



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I880021 B

(45)公告日：中華民國 114 (2025) 年 04 月 11 日

(21)申請案號：110132303

(22)申請日：中華民國 105 (2016) 年 06 月 29 日

(51)Int. Cl.：

*A61K47/68 (2017.01)**C07D519/00 (2006.01)**A61K31/5517(2006.01)**A61K31/519 (2006.01)**A61P35/00 (2006.01)*

(30)優先權：2015/06/29 美國

62/186,254

2016/05/18 美國

62/338,245

(71)申請人：美商免疫原公司 (美國) IMMUNOGEN, INC. (US)

美國

(72)發明人：由達 尼可拉斯 C YODER, NICHOLAS C. (US)；白 晨 BAI, CHEN (US)；米

勒 麥克 路易斯 MILLER, MICHAEL LOUIS (US)

(74)代理人：閻啓泰；林景郁

審查人員：簡正芳

申請專利範圍項數：20 項 圖式數：8 共 156 頁

(54)名稱

半胱胺酸工程改造抗體之結合物

(57)摘要

本發明涉及新穎細胞結合劑-細胞毒性劑結合物，其中該細胞結合劑(CBA)經由工程改造 Cys，諸如重鏈 CH3 結構域中對應於抗體 CBA 上之 EU/OU 編號位置 442 (或 C442)處之工程改造 Cys 共價連接於該細胞毒性劑。本發明亦提供製備本發明之該等結合物之方法。本發明進一步提供使用本發明之結合物適用於在哺乳動物中抑制異常細胞生長或治療增生性病變之組合物及方法。

The invention relates to novel cell-binding agent-cytotoxic agent conjugates, wherein the cell-binding agent (CBA) is covalently linked to the cytotoxic agent through an engineered Cys, such as an engineered Cys in the heavy chain CH3 domain, at a position corresponds to the EU/OU numbering position 442 (or C442) on an antibody CBA. The invention also provides methods of preparing the conjugates of the present invention. The invention further provides composition and methods useful for inhibiting abnormal cell growth or treating a proliferative disorder in a mammal using the conjugates of the invention.

指定代表圖：

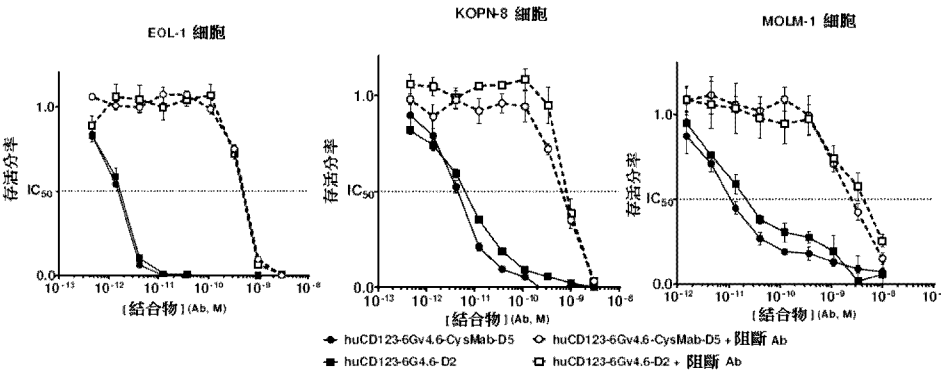
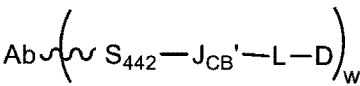


圖 2

特徵化學式：





I880021

【發明摘要】

【中文發明名稱】 半胱胺酸工程改造抗體之結合物

【英文發明名稱】 CONJUGATES OF CYSTEINE ENGINEERED
ANTIBODIES

【中文】

本發明涉及新穎細胞結合劑-細胞毒性劑結合物，其中該細胞結合劑(CBA)經由工程改造Cys，諸如重鏈CH3結構域中對應於抗體CBA上之EU/OU編號位置442 (或C442)處之工程改造Cys共價連接於該細胞毒性劑。本發明亦提供製備本發明之該等結合物之方法。本發明進一步提供使用本發明之結合物適用於在哺乳動物中抑制異常細胞生長或治療增生性病徵之組合物及方法。

【英文】

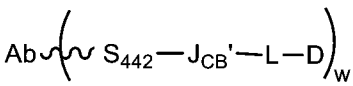
The invention relates to novel cell-binding agent-cytotoxic agent conjugates, wherein the cell-binding agent (CBA) is covalently linked to the cytotoxic agent through an engineered Cys, such as an engineered Cys in the heavy chain CH3 domain, at a position corresponds to the EU/OU numbering position 442 (or C442) on an antibody CBA. The invention also provides methods of preparing the conjugates of the present invention. The invention further provides composition and methods useful for inhibiting abnormal cell growth or treating a proliferative disorder in a mammal using the conjugates of the invention.

【指定代表圖】 圖2

【代表圖之符號簡單說明】

無

【特徵化學式】



【發明說明書】

【中文發明名稱】 半胱胺酸工程改造抗體之結合物

【英文發明名稱】 CONJUGATES OF CYSTEINE ENGINEERED
ANTIBODIES

【技術領域】

【0001】 本發明總體上係關於半胱胺酸工程改造抗體之結合物。本發明亦係關於使用此類結合物用於治療疾病諸如癌症之方法。

相關申請案之參照

【0002】 本申請案依據35 U.S.C. §119(E)要求2015年6月29日提交之美國臨時申請案第 62/186,254 號及 2016 年 5 月 18 日提交之美國臨時申請案第 62/338,245 號在提交日時的權益。以上引用之申請案各自之全部內容以引用之方式併入本文。

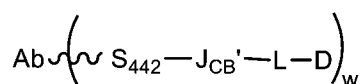
【先前技術】

【0003】 抗體-細胞毒性劑結合物(或「抗體-藥物結合物(ADC)」)及細胞結合劑-藥物結合物作為跨一系列癌症具有功效之一類強力抗腫瘤劑出現。細胞結合劑-藥物結合物(諸如ADC)通常由三種不同要素組成：細胞結合劑(例如，抗體)；連接基；及細胞毒性部分。依照慣例，細胞毒性藥物部分共價連接於抗體上之離胺酸，從而產生為攜帶連接在抗體分子上不同位置處之不同數量之藥物的ADC之異質混合物。

【發明內容】

【0004】 本發明提供位點特異性抗體-細胞毒性劑結合物，其中該細胞毒性劑共價連接於抗體上之一或多個半胱胺酸殘基。具體而言，該半胱胺酸殘基位於根據EU/OU編號之重鏈之位置442處。本發明之位點特異性抗體-細胞毒性劑結合物具有出乎意料改進之耐受性，同時維持類似效能，從而產生相較於離胺酸連接之結合物(Abstract #645，AACR年會，2015年4月18-22日)更高之治療指數(最大耐受劑量與最小有效劑量之比)。

【0005】 因此，本發明之一態樣提供一種由下式表示之抗體-細胞毒性劑結合物：



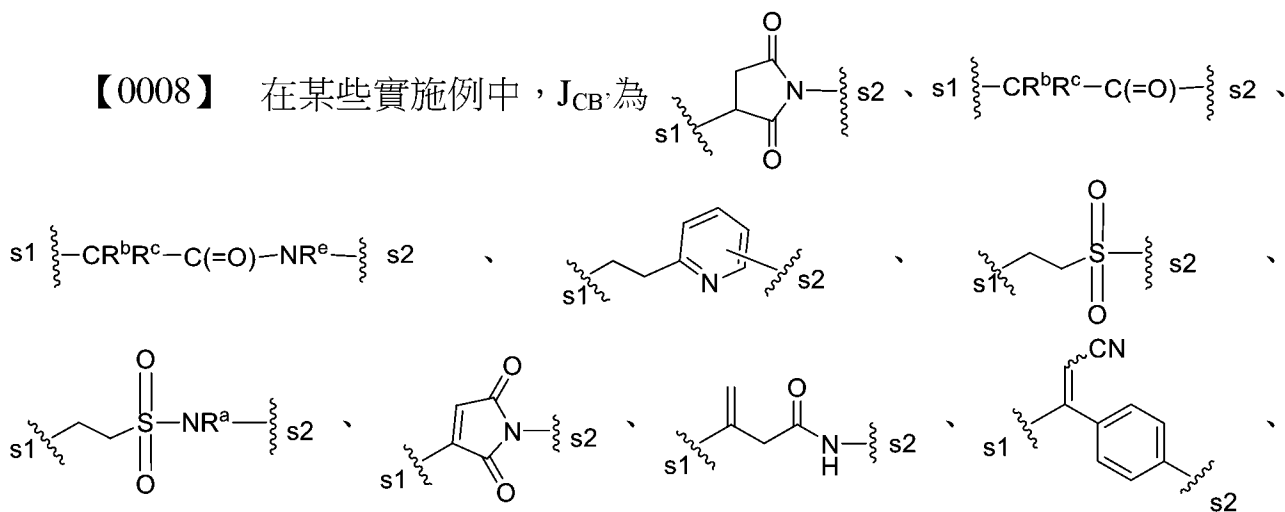
或其醫藥學上可接受之鹽，其中：

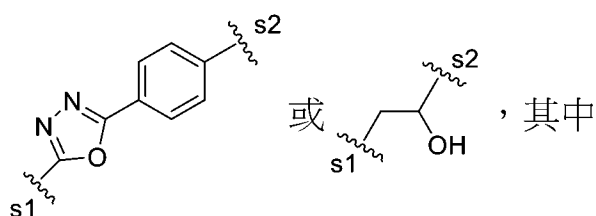
Ab為在抗體之重鏈之位置442處(EU/OU編號)具有半胱胺酸殘基之抗體，且經由該半胱胺酸殘基之硫醇基S442共價連接於連接部分JCB'；

D為共價連接於連接基L之細胞毒性劑，該連接基共價連接於JCB'；及
W為1或2。

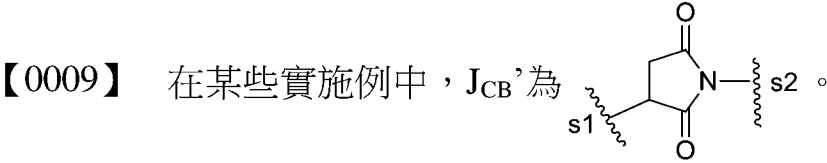
【0006】 在某些實施例中，w為2。或者，w為1。

【0007】 在某些實施例中，位置442處之半胱胺酸殘基重組引入該Ab中。

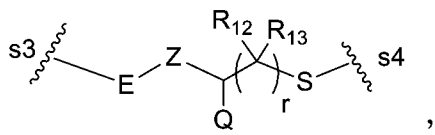




s1為共價連接於半胱胺酸殘基之位點，且s2為共價連接於基團L之位點；及
Ra、Rb、Rc及Re在每次出現時獨立地為H或視情況取代之烷基，較佳地，
Ra、Rb、Rc及Re各自為H。



【0010】 在某些實施例中，-L-由以下結構式表示：

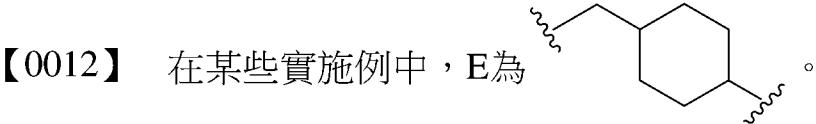


其中：

s3為共價連接於JCB'之位點，且s4為共價連接於D之位點；
E為-(CR₁₀R₁₁)_q-、環烷基或環烷基烷基；
Z為不存在、-SO₂NR₉-、-NR₉SO₂-、-C(=O)-NR₉-、-NR₉-C(=O)-、-C(=O)-O-、-O-C(=O)-、-C(=O)-NR₉-(CH₂CH₂O)_p-、-NR₉-C(=O)-(CH₂CH₂O)_p-、-(OCH₂CH₂)_p-C(=O)NR₉-或-(OCH₂CH₂)_p-NR₉-C(=O)-；
p為1至24之整數；
Q為H、帶電荷取代基或可電離基團；
R₉、R₁₀、R₁₁、R₁₂及R₁₃在每次出現時獨立地為H或視情況取代之烷基；
及

q及r在每次出現時獨立地為0與10之間之整數。

【0011】 在某些實施例中，E為-(CR₁₀R₁₁)_q-。



【0013】 在某些實施例中，Z為-C(=O)-NR₉-或-NR₉-C(=O)-；在某些實施例中，R₉為-H。

【0014】 在某些實施例中，Q為：

- i) H；
- ii) -SO₃H、-Z'-SO₃H、-OPO₃H₂、-Z'-OPO₃H₂、-PO₃H₂、-Z'-PO₃H₂、-CO₂H、-Z'-CO₂H、-NR₁₁R₁₂或-Z'-NR₁₄R₁₅或其醫藥學上可接受之鹽；
- iii) -N+R₁₄R₁₅R₁₆X- 或-Z'-N+R₁₄R₁₅R₁₆X-；

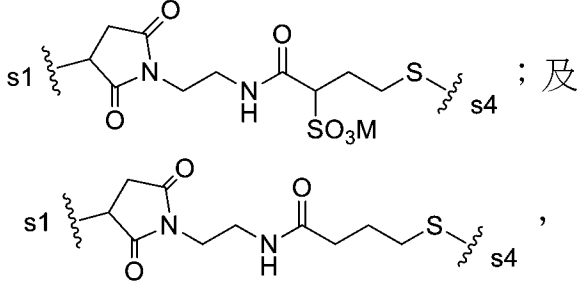
Z'為視情況取代之伸烷基、視情況取代之伸環烷基或視情況取代之伸苯基；較佳地，Z'為視情況取代之伸烷基；

R₁₄、R₁₅及R₁₆各自獨立地為視情況取代之烷基；及
X-為醫藥學上可接受之陰離子。

【0015】 在某些實施例中，Q為H或-SO₃M其中M為H⁺、Na⁺或K⁺。

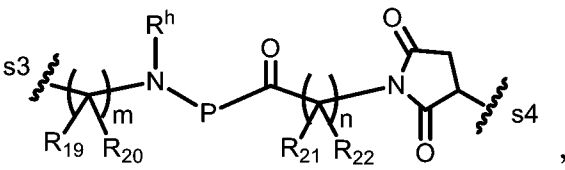
【0016】 在某些實施例中，R₉、R₁₀、R₁₁、R₁₂及R₁₃皆為H；且q及r各自獨立地為1與6之間之整數。

【0017】 在某些實施例中，-J_{CB}'-L-由以下結構式中之任一者表示：



其中M為H⁺或醫藥學上可接受之陽離子。

【0018】 在某些實施例中，-L-由以下結構式表示：



其中：

s3為共價連接於JCB'之位點，且s4為共價連接於D之位點；

R19至R22在每次出現時獨立地為H或視情況取代之烷基；

m及n各自獨立地為0與10之間之整數；

Rh為H或視情況取代之烷基；

P為視情況取代之伸烷基、 $-(CH_2-CH_2-O)_j-$ (其中氧原子連接於 $-(C=O)-$ 基團，該基團連接於P)、胺基酸殘基或含有2至20個胺基酸殘基之肽；及

j為1至24之整數。

【0019】 在某些實施例中， R_{19} 、 R_{20} 、 R_{21} 及 R_{22} 各自為H；且m及n各自獨立地為1與6之間之整數。

【0020】 在某些實施例中，P為胺基酸殘基或含有2至10個胺基酸殘基之肽；較佳地，P為含有2至5個胺基酸殘基之肽。

【0021】 在某些實施例中，各胺基酸殘基為獨立地選自以下之胺基酸之殘基：天然存在之胺基酸、合成胺基酸、胺基酸類似物及以類似於天然存在之胺基酸之方式起作用之胺基酸模擬物。

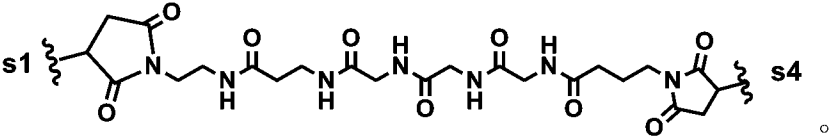
【0022】 在某些實施例中，各胺基酸殘基為獨立地選自由以下組成之群之胺基酸的殘基：組胺酸、丙胺酸、異白胺酸、精胺酸、白胺酸、天冬醯胺、離胺酸、天冬胺酸、甲硫胺酸、半胱胺酸、苯丙胺酸、麩胺酸、蘇胺酸、麩胺醯胺、色胺酸、甘胺酸、纈胺酸、脯胺酸、絲胺酸、酪胺酸、N-甲基-組胺酸、N-甲基-丙胺酸、N-甲基-異白胺酸、N-甲基-精胺酸、N-甲基-白胺酸、N-甲基-天冬醯胺、N-甲基-離胺酸、N-甲基-天冬胺酸、N-甲基-甲硫胺酸、N-甲基-半胱胺酸、N-甲基-苯丙胺酸、N-甲基-麩胺酸、N-甲基-蘇胺酸、N-甲基-麩胺醯胺、N-甲基-色胺酸、N-甲基-甘胺酸、N-甲基-纈胺酸、N-甲基-脯胺酸、N-甲基-絲胺酸、N-甲基-酪胺酸、羥基脯胺酸、 γ -羧基麩胺酸、硒代半胱胺酸、O-磷酸絲胺酸、高絲胺酸、正白胺酸、甲硫胺酸亞砷、甲硫胺酸甲基銻、瓜胺酸、鳥胺酸、半胱胺酸磺

酸、半胱胺酸亞磺酸、3-胺基丙胺酸、3-二甲基胺基丙胺酸、2-胺基-4-(二甲基胺基)丁酸、2,4-二胺基丁酸、2-胺基-6-(二甲基胺基)己酸、2-胺基-5-(二甲基胺基)戊酸及β-丙胺酸，各自獨立地為L或D異構物。較佳地，各胺基酸殘基為經獨立選擇之甘胺酸或丙胺酸之殘基。

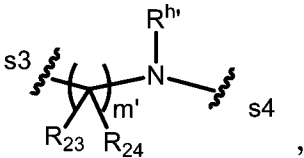
【0023】 在某些實施例中，P為可由蛋白酶裂解之肽。

【0024】 在某些實施例中，P選自由以下組成之群：Val-Cit、Val-Lys、Phe-Lys、Lys-Lys、Ala-Lys、Phe-Cit、Leu-Cit、Ile-Cit、Trp、Cit、Phe-Ala、Phe-N⁹-甲苯磺醯基-Arg、Phe-N⁹-硝基-Arg、Phe-Phe-Lys、D-Phe-Phe-Lys、Gly-Phe-Lys、Leu-Ala-Leu、Ile-Ala-Leu、Val-Ala-Val、Ala-Leu-Ala-Leu (SEQ ID NO: 14)、β-Ala-Leu-Ala-Leu (SEQ ID NO: 15)、Gly-Phe-Leu-Gly (SEQ ID NO: 16)、Val-Arg、Arg-Val、Arg-Arg、Val-D-Cit、Val-D-Lys、Val-D-Arg、D-Val-Cit、D-Val-Lys、D-Val-Arg、D-Val-D-Cit、D-Val-D-Lys、D-Val-D-Arg、D-Arg-D-Arg、Ala-Ala、Ala-D-Ala、D-Ala-Ala、及D-Ala-D-Ala、Gly-Gly-Gly、Ala-Ala-Ala、D-Ala-Ala-Ala、Ala-D-Ala-Ala、Ala-Ala-D-Ala、Ala-Val-Cit、Ala-Val-Ala、及β-Ala-Gly-Gly-Gly。舉例而言，P可為Gly-Gly-Gly、Ala-Ala-Ala、D-Ala-Ala-Ala、Ala-D-Ala-Ala、Ala-Val-Ala或β-Ala-Gly-Gly-Gly。

【0025】 在某些實施例中，-J_{CB}'-L-由以下結構式表示：



【0026】 在某些實施例中，-L-由以下結構式表示：



其中：

s3為共價連接於JCB'之位點，且s4為共價連接於D之位點；

R23及R24在每次出現時獨立地為H或視情況取代之烷基；

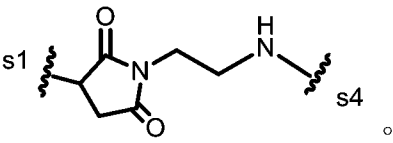
m'為0與10之間之整數；及

Rh'為H或視情況取代之烷基。

【0027】 在某些實施例中，R₂₃及R₂₄均為H；且m'為1與6之間之整數。

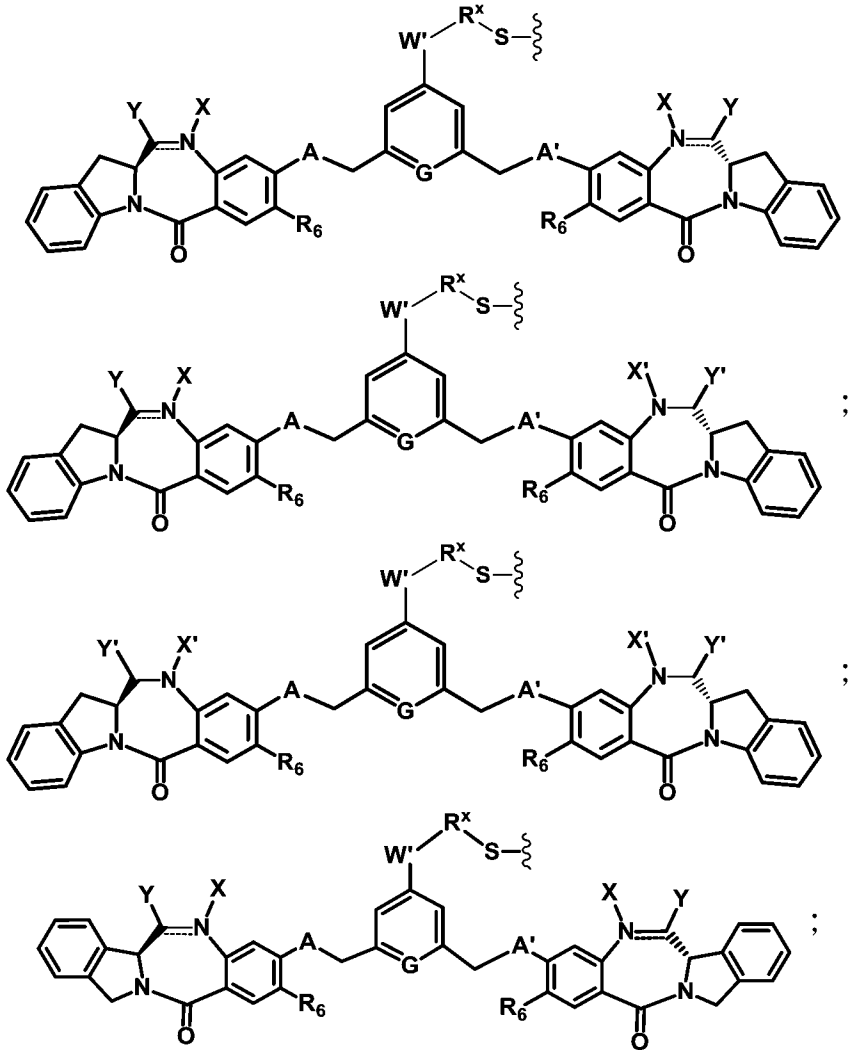
【0028】 在某些實施例中，R^{h'}為H。

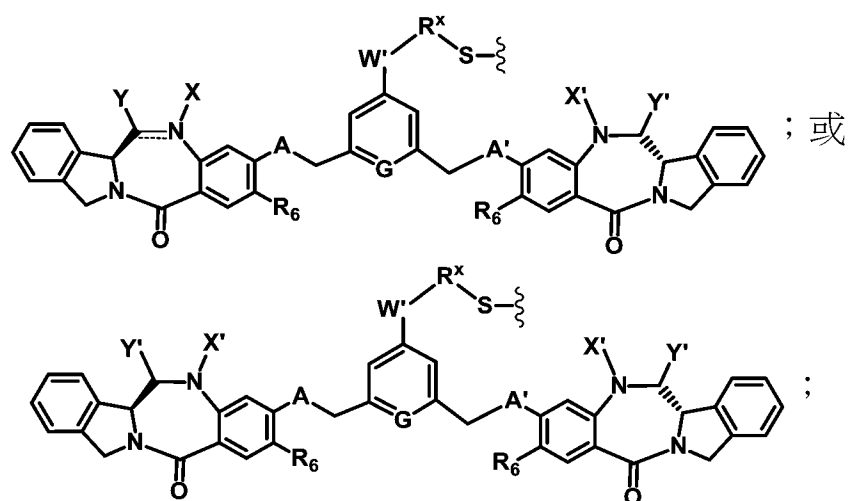
【0029】 在某些實施例中，-J_{CB'}-L-由以下結構式表示：



【0030】 在某些實施例中，D為苯并二氮呋化合物，諸如呋啉并苯并二氮呋化合物。

【0031】 在某些實施例中，D由以下結構式表示：





或其醫藥學上可接受之鹽，其中：

N與C之間之雙線=表示單鍵或雙鍵，其限制條件為當其為雙鍵時，X不存在且Y為-H，且當其為單鍵時，X選自-H或胺保護基；且Y選自-OR、-OCOR'、-SR、-NR'R''、-SO₃M、-SO₂M或-OSO₃M，其中M為-H或陽離子；

R為-H、視情況取代之具有1至10個碳原子之直鏈、分支或環狀烷基、烯基或炔基或PEG基團-(CH₂CH₂O)_n-R_c，其中n為1至24之整數，且R_c為具有1至4個碳原子之直鏈或分支烷基；

R'及R''各自獨立地選自-H、-OH、-OR、-NRR_g'、-COR、視情況取代之具有1至10個碳原子之直鏈、分支或環狀烷基、視情況經取代之具有6至18個碳原子之芳基、視情況取代之具有1至6個選自O、S、N及P之雜原子之3至18員雜環、PEG基團-(CH₂CH₂O)_n-R_c，且R_g'為-H、視情況取代之具有1至10個碳原子之直鏈、分支或環狀烷基、烯基或炔基或PEG基團-(CH₂CH₂O)_n-R_c；

X'選自由以下組成之群：-H、-OH、經取代或未經取代之具有1至10個碳原子之直鏈、分支或環狀烷基、烯基或炔基、苯基及胺保護基；

Y'選自由以下組成之群：-H、側氧基(亦即，Y'與其所連接之碳原子一起形成-C(=O)-基團)、經取代或未經取代之具有1至10個碳原子之直鏈、分支或環狀烷基、烯基或炔基；

A及A'選自-O-及-S-；

W'不存在或選自-O-、-N(Re)-、-N(Re)-C(=O)-、-N(C(=O)Re)-、-S-或-CH₂-S-、-CH₂NRe-；

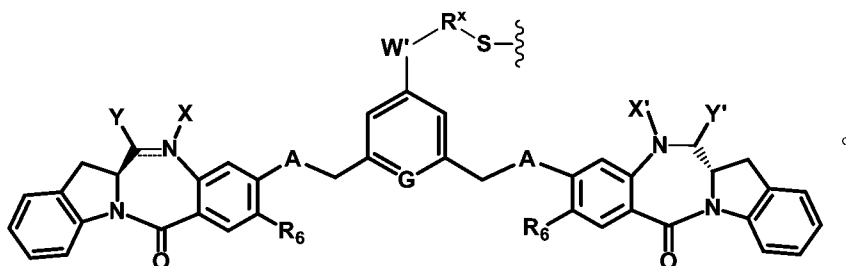
R_x不存在或選自具有1至10個碳原子之直鏈、分支或環狀烷基；

Re為-H、具有1至10個碳原子之直鏈、分支或環狀烷基、烯基或炔基或-(CH₂-CH₂-O)_n-R_k，其中R_k為-H、具有1至6個碳原子之直鏈、分支或環狀烷基、視情況攜帶二級胺基(例如，-NHR₁₀₁)或三級胺基(-NR₁₀₁R₁₀₂)、或5或6員含氮雜環，其中R₁₀₁及R₁₀₂各自獨立地為具有1至10個碳原子之直鏈、分支或環狀烷基、烯基或炔基；

G選自-CH-或-N-；及

R₆為-H、-R、-OR、-SR、-NR'R''、-NO₂或鹵素。

【0032】 在某些實施例中，D由以下結構式表示：



【0033】 在某些實施例中：

N與C之間之雙線=表示單鍵或雙鍵，其限制條件為當其為雙鍵時，X不存在且Y為-H，且當其為單鍵時，X為-H，且Y為-OH或-SO₃M；

M為-H或醫藥學上可接受之陽離子；

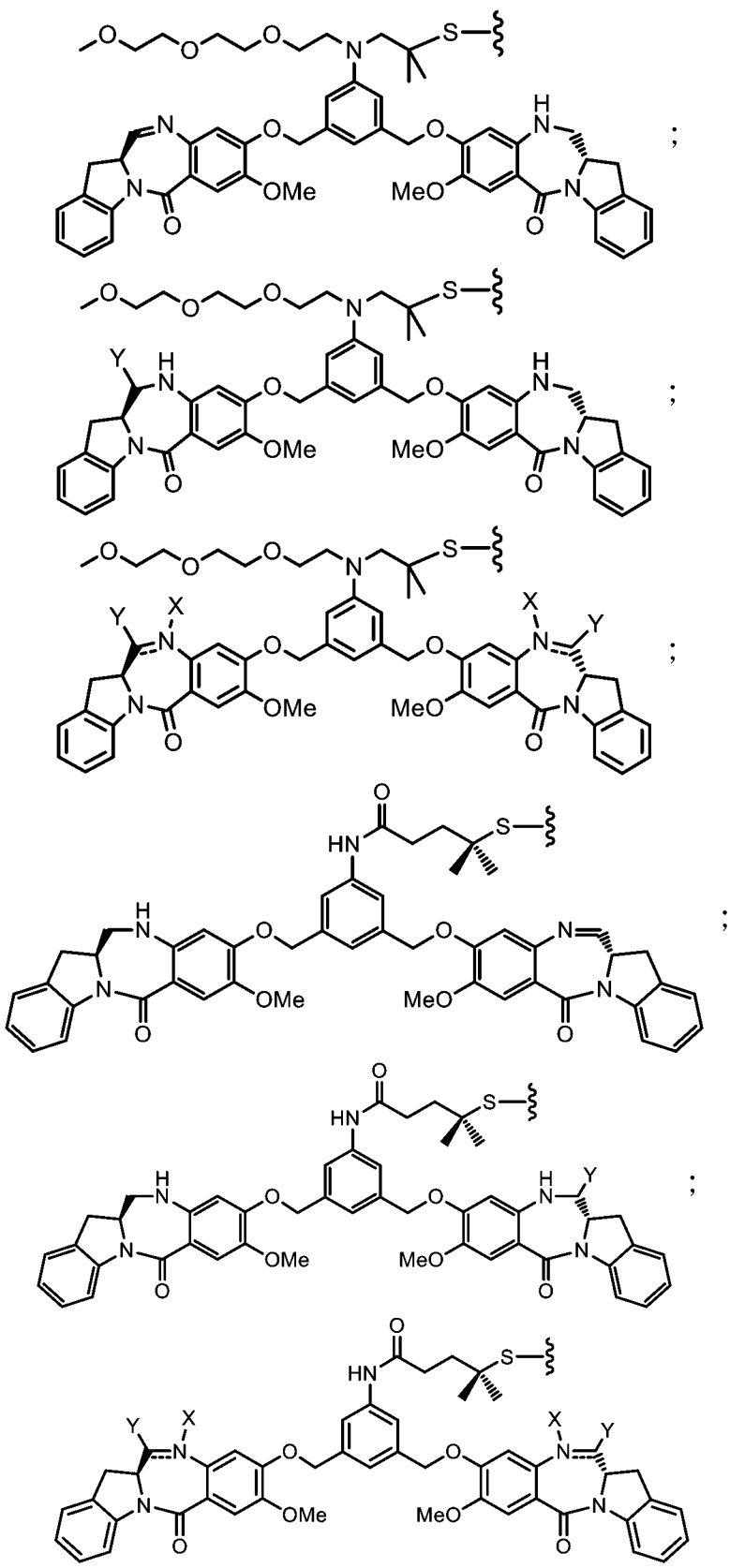
X'及Y'均為-H；

A及A'均為-O-；

R₆為-OMe；及

R_x為具有1至6個碳原子之直鏈或分支烷基。

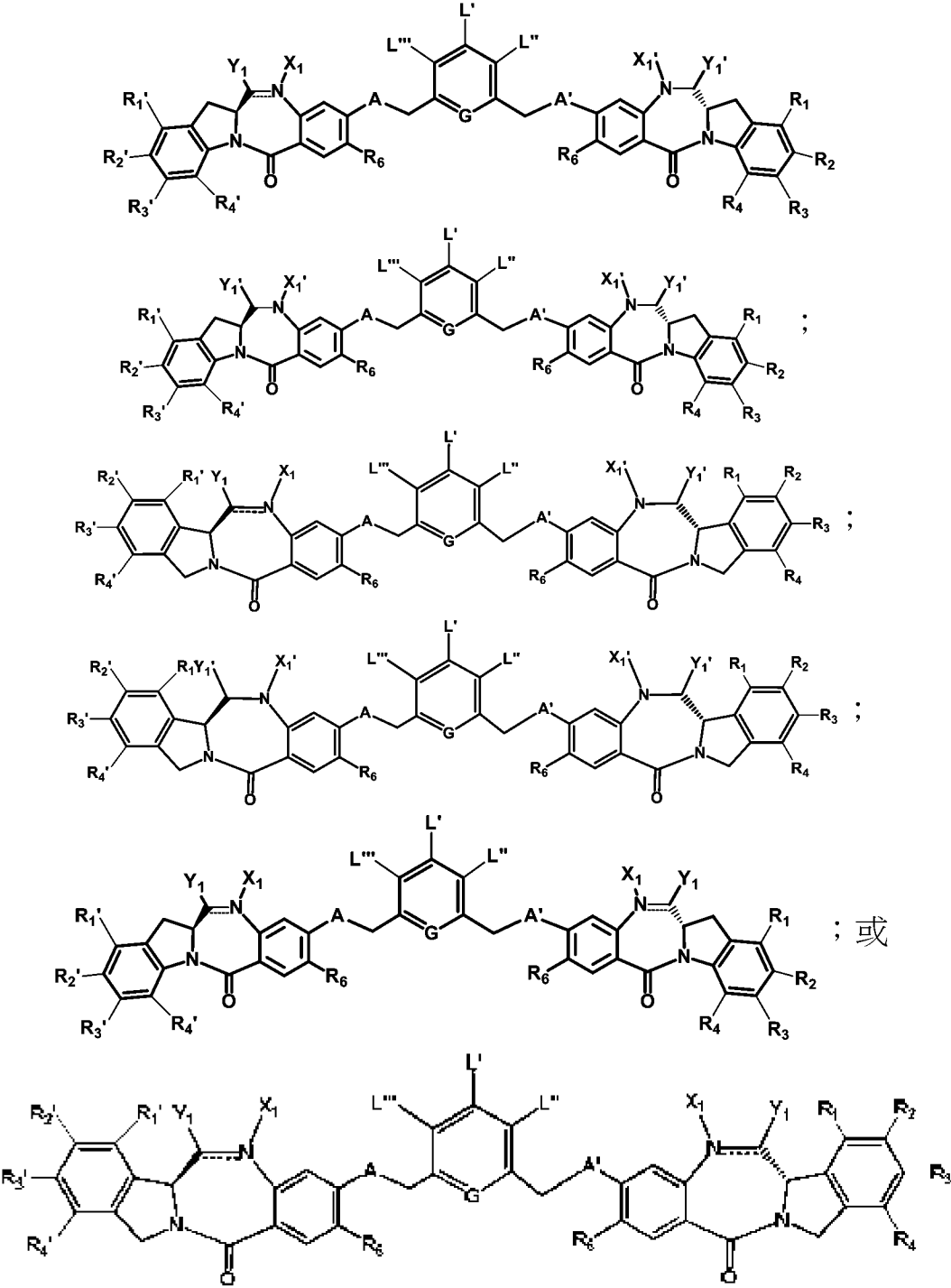
【0034】 在某些實施例中，D由以下結構式表示：



或其醫藥學上可接受之鹽，其中N與C之間之雙線==表示單鍵或雙鍵，其限制條件為當其為雙鍵時，X不存在且Y為-H，且當其為單鍵時，X為-H，且Y為-SO₃M；且M為H⁺或其醫藥學上可接受之陽離子。

【0035】 在某些實施例中，Y為-SO₃M，且M為H⁺、Na⁺或K⁺。

【0036】 在某些實施例中，D由以下結構式表示：



且另外兩者各自獨立地選自-H、視情況經取代之具有1至10個碳原子之直鏈、分支或環狀烷基、烯基或炔基、聚乙二醇單元-(CH₂CH₂O)_n-R_c、鹵素、胍[-NH(C=NH)NH₂]、-OR、-NR'R''、-NO₂、-NR'COR''、-SR、-SOR'、-SO₂R'、-SO₃H、-OSO₃H、-SO₂NR'R''、氰基、疊氮基、-COR'、-OCOR'及-OCONR'R''；

Z₁及Z₂中之一者為-C(=O)-，且另一者為-NR₅-；

P₁為胺基酸殘基或含有2與20個胺基酸殘基之肽；

R_{x1}為視情況取代之具有1至10個碳原子之直鏈、分支或環狀烷基、烯基或炔基；

Re為-H、具有1至10個碳原子之直鏈、分支或環狀烷基、烯基或炔基或-(CH₂-CH₂-O)_n-R_k，其中R_k為-H、具有1至6個碳原子之直鏈、分支或環狀烷基、視情況攜帶二級胺基(例如，-NHR₁₀₁)或三級胺基(-NR₁₀₁R₁₀₂)、或5或6員含氮雜環，其中R₁₀₁及R₁₀₂各自獨立地為具有1至10個碳原子之直鏈、分支或環狀烷基、烯基或炔基；

N與C之間之雙線==表示單鍵或雙鍵，其限制條件為當其為雙鍵時，X₁不存在且Y₁為-H或具有1至4個碳原子之直鏈或分支烷基，且當其為單鍵時，X₁為-H或胺保護部分；且Y₁為選自以下之離去基團：-OR、-OCOR'、-OCOOR'、-OCONR'R''、-NR'R''、-NR'COR''、-NR'NR'R''、視情況經取代之5或6員含氮雜環、由-NR'(C=NH)NR'R''表示之胍、胺基酸或由-NRCOP'表示之肽、-SR、-SOR'、鹵素、氰基、疊氮基、-OSO₃H(或其鹽)、亞硫酸根(-SO₃H或-SO₂H或其鹽)、偏亞硫酸氫根(H₂S₂O₅或其鹽)、單-、二-、三-及四-硫代磷酸根(PO₃SH₃、PO₂S₂H₂、PO₃H₂、PS₄H₂或其鹽)、硫代磷酸酯(RiO)₂PS(ORi)、RiS、RiSO、RiSO₂、RiSO₃、硫代硫酸根(HS₂O₃或其鹽)、連二亞硫酸根(HS₂O₄或其鹽)、二硫代磷酸根(P(=S)(ORk')(S)(OH)或其鹽)、羥肟酸(Rk' C(=O)NOH或其鹽)及甲醛次硫酸根(HOCH₂SO₂-或其鹽)或其混合物，其中Ri為具有1至10個碳原子之直鏈或分支烷

基且經至少一個選自 $-N(R_j)_2$ 、 $-CO_2H$ 、 $-SO_3H$ 及 $-PO_3H$ 之取代基取代； R_i 可進一步視情況經本文所述之烷基之取代基取代； R_j 為具有1至6個碳原子之直鏈或分支烷基； $R_{k'}$ 為具有1至10個碳原子之直鏈、分支或環狀烷基、烯基或炔基、芳基、雜環基或雜芳基；

P' 為胺基酸殘基或含有2與20個胺基酸殘基之肽，

R 在每次出現時獨立地選自由以下組成之群： $-H$ 、視情況取代之具有1至10個碳原子之直鏈、分支或環狀烷基、烯基或炔基、聚乙二醇單元 $-(CH_2CH_2O)_n-$ R_c 、視情況取代之具有6至18個碳原子之芳基、視情況取代之含有一或多個獨立地選自氮、氧及硫之雜原子的5至18員雜芳基環，或視情況取代之含有1至6個獨立地選自 O 、 S 、 N 及 P 之雜原子的3至18員雜環；

R' 及 R'' 各自獨立地選自 $-H$ 、 $-OH$ 、 $-OR$ 、 $-NHR$ 、 $-NR_2$ 、 $-COR$ 、視情況取代之具有1至10個碳原子之直鏈、分支或環狀烷基、烯基或炔基、聚乙二醇單元 $-(CH_2CH_2O)_n-R_c$ 及視情況取代之具有1至6個獨立地選自 O 、 S 、 N 及 P 之雜原子的3至18員雜環；

R_c 為 $-H$ 或視情況取代之具有1至4個碳原子之直鏈或分支烷基；

n 為1至24之整數；

$X1'$ 選自 $-H$ 、胺保護基、視情況取代之具有1至10個碳原子之直鏈、分支或環狀烷基、烯基或炔基、聚乙二醇單元 $-(CH_2CH_2O)_n-R_c$ 、視情況取代之具有6至18個碳原子之芳基、視情況取代之含有一或多個獨立地選自氮、氧及硫之雜原子的5至18員雜芳基環，及視情況取代之含有1至6個獨立地選自 O 、 S 、 N 及 P 之雜原子的3至18員雜環；

$Y1'$ 選自 $-H$ 、側氧基(亦即， $Y1'$ 與其所連接之碳原子一起形成 $-C(=O)-$ 基團)、視情況取代之具有1至10個碳原子之直鏈、分支或環狀烷基、烯基或炔基、視情況取代之6至18員芳基、視情況取代之含有一或多個獨立地選自氮、氧及硫之雜

原子的5至18員雜芳基環、視情況取代之具有1至6個雜原子之3至18員雜環；

R1、R2、R3、R4、R1'、R2'、R3'及R4'各自獨立地選自由以下組成之群：

-H、視情況取代之具有1至10個碳原子之直鏈、分支或環狀烷基、烯基或炔基、聚乙二醇單元-(CH₂CH₂O)_n-R_c、鹵素、胍[-NH(C=NH)NH₂]、-OR、-NR'R''、-NO₂、-NCO、-NR'COR''、-SR、-SOR'、-SO₂R'、-SO₃-H、-OSO₃H、-SO₂NR'R''、氰基、疊氮基、-COR'、-OCOR'及-OCONR'R''；

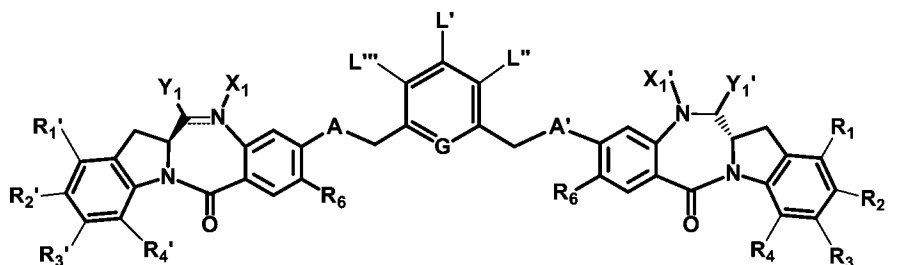
R₆為-H、-R、-OR、-SR、-NR'R''、-NO₂或鹵素；

G為-CH-或-N-；

A及A'相同或不同，且獨立地選自-O、側氧基(-C(=O)-)、-CRR'O-、-CRR'-、-S-、-CRR'S-、-NR₅及-CRR'N(R₅)-；及

R₅在每次出現時獨立地為-H或視情況取代之具有1至10個碳原子之直鏈或分支烷基。

【0037】 在某些實施例中，D由以下結構式表示：



或其醫藥學上可接受之鹽。

【0038】 在某些實施例中，L'、L''及L'''中之一者由式(A')或(D')表示，且其餘為-H、具有1至6個碳原子之直鏈或分支烷基、鹵素、-OH、(C₁-C₆)烷氧基或-NO₂。

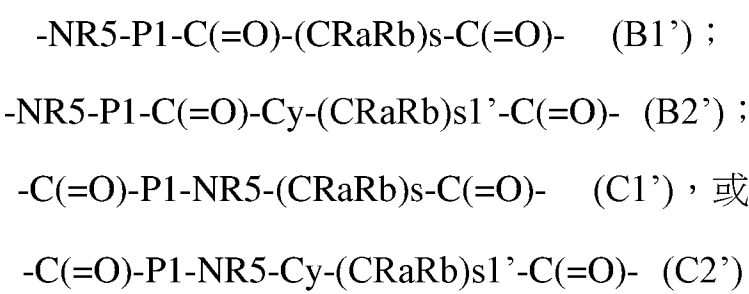
【0039】 在某些實施例中，L'由式(A')表示；且L''及L'''均為-H。

【0040】 在某些實施例中，L'由式(D')表示；且L''及L'''均為-H。

【0041】 在某些實施例中，R_{x1}為視情況經鹵素、-OH、-SO₃H、(C₁-C₃)烷基、(C₁-C₃)烷氧基、鹵(C₁-C₃)烷基取代之具有1至6個碳原子之直鏈、分支或環狀

烷基或帶電荷取代基或可電離基團Q。

【0042】 在某些實施例中，L'由下式表示：



其中：

R_a及R_b在每次出現時各自獨立地為-H、(C1-C3)烷基或帶電荷取代基或可電離基團Q；

s為1至6之整數；

s_{1'}為0或1至6之整數；及

Cy為視情況經鹵素、-OH、(C1-C3)烷基、(C1-C3)烷氧基或鹵(C1-C3)烷基取代之具有5或6個環碳原子之環狀烷基。

【0043】 在某些實施例中，R_a及R_b均為H；式(B2')及(C2')中之Cy為環己烷；且R₅為H或Me。

【0044】 在某些實施例中，s_{1'}為0或1。

【0045】 在某些實施例中，該帶電荷取代基或可電離基團Q為i) -SO₃H、-Z'-SO₃H、-OPO₃H₂、-Z'-OPO₃H₂、-PO₃H₂、-Z'-PO₃H₂、-CO₂H、-Z'-CO₂H、-NR₁₁R₁₂或 -Z'-NR₁₁R₁₂ 或其醫藥學上可接受之鹽；或 ii) -N⁺R₁₄R₁₅R₁₆X⁻ 或 -Z'-N⁺R₁₄R₁₅R₁₆X⁻；Z'為視情況取代之伸烷基、視情況取代之伸環烷基或視情況取代之伸苯基；R₁₄至R₁₆各自獨立地為視情況取代之烷基；且X⁻為醫藥學上可接受之陰離子。

【0046】 在某些實施例中，Q為-SO₃H或其醫藥學上可接受之鹽。

【0047】 在某些實施例中，P₁為含有2至10個胺基酸殘基之肽。舉例而言，

P₁可為含有2至5個胺基酸殘基之肽，諸如Gly-Gly-Gly、Ala-Val、Val-Ala、Val-Cit、Val-Lys、Phe-Lys、Lys-Lys、Ala-Lys、Phe-Cit、Leu-Cit、Ile-Cit、Trp、Cit、Phe-Ala、Phe-N⁹-甲苯磺醯基-Arg、Phe-N⁹-硝基-Arg、Phe-Phe-Lys、D-Phe-Phe-Lys、Gly-Phe-Lys、Leu-Ala-Leu、Ile-Ala-Leu、Val-Ala-Val、Ala-Leu-Ala-Leu、β-Ala-Leu-Ala-Leu、Gly-Phe-Leu-Gly、Val-Arg、Arg-Val、Arg-Arg、Val-D-Cit、Val-D-Lys、Val-D-Arg、D-Val-Cit、D-Val-Lys、D-Val-Arg、D-Val-D-Cit、D-Val-D-Lys、D-Val-D-Arg、D-Arg-D-Arg、Ala-Ala、Ala-D-Ala、D-Ala-Ala、D-Ala-D-Ala、Ala-Met或Met-Ala。在某些實施例中，P₁為Gly-Gly-Gly、Ala-Val、Ala-Ala、Ala-D-Ala、D-Ala-Ala或D-Ala-D-Ala。

【0048】 在某些實施例中，N與C之間之雙線=表示雙鍵。

【0049】 在某些實施例中，N與C之間之雙線=表示單鍵，X₁為-H或胺保護基；且Y₁選自-OR、-OCOR'、-SR、-NR'R''、視情況取代之5或6員含氮雜環、-SO₃M、-SO₂M及-OSO₃M，其中M為H⁺或醫藥學上可接受之陽離子。

【0050】 在某些實施例中，Y₁選自-SO₃M、-OH、-OMe、-OEt或-NHOH。

【0051】 在某些實施例中，Y₁為-SO₃M或-OH，其中M為H⁺、Na⁺或K⁺。

【0052】 在某些實施例中，X₁'選自由以下組成之群：-H、-OH、視情況取代之具有1至10個碳原子之直鏈、分支或環狀烷基、烯基或炔基、及苯基。

【0053】 在某些實施例中，X₁'為-H、-OH、(C₁-C₃)烷基、鹵(C₁-C₃)烷基或苯基。較佳地，X₁'為-H、-OH或-Me。在某些實施例中，X₁'為-H。

【0054】 在某些實施例中，Y₁'選自由以下組成之群：-H、側氧基、視情況取代之具有1至10個碳原子之直鏈、分支或環狀烷基、烯基或炔基。在某些實施例中，Y₁'為-H、側氧基、(C₁-C₃)烷基或鹵(C₁-C₃)烷基。在某些實施例中，Y₁'為-H或側氧基。在某些實施例中，Y₁'為-H。

【0055】 在某些實施例中，A及A'相同或不同，且選自-O-、-S-、-NR₅-及

側氧基-(C=O)-。在某些實施例中，A及A'相同或不同，且選自-O-及-S-。在某些實施例中，A及A'為-O-。

【0056】 在某些實施例中，R₆為-OMe。

【0057】 在某些實施例中，R₁、R₂、R₃、R₄、R₁'、R₂'、R₃'及R₄'獨立地為-H、鹵素、-NO₂、-OH、(C₁-C₃)烷基、鹵(C₁-C₃)烷基或(C₁-C₃)烷氧基。在某些實施例中，R₁、R₂、R₃、R₄、R₁'、R₂'、R₃'及R₄'皆為-H。

【0058】 在某些實施例中，R、R'、R''及R₅各自獨立地為-H或(C₁-C₃)烷基。

【0059】 在某些實施例中：

N與C之間之雙線==表示單鍵或雙鍵，其限制條件為當其為雙鍵時，X1不存在且Y1為-H；且當其為單鍵時，X1為-H，且Y1為-OH或-SO₃M；

R₁、R₂、R₃、R₄、R₁'、R₂'、R₃'及R₄'皆為-H；

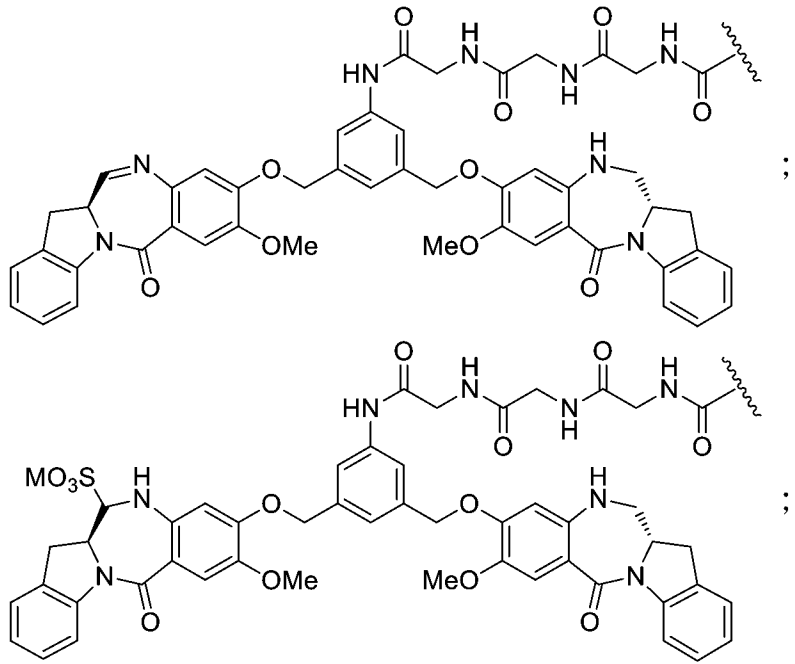
R₆為-OMe；

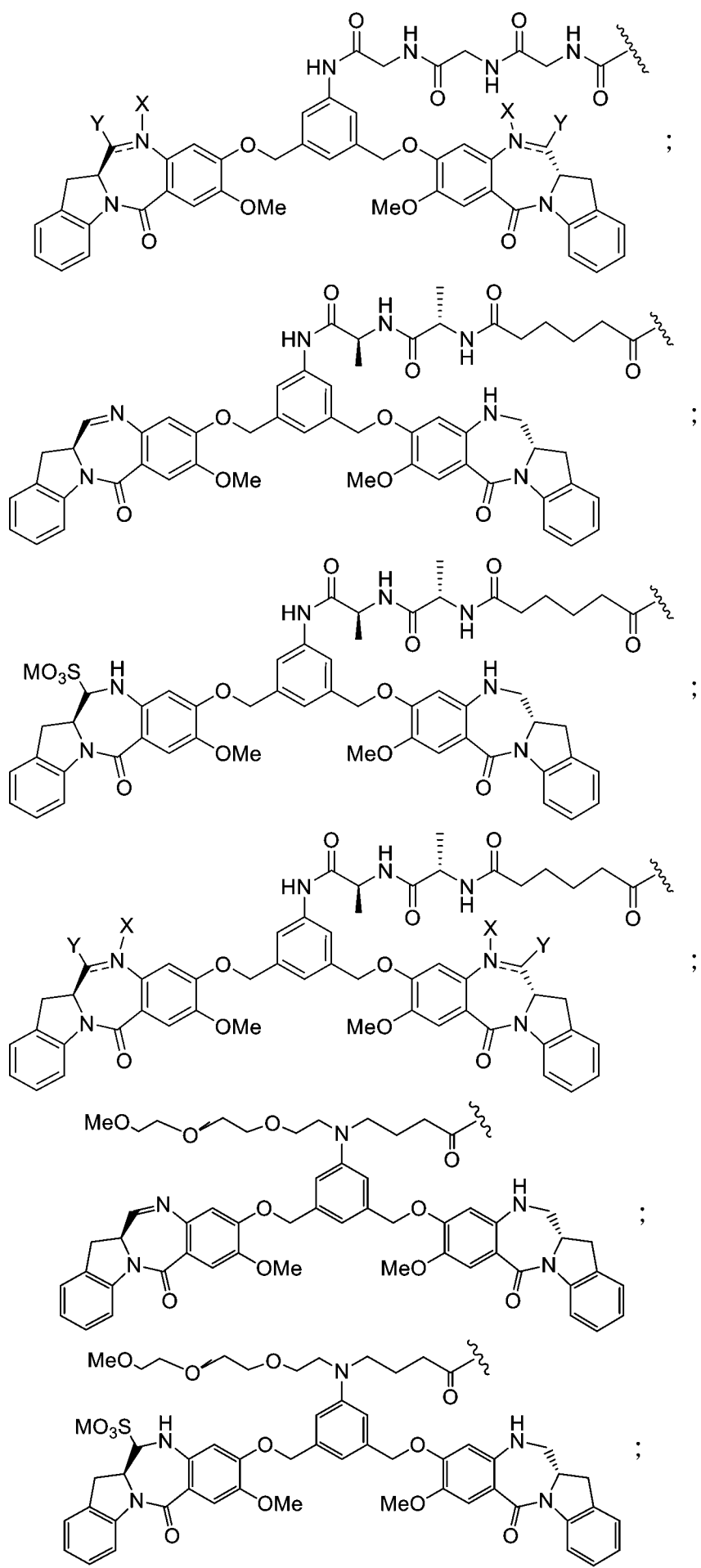
X1'及Y1'均為-H；

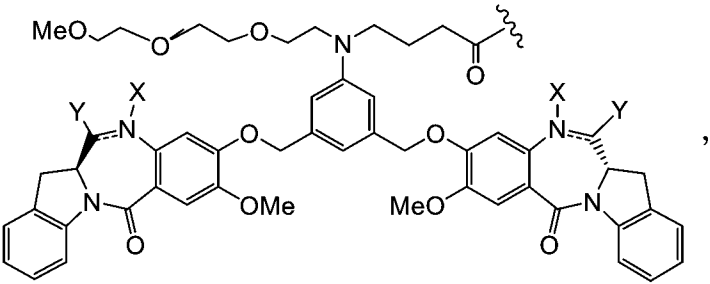
A及A'為-O-；及

M為H⁺、Na⁺或K⁺。

【0060】 在某些實施例中，D由以下結構式表示：

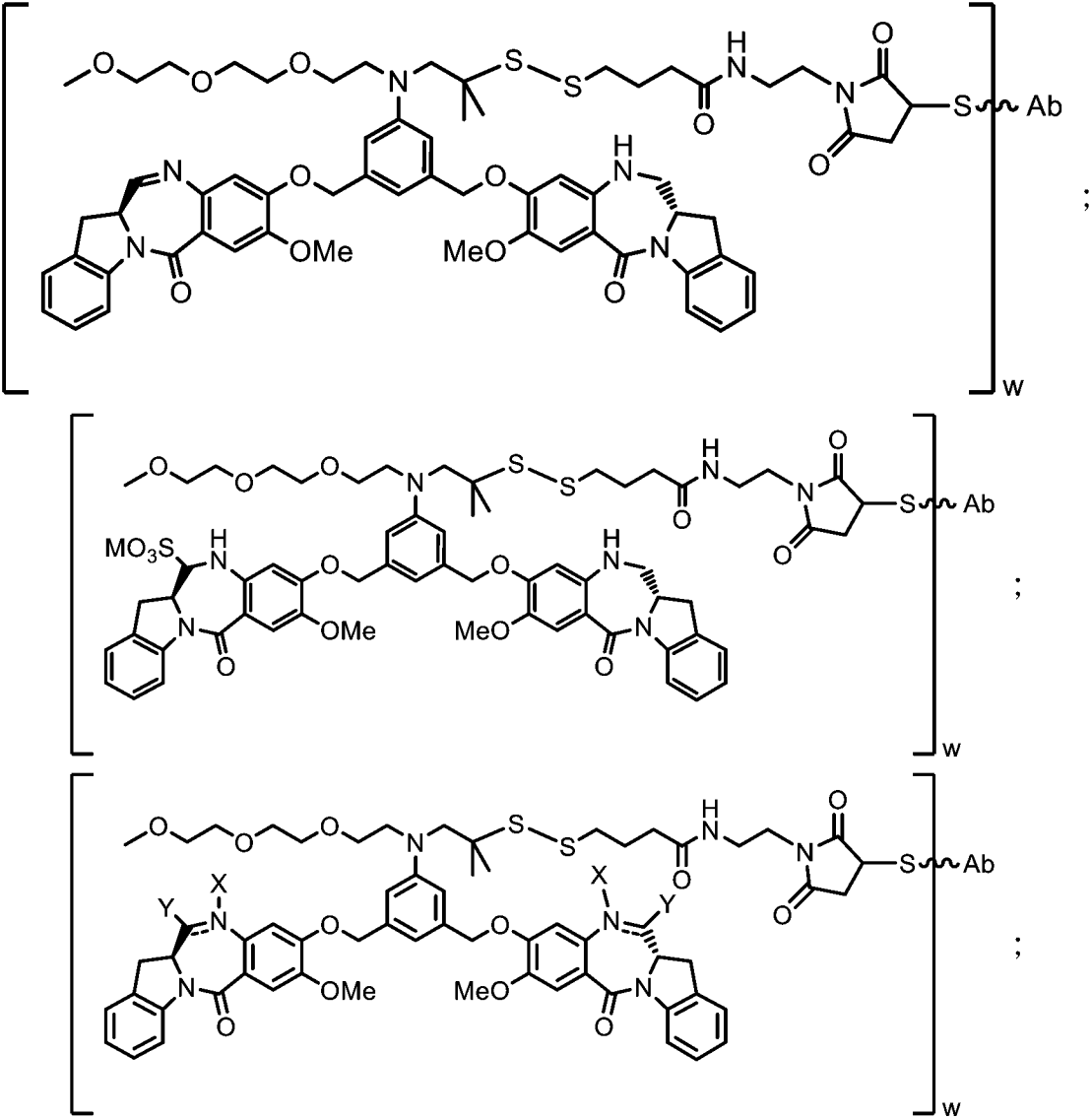


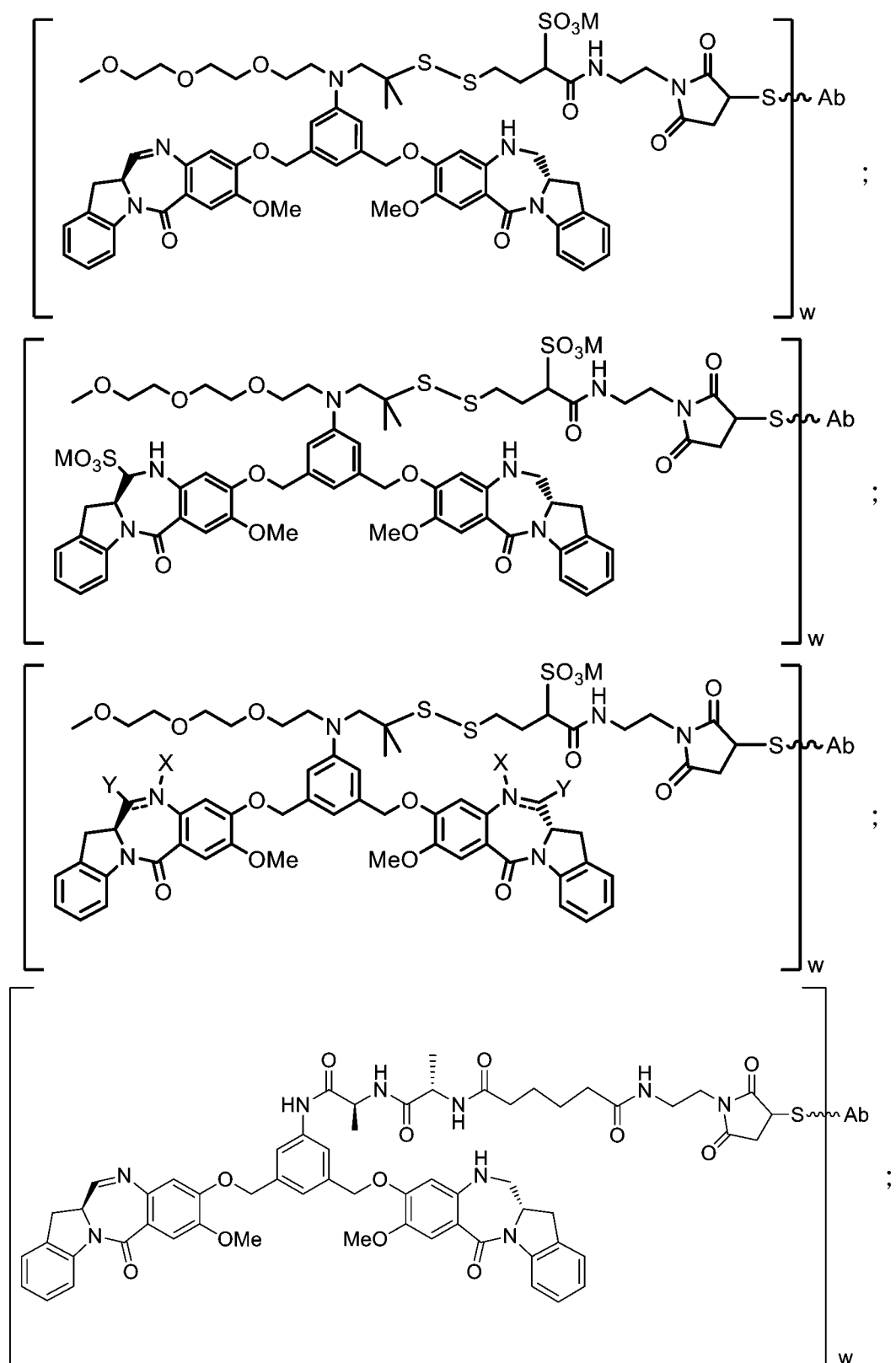


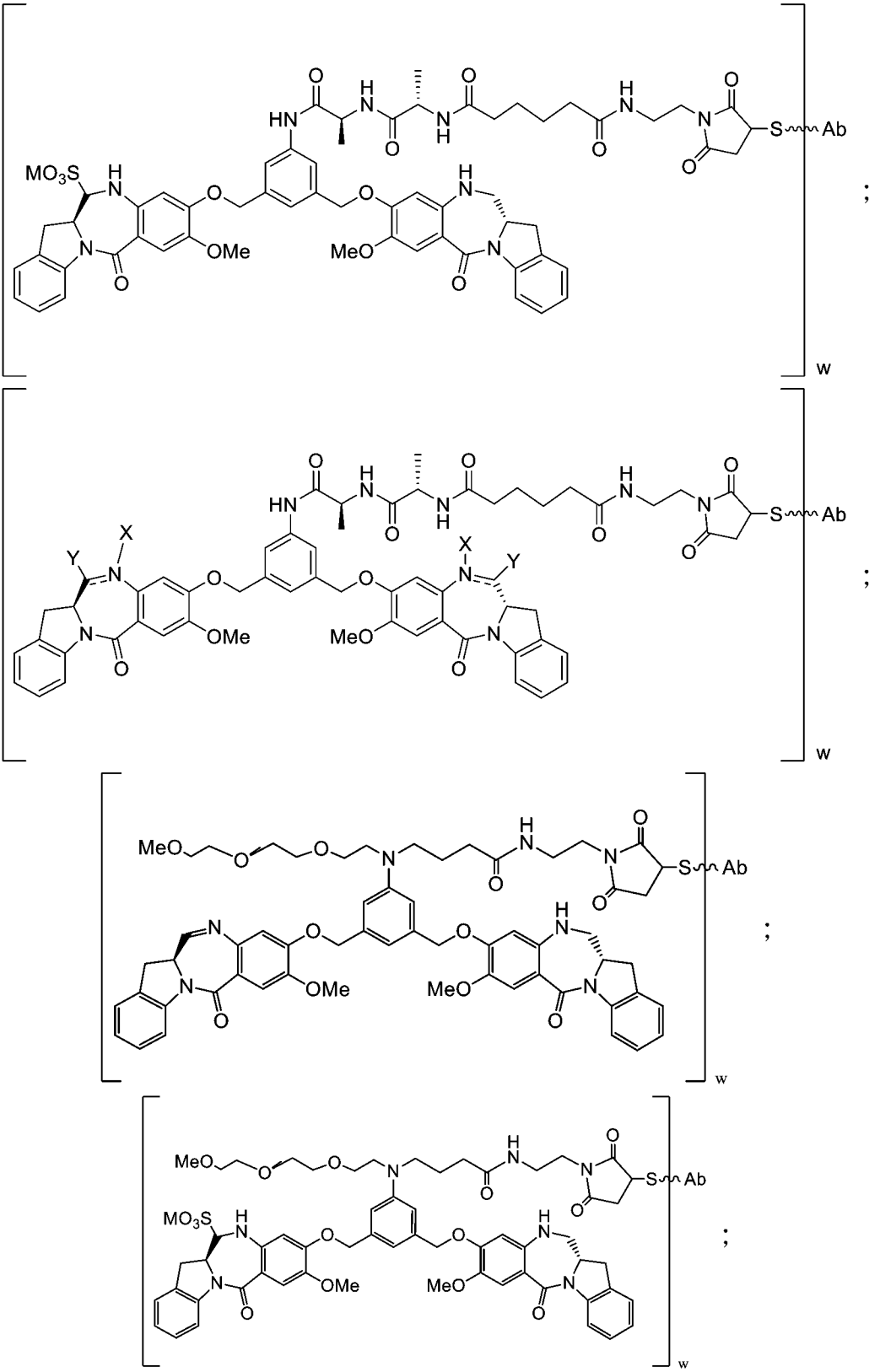


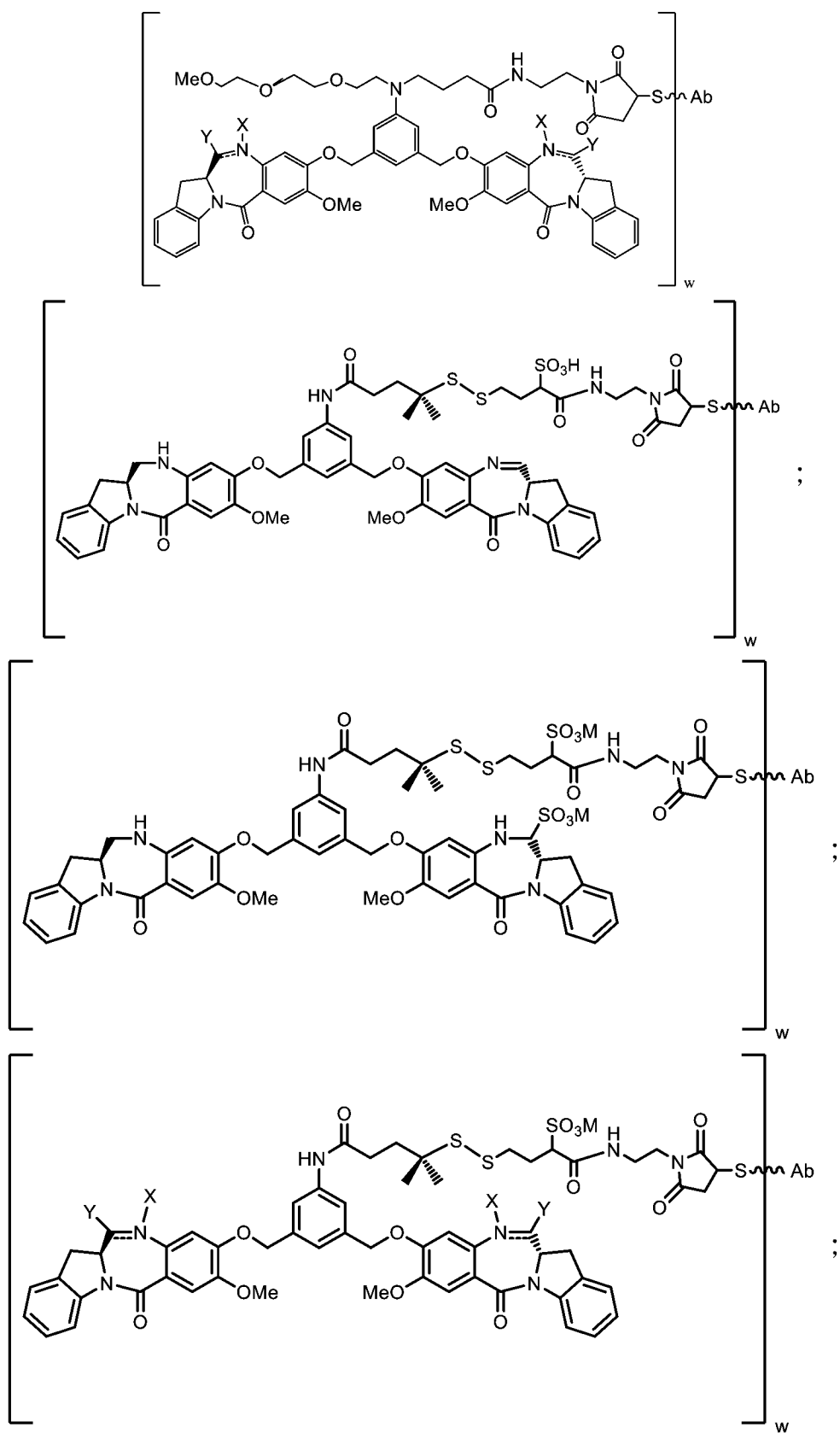
其中N與C之間之雙線==表示單鍵或雙鍵，其限制條件為當其為雙鍵時，X不存在且Y為-H，且當其為單鍵時，X為-H，且Y為-SO₃M；且M為H⁺或其醫藥學上可接受之陽離子；M為H⁺或其醫藥學上可接受之陽離子。

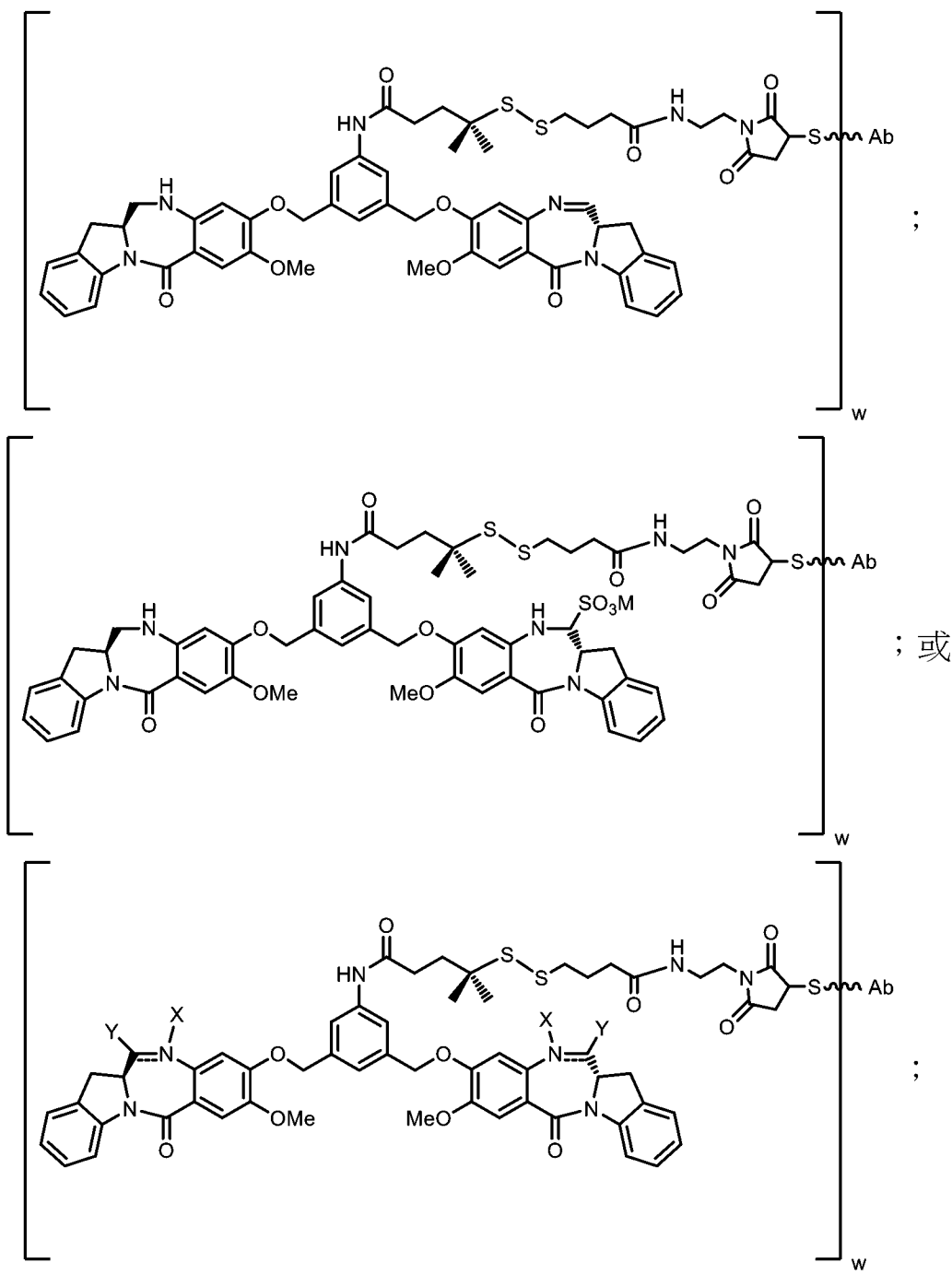
【0061】 在某些實施例中，結合物由以下結構式表示：











或其醫藥學上可接受之鹽，其中N與C之間之雙線=表示單鍵或雙鍵，其限制條件為當其為雙鍵時，X不存在且Y為-H，且當其為單鍵時，X為-H，且Y為-SO₃M；且M為H⁺或其醫藥學上可接受之陽離子。

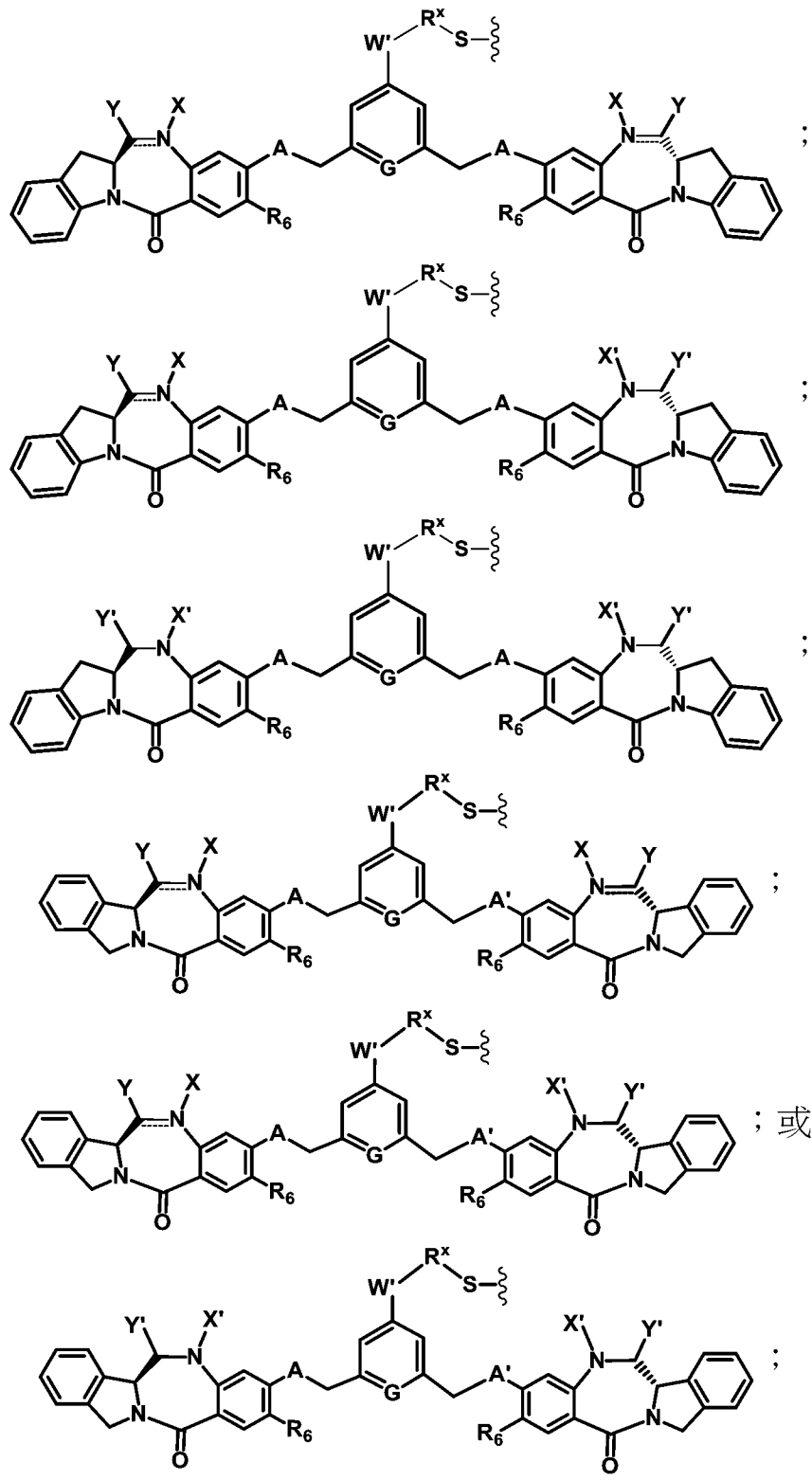
【0062】 在某些實施例中，當存在時M為H⁺、Na⁺或K⁺。

【0063】 本發明之另一態樣提供一種由以下結構式表示之化合物：

D-L-JCB，

或其醫藥學上可接受之鹽，其中：

D由以下結構式表示：



或其醫藥學上可接受之鹽，其中：

N與C之間之雙線=表示單鍵或雙鍵，其限制條件為當其為雙鍵時，X不存

在且Y為-H，且當其為單鍵時，X選自-H或胺保護基；且Y選自-OR、-OCOR'、-SR、-NR'R''、-SO₃M、-SO₂M或-OSO₃M，其中M為-H或陽離子；

R為-H、視情況取代之具有1至10個碳原子之直鏈、分支或環狀烷基、烯基或炔基或PEG基團-(CH₂CH₂O)_n-R_c，其中n為1至24之整數，且R_c為具有1至4個碳原子之直鏈或分支烷基；

R'及R''各自獨立地選自-H、-OH、-OR、-NRR_g'、-COR、視情況取代之具有1至10個碳原子之直鏈、分支或環狀烷基、視情況經取代之具有6至18個碳原子之芳基、視情況取代之具有1至6個選自O、S、N及P之雜原子之3至18員雜環、PEG基團-(CH₂CH₂O)_n-R_c，且R_g'為-H、視情況取代之具有1至10個碳原子之直鏈、分支或環狀烷基、烯基或炔基或PEG基團-(CH₂CH₂O)_n-R_c；

X'選自由以下組成之群：-H、-OH、經取代或未經取代之具有1至10個碳原子之直鏈、分支或環狀烷基、烯基或炔基、苯基及胺保護基；

Y'選自由以下組成之群：-H、側氧基、經取代或未經取代之具有1至10個碳原子之直鏈、分支或環狀烷基、烯基或炔基；

A及A'選自-O-及-S-；

W'不存在或選自-O-、-N(Re)-、-N(Re)-C(=O)-、-N(C(=O)Re)-、-S-或-CH₂-S-、-CH₂NRe-；

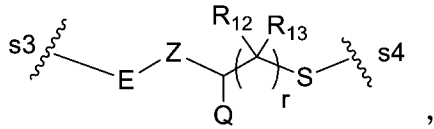
R_x不存在或選自具有1至10個碳原子之直鏈、分支或環狀烷基；

Re為-H、具有1至10個碳原子之直鏈、分支或環狀烷基、烯基或炔基或-(CH₂-CH₂-O)_n-R_k，其中R_k為-H、具有1至6個碳原子之直鏈、分支或環狀烷基、視情況攜帶二級胺基(例如，-NHR₁₀₁)或三級胺基(-NR₁₀₁R₁₀₂)、或5或6員含氮雜環，其中R₁₀₁及R₁₀₂各自獨立地為具有1至10個碳原子之直鏈、分支或環狀烷基、烯基或炔基；

G選自-CH-或-N-；

R6為-H、-R、-OR、-SR、-NR'R''、-NO₂或鹵素；

-L-由以下結構式表示：



其中：

s3為共價連接於JCB之位點，且s4為共價連接於D之位點；

E為-(CR¹⁰R¹¹)_q-、環烷基或環烷基烷基；

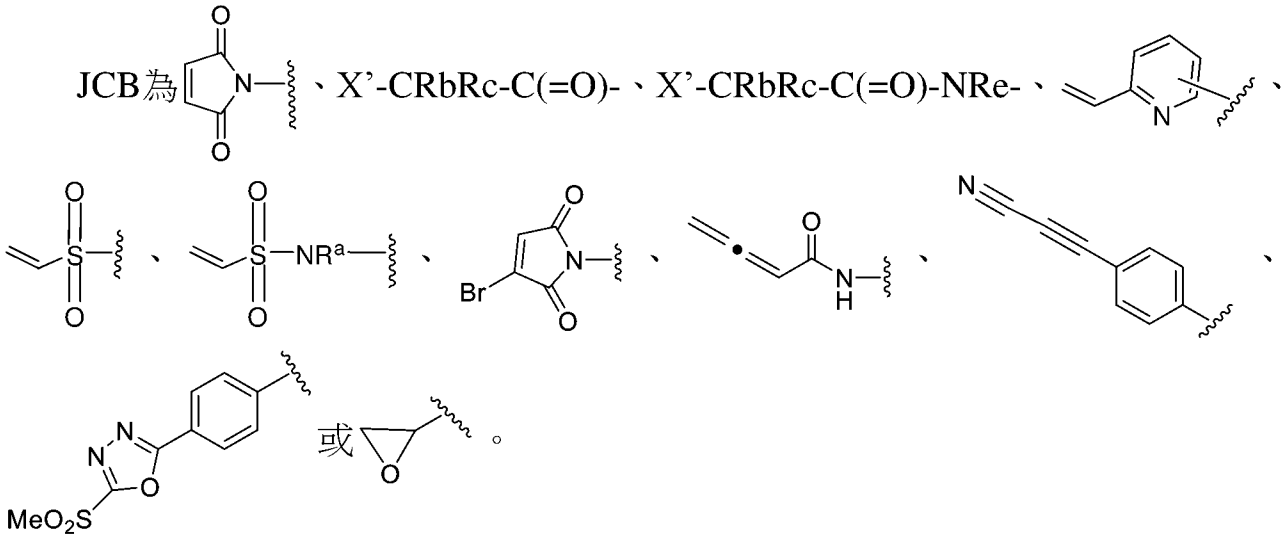
Z為不存在、-SO₂NR₉-、-NR₉SO₂-、-C(=O)-NR₉-、-NR₉-C(=O)-、-C(=O)-O-、-O-C(=O)-、-C(=O)-NR₉-(CH₂CH₂O)_p-、-NR₉-C(=O)-(CH₂CH₂O)_p-、-(OCH₂CH₂)_p-C(=O)NR₉-或-(OCH₂CH₂)_p-NR₉-C(=O)-；

p為1至1000之整數；

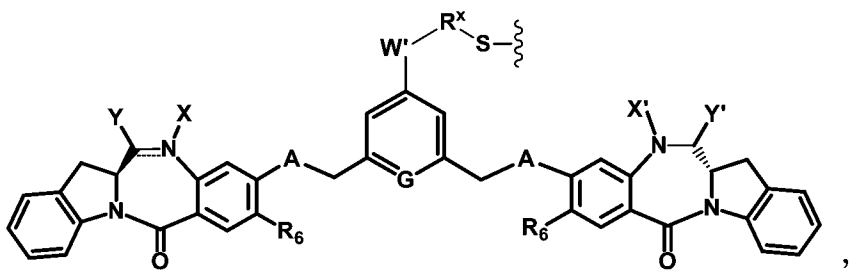
Q為H、帶電荷取代基或可電離基團；

R₉、R₁₀、R₁₁、R₁₂及R₁₃在每次出現時獨立地為H或視情況取代之烷基；

q及r在每次出現時獨立地為0與10之間之整數；及

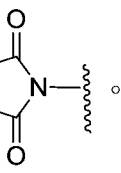


在某些實施例中，D由以下結構式表示：



或其醫藥學上可接受之鹽。

【0064】 在某些實施例中， R^a 、 R^b 、 R^c 及 R^e 各自為H。

【0065】 在某些實施例中， J_{CB} 為.

【0066】 在某些實施例中：

N與C之間之雙線=表示單鍵或雙鍵，其限制條件為當其為雙鍵時，X不存在

在且Y為-H，且當其為單鍵時，X為-H；Y為-OH或-SO₃M；

M為-H或醫藥學上可接受之陽離子(例如，Na⁺)；

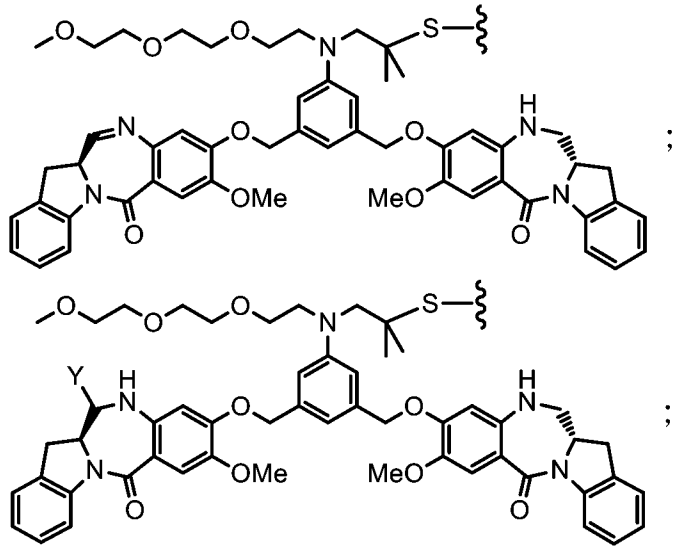
X'及Y'均為-H；

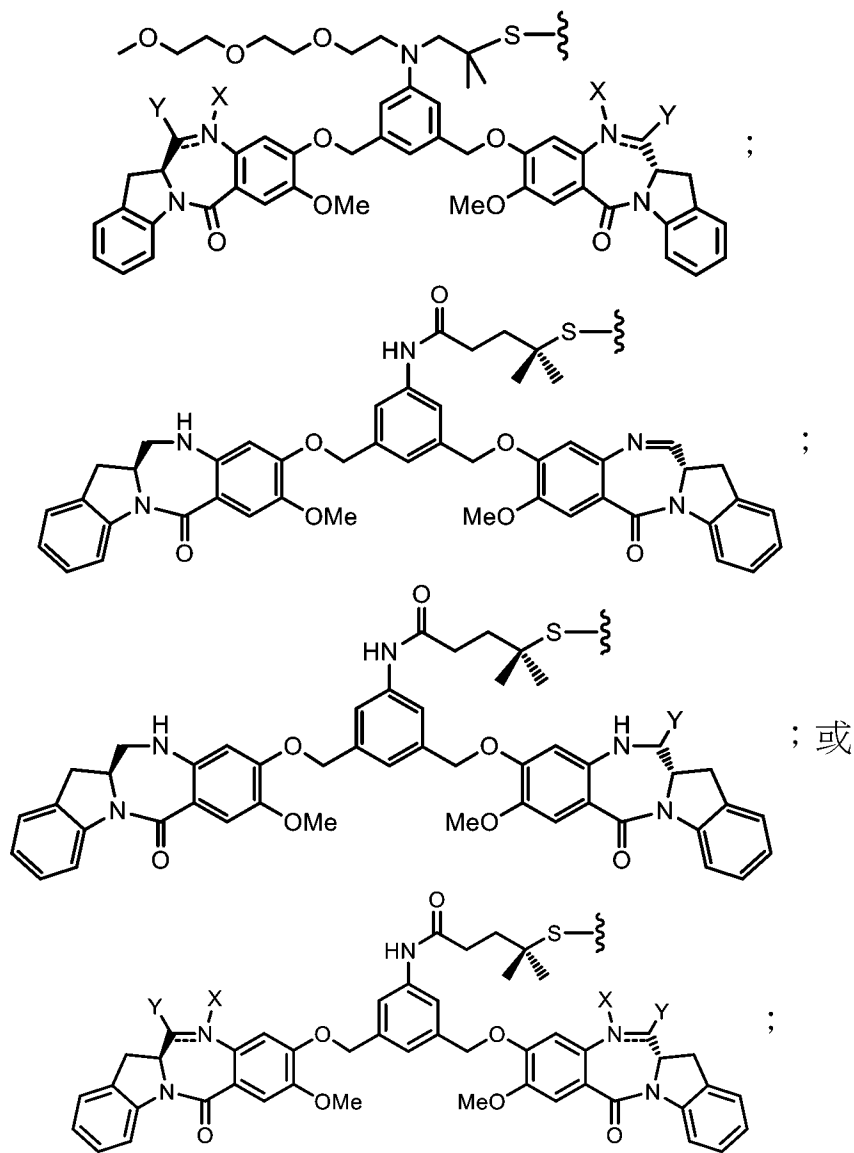
A及A'均為-O-；

R₆為-OMe；及

R_x為具有1至6個碳原子之直鏈或分支烷基。

【0067】 在某些實施例中，D由以下結構式表示：

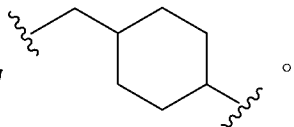




或其醫藥學上可接受之鹽。

【0068】 在某些實施例中，Y為-SO₃M；且M為H⁺、Na⁺或K⁺。

【0069】 在某些實施例中，E為-(CR₁₀R₁₁)_q⁻。

【0070】 在某些實施例中，E為.

【0071】 在某些實施例中，Z為-C(=O)-NR₉-或-NR₉-C(=O)-。在某些實施例中，R₉為-H。

【0072】 在某些實施例中，Q為：

i) H；

ii) -SO₃H、-Z'-SO₃H、-OPO₃H₂、-Z'-OPO₃H₂、-PO₃H₂、-Z'-PO₃H₂、-CO₂H、

-Z'-CO₂H、-NR₁₁R₁₂或-Z'-NR₁₄R₁₅或其醫藥學上可接受之鹽；

iii) -N⁺R₁₄R₁₅R₁₆X⁻ 或-Z'-N⁺R₁₄R₁₅R₁₆X⁻；

Z'為視情況取代之伸烷基、視情況取代之伸環烷基或視情況取代之伸苯基；

R₁₄、R₁₅及R₁₆各自獨立地為視情況取代之烷基；及

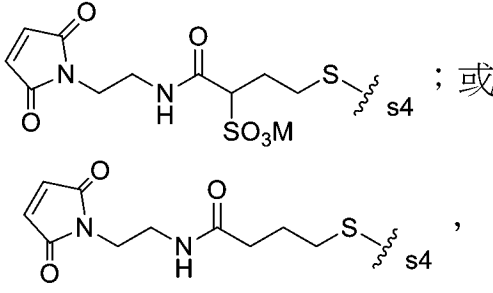
X⁻為醫藥學上可接受之陰離子。

【0073】 在某些實施例中，Z'為視情況取代之伸烷基。

【0074】 在某些實施例中，Q為H或-SO₃M，其中M為H⁺、Na⁺或K⁺。

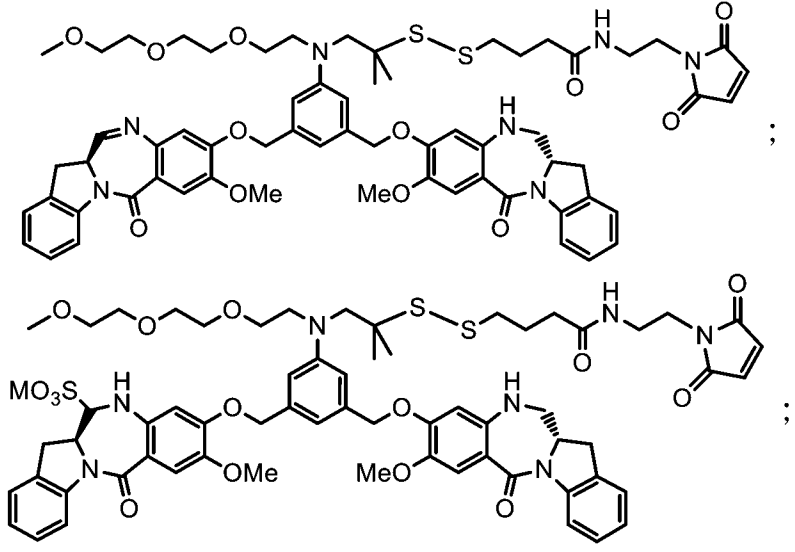
【0075】 在某些實施例中，R₉、R₁₀、R₁₁、R₁₂及R₁₃皆為H；且q及r各自獨立地為1與6之間之整數。

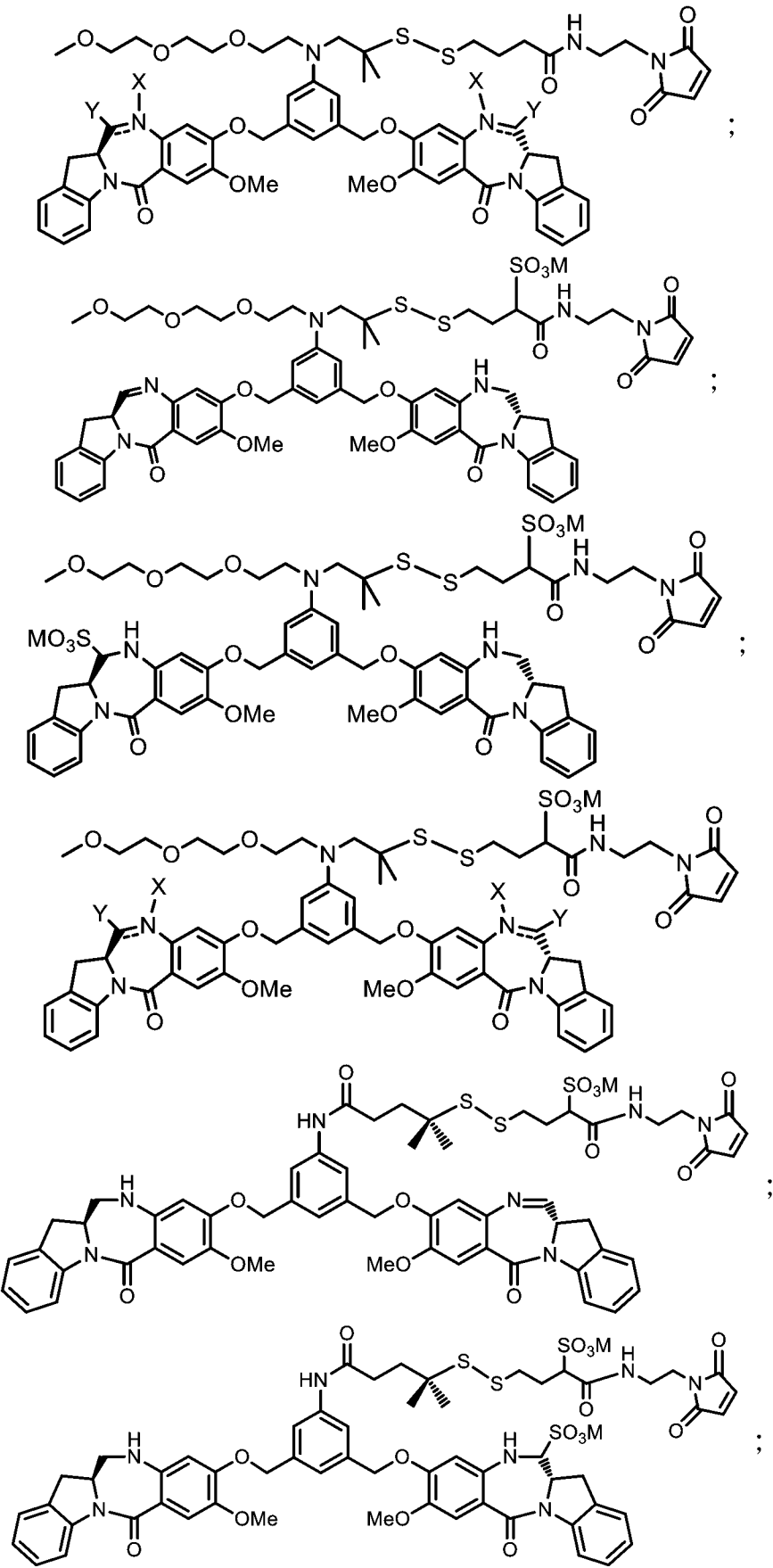
【0076】 在某些實施例中，-L-J_{CB}由以下結構式表示：

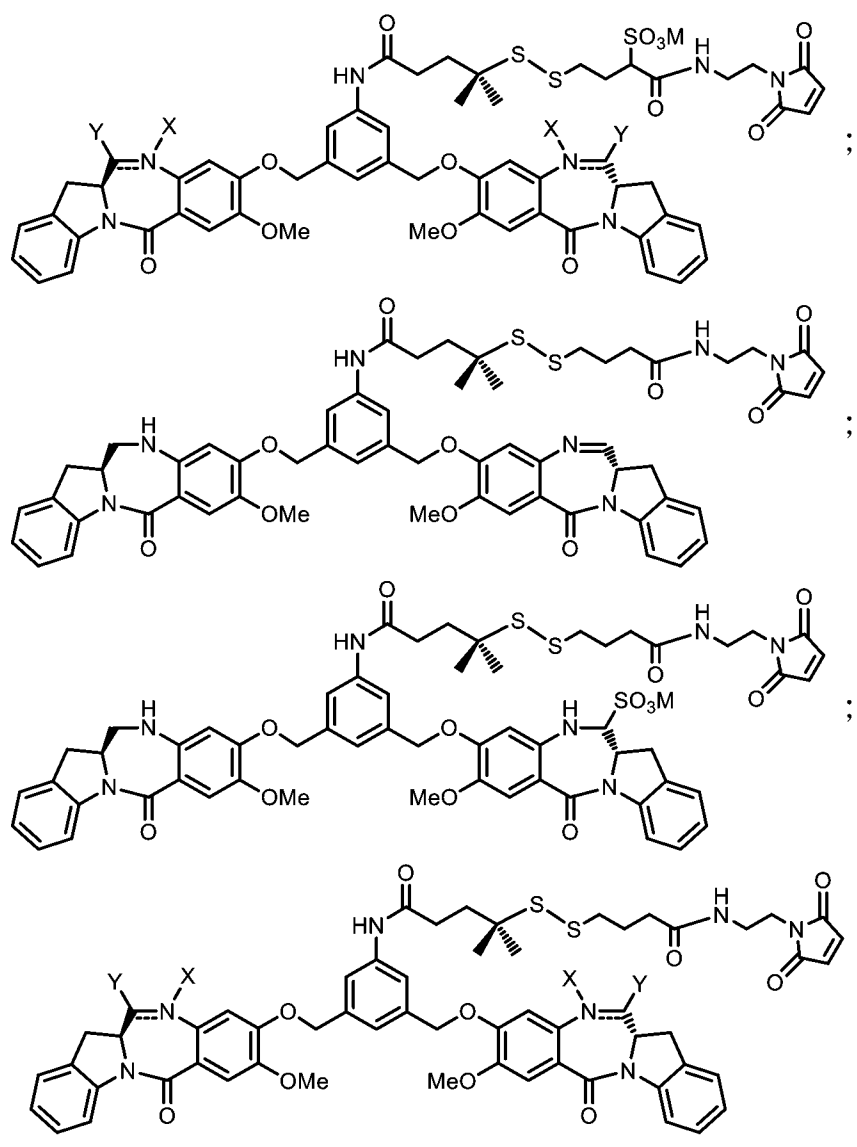


其中M為H⁺或醫藥學上可接受之陽離子。

【0077】 在某些實施例中，該化合物由以下結構式表示：







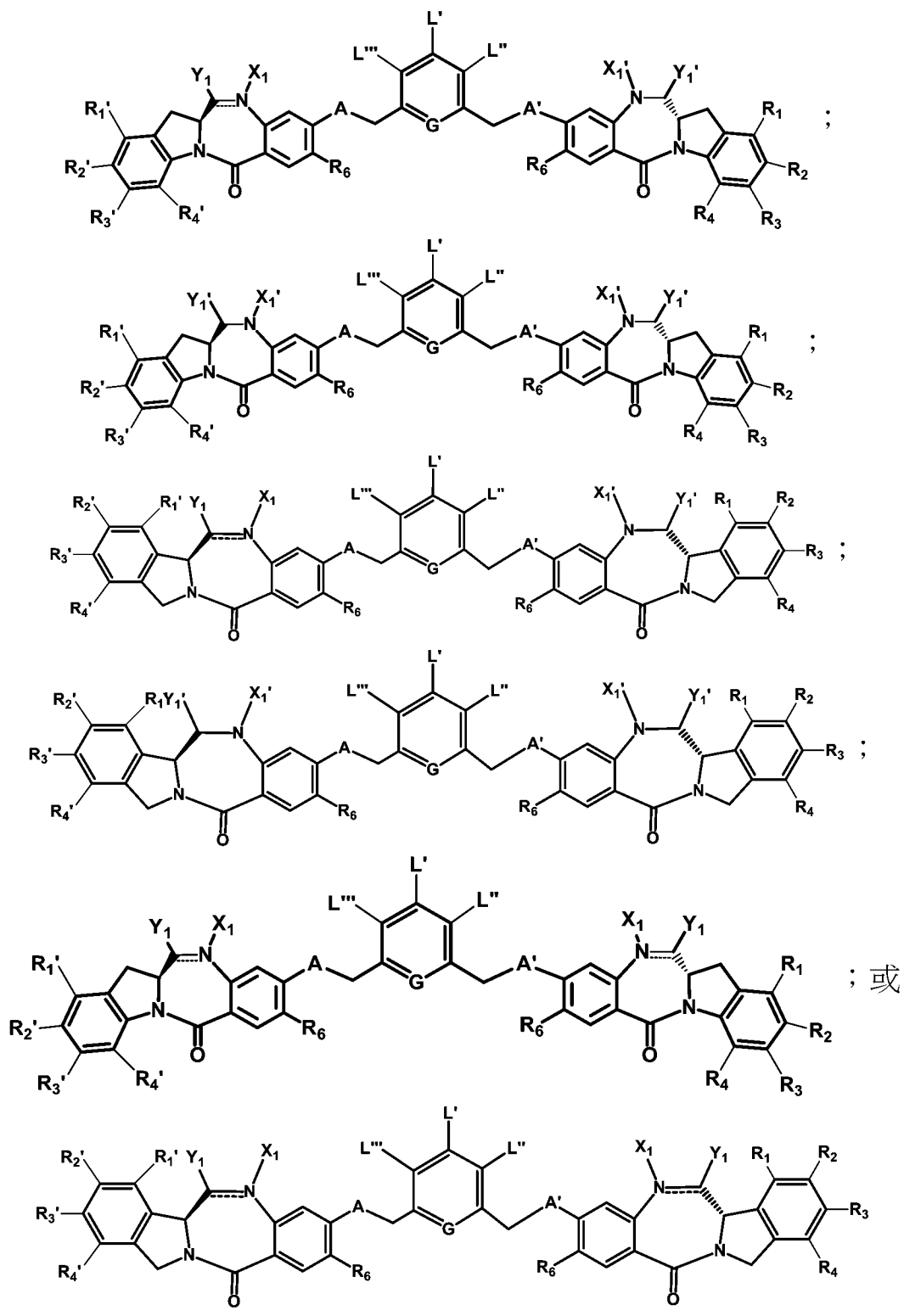
或其醫藥學上可接受之鹽，其中N與C之間之雙線==表示單鍵或雙鍵，其限制條件為當其為雙鍵時，X不存在且Y為-H，且當其為單鍵時，X為-H，且Y為-SO3M；且M為H⁺或其醫藥學上可接受之陽離子。

【0078】 本發明之另一態樣提供一種由以下結構式表示之化合物：

D-L-JCB，

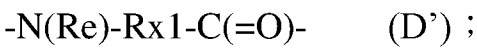
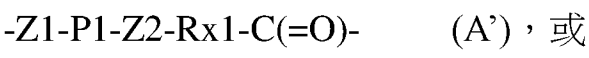
或其醫藥學上可接受之鹽，其中：

D由以下結構式表示：



或其醫藥學上可接受之鹽，其中：

L'、L''及L'''中之一者由下式表示：



且另外兩者各自獨立地選自-H、視情況經取代之具有1至10個碳原子之直鏈、分支或環狀烷基、烯基或炔基、聚乙二醇單元-(CH₂CH₂O)_n-R_c、鹵素、胍[-NH(C=NH)NH₂]、-OR、-NR'R''、-NO₂、-NR'COR''、-SR、-SOR'、-SO₂R'、-SO₃H、-OSO₃H、-SO₂NR'R''、氰基、疊氮基、-COR'、-OCOR'及-OCONR'R''；

Z₁及Z₂中之一者為-C(=O)-，且另一者為-NR₅-；

P₁為胺基酸殘基或含有2與20個胺基酸殘基之肽；

R_{x1}為視情況取代之具有1至10個碳原子之直鏈、分支或環狀烷基、烯基或炔基；

Re為-H、具有1至10個碳原子之直鏈、分支或環狀烷基、烯基或炔基或-(CH₂-CH₂-O)_n-R_k，其中R_k為-H、具有1至6個碳原子之直鏈、分支或環狀烷基、視情況攜帶二級胺基(例如，-NHR₁₀₁)或三級胺基(-NR₁₀₁R₁₀₂)、或5或6員含氮雜環，其中R₁₀₁及R₁₀₂各自獨立地為具有1至10個碳原子之直鏈、分支或環狀烷基、烯基或炔基；

N與C之間之雙線==表示單鍵或雙鍵，其限制條件為當其為雙鍵時，X₁不存在且Y₁為-H或具有1至4個碳原子之直鏈或分支烷基，且當其為單鍵時，X₁為-H或胺保護部分；且Y₁為選自以下之離去基團：-OR、-OCOR'、-OCOOR'、-OCONR'R''、-NR'R''、-NR'COR''、-NR'NR'R''、視情況經取代之5或6員含氮雜環、由-NR'(C=NH)NR'R''表示之胍、胺基酸或由-NRCOP'表示之肽、-SR、-SOR'、鹵素、氰基、疊氮基、-OSO₃H(或其鹽)、亞硫酸根(-SO₃H或-SO₂H或其鹽)、偏亞硫酸氫根(H₂S₂O₅或其鹽)、單-、二-、三-及四-硫代磷酸根(PO₃SH₃、PO₂S₂H₂、PO₃H₂、PS₄H₂或其鹽)、硫代磷酸酯(RiO)₂PS(ORi)、RiS、RiSO、RiSO₂、RiSO₃、硫代硫酸根(HS₂O₃或其鹽)、連二亞硫酸根(HS₂O₄或其鹽)、二硫代磷酸根(P(=S)(ORk')(S)(OH)或其鹽)、羥肟酸(Rk' C(=O)NOH或其鹽)及甲醛次硫酸根(HOCH₂SO₂-或其鹽)或其混合物，其中Ri為具有1至10個碳原子之直鏈或分支烷

基且經至少一個選自 $-N(R_j)_2$ 、 $-CO_2H$ 、 $-SO_3H$ 及 $-PO_3H$ 之取代基取代； R_i 可進一步視情況經本文所述之烷基之取代基取代； R_j 為具有1至6個碳原子之直鏈或分支烷基； R_k 為具有1至10個碳原子之直鏈、分支或環狀烷基、烯基或炔基、芳基、雜環基或雜芳基；

P' 為胺基酸殘基或含有2與20個胺基酸殘基之肽，

R 在每次出現時獨立地選自由以下組成之群： $-H$ 、視情況取代之具有1至10個碳原子之直鏈、分支或環狀烷基、烯基或炔基、聚乙二醇單元 $-(CH_2CH_2O)_n-$ 、 R_c 、視情況取代之具有6至18個碳原子之芳基、視情況取代之含有一或多個獨立地選自氮、氧及硫之雜原子的5至18員雜芳基環，或視情況取代之含有1至6個獨立地選自 O 、 S 、 N 及 P 之雜原子的3至18員雜環；

R' 及 R'' 各自獨立地選自 $-H$ 、 $-OH$ 、 $-OR$ 、 $-NHR$ 、 $-NR_2$ 、 $-COR$ 、視情況取代之具有1至10個碳原子之直鏈、分支或環狀烷基、烯基或炔基、聚乙二醇單元 $-(CH_2CH_2O)_n-$ 、 R_c 及視情況取代之具有1至6個獨立地選自 O 、 S 、 N 及 P 之雜原子的3至18員雜環；

R_c 為 $-H$ 或視情況取代之具有1至4個碳原子之直鏈或分支烷基；

n 為1至24之整數；

X_1 選自 $-H$ 、胺保護基、視情況取代之具有1至10個碳原子之直鏈、分支或環狀烷基、烯基或炔基、聚乙二醇單元 $-(CH_2CH_2O)_n-$ 、 R_c 、視情況取代之具有6至18個碳原子之芳基、視情況取代之含有一或多個獨立地選自氮、氧及硫之雜原子的5至18員雜芳基環，及視情況取代之含有1至6個獨立地選自 O 、 S 、 N 及 P 之雜原子的3至18員雜環；

Y_1 選自 $-H$ 、側氧基、視情況取代之具有1至10個碳原子之直鏈、分支或環狀烷基、烯基或炔基、視情況取代之6至18員芳基、視情況取代之含有一或多個獨立地選自氮、氧及硫之雜原子的5至18員雜芳基環、視情況取代之具有1至6個雜

原子之3至18員雜環；

R1、R2、R3、R4、R1'、R2'、R3'及R4'各自獨立地選自由以下組成之群：
-H、視情況取代之具有1至10個碳原子之直鏈、分支或環狀烷基、烯基或炔基、
聚乙二醇單元-(CH₂CH₂O)_n-R_c、鹵素、胍[-NH(C=NH)NH₂]、-OR、-NR'R''、-
NO₂、-NCO、-NR'COR''、-SR、-SOR'、-SO₂R'、-SO₃-H、-OSO₃H、-SO₂NR'R''、
氰基、疊氨基、-COR'、-OCOR'及-OCONR'R''；

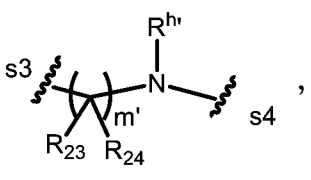
R₆為-H、-R、-OR、-SR、-NR'R''、-NO₂或鹵素；

G為-CH-或-N-；

A及A'相同或不同，且獨立地選自-O、側氧基(-C(=O)-)、-CRR'O-、-CRR'-、
-S-、-CRR'S-、-NR₅及-CRR'N(R₅)-；及

R₅在每次出現時獨立地為-H或視情況取代之具有1至10個碳原子之直鏈或
分支烷基；

-L-由以下結構式表示：



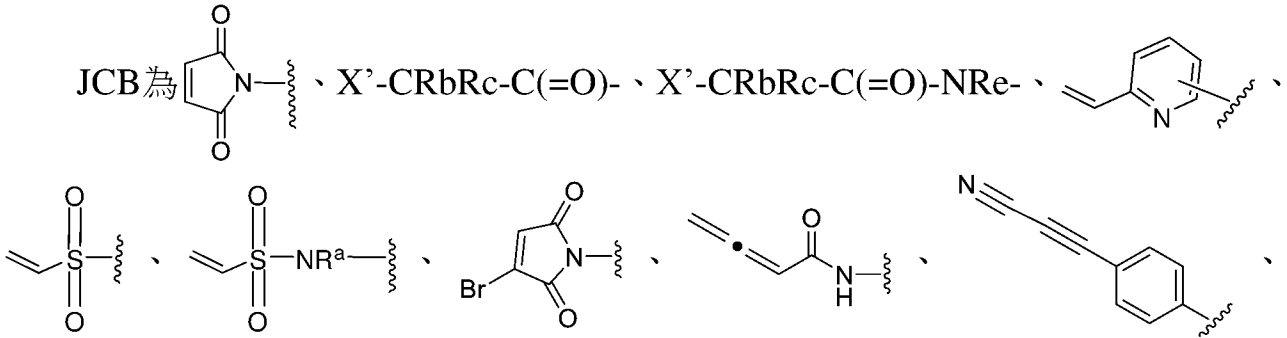
其中：

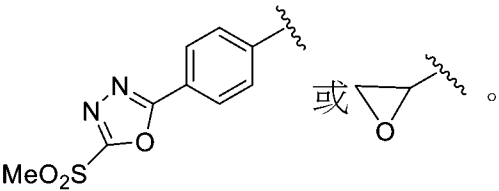
s₃為共價連接於JCB'之位點，且s₄為共價連接於D之位點；

R₂₃及R₂₄在每次出現時獨立地為H或視情況取代之烷基；

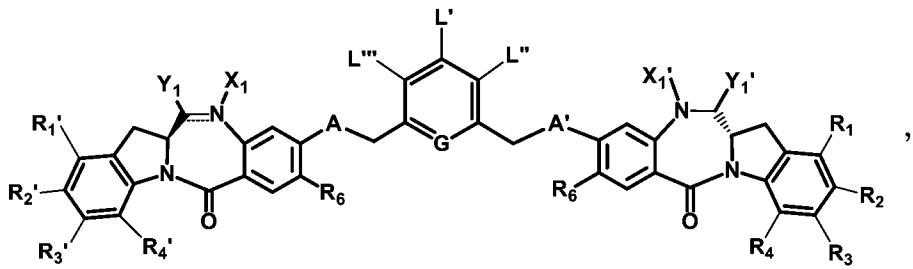
m'為0與10之間之整數；

R_h'為H或視情況取代之烷基；及



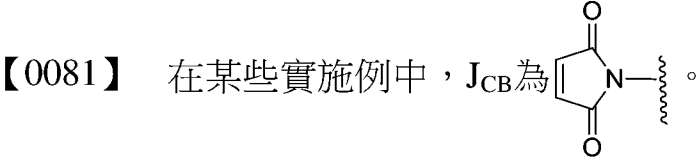


【0079】 在某些實施例中，D由以下結構式表示：



或其醫藥學上可接受之鹽。

【0080】 在某些實施例中，R^a、R^b、R^c及R^e各自為H。



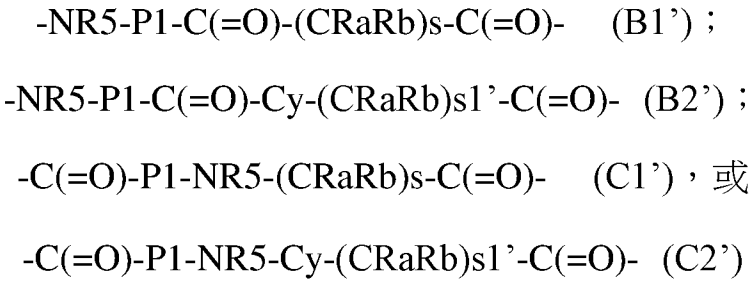
【0082】 在某些實施例中，L'、L''及L'''中之一者由式(A')或(D')表示，且其餘為-H、具有1至6個碳原子之直鏈或分支烷基、鹵素、-OH、(C₁-C₆)烷氧基或-NO₂。

【0083】 在某些實施例中，L'由式(A')表示；且L''及L'''均為-H。

【0084】 在某些實施例中，L'由式(D')表示；且L''及L'''均為-H。

【0085】 在某些實施例中，R_{x1}為視情況經鹵素、-OH、-SO₃H、(C₁-C₃)烷基、(C₁-C₃)烷氧基、鹵(C₁-C₃)烷基取代之具有1至6個碳原子之直鏈、分支或環狀烷基或帶電荷取代基或可電離基團Q。

【0086】 在某些實施例中，L'由下式表示：



其中：

Ra及Rb在每次出現時各自獨立地為-H、(C1-C3)烷基或帶電荷取代基或可電離基團Q；

s為1至6之整數；

s1'為0或1至6之整數；及

Cy為視情況經鹵素、-OH、(C1-C3)烷基、(C1-C3)烷氧基或鹵(C1-C3)烷基取代之具有5或6個環碳原子之環狀烷基。

【0087】 在某些實施例中，Ra及Rb均為H；式(B2')及(C2')之Cy為環己烷；且R5為H或Me。

【0088】 在某些實施例中，s1'為0或1。

【0089】 在某些實施例中，該帶電荷取代基或可電離基團Q為i) -SO₃H、-Z'-SO₃H、-OPO₃H₂、-Z'-OPO₃H₂、-PO₃H₂、-Z'-PO₃H₂、-CO₂H、-Z'-CO₂H、-NR₁₁R₁₂或-Z'-NR₁₁R₁₂或其醫藥學上可接受之鹽；或ii) -N⁺R₁₄R₁₅R₁₆X⁻或-Z'-N⁺R₁₄R₁₅R₁₆X⁻；Z'為視情況取代之伸烷基、視情況取代之伸環烷基或視情況取代之伸苯基；R₁₄至R₁₆各自獨立地為視情況取代之烷基；且X⁻為醫藥學上可接受之陰離子。

【0090】 在某些實施例中，Q為-SO₃H或其醫藥學上可接受之鹽。

【0091】 在某些實施例中，P₁為含有2至10個胺基酸殘基之肽。舉例而言，P₁可為含有2至5個胺基酸殘基之肽，諸如Gly-Gly-Gly、Ala-Val、Val-Ala、Val-Cit、Val-Lys、Phe-Lys、Lys-Lys、Ala-Lys、Phe-Cit、Leu-Cit、Ile-Cit、Trp、Cit、Phe-Ala、Phe-N⁹-甲苯磺醯基-Arg、Phe-N⁹-硝基-Arg、Phe-Phe-Lys、D-Phe-Phe-Lys、Gly-Phe-Lys、Leu-Ala-Leu、Ile-Ala-Leu、Val-Ala-Val、Ala-Leu-Ala-Leu (SEQ ID NO: 14)、β-Ala-Leu-Ala-Leu (SEQ ID NO: 15)、Gly-Phe-Leu-Gly (SEQ ID NO: 16)、Val-Arg、Arg-Val、Arg-Arg、Val-D-Cit、Val-D-Lys、Val-D-Arg、D-Val-Cit、D-Val-

Lys、D-Val-Arg、D-Val-D-Cit、D-Val-D-Lys、D-Val-D-Arg、D-Arg-D-Arg、Ala-Ala、Ala-D-Ala、D-Ala-Ala、D-Ala-D-Ala、Ala-Met及Met-Ala。在某些實施例中， P_1 為Gly-Gly-Gly、Ala-Val、Ala-Ala、Ala-D-Ala、D-Ala-Ala及D-Ala-D-Ala。

【0092】 在某些實施例中，N與C之間之雙線=表示雙鍵。

【0093】 在某些實施例中，N與C之間之雙線=表示單鍵， X_1 為-H或胺保護基；且 Y_1 選自-OR、-OCOR'、-SR、-NR'R''、視情況取代之5或6員含氮雜環、-SO₃M、-SO₂M及-OSO₃M，其中M為H⁺或醫藥學上可接受之陽離子。在某些實施例中， Y_1 選自-SO₃M、-OH、-OMe、-OEt或-NHOH。在某些實施例中， Y_1 為-SO₃M或-OH，且M為H⁺、Na⁺或K⁺。

【0094】 在某些實施例中， X_1' 選自由以下組成之群：-H、-OH、視情況取代之具有1至10個碳原子之直鏈、分支或環狀烷基、烯基或炔基、及苯基。在某些實施例中， X_1' 為-H、-OH、(C₁-C₃)烷基、鹵(C₁-C₃)烷基或苯基。在某些實施例中， X_1' 為-H、-OH或-Me。在某些實施例中， X_1' 為-H。

【0095】 在某些實施例中， Y_1' 選自由以下組成之群：-H、側氧基、視情況取代之具有1至10個碳原子之直鏈、分支或環狀烷基、烯基或炔基。在某些實施例中， Y_1' 為-H、側氧基、(C₁-C₃)烷基或鹵(C₁-C₃)烷基。在某些實施例中， Y_1' 為-H或側氧基。在某些實施例中， Y_1' 為-H。

【0096】 在某些實施例中，A及A'相同或不同，且選自-O-、-S-、-NR₅-及側氧基-(C=O)-。在某些實施例中，A及A'相同或不同，且選自-O-及-S-。在某些實施例中，A及A'為-O-。

【0097】 在某些實施例中，R₆為-OMe。

【0098】 在某些實施例中，R₁、R₂、R₃、R₄、R₁'、R₂'、R₃'及R₄'獨立地為-H、鹵素、-NO₂、-OH、(C₁-C₃)烷基、鹵(C₁-C₃)烷基或(C₁-C₃)烷氧基。在某些實施例中，R₁、R₂、R₃、R₄、R₁'、R₂'、R₃'及R₄'皆為-H。

【0099】 在某些實施例中，R、R'、R''及R₅各自獨立地為-H或(C₁-C₃)烷基。

【0100】 在某些實施例中：

N與C之間之雙線=表示單鍵或雙鍵，其限制條件為當其為雙鍵時，X1不存在且Y1為-H，且當其為單鍵時，X1為-H，且Y1為-OH或-SO₃M；

R₁、R₂、R₃、R₄、R₁'、R₂'、R₃'及R₄'皆為-H；

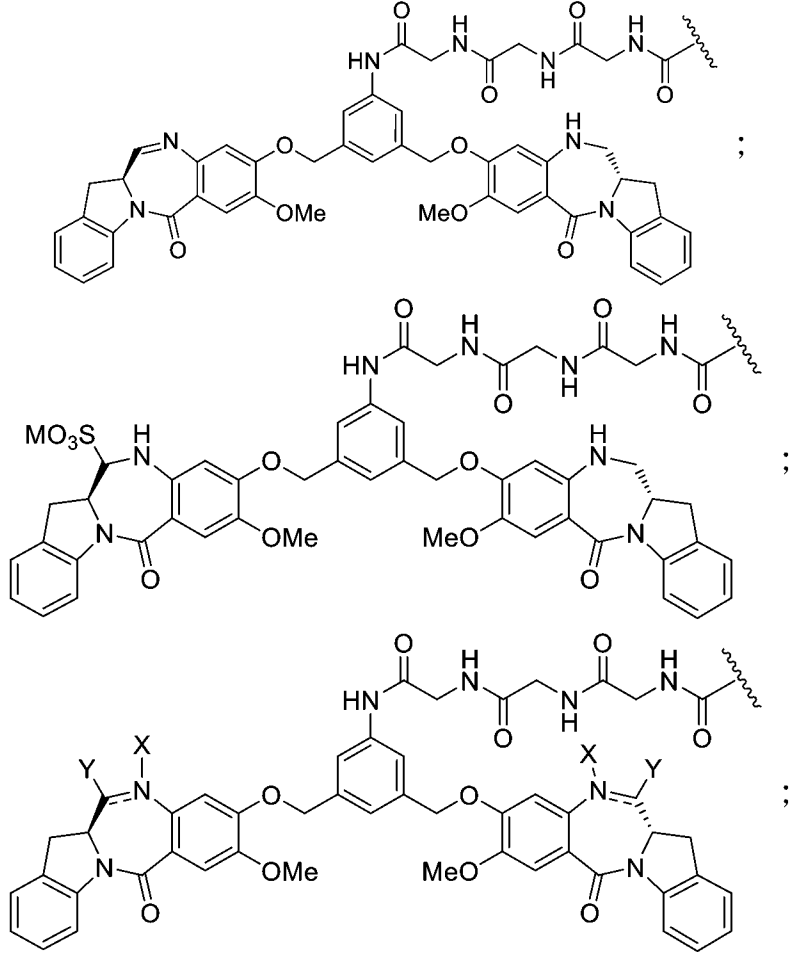
R₆為-OMe；

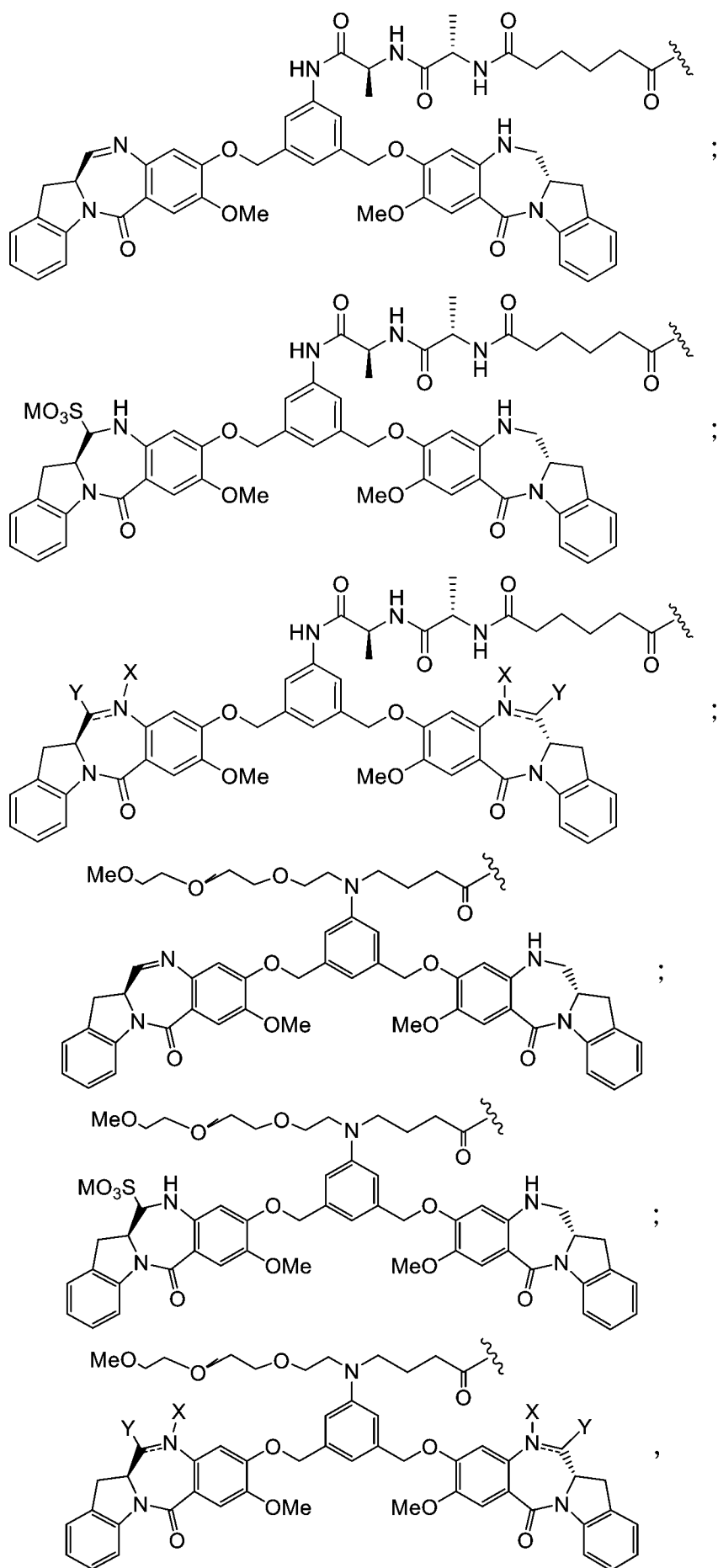
X₁'及Y₁'均為-H；

A及A'為-O-；及

M為H⁺、Na⁺或K⁺。

【0101】 在某些實施例中，D由以下結構式表示：



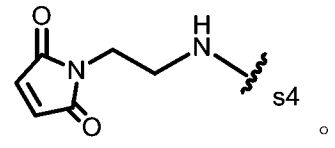


或其醫藥學上可接受之鹽，其中N與C之間之雙線=表示單鍵或雙鍵，其限制條件為當其為雙鍵時，X不存在且Y為-H，且當其為單鍵時，X為-H，且Y為-SO₃M；且M為H⁺或其醫藥學上可接受之陽離子。

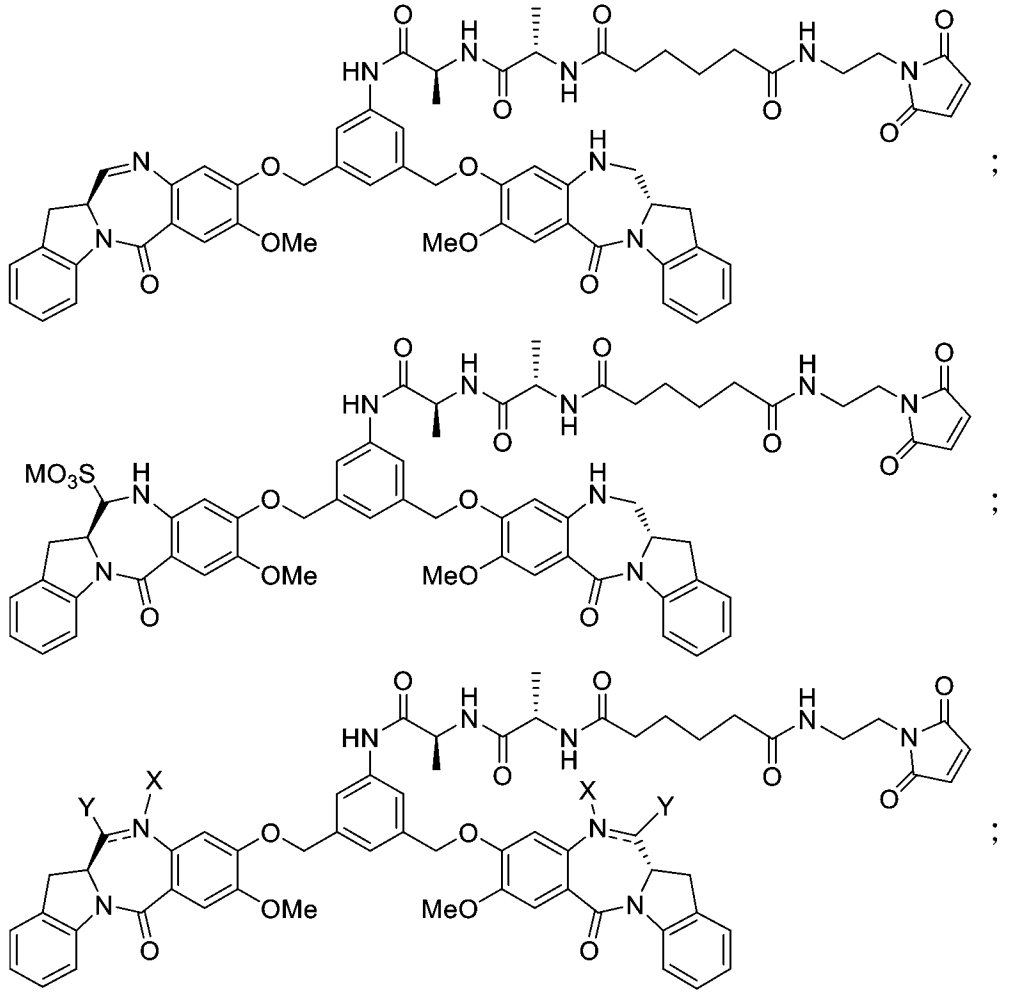
【0102】 在某些實施例中，M為H⁺、Na⁺或K⁺。

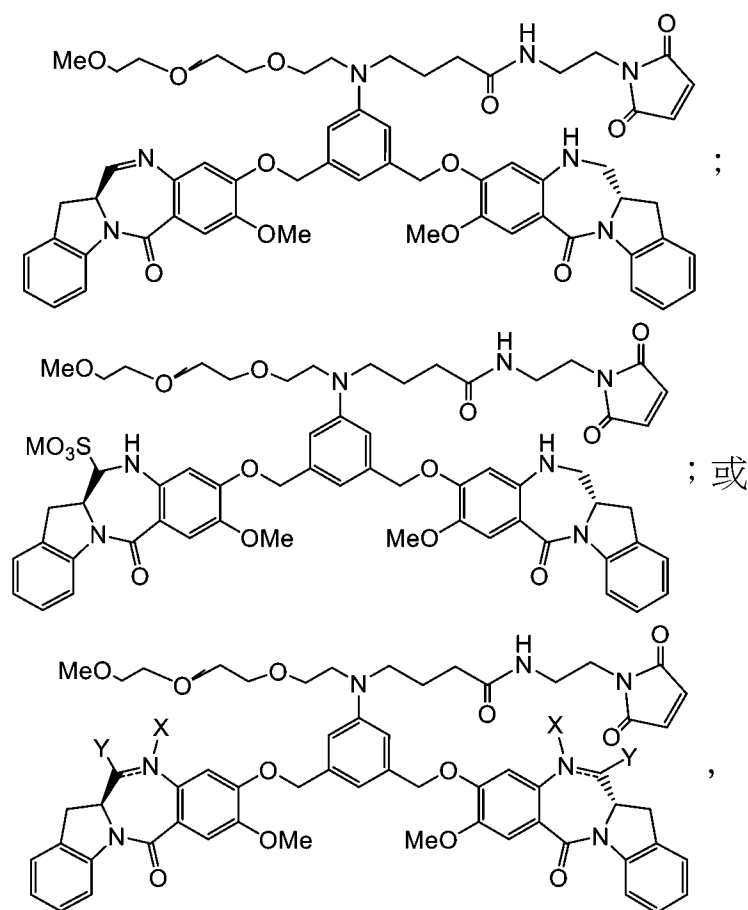
【0103】 在某些實施例中，R₂₃及R₂₄均為H；且m'為1與6之間之整數。在某些實施例中，R^{h'}為H。

【0104】 在某些實施例中，-L-J_{CB}由以下結構式表示：



【0105】 在某些實施例中，該化合物由以下結構式表示：





其中N與C之間之雙線==表示單鍵或雙鍵，其限制條件為當其為雙鍵時，X不存在且Y為-H，且當其為單鍵時，X為-H，且Y為-SO₃M；且M為H⁺或其醫藥學上可接受之陽離子。

【0106】 在某些實施例中，M為H⁺、Na⁺或K⁺。

【0107】 本發明之另一態樣提供一種醫藥組合物，其包含本發明之結合物及醫藥學上可接受之載劑。

【0108】 本發明之另一態樣提供一種在哺乳動物中抑制異常細胞生長或治療增生性病徵、自體免疫性病徵、破壞性骨病徵、感染性疾病、病毒疾病、纖維化疾病、神經退化性病徵、胰腺炎或腎病之方法，該方法包括向該哺乳動物投予治療有效量之本發明之結合物及視情況第二治療劑。

【0109】 在某些實施例中，該方法抑制異常細胞生長或治療增生性病徵。在某些實施例中，該增生性病徵為癌症，諸如血液系統癌症或實體腫瘤。示例性

血液系統癌症包括白血病及淋巴瘤。白血病可為急性骨髓性白血病(AML)、急性淋巴母細胞性白血病(ALL)諸如急性B淋巴母細胞性白血病(B-ALL)、慢性骨髓性白血病(CML)或慢性淋巴細胞性白血病(CLL)。實體腫瘤可為黑素瘤、肺癌(例如，非小細胞肺癌)、卵巢癌、子宮內膜癌、腹膜癌、胰腺癌、乳腺癌、前列腺癌或子宮頸癌。

【0110】 應瞭解，除非清楚聲明或不適當，否則本文描述之任一實施例(包括僅在本發明之一態樣而未在其他態樣下描述之實施例且包括僅在實例中出現之實施例)可與任一或多個其他實施例組合。

【圖式簡單說明】

【0111】 [圖1A]顯示去糖基化結合物huMOV19-C442-Mal-CX1-1-DM1之LC-MS，發現藉由UV-Vis該結合物具有平均2 mol DM1/mol抗體；藉由SEC該結合物具有99.3%單體；且藉由HISEP管柱上之HPLC該結合物不具有可偵測之未結合之DM1。

【0112】 [圖1B]顯示去糖基化結合物huMOV19-C442-Mal-SPDB-DM4之LC-MS，發現藉由UV-Vis該結合物具有平均2 mol DM4/mol抗體；藉由SEC該結合物具有99.5%單體；且藉由HISEP管柱上之HPLC該結合物具有0.8%未結合之DM4。

【0113】 [圖1C]顯示去糖基化結合物huMOV19-C442-D5之LC-MS，發現藉由UV/Vis該結合物具有平均2 mol D5/mol抗體；藉由SEC該結合物具有94.6%單體；且藉由SEC/反相HPLC該結合物具有0.8%未結合之D5。

【0114】 [圖1D]顯示去糖基化結合物huMOV19-C442-D4之LC-MS，發現藉由UV-Vis該結合物具有平均2 mol D4/mol抗體；且藉由SEC該結合物具有93.6%單體。

【0115】 [圖1E]顯示去糖基化結合物huCD123-6Gv1.1S2-C442-D7之LC-MS，發現藉由UV-Vis該結合物具有平均2 mol D7/mol抗體；藉由SEC該結合物具有97.2%單體；且藉由SEC/反相HPLC該結合物具有1.9%未結合之D7。

【0116】 [圖1F]顯示去糖基化結合物huCD123-6Gv4.7-C442-D5之LC-MS，發現藉由UV-Vis該結合物具有平均2 mol D5/mol抗體；且藉由SEC該結合物具有94.8%單體。

【0117】 [圖1G]顯示去糖基化結合物huCD123-6Gv4.7-C442-D4之LC-MS，發現藉由UV-Vis該結合物具有平均1.8 mol D4/mol抗體；且藉由SEC該結合物具有97.4%單體。

【0118】 [圖2]顯示Cys連接之結合物跨表現由該等結合物之抗體識別之抗原(亦即，CD123)的多種靶細胞系(例如，AML細胞系EOL-1、B-ALL細胞系KOPN-8及CML細胞系MOLM-1)至少如Lys連接之結合物一樣活性。連接空心方塊及空心圓圈之資料曲線表示分別針對連接實心方塊及實心圓圈之曲線，具有過量未結合競爭抗體(亦即chCD123-6)之對照。

【0119】 [圖3A、3B及3C]顯示Cys連接之結合物跨表現由該等結合物之抗體(亦即，M9346A或Mov19)識別之抗原(亦即，FR α)的多種靶細胞系(例如，分別KB細胞、T47D細胞及KB細胞)至少如Lys連接之結合物一樣活性。指定為「+B」之資料曲線為具有過量未結合競爭抗體(亦即，未結合M9346A抗體)之對應對照。

【0120】 [圖4A及4B]顯示Cys連接之huMOV19-C442-D5結合物及Lys連接之huMOV19-D2結合物在300.19細胞中具有幾乎相同的旁觀者殺傷效能。

【0121】 [圖5]展示Cys連接之huMOV19-C442-D5結合物及Lys連接之huMOV19-D2結合物在NCI-H2110 NSCLC異種移植物模型中具有類似活性，獨立於結合物類型(例如，Lys-鍵聯對Cys-鍵聯)。在異種移植物腫瘤之後所有接受所指示劑量之單次靜脈內注射對應ADC之小鼠達到約100 mm³大小。

【0122】 [圖6]顯示在28天內CD1小鼠中之huMOV19-C442-D5 ADC之藥物動力學。

【0123】 [圖7A]顯示用200 µg/kg CysMab位點特異性huMOV19-C442-D5治療之雌性CD-1小鼠之個別體重變化百分比。[圖7B]顯示用250 µg/kg CysMab位點特異性huMOV19-C442-D5治療之雌性CD-1小鼠之個別體重變化百分比。[圖7C]顯示用100 µg/kg Lys-連接之huMOV19-D2治療之雌性CD-1小鼠之個別體重變化百分比。[圖7D]顯示用媒劑對照或175、200或250 µg/kg位點特異性huMOV19-C442-D5結合物治療之雌性CD-1小鼠之個別體重變化百分比。

【0124】 [圖8]顯示huCD123-6Gv4.7抗體經由Cys-鍵聯結合至D4及D5化合物僅中度影響該等結合物之結合親和力。

【實施方式】

【0125】 現將詳細參照本發明之某些實施例，該等實施例之實例以所附結構及結構式予以說明。儘管本發明將結合列舉之實施例進行描述，但應瞭解，其不欲將本發明侷限於該等實施例。相反，本發明意欲涵蓋可包括在由申請專利範圍所界定之本發明範疇內的所有替代物、修改及等效物。熟諳本技術者將認識到與本文所述者相類似或相當之許多方法及材料，其可用於實踐本發明。

【0126】 應瞭解，除非清楚聲明或不適當，否則本文所述任一實施例，包括在本發明不同態樣(例如化合物、化合物-連接基分子、結合物、組合物、製備及使用方法)及本說明書不同部分(包括僅在實例中所述之實施例)下所述者，可與本發明一或多個其他實施例組合。實施例組合不限於經由複數個獨立請求項主張之該等具體組合。

定義

【0127】 如本文中所用，「**烷基**」或「**直鏈或分支烷基**」係指具有1至20個

碳原子之飽和直鏈或分支鏈單價烴基。烷基之實例包括(但不限於)甲基、乙基、1-丙基、2-丙基、1-丁基、2-甲基-1-丙基、 $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ 、2-丁基、2-甲基-2-丙基、1-戊基、2-戊基、3-戊基、2-甲基-2-丁基、3-甲基-2-丁基、3-甲基-1-丁基、2-甲基-1-丁基、1-己基、2-己基、3-己基、2-甲基-2-戊基、3-甲基-2-戊基、4-甲基-2-戊基、3-甲基-3-戊基、2-甲基-3-戊基、2,3-二甲基-2-丁基、3,3-二甲基-2-丁基、1-庚基、1-辛基及其類似基團。較佳地，烷基具有1至10個碳原子。更佳地，烷基具有1至4個碳原子。

【0128】 「**烯基**」或「**直鏈或分支烯基**」係指具有2至20個碳原子及至少一個不飽和位點(亦即碳-碳雙鍵)之直鏈或分支鏈單價烴基，其中烯基包括具有「順式」及「反式」定向或者「E」及「Z」定向之基團。實例包括(但不限於)乙烯基(ethylenyl/vinyl) ($-\text{CH}=\text{CH}_2$)、烯丙基($-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$)及其類似基團。較佳地，烯基具有2至10個碳原子。更佳地，烯基具有2至4個碳原子。

【0129】 「**炔基**」或「**直鏈或分支炔基**」係指具有2至20個碳原子與至少一個不飽和位點(亦即碳-碳三鍵)之直鏈或分支單價烴基。實例包括(但不限於)乙炔基、丙炔基、1-丁炔基、2-丁炔基、1-戊炔基、2-戊炔基、3-戊炔基、己炔基及其類似基團。較佳地，炔基具有2至10個碳原子。更佳地，炔基具有2至4個碳原子。

【0130】 術語「**環狀烷基**」及「**環烷基**」可互換使用。其係指單價飽和碳環基團。較佳地，環狀烷基為3至7員單環基團。更佳地，環狀烷基為環己基。

【0131】 術語「**環烷基烷基**」係指經環烷基取代之上述烷基。

【0132】 術語「**環狀烯基**」係指在環結構中具有至少一個雙鍵之碳環基團。

【0133】 術語「**環狀炔基**」係指在環結構中具有至少一個三鍵之碳環基團。

【0134】 「**芳基**」意謂藉由自母體芳族環系統之單一碳原子移除一個氫原子得到之具有6至18個碳原子之單價芳族烴基。一些芳基在示範性結構中以「Ar」

表示。芳基包括包含芳族環與飽和、部分不飽和環或芳族碳環或雜環稠合之雙環基團。典型芳基包括(但不限於)衍生自苯(苯基)、經取代苯、萘、蒽、茚基、茚滿基、1,2-二氫萘、1,2,3,4-四氫萘基及其類似基團之基團。較佳地，芳基為苯基。

【0135】術語「**雜環(heterocycle)**」、「**雜環基**」及「**雜環(heterocyclic ring)**」在本文中可互換使用且係指具有3至18個環原子之飽和或部分不飽和(亦即在環內具有一或多個雙鍵及/或三鍵)碳環基團，其中至少一個環原子為選自氮、氧、磷及硫之雜原子，其餘環原子為C，其中一或多個環原子視情況獨立地經下文所述之一或多個取代基取代。雜環可為具有3至7個環成員(2至6個碳原子及1至4個選自N、O、P及S之雜原子)之單環或具有7至10個環成員(4至9個碳原子及1至6個選自N、O、P及S之雜原子)之雙環，例如：雙環[4,5]、[5,5]、[5,6]或[6,6]系統。雜環描述於Paquette, Leo A.; 「Principles of Modern Heterocycle Chemistry」(W. A. Benjamin, New York, 1968)，尤其第1、3、4、6、7及9章；「The Chemistry of Heterocyclic Compounds, A series of Monographs」(John Wiley & Sons, New York, 1950出版)，尤其第13、14、16、19及28卷；及J. Am. Chem. Soc. (1960) 82:5566。

「**雜環基**」亦包括雜環基團與飽和、部分不飽和環或芳族碳環或雜環稠合之基團。雜環之實例包括(但不限於)吡咯啉基、四氫呋喃基、二氫呋喃基、四氫噻吩基、四氫吡喃基、二氫吡喃基、四氫噻喃基、N-吡啶基、N-嗎啉基、N-硫嗎啉基、氧硫雜環己烷基(thioxanyl)、哌嗪基、高哌嗪基、氮雜環丁烷基、氧雜環丁烷基、硫雜環丁烷基、高哌啶基、氧雜環庚烷基、硫雜環庚烷基、氧氮雜環庚烷基、二氮呋基、硫氮雜環庚烷基、2-吡咯啉基、3-吡咯啉基、吡啶基、2H-哌喃基、4H-哌喃基、二噁烷基、1,3-二氧雜環戊烷基、吡唑基、二硫雜環己烷基、二硫雜環戊烷基、二氫哌喃基、二氫噻吩基、二氫呋喃基、吡啶基咪唑基、咪唑基、3-氮雜雙環[3.1.0]己基、3-氮雜雙環[4.1.0]庚基及氮雜雙環[2.2.2]己基。螺環部分亦包括在此定義之範疇內。環原子經側氧基(=O)部分取代之雜環基團

之實例為嘧啶酮基及1,1-二側氧基-硫嗎啉基。

【0136】 如本文所用，「5或6員含氮雜環」係指具有5或6個環原子與至少一個氮環原子之雜環。其可視情況進一步包含1至3個選自O、N及S之雜原子。

【0137】 術語「**雜芳基**」係指具有5或6員環之單價芳族基團，且包括具有5至18個原子且含有一或多個獨立地選自氮、氧及硫之雜原子之稠環系統(其中至少一者為芳族的)。雜芳基之實例為吡啶基(包括例如2-羥基吡啶基)、咪唑基、咪唑并吡啶基、嘧啶基(包括例如4-羥基嘧啶基)、吡唑基、三唑基、吡嗪基、四唑基、呋喃基、噻吩基、異噁唑基、噻唑基、噁唑基、異噻唑基、吡咯基、喹啉基、異喹啉基、吲哚基、苯并咪唑基、苯并呋喃基、噌啉基(cinnoliny1)、吲唑基、吲嗪基、酞嗪基、噻嗪基、三嗪基、異吲哚基、蝶啶基、嘌呤基、噁二唑基、三唑基、噻二唑基、呋咕基、苯并呋咕基、苯并噻吩基、苯并噻唑基、苯并噁唑基、喹唑啉基、喹喔啉基、蔡啶基、呋喃并吡啶基。

【0138】 可能時，雜環或雜芳基可為碳(碳連接)或氮(氮連接)附接的。例如且不限於，碳鏈接之雜環或雜芳基係在吡啶之2、3、4、5或6位；噻嗪之3、4、5或6位；嘧啶之2、4、5或6位；吡嗪之2、3、5或6位；呋喃、四氫呋喃、硫呋喃、噻吩、吡咯或四氫吡咯之2、3、4或5位；噁唑、咪唑或噻唑之2、4或5位；異噁唑、吡唑或異噻唑之3、4或5位；氮雜環丙烷之2或3位；氮雜環丁烷之2、3或4位；喹啉之2、3、4、5、6、7或8位；或異喹啉之1、3、4、5、6、7或8位鏈接。

【0139】 例如且不限於，氮鏈接雜環或雜芳基係在氮雜環丙烷、氮雜環丁烷、吡咯、吡咯啉、2-吡咯啉、3-吡咯啉、咪唑、咪唑啉、2-咪唑啉、3-咪唑啉、吡唑、吡唑啉、2-吡唑啉、3-吡唑啉、哌啶、哌嗪、吲哚、吲哚啉、1H-吲唑之1位；異吲哚或異吲哚啉之2位；嗎啉之4位；及呋唑或或O-噁啉之9位鏈接。

【0140】 雜芳基或雜環基中存在之雜原子包括氧化形式，諸如NO、SO及SO₂。

【0141】 術語「**鹵基**」或「**鹵素**」係指F、Cl、Br或I。

【0142】 如本文所用，術語「**鹵烷基**」係指經一或多個如本文定義之鹵基取代的如本文定義之烷基。鹵烷基可為單鹵烷基、二鹵烷基或多鹵烷基。單鹵烷基可具有一個氟基、氯基、溴基或碘基取代基。二鹵烷基或多鹵烷基可經兩個或兩個以上相同鹵原子或不同鹵基之組合取代。鹵烷基之實例包括但不限於氟甲基、二氟甲基、三氟甲基、氯甲基、二氯甲基、三氯甲基、五氟乙基、七氟丙基、二氟氯甲基、二氯氟甲基、二氟乙基、二氟丙基、二氯乙基及二氯丙基。

【0143】 本文使用之「**烷氧基**」係指烷基-O-，其中烷基係在本文上文中加以定義。烷氧基之實例包括但不限於甲氧基、乙氧基、丙氧基、2-丙氧基、丁氧基、第三丁氧基、戊氧基、己氧基及其類似基團。

【0144】 上述烷基、鹵烷基、烷氧基、烯基、炔基、環狀烷基、環狀烯基、環狀炔基、碳環基、芳基、雜環基及雜芳基可視情況經一或多個(例如2、3、4、5、6或更多個)取代基取代。

【0145】 若一取代基描述為「**經取代的**」，則非氫取代基代替該取代基之碳、氧、硫或氮上之氫取代基。因此，例如經取代烷基取代基為至少一個非氫取代基代替烷基取代基上之氫取代基的烷基取代基。為便於說明，單氟烷基為經氟取代基取代之烷基，且二氟烷基為經兩個氟取代基取代之烷基。應認識到，若在取代基上存在一個以上取代，則每一非氫取代基可為相同或不同的(除非另作規定)。

【0146】 若一取代基描述為「**視情況經取代的**」，則該取代基可為(1)未取代的或(2)經取代的。若一取代基之碳描述為視情況經取代基清單中之一或多者取代，則該碳上之一或多個氫(在存在的氫原子數情況下)可單獨及/或一起經獨立選擇之視情況選用之取代基替代。若一取代基之氮描述為視情況經取代基清單中之一或多者取代，則該氮上之一或多個氫(在存在的氫原子數情況下)可各自

經獨立選擇之視情況選用之取代基替代。一個示範性取代基可描述為-NR'R''，其中R'及R''連同其所連接之氮原子一起可形成雜環。由R'及R''連同其所連接之氮原子一起形成之雜環可為部分或完全飽和的。在一個實施例中，雜環由3至7個原子組成。在另一實施例中，雜環選自由以下組成之群：吡咯基、咪唑基、吡唑基、三唑基、四唑基、異噁唑基、吡啶基及噻唑基。

【0147】 本說明書使用的術語「**取代基**」及「**基團(radical/group)**」可互換。

【0148】 若一組取代基統一描述為視情況經取代基清單中之一或多者取代，則該組可包括：(1)不可取代之取代基、(2)未經視情況選用之取代基取代的可取代之取代基、及/或(3)經一或多個視情況選用之取代基取代之可取代之取代基。

【0149】 若一取代基描述為視情況經至多特定數量之非氫取代基取代，則該取代基可為(1)未取代的；或(2)經至多該特定數量之非氫取代基或取代基上至多最大數量之可取代位置取代，以數量較少者為準。因此，例如，若一取代基描述為視情況經至多3個非氫取代基取代之雜芳基，則具有少於3個可取代位置之任何雜芳基將視情況經至多僅該雜芳基所具有之可取代位置之數量的非氫取代基取代。在非限制性實例中，該等取代基可選自具有1至10個碳原子之直鏈、分支或環狀烷基、烯基或炔基；芳基、雜芳基、雜環基、鹵素、胍[-NH(C=NH)NH₂]、-OR¹⁰⁰、NR¹⁰¹R¹⁰²、-NO₂、-NR¹⁰¹COR¹⁰²、-SR¹⁰⁰、以-SOR¹⁰¹表示之亞磺、以-SO₂R¹⁰¹表示之磺、磺酸根-SO₃M、硫酸根-OSO₃M、以-SO₂NR¹⁰¹R¹⁰²表示之磺醯胺、氰基、疊氮基、-COR¹⁰¹、-OCOR¹⁰¹、-OCONR¹⁰¹R¹⁰²及聚乙二醇單元(-OCH₂CH₂)_nR¹⁰¹，其中M為H或陽離子(諸如Na⁺或K⁺)；R¹⁰¹、R¹⁰²及R¹⁰³各獨立選自H、具有1至10個碳原子之直鏈、分支或環狀烷基、烯基或炔基、聚乙二醇單元(-OCH₂CH₂)_n-R¹⁰⁴(其中n為1至24之整數)、具有6至10個碳原子之芳基、具有3至

10個碳原子之雜環及具有5至10個碳原子之雜芳基；且 R^{104} 為H或具有1至4個碳原子之直鏈或分支烷基，其中以 R^{100} 、 R^{101} 、 R^{102} 、 R^{103} 及 R^{104} 表示之基團中的烷基、烯基、炔基、芳基、雜芳基及雜環基視情況經一或多個(例如2、3、4、5、6或更多)獨立選自以下基團之取代基取代：鹵素、-OH、-CN、-NO₂及未取代之具有1至4個碳原子之直鏈或分支烷基。較佳地，視情況取代之上述烷基、烯基、炔基、環狀烷基、環狀烯基、環狀炔基、碳環基、芳基、雜環基及雜芳基的取代基包括鹵素、-CN、-NR¹⁰²R¹⁰³、-CF₃、-OR¹⁰¹、芳基、雜芳基、雜環基、-SR¹⁰¹、-SOR¹⁰¹、-SO₂R¹⁰¹及-SO₃M。

【0150】 基團中之碳原子數在本文中可藉由首碼「C_{x-xx}」或「C_x-C_{xx}」指定，其中x及xx為整數。例如，「C₁₋₄烷基」或「C1-C4烷基」為具有1至4個碳原子之烷基。

【0151】 術語「化合物」或「細胞毒性化合物」、「細胞毒性二聚體」及「細胞毒性二聚體化合物」可互換使用。其意欲包括結構或結構式或其任何衍生物已經揭示於本發明或者結構或結構式或其任何衍生物以引用之方式併入的化合物。該術語亦包括本發明中揭示之所有結構式之化合物的立體異構體、幾何異構體、互變異構體、溶劑化物、代謝物、鹽(例如醫藥學上可接受之鹽)以及前藥及前藥之鹽。該術語亦包括前述任一者之任何溶劑化物、水合物及多晶型物。在本申請案中所述本發明某些態樣中有關「立體異構體」、「幾何異構體」、「互變異構體」、「溶劑化物」、「代謝物」、「鹽」、「前藥」、「前藥鹽」、「結合物」、「結合物鹽」、「溶劑化物」、「水合物」或「多晶型物」之具體陳述不應解釋為意欲在術語「化合物」之使用未用此等其他形式陳述之本發明其他態樣中省略此等形式。

【0152】 如本文中所用，術語「結合物」係指連接到細胞結合劑之本文所述化合物或其衍生物。

【0153】 如本文中所用，術語「可連接至細胞結合劑」係指本文所述化合

物或其衍生物包含至少一個適於將此等化合物或其衍生物鏈接至細胞結合劑之連接基團或其前體。

【0154】 術語既定基團之「**前體**」係指可藉由任何脫保護、化學改質或偶合反應產生該基團之任何基團。

【0155】 術語「**對掌性**」係指分子具有與鏡像搭配物不可重疊之性質，而術語「**非對掌性**」係指分子可重疊於其鏡像搭配物上。

【0156】 術語「**立體異構體**」係指具有相同化學構成及連接性但其原子之空間定向不同，無法藉由圍繞單鍵之旋轉而相互轉化的化合物。

【0157】 「**非鏡像異構物**」係指具有兩個或兩個以上對掌性中心且分子不互為鏡像之立體異構物。非鏡像異構物具有不同物理性質，例如熔點、沸點、光譜性質及反應性。非鏡像異構物混合物可借助諸如結晶法、電泳法及層析法之高解析度分析程式分離。

【0158】 「**鏡像異構物**」係指化合物之兩個互為不可重疊鏡像之立體異構物。

【0159】 本文中使用的立體化學定義及規則一般遵循S. P. Parker編輯，McGraw-Hill Dictionary of Chemical Terms(1984) McGraw-Hill Book Company, New York；以及Eliel, E.及Wilens, S., 「Stereochemistry of Organic Compound,」 John Wiley & Sons, Inc., New York, 1994。本發明化合物可含有不對稱或對掌性中心，且因此以不同立體異構形式存在。預期本發明化合物之所有立體異構形式，包括但不限於非鏡像異構物、鏡像異構物及阻轉異構物，以及其混合物(諸如外消旋混合物)，均形成本發明之一部分。許多有機化合物以光學活性形式存在，亦即其能夠使平面偏振光之平面旋轉。在描述光學活性化合物時，字首D及L或R及S用於表示分子圍繞其對掌性中心之絕對組態。首碼d及l或(+)及(-)用於表示化合物旋轉平面偏振光之符號，其中(-)或l意謂該化合物為左旋的。字首為(+)或

d之化合物為右旋化合物。對於既定化學結構，此等立體異構物為相同的，例外之處為其互為鏡像。特定立體異構物亦可稱為鏡像異構物，且此等異構物之混合物常稱為鏡像異構混合物。鏡像異構物之50:50混合物稱為外消旋混合物或外消旋物，其可在化學反應或過程中不存在立體選擇性或立體特異性時出現。術語「外消旋混合物」及「外消旋物」係指兩種鏡像異構物質之缺乏光學活性之等莫耳混合物。

【0160】 術語「**互變異構體**」或「**互變異構形式**」係指具有不同能量之結構異構體，其可經由低能障壁相互轉化。舉例而言，質子互變異構體(亦稱為質子異變的互變異構體)包括經由質子遷移發生之相互轉化，諸如酮基-烯醇及亞胺-烯胺異構化。價態互變異構體包括藉由一些鍵接電子之重排發生之相互轉化。

【0161】 本發明之前藥之一種較佳形式包括包含在化合物/結合物之亞胺鍵與亞胺反應性試劑之間形成之加合物的本發明之化合物(具有或不具有任何連接基基團)及結合物。本發明前藥之另一較佳形式包括諸如式(I) -(IV)者之化合物，其中當N與C之間之雙線=表示單鍵時，X為H或胺保護基，且該化合物變為前藥。本發明之前藥可含有本文所述前藥形式中之一種或兩種(例如含有在化合物/結合物之亞胺鍵與亞胺反應性試劑之間形成的加合物，及/或當X為-H時含有Y離去基團)。

【0162】 術語「**亞胺反應性試劑**」係指能夠與亞胺基團反應之試劑。亞胺反應性試劑之實例包括(但不限於)亞硫酸根(H_2SO_3 、 H_2SO_2 或者 HSO_3^- 、 SO_3^{2-} 或 HSO_2^- 與陽離子形成的鹽)、偏亞硫酸氫根($\text{H}_2\text{S}_2\text{O}_5$ 或 $\text{S}_2\text{O}_5^{2-}$ 與陽離子形成的鹽)、單、二、三及四-硫代磷酸根(PO_3SH_3 、 $\text{PO}_2\text{S}_2\text{H}_3$ 、 POS_3H_3 、 PS_4H_3 或 PO_3S^{3-} 、 $\text{PO}_2\text{S}_2^{3-}$ 、 POS_3^{3-} 或 PS_4^{3-} 與陽離子形成的鹽)、硫代磷酸酯($(\text{R}^i\text{O})_2\text{PS}(\text{OR}^i)$ 、 R^iSH 、 R^iSOH 、 $\text{R}^i\text{SO}_2\text{H}$ 、 $\text{R}^i\text{SO}_3\text{H}$)、各種胺(羥基胺(例如 NH_2OH)、肼(例如 NH_2NH_2)、 $\text{NH}_2\text{O}-\text{R}^i$ 、 $\text{R}^{i'}\text{NH}-\text{R}^i$ 、 NH_2-R^i)、 $\text{NH}_2-\text{CO}-\text{NH}_2$ 、 $\text{NH}_2-\text{C}(=\text{S})-\text{NH}_2$ 、硫代硫酸根($\text{H}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 或 $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$

與陽離子形成的鹽)、連二亞硫酸根($\text{H}_2\text{S}_2\text{O}_4$ 或 $\text{S}_2\text{O}_4^{2-}$ 與陽離子形成的鹽)、二硫代磷酸根($\text{P}(=\text{S})(\text{OR}^k)(\text{SH})(\text{OH})$ 或其與陽離子形成的鹽)、羥肟酸($\text{R}^k\text{C}(=\text{O})\text{NHOH}$ 或與陽離子形成的鹽)、醯肼($\text{R}^k\text{CONHNH}_2$)、甲醛次硫酸根($\text{HOCH}_2\text{SO}_2\text{H}$ 或 $\text{HOCH}_2\text{SO}_2^-$ 與陽離子形成的鹽, 諸如 $\text{HOCH}_2\text{SO}_2^-\text{Na}^+$)、糖化核苷酸(諸如GDP-甘露糖)、氟達拉濱(fludarabine)或其混合物, 其中 R^i 及 $\text{R}^{i'}$ 各獨立地為具有1至10個碳原子之直鏈或分支烷基且經至少一個選自 $-\text{N}(\text{R}^j)_2$ 、 $-\text{CO}_2\text{H}$ 、 $-\text{SO}_3\text{H}$ 及 $-\text{PO}_3\text{H}$ 之取代基取代; R^i 及 $\text{R}^{i'}$ 可視情況經本文所述之烷基之取代基取代; R^j 為具有1至6個碳原子之直鏈或分支烷基; 且 R^k 為具有1至10個碳原子之直鏈、分支或環狀烷基、烯基或炔基, 芳基、雜環基或雜芳基(較佳 R^k 為具有1至4個碳原子之直鏈或分支烷基; 更佳 R^k 為甲基、乙基或丙基)。較佳地, 該陽離子為一價陽離子, 諸如 Na^+ 或 K^+ 。較佳地, 亞胺反應性試劑選自亞硫酸鹽、羥基胺、脲及肼。更佳地, 亞胺反應性試劑為 NaHSO_3 或 KHSO_3 。

【0163】 如本文所用, 「**苯并二氮呋**」化合物為具有苯并二氮呋核心結構之化合物。苯并二氮呋核心可經一或多個環結構取代及/或與一或多個環結構稠合。其亦包括具有藉由連接基連接之兩個苯并二氮呋核心之化合物。作為苯并二氮呋核心之一部分之亞胺官能基($-\text{C}=\text{N}-$)可經還原。

【0164】 如本文所用, 「**吲哚啉并苯并二氮呋**」(IBD)化合物為具有吲哚啉并苯并二氮呋核心結構之化合物。吲哚啉并苯并二氮呋可經取代。其亦包括具有藉由連接基連接之兩個吲哚啉并苯并二氮呋核心之化合物。作為吲哚啉并苯并二氮呋核心之一部分之亞胺官能基($-\text{C}=\text{N}-$)可經還原。

【0165】 如本文中所用, 短語「**醫藥學上可接受之鹽**」係指本發明化合物之醫藥學上可接受之有機或無機鹽。示範性鹽包括(但不限於)硫酸鹽、檸檬酸鹽、乙酸鹽、草酸鹽、氯化物、溴化物、碘化物、硝酸鹽、硫酸氫鹽、磷酸鹽、酸式磷酸鹽、異煙酸鹽、乳酸鹽、水楊酸鹽、酸式檸檬酸鹽、酒石酸鹽、油酸鹽、丹

寧酸鹽、泛酸鹽、酒石酸氫鹽、抗壞血酸鹽、琥珀酸鹽、馬來酸鹽、龍膽酸鹽(gentisinate)、富馬酸鹽、葡糖酸鹽、葡糖醛酸鹽、糖酸鹽(saccharate)、甲酸鹽、苯甲酸鹽、麩胺酸鹽、甲烷磺酸鹽「甲磺酸鹽」、乙烷磺酸鹽、苯磺酸鹽、對甲苯磺酸鹽、帕莫酸鹽(pamoate)(亦即1,1'-亞甲基-雙-(2-羥基-3-萘酸鹽))、鹼金屬(例如鈉及鉀)鹽、鹼土金屬(例如鎂)鹽及銨鹽。醫藥學上可接受之鹽可涉及包括另一分子，諸如乙酸根離子、琥珀酸根離子或其他平衡離子。該平衡離子可為使母體化合物上之電荷穩定的任何有機或無機部分。此外，醫藥學上可接受之鹽之結構中可具有一個以上帶電原子。多個帶電原子為醫藥學上可接受之鹽之一部分的情形可具有多個平衡離子。因此，醫藥學上可接受之鹽可具有一或多個帶電原子及/或一或多個平衡離子。

【0166】 若本發明化合物為鹼，則所需醫藥學上可接受之鹽可藉由此項技術中可用之任何適合方法製備，例如用諸如鹽酸、氫溴酸、硫酸、硝酸、甲烷磺酸、磷酸及其類似酸之無機酸或用諸如乙酸、馬來酸、琥珀酸、扁桃酸、富馬酸、丙二酸、丙酮酸、草酸、乙醇酸、水楊酸、吡喃糖苷酸(pyranosidyl acid)(諸如葡糖醛酸或半乳糖醛酸)、 α -羥基酸(諸如檸檬酸或酒石酸)、胺基酸(諸如天冬胺酸或麩胺酸)、芳族酸(諸如苯甲酸或肉桂酸)、磺酸(諸如對甲苯磺酸或乙烷磺酸)或其類似酸之有機酸處理游離鹼。

【0167】 若本發明之化合物為酸，則所需醫藥學上可接受之鹽可藉由任何適合之方法製備，例如用諸如胺(一級、二級或三級胺)、鹼金屬氫氧化物或鹼土金屬氫氧化物或其類似鹼之無機或有機鹼處理游離酸。適合的鹽之說明性實例包括(但不限於)衍生自胺基酸(諸如甘胺酸及精胺酸)、胺、一級胺、二級胺及三級胺、及環狀胺(諸如吡啶、嗎啉及哌嗪)之有機鹽，以及衍生自鈉、鈣、鉀、鎂、錳、鐵、銅、鋅、鋁及鋰之無機鹽。

【0168】 如本文所用，術語「溶劑化物」意謂進一步包括藉由非共價分子

間力結合之化學計量或非化學計量之量的溶劑(諸如水、異丙醇、丙酮、乙醇、甲醇、DMSO、乙酸乙酯、乙酸以及乙醇胺二氯甲烷、2-丙醇或其類似溶劑)的化合物。化合物之溶劑化物或水合物易於藉由將至少1莫耳當量羥基溶劑(諸如甲醇、乙醇、1-丙醇、2-丙醇或水)添加至化合物以引起亞胺部分之溶劑化或水合作用來製備。

【0169】 術語「**異常細胞生長**」與「**增生性病徵**」在本申請案中可互換使用。除非另作指示，否則如本文中所用，「**異常細胞生長**」係指細胞生長與正常調控機制無關(例如喪失接觸抑制作用)。此包括例如以下各物之異常生長：(1)藉由表現突變之酪胺酸激酶或過度表現受體酪胺酸激酶而增殖之腫瘤細胞(腫瘤)；(2)發生異常酪胺酸激酶活化之其他增生性疾病的良性及惡性細胞；(3)由受體酪胺酸激酶增殖之任何腫瘤；(4)由異常絲胺酸/蘇胺酸激酶活化引起之增殖之任何腫瘤；及(5)發生異常絲胺酸/蘇胺酸激酶活化之其他增生性疾病的良性及惡性細胞。

【0170】 術語「**癌症**」及「**癌症的**」係指或描述通常以不受調控之細胞生長為特徵的哺乳動物生理病況。「**腫瘤**」包含一或多個癌細胞及/或良性或癌前期細胞。

【0171】 「**治療劑**」涵蓋諸如抗體、肽、蛋白質、酶之生物試劑或化學治療劑。治療劑亦涵蓋細胞結合劑(CBA)與化學化合物之免疫結合物，諸如抗體-藥物結合物(ADC)。結合物中之藥物可為細胞毒性劑，諸如本文所述之一種細胞毒性劑。

【0172】 「**化學治療劑**」為適用於治療癌症之化合物。

【0173】 「**代謝物**」或「**分解代謝產物**」為由特定化合物、其衍生物或其結合物或其鹽在體內代謝或分解代謝產生之產物。化合物、其衍生物或其結合物之代謝物可使用此項技術中已知之常規技術鑑別，且其活性可使用諸如本文所

述者之測試確定。此等產物可例如由投予之化合物之氧化、氫基化、還原、水解、胺化、脫胺、酯化、脫酯、酶促裂解及其類似反應產生。因此，本發明包括藉由包含使本發明化合物、其衍生物或其結合物與哺乳動物接觸一段足以產生其代謝產物之時間段之方法而製備的本發明化合物、其衍生物或其結合物之代謝物(包括化合物、其衍生物或其結合物)。

【0174】 短語「**醫藥學上可接受之**」表示物質或組合物必須與構成調配物之其他成分及/或用其治療之哺乳動物在化學上及/或毒理學上相容。

【0175】 術語「**保護基**」或「**保護部分**」係指常用於在化合物、其衍生物或其結合物上之其他官能基反應時阻斷或保護特定官能基的取代基。舉例而言，「**胺保護基**」或「**胺基保護部分**」為連接至胺基以阻斷或保護化合物中之胺基官能基的取代基。此等基團為此項技術中熟知的(參看例如P. Wuts及T. Greene, 2007, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 第7章, J. Wiley & Sons, NJ)且例證為胺基甲酸酯，諸如胺基甲酸甲酯及胺基甲酸乙酯、Fmoc、經取代胺基甲酸乙基酯、藉由1,6- β -消除反應(亦稱「**自消耗(self immolative)**」)裂解之胺基甲酸酯；脲；醯胺；肽；烷基及芳基衍生物。適合之胺基保護基包括乙醯基、三氟乙醯基、第三丁氧羰基(BOC)、苯甲氧基羰基(CBZ)及9-芴基亞甲基氧基羰基(fluorenylmethylenoxycarbonyl; Fmoc)。有關保護基及其應用之一般描述，參看P. G.M. Wuts & T. W. Greene, *Protective Groups in Organic Synthesis*, John Wiley & Sons, New York, 2007。

【0176】 術語「**離去基團**」係指一組在取代或置換期間離去之帶電或不帶電部分。此等離去基團為此項技術中熟知的，且包括(但不限於)鹵素、酯、烷氧基、羥基、甲苯磺酸酯基、三氟甲磺酸酯基、甲磺酸酯基、腈、迭氮基、胺基甲酸酯基、二硫化物、硫酯、硫醚及重氮化合物。

【0177】 術語「**雙官能交聯劑**」、「**雙官能連接基**」或「**交聯劑**」係指具有

兩個反應性基團之改質劑，該兩個反應性基團中一者能夠與細胞結合劑反應，而另一者與細胞毒性化合物反應，以將兩個部分連接在一起。此等雙官能交聯劑為此項技術中熟知的(參看例如Isalm及Dent in *Bioconjugation* 第5章, 第218-363頁, Groves Dictionaries Inc. New York, 1999)。舉例而言，能夠經由硫醚鍵鍵聯之雙官能交聯劑包括用以引入順丁烯二醯亞胺基之*N*-琥珀醯亞胺基-4-(*N*-順丁烯二醯亞胺基甲基)-環己烷-1-甲酸酯(SMCC)或用以引入碘代乙醯基之*N*-琥珀醯亞胺基-4-(碘代乙醯基)-胺基苯甲酸酯(SIAB)。將順丁烯二醯亞胺基或鹵代乙醯基引入細胞結合劑上之其他雙官能交聯劑為此項技術中熟知的(參看美國專利申請案 2008/0050310、20050169933，可從 Pierce Biotechnology Inc. P.O. Box 117, Rockland, IL 61105, USA獲得)且包括(但不限於)雙-順丁烯二醯亞胺基聚乙二醇(BMPEO)、BM(PEO)₂、BM(PEO)₃、*N*-(β-順丁烯二醯亞胺基丙氧基)琥珀醯亞胺酯(BMPS)、γ-順丁烯二醯亞胺基丁酸*N*-琥珀醯亞胺酯(GMBS)、ε-順丁烯二醯亞胺基己酸*N*-羥基琥珀醯亞胺酯(EMCS)、5-順丁烯二醯亞胺基戊酸NHS、HBVS、*N*-琥珀醯亞胺基-4-(*N*-順丁烯二醯亞胺基甲基)-環己烷-1-羧基-(6-醯胺基己酸酯)(其為SMCC(LC-SMCC)之「長鏈」類似物)、間順丁烯二醯亞胺基苯甲醯基-*N*-羥基琥珀醯亞胺酯(MBS)、4-(4-*N*-順丁烯二醯亞胺基苯基)-丁醯肼或鹽酸鹽(MPBH)、*N*-琥珀醯亞胺基3-(溴乙醯胺基)丙酸酯(SBAP)、*N*-琥珀醯亞胺基碘代乙酸酯(SIA)、κ-順丁烯二醯亞胺基十一烷酸*N*-琥珀醯亞胺酯(KMUA)、*N*-琥珀醯亞胺基4-(對順丁烯二醯亞胺基苯基)-丁酸酯(SMPB)、琥珀醯亞胺基-6-(β-順丁烯二醯亞胺基丙醯胺)己酸酯(SMPH)、琥珀醯亞胺基-(4-乙基碇醯基)苯甲酸酯(SVSB)、二硫代雙-順丁烯二醯亞胺基乙烷(DTME)、1,4-雙-順丁烯二醯亞胺基丁烷(BMB)、1,4-雙順丁烯二醯亞胺基-2,3-二羥基丁烷(BMDB)、雙-順丁烯二醯亞胺基己烷(BMH)、雙-順丁烯二醯亞胺基乙烷(BMOE)、碇基琥珀醯亞胺基4-(*N*-順丁烯二醯亞胺基-甲基)環己烷-1-甲酸酯(碇基-SMCC)、碇基琥珀醯亞胺基(4-碘-乙

醯基)胺基苯甲酸酯(磺基-SIAB)、間順丁烯二醯亞胺基苯甲醯基-N-羥基磺基琥珀醯亞胺酯(磺基-MBS)、N-(γ -順丁烯二醯亞胺基丁醯氧基)磺基琥珀醯亞胺酯(磺基-GMBS)、N-(ϵ -順丁烯二醯亞胺基己醯氧基)磺基琥珀醯亞胺酯(磺基-EMCS)、N-(κ -順丁烯二醯亞胺基十一烷醯基)磺基琥珀醯亞胺酯(磺基-KMUS)、及磺基琥珀醯亞胺基4-(對順丁烯二醯亞胺基苯基)丁酸酯(磺基-SMPB)。

【0178】 異雙官能交聯劑為具有兩個不同反應性基團之雙官能交聯劑。亦可使用含有胺反應性N-羥基琥珀醯亞胺基(NHS基團)及羰基反應性肼基之異雙官能交聯劑將本文所述細胞毒性化合物與細胞結合劑(例如抗體)連接。該等市售異雙官能交聯劑之實例包括琥珀醯亞胺基6-肼基煙醯胺丙酮脞(SANH)、琥珀醯亞胺基4-肼基對苯二甲酸酯鹽酸鹽(SHTH)、及琥珀醯亞胺基肼煙酸酯鹽酸鹽(SHNH)。帶有酸不穩定鍵聯之結合物亦可使用帶有肼之本發明苯并二氮呋衍生物製備。可用的雙官能交聯劑之實例包括琥珀醯亞胺基-對甲醯基苯甲酸酯(SFB)及琥珀醯亞胺基-對甲醯基苯氧基乙酸酯(SFPA)。

【0179】 能夠經由二硫鍵將細胞結合劑與細胞毒性化合物鍵聯之雙官能交聯劑為此項技術中已知的且包括用以引入二硫吡啶基之N-琥珀醯亞胺基-3-(2-吡啶基二硫基)丙酸酯(SPDP)、N-琥珀醯亞胺基-4-(2-吡啶基二硫基)戊酸酯(SPP)、N-琥珀醯亞胺基-4-(2-吡啶基二硫基)丁酸酯(SPDB)、N-琥珀醯亞胺基-4-(2-吡啶基二硫基)2-磺基丁酸酯(磺基-SPDB)。可用以引入二硫基團之其他雙官能交聯劑為此項技術中已知的且揭示於：美國專利6,913,748、6,716,821及US專利公開案20090274713及20100129314，所有該等專利皆以引用方式併入本文中。或者，亦可使用交聯劑，諸如2-亞胺基硫雜環戊烷、高半胱胺酸硫內酯或S-乙醯基琥珀酸酐引入硫醇基。

【0180】 如本文所定義，「**連接基**」、「**連接部分**」或「**連接基團**」係指將兩個基團(諸如細胞結合劑與細胞毒性化合物)連接在一起之部分。通常，連接基

在連接其所連接之兩個基團之條件下實質上呈惰性。雙官能交聯劑可包含兩個反應性基團，在連接部分每一端各一個，以致一個反應性基團可首先與細胞毒性化合物反應以提供帶有連接部分及另一反應性基團之化合物，該化合物隨後可與細胞結合劑反應。或者，雙官能交聯劑之一端可首先與細胞結合劑反應以提供帶有連接部分及另一反應性基團之細胞結合劑，該細胞結合劑隨後可與細胞毒性化合物反應。連接部分可含有允許細胞毒性部分在特定部位釋放之化學鍵。適合之化學鍵為此項技術中熟知的且包括二硫鍵、硫醚鍵、酸不穩定鍵、光不穩定鍵、肽酶不穩定鍵及酯酶不穩定鍵(參看例如美國專利5,208,020；5,475,092；6,441,163；6,716,821；6,913,748；7,276,497；7,276,499；7,368,565；7,388,026及7,414,073)。較佳為二硫鍵、硫醚鍵及肽酶不穩定鍵。可用於本發明中之其他連接基包括不可裂解之連接基，諸如美國公開案第20050169933號中詳細描述者；或帶電連接基或親水性連接基，且描述於US 2009/0274713、US 2010/01293140及WO 2009/134976，各案以引用之方式清楚地併入本文中，各案以引用之方式清楚地併入本文中。

【0181】 在一個實施例中，一端連接有反應性基團(諸如反應性酯)之連接基團選自以下：

$O(CR_{20}R_{21})_m(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_pY''(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX''$ 、
 $O(CR_{20}R_{21})_m(CR_{26}=CR_{27})_m(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_pY''(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX''$
、 $-O(CR_{20}R_{21})_m(炔基)_n(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_pY''(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX''$ 、
 $-O(CR_{20}R_{21})_m(哌嗪基)_t(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_pY''(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX''$ 、
 $-O(CR_{20}R_{21})_m(吡咯基)_t(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_pY''(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX''$ 、
 $O(CR_{20}R_{21})_mA''_m(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_pY''(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX''$ 、
 $S(CR_{20}R_{21})_m(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_pY''(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX''$ 、
 $S(CR_{20}R_{21})_m(CR_{26}=CR_{27})_m(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_pY''(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX''$

、-S(CR₂₀R₂₁)_m(炔基)_n·(CR₂₂R₂₃)_n(OCH₂CH₂)_p(CR₄₀R₄₁)_p"Y"(CR₂₄R₂₅)_q(CO)_tX"" 、 - S(CR₂₀R₂₁)_m(呋喃基)_t·(CR₂₂R₂₃)_n(OCH₂CH₂)_p(CR₄₀R₄₁)_p"Y"(CR₂₄R₂₅)_q(CO)_tX"" 、 - S(CR₂₀R₂₁)_m(吡咯基)_t·(CR₂₂R₂₃)_n(OCH₂CH₂)_p(CR₄₀R₄₁)_p"Y"(CR₂₄R₂₅)_q(CO)_tX"" 、 - S(CR₂₀R₂₁)_mA""_m"·(CR₂₂R₂₃)_n(OCH₂CH₂)_p(CR₄₀R₄₁)_p"Y"(CR₂₄R₂₅)_q(CO)_tX"" 、 - NR₃₃(C=O)_p"·(CR₂₀R₂₁)_m(CR₂₂R₂₃)_n(OCH₂CH₂)_p(CR₄₀R₄₁)_p"Y"(CR₂₄R₂₅)_q(CO)_tX"" 、 - NR₃₃(C=O)_p"·(CR₂₀R₂₁)_m(CR₂₆=CR₂₇)_m·(CR₂₂R₂₃)_n(OCH₂CH₂)_p(CR₄₀R₄₁)_p"Y"(CR₂₄R₂₅)_q(CO)_tX"" 、 -NR₃₃(C=O)_p"·(CR₂₀R₂₁)_m(炔基)_n·(CR₂₂R₂₃)_n(OCH₂CH₂)_p(CR₄₀R₄₁)_p"Y"(CR₂₄R₂₅)_q(CO)_tX"" 、 - NR₃₃(C=O)_p"·(CR₂₀R₂₁)_m(呋喃基)_t·(CR₂₂R₂₃)_n(OCH₂CH₂)_p(CR₄₀R₄₁)_p"Y"(CR₂₄R₂₅)_q(CO)_tX"" 、 - NR₃₃(C=O)_p"·(CR₂₀R₂₁)_m(吡咯基)_t·(CR₂₂R₂₃)_n(OCH₂CH₂)_p(CR₄₀R₄₁)_p"Y"(CR₂₄R₂₅)_q(CO)_tX"" 、 - NR₃₃(C=O)_p"·(CR₂₀R₂₁)_mA""_m"·(CR₂₂R₂₃)_n(OCH₂CH₂)_p(CR₄₀R₄₁)_p"Y"(CR₂₄R₂₅)_q(CO)_tX"" 、 -(CR₂₀R₂₁)_m(CR₂₂R₂₃)_n(OCH₂CH₂)_p(CR₄₀R₄₁)_p"Y"(CR₂₄R₂₅)_q(CO)_tX"" 、 -(CR₂₀R₂₁)_m(CR₂₆=CR₂₇)_m·(CR₂₂R₂₃)_n(OCH₂CH₂)_p(CR₄₀R₄₁)_p"Y"(CR₂₄R₂₅)_q(CO)_tX"" 、 -(CR₂₀R₂₁)_m(炔基)_n·(CR₂₂R₂₃)_n(OCH₂CH₂)_p(CR₄₀R₄₁)_p"Y"(CR₂₄R₂₅)_q(CO)_tX"" 、 -(CR₂₀R₂₁)_m(呋喃基)_t·(CR₂₂R₂₃)_n(OCH₂CH₂)_p(CR₄₀R₄₁)_p"Y"(CR₂₄R₂₅)_q(CO)_tX"" 、 -(CR₂₀R₂₁)_mA""_m"·(CR₂₂R₂₃)_n(OCH₂CH₂)_p(CR₄₀R₄₁)_p"Y"(CR₂₄R₂₅)_q(CO)_tX"" 、 -(CR₂₀R₂₁)_m(CR₂₉=N-NR₃₀)_n"·(CR₂₂R₂₃)_n(OCH₂CH₂)_p(CR₄₀R₄₁)_p"Y"(CR₂₄R₂₅)_q(CO)_tX"" 、 -(CR₂₀R₂₁)_m(CR₂₉=N-NR₃₀)_n"·(CR₂₆=CR₂₇)_m·(CR₂₂R₂₃)_n(OCH₂CH₂)_p(CR₄₀R₄₁)_p"Y"(CR₂₄R₂₅)_q(CO)_tX"" 、 -(CR₂₀R₂₁)_m(CR₂₉=N-NR₃₀)_n"·(炔基)_n·(CR₂₂R₂₃)_n(OCH₂CH₂)_p(CR₄₀R₄₁)_p"Y"(CR₂₄R₂₅)_q(CO)_tX""、-(CR₂₀R₂₁)_m(CR₂₉=N-

$\text{NR}_{30})_n \text{A}'' \text{m}'' (\text{CR}_{22}\text{R}_{23})_n (\text{OCH}_2\text{CH}_2)_p (\text{CR}_{40}\text{R}_{41})_p \text{Y}'' (\text{CR}_{24}\text{R}_{25})_q (\text{CO})_t \text{X}''$,

其中：

m 、 n 、 p 、 q 、 m' 、 n' 、 t' 為1至10之整數，或視情況為0；

t 、 m'' 、 n'' 及 p'' 為0或1；

X'' 選自 OR_{36} 、 SR_{37} 、 NR_{38} 、 R_{39} ，其中 R_{36} 、 R_{37} 、 R_{38} 、 R_{39} 為 H ，或具有1至20個碳原子之直鏈、分支或環狀烷基、烯基或炔基，及或聚乙二醇單元- $(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n$ ； R_{37} 視情況為硫醇保護基，當 $t = 1$ 時， COX'' 形成選自以下各物之反應性酯：N-羥基琥珀醯亞胺酯、N-羥基鄰苯二甲醯亞胺酯、N-羥基磺基-琥珀醯亞胺酯、對硝基苯基酯、二硝基苯基酯、五氟苯基酯及其衍生物，其中該等衍生物有助於醯胺鍵形成；

Y'' 不存在，或選自 O 、 S 、 S-S 或 NR_{32} ，其中 R_{32} 具有上文關於 R 所給相同之定義；或

當 Y'' 不為 S-S 且 $t = 0$ 時， X'' 選自順丁烯二醯亞胺基、鹵代乙醯基或 SR_{37} ，其中 R_{37} 具有與上述相同之定義；

A'' 為胺基酸殘基或含有2與20個胺基酸單元之多肽；

R_{20} 、 R_{21} 、 R_{22} 、 R_{23} 、 R_{24} 、 R_{25} 、 R_{26} 及 R_{27} 相同或不同，且為 H 或具有1至5個碳原子之直鏈或分支烷基；

R_{29} 與 R_{30} 相同或不同，且為 H 或具有1至5個碳原子之烷基；

R_{33} 為 H ，或具有1至12個碳原子之直鏈、分支或環狀烷基、烯基或炔基、聚乙二醇單元 $\text{R}-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n-$ ，或 R_{33} 為 $-\text{COR}_{34}$ 、 $-\text{CSR}_{34}$ 、 $-\text{SOR}_{34}$ 或 $-\text{SO}_2\text{R}_{34}$ ，其中 R_{34} 為 H ，或具有1至20個碳原子之直鏈、分支或環狀烷基、烯基或炔基，或聚乙二醇單元 $-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n$ ；及

R_{40} 及 R_{41} 中一者視情況為帶負電或帶正電官能基，且另一者為 H 或具有1至4個碳原子之烷基、烯基、炔基。

【0182】 上述連接基團中任一者可存在於任一本發明化合物、藥物-連接基化合物、或結合物中，包括代替本文所述任一結構式之連接基團。

【0183】 術語「**胺基酸**」係指天然存在胺基酸或非天然存在胺基酸。在一個實施例中，胺基酸由 $\text{NH}_2\text{-C}(\text{R}^{\text{aa}}\text{'R}^{\text{aa}})\text{-C(=O)OH}$ 表示，其中 R^{aa} 及 R^{aa} '各自獨立地為H；視情況取代之具有1至10個碳原子之直鏈、分支或環狀烷基、烯基或炔基；芳基；雜芳基；或雜環基；或 R^{aa} 及N末端氮原子可一起形成雜環(例如，如脯胺酸中)。術語「**胺基酸殘基**」係指當一個氫原子自胺基酸之胺及/或羧基端移除時得到之相應殘基，諸如 $\text{-NH-C}(\text{R}^{\text{aa}}\text{'R}^{\text{aa}})\text{-C(=O)O-}$ 。

【0184】 術語「**陽離子**」係指帶正電之離子。陽離子可為一價(例如 Na^+ 、 K^+ 等)、二價(例如 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 等)或多價(例如 Al^{3+} 等)。較佳地，陽離子為一價。

【0185】 術語「**治療有效量**」意謂在受試者體內引起所需生物反應之活性化化合物或結合物之量。該反應包括減輕所治療疾病或病症之症狀；預防、抑制或延遲疾病症狀或疾病本身之復發；相比不存在該治療之情形增加受試者之壽命；或預防、抑制或延遲疾病症狀或疾病本身之發展。有效量之確定在熟諳本技術者之能力範圍內，尤其依據本文提供之詳細揭示內容。化合物或結合物之毒性及治療功效可由用細胞培養及實驗動物中之標準醫藥學程式確定。本發明化合物或結合物或欲投予受試者之其他治療劑的有效量將取決於多發性骨髓瘤之階段、類別及狀態，以及受試者之特徵，諸如一般健康狀況、年齡、性別、體重及耐藥性。本發明化合物或結合物或欲投予之其他治療劑的有效量亦取決於投藥途徑及劑型。劑量及間隔可個別調整以提供足以維持所需治療效果之活性化合物的血漿含量。

【0186】 術語「**半胱胺酸工程改造抗體**」包括具有至少一個通常不存在於抗體輕鏈或重鏈之既定殘基處之Cys的抗體。該Cys(其亦可稱為「工程改造Cys」可例如藉由標準重組技術(例如，藉由用Cys之編碼序列置換靶殘基處之非Cys殘

基的編碼序列)而引入。在某些實施例中，本發明之Cys工程改造抗體在重鏈中具有工程改造Cys。在某些實施例中，該工程改造Cys處於或接近重鏈之CH3結構域。在某些實施例中，該工程改造Cys在重鏈之殘基442處(EU/OU編號)。

【0187】 如本文所用，本文所述之所有抗體胺基酸殘基係根據EU索引編號, Kabat等人, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 第5版, NIH公開案第91-3242號, 1991 (EU/OU編號，完整內容以引用之方式併入本文)。常見同型稱為G1、G2、G4等。

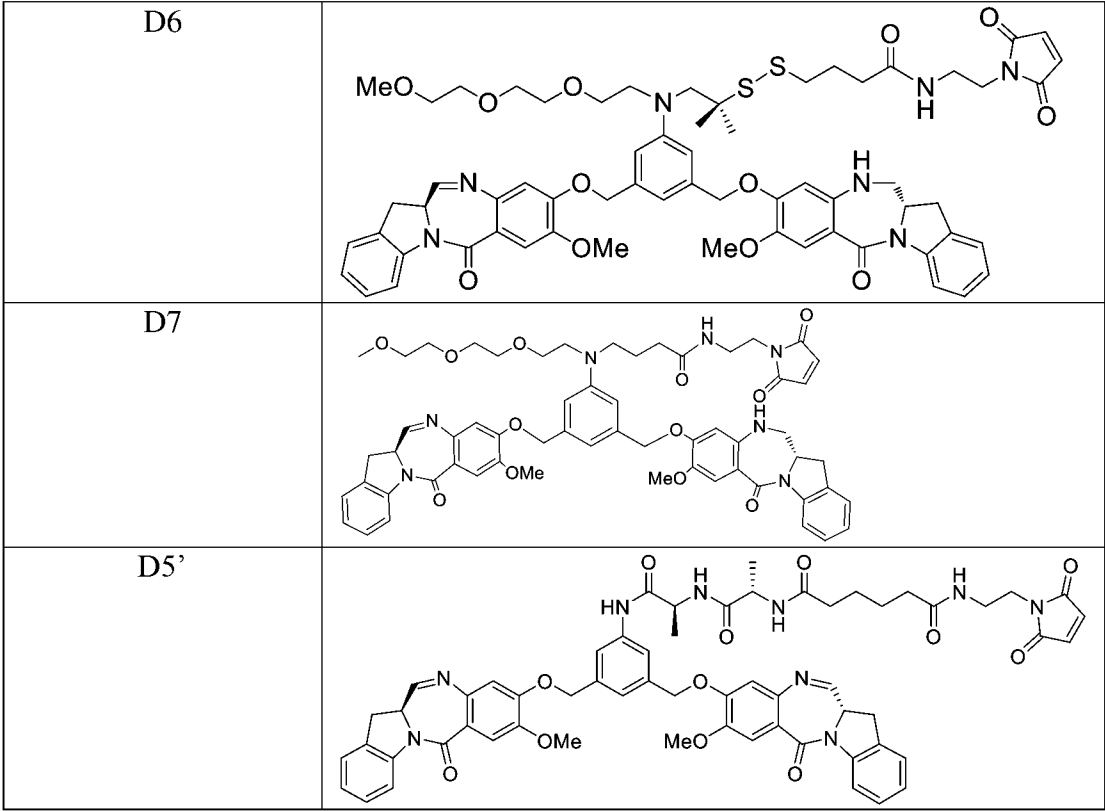
【0188】 以下某些實例係指各種人類化抗CD123抗體，此等抗體之命名法在此簡要描述。一類huCD123-6抗體藉由自鼠類抗CD123抗體muCD123-6之重鏈及輕鏈移植6個CDR而人類化。在彼等抗體中，字母「G」之後緊接純系命名(亦即，huCD123-6)，其之後進而為指定人類輕鏈及重鏈可變區序列之來源之版本號。因此huCD123-6Gv4.6係指基於將來自相應muCDR123-6抗體之6個CDR區移植(「G」)到人類輕鏈可變區Gv4及重鏈可變區Gv6上之人類化CD123抗體。類似地，-Gv4.7包含人類輕鏈可變區Gv4及重鏈可變區Gv7。

【0189】 另一類huCD123-6抗體藉由表面重整而人類化。具有表面重整重鏈序列huCD123-6rhv1.1及表面重整輕鏈序列huCD123-6rlv1.0之表面重整抗體為huCD123-6Rv1.1。

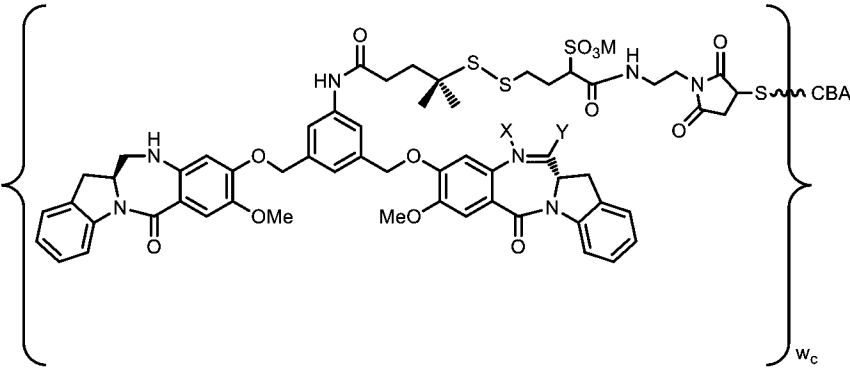
【0190】 當任一抗CD123抗體包含如上所述之工程改造Cys殘基時，該抗體可包含名稱CysMab或C442，諸如huCD123-6Gv4.7-C442。C442殘基可經由C442殘基之游離硫醇基與細胞毒性藥物/細胞毒性劑結合，諸如藉由與細胞毒性藥物之硫醇反應劑(例如，順丁烯二醯亞胺基)反應。具有硫醇反應性基團 - D4-D7 - 之此等細胞毒性藥物及其合成之代表性列表描述於實例1且列於以下表中。另外相關之化合物D1、D2、DGN462及D3 (其分別與D4、D5、D6及D7具有相同核心結構，但不具有硫醇反應性基團)亦在以下列出。D1-D3及DGN462由於缺乏

順丁烯二醯亞胺基硫醇反應性基團而不能連接至C442。

專利申請案中之化合物編號	結構
D1	
D2	
DGN462	
D3	
D4	
D5	



【0191】 本發明之抗體與D4-D7之間經由游離硫醇基之結合物簡單地表示抗體及連接之細胞毒性藥物之名稱。例如，huCD123-6Gv4.7-C442-D5為化合物D5與huCD123-6Gv4.7經由C442硫醇基之結合物，且huMov19-C442-D5為化合物D5與huMov19抗體經由C442硫醇基之結合物。在某些實施例中，化合物諸如D1要求額外連接基(例如，磺基-SPDB連接基或sSPDB)結合至抗體，諸如結合至Lys側鏈胺基基團。Lys連接之結合物huCD123-6Gv4.7-磺基-SPDB-D1 (或huCD123-6Gv4.7-磺基-SPDB-D1)之結構在以下示出。



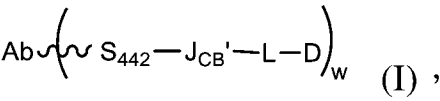
【0192】 應注意某些CD123抗體在此類抗體或其免疫結合物之名稱中具有「S2」及/或「S3」，其不應與化學式中表示連接位點或共價鍵形成之「s2」或

「s3」名稱混淆。

本發明之結合物及化合物

【0193】 在第一態樣中，本發明提供細胞結合劑-細胞毒性劑結合物，其中該細胞結合劑(CBA)經由位於該CBA上之硫醇(-SH)基團共價連接至細胞毒性劑。在某些實施例中，該游離硫醇基在抗體之重鏈CH3區中之工程改造Cys殘基上，在該重鏈之EU/OU編號位置442處(或簡稱C442)。

【0194】 因此在一個實施例中，本發明之抗體-細胞毒性劑結合物包含具有半胱胺酸殘基(例如，在重鏈之EU/OU編號位置442處)及細胞毒性劑之抗體，其中該抗體經由該半胱胺酸殘基(例如，C442)共價連接至該細胞毒性劑。該結合物由下式表示：



其中：

Ab為在重鏈之位置442處(EU/OU編號)具有半胱胺酸殘基之抗體；

S442表示來自共價連接至JCB'基團之抗體之重鏈的位置442處之半胱胺酸殘基之硫醇基；

JCB'為連接半胱胺酸殘基與基團L之連接部分；

L為連接細胞毒性劑與JCB'部分之連接基；

D為共價連接至基團L之細胞毒性劑；及

w為1或2。

【0195】 在一個實施例中，位置442處之半胱胺酸殘基重組引入該Ab中。

【0196】 在第二態樣中，本發明提供一種細胞毒性劑-連接基化合物，該等化合物能夠與本發明之具有游離半胱胺酸殘基之抗體反應以形成本發明的結合物。

【0197】 在一個實施例中，本發明之細胞毒性劑-連接基化合物由以下結

構式表示：

D-L-JCB (II)，

其中：

JCB為能夠與本文所述之抗體形成共價鍵之連接基團；

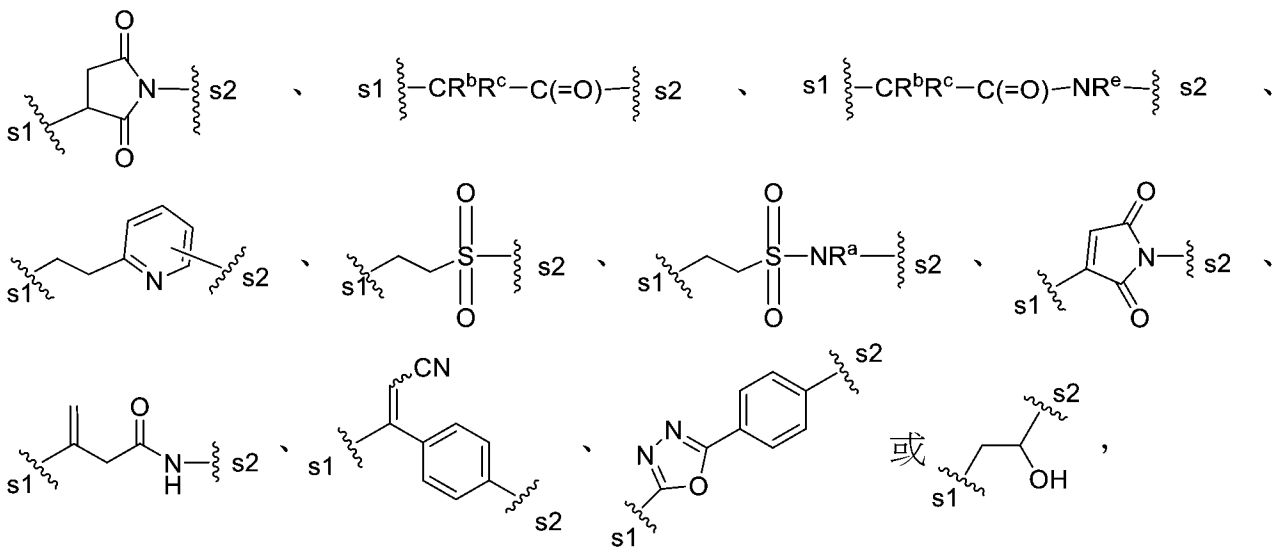
L為連接由D表示之細胞毒性劑與JCB基團之連接基；及

D為共價連接至基團L之細胞毒性劑。

【0198】 在一個實施例中，J_{CB}為硫醇反應性基團。

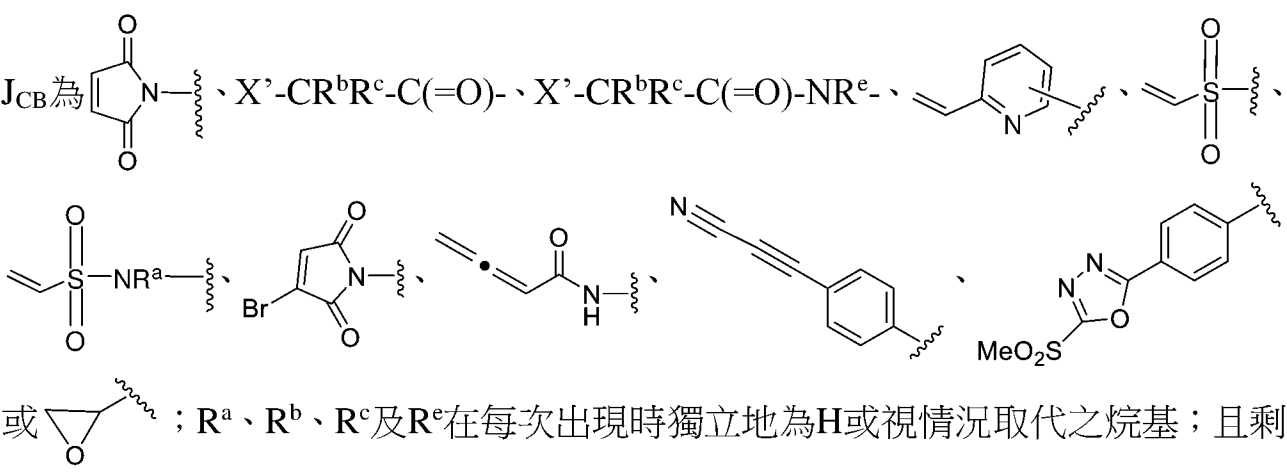
【0199】 以下描述本發明之第一態樣及第二態樣之某些實施例及特定實施例。

【0200】 在第1實施例中，對於本發明之第一態樣中式(I)之結合物，J_{CB}’為



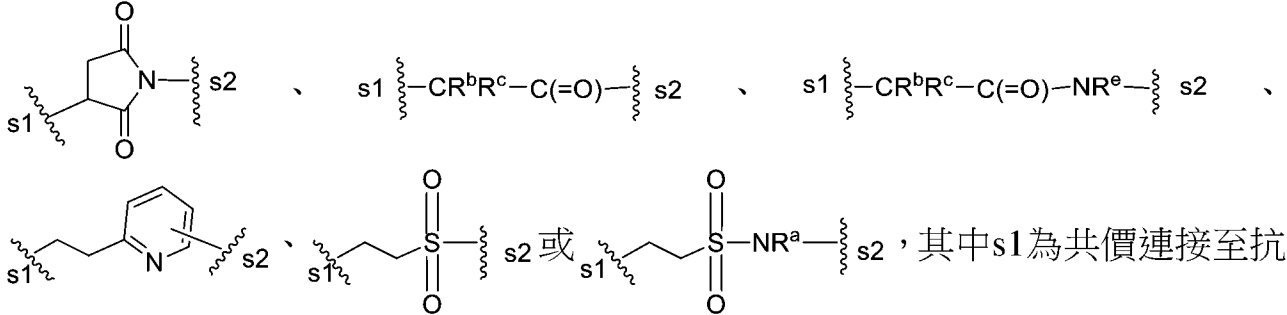
其中s1為共價連接至抗體之半胱胺酸殘基之位點，且s2為共價連接至基團L之位點；且Ra、Rb、Rc及Re在每次出現時獨立地為H或視情況取代之烷基；且剩餘變數為如以上針對式(I)所描述。在一特定實施例中，Ra、Rb、Rc及Re在每次出現時獨立地為H或C1-3烷基。在另一特定實施例中，Ra、Rb、Rc及Re皆為H。

【0201】 此外在第1實施例中，對於本發明之第二態樣中式(II)之化合物，



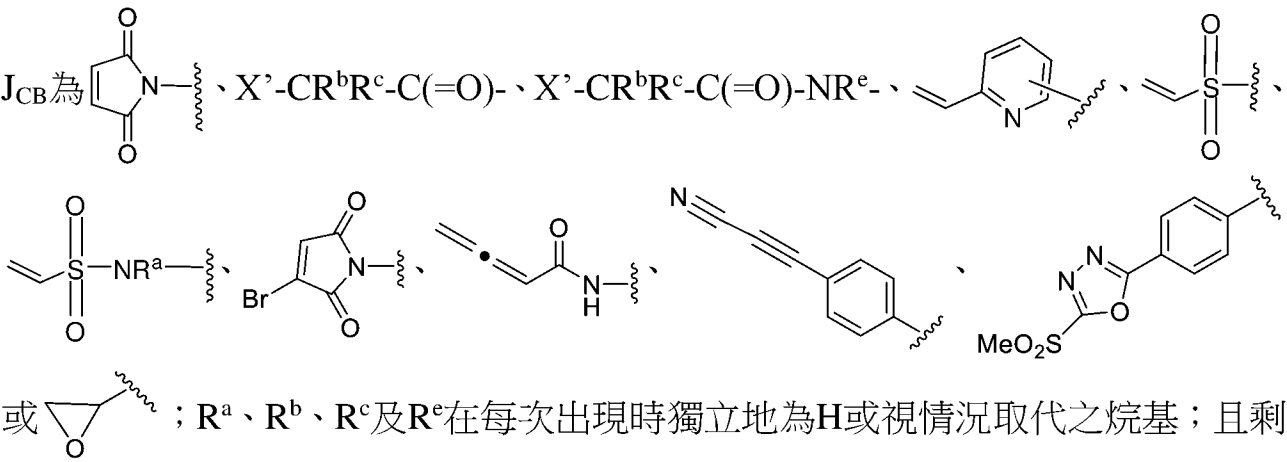
餘變數為如以上針對式(II)所描述。

【0202】 在第2實施例中，對於本發明之第一態樣中式(I)之結合物， J_{CB} 為



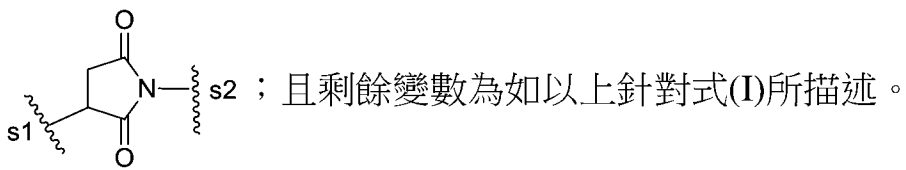
體之半胱胺酸殘基之位點，且s2為共價連接至基團L之位點；且 R^a 、 R^b 、 R^c 及 R^e 在每次出現時獨立地為H或視情況取代之烷基；且剩餘變數為如以上針對第1實施例中式(I)所描述。在一特定實施例中， R^a 、 R^b 、 R^c 及 R^e 在每次出現時獨立地為H或 C_{1-3} 烷基。在另一特定實施例中， R^a 、 R^b 、 R^c 及 R^e 皆為H。

【0203】 此外在第2實施例中，對於本發明之第二態樣中式(II)之化合物，

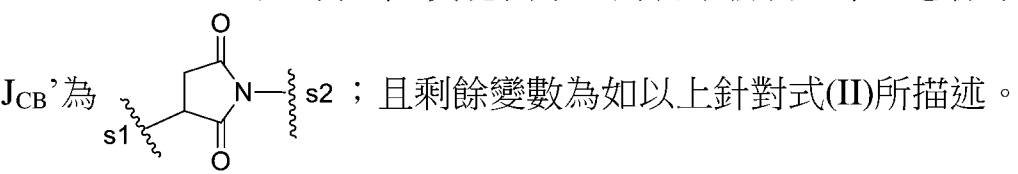


餘變數為如以上針對第1實施例中式(II)所描述。

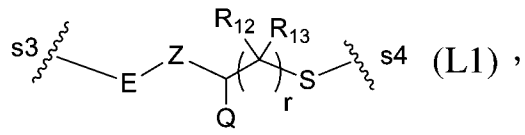
【0204】 在第3實施例中，對於本發明之第一態樣中式(I)之結合物，J_{CB}'為



【0205】 此外在第3實施例中，對於本發明之第二態樣中式(II)之化合物，



【0206】 在第4實施例中，對於本發明第一態樣之式(I)結合物及本發明第二態樣之式(II)化合物，-L-由以下結構式表示：



其中：

s3為共價連接於JCB'基團之位點，且s4為共價連接於基團D之位點；

E為-(CR10R11)q-、環烷基或環烷基烷基；

Z為不存在、-SO2NR9-、-NR9SO2-、-C(=O)-NR9-、-NR9-C(=O)-、-C(=O)-O-、-O-C(=O)-、-C(=O)-NR9-(CH2CH2O)p-、-NR9-C(=O)-(CH2CH2O)p-、-(OCH2CH2)p-C(=O)NR9-或-(OCH2CH2)p-NR9-C(=O)-；

p為1至24之整數；

Q為H、帶電荷取代基或可電離基團；

R9、R10、R11、R12及R13在每次出現時獨立地為H或視情況取代之烷基；

及

q及r在每次出現時獨立地為0與10之間之整數。

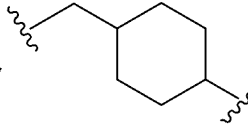
【0207】 式(I)或式(II)中之剩餘變數為如以上在第一實施例、第1、第2或第3實施例或其中所述之任何多個特定實施例所描述。

【0208】 在一特定實施例中，q及r獨立地為1至6、更特定言之1至3之整數。

【0209】 在另一特定實施例中， R_9 、 R_{10} 、 R_{11} 、 R_{12} 及 R_{13} 在每次出現時獨立地為H或 C_{1-3} 烷基。更特定言之， R_9 、 R_{10} 、 R_{11} 、 R_{12} 及 R_{13} 皆為H。

【0210】 在另一特定實施例中， p 為2至14之整數。更特定言之， p 為2至8、2至6或2至4之整數。

【0211】 在一特定實施例中， E 為 $-(CR_{10}R_{11})_{q-}$ ；且式(L1)中之剩餘變數為如以上在第4實施例中所描述。

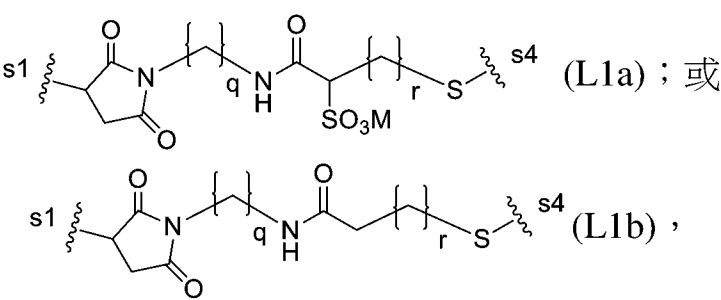
【0212】 在另一特定實施例中， E 為 ；且式(L1)中之剩餘變數為如以上在第4實施例中所描述。

【0213】 在又另一特定實施例中， Z 為 $-C(=O)-NR_9-$ 或 $-NR_9-C(=O)-$ ；且式(L1)中之剩餘變數為如以上在第4實施例或以上所述之任何複數個特定實施例中所描述。甚至更特定言之， R_9 為H或Me。或者， R_9 為H。

【0214】 在又另一特定實施例中， Q 為i) H；ii) $-SO_3H$ 、 $-Z'-SO_3H$ 、 $-OPO_3H_2$ 、 $-Z'-OPO_3H_2$ 、 $-PO_3H_2$ 、 $-Z'-PO_3H_2$ 、 $-CO_2H$ 、 $-Z'-CO_2H$ 、 $-NR_{14}R_{15}$ 或 $-Z'-NR_{14}R_{15}$ 或其醫藥學上可接受之鹽；或iii) $-N^+R_{14}R_{15}R_{16}X^-$ 或 $-Z'-N^+R_{14}R_{15}R_{16}X^-$ ； Z' 為視情況取代之伸烷基、視情況取代之伸環烷基或視情況取代之伸苯基； R_{14} 至 R_{16} 各自獨立地為視情況取代之烷基；且 X^- 為醫藥學上可接受之陰離子；且式(L1)中之剩餘變數為如以上在第4實施例或以上所述之任何複數個特定實施例中所描述。在一實施例中， Z' 為視情況取代之伸烷基。在又另一實施例中， Z' 為 C_{1-3} 伸烷基(例如， $-CH_2$)；且 R_{14} 至 R_{16} 各自獨立地為 C_{1-4} 烷基。

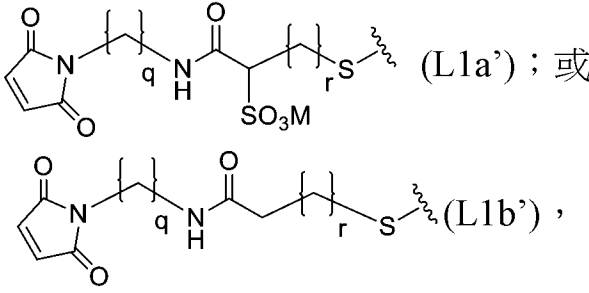
【0215】 在又另一特定實施例中， Q 為H或 $-SO_3M$ ，其中 M 為醫藥學上可接受之陽離子(例如， H^+ 、 Na^+ 或 K^+)；且式(L1)中之剩餘變數為如以上在第4實施例或以上所述之任何複數個特定實施例中所描述。

【0216】 在第5實施例中，對於本發明第一態樣之式(I)結合物， $-J_{CB}'-L-$ 由以下結構式中任一者表示：



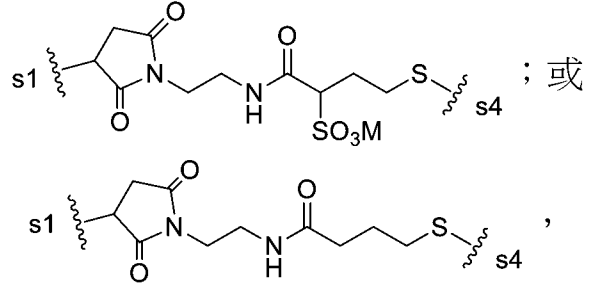
其中q及r各自獨立地為1至6之整數；M為醫藥學上可接受之陽離子；且剩餘變數為如以上針對式(I)所描述。更特定言之，q及r各自獨立地為1至3之整數。在另一更特定實施例中，M為H⁺、Na⁺或K⁺。

【0217】 此外，在第5實施例中，對於本發明第二態樣之式(II)化合物，J_{CB}-L-由以下結構式中任一者表示：



其中q及r各自獨立地為1至6之整數；M為醫藥學上可接受之陽離子；且剩餘變數為如以上針對式(II)所描述。更特定言之，q及r各自獨立地為1至3之整數。在另一更特定實施例中，M為H⁺、Na⁺或K⁺。

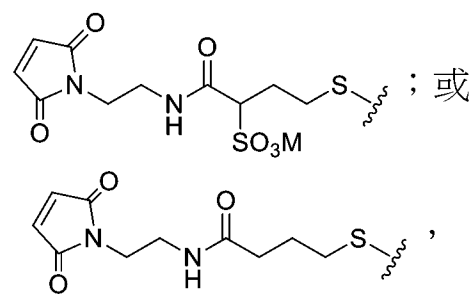
【0218】 在第6實施例中，對於第一態樣中之式(I)結合物，-J_{CB}'-L-由以下結構式中任一者表示：



其中M為醫藥學上可接受之陽離子且剩餘變數為如以上針對式(I)所描述。更特定言之，M為H⁺、Na⁺或K⁺。

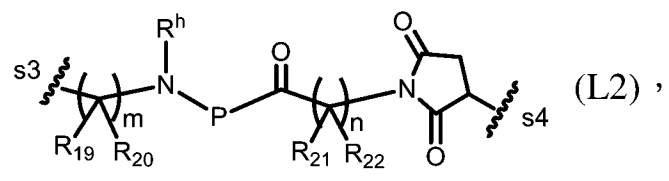
【0219】 此外，在第6實施例中，對於第二態樣中之式(I)化合物，J_{CB}-L-由

以下結構式中任一者表示：



其中M為醫藥學上可接受之陽離子且剩餘變數為如以上針對式(II)所描述。
更特定言之，M為 H^+ 、 Na^+ 或 K^+ 。

【0220】 在第7特定實施例中，對於第一態樣中之式(I)結合物及第二態樣中之式(II)化合物，-L-由以下結構式表示：



其中：

S_3 為共價連接於JCB'基團之位點，且 S_4 為共價連接於基團D之位點；

R_{19} 至 R_{22} 在每次出現時獨立地為H或視情況取代之烷基；

m 及 n 各自獨立地為0與10之間之整數；

R_h 為H或視情況取代之烷基；

P為視情況取代之伸烷基、 $-(\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O})_j\text{-}$ 、 $-(\text{O-CH}_2\text{-CH}_2)_j\text{-}$ 、胺基酸殘基或含有2-20個胺基酸殘基之肽；及

j 為1至24之整數；

且剩餘變數為如以上針對式(I)或式(II)、第1、第2或第3實施例或其中所述之任何複數個特定實施例所描述。

【0221】 在第8實施例中，對於式(L2)， R_{19} 、 R_{20} 、 R_{21} 及 R_{22} 各自為H或 C_{1-3} 烷基； m 及 n 各自獨立地為1與6之間之整數；且剩餘變數為如以上在第7實施例中所描述。更特定言之， R_{19} 、 R_{20} 、 R_{21} 及 R_{22} 皆為H。甚至更特定言之， R_{19} 、 R_{20} 、

R_{21} 及 R_{22} 皆為H；且m及n各自獨立地為1與3之間之整數。

【0222】 在第9特定實施例中，對於式(L2)，P為胺基酸殘基或含有2至10個胺基酸殘基之肽；且剩餘變數為如以上在第7或第8實施例中所描述。更特定言之，P為含有2至5個胺基酸殘基之肽。

【0223】 在一個實施例中，各胺基酸殘基為獨立地選自以下之胺基酸之殘基：天然存在之胺基酸、合成胺基酸、胺基酸類似物及以類似於天然存在之胺基酸之方式起作用之胺基酸模擬物。

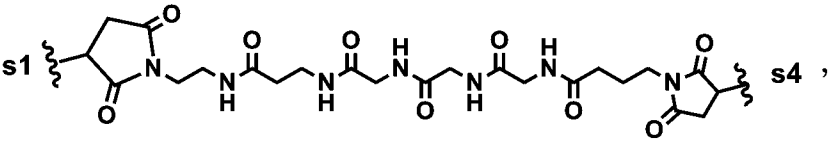
【0224】 在另一實施例中，各胺基酸殘基為獨立地選自由以下組成之群之胺基酸的殘基：組胺酸、丙胺酸、異白胺酸、精胺酸、白胺酸、天冬醯胺、離胺酸、天冬胺酸、甲硫胺酸、半胱胺酸、苯丙胺酸、麩胺酸、蘇胺酸、麩胺醯胺、色胺酸、甘胺酸、纈胺酸、脯胺酸、絲胺酸、酪胺酸、N-甲基-組胺酸、N-甲基-丙胺酸、N-甲基-異白胺酸、N-甲基-精胺酸、N-甲基-白胺酸、N-甲基-天冬醯胺、N-甲基-離胺酸、N-甲基-天冬胺酸、N-甲基-甲硫胺酸、N-甲基-半胱胺酸、N-甲基-苯丙胺酸、N-甲基-麩胺酸、N-甲基-蘇胺酸、N-甲基-麩胺醯胺、N-甲基-色胺酸、N-甲基-甘胺酸、N-甲基-纈胺酸、N-甲基-脯胺酸、N-甲基-絲胺酸、N-甲基-酪胺酸、羥基脯胺酸、 γ -羧基麩胺酸、硒代半胱胺酸、O-磷酸絲胺酸、高絲胺酸、正白胺酸、甲硫胺酸亞砷、甲硫胺酸甲基銻、瓜胺酸、鳥胺酸、半胱胺酸磺酸、半胱胺酸亞磺酸、3-胺基丙胺酸、3-二甲基胺基丙胺酸、2-胺基-4-(二甲基胺基)丁酸、2,4-二胺基丁酸、2-胺基-6-(二甲基胺基)己酸、2-胺基-5-(二甲基胺基)戊酸及 β -丙胺酸，各自獨立地為L或D異構物。更特定言之，各胺基酸殘基為經獨立選擇之甘胺酸或丙胺酸之殘基。

【0225】 在另一實施例中，P為可由蛋白酶裂解之肽。更特定言之，P為可由在腫瘤組織中表現之蛋白酶裂解之肽。或者，P為可由溶酶體蛋白酶裂解之肽。

【0226】 在又另一實施例中，P選自由以下組成之群：Val-Cit、Val-Lys、

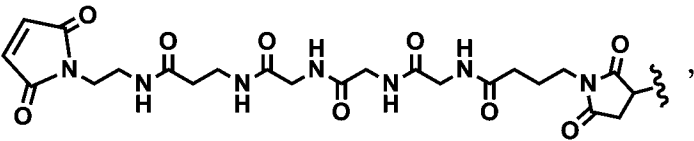
Phe-Lys、Lys-Lys、Ala-Lys、Phe-Cit、Leu-Cit、Ile-Cit、Trp、Cit、Phe-Ala、Phe-N⁹-甲苯磺醯基-Arg、Phe-N⁹-硝基-Arg、Phe-Phe-Lys、D-Phe-Phe-Lys、Gly-Phe-Lys、Leu-Ala-Leu、Ile-Ala-Leu、Val-Ala-Val、Ala-Leu-Ala-Leu (SEQ ID NO: 14)、β-Ala-Leu-Ala-Leu (SEQ ID NO: 15)、Gly-Phe-Leu-Gly (SEQ ID NO: 16)、Val-Arg、Arg-Val、Arg-Arg、Val-D-Cit、Val-D-Lys、Val-D-Arg、D-Val-Cit、D-Val-Lys、D-Val-Arg、D-Val-D-Cit、D-Val-D-Lys、D-Val-D-Arg、D-Arg-D-Arg、Ala-Ala、Ala-D-Ala、D-Ala-Ala、及D-Ala-D-Ala、Gly-Gly-Gly、Ala-Ala-Ala、D-Ala-Ala-Ala、Ala-D-Ala-Ala、Ala-Ala-D-Ala、Ala-Val-Cit、Ala-Val-Ala、及β-Ala-Gly-Gly-Gly。更特定言之，P為Gly-Gly-Gly、Ala-Ala-Ala、D-Ala-Ala-Ala、Ala-D-Ala-Ala、Ala-Val-Ala或β-Ala-Gly-Gly-Gly。

【0227】 在第10實施例中，對於第一態樣中之式(I)結合物，-J_{CB}'-L-由以下結構式表示：



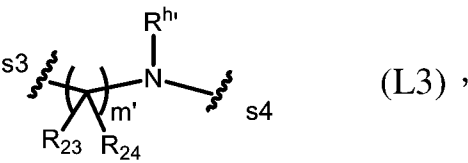
且剩餘變數為如以上針對式(I)所描述。

【0228】 此外，在第10實施例中，對於第二態樣中之式(II)化合物，J_{CB}-L-由以下結構式表示：



且剩餘變數為如以上針對式(II)所描述。

【0229】 在第11實施例中，對於式(I)結合物及式(II)化合物，-L-由以下結構式表示：



其中：

s3為共價連接於JCB’之位點，且s4為共價連接於D之位點；

R23及R24在每次出現時獨立地為H或視情況取代之烷基；

m’為0與10之間之整數；及

Rh’為H或視情況取代之烷基；

且剩餘變數為如以上針對式(I)或式(II)、第1、第2或第3實施例或其中所述之任何特定實施例所描述。

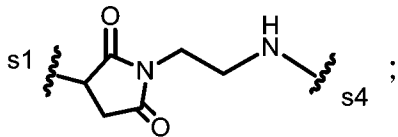
【0230】 在一特定實施例中，m’為1至6之整數。甚至更特定言之，m’為1至3之整數。

【0231】 在另一特定實施例中，R23及R24在每次出現時獨立地為H或C1-3烷基。甚至更特定言之，R23及R24均為H。

【0232】 在另一特定實施例中，Rh’為H或C1-3烷基。更特定言之，Rh’為H。

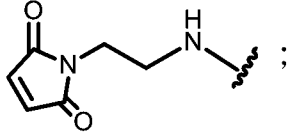
【0233】 在另一特定實施例中，R23及R24均為H；m’為1至6之整數。甚至更特定言之，m’為1至3之整數。

【0234】 在第12實施例中，對於第一態樣中之式(I)結合物，-JCB’-L-由以下結構式表示：



且剩餘變數為如以上針對式(I)所描述。

【0235】 此外，在第12實施例中，對於第二態樣中之式(II)化合物，JCB-L-由以下結構式表示：



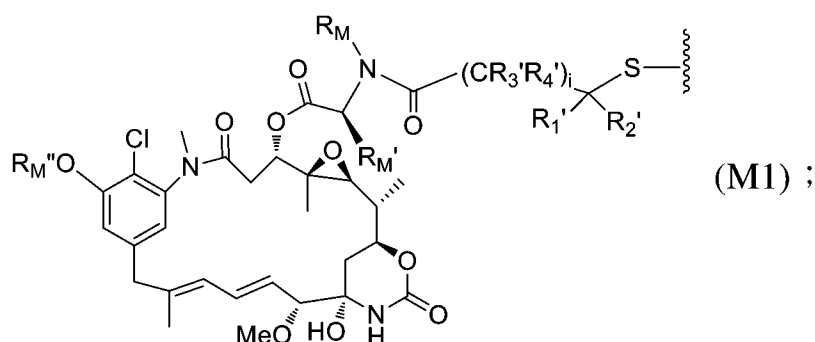
且剩餘變數為如以上針對式(II)所描述。

【0236】 在另一實施例中，對於式(I)結合物或式(II)化合物，由D表示之細

胞毒性劑為美登素；且剩餘變數為如針對式(I)或(II)、以上所述之第1 - 第12實施例中任一者或其中所述之任何複數個特定實施例所描述。

【0237】 在另一實施例中，對於式(I)結合物或式(II)化合物，由D表示之細胞毒性劑為苯并二氮呋；且剩餘變數為如針對式(I)或(II)、以上所述之第1 - 第12實施例中任一者或其中所述之任何複數個特定實施例所描述。

【0238】 在第13實施例中，對於式(I)結合物或式(II)化合物，D為由以下結構式表示之美登素：



其中：

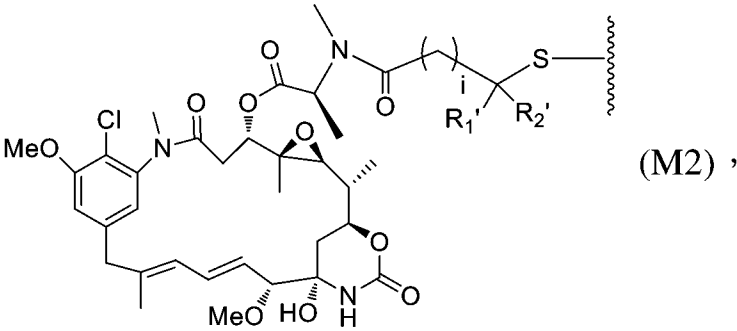
R_M 、 $R_{M'}$ 及 $R_{M''}$ 在每次出現時獨立地為H或視情況取代之烷基；

R_1' 、 R_2' 、 R_3' 及 R_4' 在每次出現時獨立地為H、視情況取代之烷基、視情況取代之烯基、視情況取代之環烷基、視情況取代之雜環基、視情況取代之芳基或視情況取代之雜芳基；及

i 為0與15之間之整數；

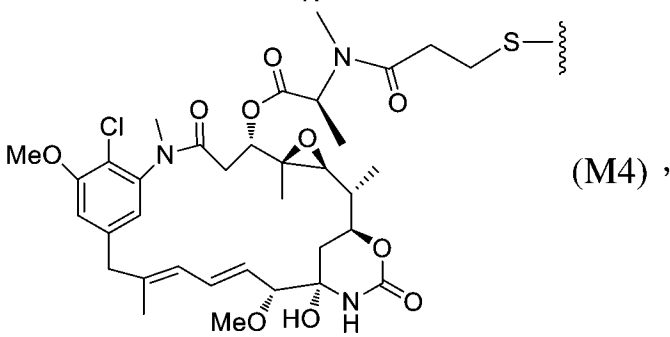
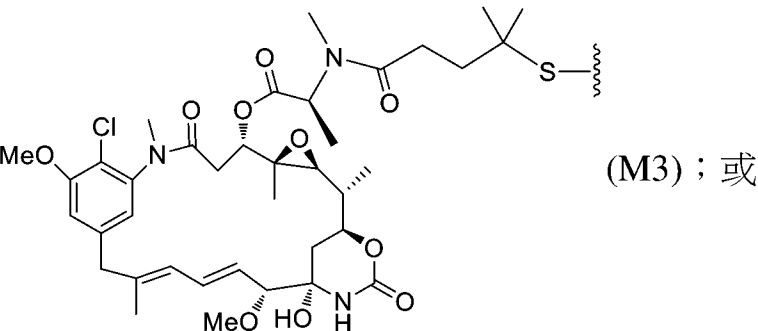
且剩餘變數為如以上針對式(I)或式(II)、以上所述之第1 - 第10實施例中任一者或其中所述之任何特定實施例所描述。

【0239】 更特定言之，D由以下結構式表示：



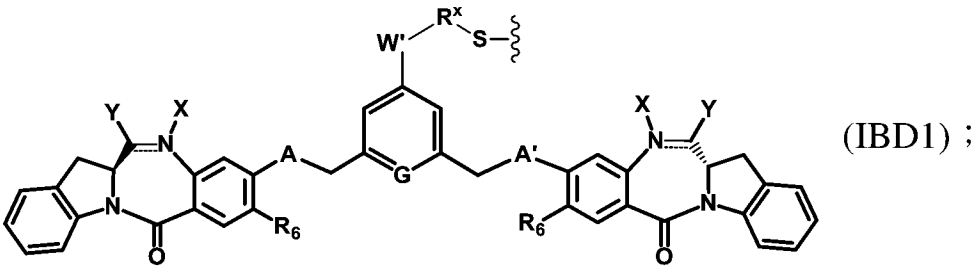
其中i為1或2；且R1'及R2'各自獨立地為H或C1-3烷基；且剩餘變數為如在第13實施例中所描述。

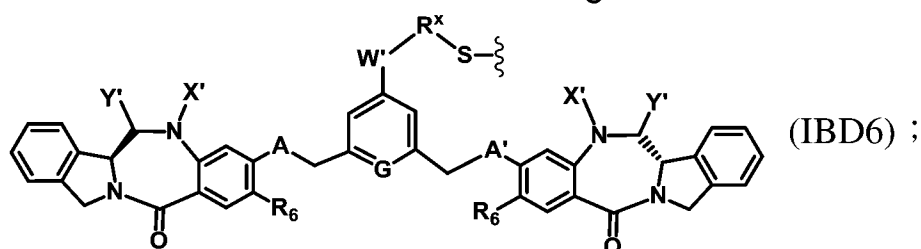
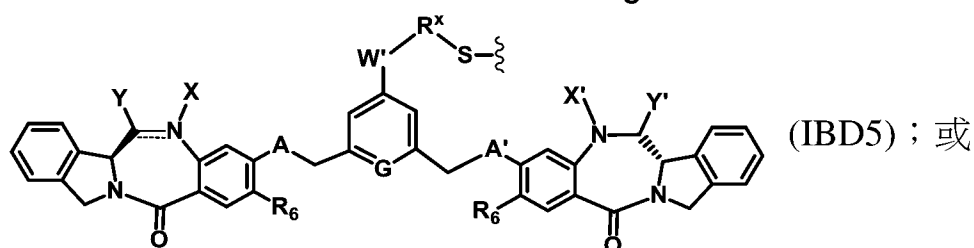
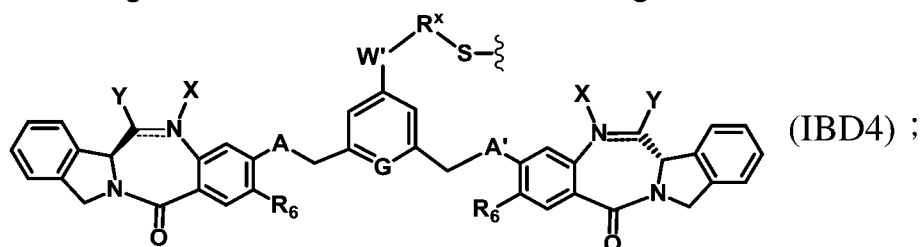
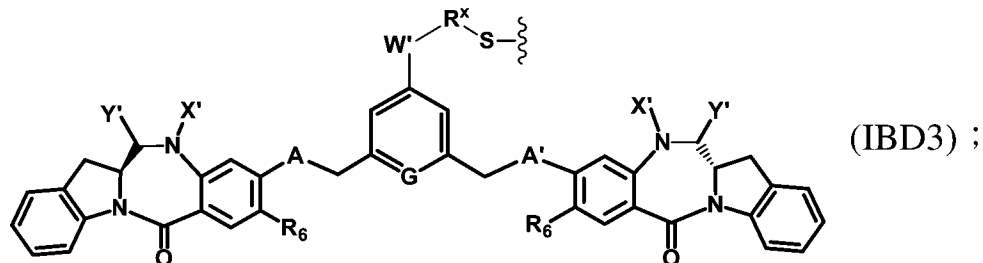
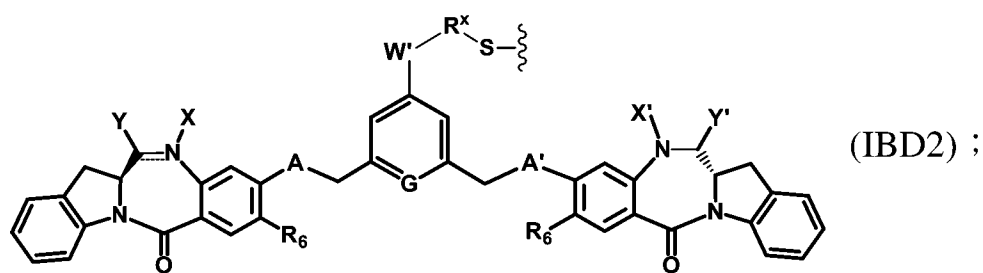
【0240】 在第14特定實施例中，對於式(I)結合物或式(II)化合物，D為由以下結構式表示之美登素：



且剩餘變數為如以上針對式(I)或式(II)、以上所述之第1 - 第10實施例中任一者或其中所述之任何特定實施例所描述。

【0241】 在第15實施例中，對於式(I)結合物或式(II)化合物，D由以下結構式表示：





或其醫藥學上可接受之鹽，其中：

N與C之間之雙線=表示單鍵或雙鍵，其限制條件為當其為雙鍵時，X不存在且Y為-H，且當其為單鍵時，X選自-H或胺保護基(較佳X為H)；且Y選自-OR、-OCOR'、-SR、-NR'R''、-SO₃M、-SO₂M或-OSO₃M，其中M為-H或陽離子(如Na⁺或K⁺)；

R為-H、視情況取代之具有1至10個碳原子之直鏈、分支或環狀烷基、烯基或炔基或PEG基團-(CH₂CH₂O)_n-R_c，其中n為1至24之整數，且R_c為具有1至4個碳原子之直鏈或分支烷基；

R'及R''各自獨立地選自-H、-OH、-OR、-NRRg'、-COR、視情況取代之具有1至10個碳原子之直鏈、分支或環狀烷基、視情況經取代之具有6至18個碳原子之芳基、視情況取代之具有1至6個選自O、S、N及P之雜原子之3至18員雜環、PEG基團-(CH₂CH₂O)_n-Rc，且Rg'為-H、視情況取代之具有1至10個碳原子之直鏈、分支或環狀烷基、烯基或炔基或PEG基團-(CH₂CH₂O)_n-Rc；

X'選自由以下組成之群：-H、-OH、經取代或未經取代之具有1至10個碳原子之直鏈、分支或環狀烷基、烯基或炔基、苯基及胺保護基；

Y'選自由以下組成之群：-H、側氧基、經取代或未經取代之具有1至10個碳原子之直鏈、分支或環狀烷基、烯基或炔基；

A及A'選自-O-及-S-；

W'不存在或選自-O-、-N(Re)-、-N(Re)-C(=O)-、-N(C(=O)Re)-、-S-或-CH₂-S-、-CH₂NRe-；

Rx不存在或選自具有1至10個碳原子之直鏈、分支或環狀烷基；

Re為-H、具有1至10個碳原子之直鏈、分支或環狀烷基、烯基或炔基或-(CH₂-CH₂-O)_n-Rk，其中Rk為-H、具有1至6個碳原子之直鏈、分支或環狀烷基、視情況攜帶二級胺基(例如，-NHR₁₀₁)或三級胺基(-NR₁₀₁R₁₀₂)、或5或6員含氮雜環(諸如吡啶或嗎啉)，其中R₁₀₁及R₁₀₂各自獨立地為具有1至10個碳原子之直鏈、分支或環狀烷基、烯基或炔基；

G選自-CH-或-N-；及

R₆為-H、-R、-OR、-SR、-NR'R''、-NO₂或鹵素；

且剩餘變數為如以上針對式(I)或式(II)、第1 - 第10實施例中任一者或其中所述之任何特定實施例所描述。

【0242】 在一特定實施例中，D由以上式(1BD1)表示，或其醫藥學上可接受之鹽。

【0243】 在另一特定實施例中，對於式(1BD1)-(1BD6)：

N與C之間之雙線=表示單鍵或雙鍵，其限制條件為當其為雙鍵時，X不存在且Y為-H，且當其為單鍵時，X為-H，且Y為-OH或-SO₃M；

M為-H或醫藥學上可接受之陽離子(例如，Na⁺)；

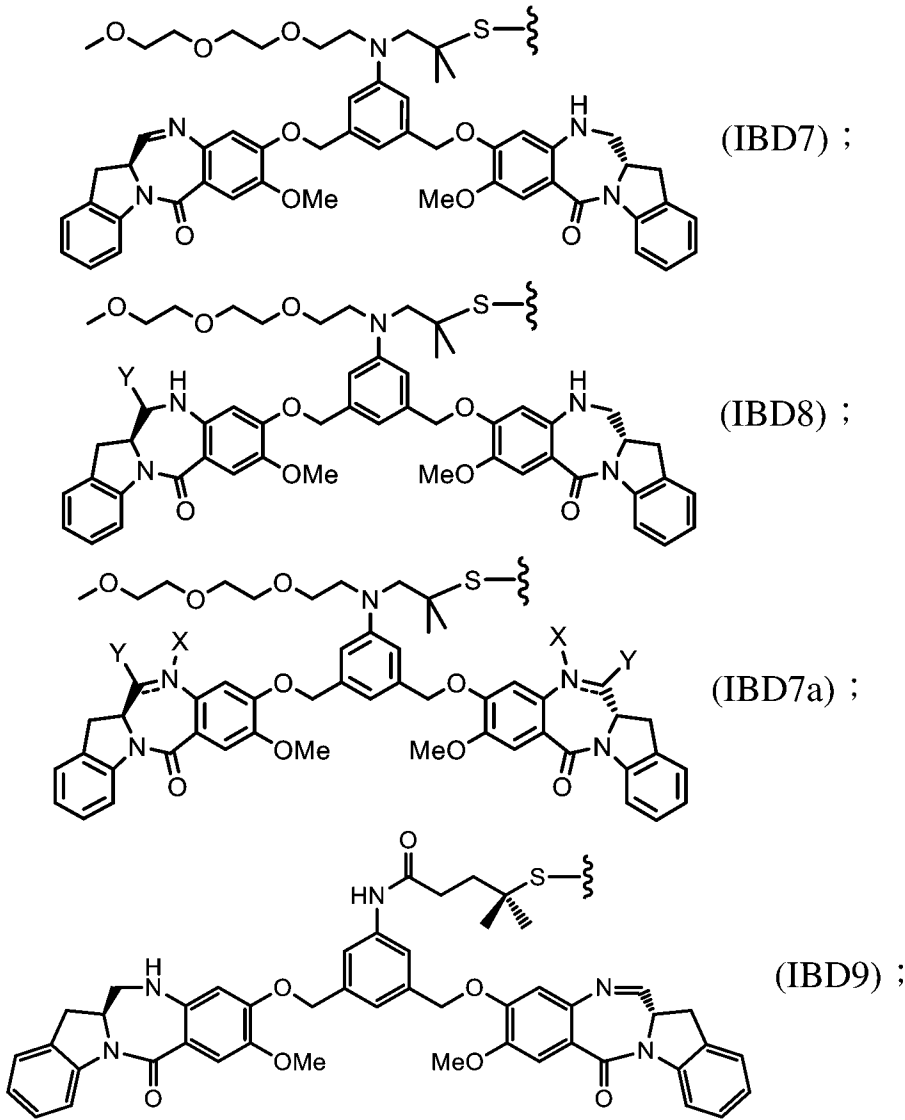
X'及Y'均為-H；

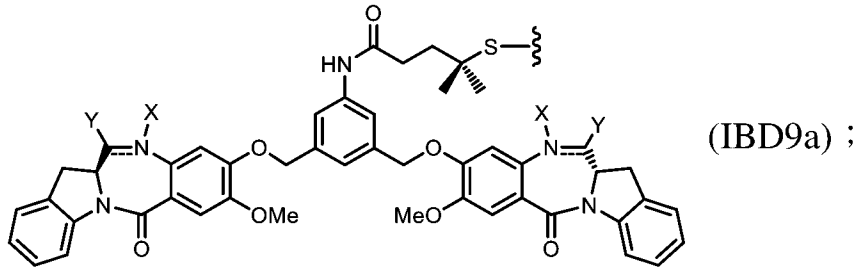
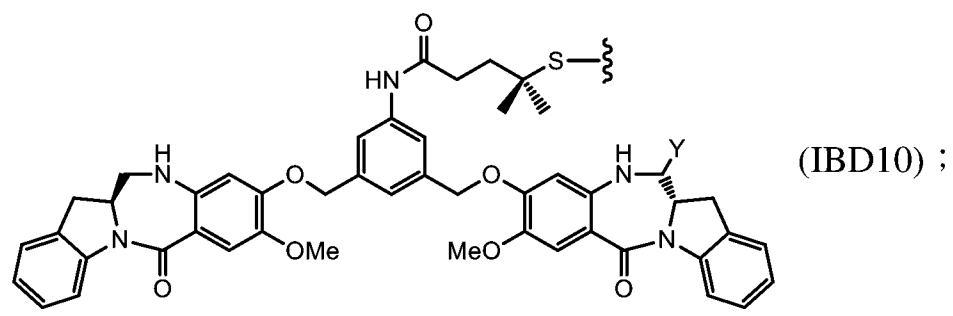
A及A'均為-O-；

R₆為-OMe；及

R_x為具有1至6個碳原子之直鏈或分支烷基。

【0244】 在第16實施例中，對於式(I)結合物或式(II)化合物，D由以下結構式表示：

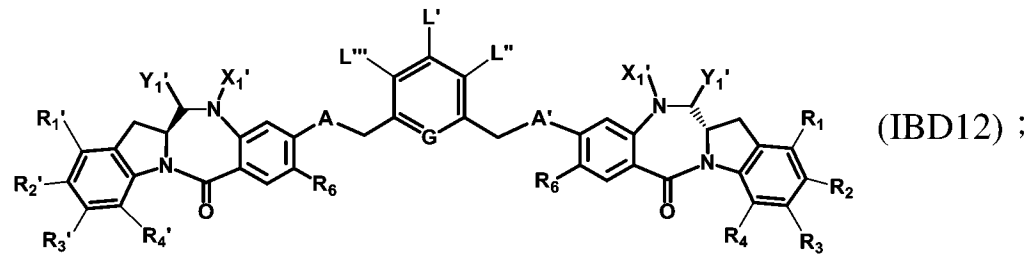
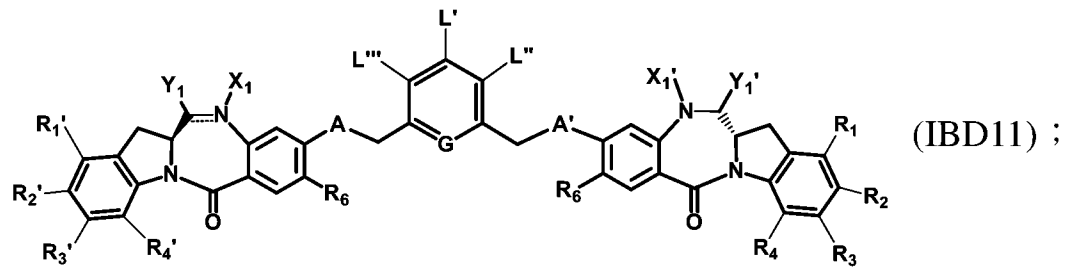


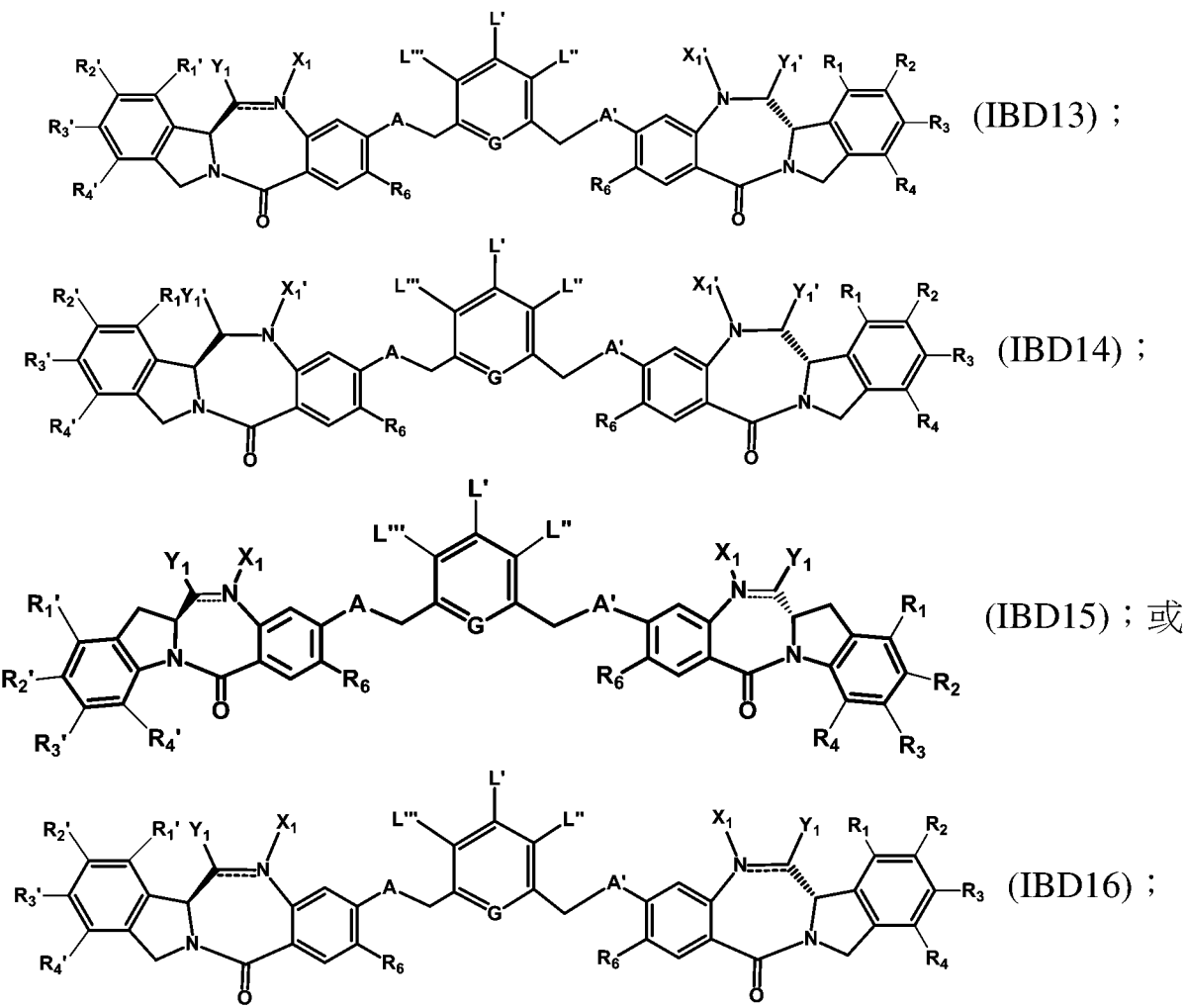


或其醫藥學上可接受之鹽，其中N與C之間之雙線=表示單鍵或雙鍵，其限制條件為當其為雙鍵時，X不存在且Y為-H，且當其為單鍵時，X為-H，且Y為-OH或-SO₃M；且剩餘變數為如以上針對式(I)或(II)、第1 - 第10實施例中任一者或其中所述之任何特定實施例所描述。

【0245】 在一特定實施例中，對於以上式(IBD7)-(IBD10)及(IBD7a) 及 (IBD9a)，Y為-SO₃M；且M為H⁺、Na⁺或K⁺。

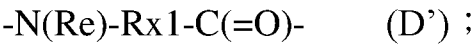
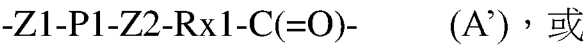
【0246】 在第17 實施例中，對於式(I)結合物或式(II)化合物，D由以下結構式表示：





或其醫藥學上可接受之鹽，其中：

L'、L''及L'''中之一者由下式表示：



且另外兩者各自獨立地選自-H、視情況經取代之具有1至10個碳原子之直鏈、分支或環狀烷基、烯基或炔基、聚乙二醇單元-(CH₂CH₂O)_n-R_c、鹵素、胍[-NH(C=NH)NH₂]、-OR、-NR'R''、-NO₂、-NR'COR''、-SR、-SOR'、-SO₂R'、-SO₃H、-OSO₃H、-SO₂NR'R''、氰基、疊氮基、-COR'、-OCOR'及-OCONR'R''；

Z1及Z2中之一者為-C(=O)-，且另一者為-NR₅-；

P1為胺基酸殘基或含有2與20個胺基酸殘基之肽；

Rx1為視情況取代之具有1至10個碳原子之直鏈、分支或環狀烷基、烯基或

炔基；

Re為-H、具有1至10個碳原子之直鏈、分支或環狀烷基、烯基或炔基或-(CH₂-CH₂-O)_n-R_k，其中R_k為-H、具有1至6個碳原子之直鏈、分支或環狀烷基、視情況攜帶二級胺基(例如，-NHR₁₀₁)或三級胺基(-NR₁₀₁R₁₀₂)、或5或6員含氮雜環(諸如哌啶或嗎啉)，其中R₁₀₁及R₁₀₂各自獨立地為具有1至10個碳原子之直鏈、分支或環狀烷基、烯基或炔基；

N與C之間之雙線=表示單鍵或雙鍵，其限制條件為當其為雙鍵時，X₁不存在且Y₁為-H或具有1至4個碳原子之直鏈或分支烷基，且當其為單鍵時，X₁為-H或胺保護部分；且Y₁為選自以下之離去基團：-OR、-OCOR'、-OCOOR'、-OCONR'R''、-NR'R''、-NR'COR''、-NR'NR'R''、視情況經取代之5或6員含氮雜環(例如，經由氮原子連接之哌啶、四氫吡咯、吡唑、嗎啉等)、由-NR'(C=NH)NR'R''表示之胍、胺基酸或由-NRCOP'表示之肽、-SR、-SOR'、鹵素、氰基、疊氮基、-OSO₃H(或其鹽)、亞硫酸根(-SO₃H或-SO₂H或其鹽)、偏亞硫酸氫根(H₂S₂O₅或其鹽)、單-、二-、三-及四-硫代磷酸根(PO₃SH₃、PO₂S₂H₂、PO₃S₂H₂、PS₄H₂或其鹽)、硫代磷酸酯(RiO)₂PS(ORi)、RiS-、RiSO、RiSO₂、RiSO₃、硫代硫酸根(HS₂O₃或其鹽)、連二亞硫酸根(HS₂O₄或其鹽)、二硫代磷酸根(P(=S)(ORk')(S)(OH)或其鹽)、羥肟酸(Rk' C(=O)NOH或其鹽)及甲醛次硫酸根(HOCH₂SO₂-或其鹽)或其混合物，其中Ri為具有1至10個碳原子之直鏈或分支烷基且經至少一個選自-N(R_j)₂、-CO₂H、-SO₃H及-PO₃H之取代基取代；Ri可進一步視情況經本文所述之烷基之取代基取代；R_j為具有1至6個碳原子之直鏈或分支烷基；Rk'為具有1至10個碳原子之直鏈、分支或環狀烷基、烯基或炔基、芳基、雜環基或雜芳基；

P'為胺基酸殘基或含有2與20個胺基酸殘基之肽，

R在每次出現時獨立地選自由以下組成之群：-H、視情況取代之具有1至10

個碳原子之直鏈、分支或環狀烷基、烯基或炔基、聚乙二醇單元-(CH₂CH₂O)_n-R_c、視情況取代之具有6至18個碳原子之芳基、視情況取代之含有一或複數個獨立地選自氮、氧及硫之雜原子的5至18員雜芳基環，或視情況取代之含有1至6個獨立地選自O、S、N及P之雜原子的3至18員雜環；

R'及R''各自獨立地選自-H、-OH、-OR、-NHR、-NR₂、-COR、視情況取代之具有1至10個碳原子之直鏈、分支或環狀烷基、烯基或炔基、聚乙二醇單元-(CH₂CH₂O)_n-R_c及視情況取代之具有1至6個獨立地選自O、S、N及P之雜原子的3至18員雜環；

R_c為-H或視情況取代之具有1至4個碳原子之直鏈或分支烷基；

n為1至24之整數；

X1'選自-H、胺保護基、視情況取代之具有1至10個碳原子之直鏈、分支或環狀烷基、烯基或炔基、聚乙二醇單元-(CH₂CH₂O)_n-R_c、視情況取代之具有6至18個碳原子之芳基、視情況取代之含有一或複數個獨立地選自氮、氧及硫之雜原子的5至18員雜芳基環，及視情況取代之含有1至6個獨立地選自O、S、N及P之雜原子的3至18員雜環；

Y1'選自-H、側氧基、視情況取代之具有1至10個碳原子之直鏈、分支或環狀烷基、烯基或炔基、視情況取代之6至18員芳基、視情況取代之含有一或複數個獨立地選自氮、氧及硫之雜原子的5至18員雜芳基環、視情況取代之具有1至6個雜原子之3至18員雜環；

R₁、R₂、R₃、R₄、R₁'、R₂'、R₃'及R₄'各自獨立地選自由以下組成之群：
-H、視情況取代之具有1至10個碳原子之直鏈、分支或環狀烷基、烯基或炔基、聚乙二醇單元-(CH₂CH₂O)_n-R_c、鹵素、胍[-NH(C=NH)NH₂]、-OR、-NR'R''、-NO₂、-NCO、-NR'COR''、-SR、-SOR'、-SO₂R'、-SO₃-H、-OSO₃H、-SO₂NR'R''、氰基、疊氮基、-COR'、-OCOR'及-OCONR'R''；

R6為-H、-R、-OR、-SR、-NR'R''、-NO₂或鹵素；

G為-CH-或-N-；

A及A'相同或不同，且獨立地選自-O-、側氧基(-C(=O)-)、-CRR'O-、-CRR'-、-S-、-CRR'S-、-NR₅及-CRR'N(R₅)-；及

R₅在每次出現時獨立地為-H或視情況取代之具有1至10個碳原子之直鏈或分支烷基；

且剩餘變數為如針對式(I)或(II)、第1、第2、第3、第11或第12特定實施例或其中所述之任何複數個特定實施例所描述。

【0247】 在一更特定實施例中，D由式(IBD11)表示。

【0248】 在另一更特定實施例中，對於式(IBD11)-(IBD16)，L'、L''及L'''中之一者由式(A')或(D')表示，且其餘為-H、具有1至6個碳原子之直鏈或分支烷基、鹵素、-OH、(C₁-C₆)烷氧基或-NO₂。

【0249】 在另一更特定實施例中，對於式(IBD11)-(IBD16)，L'由式(A')表示；且L''及L'''均為-H。

【0250】 在另一更特定實施例中，對於式(IBD11)-(IBD16)，L'由式(D')表示；且L''及L'''均為-H。

【0251】 在另一更特定實施例中，對於式(IBD11)-(IBD16)，R_{x1}為視情況經鹵素、-OH、-SO₃H、(C₁-C₃)烷基、(C₁-C₃)烷氧基、鹵(C₁-C₃)烷基取代之具有1至6個碳原子之直鏈、分支或環狀烷基或帶電荷取代基或可電離基團Q。

【0252】 在第18特定實施例中，對於式(IBD11)-(IBD16)，L'由下式表示：



其中：

R_a及R_b在每次出現時各自獨立地為-H、(C1-C3)烷基或帶電荷取代基或可電離基團Q；

s為1至6之整數；

s1'為0或1至6之整數；及

Cy為視情況經鹵素、-OH、(C1-C3)烷基、(C1-C3)烷氧基或鹵(C1-C3)烷基取代之具有5或6個環碳原子之環狀烷基；

且剩餘變數為如以上在第17特定實施例或其中所述之任何複數個特定實施例中所述。

【0253】 在一更特定實施例中，R_a及R_b均為H；式(B2')及(C2')中之Cy為環己烷；且R₅為H或Me。甚至更特定言之，s1'為0或1。

【0254】 在第19實施例中，對於式(1BD11)-(1BD16)，P₁為含有2至10個胺基酸殘基之肽；且剩餘變數為如在第17或第18特定實施例中所描述。

【0255】 在一特定實施例中，P₁為含有2至5個胺基酸殘基之肽。

【0256】 在另一特定實施例中，P₁為Gly-Gly-Gly、Ala-Val、Val-Ala、Val-Cit、Val-Lys、Phe-Lys、Lys-Lys、Ala-Lys、Phe-Cit、Leu-Cit、Ile-Cit、Trp、Cit、Phe-Ala、Phe-N⁹-甲苯磺醯基-Arg、Phe-N⁹-硝基-Arg、Phe-Phe-Lys、D-Phe-Phe-Lys、Gly-Phe-Lys、Leu-Ala-Leu、Ile-Ala-Leu、Val-Ala-Val、Ala-Leu-Ala-Leu (SEQ ID NO: 14)、β-Ala-Leu-Ala-Leu (SEQ ID NO: 15)、Gly-Phe-Leu-Gly (SEQ ID NO: 16)、Val-Arg、Arg-Val、Arg-Arg、Val-D-Cit、Val-D-Lys、Val-D-Arg、D-Val-Cit、D-Val-Lys、D-Val-Arg、D-Val-D-Cit、D-Val-D-Lys、D-Val-D-Arg、D-Arg-D-Arg、Ala-Ala、Ala-D-Ala、D-Ala-Ala、D-Ala-D-Ala、Ala-Met或Met-Ala。甚至更特定言之，P為Gly-Gly-Gly、Ala-Val、Ala-Ala、Ala-D-Ala、D-Ala-Ala或D-Ala-D-Ala。

【0257】 在第20實施例中，對於式(1BD11)-(1BD16)，N與C之間之雙線=

表示雙鍵；且剩餘變數為如以上在第17、第18或第19實施例中所描述。

【0258】 在第21實施例中，對於式(IBD11)-(IBD16)，N與C之間之雙線==表示單鍵， X_1 為-H或胺保護基；且 Y_1 為-OR、-OCOR'、-SR、-NR'R''、視情況取代之5或6員含氮雜環、-SO₃M、-SO₂M及-OSO₃M，其中M為H⁺或醫藥學上可接受之陽離子；且剩餘變數為如以上在第17、第18或第19實施例中所描述。特定言之， Y_1 選自-SO₃M、-OH、-OMe、-OEt或-NHOH。更特定言之， Y_1 為-SO₃M或-OH，其中M為H⁺、Na⁺或K⁺。

【0259】 在某些實施例中，式(IBD11)-(IBD16)， X_1' 選自由以下組成之群：-H、-OH、視情況取代之具有1至10個碳原子之直鏈、分支或環狀烷基、烯基或炔基、及苯基；且剩餘變數為如以上在第17、第18、第19、第20或第21特定實施例中所描述。更特定言之， X_1' 為-H、-OH、(C₁-C₃)烷基、鹵(C₁-C₃)烷基或苯基。在另一更特定實施例中， X_1' 為-H、-OH或-Me。甚至更特定言之， X_1' 為-H。

【0260】 在某些實施例中，對於式(IBD11)-(IBD16)， X_1' 選自由以下組成之群：-H、側氧基、視情況取代之具有1至10個碳原子之直鏈、分支或環狀烷基、烯基或炔基；且剩餘變數為如以上在第17、第18、第19、第20或第21特定實施例中所描述。更特定言之， Y_1' 為-H、側氧基、(C₁-C₃)烷基或鹵(C₁-C₃)烷基。在另一更特定實施例中， Y_1' 為-H或側氧基。甚至更特定言之， Y_1' 為-H。

【0261】 在某些實施例中，對於式(IBD11)-(IBD16)，A及A'相同或不同，且為-O-、-S-、-NR₅-或側氧基-(C=O)-；且剩餘變數為如以上在第17、第18、第19、第20或第21特定實施例中所描述。更特定言之，A及A'相同或不同，且為-O-及-S-。甚至更特定言之，A及A'為-O-。

【0262】 在某些實施例中，對於式(IBD11)-(IBD16)，R₆為-OMe；且剩餘變數為如以上在第17、第18、第19、第20或第21實施例中所描述。

【0263】 在某些實施例中，對於式(IBD11)-(IBD16)，R₁、R₂、R₃、R₄、R_{1'}、

R₂'、R₃'及R₄'各自獨立地為-H、鹵素、-NO₂、-OH、(C₁-C₃)烷基、鹵(C₁-C₃)烷基或(C₁-C₃)烷氧基；且剩餘變數為所描述之s。更特定言之，R₁、R₂、R₃、R₄、R₁'、R₂'、R₃'及R₄'皆為-H。

【0264】 在某些實施例中，對於式(1BD11)-(1BD16)，R、R'、R''及R₅各自獨立地為-H或(C₁-C₃)烷基；且剩餘變數為如以上在第17、第18、第19、第20或第21實施例中所描述。

【0265】 在第22實施例中，對於式(IBD11)-(IBD16)：

N與C之間之雙線=表示單鍵或雙鍵，其限制條件為當其為雙鍵時，X1不存在且Y1為-H；且當其為單鍵時，X1為-H，且Y1為-OH或-SO₃M；

R1、R2、R3、R4、R1'、R2'、R3'及R4'皆為-H；

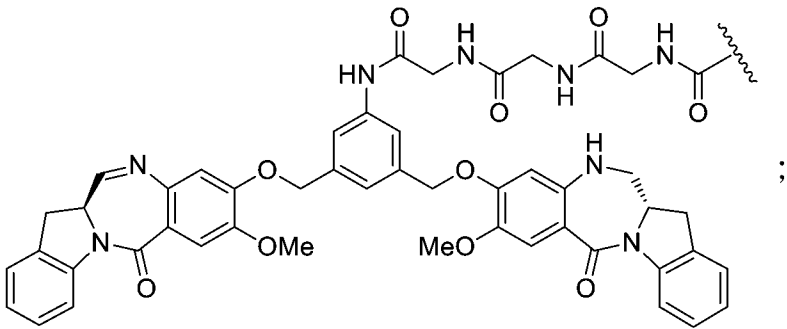
R6為-OMe；

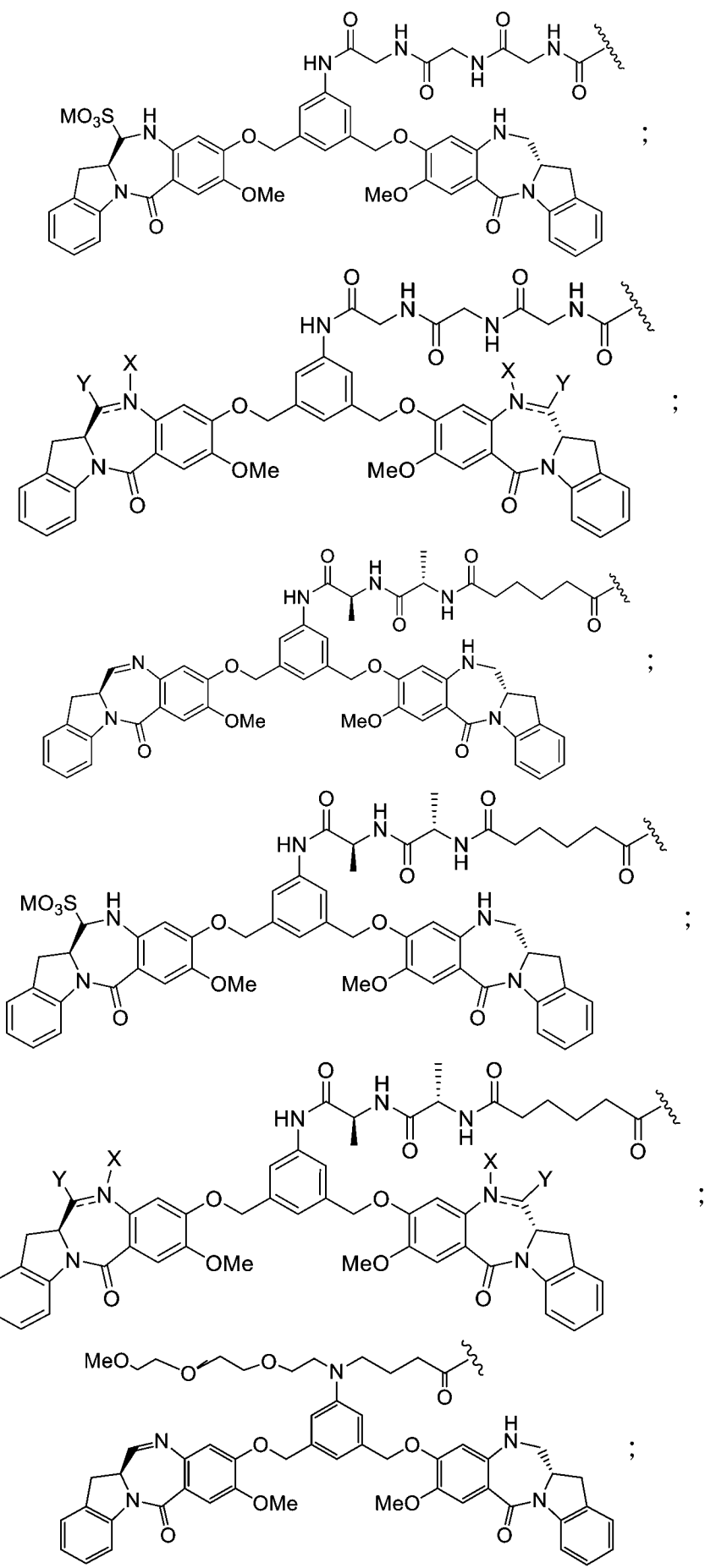
X1'及Y1'均為-H；

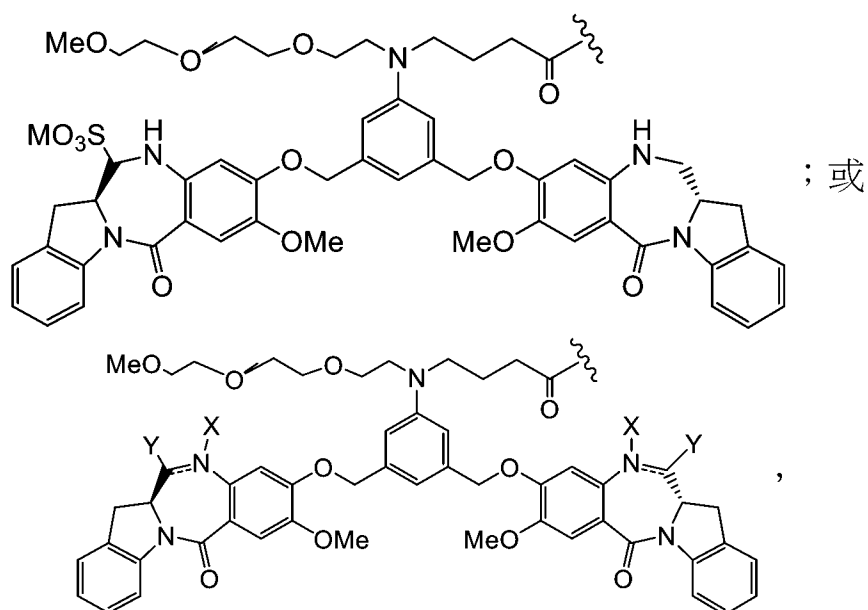
A及A'為-O-；及

M為H+、Na+或K+；且剩餘變數為如以上在第17、第18、第19、第20或第21特定實施例中所描述。更特定言之，R、R'、R''及R5各自獨立地為-H或(C1-C3)烷基。甚至更特定言之，R、R'、R''及R5皆為H。

【0266】 在第23實施例中，對於式(I)結合物或式(II)化合物，D由以下結構式表示：

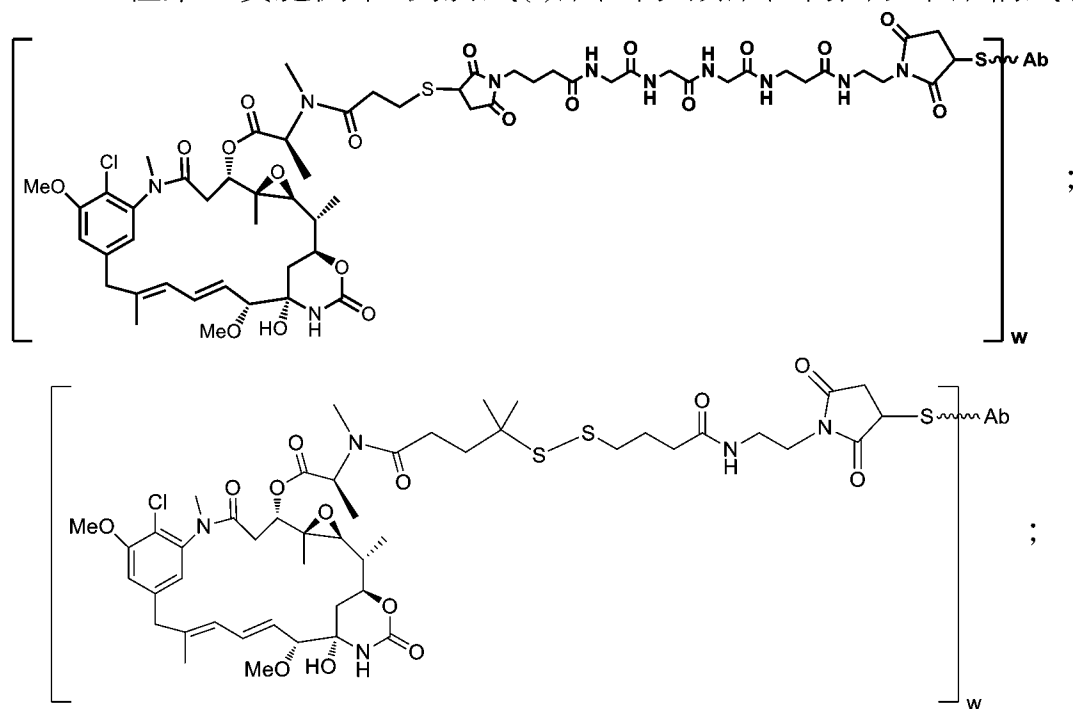


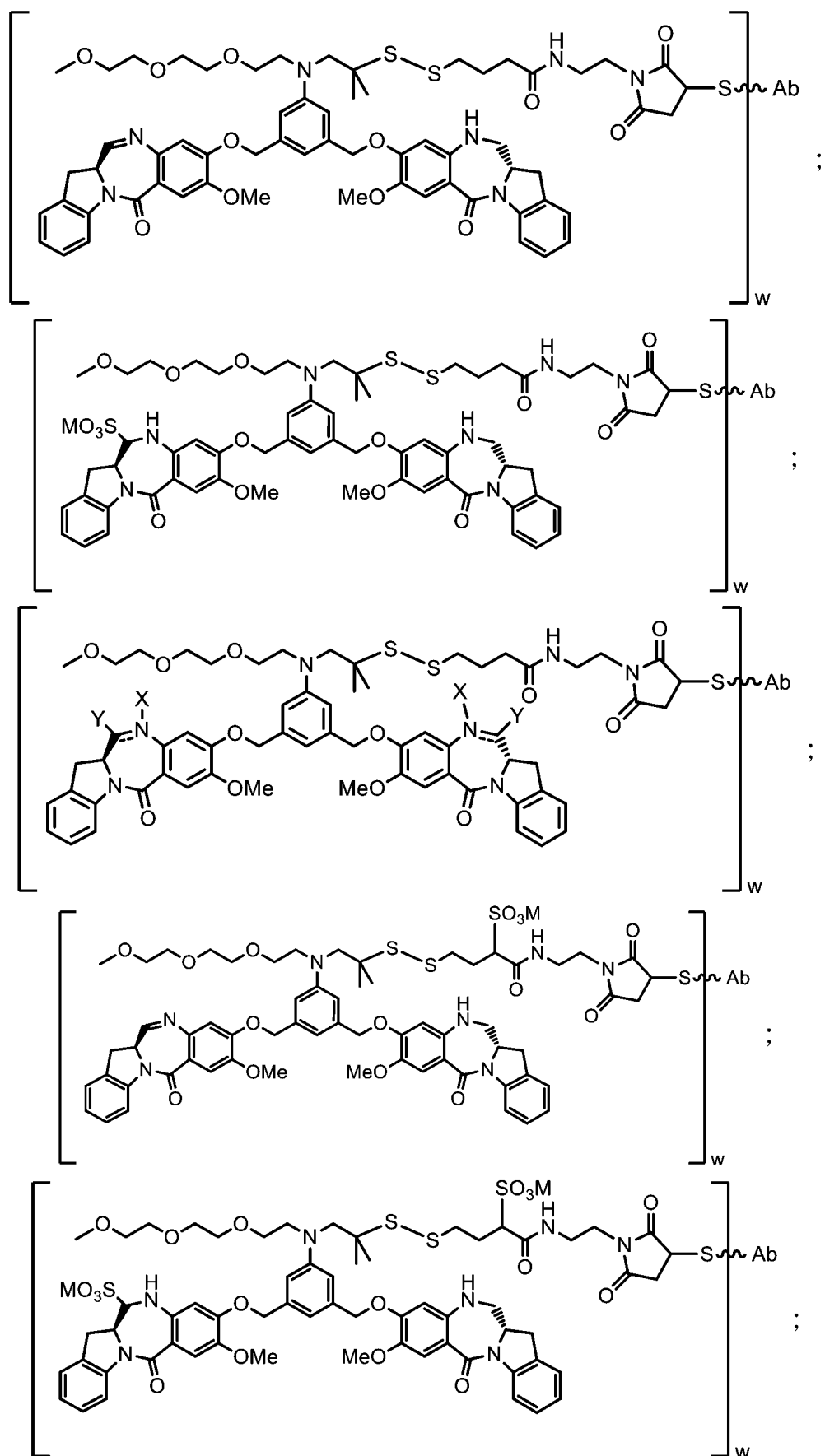


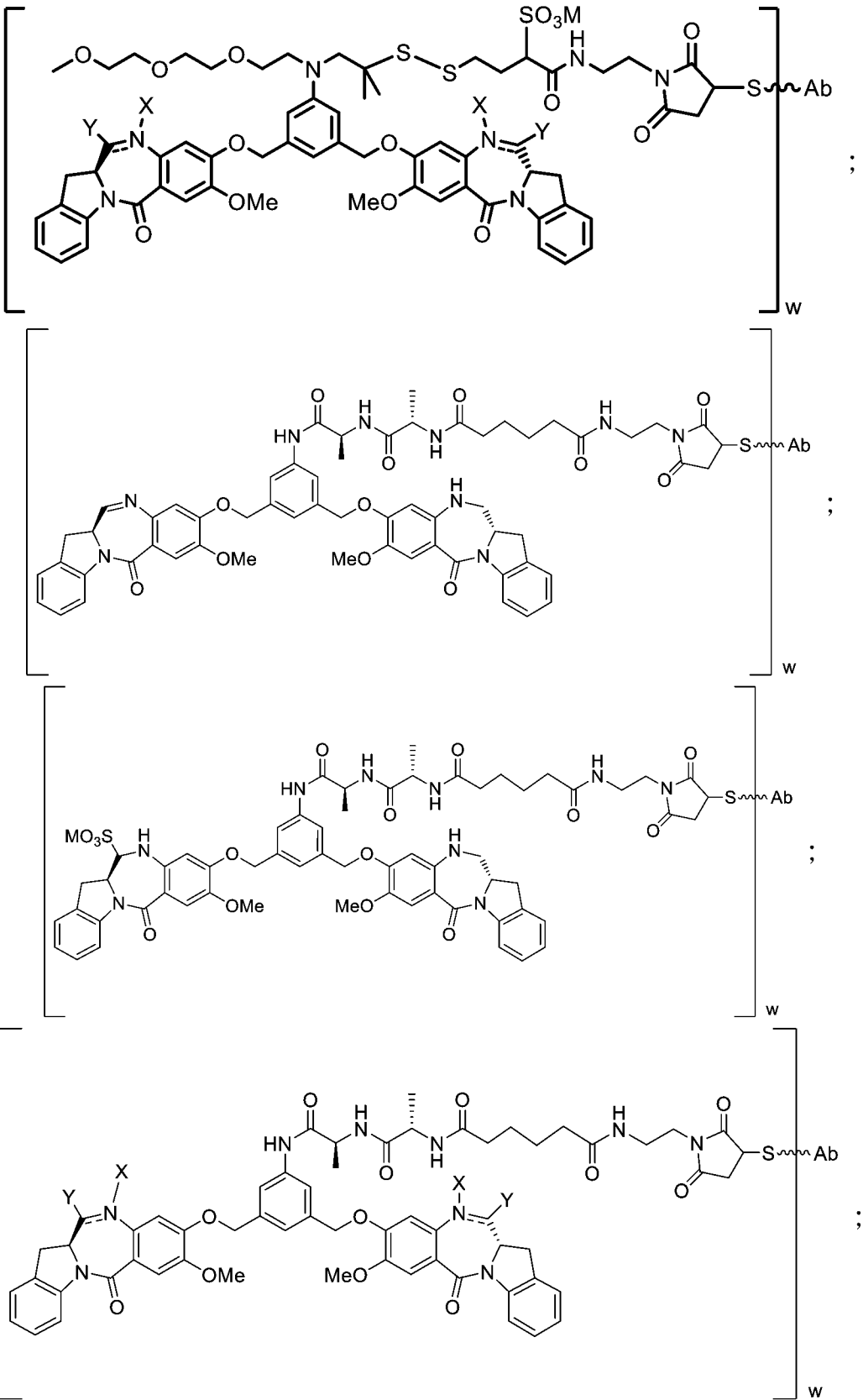


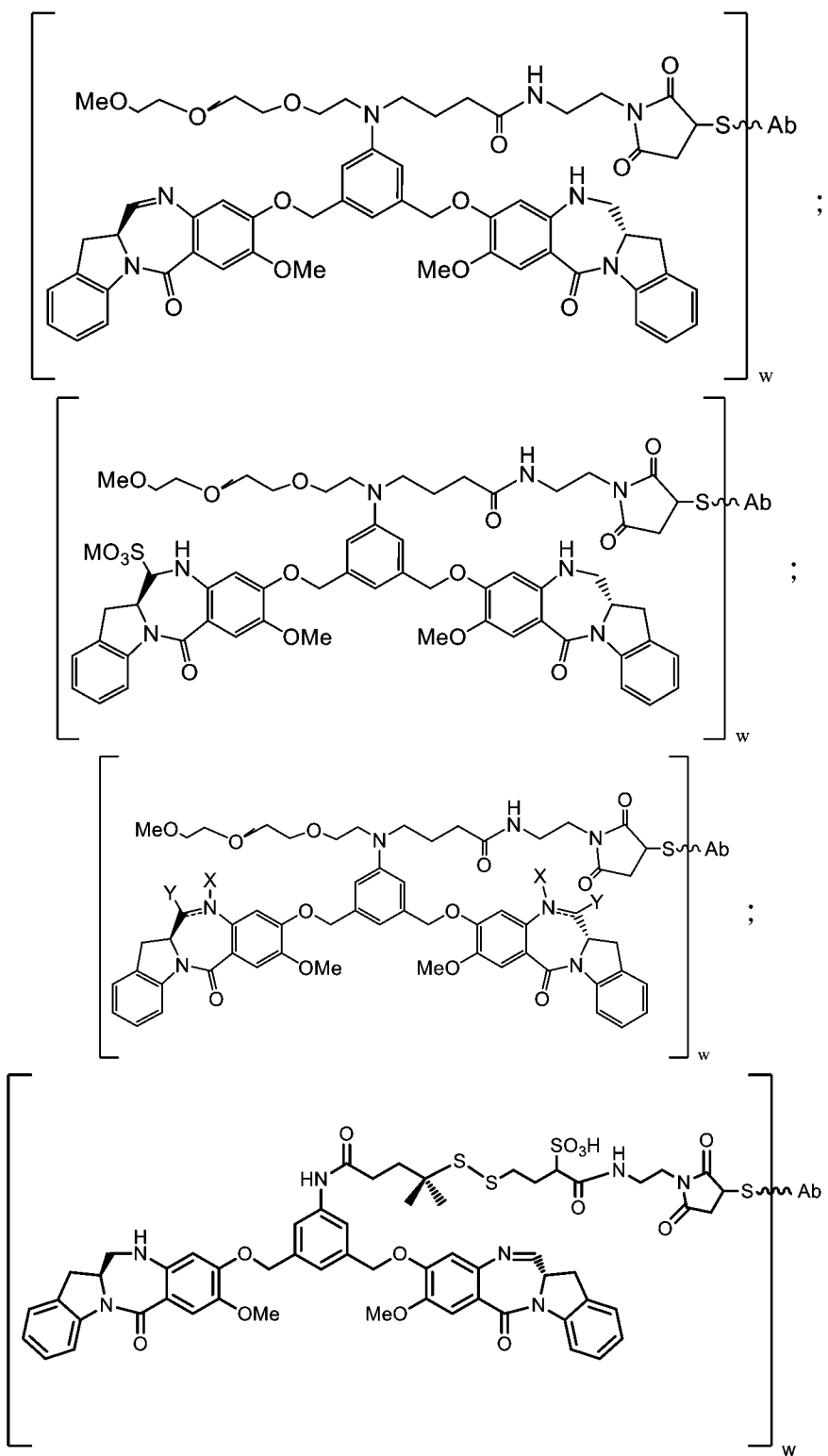
其中N與C之間之雙線=表示單鍵或雙鍵，其限制條件為當其為雙鍵時，X不存在且Y為-H，且當其為單鍵時，X為-H，且Y為-SO₃M；M為H⁺或其醫藥學上可接受之陽離子；且剩餘變數為如以上在第17實施例中所描述。

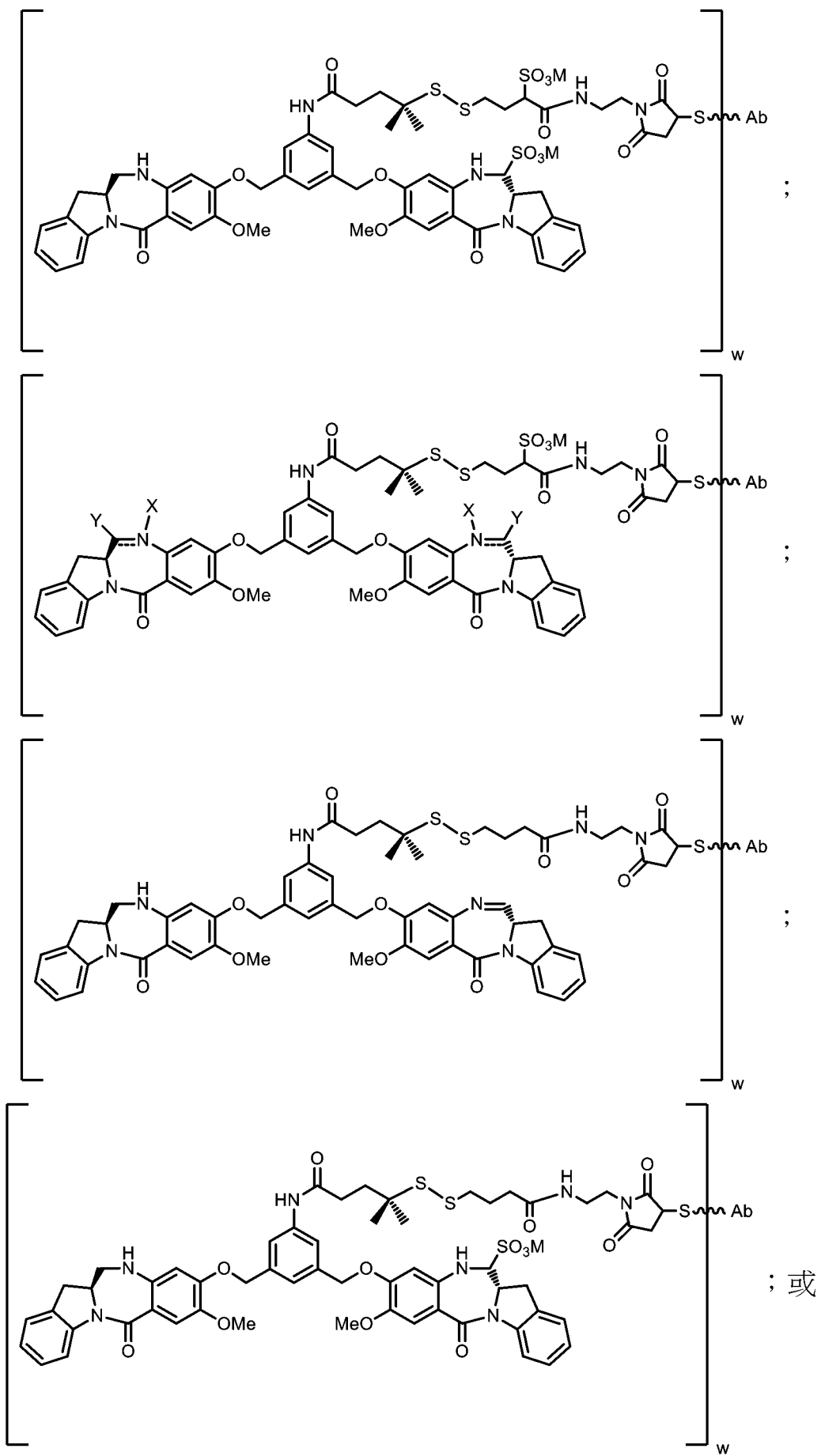
【0267】 在第24實施例中，對於式(I)結合物，該結合物由以下結構式表示：

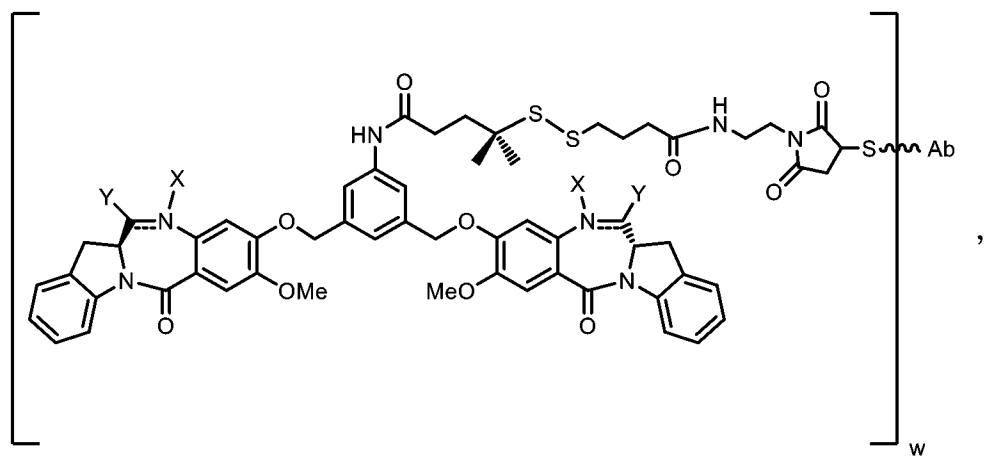






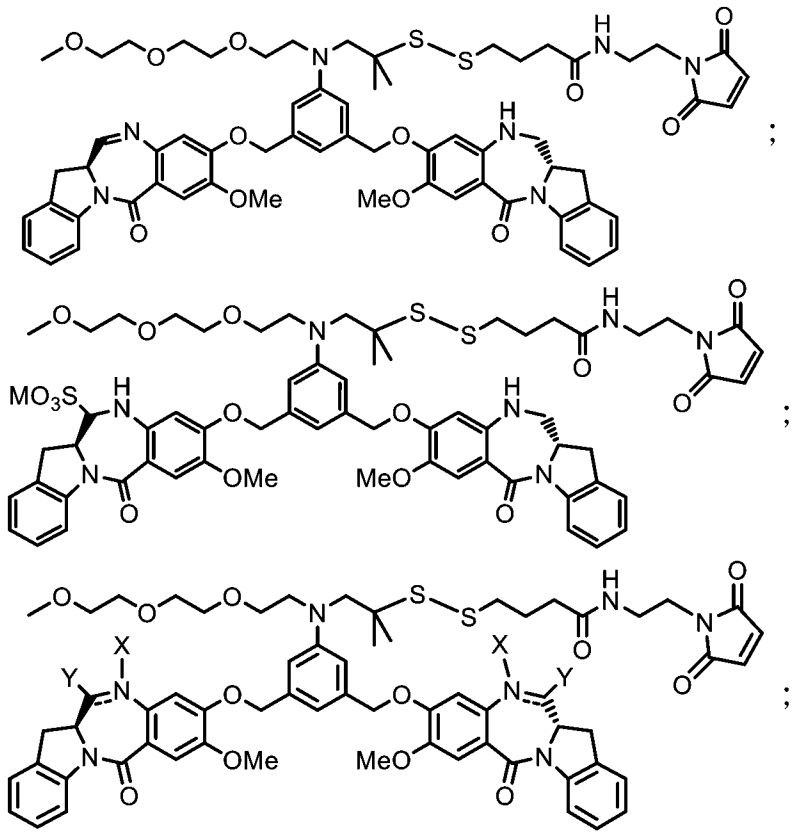


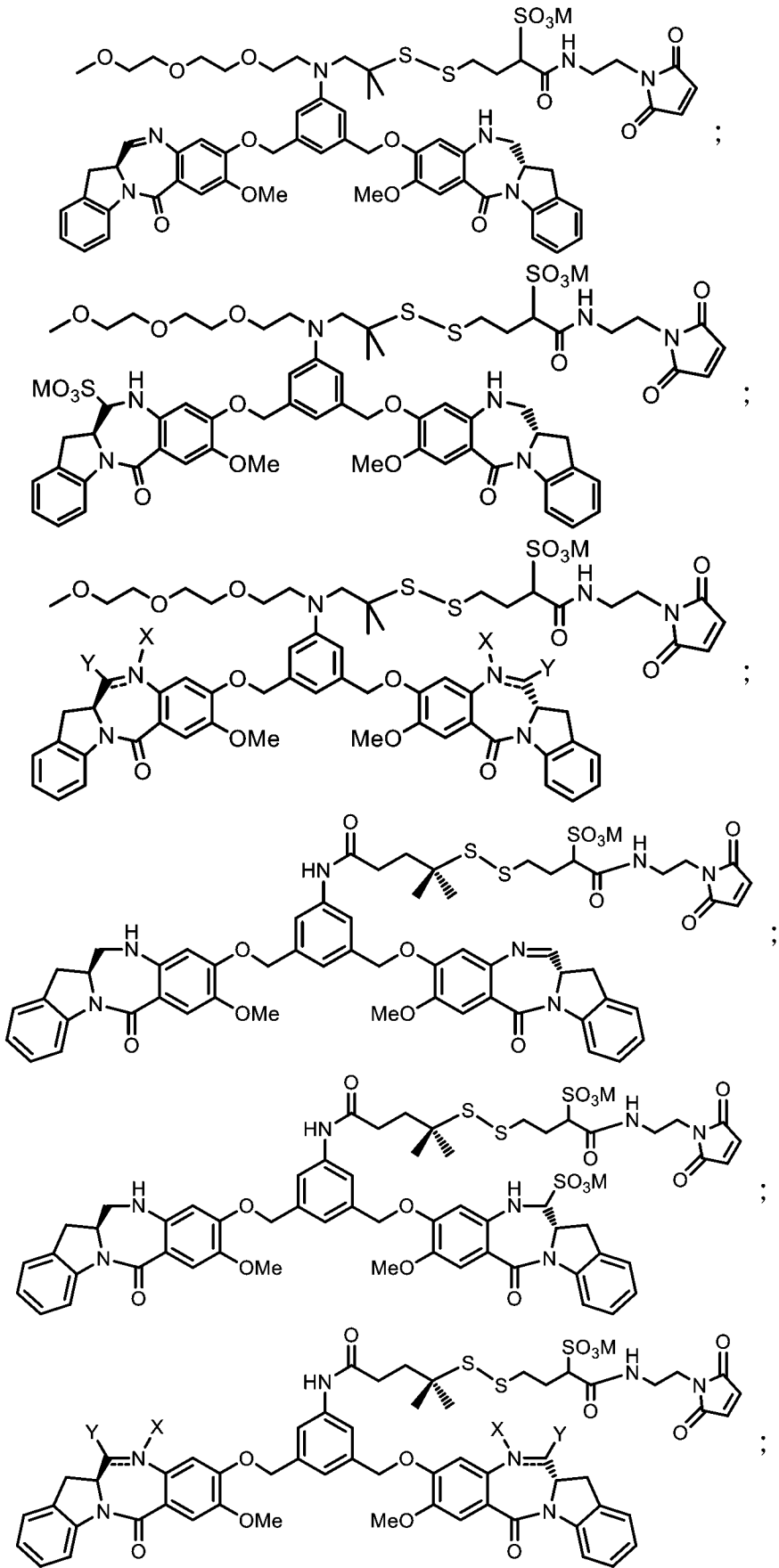


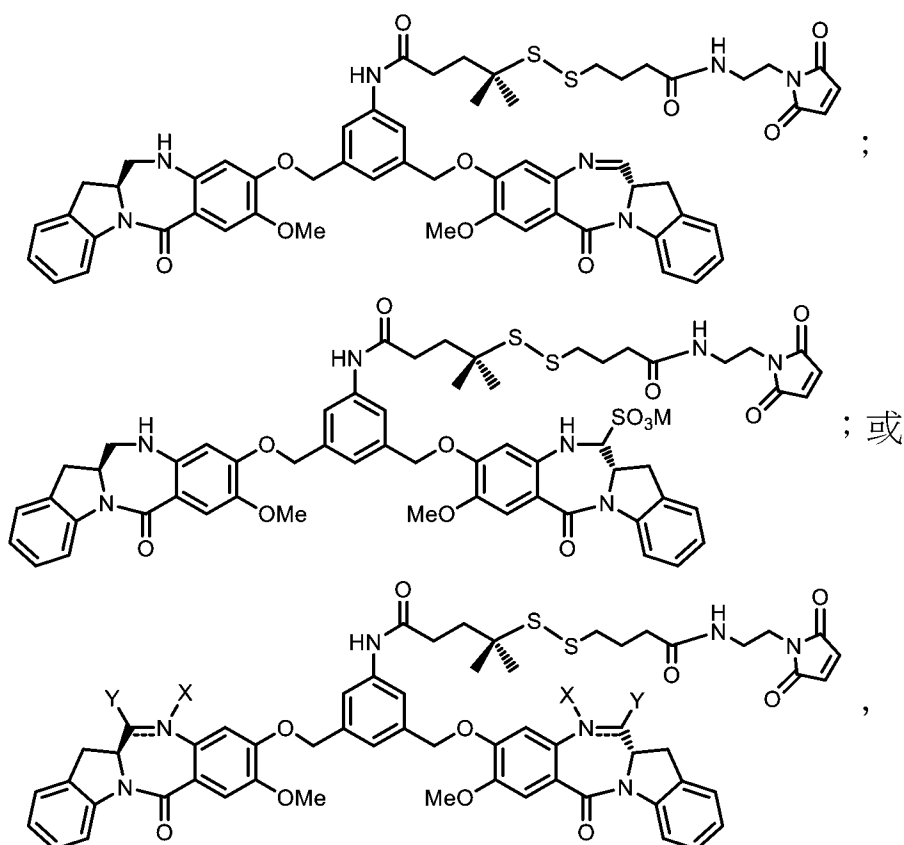


或其醫藥學上可接受之鹽，其中N與C之間之雙線==表示單鍵或雙鍵，其限制條件為當其為雙鍵時，X不存在且Y為-H，且當其為單鍵時，X為-H，且Y為-SO₃M；且M為H⁺或其醫藥學上可接受之陽離子。更特定言之，M為H⁺、Na⁺或K⁺。

【0268】 此外在第24實施例中，對於式(II)化合物，該化合物由以下結構式表示：







或其醫藥學上可接受之鹽，其中N與C之間之雙線 $\equiv$ 表示單鍵或雙鍵，其限制條件為當其為雙鍵時，X不存在且Y為-H，且當其為單鍵時，X為-H，且Y為-SO₃M；且M為H⁺或其醫藥學上可接受之陽離子。

【0269】 在第25實施例中，對於在第一實施例或第1-第24實施例中任一者中所描述之結合物，w為2。或者，w為1。

【0270】 在某些實施例中，在以上任何實施例中所描述之帶電荷取代基或可電離基團Q為i) -SO₃H、-Z'-SO₃H、-OPO₃H₂、-Z'-OPO₃H₂、-PO₃H₂、-Z'-PO₃H₂、-CO₂H、-Z'-CO₂H、-NR₁₁R₁₂或-Z'-NR₁₁R₁₂或其醫藥學上可接受之鹽；或ii) -N⁺R₁₄R₁₅R₁₆X⁻或-Z'-N⁺R₁₄R₁₅R₁₆X⁻；Z'為視情況取代之伸烷基、視情況取代之伸環烷基或視情況取代之伸苯基；R₁₄至R₁₆各自獨立地為視情況取代之烷基；且X⁻為醫藥學上可接受之陰離子。更特定言之，Q為-SO₃H或其醫藥學上可接受之鹽。

【0271】 在某些實施例中，本發明之結合物中之抗體為具有工程改造半胱

胺酸殘基(例如，在重鏈之EU/OU編號位置442處)之抗體。工程改造Cys殘基可位於抗體之一或兩個重鏈或抗體之一或兩個輕鏈上或其抗原結合部分或其組合上。在一個實施例中，該Cys殘基位於抗體重鏈之EU/OU編號位置442處。在某一實施例中，該抗體為如本文所描述之半胱胺酸工程改造抗體。

【0272】 在某些實施例中，本發明之抗體為單株抗體、嵌合抗體、人類化抗體、表面重整抗體或人類抗體。

【0273】 在其他實施例中，細胞結合劑為特異性結合於靶細胞之抗體、單鏈抗體、抗體片段；特異性結合於靶細胞之單株抗體、單鏈單株抗體、單株抗體片段(或「抗原結合部分」)；特異性結合於靶細胞之嵌合抗體、嵌合抗體片段(或「抗原結合部分」)；特異性結合於靶細胞之結構域抗體(例如，sdAb)或結構域抗體片段。

【0274】 在某些實施例中，細胞結合劑為人類化抗體、人類化單鏈抗體或人類化抗體片段(或「抗原結合部分」)。在一特定實施例中，人類化抗體為huMy9-6或另一相關抗體，其在美國專利第7,342,110及7,557,189號中描述。在另一特定實施例中，人類化抗體為在美國專利第8,557,966號中描述之抗葉酸受體抗體。在又另一實施例中，人類化抗體為2015年6月29日提交、標題為「ANTI-CD123 ANTIBODIES AND CONJUGATES AND DERIVATIVES THEREOF」之美國臨時申請案第62/186,161號中所描述之抗CD123抗體。所有此等申請案之教導皆以全文引用之方式併入本文中。

【0275】 在某些實施例中，細胞結合劑為表面重整抗體、表面重整單鏈抗體、表面重整抗體片段(或「抗原結合部分」)或雙特異性抗體。

【0276】 本發明之又另一態樣提供一種重組抗體，其包含源自本文所述之主題重組抗體重鏈(HC)、輕鏈(LC)或其抗原結合部分中任一者之重鏈、輕鏈或其抗原結合部分之成熟加工序列。

【0277】 例如，重組抗體可為或可包含scFv-Fc、Fcab、mAb2、小模塊免疫醫藥(SMIP)、Genmab / 單抗體或duobody、迷你抗體、IgGΔCH2、DVD-Ig、蛋白水解啟動抗體(probody)、內抗體或多特異性抗體。

【0278】 DUOBODY®為雙特異性修飾之IgG1抗體異二聚體。IgG1鉸鏈區通常包含(i) 穩定鉸鏈區，其包含CPPC序列且不允許活體內Fab臂交換，及(ii) IgG4樣 CH3結構域，其經修飾為包含F405L及K409R殘基，此使其允許活體內Fab臂交換。(參見，例如WO2008119353及WO2011131746)。

【0279】 在某些實施例中，重組抗體可包含各自源自本文所述之主題重組抗體重鏈(HC)、輕鏈(LC)或其抗原結合部分中任一者之重鏈、輕鏈或其抗原結合部分之成熟加工序列中之1、2、3或4個。

【0280】 在某些實施例中，重組抗體可為異二聚抗體，其包含第一重鏈多肽及第二重鏈多肽，其中該第一重鏈多肽之Fc區及該第二重鏈多肽之Fc區在介面處相觸，且該第二重鏈多肽之Fc區之介面包含可定位於該第一重鏈多肽之Fc區之介面中之凹穴中的隆凸。在某些實施例中，用於促進雙特異性抗體中之重鏈之特異性配對的鈕入孔技術可基於例如Genentech / Roche的CrossMab技術進一步改進，例如，藉由交換CH1及κ恆定區以進一步減少或消除輕鏈錯配。

【0281】 或者，亦可在完全雙特異性抗體之開發中使用LC異二聚體達成類似結果，諸如完全補充多種其他生物製品方法之Zymeworks AZYMETRIC™異二聚IgG1輕鏈平臺技術，包括常見輕鏈、結構域抗體及單鏈形式。

【0282】 在某些實施例中，第二重鏈多肽之Fc區已自範本/原始多肽改變以編碼隆凸，或第一重鏈多肽之Fc區已自範本/原始多肽改變以編碼凹穴或兩者。

【0283】 在某些實施例中，隆凸及凹穴各自包含天然存在之胺基酸殘基。

【0284】 在某些實施例中，第二重鏈多肽之包含隆凸之Fc區藉由用具有比原始殘基更大側鏈體積之輸入殘基置換來自範本/原始多肽之介面之原始殘基而

產生。

【0285】 在某些實施例中，第二重鏈多肽之包含隆凸之Fc區藉由包括以下步驟之方法產生，在該步驟中用編碼具有比原始更大側鏈體積之輸入殘基之核酸置換編碼來自該多肽之介面之原始殘基的核酸。

【0286】 在某些實施例中，該抗體包括雙特異性、多特異性及單特異性抗體變體，該等抗體變體包含抗原結合區及重鏈恆定結構域，其中重鏈恆定結構域經修飾以包含EU/OU編號之位置442處之Cys。

【0287】 在某些實施例中，該抗體可結合靶細胞上之配體，諸如細胞表面配體，包括細胞表面受體。

【0288】 特定示範性抗原或配體可包括腎素；生長激素(例如，人類生長激素及牛生長激素)；生長激素釋放因數；副甲狀腺激素；促甲狀腺激素；脂蛋白； α -1-抗胰蛋白酶；胰島素A鏈；胰島素B鏈；胰島素原；促卵泡激素；降鈣素；促黃體素；胰高血糖素；凝血因數(例如因數vmc、因數IX、組織因數及溫韋伯氏因數(von Willebrands factor)；抗凝血因數(例如蛋白質C)；心房鈉尿因數；肺介面活性物質；纖溶酶原活化物(例如，尿激酶或人類尿或組織型纖溶酶原活化物)；鈴蟾肽；凝血酶；造血生長因數；腫瘤壞死因數- α 及- β ；腦啡肽酶；RANTES(亦即，調控活化正常T細胞表現及分泌因數)；人類巨噬細胞炎性蛋白-1- α ；血清白蛋白(人類血清白蛋白)；苗勒管抑制物(Muellerian-inhibiting substance)；鬆弛素A鏈；鬆弛素B鏈；鬆弛素原；小鼠性促素相關肽；微生物蛋白(β -內醯胺酶)；DNA酶；IgE；細胞毒性T淋巴細胞相關抗原(例如，CTLA-4)；抑制素；活化素；血管內皮生長因數；激素或生長因數受體；蛋白質A或D；類風濕因數；神經營養因數(例如骨源性神經營養因數、神經營養素-3、-4、-5或-6)；神經生長因數(例如NGF- β ；血小板源性生長因數；纖維母細胞生長因數(例如，aFGF及bFGF)；纖維母細胞生長因數受體2、表皮生長因數；轉化生長因數(例如TGF- α 、TGF- β 1、TGF-

$\beta 2$ 、TGF- $\beta 3$ 、TGF- $\beta 4$ 及TGF- $\beta 5$)；類胰島素生長因數-I及-II；des(1-3)-IGF-I(腦IGF-I)；類胰島素生長因數結合蛋白、黑素轉鐵蛋白、EpCAM、GD3、FLT3、PSMA、PSCA、MUC1、MUC16、STEAP、CEA、TENB2、EphA受體、EphB受體、葉酸受體、FOLR1、間皮素、槲皮素、 $\alpha_v\beta_6$ 、整合素、VEGF、VEGFR、EGFR、轉鐵蛋白受體；IRTA1；IRTA2；IRTA3；IRTA4；IRTA5；CD蛋白(例如CD2、CD3、CD4、CD5、CD6、CD8、CD11、CD14、CD19、CD20、CD21、CD22、CD25、CD26、CD28、CD30、CD33、CD36、CD37、CD38、CD40、CD44、CD52、CD55、CD56、CD59、CD70、CD79、CD80、CD81、CD103、CD105、CD123、CD134、CD137、CD138及CD152)；一或多種腫瘤相關抗原或細胞表面受體(參見美國公開案第2008/0171040號或美國公開案第2008/0305044，其以全文引用方式之併入)；紅細胞生成素；骨生成誘導因數；免疫毒素；骨形態生成蛋白；干擾素(例如，干擾素- α 、- β 及- γ)；集落刺激因數(例如，M-CSF、GM-CSF及G-CSF；白介素(例如IL-1至IL-10)；超氧化物歧化酶；T細胞受體；表面膜蛋白；衰變加速因數；病毒抗原(例如，HIV包膜之一部分)；運輸蛋白；歸巢受體；地址素(addressin)；調控蛋白；整合素(例如，CD11a、CD11b、CD11c、CD18、ICAM、VLA-4及VCAM)；腫瘤相關抗原(例如，HER2、HER3及HER4受體)；內皮蛋白(endoglin)；c-Met；c-kit；IGF1R；PSGR；NGEP；PSMA；PSCA；TMEFF2；LGR5；B7H4；及上文所列多肽中任一者之片段。

【0289】 在一個實施例中，細胞結合劑為抗葉酸受體抗體。更特定言之，抗葉酸受體抗體為特異性結合人類葉酸受體1之人類化抗體，其中該抗體包含：(a)重鏈CDR1，其包含GYFMN (SEQ ID NO: 1)；重鏈CDR2，其包含RIHPYDGDTFYNQXaa₁FXaa₂Xaa₃ (SEQ ID NO: 2)；及重鏈CDR3，其包含YDGSRAMDY (SEQ ID NO: 3)；及(b)輕鏈CDR1，其包含KASQSVSFAGTSLMH (SEQ ID NO: 4)；輕鏈CDR2，其包含RASNLEA (SEQ ID NO: 5)；及輕鏈CDR3，

其包含QQSREYPYT (SEQ ID NO: 6)；其中Xaa₁選自K、Q、H及R；Xaa₂選自Q、H、N及R；且Xaa₃選自G、E、T、S、A及V。較佳地，重鏈CDR2序列包含RIHPYDGDTFYNQKFQG(SEQ ID NO: 7)。

【0290】 在另一實施例中，抗葉酸受體抗體為特異性結合人類葉酸受體1之人類化抗體或其抗原結合片段，其包含具有以下胺基酸序列之重鏈：
QVQLVQSGAEVVKPGASVKISCKASGYTFTGYFMNWVKQSPGQSLEWIGRI
HPYDGDTFYNQKFQGKATLTVDKSSNTAHMELLSLTSEDFAVYYCTRYDGSR
AMDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV
TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS
NTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC
VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ
DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQV
SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR
WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLCLSPG (SEQ ID NO: 8)。

【0291】 在另一實施例中，抗葉酸受體抗體為特異性結合人類葉酸受體1之人類化抗體或其抗原結合片段，其包含具有以下胺基酸序列之輕鏈：
DIVLTQSPLSLAVSLGQPAIISCKASQSVSFAGTSLMHWYHQKPGQQPRLLIYR
ASNLEAGVPDRFSGSGSKTDFTLNISPVEAEDAATYYCQQSREYPYTFGGGK
LEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS
GNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF
NRGEC (SEQ ID NO: 9) ； 或
DIVLTQSPLSLAVSLGQPAIISCKASQSVSFAGTSLMHWYHQKPGQQPRLLIYR
ASNLEAGVPDRFSGSGSKTDFTLTISPVEAEDAATYYCQQSREYPYTFGGGK
LEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS

GNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF
NRGEC (SEQ ID NO: 10)。

【0292】 在另一實施例中，抗葉酸受體抗體為特異性結合人類葉酸受體1之人類化抗體或其抗原結合片段，其包含具有胺基酸序列SEQ ID NO: 8之重鏈及具有胺基酸序列SEQ ID NO: 9或SEQ ID NO: 10之輕鏈。較佳地，該抗體包含具有胺基酸序列SEQ ID NO: 8之重鏈及具有胺基酸序列SEQ ID NO: 10之輕鏈(huMov19)。

【0293】 在另一實施例中，抗葉酸受體抗體為人類化抗體或其抗原結合片段，其包含工程改造Cys殘基(例如，C442)及與以下序列至少約90%、95%、99%或100%一致之重鏈可變結構域：
QVQLVQSGAEVVKPGASVKISCKASGYTFTGYFMNWVKQSPGQSLEWIGRI
HPYDGDTFYNQKFQGKATLTVDKSSNTAHMELLSLTSEDFAVYYCTRYDGSR
AMDYWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 11)；及與以下序列至少約90%、95%、99%或100%一致之輕鏈可變結構域：
DIVLTQSPLSLAVSLGQPAIISCKASQSVSFAGTSLMHWYHQKPGQQPRLLIYR
ASNLEAGVPDRFSGSGSKTDFTLNISPVEAEDAATYYCQQSREYPYTFGGGTK
LEIKR (SEQ ID NO: 12)；或
DIVLTQSPLSLAVSLGQPAIISCKASQSVSFAGTSLMHWYHQKPGQQPRLLIYR
ASNLEAGVPDRFSGSGSKTDFTLTISPVEAEDAATYYCQQSREYPYTFGGGTK
LEIKR (SEQ ID NO: 13)。

【0294】 在一特定實施例中，人類化抗體為huMy9-6或另一相關抗體，其在美国專利第7,342,110及7,557,189號中描述。在另一特定實施例中，人類化抗體為在美国專利第8,577,966號中描述之抗葉酸受體抗體(例如，huMov19)。在某些實施例中，人類化抗體為在美国專利第8,765,917號中描述之抗CD37抗體(例如，

抗CD37-3)。在某些實施例中，人類化抗體為在美國專利第8,790,649號中描述之抗EGFR抗體。在另一實施例中，抗體為抗EGFR抗體。在一實施例中，抗EGFR抗體為非拮抗劑抗體，包括例如在WO2012058592中所描述之抗體，其以引用之方式併入本文。在另一實施例中，抗EGFR抗體為非功能性抗體，例如，人類化ML66。更特定言之，抗EGFR抗體為huML66。

【0295】 在一實施例中，抗體為抗CD123抗體，諸如人類化huCD123抗體，如2015年6月29日提交、標題為「ANTI-CD123 ANTIBODIES AND CONJUGATES AND DERIVATIVES THEREOF」之美國臨時申請案第62/186,161號(全部內容，包括所有序列及圖式併入本文)中所描述。

製備本發明結合物之方法

【0296】 上述免疫結合物(例如，式(I)免疫結合物或第1至第25實施例中任一者或其中所述之任何特定實施例之免疫結合物)可藉由使具有一或多個游離半胱胺酸之抗體與具有本文所描述之硫醇反應性基團之化合物反應來製備。

【0297】 在一實施例中，具有硫醇反應性基團之化合物由式(II)或第1至第25實施例中任一者或其中所述之任何特定實施例之化合物表示。

【0298】 在某些實施例中，有機溶劑用於CBA與具有硫醇反應性基團之反應中以溶解該化合物。示範性有機溶劑包括但不限於，二甲基乙醯胺(DMA)、丙二醇等。在一實施例中，CBA與該化合物之反應在DMA及丙二醇存在下進行。

組合物及使用方法

【0299】 本發明包括一種組合物(例如醫藥組合物)，其包含本文所述之新穎苯并二氮呿化合物(例如吡啶并苯并二氮呿或噁唑啉并苯并二氮呿)、其衍生物或其結合物(及/或其溶劑化物、水合物及/或鹽)及載劑(醫藥學上可接受之載劑)。本發明亦包括一種組合物(例如醫藥組合物)，其包含本文所述之新穎苯并二氮呿化合物、其衍生物或其結合物(及/或其溶劑化物、水合物及/或鹽)及載劑(醫

藥學上可接受之載劑)，進一步包含第二治療劑。本發明組合物可用於在哺乳動物(例如人類)中抑制異常細胞生長或治療增生性病徵。本發明包括一種在哺乳動物(例如人類)中抑制異常細胞生長或治療增生性病徵之方法，其包括向該哺乳動物投予治療有效量之單獨或與第二治療劑組合之治療劑或組合物，諸如本文所述新穎苯并二氮呋化合物(例如吡啶并苯并二氮呋或噁唑啉并苯并二氮呋)、其衍生物或其結合物(及/或其溶劑化物及鹽)或其組合物。

【0300】 在一實施例中，增生性病徵為癌症。癌症可包括血液系統癌症或實體腫瘤。更特定言之，該癌症為白血病(例如，急性骨髓性白血病(AML))、急性淋巴母細胞性白血病(ALL)諸如急性B淋巴母細胞性白血病(B-ALL)、慢性骨髓性白血病(CML)、慢性淋巴細胞性白血病(CLL)或淋巴瘤、黑素瘤、肺癌(例如，非小細胞肺癌)、卵巢癌、子宮內膜癌、腹膜癌、胰腺癌、乳腺癌、前列腺癌及子宮頸癌。

【0301】 本發明亦提供治療方法，該等方法包括對需要治療之受試者投予有效量之上述任一結合物。

【0302】 類似地，本發明提供一種用於誘導所選細胞群體之細胞死亡的方法，其包括使靶細胞或含靶細胞之組織與有效量細胞毒性劑接觸，該細胞毒性劑包含任一本發明細胞毒性化合物-細胞結合劑(例如連接至細胞結合劑之吡啶并苯并二氮呋或噁唑啉并苯并二氮呋二聚體)、其鹽或溶劑化物。靶細胞為細胞結合劑可結合之細胞。

【0303】 必要時，其他活性劑，諸如其他抗腫瘤劑，可與該結合物一起投予。

【0304】 適合之醫藥學上可接受之載劑、稀釋劑及賦形劑為熟知的且可由熟諳本技術者依據臨床狀況許可確定。適合的載劑、稀釋劑及/或賦形劑之實例包括：(1)杜貝卡氏磷酸鹽緩衝生理食鹽水(Dulbecco's phosphate buffered saline)，

pH為約7.4，含有或不含約1 mg/mL至25 mg/mL人類血清白蛋白；(2) 0.9%生理食鹽水(0.9% w/v NaCl)；及(3) 5%(w/v)右旋糖；且亦可含有抗氧化劑，諸如色胺；及穩定劑，諸如Tween 20。

【0305】 用於誘導所選細胞群體中細胞死亡之方法可在活體外、活體內或離體實踐。

【0306】 活體外使用之實例包括在自體骨髓移植入同一患者前進行處理以殺死患病或惡性細胞；骨髓在移植之前進行處理以便殺死勝任T細胞(competent T cells)且預防移植物抗宿主疾病(GVHD)；處理細胞培養物以便殺死除不表現靶抗原之所需變體外之所有細胞；或殺死表現非所需抗原之變體。非臨床活體外使用之條件易於由熟諳本技術者確定。

【0307】 臨床離體應用之實例為在自體移植以治療癌症或治療自體免疫疾病之前自骨髓移除腫瘤細胞或淋巴細胞，或在移植前從自體或異體骨髓或組織移除T細胞及其他淋巴細胞以預防GVHD。治療可如下進行。自患者或其他個體採集骨髓，隨後在約37°C下，在加有濃度在約10 μ M至1 pM範圍內之本發明細胞毒性劑之含血清培養基中培育約30分鐘至約48小時。有關培育濃度及時間(亦即劑量)之確切條件易於由熟諳本技術者確定。在培育後，用含血清培養基洗滌骨髓細胞，且根據已知方法經靜脈內回輸給患者。在骨髓採集與經處理細胞回輸時間之間患者接受其他治療(諸如根治性化療或全身照射療程)的情況下，將經處理骨髓細胞使用標準醫療設備冷凍儲存於液氮中。

【0308】 對於臨床活體內使用，本發明之細胞毒性劑將以經測試無菌性及內毒素含量之溶液或凍乾粉形式提供。有關投藥途徑、賦形劑、稀釋劑、劑量、時間等具體臨床方案可由熟諳本技術者根據臨床狀況許可確定。

【0309】 可根據誘導所選細胞群體中細胞死亡之活體內或離體方法治療之醫學病況的實例包括任一類型之惡性疾病，包括例如癌症；自體免疫疾病，諸

如系統性狼瘡、類風濕性關節炎及多發性硬化；移植物排斥，諸如腎移植物排斥、肝移植物排斥、肺移植物排斥、心臟移植物排斥及骨髓移植物排斥；移植物抗宿主疾病；病毒感染，諸如CMV感染、HIV感染、AIDS等；及寄生蟲感染，諸如賈第蟲病(giardiasis)、阿米巴病(amoebiasis)、血吸蟲病(schistosomiasis)，及如熟諳本技術者確定之其他疾病。

【0310】 有關投藥途徑、賦形劑、稀釋劑、劑量、時間等具體臨床方案可由熟諳本技術者根據臨床狀況許可確定。

【0311】 癌症療法及其劑量、投藥途徑及推薦用法為此項技術中已知的，且已描述於諸如Physician's Desk Reference(PDR)之文獻中。PDR揭示了已用於治療各種癌症之試劑的劑量。治療有效之上述該等化療藥物的給藥方案及劑量將取決於所治療之特定癌症、疾病程度及熟諳本技術之醫師熟悉之其他因素，且可由醫師確定。PDR之內容以全文引用之方式清楚地併入本文中。熟諳本技術者可使用以下一或多個參數評述PDR，以確定可根據本發明教導使用之化療劑及結合物之給藥方案及劑量。該等參數包括：

- 綜合指標
- 製造商提供
- 產品(公司或商標藥物名稱)
- 類目索引
- 通用/化學指數(非商標常用藥物名稱)
- 藥物之彩色圖像
- 產品資訊，符合FDA標記
- 化學資訊
- 功能/作用
- 適應症及禁忌症

試驗研究、副作用、警告

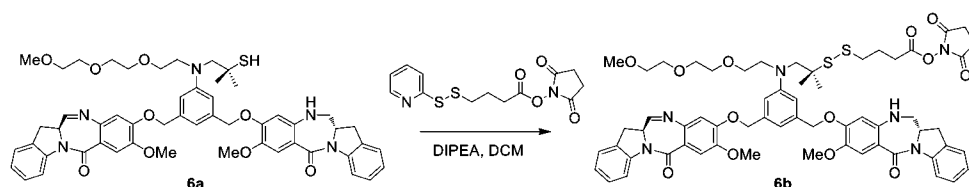
實例

實例1. 用於抗體結合之連接子-效應物試劑之製備

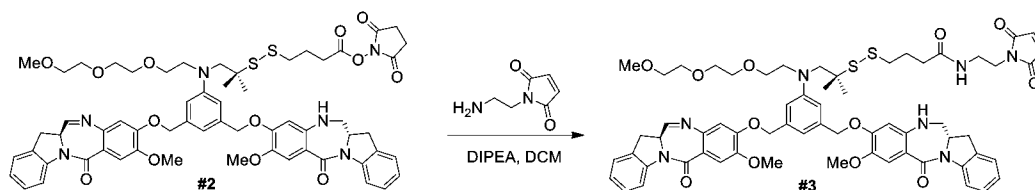
【0312】 以下溶劑、試劑、保護基、部分及其他名稱可經由其括弧中之縮寫提及。

Me	甲基	Et	乙基	Pr	丙基
i-Pr	異丙基	Bu	丁基	t-Bu	第三丁基
Ph	苯基	Ac	乙醯基	AcOH / HOAc	乙酸
Ala	丙胺酸	aq	水性	ACN / CH₃CN	乙腈
DI water	去離子水	DCM CH₂Cl₂	/ 二氯甲烷	Boc / BOC	第三丁氧羰基
g	公克	DMA	N,N-二甲基乙醯胺	DIEA 或 DIPEA	N,N-二異丙基乙胺
h	小時	DMF	N,N-二甲基甲醯胺	EDC	1-乙基-3-(3-二甲基胺基丙基)碳二亞胺
min	分鐘	EtOAc	乙酸乙酯	ESI或ES	電噴霧電離
mg	毫克	LC	液相層析	HPLC	高效液相層析
mL	毫升	mmol	毫莫耳	LCMS	液相層析質譜法
µg	微克	µmol	微莫耳	MS	質譜法
µL	微升	MeOH	甲醇	NHS	N-羥基琥珀醯亞胺酯
Sat 或 sat'd	飽和	RT或rt	室溫(環境, 約 25°C)	NMR	核磁共振光譜
THF	四氫呋喃	TEA	三乙胺(Et ₃ N)	RPHPLC 或 RP-HPLC	逆相高效液相層析

A. N-(2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)乙基)-11-(3-((((*S*)-8-甲氧基-6-側氧基-11,12,12*a*,13-四氫-6*H*-苯并[5,6][1,4]二氮吡并[1,2-*a*]吡啶-9-基)氧基)甲基)-5-((((*S*)-8-甲氧基-6-側氧基-12*a*,13-二氫-6*H*-苯并[5,6][1,4]二氮吡并[1,2-*a*]吡啶-9-基)氧基)甲基)苯基)-13,13-二甲基-2,5,8-三氧雜-14,15-二硫雜-11-氮雜十九烷-19-醯胺，化合物**D6**之合成

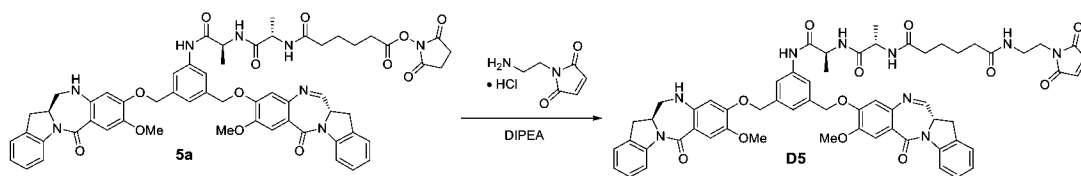


【0313】 向游離硫醇**6a** (40 mg, 0.042 mmol)及NHS 4-(2-吡啶基二硫代)丁酸酯(35 mg, 80%純度, 0.085 mmol)於無水二氯甲烷(0.5 mL)中之溶液添加無水二異丙基乙胺(0.015 mL, 0.085 mmol)且在室溫下攪拌16小時。將反應混合物用飽和氯化銨淬滅且用二氯甲烷稀釋。將所獲得混合物在分液漏斗中分離。將有機層用鹽水洗滌, 經無水硫酸鈉乾燥, 過濾且在減壓下汽提。將殘餘物藉由半製備型逆相HPLC (C18管柱, CH₃CN/H₂O)純化。將包含純產物之級分合併, 冷凍且凍幹以得到所需NHS酯, **6b** (29.7 mg, 60%產率)。LCMS = 9.1分鐘(15分鐘方法)。MS (m/z): 1157.3 (M + 1)⁺。



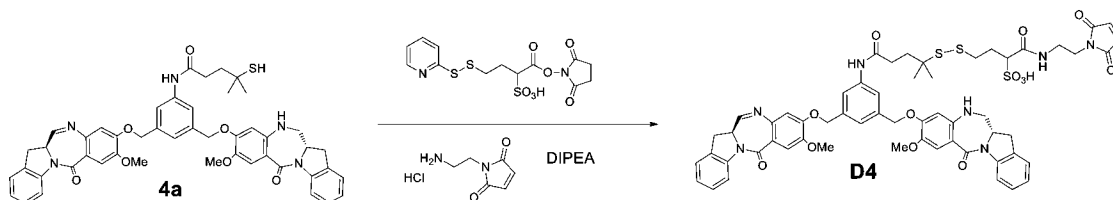
【0314】 向NHS酯, **6b** (12.3 mg, 0.011 mmol)及N-(2-胺基乙基)順丁烯二醯亞胺鹽酸鹽(2.0 mg, 0.011 mmol)於無水二氯甲烷(0.3 mL)中之溶液添加DIPEA (0.0022 mL, 0.013 mmol)。將混合物在室溫下攪拌3小時, 然後將其在減壓下汽提。將殘餘物藉由半製備型逆相HPLC (C18管柱, CH₃CN/H₂O)純化。將包含純產物之級分合併, 冷凍且凍幹以得到所需順丁烯二醯亞胺, 化合物**D6** (10 mg, 80%產率)。LCMS = 8.3分鐘(15分鐘方法)。MS (m/z): 1181.8 (M + 1)⁺。

B. *N1*-(2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)乙基)-*N6*-(((*S*)-1-(((*S*)-1-((3-(((*S*)-8-甲氧基-6-側氧基-11,12,12*a*,13-四氫-6*H*-苯并[5,6][1,4]二氮吡并[1,2-*a*]呋啉-9-基)氧基)甲基)-5-(((*S*)-8-甲氧基-6-側氧基-12*a*,13-二氫-6*H*-苯并[5,6][1,4]二氮吡并[1,2-*a*]呋啉-9-基)氧基)甲基)苯基)胺基)-1-側氧基丙-2-基)胺基)-1-側氧基丙-2-基)己二醯胺, 化合物**D5**之合成



【0315】 將NHS酯**5a** (8.2 mg, 7.6 μmol)及1-(2-胺基乙基)-1H-吡咯-2,5-二酮鹽酸鹽(2.2 mg, 0.011 mmol)在室溫下溶解於無水二氯甲烷(305 μL)中。添加DIPEA (2.66 μL , 0.015mmol)且將反應攪拌3.5小時。將反應混合物濃縮且藉由RPHPLC (C18管柱, $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$, 梯度, 35%至55%)純化。將所需產物級分冷凍且凍幹以得到順丁烯二醯亞胺, 呈固體白色粉末之化合物**D5** (5.3 mg, 58%產率)。LCMS = 5.11分鐘(8分鐘方法)。MS (m/z): 1100.6 ($M + 1$)⁺。

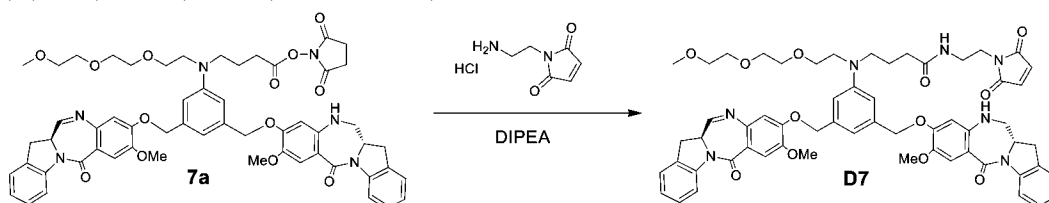
C. 1-((2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)乙基)胺基)-4-(((5-((3-(((S)-8-甲氧基-6-側氧基-11,12,12a,13-四氫-6H-苯并[5,6][1,4]二氮吡并[1,2-a]吡啉-9-基)氧基)甲基)-5-(((S)-8-甲氧基-6-側氧基-12a,13-二氫-6H-苯并[5,6][1,4]二氮吡并[1,2-a]吡啉-9-基)氧基)甲基)苯基)胺基)-2-甲基-5-側氧基戊-2-基)二硫基)-1-側氧基丁烷-2-磺酸, 化合物**D4**之合成



【0316】 在氮下在室溫下向游離硫醇, **4a** (88 mg, 0.105 mmol)及1-((2,5-二側氧基吡咯啉-1-基)氧基)-1-側氧基-4-(吡啶-2-基二硫基)丁烷-2-磺酸(64.0 mg, 0.158 mmol)於無水二氯甲烷(2.10 mL)中之懸浮液添加DIPEA (55.0 μL , 0.315 mmol)。將混合物攪拌16小時且然後添加1-(2-胺基乙基)-1H-吡咯-2,5-二酮鹽酸鹽 (55.6 mg, 0.315 mmol)、無水二氯甲烷(1.0 mL)及DIPEA (0.055 mL, 0.315 mmol)。將混合物在室溫下攪拌另外5小時, 在其之後在真空中濃縮反應。將所得殘餘物藉由RP-HPLC (C18管柱, $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$)純化。將含有所需產物之級分冷凍且凍幹以得到順丁烯二醯亞胺, 呈白色固體之化合物**D4** (20 mg, 16%產率)。LCMS =

4.92分鐘(8分鐘方法)。MS (m/z): 1158.6 (M + 1)⁺。

D. *N*-(2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)乙基)-11-(3-(((*S*)-8-甲氧基-6-側氧基-11,12,12*a*,13-四氫-6*H*-苯并[5,6][1,4]二氮吡并[1,2-*a*]呔-9-基)氧基)甲基)-5-(((*S*)-8-甲氧基-6-側氧基-12*a*,13-二氫-6*H*-苯并[5,6][1,4]二氮吡并[1,2-*a*]呔-9-基)氧基)甲基)苯基)-2,5,8-三氧雜-11-氮雜十五烷-15-醯胺，化合物**D7**之合成



【0317】 在氮下向NHS酯，7a (5 mg, 4.82 μ mol)及1-(2-胺基乙基)-1*H*-吡咯-2,5-二酮鹽酸鹽(1.7 mg, 9.64 μ mol)於無水二氯甲烷(200 μ L)中之溶液添加DIPEA (1.512 μ L, 8.68 μ mol)。將混合物在室溫下攪拌4小時且然後在真空中濃縮。將所得殘餘物藉由RP-HPLC (C18管柱，CH₃CN/H₂O)純化。將含有所需產物之級分冷凍且凍幹以得到順丁烯二醯亞胺，化合物**D7** (3.5 mg, 68%產率)。LCMS = 4.61分鐘(15分鐘方法)。MS (m/z): 1062.8 (M + 1)⁺。

實例2. 抗體結合至示範性連接子-效應物試劑

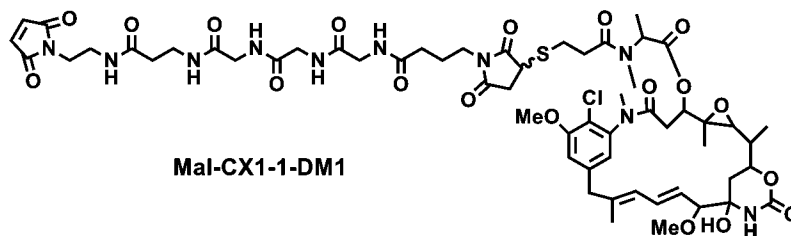
抗體試劑

【0318】 使用標準分子選殖程式，將編碼先前描述之人類化MOV19抗體(huMOV19，美國專利第8,557,966號，以引用之方式併入)之重鏈之表現載體誘變以使得所表現蛋白質包含在重鏈CH3結構域之EU/OU編號位置442處之半胱胺酸殘基。使用人類IgG1抗體之現有程式，在哺乳動物細胞中表現huMOV19-HC-C442 IgG1變異體(或簡稱huMOV19-C442)且自哺乳動物細胞純化。類似程式用於選殖、表現且純化攜帶相同半胱胺酸442突變(例如，huCD123-6Gv1.1-C442及huCD123-6Gv4.7-C442)之huCD123-6G抗體之複數個變異體。此等huCD123-6抗體詳細描述於2015年6月29日提交、標題為「ANTI-CD123 ANTIBODIES AND CONJUGATES AND DERIVATIVES THEREOF」之美國臨時申請案第62/186,161

號中，該申請案之全部內容(包括所有蛋白質及核酸序列及圖式)以引用之方式併入本文。

A. *huMOV19-C442-Mal-CX1-1-DM1*

【0319】 使用標準蛋白質化學程式製備攜帶呈還原狀態之兩個不成對半胱氨酸殘基(在重鏈CH3區之C442位置處)之*huMOV19-C442*抗體。向此中間體於磷酸鹽緩衝鹽水(PBS)、5 mM *N,N,N',N'*-乙二胺四乙酸(EDTA) pH 6.0中之溶液添加 *N,N*-二甲基乙醯胺(DMA)及8莫耳當量之 *Mal-CX1-1-DM1* (參見 WO 2014/134486)作為DMA中之儲備溶液以得到具有於PBS 5 mM EDTA pH 6.0中之10% v/v DMA之最終溶劑組成的反應混合物。使反應在25°C下隔夜進行。



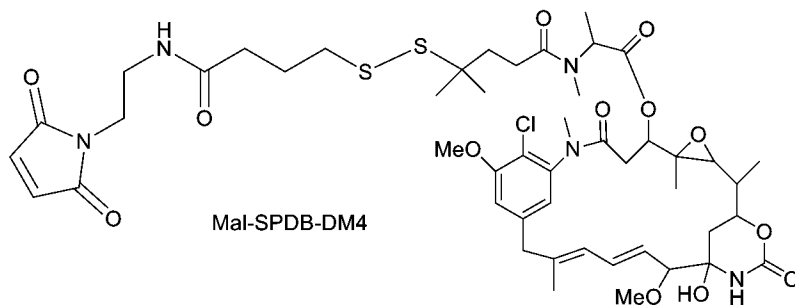
【0320】 在以上所示C442殘基之游離硫醇基與*Mal-CX1-1-DM1*之順丁烯二醯亞胺基(Mal)基團之間共價鍵形成之後，使用Sephadex G25脫鹽柱將結合物純化至10 mM琥珀酸酯、250 mM甘氨酸、0.5%蔗糖、0.01% Tween-20 pH 5.5調配物緩衝液中，藉由穿過具有10 kDa分子量截斷值之膜超濾而濃縮，且經由0.22 μ m注射篩檢程式過濾。然後將結合物相對於同一緩衝液使用具有10 kDa分子量截斷值之膜透析。

【0321】 該結合物據發現藉由UV-Vis具有平均2 mol DM1/mol抗體；藉由SEC具有99.3%單體；且藉由HISEP管柱上之HPLC該結合物不具有可偵測之未結合之DM1。去糖基化結合物之LC-MS在圖1A中示出。

B. *huMOV19-C442-Mal-SPDB-DM4*

【0322】 使用標準程式製備攜帶呈還原狀態之兩個不成對半胱氨酸殘基(在重鏈CH3區之C442位置處)之*huMOV19*抗體。向此中間體於磷酸鹽緩衝鹽水

(PBS)、5 mM *N,N,N',N'*-乙二胺四乙酸(EDTA) pH 6.0中之溶液添加 *N,N*-二甲基乙醯胺(DMA)及6莫耳當量之Mal-SPDB-DM4 (參見WO 2014/134483)作為DMA中之儲備溶液以得到具有於PBS 5 mM EDTA pH 6.0中之10% v/v DMA之最終溶劑組成的反應混合物。使反應在25°C下隔夜進行。



【0323】 使用Sephadex G25脫鹽柱將結合物純化至10 mM琥珀酸酯、250 mM甘胺酸、0.5%蔗糖、0.01% Tween-20 pH 5.5調配物緩衝液中，藉由穿過具有10 kDa分子量截斷值之膜超濾而濃縮，且經由0.22 μm注射篩檢程式過濾。然後將結合物相對於同一緩衝液使用具有10 kDa分子量截斷值之膜透析。

【0324】 該結合物據發現藉由UV-Vis具有2 mol DM4/mol抗體；藉由SEC具有99.5%單體；且藉由HISEP管柱上之HPLC具有0.8%未結合之DM4。去糖基化結合物之LC-MS在圖1B中示出。

C. *huMOV19-C442-D5*

【0325】 使用標準程式製備攜帶呈還原狀態之兩個不成對半胱胺酸殘基(在重鏈CH3區之C442位置處)之*huMOV19*抗體。向此中間體於磷酸鹽緩衝鹽水(PBS)、5 mM *N,N,N',N'*-乙二胺四乙酸(EDTA) pH 6.0中之溶液添加 *N,N*-二甲基乙醯胺(DMA)、丙二醇及8莫耳當量之化合物D5作為DMA中之儲備溶液以得到具有於PBS 5 mM EDTA pH 6.0中之2% v/v DMA及38% v/v丙二醇之最終溶劑組成的反應混合物。使反應在25°C下進行24小時。

【0326】 使用Sephadex G25脫鹽柱將結合物純化至20 mM組胺酸、50 mM氯化鈉、8.5%蔗糖、0.01% Tween-20、50 μM亞硫酸氫鈉pH 6.2調配物緩衝液中，

藉由穿過具有10 kDa分子量截斷值之膜超濾而濃縮，且經由0.22 μ m注射篩檢程式過濾。然後將結合物相對於同一緩衝液使用具有10 kDa分子量截斷值之膜透析。

【0327】 該結合物據發現藉由UV-Vis具有平均2 mol D5/mol抗體；藉由SEC具有94.6%單體；且藉由SEC/逆相HPLC具有0.8%未結合之D5。去糖基化結合物之LC-MS在圖1C中示出。

D. huMOV19-C442-D4

【0328】 使用標準程式製備攜帶呈還原狀態之兩個不成對半胱胺酸殘基(在重鏈CH3區之C442位置處)之huMOV19抗體。向此中間體於磷酸鹽緩衝鹽水(PBS)、5 mM *N,N,N',N'*-乙二胺四乙酸(EDTA) pH 6.0中之溶液添加 *N,N*-二甲基乙醯胺(DMA)、丙二醇及6莫耳當量之D4作為DMA中之儲備溶液以得到具有於PBS 5 mM EDTA pH 6.0中之2% v/v DMA及38% v/v丙二醇之最終溶劑組成的反應混合物。使反應在25°C下進行24小時。

【0329】 使用Sephadex G25脫鹽柱將結合物純化至20 mM組胺酸、50 mM氯化鈉、8.5%蔗糖、0.01% Tween-20、50 μ M亞硫酸氫鈉pH 6.2調配物緩衝液中，藉由穿過具有10 kDa分子量截斷值之膜超濾而濃縮，且經由0.22 μ m注射篩檢程式過濾。然後將結合物相對於同一緩衝液使用具有10 kDa分子量截斷值之膜透析。

【0330】 該結合物據發現藉由UV-Vis具有平均2 mol D4/mol抗體；藉由SEC具有92.1%單體；且藉由SEC/逆相HPLC具有0.3%未結合之D4。去糖基化抗體之LC-MS在圖1D中示出。

E. huCD123-6Gv1.1S2-C442-D7

【0331】 使用標準程式製備攜帶呈還原狀態之兩個不成對半胱胺酸殘基(在重鏈CH3區之C442位置處)(及重鏈上之工程改造N末端Ser)之huCD123抗體。

向此中間體於磷酸鹽緩衝鹽水(PBS)、5 mM *N,N,N',N'*-乙二胺四乙酸(EDTA) pH 6.0中之溶液添加 *N,N*-二甲基乙醯胺(DMA)、丙二醇及10莫耳當量之化合物D7作為DMA中之儲備溶液以得到具有於PBS 5 mM EDTA pH 6.0中之2% v/v DMA及38% v/v丙二醇之最終溶劑組成的反應混合物。使反應在25°C下進行24小時。

【0332】 使用Sephadex G25脫鹽柱將結合物純化至20 mM組胺酸、50 mM氯化鈉、8.5%蔗糖、0.01% Tween-20、50 μ M亞硫酸氫鈉pH 6.2調配物緩衝液中，藉由穿過具有10 kDa分子量截斷值之膜超濾而濃縮，且經由0.22 μ m注射篩檢程式過濾。然後將結合物相對於同一緩衝液使用具有10 kDa分子量截斷值之膜透析。

【0333】 該結合物據發現藉由UV-Vis具有2 mol D7/mol抗體；藉由SEC具有97.2%單體；且藉由SEC/逆相HPLC具有1.9%未結合之D7。去糖基化結合物之LC-MS在圖1E中示出。

F. huCD123-6Gv4.7-C442-D5/ huCD123-6Gv4.6-C442-D5

【0334】 使用標準程式製備攜帶呈還原狀態之兩個不成對半胱氨酸殘基之huCD123抗體(huCD123-6Gv4.7-C442或huCD123-6Gv4.6-C442)。兩種huCD123抗體均具有在重鏈CH3區中之EU/OU編號位置442處之工程改造Cys殘基，且僅在自重鏈N-末端之第2殘基處不同(亦即，對於huCD123-6Gv4.7-C442，Val；且對於huCD123-6Gv4.6-C442，Phe)。

【0335】 向此中間體於磷酸鹽緩衝鹽水(PBS)、5 mM *N,N,N',N'*-乙二胺四乙酸(EDTA) pH 6.0中之溶液添加 *N,N*-二甲基乙醯胺(DMA)、丙二醇及10莫耳當量之化合物D5作為DMA中之儲備溶液以得到具有於PBS 5 mM EDTA pH 6.0中之2% v/v DMA及38% v/v丙二醇之最終溶劑組成的反應混合物。使反應在25°C下進行24小時。

【0336】 使用Sephadex G25脫鹽柱將結合物純化至20 mM組胺酸、50 mM

氯化鈉、8.5%蔗糖、0.01% Tween-20、50 μ M亞硫酸氫鈉pH 6.2調配物緩衝液中，藉由穿過具有10 kDa分子量截斷值之膜超濾而濃縮，且經由0.22 μ m注射篩檢程式過濾。然後將結合物相對於同一緩衝液使用具有10 kDa分子量截斷值之膜透析。

【0337】 該結合物據發現藉由UV-Vis具有平均2 mol D5/mol抗體；且藉由SEC具有94.8%單體。去糖基化結合物之LC-MS在圖1F中示出。

G. huCD123-6Gv4.7-C442-D4 / huCD123-6Gv4.6-C442-D4

【0338】 使用標準程式製備攜帶呈還原狀態之兩個不成對半胱氨酸殘基之huCD123抗體(huCD123-6Gv4.7-C442及huCD123-6Gv4.6-C442，參見上文)。

【0339】 向此中間體於磷酸鹽緩衝鹽水(PBS)、5 mM *N,N,N',N'*-乙二胺四乙酸(EDTA) pH 6.0中之溶液添加 *N,N*-二甲基乙醯胺(DMA)、丙二醇及5莫耳當量之化合物D4作為DMA中之儲備溶液以得到具有於PBS 5 mM EDTA pH 6.0中之2% v/v DMA及38% v/v丙二醇之最終溶劑組成的反應混合物。使反應在25°C下進行6小時。

【0340】 使用Sephadex G25脫鹽柱將結合物純化至20 mM組胺酸、50 mM氯化鈉、8.5%蔗糖、0.01% Tween-20、50 μ M亞硫酸氫鈉pH 6.2調配物緩衝液中，藉由穿過具有10 kDa分子量截斷值之膜超濾而濃縮，且經由0.22 μ m注射篩檢程式過濾。然後將結合物相對於同一緩衝液使用具有10 kDa分子量截斷值之膜透析。

【0341】 該結合物據發現藉由UV-Vis具有1.8 mol D4/mol抗體；且藉由SEC具有97.4%單體。去糖基化結合物之LC-MS在圖1G中示出。

【0342】 圖8顯示huCD123-6Gv4.7抗體經由Cys-鍵聯結合至D4及D5化合物僅中度影響該等結合物之結合親和力。

實例3. huCD123-6Rv1.1-C442-D5對表現CD123之細胞的活體外效能

【0343】 使用活體外細胞毒性檢定將huCD123-6Rv1.1-C442-D5殺死在其細胞表面上表現CD123之細胞的能力與含有相同抗體及有效負載之離胺酸連接之結合物(huCD123-6Rv1.1-D2)相比較。

【0344】 對於嵌合抗CD123抗體(chCD123)，將鼠類CD123抗體之經證實可變區胺基酸序列密碼子優化，合成且藉由Blue Heron生物技術與人類抗體恆定區框內選殖以分別使用用於重鏈及輕鏈之人類IgG1及κ恆定序列構建CD123抗體之嵌合型式。

【0345】 將細胞系在如由細胞供應商(ATCC或DSMZ)所建議之培養基中培養。將於100 μL培養基中之2,000至10,000個細胞添加至平底96孔板之各孔。為阻斷細胞表面上之Fc受體，將培養基補充100 nM chKTI抗體(相同同型之抗體)。使用3倍稀釋系列將結合物稀釋到培養基中，且每孔添加100 μL。為測定CD123非依賴性細胞毒性之促成作用，在添加測試結合物之前將CD123阻斷抗體 - 100 nM之chCD123-6抗體 - 添加至一些孔。含有細胞及培養基但缺乏結合物、以及僅含培養基之陰性對照孔包括在各檢定板中。對於各資料點一式三份進行檢定。將板在37°C下在加濕6% CO₂培育箱中培育4至7天。然後使用基於WST-8之細胞計數套組-8 (Dojindo Molecular Technologies, Inc., Rockville, MD)測定各孔中活細胞之相對數目。藉由首先針對培養基背景吸光度進行校正且然後將各值除以對照孔(未處理細胞)中之值的平均值來計算各孔中表觀細胞存活分率。將細胞存活分率針對半對數曲線中之結合物濃度繪圖。

【0346】 資料顯示對多種細胞系huCD123-6Rv1.1-C442-D5結合物至少與離胺酸連接之huCD123-6Rv1.1-D2結合物一樣活性。使用AML細胞系EOL-1、B-ALL細胞系KOPN-8及CML細胞系MOLM-1之細胞毒性檢定之若干實例在圖2中示出。

【0347】 兩種結合物均以劑量依賴性方式殺死細胞，其中對於EOL-1細

胞、KOPN-8細胞及MOLM-1細胞IC₅₀值分別為大約0.002 nM、0.005 nM及0.02 nM。殺死為CD123依賴性的，因為當CD123抗原由未結合之chCD123-6抗體阻斷時該等結合物對該等細胞之毒性至少低100倍。

實例3a huCD123-6Rv1.1-C442-D5'對表現CD123之細胞的活體外效能

【0348】 根據實例2中描述之類似程式製備D5'之huCD123結合物(一種DNA交聯劑)。針對各種AML祖細胞測試所得結合物之活體外效能。中值IC₅₀值在皮莫耳範圍內。

實例4. huMOV19-C442結合物對FR α 細胞系之活體外效能

【0349】 使用活體外細胞毒性檢定將huMOV19-C442-D5及huMOV19-C442-D4殺死在其細胞表面上表現葉酸受體 α (FR α)之細胞的能力與含有相同抗體及有效負載之離胺酸連接之結合物(huMOV19-D2及huMOV19-磺基-SPDB-D1)相比較。將細胞系在如由細胞供應商(ATCC或DSMZ)所建議之培養基中培養。向平底96孔板之各孔添加於100 μ L培養基中之1,000-2,000個細胞。使用3倍稀釋系列將結合物稀釋到培養基中，且每孔添加100 μ L。為測定FR α 非依賴性細胞毒性之促成作用，在添加結合物之前(「阻斷」或「+B」)將一些孔中之細胞與2 μ M huMOV19抗體一起培育。含有細胞及培養基但缺乏結合物、以及僅含培養基之對照孔包括在各檢定板中。對於各資料點一式三份進行檢定。將板在37°C下在加濕6% CO₂培育箱中培育5至6天。然後使用根據製造商方案(Life Technologies)之阿爾瑪藍試劑抑或基於WST-8之細胞計數套組-8 (Dojindo Molecular Technologies, Inc., Rockville, MD)來測定各孔中活細胞之相對數目。藉由首先針對培養基背景吸光度進行校正且然後將各值除以對照孔(未處理細胞)中之值的平均值來計算各孔中表觀細胞存活分率。將細胞存活分率針對半對數曲線中之結合物濃度繪圖。

【0350】 對多種細胞系，Cys連接之huMOV19-C442-D5結合物至少與Lys

連接之huMOV19-D2結合物一樣活性。使用子宮頸癌KB細胞系及轉移性乳腺癌T47D細胞系之細胞毒性檢定之兩個實例在圖3A及3B中示出。兩種結合物均以劑量依賴性方式殺死細胞，其中對於KB IC₅₀值為大約0.007-0.01 nM，且對於T47D 0.01-0.02 nM (基於莫耳抗體)。殺死為FR α 依賴性的，因為當FR α 抗原由未結合之huMOV19抗體阻斷時該等結合物對該等細胞之毒性至少低100倍。

【0351】 類似地，將huMOV19-C442-D4結合物在KB細胞上進行測試且發現至少與離胺酸連接之huMOV19-磺基-SPDB-D1結合物一樣活性。示範性細胞毒性檢定在圖3C中示出。兩種結合物均以劑量依賴性方式殺死細胞，其中IC₅₀值大約為0.009-0.01 nM。殺死為FR α 依賴性的，因為當FR α 抗原由未結合之huMOV19抗體阻斷時該等結合物對該等細胞之毒性至少低100倍。

實例5. 旁觀者活性

【0352】 將約50 μ L/孔之結合物(Cys連接之huMOV19-C442-D5結合物或Lys 連接之 huMOV19-D2 結合物)各自在補充有熱滅活 10% FBS (Life Technologies)、0.1 mg/mL健他黴素(Life Technologies)及 β ME (Life Technologies)之RPMI-1640 (Life Technologies)中在96孔板(Falcon，圓底)中以 1×10^{-10} M及 4×10^{-10} M濃度一式六份稀釋。將表現重組FOLR1(FR1#14)或無表現載體(親本)之300.19細胞(小鼠)兩者在血球計上計數。將50 μ L/mL之1000 FR1#14細胞/孔添加至含有結合物或僅培養基之孔，將50 μ L/mL之2000親本細胞/孔添加至含有結合物或僅培養基之孔，且將FR1#14及親本細胞兩者一起添加至含有結合物或僅培養基之孔。將所有板在具有5% CO₂之37°C培育箱中培育4天。總體積為150 μ L/孔。在培育之後，藉由添加75 μ L/孔細胞Cell Titer Glo (Promega)且使其顯影30分鐘來分析細胞活力。在光度計上讀取發光且自所有值減去含有僅培養基之孔中之背景。使用Graph Pad Prism繪製各細胞處理之平均值之柱狀圖。

【0353】 如在圖4A及4B中所示，Cys連接之huMOV19-C442-D5結合物及

Lys連接之huMOV19-D2結合物顯示鄰近抗原陰性細胞之有效旁觀者殺傷。

實例6. huMOV19-C442-D5於NCI-H2110小鼠異種移植模型中之活體內功效

【0354】 在所建立之非小細胞肺癌(NSCLC)之皮下異種移植模型中評估huMOV19-C442-D5的抗腫瘤活性。

【0355】 將SCID小鼠(24只動物)用皮下注射至小鼠右側腹中之NCI-H2110人NSCLC細胞(1×10^7 個細胞/動物)接種。當腫瘤達到約100 mm³大小時(在腫瘤細胞接種後6天)，將小鼠各自基於重量體積隨機分成6只動物之處理組，且根據下表用單次靜脈內注射各自兩個劑量之huMOV19-D2或huMOV19-C442-D5處理。

- 1. 媒劑對照
- 2. huMOV19-D2 (Lys-連接之) 2.7 µg/kg靜脈內，單次
- 3. huMOV19-D2 (Lys-連接之) 8.9 µg/kg靜脈內，單次
- 4. huMOV19-C442-D5 2.6 µg/kg靜脈內，單次
- 5. huMOV19-C442-D5 8.7 µg/kg靜脈內，單次

【0356】 基於D2或D5濃度給予劑量。在較高劑量下，所有ADC皆針對NCI-H2110異種移植高度活性至相同程度(平均T/C = 1%-2%，第22天)，在6/6動物中具有完全消退。在較低劑量下，兩者ADC均活性至類似程度，其中huMOV19-D2產生平均T/C = 32% (第22天)，且huMOV19-C442-D5產生平均T/C = 39% (第22天)。

【0357】 參見以下表中總結之結果。亦參見圖5。

組		%T/C (第22天)	消退		結果
			PR	CR	
A	媒劑	-	-	-	-
B	huMOV19-D2，2.7 µg/kg	32%	0/6	0/6	活性
C	huMOV19-D2，8.9 µg/kg	1%	6/6	6/6	高度活性
D	huMOV19-C442-D5，2.6 µg/kg	39%	0/6	0/6	活性
E	huMOV19-C442-D5，8.7 µg/kg	2%	6/6	6/6	高度活性

【0358】 該等結果證明獨立於結合物類型或結合位點，所測試之所有結合物在NCI-H2110 NSCLC異種移植物模型中皆為類似活性的。

實例7. 小鼠中 huMOV19-C442-D5之藥物動力學

【0359】 在雌性CD1小鼠中評估huMOV19-C442-D5之藥物動力學。大約7週齡之雌性CD1小鼠(9只動物)接受2.5 mg/kg huMOV19-C442-D5之單次靜脈內注射。然後在以下時間點自眶後竇收集血液：第2及30分鐘；第2、4及8小時；第1、2、3、5、7、10、14、21及28天。以旋轉方式收集樣品，其中每時間點 $n = 3$ 只動物，且在24小時內動物採樣不超過兩次。將血液樣品離心且將血漿傾析至聚丙烯管中，然後在-80°C下儲存直至分析。

【0360】 使用塗覆有用於捕獲之山羊抗人類IgG及用於偵測之連接至辣根過氧化物酶之抗人類IgG Fc之板用ELISA檢定測定huMOV19抗體之血漿濃度。該檢定之定量限為1.6 ng/mL。使用塗覆有抗吡啶并苯并二氮呋喃化合物抗體之板用ELISA檢定測定連接至人類IgG之D5之血漿濃度，且使用如用於上述抗體檢定之相同抗人類IgG Fc/辣根過氧化物酶試劑偵測。此檢定之LOQ為1.0 ng/mL。對於各時間點，報導來自三種個別動物樣品中之每種之平均血漿濃度。

【0361】 如圖6中所示，該結合物具有與未結合抗體類似之藥物動力學概況。

實例8. 單次劑量huMOV19-C442-D5在雌性CD-1小鼠中之急性耐受性

【0362】 7週齡雌性CD-1小鼠接收自查爾斯河實驗室。將小鼠在到達之後在研究開始之前圈養至少7天之馴化週期。使用2只小鼠/組，基於D5濃度在175 µg/kg(圖7A)或218 µg/kg(圖7B) huMOV19-C442-D5劑量下進行先導耐受性實驗，以便測定完全MTD研究之適當劑量。

【0363】 對於MTD研究，將動物基於體重隨機分成組($n=8$)。小鼠接受單次靜脈內投與媒劑對照(0.1 mL/小鼠)或基於D5濃度153、175或218 µg/kg

huMOV19-C442-D5。用配備有27號½吋針之1.0 mL注射器靜脈內進行藥物之投與。每日量測體重持續至少一周，且然後每週至少兩次持續實驗剩餘部分。小鼠之體重(BW)如下表示為自處理前體重體重之變化百分比：

$$BW\text{變化}\% = [(BW_{\text{後}} / BW_{\text{前}}) - 1] \times 100$$

其中「BW後」為處理後之重量，且「BW前」為在處理之前之起始體重。

【0364】 最低之體重損失(BWL)百分比表示為處理後體重之平均變化。若在研究中之任一點體重下降超過初始之20%，則殺死動物(1)。若(2)一或兩個後肢麻痺或若(3)動物太不適以致不能到達食物及水，亦殺死小鼠。

【0365】 下表為MTD研究處理組、給藥/時程及用huMOV19-C442-D5靜脈內處理之雌性CD-1小鼠之最低體重損失百分比。

組	試劑	途徑	總劑量 (μg/kg)	劑量時 程	平均注射 體積(mL)	處理天 數	藥物死 亡(死亡 日)	最低 體重 損失 平均 值 %	結果
A	媒劑	靜脈內	-	qd x1	0.1	第0天	0/8	-	-
B	huMOV19-C442-D5	靜脈內	153	qd x1	0.099	第0天	0/8	1.83	可耐 受
C	huMOV19-C442-D5	靜脈內	175	qd x1	0.115	第0天	1/8 (d11)	7.11	MT D
D	huMOV19-C442-D5	靜脈內	218	qd x1	0.142	第0天	4/8 (d10-13)	10.32	不可 耐受

【符號說明】

無

【序列表】

<110> 美商免疫原公司（ImmunoGen, Inc.）

<120> 半胱胺酸工程改造抗體之結合物

<150> US 62/338, 245

<151> 2016-05-18

<150> US 62/186, 254

<151> 2015-06-29

<160> 16

<170> PatentIn 3.5 版

<210> 1

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> 合成肽

<400> 1

Gly Tyr Phe Met Asn

1 5

<210> 2

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> 合成肽

<220>

<221> Xaa

<222> (14)..(14)

<223> Lys、Gln、His 或 Arg

<220>
<221> Xaa
<222> (16)..(16)
<223> Gln、His、Asn 或 Arg

<220>
<221> Xaa
<222> (17)..(17)
<223> Gly、Glu、Thr、Ser、Ala 或 Val

<400> 2

Arg Ile His Pro Tyr Asp Gly Asp Thr Phe Tyr Asn Gln Xaa Phe Xaa
1 5 10 15

Xaa

<210> 3
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成肽

<400> 3

Tyr Asp Gly Ser Arg Ala Met Asp Tyr
1 5

<210> 4
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成肽

<400> 4

Lys Ala Ser Gln Ser Val Ser Phe Ala Gly Thr Ser Leu Met His
1 5 10 15

<210> 5
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成肽

<400> 5

Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ala
1 5

<210> 6
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成肽

<400> 6

Gln Gln Ser Arg Glu Tyr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 7
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成肽

<400> 7

Arg Ile His Pro Tyr Asp Gly Asp Thr Phe Tyr Asn Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 8
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成肽

<400> 8

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

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

Phe Met Asn Trp Val Lys Gln Ser Pro Gly Gln Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Arg Ile His Pro Tyr Asp Gly Asp Thr Phe Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Asn Thr Ala His
65 70 75 80

Met Glu Leu Leu Ser Leu Thr Ser Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Arg Tyr Asp Gly Ser Arg Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro
115				120				125							
Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly
130				135				140							
Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn
145				150				155				160			
Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln
				165				170				175			
Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser
				180				185				190			
Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser
				195				200				205			
Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr
210				215				220							
His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser
225				230				235				240			
Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg
				245				250				255			
Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro
				260				265				270			
Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala
				275				280				285			

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
290 295 300

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
305 310 315 320

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
325 330 335

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
340 345 350

Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
355 360 365

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
370 375 380

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
385 390 395 400

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
405 410 415

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
420 425 430

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Cys Leu Ser Pro Gly
435 440 445

- <210> 9
- <211> 218
- <212> PRT
- <213> 人工

<220>
<223> 合成肽

<400> 9

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

Gln Pro Ala Ile Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Ser Phe Ala
20 25 30

Gly Thr Ser Leu Met His Trp Tyr His Gln Lys Pro Gly Gln Gln Pro
35 40 45

Arg Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ala Gly Val Pro Asp
50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Lys Thr Asp Phe Thr Leu Asn Ile Ser
65 70 75 80

Pro Val Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Arg
85 90 95

Glu Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
100 105 110

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
115 120 125

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
130 135 140

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
145 150 155 160

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
165 170 175

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
180 185 190

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
195 200 205

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 10
<211> 218
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成肽

<400> 10

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

Gln Pro Ala Ile Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Ser Phe Ala
20 25 30

Gly Thr Ser Leu Met His Trp Tyr His Gln Lys Pro Gly Gln Gln Pro
35 40 45

Arg Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ala Gly Val Pro Asp
50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Lys Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
65 70 75 80

Pro Val Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Arg
85 90 95

Glu Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
100 105 110

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
115 120 125

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
130 135 140

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
145 150 155 160

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
165 170 175

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
180 185 190

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
195 200 205

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

- <210> 11
- <211> 118
- <212> PRT
- <213> 人工

<220>
<223> 合成肽

<400> 11

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

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

Phe Met Asn Trp Val Lys Gln Ser Pro Gly Gln Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Arg Ile His Pro Tyr Asp Gly Asp Thr Phe Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Asn Thr Ala His
65 70 75 80

Met Glu Leu Leu Ser Leu Thr Ser Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Arg Tyr Asp Gly Ser Arg Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 12
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工

<220>

<223> 合成肽

<400> 12

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

Gln Pro Ala Ile Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Ser Phe Ala
20 25 30

Gly Thr Ser Leu Met His Trp Tyr His Gln Lys Pro Gly Gln Gln Pro
35 40 45

Arg Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ala Gly Val Pro Asp
50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Lys Thr Asp Phe Thr Leu Asn Ile Ser
65 70 75 80

Pro Val Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Arg
85 90 95

Glu Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
100 105 110

<210> 13

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> 合成肽

<400> 13

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

Gln Pro Ala Ile Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Ser Phe Ala
20 25 30

Gly Thr Ser Leu Met His Trp Tyr His Gln Lys Pro Gly Gln Gln Pro
35 40 45

Arg Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ala Gly Val Pro Asp
50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Lys Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
65 70 75 80

Pro Val Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Arg
85 90 95

Glu Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
100 105 110

<210> 14
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成肽

<400> 14

Ala Leu Ala Leu
1

<210> 15
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成肽

<220>
<221> Xaa
<222> (1).. (1)
<223> β -Ala

<400> 15

Xaa Leu Ala Leu
1

<210> 16
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工

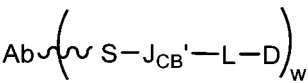
<220>
<223> 合成肽

<400> 16

Gly Phe Leu Gly
1

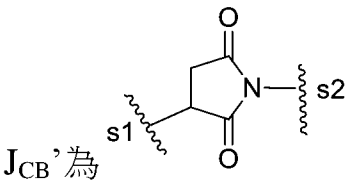
【發明申請專利範圍】

【請求項1】一種抗體-細胞毒性劑結合物，其由下式表示：



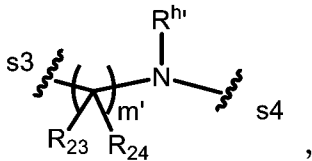
或其醫藥學上可接受之鹽，其中：

Ab為具有半胱胺酸殘基之抗體，且經由該半胱胺酸殘基之硫醇基共價連接於連接部分J_{CB'}；



且s2為共價連接於該基團L之位點；

-L-由以下結構式表示：



其中：

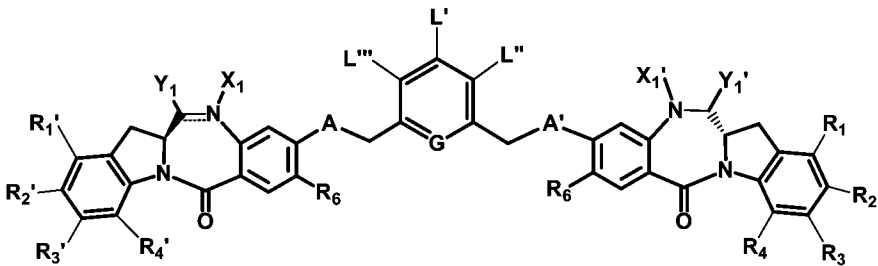
s3為共價連接於J_{CB'}之位點，且s4為共價連接於D之位點；

R₂₃及R₂₄為H；

m'為1與6之間之整數；且

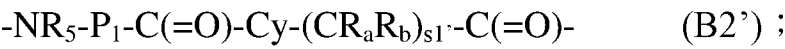
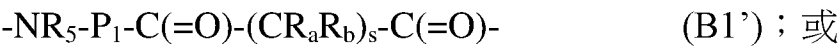
R^h為H；

D為共價連接於連接基L之細胞毒性劑，該連接基共價連接於J_{CB'}，其中D由以下式表示：



其中：

L''及L'''皆為H；且L'由下式表示：



R₅為-H或具有1至10個碳原子之直鏈或分支烷基；

P₁為含有2至10個胺基酸殘基之肽；

R_a及R_b在每次出現時各自獨立地為-H、(C₁-C₃)烷基或基團Q，該基團Q為-SO₃H或其醫藥學上可接受之鹽；

s為1至6之整數；

s1'為0或1至6之整數；且

Cy為具有5或6個環碳原子之環狀烷基，該環狀烷基視情況經鹵素、-OH、(C₁-C₃)烷基、(C₁-C₃)烷氧基或鹵(C₁-C₃)烷基取代；

G為-CH-；

N與C之間之雙線==表示單鍵或雙鍵，其限制條件為當其為雙鍵時，X₁不存在且Y₁為-H，而當其為單鍵時，X₁為-H且Y₁為-OH或-SO₃M；

R₁、R₂、R₃、R₄、R₁'、R₂'、R₃'及R₄'皆為-H；

R₆為-OMe；

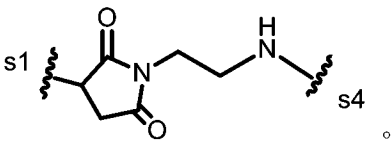
X₁'和Y₁'皆為-H；

A及A'為-O-；且

M為H⁺、Na⁺或K⁺；且

w為1或2。

【請求項2】如申請專利範圍第1項之結合物，其中-J_{CB}'-L-由以下結構式表示：



【請求項3】如申請專利範圍第1項之結合物，其中 R_a 和 R_b 皆為H；在式(B2')中的Cy為環己烷；且 R_5 為H或Me。

【請求項4】如申請專利範圍第1項之結合物，其中 $s1'$ 為0或1。

【請求項5】如申請專利範圍第1項之結合物，其中 P_1 為含有2至5個胺基酸殘基之肽。

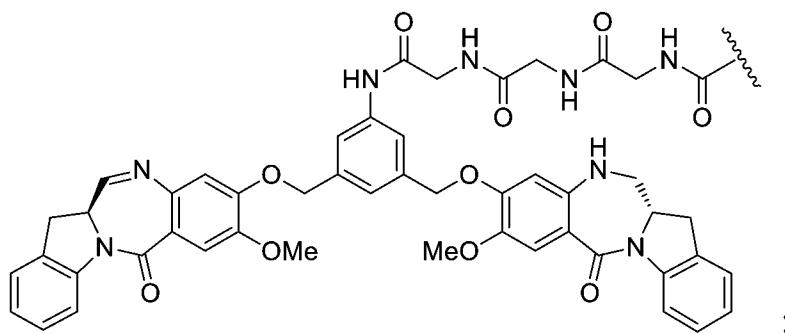
【請求項6】如申請專利範圍第5項之結合物，其中 P_1 為Gly-Gly-Gly、Ala-Val、Val-Ala、Val-Cit、Val-Lys、Phe-Lys、Lys-Lys、Ala-Lys、Phe-Cit、Leu-Cit、Ile-Cit、Trp-Cit、Phe-Ala、Phe- N^9 -甲苯磺醯基-Arg、Phe- N^9 -硝基-Arg、Phe-Phe-Lys、D-Phe-Phe-Lys、Gly-Phe-Lys、Leu-Ala-Leu、Ile-Ala-Leu、Val-Ala-Val、Ala-Leu-Ala-Leu (SEQ ID NO: 14)、 β -Ala-Leu-Ala-Leu (SEQ ID NO: 15)、Gly-Phe-Leu-Gly (SEQ ID NO: 16)、Val-Arg、Arg-Val、Arg-Arg、Val-D-Cit、Val-D-Lys、Val-D-Arg、D-Val-Cit、D-Val-Lys、D-Val-Arg、D-Val-D-Cit、D-Val-D-Lys、D-Val-D-Arg、D-Arg-D-Arg、Ala-Ala、Ala-D-Ala、D-Ala-Ala、D-Ala-D-Ala、Ala-Met或Met-Ala。

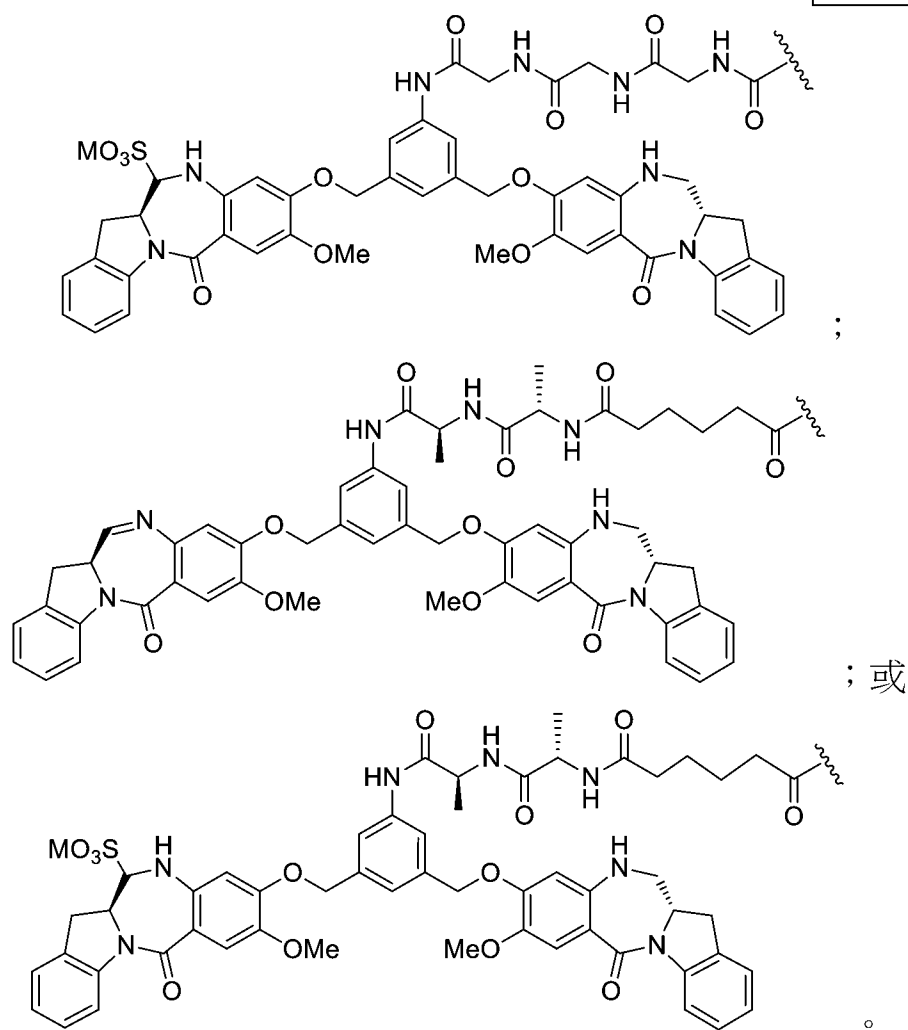
【請求項7】如申請專利範圍第6項之結合物，其中 P_1 為Gly-Gly-Gly、Ala-Val、Ala-Ala、Ala-D-Ala、D-Ala-Ala或D-Ala-D-Ala。

【請求項8】如申請專利範圍第1項之結合物，其中N與C之間的雙線=表示雙鍵。

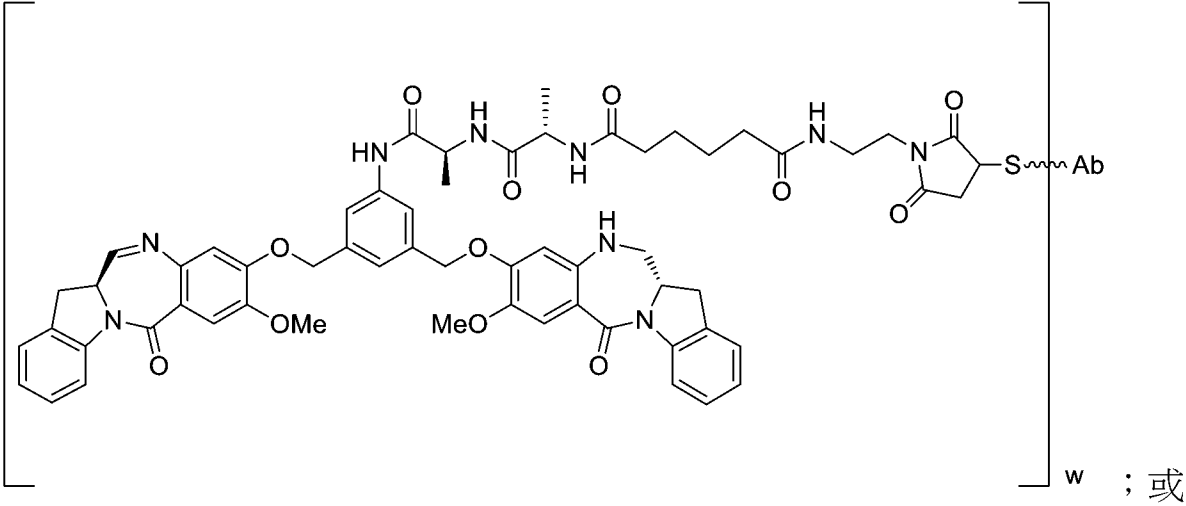
【請求項9】如申請專利範圍第1項之結合物，其中N與C之間的雙線=表示單鍵， X_1 為-H，且 Y_1 為-SO₃M。

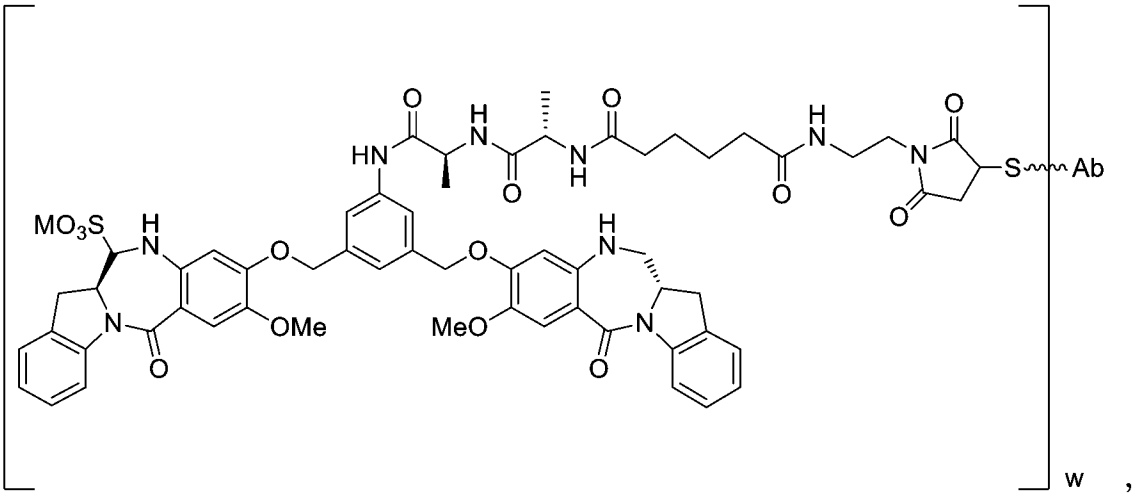
【請求項10】如申請專利範圍第1項之結合物，其中D由以下結構式表示：





【請求項11】如申請專利範圍第1項之結合物，其中該結合物由以下式表示：





或其醫藥學上可接受之鹽，其中M為H⁺、Na⁺或K⁺。

【請求項12】如申請專利範圍第11項之結合物，其中w是2。

【請求項13】一種醫藥組合物，其包含如申請專利範圍第1至12項中的任一項之結合物及醫藥學上可接受之載劑。

【請求項14】一種醫藥組合物，其包含治療有效量之如申請專利範圍第1至12項中的任一項之結合物且視情況與第二治療劑組合以用於治療哺乳動物之癌症的方法中。

【請求項15】如申請專利範圍第14項之醫藥組合物，其中該癌症為血液系統癌症或實體腫瘤。

【請求項16】如申請專利範圍第15項之醫藥組合物，其中該血液系統癌症為白血病或淋巴瘤。

【請求項17】如申請專利範圍第16項之醫藥組合物，其中該血液系統癌症為急性骨髓性白血病(AML)、急性淋巴母細胞性白血病(ALL)、慢性骨髓性白血病(CML)或慢性淋巴細胞性白血病(CLL)。

【請求項18】如申請專利範圍第17項之醫藥組合物，其中該血液系統癌症為急性B淋巴母細胞性白血病(B-ALL)。

【請求項19】如申請專利範圍第15項之醫藥組合物，其中該實體腫瘤為黑素瘤、肺癌、卵巢癌、子宮內膜癌、腹膜癌、胰腺癌、乳腺癌、前列腺癌或子宮頸

癌。

【請求項20】如申請專利範圍第19項之醫藥組合物，其中該實體腫瘤為非小細胞肺癌。

【發明圖式】

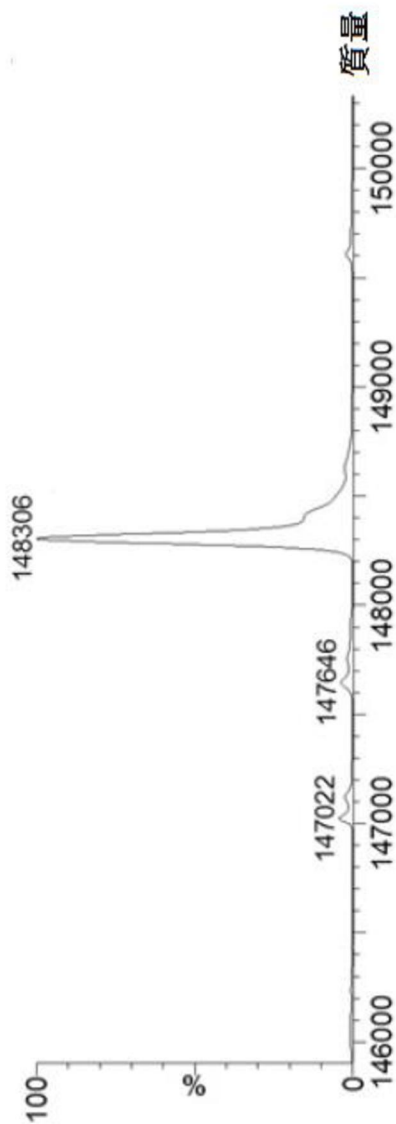


圖 1A

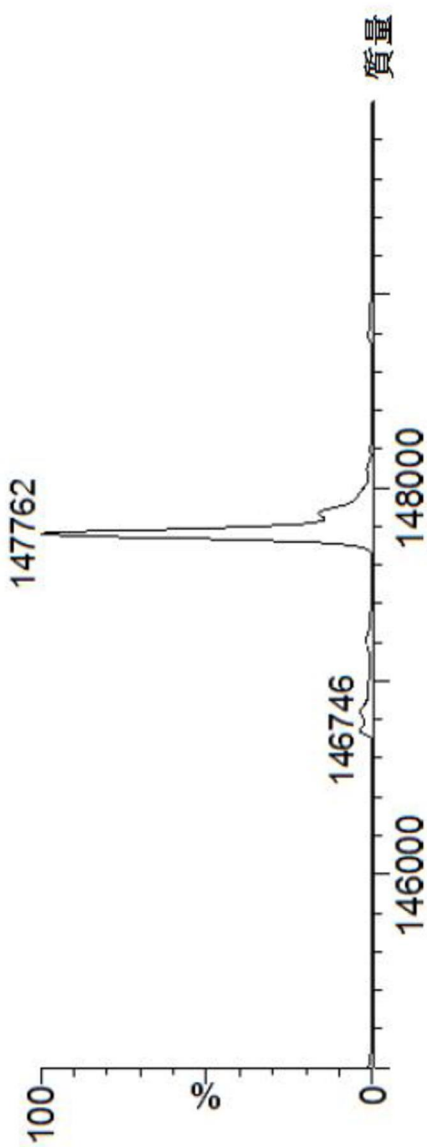


圖 1B

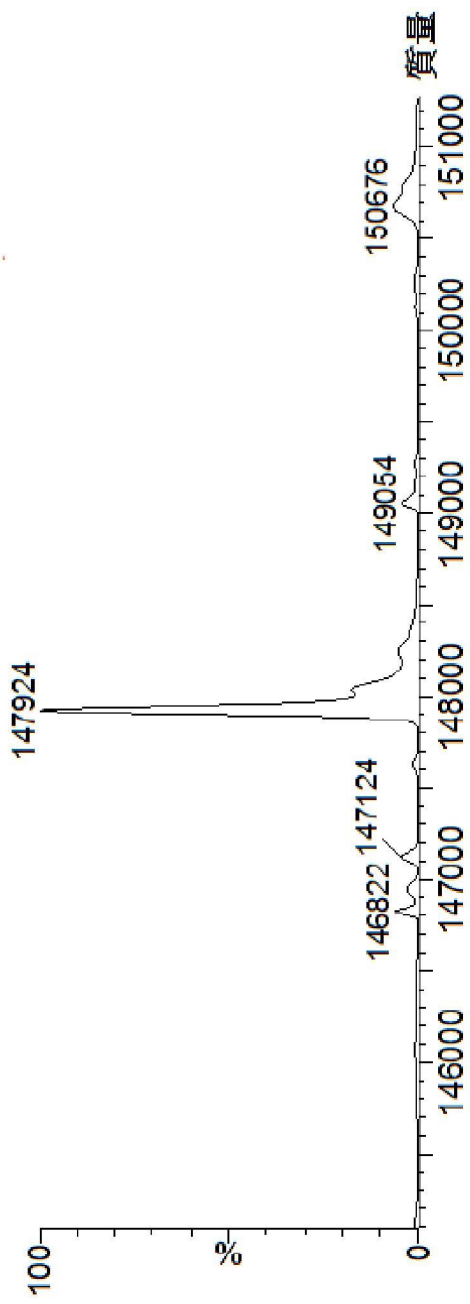


圖 1C

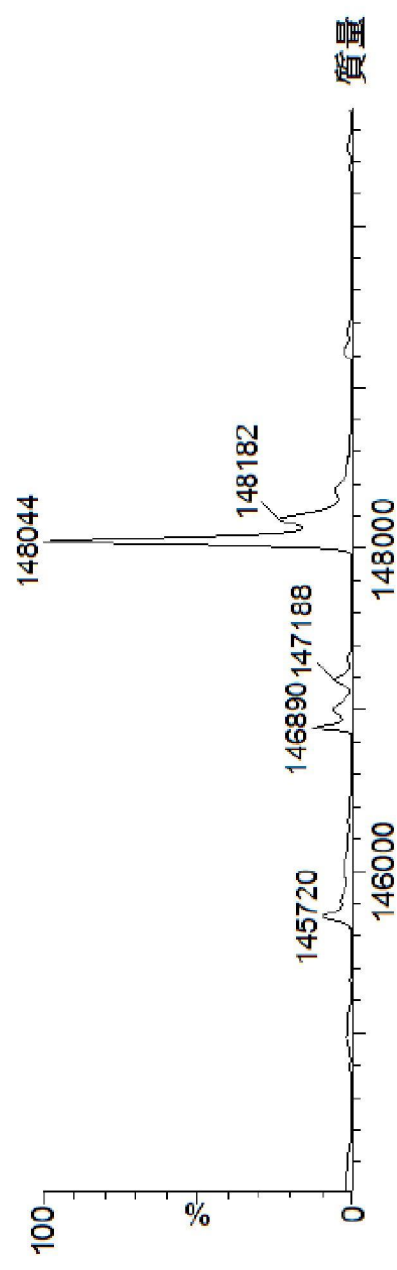


圖 1D

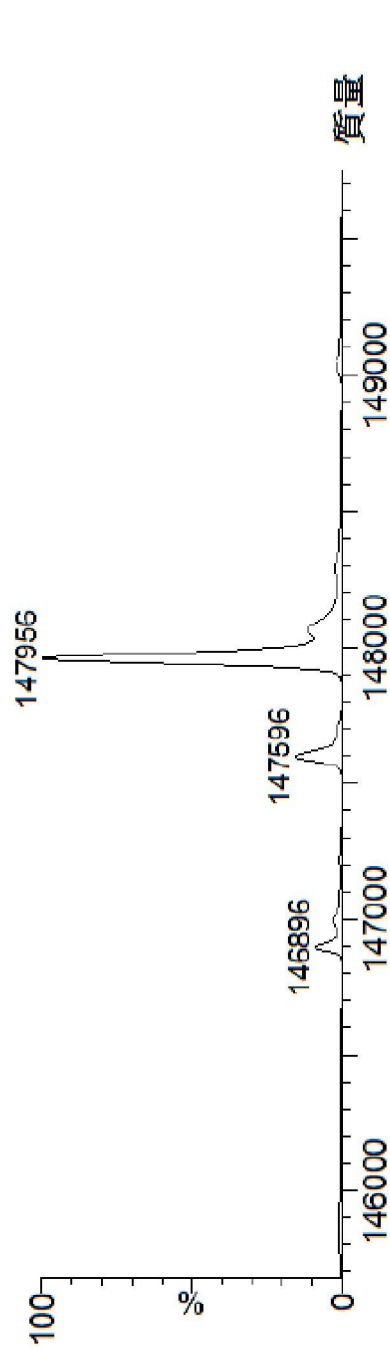


圖 1E

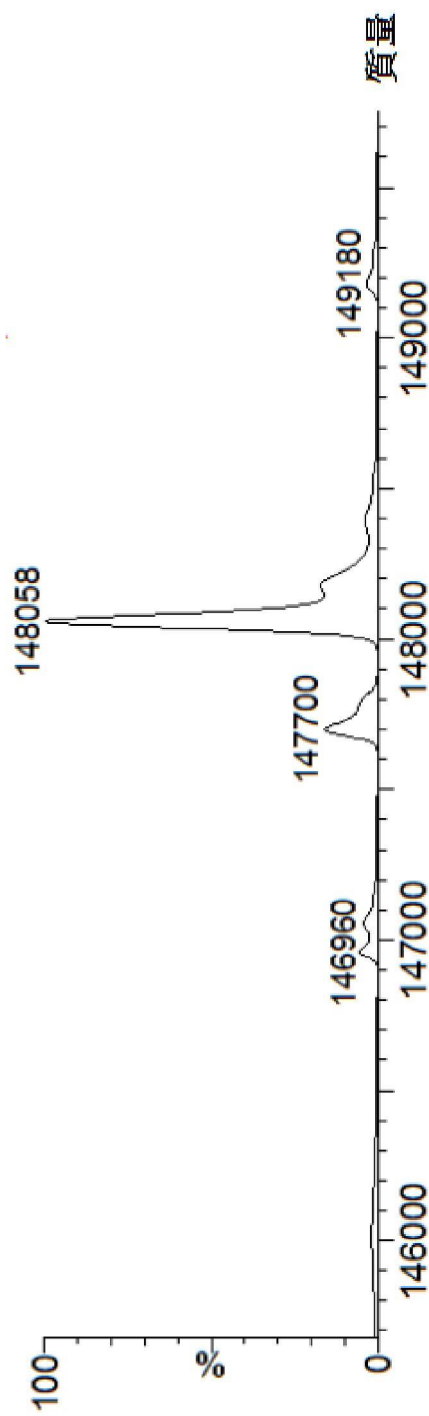


圖 1F

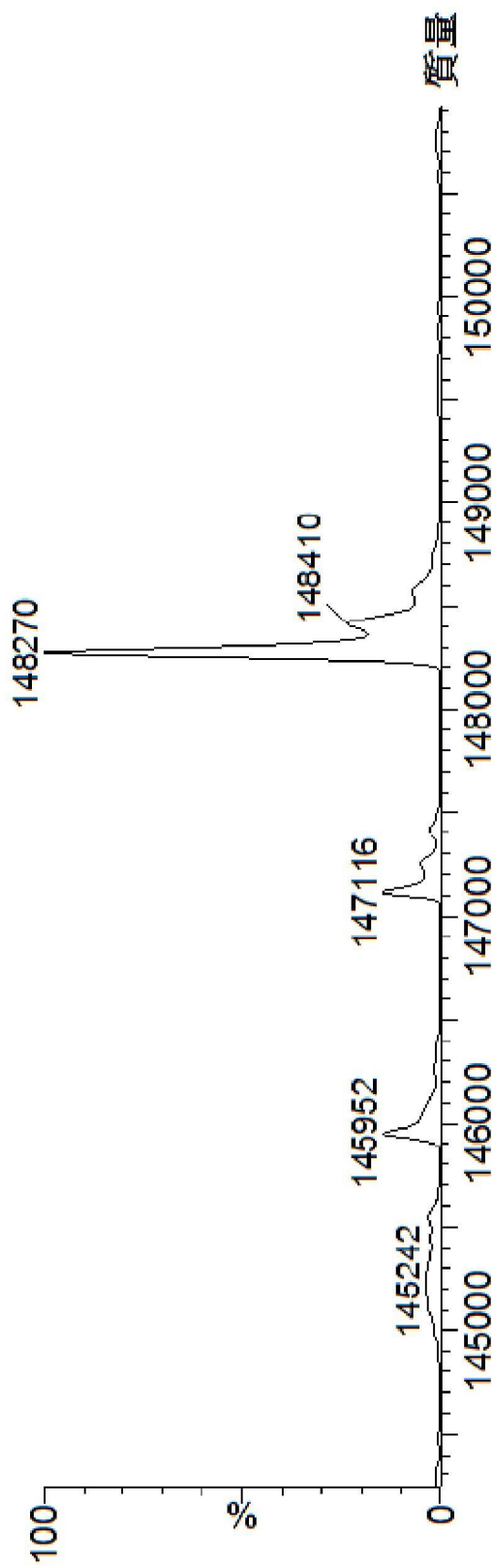


圖 1G

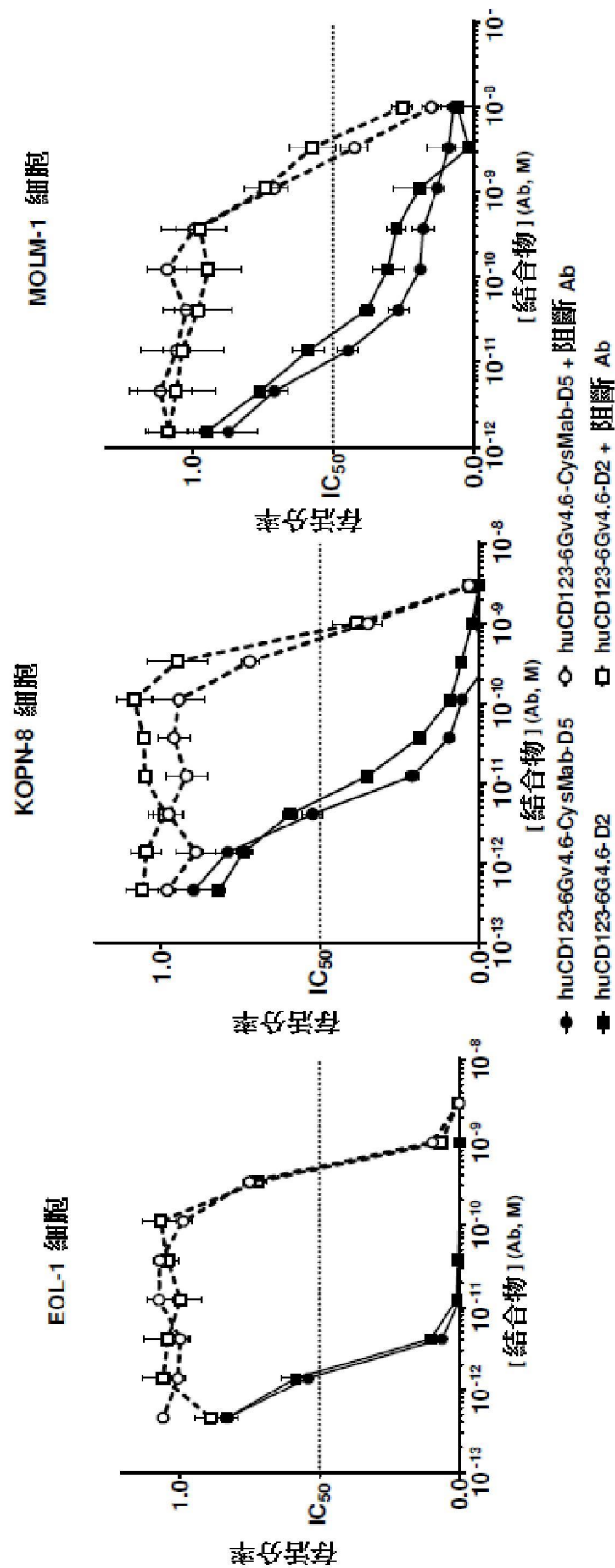


圖 2

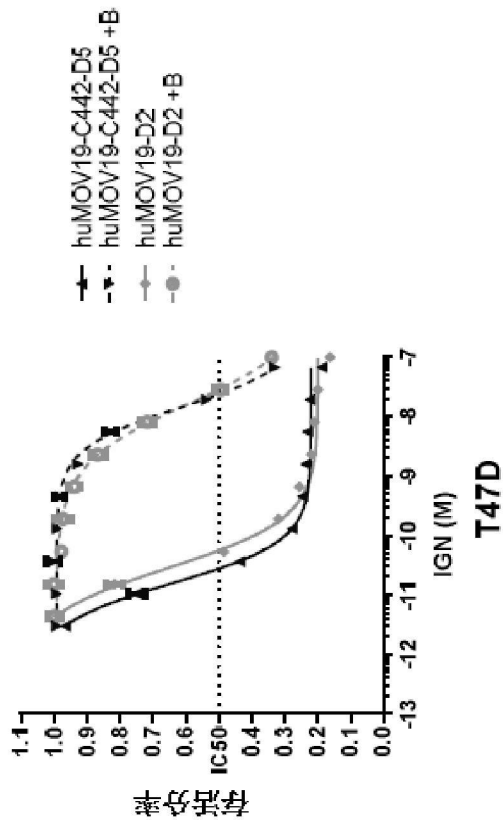


圖 3B

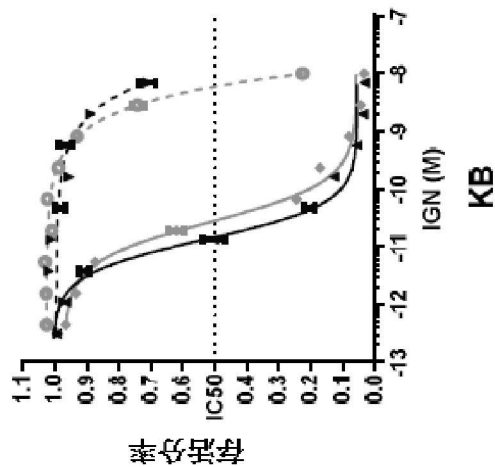


圖 3A

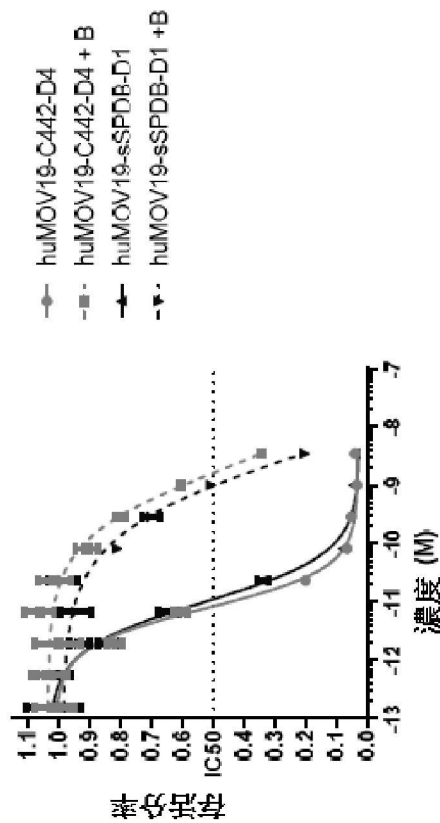


圖 3C

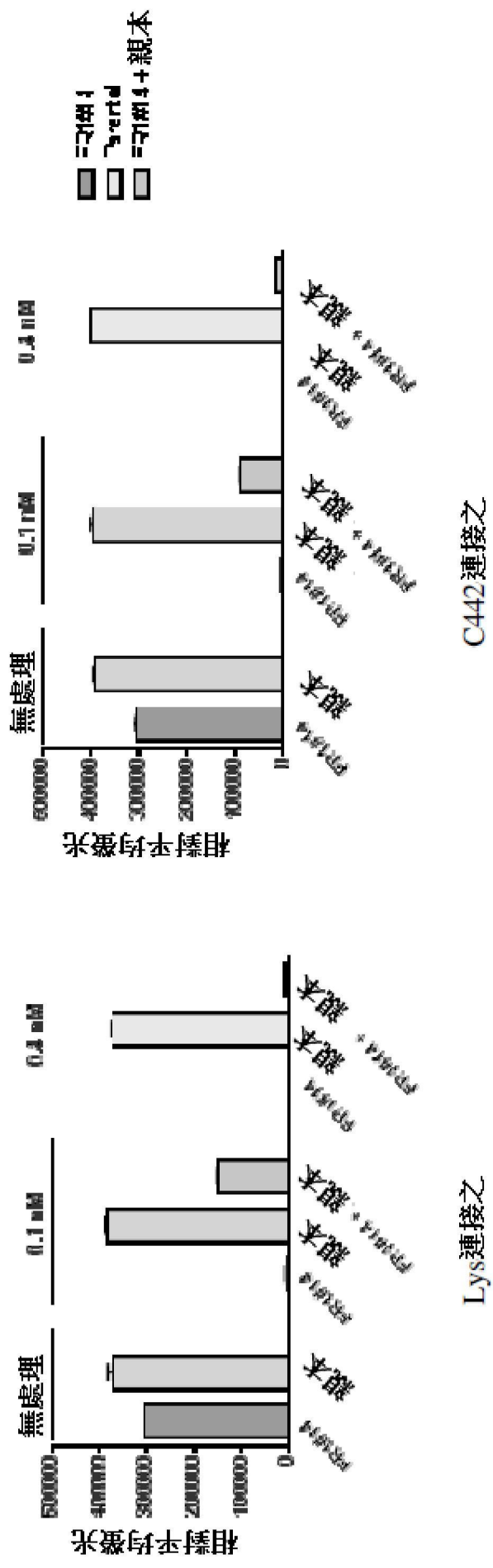


圖 4A

圖 4B

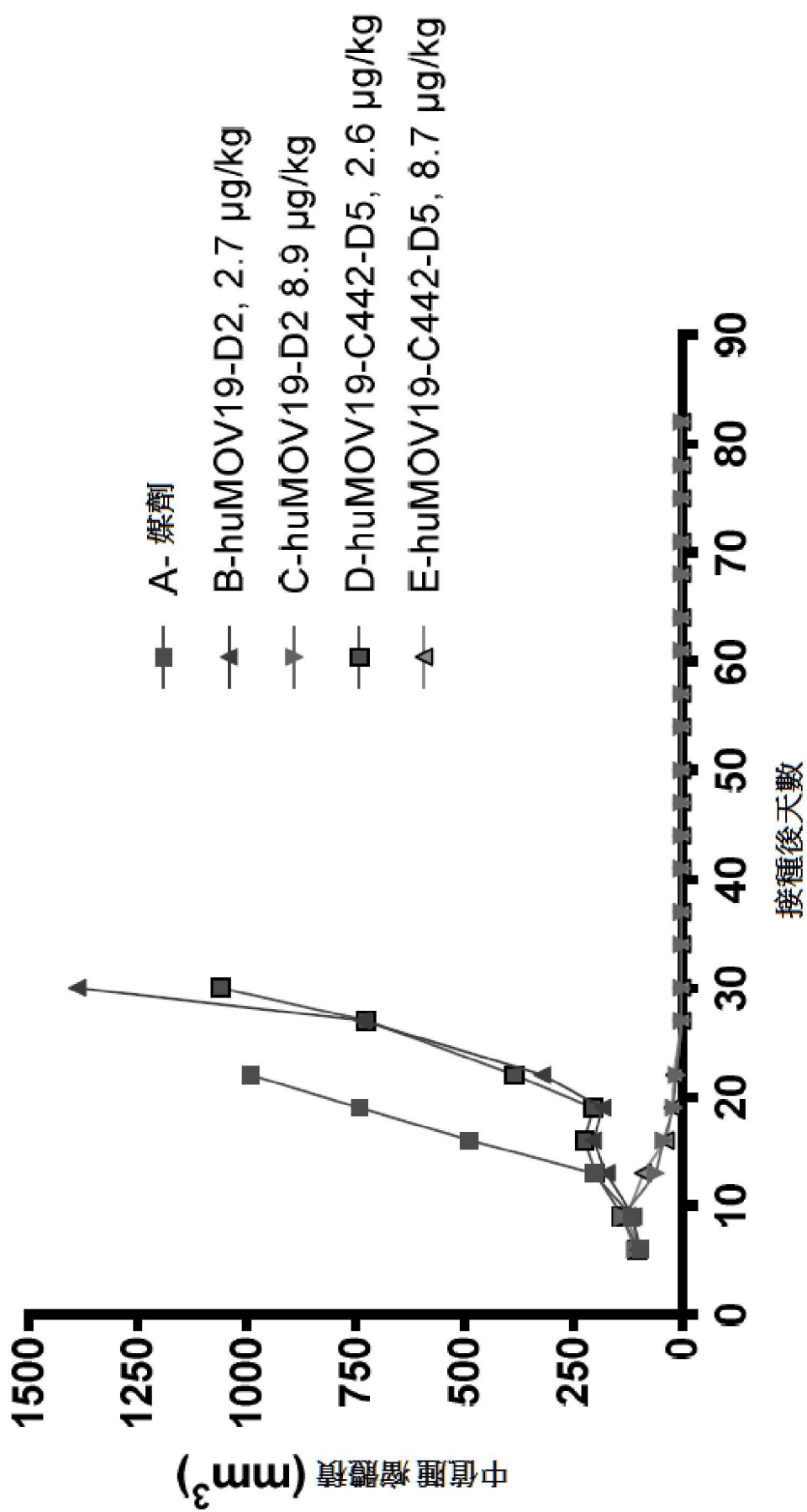


圖 5

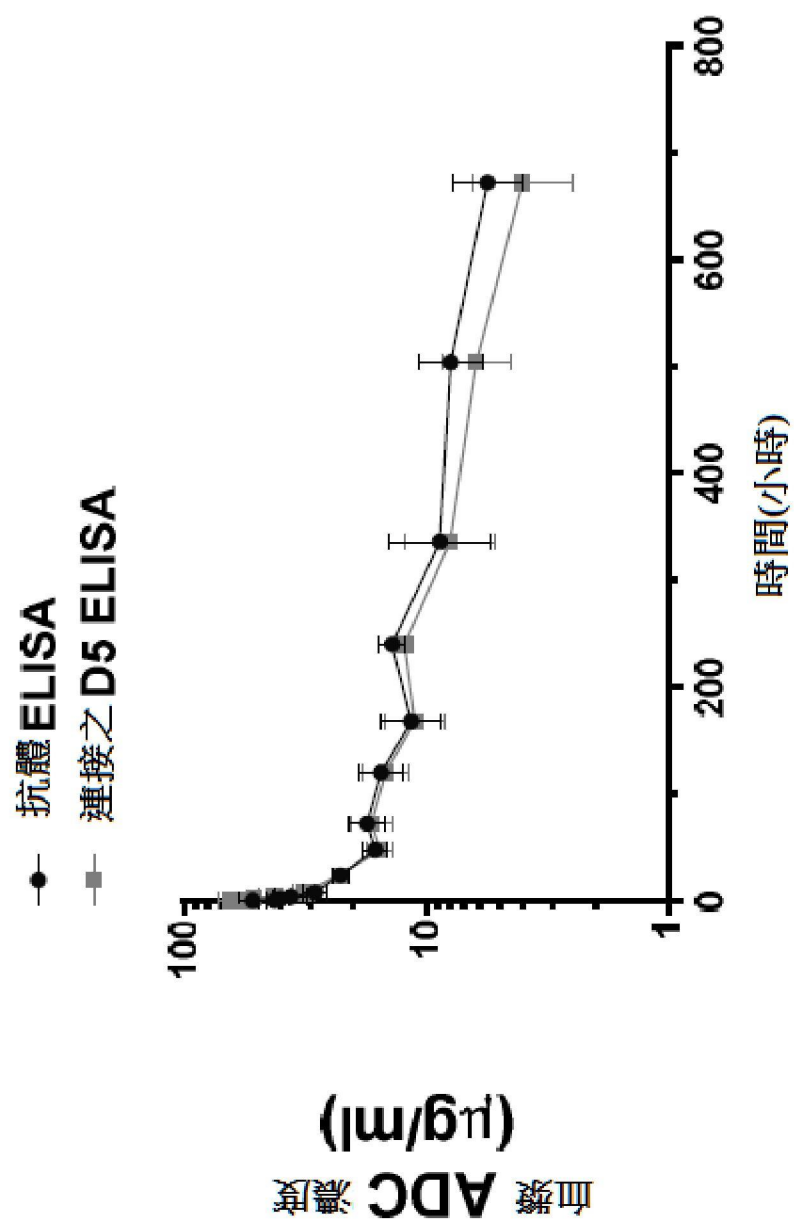


圖 6

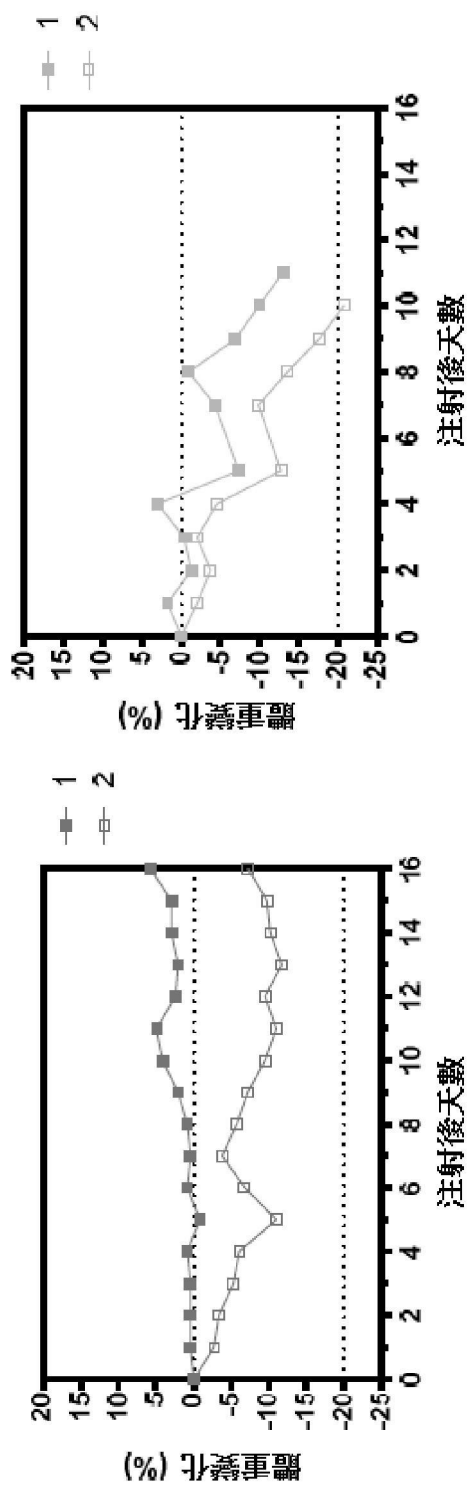


圖 7A

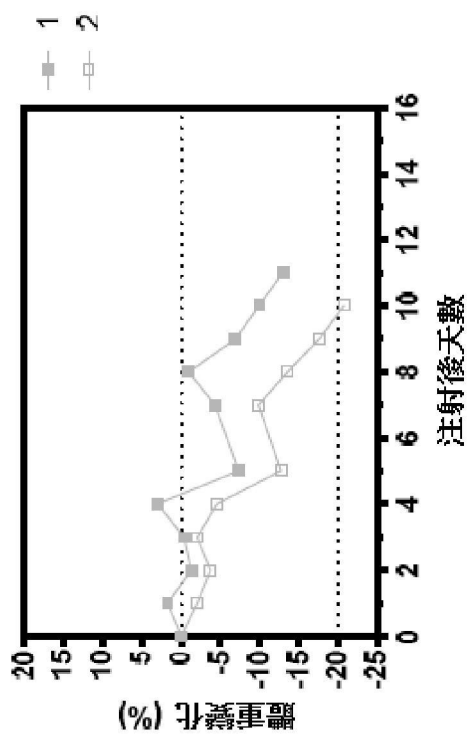


圖 7B

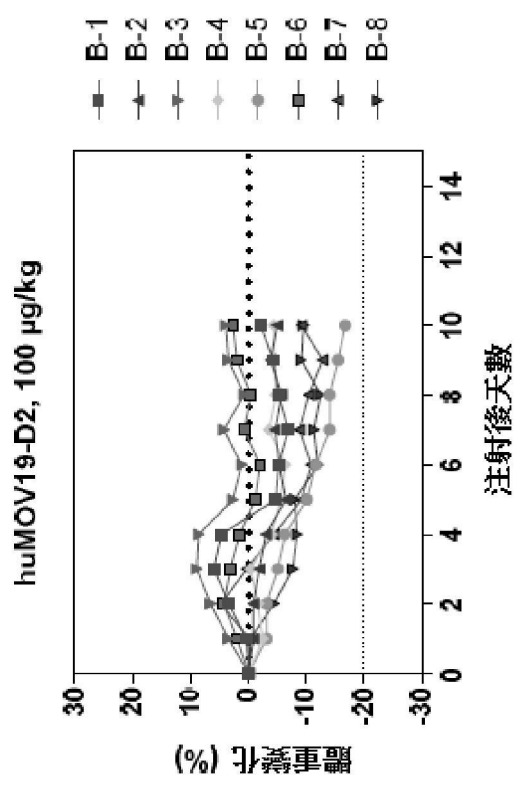


圖 7C

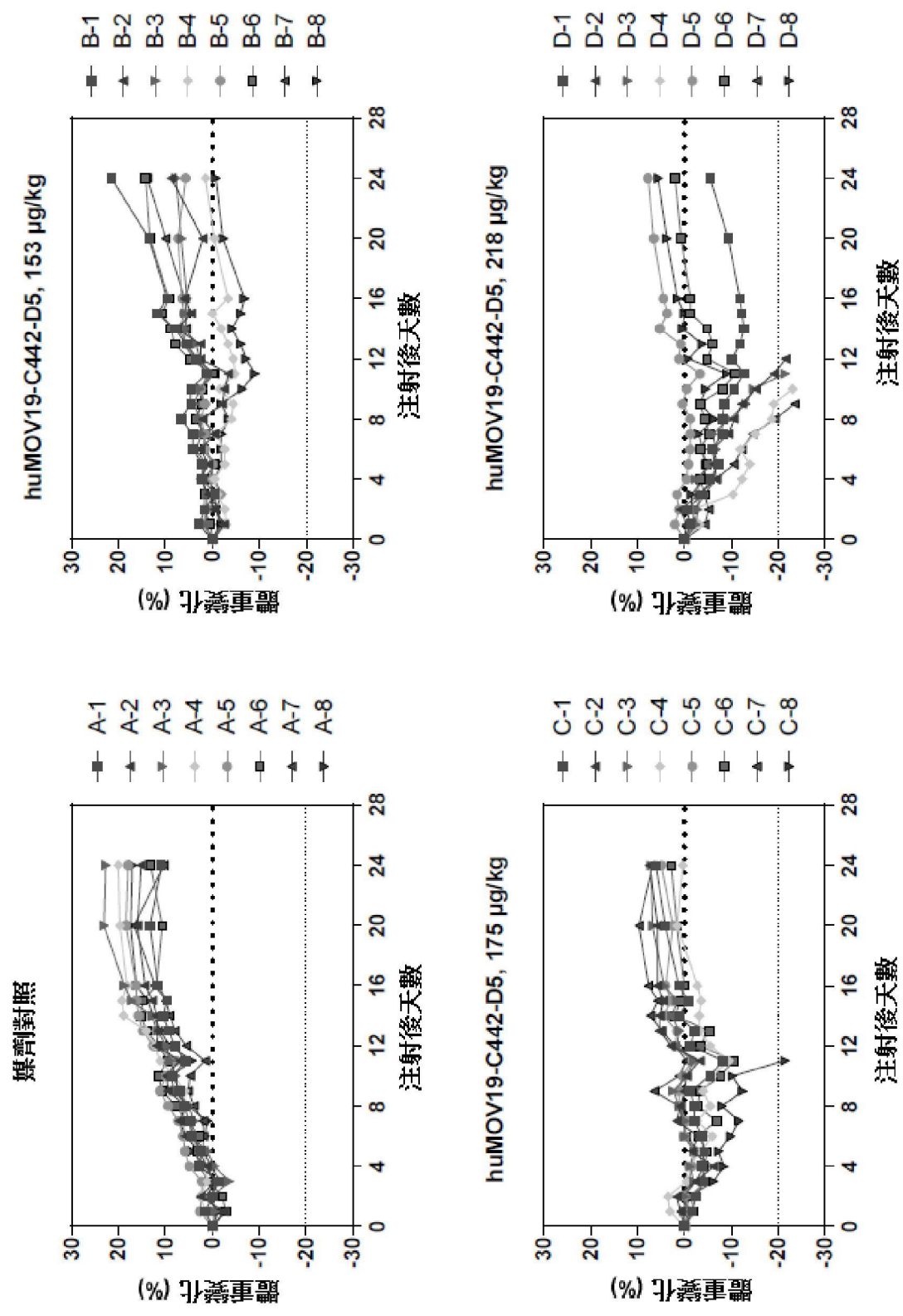


圖 7D

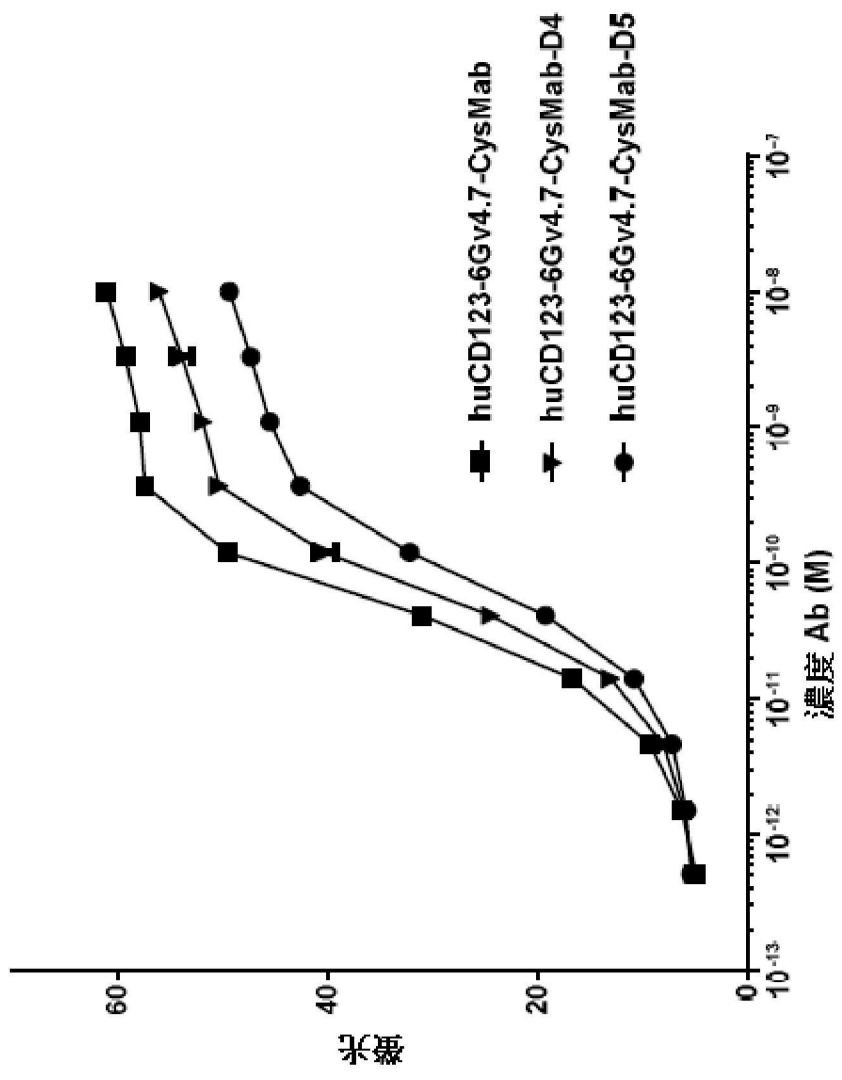


圖 8