



(19) 中華民國智慧財產局

(12) 發明說明書公開本

(11) 公開編號：TW 202200212 A

(43) 公開日：中華民國 111 (2022) 年 01 月 01 日

(21) 申請案號：110115782

(22) 申請日：中華民國 110 (2021) 年 04 月 30 日

(51) Int. Cl. :

*A61K47/68 (2017.01)**A61K31/4745(2006.01)**A61P35/00 (2006.01)*

(30) 優先權：2020/05/03

世界智慧財產權組織

PCT/CN2020/088565

2021/04/13

世界智慧財產權組織

PCT/CN2021/086849

(71) 申請人：中國大陸商聯寧（蘇州）生物製藥有限公司（中國大陸）LEVENA (SUZHOU)

BIOPHARMA CO., LTD. (CN)

中國大陸

中國大陸商上海詩健生物科技有限公司（中國大陸）ESCUGEN BIOTECHNOLOGY

CO., LTD. (CN)

中國大陸

(72) 發明人：朱 同 ZHU, TONG (US)；哈薩諾夫 艾利舍 B KHASANOV, ALISHER B.

(US)；郭 茂君 GUO, MAOJUN (US)；李海泓 LI, HAIHONG (CN)；許傳營 XU,

CHUANGYING (CN)；何峰 HE, FENG (CN)；周 清 ZHOU, QING (US)；李

輝 LI, HUI (US)

(74) 代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：42 項 圖式數：10 共 143 頁

(54) 名稱

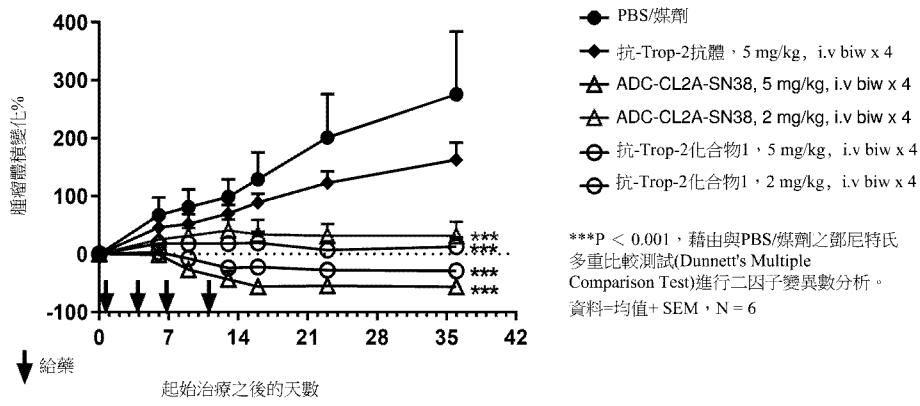
包含抗-TROP-2 抗體之抗體藥物結合物

(57) 摘要

本發明係關於包含抗-Trop-2 抗體之抗體-藥物結合物(ADC)。本文提供包含該等 ADC 之組合物，以及其製造及使用之方法。

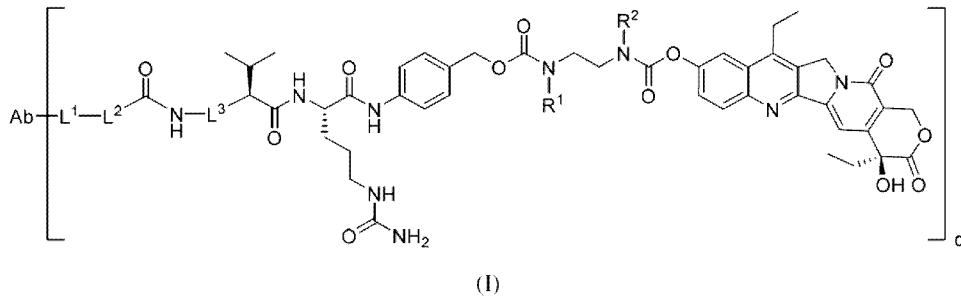
This disclosure relates to antibody-drug conjugates (ADCs) comprising an anti-Trop-2 antibody. Provided herein are compositions comprising such ADCs, as well as methods of making and using the same.

指定代表圖：



【圖6A】

特徵化學式：





202200212

【發明摘要】

【中文發明名稱】

包含抗-TROP-2抗體之抗體藥物結合物

【英文發明名稱】

ANTIBODY-DRUG CONJUGATES COMPRISING AN ANTI-TROP-2 ANTIBODY

【中文】

本發明係關於包含抗-Trop-2抗體之抗體-藥物結合物(ADC)。本文提供包含該等ADC之組合物，以及其製造及使用之方法。

【英文】

This disclosure relates to antibody-drug conjugates (ADCs) comprising an anti-Trop-2 antibody. Provided herein are compositions comprising such ADCs, as well as methods of making and using the same.

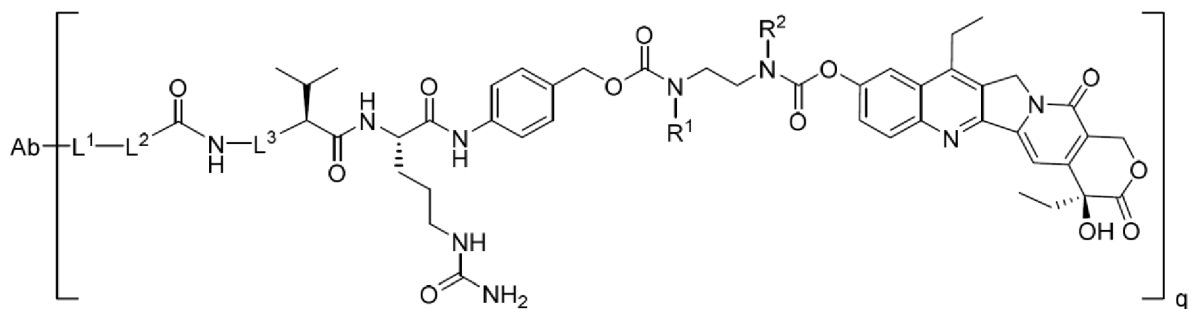
【指定代表圖】

圖6A

【代表圖之符號簡單說明】

無

【特徵化學式】



(I)

【發明說明書】

【中文發明名稱】

包含抗-TROP-2抗體之抗體藥物結合物

【英文發明名稱】

ANTIBODY-DRUG CONJUGATES COMPRISING AN ANTI-TROP-2 ANTIBODY

【技術領域】

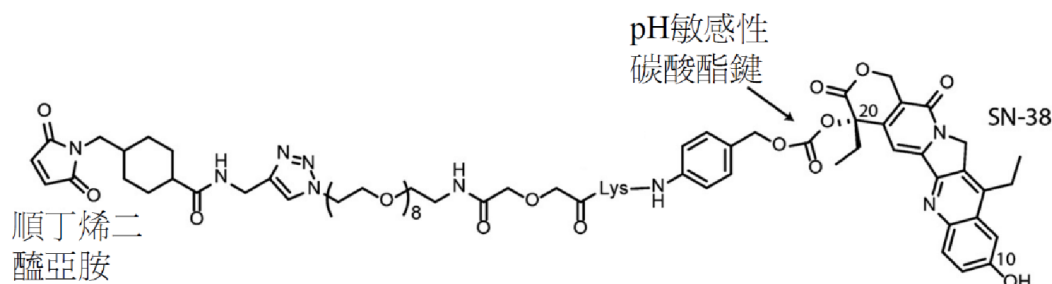
【先前技術】

【0001】 本發明係關於包含抗-Trop-2抗體之抗體-藥物結合物(ADC)以及製造及使用其之方法。

【0002】 ADC可使藥物靶向特定細胞，諸如癌細胞，由此允許遞送在單獨使用時將具有高毒性之藥物。SN-38 (7-乙基-10-羥基喜樹鹼)為作為伊立替康(irinotecan) (CPT-11)之活性組分的喜樹鹼，一種拓樸異構酶I抑制劑。已努力研發包含SN-38及抗-Trop-2抗體之ADC。Trop-2 (滋養細胞表面抗原；亦稱為上皮醣蛋白-1或EGP-1)為由許多上皮癌高度表現之醣蛋白。關於SN-38及Trop-2之其他背景，參見例如Ocean等人, *Cancer* 123:3843-54 (2017)及其中所引用之參考文獻。

【0003】 提供有效同時保持有利的安全概況的包含SN-38之抗Trop-2 ADC具有挑戰性。舉例而言，前述Ocean等人報導用IMMU-132 (薩西土珠單抗戈維替康(sacituzumab govitecan)；亦稱為ADC-CL2A-SN38) ADC進行之臨床試驗。儘管ADC表徵為提供「促進總體反應」，但仍存在高頻的不良事件——各別地接受8 mg/kg及10 mg/kg劑量之81名患者中有80名及97名患者中有89名(參見Ocean等人及隨附本文之表2)。值得注意

地，據報導ADC-CL2A-SN38中之連接子允許「SN-38自血清中之結合物解離，半衰期為大致1天」，其可解釋或造成較高的不良事件頻率。參見Govindan等人, *Mol Cancer Ther* 12:968-978 (2013)。CL2A-SN38連接子-藥物部分之化學結構展示於下文(描繪為用於與抗體結合之反應性順丁烯二醯亞胺形式)。



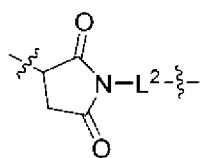
包含SN-38、ADC-CL2E-SN38之另一ADC使用含胺基甲酸酯之連接子而非pH敏感性碳酸酯鍵且具有與ADC-CL2A-SN38不同的SN38附接點。據報導具有CL2E連接子之結合物具有87.5天之血清半衰期，而且展示「減弱的活體內功效」，且視為「不如不太穩定的CL2A連接之SN-38」。Govindan等人, 同前文獻，第972頁及第977頁。

【發明內容】

【0004】 本文涵蓋藉由在ADC中使用減緩SN-38離開癌細胞之非所要釋放同時允許針對功效足夠之靶上釋放的連接子來提高用包含SN-38之抗Trop-2 ADC治療後的安全性及/或降低不良事件之頻率。

【0005】 因此，本揭示案提供式(I)之ADC，其包含經由連接子部分結合至SN-38之抗-Trop-2抗體。相比於某些其他SN-38 ADC，式(I)之ADC化合物可提供更多穩定性且提供更佳的毒性資料。本文所描述之ADC化合物之改良活性係歸因於式(I)之連接子部分，其准許在目標表現Trop-2之細胞處選擇性釋放SN-38。在一些實施例中，本文所描述之ADC

【0008】 實施例2為如實施例1之ADC，其中 L^1 為結合至抗-Trop-2抗體之硫的連接子。



【0009】 實施例3為如實施例1或2之ADC，其中 L^1 - L^2 -為

【0010】 實施例4為如實施例1至3中任一項之ADC，其中 q 為1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20。

【0011】 實施例5為如實施例1至3中任一項之ADC，其中 q 為介於1至10範圍內之值。

【0012】 實施例6為如實施例5之ADC，其中 q 為介於6至8範圍內之值。

【0013】 實施例7為如實施例1至6中任一項之ADC，其中 p 為4、5或6。

【0014】 實施例8為如實施例7之ADC，其中 p 為5。

【0015】 實施例9為如實施例1至8中任一項之ADC，其中 L^3 為一鍵。

【0016】 實施例10為如實施例1至8中任一項之ADC，其中 L^3 為基於聚氧乙烯之二價連接子。

【0017】 實施例11為如實施例1至10中任一項之ADC，其中 R^1 為 C_{1-4} 烷基。

【0018】 實施例12為如實施例11之ADC，其中 R^1 為 C_{1-3} 烷基。

【0019】 實施例13為如實施例12之ADC，其中 R^1 為甲基。

【0020】 實施例14為如實施例12之ADC，其中R¹為乙基。

【0021】 實施例15為如實施例1至14中任一項之ADC，其中R²為C₁₋₄烷基。

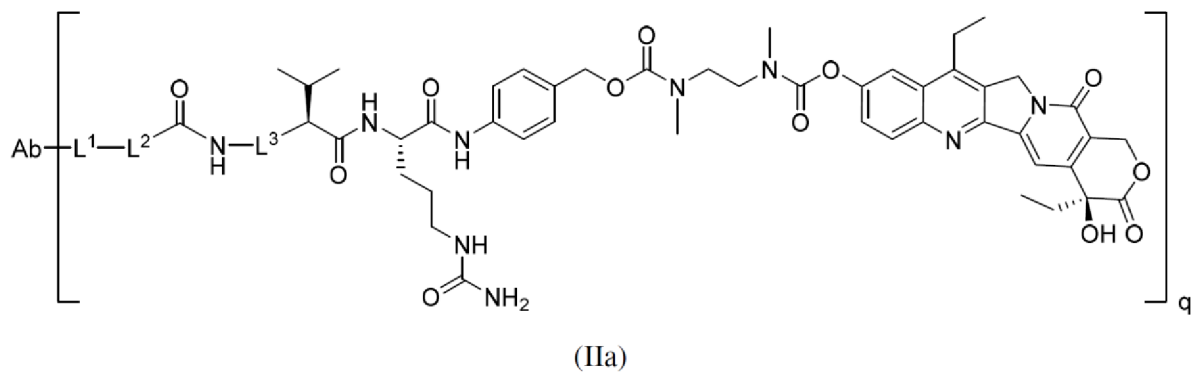
【0022】 實施例16為如實施例15之ADC，其中R²為C₁₋₃烷基。

【0023】 實施例17為如實施例16之ADC，其中R²為甲基。

【0024】 實施例18為如實施例16之ADC，其中R²為乙基。

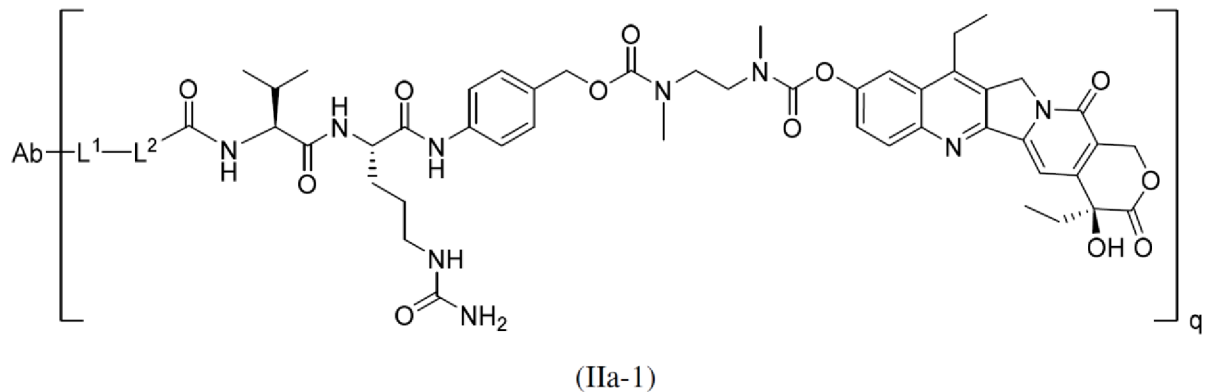
【0025】 實施例19為如實施例1至18中任一項之ADC，其中R¹與R²相同。

【0026】 實施例20為如實施例1至13及15至17中任一項之ADC，其中ADC具有式(IIa)：



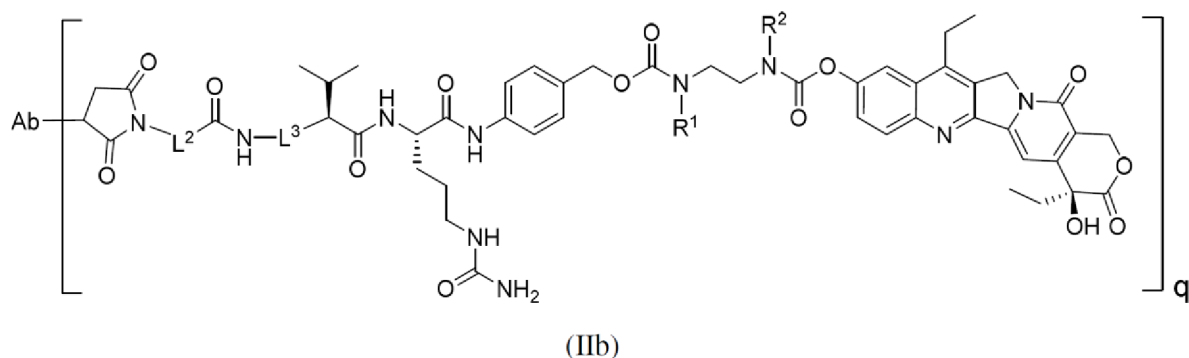
或其醫藥學上可接受之鹽。

【0027】 實施例21為如實施例20之ADC，其中ADC具有式(IIa-1)：



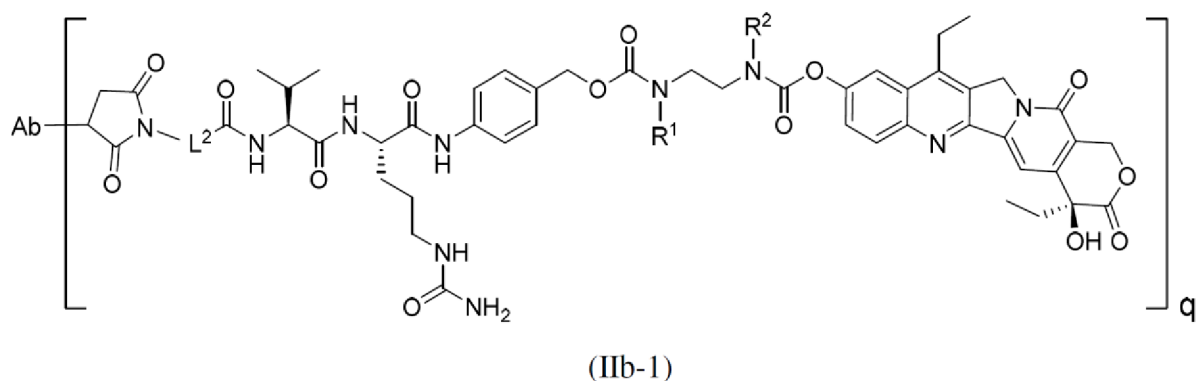
或其醫藥學上可接受之鹽。

【0028】 實施例22為如實施例1至19中任一項之ADC，其中ADC具有式(IIb)：



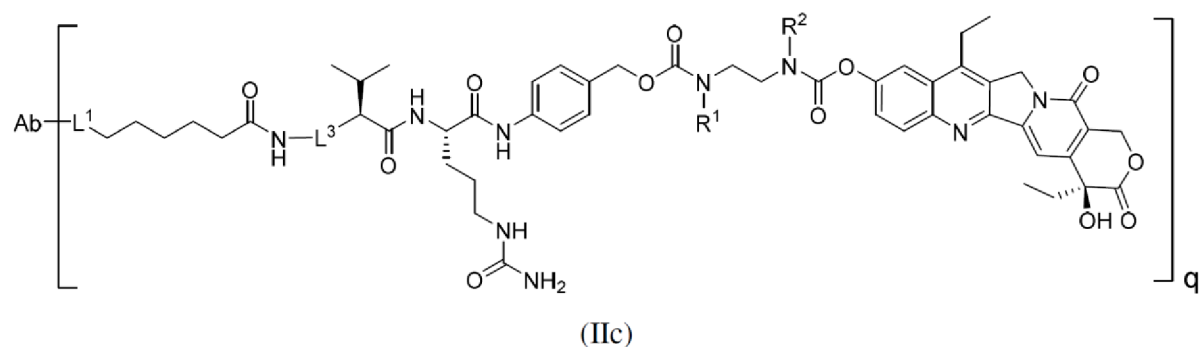
或其醫藥學上可接受之鹽。

【0029】 實施例23為如實施例22之ADC，其中ADC具有式(IIb-1)：



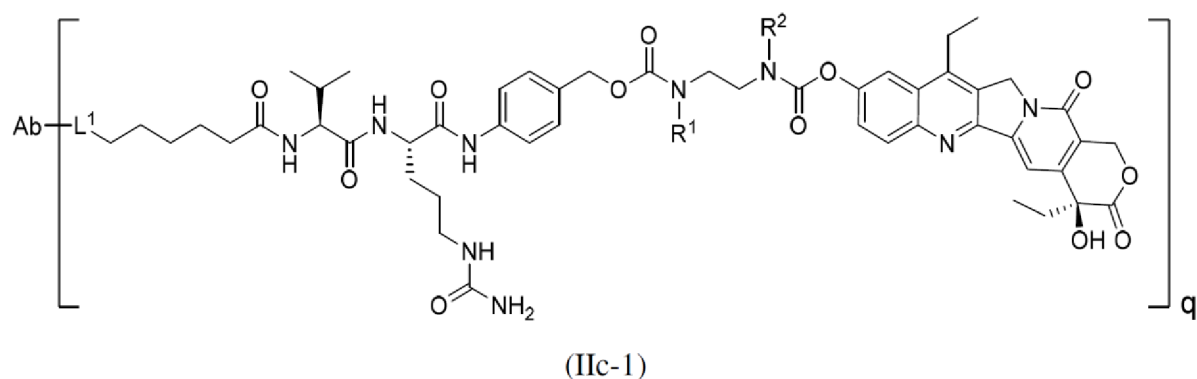
或其醫藥學上可接受之鹽。

【0030】 實施例24為如實施例1至19中任一項之ADC，其中ADC具有式(IIc)：



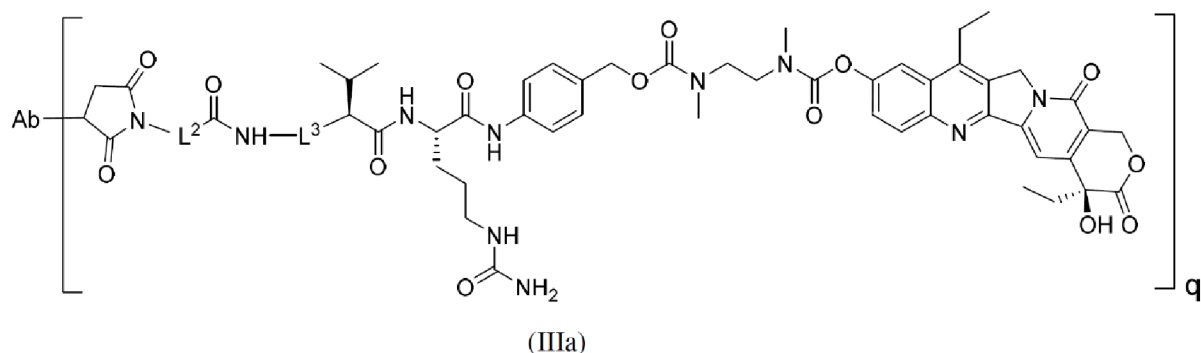
或其醫藥學上可接受之鹽。

【0031】 實施例25為如實施例24之ADC，其中ADC具有式(IIc-1)：



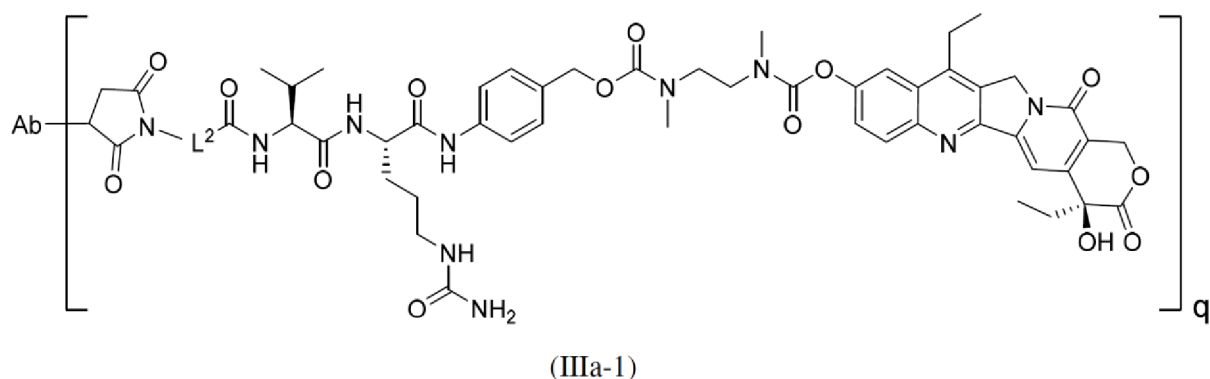
或其醫藥學上可接受之鹽。

【0032】 實施例26為如實施例20之ADC，其中ADC具有式(IIIa)：



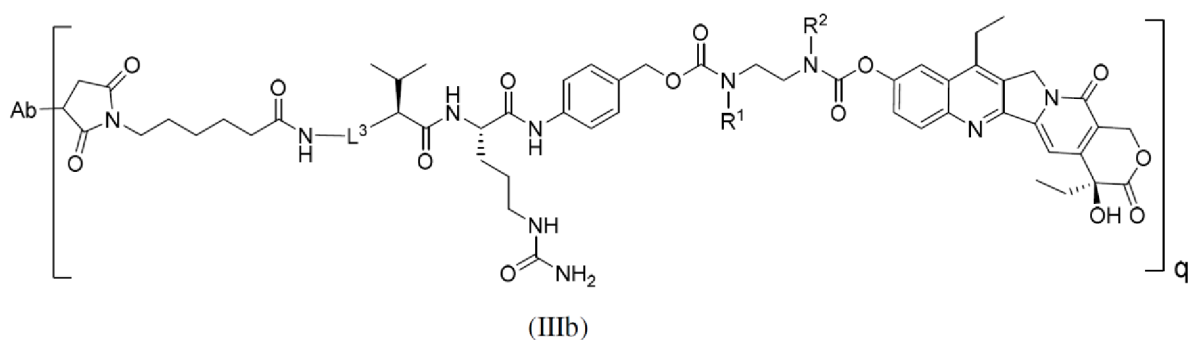
或其醫藥學上可接受之鹽。

【0033】 實施例27為如實施例26之ADC，其中ADC具有式(IIIa-1)：



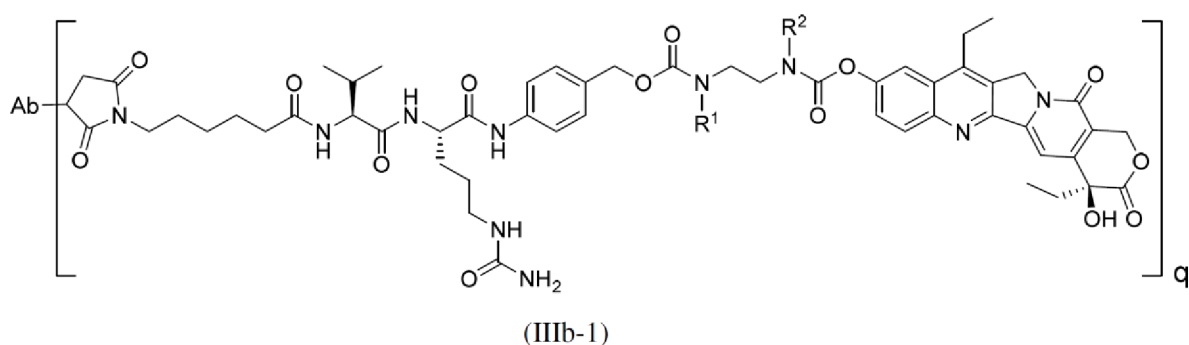
或其醫藥學上可接受之鹽。

【0034】 實施例28為如實施例22之ADC，其中ADC具有式(IIIb)：



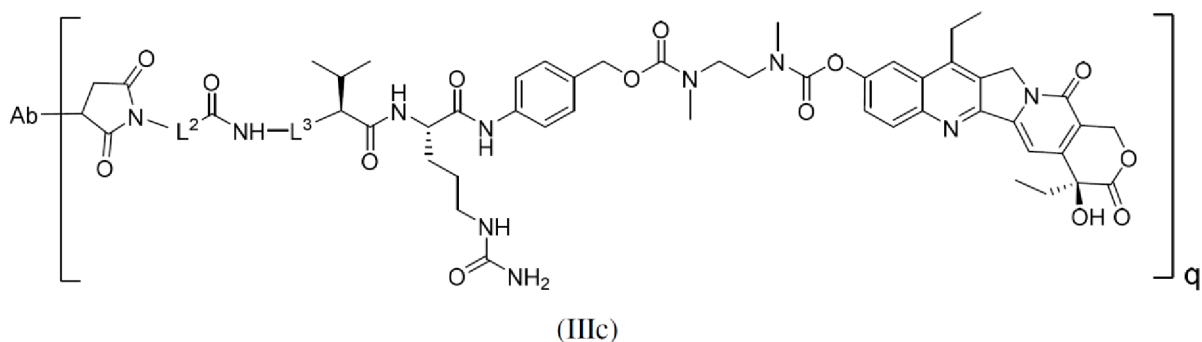
或其醫藥學上可接受之鹽。

【0035】 實施例29為如實施例28之ADC，其中ADC具有式(IIIb-1)：



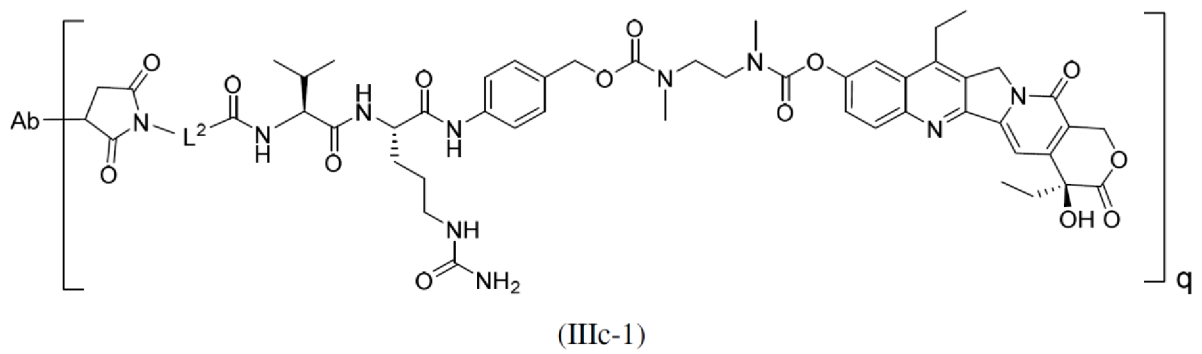
或其醫藥學上可接受之鹽。

【0036】 實施例30為如實施例22之ADC，其中ADC具有式(IIIc)：



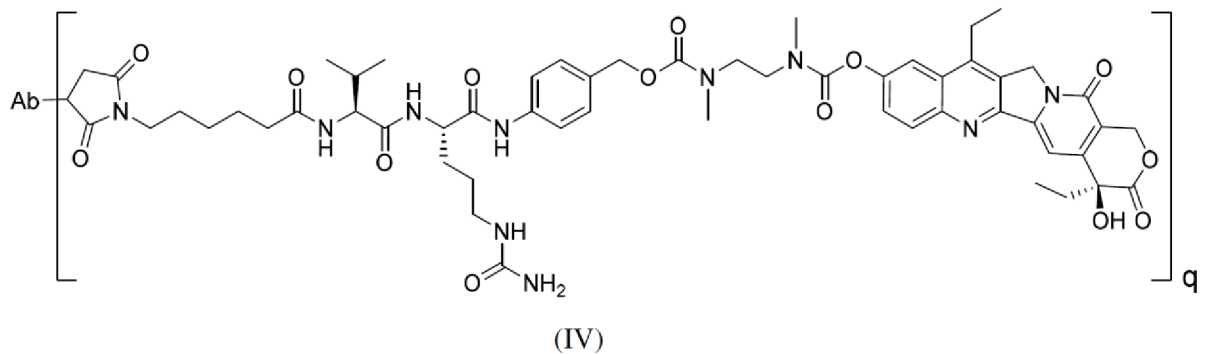
或其醫藥學上可接受之鹽。

【0037】 實施例31為如實施例30之ADC，其中ADC具有式(IIIc-1)：



或其醫藥學上可接受之鹽。

【0038】 實施例32為如實施例1之ADC，其中ADC具有式(IV)：



或其醫藥學上可接受之鹽。

【0039】 實施例33為如實施例1至32中任一項之ADC，其中抗-Trop-2抗體包含：包含SEQ ID NO: 1之序列的VL HVR1、包含SEQ ID NO: 2之序列的VL HVR2、包含SEQ ID NO: 3之序列的VL HVR3、包含SEQ ID NO: 4之序列的VH HVR1、包含SEQ ID NO: 5之序列的VH HVR2及包含SEQ ID NO: 6之序列的VH HVR3。

【0040】 實施例34為如實施例1至33中任一項之ADC，其中抗-Trop-2抗體包含具有與SEQ ID NO: 7具有至少95%、96%、97%、98%或99%一致性之序列的VL。

【0041】 實施例35為如實施例1至34中任一項之ADC，其中抗-Trop-2抗體包含具有與SEQ ID NO: 8具有至少95%、96%、97%、98%或99%一致性之序列的VH。

【0042】 實施例36為如實施例1至35中任一項之ADC，其中抗-Trop-2抗體包含具有SEQ ID NO: 7之序列的VL。

【0043】 實施例37為如實施例1至36中任一項之ADC，其中抗-Trop-2抗體包含具有SEQ ID NO: 8之序列的VH。

【0044】 實施例38為如實施例1至37中任一項之ADC，其中抗-Trop-2抗體包含 κ 輕鏈。

【0045】 實施例39為如實施例1至38中任一項之ADC，其中抗-Trop-2抗體為IgG抗體，視情況其中抗-Trop-2抗體為IgG1抗體。

【0046】 實施例40為如實施例1至39中任一項之ADC，其中抗-Trop-2抗體結合人類Trop-2，視情況其中該人類Trop-2具有SEQ ID NO: 9之胺基酸序列。

【0047】 實施例41為如實施例1至40中任一項之ADC，其用於療法中。

【0048】 實施例42為如實施例41之ADC，其用於治療表現Trop-2之癌症。

【0049】 實施例43為一種治療受試者之表現Trop-2之癌症的方法，其包含向對有需要之受試者投與如實施例1至40中任一項之ADC。

【0050】 實施例44為一種如實施例1至40中任一項之ADC的用途，其用於製造藥劑。

【0051】 實施例45為一種如實施例1至40中任一項之ADC的用途，其用於製造供治療表現Trop-2之癌症的藥劑。

【0052】 實施例46為如實施例42、43或45中任一項之供使用之ADC、方法或用途，其中表現Trop-2之癌症為上皮細胞衍生之癌症。

【0053】 實施例47為如實施例46之供使用之ADC、方法或用途，其中表現Trop-2之癌症為癌瘤。

【0054】 實施例48為如實施例47之供使用之ADC、方法或用途，其中癌瘤為基底細胞癌、鱗狀細胞癌、腎細胞癌、乳腺管原位癌、侵襲性乳腺管癌或腺癌。

【0055】 實施例49為如實施例46至48中任一項之供使用之ADC、方法或用途，其中表現Trop-2之癌症包含實體腫瘤。

【0056】 實施例50為如實施例46至49中任一項之供使用之ADC、方法或用途，其中表現Trop-2之癌症為轉移性的。

【0057】 實施例51為如實施例46至50中任一項之供使用之ADC、方法或用途，其中表現Trop-2之癌症為復發性癌症。

【0058】 實施例52為如實施例42、43及45至51中任一項之供使用之ADC、方法或用途，其中表現Trop-2之癌症為胰臟癌、胃癌、乳癌、黑素瘤、腎癌、大腸直腸癌、子宮內膜癌、前列腺癌、尿道上皮癌、神經膠質母細胞瘤、肺癌、子宮頸癌、食道癌或卵巢癌。

【0059】 實施例53為如實施例52之供使用之ADC、方法或用途，其中表現Trop-2之癌症為胰臟癌。

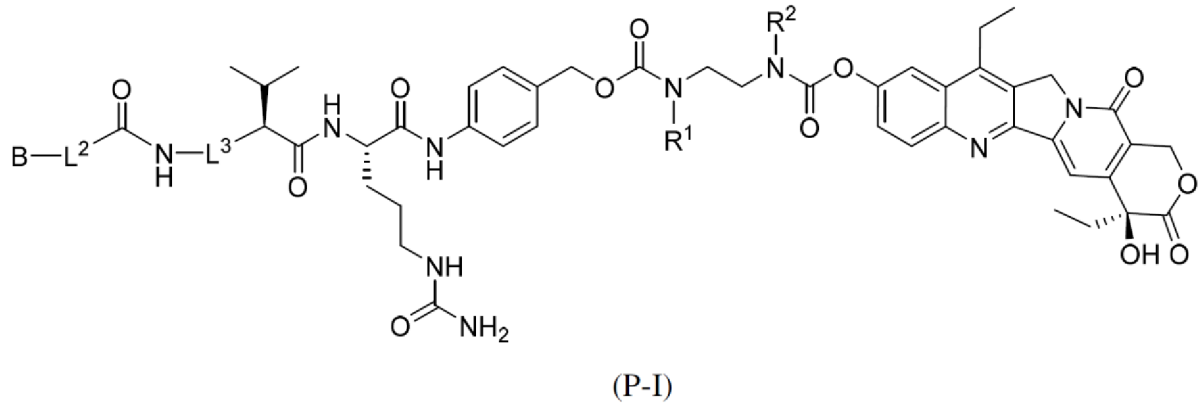
【0060】 實施例54為如實施例52之供使用之ADC、方法或用途，其中表現Trop-2之癌症為胃癌。

【0061】 實施例55為如實施例52之供使用之ADC、方法或用途，其中表現Trop-2之癌症為乳癌。

【0062】 實施例56為如實施例55之供使用之ADC、方法或用途，其中表現Trop-2之癌症為三陰性乳癌。

【0063】 實施例57為如實施例52至56中任一項之供使用之ADC、方法或用途，其中癌症為轉移性的。

【0064】 實施例58為一種製備如實施例1之ADC的方法，其包含使抗-Trop-2抗體與式(P-I)之分子：



或其醫藥學上可接受之鹽反應，其中：

B為能夠與抗-Trop-2抗體形成一鍵之反應性部分；

L²為-(CH₂)_p-，其中p為4、5、6、7或8；

L³為一鍵或基於聚氧乙烯之二價連接子；及

R¹及R²各自獨立地為C₁₋₆烷基。

【0065】 實施例59為如實施例58之方法，其中B為能夠與抗-Trop-2抗體之巰基形成一鍵的反應性部分。

【0066】 實施例60為如實施例58或59之方法，其中B為N-順丁烯二醯亞胺基。

【0067】 實施例61為如實施例58至60中任一項之方法，其中ADC為如實施例1至40中任一項之ADC。

【0068】 實施例62為如實施例58至61中任一項之方法，其中p為4、5或6。

【0069】 實施例63為如實施例62之方法，其中p為5。

【0070】 實施例64為如實施例58至63中任一項之ADC，其中R¹為C₁₋₄烷基。

【0071】 實施例65為如實施例64之方法，其中R¹為C₁₋₃烷基。

【0072】 實施例66為如實施例65之方法，其中R¹為甲基。

【0073】 實施例67為如實施例65之方法，其中R¹為乙基。

【0074】 實施例68為如實施例58至67中任一項之方法，其中R²為C₁₋₄烷基。

【0075】 實施例69為如實施例68之方法，其中R²為C₁₋₃烷基。

【0076】 實施例70為如實施例69之方法，其中R²為甲基。

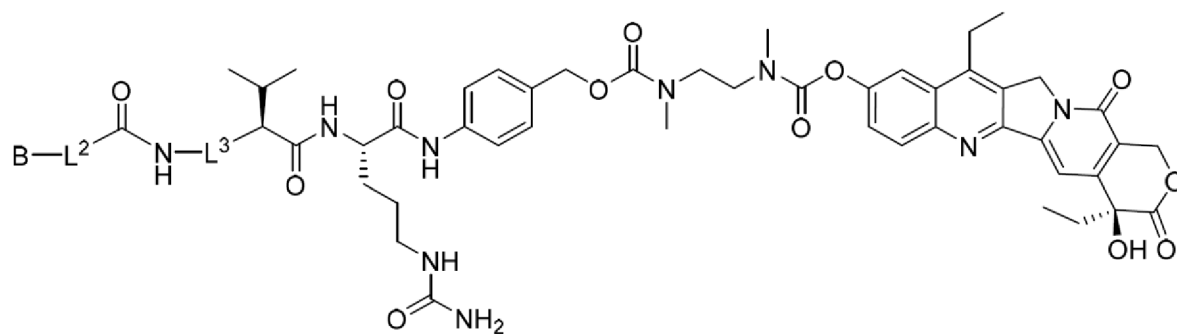
【0077】 實施例71為如實施例69之方法，其中R²為乙基。

【0078】 實施例72為如實施例58至71中任一項之方法，其中R¹與R²相同。

【0079】 實施例73為如實施例58至72中任一項之方法，其中L³為一鍵。

【0080】 實施例74為如實施例58至72中任一項之方法，其中L³為基於聚氧乙烯之二價連接子。

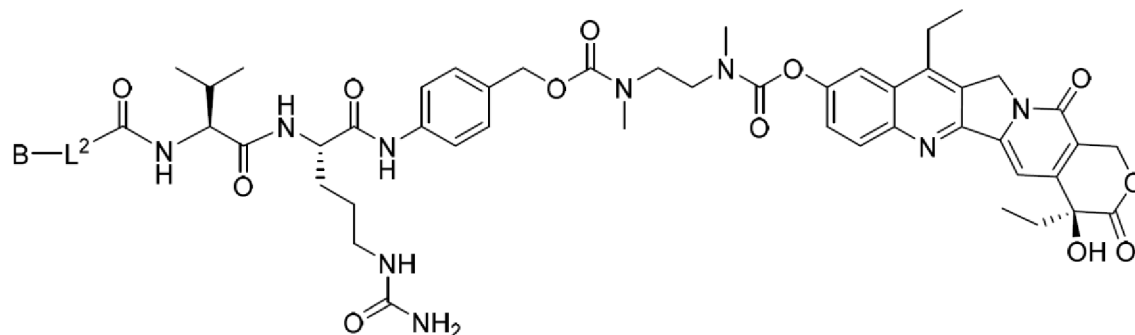
【0081】 實施例75為如實施例58至66、68至70、73及74中任一項之方法，其中分子具有式(P-IIa)：



(P-IIa)

或其醫藥學上可接受之鹽。

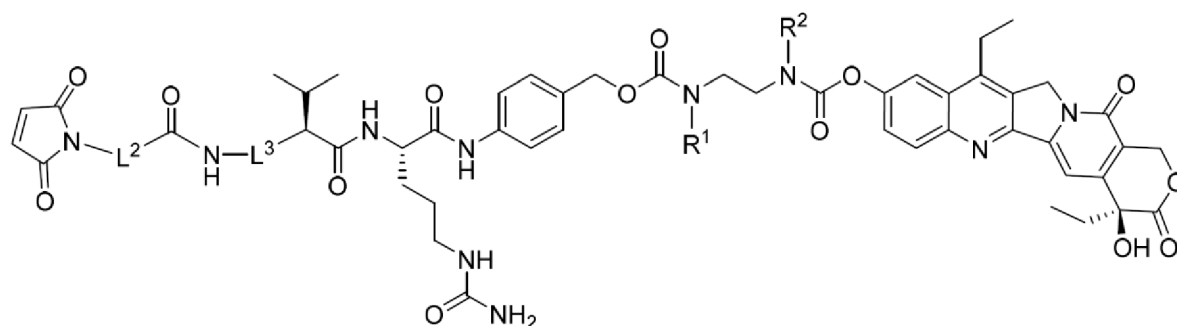
【0082】 實施例76為如實施例75之方法，其中分子具有式(P-IIa-1)：



(P-IIa-1)

或其醫藥學上可接受之鹽。

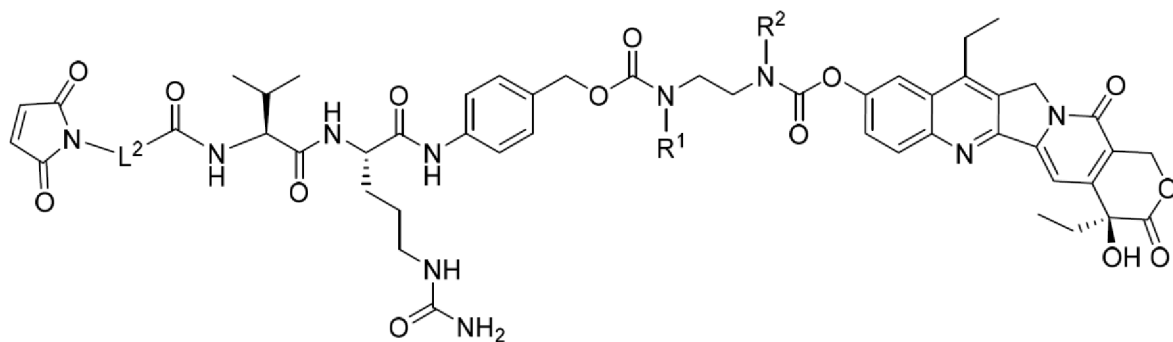
【0083】 實施例77為如實施例58至74中任一項之方法，其中分子具有式(P-IIb)：



(P-IIb)

或其醫藥學上可接受之鹽。

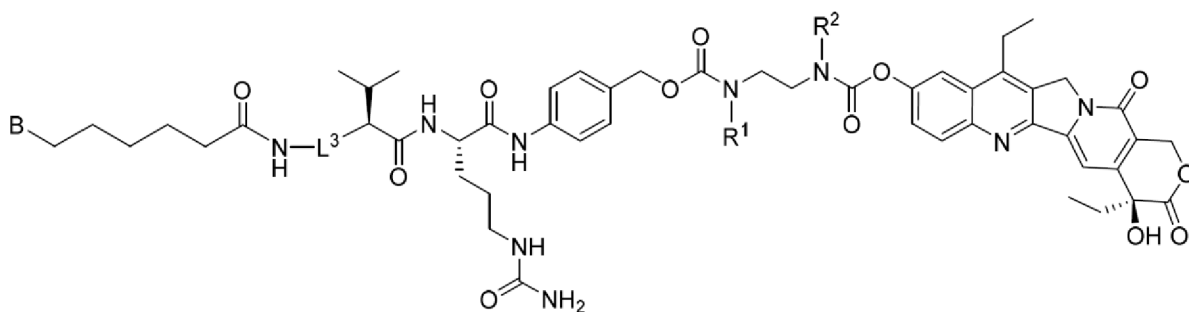
【0084】 實施例78為如實施例77之方法，其中分子具有式(P-IIb-1)：



(P-IIb-1)

或其醫藥學上可接受之鹽。

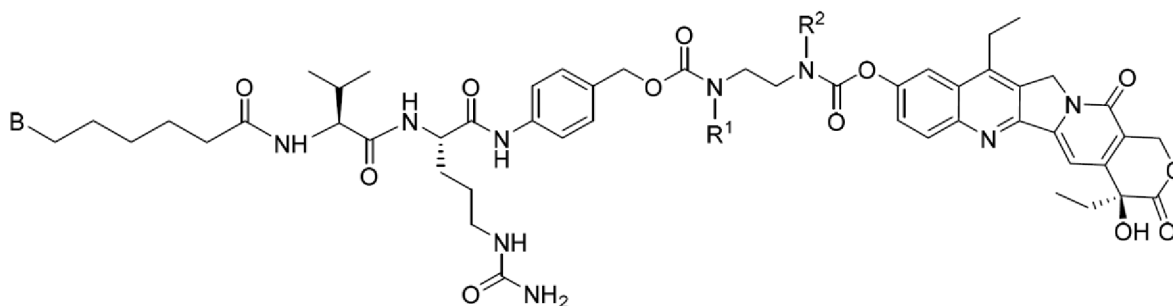
【0085】 實施例79為如實施例58至74中任一項之方法，其中分子具有式(P-IIc)：



(P-IIc)

或其醫藥學上可接受之鹽。

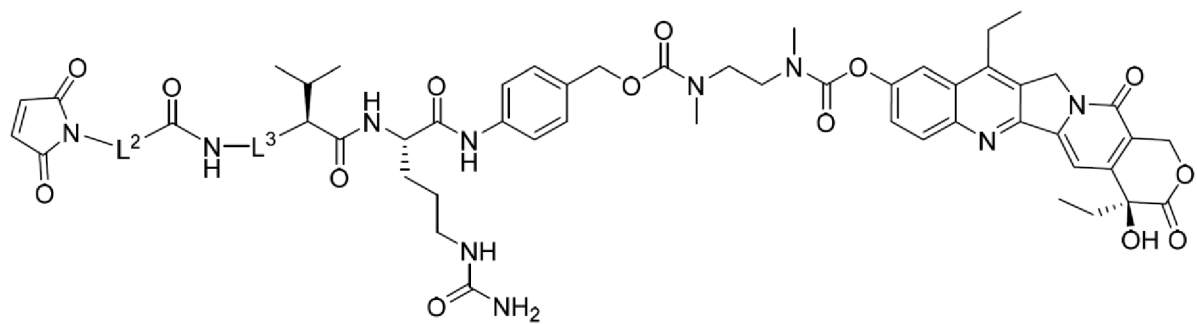
【0086】 實施例80為如實施例79之方法，其中分子具有式(P-IIc-1)：



(P-IIc-1)

或其醫藥學上可接受之鹽。

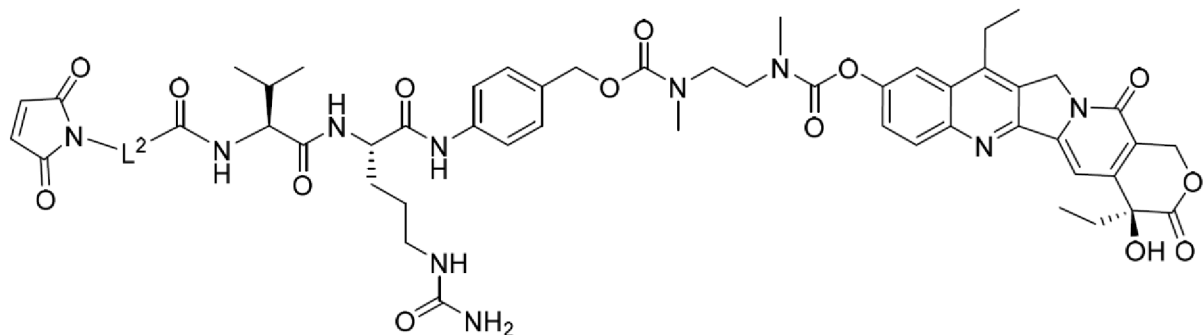
【0087】 實施例81為如實施例58至74中任一項之方法，其中分子具有式(P-IIIa)：



(P-IIIa)

或其醫藥學上可接受之鹽。

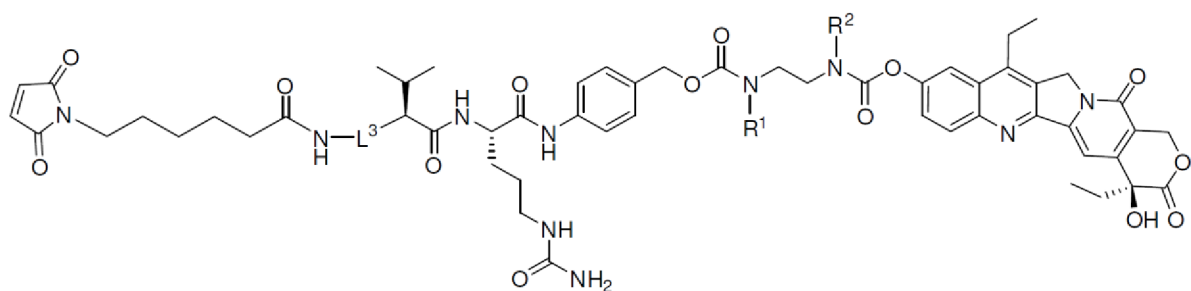
【0088】 實施例82為如實施例81之方法，其中分子具有式(P-IIIa-1)：



(P-IIIa-1)

或其醫藥學上可接受之鹽。

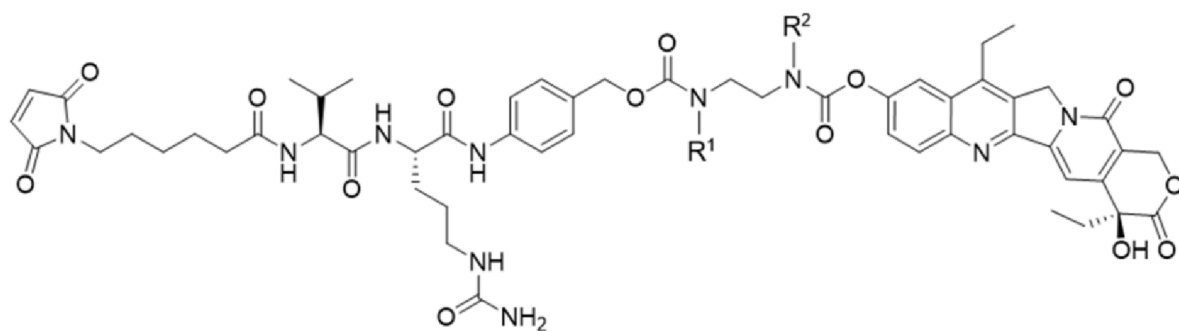
【0089】 實施例83為如實施例58至74中任一項之方法，其中分子具有式(P-IIIb)：



(P-IIIb)

或其醫藥學上可接受之鹽。

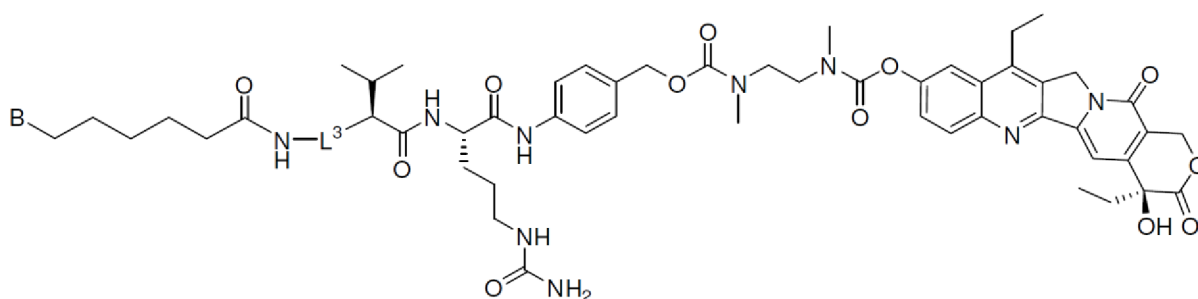
【0090】 實施例84為如實施例83之方法，其中分子具有式(P-IIIb-1)：



(P-IIIb-1)

或其醫藥學上可接受之鹽。

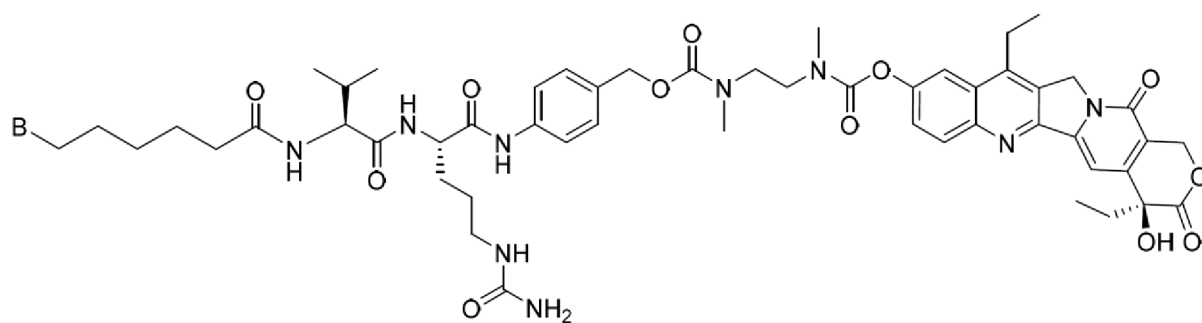
【0091】 實施例85為如實施例75之方法，其中分子具有式(P-IIIc)：



(P-IIIc)

或其醫藥學上可接受之鹽。

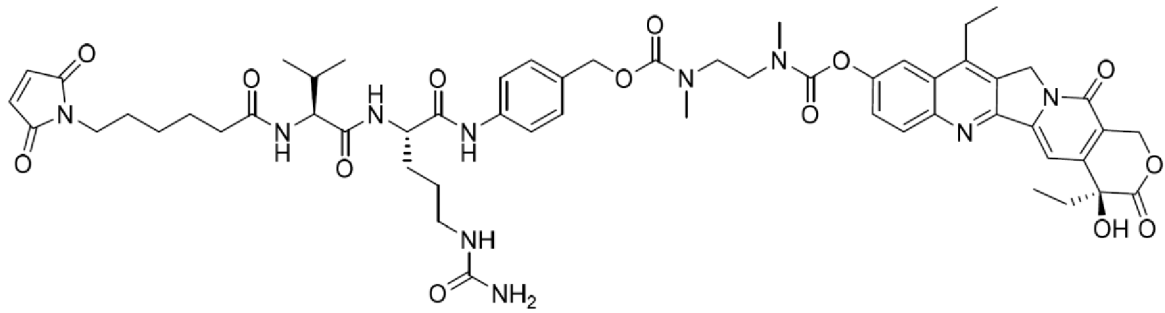
【0092】 實施例86為如實施例85之方法，其中分子具有式(P-IIIc-1)：



(P-IIIc-1)

或其醫藥學上可接受之鹽。

【0093】 實施例87為如實施例58之方法，其中分子具有式(P-IV)：



(P-IV)

或其醫藥學上可接受之鹽。

【圖式簡單說明】

【0094】 圖1展示使用A) BxPC-3 (Trop-2 +)細胞；B) MDA-MB-468 (Trop-2 +)細胞；及C) L-540 (Trop-2 -)細胞對抗-Trop-2化合物1 (用三角形展示)及抗-Trop-2化合物2 (用圓形展示)之活體外功效研究的結果。

【0095】 圖2展示使用A) BxPC-3 (Trop-2 +)細胞；B) MDA-MB-468 (Trop-2 +)細胞；及C) L-540 (Trop-2 -)細胞對抗-Trop-2化合物1 (用三角形展示)及抗-Trop-2化合物3 (用正方形展示)之活體外功效研究的結果。

【0096】 圖3展示使用A) BxPC-3 (Trop-2 +)細胞；B) MDA-MB-468 (Trop-2 +)細胞；及C) L-540 (Trop-2 -)細胞對抗-Trop-2化合物1 (用三角形展示)及抗-Trop-2化合物4 (用圓形展示)之活體外功效研究的結果。

【0097】 圖4展示使用A) BxPC-3 (Trop-2 +)細胞；B) MDA-MB-468 (Trop-2 +)細胞；及C) L-540 (Trop-2 -)細胞對抗-Trop-2化合物1 (用三角形展示)及抗-Trop-2化合物5 (用正方形展示)之活體外功效研究的結果。

【0098】 圖5展示使用A) BxPC-3 (Trop-2 +)細胞；B) MDA-MB-468 (Trop-2 +)細胞；及C) L-540 (Trop-2 -)細胞對抗-Trop-2化合物1 (用三角形展示)及抗-Trop-2化合物6 (用正方形展示)之活體外功效研究的結果。

【0099】 圖6A展示抗-Trop-2化合物1 (2 mg/kg：用灰色空心圓展示；5 mg/kg：用黑色空心圓展示)及ADC-CL2A-SN38 (2 mg/kg：用灰色空心三角形展示；5 mg/kg：用黑色空心三角形展示)之裸小鼠中之MDA-MB-468異種移植的活體內功效研究之結果。PBS/媒劑(用實心圓展示)及單獨的抗-Trop-2抗體(5 mg/kg，用實心菱形展示)用作對照。*** $p < 0.001$ ，藉由與PBS/媒劑之鄧尼特氏多重比較測試(Dunnett's multiple comparison test)進行二因子變異數分析(two way ANOVA)；資料=均值+SEM，N = 6。圖6B展示抗-Trop-2化合物1 (3 mg/kg：用空心菱形展示；10 mg/kg：用空心圓展示)及ADC-CL2A-SN38 (3 mg/kg：用灰色空心三角形(倒置)展示；10 mg/kg：用黑色空心三角形展示)之活體內功效研究的結果。PBS/媒劑(用實心圓展示)及單獨的抗-Trop-2抗體(3 mg/kg，用灰色實心三角形展示；10 mg/kg：用黑色實心三角形展示)用作對照。*** $p < 0.001$ ，藉由與抗體對照之鄧尼特氏多重比較測試進行二因子變異數分析；資料=均值+SEM，N = 6至8。資料表明抗-Trop-2化合物1顯著地抑制裸小鼠中之MDA-MB-468異種移植腫瘤生長。

【0100】 圖7展示抗-Trop-2化合物1 (5 mg/kg：用空心菱形展示；15 mg/kg：用空心圓展示)及ADC-CL2A-SN38 (5 mg/kg：用灰色空心三角形(倒置)展示；15 mg/kg：用黑色空心三角形展示)之裸小鼠中NCI-N87異種移植之活體內功效研究的結果。PBS/媒劑(用實心圓展示)及單獨

的抗-Trop-2抗體(5 mg/kg，用灰色實心三角形(倒置)展示；15 mg/kg，用黑色實心三角形展示)用作對照。 $* p < 0.05$ ， $*** P < 0.001$ ，藉由與PBS/媒劑之鄧尼特氏多重比較測試進行二因子變異數分析；資料=均值+SEM， $N = 8$ 。資料表明抗-Trop-2化合物1顯著地抑制裸小鼠中之NCI-N87異種移植腫瘤生長。

【0101】 圖8展示抗-Trop-2化合物1 (3 mg/kg：用空心菱形展示；10 mg/kg：用空心圓展示；25 mg/kg，用空心三角形(倒置)展示)及ADC-CL2A-SN38 (10 mg/kg：用空心三角形展示)之裸小鼠中BxPC3異種移植之活體內功效研究的結果。PBS/媒劑(用實心圓展示)及單獨的抗-Trop-2抗體(10 mg/kg，用實心菱形展示)用作對照。 $*** p < 0.001$ ， $** p < 0.01$ ，藉由與PBS/媒劑之鄧尼特氏多重比較測試進行二因子變異數分析；資料=均值+SEM， $N = 6$ 。資料表明抗-Trop-2化合物1顯著地抑制裸小鼠中之BxPC3異種移植腫瘤生長。

【0102】 圖9示出在168小時之時程內ADC-CL2A-SN38及抗-Trop-2化合物1於PBS中之穩定性研究的結果。在370 nm下監測游離藥物釋放之偵測。資料表明抗-Trop-2化合物1在此時程內並不釋放大量的游離化合物1且顯著地比ADC-CL2A-SN38更穩定。

【0103】 圖10示出使用瑞士韋伯斯特小鼠(Swiss Webster mice)之血漿穩定性研究。未結合抗Trop-2 (用圓形展示)、ADC抗-Trop-2化合物1之總抗體內容物(用正方形展示)及ADC抗-Trop-2化合物1 (用三角形展示)在500小時之時程內的濃度($\mu\text{g/mL}$)指示抗-Trop-2化合物1為穩定的且並不顯著地自ADC中釋放藥物。

【實施方式】

相關申請案之交互參照

【0104】本申請案主張2020年5月3日申請之國際申請案第PCT/CN2020/088565號及2021年4月13日申請之國際申請案第PCT/CN2021/086849號之優先權，其中之每一者示之揭示內容以全文引用之方式併入本文中。

【0105】本說明書描述本發明之例示性實施例及應用。然而，本發明不限於此等例示性實施例及應用或例示性實施例及應用之運作或在本文中所描述之方式。除非上下文另有規定，否則術語「或」係依包括性意義使用，亦即，等效於「及/或」。應注意，如本說明書及隨附申請專利範圍中所用，除非明確地且肯定地限於一個指示物，否則單數形式「一(a/an)」與「該」及任何字語之任何單數使用形式包括複數個指示物。如本文所用，術語「包含」、「包括」及其文法變異形式意欲具有非限制性，因此清單中之各項的敘述不排除可以取代或添加至所列項中的其他類似項。本說明書中之部分劃分僅出於讀者方便起見而提供且並不限制所論述之部件之任何組合。在以引入方式併入之材料與本文所提供之明確描述內容之間存在任何抵觸或衝突的情況下，以明確描述的內容為準。

定義

【0106】「親和力」係指分子(例如抗體)之單一結合位點與其結合搭配物(例如抗原)之間的非共價相互作用之總和之強度。除非另外指示，否則如本文所用，「結合親和力」係指反映結合對(例如，抗體與抗原)成員之間1:1相互作用之固有結合親和力。分子X對其搭配物Y之親和力通常可由解離常數(K_d)表示。可藉由此項技術中已知之常用方法(包括本文所描述之彼等方法)來量測親和力。用於量測結合親和力之特定說明性及例

示性實施例描述於下文中。

【0107】 「親和力成熟」抗體係指相較於在一或多個高變區(HVR)中不具有一或多個變化之親本抗體，具有此類變化之抗體，此等變化使抗體對抗原之親和力得到改良。

【0108】 術語「抗-Trop-2抗體」及「結合Trop-2之抗體」係指能夠以充足親和力結合Trop-2，使得抗體適用作靶向Trop-2之治療劑的抗體。在一個實施例中，抗-Trop-2抗體與無關非Trop-2蛋白之結合程度小於該抗體與Trop-2之結合的約10%，如例如藉由放射免疫分析(RIA)所量測。在某些實施例中，結合於Trop-2之抗體的解離常數(Kd) $\leq 1\mu\text{M}$ 、 $\leq 100\text{ nM}$ 、 $\leq 10\text{ nM}$ 、 $\leq 5\text{ nM}$ 、 $\leq 4\text{ nM}$ 、 $\leq 3\text{ nM}$ 、 $\leq 2\text{ nM}$ 、 $\leq 1\text{ nM}$ 、 $\leq 0.1\text{ nM}$ 、 $\leq 0.01\text{ nM}$ 或 $\leq 0.001\text{ nM}$ (例如 10^{-8} M 或更低，例如 10^{-8} M 至 10^{-13} M ，例如 10^{-9} M 至 10^{-13} M)。在某些實施例中，抗-Trop-2抗體結合於來自不同物種之Trop-2當中之保守性Trop-2的抗原決定基。

【0109】 術語「抗體」在本文中以最廣泛意義使用且涵蓋各種抗體結構，該等抗體結構包括但不限於單株抗體、多株抗體、多特異性抗體(例如雙特異性抗體)及抗體片段，只要該等抗體片段展現所需抗原結合活性即可。

【0110】 「抗體片段」係指除完整抗體之外之分子，其包含完整抗體之一部分，且結合完整抗體所結合之抗原。抗體片段之實例包括(但不限於) Fv、Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')₂；雙功能抗體；直鏈抗體；單鏈抗體分子(例如，scFv)；及由抗體片段形成之多特異性抗體。

【0111】 術語「癌症」及「癌性」係指或描述哺乳動物中通常特徵為不受調控細胞生長/增殖之生理病狀。癌症之實例包括(但不限於)黑素

瘤、癌瘤、淋巴瘤(例如霍奇金氏淋巴瘤(Hodgkin's lymphoma)及非霍奇金氏淋巴瘤)、母細胞瘤、肉瘤及白血病。特定非限制性實例包括鱗狀細胞癌、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、肺腺癌、肺鱗狀癌、腹膜癌、肝細胞癌、胃腸癌、胰臟癌、神經膠質母細胞瘤、子宮頸癌、卵巢癌、肝癌(liver cancer)、膀胱癌、肝腫瘤、乳癌、結腸癌、大腸直腸癌、子宮內膜或子宮癌、唾液腺癌、腎癌、前列腺癌、尿路上皮癌、食道癌、外陰癌、甲狀腺癌、肝癌瘤(hepatic carcinoma)、白血病及其他淋巴增生病症，及各種類型之頭頸癌。

【0112】 術語「嵌合」抗體係指重鏈及/或輕鏈之一部分來源於特定來源或物種，而重鏈及/或輕鏈之其餘部分來源於不同來源或物種之抗體。

【0113】 抗體之「類別」係指其重鏈所具有之恆定域或恆定區的類型。存在五個主要抗體類別：IgA、IgD、IgE、IgG及IgM，且此等類別中之數個類別可進一步分成子類(同型)，例如IgG₁、IgG₂、IgG₃、IgG₄、IgA₁及IgA₂。對應於不同類別之免疫球蛋白之重鏈恆定域分別稱為 α 、 δ 、 ϵ 、 γ 及 μ 。

【0114】 如本文所用，術語「細胞毒性劑」係指抑制或妨礙細胞功能及/或引起細胞死亡或破壞之物質。細胞毒性劑包括(但不限於)放射性同位素(例如²¹¹At、¹³¹I、¹²⁵I、⁹⁰Y、¹⁸⁶Re、¹⁸⁸Re、¹⁵³Sm、²¹²Bi、³²P、²¹²Pb及Lu之放射性同位素)；化學治療劑或藥物(例如甲胺喋呤(methotrexate)、阿德力黴素(adriamycin)、長春花生物鹼(長春新鹼(vincristine)、長春鹼(vinblastine)、依託泊苷(etoposide))、小紅莓(doxorubicin)、美法侖(melphalan)、絲裂黴素C (mitomycin C)、苯丁酸

氮芥(chlorambucil)、道諾黴素(daunorubicin)或其他插入劑)；生長抑制劑；酶及其片段，諸如溶核酶；抗生素；毒素，諸如小分子毒素或細菌、真菌、植物或動物來源之酶促活性毒素，包括其片段及/或變異體；以及以下所揭示之各種抗腫瘤或抗癌劑。

【0115】 「化學治療劑」為適用於治療癌症之化合物。化學治療劑之實例包括烷基化劑，諸如噻替派(thiotepa)及環磷醯胺(CYTOXAN®)；磺酸烷基酯，諸如白消安(busulfan)、英丙舒凡(improsulfan)及哌泊舒凡(piposulfan)；氮丙啶，諸如苯唑多巴(benzodopa)、卡波醯(carboquone)、米特多巴(meturedopa)及尤利多巴(uredopa)；伸乙亞胺及甲基三聚氰胺，包括六甲蜜胺、三伸乙基蜜胺、三伸乙基磷醯胺、三伸乙基硫代磷醯胺及三甲基三聚氰胺；多聚乙醯(尤其布拉他辛(bullatacin)及布拉他辛酮(bullatacinone))； δ -9-四氫大麻酚(屈大麻酚(dronabinol)，MARINOL®)； β -拉帕醯(beta-lapachone)；拉帕醇(lapachol)；秋水仙鹼(colchicines)；樺木酸(betulinic acid)；喜樹鹼(包括合成類似物拓朴替康(topotecan) (HYCAMTIN®)、CPT-11 (伊立替康，CAMPTOSAR®)、乙醯基喜樹鹼、東莨菪素(scopolectin)及9-胺基喜樹鹼)；苔蘚蟲素(bryostatin)；海洋抑素(callystatin)；CC-1065(包括其阿多來新(adozelesin)、卡折來新(carzelesin)及比折來新(bizelesin)合成類似物)；鬼臼毒素(podophyllotoxin)；鬼臼酸(podophyllinic acid)；替尼泊昔(teniposide)；念珠藻素(尤其念珠藻素1及念珠藻素8)；海兔毒素(dolastatin)；倍癌黴素(duocarmycin)(包括合成類似物KW-2189及CB1-TM1)；艾榴素(eleutherobin)；水鬼蕉鹼(pancratistatin)；匍枝珊瑚醇(sarcodictyin)；海綿抑素(spongistatin)；氮芥(nitrogen mustard)，諸如

苯丁酸氮芥、萘氮芥(chlornaphazine)、氯磷醯胺、雌莫司汀(estrarnustine)、異環磷醯胺、氮芥(mechlorethamine)、鹽酸氧氮芥、美法侖(melphalan)、新恩比興(novembichin)、苯芥膽甾醇(phenesterine)、潑尼莫司汀(prednimustine)、曲洛磷胺(trofosfamide)、尿嘧啶芥(uracil mustard)；亞硝基脲，諸如卡莫司汀(carmustine)、氯脲菌素(chlorozotocin)、福莫司汀(fotemustine)、洛莫司汀(lomustine)、尼莫司汀(nimustine)及雷莫司汀(ranimustine)；抗生素，諸如烯二炔抗生素(例如，卡奇黴素(calicheamicin)，尤其係卡奇黴素 γ II (calicheamicin gammaII)及卡奇黴素 Ω II (calicheamicin omegaII) (參見，例如，Nicolaou et al, Angew. Chem Intl. Ed. Engl., 33: 183-186 (1994))；達內黴素(dynemicin)，包括達內黴素A；埃斯培拉黴素(esperamicin)；以及新抑癌蛋白發色團及相關色蛋白烯二炔抗生素發色團、阿克拉黴素(aclacinomycin)、放線菌素(actinomycin)、安麴黴素(authramycin)、偶氮絲胺酸(azaserine)、博來黴素(bleomycin)、放線菌素C、卡拉比辛(carabycin)、洋紅黴素(caminomycin)、嗜癌菌素(carzinophilin)、色黴素(chromomycini)、放線菌素、道諾黴素(daunorubicin)、地托比星(detorubicin)、6-重氮-5-側氧基-L-正白胺酸、小紅莓(doxorubicin) (包括N-咪啉基-小紅莓、氰基(N-咪啉基)-小紅莓、2-吡咯啉基-小紅莓及去氧小紅莓)、表柔比星(epirubicin)、依索比星(esorubicin)、艾達黴素(idarubicin)、麻西羅黴素(marcellomycin)、絲裂黴素(mitomycin)(諸如絲裂黴素C)、黴酚酸(mycophenolic acid)、諾加黴素(nogalamycin)、橄欖黴素(olivomycin)、培洛黴素(peplomycin)、潑非黴素(porfiromycin)、嘌呤黴素(puromycin)、奎那黴素(quelamycin)、羅多比星(rodorubicin)、

鏈黑菌素(streptonigrin)、鏈脲黴素(streptozocin)、殺結核菌素(tubercidin)、烏苯美司(ubenimex)、淨司他汀(zinostatin)、佐柔比星(zorubicin)；抗代謝物，諸如甲胺喋呤(methotrexate)及5-氟尿嘧啶(5-FU)；葉酸類似物，諸如迪諾特寧(denopterin)、甲胺喋呤、蝶羅呤(pteropterin)、曲美沙特(trimetrexate)；嘌呤類似物，諸如氟達拉濱(fludarabine)、6-巯基嘌呤、硫咪嘌呤(thiamiprine)、硫鳥嘌呤(thioguanine)；嘧啶類似物，諸如安西他濱(ancitabine)、阿紮胞苷(azacitidine)、6-氮雜尿苷、卡莫氟(carmofur)、阿糖胞苷(cytarabine)、雙去氧尿苷(dideoxyuridine)、去氧氟尿苷(doxifluridine)、依諾他濱(enocitabine)、氟尿苷(floxuridine)；雄激素，諸如卡普翠酮(calusterone)、丙酸屈他雄酮(dromostanolone propionate)、環硫雄醇(epitiostanol)、美雄烷(mepitiostane)、翠內酯(testolactone)；抗腎上腺藥物，諸如胺魯米特(aminoglutethimide)、米托坦(mitotane)、曲洛司坦(trilostane)；葉酸補充劑，諸如亞葉酸；乙醯葡醛酯(aceglatone)；醛磷醯胺醣苷(aldophosphamide glycoside)；胺基乙醯丙酸；恩尿嘧啶(eniluracil)；安吡啶(amsacrine)；貝斯布西(bestrabucil)；比生群(bisantrene)；依達曲沙(edatraxate)；地磷醯胺(defofamine)；地美可辛(demecolcine)；地吡醯(diaziquone)；艾弗利散(elformthine)；依利醋鉍(elliptinium acetate)；埃博黴素；依託格魯(etoglucid)；硝酸鎂；羥基脲；磨菇多糖(lentinan)；氯尼達明(lonidainine)；類美登素(maytansinoid)，諸如美登素(maytansine)及安絲菌素(ansamitocin)；丙脒脞(mitoguazone)；米托蒽醯(mitoxantrone)；莫哌達醇(mopidamol)；尼曲吡啶(nitracrine)；噴司他丁(pentostatin)；苯來美特(phenamet)；吡

柔比星(pirarubicin)；洛索蔥醌(losoxantrone)；2-乙基醯肼；丙卡巴肼(procarbazine)；PSK®多醣複合物(JHS Natural Products, Eugene, OR)；雷佐生(razoxane)；根黴素(rhizoxin)；西索菲蘭(sizofiran)；螺旋鍺(spirogermanium)；細交鏈孢菌酮酸(tenuazonic acid)；三亞胺醌(triaziquone)；2,2',2"-三氯三乙胺；單端孢菌素(trichothecenes) (尤其T-2毒素、疣孢菌素(verrucurin) A、桿孢菌素(roridin) A及蛇行菌素(anguidine))；烏拉坦(urethan)；長春地辛(vindesine) (ELDISINE®, FILDESIN®)；達卡巴吡(dacarbazine)；甘露醇氮芥(mannomustine)；二溴甘露醇(mitobronitol)；二溴衛矛醇(mitolactol)；哌泊溴烷(pipobroman)；甲托辛(gacytosine)；阿糖胞苷(arabinoside) (「Ara-C」)；噻替派；類紫杉醇(taxoids)，例如紫杉醇(paclitaxel) (TAXOL®；Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, N.J.)、ABRAXANETM紫杉醇之不含可列莫佛(Cremophor)的白蛋白改造之奈米粒子調配物(American Pharmaceutical Partners, Schaumburg, Illinois)及多西他賽(docetaxel) (TAXOTERE®；Rhône-Poulenc Rorer, Antony, France)；苯丁酸氮芥(chloranbucil)；吉西他濱(gemcitabine) (GEMZAR®)；6-硫鳥嘌呤；巯基嘌呤；甲胺嘌呤；鉑類似物，諸如順鉑及卡鉑；長春鹼(VELBAN®)；鉑；依託泊苷(VP-16)；異環磷醯胺；米托蔥醌；長春新鹼(ONCOVIN®)；奧沙利鉑(oxaliplatin)；盧考弗文(leucovorin)；長春瑞濱(NAVELBINE®)；諾凡蔥醌(novantrone)；依達曲沙；道諾黴素(daunomycin)；胺基嘌呤；伊班膦酸鹽(ibandronate)；拓樸異構酶抑制劑RFS 2000；二氟甲基鳥胺酸(DMFO)；類視黃素，諸如視黃酸；卡培他濱(capecitabine) (XELODA®)；及上述任一者的醫藥學上可接受之鹽、酸

或衍生物；以及上述兩者或更多者之組合，諸如CHOP，環磷醯胺、小紅莓、長春新鹼及潑尼龍(prednisolone)之組合療法的縮寫；CVP，環磷醯胺、長春新鹼及潑尼龍之組合療法的縮寫；及FOLFOX，使用奧沙利鉑(ELOXATIN™)與5-FU及甲醯四氫葉酸之組合的治療方案之縮寫。

【0116】 「效應功能」係指可歸因於抗體之Fc區之生物活性，其因抗體同型而異。抗體效應功能之實例包括：C1q結合及補體依賴性細胞毒性(CDC)；Fc受體結合；抗體依賴性細胞介導之細胞毒性(ADCC)；吞噬作用；細胞表面受體(例如B細胞受體)之下調；及B細胞活化。

【0117】 藥劑(例如醫藥調配物)之「有效量」係指以必要劑量及持續必要時段有效達成所需治療或預防結果之量。

【0118】 術語「抗原決定基」係指抗體結合之抗原分子上的特定位點。

【0119】 在本文中，術語「Fc區」用以定義含有至少一部分恆定區之免疫球蛋白重鏈之C端區。該術語包括天然序列Fc區及變異Fc區。在一個實施例中，人類IgG重鏈Fc區自Cys226或自Pro230延伸至重鏈之羧基端。然而，Fc區之C端離胺酸(Lys447)可存在或可不存在。除非本文另外說明，否則Fc區或恆定區胺基酸殘基之編號係依據EU編號系統，亦稱為EU索引，如Kabat等人, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 第5版, Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md., 1991中所述。

【0120】 「構架」或「FR」係指除高變區(HVR)殘基之外的可變域殘基。可變域之FR一般由四個FR域組成：FR1、FR2、FR3及FR4。因此，HVR及FR序列一般以以下序列出現在VH (或VL)中：FR1-H1(L1)-

FR2-H2(L2)-FR3-H3(L3)-FR4。

【0121】 術語「全長抗體」、「完整抗體」及「全抗體」在本文中可互換使用且係指結構實質上類似於天然抗體結構或具有含有如本文所定義之Fc區之重鏈的抗體。

【0122】 術語「宿主細胞」、「宿主細胞株」及「宿主細胞培養物」可互換使用且係指已向其中引入外源核酸之細胞，包括此類細胞之後代。宿主細胞包括「轉型體」及「轉型細胞」，其包括初代轉型細胞及來源於其之後代(不考慮繼代次數)。後代之核酸含量與母細胞可能不完全相同，但可能含有突變。本文包括針對原始轉型細胞篩選或選擇具有相同功能或生物活性之突變型後代。

【0123】 「人類抗體」為胺基酸序列對應於由人類或人類細胞產生或來源於利用人類抗體譜系或其他人類抗體編碼序列之非人類來源之抗體的胺基酸序列之抗體。此人類抗體之定義特定地排除包含非人類抗原結合殘基之人類化抗體。

【0124】 「人類共同構架」為表示所選人類免疫球蛋白VL或VH構架序列中最常出現之胺基酸殘基的構架。一般而言，人類免疫球蛋白VL或VH序列係選自可變域序列之子組。通常，序列子組為如Kabat等人, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 第五版, NIH Publication 91-3242, Bethesda MD (1991), 第1-3卷中之子組。在一個實施例中，對於VL，子組為如Kabat等人(見上文)中之子組κ I。在一個實施例中，對於VH，子組為如Kabat等人(見上文)中之子組III。

【0125】 「人類化」抗體係指包含來自非人類HVR之胺基酸殘基及來自人類FR之胺基酸殘基的嵌合抗體。在某些實施例中，人類化抗體將

包含至少一個且通常兩個可變域之實質上全部，其中全部或實質上全部HVR (例如CDR)均對應於非人類抗體之HVR，且全部或實質上全部FR皆對應於人類抗體之FR。人類化抗體視情況可包含來源於人類抗體之抗體恆定區之至少一部分。抗體(例如，非人類抗體)之「人類化形式」係指已經歷人類化之抗體。

【0126】 如本文所用，術語「高變區」或「HVR」係指抗體可變域中在序列上具有高變性及/或形成結構上定義之環(「高變環」)的各區域。一般而言，天然四鏈抗體包含六個HVR；三個位於VH中(H1、H2、H3)，且三個位於VL中(L1、L2、L3)。HVR通常包含來自高變環及/或來自「互補決定區」(CDR)之胺基酸殘基，後者具有最高的序列可變性及/或與抗原識別相關。例示性高變環出現在胺基酸殘基26-32 (L1)、50-52 (L2)、91-96 (L3)、26-32 (H1)、53-55 (H2)及96-101 (H3)處。(Chothia及Lesk, *J. Mol. Biol.* 196:901-917 (1987))。例示性CDR (CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3、CDR-H1、CDR-H2及CDR-H3)出現在L1之胺基酸殘基24-34、L2之胺基酸殘基50-56、L3之胺基酸殘基89-97、H1之胺基酸殘基31-35B、H2之胺基酸殘基50-65及H3之胺基酸殘基95-102處。(Kabat等人, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 第5版, Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991))。除VH中之CDR1之外，CDR一般包含形成高變環之胺基酸殘基。CDR亦包含「特異性決定殘基」或「SDR」，其為接觸抗原之殘基。SDR包含於簡稱為-CDR或a-CDR之CDR區域內。例示性a-CDR (a-CDR-L1、a-CDR-L2、a-CDR-L3、a-CDR-H1、a-CDR-H2及a-CDR-H3) 出現在L1之胺基酸殘基31-34、L2之胺基酸殘基50-55、L3之胺基酸殘基89-96、H1之胺

基酸殘基31-35B、H2之胺基酸殘基50-58及H3之胺基酸殘基95-102處。(參見Almagro及Fransson, *Front. Biosci.* 13:1619-1633 (2008))。除非另外指示，否則在本文中，根據Kabat等人(見上文)對可變域中之HVR殘基及其他殘基(例如FR殘基)進行編號。

【0127】 「抗體-藥物結合物」或「ADC」為與一或多種異源分子(包括(但不限於)細胞毒性劑)結合之抗體。

【0128】 「個體(individual)」或「受試者(subject)」為哺乳動物。哺乳動物包括(但不限於)家養動物(例如牛、羊、貓、狗及馬)、靈長類動物(例如人類及非人類靈長類動物，諸如猴)、兔及嚙齒動物(例如小鼠及大鼠)。在某些實施例中，該個體或受試者為人類。在某些實施例中，受試者為成人、青少年、兒童或嬰兒。在一些實施例中，使用術語「個體(individual)」或「患者」且預期可與「受試者(subject)」互換。

【0129】 如本文中所使用，除非另有指示，否則術語「Trop-2」係指來自任何脊椎動物來源之任何天然Trop-2，該脊椎動物來源包括哺乳動物，諸如靈長類動物(例如人類、食蟹獼猴(cyno))及嚙齒動物(例如小鼠及大鼠)。該術語涵蓋未處理的「全長」Trop-2以及在細胞中處理而產生之任何Trop-2形式。該術語亦涵蓋天然存在之Trop-2變異體，例如剪接變異體、對偶基因變異體及同功異型物。例示性人類Trop-2蛋白質之胺基酸序列展示於SEQ ID NO: 9中。

【0130】 術語「表現Trop-2之癌症」係指包含在表面上表現Trop-2之細胞的癌症。

【0131】 如本文所用，術語「單株抗體」係指自實質上均質抗體之群體獲得之抗體，亦即除可能變異抗體(例如含有天然產生之突變或在製

造單株抗體製劑期間出現之變異抗體，此類變異體通常以較小量存在)以外，構成該群體之個別抗體相同及/或結合相同抗原決定基。相比於典型地包括針對不同決定子(抗原決定基)之不同抗體的多株抗體製劑，單株抗體製劑之各單株抗體係針對抗原上之單一決定子。因此，修飾語「單株」指示抗體之特徵為自實質上均質之抗體群體獲得，且不應解釋為需要藉由任何特定方法產生該抗體。舉例而言，根據本發明使用之單株抗體可藉由多種技術製得，包括(但不限於)融合瘤方法、重組DNA方法、噬菌體呈現方法及利用含有所有或部分人類免疫球蛋白基因座之轉殖基因動物的方法、本文所描述之製造單株抗體之此類方法及其他例示性方法。

【0132】 「天然抗體」係指具有不同結構之天然產生之免疫球蛋白分子。舉例而言，天然IgG抗體為約150,000道爾頓(dalton)之雜四聚體醣蛋白，其由二硫化物鍵結之兩條相同輕鏈及兩條相同重鏈構成。自N端至C端，各重鏈具有可變區(VH)，亦稱為可變重鏈域或重鏈可變域，繼而為三個恆定域(CH1、CH2及CH3)。類似地，自N端至C端，各輕鏈具有可變區(VL)，亦稱為可變輕鏈域或輕鏈可變域，繼而為恆定輕鏈(CL)域。抗體輕鏈可基於其恆定域之胺基酸序列而歸為兩種類型之一，稱為 κ 及 λ 。

【0133】 術語「藥品說明書」用於指通常包括於治療性產品之商業包裝中之說明書，其含有關於與使用此類治療性產品有關之適應症、用法、劑量、投藥、組合療法、禁忌症及/或警告之信息。

【0134】 相對於參考多肽序列之「胺基酸序列一致性百分比(%)」經定義為在比對序列及引入空位(必要時)以得到最大序列一致性百分比之後，候選序列中與參考多肽序列中之胺基酸殘基相同之胺基酸殘基的百分比。出於確定胺基酸序列一致性百分比之目的，可以此項技術內之各種方

式達成比對，例如使用實施適合之演算法(諸如Smith及Waterman (Add. APL. Math. 2:482, 1981)之局部同源性演算法的公開可用之電腦軟體，藉由Needleman及Wunsch (J. Mol. Biol. 48:443, 1970)之全域同源性比對演算法)。熟習此項技術者可確定適用於比對序列之參數，包括在所比較序列之全長內達成最大比對所需的任何算法。如本文中所使用，「序列一致性百分比」或「[序列]一致性百分比(%)」係藉由在由兩個序列之間的局部比對長度限定之比較窗內比較兩個最佳局部比對序列來確定。(此亦可視為同源性百分比或「同源性百分比(%)」)。針對兩個序列之最佳比對，相比於參考序列，比較窗中之胺基酸序列可包含添加或缺失(例如，空位或突出物)。兩個序列之間的局部比對僅包括各序列之片段，根據視用以執行比對之演算法而定之準則，該等片段視為充分類似。藉由以下來計算一致性百分比：藉由測定兩個序列中存在之一致核酸鹼基或胺基酸殘基的位置數獲得匹配位置數，將匹配位置數除以比較窗中之總位置數且將結果乘以100。舉例而言，GAP及BESTFIT可用於測定針對比較已鑑別之兩個序列之最佳比對。典型地，使用預設值：針對空位權數為5.00及針對空位權數長度為0.30。

【0135】 術語「醫藥調配物」係指所呈形式允許其中所含活性成分之生物活性有效發揮的製劑，且其不含對調配物將投與之受試者具有不可接受毒性之其他組分。

【0136】 「醫藥學上可接受之載劑」係指醫藥調配物中之除活性成分外之對受試者無毒的成分。醫藥學上可接受之載劑包括(但不限於)緩衝液、賦形劑、穩定劑或防腐劑。

【0137】 「醫藥學上可接受之鹽」係指醫藥學上可接受的鹽。本文

所描述之化合物可以醫藥學上可接受之鹽的形式投與。

【0138】 如本文所用，「治療(treatment)」(及其語法變化形式，諸如「治療(treat)」或「治療(treating)」)係指臨床介入以試圖改變所治療個體之自然病程，且可以為實現預防或在臨床病理學病程中進行。所需治療作用包括(但不限於)預防疾病發生或復發、緩解症狀、減輕疾病之任何直接或間接病理性後果、預防轉移、降低疾病進展速率、改善或緩和疾病病況及緩解或改善預後。在一些實施例中，如本文所描述之ADC用於延遲疾病發生或減緩疾病進展。

【0139】 術語「可變區」或「可變域」係指涉及抗體結合至抗原的抗體重鏈或輕鏈域。天然抗體之重鏈及輕鏈可變域(分別為VH及VL)一般具有類似結構，其中各域均包含四個保守構架區(FR)及三個高變區(HVR)。(參見例如Kindt等人, *Kuby Immunology*, 第6版, W.H. Freeman and Co., 第91頁(2007))。單一VH或VL域可足以賦予抗原結合專一性。此外，結合特定抗原之抗體可使用來自結合抗原之抗體的VH域或VL域分別篩選互補VL域或VH域之庫來分離。參加例如Portolano等人, *J. Immunol.* 150:880-887 (1993)；Clarkson等人, *Nature* 352:624-628 (1991)。

【0140】 如本文所使用，術語「載體」係指能夠傳播其所連接之另一核酸的核酸分子。該術語包括呈自我複製核酸結構之載體以及併入其已引入之宿主細胞之基因體中的載體。某些載體能夠導引可操作地連接其之核酸的表現。此類載體在本文中稱為「表現載體」。

【0141】 如本文所用，術語「C₁₋₆烷基」係指具有1至6個碳原子之直鏈或分支鏈、飽和或不飽和烴。代表性直鏈C₁₋₆烷基包括甲基、乙基、正丙基、正丁基、正戊基及正己基；代表性分支鏈C₁₋₆烷基包括(但不限

於)異丙基、二級丁基、異丁基、三級丁基、異戊基、2-甲基丁基；代表性不飽和C₁₋₆烷基包括(但不限於)乙烯基、烯丙基、1-丁烯基、2-丁烯基、異丁烯基、1-戊烯基、2-戊烯基、3-甲基-1-丁烯基、2-甲基-2-丁烯基、2,3-二甲基-2-丁烯基、1-己基、2-己基、3-己基、乙炔基、丙炔基、1-丁炔基、2-丁炔基、1-戊炔基、2-戊炔基、3-甲基-1-丁炔基。除非特定指示，否則應瞭解C₁₋₆烷基係指未經取代之基團。

【0142】 如本文所用，術語「C₁₋₄烷基」係指具有1至4個碳原子之直鏈或分支鏈、飽和或不飽和烴。代表性「C₁₋₄烷基」包括甲基、乙基、正丙基、正丁基；代表性分支鏈C₁₋₄烷基包括(但不限於)異丙基、二級丁基、異丁基、三級丁基；代表性不飽和C₁₋₄烷基包括(但不限於)乙烯基、烯丙基、1-丁烯基、2-丁烯基及異丁烯基。除非特定指示，否則應瞭解C₁₋₄烷基係指未經取代之基團。

【0143】 「連接子」係指包含共價鍵或共價附接抗體於藥物部分之原子鏈的化學部分。在各種實施例中，連接子包括二價基。在各種實施例中，連接子可包含一或多個胺基酸殘基。

【0144】 術語「保護基」係指通常用以封端或保護特定官能基同時使化合物上之其他官能基反應的取代基。舉例而言，「胺基保護基」為附接於胺基，封端或保護化合物中之胺基官能基之取代基。適合胺基保護基包括(但不限於)乙醯基、三氟乙醯基、三級丁氧基羰基(BOC)、苯甲氧基羰基(CBZ)及9-芴基亞甲氧基羰基(Fmoc)。關於保護基及其用途之一般描述參見T. W. Greene, *Protective Groups in Organic Synthesis*, John Wiley & Sons, New York, 1991或後續版本。

【0145】 如本文中所使用，「實質上」及其他文法形式意謂足以有

效於預期目的。術語「實質上」因此允許相對於絕對或完全狀態、維度、量測值、結果或其類似者發生微小、不顯著(諸如該領域中之一般技術者所預期)、但對總體效能之影響不明顯的變化。當關於數值或可表示為數值之參數或特性使用時，「實質上」意謂在百分之十內。

概述

【0146】 抗體-藥物結合物(ADC)允許將藥物部分靶向遞送至腫瘤，且在一些實施例中允許其中之細胞內積聚，其中全身性投與未結合藥物可能引起對正常細胞之不可接受程度之毒性(Polak P. (2005) *Current Opinion in Pharmacology* 5:382-387)。ADC為靶向化學治療性分子，其藉由使強效細胞毒性藥物靶向表現抗原之腫瘤細胞來組合抗體與細胞毒性藥物兩者之特性(Teicher, B. A. (2009) *Current Cancer Drug Targets* 9:982-1004)，從而藉由功效最大化及脫靶毒性最小化而增強治療指數(Carter, P. J.及Senter P. D. (2008) *The Cancer Jour*: 14(3):154-169；Chari, R. V. (2008) *ACC. Chen. Res.* 41.98-107)。

【0147】 本發明提供ADC，其包含經由連接子部分結合至藥物部分SN-38之抗-Trop-2抗體。抗-Trop-2抗體可結合至表現Trop-2之癌細胞且允許將ADC選擇性攝取至該等癌細胞中。在一些實施例中，本文提供之ADC用以將有效量之SN-38選擇性遞送至腫瘤組織，同時避免與其中使用不同連接子結合SN-38與抗-Trop-2抗體之其他ADC相關的毒性。本文所描述之ADC化合物包括彼等具有抗癌活性之化合物。

【0148】 在一個態樣中，本文提供包含抗-Trop-2抗體之抗體-藥物結合物(ADC)。在另一態樣中，本文提供製備包含抗-Trop-2抗體之ADC的方法。本文中亦提供使用本文所揭示之ADC治療癌症(諸如表現Trop-2

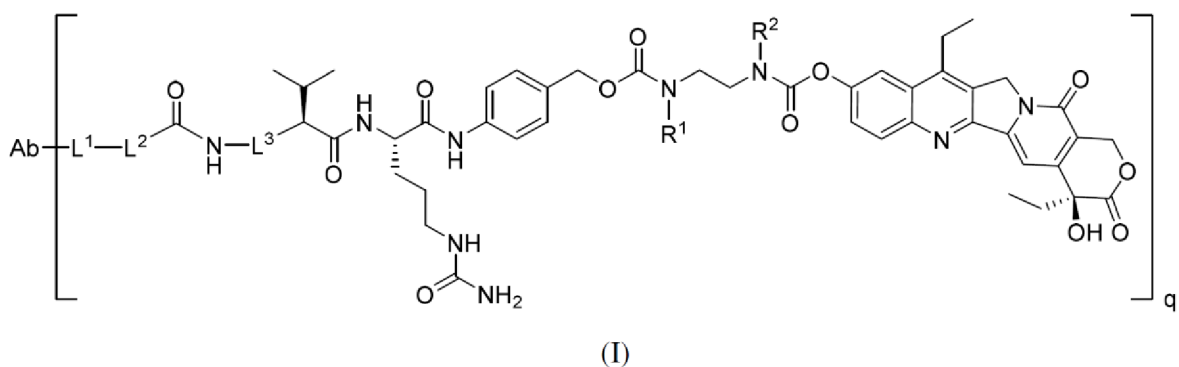
之癌症)的方法。

I. 組合物

抗體-藥物結合物

【0149】 在一個態樣中，本文提供一種抗體-藥物結合物(ADC)，其包含抗-Trop-2抗體(Ab)、藥物部分SN-38及將抗-Trop-2抗體共價附接至SN-38之連接子部分。

【0150】 在一些實施例中，ADC具有式(I)：



或為其醫藥學上可接受之鹽，其中：

Ab為抗-Trop-2抗體；

q為介於1至20範圍內之值；

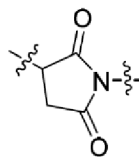
L¹為結合至抗-Trop-2抗體之連接子；

L²為-(CH₂)_p-，其中p為4、5、6、7或8；

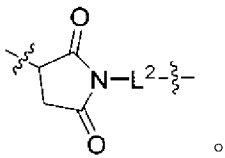
L³為一鍵或基於聚氧乙烯之二價連接子；及

R¹及R²各自獨立地為C₁₋₆烷基。

【0151】 在一些實施例中，L¹為結合至抗-Trop-2抗體之硫的連接



子。在一些實施例中，L¹為 。在一些實施例中，-L¹-L²-為



【0152】 在一些實施例中， q 為1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20。在一些實施例中， q 為介於1至10範圍內之值。在一些實施例中， q 為介於6至8範圍內之值。在一些實施例中， q 為介於6至7範圍內之值。在一些實施例中， q 為介於7至8範圍內之值。在一些實施例中， q 為6、7或8。在一些實施例中， q 為6。在一些實施例中， q 為7。在一些實施例中， q 為8。

【0153】 在一些實施例中， p 為4、5或6。在一些實施例中， p 為4。在一些實施例中， p 為5。在一些實施例中， p 為6。在一些實施例中， p 為7或8。在一些實施例中， p 為7。在一些實施例中， p 為8。

【0154】 在一些實施例中， L^3 為一鍵。在其他實施例中， L^3 為基於聚氧乙烯之二價連接子。在一些實施例中，基於聚氧乙烯之二價連接子包含聚氧乙烯部分及伸烷基部分。在一些實施例中，基於聚氧乙烯之二價連接子包含聚氧乙烯部分及伸芳基部分。在一些實施例中，基於聚氧乙烯之二價連接子包含聚氧乙烯部分、伸烷基部分及伸芳基部分。在一些實施例中，基於聚氧乙烯之二價連接子包含聚氧乙烯部分及醯胺部分。在一些實施例中，基於聚氧乙烯之二價連接子包含聚氧乙烯部分、烷基部分及醯胺部分。在一些實施例中，基於聚氧乙烯之二價連接子包含聚氧乙烯部分、伸芳基部分及醯胺部分。在一些實施例中，基於聚氧乙烯之二價連接子包含聚氧乙烯部分、伸烷基部分、伸芳基部分及醯胺部分。在一些實施例中，基於聚氧乙烯之二價連接子包含至多24個 $-(CH_2CH_2O)-$ 單元。

【0155】 在一些實施例中， R^1 為 C_{1-4} 烷基。在一些實施例中， R^1 為

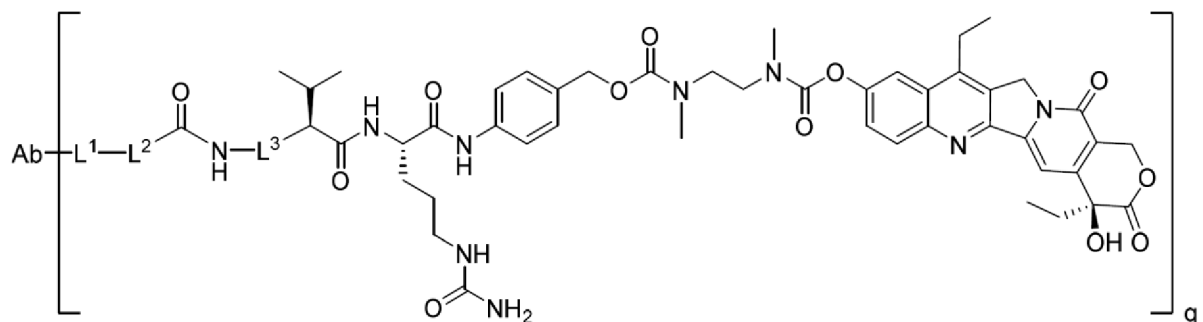
C₁₋₃烷基。在一些實施例中，R¹為甲基。在一些實施例中，R¹為乙基。在一些實施例中，R¹為丙基，諸如正丙基或異丙基。在一些實施例中，R¹為丁基，諸如正丁基或三級丁基。在其他實施例中，R¹為戊基或己基。

【0156】 在一些實施例中，R²為C₁₋₄烷基。在一些實施例中，R²為C₁₋₃烷基。在一些實施例中，R²為甲基。在一些實施例中，R²為乙基。在一些實施例中，R²為丙基，諸如正丙基或異丙基。在一些實施例中，R²為丁基，諸如正丁基或三級丁基。在其他實施例中，R²為戊基或己基。

【0157】 在一些實施例中，R¹與R²相同。在一些實施例中，R¹及R²各自為甲基。在一些實施例中，R¹及R²各自為乙基。在一些實施例中，R¹及R²各自為丙基。在一些實施例中，R¹及R²各自為丁基。在一些實施例中，R¹及R²各自為戊基。在一些實施例中，R¹及R²各自為己基。

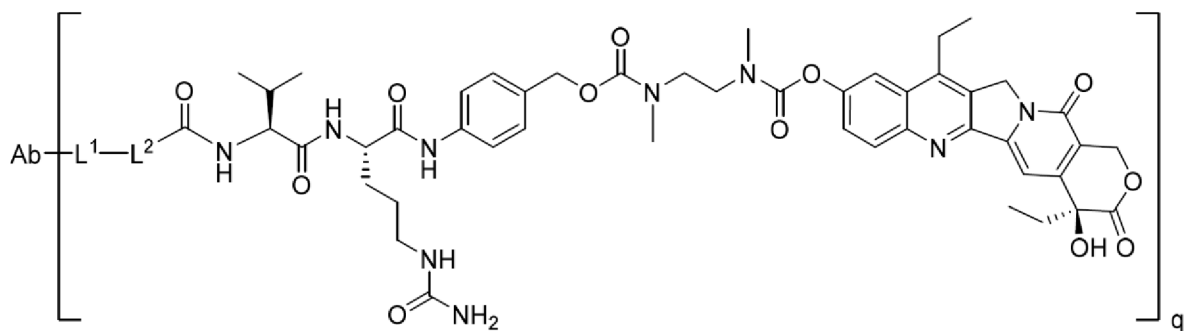
【0158】 在一些實施例中，R¹與R²不同。在一些實施例中，R¹為甲基且R²為乙基。在一些實施例中，R¹為乙基且R²為甲基。在一些實施例中，R¹為甲基且R²為C₂₋₆烷基。在一些實施例中，R¹為C₂₋₆烷基且R²為甲基。

【0159】 在一些實施例中，ADC具有式(IIa)：



(IIa)

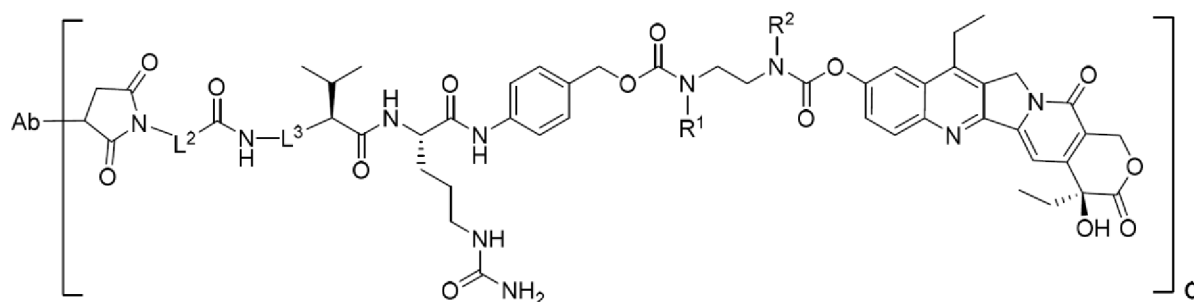
或其醫藥學上可接受之鹽。在一個變化形式中，L³為一鍵且ADC具有式(IIa-1)：



(IIa-1)

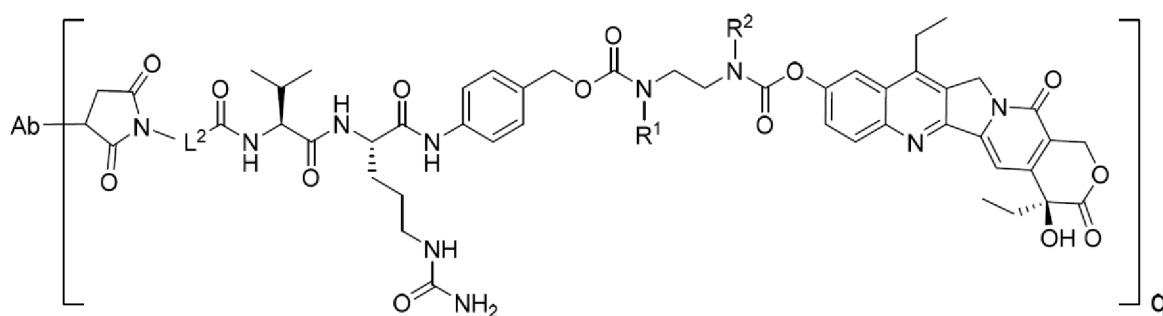
或其醫藥學上可接受之鹽。

【0160】 在一些實施例中，ADC具有式(IIb)：



(IIb)

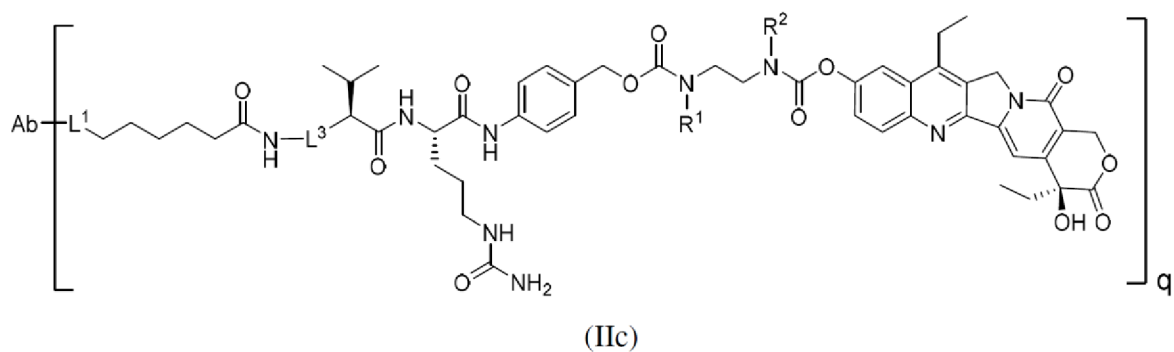
或其醫藥學上可接受之鹽。在一個變化形式中，L³為一鍵且ADC具有式(IIb-1)：



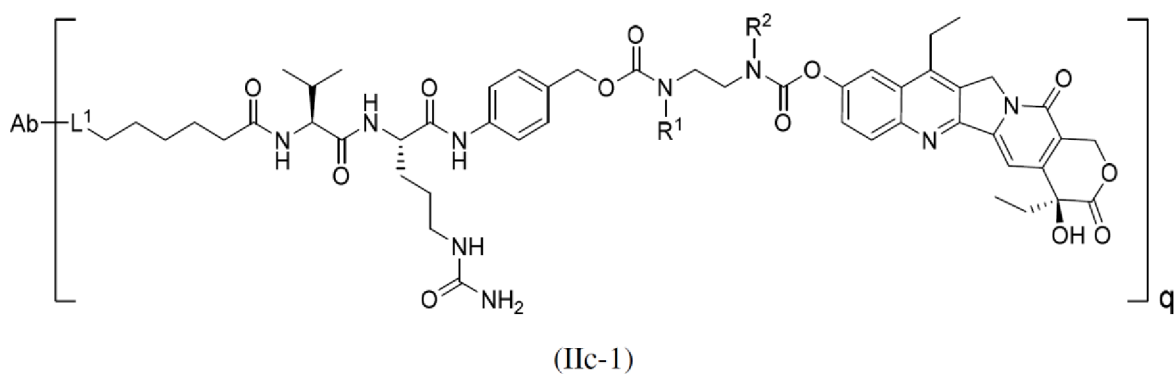
(IIb-1)

或其醫藥學上可接受之鹽。

【0161】 在一些實施例中，ADC具有式(IIc)：

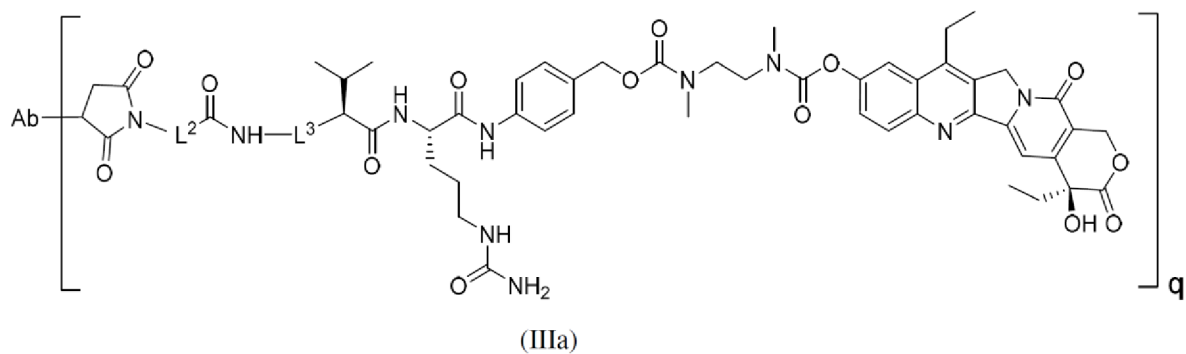


或其醫藥學上可接受之鹽。在一個變化形式中， L^3 為一鍵且ADC具有式(IIc-1)：

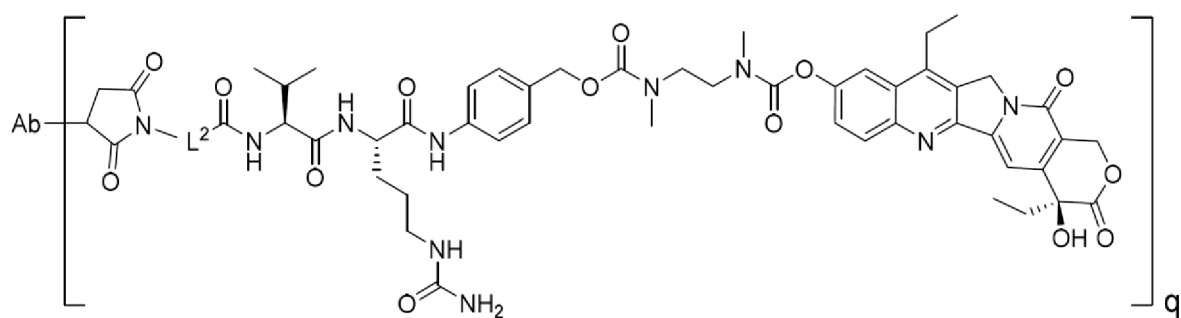


或其醫藥學上可接受之鹽。

【0162】 在一些實施例中，ADC具有式(IIIa)：



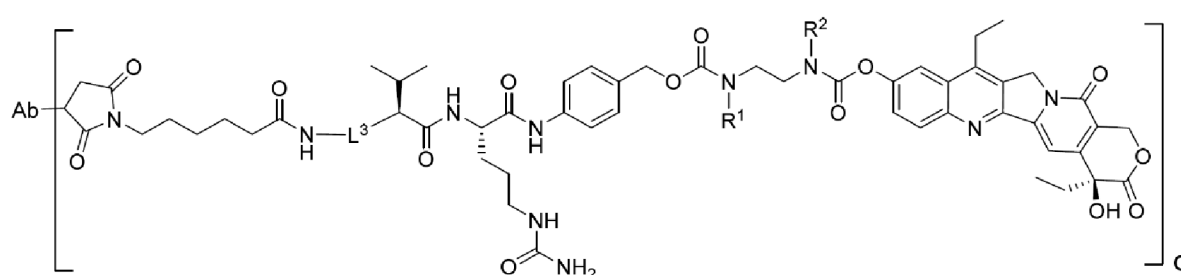
或其醫藥學上可接受之鹽。在一個變化形式中， L^3 為一鍵且ADC具有式(IIIa-1)：



(IIIa-1)

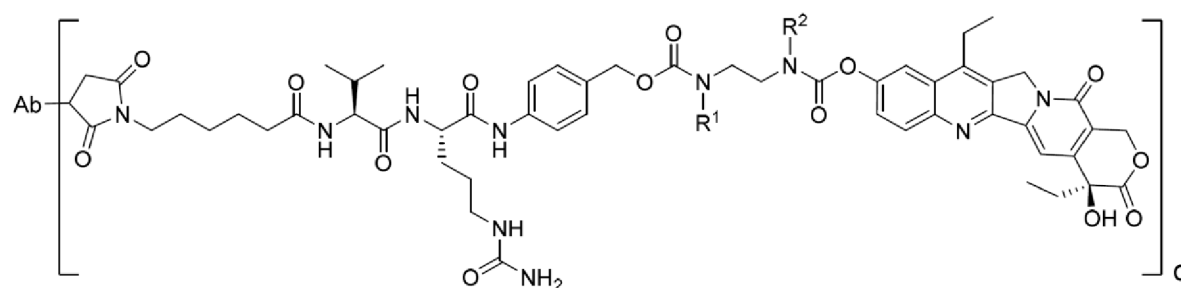
或其醫藥學上可接受之鹽。

【0163】 在一些實施例中，ADC具有式(IIIb)：



(IIIb)

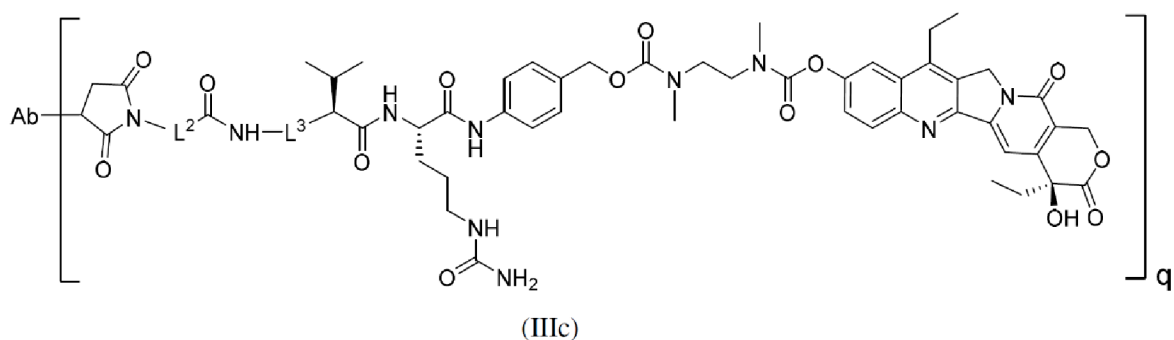
或其醫藥學上可接受之鹽。在一個變化形式中， L^3 為一鍵且ADC具有式(IIIb-1)：



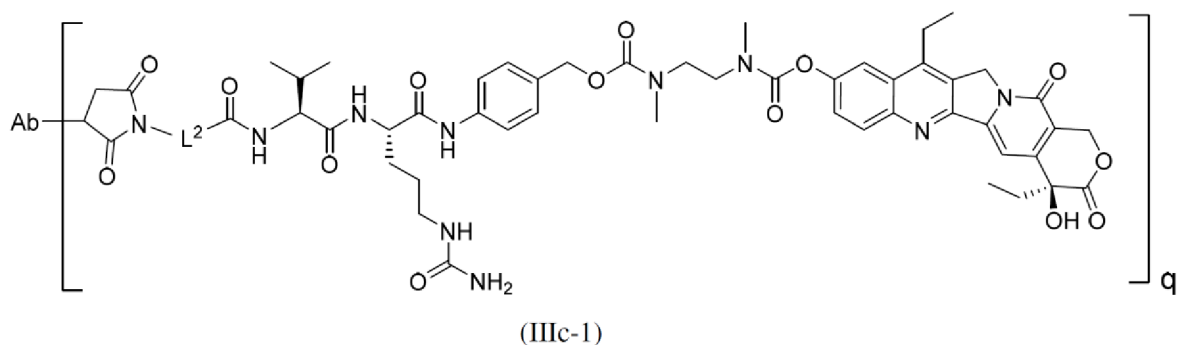
(IIIb-1)

或其醫藥學上可接受之鹽。

【0164】 在一些實施例中，ADC具有式(IIIc)：



或其醫藥學上可接受之鹽。在一個變化形式中， L^3 為一鍵且ADC具有式(IIIc-1)：

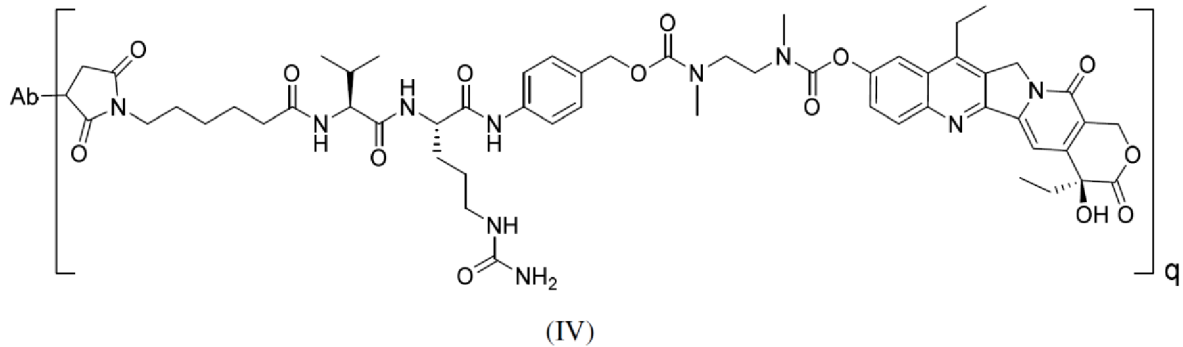


或其醫藥學上可接受之鹽。

【0165】 在本文中之描述中，應理解，一個部分之各個描述、變化形式、實施例或態樣可與其他部分之各個描述、變化形式、實施例或態樣組合，如同描述之各個及每一組合特定且單獨列出一般。舉例而言，本文所提供之關於式(I)之 L^1 的各個描述、變化形式、實施例或態樣可與 L^2 、 L^3 、 p 、 R^1 、 R^2 、 Ab 及 q 之各個描述、變化形式、實施例或態樣組合，如同特定且個別地列舉了每一個組合一般。亦應理解，適用時，式(I)之所有描述、變化形式、實施例或態樣同樣適用於本文中詳述之其他化學式，且同等地加以描述，如同針對所有化學式單獨且個別地列舉了每一個描述、變化形式、實施例或態樣一般。舉例而言，適用時，式(I)之所有描述、變化形式、實施例或態樣同樣適用於本文中詳述之諸如式(IIa)、(IIa-1)、(IIb)、(IIb-1)、(IIc)、(IIc-1)、(IIIa)、(IIIa-1)、(IIIb)、(IIIb-1)、

(IIIc)及(IIIc-1)之該等式中之任一者，且同等地加以描述，如同針對所有化學式單獨且個別地列舉了每一個描述、變化形式、實施例或態樣一般。

【0166】 在一個實施例中，ADC具有式(IV)：



或其醫藥學上可接受之鹽。

藥物負載

【0167】 藥物負載由 q (式(I)分子及其變化形式中每個抗-Trop-2抗體之藥物部分(亦即，SN-38)的平均數目)表示。藥物負載可在每個抗體1至20個藥物部分之範圍內。式(I)之ADC及其任何實施例、變化形式或態樣包括與1至20個範圍之藥物部分結合的抗體集合。在由結合反應製備ADC時，每個抗體之藥物部分之平均數目可藉由諸如質譜分析、ELISA分析及HPLC之習知方式表徵。亦可測定就 q 而言的ADC之定量分佈。在一些情況下，可藉由諸如逆相HPLC或電泳之方式來實現其中 q 為來自具有其他藥物負載之ADC之一定值的均質ADC之分離、純化及表徵。

【0168】 對於一些ADC，可藉由抗體上之附接位點之數目來限制 q 。舉例而言，在附接係半胱胺酸硫醇之情況下，如在本文所描述之某些例示性實施例中，抗體可僅具有一個或若干個半胱胺酸硫醇基，或可僅具有一個或若干個可附接連接子之足夠反應性硫醇基。在某些實施例中，ADC之平均藥物負載在1至約10個或約6至約8個之範圍內。

【0169】 在某些實施例中，在結合反應期間使少於理論最大值之藥物部分結合於抗體。抗體可含有(例如)不與藥物-連接子中間物或連接子試劑反應的離胺酸殘基。一般而言，抗體不含許多可連接至藥物部分的游離及反應性半胱胺酸硫醇基；實際上，抗體中的大多數半胱胺酸硫醇基殘基以二硫橋鍵形式存在。在某些實施例中，抗體可用諸如二硫蘇糖醇(DTT)或三羰基乙基膦(TCEP)之還原劑在部分或完全還原條件下還原，產生反應性半胱胺酸硫醇基。在某些實施例中，抗體經歷變性條件，以顯出反應性親核基團，諸如離胺酸或半胱胺酸。ADC之負載(藥物/抗體比率或「dar」)可以不同方式控制，且例如藉由如下來控制：(i)限制藥物-連接子中間物或連接子試劑相對於抗體之莫耳過量；(ii)限制結合反應時間或溫度；及(iii)針對半胱胺酸硫醇修飾之部分或限制還原條件。

【0170】 應瞭解在超過一個親核性基團與藥物-連接子中間物或連接子試劑反應之情況下，所得產物為具有一或多個藥物部分附接於抗體之分佈的ADC化合物之混合物。每個抗體之平均藥物數目可藉由對抗體具有特異性且對藥物具有特異性之雙重ELISA抗體分析由混合物計算。可藉由質譜分析鑑別出混合物中之個別ADC分子且藉由HPLC，例如疏水性相互作用層析分離(參見例如McDonagh等人(2006) *Prot. Engr. Design & Selection* 19(7):299-307；Hamblett等人(2004) *Clin. Cancer Res.* 10:7063-7070；Hamblett, K.J.,等人「Effect of drug loading on the pharmacology, pharmacokinetics, and toxicity of an anti-CD30 antibody-drug conjugate」, Abstract No. 624, American Association for Cancer Research, 2004 Annual Meeting, 2004年3月27-31日, Proceedings of the AACR, 第45卷, 2004年3月；Alley, S.C.等人. 「Controlling the location

of drug attachment in antibody-drug conjugates」, Abstract No. 627, American Association for Cancer Research, 2004 Annual Meeting, 2004年3月27-31日, Proceedings of the AACR, 第45卷, 2004年3月)。在某些實施例中, 具有單一負載值之均質ADC可藉由電泳或層析自結合混合物分離。

抗-Trop-2 抗體

i. 例示性抗體及抗體序列

【0171】 在一些實施例中, ADC包含結合於Trop-2之抗體。已報導Trop-2在許多與Trop-2表現之基線水準無關的癌症類型中上調。本文所描述之ADC化合物包含抗-Trop-2抗體。

【0172】 在一些實施例中, 本文所提供之抗-Trop-2抗體包含半胱胺酸。在一些實施例中, 抗-Trop-2抗體經由半胱胺酸殘基之硫結合至藥物。例示性抗-Trop-2抗體包括美國專利第7,238,785號中所揭示之hRS7抗體或其變化形式中之任一者。

【0173】 在一些實施例中, 本文中所提供之ADC包含抗-Trop-2抗體, 該抗-Trop-2抗體包含至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之HVR: (a)包含SEQ ID NO: 1之序列的VL HVR1; (b)包含SEQ ID NO: 2之序列的VL HVR2; (c)包含SEQ ID NO: 3之序列的VL HVR3; (d)包含SEQ ID NO: 4之序列的VH HVR1; (e)包含SEQ ID NO: 5之序列的VH HVR2; 及(f)包含SEQ ID NO: 6之序列的VH HVR3。在一些實施例中, ADC包含抗-Trop-2抗體, 該抗-Trop-2抗體包含至少一個選自以下之HVR: (a)包含SEQ ID NO: 1之序列的VL HVR1; (b)包含SEQ ID NO: 2之序列的VL HVR2; (c)包含SEQ ID NO: 3之序列的VL HVR3; (d)包含

SEQ ID NO: 4之序列的VH HVR1；(e)包含SEQ ID NO: 5之序列的VH HVR2；及(f)包含SEQ ID NO: 6之序列的VH HVR3。在一些實施例中，ADC包含抗-Trop-2抗體，該抗-Trop-2抗體包含至少兩個選自以下之HVR：(a)包含SEQ ID NO: 1之序列的VL HVR1；(b)包含SEQ ID NO: 2之序列的VL HVR2；(c)包含SEQ ID NO: 3之序列的VL HVR3；(d)包含SEQ ID NO: 4之序列的VH HVR1；(e)包含SEQ ID NO: 5之序列的VH HVR2；及(f)包含SEQ ID NO: 6之序列的VH HVR3。在一些實施例中，ADC包含抗-Trop-2抗體，該抗-Trop-2抗體包含至少三個選自以下之HVR：(a)包含SEQ ID NO: 1之序列的VL HVR1；(b)包含SEQ ID NO: 2之序列的VL HVR2；(c)包含SEQ ID NO: 3之序列的VL HVR3；(d)包含SEQ ID NO: 4之序列的VH HVR1；(e)包含SEQ ID NO: 5之序列的VH HVR2；及(f)包含SEQ ID NO: 6之序列的VH HVR3。在一些實施例中，ADC包含抗-Trop-2抗體，該抗-Trop-2抗體包含至少四個選自以下之HVR：(a)包含SEQ ID NO: 1之序列的VL HVR1；(b)包含SEQ ID NO: 2之序列的VL HVR2；(c)包含SEQ ID NO: 3之序列的VL HVR3；(d)包含SEQ ID NO: 4之序列的VH HVR1；(e)包含SEQ ID NO: 5之序列的VH HVR2；及(f)包含SEQ ID NO: 6之序列的VH HVR3。在一些實施例中，ADC包含抗-Trop-2抗體，該抗-Trop-2抗體包含至少五個選自以下之HVR：(a)包含SEQ ID NO: 1之序列的VL HVR1；(b)包含SEQ ID NO: 2之序列的VL HVR2；(c)包含SEQ ID NO: 3之序列的VL HVR3；(d)包含SEQ ID NO: 4之序列的VH HVR1；(e)包含SEQ ID NO: 5之序列的VH HVR2；及(f)包含SEQ ID NO: 6之序列的VH HVR3。在一些實施例中，ADC包含抗-Trop-2抗體，該抗-Trop-2抗體包含至少六個選自以下之

HVR : (a)包含SEQ ID NO: 1之序列的VL HVR1 ; (b)包含SEQ ID NO: 2之序列的VL HVR2 ; (c)包含SEQ ID NO: 3之序列的VL HVR3 ; (d)包含SEQ ID NO: 4之序列的VH HVR1 ; (e)包含SEQ ID NO: 5之序列的VH HVR2 ; 及(f)包含SEQ ID NO: 6之序列的VH HVR3 。

【0174】 在一些實施例中，ADC包含抗-Trop-2抗體，該抗-Trop-2抗體包含一個選自以下之HVR : (a)包含SEQ ID NO: 1之序列的VL HVR1 ; (b)包含SEQ ID NO: 2之序列的VL HVR2 ; (c)包含SEQ ID NO: 3之序列的VL HVR3 ; (d)包含SEQ ID NO: 4之序列的VH HVR1 ; (e)包含SEQ ID NO: 5之序列的VH HVR2 ; 及(f)包含SEQ ID NO: 6之序列的VH HVR3 。

在一些實施例中，ADC包含抗-Trop-2抗體，該抗-Trop-2抗體包含兩個選自以下之HVR : (a)包含SEQ ID NO: 1之序列的VL HVR1 ; (b)包含SEQ ID NO: 2之序列的VL HVR2 ; (c)包含SEQ ID NO: 3之序列的VL HVR3 ; (d)包含SEQ ID NO: 4之序列的VH HVR1 ; (e)包含SEQ ID NO: 5之序列的VH HVR2 ; 及(f)包含SEQ ID NO: 6之序列的VH HVR3 。

在一些實施例中，ADC包含抗-Trop-2抗體，該抗-Trop-2抗體包含三個選自以下之HVR : (a)包含SEQ ID NO: 1之序列的VL HVR1 ; (b)包含SEQ ID NO: 2之序列的VL HVR2 ; (c)包含SEQ ID NO: 3之序列的VL HVR3 ; (d)包含SEQ ID NO: 4之序列的VH HVR1 ; (e)包含SEQ ID NO: 5之序列的VH HVR2 ; 及(f)包含SEQ ID NO: 6之序列的VH HVR3 。

在一些實施例中，ADC包含抗-Trop-2抗體，該抗-Trop-2抗體包含四個選自以下之HVR : (a)包含SEQ ID NO: 1之序列的VL HVR1 ; (b)包含SEQ ID NO: 2之序列的VL HVR2 ; (c)包含SEQ ID NO: 3之序列的VL HVR3 ; (d)包含SEQ ID NO: 4之序列的VH HVR1 ; (e)包含SEQ ID NO: 5之序列的VH

HVR2；及(f)包含SEQ ID NO: 6之序列的VH HVR3。在一些實施例中，ADC包含抗-Trop-2抗體，該抗-Trop-2抗體包含五個選自以下之HVR：(a)包含SEQ ID NO: 1之序列的VL HVR1；(b)包含SEQ ID NO: 2之序列的VL HVR2；(c)包含SEQ ID NO: 3之序列的VL HVR3；(d)包含SEQ ID NO: 4之序列的VH HVR1；(e)包含SEQ ID NO: 5之序列的VH HVR2；及(f)包含SEQ ID NO: 6之序列的VH HVR3。在一些實施例中，ADC包含抗-Trop-2抗體，該抗-Trop-2抗體包含六個選自以下之HVR：(a)包含SEQ ID NO: 1之序列的VL HVR1；(b)包含SEQ ID NO: 2之序列的VL HVR2；(c)包含SEQ ID NO: 3之序列的VL HVR3；(d)包含SEQ ID NO: 4之序列的VH HVR1；(e)包含SEQ ID NO: 5之序列的VH HVR2；及(f)包含SEQ ID NO: 6之序列的VH HVR3。

【0175】 在一些實施例中，抗-Trop-2抗體包含：包含SEQ ID NO: 1之序列的VL HVR1、包含SEQ ID NO: 2之序列的VL HVR2、包含SEQ ID NO: 3之序列的VL HVR3、包含SEQ ID NO: 4之序列的VH HVR1、包含SEQ ID NO: 5之序列的VH HVR2及包含SEQ ID NO: 6之序列的VH HVR3。在一些實施例中，抗-Trop-2抗體包含有包含SEQ ID NO: 1之序列的VL HVR1。在一些實施例中，抗-Trop-2抗體包含有包含SEQ ID NO: 2之序列的VL HVR2。在一些實施例中，抗-Trop-2抗體包含有包含SEQ ID NO: 3之序列的VL HVR3。在一些實施例中，抗-Trop-2抗體包含有包含SEQ ID NO: 4之序列的VH HVR1。在一些實施例中，抗-Trop-2抗體包含有包含SEQ ID NO: 5之序列的VH HVR2。在一些實施例中，抗-Trop-2抗體包含有包含SEQ ID NO: 6之序列的VH HVR3。

【0176】 在一些實施例中，抗-Trop-2抗體包含具有與SEQ ID NO:

7具有至少95%、96%、97%、98%或99%一致性之序列的VL。在一些實施例中，抗-Trop-2抗體包含具有SEQ ID NO: 7之序列的VL。在某些實施例中，與SEQ ID NO: 7具有具有至少95%、96%、97%、98%或99%一致性之VL序列含有相對於參考序列之取代(例如保守性取代)、插入或缺失，但包含該序列之抗-Trop-2抗體保留結合Trop-2之能力。在某些實施例中，SEQ ID NO: 7中已取代、插入及/或缺失總計1至10個胺基酸。在某些實施例中，SEQ ID NO: 7中已取代、插入及/或缺失總計1至5個胺基酸。在某些實施例中，取代、插入或缺失發生在HVR外部之區中(亦即，在FR中)。在一些實施例中，抗-Trop-2抗體包含SEQ ID NO: 7之VL序列，且包括該序列之轉譯後修飾。

【0177】 在一些實施例中，抗-Trop-2抗體包含具有與SEQ ID NO: 8具有至少95%、96%、97%、98%或99%一致性之序列的VH。在一些實施例中，抗-Trop-2抗體包含具有SEQ ID NO: 8之序列的VH。在某些實施例中，與SEQ ID NO: 8具有至少95%、96%、97%、98%或99%一致性之VH序列含有相對於參考序列之取代(例如保守性取代)、插入或缺失，但包含該序列之抗-Trop-2抗體保留結合Trop-2之能力。在某些實施例中，SEQ ID NO: 8中已取代、插入及/或缺失總計1至10個胺基酸。在某些實施例中，SEQ ID NO: 8中已取代、插入及/或缺失總計1至5個胺基酸。在某些實施例中，取代、插入或缺失發生在HVR外部之區中(亦即，在FR中)。在一些實施例中，抗-Trop-2抗體包含SEQ ID NO: 8之VH序列，且包括該序列之轉譯後修飾。

【0178】 在一些實施例中，抗-Trop-2抗體包含 κ 輕鏈。在一些實施例中，抗-Trop-2抗體為IgG抗體。在一些實施例中，抗-Trop-2抗體為

IgG1抗體。

【0179】 在一些實施例中，抗-Trop-2抗體結合人類Trop-2。在一些實施例中，人類Trop-2具有SEQ ID NO: 9之胺基酸序列。

【0180】 在任一以上實施例中，抗-Trop-2抗體經人類化。在一個實施例中，抗-Trop-2抗體包含如任一以上實施例中之HVR且進一步包含人類受體架構，例如人類免疫球蛋白構架或人類共同構架。在某些實施例中，人類受體構架為人類VL κ I共同(VL_{KI})構架及/或VH構架VH_{III}。在一些實施例中，人類化抗-Trop-2抗體包含：(a)包含SEQ ID NO: 1之序列的VL HVR1；(b)包含SEQ ID NO: 2之序列的VL HVR2；(c)包含SEQ ID NO: 3之序列的VL HVR3；(d)包含SEQ ID NO: 4之序列的VH HVR1；(e)包含SEQ ID NO: 5之序列的VH HVR2；及(f)包含SEQ ID NO: 6之序列的VH HVR3。

【0181】 在一些實施例中，抗-Trop-2抗體為單株抗體，包括嵌合、人類化或人類抗體。在一個實施例中，抗-Trop-2抗體為抗體片段，例如Fv、Fab、Fab'、scFv、雙功能抗體或F(ab')₂片段。在另一實施例中，抗體為實質上全長抗體，例如如本文中所定義之IgG1抗體或其他抗體類別或同型。

ii. 抗體親和力

【0182】 在一些實施例中，本文所提供之抗-Trop-2抗體以 ≤ 10 nM、或 ≤ 5 nM、或 ≤ 4 nM、或 ≤ 3 nM、或 ≤ 2 nM之親和力結合人類Trop-2。在一些實施例中，抗-Trop-2抗體以 ≥ 0.0001 nM、或 ≥ 0.001 nM、或 ≥ 0.01 nM之親和力結合人類Trop-2。熟習此項技術者已知之標準分析可用於測定結合親和力。舉例而言，可使用利用非線性曲線擬合程序(參見例

如Munson等人, *Anal Biochem*, 107: 220-239, 1980)之標準Scatchard分析測定抗-Trop-2抗體是否以 ≤ 10 nM、或 ≤ 5 nM、或 ≤ 4 nM、或 ≤ 3 nM、或 ≤ 2 nM之「親和力結合」。

【0183】 在一些實施例中，本文所提供之抗-Trop-2抗體之解離常數(Kd)為 ≤ 1 μ M、 ≤ 100 nM、 ≤ 10 nM、 ≤ 1 nM、 ≤ 0.1 nM、 ≤ 0.01 nM或 ≤ 0.001 nM，且視情況 $\geq 10^{-13}$ M (例如 10^{-8} M或更小，例如 10^{-8} M至 10^{-13} M，例如 10^{-9} M至 10^{-13} M)。

【0184】 在一些實施例中，Kd係藉由用相關抗體之Fab型式及其抗原進行之放射性標記之抗原結合分析法(RIA)量測，如由以下分析法所描述。Fab對抗原之溶液結合親和力藉由以下來量測：在未標記抗原之一系列滴定物存在下用最低濃度之(125 I)標記抗原平衡Fab，隨後用經抗Fab抗體塗佈之培養盤捕捉結合抗原(參見例如，Chen等人, *J. Mol. Biol.* 293:865-881(1999))。為確定分析條件，將MICROTITER®多孔盤(Thermo Scientific)用含5 μ g/ml捕捉抗Fab抗體(Cappel Labs)之50 mM碳酸鈉(pH 9.6)塗佈隔夜，且隨後在室溫(約23°C)下用含2% (w/v)牛血清白蛋白之PBS阻斷二至五小時。在無吸附劑盤(Nunc #269620)中，將100 pM或26 pM [125 I]抗原與相關Fab之連續稀釋液混合(例如與Presta等人, *Cancer Res.* 57:4593-4599 (1997)中之抗VEGF抗體Fab-12之評估一致)。隨後將相關Fab培育隔夜；然而，培育可持續較長時段(例如長達約65小時)以確保達至平衡。此後，在室溫下將混合物轉移至捕捉培養盤中以用於培育(例如持續一小時)。隨後移除溶液且用含0.1%聚山梨醇酯20(TWEEN-20®)之PBS洗滌盤八次。當盤已經乾燥時，添加150微升/孔之閃爍體(MICROSCINT-20 TM; Packard)，且在TOPCOUNT TM γ 計數器

(Packard)上對盤計數十分鐘。選擇提供小於或等於20%最大結合之各Fab的濃度以用於競爭性結合分析。

【0185】 根據另一實施例， K_d 係使用表面電漿子共振分析，使用BIACORE®-2000或BIACORE®-3000 (BIAcore, Inc., Piscataway, NJ)在25°C下利用約10個反應單位(RU)之固定抗原CM5晶片來量測。簡言之，根據供應商說明書，用N-乙基-N'-(3-二甲胺基丙基)-碳化二亞胺鹽酸鹽(EDC)及N-羥基丁二醯亞胺(NHS)活化羧甲基化葡聚糖生物感應器晶片(CM5, BIAcore, Inc.)。用10 mM乙酸鈉(pH 4.8)將抗原稀釋至5 $\mu\text{g/ml}$ (約0.2 μM)，隨後以5微升/分鐘之流動速率注射以獲得大約10個反應單位(RU)之偶合蛋白質。在注入抗原後，注入1 M乙醇胺以阻斷未反應之基團。關於動力學量測，在25°C下以大約25 $\mu\text{l/min}$ 之流動速率注射Fab於含0.05%聚山梨醇酯20 (TWEEN-20™)界面活性劑之PBS (PBST)中之兩倍連續稀釋液(0.78 nM至500 nM)。使用簡單的一對一朗格繆爾結合模型(one-to-one Langmuir binding model) (BIAcore®評估軟體3.2版)藉由同時擬合締合及解離感測圖譜來計算締合速率(k_{on})及解離速率(k_{off})。平衡解離常數(K_d)係按比率 k_{off}/k_{on} 來計算。參見例如Chen等人, J. Mol. Biol. 293:865-881 (1999)。若根據上文表面電漿子共振分析，締合速率(k_{on})超過 $10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ，則可藉由使用螢光淬滅技術測定締合速率，該螢光淬滅技術在存在如(諸如)具有攪拌式光析槽之停流裝備型分光光度計(Aviv Instruments)或8000-系列 SLM-AMINCO™分光光度計(ThermoSpectronic))之光譜儀中所量測之漸增濃度之抗原的情況下，在25°C下量測含20 nM抗抗原抗體(Fab形式)之PBS (pH 7.2)之螢光發射強度(激發= 295 nm；發射= 340 nm，16 nm帶通)的增加或降低。

iii. 抗體片段

【0186】 在某些實施例中，本文所提供之抗-Trop-2抗體為抗體片段。抗體片段包括(但不限於) Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')₂、Fv及scFv片段以及下文描述之其他片段。關於某些抗體片段之綜述，參見Hudson等人, *Nat. Med.* 9:129-134 (2003)。關於scFv片段之綜述，參見例如 Pluckthün, *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*, 第113卷, Rosenberg及Moore編, (Springer-Verlag, New York), 第269-315頁 (1994)；亦參見WO 93/16185；及美國專利案第5,571,894號及第5,587,458號。關於包含救助受體結合抗原決定基殘基且具有延長之活體內半衰期之Fab及F(ab')₂片段的論述，參見美國專利第5,869,046號。

【0187】 雙功能抗體為其中兩個抗原結合位點可為二價或雙特異性之抗體片段。參見例如EP 404,097；WO 1993/01161；Hudson等人, *Nat. Med.* 9:129-134 (2003)；及Hollinger等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90: 6444-6448 (1993)。三功能抗體及四功能抗體亦描述於Hudson等人, *Nat. Med.* 9:129-134 (2003)中。

【0188】 單域抗體為包含抗體之重鏈可變域之全部或一部分或輕鏈可變域之全部或一部分的抗體片段。在某些實施例中，單域抗體為人類單域抗體(Domantis, Inc., Waltham, MA；參見(例如)美國專利第6,248,516 B1號)。

【0189】 抗體片段可藉由各種技術製得，包括(但不限於)蛋白分解消化完整抗體以及藉由重組宿主細胞(例如大腸桿菌(*E. coli*)或噬菌體)產生，如本文所描述。

iv. 嵌合及人類化抗體

【0190】 在某些實施例中，本文所提供之抗-Trop-2抗體為嵌合抗體。某些嵌合抗體例如描述於美國專利第4,816,567號；及Morrison等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 81:6851-6855 (1984)中。在一個實例中，嵌合抗體包含非人類可變區(例如，來源於小鼠、大鼠、倉鼠、兔或非人類靈長類動物(諸如猴)之可變區)及人類恆定區。在另一實例中，嵌合抗體為「類別轉換」抗體，其中類別或子類已自親本抗體之類別或子類變化。嵌合抗體包括其抗原結合片段。

【0191】 在某些實施例中，嵌合抗體為人類化抗體。典型地，對非人類抗體進行人類化以降低對人類之免疫原性，同時保留親本非人類抗體之特異性及親和力。一般而言，人類化抗體包含一或多個可變域，其中HVR (例如CDR) (或其部分)來源於非人類抗體，且FR (或其部分)來源於人類抗體序列。人類化抗體視情況亦將包含人類恆定區之至少一部分。在一些實施例中，人類化抗體中之一些FR殘基經來自非人類抗體(例如HVR殘基所來源之抗體)之對應殘基取代以例如恢復或提高抗體特異性或親和力。

【0192】 人類化抗體及製造其之方法綜述於例如Almagro及Fransson, *Front. Biosci.* 13:1619-1633 (2008)中，且進一步描述於例如Riechmann等人, *Nature* 332:323-329 (1988)；Queen等人, *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 86:10029-10033 (1989)；美國專利案第5,821,337號、第7,527,791號、第6,982,321號及第7,087,409號；Kashmiri等人, *Methods* 36:25-34 (2005) (描述SDR (a-CDR)移植)；Padlan, *Mol. Immunol.* 28:489-498 (1991) (描述「表面再塑」)；Dall'Acqua等人, *Methods* 36:43-60 (2005) (描述「FR改組」)；及Osbourn等人, *Methods* 36:61-68

(2005)及Klimka等人, *Br. J. Cancer*, 83:252-260 (2000) (描述FR改組之「引導選擇」方法)中。

【0193】 可用於人類化之人類構架區包括(但不限於): 使用「最佳擬合(best-fit)」方法選擇之構架區(參見例如Sims等人, *J. Immunol.* 151:2296 (1993)); 來源於具有輕鏈或重鏈可變區之特定子組之人類抗體的共同序列之構架區(參見例如Carter等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89:4285 (1992); 及Presta等人, *J. Immunol.*, 151:2623 (1993)); 人類成熟(體細胞突變)構架區或人類生殖系構架區(參見例如Almagro及Fransson, *Front. Biosci.* 13:1619-1633 (2008)); 及來源於篩選FR庫之構架區(參見例如Baca等人, *J. Biol. Chem.* 272:10678-10684 (1997)及Rosok等人, *J. Biol. Chem.* 271:22611-22618 (1996))。

v. 人類抗體

【0194】 在某些實施例中, 本文所提供之抗-Trop-2抗體為人類抗體。可使用此項技術中已知之各種技術產生人類抗體。人類抗體通常描述於van Dijk及van de Winkel, *Curr. Opin. Pharmacol.* 5: 368-74 (2001)及Lonberg, *Curr. Opin. Immunol.* 20:450-459 (2008)中。

【0195】 人類抗體可藉由將免疫原投與已經改造可回應於抗原攻毒而產生完整人類抗體或具有人類可變區之完整抗體的轉殖基因動物來製備。此類動物通常含有人類免疫球蛋白基因座之全部或一部分, 其置換內源性免疫球蛋白基因座, 或存在於染色體外或隨機整合至動物染色體中。在此類轉殖基因小鼠中, 內源性免疫球蛋白基因座一般已失活。對於自轉殖基因動物獲得人類抗體之方法的綜述, 參見Lonberg, *Nat. Biotech.* 23:1117-1125 (2005)。另外, 參見例如美國專利第6,075,181號及第

6,150,584號，描述XENOMOUSE™技術；美國專利第5,770,429號，描述HUMAB®技術；美國專利第7,041,870號，描述K-M MOUSE®技術；及美國專利申請公開案第US 2007/0061900號，描述VELOCIMOUSE®技術。由此類動物產生之完整抗體的人類可變區可進一步加以修飾，例如藉由與不同人類恆定區組合。

【0196】 人類抗體亦可藉由基於融合瘤之方法製備。用於產生人類單株抗體之人類骨髓瘤及小鼠-人類融合骨髓瘤細胞株已有描述。(參見例如Kozbor *J. Immunol.*, 133: 3001 (1984)；Brodeur等人, *Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications*, 第51-63頁(Marcel Dekker, Inc., New York, 1987)；及Boerner等人, *J. Immunol.*, 147: 86 (1991))。經由人類B細胞融合瘤技術產生之人類抗體亦描述於Li等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 103:3557-3562 (2006)中。其他方法包括例如美國專利第7,189,826號(描述自融合瘤細胞株產生單株人類IgM抗體)及Ni, *Xiandai Mianyixue* 26(4):265-268 (2006) (描述人類-人類融合瘤)中所描述之彼等方法。人類融合瘤技術(三源融合瘤技術(Trioma technology))亦描述於Vollmers及Brandlein, *Histology and Histopathology*, 20(3):927-937 (2005)以及Vollmers及Brandlein, *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology*, 27(3):185-91 (2005)中。

【0197】 人類抗體亦可藉由分離選自人源噬菌體呈現文庫之Fv純系可變域序列產生。此類可變結構域序列隨後可與所需人類恆定域組合。下文描述用於自抗體庫選擇人類抗體之技術。

vi. 庫源抗體

【0198】 在某些實施例中，本文所提供之抗-Trop-2抗體來源於抗體

庫。抗體可藉由篩選組合庫中具有一或多種所需活性之抗體來分離。舉例而言，用於生成噬菌體呈現庫及篩選此類庫中具有所需結合特徵之抗體之各種方法在此項技術中為已知的。此類方法綜述於Hoogenboom等人之 *Methods in Molecular Biology* 178:1-37 (O'Brien等人編, Human Press, Totowa, NJ, 2001)中且進一步描述於例如McCafferty等人, *Nature* 348:552-554 ; Clackson等人, *Nature* 352: 624-628 (1991) ; Marks等人, *J. Mol. Biol.* 222: 581-597 (1992) ; Marks及Bradbury之 *Methods in Molecular Biology* 248:161-175 (Lo編, Human Press, Totowa, NJ, 2003) ; Sidhu等人, *J. Mol. Biol.* 338(2): 299-310 (2004) ; Lee等人, *J. Mol. Biol.* 340(5): 1073-1093 (2004) ; Fellouse, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101(34): 12467-12472 (2004)及Lee等人, *J. Immunol. Methods* 284(1-2): 119-132(2004)中。

【0199】 在某些噬菌體呈現方法中，VH及VL基因之譜系分別藉由聚合酶鏈反應(PCR)選殖且在噬菌體庫中隨機重組，其隨後可如Winter等人, *Ann. Rev. Immunol.* 12:433-455 (1994)中所述，篩選抗原結合噬菌體。噬菌體通常以單鏈Fv (scFv)片段或Fab片段形式呈現抗體片段。來自免疫來源之庫提供針對免疫原之高親和力抗體而無需構築融合瘤。替代地，可選殖(例如自人類)原生譜系以提供針對廣泛範圍之非自體抗原以及自體抗原之單一抗體來源而無需任何免疫接種，如Griffiths等人, *EMBO J.* 12: 725-734 (1993)中所描述。最後，天然庫亦可以合成方式藉由以下來製備：自幹細胞選殖未重排V基因區段，且使用含有隨機序列以編碼高度可變CDR3區及實現活體外重排之PCR引子，如Hoogenboom及Winter, *J. Mol. Biol.*, 227: 381-388 (1992)中所描述。描述人類抗體噬菌體庫之專

利公開案包括例如：美國專利第5,750,373號及美國專利公開案第2005/0079574號、第2005/0119455號、第2005/0266000號、第2007/0117126號、第2007/0160598號、第2007/0237764號、第2007/0292936號及第2009/0002360號。

【0200】 自人類抗體庫分離之抗體或抗體片段在本文中視為人類抗體或人類抗體片段。

vii. 多特異性抗體

【0201】 在某些實施例中，本文所提供之抗-Trop-2抗體為多特異性抗體，例如雙特異性抗體。雙特異性抗體為對至少兩個不同位點具有結合特異性之單株抗體。在某些實施例中，結合特異性之一係針對Trop-2且另一者係針對任何其他抗原。在某些實施例中，雙特異性抗體可結合至Trop-2之兩個不同抗原決定基。雙特異性抗體亦可用於使細胞毒性劑定位至表現Trop-2之細胞。雙特異性抗體可製備為全長抗體或抗體片段。

【0202】 用於製造多特異性抗體之技術包括(但不限於)重組共表現具有不同特異性之兩個免疫球蛋白重鏈-輕鏈對(參見Milstein及Cuello, *Nature* 305: 537 (1983))，WO 93/08829，及Traunecker等人, *EMBO J.* 10: 3655 (1991))，及「杵-臼結構(knob-in-hole)」工程改造(參見例如美國專利案第5,731,168號)。多特異性抗體亦可藉由以下來製備：用於製備抗體Fc-雜二聚分子之工程化靜電導向效應(WO 2009/089004A1)；使兩種或更多種抗體或片段交聯(參見例如美國專利第4,676,980號及Brennan等人, *Science*, 229: 81 (1985))；使用白胺酸拉鏈產生雙特異性抗體(參見例如Kostelny等人, *J. Immunol.*, 148(5):1547-1553 (1992))；使用用於製備雙特異性抗體片段之「雙功能抗體」技術(參見例如Hollinger等人, *Proc.*

Natl. Acad. Sci. USA, 90:6444-6448 (1993))；及使用單鏈Fv (sFv)二聚體 (參見例如Gruber等人, *J. Immunol.*, 152:5368 (1994))；及如例如Tutt等人, *J. Immunol.* 147: 60 (1991)中所述製備三特異性抗體。

【0203】 本文亦包括具有三個或更多個功能抗原結合位點之經工程改造之抗體，包括「章魚抗體」(參見例如US 2006/0025576A1)。

【0204】 本文中抗體或片段亦包括包含結合至Trop-2以及另一不同抗原之抗原結合位點的「雙作用FAB」或「DAF」(參見例如美國2008/0069820)。

viii. 抗體變異體

【0205】 在某些實施例中，涵蓋本文所提供之抗體之胺基酸序列變異體。舉例而言，可能需要改進抗體之結合親和力及/或其他生物特性。抗體之胺基酸序列變異體可藉由將適當修飾引入編碼該抗體之核苷酸序列中或藉由肽合成來製備。此類修飾包括例如在抗體之胺基酸序列內的殘基之缺失及/或插入及/或取代。可進行缺失、插入及取代之任何組合以獲得最終構築體，其限制條件為最終構築體具有所需特徵，例如抗原結合。

a) 取代、插入及缺失變異體

【0206】 在某些實施例中，本文所提供之抗-Trop-2抗體具有一或多個胺基酸取代。用於取代型突變誘發之相關位點包括HVR及FR。保守性取代展示於表1中「較佳取代」之標題下。更實質性變化提供於表1中「例示性取代」之標題下，且如下文關於胺基酸側鏈類別進一步描述。胺基酸取代可引入相關抗體中，且針對如下所需活性篩選產物：例如保留/改進之抗原結合、降低之免疫原性或改進之ADCC或CDC。

表1.例示性胺基酸取代。

原始殘基	例示性取代	較佳取代
Ala (A)	Val; Leu; Ile	Val
Arg (R)	Lys; Gln; Asn	Lys
Asn (N)	Gln; His; Asp, Lys; Arg	Gln
Asp (D)	Glu; Asn	Glu
Cys (C)	Ser; Ala	Ser
Gln (Q)	Asn; Glu	Asn
Glu (E)	Asp; Gln	Asp
Gly (G)	Ala	Ala
His (H)	Asn; Gln; Lys; Arg	Arg
Ile (I)	Leu; Val; Met; Ala; Phe; 正白胺酸	Leu
Leu (L)	正白胺酸; Ile; Val; Met; Ala; Phe	Ile
Lys (K)	Arg; Gln; Asn	Arg
Met (M)	Leu; Phe; Ile	Leu
Phe (F)	Trp; Leu; Val; Ile; Ala; Tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Val; Ser	Ser
Trp (W)	Tyr; Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp; Phe; Thr; Ser	Phe
Val (V)	Ile; Leu; Met; Phe; Ala; 正白胺酸	Leu

胺基酸可根據共有側鏈特性來進行分組：

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

非保守取代將引起此等類別中之一者之成員換成另一個類別。

【0207】 一種類型之取代型變異體涉及取代親本抗體(例如人類化或人類抗體)之一或多個高變區殘基。一般而言，選用於進一步研究之所得

變異體相對於親本抗體將在某些生物特性方面具有修飾(例如改良)(例如親和力提高、免疫原性降低)及/或將實質上保留親本抗體之某些生物特性。例示性取代型變異體為親和力成熟抗體，其可例如使用基於噬菌體呈現之親和力成熟技術(諸如本文所描述之技術)便利地產生。簡言之，使一或多個HVR殘基突變，且在噬菌體上呈現變異抗體且針對特定生物活性(例如結合親和力)進行篩選。

【0208】 改變(例如取代)可發生於HVR中以例如改良抗體親和力。此類改變可於HVR「熱點」(亦即在體細胞成熟過程中經歷高頻率突變之由密碼子編碼之殘基)(參見例如Chowdhury, *Methods Mol. Biol.* 207:179-196 (2008))及/或SDR (a-CDR)中進行，其中測試所得變異體VH或VL之結合親和力。藉由構築二級庫及自二級庫再選擇來達成親和力成熟已描述於Hoogenboom等人之*Methods in Molecular Biology* 178:1-37 (O'Brien等人編, Human Press, Totowa, NJ, (2001))。在親和力成熟之一些實施例中，藉由多種方法(例如易錯PCR、鏈改組或寡核苷酸引導之突變誘發)中之任一者將多樣性引入至選用於成熟之可變基因中。隨後產生二級庫。隨後篩選該庫以鑑別具有所需親和力之任何抗體變異體。另一種引入多樣性之方法涉及HVR引導方法，其中將若干HVR殘基(例如，一次4至6個殘基)隨機分組。可例如使用丙胺酸掃描突變誘發或模型化來特異性地鑑別抗原結合所涉及之HVR殘基。常常尤其以CDR-H3及CDR-L3為目標。

【0209】 在某些實施例中，取代、插入或缺失可發生在一或多個HVR內，只要此等變化不實質上降低抗體結合抗原之能力即可。舉例而言，可在HVR中進行不實質上降低結合親和力之保守改變(例如如本文所提供之保守取代)。此類變化可在HVR「熱點」或SDR外。在上文所提供

之變異VH及VL序列之某些實施例中，各HVR未改變或含有不超過一個、兩個或三個胺基酸取代。

【0210】 如Cunningham及Wells (1989) *Science*, 244:1081-1085所描述，適用於鑑別可針對突變誘發進行靶向之抗體殘基或區之方法稱為「丙胺酸掃描突變誘發」。在此方法中，殘基或目標殘基之群(例如，帶電殘基，諸如arg、asp、his、lys及glu)經鑑別出，且經中性或帶負電胺基酸(例如丙胺酸或聚丙胺酸)置換以判定抗體與抗原之相互作用是否受影響。可在對初始取代展現功能敏感性之胺基酸位置處引入其他取代。替代地或另外，抗原-抗體複合物之晶體結構用於鑑別抗體與抗原之間的接觸點。此類接觸殘基及鄰近殘基可作為取代候選物之標靶或排除在取代候選物之外。可篩選變異體以確定其是否含有所需特性。

【0211】 胺基酸序列插入包括長度在一個殘基至含有一百個或更多個殘基之多肽範圍內的胺基末端及/或羧基末端融合，以及單個或多個胺基酸殘基之序列內插入。末端插入之實例包括具有N端甲硫胺醯基殘基之抗體。抗體分子之其他插入變異體包括抗體之N末端或C末端與酶(例如對於ADEPT而言)或延長抗體之血清半衰期之多肽的融合物。

b) 醣基化變異體

【0212】 在某些實施例中，對本文所提供之抗-Trop-2抗體進行改變以增加或降低抗體醣基化之程度。向抗體中添加醣基化位點或使抗體缺失醣基化位點可藉由改變胺基酸序列以便產生或移除一或多個醣基化位點來便利地實現。

【0213】 在抗體包含Fc區之情況下，可改變連接於其上之碳水化合物。由哺乳動物細胞產生之天然抗體通常包含分支鏈雙觸角寡醣，其通常

藉由N鍵連接至Fc區之CH2域的Asn297。參見例如Wright等人. *TIBTECH* 15:26-32 (1997)。寡醣可包括各種碳水化合物，例如甘露糖、N-乙醯基葡萄糖胺(GlcNAc)、半乳糖及唾液酸，以及連接至雙觸角寡醣結構之「主幹」中之GlcNAc的岩藻醣。在一些實施例中，抗體中之寡醣可經修飾以便產生具有某些改進之特性的抗體變異體。

【0214】 在一個實施例中，提供無岩藻醣連接(直接或間接)至Fc區之碳水化合物結構的抗體變異體。舉例而言，此類抗體中之岩藻醣量可為1%至80%、1%至65%、5%至65%，或20%至40%。岩藻醣之量係藉由計算糖鏈內Asn297處之岩藻醣之平均量來確定，此平均量係相對於如藉由MALDI-TOF質譜法所量測之連接至Asn 297之所有醣結構(例如複合、雜合及高甘露糖結構)的總和而言，如例如WO 2008/077546中所述。Asn297係指位於Fc區中約位置297 (Fc區殘基之EU編號)處的天冬醯胺殘基；然而，歸因於抗體之較小序列變化，Asn297亦可位於位置297上游或下游約±3個胺基酸處，亦即位置294與300之間。此類岩藻醣基化變異體可具有改良之ADCC功能。參見例如美國專利公開案第US 2003/0157108號(Presta, L.)；第US 2004/0093621號(Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd)。關於「去岩藻醣基化」或「缺乏岩藻醣」之抗體變異體的公開案之實例包括：US 2003/0157108；WO 2000/61739；WO 2001/29246；US 2003/0115614；US 2002/0164328；US 2004/0093621；US 2004/0132140；US 2004/0110704；US 2004/0110282；US 2004/0109865；WO 2003/085119；WO 2003/084570；WO 2005/035586；WO 2005/035778；WO2005/053742；WO2002/031140；Okazaki等人, *J. Mol. Biol.* 336:1239-1249 (2004)；Yamane-Ohnuki等

人, *Biotech. Bioeng.* 87: 614 (2004)。能夠產生去岩藻醣基化抗體之細胞株之實例包括缺乏蛋白質岩藻醣基化之Lec13 CHO細胞(Ripka等人, *Arch. Biochem. Biophys.* 249:533-545 (1986); 美國專利申請案第US 2003/0157108 A1號, Presta, L; 及WO 2004/056312 A1, Adams等人, 尤其實例11), 及基因剔除細胞株, 諸如 α -1,6-岩藻醣基轉移酶基因FUT8基因剔除CHO細胞(參見例如Yamane-Ohnuki等人, *Biotech. Bioeng.* 87: 614 (2004); Kanda, Y.等人, *Biotechnol. Bioeng.*, 94(4):680-688 (2006); 及WO2003/085107)。

【0215】 抗體變異體進一步具備平分寡醣, 例如其中連接於抗體之Fc區的雙觸角寡醣藉由GlcNAc平分。此類抗體變異體可具有減少之岩藻醣基化及/或經改良之ADCC功能。此類抗體變異體之實例描述於例如WO 2003/011878 (Jean-Mairet等人); 美國專利第6,602,684號(Umana等人); 以及US 2005/0123546 (Umana等人)中。亦提供寡醣中之至少一個半乳糖殘基與Fc區附接之抗體變異體。此類抗體變異體可具有經改良之CDC功能。此類抗體變異體描述於例如WO 1997/30087 (Patel等人); WO 1998/58964 (Raju, S.); 及WO 1999/22764 (Raju, S.)中。

c) Fc區變異體

【0216】 在某些實施例中, 可將一或多個胺基酸修改引入至本文所提供之抗-Trop-2抗體的Fc區中, 從而產生Fc區變異體。Fc區變異體可包含人類Fc區序列(例如人類IgG1、IgG2、IgG3或IgG4 Fc區), 其在一或多個胺基酸位置處包含胺基酸修飾(例如取代)。

【0217】 在某些實施例中, 本發明涵蓋具有一些而非所有效應功能之抗體變異體, 此使得該抗體成為合乎應用需要之候選物, 在該等應用

中，活體內抗體半衰期至關重要，而某些效應功能(諸如補體及ADCC)為不必要或有害的。可進行活體外及/或活體內細胞毒性分析以確認CDC及/或ADCC活性之降低/消耗。舉例而言，可進行Fc受體(FcR)結合分析以確保抗體不具有Fc γ R結合能力(因此可能不具有ADCC活性)，但保留FcRn結合能力。用於調節ADCC之初級細胞NK細胞僅表現Fc γ RIII，而單核球表現Fc γ RI、Fc γ RII及Fc γ RIII。造血細胞上之FcR表現概述於Ravetch及Kinet, *Annu. Rev. Immunol.* 9:457-492 (1991)之第464頁之表3中。評估相關分子之ADCC活性之活體外分析的非限制性實例描述於美國專利第5,500,362號(參見例如Hellstrom, I.等人, *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 83:7059-7063 (1986)及Hellstrom, I.等人, *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 82:1499-1502 (1985))；第5,821,337號(參見Bruggemann, M.等人, *J. Exp. Med.* 166:1351-1361 (1987))中。替代地，可採用非放射性分析方法(參見例如用於流式細胞量測術之ACTI™非放射性細胞毒性分析(CellTechnology, Inc. Mountain View, CA)；及CytoTox 96®非放射性細胞毒性分析(Promega, Madison, WI))。適用於此類分析之效應細胞包括周邊血液單核細胞(PBMC)及自然殺手(NK)細胞。可替代地或另外，可例如在動物模型中，諸如Clynes等人, *Proc Nat'l Acad Sci USA* 95:652-656 (1998)中所揭示之動物模型中活體內評定相關分子之ADCC活性。亦可進行C1q結合分析以證實抗體不能結合C1q且因此缺乏CDC活性。參見例如WO 2006/029879及WO 2005/100402中之C1q及C3c結合ELISA。為了評估補體活化，可進行CDC分析(參見例如Gazzano-Santoro等人, *J. Immunol. Methods* 202:163 (1996)；Cragg, M.S.等人, *Blood* 101:1045-1052 (2003)；及Cragg, M.S.及M.J. Glennie, *Blood* 103:2738-2743

(2004))。亦可使用此項技術中已知之方法(參見例如Petkova, S.B.等人, *Int. Immunol.* 18(12):1759-1769 (2006))進行FcRn結合及活體內清除率/半衰期測定。

【0218】 效應功能減小之抗體包括具有Fc區殘基238、265、269、270、297、327及329中之一或多者之取代的抗體(美國專利第6,737,056號)。此類Fc突變體包括具有胺基酸位置265、269、270、297及327中之兩者或更多者之取代的Fc突變體，包括殘基265及297取代為丙胺酸的所謂「DANA」Fc突變體(美國專利第7,332,581號)。

【0219】 描述具有提高或降低之與FcR之結合的某些抗體變異體。(參加例如美國專利第6,737,056號；WO 2004/056312及Shields等人, *J. Biol. Chem.* 9(2): 6591-6604 (2001))。

【0220】 延長半衰期且提高與負責將母體IgG轉移至胎兒之新生兒Fc受體(FcRn) (Guyer等人, *J. Immunol.* 117:587 (1976)及Kim等人, *J. Immunol.* 24:249 (1994))之結合的抗體描述於US 2005/0014934A1 (Hinton等人)中。彼等抗體包含具有一或多個取代之Fc區，在其中Fc區與FcRn之結合得以改良。此類Fc變異體包括在以下Fc區殘基中之一或多者處具有取代之彼等變異體：238、256、265、272、286、303、305、307、311、312、317、340、356、360、362、376、378、380、382、413、424或434，例如Fc區殘基434之取代(美國專利第7,371,826號)。

【0221】 關於Fc區變異體之其他實例，亦參見Duncan & Winter, *Nature* 322:738-40 (1988)；美國專利第5,648,260號；美國專利第5,624,821號；及WO 94/29351。

ix. 抗體衍生物

【0222】 在某些實施例中，本文中所提供之抗-Trop-2抗體可進一步經修飾以含有此項技術中已知且可易於獲得之額外非蛋白質部分。適用於抗體之衍生作用之部分包括(但不限於)水溶性聚合物。水溶性聚合物之非限制性實例包括(但不限於)聚乙二醇(PEG)、乙二醇/丙二醇共聚物、羧甲基纖維素、聚葡萄糖、聚乙烯醇、聚乙烯吡咯啉酮、聚-1,3-二氧雜環戊烷、聚-1,3,6-三吡啶、乙烯/順丁烯二酸酐共聚物、聚胺基酸(均聚物或無規共聚物)及聚葡萄糖或聚(正乙烯吡咯啉酮)聚乙二醇、丙二醇均聚物、聚氧化丙烯/氧化乙烯共聚物、聚氧乙烯多元醇(例如甘油)、聚乙烯醇及其混合物。聚乙二醇丙醛因其於水中之穩定性而可在製造中具有優勢。聚合物可具有任何分子量，且可為分支鏈或非分支鏈的。附接於抗體上之聚合物的數目可變化，且若附接超過一個聚合物，則其可為相同或不同分子。一般而言，用於衍生作用之聚合物之數目及/或類型可基於包括(但不限於)待改良抗體之特殊特性或功能，抗體衍生物是否將用於指定病症下之療法等考慮因素來確定。

x. 重組方法及組合物

【0223】 可使用例如如美國專利第4,816,567號中所述之重組方法及組合物產生抗體。熟習此項技術者將熟悉適用於抗體表現之宿主細胞。例示性宿主細胞包括真核細胞，例如中國倉鼠卵巢(CHO)細胞或淋巴細胞(例如Y0、NS0、Sp20細胞)。

【0224】 對於重組產生抗-Trop-2抗體，編碼例如如上文所描述之抗體之核酸經分離且插入至一或多種載體中以用於在宿主細胞中進一步選殖及/或表現。此類核酸可容易使用習知程序(例如藉由使用能夠專一性結合至編碼抗體重鏈及輕鏈之基因的寡核苷酸探針)分離及測序。

【0225】適合於選殖或表現編碼抗體之載體的宿主細胞包括本文所描述之原核或真核細胞。舉例而言，抗體可於細菌中產生，在不需糖基化及Fc效應功能時尤其如此。對於細菌中抗體片段及多肽之表現，參見例如美國專利案第5,648,237號、第5,789,199號及第5,840,523號(亦參見Charlton, *Methods in Molecular Biology*, 第248卷(B.K.C. Lo編, Humana Press, Totowa, NJ, 2003), 第245-254頁，其描述大腸桿菌中抗體片段之表現)。在表現之後，抗體可以可溶性溶離份自細菌細胞糊狀物分離在且可進一步進行純化。

【0226】除原核生物外，諸如絲狀真菌或酵母之真核微生物為抗體編碼載體之適合選殖或表現宿主，包括糖基化路徑已經「人類化」，從而使得產生具有部分或完全人類糖基化型態之抗體的真菌及酵母菌株。參見Gerngross, *Nat. Biotech.* 22:1409-1414 (2004)及Li等人, *Nat. Biotech.* 24:210-215 (2006)。

【0227】適用於表現糖基化抗體之宿主細胞亦來源於多細胞生物體(無脊椎動物及脊椎動物)。無脊椎動物細胞之實例包括植物及昆蟲細胞。已鑑別出多種桿狀病毒株，其可與昆蟲細胞結合使用，尤其用於轉染草地黏蟲(*Spodoptera frugiperda*)細胞。

【0228】植物細胞培養物亦可用作宿主。參見例如美國專利案第5,959,177號、第6,040,498號、第6,420,548號、第7,125,978號及第6,417,429號(描述用於在轉殖基因植物中產生抗體的PLANTIBODIES™技術)。

【0229】脊椎動物細胞亦可用作宿主。舉例而言，適於在懸浮液中生長之哺乳動物細胞株可為適用的。適用哺乳動物宿主細胞株之其他實例

為由SV40轉型之猴腎臟CV1細胞株(COS-7)；人類胚腎細胞株(如例如Graham等人, *J. Gen Virol.* 36:59 (1977)中所描述之293或293)；幼倉鼠腎細胞(BHK)；小鼠塞特利氏細胞(mouse sertoli cell) (如例如Mather, *Biol. Reprod.* 23:243-251 (1980)中所描述之TM4細胞)；猴腎細胞腎細胞(CV1)；非洲綠猴腎細胞(VERO-76)；人類子宮頸癌細胞(HELA)；犬腎細胞(MDCK)；水牛鼠肝細胞(BRL 3A)；人類肺細胞(W138)；人類肝細胞(Hep G2)；小鼠乳房腫瘤(MMT 060562)；如例如Mather等人, *Annals N.Y. Acad. Sci.* 383:44-68 (1982)中所描述之TRI細胞；MRC 5細胞；及FS4細胞。其他適用之哺乳動物宿主細胞株包括中國倉鼠卵巢(CHO)細胞，包括DHFR⁻ CHO細胞(Urlaub等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:4216 (1980))；及骨髓瘤細胞株，諸如Y0、NS0及Sp2/0。關於適用於產生抗體之某些哺乳動物宿主細胞株之綜述，參見例如Yazaki及Wu, *Methods in Molecular Biology*, 第248卷(B.K.C. Lo, 編, Humana Press, Totowa, NJ), 第255-268頁(2003)。

xi. 分析

【0230】可藉由此項技術中已知之各種分析，針對其物理/化學特性及/或生物活性鑑別、篩選或表徵本文所描述之抗-Trop-2抗體。

【0231】在一個態樣中，例如藉由已知方法，諸如ELISA、BIACore®、FACS或西方墨點法測試抗體之抗原結合活性。

【0232】在另一態樣中，可使用競爭分析來鑑別與本文中描述之抗體中之任一者競爭結合於Trop-2之抗體。在某些實施例中，此類競爭抗體結合於由本文中描述之抗體所結合者相同之抗原決定基(例如線性或構形抗原決定基)。用於定位抗體結合之抗原決定基的詳述例示性方法提供於

Morris (1996) 「Epitope Mapping Protocols」, *Methods in Molecular Biology*, 第66卷(Humana Press, Totowa, NJ)中。

【0233】 在例示性競爭分析中，在包含結合於Trop-2之第一標記抗體及第二未標記抗體之溶液中培育固定Trop-2，其中測試該第二未標記抗體與第一抗體競爭結合於Trop-2之能力。第二抗體可存在於融合瘤上清液中。作為對照，在包含第一標記抗體但無第二未標記抗體之溶液中培育固定Trop-2。在允許第一抗體結合至Trop-2之條件下培育之後，移除過量的未結合抗體，且量測與固定Trop-2締合之標記之量。若測試樣品中之與固定Trop-2締合之標記之量相對於對照樣品而言實質上降低，則表明第二抗體與第一抗體競爭結合至Trop-2。在某些實施例中，固定Trop-2存在於細胞表面上或自表面上表現Trop-2之細胞獲得的膜製劑中。參見Harlow及Lane (1988) *Antibodies: A Laboratory Manual* ch.14 (Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY)。

II. 製備抗體-藥物結合物之方法

【0234】 式I之ADC可藉由若干途徑，採用熟習此項技術者已知之有機化學反應、條件及試劑製備，包括以：(1)抗體之親核性基團與二價連接子試劑(L)反應，經由共價鍵形成Ab-L，接著與藥物部分(亦即，SN-38部分)反應；及(2)藥物部分D (亦即，SN-38部分)之親核性基團與二價連接子試劑(L)反應，經由共價鍵形成D-L，接著與抗體之親核性基團反應。經由後一途徑製備ADC之例示性方法描述於美國專利第7,498,298號中。

【0235】 抗體上之親核性基團包括(但不限於)：(i) N端胺基；(ii)側鏈胺基，例如離胺酸；(iii)側鏈硫醇基，例如半胱胺酸；及(iv)糖羥基或

胺基，其中抗體發生醯基化。胺、硫醇及羥基為親核性且能夠與連接子部分及連接子試劑上之親電子基反應形成共價鍵，該等親電子基包括：(i)活性酯，諸如NHS酯、HOBt酯、鹵基甲酸酯及酸鹵化物；(ii)烷基及苯甲基鹵化物，諸如鹵乙醯胺；及(iii)醛、酮、羧基及順丁烯二醯亞胺基。除了NHS酯之外，用於結合細胞表面離胺酸之官能基可包括五氟苯基、四氟苯基、四氟苯磺酸酯、硝苯基、異氰酸酯、異硫氰酸酯及磺醯氯作為非限制性實例。

【0236】 某些抗體具有可還原鏈間二硫鍵，亦即半胱胺酸橋鍵。藉由用諸如DTT (二硫蘇糖醇)或三羰基乙基膦(TCEP)之還原劑處理，使得抗體完全或部分還原，可使抗體具有反應性，以與連接子試劑結合。理論上各半胱胺酸橋鍵將因此形成兩個反應性硫醇親核體。可經由修飾離胺酸殘基，而將額外親核性基團引入至抗體中，例如使離胺酸殘基與2-亞胺基硫雜環戊烷(妥特氏試劑(Traut's reagent))反應，使胺轉化為硫醇。亦可藉由引入一個、兩個、三個、四個或更多個半胱胺酸殘基(例如藉由製備包含一或多個非天然半胱胺酸胺基酸殘基之變異抗體)，而將反應性硫醇基引入至抗體中。可與反應性硫醇反應之官能基之非限制性實例包括(但不限於)順丁烯二醯亞胺、吡啶基二硫基、溴乙醯基、碘乙醯基、溴苯甲基、碘苯甲基及4-(氰基乙炔基)苯甲醯基。

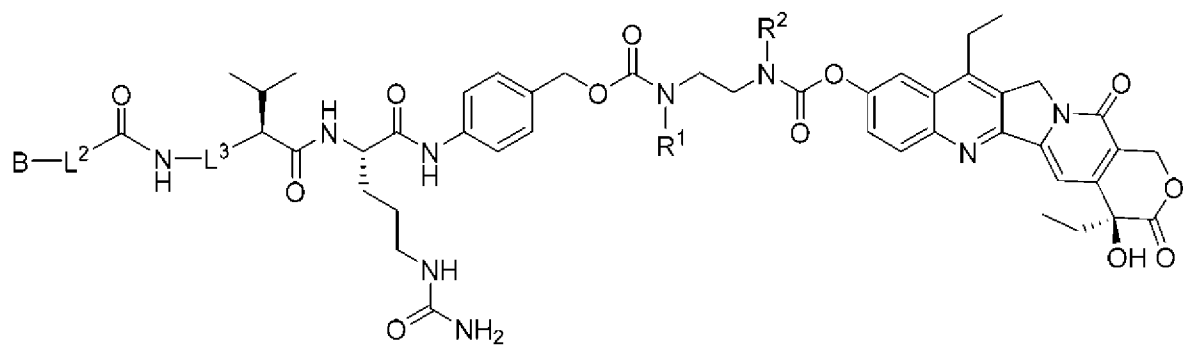
【0237】 本文所描述之ADC亦可藉由抗體上之親電子基(諸如醛或酮羰基)與連接子試劑或藥物上之親核性基團之間發生反應來產生。連接子試劑上之適用親核性基團包括(但不限於)醯肼、肟、胺基、肼、硫半卡脞、肼羧酸酯及芳基醯肼。在一個實施例中，抗體經修飾以引入能夠與連接子試劑或藥物上之親核性取代基反應之親電子部分。在另一實施例中，

醣基化抗體之糖可例如用過碘酸鹽氧化試劑氧化，以形成醛基或酮基，其可與連接子試劑或藥物部分之胺基反應。所得亞胺希夫鹼(Schiff base)基團可形成穩定鍵聯，或可例如藉由硼氫化物試劑還原，以形成穩定之胺鍵聯。在一個實施例中，醣基化抗體之碳水化合物部分與半乳糖氧化酶或偏過碘酸鈉反應可在抗體中產生羰基(醛及酮)，其可與藥物(Hermanson, *Bioconjugate Techniques*)上之適當基團反應。在另一實施例中，含有N端絲胺酸或蘇胺酸殘基之抗體可與偏過碘酸鈉反應，產生醛代替第一胺基酸(Geoghegan及Stroh, (1992) *Bioconjugate Chem.* 3:138-146; US 5362852)。此類醛可與藥物部分或連接子親核試劑反應。

【0238】 藥物部分上之例示性親核性基團包括(但不限於)：能夠與連接子部分及連接子試劑上之親電子基反應形成共價鍵的胺、硫醇、羥基、醯肼、肟、肼、硫半卡脞、肼羧酸酯及芳基醯肼基團，該等親電子基包括：(i)活性酯，諸如NHS酯、HOBt酯、鹵基甲酸酯及酸鹵化物；(ii)烷基及苯甲基鹵化物，諸如鹵乙醯胺；及(iii)醛、酮、羧基及順丁烯二醯亞胺基。

【0239】 在又一實施例中，抗體可結合於「受體」(諸如抗生蛋白鏈菌素)，以用於腫瘤預先靶向，其中將抗體-受體結合物投與患者，接著使用清除劑將未結合之結合物自循環中移除且隨後投與結合於細胞毒性劑(例如藥物或放射性核苷酸)之「配位體」(例如抗生蛋白)。

【0240】 在一個態樣中，式(I)之ADC可藉由使抗-Trop-2抗體(Ab)與式(P-I)之分子：



(P-I)

或其醫藥學上可接受之鹽反應來製備，其中：

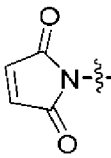
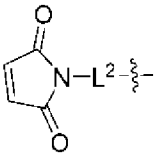
B為能夠與抗-Trop-2抗體形成一鍵之反應性部分；

L^2 為 $-(CH_2)_p-$ ，其中p為4、5、6、7或8；

L^3 為一鍵或基於聚氧乙烯之二價連接子；及

R^1 及 R^2 各自獨立地為 C_{1-6} 烷基。

【0241】 在一些實施例中，B為能夠與抗-Trop-2抗體之巰基形成鍵的反應性部分。在一些實施例中，B為N-順丁烯二醯亞胺基。在一些實施

例中，B為 。在一些實施例中，B- L^2 -為 。

【0242】 在一些實施例中，p為4、5或6。在一些實施例中，p為4。在一些實施例中，p為5。在一些實施例中，p為6。在一些實施例中，p為7或8。在一些實施例中，p為7。在一些實施例中，p為8。

【0243】 在一些實施例中， L^3 為一鍵。在其他實施例中， L^3 為基於聚氧乙烯之二價連接子。在一些實施例中，基於聚氧乙烯之二價連接子包含聚氧乙烯部分及伸烷基部分。在一些實施例中，基於聚氧乙烯之二價連接子包含聚氧乙烯部分及伸芳基部分。在一些實施例中，基於聚氧乙烯之二價連接子包含聚氧乙烯部分、伸烷基部分及伸芳基部分。在一些實施例中，基於聚氧乙烯之二價連接子包含聚氧乙烯部分及醯胺部分。在一些實

施例中，基於聚氧乙烯之二價連接子包含聚氧乙烯部分、烷基部分及醯胺部分。在一些實施例中，基於聚氧乙烯之二價連接子包含聚氧乙烯部分、伸芳基部分及醯胺部分。在一些實施例中，基於聚氧乙烯之二價連接子包含聚氧乙烯部分、伸烷基部分、伸芳基部分及醯胺部分。在一些實施例中，基於聚氧乙烯之二價連接子包含至多24個 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})-$ 單元。

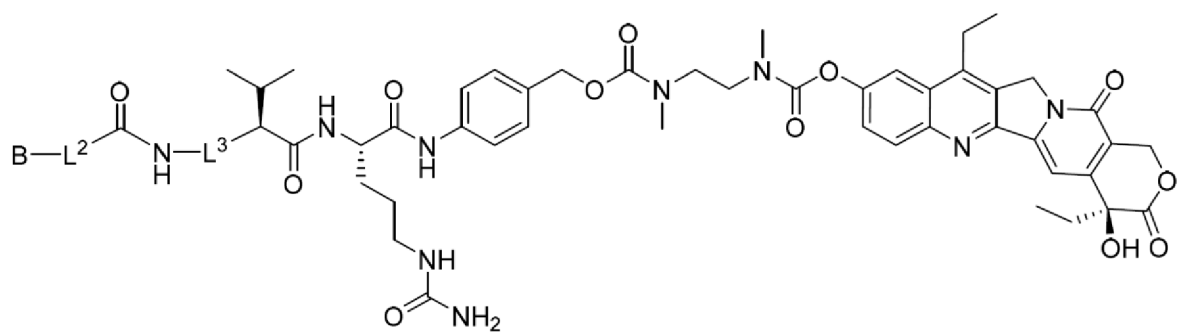
【0244】 在一些實施例中， R^1 為 C_{1-4} 烷基。在一些實施例中， R^1 為 C_{1-3} 烷基。在一些實施例中， R^1 為甲基。在一些實施例中， R^1 為乙基。在一些實施例中， R^1 為丙基，諸如正丙基或異丙基。在一些實施例中， R^1 為丁基，諸如正丁基或三級丁基。在其他實施例中， R^1 為戊基或己基。

【0245】 在一些實施例中， R^2 為 C_{1-4} 烷基。在一些實施例中， R^2 為 C_{1-3} 烷基。在一些實施例中， R^2 為甲基。在一些實施例中， R^2 為乙基。在一些實施例中， R^2 為丙基，諸如正丙基或異丙基。在一些實施例中， R^2 為丁基，諸如正丁基或三級丁基。在其他實施例中， R^2 為戊基或己基。

【0246】 在一些實施例中， R^1 與 R^2 相同。在一些實施例中， R^1 及 R^2 各自為甲基。在一些實施例中， R^1 及 R^2 各自為乙基。在一些實施例中， R^1 及 R^2 各自為丙基。在一些實施例中， R^1 及 R^2 各自為丁基。在一些實施例中， R^1 及 R^2 各自為戊基。在一些實施例中， R^1 及 R^2 各自為己基。

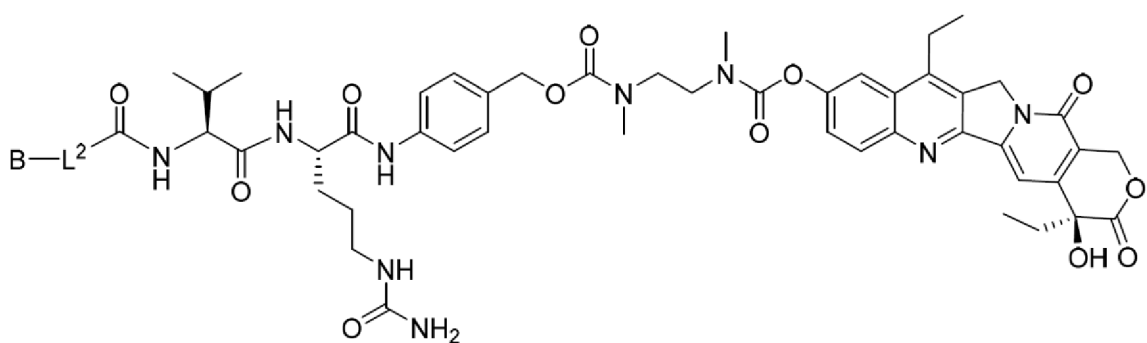
【0247】 在一些實施例中， R^1 與 R^2 不同。在一些實施例中， R^1 為甲基且 R^2 為乙基。在一些實施例中， R^1 為乙基且 R^2 為甲基。在一些實施例中， R^1 為甲基且 R^2 為 C_{2-6} 烷基。在一些實施例中， R^1 為 C_{2-6} 烷基且 R^2 為甲基。

【0248】 在一些實施例中，式(P-I)之分子為式(P-IIa)之分子：



(P-IIa)

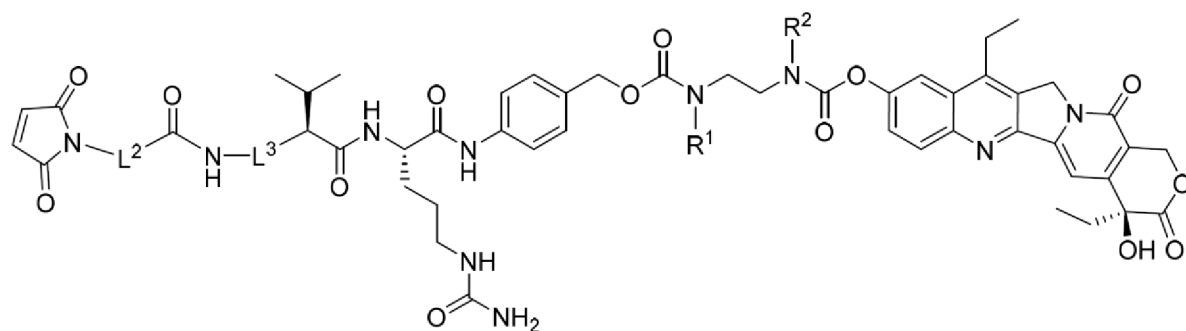
或其醫藥學上可接受之鹽。在一個變化形式中， L^3 為一鍵且分子具有式(P-IIa-1)：



(P-IIa-1)

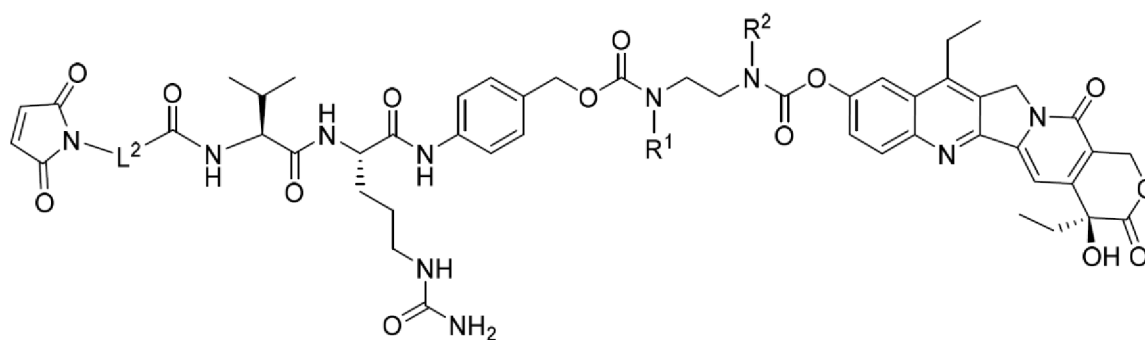
或其醫藥學上可接受之鹽。

【0249】 在一些實施例中，分子具有式(P-IIb)：



(P-IIb)

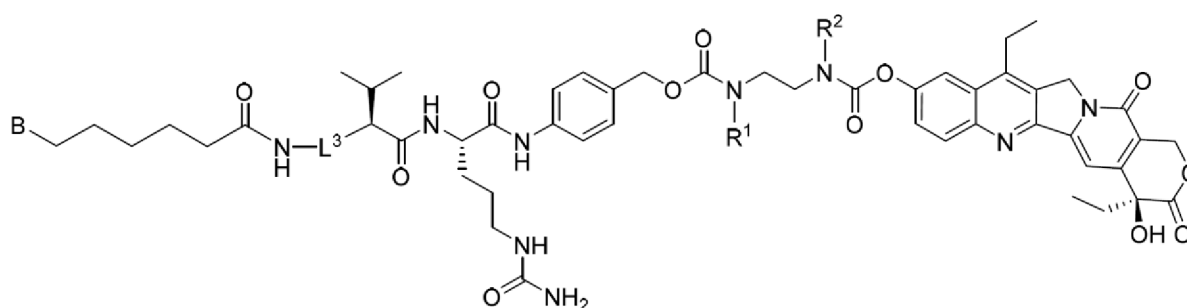
或其醫藥學上可接受之鹽。在一個變化形式中， L^3 為一鍵且分子具有式(P-IIb-1)：



(P-IIb-1)

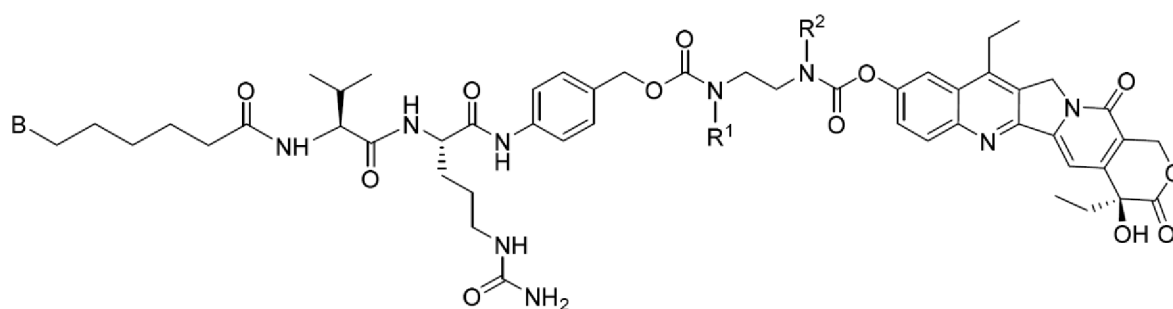
或其醫藥學上可接受之鹽。

【0250】 在一些實施例中，分子具有式(P-IIc)：



(P-IIc)

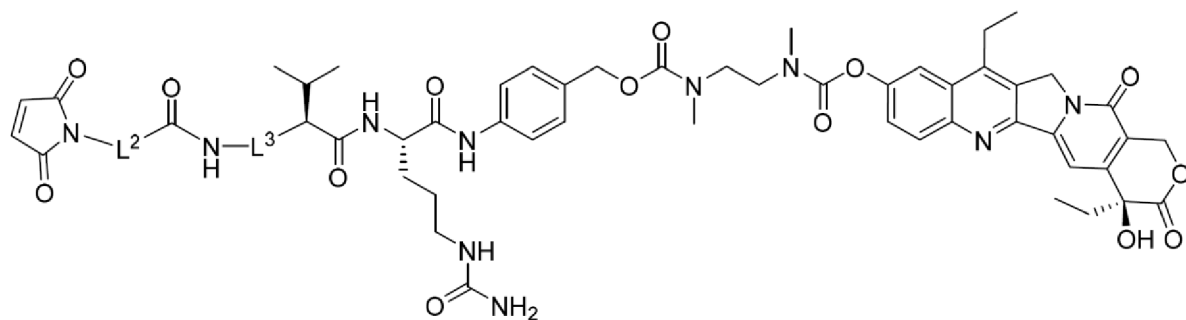
或其醫藥學上可接受之鹽。在一個變化形式中，L³為一鍵且分子具有式(P-IIc-1)：



(P-IIc-1)

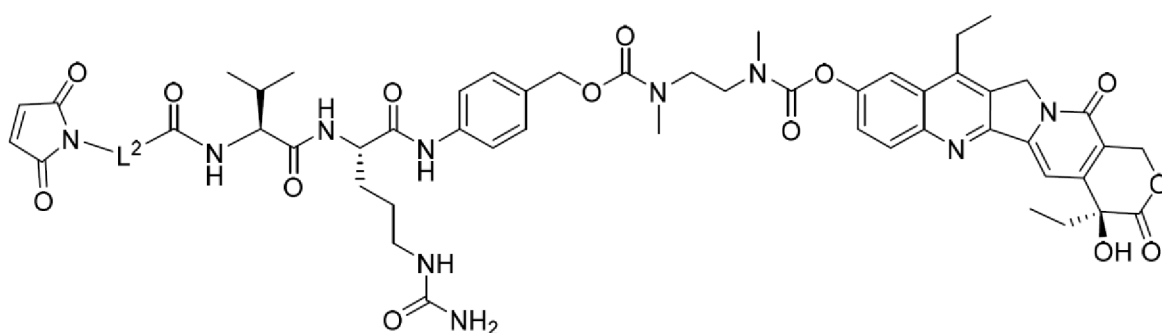
或其醫藥學上可接受之鹽。

【0251】 在一些實施例中，分子具有式(P-IIIa)：



(P-IIIa)

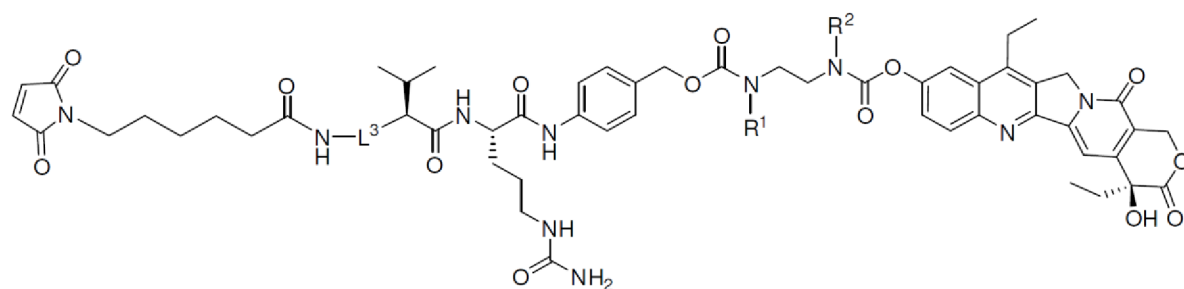
或其醫藥學上可接受之鹽。在一個變化形式中， L^3 為一鍵且分子具有式(P-IIIa-1)：



(P-IIIa-1)

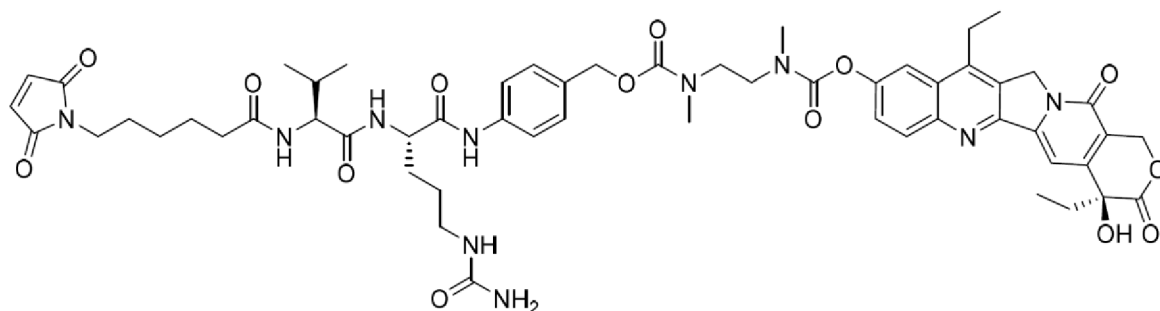
或其醫藥學上可接受之鹽。

【0252】 在一些實施例中，分子具有式(P-IIIb)：



(P-IIIb)

或其醫藥學上可接受之鹽。在一個變化形式中， L^3 為一鍵且分子具有式(P-IIIb-1)：



(P-IV)

或其醫藥學上可接受之鹽。

【0255】 在上文所描述之製備方法中，應理解，一個部分之各個描述、變化形式、實施例或態樣可與其他部分之各個描述、變化形式、實施例或態樣組合，如同描述之每一個組合特定且單獨列出一般。舉例而言，本文所提供之關於式(P-I)之 L^2 之各個描述、變化形式、實施例或態樣可與 L^3 、 p 、 R^1 、 R^2 及 B 之各個描述、變化形式、實施例或態樣組合，如同特定且個別地列舉了每一個組合一般。亦應理解，適用時，式(P-I)之所有描述、變化形式、實施例或態樣同樣適用於本文中詳述之其他化學式，且同等地加以描述，如同針對所有化學式單獨且個別地列舉了每一個描述、變化形式、實施例或態樣一般。舉例而言，適用時，式(P-I)之所有描述、變化形式、實施例或態樣同樣適用於本文中詳述之諸如式(P-IIa)、(P-IIa-1)、(P-IIb)、(P-IIb-1)、(P-IIc)、(P-IIc-1)、(P-IIIa)、(P-IIIa-1)、(P-IIIb)、(P-IIIb-1)、(P-IIIc)及(P-IIIc-1)之該等式中之任一者，且同等地加以描述，如同針對所有化學式單獨且個別地列舉了每一個描述、變化形式、實施例或態樣一般。

III. 醫藥調配物

【0256】 本文所描述之ADC之醫藥調配物係藉由將具有所要純度之此ADC與一或多種視情況選用之醫藥學上可接受之載劑混合(Remington's

Pharmaceutical Sciences第16版, Osol, A. 編(1980))，以凍乾調配物或水溶液形式來製備。醫藥學上可接受之載劑在所採用之劑量及濃度下一般對接受者無毒性，且包括但不限於：緩衝液，諸如磷酸鹽、檸檬酸鹽及其他有機酸；抗氧化劑，包括抗壞血酸及甲硫胺酸；保存劑(諸如十八烷基二甲基苯甲基氯化銨；氯化六羥季銨；氯苄烷銨；氯化苯索銨；苯酚、丁基或苯甲醇；對羥基苯甲酸烷酯，諸如對羥基苯甲酸甲酯或對羥基苯甲酸丙酯；兒茶酚；間苯二酚；環己醇；3-戊醇；及間甲酚)；低分子量(小於約10個殘基)多肽；蛋白質，諸如血清白蛋白、明膠或免疫球蛋白；親水性聚合物，諸如聚乙烯吡咯啉酮；胺基酸，諸如甘胺酸、麩醯胺酸、天冬醯胺、組胺酸、精胺酸或離胺酸；單糖、雙糖及其他碳水化合物，包括葡萄糖、甘露糖或糊精；螯合劑，諸如EDTA；糖，諸如蔗糖、甘露醇、海藻糖或山梨醇；成鹽相對離子，諸如鈉；金屬複合物(例如，Zn-蛋白質複合物)；及/或非離子界面活性劑，諸如聚乙二醇(PEG)。本文中之例示性醫藥學上可接受之載劑進一步包括間質藥物分散劑，諸如可溶性中性活性玻尿酸酶醣蛋白(sHASEGP)，例如人類可溶性PH-20玻尿酸酶醣蛋白，諸如rHuPH20 (HYLENEX[®], Baxter International, Inc.)。某些例示性sHASEGP (包括rHuPH20)及使用方法描述於美國專利公開案第2005/0260186號及第2006/0104968號中。在一個態樣中，sHASEGP與一或多種其他葡萄糖胺聚糖酶，諸如軟骨素酶組合。

【0257】 例示性凍乾ADC調配物描述於美國專利第6,267,958號中。水性ADC調配物包括美國專利案第6,171,586號及WO 2006/044908中所描述之彼等調配物，後一調配物包括組胺酸-乙酸鹽緩衝液。

【0258】 視待治療之特定適應症所需要，本文中所提供之調配物亦

可含有多於一種活性成分，較佳地具有不有害地影響彼此之互補活性的彼等活性成分。

【0259】 活性成分可包覆於微膠囊中，例如藉由凝聚技術或藉由界面聚合所製備之微膠囊，例如分別為羥基甲基纖維素或明膠微膠囊及聚(甲基丙烯酸甲酯)微膠囊；包覆於膠態藥物遞送系統(例如脂質體、白蛋白微球體、微乳液、奈米粒子及奈米膠囊)中或巨乳液中。此類技術揭示於Remington's Pharmaceutical Sciences第16版, Osol, A.編(1980)中。

【0260】 可製備持續釋放製劑。持續釋放製劑之適合實例包括含有ADC之固體疏水性聚合物之半滲透基質，該等基質呈成形物品形式，例如膜或微膠囊。

【0261】 用於活體內投藥之調配物通常為無菌的。無菌性可容易地藉由例如經由無菌過濾膜過濾來實現。

IV.治療方法及組合物

【0262】 本文中所提供之ADC中之任一者可用於方法，例如治療方法中。

【0263】 在一個態樣中，本文提供之ADC用於抑制表現Trop-2之細胞增殖的方法中，該方法包含在容許ADC之抗-Trop-2抗體結合於細胞表面上的條件下將該細胞暴露於ADC，由此抑制該細胞增殖。在某些實施例中，該方法為活體外或活體內方法。在一些實施例中，細胞為B細胞。在一些實施例中，細胞為贅生性B細胞，諸如淋巴瘤細胞或白血病細胞。

【0264】 活體外細胞增殖之抑制可使用可購自Promega (Madison, WI)之CellTiter-Glo™發光細胞存活率分析來分析。該分析基於存在之ATP (其指示代謝活性細胞)之定量，確定培養物中活細胞之數目。參見

Crouch等人. (1993) *J. Immunol. Meth.* 160:81-88、美國專利第6602677號。分析可以96或384孔格式進行，易於進行自動化高通量篩選(HTS)。參見Cree等人. (1995) *AntiCancer Drugs* 6:398-404。分析程序涉及向培養細胞中直接添加單一試劑(CellTiter-Glo[®]試劑)。此導致細胞溶解及由螢光素酶反應產生之發光信號之產生。發光信號與存在之ATP之量成比例，ATP之量與培養物中存在之活細胞數目成正比。資料可藉由光度計或CCD相機成像裝置記錄。發光輸出以相對光單位(RLU)表示。

【0265】 在另一態樣中，提供一種用作藥劑之ADC。在其他態樣中，提供一種用於治療方法中之ADC。在某些實施例中，提供一種用於治療癌症之ADC。在一些實施例中，癌症與Trop-2之過度表現相關。在某些實施例中，本文提供一種用於治療患有表現Trop-2之癌症之個體的方法中的ADC，該方法包含向個體投與有效量之ADC。在一個此類實施例中，該方法進一步包含向個體投與有效量之至少一種例如如下文所描述之其他治療劑。

【0266】 在另一態樣中，本發明提供ADC在製造或製備藥物中之用途。在一個實施例中，藥劑係用於治療表現Trop-2之癌症。在又一實施例中，藥劑係用於治療表現Trop-2之癌症之方法中，該方法包含向患有該疾病表現Trop-2之癌症的個體投與有效量之藥劑。在一個此類實施例中，該方法進一步包含向個體投與有效量之至少一種例如如下文所描述之其他治療劑。

【0267】 在另一態樣中，本發明提供一種治療表現Trop-2之癌症之方法。在一些實施例中，表現Trop-2之癌症為上皮細胞衍生之癌症。在一些實施例中，表現Trop-2之癌症為癌瘤。在一些實施例中，該癌瘤為基底

細胞癌、鱗狀細胞癌、腎細胞癌、乳腺管原位癌、侵襲性乳腺管癌或腺癌。在一些實施例中，表現Trop-2之癌症包含實體腫瘤。在一些實施例中，表現Trop-2之癌症為轉移性的。在一些實施例中，表現Trop-2之癌症為復發性癌症。

【0268】 在一些實施例中，表現Trop-2之癌症為胰臟癌、胃癌、乳癌、黑素瘤、腎癌、大腸直腸癌、子宮內膜癌、前列腺癌、尿道上皮癌、神經膠質母細胞瘤、肺癌、子宮頸癌、食道癌或卵巢癌。在一些實施例中，表現Trop-2之癌症為胰臟癌。在一些實施例中，表現Trop-2之癌症為胃癌。在一些實施例中，表現Trop-2之癌症為乳癌。在一些實施例中，乳癌為三陰性乳癌。在此等實施例中之任一者中，癌症可為轉移性癌症。在某些實施例中，癌症為復發性癌症。

【0269】 在一些實施例中，表現Trop-2之癌症為接受抗Trop-2免疫組織化學(IHC)或原位雜交(ISH)評分大於「0」之癌症，其對應於>90%之腫瘤細胞中的極弱或無染色。在另一實施例中，表現Trop-2之癌症以1+、2+或3+水準表現Trop-2，其中1+對應於>50%之贅生性細胞中的弱染色，2+對應於>50%贅生性細胞中的中度染色，且3+對應於>50%贅生性細胞中的強染色。在一些實施例中，表現Trop-2之癌症為根據偵測Trop-2 mRNA之逆轉錄酶PCR (RT-PCR)分析表現Trop-2的癌症。在一些實施例中，RT-PCR為定量RT-PCR。

【0270】 在一些實施例中，提供一種治療患有表現Trop-2之癌症之個體的方法，其中表現Trop-2之癌症對第一治療劑具有抗性。在一些實施例中，該方法包括向個體投與有效量的如本文所描述之ADC。在一些實施例中，表現Trop-2之癌症係選自胰臟癌、胃癌、乳癌(包括三陰性乳

癌)、子宮頸癌、食道癌或卵巢癌。在一些實施例中，第一治療劑包含除SN-38以外之第一細胞毒性劑。在一些實施例中，第一治療劑包含結合除Trop-2以外之抗原的第一抗體。在一些實施例中，第一治療劑為包含結合除Trop-2以外之抗原的第一抗體及第一細胞毒性劑的第一ADC。

【0271】 根據任一以上實施例之「個體」可為人類。

【0272】 在另一態樣中，本文提供包含本文所提供之ADC中之任一者的醫藥調配物，其例如用於上述治療方法中之任一者中。在一個實施例中，醫藥調配物包含本文中提供之ADC中之任一者及醫藥學上可接受之載劑。在另一實施例中，醫藥調配物包含本文中提供之ADC中之任一者及至少一種其他治療劑。

【0273】 本文中所描述之ADC可單獨或與其他藥劑組合用於療法中。舉例而言，如本文所描述之ADC可與至少一種其他治療劑共同投與。在一些實施例中，其他治療方案可與投與ADC組合，包括(但不限於)放射線療法及/或骨髓及末梢血液移植及/或細胞毒性劑。在一些實施例中，細胞毒性劑為藥劑或藥劑之組合，諸如環磷醯胺、羥基道諾黴素、阿德力黴素、阿黴素、長春新鹼(Oncovin™)、潑尼龍、CHOP (環磷醯胺、小紅莓、長春新鹼及潑尼龍之組合)或CVP (環磷醯胺、長春新鹼及潑尼龍之組合)。

【0274】 上述此類組合療法涵蓋組合投藥(其中兩種或更多種治療劑包括於相同或各別調配物中)及各別投藥，在此情況下，ADC之投與可在其他治療劑及/或佐劑投與之前、同時及/或之後進行。本文所描述之ADC亦可與放射療法組合使用。

【0275】 如本文所描述之ADC(及任何其他治療劑)可藉由任何適合

的手段投與，包括非經腸、肺內及鼻內投與，且必要時針對局部治療，包括病灶內投與。非經腸輸注包括肌肉內、靜脈內、動脈內、腹膜內或皮下投與。部分地視投藥之短期或長期性而定，給藥可藉由任何適合之途徑(例如藉由注射，諸如靜脈內或皮下注射)來進行。本文中涵蓋各種給藥時程，包括(但不限於)單次投藥或經各個時間點多次投藥、快速投藥及脈衝式輸注。本發明之ADC將以與良好醫療實務一致之方式調配、給藥及投與。在此情形下，考慮因素包括所治療之特定病症、所治療之特定哺乳動物、個別患者之臨床病狀、病症之病因、藥劑遞送部位、投與方法、投與時程及醫學從業者已知之其他因素。ADC無需但視情況可與一或多種當前用於預防或治療所述病症之藥劑一起調配。此類其他藥劑之有效量視存在於調配物中之ADC之量、病症或治療之類型及如上文所述之其他因素而定。此等藥劑通常係以相同劑量且以如本文所描述之投與途徑使用，或以約1至99%的本文所描述之劑量，或以憑經驗/在臨床上確定適當之任何劑量及任何途徑使用。

【0276】 為了預防或治療疾病，如本文所描述之ADC的適當劑量(當單獨或與一或多種其他額外治療劑組合使用時)將視待治療疾病之類型、ADC之類型、疾病之嚴重程度及病程、是出於預防還是出於治療目的投與ADC、先前療法、患者之臨床病史及對ADC之反應及主治醫師之判斷而定。一次性或歷經一系列治療向患者適當地投與ADC。視疾病之類型及嚴重程度而定，約1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 至15 mg/kg (例如0.1 mg/kg 至10 mg/kg)之ADC可為用於投與患者之初始候選劑量，無論例如藉由一或多次獨立投藥或藉由連續輸注。一種典型日劑量可在約1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 至100 mg/kg 或更多之範圍內，視上文所提及之因素而定。經歷數日或更長時間重複投藥時，

視病狀而定，治療一般持續至疾病症狀發生所需抑制為止。ADC之一種例示性劑量將在約0.05 mg/kg至約10 mg/kg範圍內。因此，可向患者投與約0.5 mg/kg、2.0 mg/kg、4.0 mg/kg或10 mg/kg (或其任何組合)之一或多種劑量。此類劑量可間歇地投與，例如每週或每三週(例如以使得患者接受約二至約二十，或例如約六個劑量的抗體)。最初可投與較高起始劑量，隨後可投與一或多種較低劑量。然而，其他給藥方案可為適用的。此療法之進程容易藉由習知技術及分析來監視。

V. 製品

【0277】 在另一態樣中，本文提供一種含有適用於治療、預防及/或診斷上文所述之病症之材料的製品。製品包含容器及容器上或容器隨附之標籤或藥品說明書。適合之容器包括例如瓶子、小瓶、注射器、IV溶液袋等。容器可由多種材料(諸如玻璃或塑膠)形成。容器容納有本身或與有效治療、預防及/或診斷病症之另一組合物組合的組合物，且可具有無菌接口(例如容器可為具有可由皮下注射針刺穿之塞子的靜脈內溶液袋或小瓶)。組合物中之至少一種活性劑為如本文所描述之ADC。標籤或藥品說明書指示組合物用於治療所選病狀。此外，製品可包含(a)內含組合物之第一容器，其中該組合物包含如本文所描述之ADC；及(b)內含組合物之第二容器，其中該組合物包含另一細胞毒性劑或其他治療劑。本發明之此實施例中的製品可進一步包含指示組合物可用於治療特定病狀之藥品說明書。可替代地或另外，製品可進一步包含第二(或第三)容器，其包含醫藥學上可接受之緩衝劑，諸如注射用抑菌水(BWFI)、磷酸鹽緩衝生理食鹽水、林格氏溶液(Ringer's solution)或右旋糖溶液。其可進一步包括就商業及使用者觀點而言所期望之其他材料，包括其他緩衝劑、稀釋劑、過濾

器、針及注射器。

【0278】 本說明書及例示性實施例不應視為限制性的。出於本說明書及所附申請專利範圍之目的，除非另外說明，否則表示數量、百分比或比例的所有數字，及說明書及申請專利範圍中所用之其他數值均應理解為在所有情況下藉由術語「約」修飾至其尚未如此修飾的程度。「約」表示實質上不影響所述主題之特性的變化程度，例如在10%、5%、2%或1%內。因此，除非有相反指示，否則本說明書及所附申請專利範圍中所闡述之數值參數為可視設法獲得之所需特性而變化的近似值。至少，且不試圖將均等論之應用限於申請專利範圍之範疇，各數值參數至少應根據所報導之有效數位之個數且藉由應用普通捨入技術來解釋。

實例

【0279】 提供以下實例以說明某些所揭示實施例且不應視為以任何方式限制本發明之範疇。

【0280】 實例中所描述之化學反應可容易調適以製備本發明之許多其他化合物，且認為製備本發明化合物之替代方法在本發明之範疇內。舉例而言，藉由對一般熟習此項技術者顯而易見的修改可成功地合成根據本發明之未舉例說明化合物，例如藉由使用此項技術中已知之除彼等試劑之外的其他適合試劑，或藉由對反應條件、試劑及起始物質進行常規修改。替代地，將認為本文所揭示或此項技術中已知之其他反應適用於製備本發明之其他化合物。

【0281】 以下縮寫可與本申請案相關。

縮寫

BOC或Boc：三級丁氧基羰基

DCM：二氯甲烷

DIEA：二異丙基乙胺

DMF：*N,N'*-二甲基甲醯胺

DMSO：二甲亞砜

FBS：胎牛血清

Fmoc：9-芴基甲氧基羰基

Fmoc-AAN-PAB-PNP：9-芴基甲氧基羰基-丙胺醯基-丙胺醯基-天冬醯胺-(4-胺基苯甲基)-(4-硝苯基)碳酸酯

Fmoc-Ala-PAB-PNP：9-芴基甲氧基羰基-丙胺醯基-(4-胺基苯甲基)-(4-硝苯基)碳酸酯

h：小時

HIC：疏水相互作用層析法

HMW：高分子量

HPLC：高效液相層析

LC/MS：液相層析-質譜法

LC-MS/MS：液相層析聯合質譜法

LLOQ：定量下限

m或min：分鐘

Mal-C6-OH：6-順丁烯二醯亞胺基己酸

Mal-C6-VA-PAB-PNP：6-順丁烯二醯亞胺基己醯基-纈胺醯基-丙胺醯基-(4-胺基苯甲基)-(4-硝苯基)碳酸酯

PAB：對胺基苯甲基

PBS：磷酸鹽緩衝生理鹽水

PG：丙二醇

(PNP)₂CO：雙(4-硝苯基)碳酸酯

PyAOP：(7-氮雜苯并三唑-1-基氧基)三吡咯啶鎂六氟磷酸鹽

RP-HPLC：逆相HPLC

SEC：尺寸排阻層析

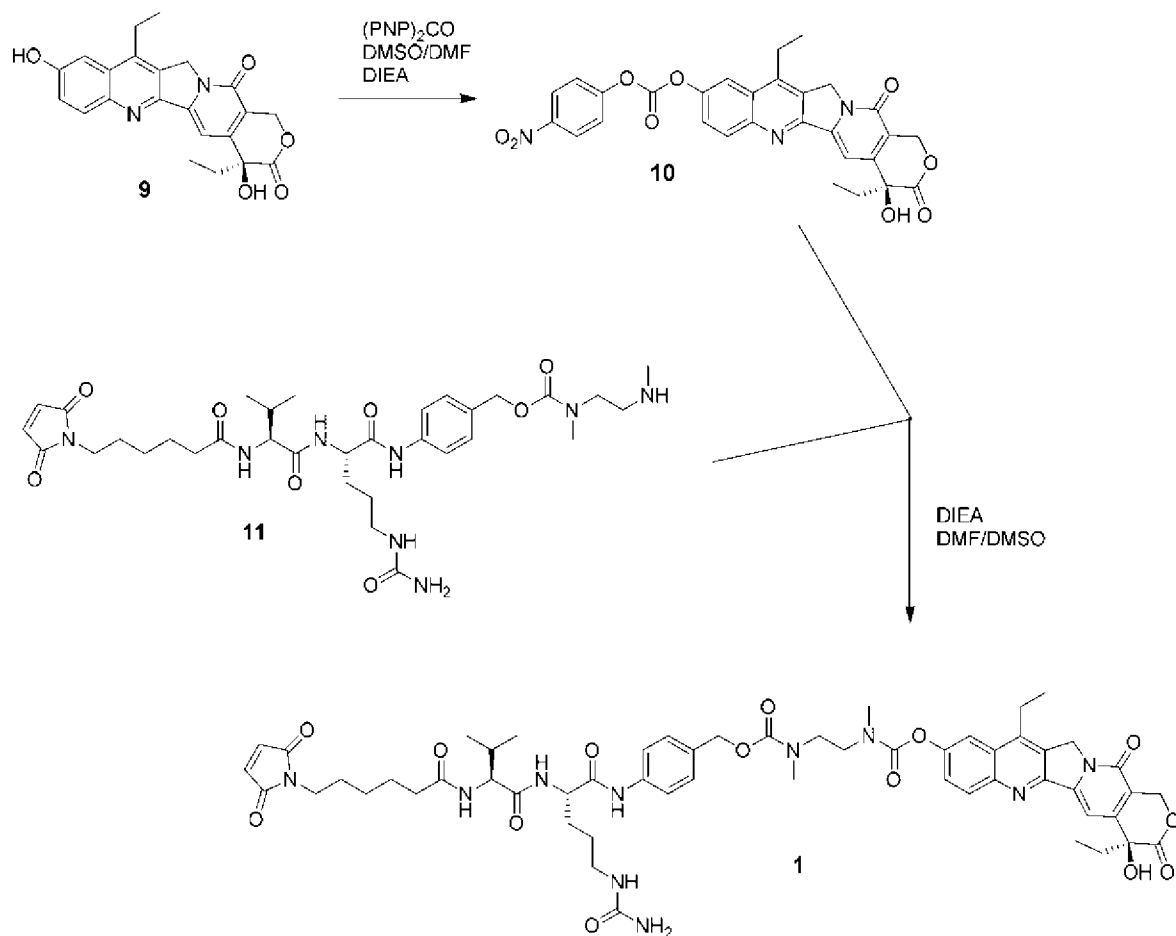
TCEP：參(2-羧乙基)膦

TFA：三氟乙酸

THF：四氫呋喃

合成實例

實例S1：合成化合物1。

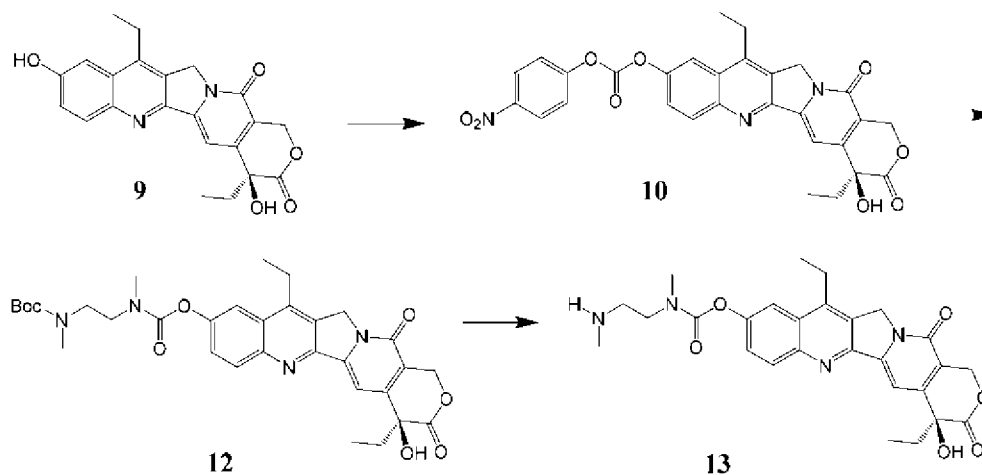


【0282】將化合物9 (Sigma-Aldrich目錄號:H0165-50MG ; 392

mg, 1 mmol)溶解於DMSO (3 mL)及DMF (3 mL)之混合物中，接著添加(PNP)₂CO (912 mg, 3 mmol)於DMF (3 mL)中之溶液。將所得混合物在冰浴中冷卻。接著，添加DIEA (174 μ L, 1 mmol)，且將反應混合物攪拌15 min。將反應混合物添加至200 mL之二乙醚中。收集所得沈澱物且用醚(100 mL)洗滌，且乾燥，得到**10** (333 mg, 60%)。

【0283】向**10** (55.7 mg, 0.1 mmol)於DMSO (1 mL)中之溶液中添加含**11** (根據美國專利第9,814,784號中所描述之程序合成) (TFA鹽, 80 mg, 0.1 mmol)之DMF (2 mL)。接著，添加DIEA (35 μ L, 0.2 mmol)且將所得反應混合物攪拌30 min。藉由HPLC (含0.1% TFA之水/乙腈)執行所得材料之純化，且凍乾收集之溶離份，得到**1** (84.6 mg, 77%)。

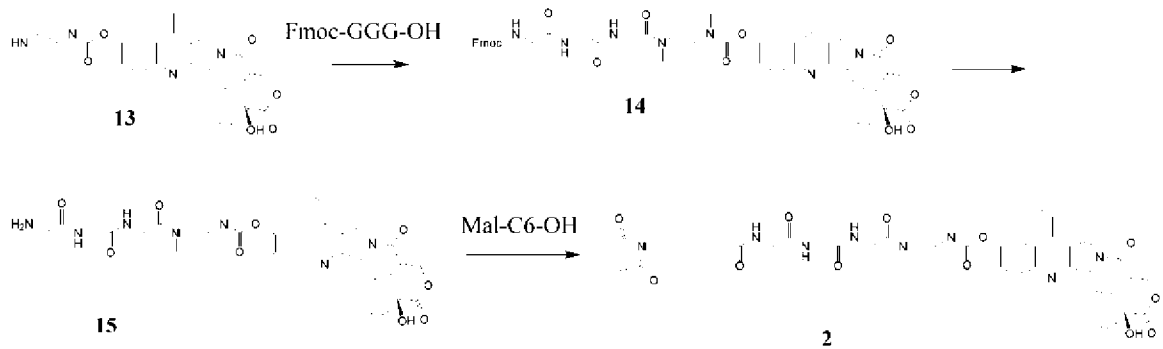
實例S2：合成化合物**13**。



【0284】向**9** (534 mg, 1.36 mmol)及雙(4-硝基)碳酸酯(900 mg, 2.96 mmol)於DMF (10 mL)中之混合物中添加DIEA (0.237 mL, 1.36 mmol)。在室溫下攪拌所得反應混合物直至**9**耗盡為止。藉由LC/MS監測反應。接著，添加N-Boc-N,N'-二甲基乙二胺(640 mg, 3.40 mmol)，接著添加DIEA (0.525 mL, 3.00 mmol)。在室溫下攪拌所得混合物2小時。藉由製備型HPLC獲得化合物**12** (400 mg)。

【0285】 用含25% TFA之DCM (5 mL)處理化合物**12**持續1小時。在真空下移除溶劑且粗物質**13**不經進一步純化即使用。

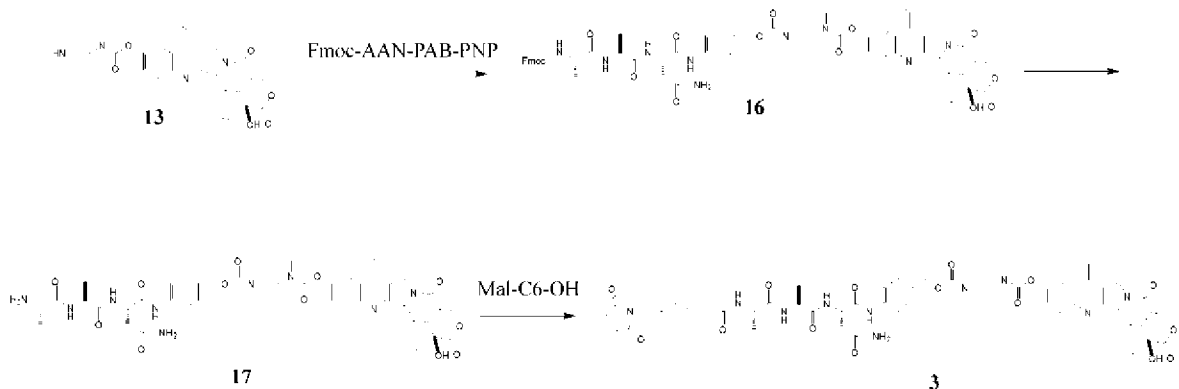
實例S3；合成化合物**2**。



【0286】 向**13** (31 mg, 0.042 mmol)、Fmoc-GGG-OH (17.4 mg, 0.042 mmol)及PyAOP (22 mg, 0.126 mmol)於DMF (2 mL)中之混合物中添加DIEA (25 μ L, 1.36 mmol)。在室溫下攪拌所得反應混合物直至**13**耗盡為止。藉由LCMS監測反應。接著，添加哌啶(200 μ L)且在室溫下攪拌所得混合物15分鐘。藉由製備型HPLC獲得化合物**15** (25 mg)。

【0287】 向**15** (25 mg, 0.028 mmol)、Mal-C6-OH (6.7 mg, 0.028 mmol)及PyAOP (15 mg, 0.028 mmol)於DMF (2 mL)中之混合物中添加DIEA (15 μ L, 0.084 mmol)。在室溫下攪拌所得混合物1小時。藉由製備型HPLC獲得化合物**2**。

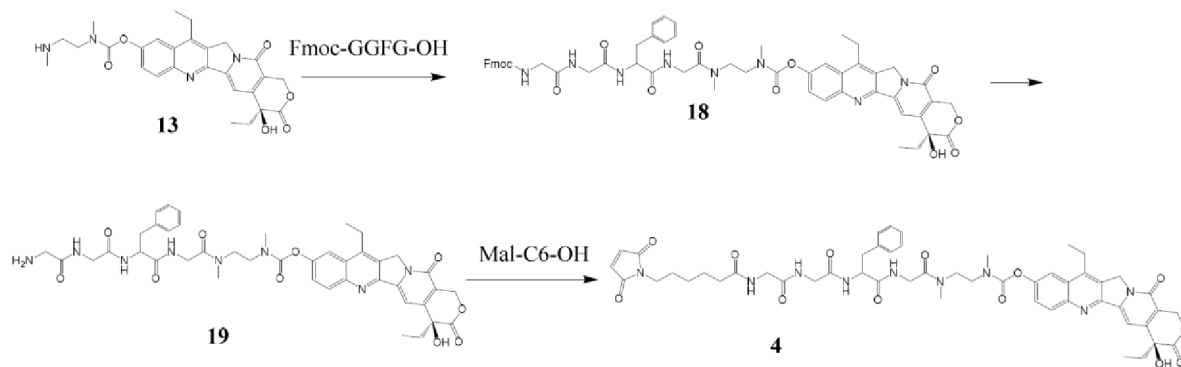
實例S4；合成化合物**3**。



【0288】 向**13** (31 mg, 0.042 mmol)及Fmoc-AAN-PAB-PNP (31 mg, 0.042 mmol)於DMF (1 mL)中之混合物中添加DIEA (15 μ L, 0.084 mmol)。在室溫下攪拌所得反應混合物隔夜，接著添加哌啶(50 μ L)。在室溫下攪拌所得混合物15分鐘。藉由製備型HPLC獲得化合物**17** (16 mg)。

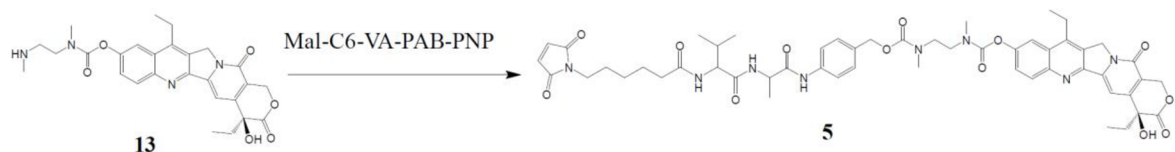
【0289】 向**17** (16 mg, 0.014 mmol)、Mal-C6-OH (4.6 mg, 0.022 mmol)及PyAOP (11.4 mg, 0.022 mmol)於DMF (2 mL)中之混合物中添加DIEA (16 μ L, 0.088 mmol)。在室溫下攪拌所得混合物1小時。藉由製備型HPLC獲得化合物**3**。

實例S5：合成化合物4。



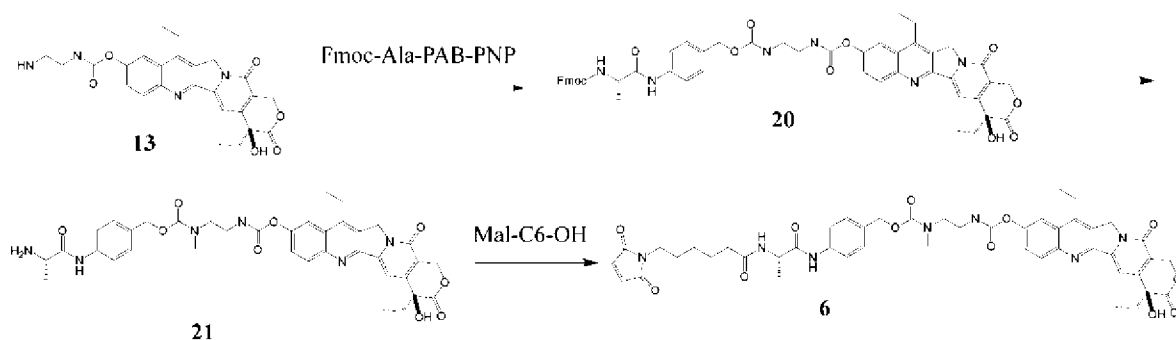
【0290】 根據製備**2** (實例S3)所概述之合成且如以上流程中具體展示來合成化合物**4** (10 mg, 20%)。

實例S6：合成化合物5。



【0291】 根據製備**3** (實例S4)所概述之合成且如以上流程中具體展示使用Mal-C6-VA-PAB-PNP來合成化合物**5** (8 mg, 25%)。

實例S7：合成化合物6。



【0292】 根據製備3 (實例S4)所概述之合成且如以上流程中具體展示使用Fmoc-Ala-PAB-PNP來合成化合物6 (12 mg, 23%)。

實例S8：製備抗體-藥物結合物(ADC)抗-Trop-2化合物1。

【0293】 此實例中使用之抗-Trop-2抗體具有美國專利第7,238,785號中描述之hRS7抗體之抗體序列。藉由EDTA (4 mM)將濃度為3至10 mg/mL之親和力純化抗-Trop-2抗體緩衝更換至磷酸鈉緩衝液(50 mM, pH 7.0-7.2)中。向此抗體儲備液之一部分中添加新製備的至多20倍莫耳過量之TCEP (10 mM)水溶液。在4-8°C下培育所得混合物隔夜。藉由凝膠過濾層析或數輪離心過濾移除過量TCEP。對回收之還原抗體進行UV-Vis定量，接著證實足夠的游離硫醇與抗體(SH/Ab)莫耳比。簡言之，將新製備的5,5'-dithiobis-(2-硝基苯甲酸)於磷酸鈉中之溶液(50 mM, pH 7.0-7.2, 4 mM EDTA)的1 mM等分試樣與等體積之純化抗體溶液混合。量測412 nm下之所得吸光度且使用14,150 M⁻¹cm⁻¹之消光係數測定還原的半胱胺酸含量。所得SH/Ab量測為約8，表明鏈間半胱胺酸硫醇殘基完全還原。

【0294】 為起始化合物1與抗-Trop-2抗體之結合，首先將1以5 mM之濃度溶解於3:2乙腈/水混合物中。隨後將丙二醇(PG)添加至經還原純化之抗-Trop-2抗體之等分試樣中，得到最終濃度為10-30% (v/v) PG，之後添加新製備的12-15倍莫耳過量之1溶液。在充分混合且在環境溫度下培育≥1.5 h之後，藉由HIC-HPLC分析粗物質結合反應以確認280 nm波長偵測

下之反應完成(起始抗體峰消失)。隨後藉由凝膠過濾層析使用配備有用PBS平衡之Superdex 200 pg管柱(GEHealthcare)的AKTA系統實施ADC抗-Trop-2化合物1之純化。基於UV-VIS及HIC-HPLC計算藥物與抗體比率(DAR)為6至8。所得純化樣品之HIC-HPLC進一步指示<1% (未偵測到)起始抗體材料。低百分比(<5%) HMW聚集物之確認亦使用分析型SEC-HPLC來判定。在最後表徵之後，將無菌海藻糖及Tween-80溶液於水中之等分試樣添加至含純化之ADC抗-Trop-2化合物1的PBS中，得到最終組成6%海藻糖/0.02% Tween-80/94% PBS(v/v/V)。隨後將此等混合物在液氮中快速冷凍且儲存於-80°C下直至進一步使用。

實例S9：製備抗體-藥物結合物(ADC)抗-Trop-2化合物2、抗-Trop-2化合物3、抗-Trop-2化合物4、抗-Trop-2化合物5、抗-Trop-2化合物6及ADC-CL2A-SN38。

【0295】 如實例S8中所概述分別使用**2、3、4、5或6**代替**1**來製備額外的ADC抗-Trop-2化合物**2**、抗-Trop-2化合物**3**、抗-Trop-2化合物**4**、抗-Trop-2化合物**5**及抗-Trop-2化合物**6**。如實例S8中所概述使用SN38部分(根據*J. Med. Chem.*, 2008, 51, 6916-6926中所概述之程序製備)代替**1**來製備比較性ADC分子ADC-CL2A-SN38。

生物學實例

實例B1：抗體-藥物結合物(ADC)抗-Trop-2化合物2、抗-Trop-2化合物3、抗-Trop-2化合物4、抗-Trop-2化合物5及抗-Trop-2化合物6之活體外功效。

【0296】 使用以下細胞株來評估ADC抗-Trop-2化合物**1**、抗-Trop-2化合物**2**、抗-Trop-2化合物**3**、抗-Trop-2化合物**4**、抗-Trop-2化合物**5**及

抗-Trop-2化合物6之活體外功效：BxPC-3 (胰臟癌)、MDA-MB-468 (乳腺癌/乳癌)及L-540 (霍奇金氏淋巴瘤)。如下進行活體外分析。將細胞接種(針對MDA-MB-468及BxPC-3為375個細胞/孔；針對L-540為2,500個細胞/孔)於384孔白色透明底盤(2個盤/細胞株)之12.5微升/孔中且在37°C下保持2至4小時。接著，僅將25 μ L培養基添加至未使用之孔中。單獨地，製備2 \times 最終濃度之工作溶液。藉由添加12.5 μ L之各別工作溶液來處理細胞且將細胞在37°C下保持120小時。隨後藉由CTG (CellTiter-Glo®發光細胞活力分析，Promega)來量測細胞存活率。

【0297】 抗-Trop-2化合物1、抗-Trop-2化合物2、抗-Trop-2化合物3、抗-Trop-2化合物4、抗-Trop-2化合物5及抗-Trop-2化合物6之細胞存活率展示於圖1至圖5中。資料表明所測試之ADC具有EC₅₀值介於大致46至340 nM範圍內之活體外功效。

實例B2：抗體-藥物結合物(ADC)抗-Trop-2化合物1及ADC-CL2A-SN38之活體內功效。

腫瘤之腫瘤細胞接種及建立

【0298】 人類腫瘤細胞株MDA-MB-468 (三陰性乳癌)、NCI-N87 (胃癌)及BxPC-3 (胰臟癌)用10% FBS RPMI 1640培養基培養且擴增。用0.05%胰蛋白酶採集細胞。接著，將各腫瘤細胞株之5 \times 10⁶個細胞(於總計0.1 mL，1:1比率之PBS及基質膠中)皮下注射至各小鼠(來自Charles River之6週齡雌性Nu/Nu小鼠)之右上側腹中。藉由在接種之後5至7天開始使用數位卡尺量測腫瘤體積來監測腫瘤生長，且遵循每週1至2次直至腫瘤體積達至約100-250 mm³為止。

治療

【0299】 在將腫瘤分段成所需體積後，將動物隨機分組且剔除具有極大或極小腫瘤之小鼠。將小鼠隨機分配至對照組或治療組中，其中每組6至8隻動物。隨後用PBS/媒劑、抗-Trop-2抗體或ADC化合物抗-Trop-2化合物1及ADC-CL2A-SN38治療小鼠。藉由每週兩次尾部靜脈注射2、3、5、10、15及25 mg/kg劑量之不同組合來給予治療，持續總共四個體積分別為0.2 mL之治療。

腫瘤生長量測

【0300】 每週監測腫瘤生長反應一次或兩次。在整個實驗時段中，每週藉由使用數位卡尺來量測腫瘤體積一次或兩次。使用下式計算體積：

$$\text{體積}(\text{mm}^3) = [\text{長度}(\text{mm}) \times \text{寬度}(\text{mm})^2] / 2。$$

使用下式計算TGI% (腫瘤生長抑制之百分比)：

$$\text{TGI \%} = \{1 - [\text{TVtd}-\text{TVt0}]/\text{CVtd}-\text{CVt0}\} \times 100$$

其中：

TV = 治療組之腫瘤體積，

CV = 對照組之腫瘤體積，

td = 起始治療之後的天數，及

t0 = 在第0天治療時。

當腫瘤負荷達至IACUC方案限制(2000 mm³)或預定時間時，藉由CO₂窒息處死小鼠。

結果

MDA-MB-468異種移植

【0301】 在不同給藥方案之兩個研究中，在裸小鼠之MDA-MB-468皮下異種移植中評估ADC抗-Trop-2化合物1及ADC-CL2A-SN38之功效。

在一項研究中，相比於PBS/媒劑及單獨抗-CD38抗體(5 mg/kg)之對照，以2及5 mg/kg i.v biw × 4給予ADC抗-Trop-2化合物1及ADC-CL2A-SN38之治療(圖6A)。抗-Trop-2化合物1及ADC-CL2A-SN38皆展示對MDA-MB-468腫瘤生長之極強及劑量依賴性抑制。在5 mg/kg下，抗-Trop-2化合物1及ADC-CL2A-SN38皆完全抑制MDA-MB-468腫瘤生長且分別使腫瘤大小減小28.8%及56.6%。在2 mg/kg之低劑量治療中，ADC抗-Trop-2化合物1及ADC-CL2A-SN38在起始治療之後至多36天仍分別展現對腫瘤生長之較強抑制，其中TGI持續為95.4%及88.6%。

【0302】 在第二項研究中，測試3及10 mg/kg，i.v biw × 4之給藥方案。根據各別地TGI為90-100%及減小之腫瘤大小，在3及10 mg/kg之抗-Trop-2化合物1及ADC-CL2A-SN38兩者之治療中同樣明顯可見較強抑制(圖6B)。在此研究中，在起始治療之後，抑制作用持續長達約100天。資料表明ADC抗-Trop-2化合物1顯著地抑制裸小鼠中之MDA-MB-468異種移植腫瘤生長。

NCI-N87異種移植

【0303】 在裸小鼠之NCI-N87皮下異種移植中藉由5及15 mg/kg i.v biw × 4之給藥方案相比於PBS/媒劑及單獨的抗-Trop-2抗體之對照來評估ADC抗-Trop-2化合物1及ADC-CL2A-SN38之功效(圖7)。資料表明抗-Trop-2化合物1及ADC-CL2A-SN38兩者皆以劑量依賴性方式抑制腫瘤生長。在15 mg/kg下，抗-Trop-2化合物1及ADC-CL2A-SN38顯著地抑制腫瘤生長，其中在起始治療之後的第22天，TGI分別為66.6%及99.7%。在5 mg/kg下，抗-Trop-2化合物1及ADC-CL2A-SN38兩者在NCI-N87異種移植模型中皆展示約45.0%之非顯著腫瘤生長抑制。資料表明抗-Trop-2化合

物1顯著地抑制裸小鼠中之NCI-N87異種移植腫瘤生長。

BxPC3異種移植

【0304】 在裸小鼠之BxPC3皮下異種移植中藉由3、10及25 mg/kg i.v biw×4之給藥方案相比於ADC-CL2A-SN38(10 mg/kg)、PBS/媒劑及單獨的抗-Trop-2抗體(10 mg/kg)來評估抗-Trop-2化合物1之功效(圖8)。所有三種劑量之抗-Trop-2化合物1顯著地抑制腫瘤生長，其中在起始治療之後第21天，TGI為85-100%。在BxPC3異種移植模型中未觀測到抗-Trop-2化合物1治療之劑量反應。資料表明抗-Trop-2化合物1顯著地抑制裸小鼠中之BxPC3異種移植腫瘤生長。

【0305】 以上異種移植研究之腫瘤生長抑制(TGI)顯示於表2中。

表2. ADC在異種移植腫瘤模型中之腫瘤生長抑制(TGI)。

ADC	所測試之劑量 (i.v. biw x 4)	異種移植腫瘤模型中之TGI%		
		MDA-MB-468	NCI-N87	BxPC3
ADC- CL2A- SN38	15 mg/kg	n/a	*99.7% (第22天)	n/a
	10 mg/kg	*100% (第77天)	n/a	*85.4% (第14天)
	5 mg/kg	*100% (第36天)	45.1% (第22天)	n/a
	3 mg/kg	*87.3% (第77天)	n/a	n/a
	2 mg/kg	*88.6% (第36天)	n/a	n/a
抗-Trop-2 化合物1	25 mg/kg	n/a	n/a	*86.4% (第14天)
	15 mg/kg	n/a	*66.6% (第22天)	n/a
	10 mg/kg	*100% (第77天)	n/a	*89.4% (第14天)
	5 mg/kg	*100% (第36天)	42.5% (第22天)	n/a
	3 mg/kg	*100% (第77天)	n/a	*82.6% (第14天)
	2 mg/kg	*95.4% (第36天)	n/a	n/a

$$TGI \% = \{1 - [TV_{td} - TV_{t0}] / [CV_{td} - CV_{t0}]\} \times 100$$

TV = 治療組之腫瘤體積，CV = 對照組之腫瘤體積，

td = 起始治療之後的天數，t0 = 在第0天治療時

* P < 0.05，藉由與媒劑/PBS之鄧尼特氏多重比較進行單因子或二因子變異數分析

實例B3：ADC抗-Trop-2化合物1之活體外穩定性。

【0306】 使用分析型SEC (Tosoh TSKgel G3000SW-XI管柱)在含有中性磷酸鹽緩衝液及15%異丙醇之等度溶離條件下，監測ADC-CL2A-SN38之高分子量(HMW)聚集物及經裂解/釋放之藥物-連接子片段兩者隨時間推移的存在。在280 nm吸光度(用於偵測蛋白質及藥物-連接子)及370 nm (僅偵測含藥物之物種)下監測樣品。起始時間點定義為在純化期間在主峰溶離之後<1h且包括常規最終處理所需要之時間。全部在室溫下實施之最終處理步驟包括部分濃縮至>2 mg/mL(經由離心超濾)、無菌過濾及最終ADC稀釋至6%海藻糖/PBS。在起始時間點之後，將ADC混合物在4°C下儲存24h，之後在室溫(避光)下再培育144小時(6天)。與ADC-CL2A-SN38並行且以相同方式實施抗-Trop-2化合物1之SEC分析及監測。資料表明關於蛋白質聚集及自發性藥物釋放，抗-Trop-2-Co化合物1比ADC-CL2A-SN38顯著更穩定(圖9)。穩定性研究之結果概述於表3中。

表3. ADC之穩定性資料。

培育時間(小時)	ADC-CL2A-SN38		抗-Trop-2化合物1	
	HMW聚集物 % (280 nm)	游離藥物釋放 % (370 nm)	HMW聚集物 % (280 nm)	游離藥物釋放 % (370 nm)
<1	1.9	0.0	0.0	1.0
24	2.3	0.9	0.7	0.8
96	4.7	17.0	1.1	0.8
168	5.3	33.5	1.1	0.9

實例B4：ADC抗-Trop-2化合物1之活體內穩定性。

【0307】 使用瑞士韋伯斯特小鼠在21天中之14個時間點評估血清中ADC抗-Trop-2化合物1之活體內穩定性。簡言之，抗-Trop-2化合物1以10 mg/mL靜脈內投與。分別在5 min、30 min、1小時、5小時、24小時、48

小時、72小時、96小時、120小時、168小時、240小時、336小時、408小時及504小時經由眶後靜脈神經叢收集全血樣品(約150 μ L)。每個時間點用3隻小鼠一式三份地進行實驗(n=3)。隨後藉由在4°C下靜置血液樣品40 min之後在8000 rpm下離心10分鐘來收集血清並儲存於-80°C下。

【0308】 比較抗-Trop-2化合物1與未結合抗Trop-2之血漿穩定性。發現經結合抗-Trop-2化合物1之量與ADC抗-Trop-2化合物1之總抗體量緊密匹配，此表明SN-38未顯著地自ADC釋放至血漿中(圖10)。因此，抗-Trop-2化合物1在血漿中為穩定的。

實例B5：抗體-藥物結合物(ADC)抗-Trop-2化合物1及ADC-CL2A-SN38之藥物動力學/藥效學。

【0309】 此研究之目的為評估ADC抗-Trop-2化合物1及ADC-CL2A-SN38在重複靜脈內輸注至食蟹獼猴之後的藥物動力學參數。

【0310】 *實驗設計*. 此研究中使用總共12隻食蟹獼猴(*cynomolgus macaques/Macaca fascicularis*)。將食蟹獼猴(6隻雄性、6隻雌性)分成3個組。各組具有2隻雌性及2隻雄性。第1組用ADC-CL2A-SN38治療，且第2組及第3組用抗Trop-2 化合物1治療。在第1天及第4天投與ADC之重複靜脈內輸注。ADC係以劑量60 mg/kg (藥物濃度：6 mg/mL)投與。如下自動物中獲得血液樣品：第1組及第2組-第1天(ADC投藥之前)、第4天(ADC投藥之前)、第4天ADC投藥後5 min、30 min、2 h、4 h、8 h、24 h、48 h、72 h、120 h及168 h；第3組-第1天(ADC投藥之前)、第4天(ADC投藥之前)、第4天ADC投藥後的5 min、30 min、2 h、4 h、8 h、24 h、48 h、72 h、120 h、168 h、240 h及336 h。

【0311】 在各時間點自後肢或前肢之靜脈獲得約0.8 mL血液之樣

品。在室溫下將各血液樣品轉移至含有分離凝膠及凝血劑之樣品管中，且在2小時內離心(1500 g，室溫、10 min)。將離心血清轉移至新制離心管中並且儲存在低於-70°C下。

【0312】 使用人類TROP2/TACSTD2蛋白質(His Tag)抗原以及山羊抗人類IgG Fc交叉吸附的二級抗體-HRP作為偵測抗體(LLOQ：19.5 ng/mL)來測定總抗體濃度。使用抗-SN38抗體及山羊-抗-人類IgG猴抗體(LLOQ：19.5 ng/mL)之組合來量測ADC-CL2A-SN38之結合抗體之濃度。使用抗-SN38抗體及山羊抗-人類IgG猴抗體(LLOQ：19.5 ng/mL)之組合來測定ADC抗-Trop-2化合物1之結合抗體之濃度。使用LC-MS/MS (LLOQ：0.200 ng/mL)來定量量測游離或未結合SN-38。

【0313】 使用Watson LIMS v.7.5 SP1 (Thermo Science Inc.)軟體處理資料。使用基於擬合分析批量標準曲線而獲得之等式的Watson計算模組來計算樣品濃度。使用WinNonLin v 5.2.1 (Pharsight Inc.)軟體來分析藥物代謝參數(非隔室分析)。

【0314】 結果.總抗體、經結合抗體及由裏SN-38之量概述於下表4中。資料表明將ADC-CL2A-SN38投與食蟹獼猴使得釋放大量游離SN-38(亦即，未結合藥物)，而僅少量游離SN-38自ADC抗-Trop-2化合物1中釋放。

表4.血液樣品中之總抗體、經結合抗體及游離SN-38。

天數	時間	ADC-CL2A-SN38 (n=4)*			抗-Trop-2化合物1 (n=8)*		
		總抗體 ($\mu\text{g/mL}$)	經結合抗 體($\mu\text{g/mL}$)	SN-38 ($\mu\text{g/m}$ L)	總抗體($\mu\text{g/mL}$)	經結合抗體 ($\mu\text{g/mL}$)	SN-38 ($\mu\text{g/m}$ L)
1	0	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL
4	0	486 \pm 39.6	115 \pm 76.7	216 \pm 70.1	74.9 \pm 28.3	49.9 \pm 19.1	BQL
4	5 m	1930 \pm 370	1610 \pm 156	2145 \pm 186.3	1810 \pm 145	1480 \pm 313	3.4 \pm 0.9
4	30 m	1720 \pm 193	1520 \pm 243	1930 \pm 331.3	1610 \pm 112	1320 \pm 266	3.8 \pm 1.7
4	2 h	1820 \pm 392	1590 \pm 257	1710 \pm 340.9	1330 \pm 106	1110 \pm 198	9.3 \pm 5.4
4	4 h	1470 \pm 190	1560 \pm 296	1668 \pm 443.7	1040 \pm 77.8	893 \pm 119	10.0 \pm 3.8
4	8 h	1340 \pm 161	1540 \pm 340	1388 \pm 252.6	770 \pm 63.6	690 \pm 119	15.2 \pm 9.4
4	24 h	1100 \pm 62.9	1360 \pm 334	771 \pm 146.2	330 \pm 73.6	274 \pm 61.2	1.3 \pm 0.5
4	48 h	972 \pm 105	566 \pm 171	566 \pm 79.9	182 \pm 66.6	148 \pm 38.7	0.3 \pm 0.1
4	72 h	810 \pm 91.0	148 \pm 52.7	142 \pm 92.1	130 \pm 44.5	96.1 \pm 41.4	0.2 \pm 0.0
4	120 h	487 \pm 22.3	8.96 \pm 3.99	12 \pm 2.9	64.9 \pm 30.6	53.1 \pm 23.4	BQL
4	168 h	209 \pm 178	1.40 \pm 0.447	2 \pm 0.3	41.4 \pm 20.6	26.3 \pm 10.4	BQL
4	240h	N.A.	N.A.	N.A.	20.8 \pm 13.1	10.1 \pm 8.81	BQL
4	336 h	N.A.	N.A.	N.A.	6.72 \pm 6.23	2.22(0.218~9.48) ^{&}	BQL
4	408 h	N.A.	N.A.	N.A.	0.401(0.0212~7.10) ^{&}	0.219(BQL~2.52) ^{&}	BQL
4	504 h	N.A.	N.A.	N.A.	BQL(BQL~2.49) ^{&}	BQL(BQL~1.30) ^{&}	BQL

*資料顯示為均值 \pm 標準差；BQL=低於定量極限；N.A.=不適用/未量測到。

[&]C.V.%(變化係數)大於100%，以中值指示；

【0315】在向食蟹獼猴投與ADC-CL2A-SN38 ADC及抗-Trop-2化合物1後，總抗體、經結合抗體及游離SN-38之藥物動力學參數之概述提供於表5中。

表5. ADC之藥物動力學參數。

PK參數	單位	ADC-CL2A-SN38			抗-Trop-2化合物1		
		總抗體	經結合抗體	SN-38	總抗體	經結合抗體	SN-38
K_{el}	1/h	0.0137 ± 0.00851	0.0508 ± 0.00332	0.0438 ± 0.00769	0.0154 ± 0.00383	0.0178 ± 0.00650	0.0607 ± 0.0348
$t_{1/2}$	小時	62.1 ± 25.8	13.7 ± 0.854	16.2 ± 2.53	47.1 ± 10.2	43.2 ± 13.9	16.1 ± 10.8
$T_{max}^{\#}$	小時	0.0833~2	0.0833~8	2.63 ± 1.70	0.0833	0.0833	6.75 ± 2.38
C_{max}	µg/mL	2010 ± 332	1690 ± 277	2018 ± 295 ^a	1810 ± 145	1480 ± 313	15.7 ± 7.82 ^a
AUC ₍₀₋₁₆₈₎	hr* µg/mL	122000 ± 6850	71100 ± 17200	57935 ± 12326 ^a	34900 ± 7110	28800 ± 5700	235 ± 122 ^a
AUC ₍₀₋₅₀₄₎	hr* µg/mL	N.A.	N.A.	N.A.	39700 ± 9710	34600 ± 2080	243 ± 89.7 ^a
AUC _(0-inf)	hr* µg/mL	151000 ± 18500	71200 ± 17300	58039 ± 12432 ^a	38400 ± 9270	30800 ± 6580	246 ± 98.3 ^a
AUC _(t-inf)	%	18.3 ± 13.3	0.103 ± 0.115	0.159 ± 0.133	3.64 ± 4.11	3.06 ± 3.74	3.31 ± 3.24
V_d	mL/kg	34.5 ± 11.7	17.4 ± 4.33	N.A.	108 ± 19.7	124 ± 43.3	N.A.
CL	mL/h/kg	0.401 ± 0.0553	0.876 ± 0.184	N.A.	1.64 ± 0.361	2.04 ± 0.527	N.A.
MRT_{inf}	小時	93.5 ± 27.8	26.4 ± 1.43	N.A.	53.6 ± 13.3	47.4 ± 12.2	N.A.

N.A. = 不適用；

[#] 藉由值範圍指示；

^a SN-38之單位為h* ng/mL。

討論.

【0316】 在向食蟹獼猴靜脈內投與60 mg/kg ADC-CL2A-SN38之後，總抗體及經結合抗體之峰值濃度(C_{max})略微高於以相同劑量投與的抗-Trop-2化合物1之峰值濃度。另外，針對ADC-CL2A-SN38的總抗體及經結合抗體之暴露水準(AUC)顯著大於抗-Trop-2化合物1之暴露水準。

【0317】 相比於抗-Trop-2化合物1，自ADC-CL2A-SN38釋放之游

離SN-38顯著更高。特定言之，自ADC-CL2A-SN38釋放游離SN-38提供高於抗-Trop-2化合物1之對應峰值濃度約129倍的峰值濃度(C_{max})，及大於抗anti-Trop-2化合物1之對應AUC參數約247倍的AUC值。此外，ADC-CL2A-SN38總抗體之半衰期($t_{1/2}$)略微長於抗-Trop-2化合物1之半衰期，但由於游離SN-38之快速釋放，ADC-CL2A-SN38結合抗體之半衰期顯著短於抗-Trop-2化合物1結合抗體之半衰期。抗-Trop-2化合物1總抗體及經結合抗體之半衰期相似，為約40小時。此外，針對ADC-CL2A-SN38之總抗體與經結合抗體之AUC_(0-inf)比率為2.1，而針對抗-Trop-2化合物1之對應值為1.2。

【0318】總之，資料顯示抗-Trop-2化合物1具有比ADC-CL2A-SN38更大的活體內穩定性且釋放較少的游離SN-38。由於SN-38之解離與用基於SN-38之ADC治療之個體中的較高不良事件頻率相關，抗-Trop-2化合物1提供相比於ADC-CL2A-SN38提高的安全性。

實例B6：抗體-藥物結合物(ADC)抗-Trop-2化合物1及ADC-CL2A-SN38之毒性研究。

【0319】此研究之目的為評估ADC抗-Trop-2化合物1及ADC-CL2A-SN38在重複靜脈內輸注至食蟹獼猴之後的毒性概況。

實驗設計.

【0320】此研究中使用總共12隻食蟹獼猴(*cynomolgus macaques/Macaca fascicularis*)。根據動物之重量將食蟹獼猴隨機分成3個組(4隻動物/組，雄性及雌性)。

【0321】在第1天及第4天投與ADC之重複靜脈內輸注。ADC係以劑量60 mg/kg投與。

【0322】 在第1天及第4天用ADC-CL2A-SN38治療第1組動物。在第1天及第4天用抗-Trop-2化合物1治療第2組及第3組動物。使用10 mL/kg之給藥容量及大致0.33 mL/min/kg之給藥速度向動物靜脈內投與ADC。在最後ADC治療之後一週(第12天)使第1組及第2組動物安樂死。在最後ADC治療之後四週(第30天)使第3組動物安樂死。在研究期間，檢測臨床觀測結果、體重、體溫、心電圖、血球計數、凝血功能、血液生物化學、一般解剖結構、病理組織學及毒理動力學。

結果.

【0323】 *死亡/瀕臨死亡.* 在研究期間，發現1隻用ADC-CL2A-SN38治療之雄性動物在第11天死亡。死亡動物之一般解剖結構展示小胸腺；組織病理學檢查展示胸腺中之分散皮質及骨髓細胞之數目減少(與一般解剖結構之結果一致)且脾白漿多灶性細胞之數目略微減少。死亡動物在臨床上觀測到在第8天及第9天具有少量黃色鬆散大便，且在第9天顯示缺乏能量、傾向於躺臥、減少自發性活動及面頰蒼白。用抗-Trop-2化合物1治療之動物中無一者死亡且無一者出現瀕臨死亡。

【0324】 *臨床觀測結果.* 在研究期間，用ADC-CL2A-SN38治療之動物組自第7天開始展示異常的臨床表現，諸如黃色鬆散大便、面頰及牙齦蒼白、牙齦出血。用抗-Trop-2化合物1治療之動物組自第7天開始展示異常的臨床症狀：牙齦及面頰蒼白、牙齦出血及生殖器腫脹。

【0325】 *體重.* 相對於治療前(第-3天)，第1組中一隻用ADC-CL2A-SN38治療之雄性動物的體重減輕約9.2%(第7天)，且一隻雌性動物之體重減輕約9.9% (第7天)。用抗-Trop-2化合物1治療之動物並未顯示體重有顯著異常的變化。

【0326】 *體溫及心電圖*. 在研究期間，用ADC-CL2A-SN38或抗-Trop-2化合物1治療之動物中無一者展示體溫或心電圖參數及波形的顯著異常變化。

【0327】 *血球計數*. 相對於治療前(第-2天)，用ADC-CL2A-SN38治療之動物顯示白血球、嗜中性球、淋巴球及單核球減少。此等細胞在用抗-Trop-2化合物1治療之雄性及雌性動物中尚未顯著地減少。相對於治療前(第-2天)，用ADC-CL2A-SN38治療之動物展示紅細胞、血紅蛋白及紅血球比容積(第5天及/或第12天)減少。此等細胞在用抗-Trop-2化合物1治療之雄性及雌性動物中尚未顯著地減少。此等細胞計數之變化可與骨髓抑制相關。相對於治療前(第-2天)，用ADC-CL2A-SN38治療之兩隻雌性動物之血小板計數增加(105.7%及44.6%，第12天)。

【0328】 *凝血功能*. 相對於治療前(第-2天)，用ADC-CL2A-SN38治療之動物中的血纖維蛋白原之量在第12天增加。血纖維蛋白原之量在用抗-Trop-2化合物1治療之動物中亦增加，且活化部分凝血酶時間(aPTT)亦增加。

【0329】 *血液生物化學*. 相對於治療前(第-2天)，用ADC-CL2A-SN38或抗-Trop-2化合物1治療之動物展示總膽紅素(TBil)在第2天及第5天增加，且白蛋白在第12天減少。

【0330】 *一般及組織學病變檢查*. 用ADC-CL2A-SN38治療之3隻動物之治療結束安樂死(第12天)展示動物具有小胸腺，對應於顯微鏡觀測結果：胸腺中皮質細胞計數之略微至中度減少及髓鞘細胞計數之減少。胸腺之一般病灶有可能與ADC-CL2A-SN38相關，因為其高發生率及程度之病變。用抗-Trop-2化合物1治療之2隻雌性動物之治療結束安樂死(第12天)

及用抗-Trop-2化合物1治療之1隻雄性動物之治療結束安樂死(第30天)顯示胸腺中皮質分散細胞之略微減少。由於此類病變通常作為背景病變在食蟹獼猴中進行觀測且病變之程度相對較輕，所以其可能或可能不與抗-Trop-2化合物1相關。

討論.

【0331】 向食蟹獼猴重複靜脈內輸注劑量為60 mg/kg之ADC-CL2A-SN38可導致動物死亡。主要毒性作用為：(i)體重減輕；(ii)白血球、嗜中性球、淋巴球、單核球、紅血球、血紅蛋白、HCT、Retic及白蛋白之減少；及(iii)血小板、血纖維蛋白原及總膽紅素增加。具有毒性之主要目標器官為胸腺及脾臟。相比之下，給藥抗-Trop-2化合物1使得毒性作用顯著減少。因此，相較於ADC-CL2A-SN38，抗-Trop-2化合物1提供在毒性方面之改良(亦即，具有較少毒性)。

【0332】 雖然出於清楚理解之目的，已藉助於說明及實例相當詳細地描述前述本發明，但描述及實例不應解釋為限制本發明之範疇。本文所引用之所有專利及科學文獻之揭示內容以全文引用之方式明確併入本文中。

序列表

SEQ ID NO	描述	序列
1	抗-Trop-2 抗體VL HVR1	KASQDVSIAVA
2	抗-Trop-2 抗體VL HVR2	SASYRYT
3	抗-Trop-2 抗體VL HVR3	QQHYITPLT
4	抗-Trop-2 抗體VH HVR1	NYGMN
5	抗-Trop-2 抗體VH HVR2	WINTYTGEPTYTDDFKG
6	抗-Trop-2 抗體VH HVR3	GGFGSSYWYFDV
7	抗-Trop-2 抗體VL	DIQLTQSPSSLSASVGDVRSITCKASQDVSIAVAWYQQKPGKAPKLLI YSASYRYTGVPDRFSGSGSGTDFTLTITSSLPEDFAVYYCQQHYITPL TFGAGTKVEIKR
8	抗-Trop-2 抗體VH	QVQLQQSGSELKKPGASVKVSCASGYTFTNYGMNWVKQAPGQGLKWM GWINTYTGEPTYTDDFKGRFAFSLDTSVSTAYLQISSLKADDTAVYFC ARGGFGSSYWYFV
9	例示性人 類Trop-2 序列 (UniProt寄 存編號 P09758)	MARGPGLAPPPLRLPLLLLVLAAVTGHTAAQDNCTCPTNKMTVCSPDG PGGRCQCRALGSGMAVDCSTLTSKCLLLKARMSAPKNARTLVRPSEHA LVDNDGLYDPDCDPEGRFKARQCNQTSVCWCVNSVGVRRTDKGDLRL CDELVRTHHILIDLHRPTAGAFNHSDLDAELRRLFREYRLHPKFVA AVHYEQPTIQIELRQNTSQKAAGDVDIGDAAYYFERDIKGESLFQGRG GLDLRVRGEPLQVERTLIYYLDEIPPKFMSKRLTAGLIAIVVVVVAL VAGMAVLVI TNRRKSGKYKKVEIKELGELRKEPSL

【序列表】

<110> 中國大陸商聯寧（蘇州）生物製藥有限公司(Levena (Suzhou) Biopharma Co., Ltd.)
中國大陸商上海詩健生物科技有限公司(Escugen Biotechnology Co. Ltd.)

<120> 包含抗-TROP-2抗體之抗體藥物結合物

<150> PCT/CN2020/088565

<151> 2020-05-03

<150> PCT/CN2021/086849

<151> 2021-04-13

<160> 9

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 抗-TROP-2抗體VL HVR1

<400> 1

Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser Ile Ala Val Ala

1 5 10

<210> 2

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 抗-TROP-2抗體VL HVR2

<400> 2

Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr

1 5

<210> 3

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 抗-TROP-2抗體VL HVR3

<400> 3

Gln Gln His Tyr Ile Thr Pro Leu Thr

1 5

<210> 4

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 抗-TROP-2抗體VH HVR1

<400> 4

Asn Tyr Gly Met Asn

1 5

<210> 5

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 抗-TROP-2抗體VH HVR2

<400> 5

Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Thr Asp Asp Phe Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 6

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 抗-TROP-2抗體VH HVR3

<400> 6

Gly Gly Phe Gly Ser Ser Tyr Trp Tyr Phe Asp Val
 1 5 10

<210> 7

<211> 108

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 抗-TROP-2抗體VL

<400> 7

Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15

Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser Ile Ala
 20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Ile Thr Pro Leu
 85 90 95

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
 100 105

<210> 8

<211> 109

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 抗-TROP-2抗體VH

<400> 8

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
 20 25 30

Gly Met Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Lys Trp Met
 35 40 45

Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Thr Asp Asp Phe
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Asp Thr Ser Val Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Asp Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
 85 90 95

Ala Arg Gly Gly Phe Gly Ser Ser Tyr Trp Tyr Phe Val
 100 105

<210> 9

<211> 323

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 例示性人類Trop-2序列(UniProt寄存編號P09758)

<400> 9

Met Ala Arg Gly Pro Gly Leu Ala Pro Pro Pro Leu Arg Leu Pro Leu
 1 5 10 15

Leu Leu Leu Val Leu Ala Ala Val Thr Gly His Thr Ala Ala Gln Asp
 20 25 30

Asn Cys Thr Cys Pro Thr Asn Lys Met Thr Val Cys Ser Pro Asp Gly
 35 40 45

Pro Gly Gly Arg Cys Gln Cys Arg Ala Leu Gly Ser Gly Met Ala Val
 50 55 60

Asp Cys Ser Thr Leu Thr Ser Lys Cys Leu Leu Leu Lys Ala Arg Met
 65 70 75 80

Ser Ala Pro Lys Asn Ala Arg Thr Leu Val Arg Pro Ser Glu His Ala
 85 90 95

Leu Val Asp Asn Asp Gly Leu Tyr Asp Pro Asp Cys Asp Pro Glu Gly
 100 105 110

Arg Phe Lys Ala Arg Gln Cys Asn Gln Thr Ser Val Cys Trp Cys Val
 115 120 125

Asn Ser Val Gly Val Arg Arg Thr Asp Lys Gly Asp Leu Ser Leu Arg
 130 135 140

Cys Asp Glu Leu Val Arg Thr His His Ile Leu Ile Asp Leu Arg His
 145 150 155 160

Arg Pro Thr Ala Gly Ala Phe Asn His Ser Asp Leu Asp Ala Glu Leu
 165 170 175

Arg Arg Leu Phe Arg Glu Arg Tyr Arg Leu His Pro Lys Phe Val Ala
 180 185 190

Ala Val His Tyr Glu Gln Pro Thr Ile Gln Ile Glu Leu Arg Gln Asn
 195 200 205

Thr Ser Gln Lys Ala Ala Gly Asp Val Asp Ile Gly Asp Ala Ala Tyr
 210 215 220

Tyr Phe Glu Arg Asp Ile Lys Gly Glu Ser Leu Phe Gln Gly Arg Gly
 225 230 235 240

Gly Leu Asp Leu Arg Val Arg Gly Glu Pro Leu Gln Val Glu Arg Thr
245 250 255

Leu Ile Tyr Tyr Leu Asp Glu Ile Pro Pro Lys Phe Ser Met Lys Arg
260 265 270

Leu Thr Ala Gly Leu Ile Ala Val Ile Val Val Val Val Val Ala Leu
275 280 285

Val Ala Gly Met Ala Val Leu Val Ile Thr Asn Arg Arg Lys Ser Gly
290 295 300

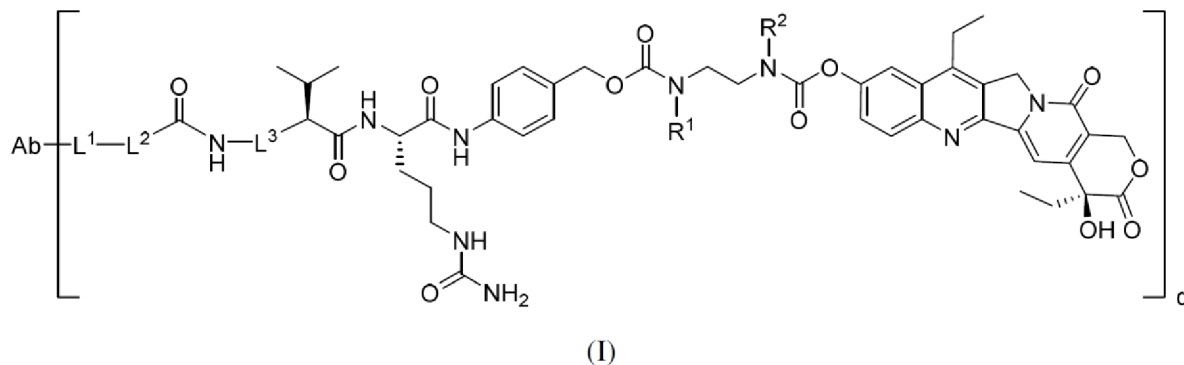
Lys Tyr Lys Lys Val Glu Ile Lys Glu Leu Gly Glu Leu Arg Lys Glu
305 310 315 320

Pro Ser Leu

【發明申請專利範圍】

【請求項1】

一種抗體-藥物結合物(ADC)，其具有式(I)：



或為其醫藥學上可接受之鹽，其中：

Ab為抗-Trop-2抗體；

q為介於1至20範圍內之值；

L¹為結合至該抗-Trop-2抗體之連接子；

L²為-(CH₂)_p-，其中p為4、5、6、7或8；

L³為一鍵或基於聚氧乙烯之二價連接子；及

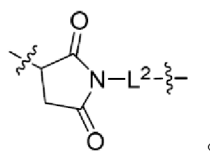
R¹及R²各自獨立地為C₁₋₆烷基。

【請求項2】

如請求項1之ADC，其中L¹為結合至該抗-Trop-2抗體之硫的連接子。

【請求項3】

如請求項1或2之ADC，其中-L¹-L²-為



【請求項4】

如請求項1至3中任一項之ADC，其中q為1、2、3、4、5、6、7、

8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20，介於1至10範圍內之值或介於6至8範圍內之值。

【請求項5】

如請求項1至4中任一項之ADC，其中p為4、5或6，較佳地為5。

【請求項6】

如請求項1至5中任一項之ADC，其中L³為一鍵。

【請求項7】

如請求項1至5中任一項之ADC，其中L³為基於聚氧乙烯之二價連接子。

【請求項8】

如請求項1至7中任一項之ADC，其中R¹為C₁₋₄烷基或C₁₋₃烷基。

【請求項9】

如請求項8之ADC，其中R¹為甲基或乙基。

【請求項10】

如請求項1至9中任一項之ADC，其中R²為C₁₋₄烷基或C₁₋₃烷基。

【請求項11】

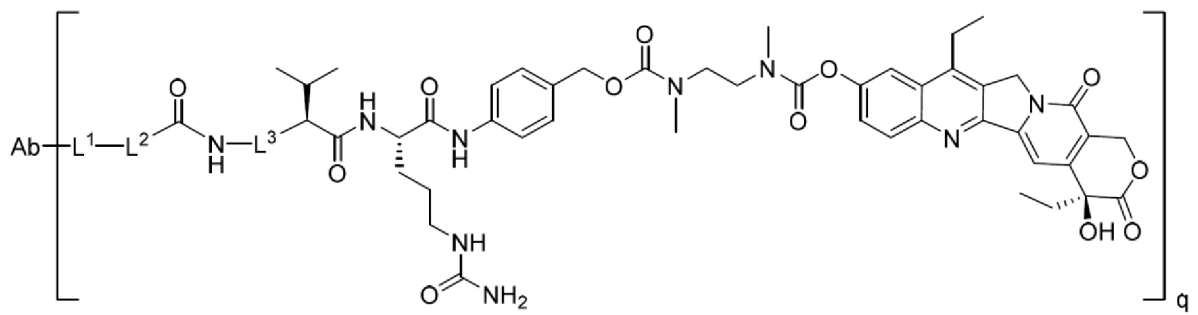
如請求項10之ADC，其中R²為甲基或乙基。

【請求項12】

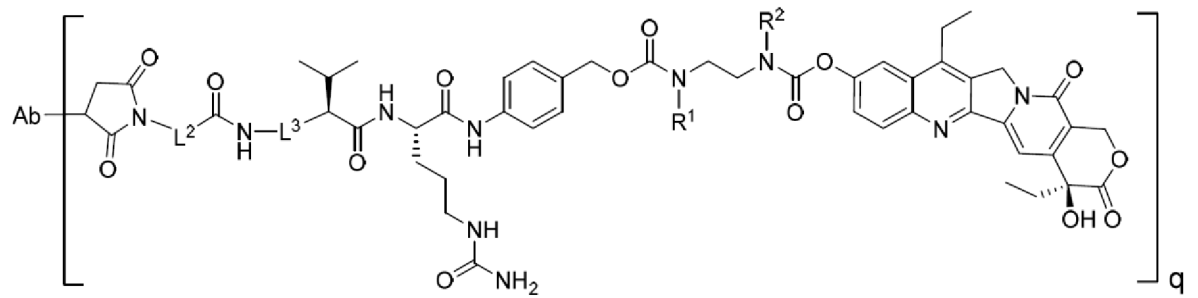
如請求項1至11中任一項之ADC，其中R¹與R²相同。

【請求項13】

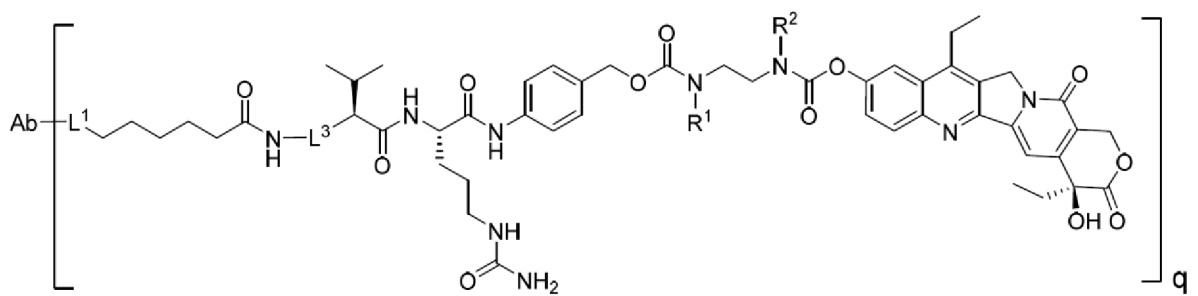
如請求項1至12中任一項之ADC，其中該ADC具有式(IIa)、(IIb)、(IIc)、(IIIa)、(IIIb)或(IIIc)：



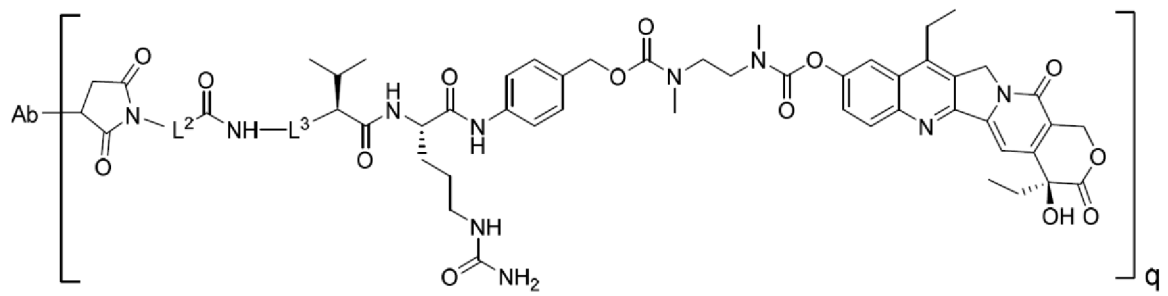
(IIa) 、



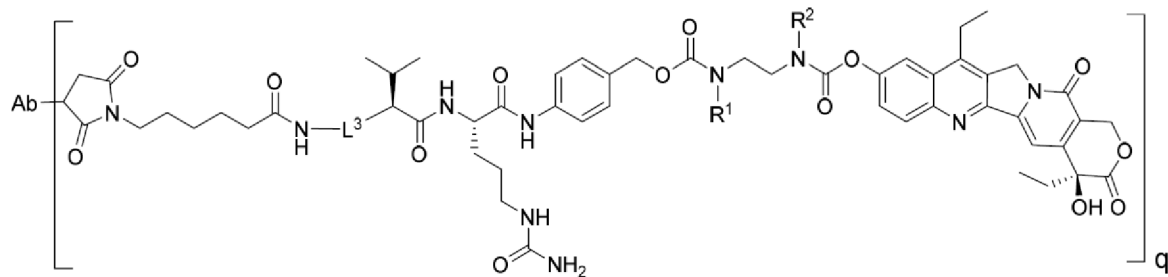
(IIb) 、



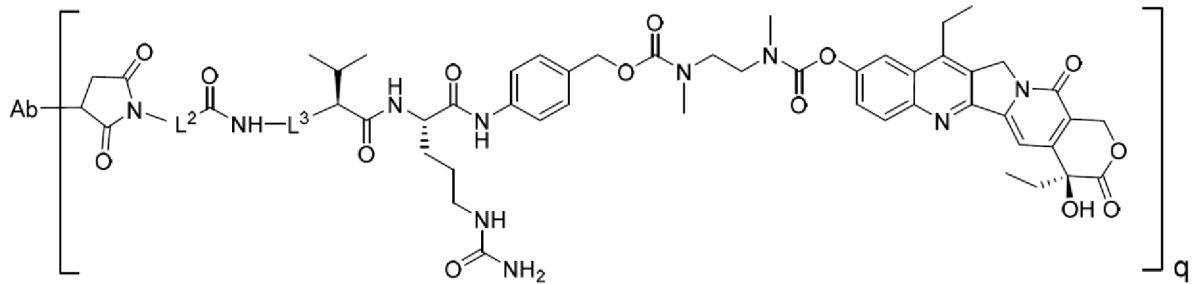
(IIc) 、



(IIIa) 、



(IIIb) 、

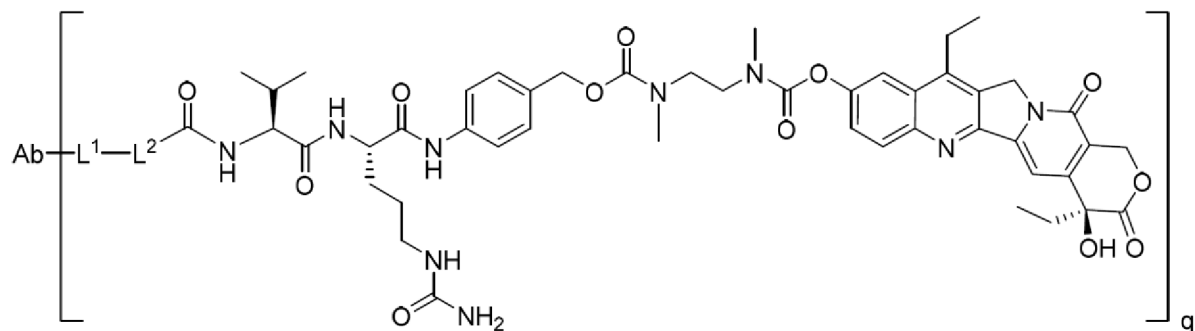


(IIIc)

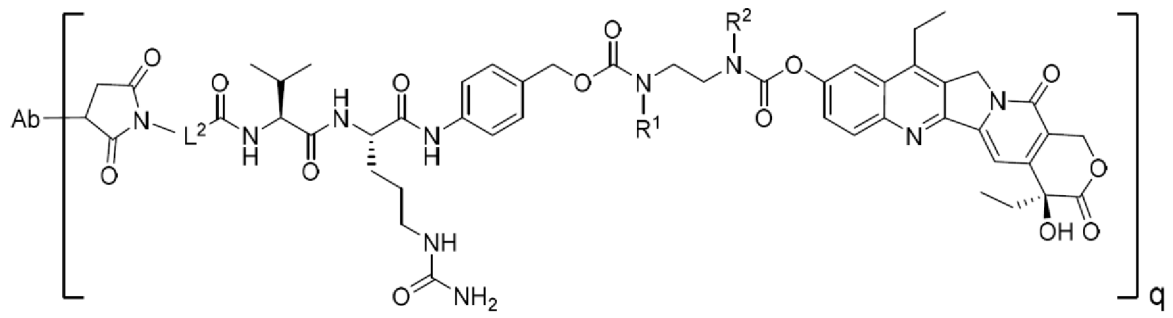
或其醫藥學上可接受之鹽。

【請求項14】

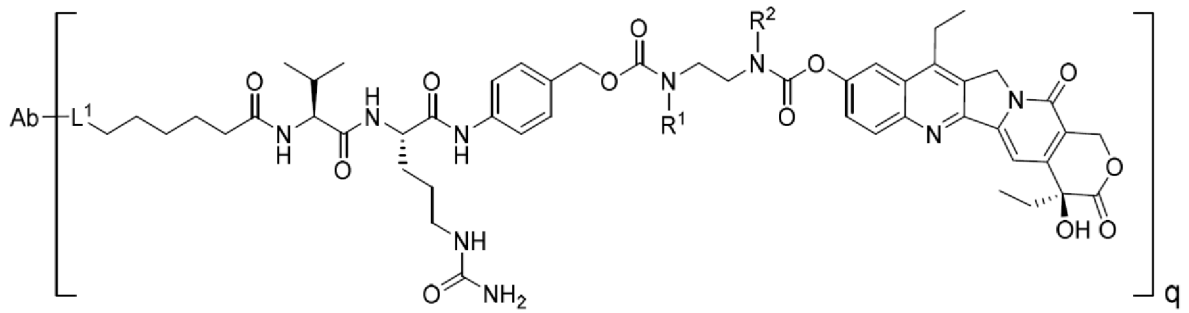
如請求項13之ADC，其中該ADC具有式(IIa-1)、(IIb-1)、(IIc-1)、(IIIa-1)、(IIIb-1)或(IIIc-1)：



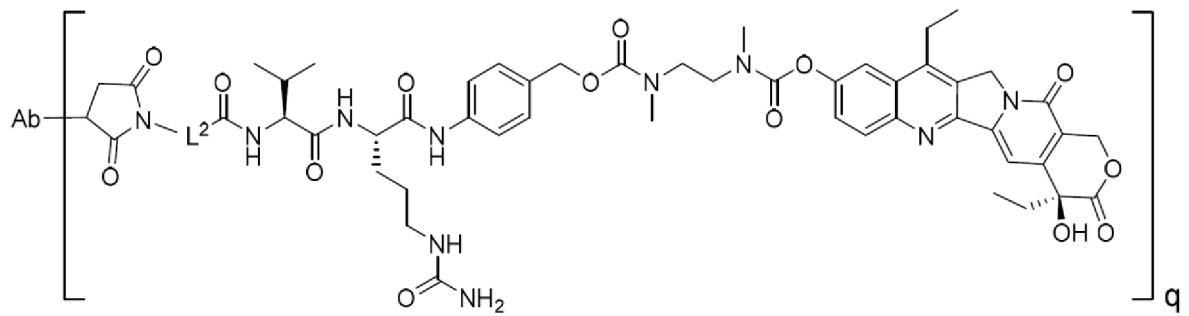
(IIa-1) 、



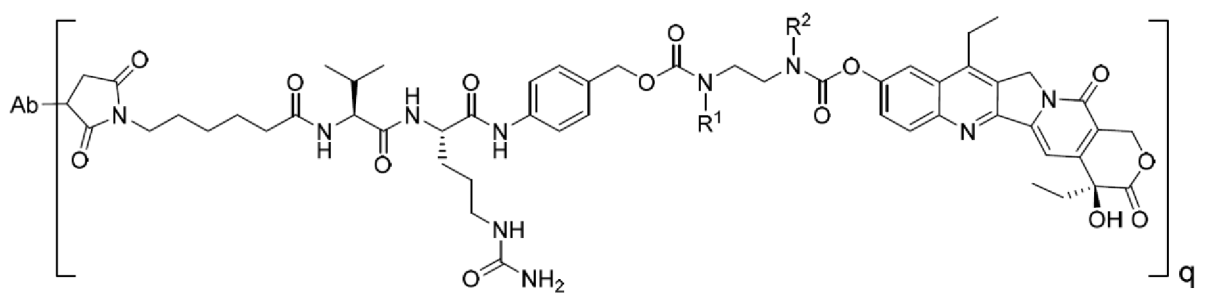
(IIb-1) 、



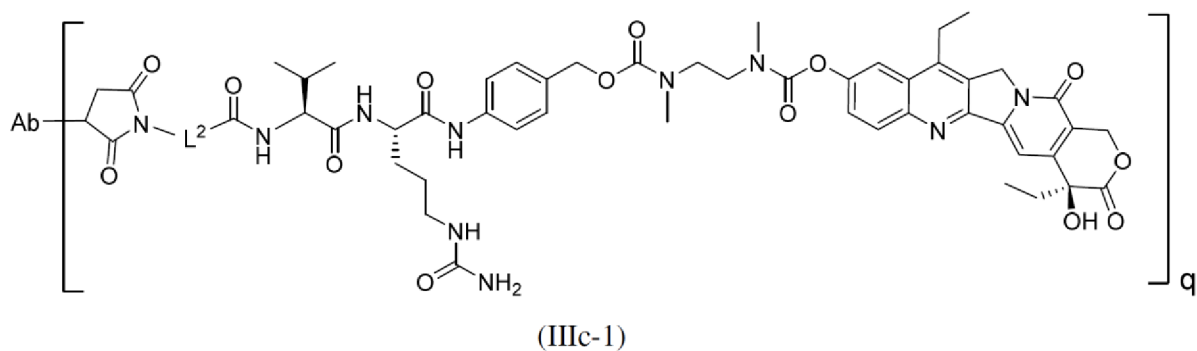
(IIc-1) 、



(IIIa-1) 、



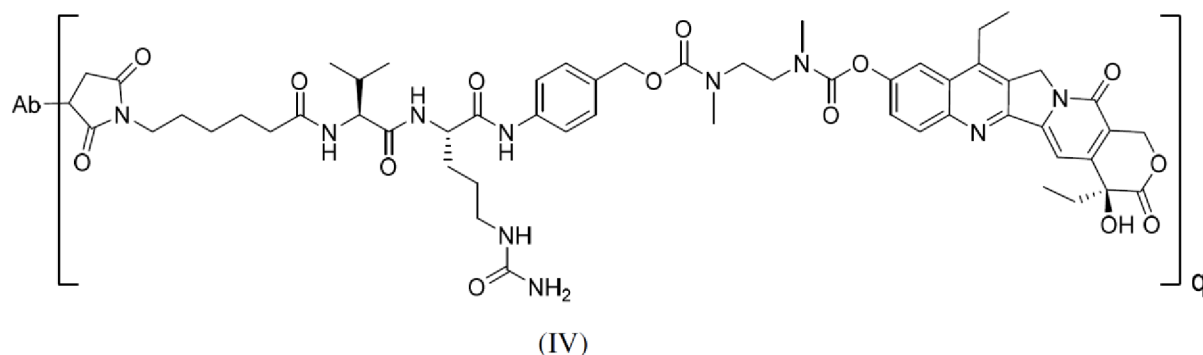
(IIIb-1) 、



或其醫藥學上可接受之鹽。

【請求項15】

如請求項1之ADC，其中該ADC具有式(IV)：



或其醫藥學上可接受之鹽。

【請求項16】

如請求項1至15中任一項之ADC，其中該抗-Trop-2抗體包含：包含SEQ ID NO: 1之序列的VL HVR1、包含SEQ ID NO: 2之序列的VL HVR2、包含SEQ ID NO: 3之序列的VL HVR3、包含SEQ ID NO: 4之序列的VH HVR1、包含SEQ ID NO: 5之序列的VH HVR2及包含SEQ ID NO: 6之序列的VH HVR3。

【請求項17】

如請求項1至16中任一項之ADC，其中該抗-Trop-2抗體包含：具有與SEQ ID NO: 7具有至少95%、96%、97%、98%、或99%一致性之序列的VL；具有與SEQ ID NO: 8具有至少95%、96%、97%、98%或99%一致

性之序列的VH；具有SEQ ID NO: 7之序列的VL；及/或具有SEQ ID NO: 8之序列的VH。

【請求項18】

如請求項1至17中任一項之ADC，其中該抗-Trop-2抗體包含：κ輕鏈，及/或IgG抗體，視情況其中該抗-Trop-2抗體為IgG1抗體。

【請求項19】

如請求項1至18中任一項之ADC，其中該抗-Trop-2抗體結合人類Trop-2，視情況其中該人類Trop-2具有SEQ ID NO: 9之胺基酸序列。

【請求項20】

一種如請求項1至19中任一項之ADC的用途，其用於製造藥劑，視情況用於製造供治療表現Trop-2之癌症的藥劑。

【請求項21】

如請求項20之用途，其中該表現Trop-2之癌症為上皮細胞衍生之癌症，視情況其中該表現Trop-2之癌症為癌瘤。

【請求項22】

如請求項21之用途，其中該癌瘤為基底細胞癌、鱗狀細胞癌、腎細胞癌、乳腺管原位癌、侵襲性乳腺管癌或腺癌。

【請求項23】

如請求項21或22之用途，其中該表現Trop-2之癌症包含實體腫瘤。

【請求項24】

如請求項21至23中任一項之用途，其中該表現Trop-2之癌症為轉移性及/或復發性癌症。

【請求項25】

如請求項28之方法，其中B為能夠與該抗-Trop-2抗體之巰基形成一鍵的反應性部分。

【請求項30】

如請求項28或29之方法，其中B為N-順丁烯二醯亞胺基。

【請求項31】

如請求項28至30中任一項之方法，其中該ADC為如請求項1至19中任一項之ADC。

【請求項32】

如請求項28至31中任一項之方法，其中p為4、5或6，較佳地為5。

【請求項33】

如請求項28至32中任一項之方法，其中R¹為C₁₋₄烷基或C₁₋₃烷基。

【請求項34】

如請求項33之方法，其中R¹為甲基或乙基。

【請求項35】

如請求項28至34中任一項之方法，其中R²為C₁₋₄烷基或C₁₋₃烷基。

【請求項36】

如請求項35之方法，其中R²為甲基或乙基。

【請求項37】

如請求項28至36中任一項之方法，其中R¹與R²相同。

【請求項38】

如請求項28至37中任一項之方法，其中L³為一鍵。

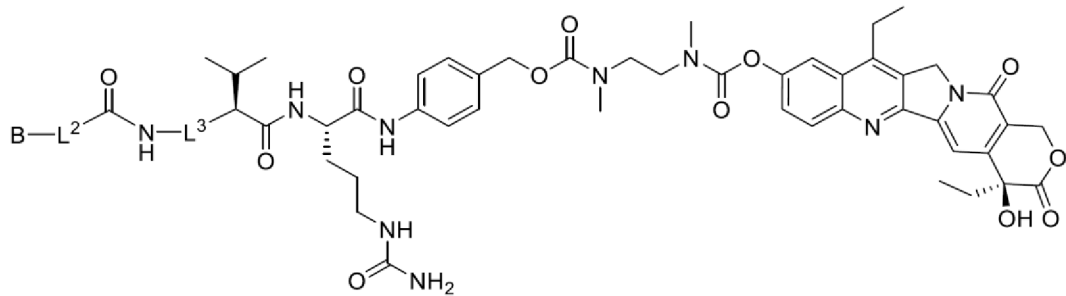
【請求項39】

如請求項28至37中任一項之方法，其中L³為基於聚氧乙烯之二價連

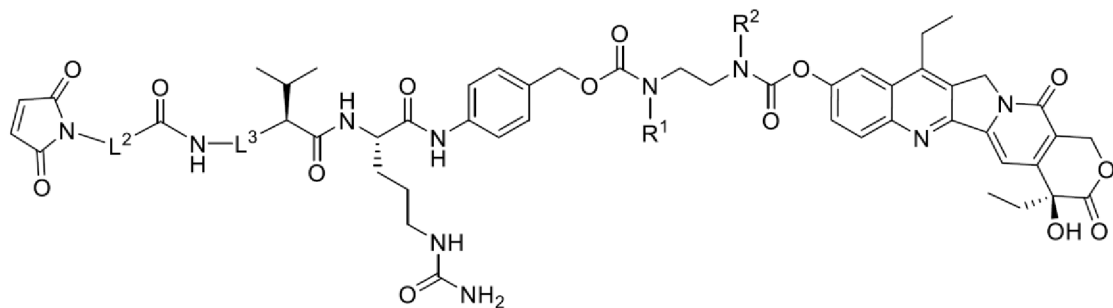
接子。

【請求項40】

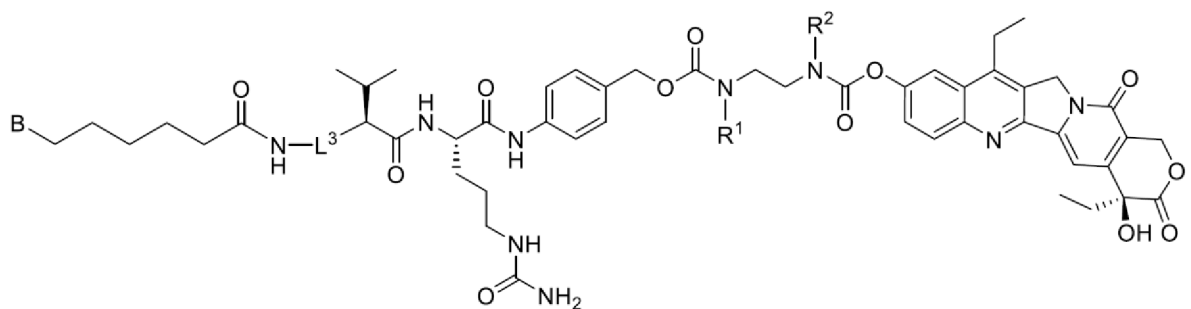
如請求項28至39中任一項之方法，其中該分子具有式(P-IIa)、(P-IIb)、(P-IIc)、(P-IIIa)、(P-IIIb)或(P-IIIc)：



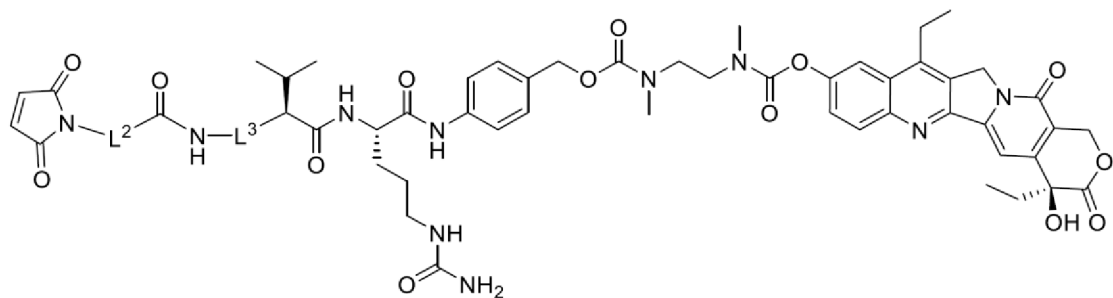
(P-IIa)、



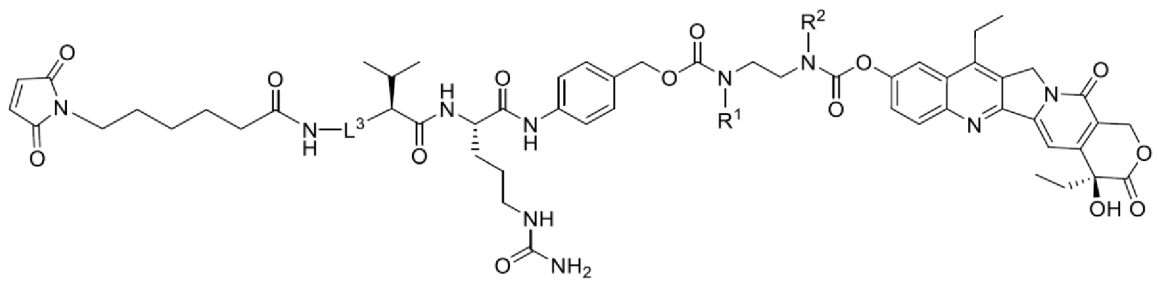
(P-IIb)、



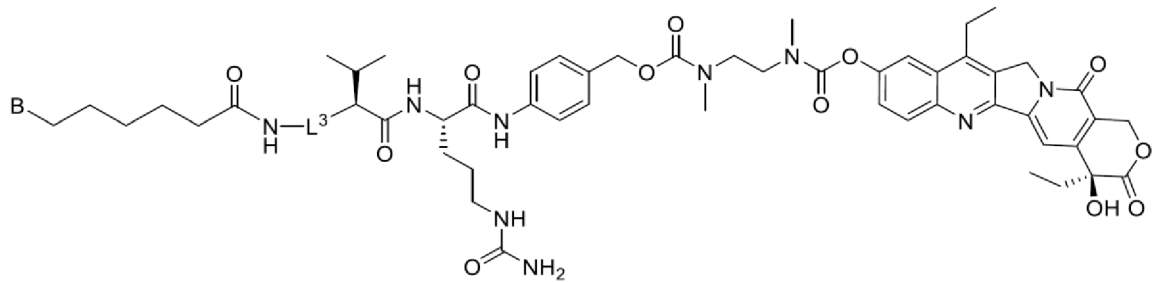
(P-IIc)、



(P-IIIa)、



(P-IIIb) 、

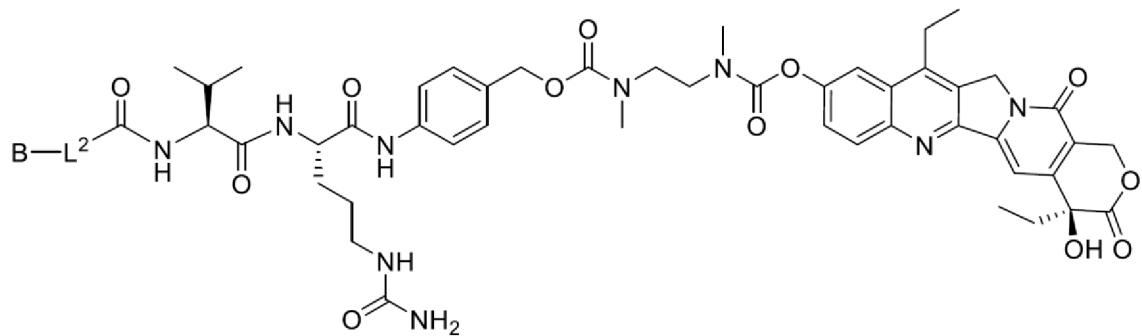


(P-IIIc)

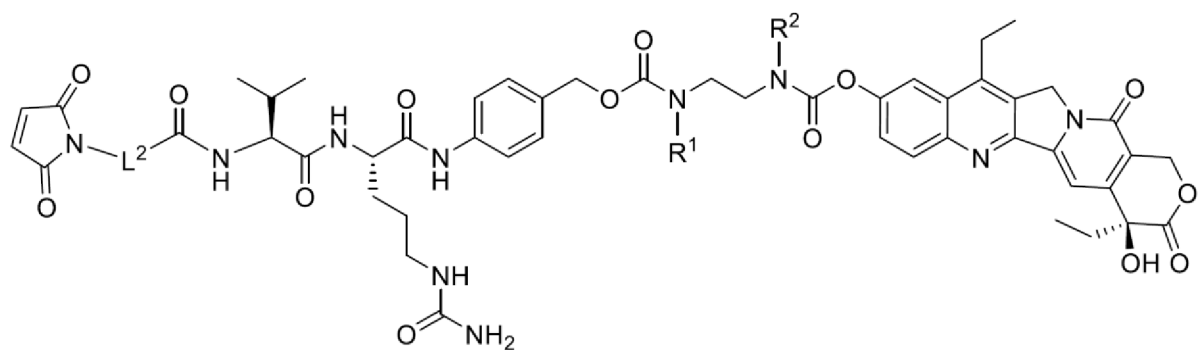
或其醫藥學上可接受之鹽。

【請求項41】

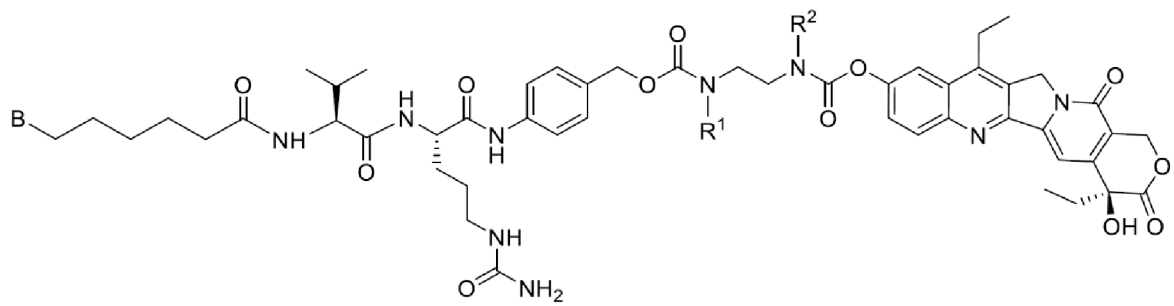
如請求項40之方法，其中該分子具有式(P-IIa-1)、(P-IIb-1)、(P-IIc-1)、(P-IIIa-1)、(P-IIIb-1)或(P-IIIc-1)：



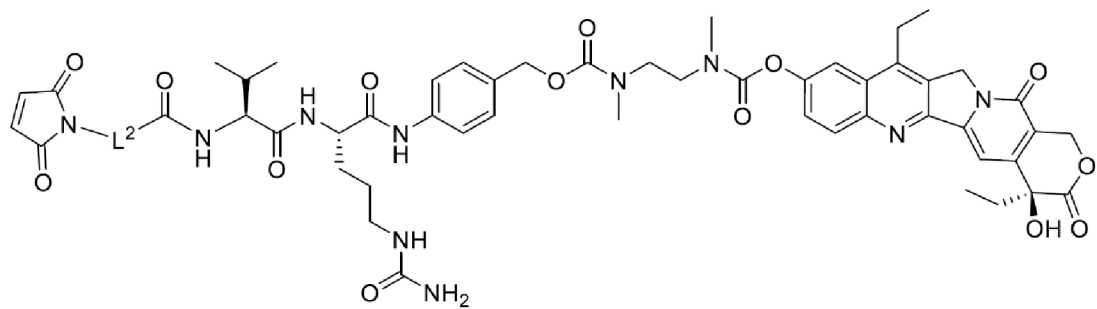
(P-IIa-1) 、



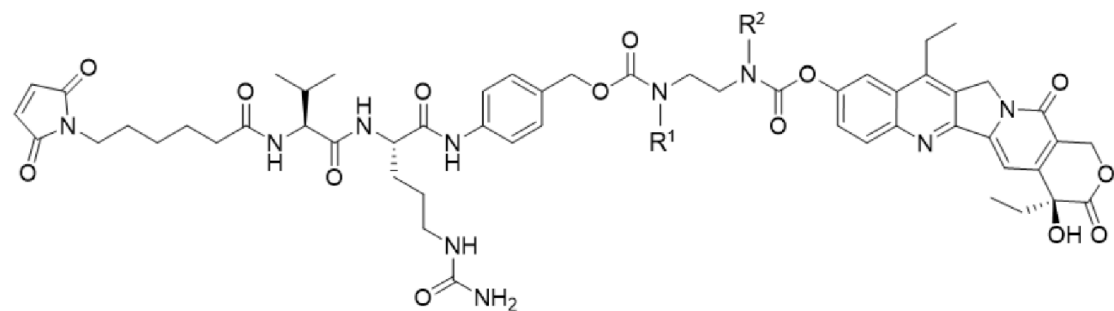
(P-IIb-1) 、



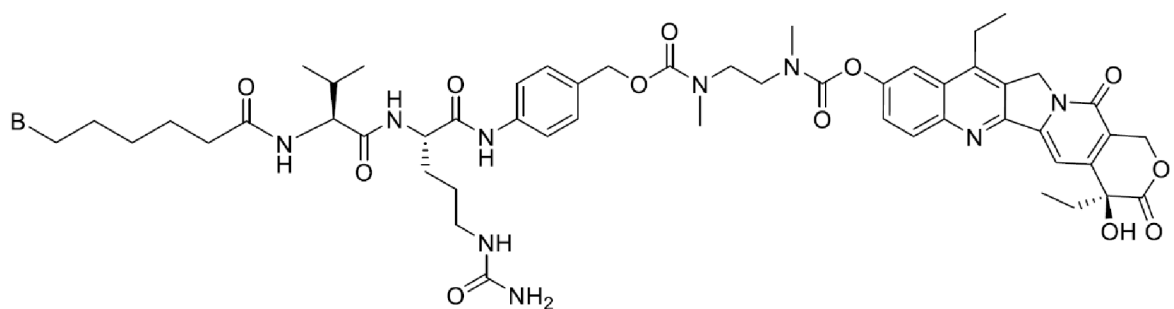
(P-IIc-1) 、



(P-IIIa-1) 、



(P-IIIb-1) 、

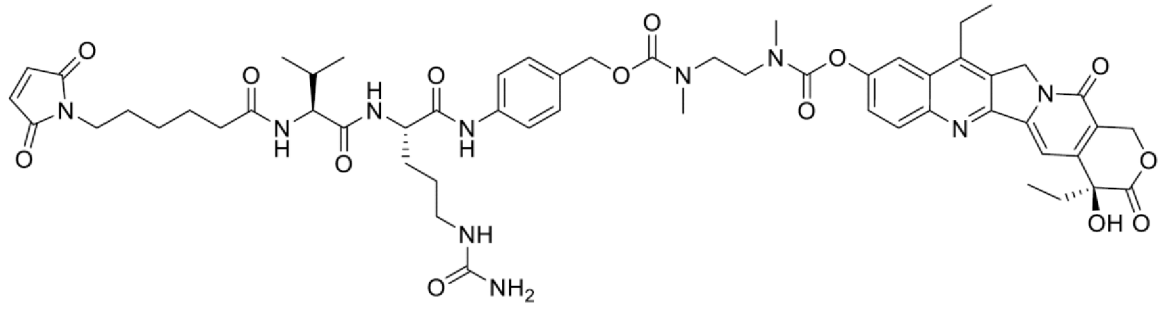


(P-IIIc-1)

或其醫藥學上可接受之鹽。

【請求項42】

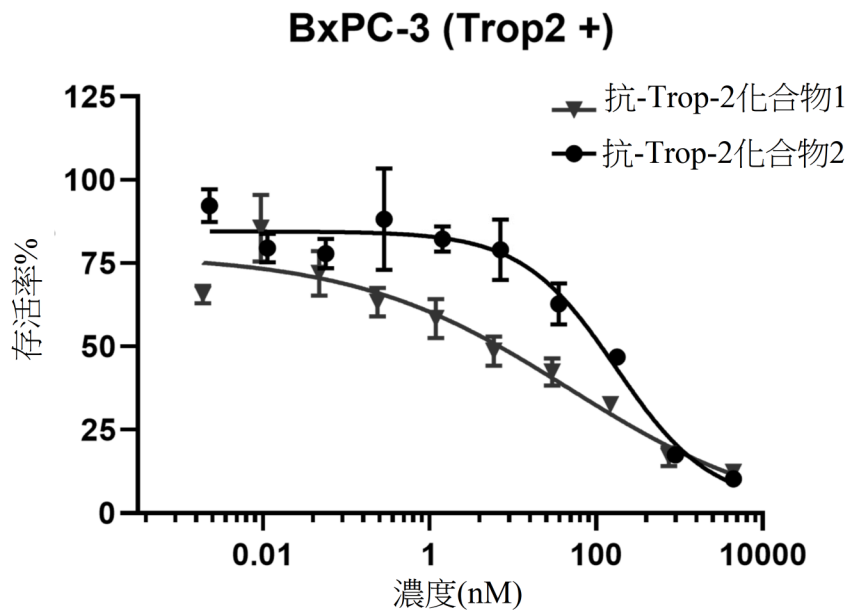
如請求項41之方法，其中該分子具有式(P-IV)：



(P-IV)

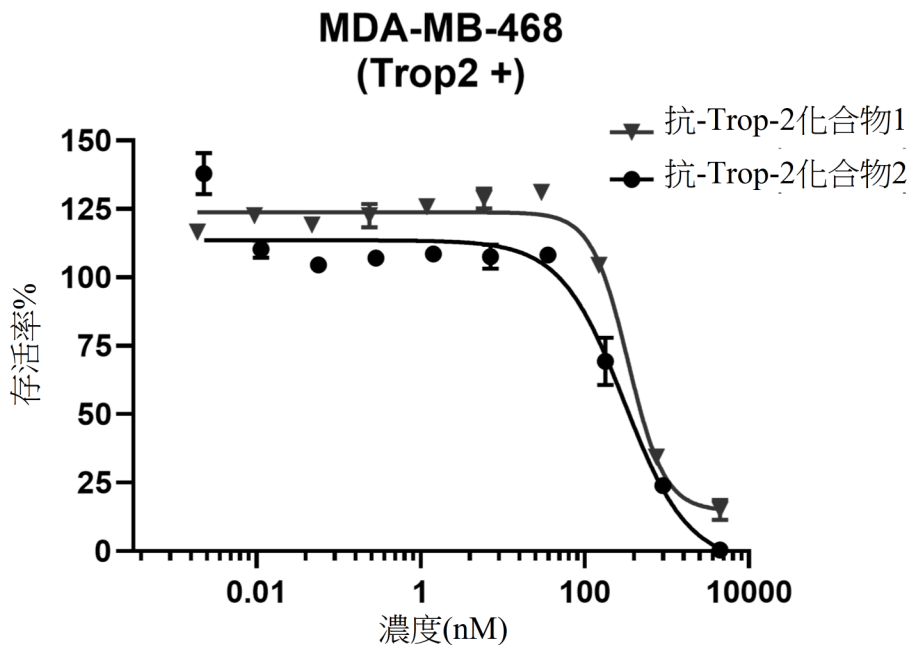
或其醫藥學上可接受之鹽。

【發明圖式】



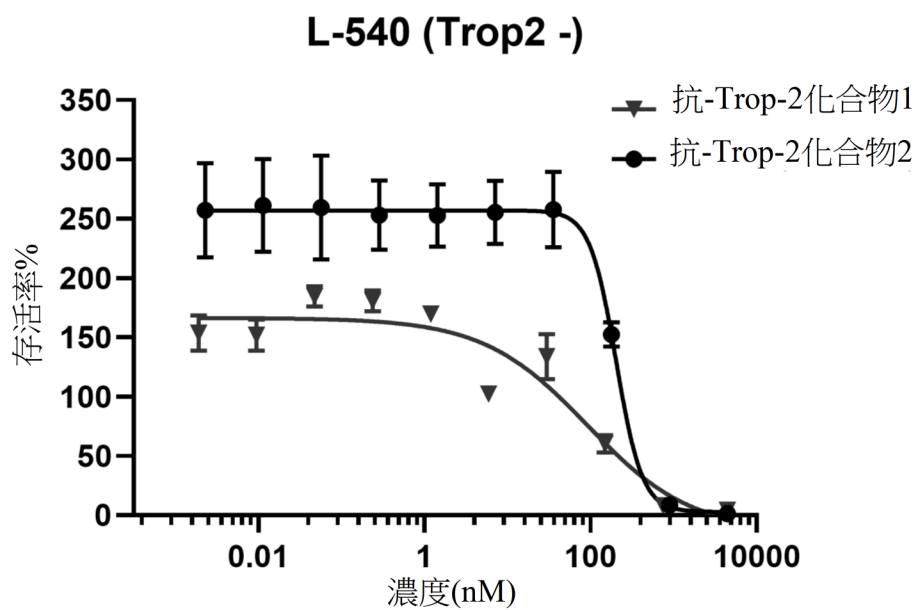
	EC50
抗-Trop-2化合物1	46.66
抗-Trop-2化合物2	173.8

【圖1A】



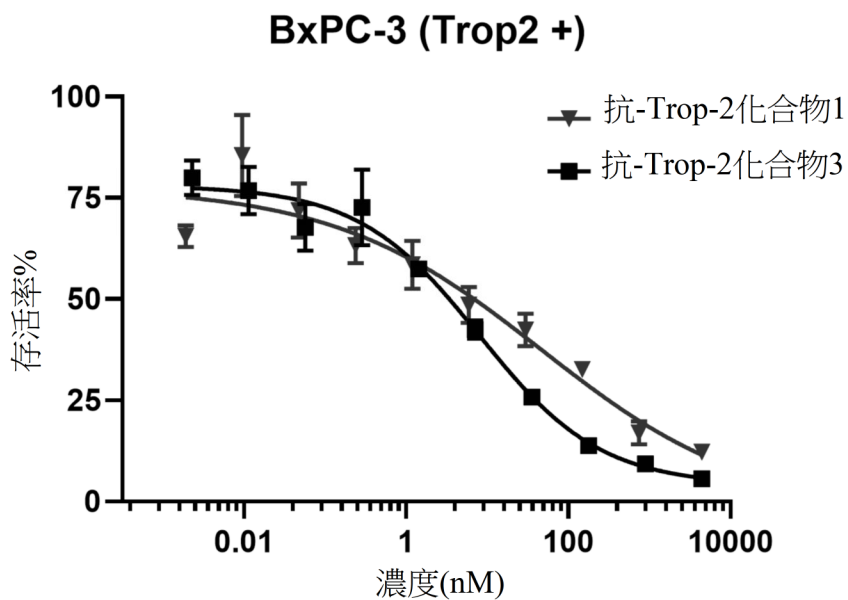
	EC50
抗-Trop-2化合物1	337.0
抗-Trop-2化合物2	302.9

【圖1B】



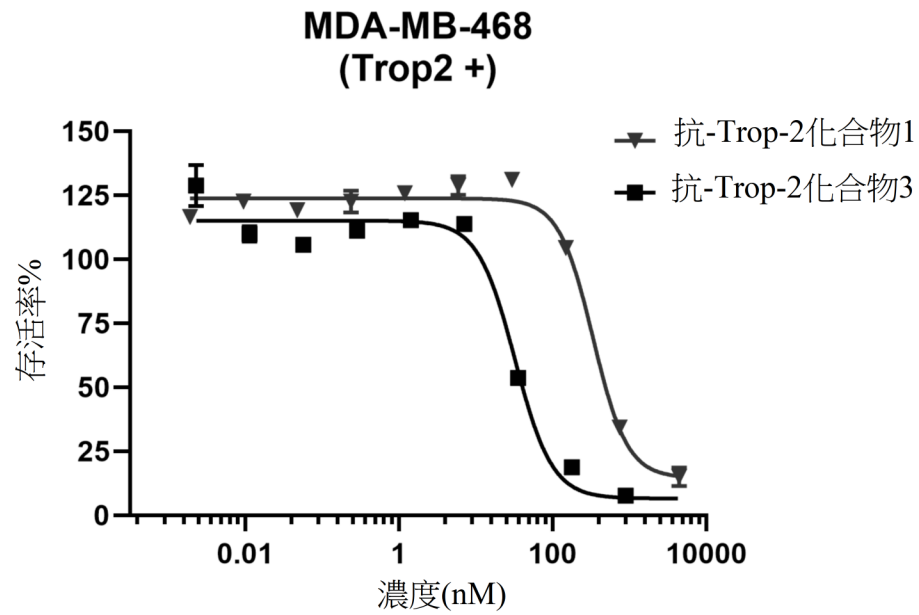
	EC50
抗-Trop-2化合物1	91.20
抗-Trop-2化合物2	203.5

【圖1C】



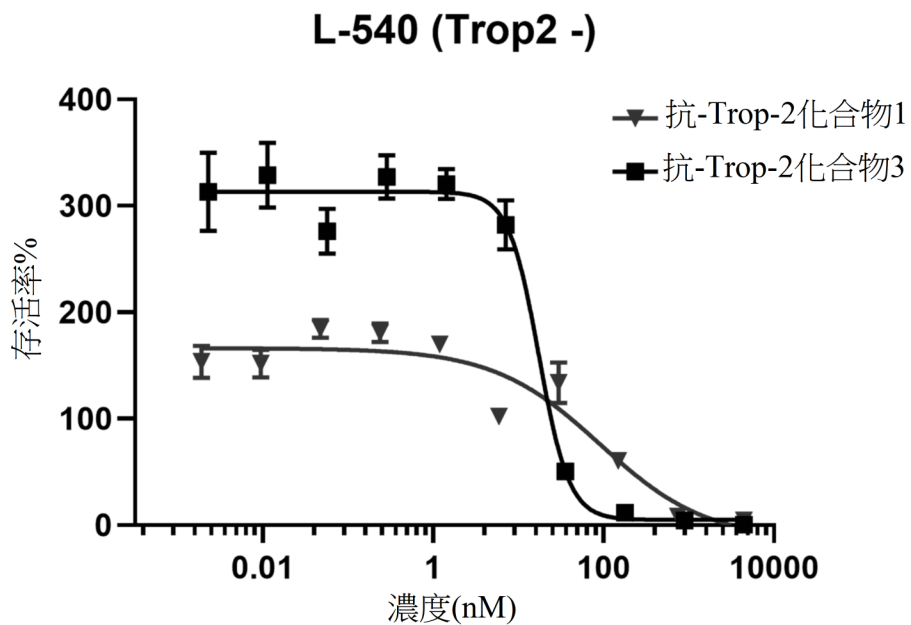
	EC50
抗-Trop-2化合物1	46.66
抗-Trop-2化合物3	8.025

【圖2A】



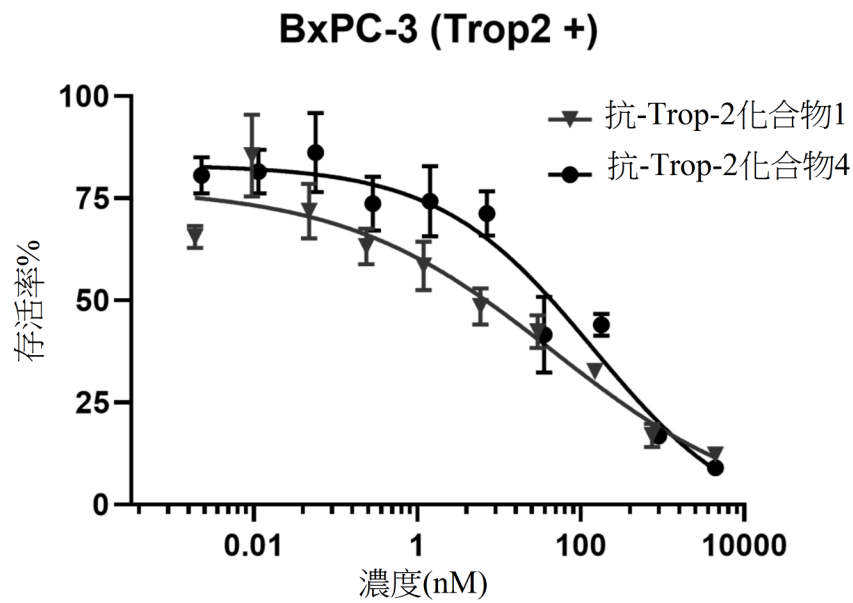
	EC50
抗-Trop-2化合物1	337.0
抗-Trop-2化合物3	32.47

【圖2B】



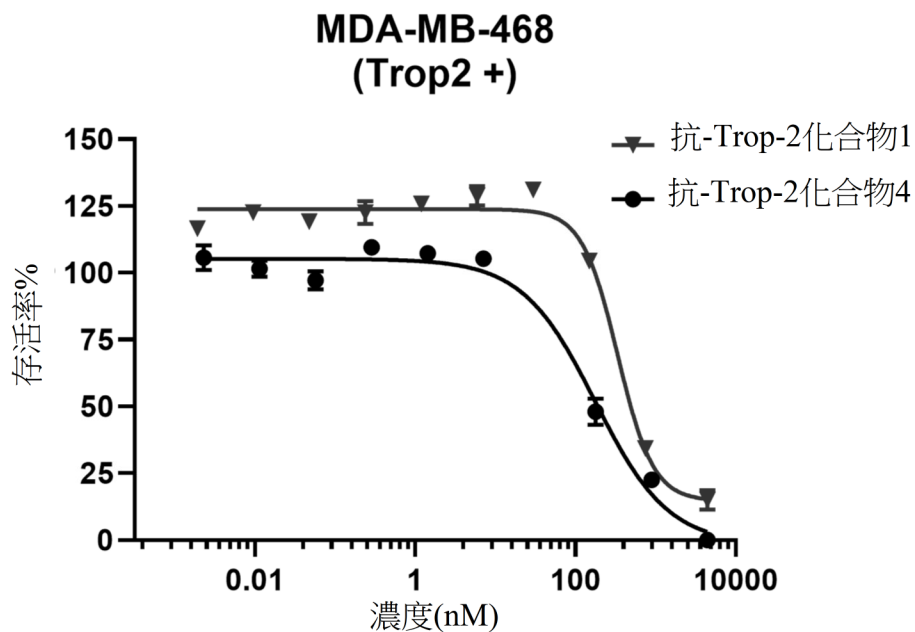
	EC50
抗-Trop-2化合物1	91.20
抗-Trop-2化合物3	17.46

【圖2C】



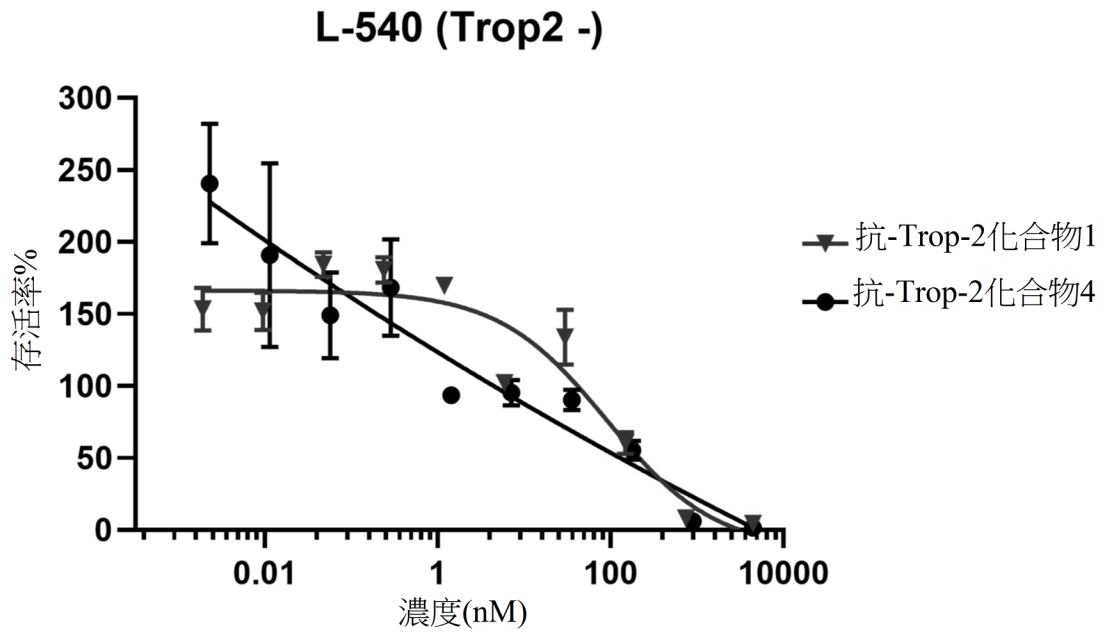
	EC50
抗-Trop-2化合物1	46.66
抗-Trop-2化合物4	140.5

【圖3A】



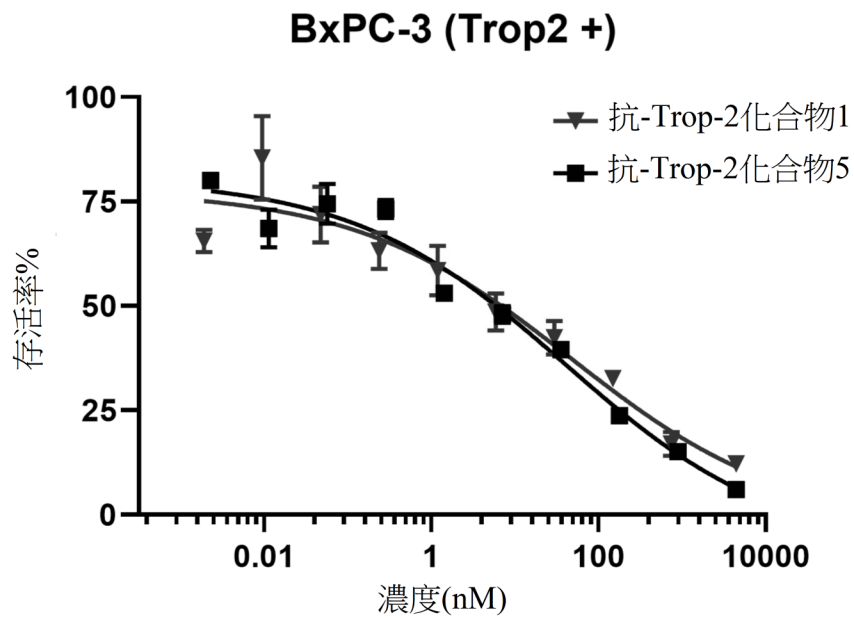
	EC50
抗-Trop-2化合物1	337.0
抗-Trop-2化合物4	177.3

【圖3B】



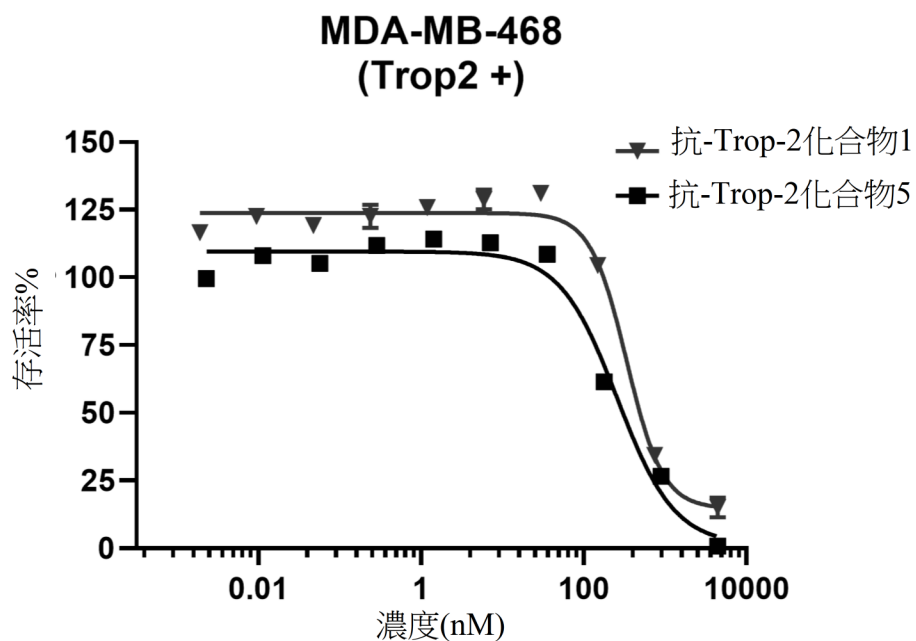
	EC50
抗-Trop-2化合物1	91.20
抗-Trop-2化合物4	~ 7.817e-048

【圖3C】

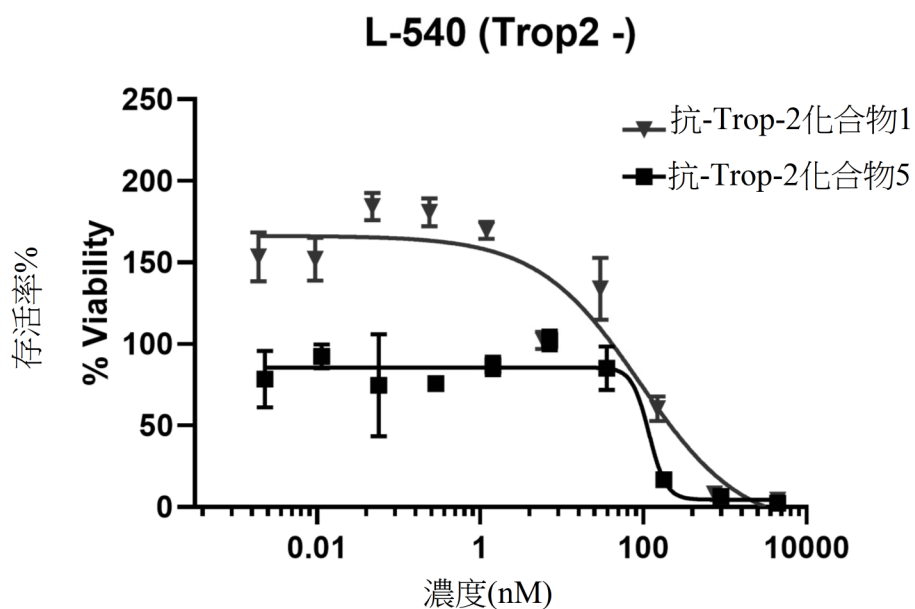


	EC50
抗-Trop-2化合物1	46.66
抗-Trop-2化合物5	40.45

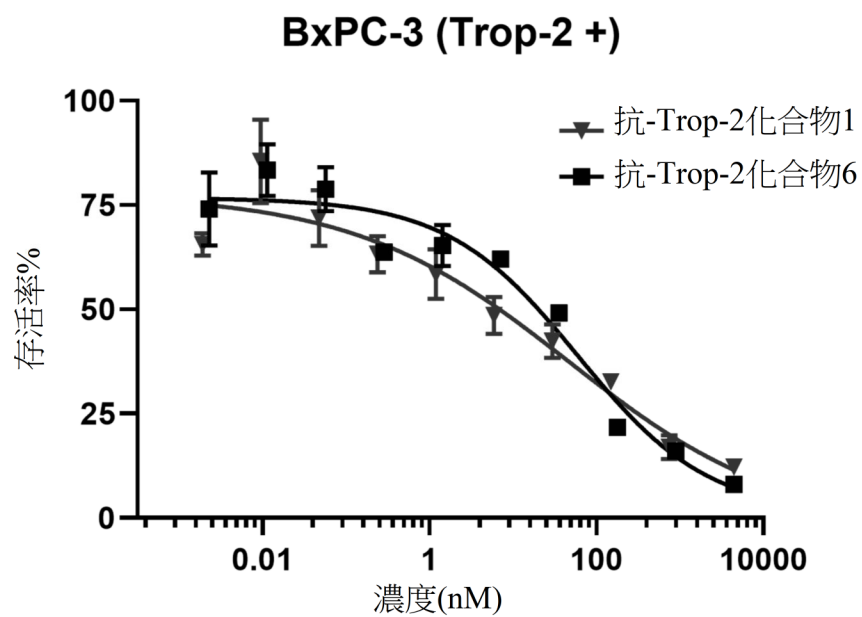
【圖4A】



【圖4B】

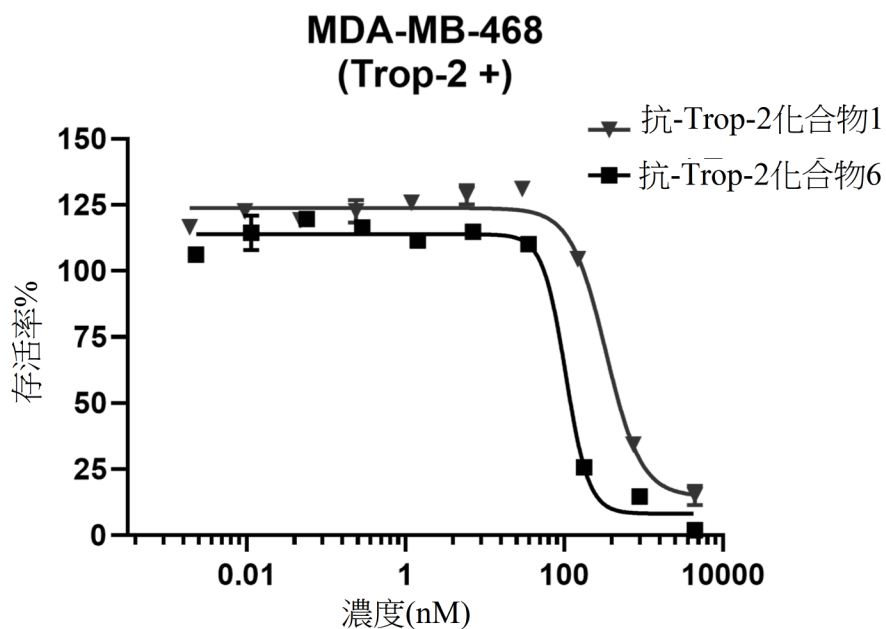


【圖4C】



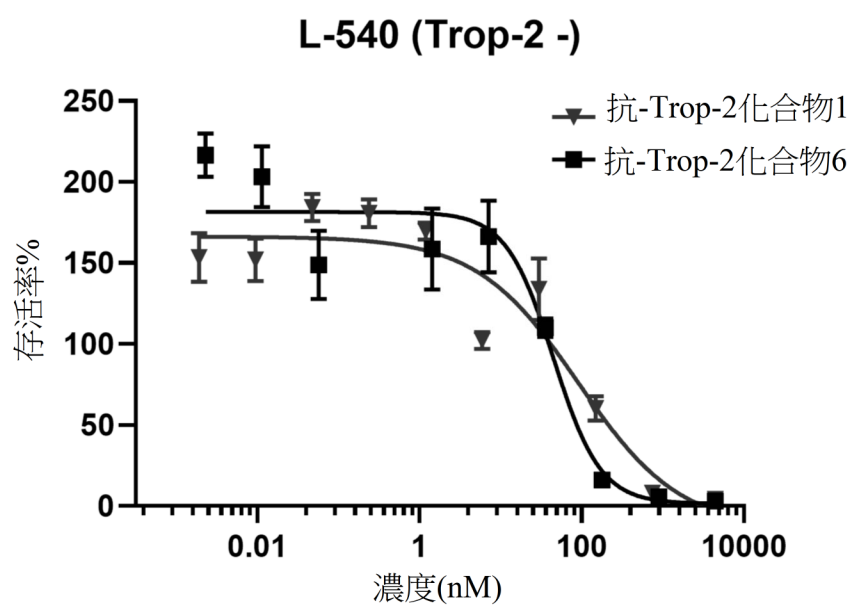
	EC50
抗-Trop-2化合物1	46.66
抗-Trop-2化合物6	60.30

【圖5A】



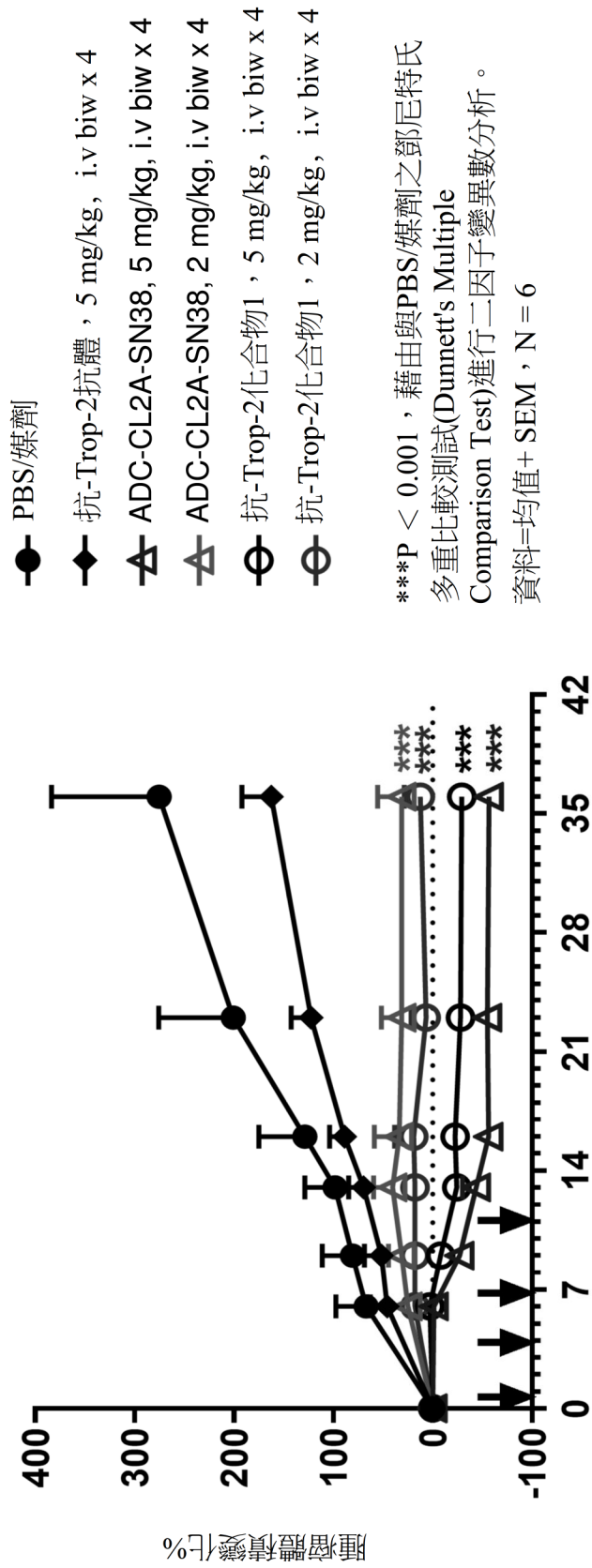
	EC50
抗-Trop-2化合物1	337.0
抗-Trop-2化合物6	104.6

【圖5B】

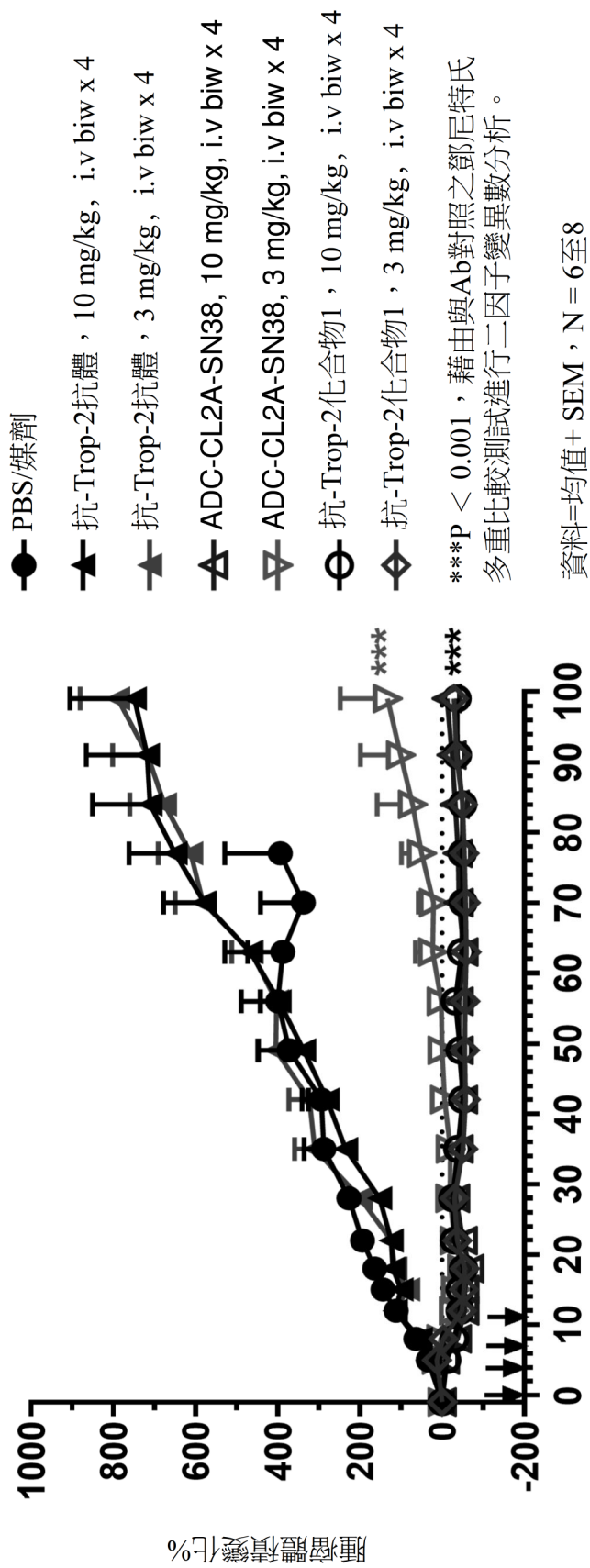


	EC50
抗-Trop-2化合物1	91.20
抗-Trop-2化合物6	44.75

【圖5C】



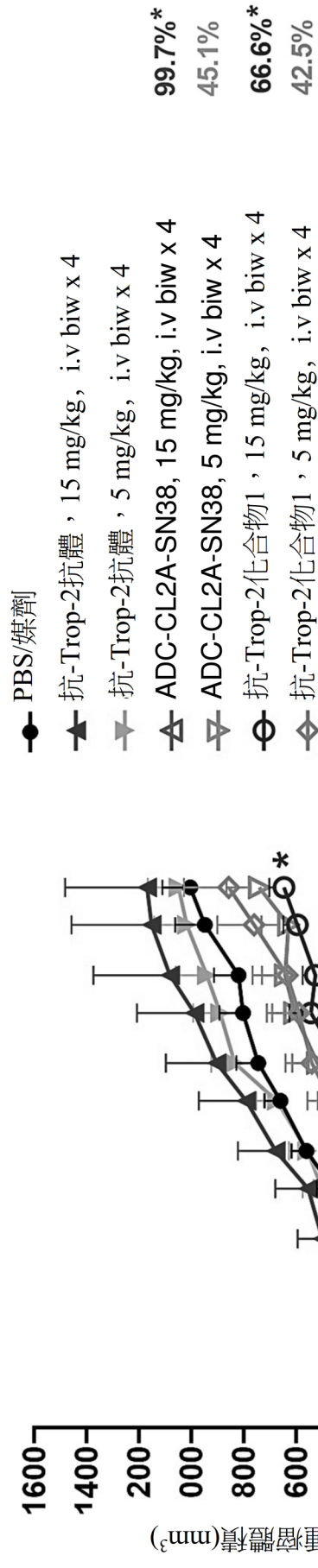
【圖6A】



【圖6B】

第22天之TGI

NCI-N87

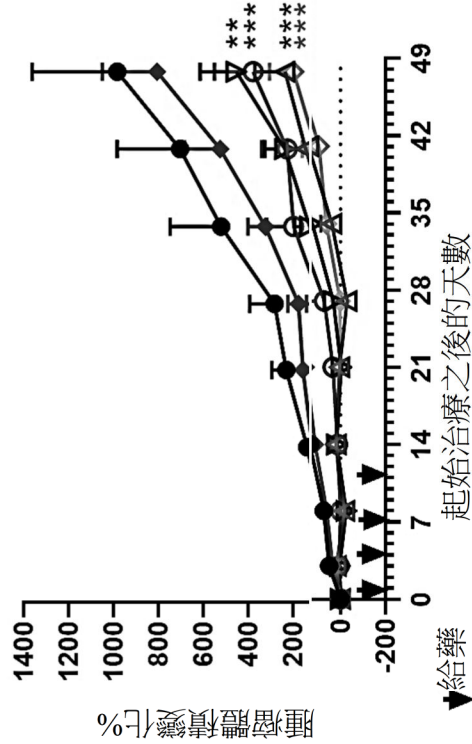


* P < 0.05, *** P < 0.001, 藉由與PBS/媒劑之鄧尼特氏多重比較測試進行二因子變異數分析。

資料=均值+ SEM, N = 8

【圖7】

BxPC3

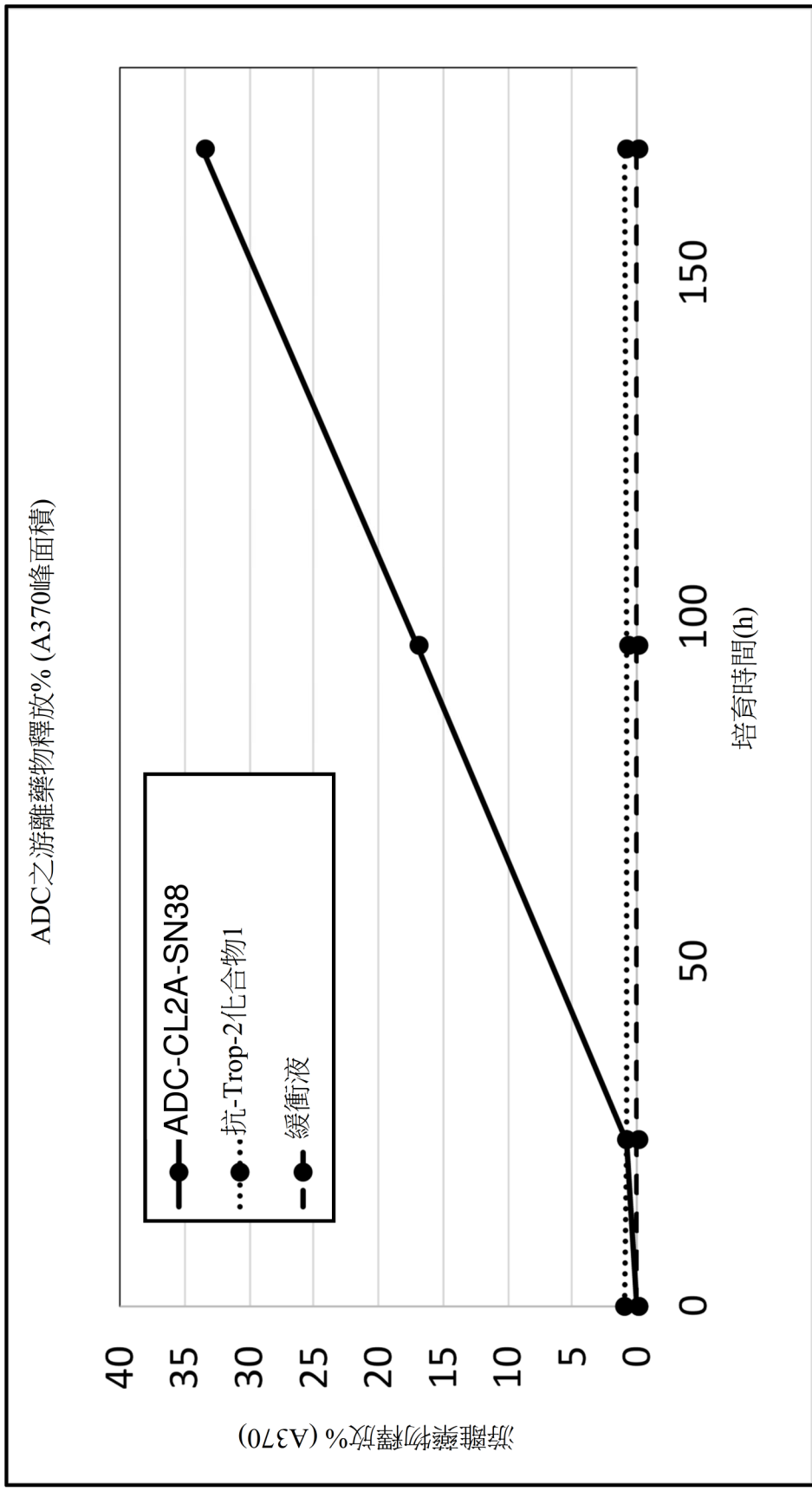


● PBS/媒劑
 ◆ 抗-Trop-2抗體，10 mg/kg, i.v biw x 4
 ▲ ADC-CL2A-SN38, 10 mg/kg, i.v biw x 4
 ▼ 抗-Trop-2化合物1，25 mg/kg, i.v biw x 4
 ○ 抗-Trop-2化合物1，10 mg/kg, i.v biw x 4
 ◇ 抗-Trop-2化合物1，3 mg/kg, i.v biw x 4
 *** P < 0.001, ** P < 0.01, 藉由與媒劑/
 PBS之鄧尼特氏多重比較測試進行二因子變
 異數分析。
 資料=均值+ SEM, N = 6

第21天 第41天 第48天
之TGI % 之TGI % 之TGI %

97.9%	79.7%	76.1%
100.0%	66.3%	53.9%
85.3%	67.9%	61.5%
99.0%	86.3%	79.8%

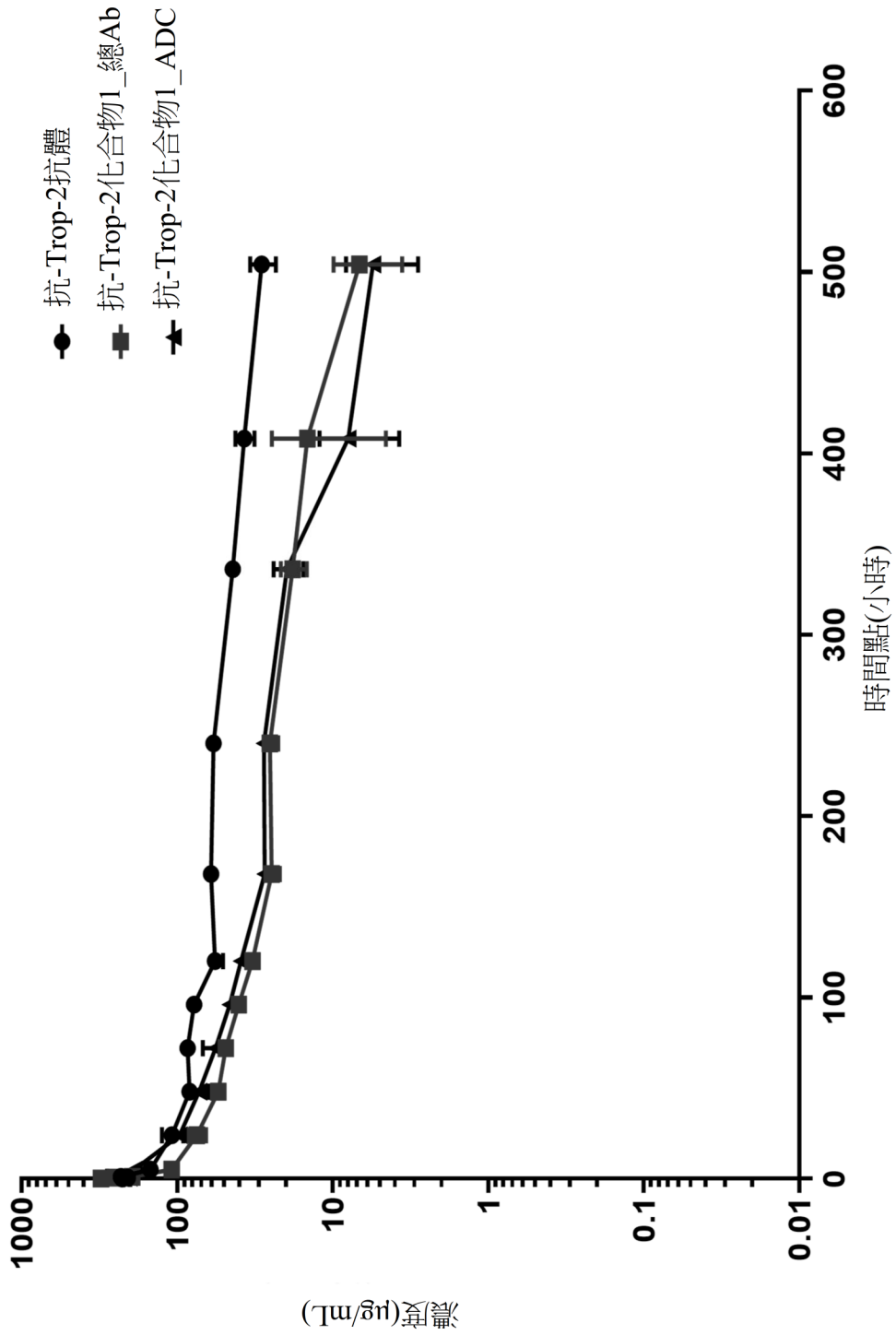
【圖8】



【圖9】

瑞士韋伯斯特小鼠(Swiss Webster Mouse)中之抗-Trop-2抗體及ADC PK ,

10 mg/ml IV, n=3



【圖10】