



(21)申請案號：105118316

(22)申請日：中華民國 105 (2016) 年 06 月 08 日

(51)Int. Cl. : A61K39/395 (2006.01)

A61K31/5517(2006.01)

A61K47/48 (2006.01)

(30)優先權：2015/06/12 美國

62/175,121

(71)申請人：西雅圖遺傳學公司(美國) SEATTLE GENETICS, INC. (US)

美國

(72)發明人：蘇瑟蘭 梅 康 SUTHERLAND, MAY KUNG (US)；維思登朵芙 蘿莉

WESTENDORF, LORI (US)；舒思曼 迪強格 SUSSMAN, DJANGO (US)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：47 項 圖式數：9 共 70 頁

(54)名稱

CD 1 2 3 抗體及其共軛物

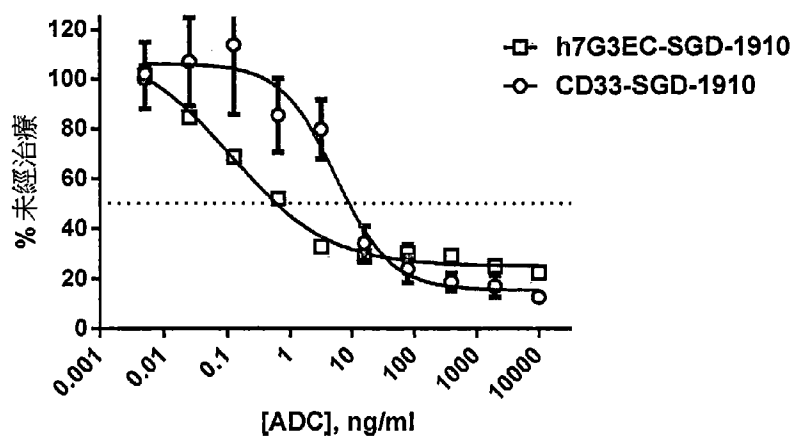
CD123 ANTIBODIES AND CONJUGATES THEREOF

(57)摘要

本發明提供特异性結合於 CD123 之鼠類、嵌合及人類化抗體及其共軛物。

The invention provides murine, chimeric, and humanized antibodies that specifically bind to CD123 and conjugates thereof.

指定代表圖：



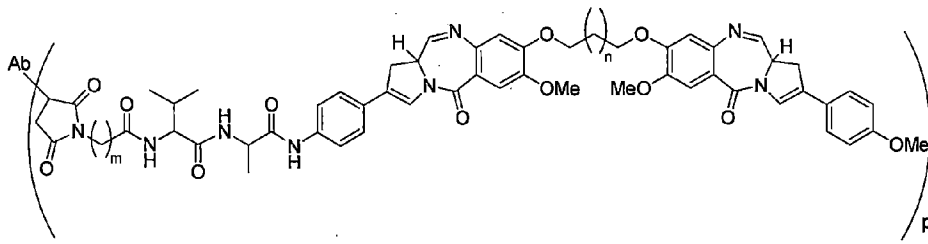
	CD33-SGD-1910	h7G3EC-SGD-1910
x50	9.079	0.5889

圖1

特徵化學式：

201709932

TW 201709932 A



201709932

發明摘要

※ 申請案號：105118316

※ 申請日：105.6.8

※IPC 分類：A61K 39/5 (2006.01)

A61K 31/517 (2006.01)

A61K 47/68 (2006.01)

【發明名稱】

CD123抗體及其共軛物

CD123 ANTIBODIES AND CONJUGATES THEREOF

【中文】

本發明提供特異性結合於CD123之鼠類、嵌合及人類化抗體及其共軛物。

【英文】

The invention provides murine, chimeric, and humanized antibodies that specifically bind to CD123 and conjugates thereof.

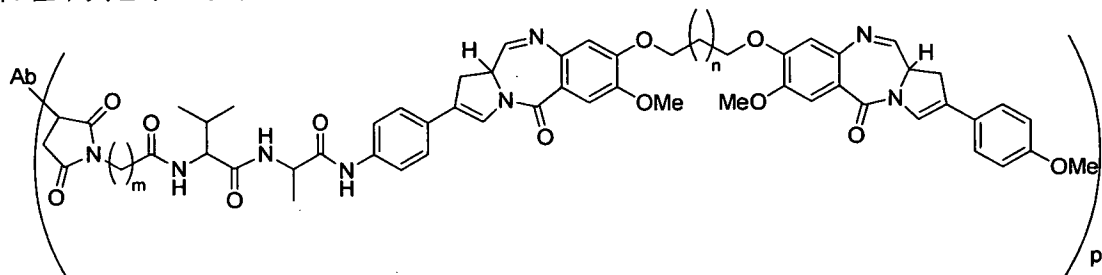
【代表圖】

【本案指定代表圖】：第（1）圖。

【本代表圖之符號簡單說明】：

無

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：



發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

【發明名稱】

CD123抗體及其共軛物

CD123 ANTIBODIES AND CONJUGATES THEREOF

【先前技術】

CD123為IL-3受體之70kD蛋白跨膜 α 鏈且亦稱為IL3R- α 。CD123已知在初生AML樣品上表現且已報導在多個惡性細胞上。本發明提供CD123抗體及其共軛物。

【發明內容】

本文提供抗CD123抗體及CD123定向之抗體-藥物共軛物。特定言之，本文提供CD123定向之吡咯并苯并二氮呋(「PBD」)抗體-藥物共軛物以及使用該種共軛物治療表現CD123之病症之方法。較佳抗CD123抗體為鼠類7G3抗體之嵌合或人類化形式(Sun等人, *Blood*, 1996, 87(1):83-92)。鼠類7G3抗體包含具有在SEQ ID NO:8中所闡述之胺基酸序列之重鏈可變區以及在SEQ ID NO:9中所闡述之胺基酸序列之輕鏈可變區。用於本文中之較佳人類化7G3抗體為使用對於重鏈可變區之人類生殖系序列hIGHv1-2和J外顯子J_H-1以及對於輕鏈可變區之人類生殖系序列hIGKv4-1和J外顯子J_K-2構建之抗體。尤佳人類化7G3抗體包含在SEQ ID NO:1中所闡述之重鏈可變區以及在SEQ ID NO:2中所闡述之輕鏈可變區。

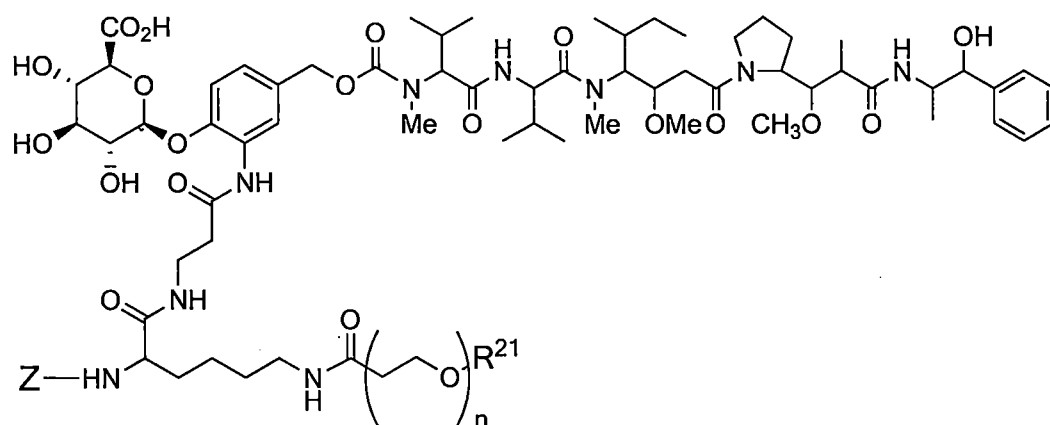
用於本發明之抗體可為完整抗體或其抗原結合片段。人類化7G3抗體可具有與重鏈恆定區融合之成熟重鏈可變區以及與輕鏈恆定區融合之成熟輕鏈可變區。重鏈恆定區可為天然存在或突變形式之人類恆定區(例如，SEQ ID NO:5，在位置239處以半胱胺酸取代絲胺酸之重

鏈IgG1恆定區(S239C)或SEQ ID NO:6)。重鏈恆定區可為IgG1同型。例示性輕鏈恆定區胺基酸序列闡述於SEQ ID NO:7中。

本文所述之嵌合或人類化7G3抗體結合至藥物-連接子(包括PBD藥物-連接子)以提供CD123抗體-藥物共軛物。連接可經由習知或位點特異性結合方法。例示性連接經由重鏈恆定區之位置239處之經工程改造之半胱胺酸，根據如Kabat中所闡述之EU索引。CD123定向抗體-藥物共軛物用於治療表現CD123之疾病，包括表現CD123之癌，諸如AML。

在其他實施例中，本文所述之嵌合或人類化7G3抗體結合至藥物-連接子(包括葡萄糖醛酸苷-聚乙二醇化MMAE藥物-連接子)以提供CD123抗體-藥物共軛物。

在另一實施例中，連接於人類化7G3抗體之藥物-連接子具有式：



或其醫藥學上可接受之鹽，其中Z表示具有能夠與抗體上之官能基反應以形成到其上之共價連接的反應性位點之有機部分，n在8至36之範圍內， R^{PR} 為氫或保護基， R^{21} 為用於聚乙二醇部分之封端單元。

在本發明之一些實施例中，值n可在8至14之範圍內。在本發明之其他實施例中，值n在10至12之範圍內。在本發明之另一實施例中，n之值為12。在另一個實施例中， R^{21} 為 $-CH_3$ 或 $-CH_2CH_2CO_2H$ 。

在另一個實施例中，任何所揭示之聚乙二醇化-MMAE抗體-藥物

共軛物之p值為8。在另一個實施例中，藥物-連接子經由抗體之鏈間二硫鍵之半胱胺酸殘基連接於抗體。

【圖式簡單說明】

圖1展示測試人類化7G3ec SGD-1910抗體-藥物共軛物針對MDR+-陽性AML細胞株KG-1(與CD33相比較，其表現CD123之低複本)之活體外細胞毒性分析之結果。儘管低複本數，但h7G3ec SGD-1910抗體-藥物共軛物展示了強力活性。

圖2展示測試人類化7G3ec SGD-1910抗體-藥物共軛物針對MDR+-陽性AML細胞株Kasumi-1(與CD33相比較，其表現CD123之低複本)之活體外細胞毒性分析之結果。儘管低複本數，但h7G3ec SGD-1910抗體-藥物共軛物展示了強力活性。

圖3展示展示儘管低複本數，但人類化7G3ec SGD-1910抗體-藥物共軛物顯示強力活性的AML異種移植模型THP-1之結果。儘管較低的複本數，但活性比得上CD33抗體-藥物共軛物。

圖4展示AML異種移植模型KG1-INV之結果，其展示人類化7G3ec SGD-1910抗體-藥物共軛物顯示強力活性並且儘管較低的複本數但活性比得上CD33抗體-藥物共軛物。

圖5展示對於鼠類7G3抗體之重鏈可變區和人類化vHA、vHB與vHC重鏈之胺基酸序列以及所選擇之人類生殖系受體可變區序列。

圖6展示對於鼠類7G3抗體之輕鏈可變區和人類化vLA與vLB輕鏈之胺基酸序列以及所選擇之人類生殖系受體可變區序列。

圖7展示AML異種移植模型，HNT-34之結果，其展示人類化7G3ec SGD-1910抗體-藥物共軛物顯示強力細胞毒活性。

圖8展示AML異種移植模型，播散性Molm-13 AML模型之結果，其展示人類化7G3ec SGD-1910抗體-藥物共軛物顯示強力細胞毒活性。

圖9展示AML異種移植模型，初生MDR+ AML之播散性模型之結果，其展示人類化7G3ec SGD-1910抗體-藥物共軛物顯示強力細胞毒性。

定義

如本文所用，術語「單株抗體」係指獲自實質上同質抗體之群體(亦即構成該群體之單個抗體為相同的，除了少量存在的可能天然存在之突變外)的抗體。修飾語「單株」指示抗體之特徵為獲自實質上同質之抗體群體，且不應理解為需要藉由任何特定方法產生該抗體。舉例而言，欲根據本發明使用之單株抗體可藉由Kohler等人(1975)*Nature* 256:495首先描述的融合瘤方法製得，或可藉由重組DNA方法(參見例如美國專利第4,816,567號)製得。「單株抗體」亦可使用例如以下各者中所描述之技術自噬菌體抗體文庫分離：Clackson等人(1991) *Nature*,352:624-628和Marks等人(1991) *J. Mol. Biol.*, 222:581-597，或可藉由其他方法製得。本文所述之抗體為單株抗體。

抗體通常以經分離之形式提供。這意謂抗體通常為至少50% w/w純之干擾蛋白和由其生產或純化產生的其他污染物，但不排除抗體與過量的醫藥學上可接受之載劑或希望便於其使用的其他媒劑合併之可能性。有時抗體為至少60%、70%、80%、90%、95%或99% w/w純之干擾蛋白和來自生產或純化的污染物。抗體(包括經分離抗體)可結合至細胞毒性劑且以抗體藥物共軛物形式提供。

「經分離」多核苷酸係指已自其天然之組份鑑別及分離及/或回收之多核苷酸。

單株抗體與其靶抗原之特異性結合意謂至少 10^6 、 10^7 、 10^8 、 10^9 或 10^{10} M⁻¹之親和力。特異性結合在量值上可檢測地更高並且可與發生到至少一個不相關靶向物的非特異性結合區分。特異性結合可為在

特定官能基或特定空間擬合(例如，固定且重要類型)之間形成鍵之結果，而非特異性結合通常為凡得瓦爾力之結果。CD123定向抗體-藥物共軛物和抗CD123抗體特異性結合至CD123。

基本抗體結構單元為亞單元之四聚體。各四聚體包括兩個相同之多肽鏈對，各對具有一個「輕」鏈(約25 kDa)及一個「重」鏈(約50-70 kDa)。各鏈之胺基末端部分包括主要負責抗原識別之約100至110或更多胺基酸之可變區。該可變區初始地表現連接至可裂解信號肽。無信號肽之可變區有時稱為成熟可變區。因此，舉例而言，輕鏈成熟可變區意謂無輕鏈信號肽之輕鏈可變區。輕鏈分類為 κ 或 λ 。重鏈分類為 γ 、 μ 、 α 、 δ 或 ϵ ，且抗體之同型分別定義為IgG、IgM、IgA、IgD及IgE。在輕鏈和重鏈內，下標及恆定區藉由約12或更多個胺基酸之「J」區接合，其中重鏈亦包括約10個或更多個胺基酸之「D」區。(一般參見，*Fundamental Immunology* (Paul, W., 編，第2版，Raven Press, N.Y., 1989, 第7章，其以全文引用的方式併入本文中)。各輕鏈/重鏈對之成熟可變區形成抗體結合位點。因此，完整抗體具有兩個結合位點。鏈均呈現藉由三個高變區(亦稱為互補決定區或CDR)接合之相對保守構架區(FR)之相同通用結構。來自各對之兩鏈之CDR藉由構架區對齊，使得能夠結合至特異性表位。自N端至C端，輕鏈及重鏈皆包含結構域FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3及FR4。各結構域之胺基酸分配係根據Kabat的*Sequences of Proteins of Immunological Interest*(National Institutes of Health, Bethesda, MD, (1987及1991)或Chothia & Lesk, *J. Mol. Biol.* 196:901-917 (1987); Chothia等人, *Nature* 342:878-883 (1989)中之定義。Kabat亦提供廣泛使用之編號規約(Kabat編號系統)，其中在不同重鏈可變區之間或不同輕鏈可變區之間之對應殘基被分配相同數值。重鏈恆定區之編號經由如Kabat中所闡述之EU索引(Kabat, *Sequences of Proteins of*

Immunological Interest (National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1987及1991)。

術語「抗體」包括完整抗體及其抗原結合片段。「完整抗體」為按抗體類別之需要包含抗原結合可變區以及輕鏈恆定域(C_L)及重鏈恆定域(C_{H1} 、 C_{H2} 、 C_{H3} 及 C_{H4})之抗體。恆定域可為天然序列恆定域(例如，人類天然序列恆定域)或其胺基酸序列變體。抗體片段與完整抗體競爭，抗體片段來源於該完整抗體用於特異性結合至靶向物，包括單獨重鏈、輕鏈Fab、Fab'、 $F(ab')_2$ 、 $F(ab)_c$ 、雙功能抗體、Dab、奈米抗體及Fv。片段可藉由重組DNA技術或藉由完整免疫球蛋白之酶促或化學分離來產生。術語「抗體」亦包括雙功能抗體(均二聚Fv片段)或微型抗體(V_L - V_H - C_{H3})、雙特異性抗體或其類似物。雙特異性或雙功能抗體為具有兩個不同重鏈/輕鏈對及兩個不同結合位點之人工雜交抗體(參見，例如Songsivilai及Lachmann, *Clin. Exp. Immunol.*, 79:315-321 (1990); Kostelny等人, *J. Immunol.*, 148:1547-53 (1992))。

術語「患者」包括接受預防性或治療性治療之人類及其他哺乳動物個體。

出於將胺基酸取代分類為保守或非保守之目的，胺基酸分組如下：I組(疏水性側鏈)：met、ala、val、leu、ile；II組(中性親水性側鏈)：cys、ser、thr；III組(酸性側鏈)：asp、glu；IV組(鹼性側鏈)：asn、gln、his、lys、arg；V組(影響鏈取向之殘基)：gly、pro；以及VI組(芳族側鏈)：trp、tyr、phe。保守取代涉及在相同類別中之胺基酸之間之取代。非保守取代構成此等類別中之一者之一員與另一類別之一員的交換。

百分比序列一致性藉由Kabat編號規約最大限度地對齊之抗體序列確定。在對齊之後，若目標抗體區(例如，重鏈或輕鏈之整個成熟可變區)與參比抗體之相同區進行比較，則目標抗體區和參比抗體區

之間的百分比序列一致性為目標抗體區和參比抗體區兩者中相同胺基酸佔據的位置之數目除以兩個區之對齊位置之總數(不計間隙)乘以100以轉換成百分比。

「包含」一或多種敘述要素之組合物或方法可包括未具體敘述之其他要素。舉例而言，包含抗體之組合物可單獨或與其他成分組合地含有抗體。

術語「治療有效量」或「有效量」係指有效治療哺乳動物中之疾病或病症之抗體-藥物共軛物的量。在癌症之情況下，共軛物之治療有效量可減少癌細胞之數目；減小腫瘤尺寸；抑制(亦即在一定程度上減緩且較佳阻止)癌細胞浸潤到外周器官中；抑制(亦即在一定程度上減緩且較佳阻止)腫瘤轉移；抑制腫瘤生長；及/或減輕一或多種與癌症相關聯的症狀。對於癌症療法，可例如藉由評定疾病進展時間(TTP)及/或測定反應率(RR)來量測功效。術語「有效療程」係指所投與之共軛物的量及足以實現病症之治療之劑量頻率之組合。

除非上下文另外指示，否則術語「治療(treat或treatment)」係指治療性治療，其中目的為抑制或減緩(減輕)非所期望的生理變化或病症，諸如癌症之進展或擴散。有益或所期望的臨床結果包括(但不限於)症狀緩解、疾病程度減輕、疾病狀態穩定(亦即，未惡化)、疾病進展延緩或減慢、疾病狀態改善或緩和及緩解(部分抑或完全緩解)，無論係可檢測抑或不可檢測的。「治療」亦可意謂相比於若不接受治療的預期存活率延長存活率。需要治療者包括患有可檢測疾病者。需要治療者亦可包括患有不可檢測疾病者，例如在治療表現CD123之病症之後已獲得完全反應但需要治療以便阻止復發之患者。

術語「醫藥學上可接受」意謂藉由或可藉由聯邦政府或州政府抑或U.S.Pharmacopeia或其他用於動物且更特定言之用於人類的一般認可藥典中所列出之監管機構審批通過。術語「醫藥學上相容成分」

係指與抗CD123抗體或抗體-藥物共軛物一起投與個體之醫藥學上可接受之稀釋劑、佐劑、賦形劑或媒劑。

片語「醫藥學上可接受之鹽」係指醫藥學上可接受之有機鹽或無機鹽。例示性鹽包括硫酸鹽、檸檬酸鹽、乙酸鹽、草酸鹽、氯化物鹽、溴化物鹽、碘化物鹽、硝酸鹽、硫酸氫鹽、磷酸鹽、酸式磷酸鹽、異菸鹼酸鹽、乳酸鹽、柳酸鹽、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、丁二酸鹽、馬來酸鹽、龍膽酸鹽、富馬酸鹽、葡糖酸鹽、葡糖醛酸鹽、葡糖二酸鹽、甲酸鹽、苯甲酸鹽、麩胺酸鹽、甲磺酸鹽、乙磺酸鹽、苯磺酸鹽、對甲苯磺酸鹽及雙羥萘酸鹽(亦即1,1'亞甲基雙-(2羥基3萘甲酸鹽))。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、丁二酸根離子或其他相對離子。相對離子可為使母體化合物上之電荷穩定之任何有機或無機部分。此外，醫藥學上可接受之鹽在其結構中可具有超過一個帶電原子。多個帶電原子為醫藥學上可接受之鹽的一部分的情況可具有多個相對離子。因此，醫藥學上可接受之鹽可具有一或多個帶電原子及/或一或多個相對離子。

在本發明之情形下之溶劑合物為經由與溶劑分子配位形成固態或液態之錯合物的本發明化合物之彼等形式。水合物為一種特定形式之與水發生配位之溶劑合物。在本發明之情形下較佳溶劑合物為水合物。

除非上下文另外顯而易見，否則術語「約」涵蓋在陳述值之標準偏差內之值。

【實施方式】

I. 通用

本發明部分地基於抗體-藥物共軛物(包括靶向CD123之PBD抗體-藥物共軛物)在殺滅CD123+表現細胞時特別有效之發現。特定言之，

發現高親和力7G3人類化抗體可使用作為重鏈可變區受體序列之生殖系hIGHv1-2及J外顯子J_H-1，且對於輕鏈可變區受體序列使用生殖系hIGKv4-1及J外顯子J_K-2，並且藉由使一個或多個關鍵位點處之殘基突變回至鼠類抗體或鼠類生殖系序列來構建。對於重鏈，該等關鍵位點包括位置H20、H38、H48、H66、H67、H69、H71、H73、H81、H82A及H93中的一或多個。對於輕鏈，該等關鍵位點包括位置L2、L19、L21、L22及L38中之一或多個。值得注意的是，高親和力7G3人類化抗體在無需進行親和力成熟且同時保持鼠類抗體之CDR之一致性的情況下構建。高親和力7G3人類化抗體亦作為抗體藥物共軛物之一部分對藥物遞送有效。當結合至SGD-1910 PBD藥物-連接子時，所得h7G3ec PBD共軛物對一組AML細胞株及初生AML樣品為高度活性的，而無關於低CD123複本數及MDR+狀態。h7G3之後之「ec」標示指示抗體在重鏈之位置239處(藉由如Kabat中所闡述之EU索引編號)具有半胱胺酸取代。

II. 靶分子

除非另外指示，否則CD123及IL-3R α 可互換地使用且係指人類CD123或IL-3R α 。例示性人類序列被分配UniProtKB/Swiss-Prot 寄存編號-P26951。

III. 本發明之抗體

人類化抗體為基因工程改造之抗體，其中來自非人類「供體」抗體之CDR被接枝到人類「受體」抗體序列中(參見，例如Queen, US 5,530,101 及 5,585,089；Winter, US 5,225,539；Carter, US 6,407,213；Adair, US 5,859,205；及Foote, US 6,881,557)。受體抗體序列可為例如成熟人類抗體序列、該序列之複合物、人類抗體序列之共同序列或生殖系區序列。

因此，人類化抗體為具有完全或實質上來自非人類供體抗體之

部分或全部CDR及可變區構架序列以及完全或實質上來自人類抗體序列之恆定區(若存在)之抗體。類似地，人類化重鏈具有完全或實質上來自供體抗體重鏈之至少一個、兩個且通常全部三個CDR及實質上來自人類重鏈可變區構架及恆定區序列之重鏈可變區構架序列以及重鏈恆定區(若存在)。類似地，人類化輕鏈具有完全或實質上來自供體抗體輕鏈之至少一個、兩個且通常全部三個CDR及實質上來自人類輕鏈可變區構架及恆定區序列之輕鏈可變區構架序列以及輕鏈恆定區(若存在)。除奈米抗體及雙功能抗體以外，人類化抗體通常包含人類化重鏈及人類化輕鏈。當在相應CDR之間至少60%、85%、90%、95%或100%之對應殘基(如藉由Kabat所定義)一致時，人類化或人類抗體中之CDR實質上來自非人類抗體中之對應CDR或實質上與非人類抗體中之對應CDR一致。在一些實施例中，當在各CDR中存在不超過3個保守胺基酸取代時，人類化抗體或人類抗體中之CDR實質上來自非人類抗體中之對應CDR或實質上與非人類抗體中之對應CDR一致。當至少70%、80%、85%、90%、95%或100%之藉由Kabat所定義之對應殘基一致時，抗體鏈之可變區構架序列或抗體鏈之恆定區分別實質上來自人類可變區構架序列或人類恆定區。在本發明之一些人類化抗體中，在抗體之重鏈可變構架區中存在至少六個鼠類7G3反突變且在抗體之輕鏈可變區中存在至少兩個鼠類7G3反突變。

儘管人類化抗體通常併入全部六個來自小鼠抗體之CDR(較佳地如藉由Kabat所定義)，但其亦可用不到全部CDR(例如，至少3、4或5個)來自小鼠抗體之CDR製備(例如Pascalis等人, *J. Immunol.* 169:3076, 2002; Vajdos等人, *Journal of Molecular Biology*, 320: 415-428, 2002; Iwahashi等人, *Mol. Immunol.* 36:1079-1091, 1999; Tamura等人, *Journal of Immunology*, 164:1432-1441, 2000)。

某些來自人類可變區構架殘基之胺基酸可基於其對CDR構形及/

或結合至抗原之可能的影響來選擇。藉由建模、檢查特定位置處之胺基酸之特徵或經驗觀測特定胺基酸之取代或突變誘發之效果來研究此類可能的影響。

本發明提供針對CD123抗原之抗體。較佳抗體為來源於鼠類7G3抗體之嵌合或人類化抗體。對於重鏈可變區較佳的接受者序列為生殖系V_H外顯子hIGHv1-2，且對於J外顯子(J_H)為外顯子J_H-1。對於輕鏈可變區，較佳接受體序列為外顯子hIGKv4-1且對於J外顯子為J_K-2。

例示性抗CD123抗體為包括如SEQ ID NO:1中所闡述之重鏈CDR及如SEQ ID NO:2中所闡述之輕鏈CDR且另外具有與SEQ ID NO:1至少90%、91%、92%、93%、94%或95%一致性的成熟重鏈可變區及與SEQ ID NO:2至少90%、91%、92%、93%、94%或95%一致性的成熟輕鏈可變區的人類化抗體。CDR藉由Kabat定義。較佳地，維持重鏈可變域構架之以下胺基酸殘基：H48被I佔據，H67被A佔據，H69被L佔據，H71被V佔據，H73被R佔據，H93被T佔據，並且維持輕鏈之以下胺基酸殘基：L2被F佔據，L38被L佔據。在一些態樣中，維持重鏈之以下胺基酸殘基：H20被M佔據，H38被K佔據，H48被I佔據，H66被K佔據，H67被A佔據，H69被L佔據，H71被V佔據，H73被R佔據，H81被H佔據，H82A被N佔據且H93被T佔據，並且維持輕鏈可變域構架之以下胺基酸殘基：L2被F佔據，L38被L佔據。在一些態樣中，存在重鏈可變域構架之以下胺基酸殘基：H20被M或V佔據，H38被K或R佔據，H48被I佔據，H66被K或R佔據，H67被A佔據，H69被L佔據，H71被V佔據，H73被R佔據，H81被E或H佔據，H82A被S或N佔據，且H93被T佔據，並且存在輕鏈可變域構架之以下胺基酸殘基：L2被F佔據，L19被A或V佔據，L21被I或M佔據，L22被N或S佔據，L38被L佔據。

因此，本文提供包含如SEQ ID NO:1中所闡述之重鏈可變區及如

SEQ ID NO:2中所闡述之輕鏈可變區之人類化抗體，其限制條件為H20被M或V佔據，H38被K或R佔據，H48被I佔據，H66被K或R佔據，H67被A佔據，H69被L佔據，H71被V佔據，H73被R佔據，H81被E或H佔據，H82A被S或N佔據，且H93被T佔據並且存在輕鏈之以下胺基酸殘基：L2被F佔據，L19被A或V佔據，L21被I或M佔據，L22被N或S佔據，且L38被L佔據。

小鼠m7G3抗體之人類化形式包括三個例示人類化重鏈成熟可變區(HA-HC)及兩個例示人類化輕鏈成熟可變區(LA-LB)。該等鏈之排列包括HALA、HALB、HBLA、HBLB、HCLA及HCLB。該等排列之中，HCLA為較佳。HCLA包含SEQ ID NO:1中所闡述之重鏈及SEQ ID NO:2中所闡述之輕鏈。然而，可使用HALA、HALB、HBLA、HBLB及HCLB中任一者代替HCLA。

在一些態樣中，對於人類CD123的人類化7G3抗體之表觀解離常數(kd)較佳在0.1 nM至10 nM之範圍內，甚至更佳在0.1 nM至5 nM之範圍內，甚至較佳在1 nM至3 nM或2 nM至約3 nM之範圍內。在一些態樣中，本發明之抗體具有表觀解離常數為對於人類CD123的鼠類7G3抗體之表觀解離常數的0.1至1.5倍，或甚至0.5至2倍之範圍內。在一些態樣中，對於人類CD123的抗體之表觀解離常數(kd)為約2.7。

A. 恆定區之選擇

人類化7G3抗體之重鏈及輕鏈可變區可連接至人類恆定區之至少一部分。恆定區之選擇可部分取決於抗體依賴性細胞介導之細胞毒性、抗體依賴性細胞吞噬作用及/或補體依賴性細胞毒性是否為期望的。舉例而言，人類同型IgG1及IgG3具有強補體依賴性細胞毒性，人類同型IgG2具有弱補體依賴性細胞毒性及人類IgG4缺乏補體依賴性細胞毒性。人類IgG1及IgG3亦比人類IgG2及IgG4誘發更強細胞介導之效應功能。輕鏈恆定區可為 λ 或 κ 。抗體可表現為含有兩個輕鏈及兩個

重鏈之四聚體，表現為各別重鏈、輕鏈，表現為Fab、Fab'、F(ab')₂及Fv，或表現為單鏈抗體，其中重鏈及輕鏈下標域經由間隔子連接。

人類恆定區展示在不同個體之間的同種異型變化及異同種異型變化，即在不同個體中在一個或多個多態位置處恆定區可不同。異同種異型不同於同種異型係因為識別異同種異型之血清結合至一個或多個其他同型之非多態區。

輕鏈及/或重鏈之胺基或羧基端處之一個或若干個胺基酸，諸如重鏈之C端離胺酸，可缺失或衍生一定比例的或全部的分子。取代可在恆定區中進行以減小或增大效應功能，諸如補體介導之細胞毒性或ADCC(參見，例如Winter等人，美國專利第5,624,821號；Tso等人，美國專利第5,834,597號；及Lazar等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 103:4005, 2006)，或延長在人類中之半衰期(參見，例如Hinton等人，*J. Biol. Chem.* 279:6213, 2004)。

恆定區可經修飾以允許藥物-連接子之位點特異性結合。該種技術包括使用天然存在或經工程改造之半胱胺酸殘基、雙硫鍵、聚組胺酸序列、糖基工程改造標籤及轉麩醯胺酸酶識別序列。對於使用細菌轉麩醯胺酸酶之位點特異性結合之例示性取代為N297S或N297Q。對於使用經工程改造之半胱胺酸之位點特異性結合之例示性取代為S239C。抗體片段亦可經修飾用於藥物-連接子之位點特異性結合，參見例如 Kim等人，*Mol Cancer Ther* 2008;7(8)。

B. 重組抗體之表現

人類化或嵌合7G3抗體可藉由重組表現來產生。重組聚核苷酸構築體通常包括可操作地連接至抗體鏈之編碼序列之表現控制序列，包括天然締合或異源啟動子區。較佳地，表現控制序列為在能夠轉型或轉染真核宿主細胞之載體中之真核啟動子系統。一旦載體已併入至適當宿主中，宿主就維持在適合核苷酸序列之高表現量及交叉反應抗體

之收集和純化之條件下。

哺乳動物細胞為用於表現編碼免疫球蛋白或其片段之核苷酸區段的較佳宿主。參見 Winnacker, *From Genes to Clones*, (VCH Publishers, NY, 1987)。能夠分泌完整異源蛋白質之多個適合之宿主細胞株已在此項技術中開發，且包括CHO細胞株(例如，DG44)、各種COS細胞株、HeLa細胞、HEK293細胞、L細胞及非抗體產生骨髓瘤(包括Sp2/0及NS0)。較佳地，細胞為非人類的。對於該等細胞之表現載體可包括表現控制序列，諸如複製起點、啟動子、強化子(Queen等人, *Immunol. Rev.* 89:49 (1986))，及必需的處理資訊位點，諸如核糖體結合位點、RNA剪接位點、聚腺苷酸化位點以及轉錄終止子序列。較佳表現控制序列為來源於內源基因、巨細胞病毒、SV40、腺病毒、牛乳頭瘤病毒及其類似物之啟動子。參見Co等人, *J. Immunol.* 148:1149 (1992)。

一旦表現，抗體就可根據此項技術之標準程序(包括HPLC純化，管柱層析、凝膠電泳及其類似程序)純化(通常參見，Scopes, *Protein Purification* (Springer-Verlag, NY, 1982))。

IV. 核酸

本發明進一步提供編碼本文所述之人類化重鏈及輕鏈中任一者之核酸。通常，核酸亦編碼與成熟重鏈及輕鏈可變區融合之信號肽。核酸上之編碼序列可與調節序列可操作鍵聯以保證編碼序列諸如啟動子、強化子、核糖體結合位點、轉錄終止信號及其類似物之表現。編碼重鏈及輕鏈之核酸可以經分離形式出現或可選殖至一或多個載體中。核酸可藉由例如重疊寡核苷酸之固態合成或PCR合成。編碼重鏈及輕鏈之核酸可接合為一個連續核酸，例如在一個表現載體內，或可為單獨的，例如各選殖至其自身表現載體中。

在一個實施例中，本發明提供編碼抗體重鏈可變區(包含如HA、

HB或HC中所闡述之胺基酸序列)之經分離的聚核苷酸。舉例而言，經分離的聚核苷酸可編碼包含胺基酸序列SEQ ID NO:1之抗體重鏈可變區。該經分離的聚核苷酸可進一步編碼人類IgG重鏈恆定區。IgG恆定區之同型為例如IgG1、IgG2、IgG3或IgG4。在一個實施例中，IgG恆定區之同型為IgG1。在另一個實施例中，經編碼之IgG1恆定區具有包含根據如Kabat系統中所闡述之EU索引在殘基239處之取代之胺基酸序列，亦即S239C。本發明亦提供包含經分離聚核苷酸之表現載體，該經分離聚核苷酸編碼包含如HA、HB或HC中所闡述之胺基酸序列之抗體重鏈可變區(例如SEQ ID NO: 1或其變體)，及另外提供包含表現載體之宿主細胞。在一些實施例中，宿主細胞為哺乳動物宿主細胞，例如CHO細胞。

在另一個實施例中，本發明提供編碼抗體輕鏈可變區之經分離聚核苷酸，該抗體輕鏈可變區包含如LA或LB中所闡述之胺基酸序列。舉例而言，經分離聚核苷酸編碼包含胺基酸序列SEQ ID NO:2之抗體輕鏈可變區。該經分離聚核苷酸可進一步編碼人類IgG輕鏈恆定區。IgG輕鏈恆定區之同型為例如 κ 恆定區。本發明亦提供包含經分離聚核苷酸之表現載體，該經分離聚核苷酸編碼包含如LA或LB中所闡述之胺基酸序列之抗體輕鏈可變區(例如，SEQ ID NO:2或其變體)，且另外提供包含表現載體之宿主細胞。在一些實施例中，宿主細胞為哺乳動物宿主細胞，例如CHO細胞。

在另一個實施例中，本發明提供一種或多種經分離聚核苷酸，該或該等經分離聚核苷酸編碼包含胺基酸序列SEQ ID NO:1之抗體重鏈可變區及包含胺基酸序列SEQ ID NO:2之抗體輕鏈可變區，該重鏈可變域及該輕鏈可變域形成特異性結合至人類CD123之抗體或抗原結合片段。本發明亦提供包含該或該等經分離聚核苷酸之表現載體，該或該等經分離聚核苷酸編碼包含胺基酸序列SEQ ID NO:1之抗體重鏈

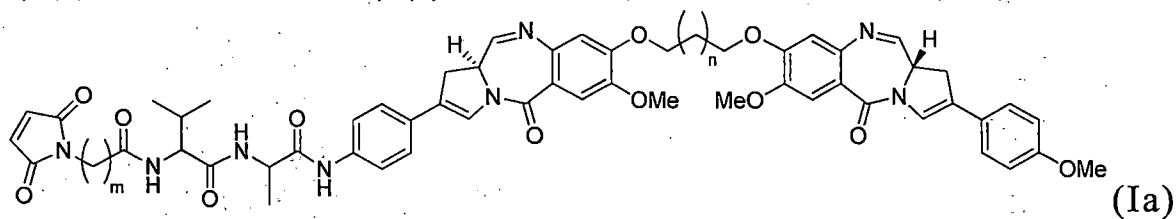
可變區及包含胺基酸序列SEQ ID NO:2之抗體輕鏈可變區。亦提供包含表現載體之宿主細胞。宿主細胞較佳為哺乳動物細胞，例如CHO細胞。

在另一個實施例中，本發明提供第一載體和第二載體，其包含編碼包含胺基酸序列SEQ ID NO:1之抗體重鏈可變區之聚核苷酸及編碼包含胺基酸序列SEQ ID NO:2之抗體輕鏈可變區之聚核苷酸，該重鏈可變域及該輕鏈可變域形成特異性結合至人類CD123之抗體或抗原結合片段。提供包含載體之宿主細胞，較佳為哺乳動物宿主細胞，諸如CHO細胞。

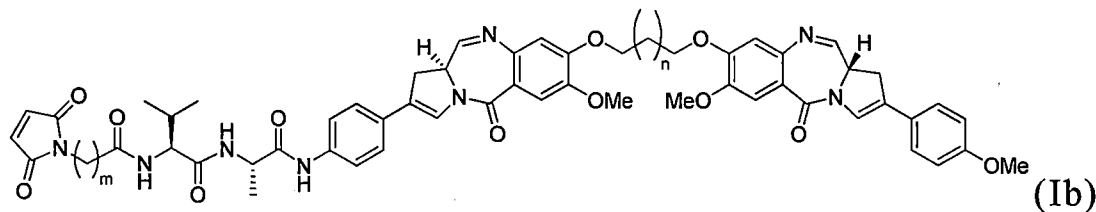
V. 抗體-藥物共軛物

抗CD123抗體可結合至細胞毒性部分或細胞生長抑制部分以形成抗體-藥物共軛物(ADC)。用於與抗體結合之特別適合之部分為細胞毒性劑(例如化學治療劑)、前藥轉化酶、放射性同位素或化合物或毒素(該等部分共同稱為治療劑)。舉例而言，抗CD123抗體可結合至細胞毒性劑諸如化學治療劑或毒素(例如，細胞生長抑制劑或殺細胞劑諸如相思子毒素、蓖麻毒素A、綠膿桿菌外毒素或白喉毒素)。適用類別之細胞毒性劑之實例包括例如DNA小溝結合劑、DNA烷基化劑及微管干擾劑。例示性細胞毒性劑包括例如奧瑞他汀、喜樹鹼、卡奇黴素、倍癌黴素、依託泊苷、類美登醇(例如DM1、DM2、DM3、DM4)、紫杉烷、苯并二氮呋(例如吡咯并[1,4]苯并二氮呋、吲哚啉并苯并二氮呋及噁唑啉并苯并二氮呋)及長春花屬生物鹼。例示性抗體-藥物共軛物包括奧瑞他汀類抗體-藥物共軛物(意謂藥物組分為奧瑞他汀藥物)、類美登醇抗體-藥物共軛物(意謂藥物組分為類美登醇藥物)及苯并二氮呋抗體藥物共軛物(意謂藥物組分為苯并二氮呋(例如，吡咯并[1,4]苯并二氮呋、吲哚啉并苯并二氮呋及噁唑啉并苯并二氮呋))。

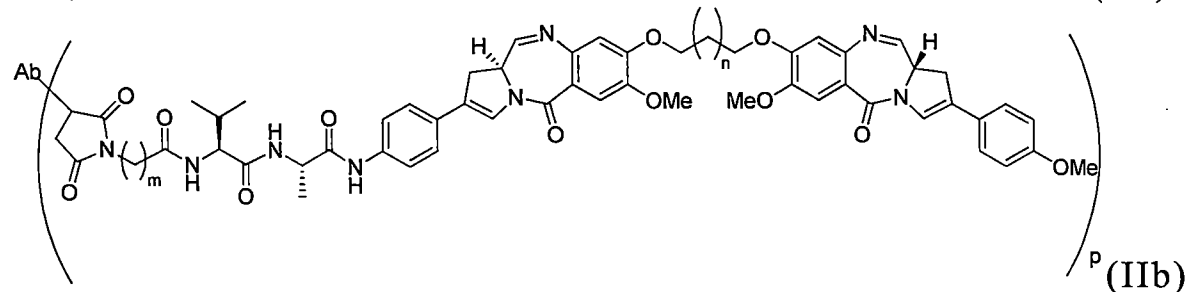
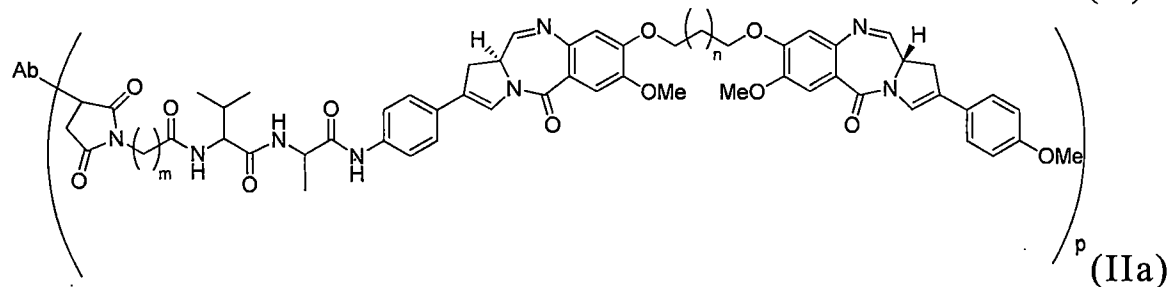
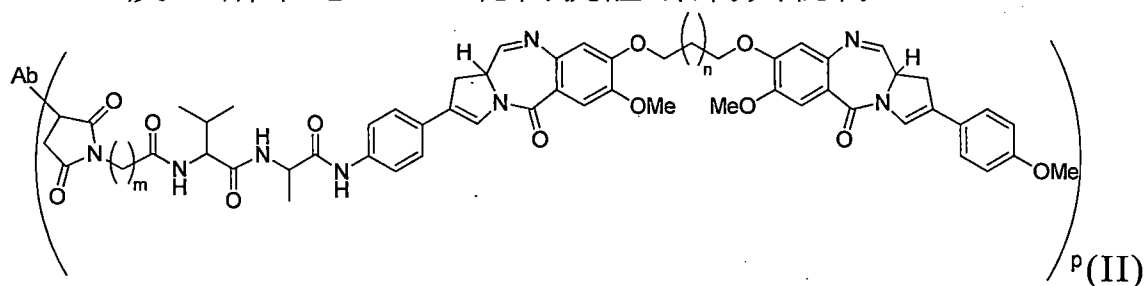
藥物-連接子之PBD藥物組分之較佳立體化學如以下式Ia所示：



SGD-1910 PBD藥物-連接子之PBD藥物及連接子組分之較佳立體化學如以下式Ib所示：



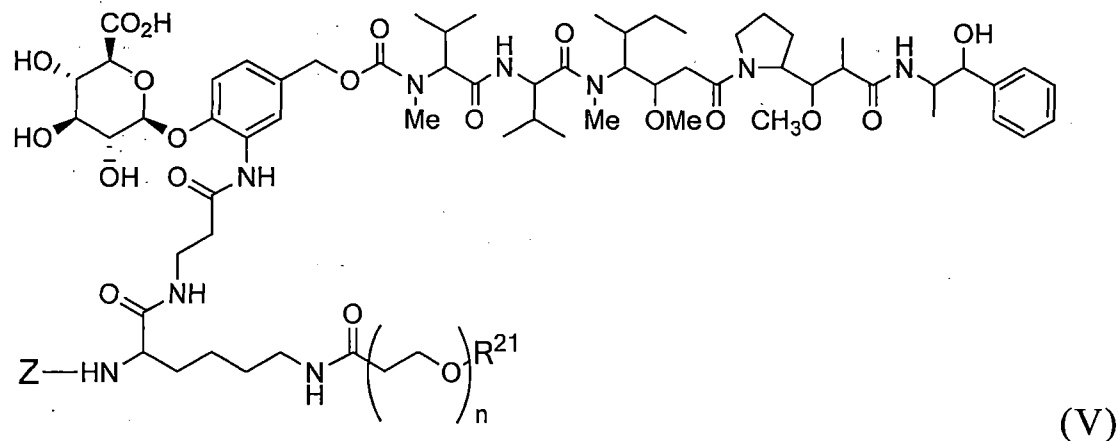
PBD藥物-連接子結合至本發明之人類化CD123抗體以產生如下式II、IIa及IIb所示之CD123靶向抗體-藥物共軛物



或醫藥學上之鹽、溶劑合物或該鹽之溶劑合物；其中下標n為1或3；下標m為2至5之整數；以及下標p為1至4之整數。

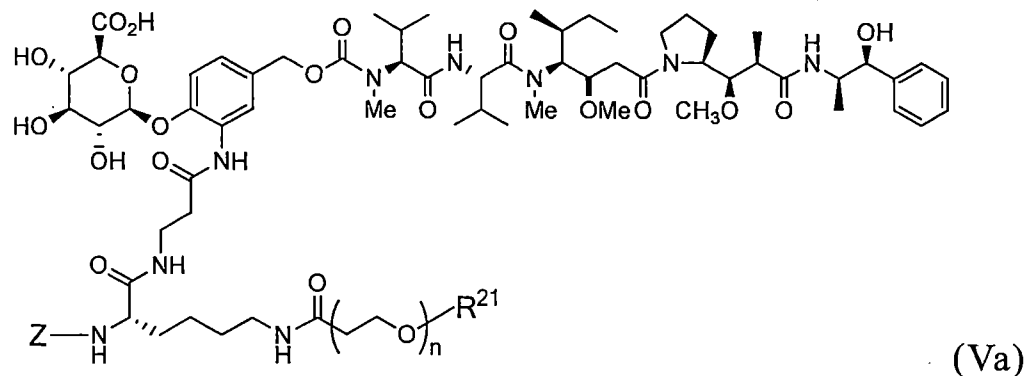
例示性藥物-連接子包括MMAE藥物-連接子。相比於非聚乙二醇化對照，聚乙二醇聚合物作為側鏈併入至可裂解 β -葡萄糖醛酸MMAE

藥物-連接子中提供在異種移植模型中具有減小的血漿清除率及增大的抗腫瘤活性之抗體藥物-共軛物。因此，用於連接至本發明之抗體之特別有利的藥物-連接子為如下：



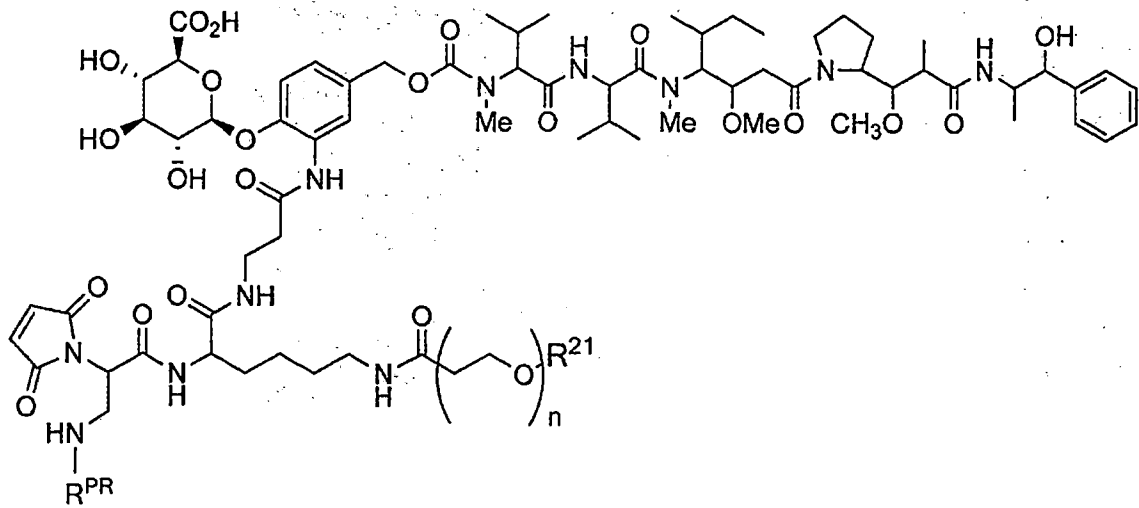
或其醫藥學上可接受之鹽。

該種藥物-連接子之較佳立體化學在以下展示：

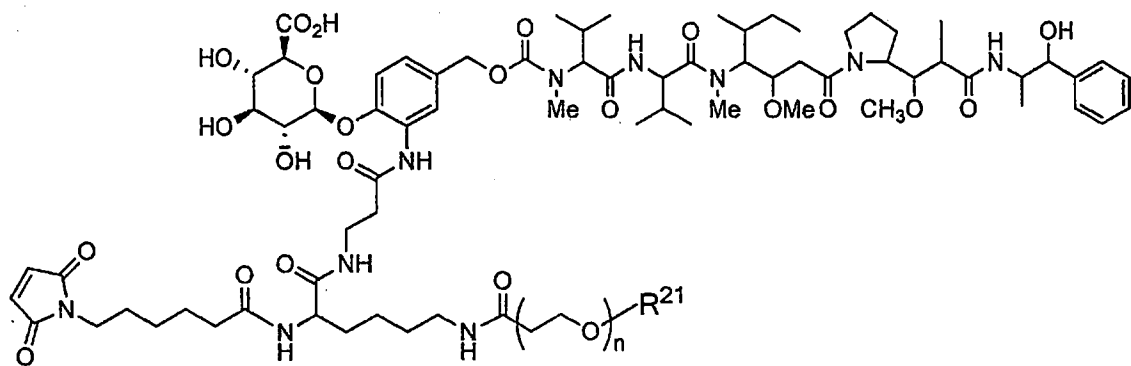


或其醫藥學上可接受之鹽，其中對於式V及Va，Z表示有機部分，其具有能夠與抗體上之官能基反應以形成共價連接的反應性位點，n在8至36之範圍內且最佳在8至14(最佳12)之範圍內，R²¹為用於聚乙二醇部分之封端單元，較佳地為-CH₃或-CH₂CH₂CO₂H。

較佳Z部分為含順丁烯二醯亞胺基之部分。尤佳Z部分展示於以下藥物-連接子中：



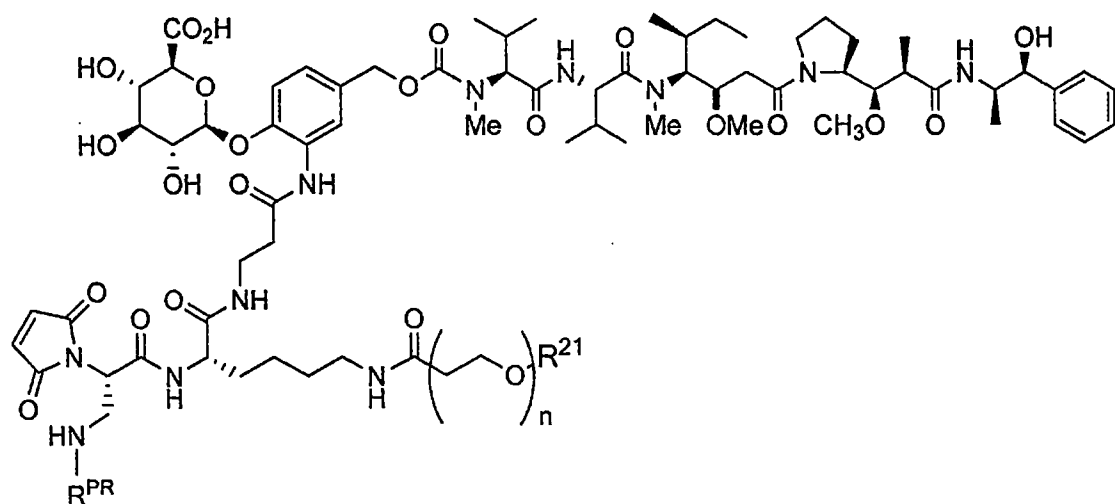
(VI)



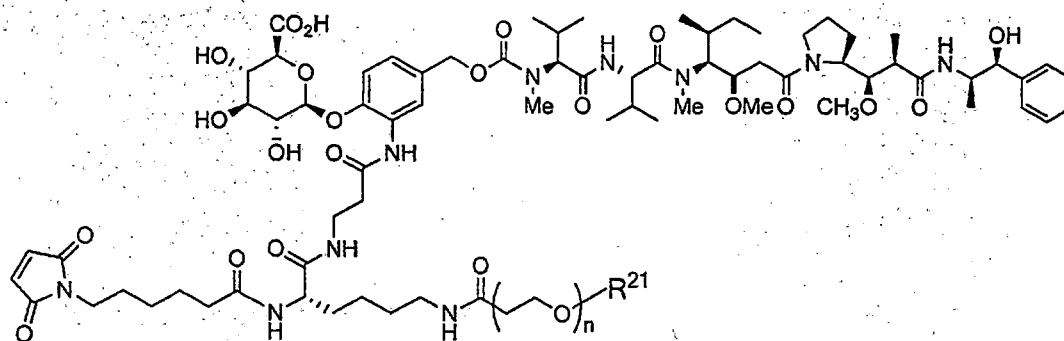
(VII)

或其醫藥學上可接受之鹽。

對於該種藥物-連接子之較佳立體化學在以下展示：



(VIa)



(VIIa)

或其醫藥學上可接受之鹽，其中對於式VI、VIa、VII及VIIa， n 在8至36之範圍內且最佳在8至14(最佳12)之範圍內， R^{PR} 為氫或保護基，例如酸不穩定保護基，例如BOC， R^{21} 為用於聚乙二醇部分之封端單元，較佳地為 $-CH_3$ 或 $-CH_2CH_2CO_2H$ 。

如上所指出， R^{PR} 可為氫或保護基。如本文所用之保護基係指選擇性阻斷(暫時或永久地)多官能化合物中之反應性位點之基團。保護基為當其能夠在實現分子中之別處之所期望化學轉變所需的反應條件下及在需要時純化新形成分子期間防止或避免非所需副反應或保護基之過早損失且可在不有害影響新形成分子之結構或立體化學完整性之條件下移除時之適合之保護基。適合之胺類保護基包括酸不穩定氮保護基，包括Isidro-Llobel等人「Amino acid-protecting groups」*Chem. Rev.* (2009) 109: 2455-2504所提供之彼等保護基。通常，酸不穩定氮保護基將一級胺基或二級胺基轉變成其對應胺基甲酸酯且包括含第三丁基、烯丙基及苄基胺基甲酸酯。

如上所指出， R^{21} 為聚乙二醇部分之封端單元。如熟習此項技術者將瞭解，聚乙二醇單元可藉由多種有機部分(通常相對無反應性之彼等有機部分)末端封端。烷基及經取代烷基為較佳的，包括例如 $-C_{1-10}$ 烷基、 $-C_{2-10}$ 烷基- CO_2H 、 $-C_{2-10}$ 烷基-OH、 $-C_{2-10}$ 烷基- NH_2 、 C_{2-10} 烷基- $NH(C_{1-3}$ 烷基)或 C_{2-10} 烷基- $N(C_{1-3}$ 烷基) $_2$ 。

通常，對於聚乙二醇化MMAE藥物-連接子，存在1至16個連接於各抗體之藥物-連接子。

載藥量-「p」

提及式II、IIa及IIb之CD123靶向抗體-藥物共軛物，下標p表示抗體分子之載藥量（連接於抗體分子之藥物之分子之數目）且為整數值。在包含抗體-藥物共軛物分子之群體之組合物中，平均載藥量（例如，群體中每抗體藥物-連接子分子之平均數目）為重要品質屬性，因為其決定可遞送至靶細胞之藥物的量。平均載藥量可為整數或非整數值但通常為非整數值。最佳平均載藥量將視藥物或藥物-連接子組合之身分而變化。

在一些態樣中，抗體-藥物共軛物組合物之異質性將視用於將藥物-連接子分子結合至抗體分子之結合技術而定。舉例而言，在一些態樣中，用於將藥物-連接子分子結合至抗體分子之結合技術將得到（例如，當使用非位點特異性技術經由鏈間二硫化物結合時）相對於藥物-連接子分子在抗體上之分佈及/或相對於藥物-連接子在抗體分子上之數目為異質之抗體-藥物共軛物組合物。在其他態樣中，用於結合藥物-連接子分子之結合技術將得到（例如，當使用位點特異性結合技術時）相對於藥物-連接子分子在配位體分子上之分佈及/或相對於藥物-連接子分子在抗體分子上之數目為實質上同質之抗體-藥物共軛物組合物。在位點特異性及非位點特異性方法兩者之情況下，通常亦將存在小百分比之未結合抗體分子。未結合抗體分子之百分比包括於平均載藥量值中。

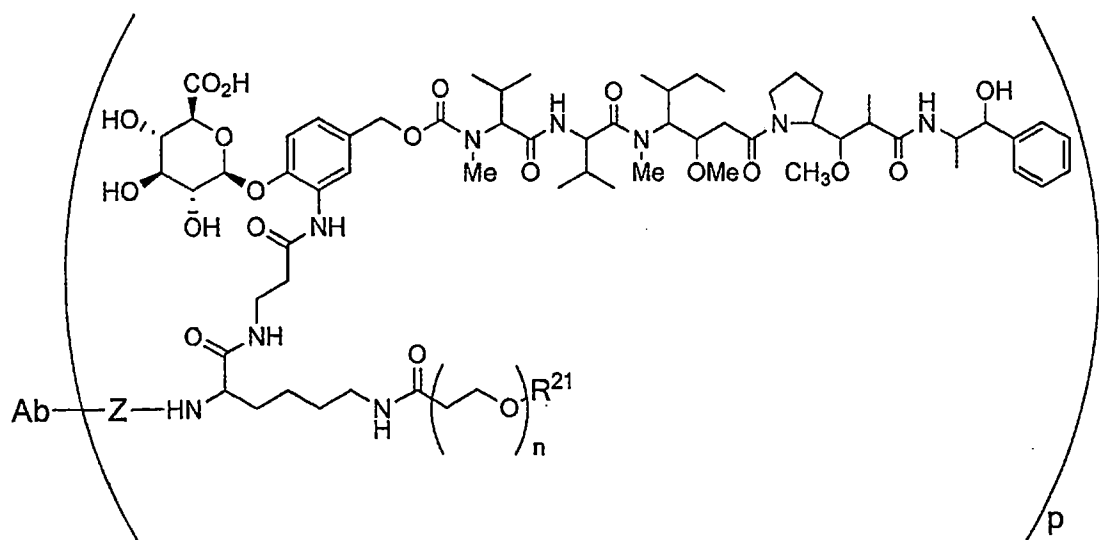
在本發明之較佳態樣中，當參考提及包含抗體-藥物共軛物化合物之群體之組合物時，平均載藥量為約2至約14，較佳地約2至約10。對於PBD抗體藥物共軛物，諸如本文例示之彼等，尤佳平均載藥量為約2。在一些態樣中，對於在抗體-藥物共軛物化合物之群體中之單個

抗體分子之實際載藥量為1至4，1至3或1至2，優勢載藥量為2。在較佳態樣中，經由位點特異性結合技術(例如經工程改造之半胱胺酸引入抗體)實現約2之平均載藥量。

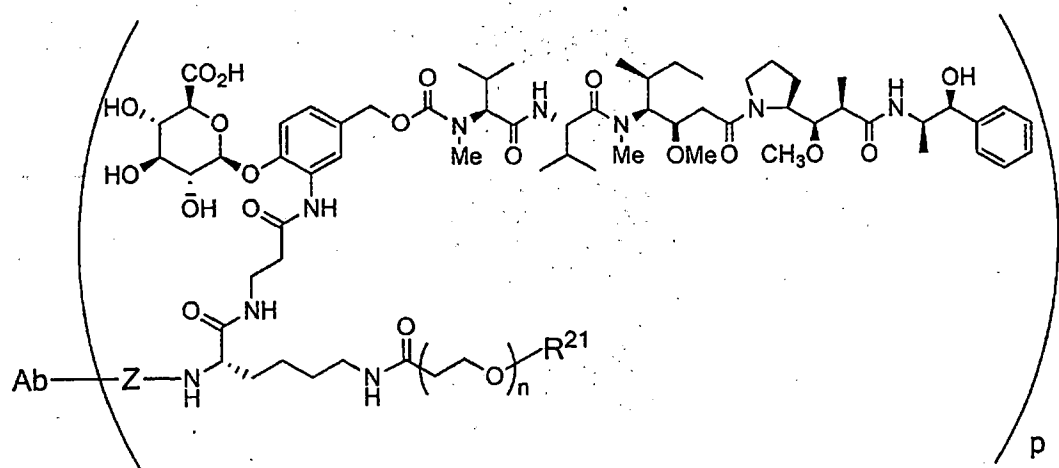
在本發明之一些其他態樣中，當提及包含抗體-藥物共軛物化合物之群體之組合物時，平均載藥量為約3或約4且對於在抗體-藥物共軛物化合物之群體中之單個抗體分子之實際載藥量為1至8。

對於MMAE聚乙二醇化ADC，諸如本文例示之彼等，尤佳平均載藥量為約8。在例示性實施例中，將藥物-連接子結合至經還原鏈間二硫化物之半胱胺酸殘基。在一些態樣中，對於在抗體-藥物共軛物化合物之群體中之單個抗體分子之實際載藥量為1至10(或6至10或6至8)，其中優勢載藥量為8。舉例而言，若除了鏈間二硫化物之外，將藥物-連接子結合至引入之半胱胺酸殘基(諸如根據EU索引在位置239處引入之半胱胺酸殘基)，則可實現較高載藥量。

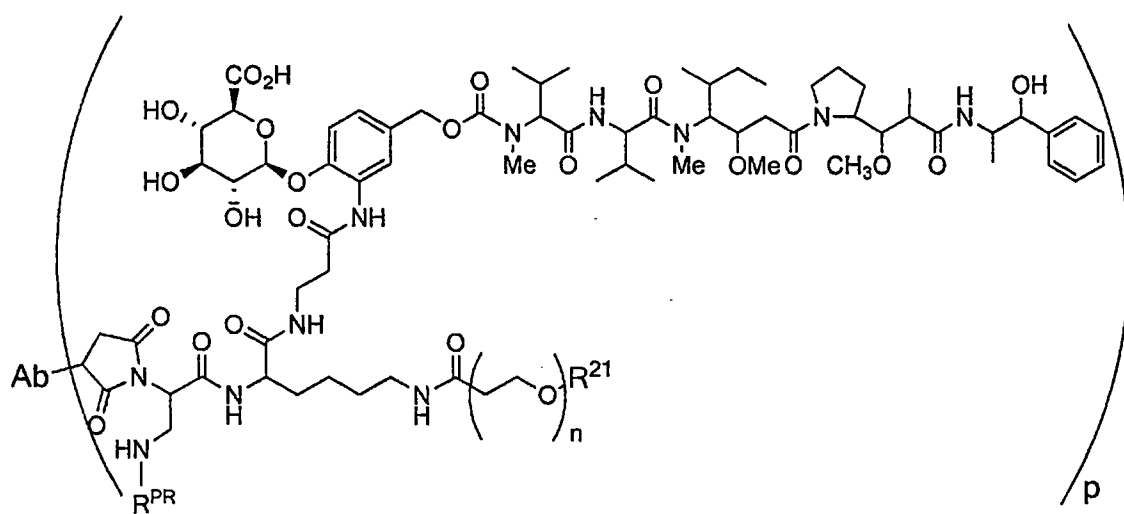
例示性ADC包括以下：



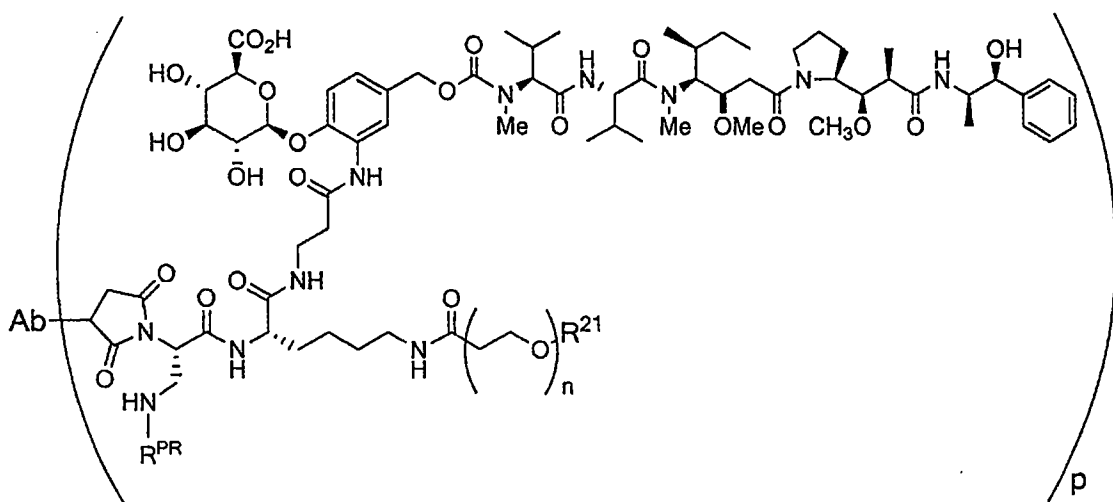
(IX)



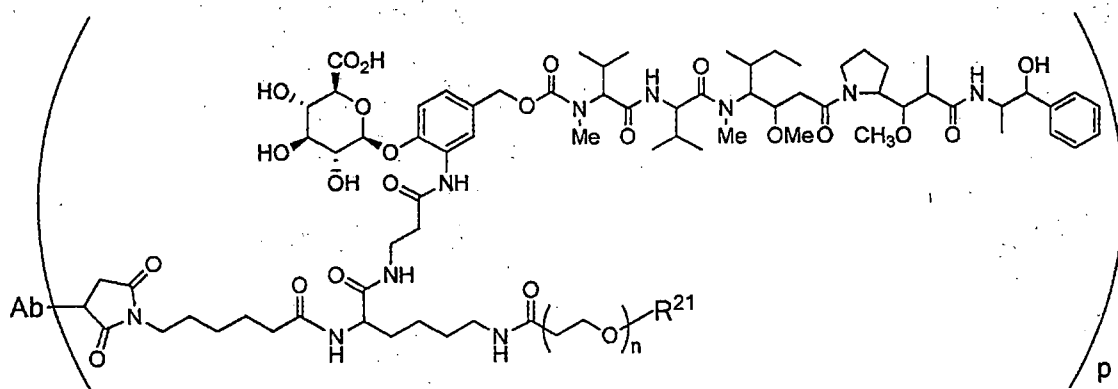
(IXa)



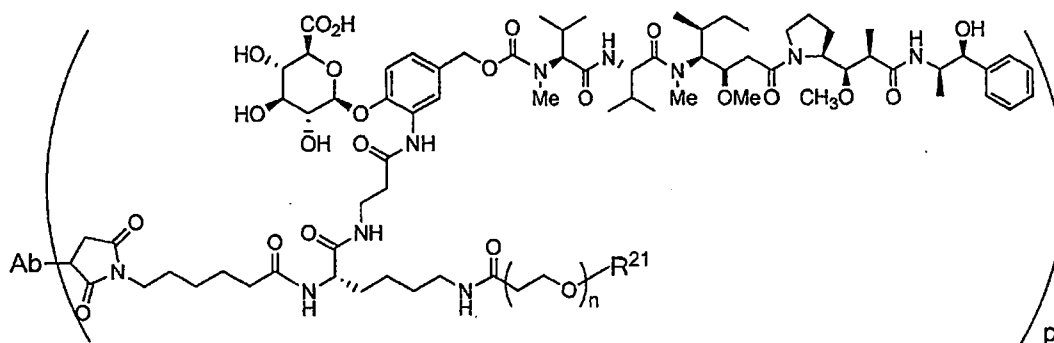
(X)



(Xa)



(XI)



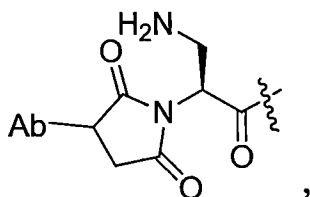
(XIa)

或其醫藥學上可接受之鹽，其中 n 在8至36之範圍內且最佳在8至14(最佳12)之範圍內， R^{PR} 為氫或保護基，例如酸不穩定保護基，例如BOC， R^{21} 為對於聚乙二醇部分之封端單元，較佳地為 $-\text{CH}_3$ 或 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$ ，Ab表示抗CD48抗體且 p 表示在1至16範圍內之整數，較佳地當提及單個抗體分子或提及平均約4或約6至約14之載藥量時為1至14、6至12、6至10或8至10，較佳地當提及抗體分子之群體時為約8。

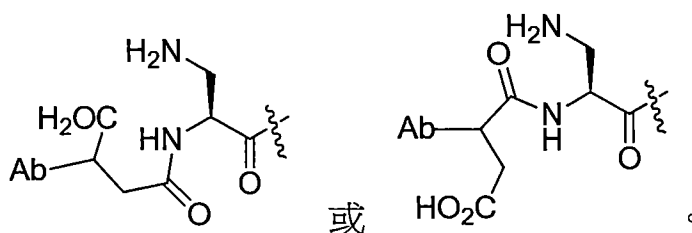
如上所指出，藥物連接子之PEG(聚乙二醇)部分可在8至36之範圍內，然而已發現12個環氧乙烷單元之PEG是尤佳的。已發現較長PEG鏈可得到較慢之清除率而較短PEG鏈可得到減弱之活性。因此，在上述所有實施例中之下標 n 較佳地為8至14、8至12、10至12或10至14且最佳為12。

多分散PEG、單分散PEG及離散PEG可用於製備本發明之聚乙二醇化抗體藥物共軛物。多分散PEG為各尺寸及分子量之異質混合物，而單分散PEG通常自異質混合物純化且因此提供單鏈長及分子量。較佳PEG單元為離散PEG，即以逐步方式且不經由聚合方法合成之化合物。離散PEG提供具有規定及指定鏈長之單一分子。對於下標「p」，當提及抗體-藥物共軛物之群體時，下標「n」之值可為平均數且可為整數或非整數數值。

在較佳實施例中，抗體至藥物-連接子之共價連接經由抗體之硫氫基官能基與藥物連接子之順丁烯二醯亞胺官能基相互作用以形成硫取代之丁二醯亞胺來實現。硫氫基官能基可以配位體之天然狀態(例如以天然存在之殘基(鏈間二硫化物殘基))存在於配位體單元上，或可經由化學修飾或藉由生物工程改造或兩者之組合引入至配位體中。應理解，抗體取代之丁二醯亞胺可以(一或多種)水解形式存在。舉例而言，在較佳實施例中，ADC由丁二醯亞胺部分組成，該部分在結合至抗體時由以下之結構表示



或由其對應酸-醯胺部分組成，該部分在結合至抗體時由以下之結構表示：



波浪線指示至藥物-連接子之其餘部分之鍵。

在自結合反應之製備中每配位體單元之藥物連接子單元平均數

可藉由習知手段(諸如質譜法、ELISA分析、HIC及HPLC)表徵。亦可根據 p 確定配位體-連接子-藥物共軛物之定量分佈。在一些情況下，其中 p 為來自具有其他載藥量之配位體-藥物共軛物的特定值，可藉由諸如逆相HPLC或電泳之手段來實現均質配位體-藥物共軛物之分離、純化及表徵。

VI. 治療應用

本文所述之CD123靶向抗體-藥物共軛物可用於治療表現CD123之病症，諸如表現CD123之癌。通常該種癌症展示以蛋白質(例如藉由免疫測定)或RNA含量量測的可檢測含量之CD123。一些此類癌症展示相對於相同類型之非癌性組織(較佳地來自相同患者)較高含量之CD123。視情況，在進行治療之前量測癌症中CD123之含量。

與CD123表現相關的癌症之實例包括骨髓疾病諸如急性骨髓性白血病(AML)及骨髓發育不良症候群(MDS)。其他癌症包括B細胞急性淋巴母細胞白血病(B-ALL)、毛細胞白血病、范康尼氏貧血(Fanconi anemia)、母細胞性漿細胞樣樹突狀細胞贅瘤(BPDCN)、霍奇金氏病、不成熟T細胞急性淋巴母細胞白血病(不成熟T-ALL)、伯基特氏淋巴瘤、濾泡性淋巴瘤、慢性淋巴球性白血病(CLL)或套細胞淋巴瘤。

本發明之方法包括治療患有表現CD123之癌症之患者，包含投與患者本發明之抗體-藥物共軛物。癌症可為任何表現CD123之癌，包括例如AML、MDS、B-ALL、毛細胞白血病、范康尼氏貧血、BPDCN、霍奇金氏病、不成熟T-ALL、伯基特氏淋巴瘤、濾泡性淋巴瘤、CLL或套細胞淋巴瘤。

在蛋白質之表現增加使得治療劑自癌細胞流出增加之後，一些癌細胞產生對該治療劑之耐性。此類蛋白質包括P-糖蛋白、多重耐藥性相關蛋白、肺耐藥性相關蛋白及乳癌耐藥性蛋白。癌細胞中耐藥性之偵測可由技術人員執行。偵測流出蛋白質之抗體或分析法可自例如

Promega, Millipore, Abcam及Sigma-Aldrich購得。欲藉由本方法治療之癌症可為表現CD123之多重耐藥性癌症。在一些態樣中，癌症將為多重耐藥性CD123+ AML。

CD123定向之抗體-藥物共軛物係以有效方案投與，意謂延遲發病、降低嚴重度、抑制進一步惡化及/或改善癌症之至少一個病徵或症狀之劑量、給藥途徑及給藥頻率。

CD123定向共軛物之例示性劑量包括約1.0 µg/kg至約10 mg/kg、1.0 µg/kg至約5 mg/kg、1.0 µg/kg至約5 mg/kg、約1.0 µg/kg至約1.0 mg/kg、約10 µg/kg至約3 mg/kg、約10 µg/kg至約2 mg/kg、約1.0 µg/kg至1.0 mg/kg，或約1.0 µg/kg至500.0 µg/kg，或約1.0 µg/kg至80.0、100.0或200.0 µg/kg。

儘管設想替代劑量，但CD123定向PBD共軛物之例示性劑量一般為約1.0 µg/kg至1.0 mg/kg，或約1.0 µg/kg至500.0 µg/kg，或約1.0 µg/kg至80.0、100.0或200.0 µg/kg。

可藉由多種給藥途徑給藥。在某些實施例中，共軛物非經腸(諸如靜脈內、肌內或皮下)投與。對於治療癌症之ADC給藥，可藉由靜脈內或皮下給藥遞送至全身循環中。在特定實施例中，給藥係經由靜脈內遞送。靜脈內給藥可例如藉由輸注一段時間(諸如30-90分鐘)或藉由單次推注(bolus injection)。在一些態樣中，給藥將經由緩慢靜脈內推進(亦即在30-60秒內)周邊插入式中心導管中。

給藥頻率視許多不同因素而定，包括給藥手段、靶點、患者之生理狀態，患者為人類抑或動物及投與之其他藥劑。響應於病患之病徵或所治療癌症之進展中之變化，頻率可為每天、每週、每月、每季或為不規律時間間隔。儘管或多或少頻繁之給藥亦為可能的，但對於靜脈內給藥之例示性頻率為在治療之連續病程內在每週兩次與每季一次之間。儘管或多或少頻繁之給藥亦為可能的，但對於靜脈內給藥之

其他例示性頻率為在治療之連續病程內每三週一次或在每週一次或每月一次之間。儘管或多或少頻繁之給藥亦為可能的，但對於皮下給藥，例示性給藥頻率為每天一次至每月一次。

用於非經腸給藥之醫藥組合物較佳為無菌且實質上等張性的並且在GMP條件下製備。醫藥組合物可以單位劑型(亦即，單次給藥之劑量)提供。醫藥組合物可使用一或多種生理上可接受之載劑、稀釋劑、賦形劑或助劑來調配。調配視所選給藥途徑而定。對於注射，共軛物可調配於水溶液中，較佳調配於生理上相容的緩衝液中，諸如漢克氏溶液(Hank's solution)、林格氏溶液(Ringer's solution)或生理鹽水或乙酸鹽緩衝液(以降低注射部位處之不適)。溶液可含有調配劑，諸如懸浮劑、穩定劑及/或分散劑。可替代地，抗體可呈凍乾形式用於在使用之前用適合之媒劑例如無菌無熱原質水復原。在液體調配物中之共軛物之濃度可廣泛變化。在一些態樣中，ADC以約0.5 mg/ml至約30 mg/ml、約0.5 mg/ml至約10 mg/ml、約1 mg/ml至約10 mg/ml、約2 mg/ml至約10 mg/ml或約2 mg/ml至約5 mg/ml之濃度存在。

用本發明之共軛物治療可與化學療法、放射、幹細胞治療、手術及對所治療病症有效之其他治療(包括對所治療之特定病症的標準照護療法)組合。因此，本發明涵蓋治療本文所述疾病及病症之方法作為單一療法或與例如標準照護療法或用於治療此類疾病及/或病症之研究性藥物的組合療法。治療癌症之方法包括投與有需要的患者有效量的本發明之CD123定向抗體-藥物共軛物與額外抗癌劑或其他試劑的組合以治療癌症。

組合療法之一個實例包含7+3療程，涉及七天的阿糖胞苷及三天的蔥環黴素諸如(但不限於)道諾黴素或艾達黴素。在一個實施例中，阿糖胞苷及蔥環黴素之7+3療程以與本發明之CD123定向抗體-藥物共軛物的組合療法投與。在另一實施例中，阿糖胞苷及蔥環黴素之7+3

療程以與本發明之人類化7G3抗體-藥物共軛物之組合療法投與。在另一實施例中，阿糖胞苷及蔥環黴素之7+3療程以與本發明之h7G3EC-SGD-1910之組合療法投與。在一些實施例中，CD123定向抗體-藥物共軛物及7+3療程之組合施加到60歲或較年輕的患者。

組合療法之另一個實例包含如上文所述之7+3療程加克拉屈濱 (cladribine)。在一個實施例中，7+3療程加克拉屈濱以與本發明之CD123定向抗體-藥物共軛物之組合療法投與。在另一實施例中，7+3療程加克拉屈濱以與本發明之人類化7G3抗體-藥物共軛物之組合療法投與。在另一實施例中，7+3療程加克拉屈濱以與本發明之h7G3EC-SGD-1910之組合療法投與。

組合療法之另一個實例包含低甲基化試劑諸如(但不限於)地西他濱 (decitabine)或阿紮胞苷 (azacitidine)。在一個實施例中，低甲基化試劑以與本發明之CD123定向抗體-藥物共軛物之組合療法投與。在另一實施例中，低甲基化試劑以與本發明之人類化7G3抗體-藥物共軛物之組合療法投與。在另一實施例中，低甲基化試劑以與本發明之h7G3EC-SGD-1910之組合療法投與。

在一些實施例中，CD123定向抗體-藥物共軛物及低甲基化試劑之組合施加到未經治療、習知治療難醫治或在對此類治療產生反應之後復發之患者。在一些實施例中，CD123定向抗體-藥物共軛物及低甲基化試劑之組合用於治療老年患者，例如60歲或更年長之患者。其他虛弱或不合適患者可使用CD123定向抗體-藥物共軛物及低甲基化試劑之組合治療，例如，拒絕或不為標準誘導/鞏固治療之候選者之患者。另外，具有較差風險疾病特性之老年患者亦可使用該組合治療，考慮到不具有藉由充分化學療法所觀察到之益處。較差疾病風險特性為已知的且描述於例如Hou等人, *Leukemia* 28:50-58 (2014)。

用於組合療法之其他試劑及療法包括阿糖胞苷、高劑量阿糖胞

昔、羥脲、氟法拉濱、米托蒽醌、氟達拉濱、拓朴替康、依託泊昔、MEC(米托蒽醌、依託泊昔及阿糖胞苷)、CLAG-M(克拉屈濱、阿糖胞苷、米托蒽醌及非格司亭)及FLAG-IDA(氟達拉濱、阿糖胞苷、艾達黴素及非格司亭)。在一個實施例中，羥脲、氟法拉濱、米托蒽醌、氟達拉濱、拓朴替康、依託泊昔、MEC(絲裂黴素、依託泊昔及阿糖胞苷)、CLAG-M(克拉屈濱、阿糖胞苷、米托蒽醌及非格司亭)及FLAG-IDA(氟達拉濱、阿糖胞苷、艾達黴素及非格司亭)中之一或多種以與本發明之CD123定向抗體-藥物共軛物之組合療法投與。在另一實施例中，阿糖胞苷、高劑量阿糖胞苷、羥脲、氟法拉濱、米托蒽醌、氟達拉濱、拓朴替康、依託泊昔、MEC(米托蒽醌、依託泊昔及阿糖胞苷)、CLAG-M(克拉屈濱、阿糖胞苷、米托蒽醌及非格司亭)及FLAG-IDA(氟達拉濱、阿糖胞苷、艾達黴素及非格司亭)中之一或多種以與本發明之人類化7G3抗體-藥物共軛物之組合療法投與。

在另一實施例中，阿糖胞苷、高劑量阿糖胞苷、羥脲、氟法拉濱、米托蒽醌、氟達拉濱、拓朴替康、依託泊昔、MEC(米托蒽醌、依託泊昔及阿糖胞苷)、CLAG-M(克拉屈濱、阿糖胞苷、米托蒽醌及非格司亭)及FLAG-IDA(氟達拉濱、阿糖胞苷、艾達黴素及非格司亭)中之一或多種以與本發明之h7G3EC-SGD-1910之組合療法投與。

除非另外特別指示，否則本發明之任何特徵、步驟、元件、實施例或態樣可與任何其他組合使用。儘管出於清晰及理解的目的已經藉助於說明和實例相當詳細地描述了本發明，但顯而易見可在所附申請專利範圍之範圍內實踐某些變化及修改。

實例

方法

競爭結合分析

十萬個CD123-陽性細胞轉移至96孔板且與5 nM AlexaFluor-488

標記m7G3及漸增濃度(0.01 nM至680 nM)之未標記混合人類化或鼠類7G3 mAb在冰上培育1小時。細胞經離心，用PBS洗滌3次，且再懸浮於125 μ L之PBS+ 1% BSA溶液中。使用流式細胞儀分析螢光，且飽和螢光信號之百分比用於確定所結合之標記7G3 mAb百分比。藉由將資料與具有可變斜率之S形劑量-反應曲線擬合來外推EC50。

飽和度結合分析

十萬個CD123-陽性細胞(經轉染以表現人類或獼猴CD123之HEK-293F細胞)轉移至96孔板。AlexaFluor-488標記CD123 mAb以1250 nM至13.5 pM之範圍內的濃度添加且細胞在冰上培育30分鐘。細胞藉由離心造粒，用PBS+ 1% BSA溶液洗滌3次，且再懸浮於125 μ L之PBS+ 1% BSA中。使用流式細胞儀分析螢光，且飽和螢光信號之百分比用於確定所結合之百分比且用於隨後計算表觀Kd。

活體外細胞毒性分析

在37°C下用抗體-藥物共軛物(ADC)處理AML細胞株或初生AML細胞96小時。在一些實驗中，非抗原結合ADC作為陰性對照被包括。根據製造商說明書，使用CelltiterGlo(Promega Corporation, Madison, WI)量測細胞株之細胞生存力。在室溫下用CelltiterGlo反應劑培育細胞25分鐘，且在Envision盤讀取器(Perkin Elmer, Waltham, MA)上量測螢光。對於初生AML細胞，使用Annexin V及碘化丙錠染色藉由流式細胞測量術量測AML母細胞之成活力。結果報導為IC50，與經媒劑處理的細胞(對照=100%)相比較，所需之化合物濃度產生50%降低之成活力。

活體內活性研究

皮下AML模型

SCID小鼠皮下接種有 5×10^6 個THP-1或 2×10^6 KG-1 AML腫瘤細胞。用測徑規監測腫瘤生長且使用公式($0.5 \times [\text{長度} \times \text{寬度}^2]$)計算平均

腫瘤體積。當平均腫瘤體積達到約 100 mm^3 時，小鼠($n=8/\text{組}$)不經治療或腹膜內給予單次劑量之CD123 ADC或非結合對照ADC。對於KG-1模型，在投與治療劑之前約4小時用人類IVIg(10 mg/kg 之單次腹膜內注射)治療小鼠以將測試ADC與AML細胞上之Fc受體的相互作用降至最小。當腫瘤體積達到約 1000 mm^3 時對小鼠進行安樂死。在由機構動物護理及使用委員會(Institutional Animal Care and Use Committee)審批通過之協議下在實驗動物護理評估和認可委員會(Association for Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care)認可之設備中進行所有動物程序。

抗體藥物共軛物之產生

使用本文所述之抗CD123抗體如WO2011/130613中所描述製備抗體藥物共軛物。IgG1 mAb之半胱胺酸突變體的製備一般描述於US20100158909中。將藥物-連接子SGD-1910經由在抗體之IgG1鏈之位置239處引入的半胱胺酸殘基之硫醇基結合至抗CD123抗體，且平均載藥量為每抗體約2藥物。在位置239處具有半胱胺酸之抗體帶有標示EC。

結果

人類化mAb之設計及測試

使用hIGHv1-2.02/IGHJ1.01重鏈可變區人類生殖系及hIGKV4-1.01/IGHJ2.01輕鏈可變區人類生殖系作為人類接受體序列構建若干人類化7G3抗體。抗體在選擇待要突變回小鼠抗體或小鼠生殖系序列之胺基酸殘基方面不同。根據其相較於其他變體之(i)結合特徵、(ii)遞送藥物之能力及(iii)回復突變之數目，選擇稱為HCLA (如SEQ ID NO:1中所闡述之重鏈(vHC)及如SEQ ID NO:2中所闡述之輕鏈(vLA))之抗體作為前導人類化7G3抗體。

稱為HALA之抗體(具有稱為vHA之重鏈可變區及稱為vLA之輕鏈

可變區之抗體)、HALB之抗體(具有稱為vHA之重鏈可變區及稱為vLB之輕鏈可變區之抗體)、HBLA之抗體(具有稱為vHB之重鏈可變區及稱為vLA之輕鏈可變區之抗體)、HBLB之抗體(具有稱為vHB之重鏈可變區及稱為vLB之輕鏈可變區之抗體)、HCLB之抗體(具有稱為vHC之重鏈可變區及稱為vLB之輕鏈可變區之抗體)可在本發明中用來代替HCLA抗體。vHA、vHB、vHC、vLA及vLB序列參見圖5及圖6。不論對表現CD123之AML細胞株(表1)抑或過度表現人類或獼猴CD123之HEK293細胞(表2)進行測試,7G3之嵌合及各種人類化形式的結合親和力係類似的。

表1-對於人類化CD123 mAb變體在表現人類CD123之Molm-13 AML細胞上之EC50結合測定

7G3變體	Molm-13
	EC50 (nM)
m7G3	4.3
嵌合7G3	2.0
HALA	5.5
HALB	4.1
HBLA	2.8
HBLB	3.5
HCLA	2.6
HCLB	2.1

表2-對於表現人類及獼猴CD123之細胞之人類化CD123 mAb之親和力量測

7G3變體	HEK293F-hCD123	HEK293F-cyno CD123
m7G3	2.7 nM	4.6 nM
嵌合7G3	2.7	4.7
h7G3, G1	2.7	5.3
h7G3EC	2.7	6.6

h7G3EC-SGD-1910之活體外抗腫瘤活性

用一組表現CD123及CD33兩者之AML細胞株對結合至SGD-1910(吡咯并苯并二氮呋二聚體藥物-連接子)的h7G3EC抗體之細胞毒活性進行評價。活性與結合至SGD-1910之抗CD33抗體(CD33-SGD-1910)之活性相比較。如表3中所示,相較於CD33,AML細胞株一般

表現更低複本數之CD123。h7G3EC-SGD-1910 ADC對11個CD123-陽性AML細胞株中之10個為活性的(對於反應性細胞株之平均IC50，0.02至38 ng/ml範圍中的7 ng/mL)，而CD33-SGD-1910具有對所測試之12個AML細胞株中之12個的強力活性(平均IC50，0.04至181 ng/ml範圍中的26 ng/mL)。圖1及圖2描繪h7G3EC-SGD-1910對兩個表現低複本之CD123(相較於CD33)之MDR-陽性AML細胞株之強力活性。KG1-INV細胞株表現5000複本之CD123，相較於7300複本之CD33。Kasumi-1細胞株表現2000複本之CD123，相較於16000複本之CD33。h7G3EC-SGD-1910對未表現CD123之HEL9217 AML細胞株，觀察到無細胞毒活性。另外，發現h7G3EC-SGD-1910對17個自AML患者分離之初生樣品中之15個為活性的(參見表4，對於反應性樣品之平均IC50，在0.06至6.5 ng/ml範圍中1 ng/mL)。相比而言，CD33-SGD-1910對17個初生AML樣品中之10個為活性的(對於反應性樣品之平均IC50，在0.23至7.7 ng/ml範圍中的2 ng/mL)。當針對AML細胞株或初生AML樣品測試非結合ADC時，觀察到無活性(IC50>1000 ng/ml)。總而言之，該等資料證實h7G3EC-SGD-1910選擇性靶向表現CD123之細胞且顯示對AML細胞株及初生AML患者樣品之強力細胞毒活性而不管MDR狀態。

表3-h7G3EC-SGD-1910及CD33-SGD-1910藥物共軛物對AML細胞株之活體外活性

細胞株	CD123 受體數目	CD33 受 體數目	MDR 狀態	IC50, ng/ml	
				h7G3EC-SGD- 1910	CD33-SGD-1910
HNT-34	24400	< 20000	-	0.35	76
Molm-13	20000	38000	-	0.08	0.25
THP-1	8000	18000	-	24	5
NOMO-1	7000	15000	-	38	12
SKM-1	6600	24000	-	2.5	3.5
MV4-11	26100	18500	+/-	0.02	0.04
KG-1	9400	29000	+	0.8	1

KG1-INV	5000	7300	+	0.6	9
GDM-1	5500	5900	+	3.5	181
Kasumi-1	2000	16000	+	1	3.5
TF1a	2600	17000	+	>1000	3
HEL9217	0	19000	+	>1000	17

MDR，多重耐藥性；+，染料流出>2倍上述背景

表4-h7G3EC-1910及CD33-SGD-1910藥物共軛物對初生AML樣品之活體外活性

樣品名稱	CD123表現(MFI)	CD33表現(MFI)	MDR狀態	IC50 (ng/mL)	
				h7G3EC-SGD-1910	CD33-SGD-1910
FH037	483	1593	+	0.68	>2.5
FH016	596	137	+	1.4	>2.5
FH025	1190	2527	+	6.5	7.7
FH034	1204	4125	+	0.22	1
FH023	2277	4987	無資料	0.06	0.23
FH038	2947	4031	+	0.18	1.3
FH018	3142	2435	+	0.12	0.34
FH036	3262	5068	+	0.16	0.31
FH026	4599	3999	+	0.22	0.39
FH028	828	549	-	2	>2.5
FH019	1480	472	-	>2.5	>2.5
FH022	1485	257	無資料	0.56	>2.5
FH020	1517	1603	+	2.5	2.8
FH027	418	2841	-	>2.5	>2.5
FH021	1558	99	+	1.6	>2.5
FH029	1824	1356	+	0.46	3
FH024	2403	897	+	2	3

MFI，平均螢光強度

MDR，多重耐藥性；+，染料流出>2倍上述背景

h7G3EC-SGD-1910之活體內抗腫瘤活性

在兩個皮下AML異種移植模型THP-1及KG-1中測試h7G3EC-SGD-1910之活性。帶有建立之(約100 mm³)腫瘤之SCID小鼠給予h7G3EC-SGD-1910或非結合對照ADC(h00EC-SGD-1910)，如圖3中對於MDR-陰性THP-1模型(8000複本之CD123；18000複本之CD33)所描繪及圖4中對於MDR-陽性KG-1腫瘤模型(7000複本之CD123，20000複本之CD33)所描繪。相較於未經治療及非結合對照ADC治療之小鼠，用h7G3EC-SGD-1910治療顯著降低腫瘤生長(p<0.0001)。藉由CD123-

靶向之ADC觀察到之抗腫瘤活性係劑量依賴性的。對於THP-1腫瘤，0.1 mg/kg之單次劑量引起8隻經治療小鼠中之2隻之完全且持久腫瘤消退(圖3)。0.3 mg/kg之較高劑量引起8隻經治療小鼠中之8隻之完全且持久消退，且到第85天研究結束時尚未達使腫瘤成四倍之中位天數。在MDR-陽性KG-1腫瘤模型(圖4)中，0.1 mg/kg之單次劑量h7G3EC-SGD-1910引起8隻經治療小鼠中之1隻之完全且持久腫瘤消退。另一方面，0.3 mg/kg之單次劑量產生8隻經治療小鼠中之1隻之完全消退及3隻完全且持久腫瘤消退($p < 0.008$ ，相較於未經治療小鼠)。對比而言，在類似地給予非結合對照ADC(h00EC-SGD-1910)之小鼠中之腫瘤到第35天體積已成四倍且未顯著不同於未經治療小鼠。給予0.1 mg/kg或0.3 mg/kg CD33-SGD-1910之小鼠之抗腫瘤反應類似於給予h7G3EC-SGD-1910之小鼠之抗腫瘤反應(圖4)。該等資料證實h7G3EC-SGD-1910在AML異種移植模型中展示顯著劑量依賴性抗腫瘤活性，相較於CD33，AML異種移植模型表現更低CD123抗原含量。

額外活體內AML模型

方法

皮下AML模型

SCID小鼠皮下接種有 5×10^6 個HNT-34 AML腫瘤細胞。用測徑規監測腫瘤生長且使用公式($0.5 \times [\text{長度} \times \text{寬度}^2]$)計算平均腫瘤體積。當平均腫瘤體積達到約 100 mm^3 時，小鼠($n=8/\text{組}$)不經治療或腹膜內給予單次劑量之CD123 ADC或非結合對照ADC。當腫瘤體積達到約 1000 mm^3 時對小鼠進行安樂死。在由機構動物護理及使用委員會審批通過之協議下在實驗動物護理評估和認可委員會認可之設備中進行所有動物程序。

播散性AML模型

對於Molm-13模型，將 5×10^6 個細胞注射至SCID小鼠之側尾靜脈

中，且7天後不治療或腹膜內給予單次劑量之CD123 ADC或非結合對照ADC。在投與治療劑之前約4小時用人類IVIg(10 mg/kg之單次腹膜內注射)治療小鼠以將測試ADC與AML細胞上之Fc受體的相互作用降至最少。觀察動物，且對於進展性疾病諸如後肢麻痺或15%以上重量損失之跡象，對動物進行安樂死。對於初生AML異種移植模型，NOD/SCID/IL-2R γ 基因剔除小鼠(NSG; The Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME)用1 Gy照射一天，然後靜脈內注射 7×10^5 個初生白血病細胞(來自患有復發AML之患者)(06227; AllCells, Emeryville, CA)。藉由人類CD45+/CD33+細胞之流動式細胞測量染色，定期監測血液及骨髓中之疾病負荷，且當腫瘤負荷接近65%時開始治療。為監測治療效果，在麻醉下自小鼠之上髌之間股骨切跡區獲得少量骨髓，且藉由流式細胞測量術分析。使用Graphpad Prism繪製且分析資料。

結果

進一步在一個皮下AML異種移植模型(HNT-34)及兩個播散性AML模型(Molm-13及初生AML模型)中測試h7G3EC-SGD-1910之活性。帶有建立之(約100 mm³)MDR-陰性HNT-34腫瘤(CD123複本數約24,000)之SCID小鼠給予h7G3EC-SGD-1910或非結合對照ADC，如圖7中所描繪。相較於未經治療及非結合對照ADC治療之小鼠，用h7G3EC-SGD-1910治療顯著降低腫瘤生長($p < 0.0001$)。藉由CD123-靶向之ADC觀察到之抗腫瘤活性係劑量依賴性的。0.025 mg/kg之單次劑量引起8隻經治療小鼠中之2隻之完全且持久腫瘤消退(圖7)。0.075 mg/kg之較高劑量引起8隻經治療小鼠中之7隻之完全且持久消退。對於CD123-ADC組，到第62天研究結束時尚未達到使腫瘤成四倍之中位天數。

在AML之MDR-陰性Molm-13播散性模型(圖8，CD123複本數約20,000)中，在第7天投與單次劑量之0.01 mg/kg或0.03 mg/kg之

h7G3EC-SGD-1910顯著改善小鼠之存活期。相較於對照組之22至25天，經CD123-ADC治療之小鼠之存活期大於80天($p < 0.0001$ ，相較於未經治療、hIVIg或非結合對照ADC)。CD123-ADC之抗白血病反應亦在使用來自患有復發AML之患者之初生白血病細胞(MDR+)之異種移植模型中得以證實。初生人類白血病細胞移植至NSG小鼠中且使其在骨髓中生長至65%腫瘤負荷(CD123複本數約2200)。小鼠在第0天及第11天給予0.3 mg/kg CD123-SGD-1910(圖9)。經治療小鼠中之腫瘤負荷到第24天顯著降低且保持在降低之含量直至第64天研究結束為止。

該等資料證實h7G3EC-SGD-1910在若干AML異種移植模型(包括利用來自患有AML之人類患者之原發腫瘤細胞之模型)中具有顯著劑量依賴性抗腫瘤活性，該等AML異種移植模型表現不同CD123抗原含量且不管MDR狀態。

非正式序列表

SEQ ID NO:1，HC之重鏈可變區

QVQLVQSGAEVKKPGASVKMSCKASGYTFTDYYMKWVKQAPGQGLEWIGDIIPSNGA
TFYNQKFKGKATLTVDRSISTAYMHLNRLRSDDTAVYYCTRSHLLRASWFAYWGQGT
LVTVSS

SEQ ID NO:2，LA之輕鏈可變區

DFVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLNLSGNQKNYLTWYLQKPGQPPKLLIYWAS
TRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQNDYSYPYTFGQGTKLEIKR

SEQ ID NO:3，HC之重鏈，具備根據如Kabat中所闡述之EU索引

在位置239處具有半胱胺酸取代之突變IgG1

QVQLVQSGAEVKKPGASVKMSCKASGYTFTDYYMKWVKQAPGQGLEWIGDIIPSNGA
TFYNQKFKGKATLTVDRSISTAYMHLNRLRSDDTAVYYCTRSHLLRASWFAYWGQGT
LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF
PAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPC
PAPELLGGPCVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP
QVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSF
FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO:4，LA之輕鏈

DFVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLNLSGNQKNYLTWYLQKPGQPPKLLIYWAS
TRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQNDYSYPYTFGQGTKLEIKRTVA
APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK
DSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO:5，突變重鏈恆定區(根據如Kabat中所闡述之EU索引
在位置239處具有半胱胺酸取代)

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ
SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL
LGGPCVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR
EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
PPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

SEQ ID NO:6，天然存在之重鏈恆定區

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ
SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL
LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR
EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
PPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

SEQ ID NO:7，輕鏈恆定區

TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ
DSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO:8，鼠類7G3抗體重鏈可變區

EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTDYMKWVKQSHGKSLEWIGDIIPSN
GATFYNQKFKGKATLTVDRSSSTAYMHLNSLTSEDSAVYYCTRSHELLRASWFAYWGGTL
VTVSA

SEQ ID NO:9，鼠類7G3抗體輕鏈可變區

DFVMTQSPSSLTVTAGEKVTMSCKSSQSLNSGNQKNYLTWYLQKPGQPPKLLIYWAS
TRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQAEDLAVYYCQNDYSYPYTFGGGTKLEIKR

SEQ ID NO:10 - 人類化7G3之CDR-H1之胺基酸序列

DYYMK

SEQ ID NO:11 - 人類化7G3之CDR-H2之胺基酸序列

DIIPSNGATFYNQKFKG

SEQ ID NO:12 - 人類化7G3之CDR-H3之胺基酸序列

SHLLRASWFAY

SEQ ID NO:13 - 人類化7G3之CDR-L1之胺基酸序列

KSSQSLNSGNQKNYLT

SEQ ID NO:14 - 人類化7G3之CDR-L2之胺基酸序列

WASTRES

SEQ ID NO:15 - 人類化7G3之CDR-L3之胺基酸序列

QNDYSYPYT

【符號說明】

無

【序列表】

<110> 美商西雅圖遺傳學公司

<120> CD123抗體及其共軛物

<130> IL3R-00211PC

<150> US 62/175,121

<151> 2015-06-12

<160> 15

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 120

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> HC之重鏈可變區

<400> 1

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

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

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

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

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

Met His Leu Asn Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Arg Ser His Leu Leu Arg Ala Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 2

<211> 114

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> LA之輕鏈可變區

<400> 2

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

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
 20 25 30

Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln
 35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
 50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
 65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn
 85 90 95

Asp Tyr Ser Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile
 100 105 110

Lys Arg

<210> 3
 <211> 450
 <212> PRT
 <213> 人工

<220>
 <223> HC之重鏈，具備根據如Kabat中所闡述之EU索引在位置239處
 具有半胱胺酸取代之突變IgG1

<400> 3

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

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

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

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

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

Met His Leu Asn Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Thr Arg Ser His Leu Leu Arg Ala Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 225 230 235 240

Pro Cys Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly Lys
450

<210> 4
<211> 220
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> LA之輕鍵

<400> 4

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

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
20 25 30

Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn
85 90 95

Asp Tyr Ser Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile
100 105 110

Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
115 120 125

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
130 135 140

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

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

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

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

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215 220

<210> 5
<211> 329
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 突變重鏈恆定區(根據如Kabat中所闡述之EU索引在位置239處
具有半胱氨酸取代)

<400> 5

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Cys Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
225 230 235 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
325

<210> 6
<211> 329
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 天然存在之重鏈恆定區

<400> 6

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 20 25 30
 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45
 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60
 Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 65 70 75 80
 Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95
 Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
 100 105 110
 Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 115 120 125
 Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 130 135 140
 Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
 145 150 155 160
 Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 165 170 175
 Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 180 185 190
 His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
 195 200 205
 Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
 210 215 220
 Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
 225 230 235 240
 Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 245 250 255
 Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 260 265 270
 Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 325

<210> 7
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> 人工

<220>
 <223> 輕鍵恆定區

<400> 7

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
 1 5 10 15

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

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
 35 40 45

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
 50 55 60

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
 65 70 75 80

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
 85 90 95

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 100 105

<210> 8
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> 人工

<220>
 <223> 鼠類7G3抗體重鍵可變區

<400> 8

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

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr

20

25

30

Tyr Met Lys Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

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

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

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

Thr Arg Ser His Leu Leu Arg Ala Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
 115 120

<210> 9
 <211> 114
 <212> PRT
 <213> 人工

<220>
 <223> 鼠類7G3抗體輕鏈可變區

<400> 9

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

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
 20 25 30

Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln
 35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
 50 55 60

Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
 65 70 75 80

Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn
 85 90 95

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

Lys Arg

<210> 10
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> 人工

<220>
 <223> 人類化7G3之CDR-H1之胺基酸序列

<400> 10

Asp Tyr Tyr Met Lys
 1 5

<210> 11
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人工

<220>
 <223> 人類化7G3之CDR-H2之胺基酸序列

<400> 11

Asp Ile Ile Pro Ser Asn Gly Ala Thr Phe Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 12
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工

<220>
 <223> 人類化7G3之CDR-H3之胺基酸序列

<400> 12

Ser His Leu Leu Arg Ala Ser Trp Phe Ala Tyr
 1 5 10

<210> 13
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人工

<220>
 <223> 人類化7G3之CDR-L1之胺基酸序列

<400> 13

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu
 1 5 10 15

Thr

<210> 14

<211> 7
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 人類化7G3之CDR-L2之胺基酸序列

<400> 14

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
1 5

<210> 15
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工

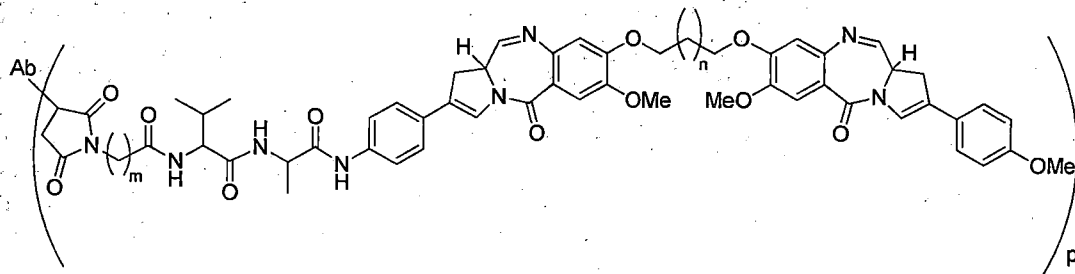
<220>
<223> 人類化7G3之CDR-L3之胺基酸序列

<400> 15

Gln Asn Asp Tyr Ser Tyr Pro Tyr Thr
1 5

申請專利範圍

1. 一種抗CD123抗體-藥物共軛物化合物，其具有下式：



或醫藥學上之鹽、溶劑合物或該鹽之溶劑合物；其中

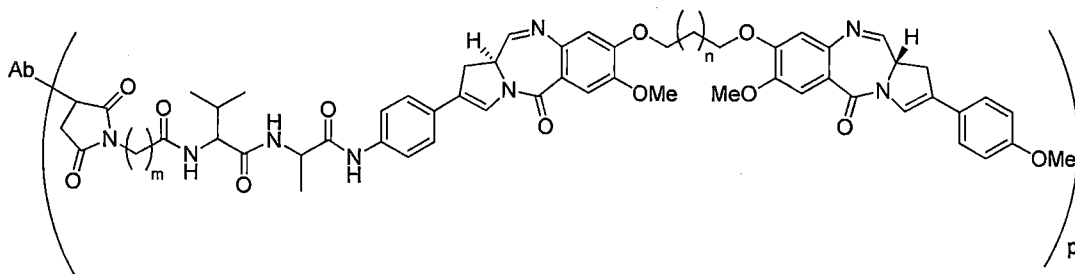
下標 n 為1或3；

下標 m 為2至5

Ab為抗CD123完整抗體或其抗原結合片段，其包含具有SEQ ID NO:1中闡述之胺基酸序列之重鏈可變區；以及具有SEQ ID NO:2中闡述之胺基酸序列之輕鏈可變區；

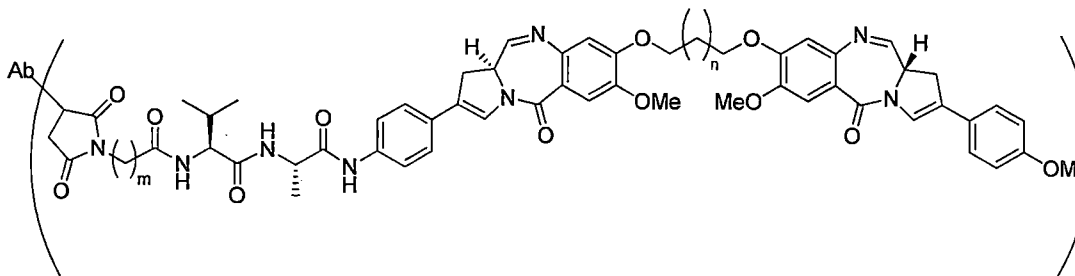
下標 p 為1至4之整數。

2. 如請求項1之化合物，其具有下式：



或醫藥學上之鹽、溶劑合物或該鹽之溶劑合物。

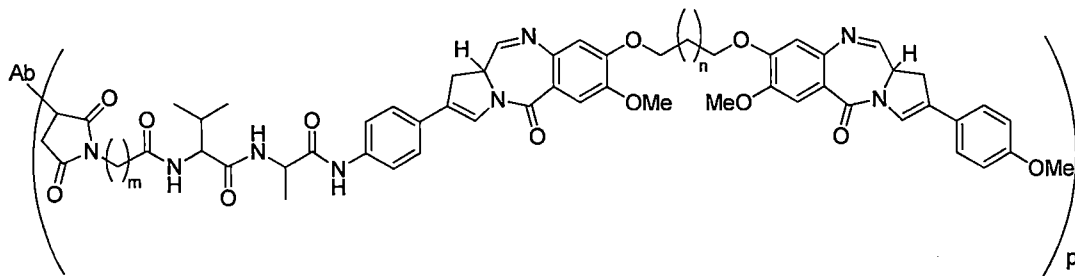
3. 如請求項1之化合物，其具有下式：



或醫藥學上之鹽、溶劑合物或該鹽之溶劑合物。

4. 如請求項1至3中任一項之化合物，其中 n 為1。

5. 如請求項1至3中任一項之化合物，其中n為3。
6. 如請求項1至5中任一項之化合物，其中m為5。
7. 如請求項1至6中任一項之化合物，其中連接至Ab係經由Ab之經工程改造之半胱胺酸殘基之硫原子。
8. 如前述請求項中任一項之化合物，其中Ab包含與人類重鏈恆定區融合之具有SEQ ID NO:1中闡述之胺基酸序列之重鏈可變區；以及與人類輕鏈恆定區融合之具有SEQ ID NO:2中闡述之胺基酸序列之輕鏈可變區。
9. 如請求項8之化合物，其中Ab包含具有SEQ ID NO:3中闡述之胺基酸序列之重鏈及具有SEQ ID NO:4中闡述之胺基酸序列之輕鏈，且連接至Ab係經由在該重鏈恆定區的位置239 (根據EU索引編號系統)經工程改造之半胱胺酸殘基之硫原子。
10. 如前述請求項中任一項之化合物，其中p為2。
11. 一種醫藥組合物，其包含具有下式之抗CD123抗體-藥物共軛物分子之群體：



或醫藥學上之鹽、溶劑合物或該鹽之溶劑合物；其中

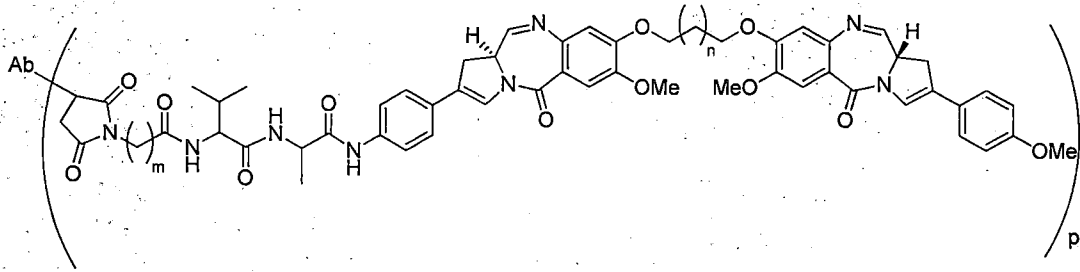
下標n為1至3；

下標m為2至5

Ab為抗CD123完整抗體或其抗原結合片段，其包含具有SEQ ID NO:1中闡述之胺基酸序列之重鏈可變區；以及具有SEQ ID NO:2中闡述之胺基酸序列之輕鏈可變區；

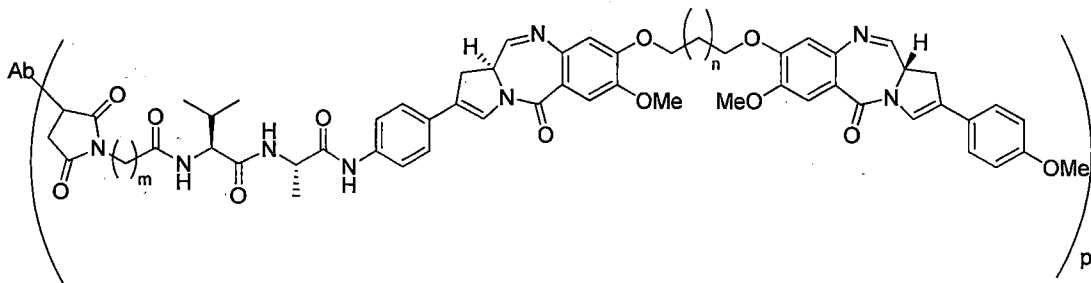
下標p為1至4之整數；以及該組合物之平均載藥量為約2。

12. 如請求項11之醫藥組合物，其中該抗體-藥物共軛物分子具有下式：



或醫藥學上之鹽、溶劑合物或該鹽之溶劑合物。

13. 如請求項11之醫藥組合物，其中該抗體-藥物共軛物分子具有下式：

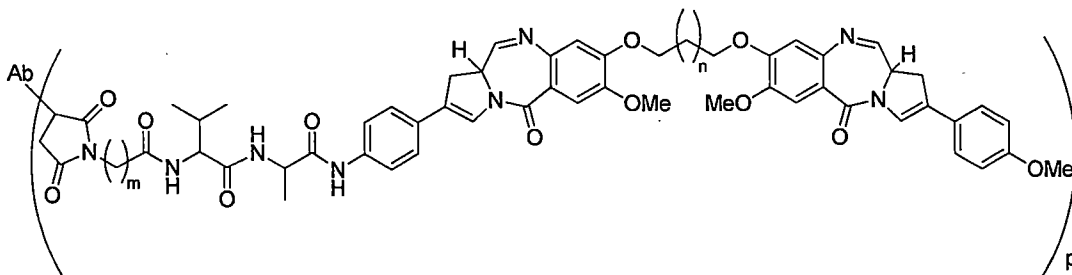


或醫藥學上之鹽、溶劑合物或該鹽之溶劑合物。

14. 如請求項11至13中任一項之醫藥組合物，其中n為1。
15. 如請求項11至13中任一項之醫藥組合物，其中n為3。
16. 如請求項11至15中任一項之醫藥組合物，其中m為5。
17. 如請求項11至16中任一項之醫藥組合物，其中連接至Ab係經由Ab之經工程改造之半胱胺酸殘基之硫原子。
18. 如前述請求項中任一項之醫藥組合物，其中Ab包含與人類重鏈恆定區融合之具有SEQ ID NO:1中闡述之胺基酸序列之重鏈可變區；以及與人類輕鏈恆定區融合之具有SEQ ID NO:2中闡述之胺基酸序列之輕鏈可變區。
19. 如請求項18之醫藥組合物，其中Ab包含具有SEQ ID NO:3中闡述之胺基酸序列之重鏈及具有SEQ ID NO:4中闡述之胺基酸序列之輕鏈，且連接至Ab係經由在該重鏈恆定區的位置239 (根據EU索

引編號系統)經工程改造之半胱胺酸殘基之硫原子。

20. 如請求項11至19中任一項之醫藥組合物，其中p為1或2。
21. 如請求項11至20中任一項之醫藥組合物，其呈水溶液形式 (aqueous form)。
22. 如請求項11至20中任一項之醫藥組合物，其為凍乾形式。
23. 一種抗體-藥物共軛物組合物，其包含具有下式之抗CD123抗體-藥物共軛物分子之群體：



或醫藥學上之鹽、溶劑合物或該鹽之溶劑合物；其中

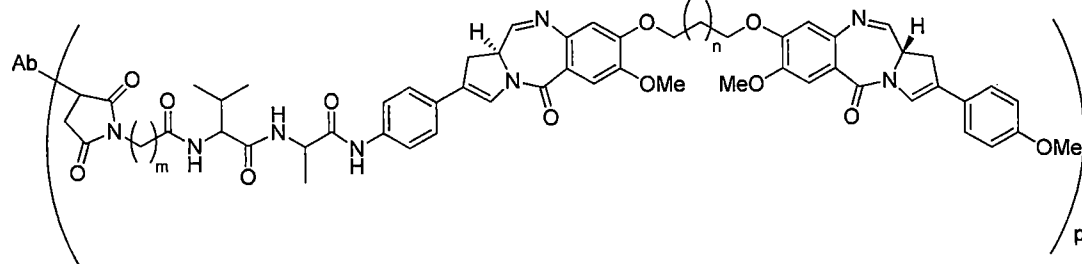
下標n為1至3；

下標m為2至5

Ab為抗CD123完整抗體或其抗原結合片段，其包含具有SEQ ID NO:1中闡述之胺基酸序列之重鏈可變區；以及具有SEQ ID NO:2中闡述之胺基酸序列之輕鏈可變區；以及

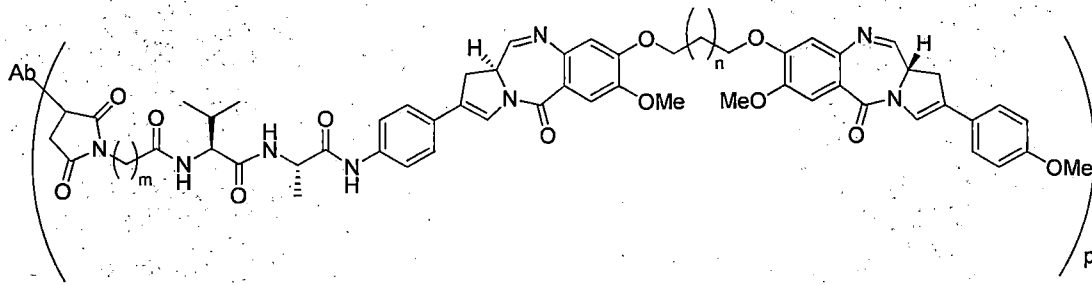
下標p為1至4之整數；以及該組合物之平均載藥量為約2。

24. 如請求項23之組合物，其中該抗體-藥物共軛物分子具有下式：



或醫藥學上之鹽、溶劑合物或該鹽之溶劑合物。

25. 如請求項23之組合物，其中該抗體-藥物共軛物分子具有下式：



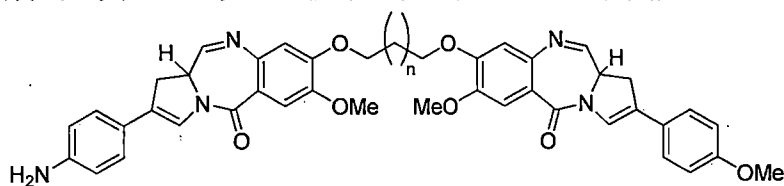
或醫藥學上之鹽、溶劑合物或該鹽之溶劑合物。

26. 如請求項23至25中任一項之組合物，其中n為1。
27. 如請求項23至25中任一項之組合物，其中n為3。
28. 如請求項23至27中任一項之組合物，其中m為5。
29. 如請求項23至28中任一項之組合物，其中連接至Ab係經由Ab之經工程改造之半胱胺酸殘基之硫原子。
30. 如請求項23至29中任一項之組合物，其中Ab包含與人類重鏈恆定區融合之具有SEQ ID NO:1中闡述之胺基酸序列之重鏈可變區；以及與人類輕鏈恆定區融合之具有SEQ ID NO:2中闡述之胺基酸序列之輕鏈可變區。
31. 如請求項30之組合物，其中Ab包含具有SEQ ID NO:3中闡述之胺基酸序列之重鏈及具有SEQ ID NO:4中闡述之胺基酸序列之輕鏈，且連接至Ab係經由在該重鏈恆定區的位置239 (根據EU索引編號系統)經工程改造之半胱胺酸殘基之硫原子。
32. 一種抗CD123完整抗體或其抗原結合片段，其包含具有SEQ ID NO:1中闡述之胺基酸序列之重鏈可變區；以及具有SEQ ID NO:2中闡述之胺基酸序列之輕鏈可變區。
33. 如請求項32之抗體，其中該重鏈可變區與重鏈恆定區融合；以及該輕鏈可變區與輕鏈恆定區融合。
34. 如請求項32之抗體，其包含具有SEQ ID NO:3中闡述之胺基酸序列之重鏈及具有SEQ ID NO:4中闡述之胺基酸序列之輕鏈。
35. 一種治療患有表現CD123之癌症患者之方法，其包含投與該患者

- 如請求項11至21中任一項之醫藥組合物之有效療法。
36. 如請求項35之方法，其中該癌症為急性骨髓性白血病(AML)。
 37. 如請求項35之方法，其中該癌症為骨髓發育不良症候群(MDS)、B細胞急性淋巴母細胞白血病(B-ALL)、毛細胞白血病、范康尼氏(Fanconi)貧血、母細胞性漿細胞樣樹突狀細胞贅瘤(BPDCN)、霍奇金氏(Hodgkin's)病、不成熟T細胞急性淋巴母細胞白血病(不成熟T-ALL)、伯基特氏(Burkitt's)淋巴瘤、濾泡性淋巴瘤、慢性淋巴球性白血病(CLL)或套細胞淋巴瘤。
 38. 如請求項32至34中任一項之完整抗體或抗原結合片段，其結合至細胞毒性劑。
 39. 如請求項38之完整抗體或抗原結合片段，其中該細胞毒性劑為類美登醇(maytansinoid)、奧瑞他汀(auristatin)、吡咯并[1,4]苯并二氮呋、吲哚啉并苯并二氮呋或噁唑啉并苯并二氮呋。
 40. 一種醫藥組合物，其包含如請求項38或39之完整抗體或其抗原結合片段。
 41. 一種抗CD123完整抗體或其抗原結合片段，其包含具有SEQ ID NO:1中闡述之胺基酸序列之重鏈可變區，限制條件為H20被M或V佔據，H38被K或R佔據，H48被I佔據，H66被K或R佔據，H67被A佔據，H69被L佔據，H71被V佔據，H73被R佔據，H81被E或H佔據，H82A被S或N佔據，且H93被T佔據；以及具有SEQ ID NO:2中闡述之胺基酸序列之輕鏈可變區，限制條件為L2被F佔據，L19被A或V佔據，L21被I或M佔據，L22被N或S佔據，L38被L佔據。
 42. 如請求項41之完整抗體或其抗原結合片段，其為HALA、HALB、HBLA、HBLB或HCLB。
 43. 如請求項41或42之抗體，其中該重鏈可變區與重鏈恆定區融

合；以及該輕鏈可變區與輕鏈恆定區融合。

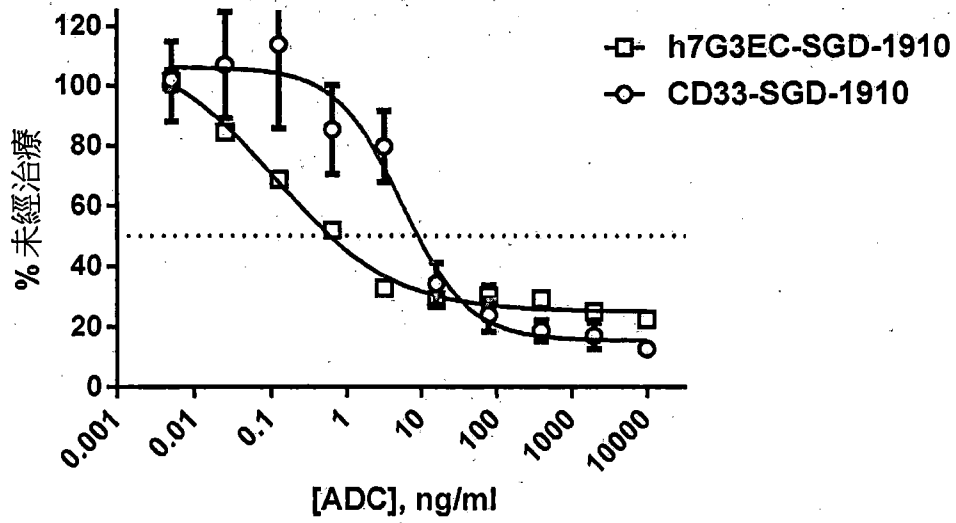
44. 如請求項41至43中任一項之完整抗體或抗原結合片段，其結合至細胞毒性劑。
45. 如請求項44之完整抗體或抗原結合片段，其中該細胞毒性劑為類美登醇、奧瑞他汀、吡咯并[1,4]苯并二氮呋、吲哚啉并苯并二氮呋或噁唑啉并苯并二氮呋。
46. 如請求項45之完整抗體或抗原結合片段，其中該細胞毒性劑為



其中下標 n 為1或3；或醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物，或該鹽之溶劑合物。

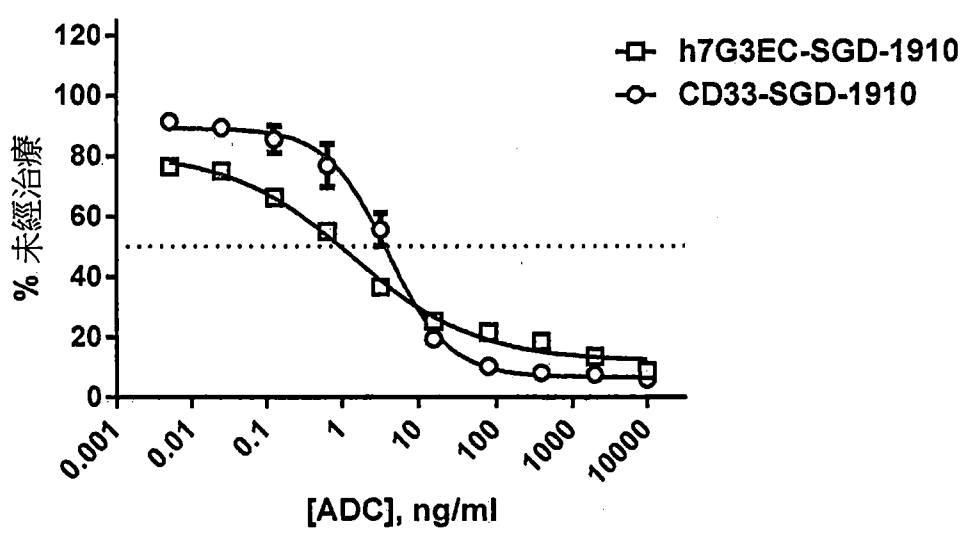
47. 一種醫藥組合物，其包含如請求項44或45或46之完整抗體或其抗原結合片段。

圖式



	CD33-SGD-1910	h7G3EC-SGD-1910
x50	9.079	0.5889

圖1



	CD33-SGD-1910	h7G3EC-SGD-1910
x50	3.662	0.9470

圖2

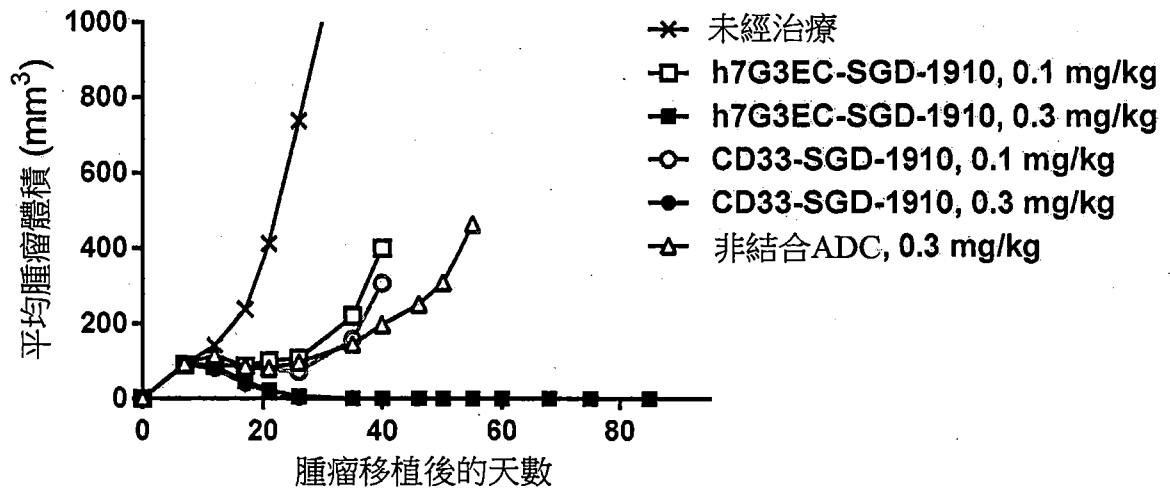


圖3

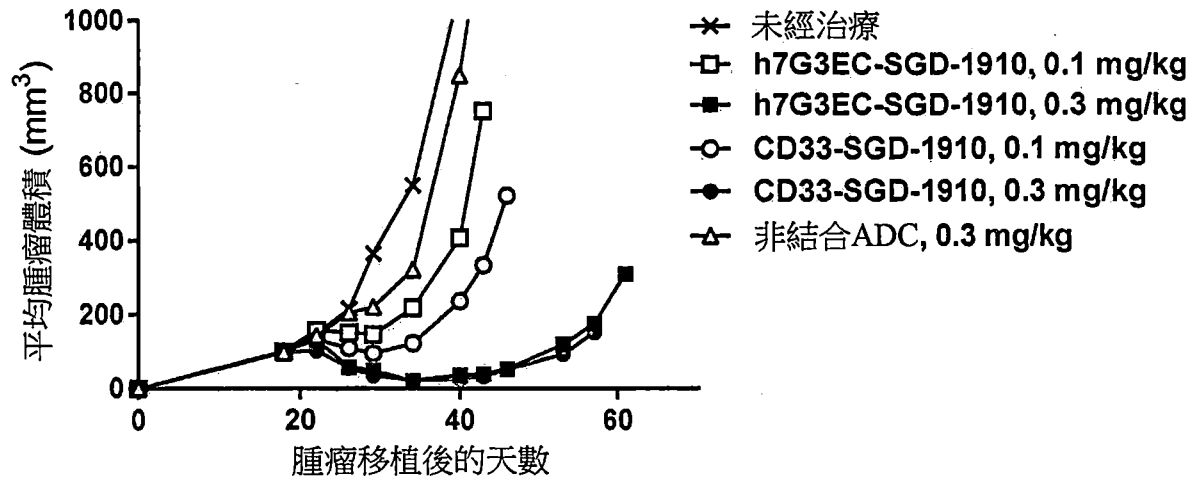


圖4

	20*	38	48	66	67	69	71	73	81	82A	93	與人類FW 之差異
HA	V	R	I	R	A	L	V	R	E	S	T	6
HB	M	R	I	R	A	L	V	R	H	N	T	9
HC	M	K	I	K	A	L	V	R	H	N	T	11

粗體類型為人類
非粗體類型為小鼠

```

          10          20          30          40          50          60          70
7G3MSv6 vH      EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTDYMKWVKQSHGKSLEWIGDIIPSNQKFKGKATL
hIGHV1-2/IGHJ1  Q...V...A.VK.....V.....G...H..R.AP.QG...M.W.N.NS.G.N.A...Q.RV.M
h7G3MSv6 vHA    Q...V...A.VK.....V.....R.AP.QG.....R...
h7G3MSv6 vHB    Q...V...A.VK.....R.AP.QG.....R...
h7G3MSv6 vHC    Q...V...A.VK.....AP.QG.....

          80          90          100         110         120
7G3MSv6 vH      TVDRSSSTAYMHLNLSLTSEDSAVYYCTRSHLLRASWFAYWGQGLVTVSA
hIGHV1-2/IGHJ1  .R.T.I.....E.SR.R.D.T....A.-----S
h7G3MSv6 vHA    ....I.....E.SR.R.D.T.....S
h7G3MSv6 vHB    ....I.....R.R.D.T.....S
h7G3MSv6 vHC    ....I.....R.R.D.T.....S
    
```

圖5

	2	19	21	22	38	與人類FW 之差異
LA	F	A	I	N	L	2
LB	F	V	M	S	L	5

粗體類型為人類
非粗體類型為小鼠

```

          10          20          30          40          50          60          70
7G3MS vL      DFVMTQSPSSLTVTAGEKVTMSCKSSQSLNLSGNQKNYLTWYLQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFTG
IGKV4-1/IGKJ2 .I.....D..A.SL..RA.IN.....V.Y.S.N....A..Q.....S.
h7G3MS vLA    .....D..A.SL..RA.IN.....S.
h7G3MS vLB    .....D..A.SL..R.....S.

          80          90          100         110
7G3MS vL      SSGTDFTLTISSVQAEDLAVYYCQNDYSYPYTFGGGTKLEIKR
IGKV4-1/IGKJ2 .....L...V.....QY..T....Q.....
h7G3MS vLA    .....L...V.....Q.....
h7G3MS vLB    .....L...V.....Q.....
    
```

圖6

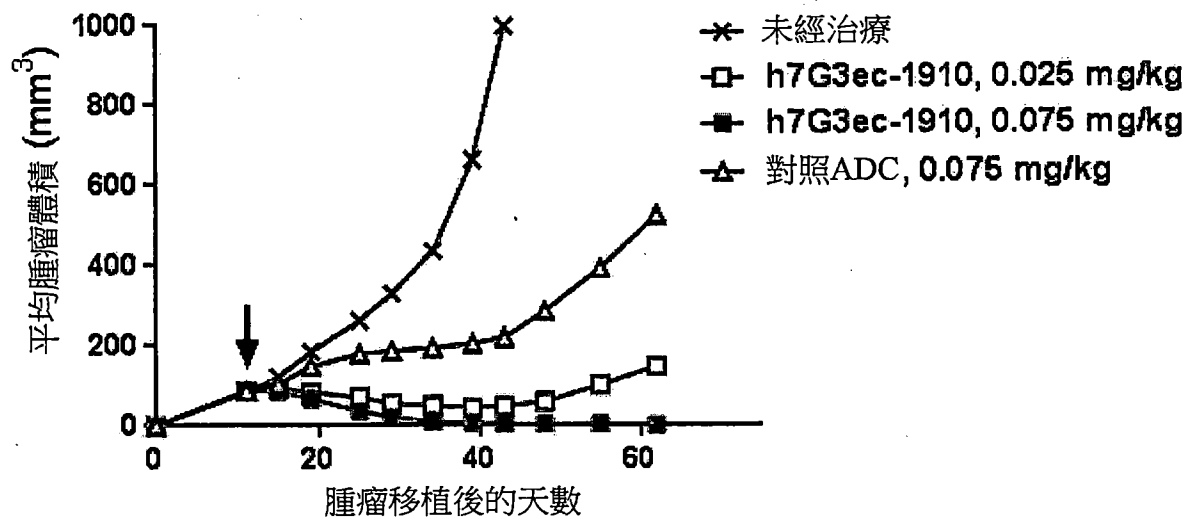


圖7

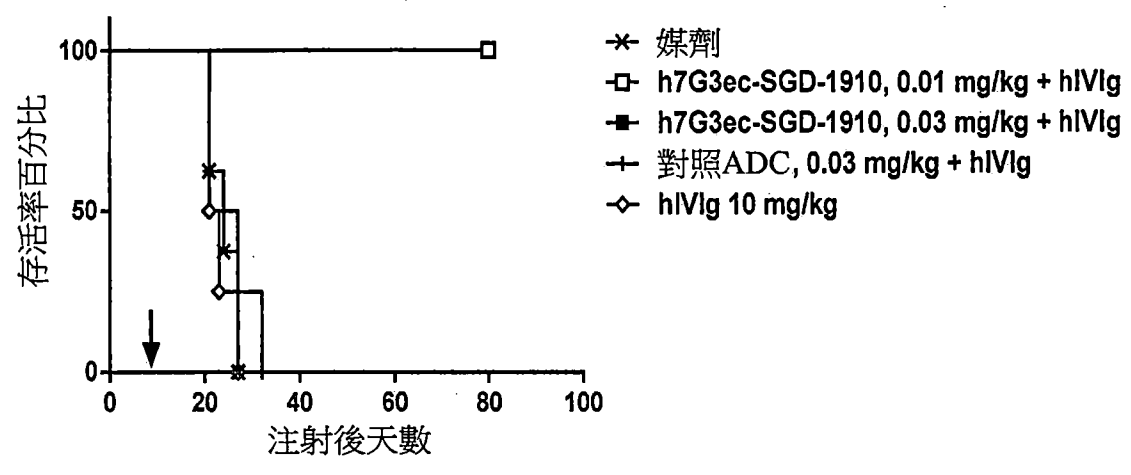


圖8