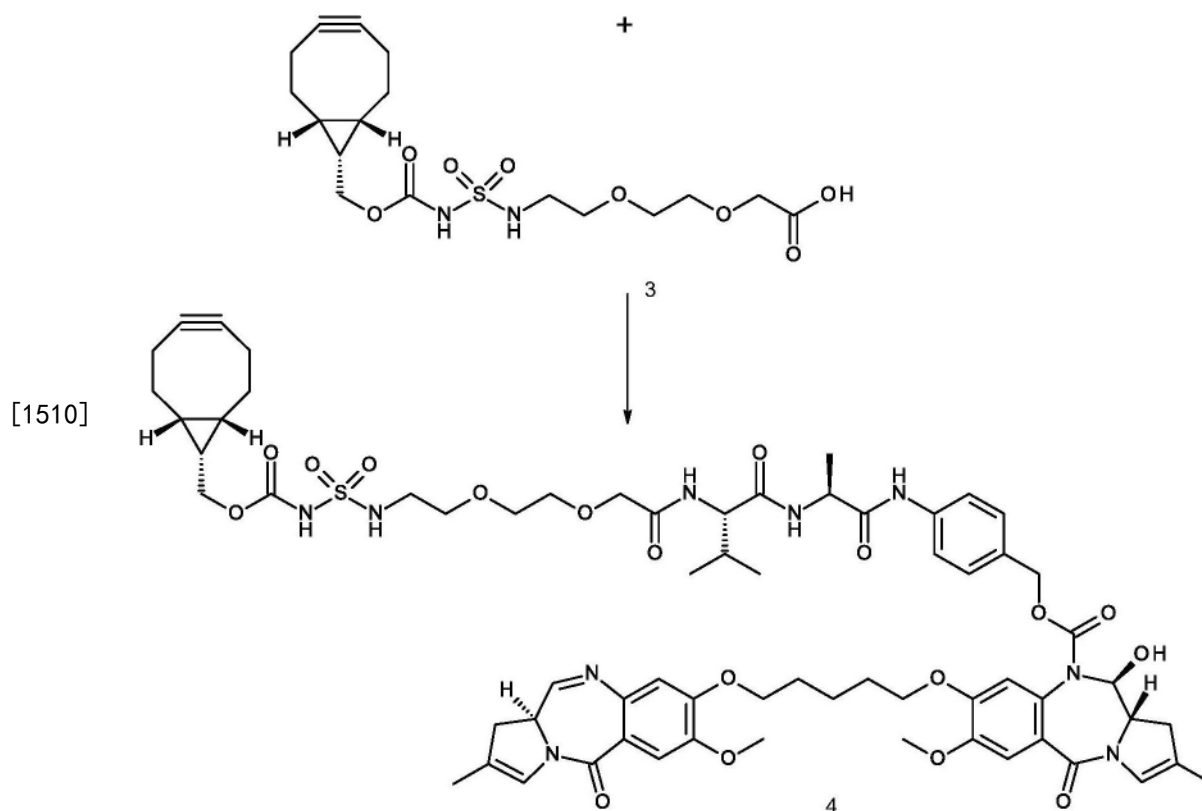


1

[1509]



2



[1511] 化合物1可如W02014/057074中所述进行合成-参见化合物22。

[1512] (a) 称取四三苯基膦钯 ( $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ , 4.8mg, 4.15 $\mu\text{mol}$ ) 并将其放置在惰性气氛下。通过将 $\text{N}_2$ 鼓泡通过溶液来使吡咯烷 (5.0 $\mu\text{L}$ , 4.3mg, 60 $\mu\text{mol}$ ) 在DCM (1mL) 中的溶液脱气。通过将 $\text{N}_2$ 鼓泡通过溶液来使1 (27mg, 24 $\mu\text{mol}$ ) 在DCM (6mL) 中的溶液脱气。在将 $\text{N}_2$ 鼓泡通过溶液的同时, 添加脱气的吡咯烷溶液。将称取的 $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$  溶解在DCM (1mL) 中并添加0.9mL此溶液。在 $\text{N}_2$ 鼓泡50min后, 添加DCM (25mL) 并且将混合物用饱和 $\text{NH}_4\text{Cl}$  (25mL) 水溶液洗涤。分离后, 用DCM (2 $\times$  25mL) 萃取水层。将合并的有机层干燥 ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) 并浓缩。通过RP-HPLC (在 $\text{H}_2\text{O}$  (0.1% 甲酸) 中的30% - 90% MeCN (0.1% 甲酸)) 纯化残余物。将合并的级分通过SPE ( $\text{HCO}_3^-$ ) 柱并浓缩。添加MeCN (50mL) 后, 再次将混合物浓缩。所得的残余物2用于下一步骤。

[1513] 可以通过LCMS分析监测反应的转化。柱: XBridge BEH C18 Intelligent Speed (IS) 柱, 130 $\text{\AA}$ , 3.5 $\mu\text{m}$  (4.6mm  $\times$  20mm)。流动相A: 水 (0.1% 甲酸), 流动相B (0.1% 甲酸)。用PDA和ESI+进行检测。可以通过用MeCN稀释反应混合物来制备样品。

[1514] (b) 向以上残余物2在 $\text{CHCl}_3$  (5mL) 中的溶液中添加3 (15mg, 36 $\mu\text{mol}$ , 分子量418g/mol) 在 $\text{CHCl}_3$  (0.8mL) 中的溶液。将所得混合物添加到固体EDC.HCl (4.7mg, 25 $\mu\text{mol}$ ) 中, 添加 $\text{CHCl}_3$  (5mL) 并将混合物搅拌30分钟。添加DCM (30mL) 并且用水 (30mL) 洗涤所得的混合物。分离后, 用DCM (30mL) 萃取水层。将合并的有机层干燥 ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) 并浓缩。通过RP-HPLC (在 $\text{H}_2\text{O}$  (0.01% 甲酸) 中的30% - 90% MeCN (无酸)) 纯化残余物。在收集前, 用5% 含水 ( $\text{NH}_4$ )  $\text{HCO}_3$  填充HPLC收集管。然后用DCM (3 $\times$  20mL) 萃取合并的HPLC级分。将合并的有机层干燥 ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) 并浓缩。获得呈浅黄色/白色油状物的产物4 (21mg, 16 $\mu\text{mol}$ , 分子量1323g/mol, 67%, 经两步)。

[1515] 可以通过LCMS分析监测反应的转化。柱: XBridge BEH C18 Intelligent Speed (IS) 柱, 130 $\text{\AA}$ , 3.5 $\mu\text{m}$  (4.6mm  $\times$  20mm)。流动相A: 水 (0.1% 甲酸), 流动相B (0.1% 甲酸)。用

PDA和ESI+进行检测。

[1516] 实施例6:抗体修饰

[1517] 反应条件

[1518] 一锅聚糖重塑的反应条件是:

[1519] 15mg/ml AXL抗体 (约0.1mM)

[1520] 来自化脓性链球菌的0.15mg/mL EndoSH (1% w/w)

[1521] 1.13mg/mL His-TnGalNAcT (7.5% w/w) 半乳糖-N-乙酰转移酶 (GalNAcT)

[1522] 2.5mM 6-N<sub>3</sub>GalNAc-UDP (25当量, 相比于IgG)

[1523] 10mM MnCl<sub>2</sub>

[1524] 25mM Tris HCl pH 8.0

[1525] 150mM NaCl

[1526] 在30°C下温育16小时

[1527] 程序

[1528] 此实施例的规模为25mg, 这可根据需要改变。各个组分按顺序添加并混合:

[1529] 106.5μL 25mM Tris pH 8.0、150mM NaCl (获得1667μL的最终体积)

[1530] 1mL的在25mM Tris pH 8.0、150mM NaCl中的25mg/mL AXL抗体

[1531] 71.4μL的在25mM Tris pH 8.0中的3.5mg/mL EndoSH

[1532] 389μL的在25mM Tris pH 8.0中的4.82mg/mL His-TnGalNAcT

[1533] 16.7μL的在MQ中的1M MnCl<sub>2</sub>

[1534] 83.4μL的在MQ中的0.1M 6-N<sub>3</sub>GalNAc-UDP

[1535] 将此混合物在30°C下保持约16小时。可以通过对样品进行MS分析来评估修饰的半乳糖残基的完成。在蛋白A亲和纯化后, 可将少量产物样品用DTT还原并且随后进行MS分析。成功转移反应的典型质谱显示形成了一种主要产物(总重链的90%), 其由修饰的半乳糖转移至核心GlcNAc (Fuc) 取代的Ab产生, 以及一种次要产物(总重链的±10%), 其由修饰的半乳糖转移至核心GlcNAc (不具有岩藻糖) 取代的Ab产生。

[1536] 纯化程序

[1537] 缓冲液

[1538] 结合/洗涤缓冲液 (TBS pH 7.5):

[1539] 20mM Tris HCl pH 7.5

[1540] 150mM NaCl

[1541] 用于内毒素去除的洗涤缓冲液 (TBS pH 7.5+Triton-X100):

[1542] 20mM TrisHCl pH 7.5

[1543] 150mM NaCl

[1544] 0.2% Triton X-100

[1545] 洗脱缓冲液:

[1546] 0.1M甘氨酸pH 2.7

[1547] CIP缓冲液:

[1548] 0.5M NaOH

[1549] 程序

- [1550] 1.使用以下缓冲液洗涤MabSelectSure 5mL柱(5mL/min),以便在应用样品前将柱清洁:
- [1551] 用至少5个柱体积(CV)的TBS pH7.5洗涤柱
- [1552] 用15CV 0.5M NaOH洗涤柱
- [1553] 用5CV TBS pH 7.5洗涤柱
- [1554] 用5CV甘氨酸pH 2.7洗涤柱
- [1555] 用TBS pH 7.5洗涤柱,直到获得中性pH
- [1556] 2.通过离心(5min,4000g)或过滤(0.22或0.45 $\mu$ m过滤器)除去反应混合物中的沉淀
- [1557] 3.以2mL/min将样品上样并以5mL/min进行以下步骤:
- [1558] 用至少20CV TBS=0.2%Triton X-100洗涤
- [1559] 用至少20CV TBS洗涤
- [1560] 用0.1M甘氨酸pH 2.7洗脱
- [1561] 4.立即通过添加1/5体积的1M Tris-HCl pH 8.0并混合来中和级分
- [1562] 5.在4 $^{\circ}$ C下用3x $\geq$ 50体积的PBS pH 7.4透析样品(3x $\geq$ 1小时)
- [1563] 6.使用旋转过滤装置将样品浓缩至约20mg/mL
- [1564] 实施例7:4与修饰抗体缀合以产生ConjA
- [1565] 反应条件
- [1566] 15mg/ml叠氮基修饰的AXL抗体(0.1M IgG)
- [1567] 0.5mM 4(相比于IgG 5当量=2.5当量/叠氮化物)
- [1568] 10%DMF或25%丙二醇
- [1569] PBS pH7.4
- [1570] 程序
- [1571] 1.在PBS pH7中添加9体积的16.67mg/ml叠氮基修饰的抗体
- [1572] 2.添加1体积的在DMF中的5mM 4并立即混合。
- [1573] 3.温育过夜。
- [1574] 4.通过RP-HPLC和MS测量转化率。
- [1575] 实施例8:ADC的纯化
- [1576] 样品制备
- [1577] 在上样到柱上之前,应满足以下要求:
- [1578] 有机溶剂 $\leq$ 5%
- [1579] 总样品体积 $\leq$ CV的3%(对于Superdex 20010/300GL,为 $\leq$ 720 $\mu$ L,并且对于Superdex 200HiLoad 26/600,为 $\leq$ 10ml)
- [1580] 无沉淀剂
- [1581] 可以使用以下程序完成以上要求:
- [1582] 1.用PBS pH7.4将样品稀释至 $\leq$ 5%的最终有机溶剂浓度
- [1583] 2.如果体积超过CV的3%,则使用Amicon Ultra离心过滤器(MWCO 10kDa)浓缩样品
- [1584] 3.通过离心除去可能的沉淀(在台式离心机中,10min,13000rpm)



[1585] 纯化

[1586] 使用Superdex 200 10/300GL柱 (CV=23ml, GE healthcare) 在Akta Purifier-10 上进行纯化。以0.5ml/min的流速进行以下洗涤步骤:

[1587] 用1CV水洗涤柱

[1588] 用1CV 0.5M NaOH洗涤柱。

[1589] 用PBS pH 7.4 (Sigma, D8537) 平衡柱, 直到获得中性pH。

[1590] 将样品与0.5ml/min PBS pH7.4一起注入并收集1ml级分 (总运行=1.5CV)。将单体级分汇集并在4°C下用3x 1L的配制缓冲液 (30mM组氨酸、200mM山梨糖醇、0.02% (w/v) tween-20, pH 6.0) 透析。使用0.22μm过滤器对样品进行过滤灭菌, 使用液氮快速冷冻并储存于-80°C。

[1591] fabricator消化的样品的质谱分析显示出一种主要产物 (观察质量25691Da, 总Fc/2片段的大约90%), 其与缀合的Fc/2片段相对应。还原样品的RP-HPLC分析表明平均DAR为1.98。

[1592] 实施例9: 体外细胞毒性

[1593] H1299细胞获自ATCC (ATCC编号CRL-5803)。H1299培养基是补充有10% Gibco FBS的杜氏改良伊格尔培养基 (Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM))。使细胞在37°C、5% CO<sub>2</sub>下在湿润的培养箱中生长。将细胞悬浮液分配到96孔平底板中 (每孔104个细胞)。在细胞培养基中制备储备ADC的一组8x 10倍稀释液。将各ADC稀释液 (50μl/孔) 分配到96孔板的含有细胞悬浮液的4个重复孔中。通过仅添加相同体积的培养基来制备对照孔。温育96小时后, 通过3-(4,5-二甲基噻唑-2-基)-5-(3-羧基甲氧基-苯基)-2-(4-磺苯基)-2H-四唑鎓 (MTS) 测定 (Promega, 目录号G5421) 按照制造商的说明测量细胞活力。在490nm处测量吸光度。细胞存活率 (%) 计算自4个ADC处理孔中的平均吸光度, 相比于4个对照孔中的平均吸光度 (100%)。由3个重复实验的平均数据生成剂量反应曲线, 并且通过使用Prism (GraphPad, San Diego, CA) 将数据拟合至具有可变斜率的S型剂量-反应曲线来确定EC<sub>50</sub>值。误差条指示标准偏差 (SD)。

[1594] 发现ConjA的EC<sub>50</sub>为0.0554μg/mL。

[1595] 实施例10: 抗原结合研究

[1596] 将Maxisorp板在+4°C下用人类Ax1抗原包被过夜 (50ng/孔; 在PBS中分批)。用SuperBlock缓冲液封闭非反应性位点 (在+4°C或室温下过夜)。在样品缓冲液/PBS/Tween20中制备储备ADC的一组8x 3倍或5倍稀释液。将各ADC稀释液 (60μl/孔) 分配到包被板的4个重复孔中。通过添加相同体积的样品缓冲液/PBS/Tween20来制备对照孔。抗人类κ IgG-辣根过氧化物酶 (HRP) 缀合物用作二抗 (1:5000, 室温下1小时)。用1-Step Ultra TMB-ELISA底物溶液 (75μL/孔; 室温下5分钟) 检测HRP。用0.6M HCl (75μL/孔) 终止底物反应。使用450nm过氧化物酶程序在Envision上在450nm下测量光密度。使用Prism (GraphPad, San Diego, CA) 从3次重复实验的平均数据产生抗原结合曲线。图2示出所获得的结果, 其中▲为ConjA。误差条指示平均值的标准误差 (SEM)。ConjA与包被在板上的Ax1的细胞外结构域以高亲和力结合。

[1597] 实施例11: 体内功效研究

[1598] 将5x 10<sup>6</sup>个MDA-MB-231肿瘤细胞皮下植入雌性无胸腺裸小鼠中。当肿瘤体积达到

88-172mm<sup>3</sup>时,开始使用媒介物或测试项目的ADC给药。ConjA以1mg/kg的剂量水平通过尾静脉注射静脉内(i.v.)施用一次。给药体积为10mL/kg体重,并逐步升高至每一只动物的体重。在肿瘤体积达到1500mm<sup>3</sup>的终点体积或在研究结束时(以先到者为准)对动物实施安乐死。在研究期间监测动物体重、任何不利的体征、治疗相关的副作用和临床体征。为了计算组平均肿瘤体积,应用以下规则:当动物由于肿瘤尺寸退出研究时,所记录的该动物的最终肿瘤体积被包括在内,其中该数据用于计算后续时间点的平均体积。当一组中少于50%的动物保留在研究中时,肿瘤体积和体重值不用于计算组平均肿瘤体积/体重。Prism (GraphPad, San Diego, CA) 用于图形表示和统计分析。图3示出所获得的结果,其中▲为ConjA,并且○是单独的媒介物。误差条指示SEM。

[1599] 单剂量的1mg/kg的ConjA强烈抑制肿瘤生长,其中10/10小鼠在给药后60天是无肿瘤的。

[1600] 实施例12:大鼠毒理学研究

[1601] 方法

[1602] 在单次静脉内剂量大鼠耐受性研究中评估ConjA。雄性sprague-dawley大鼠(n=3/组)在第1天以3和6mg/kg给药ConjA,在给药后第21天进行尸体剖检。通过用于临床病理学的生命取样(第8天和第21天的血液)和用于药代动力学的重复取样,频繁监测体重和食物消耗。在尸体剖检时,对选定的器官进行肉眼观察,称重并保留以用于可能的组织病理学。

[1603] ConjA在3和6mg/kg下具有良好的临床耐受性。3和6mg/kg组的体重增加分别减少11%和21%,与食物消耗减少一致。若干血液学参数在第8天减少,主要在6mg/kg剂量组中(网织红细胞(-76%)、血红蛋白(-29%)、白血细胞(-66%)和血小板(-37%)),其中一些证据表明在第21天恢复。在尸体剖检时,在所有动物中观察到胸腺重量减少。因此,ConjA的最大耐受剂量(MTD)为6mg/kg。

[1604] 实施例13:在SN12C细胞(AXL高表达)中ADCxAXL与阿糖胞苷、地西他滨、吉西他滨、奥拉帕尼和氟达拉滨各自之间的协同作用

[1605] 在第1天将细胞以10,000个细胞/孔接种在96孔板中,每个实验重复3次,总n为3。在第2天以不同剂量添加组合药物(参见附图)并在37°C、5%CO<sub>2</sub>下温育24小时。仅同时以下列剂量范围添加药物对照,均以10倍稀释。

[1606] 在第3天,将ADCxAXL添加至含有药物的细胞或仅作为对照的培养基,剂量范围为0.001pM-100nM,稀释10倍,并再温育5天(3倍细胞倍增时间)。使用MTT测定法在Thermo Labsystems Multiscan Ascent读板仪上在492nm下分析吸收。

[1607] 使用Graphpad Prism v5.02分析数据,并使用Calculusyn v2.11对协同作用绘图。强协同作用表明CI值<0.7-中等协同作用具有>0.7且<1的CI值。

[1608] 结果显示在图4(阿糖胞苷)、图5(氟达拉滨)、图6(地西他滨)、图7(奥拉帕尼)和图8(吉西他滨)中。

[1609] 实施例14:ADCxAXL与MEKi和BRAFi各自之间的协同作用

[1610] MEKi

[1611] 合适的MEK抑制剂的实例,例如曲美替尼、考比替尼、比美替尼、司美替尼、U0126或PD325901。

[1612] MEK抑制剂(MEKi)抑制促分裂原活化蛋白激酶MEK1和/或MEK2。它们可用于影响在一些癌症中通常过度活跃的MAPK/ERK途径。MAP/ERK途径中的缺陷可导致不受控制的生长,尤其是在黑素瘤中。因此,MEK抑制剂具有治疗某些癌症的潜力,尤其是BRAF突变的黑素瘤和KRAS/BRAF突变的结肠直肠癌(Wang等人,Biochim.Biophys Acta 1773(8):1248-1255(2007)。有趣的是,根据Miller等人(Cancer Discovery6(4):382-399,2016),肿瘤细胞与MEKi(U0126或PD325901)的温育诱导了肿瘤细胞膜上AXL的强烈积累。

#### [1613] 曲美替尼

[1614] 曲美替尼(商品名Mekinist)是抑制MEK1和MEK2的MEK抑制剂。它被批准用于治疗患有BRAF V600E突变的转移性黑素瘤的患者。V600E突变使突变BRAF基因具有组成型活性,从而驱动黑素瘤增殖。通过抑制MAP/ERK途径,阻断细胞增殖并诱导细胞凋亡(受控细胞死亡)。

[1615] 将靶向AXL阳性肿瘤的ADCxAXL与MEKi组合是有利的,因为一方面,ADCxAXL将通过依赖于DNA交联的机制直接杀死AXL阳性肿瘤细胞,从而导致细胞凋亡,而另一方面,MEKi将通过抑制MAP/ERK细胞信号传导途径来干扰细胞增殖而诱导细胞凋亡。此外,将ADCxAXL与MEKi组合是有利的,因为MEKi上调AXL将增加ADCxAXL摄取到肿瘤细胞中,从而导致更高的PBD二聚体积积累和随后的DNA损伤,进而导致更高的癌细胞死亡。

[1616] 为了显示用ADCxAXL和MEKi共同处理AXL阳性癌细胞系具有加成或协同抗肿瘤作用,将一组细胞系(包括但不限于MDA-MB231、SN12C、MDA-MB-157和SKLU1)与细胞和MEKi一起预温育多至24小时(1或10 $\mu$ M),并且将然后添加连续稀释的ADCxAXL(或B12-PL1601作为对照)。温育后,将测量组合的体外细胞毒性(如通过CellTiter-Glo®或MTS测定法测定)。

[1617] 替代地,包括但不限于MDA-MB231、SN12C、MDA-MB-157和SKLU1的一组细胞系将用一系列浓度的ADCxAXL和MEKi共同处理。

[1618] 作为阴性对照,同一组细胞系将用一系列浓度的曲美替尼或一系列浓度的ADCxAXL和媒介物共同处理。

[1619] 温育后,将测量组合的体外细胞毒性(如通过CellTiter-Glo®或MTS测定法测定)。与未处理的对照相比,计算细胞活力百分比。通过将细胞活力数据转化为受影响的分数并使用CalcuSyn分析程序计算组合指数来计算细胞毒性协同作用。

#### [1620] BRAFi

[1621] 合适的BRAF抑制剂的实例,例如维罗非尼和达帕非尼。BRAF抑制剂直接抑制(突变的)B-Raf蛋白。BRAF的突变可导致不受控制的生长,尤其是在黑素瘤中。

#### [1622] 维罗非尼

[1623] 维罗非尼(商品名Zelboraf)直接抑制B-Raf。它被批准用于治疗患有由V600E B-Raf突变基因驱动的晚期黑素瘤的患者。此突变使突变BRAF基因具有组成型活性,从而驱动黑素瘤增殖。通过抑制突变的B-Raf,阻断细胞增殖并诱导细胞凋亡(受控细胞死亡)。

[1624] 将靶向AXL阳性肿瘤的ADCxAXL与维罗非尼组合是有利的,因为一方面,ADCxAXL将通过依赖于DNA交联的机制直接杀死AXL阳性肿瘤细胞,从而导致细胞凋亡,而另一方面,维罗非尼将通过抑制BRAF来干扰细胞增殖而诱导细胞凋亡。

[1625] 为了显示ADCxAXL与维罗非尼协同作用,将一组AXL(+)细胞系(包括但不限于MDA-MB231、NCI-H1299和SNU12细胞)将用一系列浓度的ADCxAXL与维罗非尼共同处理。

[1626] 作为阴性对照,同一组细胞系将用一系列浓度的曲美替尼或一系列浓度的ADCxAXL和媒介物共同处理。

[1627] 温育后,将通过MTS测定确定组合的体外细胞毒性。为了确定细胞毒性,通过每孔添加MTS并在37°C下温育4小时来测量细胞活力。与未处理的对照相比,计算细胞活力百分比。通过将细胞活力数据转化为受影响的分数并使用CalcuSyn分析程序计算组合指数来计算细胞毒性协同作用。

[1628] 实施例15:ADCxAXL与免疫肿瘤学(I/O)第二药剂PD1拮抗剂、PDL1拮抗剂、CTLA4拮抗剂、OX40激动剂和GITR激动剂各自之间的针对AXL+ve肿瘤细胞的协同作用

[1629] PD1拮抗剂

[1630] 为了测试针对AXL的基于PBD的ADC与PD1拮抗剂组合是否显示出加成或协同作用,在免疫活性小鼠的同系肿瘤模型体内测试此组合(对于AXL,可能合适的模型包括4T1、EMT-6、EMT-6-BRCA1(-/-)、EMT-6-BRCA1(+/-)、4T1-BRCA1(+/-)、KLN205、Lewis肺癌、Madison109 Colon26、CT26、MC38、GL261、B16F10、CloudmanS91、Pan02、Renca和MBT-2)。出于此目的,将与小鼠AXL交叉反应的抗体与PBD弹头缀合,并将此ADC与PD1拮抗剂一起施用至用表达AXL的小鼠肿瘤细胞系移植的小鼠。ADC在PD1拮抗剂之前、与PD1拮抗剂同时或在PD1拮抗剂之后施用,如由实验者所决定。

[1631] 通常,ADC以0.1至1mg/kg之间的单剂量给药,而PD1拮抗剂以1至10mg/kg之间的剂量给药Q3d×3。对照组包括单独的ADC或PD1拮抗剂。随后对所有组测量肿瘤体积和体重,长达60天,并且在每组中测定部分响应(PR)、完全响应(CR)无肿瘤存活(TFS)小鼠的数量。

[1632] 进行统计学分析(通常是对数秩检验)以确定用所述组合治疗的小鼠是否优于用单独的ADC或PD1拮抗剂治疗的小鼠。

[1633] PDL1拮抗剂

[1634] 为了测试针对AXL的基于PBD的ADC与PDL1拮抗剂组合是否显示出加成或协同作用,在免疫活性小鼠的同系肿瘤模型体内测试所述组合。出于此目的,将与小鼠AXL交叉反应的抗体与PBD弹头缀合,并将此ADC与PDL1拮抗剂一起施用至用表达AXL的小鼠肿瘤细胞系移植的小鼠。ADC在PDL1拮抗剂之前、与PDL1拮抗剂同时或在PDL1拮抗剂之后施用,如由实验者所决定。

[1635] 通常,ADC以0.1至1mg/kg之间的单剂量给药,而PD1拮抗剂以1至10mg/kg之间的剂量给药Q3d×3。对照组包括单独的ADC或PDL1拮抗剂。随后对所有组测量肿瘤体积和体重,长达60天,并且在每组中测定部分响应(PR)、完全响应(CR)无肿瘤存活(TFS)小鼠的数量。

[1636] 进行统计学分析(通常是对数秩检验)以确定用所述组合治疗的小鼠是否优于用单独的ADC或PDL1拮抗剂治疗的小鼠。

[1637] CTLA4拮抗剂

[1638] 为了测试针对AXL的基于PBD的ADC与CTLA4拮抗剂组合是否显示出加成或协同作用,在免疫活性小鼠的同系肿瘤模型体内测试所述组合。出于此目的,将与小鼠AXL交叉反应的抗体与PBD弹头缀合,并将此ADC与CTLA4拮抗剂一起施用至用表达AXL的小鼠肿瘤细胞系移植的小鼠。ADC在CTLA4拮抗剂之前、与CTLA4拮抗剂同时或在CTLA4拮抗剂之后施用,如由实验者所决定。

[1639] 通常,ADC以0.1至1mg/kg之间的单剂量给药,而CTLA4拮抗剂以1至10mg/kg之间的

剂量给药Q3d×3。对照组包括单独的ADC或CTLA4拮抗剂。随后对所有组测量肿瘤体积和体重,长达60天,并且在每组中测定部分响应(PR)、完全响应(CR)无肿瘤存活(TFS)小鼠的数量。

[1640] 进行统计学分析(通常是对数秩检验)以确定用所述组合治疗的小鼠是否优于用单独的ADC或CTLA4拮抗剂治疗的小鼠。

#### [1641] OX40激动剂

[1642] 为了测试针对AXL的基于PBD的ADC与OX40激动剂组合是否显示出加成或协同作用,在免疫活性小鼠的同系肿瘤模型体内测试所述组合。出于此目的,将与小鼠AXL交叉反应的抗体与PBD弹头缀合,并将此ADC与OX40激动剂一起施用至用表达AXL的小鼠肿瘤细胞系移植的小鼠。ADC在OX40激动剂之前、与OX40激动剂同时或在OX40激动剂之后施用,如由实验者所决定。

[1643] 通常,ADC以0.1至1mg/kg之间的单剂量给药,而OX40激动剂以1至10mg/kg之间的剂量给药Q3d×3。对照组包括单独的ADC或OX40激动剂。随后对所有组测量肿瘤体积和体重,长达60天,并且在每组中测定部分响应(PR)、完全响应(CR)无肿瘤存活(TFS)小鼠的数量。

[1644] 进行统计学分析(通常是对数秩检验)以确定用所述组合治疗的小鼠是否优于用单独的ADC或OX40激动剂治疗的小鼠。

#### [1645] GITR激动剂

[1646] 为了测试针对AXL的基于PBD的ADC与GITR激动剂组合是否显示出加成或协同作用,在免疫活性小鼠的同系肿瘤模型体内测试此组合。出于此目的,将与小鼠AXL交叉反应的抗体与PBD弹头缀合,并将此ADC与GITR激动剂一起施用至用表达AXL的小鼠肿瘤细胞系移植的小鼠。ADC在GITR激动剂之前、与GITR激动剂同时或在GITR激动剂之后施用,如由实验者所决定。

[1647] 通常,ADC以0.1至1mg/kg之间的单剂量给药,而GITR激动剂以1至10mg/kg之间的剂量给药Q3d×3。对照组包括单独的ADC或GITR激动剂。随后对所有组测量肿瘤体积和体重,长达60天,并且在每组中测定部分响应(PR)、完全响应(CR)无肿瘤存活(TFS)小鼠的数量。

[1648] 进行统计学分析(通常是对数秩检验)以确定用所述组合治疗的小鼠是否优于用单独的ADC或GITR激动剂治疗的小鼠。

[1649] 实施例16:ADCxAXL与免疫组织学(I/O)第二药剂PD1拮抗剂、PDL1拮抗剂、CTLA4拮抗剂、OX40激动剂和GITR激动剂各自之间的针对AXL-ve肿瘤细胞的协同作用

[1650] AXL还在免疫细胞上表达,所述免疫细胞浸润局部肿瘤环境并且可对针对肿瘤的先天性免疫反应具有抑制性影响。此类细胞的实例是NK细胞、DC细胞或巨噬细胞。ADCxAXL可用于靶向这些免疫细胞,它们会杀死免疫抑制细胞,从而增强免疫反应。

[1651] 除了这种‘释放免疫抑制’效应外,ADCxAXL杀死免疫细胞将释放局部PBD弹头,其将通过旁观者杀死来杀死邻近的肿瘤细胞。

[1652] 因此,通过这两种机制,可以通过靶向局部肿瘤环境中的免疫细胞来杀死不表达AXL的肿瘤。此外,由邻近免疫细胞释放的PBD杀死的AXL-ve肿瘤细胞将诱导额外的免疫原性细胞死亡,从而进一步增强抗肿瘤免疫反应。

[1653] PD1拮抗剂

[1654] 为了测试针对AXL的基于PBD的ADC与PD1拮抗剂组合是否对不表达AXL的肿瘤显示出加成或协同作用,在免疫活性小鼠的同系肿瘤模型体内测试所述组合。出于此目的,与小鼠AXL交叉反应的抗体与PBD弹头缀合,并将此ADC与PD1拮抗剂一起施用至用已知具有高水平浸润细胞(例如树突细胞、NK细胞或巨噬细胞)的小鼠肿瘤细胞系移植的小鼠,例如但不限于MC38和CT26。ADC在PD1拮抗剂之前、与PD1拮抗剂同时或在PD1拮抗剂之后施用,如由实验者所决定。

[1655] 通常,ADC以0.1至1mg/kg之间的单剂量给药,而PD1拮抗剂以1至10mg/kg之间的剂量给药Q3d×3。对照组包括单独的ADC或PD1拮抗剂。随后对所有组测量肿瘤体积和体重,长达60天,并且在每组中测定部分响应(PR)、完全响应(CR)无肿瘤存活(TFS)小鼠的数量。

[1656] 进行统计学分析(通常是对数秩检验)以确定用所述组合治疗的小鼠是否优于用单独的ADC或PD1拮抗剂治疗的小鼠。

[1657] PD-L1拮抗剂

[1658] 为了测试针对AXL的基于PBD的ADC与PDL1拮抗剂组合是否对不表达AXL的肿瘤显示出加成或协同作用,在免疫活性小鼠的同系肿瘤模型体内测试所述组合。出于此目的,与小鼠AXL交叉反应的抗体与PBD弹头缀合,并将此ADC与PDL1拮抗剂一起施用至用已知具有高水平浸润细胞(例如树突细胞、NK细胞或巨噬细胞)的小鼠肿瘤细胞系移植的小鼠,例如但不限于MC38和CT26。ADC在PDL1拮抗剂之前、与PDL1拮抗剂同时或在PDL1拮抗剂之后施用,如由实验者所决定。

[1659] 通常,ADC以0.1至1mg/kg之间的单剂量给药,而PDL1拮抗剂以1至10mg/kg之间的剂量给药Q3d×3。对照组包括单独的ADC或PDL1拮抗剂。随后对所有组测量肿瘤体积和体重,长达60天,并且在每组中测定部分响应(PR)、完全响应(CR)无肿瘤存活(TFS)小鼠的数量。

[1660] 进行统计学分析(通常是对数秩检验)以确定用所述组合治疗的小鼠是否优于用单独的ADC或PDL1拮抗剂治疗的小鼠。

[1661] CTLA4拮抗剂

[1662] 为了测试针对AXL的基于PBD的ADC与CTLA4拮抗剂组合是否对不表达AXL的肿瘤显示出加成或协同作用,在免疫活性小鼠的同系肿瘤模型体内测试所述组合。出于此目的,与小鼠AXL交叉反应的抗体与PBD弹头缀合,并将此ADC与CTLA4拮抗剂一起施用至用已知具有高水平浸润细胞(例如树突细胞、NK细胞或巨噬细胞)的小鼠肿瘤细胞系移植的小鼠,例如但不限于MC38和CT26。ADC在CTLA4拮抗剂之前、与CTLA4拮抗剂同时或在CTLA4拮抗剂之后施用,如由实验者所决定。

[1663] 通常,ADC以0.1至1mg/kg之间的单剂量给药,而CTLA4拮抗剂以1至10mg/kg之间的剂量给药Q3d×3。对照组包括单独的ADC或CTLA4拮抗剂。随后对所有组测量肿瘤体积和体重,长达60天,并且在每组中测定部分响应(PR)、完全响应(CR)无肿瘤存活(TFS)小鼠的数量。

[1664] 进行统计学分析(通常是对数秩检验)以确定用所述组合治疗的小鼠是否优于用单独的ADC或CTLA4拮抗剂治疗的小鼠。

[1665] OX40激动剂

[1666] 为了测试针对AXL的基于PBD的ADC与OX40激动剂组合是否对不表达AXL的肿瘤显示出加成或协同作用,在免疫活性小鼠的同系肿瘤模型体内测试所述组合。出于此目的,与小鼠AXL交叉反应的抗体与PBD弹头缀合,并将此ADC与OX40激动剂一起施用至用已知具有高水平浸润细胞(例如树突细胞、NK细胞或巨噬细胞)的小鼠肿瘤细胞系移植的小鼠,例如但不限于MC38和CT26。ADC在OX40激动剂之前、与OX40激动剂同时或在OX40激动剂之后施用,如由实验者所决定。

[1667] 通常,ADC以0.1至1mg/kg之间的单剂量给药,而OX40激动剂以1至10mg/kg之间的剂量给药Q3d×3。对照组包括单独的ADC或OX40激动剂。随后对所有组测量肿瘤体积和体重,长达60天,并且在每组中测定部分响应(PR)、完全响应(CR)无肿瘤存活(TFS)小鼠的数量。

[1668] 进行统计学分析(通常是对数秩检验)以确定用所述组合治疗的小鼠是否优于用单独的ADC或OX40激动剂治疗的小鼠。

[1669] GITR激动剂

[1670] 为了测试针对AXL的基于PBD的ADC与GITR激动剂组合是否对不表达AXL的肿瘤显示出加成或协同作用,在免疫活性小鼠的同系肿瘤模型体内测试所述组合。出于此目的,与小鼠AXL交叉反应的抗体与PBD弹头缀合,并将此ADC与GITR激动剂一起施用至用已知具有高水平浸润细胞(例如树突细胞、NK细胞或巨噬细胞)的小鼠肿瘤细胞系移植的小鼠,例如但不限于MC38和CT26。ADC在GITR激动剂之前、与GITR激动剂同时或在GITR激动剂之后施用,如由实验者所决定。

[1671] 通常,ADC以0.1至1mg/kg之间的单剂量给药,而GITR激动剂以1至10mg/kg之间的剂量给药Q3d×3。对照组包括单独的ADC或GITR激动剂。随后对所有组测量肿瘤体积和体重,长达60天,并且在每组中测定部分响应(PR)、完全响应(CR)无肿瘤存活(TFS)小鼠的数量。

[1672] 进行统计学分析(通常是对数秩检验)以确定用所述组合治疗的小鼠是否优于用单独的ADC或GITR激动剂治疗的小鼠。

112



[0039]	Ala Thr Ile Ser Ser Gly Gly Ser Tyr Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val
[0040]	50 55 60
[0041]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
[0042]	65 70 75 80
[0043]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[0044]	85 90 95
[0045]	Ala Arg His Pro Ile Tyr Tyr Thr Tyr Asp Asp Thr Met Asp Tyr Trp
[0046]	100 105 110
[0047]	Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
[0048]	115 120
[0049]	<210> 2
[0050]	<211> 108
[0051]	<212> PRT
[0052]	<213> Artificial Sequence
[0053]	<220>
[0054]	<223> 1H12 VL,CDR加下划线
[0055]	<400> 2
[0056]	Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
[0057]	1 5 10 15
[0058]	Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Ser Gly
[0059]	20 25 30
[0060]	Asn Phe His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Leu Ala Pro Arg Leu Leu
[0061]	35 40 45
[0062]	Ile Tyr Arg Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser
[0063]	50 55 60
[0064]	Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu
[0065]	65 70 75 80
[0066]	Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Gly Tyr Pro
[0067]	85 90 95
[0068]	Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
[0069]	100 105
[0070]	<210> 3
[0071]	<211> 451
[0072]	<212> PRT
[0073]	<213> Artificial Sequence
[0074]	<220>
[0075]	<223> 1H12重链
[0076]	<220>
[0077]	<221> MISC_FEATURE

[0078]	<222> (302) .. (302)															
[0079]	<223> Xaa - Asn297 (Kabat)															
[0080]	<400> 3															
[0081]	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Val	Val	Gln	Pro	Gly	Arg
[0082]	1				5					10					15	
[0083]	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Ser	Tyr
[0084]				20					25					30		
[0085]	Gly	Met	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
[0086]			35					40					45			
[0087]	Ala	Thr	Ile	Ser	Ser	Gly	Gly	Ser	Tyr	Thr	Tyr	Tyr	Pro	Asp	Ser	Val
[0088]		50					55					60				
[0089]	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr
[0090]	65					70					75				80	
[0091]	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
[0092]				85					90					95		
[0093]	Ala	Arg	His	Pro	Ile	Tyr	Tyr	Thr	Tyr	Asp	Asp	Thr	Met	Asp	Tyr	Trp
[0094]				100					105					110		
[0095]	Gly	Gln	Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro
[0096]			115					120					125			
[0097]	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr
[0098]		130					135					140				
[0099]	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr
[0100]	145					150				155					160	
[0101]	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro
[0102]				165					170					175		
[0103]	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr
[0104]			180						185					190		
[0105]	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn
[0106]		195					200						205			
[0107]	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser
[0108]		210					215					220				
[0109]	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu
[0110]	225					230					235				240	
[0111]	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu
[0112]				245					250					255		
[0113]	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser
[0114]			260						265					270		
[0115]	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu
[0116]			275						280					285		

[0117]	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Xaa	Ser	Thr
[0118]	290							295							300	
[0119]	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn
[0120]	305						310					315				320
[0121]	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro
[0122]						325					330					335
[0123]	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln
[0124]						340					345				350	
[0125]	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val
[0126]						355					360				365	
[0127]	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val
[0128]	370							375							380	
[0129]	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro
[0130]	385						390					395				400
[0131]	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr
[0132]						405					410					415
[0133]	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val
[0134]						420					425				430	
[0135]	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu
[0136]						435					440				445	
[0137]	Ser	Pro	Gly													
[0138]	450															
[0139]	<210>	4														
[0140]	<211>	215														
[0141]	<212>	PRT														
[0142]	<213>	Artificial Sequence														
[0143]	<220>															
[0144]	<223>	1H12轻链														
[0145]	<400>	4														
[0146]	Glu	Ile	Val	Leu	Thr	Gln	Ser	Pro	Gly	Thr	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly
[0147]	1					5				10					15	
[0148]	Glu	Arg	Ala	Thr	Leu	Ser	Cys	Ser	Ala	Ser	Ser	Ser	Val	Ser	Ser	Gly
[0149]						20				25					30	
[0150]	Asn	Phe	His	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Leu	Ala	Pro	Arg	Leu	Leu
[0151]						35				40				45		
[0152]	Ile	Tyr	Arg	Thr	Ser	Asn	Leu	Ala	Ser	Gly	Ile	Pro	Ala	Arg	Phe	Ser
[0153]						50				55				60		
[0154]	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Glu
[0155]	65						70					75				80

[0156]	Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Trp	Ser	Gly	Tyr	Pro
[0157]						85				90					95	
[0158]	Trp	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys	Arg	Thr	Val	Ala
[0159]						100				105					110	
[0160]	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser
[0161]						115				120					125	
[0162]	Gly	Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu
[0163]						130				135					140	
[0164]	Ala	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser	Gly	Asn	Ser
[0165]	145											155				160
[0166]	Gln	Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr	Ser	Leu
[0167]																
[0168]	Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	His	Lys	Val
[0169]																
[0170]	Tyr	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro	Val	Thr	Lys
[0171]																
[0172]	Ser	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys									
[0173]																
[0174]	<210>	5														
[0175]	<211>	5														
[0176]	<212>	PRT														
[0177]	<213>	Artificial Sequence														
[0178]	<220>															
[0179]	<223>	1H12 VH CDR1														
[0180]	<400>	5														
[0181]	Ser	Tyr	Gly	Met	Ser											
[0182]	1					5										
[0183]	<210>	6														
[0184]	<211>	17														
[0185]	<212>	PRT														
[0186]	<213>	Artificial Sequence														
[0187]	<220>															
[0188]	<223>	1H12 VH CDR2														
[0189]	<400>	6														
[0190]	Thr	Ile	Ser	Ser	Gly	Gly	Ser	Tyr	Thr	Tyr	Tyr	Pro	Asp	Ser	Val	Lys
[0191]	1															
[0192]	Gly															
[0193]	<210>	7														
[0194]	<211>	13														

[0195] <212> PRT  
[0196] <213> Artificial Sequence  
[0197] <220>  
[0198] <223> 1H12 VH CDR3  
[0199] <400> 7  
[0200] His Pro Ile Tyr Tyr Thr Tyr Asp Asp Thr Met Asp Tyr  
[0201] 1 5 10  
[0202] <210> 8  
[0203] <211> 12  
[0204] <212> PRT  
[0205] <213> Artificial Sequence  
[0206] <220>  
[0207] <223> 1H12 VL CDR1  
[0208] <400> 8  
[0209] Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Ser Gly Asn Phe His  
[0210] 1 5 10  
[0211] <210> 9  
[0212] <211> 7  
[0213] <212> PRT  
[0214] <213> Artificial Sequence  
[0215] <220>  
[0216] <223> 1H12 VL CDR2  
[0217] <400> 9  
[0218] Arg Thr Ser Asn Leu Ala Ser  
[0219] 1 5  
[0220] <210> 10  
[0221] <211> 9  
[0222] <212> PRT  
[0223] <213> Artificial Sequence  
[0224] <220>  
[0225] <223> 1H12 VL CDR3  
[0226] <400> 10  
[0227] Gln Gln Trp Ser Gly Tyr Pro Trp Thr  
[0228] 1 5  
[0229] <210> 11  
[0230] <211> 118  
[0231] <212> PRT  
[0232] <213> Artificial Sequence  
[0233] <220>

[0234] <223> 鼠类5F11 VH,CDR加下划线  
 [0235] <400> 11  
 [0236] Glu Val Lys Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 [0237] 1 5 10 15  
 [0238] Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asp Phe Ser Arg Tyr  
 [0239] 20 25 30  
 [0240] Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile  
 [0241] 35 40 45  
 [0242] Gly Glu Ile Asn Pro Asp Ser Ser Thr Ile Asn Tyr Thr Pro Ser Leu  
 [0243] 50 55 60  
 [0244] Lys Asp Lys Phe Ile Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr  
 [0245] 65 70 75 80  
 [0246] Leu Gln Met Ser Lys Val Arg Ser Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys  
 [0247] 85 90 95  
 [0248] Ala Ser Pro Tyr Tyr Tyr Gly Pro Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr  
 [0249] 100 105 110  
 [0250] Leu Val Thr Val Ser Ser  
 [0251] 115  
 [0252] <210> 12  
 [0253] <211> 111  
 [0254] <212> PRT  
 [0255] <213> Artificial Sequence  
 [0256] <220>  
 [0257] <223> 鼠类5F11 VL,CDR加下划线  
 [0258] <400> 12  
 [0259] Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly  
 [0260] 1 5 10 15  
 [0261] Gln Arg Ala Ile Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Ser Phe Ala  
 [0262] 20 25 30  
 [0263] Gly Thr Ser Leu Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Gln Pro  
 [0264] 35 40 45  
 [0265] Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ala Gly Phe Pro Thr  
 [0266] 50 55 60  
 [0267] Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Arg Thr Asp Phe Thr Leu Asn Ile His  
 [0268] 65 70 75 80  
 [0269] Pro Val Glu Glu Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Arg  
 [0270] 85 90 95  
 [0271] Glu Tyr Pro Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Val Lys  
 [0272] 100 105 110

[0273] <210> 13  
[0274] <211> 5  
[0275] <212> PRT  
[0276] <213> Artificial Sequence  
[0277] <220>  
[0278] <223> 5F11 VH CDR1  
[0279] <400> 13  
[0280] Arg Tyr Trp Met Ser  
[0281] 1 5  
[0282] <210> 14  
[0283] <211> 17  
[0284] <212> PRT  
[0285] <213> Artificial Sequence  
[0286] <220>  
[0287] <223> 5F11 VH CDR2  
[0288] <400> 14  
[0289] Glu Ile Asn Pro Asp Ser Ser Thr Ile Asn Tyr Thr Pro Ser Leu Lys  
[0290] 1 5 10 15  
[0291] Asp  
[0292] <210> 15  
[0293] <211> 9  
[0294] <212> PRT  
[0295] <213> Artificial Sequence  
[0296] <220>  
[0297] <223> 5F11 VH CDR3  
[0298] <400> 15  
[0299] Pro Tyr Tyr Tyr Gly Pro Phe Ala Tyr  
[0300] 1 5  
[0301] <210> 16  
[0302] <211> 15  
[0303] <212> PRT  
[0304] <213> Artificial Sequence  
[0305] <220>  
[0306] <223> 5F11 VL CDR1  
[0307] <400> 16  
[0308] Lys Ala Ser Gln Ser Val Ser Phe Ala Gly Thr Ser Leu Met His  
[0309] 1 5 10 15  
[0310] <210> 17  
[0311] <211> 7

[0312] <212> PRT  
 [0313] <213> Artificial Sequence  
 [0314] <220>  
 [0315] <223> 5F11 VL CDR2  
 [0316] <400> 17  
 [0317] Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ala  
 [0318] 1 5  
 [0319] <210> 18  
 [0320] <211> 9  
 [0321] <212> PRT  
 [0322] <213> Artificial Sequence  
 [0323] <220>  
 [0324] <223> 5F11 VL CDR3  
 [0325] <400> 18  
 [0326] Gln Gln Ser Arg Glu Tyr Pro Arg Thr  
 [0327] 1 5  
 [0328] <210> 19  
 [0329] <211> 117  
 [0330] <212> PRT  
 [0331] <213> Artificial Sequence  
 [0332] <220>  
 [0333] <223> 5F11 RHA  
 [0334] <400> 19  
 [0335] Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg  
 [0336] 1 5 10 15  
 [0337] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Tyr  
 [0338] 20 25 30  
 [0339] Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 [0340] 35 40 45  
 [0341] Ala Glu Ile Asn Pro Asp Ser Ser Thr Ile Asn Tyr Thr Pro Ser Leu  
 [0342] 50 55 60  
 [0343] Lys Asp Arg Phe Ala Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 [0344] 65 70 75 80  
 [0345] Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 [0346] 85 90 95  
 [0347] Ala Ser Pro Tyr Tyr Tyr Gly Pro Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr  
 [0348] 100 105 110  
 [0349] Leu Val Thr Val Ser  
 [0350] 115



[0351]	<210>	20
[0352]	<211>	117
[0353]	<212>	PRT
[0354]	<213>	Artificial Sequence
[0355]	<220>	
[0356]	<223>	5F11 RHB
[0357]	<400>	20
[0358]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly	
[0359]	1	5 10 15
[0360]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Tyr	
[0361]	20	25 30
[0362]	Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val	
[0363]	35	40 45
[0364]	Ala Glu Ile Asn Pro Asp Ser Ser Thr Ile Asn Tyr Thr Pro Ser Leu	
[0365]	50	55 60
[0366]	Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr	
[0367]	65	70 75 80
[0368]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys	
[0369]	85	90 95
[0370]	Ala Ser Pro Tyr Tyr Tyr Gly Pro Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr	
[0371]	100	105 110
[0372]	Leu Val Thr Val Ser	
[0373]	115	
[0374]	<210>	21
[0375]	<211>	117
[0376]	<212>	PRT
[0377]	<213>	Artificial Sequence
[0378]	<220>	
[0379]	<223>	5F11 RHC
[0380]	<400>	21
[0381]	Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly	
[0382]	1	5 10 15
[0383]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Tyr	
[0384]	20	25 30
[0385]	Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val	
[0386]	35	40 45
[0387]	Ser Glu Ile Asn Pro Asp Ser Ser Thr Ile Asn Tyr Thr Pro Ser Leu	
[0388]	50	55 60
[0389]	Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr	

[0390]	65	70	75	80
[0391]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
[0392]	85	90	95	
[0393]	Ala Ser Pro Tyr Tyr Tyr Gly Pro Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr			
[0394]	100	105	110	
[0395]	Leu Val Thr Val Ser			
[0396]	115			
[0397]	<210> 22			
[0398]	<211> 111			
[0399]	<212> PRT			
[0400]	<213> Artificial Sequence			
[0401]	<220>			
[0402]	<223> 5F11 RKA			
[0403]	<400> 22			
[0404]	Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly			
[0405]	1	5	10	15
[0406]	Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Ser Phe Ala			
[0407]	20	25	30	
[0408]	Gly Thr Ser Leu Met His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro			
[0409]	35	40	45	
[0410]	Gln Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ala Gly Val Pro Asp			
[0411]	50	55	60	
[0412]	Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser			
[0413]	65	70	75	80
[0414]	Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Arg			
[0415]	85	90	95	
[0416]	Glu Tyr Pro Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys			
[0417]	100	105	110	
[0418]	<210> 23			
[0419]	<211> 894			
[0420]	<212> PRT			
[0421]	<213> Homo sapiens			
[0422]	<400> 23			
[0423]	Met Ala Trp Arg Cys Pro Arg Met Gly Arg Val Pro Leu Ala Trp Cys			
[0424]	1	5	10	15
[0425]	Leu Ala Leu Cys Gly Trp Ala Cys Met Ala Pro Arg Gly Thr Gln Ala			
[0426]	20	25	30	
[0427]	Glu Glu Ser Pro Phe Val Gly Asn Pro Gly Asn Ile Thr Gly Ala Arg			
[0428]	35	40	45	

[0429]	Gly	Leu	Thr	Gly	Thr	Leu	Arg	Cys	Gln	Leu	Gln	Val	Gln	Gly	Glu	Pro
[0430]	50						55					60				
[0431]	Pro	Glu	Val	His	Trp	Leu	Arg	Asp	Gly	Gln	Ile	Leu	Glu	Leu	Ala	Asp
[0432]	65					70					75					80
[0433]	Ser	Thr	Gln	Thr	Gln	Val	Pro	Leu	Gly	Glu	Asp	Glu	Gln	Asp	Asp	Trp
[0434]					85					90					95	
[0435]	Ile	Val	Val	Ser	Gln	Leu	Arg	Ile	Thr	Ser	Leu	Gln	Leu	Ser	Asp	Thr
[0436]				100					105					110		
[0437]	Gly	Gln	Tyr	Gln	Cys	Leu	Val	Phe	Leu	Gly	His	Gln	Thr	Phe	Val	Ser
[0438]			115					120					125			
[0439]	Gln	Pro	Gly	Tyr	Val	Gly	Leu	Glu	Gly	Leu	Pro	Tyr	Phe	Leu	Glu	Glu
[0440]		130					135					140				
[0441]	Pro	Glu	Asp	Arg	Thr	Val	Ala	Ala	Asn	Thr	Pro	Phe	Asn	Leu	Ser	Cys
[0442]	145					150					155					160
[0443]	Gln	Ala	Gln	Gly	Pro	Pro	Glu	Pro	Val	Asp	Leu	Leu	Trp	Leu	Gln	Asp
[0444]					165					170					175	
[0445]	Ala	Val	Pro	Leu	Ala	Thr	Ala	Pro	Gly	His	Gly	Pro	Gln	Arg	Ser	Leu
[0446]				180					185					190		
[0447]	His	Val	Pro	Gly	Leu	Asn	Lys	Thr	Ser	Ser	Phe	Ser	Cys	Glu	Ala	His
[0448]			195					200					205			
[0449]	Asn	Ala	Lys	Gly	Val	Thr	Thr	Ser	Arg	Thr	Ala	Thr	Ile	Thr	Val	Leu
[0450]		210					215					220				
[0451]	Pro	Gln	Gln	Pro	Arg	Asn	Leu	His	Leu	Val	Ser	Arg	Gln	Pro	Thr	Glu
[0452]	225					230					235					240
[0453]	Leu	Glu	Val	Ala	Trp	Thr	Pro	Gly	Leu	Ser	Gly	Ile	Tyr	Pro	Leu	Thr
[0454]				245					250						255	
[0455]	His	Cys	Thr	Leu	Gln	Ala	Val	Leu	Ser	Asp	Asp	Gly	Met	Gly	Ile	Gln
[0456]				260					265					270		
[0457]	Ala	Gly	Glu	Pro	Asp	Pro	Pro	Glu	Glu	Pro	Leu	Thr	Ser	Gln	Ala	Ser
[0458]			275					280					285			
[0459]	Val	Pro	Pro	His	Gln	Leu	Arg	Leu	Gly	Ser	Leu	His	Pro	His	Thr	Pro
[0460]		290					295					300				
[0461]	Tyr	His	Ile	Arg	Val	Ala	Cys	Thr	Ser	Ser	Gln	Gly	Pro	Ser	Ser	Trp
[0462]	305					310					315					320
[0463]	Thr	His	Trp	Leu	Pro	Val	Glu	Thr	Pro	Glu	Gly	Val	Pro	Leu	Gly	Pro
[0464]					325					330					335	
[0465]	Pro	Glu	Asn	Ile	Ser	Ala	Thr	Arg	Asn	Gly	Ser	Gln	Ala	Phe	Val	His
[0466]				340					345				350			
[0467]	Trp	Gln	Glu	Pro	Arg	Ala	Pro	Leu	Gln	Gly	Thr	Leu	Leu	Gly	Tyr	Arg

[0468]	355	360	365
[0469]	Leu Ala Tyr Gln Gly Gln Asp Thr Pro Glu Val Leu Met Asp Ile Gly		
[0470]	370	375	380
[0471]	Leu Arg Gln Glu Val Thr Leu Glu Leu Gln Gly Asp Gly Ser Val Ser		
[0472]	385	390	395
[0473]	Asn Leu Thr Val Cys Val Ala Ala Tyr Thr Ala Ala Gly Asp Gly Pro		
[0474]	405	410	415
[0475]	Trp Ser Leu Pro Val Pro Leu Glu Ala Trp Arg Pro Gly Gln Ala Gln		
[0476]	420	425	430
[0477]	Pro Val His Gln Leu Val Lys Glu Pro Ser Thr Pro Ala Phe Ser Trp		
[0478]	435	440	445
[0479]	Pro Trp Trp Tyr Val Leu Leu Gly Ala Val Val Ala Ala Ala Cys Val		
[0480]	450	455	460
[0481]	Leu Ile Leu Ala Leu Phe Leu Val His Arg Arg Lys Lys Glu Thr Arg		
[0482]	465	470	475
[0483]	Tyr Gly Glu Val Phe Glu Pro Thr Val Glu Arg Gly Glu Leu Val Val		
[0484]	485	490	495
[0485]	Arg Tyr Arg Val Arg Lys Ser Tyr Ser Arg Arg Thr Thr Glu Ala Thr		
[0486]	500	505	510
[0487]	Leu Asn Ser Leu Gly Ile Ser Glu Glu Leu Lys Glu Lys Leu Arg Asp		
[0488]	515	520	525
[0489]	Val Met Val Asp Arg His Lys Val Ala Leu Gly Lys Thr Leu Gly Glu		
[0490]	530	535	540
[0491]	Gly Glu Phe Gly Ala Val Met Glu Gly Gln Leu Asn Gln Asp Asp Ser		
[0492]	545	550	555
[0493]	Ile Leu Lys Val Ala Val Lys Thr Met Lys Ile Ala Ile Cys Thr Arg		
[0494]	565	570	575
[0495]	Ser Glu Leu Glu Asp Phe Leu Ser Glu Ala Val Cys Met Lys Glu Phe		
[0496]	580	585	590
[0497]	Asp His Pro Asn Val Met Arg Leu Ile Gly Val Cys Phe Gln Gly Ser		
[0498]	595	600	605
[0499]	Glu Arg Glu Ser Phe Pro Ala Pro Val Val Ile Leu Pro Phe Met Lys		
[0500]	610	615	620
[0501]	His Gly Asp Leu His Ser Phe Leu Leu Tyr Ser Arg Leu Gly Asp Gln		
[0502]	625	630	635
[0503]	Pro Val Tyr Leu Pro Thr Gln Met Leu Val Lys Phe Met Ala Asp Ile		
[0504]	645	650	655
[0505]	Ala Ser Gly Met Glu Tyr Leu Ser Thr Lys Arg Phe Ile His Arg Asp		
[0506]	660	665	670

[0507]	Leu	Ala	Ala	Arg	Asn	Cys	Met	Leu	Asn	Glu	Asn	Met	Ser	Val	Cys	Val
[0508]				675					680						685	
[0509]	Ala	Asp	Phe	Gly	Leu	Ser	Lys	Lys	Ile	Tyr	Asn	Gly	Asp	Tyr	Tyr	Arg
[0510]			690					695					700			
[0511]	Gln	Gly	Arg	Ile	Ala	Lys	Met	Pro	Val	Lys	Trp	Ile	Ala	Ile	Glu	Ser
[0512]	705					710					715					720
[0513]	Leu	Ala	Asp	Arg	Val	Tyr	Thr	Ser	Lys	Ser	Asp	Val	Trp	Ser	Phe	Gly
[0514]				725						730					735	
[0515]	Val	Thr	Met	Trp	Glu	Ile	Ala	Thr	Arg	Gly	Gln	Thr	Pro	Tyr	Pro	Gly
[0516]				740					745					750		
[0517]	Val	Glu	Asn	Ser	Glu	Ile	Tyr	Asp	Tyr	Leu	Arg	Arg	Gly	Asn	Arg	Leu
[0518]			755					760					765			
[0519]	Lys	Gln	Pro	Ala	Asp	Cys	Leu	Asp	Gly	Leu	Tyr	Ala	Leu	Met	Ser	Arg
[0520]		770					775					780				
[0521]	Cys	Trp	Glu	Leu	Asn	Pro	Gln	Asp	Arg	Pro	Ser	Phe	Thr	Glu	Leu	Arg
[0522]	785					790					795					800
[0523]	Glu	Asp	Leu	Glu	Asn	Thr	Leu	Lys	Ala	Leu	Pro	Pro	Ala	Gln	Glu	Pro
[0524]					805					810					815	
[0525]	Asp	Glu	Ile	Leu	Tyr	Val	Asn	Met	Asp	Glu	Gly	Gly	Gly	Tyr	Pro	Glu
[0526]			820						825					830		
[0527]	Pro	Pro	Gly	Ala	Ala	Gly	Gly	Ala	Asp	Pro	Pro	Thr	Gln	Pro	Asp	Pro
[0528]			835					840					845			
[0529]	Lys	Asp	Ser	Cys	Ser	Cys	Leu	Thr	Ala	Ala	Glu	Val	His	Pro	Ala	Gly
[0530]		850					855					860				
[0531]	Arg	Tyr	Val	Leu	Cys	Pro	Ser	Thr	Thr	Pro	Ser	Pro	Ala	Gln	Pro	Ala
[0532]	865					870					875					880
[0533]	Asp	Arg	Gly	Ser	Pro	Ala	Ala	Pro	Gly	Gln	Glu	Asp	Gly	Ala		
[0534]				885						890						
[0535]	<210>	24														
[0536]	<400>	24														
[0537]	000															
[0538]	<210>	25														
[0539]	<400>	25														
[0540]	000															
[0541]	<210>	26														
[0542]	<400>	26														
[0543]	000															
[0544]	<210>	27														
[0545]	<400>	27														

[0546]	000
[0547]	<210> 28
[0548]	<400> 28
[0549]	000
[0550]	<210> 29
[0551]	<400> 29
[0552]	000
[0553]	<210> 30
[0554]	<400> 30
[0555]	000
[0556]	<210> 31
[0557]	<400> 31
[0558]	000
[0559]	<210> 32
[0560]	<400> 32
[0561]	000
[0562]	<210> 33
[0563]	<400> 33
[0564]	000
[0565]	<210> 34
[0566]	<400> 34
[0567]	000
[0568]	<210> 35
[0569]	<400> 35
[0570]	000
[0571]	<210> 36
[0572]	<400> 36
[0573]	000
[0574]	<210> 37
[0575]	<400> 37
[0576]	000
[0577]	<210> 38
[0578]	<400> 38
[0579]	000
[0580]	<210> 39
[0581]	<400> 39
[0582]	000
[0583]	<210> 40
[0584]	<400> 40

---

[0585]	000
[0586]	<210> 41
[0587]	<400> 41
[0588]	000
[0589]	<210> 42
[0590]	<400> 42
[0591]	000
[0592]	<210> 43
[0593]	<400> 43
[0594]	000
[0595]	<210> 44
[0596]	<400> 44
[0597]	000
[0598]	<210> 45
[0599]	<400> 45
[0600]	000
[0601]	<210> 46
[0602]	<400> 46
[0603]	000
[0604]	<210> 47
[0605]	<400> 47
[0606]	000
[0607]	<210> 48
[0608]	<400> 48
[0609]	000
[0610]	<210> 49
[0611]	<400> 49
[0612]	000
[0613]	<210> 50
[0614]	<400> 50
[0615]	000
[0616]	<210> 51
[0617]	<400> 51
[0618]	000
[0619]	<210> 52
[0620]	<400> 52
[0621]	000
[0622]	<210> 53
[0623]	<400> 53

[0624]	000
[0625]	<210> 54
[0626]	<400> 54
[0627]	000
[0628]	<210> 55
[0629]	<400> 55
[0630]	000
[0631]	<210> 56
[0632]	<400> 56
[0633]	000
[0634]	<210> 57
[0635]	<400> 57
[0636]	000
[0637]	<210> 58
[0638]	<400> 58
[0639]	000
[0640]	<210> 59
[0641]	<400> 59
[0642]	000
[0643]	<210> 60
[0644]	<400> 60
[0645]	000
[0646]	<210> 61
[0647]	<400> 61
[0648]	000
[0649]	<210> 62
[0650]	<400> 62
[0651]	000
[0652]	<210> 63
[0653]	<400> 63
[0654]	000
[0655]	<210> 64
[0656]	<400> 64
[0657]	000
[0658]	<210> 65
[0659]	<400> 65
[0660]	000
[0661]	<210> 66
[0662]	<400> 66



---

[0663]	000
[0664]	<210> 67
[0665]	<400> 67
[0666]	000
[0667]	<210> 68
[0668]	<400> 68
[0669]	000
[0670]	<210> 69
[0671]	<400> 69
[0672]	000
[0673]	<210> 70
[0674]	<400> 70
[0675]	000
[0676]	<210> 71
[0677]	<400> 71
[0678]	000
[0679]	<210> 72
[0680]	<400> 72
[0681]	000
[0682]	<210> 73
[0683]	<400> 73
[0684]	000
[0685]	<210> 74
[0686]	<400> 74
[0687]	000
[0688]	<210> 75
[0689]	<400> 75
[0690]	000
[0691]	<210> 76
[0692]	<400> 76
[0693]	000
[0694]	<210> 77
[0695]	<400> 77
[0696]	000
[0697]	<210> 78
[0698]	<400> 78
[0699]	000
[0700]	<210> 79
[0701]	<400> 79

[0702]	000
[0703]	<210> 80
[0704]	<400> 80
[0705]	000
[0706]	<210> 81
[0707]	<400> 81
[0708]	000
[0709]	<210> 82
[0710]	<400> 82
[0711]	000
[0712]	<210> 83
[0713]	<400> 83
[0714]	000
[0715]	<210> 84
[0716]	<400> 84
[0717]	000
[0718]	<210> 85
[0719]	<400> 85
[0720]	000
[0721]	<210> 86
[0722]	<400> 86
[0723]	000
[0724]	<210> 87
[0725]	<400> 87
[0726]	000
[0727]	<210> 88
[0728]	<400> 88
[0729]	000
[0730]	<210> 89
[0731]	<400> 89
[0732]	000
[0733]	<210> 90
[0734]	<400> 90
[0735]	000
[0736]	<210> 91
[0737]	<400> 91
[0738]	000
[0739]	<210> 92
[0740]	<400> 92

---

[0741]	000
[0742]	<210> 93
[0743]	<400> 93
[0744]	000
[0745]	<210> 94
[0746]	<400> 94
[0747]	000
[0748]	<210> 95
[0749]	<400> 95
[0750]	000
[0751]	<210> 96
[0752]	<400> 96
[0753]	000
[0754]	<210> 97
[0755]	<400> 97
[0756]	000
[0757]	<210> 98
[0758]	<400> 98
[0759]	000
[0760]	<210> 99
[0761]	<400> 99
[0762]	000
[0763]	<210> 100
[0764]	<400> 100
[0765]	000
[0766]	<210> 101
[0767]	<400> 101
[0768]	000
[0769]	<210> 102
[0770]	<400> 102
[0771]	000
[0772]	<210> 103
[0773]	<400> 103
[0774]	000
[0775]	<210> 104
[0776]	<400> 104
[0777]	000
[0778]	<210> 105
[0779]	<400> 105

[0780]	000
[0781]	<210> 106
[0782]	<400> 106
[0783]	000
[0784]	<210> 107
[0785]	<400> 107
[0786]	000
[0787]	<210> 108
[0788]	<400> 108
[0789]	000
[0790]	<210> 109
[0791]	<400> 109
[0792]	000
[0793]	<210> 110
[0794]	<400> 110
[0795]	000
[0796]	<210> 111
[0797]	<400> 111
[0798]	000
[0799]	<210> 112
[0800]	<400> 112
[0801]	000
[0802]	<210> 113
[0803]	<400> 113
[0804]	000
[0805]	<210> 114
[0806]	<400> 114
[0807]	000
[0808]	<210> 115
[0809]	<400> 115
[0810]	000
[0811]	<210> 116
[0812]	<400> 116
[0813]	000
[0814]	<210> 117
[0815]	<400> 117
[0816]	000
[0817]	<210> 118
[0818]	<400> 118

---

[0819]	000
[0820]	<210> 119
[0821]	<400> 119
[0822]	000
[0823]	<210> 120
[0824]	<400> 120
[0825]	000
[0826]	<210> 121
[0827]	<400> 121
[0828]	000
[0829]	<210> 122
[0830]	<400> 122
[0831]	000
[0832]	<210> 123
[0833]	<400> 123
[0834]	000
[0835]	<210> 124
[0836]	<400> 124
[0837]	000
[0838]	<210> 125
[0839]	<400> 125
[0840]	000
[0841]	<210> 126
[0842]	<400> 126
[0843]	000
[0844]	<210> 127
[0845]	<400> 127
[0846]	000
[0847]	<210> 128
[0848]	<400> 128
[0849]	000
[0850]	<210> 129
[0851]	<400> 129
[0852]	000
[0853]	<210> 130
[0854]	<400> 130
[0855]	000
[0856]	<210> 131
[0857]	<400> 131

[0858]	000
[0859]	<210> 132
[0860]	<400> 132
[0861]	000
[0862]	<210> 133
[0863]	<400> 133
[0864]	000
[0865]	<210> 134
[0866]	<400> 134
[0867]	000
[0868]	<210> 135
[0869]	<400> 135
[0870]	000
[0871]	<210> 136
[0872]	<400> 136
[0873]	000
[0874]	<210> 137
[0875]	<400> 137
[0876]	000
[0877]	<210> 138
[0878]	<400> 138
[0879]	000
[0880]	<210> 139
[0881]	<400> 139
[0882]	000
[0883]	<210> 140
[0884]	<400> 140
[0885]	000
[0886]	<210> 141
[0887]	<400> 141
[0888]	000
[0889]	<210> 142
[0890]	<400> 142
[0891]	000
[0892]	<210> 143
[0893]	<400> 143
[0894]	000
[0895]	<210> 144
[0896]	<400> 144

[0897]	000
[0898]	<210> 145
[0899]	<400> 145
[0900]	000
[0901]	<210> 146
[0902]	<400> 146
[0903]	000
[0904]	<210> 147
[0905]	<400> 147
[0906]	000
[0907]	<210> 148
[0908]	<400> 148
[0909]	000
[0910]	<210> 149
[0911]	<400> 149
[0912]	000
[0913]	<210> 150
[0914]	<400> 150
[0915]	000
[0916]	<210> 151
[0917]	<400> 151
[0918]	000
[0919]	<210> 152
[0920]	<400> 152
[0921]	000
[0922]	<210> 153
[0923]	<400> 153
[0924]	000
[0925]	<210> 154
[0926]	<400> 154
[0927]	000
[0928]	<210> 155
[0929]	<400> 155
[0930]	000
[0931]	<210> 156
[0932]	<400> 156
[0933]	000
[0934]	<210> 157
[0935]	<400> 157

---

[0936]	000
[0937]	<210> 158
[0938]	<400> 158
[0939]	000
[0940]	<210> 159
[0941]	<400> 159
[0942]	000
[0943]	<210> 160
[0944]	<400> 160
[0945]	000
[0946]	<210> 161
[0947]	<400> 161
[0948]	000
[0949]	<210> 162
[0950]	<400> 162
[0951]	000
[0952]	<210> 163
[0953]	<400> 163
[0954]	000
[0955]	<210> 164
[0956]	<400> 164
[0957]	000
[0958]	<210> 165
[0959]	<400> 165
[0960]	000
[0961]	<210> 166
[0962]	<400> 166
[0963]	000
[0964]	<210> 167
[0965]	<400> 167
[0966]	000
[0967]	<210> 168
[0968]	<400> 168
[0969]	000
[0970]	<210> 169
[0971]	<400> 169
[0972]	000
[0973]	<210> 170
[0974]	<400> 170



[0975]	000
[0976]	<210> 171
[0977]	<400> 171
[0978]	000
[0979]	<210> 172
[0980]	<400> 172
[0981]	000
[0982]	<210> 173
[0983]	<400> 173
[0984]	000
[0985]	<210> 174
[0986]	<400> 174
[0987]	000
[0988]	<210> 175
[0989]	<400> 175
[0990]	000
[0991]	<210> 176
[0992]	<400> 176
[0993]	000
[0994]	<210> 177
[0995]	<400> 177
[0996]	000
[0997]	<210> 178
[0998]	<400> 178
[0999]	000
[1000]	<210> 179
[1001]	<400> 179
[1002]	000
[1003]	<210> 180
[1004]	<400> 180
[1005]	000
[1006]	<210> 181
[1007]	<400> 181
[1008]	000
[1009]	<210> 182
[1010]	<400> 182
[1011]	000
[1012]	<210> 183
[1013]	<400> 183

---

[1014]	000
[1015]	<210> 184
[1016]	<400> 184
[1017]	000
[1018]	<210> 185
[1019]	<400> 185
[1020]	000
[1021]	<210> 186
[1022]	<400> 186
[1023]	000
[1024]	<210> 187
[1025]	<400> 187
[1026]	000
[1027]	<210> 188
[1028]	<400> 188
[1029]	000
[1030]	<210> 189
[1031]	<400> 189
[1032]	000
[1033]	<210> 190
[1034]	<400> 190
[1035]	000
[1036]	<210> 191
[1037]	<400> 191
[1038]	000
[1039]	<210> 192
[1040]	<400> 192
[1041]	000
[1042]	<210> 193
[1043]	<400> 193
[1044]	000
[1045]	<210> 194
[1046]	<400> 194
[1047]	000
[1048]	<210> 195
[1049]	<400> 195
[1050]	000
[1051]	<210> 196
[1052]	<400> 196

[1053]	000
[1054]	<210> 197
[1055]	<400> 197
[1056]	000
[1057]	<210> 198
[1058]	<400> 198
[1059]	000
[1060]	<210> 199
[1061]	<400> 199
[1062]	000
[1063]	<210> 200
[1064]	<400> 200
[1065]	000
[1066]	<210> 201
[1067]	<400> 201
[1068]	000
[1069]	<210> 202
[1070]	<400> 202
[1071]	000
[1072]	<210> 203
[1073]	<400> 203
[1074]	000
[1075]	<210> 204
[1076]	<400> 204
[1077]	000
[1078]	<210> 205
[1079]	<400> 205
[1080]	000
[1081]	<210> 206
[1082]	<400> 206
[1083]	000
[1084]	<210> 207
[1085]	<400> 207
[1086]	000
[1087]	<210> 208
[1088]	<400> 208
[1089]	000
[1090]	<210> 209
[1091]	<400> 209

---

[1092]	000
[1093]	<210> 210
[1094]	<400> 210
[1095]	000
[1096]	<210> 211
[1097]	<400> 211
[1098]	000
[1099]	<210> 212
[1100]	<400> 212
[1101]	000
[1102]	<210> 213
[1103]	<400> 213
[1104]	000
[1105]	<210> 214
[1106]	<400> 214
[1107]	000
[1108]	<210> 215
[1109]	<400> 215
[1110]	000
[1111]	<210> 216
[1112]	<400> 216
[1113]	000
[1114]	<210> 217
[1115]	<400> 217
[1116]	000
[1117]	<210> 218
[1118]	<400> 218
[1119]	000
[1120]	<210> 219
[1121]	<400> 219
[1122]	000
[1123]	<210> 220
[1124]	<400> 220
[1125]	000
[1126]	<210> 221
[1127]	<400> 221
[1128]	000
[1129]	<210> 222
[1130]	<400> 222

---

[1131]	000
[1132]	<210> 223
[1133]	<400> 223
[1134]	000
[1135]	<210> 224
[1136]	<400> 224
[1137]	000
[1138]	<210> 225
[1139]	<400> 225
[1140]	000
[1141]	<210> 226
[1142]	<400> 226
[1143]	000
[1144]	<210> 227
[1145]	<400> 227
[1146]	000
[1147]	<210> 228
[1148]	<400> 228
[1149]	000
[1150]	<210> 229
[1151]	<400> 229
[1152]	000
[1153]	<210> 230
[1154]	<400> 230
[1155]	000
[1156]	<210> 231
[1157]	<400> 231
[1158]	000
[1159]	<210> 232
[1160]	<400> 232
[1161]	000
[1162]	<210> 233
[1163]	<400> 233
[1164]	000
[1165]	<210> 234
[1166]	<400> 234
[1167]	000
[1168]	<210> 235
[1169]	<400> 235

[1170]	000
[1171]	<210> 236
[1172]	<400> 236
[1173]	000
[1174]	<210> 237
[1175]	<400> 237
[1176]	000
[1177]	<210> 238
[1178]	<400> 238
[1179]	000
[1180]	<210> 239
[1181]	<400> 239
[1182]	000
[1183]	<210> 240
[1184]	<400> 240
[1185]	000
[1186]	<210> 241
[1187]	<400> 241
[1188]	000
[1189]	<210> 242
[1190]	<400> 242
[1191]	000
[1192]	<210> 243
[1193]	<400> 243
[1194]	000
[1195]	<210> 244
[1196]	<400> 244
[1197]	000
[1198]	<210> 245
[1199]	<400> 245
[1200]	000
[1201]	<210> 246
[1202]	<400> 246
[1203]	000
[1204]	<210> 247
[1205]	<400> 247
[1206]	000
[1207]	<210> 248
[1208]	<400> 248

---

[1209]	000
[1210]	<210> 249
[1211]	<400> 249
[1212]	000
[1213]	<210> 250
[1214]	<400> 250
[1215]	000
[1216]	<210> 251
[1217]	<400> 251
[1218]	000
[1219]	<210> 252
[1220]	<400> 252
[1221]	000
[1222]	<210> 253
[1223]	<400> 253
[1224]	000
[1225]	<210> 254
[1226]	<400> 254
[1227]	000
[1228]	<210> 255
[1229]	<400> 255
[1230]	000
[1231]	<210> 256
[1232]	<400> 256
[1233]	000
[1234]	<210> 257
[1235]	<400> 257
[1236]	000
[1237]	<210> 258
[1238]	<400> 258
[1239]	000
[1240]	<210> 259
[1241]	<400> 259
[1242]	000
[1243]	<210> 260
[1244]	<400> 260
[1245]	000
[1246]	<210> 261
[1247]	<400> 261

---

[1248]	000
[1249]	<210> 262
[1250]	<400> 262
[1251]	000
[1252]	<210> 263
[1253]	<400> 263
[1254]	000
[1255]	<210> 264
[1256]	<400> 264
[1257]	000
[1258]	<210> 265
[1259]	<400> 265
[1260]	000
[1261]	<210> 266
[1262]	<400> 266
[1263]	000
[1264]	<210> 267
[1265]	<400> 267
[1266]	000
[1267]	<210> 268
[1268]	<400> 268
[1269]	000
[1270]	<210> 269
[1271]	<400> 269
[1272]	000
[1273]	<210> 270
[1274]	<400> 270
[1275]	000
[1276]	<210> 271
[1277]	<400> 271
[1278]	000
[1279]	<210> 272
[1280]	<400> 272
[1281]	000
[1282]	<210> 273
[1283]	<400> 273
[1284]	000
[1285]	<210> 274
[1286]	<400> 274



[1287]	000
[1288]	<210> 275
[1289]	<400> 275
[1290]	000
[1291]	<210> 276
[1292]	<400> 276
[1293]	000
[1294]	<210> 277
[1295]	<400> 277
[1296]	000
[1297]	<210> 278
[1298]	<400> 278
[1299]	000
[1300]	<210> 279
[1301]	<400> 279
[1302]	000
[1303]	<210> 280
[1304]	<400> 280
[1305]	000
[1306]	<210> 281
[1307]	<400> 281
[1308]	000
[1309]	<210> 282
[1310]	<400> 282
[1311]	000
[1312]	<210> 283
[1313]	<400> 283
[1314]	000
[1315]	<210> 284
[1316]	<400> 284
[1317]	000
[1318]	<210> 285
[1319]	<400> 285
[1320]	000
[1321]	<210> 286
[1322]	<400> 286
[1323]	000
[1324]	<210> 287
[1325]	<400> 287

---

[1326]	000
[1327]	<210> 288
[1328]	<400> 288
[1329]	000
[1330]	<210> 289
[1331]	<400> 289
[1332]	000
[1333]	<210> 290
[1334]	<400> 290
[1335]	000
[1336]	<210> 291
[1337]	<400> 291
[1338]	000
[1339]	<210> 292
[1340]	<400> 292
[1341]	000
[1342]	<210> 293
[1343]	<400> 293
[1344]	000
[1345]	<210> 294
[1346]	<400> 294
[1347]	000
[1348]	<210> 295
[1349]	<400> 295
[1350]	000
[1351]	<210> 296
[1352]	<400> 296
[1353]	000
[1354]	<210> 297
[1355]	<400> 297
[1356]	000
[1357]	<210> 298
[1358]	<400> 298
[1359]	000
[1360]	<210> 299
[1361]	<400> 299
[1362]	000
[1363]	<210> 300
[1364]	<211> 7

[1365]	<212>	PRT
[1366]	<213>	Artificial Sequence
[1367]	<220>	
[1368]	<223>	AUNP12肽
[1369]	<400>	300
[1370]		Phe Ser Glu Ser Thr Asn Ser
[1371]	1	5
[1372]	<210>	301
[1373]	<211>	7
[1374]	<212>	PRT
[1375]	<213>	Artificial Sequence
[1376]	<220>	
[1377]	<223>	AUNP12肽
[1378]	<400>	301
[1379]		Ser Asn Thr Ser Glu Ser Phe
[1380]	1	5
[1381]	<210>	302
[1382]	<211>	14
[1383]	<212>	PRT
[1384]	<213>	Artificial Sequence
[1385]	<220>	
[1386]	<223>	AUNP12肽
[1387]	<400>	302
[1388]		Phe Arg Val Thr Gln Leu Ala Pro Lys Ala Gln Ile Lys Glu
[1389]	1	5 10
[1390]	<210>	303
[1391]	<211>	22
[1392]	<212>	PRT
[1393]	<213>	Artificial Sequence
[1394]	<220>	
[1395]	<223>	AUNP12肽
[1396]	<400>	303
[1397]		Ser Asn Thr Ser Glu Ser Phe Lys Phe Arg Val Thr Gln Leu Ala Pro
[1398]	1	5 10 15
[1399]		Lys Ala Gln Ile Lys Glu
[1400]		20
[1401]	<210>	304
[1402]	<400>	304
[1403]		000

[1404]	<210>	305
[1405]	<400>	305
[1406]	000	
[1407]	<210>	306
[1408]	<400>	306
[1409]	000	
[1410]	<210>	307
[1411]	<400>	307
[1412]	000	
[1413]	<210>	308
[1414]	<400>	308
[1415]	000	
[1416]	<210>	309
[1417]	<400>	309
[1418]	000	
[1419]	<210>	310
[1420]	<400>	310
[1421]	000	
[1422]	<210>	311
[1423]	<400>	311
[1424]	000	
[1425]	<210>	312
[1426]	<400>	312
[1427]	000	
[1428]	<210>	313
[1429]	<400>	313
[1430]	000	
[1431]	<210>	314
[1432]	<400>	314
[1433]	000	
[1434]	<210>	315
[1435]	<400>	315
[1436]	000	
[1437]	<210>	316
[1438]	<400>	316
[1439]	000	
[1440]	<210>	317
[1441]	<400>	317
[1442]	000	

[1443]	<210>	318
[1444]	<400>	318
[1445]	000	
[1446]	<210>	319
[1447]	<400>	319
[1448]	000	
[1449]	<210>	320
[1450]	<400>	320
[1451]	000	
[1452]	<210>	321
[1453]	<400>	321
[1454]	000	
[1455]	<210>	322
[1456]	<400>	322
[1457]	000	
[1458]	<210>	323
[1459]	<400>	323
[1460]	000	
[1461]	<210>	324
[1462]	<400>	324
[1463]	000	
[1464]	<210>	325
[1465]	<400>	325
[1466]	000	
[1467]	<210>	326
[1468]	<400>	326
[1469]	000	
[1470]	<210>	327
[1471]	<400>	327
[1472]	000	
[1473]	<210>	328
[1474]	<400>	328
[1475]	000	
[1476]	<210>	329
[1477]	<400>	329
[1478]	000	
[1479]	<210>	330
[1480]	<400>	330
[1481]	000	

[1482]	<210>	331
[1483]	<400>	331
[1484]	000	
[1485]	<210>	332
[1486]	<400>	332
[1487]	000	
[1488]	<210>	333
[1489]	<400>	333
[1490]	000	
[1491]	<210>	334
[1492]	<400>	334
[1493]	000	
[1494]	<210>	335
[1495]	<400>	335
[1496]	000	
[1497]	<210>	336
[1498]	<400>	336
[1499]	000	
[1500]	<210>	337
[1501]	<400>	337
[1502]	000	
[1503]	<210>	338
[1504]	<400>	338
[1505]	000	
[1506]	<210>	339
[1507]	<400>	339
[1508]	000	
[1509]	<210>	340
[1510]	<400>	340
[1511]	000	
[1512]	<210>	341
[1513]	<400>	341
[1514]	000	
[1515]	<210>	342
[1516]	<400>	342
[1517]	000	
[1518]	<210>	343
[1519]	<400>	343
[1520]	000	

[1521]	<210>	344
[1522]	<400>	344
[1523]	000	
[1524]	<210>	345
[1525]	<400>	345
[1526]	000	
[1527]	<210>	346
[1528]	<400>	346
[1529]	000	
[1530]	<210>	347
[1531]	<400>	347
[1532]	000	
[1533]	<210>	348
[1534]	<400>	348
[1535]	000	
[1536]	<210>	349
[1537]	<400>	349
[1538]	000	
[1539]	<210>	350
[1540]	<400>	350
[1541]	000	
[1542]	<210>	351
[1543]	<400>	351
[1544]	000	
[1545]	<210>	352
[1546]	<400>	352
[1547]	000	
[1548]	<210>	353
[1549]	<400>	353
[1550]	000	
[1551]	<210>	354
[1552]	<400>	354
[1553]	000	
[1554]	<210>	355
[1555]	<400>	355
[1556]	000	
[1557]	<210>	356
[1558]	<400>	356
[1559]	000	

---

[1560]	<210>	357
[1561]	<400>	357
[1562]	000	
[1563]	<210>	358
[1564]	<400>	358
[1565]	000	
[1566]	<210>	359
[1567]	<400>	359
[1568]	000	
[1569]	<210>	360
[1570]	<400>	360
[1571]	000	
[1572]	<210>	361
[1573]	<400>	361
[1574]	000	
[1575]	<210>	362
[1576]	<400>	362
[1577]	000	
[1578]	<210>	363
[1579]	<400>	363
[1580]	000	
[1581]	<210>	364
[1582]	<400>	364
[1583]	000	
[1584]	<210>	365
[1585]	<400>	365
[1586]	000	
[1587]	<210>	366
[1588]	<400>	366
[1589]	000	
[1590]	<210>	367
[1591]	<400>	367
[1592]	000	
[1593]	<210>	368
[1594]	<400>	368
[1595]	000	
[1596]	<210>	369
[1597]	<400>	369
[1598]	000	



[1599]	<210>	370
[1600]	<400>	370
[1601]	000	
[1602]	<210>	371
[1603]	<400>	371
[1604]	000	
[1605]	<210>	372
[1606]	<400>	372
[1607]	000	
[1608]	<210>	373
[1609]	<400>	373
[1610]	000	
[1611]	<210>	374
[1612]	<400>	374
[1613]	000	
[1614]	<210>	375
[1615]	<400>	375
[1616]	000	
[1617]	<210>	376
[1618]	<400>	376
[1619]	000	
[1620]	<210>	377
[1621]	<400>	377
[1622]	000	
[1623]	<210>	378
[1624]	<400>	378
[1625]	000	
[1626]	<210>	379
[1627]	<400>	379
[1628]	000	
[1629]	<210>	380
[1630]	<400>	380
[1631]	000	
[1632]	<210>	381
[1633]	<400>	381
[1634]	000	
[1635]	<210>	382
[1636]	<400>	382
[1637]	000	

---

[1638]	<210>	383
[1639]	<400>	383
[1640]		000
[1641]	<210>	384
[1642]	<400>	384
[1643]		000
[1644]	<210>	385
[1645]	<400>	385
[1646]		000
[1647]	<210>	386
[1648]	<400>	386
[1649]		000
[1650]	<210>	387
[1651]	<400>	387
[1652]		000
[1653]	<210>	388
[1654]	<400>	388
[1655]		000
[1656]	<210>	389
[1657]	<400>	389
[1658]		000
[1659]	<210>	390
[1660]	<400>	390
[1661]		000
[1662]	<210>	391
[1663]	<400>	391
[1664]		000
[1665]	<210>	392
[1666]	<400>	392
[1667]		000
[1668]	<210>	393
[1669]	<400>	393
[1670]		000
[1671]	<210>	394
[1672]	<400>	394
[1673]		000
[1674]	<210>	395
[1675]	<400>	395
[1676]		000

[1677] <210> 396  
[1678] <400> 396  
[1679] 000  
[1680] <210> 397  
[1681] <400> 397  
[1682] 000  
[1683] <210> 398  
[1684] <400> 398  
[1685] 000  
[1686] <210> 399  
[1687] <400> 399  
[1688] 000  
[1689] <210> 400  
[1690] <211> 5  
[1691] <212> PRT  
[1692] <213> Artificial Sequence  
[1693] <220>  
[1694] <223> BMS-936559/MDX-1105抗体1 VH CDR1  
[1695] <400> 400  
[1696] Asp Tyr Gly Phe Ser  
[1697] 1 5  
[1698] <210> 401  
[1699] <211> 17  
[1700] <212> PRT  
[1701] <213> Artificial Sequence  
[1702] <220>  
[1703] <223> BMS-936559/MDX-1105抗体1 VH CDR2  
[1704] <400> 401  
[1705] Trp Ile Thr Ala Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Leu Gln  
[1706] 1 5 10 15  
[1707] Gly  
[1708] <210> 402  
[1709] <211> 8  
[1710] <212> PRT  
[1711] <213> Artificial Sequence  
[1712] <220>  
[1713] <223> BMS-936559/MDX-1105抗体1 VH CDR3  
[1714] <400> 402  
[1715] Asp Tyr Phe Tyr Gly Met Asp Val

[1716]	1	5
[1717]	<210>	403
[1718]	<211>	11
[1719]	<212>	PRT
[1720]	<213>	Artificial Sequence
[1721]	<220>	
[1722]	<223>	BMS-936559/MDX-1105抗体1 VL CDR1
[1723]	<400>	403
[1724]	Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr Leu Val	
[1725]	1	5 10
[1726]	<210>	404
[1727]	<211>	7
[1728]	<212>	PRT
[1729]	<213>	Artificial Sequence
[1730]	<220>	
[1731]	<223>	BMS-936559/MDX-1105抗体1 VL CDR2
[1732]	<400>	404
[1733]	Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr	
[1734]	1	5
[1735]	<210>	405
[1736]	<211>	9
[1737]	<212>	PRT
[1738]	<213>	Artificial Sequence
[1739]	<220>	
[1740]	<223>	BMS-936559/MDX-1105抗体1 VL CDR3
[1741]	<400>	405
[1742]	Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Arg Thr	
[1743]	1	5
[1744]	<210>	406
[1745]	<211>	5
[1746]	<212>	PRT
[1747]	<213>	Artificial Sequence
[1748]	<220>	
[1749]	<223>	BMS-936559/MDX-1105抗体2 VH CDR1
[1750]	<400>	406
[1751]	Thr Tyr Ala Ile Ser	
[1752]	1	5
[1753]	<210>	407
[1754]	<211>	17

[1755] <212> PRT  
[1756] <213> Artificial Sequence  
[1757] <220>  
[1758] <223> BMS-936559/MDX-1105抗体2 VH CDR2  
[1759] <400> 407  
[1760] Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Lys Ala His Tyr Ala Gln Lys Phe Gln  
[1761] 1 5 10 15  
[1762] Gly  
[1763] <210> 408  
[1764] <211> 14  
[1765] <212> PRT  
[1766] <213> Artificial Sequence  
[1767] <220>  
[1768] <223> BMS-936559/MDX-1105抗体2 VH CDR3  
[1769] <400> 408  
[1770] Lys Phe His Phe Val Ser Gly Ser Pro Phe Gly Met Asp Val  
[1771] 1 5 10  
[1772] <210> 409  
[1773] <211> 11  
[1774] <212> PRT  
[1775] <213> Artificial Sequence  
[1776] <220>  
[1777] <223> BMS-936559/MDX-1105抗体2 VL CDR1  
[1778] <400> 409  
[1779] Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr Leu Ala  
[1780] 1 5 10  
[1781] <210> 410  
[1782] <211> 7  
[1783] <212> PRT  
[1784] <213> Artificial Sequence  
[1785] <220>  
[1786] <223> BMS-936559/MDX-1105抗体2 VL CDR2  
[1787] <400> 410  
[1788] Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr  
[1789] 1 5  
[1790] <210> 411  
[1791] <211> 8  
[1792] <212> PRT  
[1793] <213> Artificial Sequence

[1794] <220>  
[1795] <223> BMS-936559/MDX-1105抗体2 VL CDR3  
[1796] <400> 411  
[1797] Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Thr  
[1798] 1 5  
[1799] <210> 412  
[1800] <211> 5  
[1801] <212> PRT  
[1802] <213> Artificial Sequence  
[1803] <220>  
[1804] <223> BMS-936559/MDX-1105抗体3 VH CDR1  
[1805] <400> 412  
[1806] Ser Tyr Asp Val His  
[1807] 1 5  
[1808] <210> 413  
[1809] <211> 17  
[1810] <212> PRT  
[1811] <213> Artificial Sequence  
[1812] <220>  
[1813] <223> BMS-936559/MDX-1105抗体3 VH CDR2  
[1814] <400> 413  
[1815] Trp Leu His Ala Asp Thr Gly Ile Thr Lys Phe Ser Gln Lys Phe Gln  
[1816] 1 5 10 15  
[1817] Gly  
[1818] <210> 414  
[1819] <211> 9  
[1820] <212> PRT  
[1821] <213> Artificial Sequence  
[1822] <220>  
[1823] <223> BMS-936559/MDX-1105抗体3 VH CDR3  
[1824] <400> 414  
[1825] Glu Arg Ile Gln Leu Trp Phe Asp Tyr  
[1826] 1 5  
[1827] <210> 415  
[1828] <211> 11  
[1829] <212> PRT  
[1830] <213> Artificial Sequence  
[1831] <220>  
[1832] <223> BMS-936559/MDX-1105抗体3 VL CDR1

[1833]	<400> 415
[1834]	Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp Leu Ala
[1835]	1 5 10
[1836]	<210> 416
[1837]	<211> 7
[1838]	<212> PRT
[1839]	<213> Artificial Sequence
[1840]	<220>
[1841]	<223> BMS-936559/MDX-1105抗体3 VL CDR2
[1842]	<400> 416
[1843]	Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
[1844]	1 5
[1845]	<210> 417
[1846]	<211> 9
[1847]	<212> PRT
[1848]	<213> Artificial Sequence
[1849]	<220>
[1850]	<223> BMS-936559/MDX-1105抗体3 VL CDR3
[1851]	<400> 417
[1852]	Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Tyr Thr
[1853]	1 5
[1854]	<210> 418
[1855]	<211> 121
[1856]	<212> PRT
[1857]	<213> Artificial Sequence
[1858]	<220>
[1859]	<223> 度伐单抗/MEDI4736 VH序列
[1860]	<400> 418
[1861]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[1862]	1 5 10 15
[1863]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Tyr
[1864]	20 25 30
[1865]	Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[1866]	35 40 45
[1867]	Ala Asn Ile Lys Gln Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val
[1868]	50 55 60
[1869]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
[1870]	65 70 75 80
[1871]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

[1872]	85	90	95
[1873]	Ala Arg Glu Gly Gly Trp Phe Gly Glu Leu Ala Phe Asp Tyr Trp Gly		
[1874]	100	105	110
[1875]	Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser		
[1876]	115	120	
[1877]	<210> 419		
[1878]	<211> 108		
[1879]	<212> PRT		
[1880]	<213> Artificial Sequence		
[1881]	<220>		
[1882]	<223> 度伐单抗/MEDI4736 VL序列		
[1883]	<400> 419		
[1884]	Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly		
[1885]	1 5 10 15		
[1886]	Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Arg Val Ser Ser Ser		
[1887]	20 25 30		
[1888]	Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu		
[1889]	35 40 45		
[1890]	Ile Tyr Asp Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser		
[1891]	50 55 60		
[1892]	Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu		
[1893]	65 70 75 80		
[1894]	Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Leu Pro		
[1895]	85 90 95		
[1896]	Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys		
[1897]	100 105		
[1898]	<210> 420		
[1899]	<400> 420		
[1900]	000		
[1901]	<210> 421		
[1902]	<400> 421		
[1903]	000		
[1904]	<210> 422		
[1905]	<400> 422		
[1906]	000		
[1907]	<210> 423		
[1908]	<400> 423		
[1909]	000		
[1910]	<210> 424		



---

[1911]	<400> 424
[1912]	000
[1913]	<210> 425
[1914]	<400> 425
[1915]	000
[1916]	<210> 426
[1917]	<400> 426
[1918]	000
[1919]	<210> 427
[1920]	<400> 427
[1921]	000
[1922]	<210> 428
[1923]	<400> 428
[1924]	000
[1925]	<210> 429
[1926]	<400> 429
[1927]	000
[1928]	<210> 430
[1929]	<400> 430
[1930]	000
[1931]	<210> 431
[1932]	<400> 431
[1933]	000
[1934]	<210> 432
[1935]	<400> 432
[1936]	000
[1937]	<210> 433
[1938]	<400> 433
[1939]	000
[1940]	<210> 434
[1941]	<400> 434
[1942]	000
[1943]	<210> 435
[1944]	<400> 435
[1945]	000
[1946]	<210> 436
[1947]	<400> 436
[1948]	000
[1949]	<210> 437

---

[1950]	<400>	437
[1951]		000
[1952]	<210>	438
[1953]	<400>	438
[1954]		000
[1955]	<210>	439
[1956]	<400>	439
[1957]		000
[1958]	<210>	440
[1959]	<400>	440
[1960]		000
[1961]	<210>	441
[1962]	<400>	441
[1963]		000
[1964]	<210>	442
[1965]	<400>	442
[1966]		000
[1967]	<210>	443
[1968]	<400>	443
[1969]		000
[1970]	<210>	444
[1971]	<400>	444
[1972]		000
[1973]	<210>	445
[1974]	<400>	445
[1975]		000
[1976]	<210>	446
[1977]	<400>	446
[1978]		000
[1979]	<210>	447
[1980]	<400>	447
[1981]		000
[1982]	<210>	448
[1983]	<400>	448
[1984]		000
[1985]	<210>	449
[1986]	<400>	449
[1987]		000
[1988]	<210>	450

---

[1989]	<400>	450
[1990]	000	
[1991]	<210>	451
[1992]	<400>	451
[1993]	000	
[1994]	<210>	452
[1995]	<400>	452
[1996]	000	
[1997]	<210>	453
[1998]	<400>	453
[1999]	000	
[2000]	<210>	454
[2001]	<400>	454
[2002]	000	
[2003]	<210>	455
[2004]	<400>	455
[2005]	000	
[2006]	<210>	456
[2007]	<400>	456
[2008]	000	
[2009]	<210>	457
[2010]	<400>	457
[2011]	000	
[2012]	<210>	458
[2013]	<400>	458
[2014]	000	
[2015]	<210>	459
[2016]	<400>	459
[2017]	000	
[2018]	<210>	460
[2019]	<400>	460
[2020]	000	
[2021]	<210>	461
[2022]	<400>	461
[2023]	000	
[2024]	<210>	462
[2025]	<400>	462
[2026]	000	
[2027]	<210>	463

[2028]	<400>	463
[2029]	000	
[2030]	<210>	464
[2031]	<400>	464
[2032]	000	
[2033]	<210>	465
[2034]	<400>	465
[2035]	000	
[2036]	<210>	466
[2037]	<400>	466
[2038]	000	
[2039]	<210>	467
[2040]	<400>	467
[2041]	000	
[2042]	<210>	468
[2043]	<400>	468
[2044]	000	
[2045]	<210>	469
[2046]	<400>	469
[2047]	000	
[2048]	<210>	470
[2049]	<400>	470
[2050]	000	
[2051]	<210>	471
[2052]	<400>	471
[2053]	000	
[2054]	<210>	472
[2055]	<400>	472
[2056]	000	
[2057]	<210>	473
[2058]	<400>	473
[2059]	000	
[2060]	<210>	474
[2061]	<400>	474
[2062]	000	
[2063]	<210>	475
[2064]	<400>	475
[2065]	000	
[2066]	<210>	476

---

[2067]	<400> 476
[2068]	000
[2069]	<210> 477
[2070]	<400> 477
[2071]	000
[2072]	<210> 478
[2073]	<400> 478
[2074]	000
[2075]	<210> 479
[2076]	<400> 479
[2077]	000
[2078]	<210> 480
[2079]	<400> 480
[2080]	000
[2081]	<210> 481
[2082]	<400> 481
[2083]	000
[2084]	<210> 482
[2085]	<400> 482
[2086]	000
[2087]	<210> 483
[2088]	<400> 483
[2089]	000
[2090]	<210> 484
[2091]	<400> 484
[2092]	000
[2093]	<210> 485
[2094]	<400> 485
[2095]	000
[2096]	<210> 486
[2097]	<400> 486
[2098]	000
[2099]	<210> 487
[2100]	<400> 487
[2101]	000
[2102]	<210> 488
[2103]	<400> 488
[2104]	000
[2105]	<210> 489

---

[2106]	<400> 489
[2107]	000
[2108]	<210> 490
[2109]	<400> 490
[2110]	000
[2111]	<210> 491
[2112]	<400> 491
[2113]	000
[2114]	<210> 492
[2115]	<400> 492
[2116]	000
[2117]	<210> 493
[2118]	<400> 493
[2119]	000
[2120]	<210> 494
[2121]	<400> 494
[2122]	000
[2123]	<210> 495
[2124]	<400> 495
[2125]	000
[2126]	<210> 496
[2127]	<400> 496
[2128]	000
[2129]	<210> 497
[2130]	<400> 497
[2131]	000
[2132]	<210> 498
[2133]	<400> 498
[2134]	000
[2135]	<210> 499
[2136]	<400> 499
[2137]	000
[2138]	<210> 500
[2139]	<211> 107
[2140]	<212> PRT
[2141]	<213> Artificial Sequence
[2142]	<220>
[2143]	<223> TRX518 VL序列
[2144]	<400> 500

[2145]	Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly
[2146]	1 5 10 15
[2147]	Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Asn
[2148]	20 25 30
[2149]	Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
[2150]	35 40 45
[2151]	Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
[2152]	50 55 60
[2153]	Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser
[2154]	65 70 75 80
[2155]	Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Thr Asp Pro Leu
[2156]	85 90 95
[2157]	Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
[2158]	100 105
[2159]	<210> 501
[2160]	<211> 118
[2161]	<212> PRT
[2162]	<213> Artificial Sequence
[2163]	<220>
[2164]	<223> TRX518 VH序列
[2165]	<400> 501
[2166]	Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
[2167]	1 5 10 15
[2168]	Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser
[2169]	20 25 30
[2170]	Gly Met Gly Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
[2171]	35 40 45
[2172]	Trp Leu Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro Ser
[2173]	50 55 60
[2174]	Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
[2175]	65 70 75 80
[2176]	Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
[2177]	85 90 95
[2178]	Cys Ala Arg Thr Arg Arg Tyr Phe Pro Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
[2179]	100 105 110
[2180]	Thr Leu Val Thr Val Ser
[2181]	115
[2182]	<210> 502
[2183]	<211> 118

[2184]	<212>	PRT
[2185]	<213>	Artificial Sequence
[2186]	<220>	
[2187]	<223>	TRX518 VH序列
[2188]	<400>	502
[2189]	Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln	
[2190]	1 5 10 15	
[2191]	Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser	
[2192]	20 25 30	
[2193]	Gly Met Gly Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu	
[2194]	35 40 45	
[2195]	Trp Leu Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Gln Pro Ser	
[2196]	50 55 60	
[2197]	Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val	
[2198]	65 70 75 80	
[2199]	Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr	
[2200]	85 90 95	
[2201]	Cys Ala Arg Thr Arg Arg Tyr Phe Pro Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly	
[2202]	100 105 110	
[2203]	Thr Leu Val Thr Val Ser	
[2204]	115	
[2205]	<210>	503
[2206]	<400>	503
[2207]	000	
[2208]	<210>	504
[2209]	<400>	504
[2210]	000	
[2211]	<210>	505
[2212]	<400>	505
[2213]	000	
[2214]	<210>	506
[2215]	<400>	506
[2216]	000	
[2217]	<210>	507
[2218]	<400>	507
[2219]	000	
[2220]	<210>	508
[2221]	<400>	508
[2222]	000	



[2223]	<210>	509
[2224]	<400>	509
[2225]	000	
[2226]	<210>	510
[2227]	<400>	510
[2228]	000	
[2229]	<210>	511
[2230]	<400>	511
[2231]	000	
[2232]	<210>	512
[2233]	<400>	512
[2234]	000	
[2235]	<210>	513
[2236]	<400>	513
[2237]	000	
[2238]	<210>	514
[2239]	<400>	514
[2240]	000	
[2241]	<210>	515
[2242]	<400>	515
[2243]	000	
[2244]	<210>	516
[2245]	<400>	516
[2246]	000	
[2247]	<210>	517
[2248]	<400>	517
[2249]	000	
[2250]	<210>	518
[2251]	<400>	518
[2252]	000	
[2253]	<210>	519
[2254]	<400>	519
[2255]	000	
[2256]	<210>	520
[2257]	<400>	520
[2258]	000	
[2259]	<210>	521
[2260]	<400>	521
[2261]	000	

[2262]	<210>	522
[2263]	<400>	522
[2264]	000	
[2265]	<210>	523
[2266]	<400>	523
[2267]	000	
[2268]	<210>	524
[2269]	<400>	524
[2270]	000	
[2271]	<210>	525
[2272]	<400>	525
[2273]	000	
[2274]	<210>	526
[2275]	<400>	526
[2276]	000	
[2277]	<210>	527
[2278]	<400>	527
[2279]	000	
[2280]	<210>	528
[2281]	<400>	528
[2282]	000	
[2283]	<210>	529
[2284]	<400>	529
[2285]	000	
[2286]	<210>	530
[2287]	<400>	530
[2288]	000	
[2289]	<210>	531
[2290]	<400>	531
[2291]	000	
[2292]	<210>	532
[2293]	<400>	532
[2294]	000	
[2295]	<210>	533
[2296]	<400>	533
[2297]	000	
[2298]	<210>	534
[2299]	<400>	534
[2300]	000	

[2301]	<210>	535
[2302]	<400>	535
[2303]	000	
[2304]	<210>	536
[2305]	<400>	536
[2306]	000	
[2307]	<210>	537
[2308]	<400>	537
[2309]	000	
[2310]	<210>	538
[2311]	<400>	538
[2312]	000	
[2313]	<210>	539
[2314]	<400>	539
[2315]	000	
[2316]	<210>	540
[2317]	<400>	540
[2318]	000	
[2319]	<210>	541
[2320]	<400>	541
[2321]	000	
[2322]	<210>	542
[2323]	<400>	542
[2324]	000	
[2325]	<210>	543
[2326]	<400>	543
[2327]	000	
[2328]	<210>	544
[2329]	<400>	544
[2330]	000	
[2331]	<210>	545
[2332]	<400>	545
[2333]	000	
[2334]	<210>	546
[2335]	<400>	546
[2336]	000	
[2337]	<210>	547
[2338]	<400>	547
[2339]	000	

[2340]	<210>	548
[2341]	<400>	548
[2342]	000	
[2343]	<210>	549
[2344]	<400>	549
[2345]	000	
[2346]	<210>	550
[2347]	<400>	550
[2348]	000	
[2349]	<210>	551
[2350]	<400>	551
[2351]	000	
[2352]	<210>	552
[2353]	<400>	552
[2354]	000	
[2355]	<210>	553
[2356]	<400>	553
[2357]	000	
[2358]	<210>	554
[2359]	<400>	554
[2360]	000	
[2361]	<210>	555
[2362]	<400>	555
[2363]	000	
[2364]	<210>	556
[2365]	<400>	556
[2366]	000	
[2367]	<210>	557
[2368]	<400>	557
[2369]	000	
[2370]	<210>	558
[2371]	<400>	558
[2372]	000	
[2373]	<210>	559
[2374]	<400>	559
[2375]	000	
[2376]	<210>	560
[2377]	<400>	560
[2378]	000	

[2379]	<210>	561
[2380]	<400>	561
[2381]	000	
[2382]	<210>	562
[2383]	<400>	562
[2384]	000	
[2385]	<210>	563
[2386]	<400>	563
[2387]	000	
[2388]	<210>	564
[2389]	<400>	564
[2390]	000	
[2391]	<210>	565
[2392]	<400>	565
[2393]	000	
[2394]	<210>	566
[2395]	<400>	566
[2396]	000	
[2397]	<210>	567
[2398]	<400>	567
[2399]	000	
[2400]	<210>	568
[2401]	<400>	568
[2402]	000	
[2403]	<210>	569
[2404]	<400>	569
[2405]	000	
[2406]	<210>	570
[2407]	<400>	570
[2408]	000	
[2409]	<210>	571
[2410]	<400>	571
[2411]	000	
[2412]	<210>	572
[2413]	<400>	572
[2414]	000	
[2415]	<210>	573
[2416]	<400>	573
[2417]	000	

---

[2418]	<210>	574
[2419]	<400>	574
[2420]	000	
[2421]	<210>	575
[2422]	<400>	575
[2423]	000	
[2424]	<210>	576
[2425]	<400>	576
[2426]	000	
[2427]	<210>	577
[2428]	<400>	577
[2429]	000	
[2430]	<210>	578
[2431]	<400>	578
[2432]	000	
[2433]	<210>	579
[2434]	<400>	579
[2435]	000	
[2436]	<210>	580
[2437]	<400>	580
[2438]	000	
[2439]	<210>	581
[2440]	<400>	581
[2441]	000	
[2442]	<210>	582
[2443]	<400>	582
[2444]	000	
[2445]	<210>	583
[2446]	<400>	583
[2447]	000	
[2448]	<210>	584
[2449]	<400>	584
[2450]	000	
[2451]	<210>	585
[2452]	<400>	585
[2453]	000	
[2454]	<210>	586
[2455]	<400>	586
[2456]	000	

[2457]	<210>	587
[2458]	<400>	587
[2459]	000	
[2460]	<210>	588
[2461]	<400>	588
[2462]	000	
[2463]	<210>	589
[2464]	<400>	589
[2465]	000	
[2466]	<210>	590
[2467]	<400>	590
[2468]	000	
[2469]	<210>	591
[2470]	<400>	591
[2471]	000	
[2472]	<210>	592
[2473]	<400>	592
[2474]	000	
[2475]	<210>	593
[2476]	<400>	593
[2477]	000	
[2478]	<210>	594
[2479]	<400>	594
[2480]	000	
[2481]	<210>	595
[2482]	<400>	595
[2483]	000	
[2484]	<210>	596
[2485]	<400>	596
[2486]	000	
[2487]	<210>	597
[2488]	<400>	597
[2489]	000	
[2490]	<210>	598
[2491]	<400>	598
[2492]	000	
[2493]	<210>	599
[2494]	<400>	599
[2495]	000	

[2496]	<210>	600
[2497]	<211>	450
[2498]	<212>	PRT
[2499]	<213>	Artificial Sequence
[2500]	<220>	
[2501]	<223>	MEDI0562重链序列
[2502]	<400>	600
[2503]	Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln	
[2504]	1	5 10 15
[2505]	Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Ser Gly	
[2506]	20 25 30	
[2507]	Tyr Trp Asn Trp Ile Arg Lys His Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Ile	
[2508]	35 40 45	
[2509]	Gly Tyr Ile Ser Tyr Asn Gly Ile Thr Tyr His Asn Pro Ser Leu Lys	
[2510]	50 55 60	
[2511]	Ser Arg Ile Thr Ile Asn Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Tyr Ser Leu	
[2512]	65 70 75 80	
[2513]	Gln Leu Asn Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala	
[2514]	85 90 95	
[2515]	Arg Tyr Lys Tyr Asp Tyr Asp Gly Gly His Ala Met Asp Tyr Trp Gly	
[2516]	100 105 110	
[2517]	Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser	
[2518]	115 120 125	
[2519]	Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala	
[2520]	130 135 140	
[2521]	Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val	
[2522]	145 150 155 160	
[2523]	Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala	
[2524]	165 170 175	
[2525]	Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val	
[2526]	180 185 190	
[2527]	Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His	
[2528]	195 200 205	
[2529]	Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys	
[2530]	210 215 220	
[2531]	Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly	
[2532]	225 230 235 240	
[2533]	Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met	
[2534]	245 250 255	



[2535]	Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
[2536]	260 265 270
[2537]	Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
[2538]	275 280 285
[2539]	His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
[2540]	290 295 300
[2541]	Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
[2542]	305 310 315 320
[2543]	Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
[2544]	325 330 335
[2545]	Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
[2546]	340 345 350
[2547]	Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
[2548]	355 360 365
[2549]	Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
[2550]	370 375 380
[2551]	Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
[2552]	385 390 395 400
[2553]	Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
[2554]	405 410 415
[2555]	Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
[2556]	420 425 430
[2557]	His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
[2558]	435 440 445
[2559]	Pro Gly
[2560]	450
[2561]	<210> 601
[2562]	<211> 214
[2563]	<212> PRT
[2564]	<213> Artificial Sequence
[2565]	<220>
[2566]	<223> MEDI0562轻链序列
[2567]	<400> 601
[2568]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
[2569]	1 5 10 15
[2570]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
[2571]	20 25 30
[2572]	Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
[2573]	35 40 45

[2574]	Tyr	Tyr	Thr	Ser	Lys	Leu	His	Ser	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly
[2575]	50						55				60					
[2576]	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Tyr	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro
[2577]	65					70					75				80	
[2578]	Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Gly	Ser	Ala	Leu	Pro	Trp
[2579]					85					90					95	
[2580]	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys	Arg	Thr	Val	Ala	Ala
[2581]				100					105					110		
[2582]	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly
[2583]			115					120					125			
[2584]	Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala
[2585]	130						135					140				
[2586]	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser	Gly	Asn	Ser	Gln
[2587]	145					150					155				160	
[2588]	Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser
[2589]					165					170					175	
[2590]	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	His	Lys	Val	Tyr
[2591]				180						185					190	
[2592]	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro	Val	Thr	Lys	Ser
[2593]			195					200					205			
[2594]	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys										
[2595]	210															
[2596]	<210>	602														
[2597]	<211>	402														
[2598]	<212>	PRT														
[2599]	<213>	Artificial Sequence														
[2600]	<220>															
[2601]	<223>	MEDI6383														
[2602]	<400>	602														
[2603]	Glu	Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro	Pro	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Phe
[2604]	1				5					10					15	
[2605]	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr
[2606]				20					25				30			
[2607]	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val
[2608]			35					40					45			
[2609]	Ser	Gln	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val
[2610]	50						55					60				
[2611]	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser
[2612]	65					70					75				80	

[2613]	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu
[2614]					85					90					95	
[2615]	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ser
[2616]				100					105					110		
[2617]	Ser	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro
[2618]			115					120					125			
[2619]	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Gln	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln
[2620]		130					135					140				
[2621]	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala
[2622]	145					150					155					160
[2623]	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr
[2624]					165					170					175	
[2625]	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Arg	Leu
[2626]				180					185					190		
[2627]	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Glu	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser
[2628]			195					200					205			
[2629]	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser
[2630]		210					215					220				
[2631]	Leu	Ser	Leu	Gly	Lys	Asp	Gln	Asp	Lys	Ile	Glu	Ala	Leu	Ser	Ser	Lys
[2632]	225					230					235					240
[2633]	Val	Gln	Gln	Leu	Glu	Arg	Ser	Ile	Gly	Leu	Lys	Asp	Leu	Ala	Met	Ala
[2634]				245						250					255	
[2635]	Asp	Leu	Glu	Gln	Lys	Val	Leu	Glu	Met	Glu	Ala	Ser	Thr	Gln	Val	Ser
[2636]			260						265					270		
[2637]	His	Arg	Tyr	Pro	Arg	Ile	Gln	Ser	Ile	Lys	Val	Gln	Phe	Thr	Glu	Tyr
[2638]			275					280					285			
[2639]	Lys	Lys	Glu	Lys	Gly	Phe	Ile	Leu	Thr	Ser	Gln	Lys	Glu	Asp	Glu	Ile
[2640]		290					295					300				
[2641]	Met	Lys	Val	Gln	Asn	Asn	Ser	Val	Ile	Ile	Asn	Cys	Asp	Gly	Phe	Tyr
[2642]	305					310					315					320
[2643]	Leu	Ile	Ser	Leu	Lys	Gly	Tyr	Phe	Ser	Gln	Glu	Val	Asn	Ile	Ser	Leu
[2644]				325						330					335	
[2645]	His	Tyr	Gln	Lys	Asp	Glu	Glu	Pro	Leu	Phe	Gln	Leu	Lys	Lys	Val	Arg
[2646]			340						345					350		
[2647]	Ser	Val	Asn	Ser	Leu	Met	Val	Ala	Ser	Leu	Thr	Tyr	Lys	Asp	Lys	Val
[2648]			355					360					365			
[2649]	Tyr	Leu	Asn	Val	Thr	Thr	Asp	Asn	Thr	Ser	Leu	Asp	Asp	Phe	His	Val
[2650]		370					375					380				
[2651]	Asn	Gly	Gly	Glu	Leu	Ile	Leu	Ile	His	Gln	Asn	Pro	Gly	Glu	Phe	Cys

[2652]	385	390	395	400
[2653]	Val Leu			
[2654]	<210> 603			
[2655]	<211> 121			
[2656]	<212> PRT			
[2657]	<213> Artificial Sequence			
[2658]	<220>			
[2659]	<223> 0x40mAb24 VH序列			
[2660]	<400> 603			
[2661]	Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln			
[2662]	1 5 10 15			
[2663]	Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Ser Gly			
[2664]	20 25 30			
[2665]	Tyr Trp Asn Trp Ile Arg Lys His Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Ile			
[2666]	35 40 45			
[2667]	Gly Tyr Ile Ser Tyr Asn Gly Ile Thr Tyr His Asn Pro Ser Leu Lys			
[2668]	50 55 60			
[2669]	Ser Arg Ile Thr Ile Asn Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Tyr Ser Leu			
[2670]	65 70 75 80			
[2671]	Gln Leu Asn Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala			
[2672]	85 90 95			
[2673]	Arg Tyr Lys Tyr Asp Tyr Asp Gly Gly His Ala Met Asp Tyr Trp Gly			
[2674]	100 105 110			
[2675]	Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser			
[2676]	115 120			
[2677]	<210> 604			
[2678]	<211> 107			
[2679]	<212> PRT			
[2680]	<213> Artificial Sequence			
[2681]	<220>			
[2682]	<223> 0X40mAb24 VL序列			
[2683]	<400> 604			
[2684]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly			
[2685]	1 5 10 15			
[2686]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr			
[2687]	20 25 30			
[2688]	Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile			
[2689]	35 40 45			
[2690]	Tyr Tyr Thr Ser Lys Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly			

[2691]	50	55	60
[2692]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro		
[2693]	65	70	75
[2694]	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ser Ala Leu Pro Trp		
[2695]	85	90	95
[2696]	Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys		
[2697]	100	105	
[2698]	<210> 605		
[2699]	<211> 5		
[2700]	<212> PRT		
[2701]	<213> Artificial Sequence		
[2702]	<220>		
[2703]	<223> INCAGN1949抗体a VH CDR1		
[2704]	<400> 605		
[2705]	Gly Ser Ala Met His		
[2706]	1	5	
[2707]	<210> 606		
[2708]	<211> 19		
[2709]	<212> PRT		
[2710]	<213> Artificial Sequence		
[2711]	<220>		
[2712]	<223> INCAGN1949抗体a VH CDR2		
[2713]	<400> 606		
[2714]	Arg Ile Arg Ser Lys Ala Asn Ser Tyr Ala Thr Ala Tyr Ala Ala Ser		
[2715]	1	5	10
[2716]	Val Lys Gly		15
[2717]	<210> 607		
[2718]	<211> 10		
[2719]	<212> PRT		
[2720]	<213> Artificial Sequence		
[2721]	<220>		
[2722]	<223> INCAGN1949抗体a VH CDR3		
[2723]	<400> 607		
[2724]	Gly Ile Tyr Asp Ser Ser Gly Tyr Asp Tyr		
[2725]	1	5	10
[2726]	<210> 608		
[2727]	<211> 16		
[2728]	<212> PRT		
[2729]	<213> Artificial Sequence		

[2730] <220>  
 [2731] <223> INCAGN1949抗体a VL CDR1  
 [2732] <400> 608  
 [2733] Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp  
 [2734] 1 5 10 15  
 [2735] <210> 609  
 [2736] <211> 7  
 [2737] <212> PRT  
 [2738] <213> Artificial Sequence  
 [2739] <220>  
 [2740] <223> INCAGN1949抗体a VL CDR2  
 [2741] <400> 609  
 [2742] Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser  
 [2743] 1 5  
 [2744] <210> 610  
 [2745] <211> 9  
 [2746] <212> PRT  
 [2747] <213> Artificial Sequence  
 [2748] <220>  
 [2749] <223> INCAGN1949抗体a VL CDR3  
 [2750] <400> 610  
 [2751] Met Gln Ala Leu Gln Thr Pro Leu Thr  
 [2752] 1 5  
 [2753] <210> 611  
 [2754] <211> 121  
 [2755] <212> PRT  
 [2756] <213> Artificial Sequence  
 [2757] <220>  
 [2758] <223> INCAGN1949抗体b VH序列  
 [2759] <400> 611  
 [2760] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 [2761] 1 5 10 15  
 [2762] Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Gly Ser  
 [2763] 20 25 30  
 [2764] Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Ser Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 [2765] 35 40 45  
 [2766] Gly Arg Ile Arg Ser Lys Ala Asn Ser Tyr Ala Thr Ala Tyr Ala Ala  
 [2767] 50 55 60  
 [2768] Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr

[2769]	65	70	75	80
[2770]	Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr			
[2771]		85	90	95
[2772]	Tyr Cys Thr Ser Gly Ile Tyr Asp Ser Ser Gly Tyr Asp Tyr Trp Gly			
[2773]		100	105	110
[2774]	Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser			
[2775]		115	120	
[2776]	<210> 612			
[2777]	<211> 112			
[2778]	<212> PRT			
[2779]	<213> Artificial Sequence			
[2780]	<220>			
[2781]	<223> INCAGN1949抗体b VL序列			
[2782]	<400> 612			
[2783]	Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly			
[2784]	1	5	10	15
[2785]	Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser			
[2786]		20	25	30
[2787]	Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser			
[2788]		35	40	45
[2789]	Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro			
[2790]	50	55	60	
[2791]	Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile			
[2792]	65	70	75	80
[2793]	Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala			
[2794]		85	90	95
[2795]	Leu Gln Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys			
[2796]		100	105	110
[2797]	<210> 613			
[2798]	<400> 613			
[2799]	000			
[2800]	<210> 614			
[2801]	<400> 614			
[2802]	000			
[2803]	<210> 615			
[2804]	<400> 615			
[2805]	000			
[2806]	<210> 616			
[2807]	<400> 616			

---

[2808]	000
[2809]	<210> 617
[2810]	<400> 617
[2811]	000
[2812]	<210> 618
[2813]	<400> 618
[2814]	000
[2815]	<210> 619
[2816]	<400> 619
[2817]	000
[2818]	<210> 620
[2819]	<400> 620
[2820]	000
[2821]	<210> 621
[2822]	<400> 621
[2823]	000
[2824]	<210> 622
[2825]	<400> 622
[2826]	000
[2827]	<210> 623
[2828]	<400> 623
[2829]	000
[2830]	<210> 624
[2831]	<400> 624
[2832]	000
[2833]	<210> 625
[2834]	<400> 625
[2835]	000
[2836]	<210> 626
[2837]	<400> 626
[2838]	000
[2839]	<210> 627
[2840]	<400> 627
[2841]	000
[2842]	<210> 628
[2843]	<400> 628
[2844]	000
[2845]	<210> 629
[2846]	<400> 629



---

[2847]	000
[2848]	<210> 630
[2849]	<400> 630
[2850]	000
[2851]	<210> 631
[2852]	<400> 631
[2853]	000
[2854]	<210> 632
[2855]	<400> 632
[2856]	000
[2857]	<210> 633
[2858]	<400> 633
[2859]	000
[2860]	<210> 634
[2861]	<400> 634
[2862]	000
[2863]	<210> 635
[2864]	<400> 635
[2865]	000
[2866]	<210> 636
[2867]	<400> 636
[2868]	000
[2869]	<210> 637
[2870]	<400> 637
[2871]	000
[2872]	<210> 638
[2873]	<400> 638
[2874]	000
[2875]	<210> 639
[2876]	<400> 639
[2877]	000
[2878]	<210> 640
[2879]	<400> 640
[2880]	000
[2881]	<210> 641
[2882]	<400> 641
[2883]	000
[2884]	<210> 642
[2885]	<400> 642

---

[2886]	000
[2887]	<210> 643
[2888]	<400> 643
[2889]	000
[2890]	<210> 644
[2891]	<400> 644
[2892]	000
[2893]	<210> 645
[2894]	<400> 645
[2895]	000
[2896]	<210> 646
[2897]	<400> 646
[2898]	000
[2899]	<210> 647
[2900]	<400> 647
[2901]	000
[2902]	<210> 648
[2903]	<400> 648
[2904]	000
[2905]	<210> 649
[2906]	<400> 649
[2907]	000
[2908]	<210> 650
[2909]	<400> 650
[2910]	000
[2911]	<210> 651
[2912]	<400> 651
[2913]	000
[2914]	<210> 652
[2915]	<400> 652
[2916]	000
[2917]	<210> 653
[2918]	<400> 653
[2919]	000
[2920]	<210> 654
[2921]	<400> 654
[2922]	000
[2923]	<210> 655
[2924]	<400> 655

---

[2925]	000
[2926]	<210> 656
[2927]	<400> 656
[2928]	000
[2929]	<210> 657
[2930]	<400> 657
[2931]	000
[2932]	<210> 658
[2933]	<400> 658
[2934]	000
[2935]	<210> 659
[2936]	<400> 659
[2937]	000
[2938]	<210> 660
[2939]	<400> 660
[2940]	000
[2941]	<210> 661
[2942]	<400> 661
[2943]	000
[2944]	<210> 662
[2945]	<400> 662
[2946]	000
[2947]	<210> 663
[2948]	<400> 663
[2949]	000
[2950]	<210> 664
[2951]	<400> 664
[2952]	000
[2953]	<210> 665
[2954]	<400> 665
[2955]	000
[2956]	<210> 666
[2957]	<400> 666
[2958]	000
[2959]	<210> 667
[2960]	<400> 667
[2961]	000
[2962]	<210> 668
[2963]	<400> 668

---

[2964]	000
[2965]	<210> 669
[2966]	<400> 669
[2967]	000
[2968]	<210> 670
[2969]	<400> 670
[2970]	000
[2971]	<210> 671
[2972]	<400> 671
[2973]	000
[2974]	<210> 672
[2975]	<400> 672
[2976]	000
[2977]	<210> 673
[2978]	<400> 673
[2979]	000
[2980]	<210> 674
[2981]	<400> 674
[2982]	000
[2983]	<210> 675
[2984]	<400> 675
[2985]	000
[2986]	<210> 676
[2987]	<400> 676
[2988]	000
[2989]	<210> 677
[2990]	<400> 677
[2991]	000
[2992]	<210> 678
[2993]	<400> 678
[2994]	000
[2995]	<210> 679
[2996]	<400> 679
[2997]	000
[2998]	<210> 680
[2999]	<400> 680
[3000]	000
[3001]	<210> 681
[3002]	<400> 681

---

[3003]	000
[3004]	<210> 682
[3005]	<400> 682
[3006]	000
[3007]	<210> 683
[3008]	<400> 683
[3009]	000
[3010]	<210> 684
[3011]	<400> 684
[3012]	000
[3013]	<210> 685
[3014]	<400> 685
[3015]	000
[3016]	<210> 686
[3017]	<400> 686
[3018]	000
[3019]	<210> 687
[3020]	<400> 687
[3021]	000
[3022]	<210> 688
[3023]	<400> 688
[3024]	000
[3025]	<210> 689
[3026]	<400> 689
[3027]	000
[3028]	<210> 690
[3029]	<400> 690
[3030]	000
[3031]	<210> 691
[3032]	<400> 691
[3033]	000
[3034]	<210> 692
[3035]	<400> 692
[3036]	000
[3037]	<210> 693
[3038]	<400> 693
[3039]	000
[3040]	<210> 694
[3041]	<400> 694

[3042]	000
[3043]	<210> 695
[3044]	<400> 695
[3045]	000
[3046]	<210> 696
[3047]	<400> 696
[3048]	000
[3049]	<210> 697
[3050]	<400> 697
[3051]	000
[3052]	<210> 698
[3053]	<400> 698
[3054]	000
[3055]	<210> 699
[3056]	<400> 699
[3057]	000
[3058]	<210> 700
[3059]	<211> 167
[3060]	<212> PRT
[3061]	<213> Artificial Sequence
[3062]	<220>
[3063]	<223> 替西木单抗VH序列
[3064]	<400> 700
[3065]	Gly Val Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
[3066]	1 5 10 15
[3067]	Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro
[3068]	20 25 30
[3069]	Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn
[3070]	35 40 45
[3071]	Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp
[3072]	50 55 60
[3073]	Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu
[3074]	65 70 75 80
[3075]	Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Pro Arg Gly Ala Thr Leu
[3076]	85 90 95
[3077]	Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val
[3078]	100 105 110
[3079]	Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
[3080]	115 120 125

[3081]	Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
[3082]	130 135 140
[3083]	Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
[3084]	145 150 155 160
[3085]	Ala Leu Thr Ser Gly Val His
[3086]	165
[3087]	<210> 701
[3088]	<211> 139
[3089]	<212> PRT
[3090]	<213> Artificial Sequence
[3091]	<220>
[3092]	<223> 替西木单抗VL序列
[3093]	<400> 701
[3094]	Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
[3095]	1 5 10 15
[3096]	Arg Ala Ser Gln Ser Ile Asn Ser Tyr Leu Asp Trp Tyr Gln Gln Lys
[3097]	20 25 30
[3098]	Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln
[3099]	35 40 45
[3100]	Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
[3101]	50 55 60
[3102]	Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr
[3103]	65 70 75 80
[3104]	Cys Gln Gln Tyr Tyr Ser Thr Pro Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys
[3105]	85 90 95
[3106]	Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro
[3107]	100 105 110
[3108]	Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu
[3109]	115 120 125
[3110]	Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val
[3111]	130 135

## 序列

SEQ ID NO.1 [1H12 VH, CDR 加下划线]

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMSWVRQAPGKGLEWVATISSGGSY  
TYYPDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARHPIYYTYDDTMDYWGQG  
TTVTVSS

SEQ ID NO.2 [1H12 VL, CDR 加下划线]

EIVLTQSPGTLSPGERATLSCSASSSVSSGNFHWYQQKPLAPRLLIYRTSNLASGIP  
ARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQQWSGYPWTFGGGTKLEIK

SEQ ID NO.3 [1H12 重链]

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMSWVRQAPGKGLEWVATISSGGSY  
TYYPDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARHPIYYTYDDTMDYWGQG  
TTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT  
FPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPP  
CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA  
KTKPREEQYN\*STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP  
QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFF  
LYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

N\* 指示 Asn297 (根据 Kabat 编号)

SEQ ID NO.4 [1H12 轻链]

EIVLTQSPGTLSPGERATLSCSASSSVSSGNFHWYQQKPLAPRLLIYRTSNLASGIP  
ARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQQWSGYPWTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFP  
PSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS  
SLTSLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO.5 [1H12 VH CDR1]

SYGMS

SEQ ID NO.6 [1H12 VH CDR2]

TISSGGSYTYYPDSVKG

SEQ ID NO.7 [1H12 VH CDR3]

HPIYYTYDDTMDY

SEQ ID NO.8 [1H12 VL CDR1]

SASSSVSSGNFH

SEQ ID NO.9 [1H12 VL CDR2]

RTSNLAS

图1A



SEQ ID NO.10 [1H12 VL CDR3]  
QQWSGYPWT

SEQ ID NO.11[鼠5F11 VL, CDR加下划线]  
EVKLLES~~GGGLVQPGGSLRL~~SCAASGFD~~FSRYWMSWVRQAPGKGLEWIG~~EINPDSSTI  
NYTPSLKDKFIISRDNAKNTLYLQMSKVRSEDTALYYCAS~~PYYYGPFAYWGQGT~~LVTVS  
S

SEQ ID NO.12[鼠5F11 VL, CDR加下划线]  
DIVLTQSPASLAVSLGQRAIISCKASQSVSFAGTSLMH~~WYQQKPGQPKLLIY~~RASNLEA  
GFPTRFSGSGSRDFTLNHPVEEEDAATYYC~~QQSREYPRT~~FGGGTKLEVK

SEQ ID NO.13 [5F11 VH CDR1]  
RYWMS

SEQ ID NO.14 [5F11 VH CDR2]  
EINPDSSTINYTPSLKD

SEQ ID NO.15 [5F11 VH CDR3]  
PYYYGPFAY

SEQ ID NO.16 [5F11 VL CDR1]  
KASQSVSFAGTSLMH

SEQ ID NO.17 [5F11 VL CDR2]  
RASNLEA

SEQ ID NO.18 [5F11 VL CDR3]  
QQSREYPRT

SEQ ID NO.19 [5F11 RHA]  
QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSRYWMSWVRQAPGKGLEWVAEINPDSST  
INYTPSLKDRFAISRDN~~SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAS~~PYYYGPFAYWGQGT~~LVTV~~  
S

SEQ ID NO.20 [5F11 RHB]  
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYWMSWVRQAPGKGLEWVAEINPDSSTI  
NYTPSLKDRFTISRDN~~AKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAS~~PYYYGPFAYWGQGT~~LVTVS~~

SEQ ID NO.21 [5F11 RHC]  
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYWMSWVRQAPGKGLEWVSEINPDSSTI  
NYTPSLKDRFTISRDN~~SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAS~~PYYYGPFAYWGQGT~~LVTVS~~

图1B

SEQ ID NO.22 [5F11 RKA]

EIVLTQSPLSLPVTGPGEPAISCKASQSVSFAGTSLMHWYLQKPGQSPQLLIYRASNLEA  
GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCQQSREYPRTFGQGTKVEIK

SEQ ID NO.23[人Ax1]

MAWRCPRMGRVPLAWCLALCGWACMAPRGTAEESEPFVGNPGNITGARGLTGTLRC  
QLQVQGEPPEVHWLRDGGILELADSTQTQVPLGEDEQDDWIVVSQLRITSLQLSDTGQY  
QCLVFLGHQTFVSQPGYVGLEGLPYFLEEPEDRTVAANTPFNLSCQAQGPPEPVDLLW  
LQDAVPLATAPGHGPQRSLHVPGLNKTSSFSCEAHNAKGVTTSRTATITVLPQQPRNLH  
LVSRQPTLEVAWTPGLSGIYPLTHCTLQAVLSDDGMGIQAGEPDPEEPLTSQASVPP  
HQLRLGSLHPHTPYHIRVACTSSQGPSSWTHWLPVETPEGVPLGPPENISATRNGSQAF  
VHWQEPRAPLQGTLLGYRLAYQGQDTPEVLMDIGLRQEVTELELQGDGSVSNLTVCVAA  
YTAAGDGPWSLPVPLEAWRPGQAQPVHQLVKEPSTPAFSWPWWYVLLGAVVAAACVL  
ILALFLVHRRKKETRYGEVFPTVERGELVVRYRVRKSYSRRTTEATLNSLGISEELKEKL  
RDVMVDRHKVALGKTLGEGEFGAVMEGQLNQDDSIKLVAVKTMKIAICTRSELEDFLSE  
AVCMKEFDHPNVMRLIGVCFQGSERESFPAPVVILPFMKHGDLSFLLYSRLGDQPYYL  
PTQMLVKFMADIASGMEYLSTKRFIHRDLAARNCMLNENMSVCVADFGLSKKIYNGDYY  
RQGRIAKMPVKWIAIESLADRVYTSKSDVWSFGVTMWEIATRQTPYPGVENSEIYDYL  
RRGNRLKQPADCLDGLYALMSRCWELNPQDRPSFTELRDLENTLALPPAQEPDEILY  
VNMDEGGGYPEPPGAAGGADPPTQPDPKDSCSCLTAAEVHPAGRYVLCPTTPSPAQ  
PADRGSPAAPGQEDGA

图1C

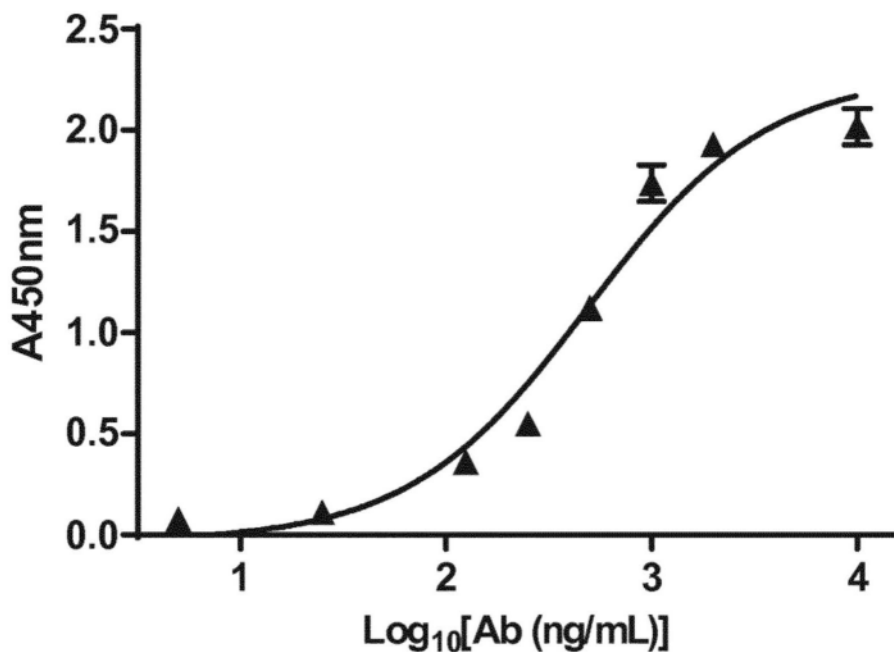


图2

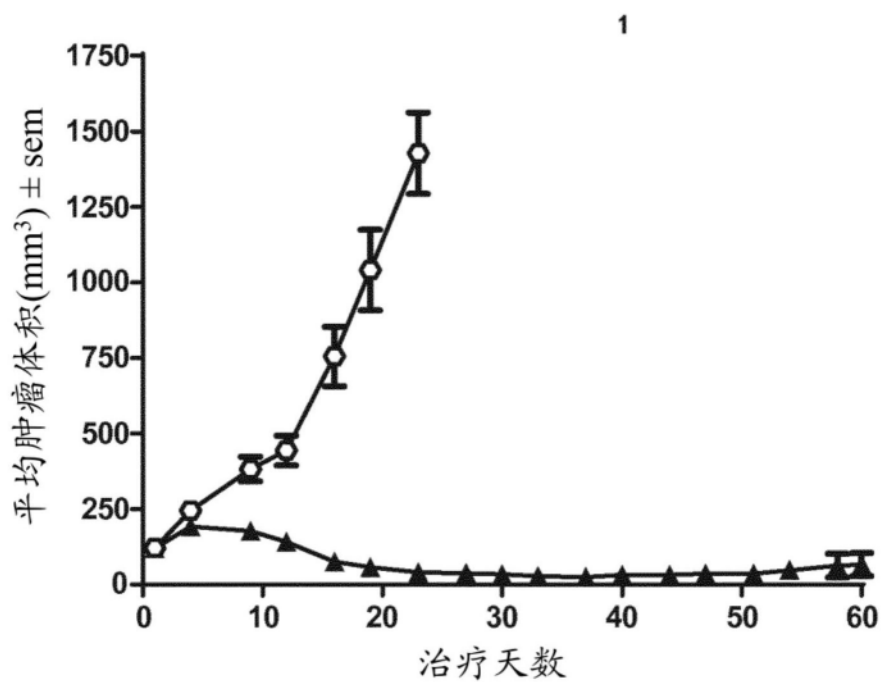


图3

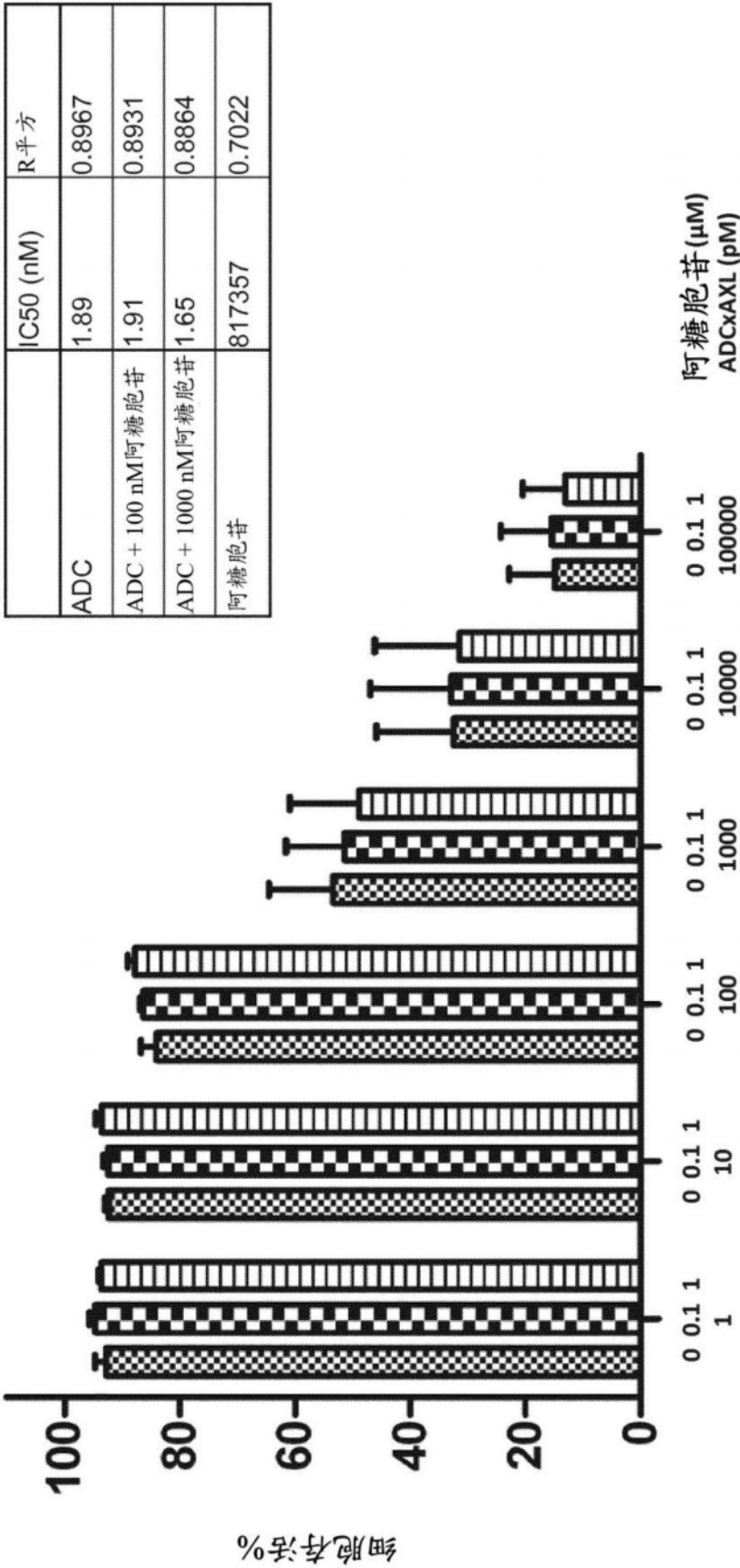


图4

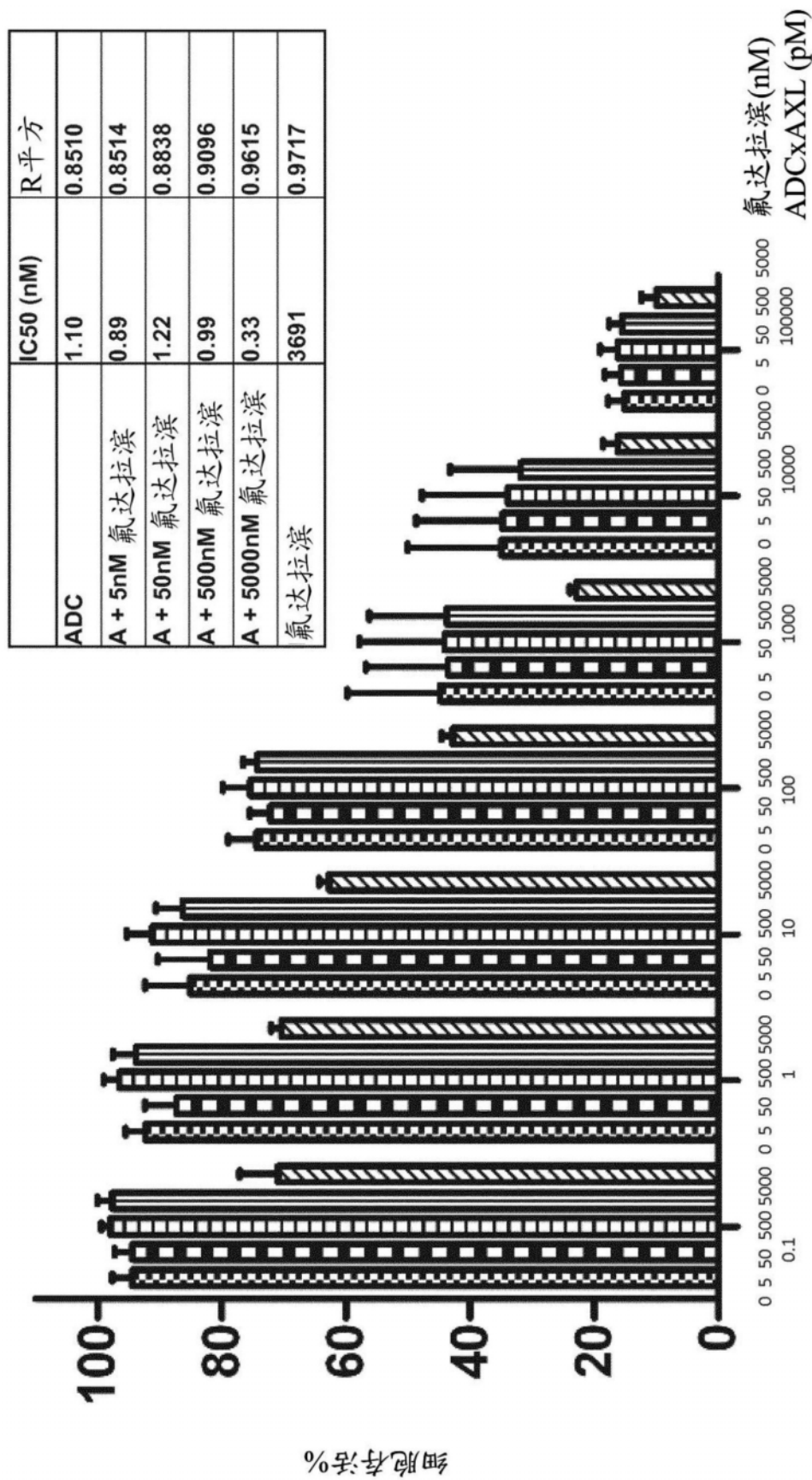


图5

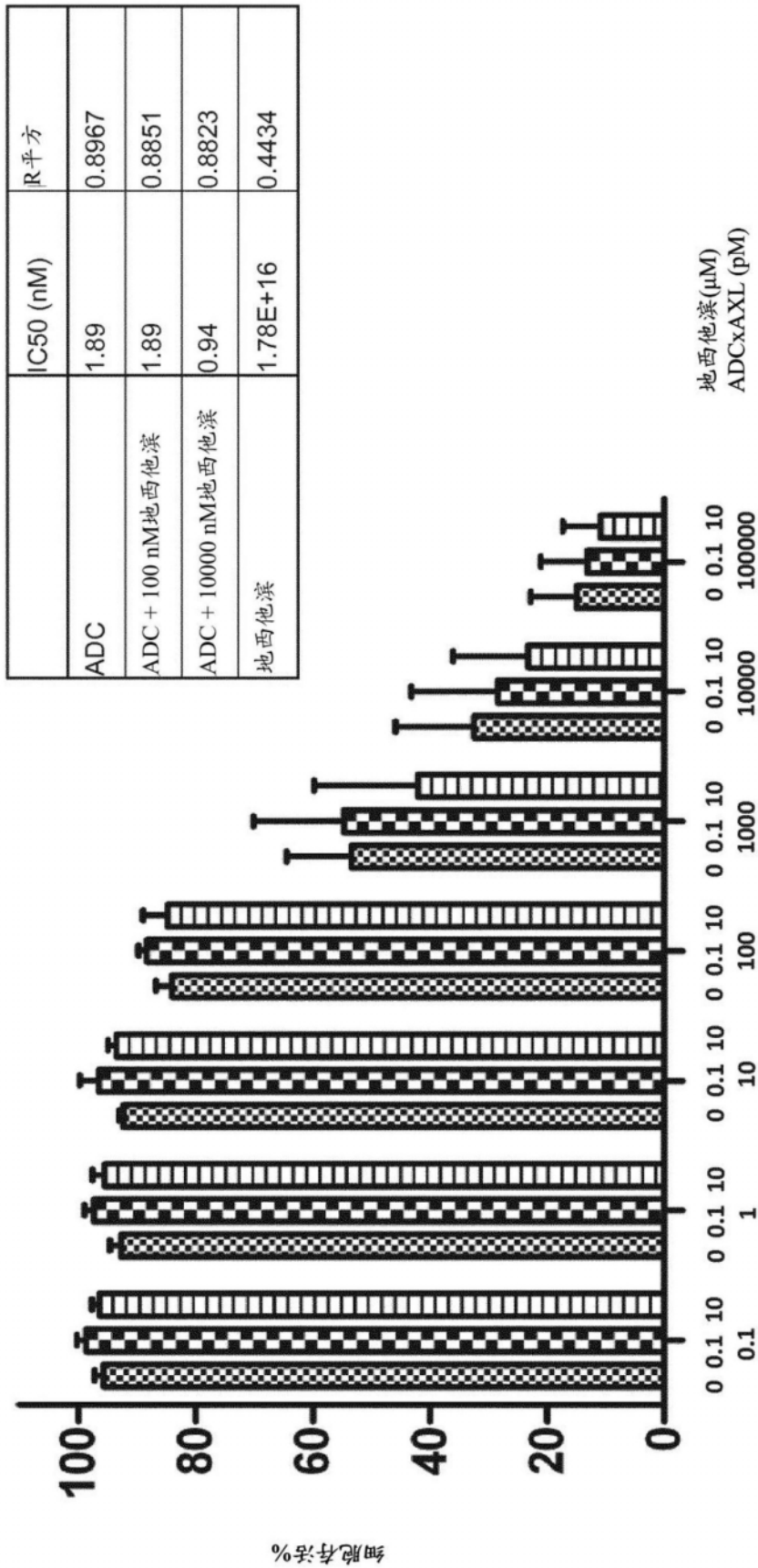


图6

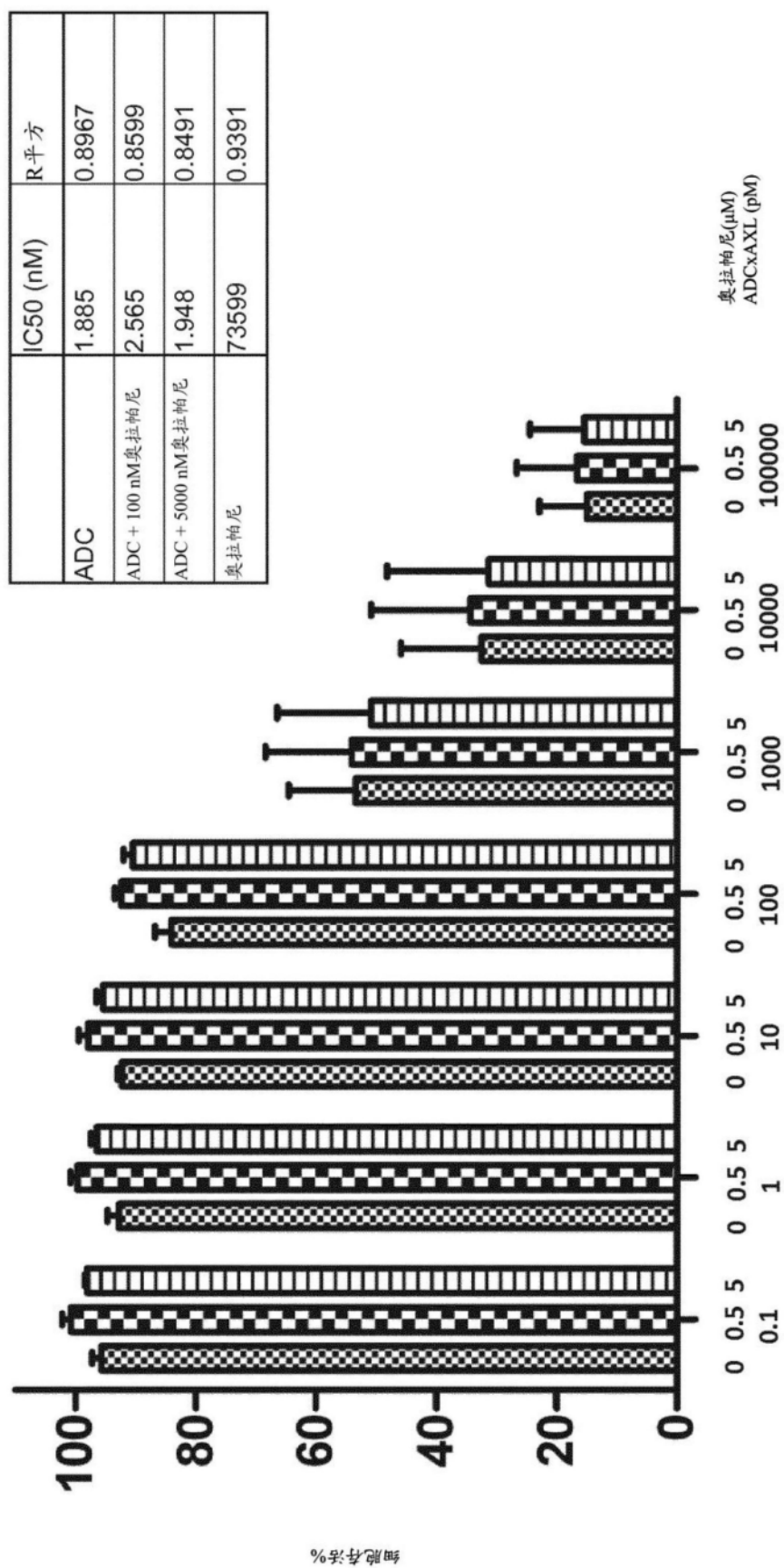


图7

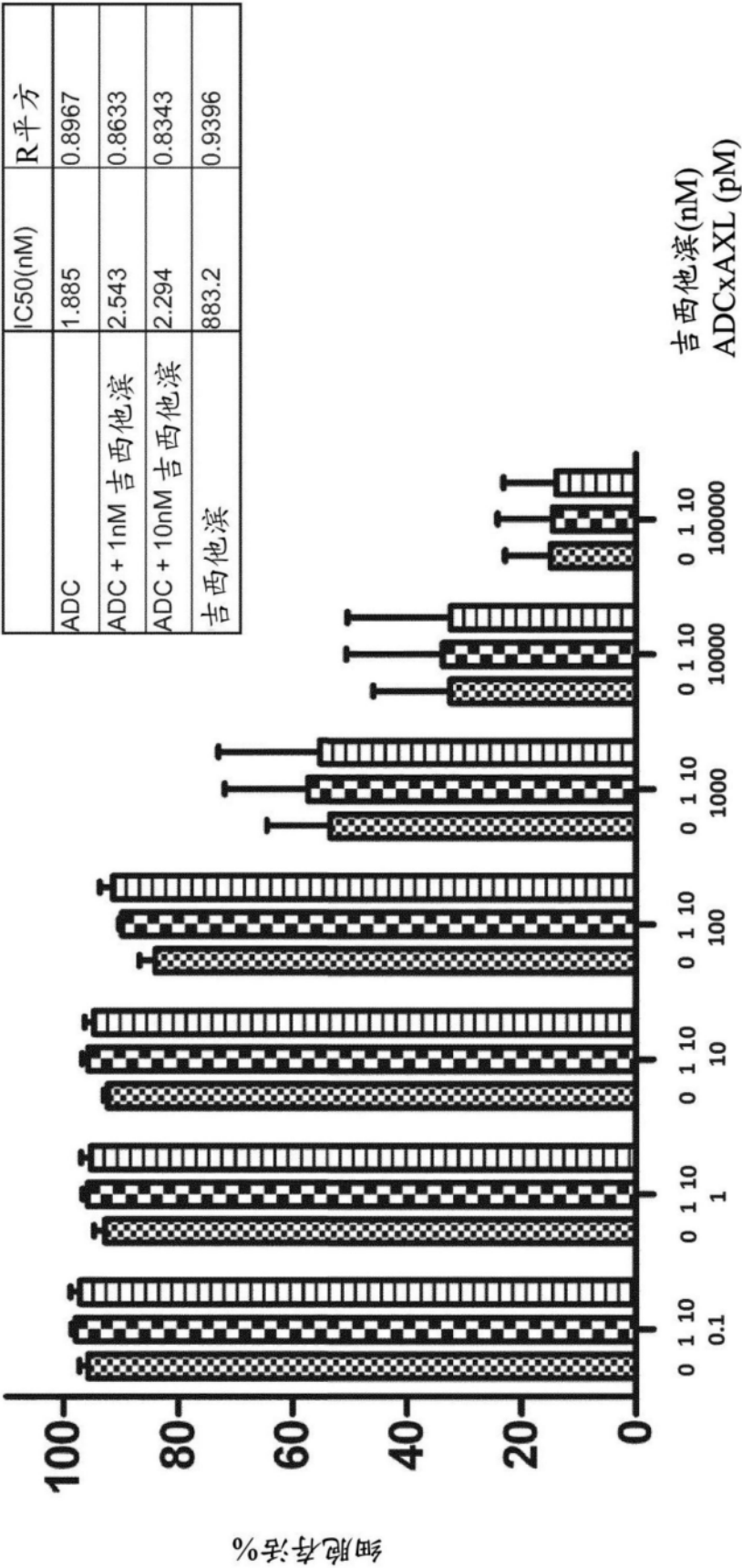


图8