



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 202237166 A

(43)公開日：中華民國 111 (2022) 年 10 月 01 日

(21)申請案號：110148222

(22)申請日：中華民國 110 (2021) 年 12 月 22 日

(51)Int. Cl.：

*A61K38/07 (2006.01)**A61K47/68 (2017.01)**C07K16/30 (2006.01)**A61K47/34 (2017.01)**A61K47/42 (2017.01)**A61K47/59 (2017.01)**A61P35/00 (2006.01)*

(30)優先權：2020/12/23

歐洲專利局

20216838.1

(71)申請人：慕尼黑大學(德國) LUDWIG-MAXIMILIANS-UNIVERSITAET MUENCHEN

(DE)

德國

柏林研究協會(德國) FORSCHUNGSVERBUND BERLIN E.V. (DE)

德國

(72)發明人：萊昂哈特 海因里希 LEONHARDT, HEINRICH (DE)；賀瑪 斯邁茲 喬納斯
 HELMA-SMETS, JONAS (DE)；舒馬赫 多明尼克 SCHUMACHER, DOMINIK
 (DE)；格拉赫 馬庫斯 GERLACH, MARCUS (DE)；哈肯伯格 克里欽 P R
 HACKENBERGER, CHRISTIAN PR (DE)；卡斯帕 馬克 安德烈 KASPER,
 MARC-ANDRE (DE)

(74)代理人：鄭志玲

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：46 項 圖式數：21 共 212 頁

(54)名稱

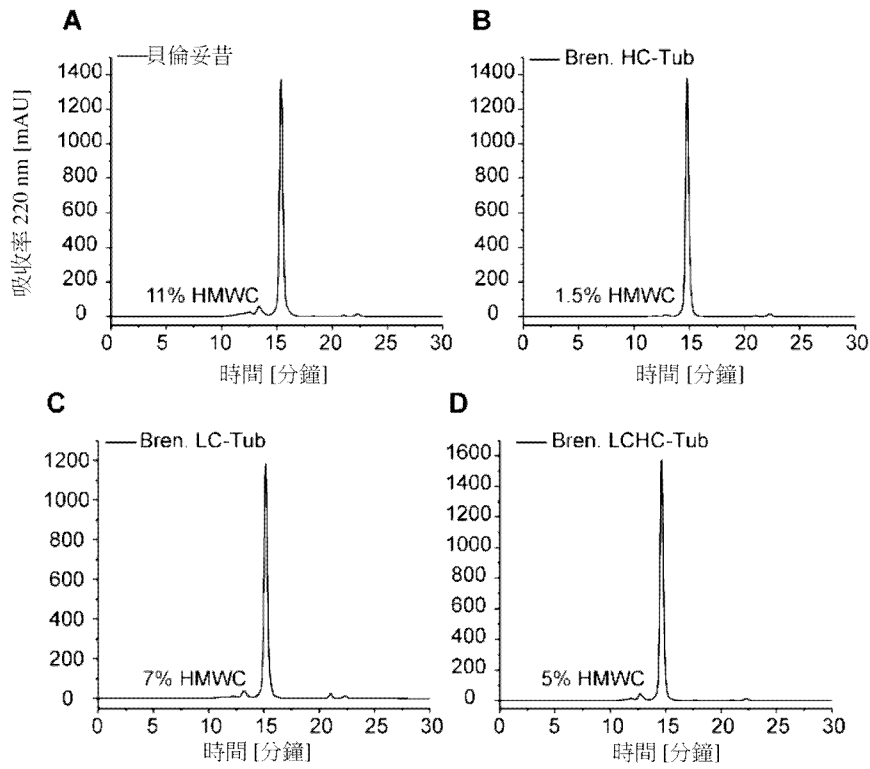
增進的 CD30 靶向抗體藥物共軛體及其用途

(57)摘要

本發明涉及一種抗體-藥物共軛體(ADC)，其包含：(a)貝倫妥昔，其中貝倫妥昔在該貝倫妥昔的輕鏈、重鏈或全部重鏈及輕鏈的 C 末端包含微管蛋白酪氨酸連接酶的識別序列及非天然胺基酸；以及(b)至少一種藥物部分；其中藥物部分經由連接子與該等非天然胺基酸的每一個共軛。本發明進一步涉及一種製造其的方法、包含其的醫藥組合物、以及其用途。

The present invention relates to an antibody-drug conjugate (ADC) comprising: (a) Brentuximab, wherein Brentuximab comprises at the C-terminus of the light chains, the heavy chains or all of the heavy and light chains of the Brentuximab a recognition sequence for tubulin tyrosine ligase and a non-natural amino acid; and (b) at least one drug moiety; wherein a drug moiety is coupled to each of the non-natural amino acids via a linker. The present invention further relates to methods of producing same, pharmaceutical compositions comprising same as well as uses thereof.

指定代表圖：



【圖1】



【發明摘要】

【中文發明名稱】 增進的CD30靶向抗體藥物共軛體及其用途

【英文發明名稱】 IMPROVED CD30 TARGETING ANTIBODY DRUG

CONJUGATES AND USES THEREOF

【中文】本發明涉及一種抗體-藥物共軛體(ADC)，其包含：(a)貝倫妥昔，其中貝倫妥昔在該貝倫妥昔的輕鏈、重鏈或全部重鏈及輕鏈的C末端包含微管蛋白酪胺酸連接酶的識別序列及非天然胺基酸；以及(b)至少一種藥物部分；其中藥物部分經由連接子與該等非天然胺基酸的每一個共軛。本發明進一步涉及一種製造其的方法、包含其的醫藥組合物、以及其用途。

【英文】The present invention relates to an antibody-drug conjugate (ADC) comprising: (a) Brentuximab, wherein Brentuximab comprises at the C-terminus of the light chains, the heavy chains or all of the heavy and light chains of the Brentuximab a recognition sequence for tubulin tyrosine ligase and a non-natural amino acid; and (b) at least one drug moiety; wherein a drug moiety is coupled to each of the non-natural amino acids via a linker. The present invention further relates to methods of producing same, pharmaceutical compositions comprising same as well as uses thereof.

【指定代表圖】 圖1

【代表圖之符號簡單說明】 無

【發明說明書】

【中文發明名稱】 增進的CD30靶向抗體藥物共軛體及其用途

【英文發明名稱】 IMPROVED CD30 TARGETING ANTIBODY DRUG

CONJUGATES AND USES THEREOF

【技術領域】

【0001】 相關申請的交叉引用。本申請要求在2020年12月23日提交的歐洲專利申請案第20216838.1號的優先權的權益，其內容在此藉由引用而整體併入用於所有目的。本發明涉及包含貝倫妥昔(brentuximab)及至少一種藥物部分的抗體-藥物共軛體(ADC)、其製造方法、包含其的醫藥組合物、以及其用途。

【先前技術】

【0002】 淋巴惡性腫瘤佔所有癌症的約4到5%，並源自淋巴系統。在傳統何杰金氏淋巴瘤及若干非何杰金氏淋巴瘤，諸如退行性大細胞淋巴瘤及周邊T細胞淋巴瘤中，CD30近年來已被證明是一種用於靶向治療的重要腫瘤生物標記。隨著2011年貝倫妥昔維多汀(brentuximab vedotin)的創新批准，第一個CD30特異性生物藥物已進入市場，且從此成為具有良好整體反應的不可或缺的治療選擇。貝倫妥昔維多汀由靶向腫瘤的嵌合IgG1抗體成分貝倫妥昔及連接子-有效負載成分所組成，該連接子-有效負載成分包含與強效的有效負載部分單甲基-阿瑞他汀E化學連接的組織蛋白酶B可裂解的纈胺酸-瓜胺酸連接子部分，其在細胞內傳遞及釋放時有效誘導細胞凋亡。

【0003】 貝倫妥昔維多汀為抗體藥物共軛體(ADC)，是一種近年來受到極大關注的相對新穎的治療方式。這些生物製藥使強效的細胞毒性藥物直接傳遞到腫瘤細胞，且因此與傳統化學治療相比具有可能擴大治療範圍(therapeutic window)的潛力。迄今為止，九種隨機共軛的ADC已獲得批准。這些分子基於與活性羧酸(例如Mylotarg、Besponsa、Kadcyla)的共軛，該等羧酸隨機與暴露的離胺酸殘基反應。或者，順丁烯二醯亞胺已成為鏈內二硫化物還原後使連接子-有效負載部分與游離的半胱胺酸共軛的最重要的共軛試劑(例如貝倫妥昔維多汀(可以Adcetris®獲得)、Polivy、Padcev、Enhertu、Trodelvy、Blenrep)。

【0004】 然而，已知貝倫妥昔維多汀在臨床慣例中會引起敏感及持久的毒性作為副作用，諸如血小板減少症。

【0005】 因此，仍然需要改進的包含貝倫妥昔的ADC，其較佳具有更少的副作用。本發明旨在解決此需求。

【發明內容】

【0006】 此需求藉由如申請專利範圍及本文所述的具體實施例中界定的標的來解決。

【0007】 因此，本發明涉及抗體-藥物共軛體(ADC)，其包含：

(a)貝倫妥昔(brentuximab)，其中貝倫妥昔在貝倫妥昔的輕鏈、重鏈或全部重鏈及輕鏈的C末端包含微管蛋白酪胺酸連接酶的識別序列及非天然胺基酸；以及

(b)至少一種藥物部分；

其中藥物部分透過連接子與非天然胺基酸的每一個共軛。

【0008】 貝倫妥昔的重鏈可具有包含SEQ ID NO: 1的胺基酸序列或與SEQ ID NO: 1具有至少95%的序列一致性，及/或其中貝倫妥昔的輕鏈具有包含SEQ ID NO: 2的胺基酸序列或與SEQ ID NO: 2具有至少95%的序列一致性；較佳地，貝倫妥昔由重鏈及輕鏈所組成，重鏈由SEQ ID NO: 1的胺基酸序列所組成，且輕鏈由SEQ ID NO: 2的胺基酸序列所組成。

【0009】 藥物部分可選自由以下組成的群組：喜樹鹼、類美登素(maytansinoid)、卡奇黴素(calicheamycin)、倍癌黴素(duocarmycin)、微管溶素(tubulysin)、鵝膏毒素(amatotoxin)、尾海兔素(dolastatin)及阿瑞他汀(auristatin)，諸如單甲基阿瑞他汀E(MMAE)、吡咯并苯并二氮呋二聚體、吲哚啉并-苯并二氮呋二聚體、放射性同位素、治療性蛋白及肽(或其片段)、核酸、PROTAC、激酶抑制劑、MEK抑制劑、KSP抑制劑、及其類似物或前驅藥；較佳地，藥物部分為MMAE。

【0010】 微管蛋白酪胺酸連接酶的識別序列可至少具有胺基酸序列 $X_1X_2X_3X_4$ (SEQ ID NO: 3)，其中 X_1 及 X_2 為任意胺基酸， X_3 為E、D或C，且 X_4 為E；較佳其中 X_2 為G、S、A、V或F，及/或其中 X_1 為E、D、A、K或P。

【0011】 識別序列可為EGEE(SEQ ID No. 4)，較佳地識別序列為VDSVEGEGEEEGEE(SEQ ID No. 5)、SVEGEGEEEGEE(SEQ ID No. 6)、SADGEDEGEE(SEQ ID No. 7)、SVEAEAEEGEE(SEQ ID No. 8)、SYEDEDEGEE(SEQ ID No. 9)、或SFEEENEGEE(SEQ ID No. 10)。

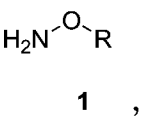
【0012】 非天然胺基酸可為2-取代、3-取代或4-取代的酪胺酸，或在苄基位置取代的酪胺酸衍生物。3-取代或4-取代的酪胺酸衍生物可為3-硝基酪胺酸、

3-胺基酪胺酸、3-疊氮基酪胺酸、3-甲醯基酪胺酸、3-乙醯基酪胺酸或4-胺基苯丙胺酸；較佳地，非天然胺基酸為3-甲醯基酪胺酸。

【0013】 連接子可為可裂解的，較佳為蛋白酶可裂解的，更佳為組織蛋白酶(諸如組織蛋白酶B)可裂解的連接子可包含纈胺酸-瓜胺酸部分。連接子可包含羥胺基團且非天然胺基酸包含位於芳環(諸如3-甲醯基酪胺酸)中羥基鄰位的甲醯基，且其中共軛後連接子的羥胺基團與非天然胺基酸的甲醯基形成𬝰。

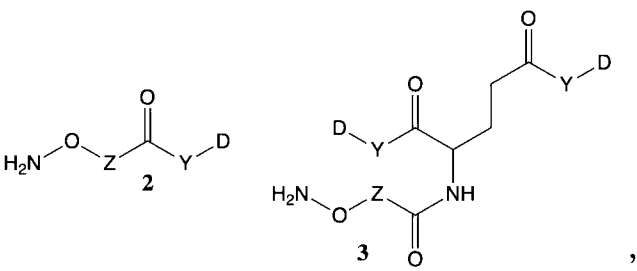
【0014】 貝倫妥昔可與兩個、四個、六個或八個，較佳與兩個或四個藥物部分，更佳與兩個藥物部分共軛。

【0015】 連接子在與非天然胺基酸共軛之前可具有如結構1所示的結構：



其中R為一或多個藥物部分，其任選地藉由一或多個裂解位點與結構1的羥胺共軛，較佳其中結構1的羥胺與非天然胺基酸共軛。

【0016】 連接子在與非天然胺基酸共軛之前可具有如結構2或3所示的結構：



其中Z選自由以下組成的群組：取代或未取代的烷基、取代或未取代的烯基、取代或未取代的炔基、取代或未取代的環烷基、取代或未取代的芳基、取代或未取代的芳烷基、取代或未取代的雜芳基、取代或未取代的雜芳烷基、取

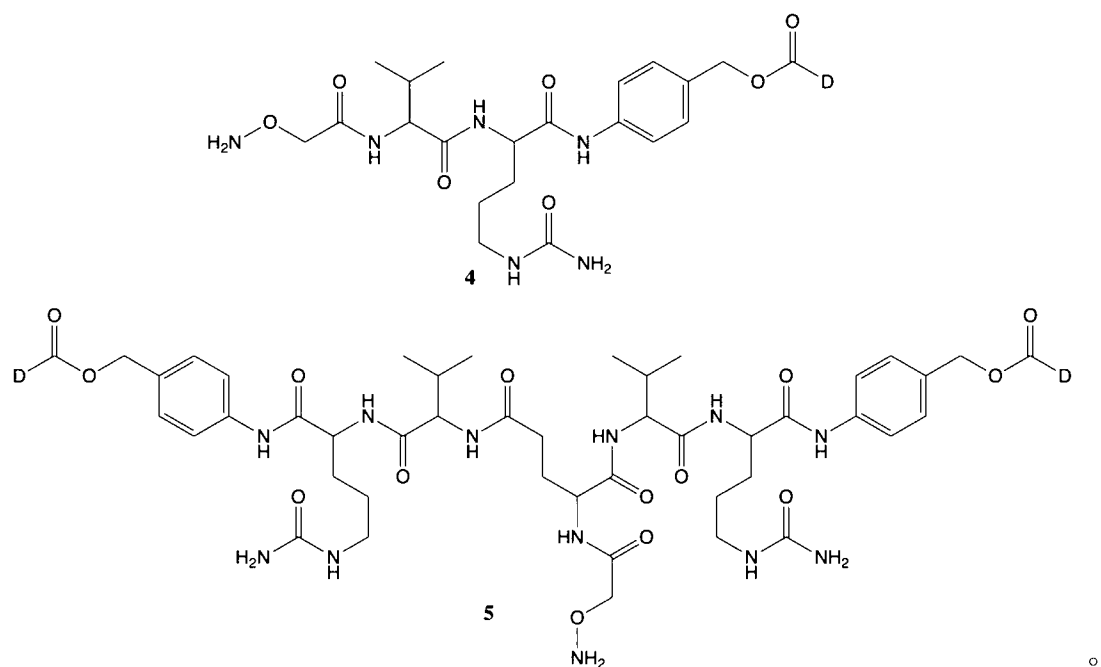
代或未取代的雜環基、取代或未取代的雜烷基、取代或未取代的雜烯基、及取代或未取代的雜炔基；

其中D為一或多個藥物部分；以及

其中Y為裂解位點，諸如組織蛋白酶(諸如組織蛋白酶B)的裂解位點；

較佳其中結構2或結構3的羥胺與非天然胺基酸共軛。

【0017】 連接子在與非天然胺基酸共軛之前可具有如結構4或5所示的結構，其中D為藥物部分，較佳為MMAE：



【0018】 非天然胺基酸可為3-甲醯基酪胺酸，且連接子的羥胺基團與非天然胺基酸的3-甲醯基形成酐。

【0019】 本發明進一步涉及製造如本文所界定的ADC的方法，其包含：

(a)在貝倫妥昔的輕鏈、重鏈或輕鏈及重鏈兩者的C末端引入或添加微管蛋白酪胺酸連接酶的識別序列；

(b)在微管蛋白酪胺酸連接酶及非天然胺基酸存在下，在適合微管蛋白酪胺酸連接酶使貝倫妥昔與非天然胺基酸連接的條件下，使步驟(a)中獲得的貝倫妥昔接觸；以及

(c)使包含藥物部分的任選可裂解的連接子與步驟(b)中獲得的經連接的貝倫妥昔共軛。

【0020】 本發明進一步涉及可藉由本文所界定的製造ADC的方法獲得的ADC。本發明進一步涉及藉由本文所界定的製造ADC的方法獲得ADC。

【0021】 本發明進一步涉及一種包含本發明ADC的醫藥組合物。

【0022】 本發明進一步涉及本發明的ADC或本發明的醫藥組合物在治療疾病的方法中的用途。較佳地，疾病與CD30的過度表現有關。更佳地，疾病選自由以下組成的群組：淋巴瘤，諸如何杰金氏淋巴瘤(HL)、非何杰金氏淋巴瘤(NHL)、退行性大細胞淋巴瘤(ALCL)、大型B細胞淋巴瘤、兒童淋巴瘤、T細胞淋巴瘤及腸病變相關T細胞淋巴瘤(EATL)；白血病，諸如急性骨髓性白血病(AML)、急性淋巴母細胞白血病(ALL)及肥大細胞白血病；生殖細胞癌；移植物抗宿主病(GvHD)；以及狼瘡，特別是全身性紅斑狼瘡(SLE)；較佳為何杰金氏淋巴瘤(HL)或退行性大細胞淋巴瘤(ALCL)。

【圖式簡單說明】

【0023】 當結合非限制性實例及附圖考慮時，參考實施方式將更好地理解本發明，其中：

【0024】圖1示出在蛋白A層析法(PAC)後分析性粒徑篩析層析法(SEC)層析圖，圖1A示出未修飾的貝倫妥昔的SEC，且圖1B-D示出貝倫妥昔的Tub-tag變體的SEC。單株抗體(mAb)在表現及純化後是高度單體的。

【0025】圖2示出貝倫妥昔(黑色)及貝倫妥昔的Tub-tag類似物(貝倫妥昔縮寫為「Bren.」)的分析，該等類似物表示為Bren. LC-Tub(灰色，虛線)，Bren. HC-Tub(灰色)，Bren. LCHC-Tub(黑色，虛線)。圖2A為親水相互作用層析法(HIC)層析圖，其示出在220 nm處記錄的正規化吸收光譜。滯留時間為疏水性的量度。圖2B示出用於測定熔點(T_m)的微差掃描螢光法(DSF)。

【0026】圖3示出經由分析性SEC及HIC對貝倫妥昔Tub-tag ADC的分析。每個貝倫妥昔變體(貝倫妥昔縮寫為「Bren.」)經表現、以PAC純化，並與有效負載2共軛產生DAR 2，且與有效負載2或有效負載3共軛產生DAR 4 ADC，其中圖3A及D示出Bren. HC-vc-PAB-MMAE DAR2(本文也稱為「Bren. HC-2」)，圖3B及E示出Bren. LC-vc-PAB-MMAE DAR2(本文也稱為「Bren. LC-2」)，且圖3C及F示出Bren. LCHC-vc-PAB-MMAE DAR4(本文也稱為「Bren. LCHC-2」)。在以HIC及緩衝液交換進行最後拋光後，根據聚集體含量及DAR同質性來分析Tub-tag ADC。所有Tub-tag ADC均含有非常低的HMWS(< 1%)並顯示出優異的DAR同質性。

【0027】圖4示出在粗光譜解卷積後藉由中間蛋白MS對貝倫妥昔Tub-tag ADC的分析。圖4A示出Bren. HC-Tub的結果，圖4B示出Bren. LCHC-Tub的結果，圖4C示出Bren-LC-Tub的結果，圖4D示出Bren. HC-vc-PAB-MMAE(本文也稱為「Bren. HC-2」)的結果，圖4E示出Bren-LCHC-vc-PAB-MMAE(本文也稱為「Bren. LCHC-2」)的結果，且圖4F示出Bren. LC-2(vc-PAB-MMAE)(本文也稱為「Bren.

LC-3」)的結果。1369 m/z的質量偏移是由於3-甲醯基-L-酪胺酸1的摻入且胍與有效負載2的連接所導致。在胍與有效負載3連接後，觀察到2604 m/z的質量差。這些結果與計算值一致。

【0028】圖5示出在圖5A中以蛋白酶組織蛋白酶B(每個vc部分為1:1000)消化反應期間，含有纈胺酸-瓜胺酸(vc)的有效負載2及3的RP-HPLC分析。在分析之前，以E-64終止反應。150分鐘的反應時間後，記錄在220 nm處的層析圖。圖5B的圖示出游離MMAE隨時間的增加(黑色)及有效負載2的減少(灰色，圓圈)。圖5C示出有效負載3的裂解。在與組織蛋白酶B反應期間，形成含有一個MMAE部分的中間體(灰色，三角形)。

【0029】圖6示出在高溫下貝倫妥昔維多汀及貝倫妥昔Tub-tag ADC的儲存結果。圖6A示出在研究過程中HMWS的增加(Bren. LC-2(vc-PAB-MMAE)(本文也稱為「Bren. LC-3」)；Bren. LC-vc-PAB-MMAE(本文也稱為「Bren. LC-2」)；Bren. HC-vc-PAB-MMAE(本文也稱為「Bren. HC-2」)。貝倫妥昔維多汀的聚集體含量增加最多。相比之下，Tub-tag ADC的HMWS含量幾乎保持不變。圖6B及6C示出SEC層析圖，其示出貝倫妥昔維多汀(平均藥物對抗體的比率(DAR_{av}))及與有效負載3共軛的Bren. LC (Bren. LC-3，DAR 4)在220 nm處記錄的正規化吸收光譜。

【0030】圖7示出在小鼠血漿中貝倫妥昔Tub-tag ADC穩定性的示例性說明。圖7A及7B示出在小鼠血漿中在37°C下貝倫妥昔維多汀的儲存結果，且圖7C及7D示出在小鼠血漿中在37°C下Bren. LC-3 DAR 4的儲存結果。

【0031】圖8示出貝倫妥昔Tub-tag ADC在CD30過度表現細胞株Karpas299及CD30陰性細胞株HL60中的活體外功效。

【0032】 圖9示出以腫瘤體積(cm^3)表示的Bren. LC-2的活體內功效。為了評估Bren. LC-2的活體內功效，腫瘤體積在100到150 mm^3 之間的小鼠被隨機分配，並在腫瘤移植後第7天及第10天兩次注射1.5 mg/kg進行治療。

【0033】 圖10示出以腫瘤體積(cm^3)及治療動物的存活百分比表示的Bren. LC-2的活體內功效。為了評估Bren. LC-2的活體內功效，腫瘤體積在100到150 mm^3 之間的小鼠被隨機分配，並以單次注射1.0 mg/kg進行治療。

【0034】 圖11示出以腫瘤體積(cm^3)及治療動物的存活百分比表示(卡普蘭-麥爾(Kaplan-Meier)圖)的Bren. LC-3的活體內功效。為了評估Bren. LC-3的活體內功效，腫瘤體積在100到150 mm^3 之間的小鼠被隨機分配，並在腫瘤移植後第8天及第11天兩次注射0.5 mg/kg進行治療。

【0035】 圖12示出貝倫妥昔Tub-tag MMAE(Bren LC-2)的PK分析。在圖12A中，示出與貝倫妥昔維多汀相比完整ADC的量。在圖12B中，示出藉由MS-Analysis所分析的轉移到血液蛋白的MMAE的量。

【0036】 圖13示出與貝倫妥昔維多汀相比，在第1、8、15及22天以10 mg/kg靜脈內(推注)施用貝倫妥昔Tub-tag ADC後，雄性及雌性大鼠中完整ADC及總抗體的平均血清濃度。

【0037】 圖14示出與貝倫妥昔維多汀(黑色條)相比，在雄性及雌性大鼠中貝倫妥昔Tub-tag ADC(Bren LC-2)(灰色條)的示例性毒性特性。圖14中描述的參數為網狀紅血球的計數/微升(RET，以 $\text{K}/\mu\text{l}$ 為單位)、紅血球的百萬/微升(RBC，以 $\text{M}/\mu\text{L}$ 為單位)、血紅素的百萬/微升(Hb，以 $\text{M}/\mu\text{L}$ 為單位)、血比容體積百分比(HTC，以%為單位)、嗜酸性球的計數/微升(EOS，以 $\text{K}/\mu\text{l}$ 為單位)、活化部分凝

血質時間(APPT)(以秒為單位)、葡萄糖濃度/升(以mmol/L為單位)、胸腺重量(以g為單位)、以及睪丸重量(以g為單位)。

【0038】 圖15示出純化後HA-VC-PAB-MMAE的層析圖。

【0039】 圖16示出純化後Boc-Glu-(VC-PAB-MMAE)₂的層析圖。

【0040】 圖17示出純化後Boc-HA-Glu-(VC-PAB-MMAE)₂的層析圖。

【0041】 圖18示出純化後HA-Glu-(VC-PAB-MMAE)₂的層析圖。

【0042】 圖19示出在石蟹獼猴中給予12及15 mg/kg劑量的貝倫妥昔Tub-tag MMAE的毒物動力學分析。藉由ELISA評估單株抗體及完整ADC的總量。完整ADC及總單株抗體曲線的高度重疊示出在兩劑量濃度下貝倫妥昔Tub-tag MMAE的高穩定性。

【0043】 圖20示出在石蟹獼猴中在貝倫妥昔Tub-tag MMAE(Bren. LC-2)的重複劑量研究中收集的體重及不同血液值的選擇。圖20的左側上圖示出體重隨時間變化。圖20的右側上圖示出淋巴球濃度隨時間變化。圖20的左側下圖示出嗜中性球濃度隨時間變化。圖20的右側下圖示出白血球濃度隨時間變化。數據示出，與貝倫妥昔維多汀(Adcetris)的類似研究的文獻值比較，在每種情況下重複給予6、12及15 mg/kg劑量的貝倫妥昔Tub-tag MMAE(Bren. LC-2)的三組兩隻雌性動物的平均值及誤差。體重以千克為單位，淋巴球以每升十億為單位，嗜中性球以每升十億為單位，且白血球以每升十億為單位。

【0044】 圖21示出貝倫妥昔重鏈及輕鏈的胺基酸序列，如2013年厚生勞動省藥品與食品安全局評估及許可處關於貝倫妥昔維多汀的審議結果報告所述，該報告可在以下連結獲得：<https://www.pmda.go.jp/files/000229787.pdf>。

【實施方式】

【0045】 本發明將在下方詳細描述，並藉由所附實例及圖式進一步說明。

【0046】 淋巴惡性腫瘤佔所有癌症的約4到5%，並源自淋巴系統。在傳統何杰金氏淋巴瘤及若干非何杰金氏淋巴瘤，諸如退行性大細胞淋巴瘤及周邊T細胞淋巴瘤中，CD30近年來已被證明是一種用於靶向治療的重要腫瘤生物標記。隨著2011年貝倫妥昔維多汀(Adcetris®)的創新批准，第一個CD30特異性生物藥物已進入市場，且從此成為具有良好整體反應的不可或缺的治療選擇。貝倫妥昔維多汀由靶向腫瘤的嵌合IgG1抗體成分貝倫妥昔及連接子-有效負載成分所組成，該連接子-有效負載成分包含與強效的有效負載部分單甲基-阿瑞他汀E化學連接的組織蛋白酶B可裂解的纈胺酸-瓜胺酸連接子部分，其在細胞內傳遞及釋放時有效誘導細胞凋亡。

【0047】 然而，已知貝倫妥昔維多汀在臨床慣例中會引起敏感及持久的毒性作為副作用，諸如血小板減少症。

【0048】 發明人可說明，微管蛋白酪胺酸連接酶的使用令人驚訝地能讓藥物部分與貝倫妥昔進行高度特異性及化學計量上確定的共軛，該貝倫妥昔已藉由在輕鏈及/或重鏈的C末端添加TTL識別序列而修飾。TTL可用於使非天然胺基酸(諸如3-甲醯基酪胺酸)與TTL識別序列共軛。藥物部分(例如MMAE)可藉由連接子(例如藉由包含可與非天然胺基酸上的活性基團反應的活性基團的連接子)特異性地與非天然胺基酸共軛。例如，連接子可包含羥胺，其與非天然胺基酸的甲醯基反應形成肟(請見實施例1)。總之，發明人說明，藉由本文所述的共軛策略使貝倫妥昔維多汀的功能組分貝倫妥昔及MMAE組合，可令人驚訝地增進貝倫妥昔維多汀。本發明的ADC令人驚訝地示出更高的體外穩定性(請見實施例

2)、更高的活體內功效(請見實施例4)、更高的體內穩定性(請見實施例5)、以及具有增進的毒物學特性(請見實施例6)。因此，貝倫妥昔維多汀的副作用可驚人地減少。

【0049】 因此，本發明涉及抗體-藥物共軛體(ADC)，其包含：

(a)貝倫妥昔(brentuximab)，其中貝倫妥昔在貝倫妥昔的輕鏈、重鏈或全部重鏈及輕鏈的C末端包含微管蛋白酪胺酸連接酶的識別序列及非天然胺基酸；以及

(b)至少一種藥物部分；

其中藥物部分透過連接子與非天然胺基酸的每一個共軛。

【0050】 本文所用的「抗體-藥物共軛體」(ADC)乙詞通常涉及抗體(諸如貝倫妥昔或其抗原結合片段)與另一種試劑(諸如化學治療劑、毒素、免疫治療劑、成像探針等)的連接。連接方式可為共價鍵或諸如藉由靜電力的非共價相互作用，較佳為共價鍵。可使用本領域已知及本文所述的各種連接子以形成抗體藥物共軛體。本發明的ADC也可藉由具有式 $Ab-(L-(D)_x)_y$ 來描述。「Ab」代表抗體(諸如貝倫妥昔或其抗原結合片段)，「L」代表連接子，且「D」代表藥物部分。「x」可為從1到10的整數。「y」可為從1到10的整數。因此，x可為1、2、3、4、5、6、7、8、9或10。因此，y可為1、2、3、4、5、6、7、8、9或10。作為純粹的說明性實例，x或y可為1到8、1到6、1到4、或1到2的整數。

「Ab」：抗體

貝倫妥昔

【0051】 如本文所概述，本發明的ADC可藉由具有式 $Ab-(L-(D)_x)_y$ 來描述。

本發明ADC的「Ab部分」為貝倫妥昔。貝倫妥昔，也稱作cAC10或SGN-30，為

本領域技術人員周知的抗體(請見例如 Wahl 等人(2002), *Cancer Res*, 62:3736-3742)。貝倫妥昔為與靶細胞表面的CD30特異性結合的單株抗體。與CD30的結合使貝倫妥昔開始內化,接著使其進入溶酶體隔室。在細胞內,ADC的藥物部分可從單株抗體釋放,例如,經由連接子的裂解或降解。本發明的ADC中包含貝倫妥昔。

【0052】 CD30,也稱作TNFRSF8,為腫瘤壞死因子受體家族及腫瘤標記的細胞膜蛋白。此受體由活化的T細胞及B細胞表現,但不由靜止的T細胞及B細胞表現。TRAF2及TRAF5可與此受體相互作用,並媒介導致NF- κ B活化的訊息傳遞。其為細胞凋亡的正調節劑,且也已被證明可限制自身反應性CD8效應T細胞的增殖潛力並保護本體免受自身免疫的影響。編碼有不同同功型的此基因的兩個選擇性剪接的轉錄變體已有報導。CD30與退行性大細胞淋巴瘤有關。其在胚胎性癌中表現,但在精原細胞瘤中不表現,且因此為區分這些生殖細胞腫瘤的有用標記。CD30及CD15也在典型何杰金氏淋巴瘤的Reed-Sternberg細胞上表現。

【0053】 作為已批准藥物及如本文所用的貝倫妥昔的每個重鏈具有SEQ ID NO: 1的胺基酸序列(其也在圖21中示出)。本文也可使用其重鏈與SEQ ID NO: 1具有至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的序列一致性的抗體。例如,如圖21所示,若有需要,可省略位置447處的最後一個殘基K。這樣的重鏈可被認為是貝倫妥昔重鏈的變體。類似地,可刪除例如貝倫妥昔重鏈的前兩個或前三個N末端殘基。與貝倫妥昔相比,這樣的重鏈將具有三個或四個突變,並因此與貝倫妥昔重鏈的序列一致性為約99.2%(四個胺基酸差異)到99.8%(一個胺基酸差異)。

【0054】 作為已批准藥物及如本文所用的貝倫妥昔的每個輕鏈具有SEQ ID NO: 2的胺基酸序列(其也在圖21中示出)。本文也可使用其輕鏈與SEQ ID NO: 2具有至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的序列一致性的抗體。例如，若需要，可省略位置218處的最後一個殘基C。這樣的輕鏈可被認為是貝倫妥昔輕鏈的變體。類似地，可刪除例如貝倫妥昔輕鏈的前兩個或前三個N末端殘基。與貝倫妥昔相比，這樣的輕鏈將具有三個或四個突變，並因此與貝倫妥昔輕鏈的序列一致性為98.2%(四個胺基酸差異)到99.5%(一個胺基酸差異)。

【0055】 在一個特定具體實施例中，貝倫妥昔包含含有SEQ ID NO: 1的胺基酸序列的重鏈以及含有SEQ ID NO: 2的胺基酸序列的輕鏈。在一個進一步的特定具體實施例中，貝倫妥昔由重鏈及輕鏈組成，該鏈由SEQ ID NO: 1的胺基酸序列組成，輕鏈由SEQ ID NO: 2的胺基酸序列組成。

【0056】 一般來說，當在本文中使用時，在兩個或更多個核酸或多肽序列的背景下，「百分比(%)一致的」或「百分比(%)一致性」等詞涉及兩個或更多個序列或子序列相同的程度。若兩個序列在被比較的區域上具有相同的胺基酸或核苷酸序列，則其為「一致的」。當在比較範圍或指定區域比較及比對最大對應性時，若兩個序列具有指定百分比的相同胺基酸殘基或核苷酸(即在指定區域上，或當未指定時，在整個序列上，60%一致性，任選地65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或99%一致性)，則兩個序列為「實質上一致的」，如使用以下序列比較演算法之一或藉由手動比對及目測所測量。任選地，一致性存在於長度為至少約30個核苷酸(或10個胺基酸)的區域上，或更佳地存在於長度為100到500或1000或更多核苷酸(或20、50、200或更多胺基酸)的區域上。

【0057】 序列同源性或序列一致性的百分比可例如在本文中**使用BLASTP**程式(blastp 2.2.5版，2002年11月16日)(Altschul et al., Nucleic Acids Res, 1997)來測定。在此具體實施例中，同源性百分比為基於包括原肽序列的整個多肽序列(矩陣：BLOSUM 62；間隙扣分：11.1；截止值設定為 10^{-3})的比對，較佳在成對比較中使用野生型蛋白支架作為參照。其計算方法為在BLASTP程式輸出中顯示為結果的「陽性」(同源胺基酸)數目除以程式選擇用於比對的胺基酸總數的百分比。

TTL識別序列以及非天然胺基酸與貝倫妥昔的共軛

【0058】 在本發明的ADC中，貝倫妥昔可與一或多個TTL識別序列融合，例如在輕鏈、重鏈或輕鏈及重鏈的C末端。此TTL識別序列能讓TTL使非天然胺基酸與貝倫妥昔的輕鏈及/或重鏈的C末端處的TTL識別序列共軛。因此，本發明的ADC中包含的貝倫妥昔在貝倫妥昔的輕鏈、重鏈或所有重鏈及輕鏈的C末端處包含微管蛋白酪胺酸連接酶的識別序列(「TTL識別序列」)。在本發明的ADC中，非天然胺基酸與此TTL識別序列相連。經由連接子與此非天然胺基酸共軛的為藥物部分。當在本文中**使用時**，「Tub-tag」涉及TTL識別序列或TTL識別序列，較佳為SEQ ID NO: 4或SEQ ID NO: 5。

【0059】 如本文及在整個說明書中所用，「微管蛋白酪胺酸連接酶」乙詞，在本文中有時縮寫為「TTL」，涵蓋能夠使多肽官能化的多肽，也就是使如本文所界定的非天然胺基酸共價連接到多肽。對於此作用，較佳該多肽包含TTL識別序列。該用語包括來自真核生物，較佳哺乳動物，更佳來自灰狼的TTL。較佳的TTL在SEQ ID NO: 13中示出。該用語還包括在其整個胺基酸序列上與SEQ ID NO: 13中示出的TTL的胺基酸序列具有70%、80%、90%或95%或更多一致性的TTL。較佳地，具有如前述共有一致性的胺基酸序列的此類多肽具有TTL活性。

TTL活性可如本領域已知的或本文所述進行測試。序列一致性的百分比可例如如上所述在本文中測定。較佳地，SEQ ID NO: 13中示出的胺基酸序列在成對比較中作為參考。

【0060】如本文及在整個說明書中所用，本文使用的所有文法形式的「官能化」乙詞是指「使非天然胺基酸共價連接」到多肽(諸如貝倫妥昔)。不希望受特定理論的束縛下，可設想TTL使如本文所界定的非天然胺基酸添加到TTL識別序列的最終C末端胺基酸。

【0061】WO 2016/066749及WO 2017/186855中描述使用微管蛋白酪胺酸連接酶(TTL)修飾蛋白的方法，其在此藉由引用而併入。為了使TTL將非天然胺基酸連接到感興趣的蛋白(諸如本文所述的ADC的抗體)，TTL需要識別序列。本文所述的ADC可被修飾以在貝倫妥昔的輕鏈、重鏈或輕鏈及重鏈兩者的C末端處包含微管蛋白-酪胺酸連接酶(TTL)的識別序列，其至少包含胺基酸序列 $X_4X_3X_2X_1$ 。「識別序列」或「識別基序」等詞在本文中可互換使用，且涉及被TTL識別的一段胺基酸。這種識別序列為本領域已知的；請見例如，Ruediger等人(1994)，Eur. J. Biochem. 220，309-320或Prota等人(2013)，J. Cell. Biol. 200，No. 3，259-270。另外，本領域技術人員藉由應用例如Ruediger等人所述的「藉由TTL使肽酪胺酸化」檢定，可容易地測試感興趣的胺基酸序列是否為TTL識別序列。被TTL「識別」包括TTL與識別基序的結合。識別基序有利地包含至少4個胺基酸，其在本文中被指定為 X_4 、 X_3 、 X_2 及 X_1 。一般來說，除非本文另有說明，否則「X」可表示任意胺基酸。胺基酸包括但不限於二十種「標準」胺基酸：異白胺酸(Ile，I)、白胺酸(Leu，L)、離胺酸(Lys，K)、甲硫胺酸(Met，M)、苯丙胺酸(Phe，F)、蘇胺酸(Thr，T)、色胺酸(Trp，W)、纈胺酸(Val，V)、丙胺酸

(Ala, A)、天門冬醯胺(Asn, N)、天門冬胺酸(Asp, D)、半胱胺酸(Cys, C)、麩胺酸(Glu, E)、麩醯胺酸(Gln, Q)、甘胺酸(Gly, G)、脯胺酸(Pro, P)、絲胺酸(Ser, S)、酪胺酸(Tyr, Y)、精胺酸(Arg, R)、以及組胺酸(His, H)。本發明也包括但不限於D-型胺基酸、 β -胺基酸、具有側鏈的胺基酸以及本領域技術人員已知的所有非天然胺基酸。

【0062】微管蛋白酪胺酸連接酶的識別序列可至少具有胺基酸序列 $X_1X_2X_3X_4$ (SEQ ID NO: 3)，其中 X_1 及 X_2 為任意胺基酸， X_3 為E、D或C，且 X_4 為E；較佳其中 X_2 為G、S、A、V或F，及/或其中 X_1 為E、D、A、K或P。識別序列可為EGEE(SEQ ID No. 4)，較佳識別序列為VDSVEGEGEEEGEE(SEQ ID No. 5)、SVEGEGEEEGEE(SEQ ID No. 6)、SADGEDEGEE(SEQ ID No. 7)、SVEAEAEEGEE(SEQ ID No. 8)、SYEDEDEGEE(SEQ ID No. 9)、或SFEEENE(SEQ ID No. 10)。在一個具體實施例中，識別序列為VDSVEGEGEEEGEE(SEQ ID No. 5)。

【0063】本發明的ADC中所包含的貝倫妥昔中存在的TTL識別序列的數目決定了藥物對抗體的比率(DAR)。儘管藥物對抗體的比率(DAR)對於特定的共軛體分子具有確定的化學計量值(例如，在式 $Ab-(L-(D)_x)_y$ 中y乘以x)，但應理解到，當用於描述含有許多分子的樣品時，由於某種程度的非均質性(通常與共軛步驟有關)，因此該值可能為平均值。因此，在本文上下文中所述的抗體藥物共軛體中的任何一個的背景下，抗體藥物共軛體的樣品的平均負載被稱作藥物對抗體的比率，或「DAR」。然而，較佳地，本發明提供ADC，其中實質上所有或全部ADC具有所需的DAR，或者換句話說，為化學計量上確定的。

【0064】 本發明的ADC是基於為一種單株IgG抗體的貝倫妥昔。IgG抗體包含兩個「輕鏈」及兩個「重鏈」，或由其所組成。由於TTL識別序列僅可融合到輕鏈、重鏈或輕鏈及重鏈兩者的C末端，因此貝倫妥昔的TTL識別序列最大數目被限制為4。在重鏈或輕鏈在C末端處包含TTL識別序列的情況下，本發明的ADC中所包含的貝倫妥昔中有2個TTL識別序列。在重鏈及輕鏈在C末端處包含TTL識別序列的情況下，本發明的ADC中所包含的貝倫妥昔中有4個TTL識別序列。

【0065】 在本發明的ADC中，TTL識別序列可直接與抗體貝倫妥昔鏈的C末端融合。請見本文，貝倫妥昔重鏈(SEQ ID NO: 12)：其中TTL識別序列直接與重鏈的C末端融合(也就是其間不存在任何胺基酸殘基)。或者，可在TTL識別序列和抗體鏈之間排列有(肽)連接子。因此，貝倫妥昔輕鏈、重鏈或輕鏈及重鏈兩者可包括排列在TTL識別序列和相應C末端之間的胺基酸連接子序列。作為說明性實例，請見SEQ ID NO: 11的輕鏈，其中TTL識別序列經由GGGGS (G4S)連接子與貝倫妥昔輕鏈的C末端融合。胺基酸連接子可具有任何合適的長度，只要TTL識別序列的功能得以保持即可。例如，胺基酸連接子可包含1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14或15個胺基酸殘基。再次請見SEQ ID NO: 11的輕鏈，其中GGGGS(G4S)連接子排列在TTL識別序列和貝倫妥昔的C末端之間。也可使用其他標準連接子，諸如(G4S)₂或(G4S)₃，其通常用作使不同鏈的重組抗體分子(諸如單鏈Fv片段)相互融合的連接子。因此，在這些實例中，連接子的長度可為10個胺基酸殘基((G4S)₂)或15個胺基酸殘基((G4S)₃)。然而，連接子絕不限於最多15個胺基酸殘基的長度，而是根據以上揭示，胺基酸連接子序列可包含甚至多於15個胺基酸。

【0066】 同樣根據上述揭示，可構築本發明的ADC，使得在TTL識別序列和相應抗體鏈之間並無抗體鏈包含肽連接子。在這樣的ADC中，TTL識別序列可直接與貝倫妥昔的輕鏈及重鏈融合。然而，也可如此構築本發明的ADC，使得抗體鏈之一在TTL識別序列和相應抗體鏈之間包含肽連接子。在這樣的ADC中，TTL識別序列可經由連接子(例如，如SEQ ID NO: 11的輕鏈中的GGGGS-連接子)與每個輕鏈融合，而TTL識別序列可直接與貝倫妥昔的兩個重鏈中的每一個融合。最後，也可構築本發明的ADC，使得抗體輕鏈及抗體重鏈均包含在TTL識別序列和相應抗體鏈之間的肽連接子。在這樣的ADC中，TTL識別序列可經由連接子(例如，GGGGS-連接子或(G4S)₂連接子)與貝倫妥昔的兩個輕鏈中的每一個以及兩個重鏈中的每一個融合。

【0067】 在一個具體實施例中，貝倫妥昔在輕鏈的C末端處包含TTL識別序列，也就是總共2個。TTL識別序列可經由胺基酸連接子序列(諸如GGGGS)與輕鏈的C末端融合。TTL識別序列可直接與輕鏈的C末端結合。貝倫妥昔重鏈可包含具有如SEQ ID NO: 1所示序列的多肽，且貝倫妥昔輕鏈可包含具有如SEQ ID NO: 11所示序列的多肽。貝倫妥昔重鏈可包含具有如SEQ ID NO: 1所示序列的多肽，且貝倫妥昔輕鏈可包含具有如SEQ ID NO: 14所示序列的多肽。貝倫妥昔重鏈可由具有如SEQ ID NO: 1所示序列的多肽所組成，且貝倫妥昔輕鏈可由具有如SEQ ID NO: 11所示序列的多肽所組成。貝倫妥昔重鏈可由具有如SEQ ID NO: 1所示序列的多肽所組成，且貝倫妥昔輕鏈可由具有如SEQ ID NO: 14所示序列的多肽所組成。

【0068】 在一個具體實施例中，貝倫妥昔在輕鏈及重鏈的C末端處包含TTL識別序列，也就是總共4個。TTL識別序列可經由胺基酸連接子序列(諸如

GGGGS)與輕鏈的C末端融合，且TTL識別序列可直接與重鏈的C末端結合。TTL識別序列可經由胺基酸連接子(諸如GGGGS)與輕鏈的C末端結合，且TTL識別序列可經由胺基酸連接子(諸如GGGGS)與重鏈的C末端結合。TTL識別序列可直接與輕鏈的C末端結合，且TTL識別序列可直接與重鏈的C末端結合。貝倫妥昔重鏈可包含具有如SEQ ID NO: 12所示序列的多肽，且貝倫妥昔輕鏈可包含具有如SEQ ID NO: 11所示序列的多肽。貝倫妥昔重鏈可包含具有如SEQ ID NO: 12所示序列的多肽，且貝倫妥昔輕鏈可包含具有如SEQ ID NO: 14所示序列的多肽。貝倫妥昔重鏈可由具有如SEQ ID NO: 12所示序列的多肽所組成，且貝倫妥昔輕鏈可由具有如SEQ ID NO: 11所示序列的多肽所組成。貝倫妥昔重鏈可由具有如SEQ ID NO: 12所示序列的多肽所組成，且貝倫妥昔輕鏈可由具有如SEQ ID NO: 14所示序列的多肽所組成。

【0069】 在一個具體實施例中，貝倫妥昔在重鏈的C末端處包含TTL識別序列，也就是總共2個。TTL識別序列可直接與重鏈的C末端結合。TTL識別序列可經由胺基酸連接子序列(諸如GGGGS)與重鏈的C末端結合。貝倫妥昔重鏈可包含具有如SEQ ID NO: 12所示序列的多肽，且貝倫妥昔輕鏈可包含具有如SEQ ID NO: 2所示序列的多肽。貝倫妥昔重鏈可由具有如SEQ ID NO: 12所示序列的多肽所組成，且貝倫妥昔輕鏈可由具有如SEQ ID NO: 2所示序列的多肽所組成。

【0070】 然而，TTL識別序列的數目不一定等於與非天然胺基酸共軛的藥物部分的數目，也就是不一定等於DAR。一個以上藥物部分與非天然胺基酸共軛(經由連接子)也涵蓋在本發明中。例如，2、3、4、5、6、7、8、9或10個，較佳2個藥物部分可經由連接子與一個非天然胺基酸共軛。在這種情況下，連接子可充當支架，2、3、4、5、6、7、8、9或10個，較佳2個藥物部分可與該支架共

軛。連接子因此與非天然胺基酸共軛。作為兩個藥物部分的支架的示例性連接子為結構**3**或**5**。因此，抗體可與兩個、四個、六個或八個，較佳與兩個或四個藥物部分，更佳與兩個藥物部分共軛。

非天然胺基酸

【0071】非天然胺基酸為本發明ADC的「Ab」部分中連接子的錨點(anchor point)。在這點上，再次提及本文所述的「ADC化學式」： $Ab-(L-(D)_x)_y$ 。因此，可藉由TTL與在其C末端具有TTL識別序列的多肽(諸如本發明的ADC中包含的貝倫妥昔)的C末端共軛的非天然胺基酸，包含可與連接子L的官能基反應以形成共價鍵的官能基。

【0072】一般來說，非天然胺基酸可被視為酰胺酸衍生物。較佳地，酰胺酸衍生物包含能讓藥物部分經由連接子共軛的活性基團。

【0073】酰胺酸衍生物可(進一步)含有非天然(非天然)官能基，其較佳用於化學選擇性或生物正交修飾。該官能基可能適用於點擊化學。「點擊化學」乙詞涉及由Kolb、Finn及Sharpless在2001年引入的化學原理，且涵蓋一組強大的連接反應，其能夠藉由使包含反應基團的小單元連接在一起而快速且可靠地產生共價鍵。點擊化學反應通常為模組化、範圍廣泛、產生高化學產率、產生無害的副產物、立體特異性、及/或可使用容易獲得的起始材料及試劑在簡單的生理反應條件下進行。另外，點擊化學反應較佳不使用有毒溶劑或使用親和或易於去除的溶劑(較佳為水)，及/或藉由非層析方法(結晶或蒸餾)提供簡單的產物分離。明顯的放熱反應使反應物「彈簧承載(spring loaded)」。

【0074】點擊化學反應例如包含以下：環加成反應，特別是來自1,3-偶極家族的環加成反應、雜狄耳士-阿德爾(hetero-Diels-Alder)反應；親核開環反應，

例如應變雜環親電子劑，諸如環氧化物、氮丙啶、環狀硫酸酯、環狀胺基磺酸酯、氮丙啶鎗離子及表硫鎗離子的親核開環反應；非醛醇型羰基化學(例如肟醚、肟及芳香雜環的形成)；以及碳-碳多重鍵的加成；例如氧化反應，諸如環氧化、二羥基化、氮丙啶化、及亞硝基和次磺醯基鹵化物加成、以某些麥可加成(Michael addition)反應。點擊化學反應的一般原理已由Kolb、Finn及Sharpless(2001)描述。選擇適合於經由連接子使所需藥物部分連接到酪胺酸衍生物或非天然胺基酸上的點擊化學反應為本領域技術人員所知的，該酪胺酸衍生物或非天然胺基酸與本發明的ADC中包含的貝倫妥昔共價結合。

【0075】如本文所用，「點擊化學柄」乙詞涉及可參與點擊化學反應的反應物或反應基團。這樣的反應物或反應基團較佳為用於化學選擇性或生物正交修飾的非天然(非天然)官能基；然而，其也可為用於化學選擇性或生物正交修飾的天然官能基。例如，應變炔烴，如環辛炔，為點擊化學柄，因為其可參與應變增進的環加成反應，如應變增進的疊氮化物-炔烴環加成反應(SPAAC)。一般來說，點擊化學反應需要至少兩個包含可彼此反應的點擊化學柄的分子。彼此反應的這種點擊化學柄對在本文中有時被稱作「夥伴點擊化學柄(partner click chemistry handle)」。例如，疊氮化物為環辛炔或任何其他炔烴的夥伴點擊化學柄。在本發明的上下文中，點擊化學柄可較佳選自由以下組成的群組：末端炔烴、疊氮化物、應變炔烴、二烯、親二烯體(dieneophile)、烷氧基胺、羰基、 β -芳基乙胺、膦、醯肼、肼、硫醇、四吡、烯烴、環辛烯、降萆烯、四吡、硝酮、氰基苯并噻唑、以及環辛炔。本領域技術人員容易獲得其他合適的點擊化學柄。

【0076】在經由點擊化學共軛的情況下，共軛為經由點擊化學柄的反應形成的共價鍵。在某些具體實施例中，締合為共價的，且實體被稱作彼此「共軛」。

【0077】應當注意到，本發明不限於上述示例性點擊化學柄，且額外的點擊化學柄、反應性點擊化學柄對、以及用於此類點擊化學柄對的反應條件對於本領域技術人員將是顯而易見的。

【0078】適合使連接子與本發明的ADC中所包含的貝倫妥昔所含的非天然胺基酸共軛的其他方法包含以下：史陶丁格反應(例如史陶丁格-連接、史陶丁格-亞磷酸酯反應、史陶丁格-亞膦酸酯反應)、應變促進的環加成反應、四吡連接、逆電子需求狄耳士-阿德爾反應、醛或酮與1,2-胺基硫醇的四氫噻唑形成反應、醛的噁唑啉形成反應、肟形成、腙形成、或酮與1,2-胺基醇、醛或酮與1,2-二醇的縮醛形成反應、皮克特-斯賓格勒(Pictet-Spengler)反應、捕獲的克腦文蓋爾(Knoevenagel)連接、串聯的克腦文蓋爾縮合、硫醇與烯烴或炔烴的加成反應、交叉複分解、金屬催化，特別是Pd-、Cu、Ni及Fe催化的與拉電子基團取代的酪胺酸衍生物的交叉共軛，較佳為肟形成。

【0079】可設想藥物部分可連接到經由連接子與貝倫妥昔共價鍵結的非天然胺基酸，例如藉由點擊化學或本文所述的任何其他合適方法。因此，藥物部分可藉由非肽鍵經由連接子與非天然胺基酸共軛，然而，在替代方案中，其也可藉由肽鍵經由連接子與非天然胺基酸共軛。

【0080】非天然胺基酸可為2-取代、3-取代或4-取代的酪胺酸，或在苄基位置取代的酪胺酸衍生物。3-取代或4-取代的酪胺酸衍生物可為3-硝基酪胺酸、3-胺基酪胺酸、3-疊氮基酪胺酸、3-甲醯基酪胺酸、3-乙醯基酪胺酸或4-胺基苯丙胺酸。3-取代的酪胺酸可為3-硝基酪胺酸。3-取代的酪胺酸可為3-胺基酪胺酸。3-取代的酪胺酸可為3-疊氮基酪胺酸。3-取代的酪胺酸可為3-甲醯基酪胺酸。3-

取代的酪胺酸可為3-乙醯基酪胺酸。取代的酪胺酸可為取代的苯丙胺酸。4-取代的酪胺酸可為4-胺基苯丙胺酸。特別較佳的非天然胺基酸為3-甲醯基酪胺酸。

【0081】如本文及在整個說明書中所用，「任選取代的」或「取代的」等詞表示一或多個(諸如1到與基團結合的氫原子的最大數目，例如1、2、3、4、5、6、7、8、9或最多10個，諸如1到5、1到4、或1到3、或1或2個)氫原子可被不同於氫的基團代替，諸如烷基(較佳 C_{1-6} 烷基)、烯基(較佳 C_{2-6} 烯基)、炔基(較佳 C_{2-6} 炔基)、芳基(較佳3到14員芳基)、雜芳基(較佳3到14員雜芳基)、環烷基(較佳3到14員環烷基)、雜環基(較佳3到14員雜環基)、鹵素、CN、疊氮基、 NO_2 、 OR^{71} 、 $N(R^{72})(R^{73})$ 、 $ON(R^{72})(R^{73})$ 、 $N^+(O^-)(R^{72})(R^{73})$ 、 $S(O)_2R^{71}$ 、 $S(O)_2OR^{71}$ 、 $OS(O)_2R^{71}$ 、 $OS(O)_2OR^{71}$ 、 $S(O)_2N(R^{72})(R^{73})$ 、 $OS(O)_2N(R^{72})(R^{73})$ 、 $N(R^{71})S(O)_2R^{71}$ 、 $NR^{71}S(O)_2OR^{71}$ 、 $NR^{71}S(O)_2N(R^{72})(R^{73})$ 、 $C(=W^1)R^{71}$ 、 $C(=W^1)W^1R^{71}$ 、 $W^1C(=W^1)R^{71}$ 、及 $-W^1C(=W^1)W^1R^{71}$ ；其中 R^{71} 、 R^{72} 及 R^{73} 獨立地選自H、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、3到7員環烷基、5員或6員芳基、5員或6員雜芳基、及3員到7員雜環基，其中烷基、烯基、炔基、環烷基、芳基、雜芳基及雜環基各自任選地被選自由以下組成的群組的一個、兩個或三個取代基所取代： C_{1-3} 烷基、鹵素、 CF_3 、CN、疊氮基、 NO_2 、OH、 $O(C_{1-3} \text{ 烷基})$ 、 $S(C_{1-3} \text{ 烷基})$ 、 NH_2 、 $NH(C_{1-3} \text{ 烷基})$ 、 $N(C_{1-3} \text{ 烷基})_2$ 、 $NHS(O)_2(C_{1-3} \text{ 烷基})$ 、 $S(O)_2NH_{2-z}(C_{1-3} \text{ 烷基})_z$ 、 $C(=O)OH$ 、 $C(=O)O(C_{1-3} \text{ 烷基})$ 、 $C(=O)NH_{2-z}(C_{1-3} \text{ 烷基})_z$ 、 $NHC(=O)(C_{1-3} \text{ 烷基})$ 、 $NHC(=NH)NH_{z-2}(C_{1-3} \text{ 烷基})_z$ 、及 $N(C_{1-3} \text{ 烷基})C(=NH)NH_{2-z}(C_{1-3} \text{ 烷基})_z$ ，其中z為0、1或2，且 C_{1-3} 烷基為甲基、乙基、丙基或異丙基； W^1 獨立地選自O、S及 NR^{84} ，其中 R^{84} 為-H或 C_{1-3} 烷基。

【0082】如本文及在整個說明書中所用，「烷基」乙詞涉及飽和直鏈或支鏈烴的單自由基。較佳地，烷基包含1到12(諸如1到10)個碳原子，即1、2、3、4、

5、6、7、8、9、10、11或12個碳原子(諸如如1、2、3、4、5、6、7、8、9或10個碳原子)，更佳1到8個碳原子，諸如1到6或1到4個碳原子。在一些具體實施例中，本發明中所用的烷基含有1到20個碳原子(C₁₋₂₀烷基)。在另一個具體實施例中，所用的烷基含有1到15個碳原子(C₁₋₁₅烷基)。在另一個具體實施例中，所用的烷基含有1到10個碳原子(C₁₋₁₀烷基)。在另一個具體實施例中，所用的烷基含有1到8個碳原子(C₁₋₈烷基)。在另一個具體實施例中，所用的烷基含有1到6個碳原子(C₁₋₆烷基)。在另一個具體實施例中，所用的烷基含有1到5個碳原子(C₁₋₅烷基)。在另一個具體實施例中，所用的烷基含有1到4個碳原子(C₁₋₄烷基)。在另一個具體實施例中，所用的烷基含有1到3個碳原子(C₁₋₃烷基)。在另一個具體實施例中，所用的烷基含有1到2個碳原子(C₁₋₂烷基)。烷基的實例包括但不限於甲基、乙基、丙基、異丙基、丁基、異丁基、三級丁基、正戊基、異戊基、二級戊基、新戊基、1,2-二甲基-丙基、異戊基、正己基、異己基、二級己基、正庚基、異庚基、正辛基、2-乙基-己基、正壬基、正癸基、正十一烷基、正十二烷基等，其可帶有一或多個取代基。烷基取代基包括但不限於本文所述的任何取代基，其會導致形成穩定部分。在一些具體實施例中，該烷基鏈為直鏈的。在一些具體實施例中，該烷基鏈為支鏈的。在一些具體實施例中，該烷基鏈為取代的。在一些具體實施例中，該烷基鏈為未取代的。在一些具體實施例中，烷基鏈為直鏈的且為取代或未取代的。在一些具體實施例中，烷基鏈為支鏈的且為取代或未取代的。

【0083】 如本文及在整個說明書中所用，「伸烷基」乙詞涉及飽和直鏈或支鏈烴的雙自由基。較佳地，伸烷基包含1到10個碳原子，即1、2、3、4、5、6、7、8、9或10個碳原子，更佳1到8個碳原子，諸如1到6個或1到4個碳原子。示例

性的伸烷基包括亞甲基、伸乙基(即1,1-伸乙基、1,2-伸乙基)、伸丙基(即1,1-伸丙基、1,2-伸丙基($-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$)、2,2-伸丙基($-\text{C}(\text{CH}_3)_2-$)、及1,3-伸丙基)、伸丁基異構物(例如1,1-伸丁基、1,2-伸丁基、2,2-伸丁基、1,3-伸丁基、2,3-伸丁基(順式或反式或其混合物)、1,4-伸丁基、1,1-伸異丁基、1,2-伸異丁基、及1,3-伸異丁基)、伸戊基異構物(例如1,1-伸戊基、1,2-伸戊基、1,3-伸戊基、1,4-伸戊基、1,5-伸戊基、1,1-伸異戊基、1,1-二級戊基、1,1-新戊基)、伸己基異構戊(例如1,1-伸己基、1,2-伸己基、1,3-伸己基、1,4-伸己基、1,5-伸己基、1,6-伸己基、及1,1-伸異己基)等。伸烷基可為環狀或非環狀的、支鏈或非支鏈的、取代或未取代的。伸烷基取代基包括但不限於本文所述的任何取代基，其會導致形成穩定部分。

【0084】 如本文及在整個說明書中所用，「鹵素」或「鹵」等詞是指氟基、氯基、溴基、或碘基。

【0085】 如本文及整個描述所使用的，「疊氮基」乙詞是指 N_3 。

【0086】 如本文及在整個說明書中所用，「烯基」乙詞涉及具有至少一個碳-碳雙鍵的不飽和直鏈或支鏈烴的單自由基。一般來說，烯基中碳-碳雙鍵的最大數目可等於烯基中的碳原子數除以2所計算出的整數，且若烯基中的碳原子數為奇數，則使除法的結果四捨五入到下一個整數。例如，對於具有9個碳原子的烯基，碳-碳雙鍵的最大數目為4。較佳地，烯基具有1到4個，即1、2、3或4個碳-碳雙鍵。較佳地，烯基包含2到10個碳原子，即2、3、4、5、6、7、8、9或10個碳原子，更佳2到8個碳原子，諸如2到6個碳原子或2到4個碳原子。因此，在一個較佳的具體實施例中，烯基包含2到10個碳原子及1、2、3、4或5個碳-碳雙鍵，更佳地其包含2到8個碳原子及1、2、3或4個碳-碳雙鍵，諸如2到6個碳原子及1、2或3個碳-碳雙鍵、或2到4個碳原子及1或2個碳-碳雙鍵。在某些具體實施

例中，本發明中所用的烯基含有2到20個碳原子(C₂₋₂₀烯基)。在一些具體實施例中，本發明中所用的烯基含有2到15個碳原子(C₂₋₁₅烯基)。在另一個具體實施例中，所用的烯基含有2到10個碳原子(C₂₋₁₀烯基)。在其他具體實施例中，烯基含有2到8個碳原子(C₂₋₈烯基)。在其他具體實施例中，烯基含有2到6個碳(C₂₋₆烯基)。在其他具體實施例中，烯基含有2到5個碳(C₂₋₅烯基)。在其他具體實施例中，烯基含有2到4個碳(C₂₋₄烯基)。在其他具體實施例中，烯基含有2到3個碳(C₂₋₃烯基)。在其他具體實施例中，烯基含有2個碳(C₂烯基)。碳-碳雙鍵可為順式(Z)或反式(E)構型。示例性的烯基包括乙烯基、1-丙烯基、2-丙烯基(即烯丙基)、1-丁烯基、2-丁烯基、3-丁烯基、1-戊烯基、2-戊烯基、3-戊烯基、4-戊烯基、1-己烯基、2-己烯基、3-己烯基、4-己烯基、5-己烯基、1-庚烯基、2-庚烯基、3-庚烯基、4-庚烯基、5-庚烯基、6-庚烯基、1-辛烯基、2-辛烯基、3-辛烯基、4-辛烯基、5-辛烯基、6-辛烯基、7-辛烯基、1-壬烯基、2-壬烯基、3-壬烯基、4-壬烯基、5-壬烯基、6-壬烯基、7-壬烯基、8-壬烯基、1-癸烯基、2-癸烯基、3-癸烯基、4-癸烯基、5-癸烯基、6-癸烯基、7-癸烯基、8-癸烯基、9-癸烯基等。若烯基與氮原子連接，則氮原子不能在雙鍵的 α 位。在一些具體實施例中，烯基鏈為直鏈的。在一些具體實施例中，烯基鏈為支鏈的。在一些具體實施例中，烯基鏈為取代的。在一些具體實施例中，烯基鏈為未取代的。在一些具體實施例中，烯基鏈為直鏈的且為取代或未取代的。在一些具體實施例中，烯基鏈為支鏈的且為取代或未取代的。烯基取代基包括但不限於本文所述的任何取代基，其會導致形成穩定部分。

【0087】 如本文及在整個說明書中所用，「伸烯基」乙詞涉及具有至少一個碳-碳雙鍵的不飽和直鏈或支鏈烴的雙單自由基。一般來說，伸烯基中碳-碳雙

鍵的最大數目可等於伸烯基中的碳原子數除以2所計算出的整數，且若伸烯基中的碳原子數為奇數，則使除法的結果四捨五入到下一個整數。例如，對於具有9個碳原子的伸烯基，碳-碳雙鍵的最大數目為4。較佳地，伸烯基具有1到4個，即1、2、3或4個碳-碳雙鍵。較佳地，伸烯基包含2到10個碳原子，即2、3、4、5、6、7、8、9或10個碳原子，更佳2到8個碳原子，諸如2到6個碳原子或2到4個碳原子。因此，在一個較佳的具體實施例中，伸烯基包含2到10個碳原子及1、2、3、4或5個碳-碳雙鍵，更佳地其包含2到8個碳原子及1、2、3或4個碳-碳雙鍵，諸如2到6個碳原子及1、2或3個碳-碳雙鍵、或2到4個碳原子及1或2個碳-碳雙鍵。碳-碳雙鍵可為順式(Z)或反式(E)構型。示例性的伸烯基包括亞乙烯基-1,2-二基、亞乙烯基、1-丙烯-1,2-二基、1-丙烯-1,3-二基、1-丙烯-2,3-二基、亞烯丙基、1-丁烯-1,2-二基、1-丁烯-1,3-二基、1-丁烯-1,4-二基、1-丁烯-2,3-二基、1-丁烯-2,4-二基、1-丁烯-3,4-二基、2-丁烯-1,2-二基、2-丁烯-1,3-二基、2-丁烯-1,4-二基、2-丁烯-2,3-二基、2-丁烯-2,4-二基、2-丁烯-3,4-二基等。若伸烯基與氮原子連接，則氮原子不能在雙鍵的 α 位。伸烯基可為環狀或非環狀的、支鏈或非支鏈的、取代或未取代的。伸烯基取代基包括但不限於本文所述的任何取代基，其會導致形成穩定部分。

【0088】 如本文及在整個說明書中所用，「炔基」乙詞涉及具有至少一個碳-碳三鍵的不飽和直鏈或支鏈烴的單自由基。一般來說，炔基中碳-碳三鍵的最大數目可等於炔基中的碳原子數除以2所計算出的整數，且若炔基中的碳原子數為奇數，則使除法的結果四捨五入到下一個整數。例如，對於具有9個碳原子的炔基，碳-碳三鍵的最大數目為4。較佳地，炔基具有1到4個，即1、2、3或4個，更佳1或2個碳-碳三鍵。較佳地，炔基包含2到10個碳原子，即2、3、4、5、6、7、

8、9或10個碳原子，更佳2到8個碳原子，諸如2到6個碳原子或2到4個碳原子。因此，在一個較佳的具體實施例中，炔基包含2到10個碳原子及1、2、3、4或5(較佳1、2或3)個碳-碳三鍵，更佳地其包含2到8個碳原子及1、2、3或4(較佳1或2)個碳-碳三鍵，諸如2到6個碳原子及1、2或3個碳-碳三鍵、或2到4個碳原子及1或2個碳-碳三鍵。在某些具體實施例中，本發明中所用的炔基含有2到20個碳原子(C₂₋₂₀炔基)。在一些具體實施例中，本發明中所用的炔基含有2到15個碳原子(C₂₋₁₅炔基)。在另一個具體實施例中，所用的炔基含有2到10個碳原子(C₂₋₁₀炔基)。在其他具體實施例中，炔基含有2到8個碳原子(C₂₋₈炔基)。在其他具體實施例中，炔基含有2到6個碳原子(C₂₋₆炔基)。在其他具體實施例中，炔基含有2到5個碳原子(C₂₋₅炔基)。在其他具體實施例中，炔基含有2到4個碳原子(C₂₋₄炔基)。在其他具體實施例中，炔基含有2到3個碳原子(C₂₋₃炔基)。在其他具體實施例中，炔基含有2個碳原子(C₂炔基)。示例性的炔基包括乙炔基、1-丙炔基、2-丙炔基、1-丁炔基、2-丁炔基、3-丁炔基、1-戊炔基、2-戊炔基、3-戊炔基、4-戊炔基、1-己炔基、2-己炔基、3-己炔基、4-己炔基、5-己炔基、1-庚炔基、2-庚炔基、3-庚炔基、4-庚炔基、5-庚炔基、6-庚炔基、1-辛炔基、2-辛炔基、3-辛炔基、4-辛炔基、5-辛炔基、6-辛炔基、7-辛炔基、1-壬炔基、2-壬炔基、3-壬炔基、4-壬炔基、5-壬炔基、6-壬炔基、7-壬炔基、8-壬炔基、1-癸炔基、2-癸炔基、3-癸炔基、4-癸炔基、5-癸炔基、6-癸炔基、7-癸炔基、8-癸炔基、9-癸炔基等，其可帶有一或多個取代基。炔基取代基包括但不限於本文所述的任何取代基，其會導致形成穩定部分。若炔基與氮原子連接，則氮原子不能在三鍵的 α 位。在一些具體實施例中，炔基鏈為直鏈的。在一些具體實施例中，炔基鏈為支鏈的。在一些具體實施例中，炔基鏈為取代的。在一些具體實施例中，炔基鏈為未取

代的。在一些具體實施例中，炔基鏈為直鏈的且為取代或未取代的。在一些具體實施例中，炔基鏈為支鏈的且為取代或未取代的。

【0089】 如本文及在整個說明書中所用，「伸炔基」乙詞涉及具有至少一個碳-碳三鍵的不飽和直鏈或支鏈烴的雙單自由基。一般來說，伸炔基中碳-碳三鍵的最大數目可等於伸炔基中的碳原子數除以2所計算出的整數，且若伸炔基中的碳原子數為奇數，則使除法的結果四捨五入到下一個整數。例如，對於具有9個碳原子的伸炔基，碳-碳三鍵的最大數目為4。較佳地，伸炔基具有1到4個，即1、2、3或4個，更佳1或2個碳-碳三鍵。較佳地，伸炔基包含2到10個碳原子，即2、3、4、5、6、7、8、9或10個碳原子，更佳2到8個碳原子，諸如2到6個碳原子或2到4個碳原子。因此，在一個較佳的具體實施例中，伸炔基包含2到10個碳原子及1、2、3、4或5(較佳1、2或3)個碳-碳三鍵，更佳地其包含2到8個碳原子及1、2、3或4(較佳1或2)個碳-碳三鍵，諸如2到6個碳原子及1、2或3個碳-碳三鍵、或2到4個碳原子及1或2個碳-碳三鍵。示例性伸炔基包括乙炔-1,2-二基、1-丙炔-1,3-二基、1-丙炔-3,3-二基、1-丁炔-1,3-二基、1-丁炔-1,4-二基、1-丁炔-3,4-二基、2-丁炔-1,4-二基等。若伸炔基與氮原子連接，則氮原子不能在三鍵的 α 位。伸炔基可為環狀或非環狀的、支鏈或非支鏈的、取代或未取代的。伸炔基取代基包括但不限於本文所述的任何取代基，其會導致形成穩定部分。

【0090】 如本文及在整個說明書中所用，「環烷基」或「環脂族」或「碳環」或「碳環」等詞表示具有較佳3到14個碳原子，諸如3到10個碳原子，即3、4、5、6、7、8、9或10個碳原子，更佳3到8個碳原子，甚至更佳3到7個碳原子的「烷基」及「烯基」的環狀非芳族形式。在某些具體實施例中，本發明中所用的環烷基含有3到14個碳原子(C₃₋₁₄環烷基)。在某些具體實施例中，本發明中

所用的環烷基含有3到12個碳原子(C₃₋₁₂環烷基)。在另一個具體實施例中，本發明中所用的環烷基含有3到10個碳原子(C₃₋₁₀環烷基)。在另一個具體實施例中，本發明中所用的環烷基含有3到8個碳原子(C₃₋₈環烷基)。在另一個具體實施例中，本發明中所用的環烷基含有3到7個碳原子(C₃₋₇環烷基)。在另一個具體實施例中，本發明中所用的環烷基含有3到6個碳原子(C₃₋₆環烷基)。在另一個具體實施例中，本發明中所用的環烷基含有3到5個碳原子(C₃₋₅環烷基)。在另一個具體實施例中，本發明中所用的環烷基含有3到4個碳原子(C₃₋₄環烷基)。在另一個具體實施例中，本發明中所用的環烷基含有3個碳原子(C₃環烷基)。示例性的環烷基包括環丙基、環丙烯基、環丁基、環丁烯基、環戊基、環戊烯基、環己基、環己烯基、環庚基、環庚烯基、環辛基、環辛烯基、環壬基、環壬烯基、環癸基、環癸烯基、及金剛烷基。「環烷基」乙詞也意味著包括其雙環及三環形式。若形成雙環，則較佳各個環在兩個相鄰的碳原子處彼此連接，然而，或兩個環經由相同碳原子連接，也就是其形成螺環系統或其形成「橋」環系統。環烷基的較佳實例包括C₃-C₈-環烷基，特別是環丙基、環丁基、環戊基、環己基、環庚基、環辛基、螺[3,3]庚基、螺[3,4]辛基、螺[4,3]辛基、雙環[4.1.0]庚基、雙環[3.2.0]庚基、雙環[2.2.1]庚基、雙環[2.2.2]辛基、雙環[5.1.0]辛基、及雙環[4.2.0]辛基。環烷基取代基包括但不限於本文所述的任何取代基，其會導致形成穩定部分。

【0091】 如本文及在整個說明書中所用，「伸環丙基」乙詞是指如上界定的環丙基，其中一個氫原子被去除而形成雙自由基。伸環丙基可經由相同碳原子(1,1-伸環丙基，即成對雙自由基)或經由兩個碳原子(1,2-伸環丙基)連接兩個原子或部分。

【0092】如本文所用及在整個描述中，如本文所用的「芳基」或「芳環」等詞是指具有3到20個環原子的芳族單環或多環系統，其中所有環原子均為碳，且其可為取代或未取代的。在本發明的某些具體實施例中，「芳基」涉及具有一個、兩個或三個芳環的單環、雙環或三環C₄-C₂₀芳環系統，該等芳環包括但不限於苯基、聯苯、萘基、等，其可帶有一或多個取代基。較佳地，芳基含有3到14(例如5到10，諸如5、6或10)個碳原子，更佳6到10個碳原子，其可排列成一個環(例如苯基)或兩個或更多稠環(例如萘基)。示例性的芳基包括環丙基鎗、環戊二烯基、苯基、茛基、萘基、萘基、蒽基及菲基。較佳地，「芳基」涉及含有6個碳原子的單環或含有10個碳原子的芳族雙環系統。較佳的實例為苯基及萘基。在某些具體實施例中，本發明中所用的芳基含有3到20個碳原子(C₃₋₂₀芳基)。在某些具體實施例中，本發明中所用的芳基含有3到18個碳原子(C₃₋₁₈芳基)。在另一個具體實施例中，本發明中所用的芳基含有3到16個碳原子(C₃₋₁₆芳基)。在另一個具體實施例中，本發明中所用的芳基含有6到16個碳原子(C₆₋₁₆芳基)。在另一個具體實施例中，本發明中所用的芳基含有7到16個碳原子(C₇₋₁₆芳基)。在另一個具體實施例中，本發明中所用的芳基含有6到14個碳原子(C₆₋₁₄芳基)。在另一個具體實施例中，本發明中所用的芳基含有7到14個碳原子(C₇₋₁₄芳基)。在另一個具體實施例中，本發明中所用的芳基含有6到12個碳原子(C₆₋₁₂芳基)。在另一個具體實施例中，本發明中所用的芳基含有7到12個碳原子(C₇₋₁₂芳基)。在另一個具體實施例中，本發明中所用的芳基含有6到11個碳原子(C₆₋₁₁芳基)。在另一個具體實施例中，本發明中所用的芳基含有7到11個碳原子(C₇₋₁₁芳基)。在另一個具體實施例中，本發明中所用的芳基含有6到10個碳原子(C₆₋₁₀芳基)。在另一個具體實施例中，本發明中所用的芳基含有7到10個碳原子(C₇₋₁₀芳基)。

基)。在另一個具體實施例中，本發明中所用的芳基含有6到8個碳原子(C₆₋₈芳基)。在另一個具體實施例中，本發明中所用的芳基含有6個碳原子(C₆芳基)。在另一個具體實施例中，本發明中所用的芳基含有10個碳原子(C₁₀芳基)。在一些具體實施例中，Z不是取代的單環六員芳基或未取代的單環六員芳基。在一些具體實施例中，Z不是取代的苯基或未取代的苯基。在一些具體實施例中，Z不是被1、2、3、4或5個選自由-NO₂、-N₃、鹵素、-NH₂、羥基、-OR¹¹及-C(=O)R¹¹的取代基取代的苯基，其中R¹¹為氫、取代的烷基或取代的炔基。芳基取代基包括但不限於本文所述的任何取代基，其會導致形成穩定部分。

【0093】如本文及在整個說明書中所用，如本文所用的「伸芳基」乙詞涉及藉由去除兩個氫原子而衍生自如本文所界定的芳基的芳基雙自由基。伸芳基可為取代或未取代的。伸芳基取代基包括但不限於本文所述的任何取代基，其會導致形成穩定部分。另外，伸芳基可作為連接基團併入如本文所界定的伸烷基、伸烯基、伸炔基、伸雜烷基、伸雜烯基、或伸雜炔基中。

【0094】如本文及在整個說明書中所用，「雜芳基」或「雜芳環」等詞是指如上界定的芳基，其中芳基中的一或多個碳原子被O、S或N的雜原子代替。較佳地，雜芳基涉及五員或六員芳族單環，其中1、2或3個碳原子被相同或不同的O、N或S雜原子代替。或者，其意指芳族雙環或三環系統，其中1、2、3、4或5個碳原子被相同或不同的O、N或S雜原子代替。較佳地，在雜芳基的每個環中，O原子的最大數目為1，S原子的最大數目為1，且O與S原子的最大總數為2。在某些具體實施例中，本發明中所用的雜芳基為五員芳族單環，其中1、2或3個碳原子被相同或不同的O、N或S雜原子代替。在某些具體實施例中，本發明中所用的雜芳基為五員芳族單環，其中1、2或3個碳原子被相同或不同的O雜原子

代替。在某些具體實施例中，本發明中所用的雜芳基為五員芳族單環，其中1、2或3個碳原子被相同或不同的O及N雜原子代替。在某些具體實施例中，本發明中所用的雜芳基為五員芳族單環，其中1、2或3個碳原子被相同或不同的O及S雜原子代替。在某些具體實施例中，本發明中所用的雜芳基為五員芳族單環，其中1、2或3個碳原子被相同或不同的N及S雜原子代替。在某些具體實施例中，本發明中所用的雜芳基為六員芳族單環，其中1、2或3個碳原子被相同或不同的O、S或N雜原子代替。在某些具體實施例中，本發明中所用的雜芳基為六員芳族單環，其中1、2或3個碳原子被N代替。在某些具體實施例中，本發明中所用的雜芳基為芳族雙環系統，其中1、2、3、4或5個碳原子被相同或不同的O、N或S雜原子代替。在某些具體實施例中，本發明中所用的雜芳基為芳族雙環系統，其中1個碳原子被O代替。在某些具體實施例中，本發明中所用的雜芳基為芳族雙環系統，其中1個碳原子被N代替。在某些具體實施例中，雜芳基為取代或未取代的吡啶基。在某些具體實施例中，本發明中所用的雜芳基為芳族雙環系統，其中2個碳原子被N代替。在某些具體實施例中，雜芳基是取代或未取代的7-氮雜吡啶基。在一些具體實施例中，雜芳基為取代或未取代的6-氮雜吡啶基。在一些具體實施例中，雜芳基為取代或未取代的5-氮雜吡啶基。在一些具體實施例中，雜芳基為取代或未取代的4-氮雜吡啶基。在一些具體實施例中，雜芳基為取代或未取代的咪唑基。在某些具體實施例中，本發明中所用的雜芳基為芳族雙環系統，其中3個碳原子被N代替，較佳為取代或未取代的二氮雜吡啶基。示例性的雜芳基包括呋喃基、噻吩基、呋唑基、異呋唑基、呋二唑基(1,2,5-及1,2,3-)、吡咯基、咪唑基、吡唑基、三唑基(1,2,3-及1,2,4-)、四唑基、噻唑基、異噻唑基、噻二唑基(1,2,3-及1,2,5-)、吡啶基、嘧啶基、吡嗪基、三嗪基(1,2,3-、

1,2,4-及1,3,5-)、苯并呋喃基(1-及2-)、吡啶基、氮雜吡啶基(4-、5-、6-及7-)、二氮雜吡啶基、異吡啶基、苯并噻吩基(1-及2-)、1H-吡唑基、苯并咪唑基、苯并噁唑基、吡啶基、苯并異噁唑基、苯并噻唑基、苯并異噻唑基、苯并三唑基、喹啉基、異喹啉基、苯并二吡基、喹啉基、喹唑啉基、苯并三吡基(1,2,3-及1,2,4-苯并三吡基)、噻吩基、吩噻吩基、噻唑并吡啶基、吡咯并噻唑基、吩噻吩基、異苯并呋喃基、色烯基、吡基、吩噻基、吡咯基、吡基、吡唑基、噻吩基、噻吩基、吡啶(1,5-、1,6-、1,7-、1,8-及2,6-)、吡啶基、噻吩基、吡唑基、吩噻吩基、吡啶基、吡啶基、吡啶基、吩噻吩基(1,7-、1,8-、1,10-、3,8-及4,7-)、吩噻吩基、噻唑并吡啶基、異噻唑并吡啶基、吡咯并噻唑基、吡咯并吡咯基等，其帶有一或多個取代基。雜芳基取代基包括但不限於本文所述的任何取代基，其會導致形成穩定部分。示例性的5或6員雜芳基包括呋喃基、噻吩基、噻唑基、異噻唑基、噻二唑基(1,2,5-及1,2,3-)、吡咯基、咪唑基、吡唑基、三唑基(1,2,3-及1,2,4-)、噻唑基、異噻唑基、噻二唑基(1,2,3-及1,2,5-)、吡啶基、噻吩基、吡基、三吡基(1,2,3-、1,2,4-及1,3,5-)、及噻吩基。示例性的雙環雜芳基為7-氮雜吡啶基、6-氮雜吡啶基、5-氮雜吡啶基、4-氮雜吡啶基、二氮雜吡啶基、及吡啶基。

【0095】 如本文及在整個說明書中所用，「二氮雜吡啶基」或「二氮雜吡啶」等詞涉及具有吡啶核心結構的化合物，其中成環的苯環的2個碳原子被N代替。較佳吡啶核心的4、5、6及/或7個碳原子被N代替。較佳吡啶核心的4及5個碳原子被N代替。較佳吡啶核心的4及6個碳原子被N代替。較佳吡啶核心的4及7個碳原子被N代替。較佳吡啶核心的5及6個碳原子被N代替。較佳吡啶核心的6及7個碳原子被N代替。較佳吡啶核心的5及7個碳原子被N代替。在一些具體實

施例中，二氮雜吡啶基為取代的。在一些具體實施例中，二氮雜吡啶基為未取代的。

【0096】 如本文及在整個說明書中所用，如本文所用的「伸雜芳基」乙詞涉及藉由去除兩個氫原子而衍生自如本文所界定的雜芳基的雙自由基。伸雜芳基可為取代或未取代的。另外，伸雜芳基可作為連接基團併入如本文所界定的伸烷基、伸烯基、伸炔基、伸雜烷基、伸雜烯基、或伸雜炔基中。伸雜芳基取代基包括但不限於本文所述的任何取代基，其會導致形成穩定部分。

【0097】 如本文及在整個說明書中所用，「芳烷基」及「雜芳烷基」等詞包括其中芳基及雜芳基分別與烷基(例如，苄基、苯乙基、吡啶甲基等)連接的基團，該等烷基包括其中碳原子(例如亞甲基)被例如氧原子代替的烷基(例如苯氧基甲基、2-吡啶氧基甲基、3-(1-萘氧基)丙基等)。較佳地，芳烷基為取代或未取代的(C₆-C₁₄)芳基(C₁-C₆)烷基。較佳地，芳烷基為取代或未取代的(C₆-C₁₀)芳基(C₁-C₆)烷基。較佳地，雜芳烷基為取代或未取代的(C₃-C₁₄)雜芳基(C₁-C₆)烷基。較佳地，雜芳烷基為取代或未取代的(C₃-C₁₀)雜芳基(C₁-C₆)烷基。在一些具體實施例中，烷基鏈為直鏈的。在一些具體實施例中，烷基鏈為支鏈的。在一些具體實施例中，烷基鏈為取代的。在一些具體實施例中，烷基鏈為未取代的。在一些具體實施例中，烷基鏈為直鏈的且為取代或未取代的。在一些具體實施例中，烷基鏈為支鏈的且為取代或未取代的。

【0098】 如本文及在整個說明書中所用，「雜環基」或「雜環」或「雜環」等詞涉及環狀雜脂族基團。雜環基涉及非芳族、部分不飽和或完全飽和的3到10員環系統，其包括尺寸為3到8個原子的單環，以及雙環及三環系統，其可包括與非芳環稠合的芳族五員或六員芳基或雜芳基。雜環基可為取代或未取代的。

這些雜環包括具有一到三個獨立地選自氧、硫及氮的雜原子的那些，其中氮及硫雜原子可任選地被氧化，且氮雜原子可任選地被四級化(quaternize)。在某些具體實施例中，「雜環」乙詞涉及非芳族的5員、6員或7員環或多環基團，其中至少一個環原子為選自O、S及N的雜原子(其中氮及硫雜原子可任選地被氧化)，且剩餘的環原子為碳，該基團經由任何環原子與分子的其餘部分連接。雜環基包括但不限於雙環或三環基，其包含稠合的五員、六員或七員環，該等環具有一到三個獨立地選自氧、硫及氮的雜原子，其中(i)每個5員環具有0到2個雙鍵，每個6員環具有0到2個雙鍵，且每個7員環具有0到3個雙鍵，(ii)氮及硫雜原子可任選地被氧化，(iii)氮雜原子可任選地被四級化，且(iv)任何上述雜環可與芳基或雜芳基環稠合。較佳地，在雜環基的每個環中，O原子的最大數目為1，S原子的最大數目為1，且O及S原子的最大總數為2。「雜環基」乙詞也涵蓋上述雜芳基的部分或完全氫化形式(諸如二氫、四氫或全氫形式)。示例性的雜環基包括咪啉基、異咪啉基、吡咯基、吡咯啉基、咪唑啉基、吡唑啉基、哌啶基、哌嗪基、吲哚基、異吲哚基、二及四氫呋喃基、二及四氫噻吩基、二及四氫嘧啶基、二及四氫異嘧啶基、二及四氫嘧二唑基(1,2,5-及1,2,3-)、二氫吡咯基、二氫咪唑基、二氫吡唑基、二及四氫三唑基(1,2,3-及1,2,4-)、二及四氫噁唑基、二及四氫噁唑基、二及四氫噁二唑基(1,2,3-及1,2,5)、二及四氫吡啶基、二及四氫嘧啶基、二及四氫吡嗪基、二及四氫三嗪基(1,2,3-, 1,2,4-及1,3,5-)、二及四氫苯并呋喃基(1-及2-)、二及四氫吲哚基、二及四氫異吲哚基、二及四氫苯并噻吩基(1-及2)、二及四氫-1H-吲唑基、二及四氫苯并咪唑基、二及四氫苯并嘧啶基、二及四氫吡嗪基、二及四氫苯并異嘧啶基、二及四氫苯并噁唑基、二及四氫苯并異噁唑基、二及四氫苯并三唑基、二及四氫喹啉基、二及四氫異喹啉基、二及四氫苯并二

吡基、二及四氫喹啉基、二及四氫噻吩基、二及四氫苯并三吡基(1,2,3-及1,2,4-)、二及四氫噻吩基、二及四氫吩噻吩基、二及四氫噻吩并吡啶基(諸如4,5,6-7-四氫[1,3]噻吩并[5,4-c]吡啶基或4,5,6-7-四氫[1,3]噻吩并[4,5-c]吡啶基,例如4,5,6-7-四氫[1,3]噻吩并[5,4-c]吡啶-2-基或4,5,6-7-四氫[1,3]噻吩并[4,5-c]吡啶-2-基)、二及四氫吡咯并噻吩基(諸如5,6-二氫-4H-吡咯并[3,4-d][1,3]噻吩基)、二及四氫吩噻吩基、二及四氫異苯并呋喃基、二及四氫吡喃基、二及四氫吡喃基、二及四氫吩噻吩基、二及四氫吡咯基、二及四氫中吡啶基、二及四氫吡喃基、二及四氫噻吩基、二及四氫呋喃基、二及四氫噻吩基(1,5-、1,6-、1,7-、1,8-及2,6-)、二及四氫吡喃基、二及四氫噻吩基、二及四氫呋喃基、二及四氫吩噻吩基、二及四氫吡喃基、二及四氫呋喃基、二及四氫噻吩基、二及四氫呋喃基、二及四氫噻吩基(1,7-、1,8-、1,10-、3,8-及4,7-)、二及四氫吩噻吩基、二及四氫噻吩并吡啶基、二及四氫異噻吩并吡啶基、二及四氫吡咯并噻吩基、以及二及四氫吡咯并吡喃基。示例性的5或6員雜環基包括咪唑基、吡啶基、咪唑基、吡啶基、吡喃基、吡喃基、二及四氫呋喃基、二及四氫噻吩基、二及四氫噻吩基、二及四氫異噻吩基、二及四氫噻吩二基(1,2,5-及1,2,3-)、二氫吡喃基、二氫咪唑基、二氫吡喃基、二及四氫噻吩基(1,2,3-及1,2,4-)、二及四氫噻吩基、二及四氫異噻吩基、二及四氫噻吩二基(1,2,3-及1,2,5-)、二及四氫吡喃基、二及四氫噻吩基、二及四氫吡喃基、二及四氫三吡基(1,2,3-、1,2,4-及1,3,5-)、二及四氫噻吩基等,其可帶有一或多個取代基。較佳為2H-1-苯并吡喃基(2H-吡喃基)、苯并二氫吡喃基(呋喃基)、4H-1-苯并吡喃基(4H-吡喃基)、1H-2-苯并吡喃基(1H-異吡喃基)、異吡喃基、3H-2-苯并吡喃基(3H-異吡喃基)、1-苯并吡喃-4-酮-基(色酮基)、4-呋喃基、1-苯并吡喃-2-酮-基(香豆素基)、二氫香豆素基、3-異吡喃基、2-香豆滿基(coumaranonyl)。在一

些具體實施例中，雜環基為取代或未取代的2*H*-1-苯并吡喃基(2*H*-吡喃基)。在一些具體實施例中，雜環基為取代或未取代的苯并二氫吡喃基(吡喃基)。在一些具體實施例中，雜環基為取代或未取代的4*H*-1-苯并吡喃基(4*H*-吡喃基)。在一些具體實施例中，雜環基為取代或未取代的1*H*-2-苯并吡喃基(1*H*-異吡喃基)。在一些具體實施例中，雜環基為取代或未取代的異吡喃基。在一些具體實施例中，雜環基為取代或未取代的3*H*-2-苯并吡喃基(3*H*-異吡喃基)。在一些具體實施例中，雜環基為取代或未取代的1-苯并吡喃-4-酮-基(色酮基)。在一些具體實施例中，雜環基為取代或未取代的4-吡喃基。在一些具體實施例中，雜環基為取代或未取代的1-苯并吡喃-2-酮-基(香豆素基)。在一些具體實施例中，雜環基為取代或未取代的二氫香豆素基。在一些具體實施例中，雜環基為取代或未取代的3-異吡喃酮基。在一些具體實施例中，雜環基為取代或未取代的2-香豆滿酮基。在一些具體實施例中，雜環基為取代或未取代的(C₃-C₁₄)雜環基，其中1、2、3、4或5個碳原子被相同或不同的O、N或S雜原子代替。在一些具體實施例中，雜環基為取代或未取代的(C₃-C₁₄)雜環基，其中1、2、3、4或5個碳原子被O代替。在一些具體實施例中，雜環基為取代或未取代的(C₃-C₁₄)雜環基，其中1、2、3、4或5個碳原子被N代替。在一些具體實施例中，雜環基為取代或未取代的(C₃-C₁₄)雜環基，其中1、2、3、4或5個碳原子被S代替。在一些具體實施例中，雜環基為取代或未取代的(C₉-C₁₀)雜環基，其中1、2、3、4或5個碳原子被相同或不同的O、N或S雜原子代替。在一些具體實施例中，雜環基為取代或未取代的(C₉-C₁₀)雜環基，其中1、2、3、4或5個碳原子被O代替。在一些具體實施例中，雜環基為取代或未取代的(C₉-C₁₀)雜環基，其中1、2、3、4、或5個碳原子被N代替。在一些具體實施例中，雜環基為取代或未取代的(C₉-C₁₀)雜環基，其中1、2、3、4或5個碳原子被S代替。

在一些具體實施例中，雜環基為取代或未取代的(C₁₀)雜環基，其中1、2、3、4或5個碳原子被相同或不同的O、N或S雜原子代替。在一些具體實施例中，雜環基為取代或未取代的(C₁₀)雜環基，其中1、2、3、4或5個碳原子被O代替。在一些具體實施例中，雜環基是取代或未取代的(C₁₀)雜環基，其中1、2、3、4或5個碳原子被N代替。在一些具體實施例中，雜環基為取代基未取代或未取代的(C₁₀)雜環基，其中1、2、3、4或5個碳原子被S代替。

【0099】如本文及在整個說明書中所用，如本文所用的「雜烷基」乙詞涉及如本文所界定的烷基部分，其在碳原子之間含有一或多個雜原子(例如氧、硫、氮、磷或矽原子)。雜烷基可為取代或未取代的。在某些具體實施例中，雜烷基含有1到20個碳原子及1到6個雜原子(C₁₋₂₀雜烷基)。在某些具體實施例中，雜烷基含有1到10個碳原子及1到4個雜原子(C₁₋₁₀雜烷基)。在某些具體實施例中，雜烷基含有1到6個碳原子及1到3個雜原子(C₁₋₆雜烷基)。在某些具體實施例中，雜烷基含有1到5個碳原子及1到3個雜原子(C₁₋₅雜烷基)。在某些具體實施例中，雜烷基含有1到4個碳原子及1到2個雜原子(C₁₋₄雜烷基)。在某些具體實施例中，雜烷基含有1到3個碳原子及1個雜原子(C₁₋₃雜烷基)。在某些具體實施例中，雜烷基含有1到2個碳原子及1個雜原子(C₁₋₂雜烷基)。如本文所用，「伸雜烷基」乙詞涉及藉由去除兩個氫原子而衍生自如本文所界定的雜烷基的雙自由基。伸雜烷基可為環狀或非環狀的、支鏈或非支鏈的、取代或未取代的。在某些具體實施例中，伸雜烷基為含有1到6個碳原子及1到3個雜原子的取代的伸雜烷基(C₁₋₆雜烷基)。在某些具體實施例中，伸雜烷基為含有1到6個碳原子及1到3個雜原子的未取代的伸雜烷基(C₁₋₆雜烷基)。在一些具體實施例中，雜烷基為其中一個亞甲基被S代替的烷基部分。在一些具體實施例中，雜烷基為其中一個亞甲基被O代替

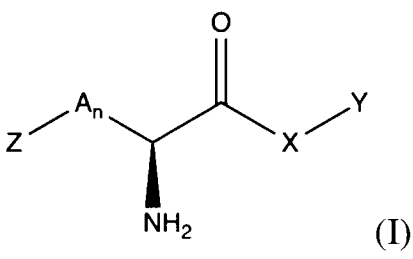
的烷基部分。在一些具體實施例中，雜烷基為其中一個亞甲基被 NR^1 代替的烷基部分，其中選自由以下組成的群組：氫、取代或未取代的 $(\text{C}_1\text{-C}_6)$ 烷基、取代或未取代的 $(\text{C}_2\text{-C}_6)$ 烯基、取代或未取代的 $(\text{C}_2\text{-C}_6)$ 炔基、取代或未取代的 $(\text{C}_3\text{-C}_8)$ 環烷基、取代或未取代的 $(\text{C}_6\text{-C}_{14})$ 芳基、及取代或未取代的 $(\text{C}_3\text{-C}_{14})$ 雜芳基。在一些具體實施例中，雜烷基為 $-\text{CH}_2\text{SCH}_3$ 。在一些具體實施例中，雜烷基為 $-\text{CH}_2\text{OCH}_3$ 。

【0100】 如本文及在整個描述中所使用的，伸雜烷基取代基包括但不限於本文所述的任何取代基，其會導致形成穩定部分。

【0101】 如本文及在整個說明書中所用，如本文所用的「雜烯基」乙詞涉及如本文所界定的烯基部分，其在碳原子之間進一步含有一或多個雜原子(例如氧、硫、氮、磷或矽原子)。在某些具體實施例中，雜烯基含有2到20個碳原子及1到6個雜原子(C_{2-20} 雜烯基)。在某些具體實施例中，雜烯基含有2到10個碳原子及1到4個雜原子(C_{2-10} 雜烯基)。在某些具體實施例中，雜烯基含有2到6個碳原子及1到3個雜原子(C_{2-6} 雜烯基)。在某些具體實施例中，雜烯基含有2到5個碳原子及1到3個雜原子(C_{2-5} 雜烯基)。在某些具體實施例中，雜烯基含有2到4個碳原子及1到2個雜原子(C_{2-4} 雜烯基)。在某些具體實施例中，雜烯基含有2到3個碳原子及1個雜原子(C_{2-3} 雜烯基)。如本文所用，「伸雜烯基」乙詞涉及藉由去除兩個氫原子而衍生自如本文所界定的雜烯基的雙自由基。伸雜烯基可為環狀或非環狀的、支鏈或非支鏈的、取代或未取代的。在某些具體實施例中，伸雜烯基為含有1到6個碳原子及1到3個雜原子的取代的伸雜烯基(C_{1-6} 伸雜烯基)。在某些具體實施例中，伸雜烯基為含有1到6個碳原子及1到3個雜原子的未取代的伸雜烯基(C_{1-6} 伸雜烯基)。

【0102】 如本文及在整個說明書中所用，如本文所用的「雜炔基」乙詞涉及如本文所界定的炔基部分，其在碳原子之間進一步含有一或多個雜原子(例如氧、硫、氮、磷或矽原子)。在某些具體實施例中，雜炔基含有2到20個碳原子及1到6個雜原子(C₂₋₂₀雜炔基)。在某些具體實施例中，雜炔基含有2到10個碳原子及1到4個雜原子(C₂₋₁₀雜炔基)。在某些具體實施例中，雜炔基含有2到6個碳原子及1到3個雜原子(C₂₋₆雜炔基)。在某些具體實施例中，雜炔基含有2到5個碳原子及1到3個雜原子(C₂₋₅雜炔基)。在某些具體實施例中，雜炔基含有2到4個碳原子及1到2個雜原子(C₂₋₄雜炔基)。在某些具體實施例中，雜炔基含有2到3個碳原子及1個雜原子(C₂₋₃雜炔基)。如本文所用，「伸雜炔基」乙詞涉及藉由去除兩個氫原子而衍生自如本文所界定的雜炔基的雙自由基。伸雜炔基可為環狀或非環狀的、支鏈或非支鏈的、取代或未取代的。在某些具體實施例中，伸雜炔基為含有1到6個碳原子及1到3個雜原子的取代的伸雜炔基(C₁₋₆伸雜炔基)。在某些具體實施例中，伸雜炔基為含有1到6個碳原子及1到3個雜原子的未取代的伸雜炔基(C₁₋₆伸雜炔基)。

【0103】 本文所述的非天然胺基酸也可藉由具有式I來描述：



【0104】 在一些具體實施例中，根據式I的化學式的化合物的特徵在於，X為O、NR¹或S；Y為氫或取代或未取代的(C₁-C₆)烷基；Z選自由以下組成的群組：取代或未取代的(C₁-C₆)烷基、取代或未取代的(C₂-C₆)烯基、取代或未取代的(C₂-C₆)炔基、取代或未取代的(C₃-C₈)環烷基、取代或未取代的(C₆-C₁₄)芳基、取

代或未取代的(C₆-C₁₄)芳基(C₁-C₆)烷基、取代或未取代的(C₃-C₁₄)雜芳基、取代或未取代的(C₃-C₁₄)雜芳基(C₁-C₆)烷基、取代或未取代的(C₃-C₁₄)雜環基、取代或未取代的(C₁-C₆)雜烷基、取代或未取代的(C₂-C₆)雜烯基、及取代或未取代的(C₂-C₆)雜炔基；R¹為氫或取代或未取代的(C₁-C₆)烷基，其中A為亞甲基且n為0或1，較佳n為1。

【0105】 在一些具體實施例中，根據式I的化學式的化合物的特徵在於，X為O、NR¹或S；Y為氫或取代或未取代的(C₁-C₆)烷基；Z選自由以下組成的群組：取代或未取代的(C₁-C₆)烷基、取代或未取代的(C₆-C₁₄)芳基、取代或未取代的(C₃-C₁₄)雜芳基、取代或未取代的(C₃-C₁₄)雜環基、及取代或未取代的(C₁-C₆)雜烷基；R¹為氫或取代或未取代的(C₁-C₆)烷基，其中A為亞甲基且n為0或1，較佳n為1。

【0106】 在一些具體實施例中，根據式I的化學式的化合物的特徵在於，X為O；Y為氫或取代或未取代的(C₁-C₆)烷基；Z選自由以下組成的群組：取代或未取代的(C₁-C₆)烷基、取代或未取代的(C₆-C₁₄)芳基、取代或未取代的(C₃-C₁₄)雜芳基、取代或未取代的(C₃-C₁₄)雜環基、及取代或未取代的(C₁-C₆)雜烷基，其中A為亞甲基且n為0或1，較佳n為1。

【0107】 在一些具體實施例中，根據式I的化學式的化合物的特徵在於，X為O、NR¹或S；Y為氫或取代或未取代的(C₁-C₆)烷基；Z選自由以下組成的群組：取代或未取代的(C₆-C₁₄)芳基、取代或未取代的(C₃-C₁₄)雜芳基、及取代或未取代的(C₃-C₁₄)雜環基；R¹為氫或取代或未取代的(C₁-C₆)烷基，其中A為亞甲基且n為0或1，較佳n為1。

【0108】 在一些具體實施例中，根據式I的化學式的化合物的特徵在於，X為O；Y為氫或取代或未取代的(C₁-C₆)烷基；Z選自由以下組成的群組：取代或未取代的(C₆-C₁₄)芳基、取代或未取代的(C₃-C₁₄)雜芳基、及取代或未取代的(C₃-C₁₄)雜環基，其中A為亞甲基且n為0或1，較佳n為1。

【0109】 在一些具體實施例中，根據式I的化學式的化合物的特徵在於，X為O、NR¹或S；Y為氫或取代或未取代的(C₁-C₆)烷基；Z選自由以下組成的群組：取代或未取代的2*H*-1-苯并吡喃基(2*H*-吡喃烯基)、取代或未取代的苯并二氫吡喃基(吡喃基)、取代或未取代的4*H*-1-苯并吡喃基(4*H*-吡喃烯基)、取代或未取代的1*H*-2-苯并吡喃基(1*H*-異吡喃烯基)、取代或未取代的異吡喃基、取代或未取代的3*H*-2-苯并吡喃基(3*H*-異吡喃烯基)、取代或未取代的1-苯并吡喃-4-酮-基(色酮基)、取代或未取代的4-吡喃基、取代或未取代的1-苯并吡喃-2-酮-基(香豆素基)、取代或未取代的二氫香豆素基、取代或未取代的3-異吡喃酮基、取代或未取代的2-香豆滿酮基、取代或未取代的(C₁-C₆)烷基、取代或未取代(C₁-C₆)雜烷基、取代或未取代的咪唑基、取代或未取代的氮雜吡啶基，包括7-氮雜吡啶基、6-氮雜吡啶基、5-氮雜吡啶基及4-氮雜吡啶基、取代或未取代的二氮雜吡啶基、及取代或未取代的吡啶基；R¹為氫或取代或未取代的(C₁-C₆)烷基，其中A為亞甲基且n為0或1，較佳n為1。

【0110】 在一些具體實施例中，根據式I的化學式的化合物的特徵在於，X為O；Y為氫或取代或未取代的(C₁-C₆)烷基；Z選自由以下組成的群組：取代或未取代的2*H*-1-苯并吡喃基(2*H*-吡喃烯基)、取代或未取代的苯并二氫吡喃基(吡喃基)、取代或未取代的4*H*-1-苯并吡喃基(4*H*-吡喃烯基)、取代或未取代的1*H*-2-苯并吡喃基(1*H*-異吡喃烯基)、取代或未取代的異吡喃基、取代或未取代的3*H*-2-苯并吡喃

基(3*H*-異吡啶基)、取代或未取代的1-苯并吡喃-4-酮-基(色酮基)、取代或未取代的4-吡基、取代或未取代的1-苯并吡喃-2-酮-基(香豆素基)、取代或未取代的二氫香豆素基、取代或未取代的3-異吡啶基、取代或未取代的2-香豆滿酮基、取代或未取代的(C₁-C₆)烷基、取代或未取代(C₁-C₆)雜烷基、取代或未取代的咪唑基、取代或未取代的氮雜吡啶基，包括7-氮雜吡啶基、6-氮雜吡啶基、5-氮雜吡啶基及4-氮雜吡啶基、取代或未取代的二氮雜吡啶基、及取代或未取代的吡啶基，其中A為亞甲基且n為0或1，較佳n為1。

【0111】 在一些具體實施例中，根據式I的化學式的化合物的特徵在於，X為O、NR¹或S；Y為氫或取代或未取代的(C₁-C₆)烷基；Z選自由以下組成的群組：取代或未取代的1-苯并吡喃-2-酮-基(香豆素基)、取代或未取代的二氫香豆素基、取代或未取代的咪唑基、取代或未取代的氮雜吡啶基，包括7-氮雜吡啶基、6-氮雜吡啶基、5-氮雜吡啶基及4-氮雜吡啶基、以及取代或未取代的吡啶基；R¹為氫或取代或未取代的(C₁-C₆)烷基，其中A為亞甲基且n為0或1，較佳n為1。

【0112】 在一些具體實施例中，根據式I的化學式的化合物的特徵在於，X為O；Y為氫或取代或未取代的(C₁-C₆)烷基；Z選自由以下組成的群組：取代或未取代的1-苯并吡喃-2-酮-基(香豆素基)、取代或未取代的二氫香豆素基、取代或未取代的咪唑基、取代或未取代的氮雜吡啶基，包括7-氮雜吡啶基、6-氮雜吡啶基、5-氮雜吡啶基及4-氮雜吡啶基、以及取代或未取代的吡啶基，其中A為亞甲基且n為0或1，較佳n為1。

【0113】 在具有根據式I的化學式的化合物的一些具體實施例中，X為O。在具有根據式I的化學式的化合物的一些具體實施例中，X為S。在具有根據式I的化學式的化合物的一些具體實施例中，X為NR¹，其中R¹選自由以下組成的群組：

氫、取代或未取代的(C₁-C₆)烷基、取代或未取代的(C₂-C₆)烯基、取代或未取代的(C₂-C₆)炔基、取代或未取代的(C₃-C₈)環烷基、取代或未取代的(C₆-C₁₄)芳基、及取代或未取代的(C₃-C₁₄)雜芳基，較佳為氫或取代或未取代的(C₁-C₆)烷基，更佳為氫，更佳為取代或未取代的(C₁-C₆)烷基，甚至更佳為未取代的(C₁-C₆)烷基。

【0114】 在具有根據式I的化學式的化合物的一些具體實施例中，Y選自由以下組成的群組：氫、取代或未取代的烷基、取代或未取代的烯基、取代或未取代的炔基、取代或未取代的環烷基、取代或未取代的芳基、取代或未取代的芳烷基、取代或未取代的雜芳基、取代或未取代的雜芳烷基、取代或未取代的雜環基、取代或未取代的雜烷基、取代或未取代的雜烯基、及取代或未取代的雜炔基。在具有根據式I的化學式的化合物的一些具體實施例中，Y選自由以下組成的群組：氫、取代或未取代的烷基、取代或未取代的炔基、取代或未取代的環烷基、取代或未取代的芳基、取代或未取代的芳烷基、取代或未取代的雜芳基、取代或未取代的雜芳烷基、取代或未取代的雜環基、及取代或未取代的雜烷基。在具有根據式I的化學式的化合物的一些具體實施例中，Y選自以下組成的群組：取代或未取代的(C₁-C₆)烷基、取代或未取代的(C₂-C₆)烯基、取代或未取代的(C₂-C₆)炔基、取代或未取代的(C₃-C₈)環烷基、取代或未取代的(C₆-C₁₄)芳基、取代或未取代的(C₆-C₁₄)芳基(C₁-C₆)烷基、取代或未取代的(C₃-C₁₄)雜芳基、取代或未取代的(C₃-C₁₄)雜芳基(C₁-C₆)烷基、取代或未取代的(C₃-C₁₄)雜環基、取代或未取代的(C₁-C₆)雜烷基、取代或未取代的(C₂-C₆)雜烯基、及取代或未取代的(C₂-C₆)雜炔基。在具有根據式I的化學式的化合物的一些具體實施例中，Y為氫或取代或未取代的(C₁-C₆)烷基。在具有根據式I的化學式的化合物的一些具體實施例中，Y為氫。在具有根據式I的化學式的化合物的一些具體實施

例中，Y為取代或未取代的烷基，較佳為取代或未取代的(C₁-C₆)烷基。在具有根據式I的化學式的化合物的一些具體實施例中，Y為取代或未取代的烯基，較佳為取代或未取代的(C₂-C₆)烯基。在具有根據式I的化學式的化合物的一些具體實施例中，Y為取代或未取代的炔基，較佳為取代或未取代的(C₂-C₆)炔基。在具有根據式I的化學式的化合物的一些具體實施例中，Y為取代或未取代的環烷基，較佳為取代或未取代的(C₃-C₈)環烷基。在具有根據式I的化學式的化合物的一些具體實施例中，Y為取代或未取代的芳基，較佳為取代或未取代的(C₆-C₁₄)芳基。在具有根據式I的化學式的化合物的一些具體實施例中，Y為取代或未取代的芳烷基，較佳為取代或未取代的(C₆-C₁₄)芳基(C₁-C₆)烷基。在具有根據式I的化學式的化合物的一些具體實施例中，Y為取代或未取代的雜芳基，較佳為取代或未取代的(C₃-C₁₄)雜芳基。在具有根據式I的化學式的化合物的一些具體實施例中，Y為取代或未取代的雜芳烷基，較佳為取代或未取代的(C₆-C₁₄)雜芳基(C₁-C₆)烷基。在具有根據式I的化學式的化合物的一些具體實施例中，Y為取代或未取代的雜環基，較佳為取代或未取代的(C₃-C₁₄)雜環基。在具有根據式I的化學式的化合物的一些具體實施例中，Y為取代或未取代的雜烷基，較佳為取代或未取代的(C₁-C₆)雜烷基。在具有根據式I的化學式的化合物的一些具體實施例中，Y為取代或未取代的雜烯基，較佳為取代或未取代的(C₂-C₆)雜烯基。在具有根據式I的化學式的化合物的一些具體實施例中，Y為取代或未取代的雜炔基，較佳為取代或未取代的(C₂-C₆)雜炔基。

【0115】 在具有根據式I的化學式的化合物的一些具體實施例中，Z選自由以下組成的群組：氫、取代或未取代的烷基、取代或未取代的烯基、取代或未取代的炔基、取代或未取代的環烷基、取代或未取代的芳基、取代或未取代的

芳烷基、取代或未取代的雜芳基、取代或未取代的雜芳烷基、取代或未取代的雜環基、取代或未取代的雜烷基、取代或未取代的雜烯基、及取代或未取代的雜炔基；且條件為Z不為取代或未取代的單環六員芳基。在具有根據式I的化學式的化合物的一些具體實施例中，Z選自由以下組成的群組：氫、取代或未取代的烷基、取代或未取代的烯基、取代或未取代的炔基、取代或未取代的環烷基、取代或未取代的芳基、取代或未取代的芳烷基、取代或未取代的雜芳基、取代或未取代的雜芳烷基、取代或未取代的雜環基、及取代或未取代的雜烷基；且條件為Z不為取代或未取代的單環六員芳基。在具有根據式I的化學式的化合物的一些具體實施例中，Z選自以下組成的群組：取代或未取代的(C₁-C₆)烷基、取代或未取代的(C₂-C₆)烯基、取代或未取代的(C₂-C₆)炔基、取代或未取代的(C₃-C₈)環烷基、取代或未取代的(C₆-C₁₄)芳基、取代或未取代的(C₆-C₁₄)芳基(C₁-C₆)烷基、取代或未取代的(C₃-C₁₄)雜芳基、取代或未取代的(C₃-C₁₄)雜芳基(C₁-C₆)烷基、取代或未取代的(C₃-C₁₄)雜環基、取代或未取代的(C₁-C₆)雜烷基、取代或未取代的(C₂-C₆)雜烯基、及取代或未取代的(C₂-C₆)雜炔基；且條件為Z不為取代或未取代的單環六員芳基。在具有根據式I的化學式的化合物的一些具體實施例中，Z為氫或取代或未取代的(C₁-C₆)烷基。在具有根據式I的化學式的化合物的一些具體實施例中，Z為氫。在具有根據式I的化學式的化合物的一些具體實施例中，Z為取代或未取代的烷基，較佳為取代或未取代的(C₁-C₆)烷基。在具有根據式I的化學式的化合物的一些具體實施例中，Z為取代或未取代的烯基，較佳為取代或未取代的(C₂-C₆)烯基。在具有根據式I的化學式的化合物的一些具體實施例中，Z為取代或未取代的炔基，較佳為取代或未取代的(C₂-C₆)炔基。在具有根據式I的化學式的化合物的一些具體實施例中，Z為取代或未取代的環烷基，較

佳為取代或未取代的(C₃-C₈)環烷基。在具有根據式I的化學式的化合物的一些具體實施例中，Z為取代或未取代的芳基，較佳為取代或未取代的(C₆-C₁₄)芳基，較佳條件為Z不為取代或未取代的單環六員芳基。在具有根據式I的化學式的化合物的一些具體實施例中，Z為取代或未取代的芳烷基，較佳為取代或未取代的(C₆-C₁₄)芳基(C₁-C₆)烷基，較佳條件為Z不為取代或未取代的單環六員芳基。在具有根據式I的化學式的化合物的一些具體實施例中，Z為取代或未取代的雜芳基，較佳為取代或未取代的(C₃-C₁₄)雜芳基。在具有根據式I的化學式的化合物的一些具體實施例中，Z為取代或未取代的雜芳烷基，較佳為取代或未取代的(C₃-C₁₄)雜芳基(C₁-C₆)烷基。在具有根據式I的化學式的化合物的一些具體實施例中，Z為取代或未取代的雜環基，較佳為取代或未取代的(C₃-C₁₄)雜環基。在具有根據式I的化學式的化合物的一些具體實施例中，Z為取代或未取代的雜烷基，較佳為取代或未取代的(C₁-C₆)雜烷基。在具有根據式I的化學式的化合物的一些具體實施例中，Z為取代或未取代的雜烯基，較佳為取代或未取代的(C₂-C₆)雜烯基。在具有根據式I的化學式的化合物的一些具體實施例中，Z為取代或未取代的雜炔基，較佳為取代或未取代的(C₂-C₆)雜炔基。在具有根據式I的化學式的化合物的一些具體實施例中，Z選自由以下組成的群組：取代或未取代的2*H*-1-苯并吡喃基(2*H*-吡喃基)、取代或未取代的苯并二氫吡喃基(吡喃基)、取代或未取代的4*H*-1-苯并吡喃基(4*H*-吡喃基)、取代或未取代的1*H*-2-苯并吡喃基(1*H*-異吡喃基)、取代或未取代的異吡喃基、取代或未取代的3*H*-2-苯并吡喃基(3*H*-異吡喃基)、取代或未取代的1-苯并吡喃-4-酮-基(色酮基)、取代或未取代的4-吡喃基、取代或未取代的1-苯并吡喃-2-酮-基(香豆素基)、取代或未取代的二氫香豆素基、取代或未取代的3-異吡喃酮基、取代或未取代的2-香豆滿酮基、取代或未取代的(C₁-C₆)

烷基、取代或未取代(C₁-C₆)雜烷基、取代或未取代的咪唑基、取代或未取代的氮雜吡啶基，包括7-氮雜吡啶基、6-氮雜吡啶基、5-氮雜吡啶基及4-氮雜吡啶基、及取代或未取代的吡啶基。在具有根據式I的化學式的化合物的一些具體實施例中，Z為取代或未取代的2H-1-苯并吡喃基(2H-吡喃基)。在具有根據式I的化學式的化合物的一些具體實施例中，Z為取代或未取代的苯并二氫吡喃基(吡喃基)。在具有根據式I的化學式的化合物的一些具體實施例中，Z為取代或未取代的4H-1-苯并吡喃基(4H-吡喃基)。在具有根據式I的化學式的化合物的一些具體實施例中，Z為取代或未取代的1H-2-苯并吡喃基(1H-異吡喃基)。在具有根據式I的化學式的化合物的一些具體實施例中，Z為取代或未取代的異吡喃基。在具有根據式I的化學式的化合物的一些具體實施例中，Z為取代或未取代的3H-2-苯并吡喃基(3H-異吡喃基)。在具有根據式I的化學式的化合物的一些具體實施例中，Z為取代或未取代的1-苯并吡喃-4-酮-基(色酮基)。在具有根據式I的化學式的化合物的一些具體實施例中，Z為取代或未取代的4-吡喃基。在具有根據式I的化學式的化合物的一些具體實施例中，Z為取代或未取代的1-苯并吡喃-2-酮-基(香豆素基)。在具有根據式I的化學式的化合物的一些具體實施例中，Z為取代或未取代的二氫香豆素基。在具有根據式I的化學式的化合物的一些具體實施例中，Z為取代或未取代的3-異吡喃酮基。在具有根據式I的化學式的化合物的一些具體實施例中，Z為取代或未取代的2-香豆滿酮基。在具有根據式I的化學式的化合物的一些具體實施例中，Z為取代或未取代的(C₁-C₆)烷基。在具有根據式I的化學式的化合物的一些具體實施例中，Z為取代或未取代的(C₁-C₆)雜烷基。在具有根據式I的化學式的化合物的一些具體實施例中，Z為取代或未取代的咪唑基。在具有根據式I的化學式的化合物的一些具體實施例中，Z為取代或未取代的氮雜吡啶基，包括7-

氮雜吡啶基、6-氮雜吡啶基、5-氮雜吡啶基、及4-氮雜吡啶基。在具有根據式I的化學式的化合物的一些具體實施例中，Z為取代或未取代的吡啶基。在具有根據式I的式的化合物的一些具體實施例中，Z不是取代的單環六員芳基或未取代的單環六員芳基。在具有根據式I的化學式的化合物的一些具體實施例中，Z不是取代的苯基或未取代的苯基。在具有根據式I的化學式的化合物的一些具體實施例中，Z不是被1、2、3、4或5個選自由-NO₂、-N₃、鹵素、-NH₂、羥基、-OR¹¹及-C(=O)R¹¹的取代基取代的苯基，其中R¹¹為氫、取代的烷基或取代的炔基。

【0116】 在具有根據式I的化學式的化合物的一些具體實施例中，A為亞甲基且n為1。在具有根據式I的化學式的化合物的一些具體實施例中，A為亞甲基且n為2。

【0117】 如本文及在整個說明書中所用，「脂族」乙詞包括飽和及不飽和、非芳族、直鏈(即非支鏈)、支鏈、非環及環狀(即碳環)烴，其任選地被一或多個官能基取代。如本領域普通技術人員將理解的，「脂族」在本文中旨在包括但不限於烷基、烯基、炔基、環烷基、環烯基、及環炔基部分。因此，如本文所用，「烷基」乙詞包括直鏈、支鏈及環狀烷基。類似慣例適用於其他通用用語，例如「烯基」、「炔基」等。另外，如本文所用，「烷基」、「烯基」、「炔基」等用語涵蓋取代及未取代的基團。在某些具體實施例中，如本文所用，「脂族」用於表示具有1到20個碳原子的那些脂族基團(環狀、非環、取代、未取代、支鏈或非支鏈)(C₁₋₂₀脂族)。在某些具體實施例中，脂族基團具有1到10個碳原子(C₁₋₁₀脂族)。在某些具體實施例中，脂族基團具有1到6個碳原子(C₁₋₆脂族)。在某些具體實施例中，脂族基團具有1到5個碳原子(C₁₋₅脂族)。在某些具體實施例中，脂族基團具有1到4個碳原子(C₁₋₄脂族)。在某些具體實施例中，脂族基團具有1

到3個碳原子(C₁₋₃脂族)。在某些具體實施例中，脂族基團具有1到2個碳原子(C₁₋₂脂族)。脂族基團取代基包括但不限於本文所述的任何取代基，其會導致形成穩定部分。在一些具體實施例中，脂族基團為飽和或不飽和的、非支鏈或支鏈的烷基，較佳為(C₁-C₂₀)烷基，更佳為(C₁-C₁₀)烷基，甚至更佳為(C₁-C₆)烷基。

【0118】 如本文及在整個說明書中所用，「雜脂族」乙詞涉及如本文所界定的脂族部分，其包括飽和及不飽和、非芳族、直鏈(即非支鏈)、支鏈、非環、環狀(即雜環)、或多環烴，其任選地被一或多個官能基取代，且在碳原子之間進一步含有一或多個雜原子(例如氧、硫、氮、磷或矽原子)。在某些具體實施例中，雜脂族部分藉由以一或多個取代基獨立代替其上的一或多個氫原子而被取代。如本領域普通技術人員將理解的，「雜脂族」在本文中旨在包括但不限於雜烷基、雜烯基、雜炔基、雜環烷基、雜環烯基、及雜環炔基部分。因此，「雜脂族」乙詞包括「雜烷基」、「雜烯基」、「雜炔基」等用語。另外，如本文所用，「雜烷基」、「雜烯基」、「雜炔基」等用語涵蓋取代及未取代的基團。在某些具體實施例中，如本文所用，「雜脂族」用於表示具有1到20個碳原子及1到6個雜原子的那些雜脂族基團(環狀、非環、取代、未取代、支鏈或非支鏈的(C₁₋₂₀雜脂族)。在某些具體實施例中，雜脂族含有1到10個碳原子及1到4個雜原子(C₁₋₁₀雜脂族)。在某些具體實施例中，雜脂族含有1到6個碳原子及1到3個雜原子(C₁₋₆雜脂族)。在某些具體實施例中，雜脂族含有1到5個碳原子及1到3個雜原子(C₁₋₅雜脂族)。在某些具體實施例中，雜脂族含有1到4個碳原子及1到2個雜原子(C₁₋₄雜脂族)。在某些具體實施例中，雜脂族含有1到3個碳原子及1個雜原子(C₁₋₃雜脂族)。在某些具體實施例中，雜脂族含有1到2個碳原子及1個雜原子(C₁₋₂雜脂族)。脂族基團取代基包括但不限於本文所述的任何取代基，其會導致形成

穩定部分。在一些具體實施例中，脂族基團為飽和或不飽和的、非支鏈或支鏈的烷基，較佳為(C₁-C₂₀)烷基，更佳為(C₁-C₁₀)烷基，甚至更佳為(C₁-C₆)烷基。

「L」：連接子

【0119】 本文揭示提供抗體藥物共軛體，其中如本文所述修飾的貝倫妥昔與藥物部分連接。根據本文揭示，可經由連接子的共價連接使貝倫妥昔與藥物部分連接。如本文所用，「連接子」為能夠使抗體(諸如貝倫妥昔)、抗體片段(例如抗原結合片段)、或功能等同物與另一部分(諸如藥物部分)連接的任何化學部分。在這點上，再次提及本文所述的「ADC化學式」： $Ab-(L-(D)_x)_y$ 。因此，藥物部分D可藉由連接子L與貝倫妥昔連接。L為能夠使貝倫妥昔抗體與藥物部分D連接的任何化學部分。較佳地，連接子L藉由共價鍵使貝倫妥昔抗體與藥物部分D連接。連接子試劑為雙功能或多功能部分，其可用於使藥物部分D及貝倫妥昔抗體連接以形成抗體藥物共軛體。抗體藥物共軛體可使用具有用於使藥物部分D及抗體Ab結合的反應性官能基的連接子來製備。「連接子試劑」、「交聯試劑」、「衍生自交聯試劑的連接子」及「連接子」等詞在本文揭示中可互換使用。

【0120】 連接子可為對裂解(可裂解連接子)敏感的，諸如酶裂解、酸誘導裂解、光誘導裂解及二硫化物鍵裂解。酶裂解包括但不限於蛋白酶誘導裂解、肽酶誘導裂解、酯酶誘導裂解、糖苷酶誘導裂解、磷酸酶誘導裂解、及硫酸酯酶誘導裂解，較佳在化合物或抗體保持活性的條件下進行。或者，連接子可實質上抗裂解(例如穩定的連接子或不可裂解的連接子)。在一些方面，連接子可為預帶電荷的連接子、親水性連接子、基於PEG的連接子、或基於二羧酸的連接子。因此，在本文揭示的任何一個抗體藥物共軛體的一些具體實施例中，連接子(L)選自由以下組成的群組：可裂解的連接子、不可裂解的連接子、親水性連接子、

基於PEG的连接子、預帶電荷的连接子、以及基於二羧酸的连接子。在一些具體實施例中，L為可裂解的连接子。在一些具體實施例中，L為不可裂解的连接子。在一些具體實施例中，L為對酶裂解敏感的连接子。在一些具體實施例中，L為酸不穩定的连接子、光不穩定的连接子、肽酶可裂解的连接子、蛋白酶可裂解的连接子、酯酶可裂解的连接子、糖苷酶可裂解的连接子、磷酸酶可裂解的连接子、硫酸酯酶可裂解的连接子、二硫化物鍵可還原的连接子、親水性的连接子、預帶電荷的连接子、基於PEG的连接子、或基於二羧酸的连接子。較佳為肽酶可裂解的连接子。其他較佳的连接子可被蛋白酶裂解。

【0121】 不可裂解的连接子為能夠以穩定的共價方式使醫藥與抗體連接的任何化學部分，且不屬於上述可裂解连接子的類別。因此，不可裂解的连接子實質上抗酸誘導裂解、肽酶誘導裂解、蛋白酶誘導裂解、酯酶誘導裂解、及二硫化物鍵裂解。另外，不可裂解涉及连接子中或與连接子相鄰的化學鍵在藥物或抗體不喪失其活性的條件下，抵抗由酸、光不穩定裂解劑、肽酶、蛋白酶、酯酶或裂解二硫化物鍵的化學或生理化合物誘導的裂解的能力。

【0122】 酸不穩定的连接子為在酸性pH下可裂解的连接子。例如，某些細胞內隔室，諸如胞內體及溶酶體，具有酸性pH(pH 4到5)，並提供適合使酸不穩定连接子裂解的條件。

【0123】 一些连接子可被肽酶裂解，即為肽酶可裂解的连接子。在這點上，某些肽易於在細胞內或細胞外裂解，請見例如Trout等人，79 Proc. Natl. Acad. Sci. USA，626-629 (1982)以及Umemoto等人43 Int. J. Cancer，677-684 (1989)。肽由 α -胺基酸及肽鍵所組成，肽鍵在化學上為一個胺基酸的羧酸酯基和第二個胺基酸的胺基之間的醯胺鍵。

【0124】 一些連接子可被酯酶裂解，即為酯酶可裂解的連接子。在這點上，某些酯可被存在於細胞內或細胞外的酯酶裂解。酯為藉由羧酸及醇縮合所形成。簡單酯為用簡單的醇(諸如脂族醇和小的環狀醇及小的芳香醇)所製造的酯。

【0125】 預帶電荷的連接子衍生自帶電的交聯試劑，其在摻入抗體藥物共軛體後保留其電荷。預帶電荷連接子的實例可在US 2009/0274713中找到。

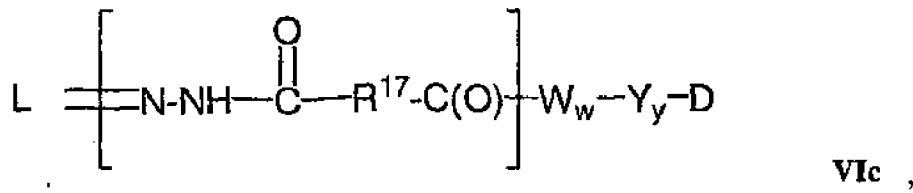
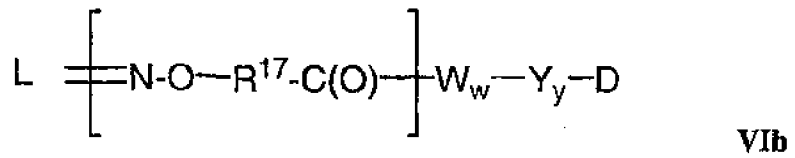
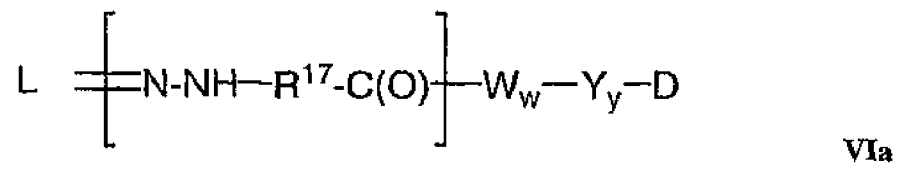
【0126】 連接子可為可裂解的，較佳為蛋白酶可裂解的，更佳為組織蛋白酶(諸如組織蛋白酶B)可裂解的。連接子可包含纈胺酸-瓜胺酸部分，其可被組織蛋白酶(諸如組織蛋白酶B)裂解。連接子可包含羥胺基團且非天然胺基酸包含位於芳環(諸如3-甲醯基酪胺酸)中羥基鄰位的甲醯基，且其中共軛後連接子的羥胺基團與非天然胺基酸的甲醯基形成脞。連接子可包含裂解位點。「裂解位點」為被蛋白酶或肽酶識別並被該蛋白酶或肽酶水解的胺基酸序列。較佳地，裂解位點為纈胺酸瓜胺酸部分。

【0127】 在一個具體實施例中，本發明ADC的連接子具有下式： $-A_a-X_x-W_w-Y_y$ ，其中： $-A-$ 為延伸子單元(stretcher unit)； a 為0或1；其中 $-X-$ 為第二間隔子單元(spacer unit)； x 獨立地為0到12範圍內的整數；每個 $-W-$ 獨立地為胺基酸單元； w 獨立地為0到12範圍內的整數； $-Y-$ 為第一間隔子單元；且 y 獨立地為0到12範圍內的整數，較佳為0、1或2。

【0128】 當存在延伸子單元($-A-$)時，其能夠使配體單元，即包含在本發明的ADC中的貝倫妥昔的非天然胺基酸，與胺基酸單元($-W-$)連接。在這點上，非天然胺基酸具有可與延伸子的官能基形成鍵的官能基。可天然地或經由化學操作而存在於非天然胺基酸上的有用官能基包括但不限於硫醇基($-SH$)、胺基、疊

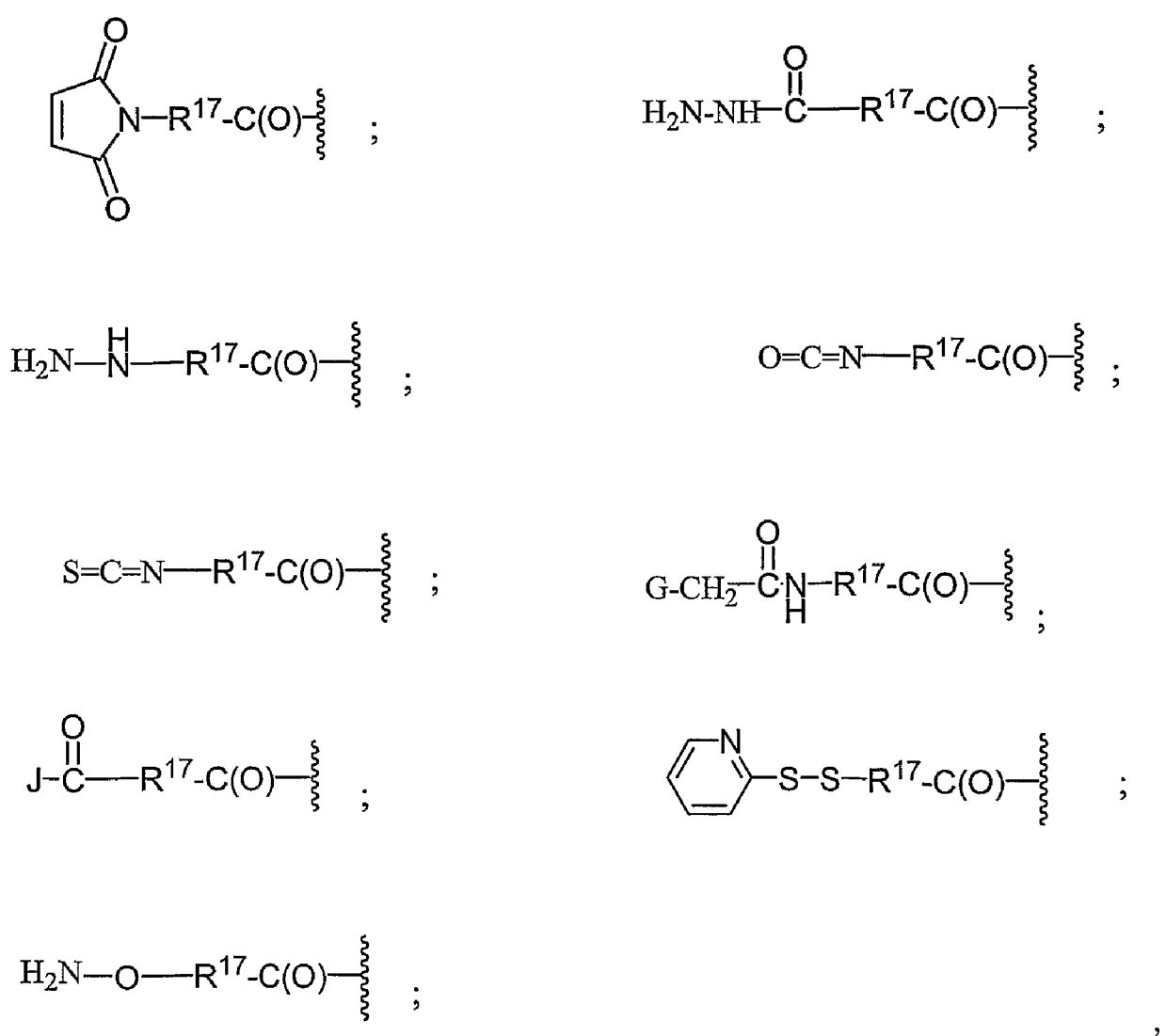
氨基、炔基、羥基、羧基、碳水化合物的異頭羥基、甲醯基、及羧基。在一方面，非天然胺基酸官能基為硫醇基及胺基。較佳地，非天然胺基酸的官能基為甲醯基。硫醇基可藉由還原配體的分子內二硫化物鍵而產生。或者，可藉由使用2-亞胺基硫雜環戊烷(特勞特試劑(Traut's Reagent))或另一個硫醇基產生試劑來與非天然胺基酸的離胺酸部分的胺基反應而產生硫醇基。

【0129】 延伸子的反應基團可含有與可存在於非天然胺基酸上的經修飾碳水化合物(-CHO)基團反應的反應位點。例如，可使用諸如過碘酸鈉的試劑使碳水化合物溫和氧化，或可使用TTL使非天然甲醯基酪胺酸胺基酸連接到配體，且可使所得的(-CHO)單元與含有官能基的延伸子縮合，該官能基如醯肼、肼、吡唑啉酮、硫吡唑啉酮、一級胺或二級胺、肼、縮胺基硫脲、肼羧酸酯、及芳基醯肼，諸如Kaneko, T.(1991) Bioconjugate Chem 2:133-41等人所述的那些。與此具體實施例的非天然胺基酸共軛後的代表性延伸子單元描述在結構**VIa**、**VIb**及**VIc**的方括號內，其中-W-、-Y-、-D、w、及y如上界定，且L為本發明的ADC中包含的貝倫妥昔的非天然胺基酸。



其中R¹⁷選自由以下組成的群組：取代或未取代的烷基、取代或未取代的烯基、取代或未取代的炔基、取代或未取代的環烷基、取代或未取代的芳基、取代或未取代的芳烷基、取代或未取代的雜芳基、取代或未取代的雜芳烷基、取代或未取代的雜環基、取代或未取代的雜烷基、取代或未取代的雜烯基、及取代或未取代的雜炔基。

【0130】 延伸子單元也可包括以下中的一或多者：

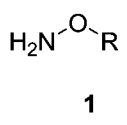


其中G選自-Cl、-Br、-I、-O-甲磺醯基、及-O-甲苯磺醯基；

其中J選自-Cl、-Br、-I、-F、-OH、-O-N-丁二醯亞胺、-O(4-硝苯基)、-O-五氟苯基、-O-四氟苯基、及-O-C(O)-OR¹⁸；R¹⁸為-C₁-C₈烷基或-芳基，以及

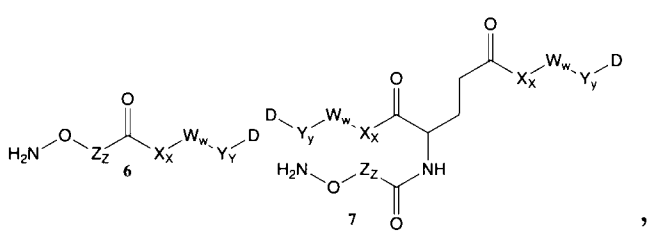
其中R¹⁷選自由以下組成的群組：取代或未取代的烷基、取代或未取代的烯基、取代或未取代的炔基、取代或未取代的環烷基、取代或未取代的芳基、取代或未取代的芳烷基、取代或未取代的雜芳基、取代或未取代的雜芳烷基、取代或未取代的雜環基、取代或未取代的雜烷基、取代或未取代的雜烯基、及取代或未取代的雜炔基。波浪線表示與胺基酸單元W(若存在)、間隔子單元W(若不存在胺基酸且存在間隔子單元)、或藥物部分(若不存在胺基酸單元或間隔子單元)的共價鍵。

【0131】 延伸子單元在與非天然胺基酸共軛之前可包含如結構1所示的結構或由其所組成：



其中R可表示與第二間隔子單元X、胺基酸單元W、第一間隔子單元W、或藥物部分的共價鍵。

【0132】 在如本文所述的連接子中，延伸子單元在與非天然胺基酸共軛之前可包含如結構6或7所示的結構或由其所組成：



其中Z選自由以下組成的群組：取代或未取代的烷基、取代或未取代的烯基、取代或未取代的炔基、取代或未取代的環烷基、取代或未取代的芳基、取代或未取代的芳烷基、取代或未取代的雜芳基、取代或未取代的雜芳烷基、取

代或未取代的雜環基、取代或未取代的雜烷基、取代或未取代的雜烯基、及取代或未取代的雜炔基；z獨立地為0到12範圍內的整數；

其中X為如本文所界定的任選的第二間隔子單元，較佳選自由以下組成的群組：取代或未取代的烷基、取代或未取代的烯基、取代或未取代的炔基、取代或未取代的環烷基、取代或未取代的芳基、取代或未取代的芳烷基、取代或未取代的雜芳基、取代或未取代的雜芳烷基、取代或未取代的雜環基、取代或未取代的雜烷基、取代或未取代的雜烯基、及取代或未取代的雜炔基、或基於聚乙二醇的连接子，諸如PEG_i，其中i為2到12範圍內的整數，較佳選自1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11及12，較佳2；x獨立地為0到12範圍內的整數；

其中Y為如本文所界定的任選的第一間隔子單元；y獨立地為0到12範圍內的整數；

其中W為如本文所界定的任選的胺基酸單元；w獨立地為0到12範圍內的整數；

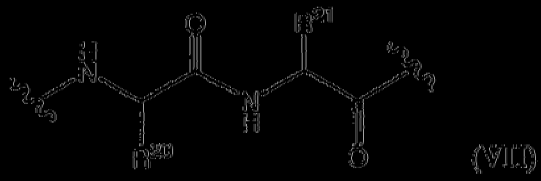
且

其中D為藥物部分，

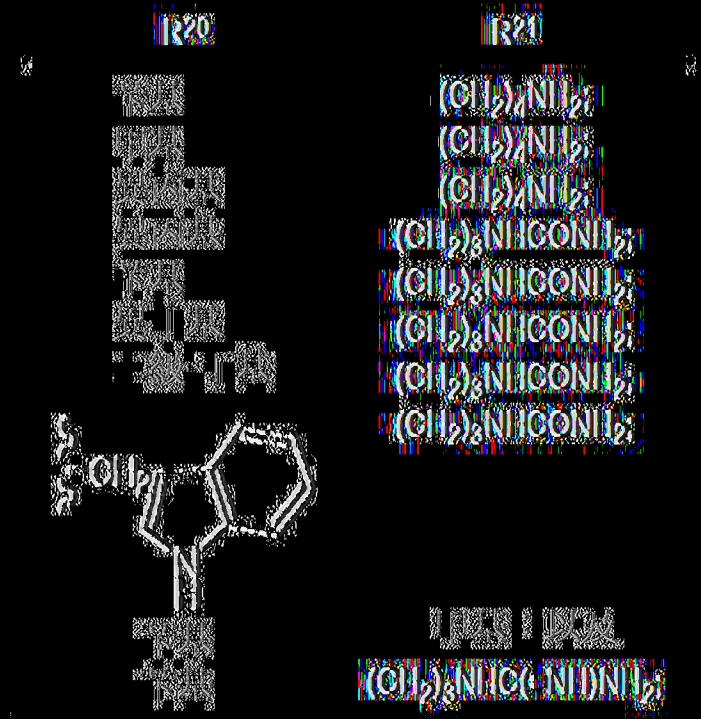
較佳地，其中結構6或7的羥胺與本發明的ADC中包含的貝倫妥昔的非天然胺基酸共軛，從而在共軛後形成脗。

【0133】 當胺基酸單元(-W-)存在時：若間隔子單元存在，則使延伸子單元連接到間隔子單元；若間隔子單元不存在，則使延伸子單元連接到藥物部分；且若延伸子單元及間隔子單元不存在，則使配體單元連接到藥物部分。

[(0135)] 胺基酸單元可被一或多個酶(包括腫瘤相關蛋白酶)酶裂解以釋放藥物部分(1D)，其在一個具體實施例中在體內釋放時質子化以提供藥物(1D)。說明性WW單元由式(VII)到(IX)表示：



其中R²⁰及R²¹如下：



其中R²⁰、R²¹及R²²如下：



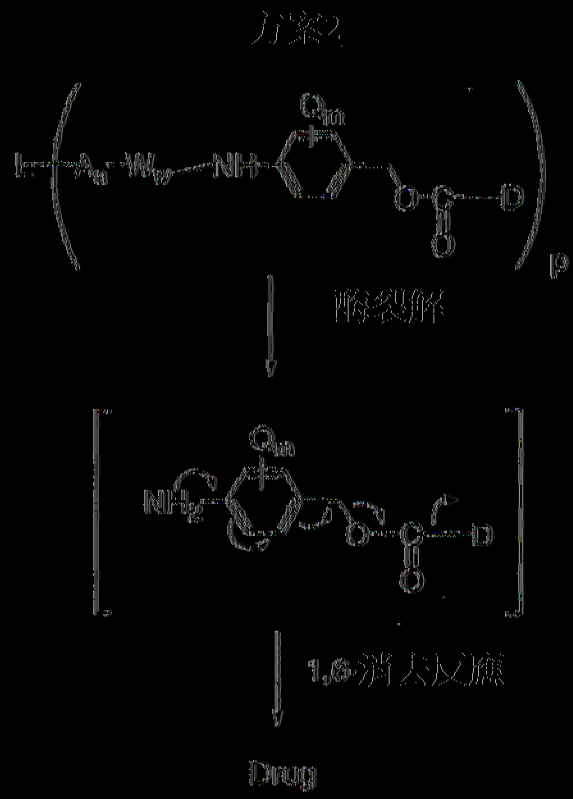
【0142】 在胺基酸單元的一個方面，胺基酸單元為纈胺酸-瓜胺酸。在另一方面，胺基酸單元是苯丙胺酸-離胺酸(即fk)。在胺基酸單元的另一方面，胺基酸單元為N-甲基纈胺酸瓜胺酸。在另一方面，胺基酸單元為5-胺基戊酸、高苯丙胺酸離胺酸、四異喹啉羧酸離胺酸、環己基丙胺酸離胺酸、異表皮酸(isonpecotic)離胺酸、β-丙胺酸離胺酸、甘胺酸絲胺酸纈胺酸麩醯胺酸、及異表皮酸。

【0143】 在某些具體實施例中，胺基酸單元可包含天然胺基酸。在某些具體實施例中，胺基酸單元可包含非天然胺基酸。

【0144】 當存在胺基酸單元時，第一間隔子單元(-Y-)(當存在時)可使胺基酸單元與藥物部分連接。或者，當胺基酸單元不存在時，第一間隔子單元可使延伸子單元與藥物部分連接。當胺基酸單元及延伸子單元均不存在時，第一間隔子單元也可使藥物部分與配體單元連接。當第二個間隔子單元(-X-)存在時，可使延伸子單元與胺基酸單元連接。或者，在不存在胺基酸單元的情況下，第二間隔子單元可使延伸子單元與第一間隔子單元連接。或者，在不存在第一間隔子單元及胺基酸單元的情況下，第二間隔子單元也可使延伸子單元與藥物部分連接。兩個間隔子單元可相同或不同。「間隔子單元」的揭示大體上適用於第一及第二間隔子單元兩者。第一及第二間隔子單元可為相同的。第一及第二間隔子單元可不同，其中各自獨立地選自間隔子單元的以下實例。

【0145】 間隔子單元有兩種一般類型：自消耗(self-immolative)型及非自消耗型。非自消耗型間隔子單元為其中在從藥物-連接子-配體共軛體或藥物-連接子化合物上裂解(特別是酶裂解)胺基酸單元之後，部分或全部間隔子單元保持與藥物部分結合的間隔子單元。非自消耗型間隔子單元的實例包括但不限於(甘胺酸-甘胺酸)間隔子單元及甘胺酸間隔子單元(均示於方案1)(下文)。當含有甘胺酸

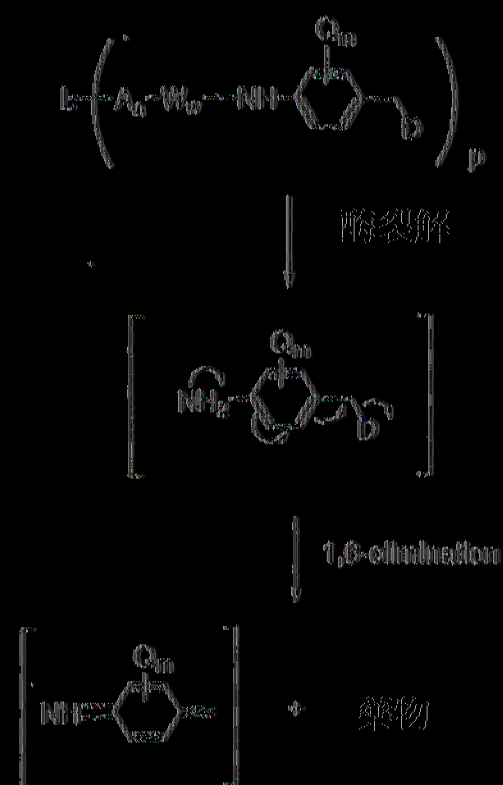
能機轉，該PAB基團經由胺、中酸酐或碳酸酐基團與-D直接連接，上述機轉由Folki等人et al. (2002) J Org. Chem. 67:1866-1872所支持。



其中Q為C₁-C₈烷基、-O-(C₁-C₈烷基)、鹵素、硝基或氫基；m為0到4範圍內的整數；[Lp]的範圍為1到約20。

[(0150)] 不受任何特定理論或機轉的束縛下，方案3描述PAB基團的藥物釋放的可能機轉，該PAB基團經由醚或胺鍵與-D直接連接。

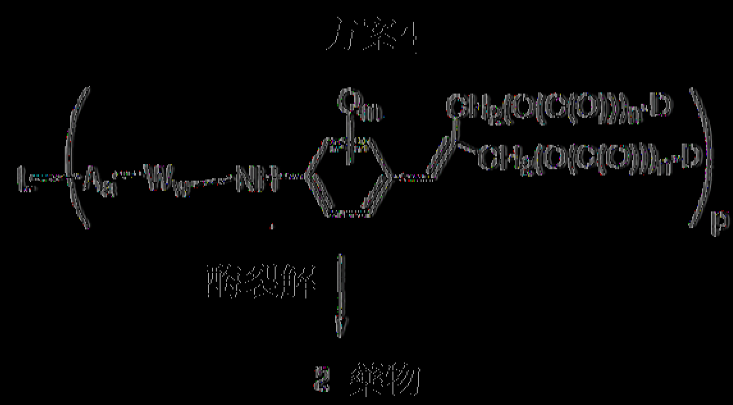
方案3



其中Q為 $\text{C}_1\text{--C}_8$ 烷基、 $-\text{O}(\text{C}_1\text{--C}_8\text{烷基})$ 、鹵素、硝基或氨基；m為0到4範圍內的整數； $\sum p$ 的範圍為1到約20。

[0151] 自消耗型間隔子的其他實例包括但不限於電子上與PAB基團相似的芳族化合物，諸如2-胺基咪唑-5-醇衍生物(Clay等人(1999)Bioorg. Med. Chem. Lett. 9:2237)及鄰或對胺基苯基縮醛。可使用在醯胺鍵水解時進行環化的間隔子，諸如取代及未取代的4-胺基丁酸醯胺(Rodrigues等人，Chemistry Biology, 1995, 2, 223)、適當取代的雙環[2.2.1]及雙環[2.2.2]環系統(Storm等人，J. Amer. Chem. Soc., 1972, 94, 5815)、及2-胺基苯基丙酸醯胺(Amsberry等人，J. Org. Chem., 1990, 55, 5867)。去除在甘氨酸的 α 位被取代的含胺藥物(Kingsbury等人，J. Med. Chem., 1984, 27, 1447)也為可用於示例性化合物的自消耗型間隔子的實例。

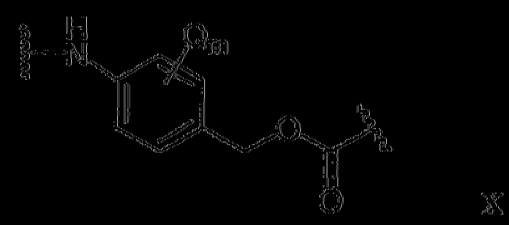
〔0152〕 在一個具體實施例中，間隔子單元為如方案4中所示的支鏈雙(經甲基)苯乙烯(BCEMS)單元，其可用於摻入及釋放多個藥物。



其中Q為 C₁-C₈烷基、-O-(C₁-C₈烷基)、-鹵素、-硝基或-氬基；m為0到4範圍內的整數；n為0或1；且p的範圍為1到約20。

〔0153〕 在一個具體實施例中，-D部分為相同的。在另一個具體實施例中，-D部分為不同的。

〔0154〕 在一方面，間隔子單元由式(X)到(X00)表示：



其中Q為 C₁-C₈烷基、-O-(C₁-C₈烷基)、-鹵素、-硝基或-氬基；且m為0到4範圍內的整數；



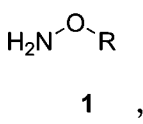
且



【0155】 第一間隔子單元(-X-)可選自由以下組成的群組：取代或未取代的烷基、取代或未取代的烯基、取代或未取代的炔基、取代或未取代的環烷基、取代或未取代的芳基、取代或未取代的芳烷基、取代或未取代的雜芳基、取代或未取代的雜芳烷基、取代或未取代的雜環基、取代或未取代的雜烷基、取代或未取代的雜烯基、及取代或未取代的雜炔基、或基於聚乙二醇的連接子，諸如PEG_i，其中i為2到12範圍內的整數，較佳選自1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11及12，較佳2；x獨立地為0到12範圍內的整數。

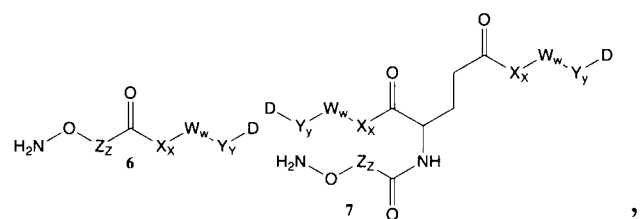
【0156】 第二間隔子單元(-Y-)可選自由以下組成的群組：取代或未取代的烷基、取代或未取代的烯基、取代或未取代的炔基、取代或未取代的環烷基、取代或未取代的芳基、取代或未取代的芳烷基、取代或未取代的雜芳基、取代或未取代的雜芳烷基、取代或未取代的雜環基、取代或未取代的雜烷基、取代或未取代的雜烯基、及取代或未取代的雜炔基、或基於聚乙二醇的連接子，諸如PEG_i，其中i為2到12範圍內的整數，較佳選自1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11及12，較佳2；x獨立地為0到12範圍內的整數。

【0157】 連接子在與非天然胺基酸共軛之前可具有或包含如結構1所示的結構：



其中R為一或多個藥物部分，其任選地藉由一或多個裂解位點與結構1的羥胺共軛，較佳其中結構1的羥胺與非天然胺基酸共軛。

【0158】 連接子在與非天然胺基酸共軛之前可包含如結構6或7所示的結構或由其所組成：



其中Z選自由以下組成的群組：取代或未取代的烷基、取代或未取代的烯基、取代或未取代的炔基、取代或未取代的環烷基、取代或未取代的芳基、取代或未取代的芳烷基、取代或未取代的雜芳基、取代或未取代的雜芳烷基、取代或未取代的雜環基、取代或未取代的雜烷基、取代或未取代的雜烯基、及取代或未取代的雜炔基；z獨立地為0到12範圍內的整數；

其中X是如本文所界定的任選的第二間隔子單元，較佳選自由以下組成的群組：取代或未取代的烷基、取代或未取代的烯基、取代或未取代的炔基、取代或未取代的環烷基、取代或未取代的芳基、取代或未取代的芳烷基、取代或未取代的雜芳基、取代或未取代的雜芳烷基、取代或未取代的雜環基、取代或未取代的雜烷基、取代或未取代的雜烯基及取代或未取代的雜炔基，或基於聚乙二醇的连接子例如PEG_i，其中i是2至12範圍內的整數，較佳選自由1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11及12組成的群組，較佳為2；x獨立地為0到12範圍內的整數；

其中Y為如本文所界定的任選的(第一)間隔子單元；y獨立地為0到12範圍內的整數；

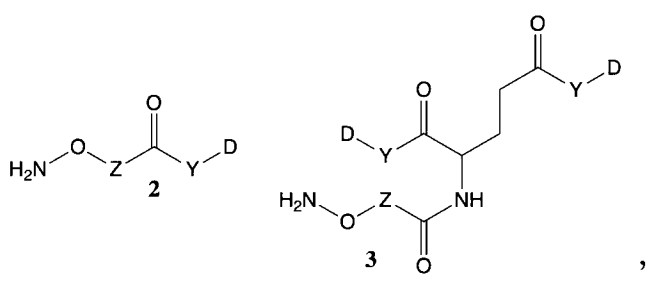
其中W為如本文所界定的任選的胺基酸單元；w獨立地為0到12範圍內的整數；

且

其中D為藥物部分，

較佳地，其中結構6或7的羥胺與本發明的ADC中包含的貝倫妥昔的非天然胺基酸共軛，從而在共軛後形成脞。

【0159】 連接子在與非天然胺基酸共軛之前可具有或包含如結構2或3所示的結構：



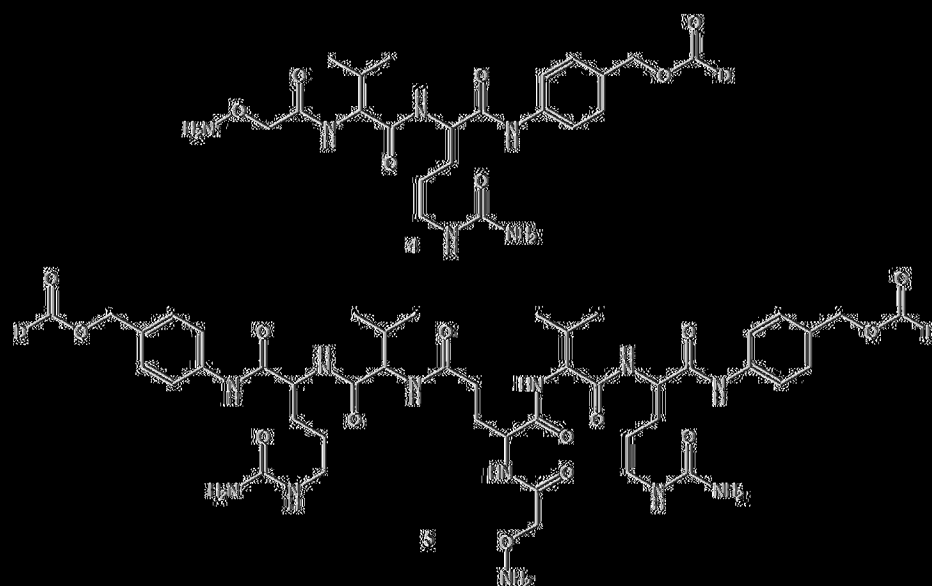
其中Z選自由以下組成的群組：取代或未取代的烷基、取代或未取代的烯基、取代或未取代的炔基、取代或未取代的環烷基、取代或未取代的芳基、取代或未取代的芳烷基、取代或未取代的雜芳基、取代或未取代的雜芳烷基、取代或未取代的雜環基、取代或未取代的雜烷基、取代或未取代的雜烯基、及取代或未取代的雜炔基；

其中D為一或多個藥物部分；以及

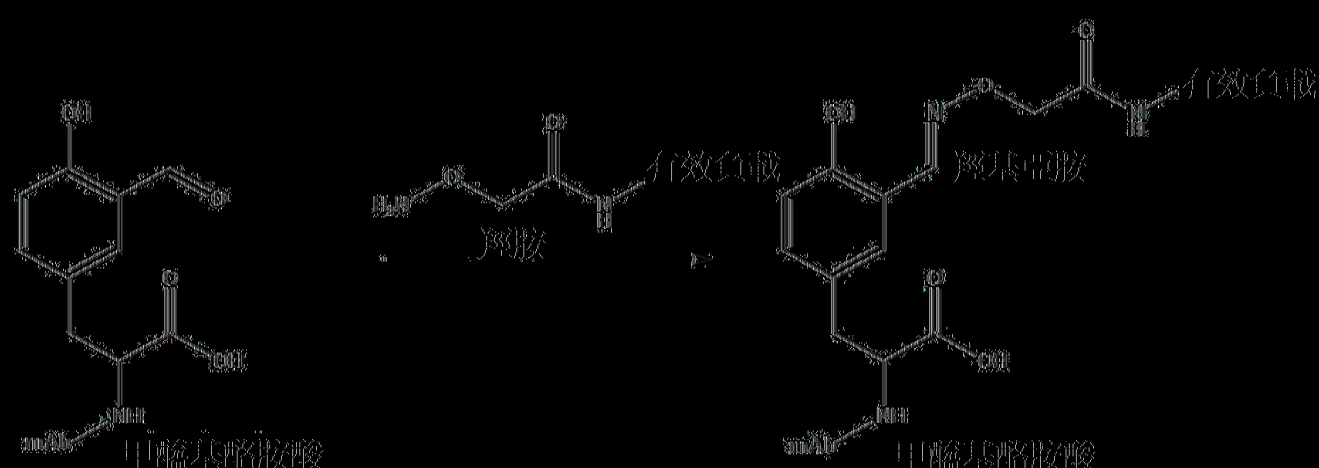
其中Y為裂解位點，諸如組織蛋白酶(諸如組織蛋白酶B)的裂解位點；

較佳其中結構2或結構3的羥胺與非天然胺基酸共軛。

【0160】 連接子在與非天然胺基酸共軛之前可具有如結構4或5所示的結構，其中D為如本文所述的藥物部分，較佳為MMAE：



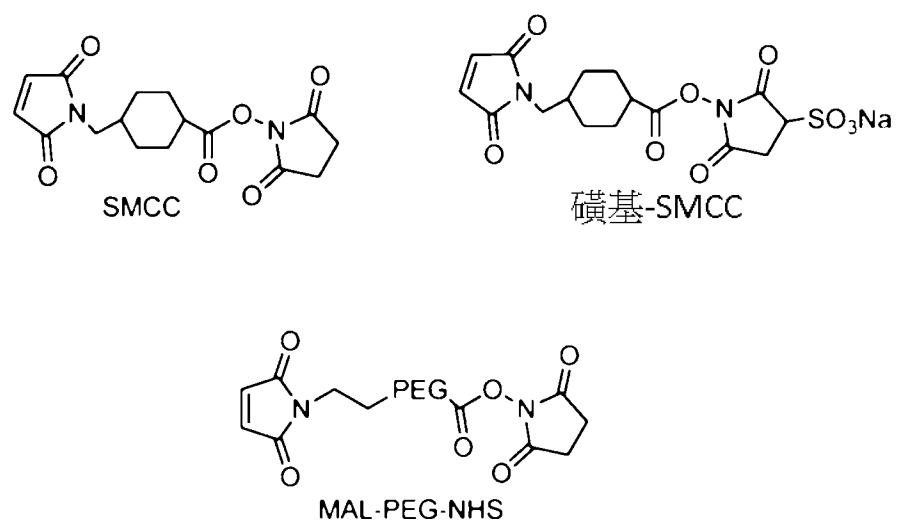
〔0161〕如本文所用的「在與非天然胺基酸共軛之前」描述化學實體，諸如在與其對應物(非天然胺基酸)形成共價鍵之前的連接子。然而，對於本文的連接子或藥物部分也是如此，其未被描述為彼此共價共軛。本領域技術人員可容易地識別由於兩個化學實體的反應形成的所得結構。在如本文所界定的結構1到5的情況下，對應物為非天然胺基酸，其包含甲醯基。非天然胺基酸可為3-甲醯基酪胺酸，且具有結構1到5中任一結構的連接子的經胺基團與非天然胺基酸的3-甲醯基形成酰肼基亞胺。反應機轉如下所示：



在本文中，單株抗體對應到貝倫妥昔，且有效負載涉及本文所界定的藥物部分，其經由本文所界定的連接子與非天然胺基酸(此處為3-甲醯基酪胺酸)共軛。

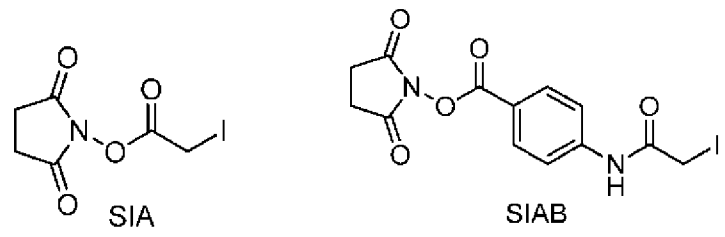
【0162】在藥物部分D和貝倫妥昔抗體之間形成不可裂解的連接子的合適交聯試劑為本領域周知的，且可形成包含硫原子(諸如SMCC)或不含硫原子的不可裂解的連接子。在藥物部分D和貝倫妥昔抗體之間形成不可裂解的連接子的交聯試劑包含基於順丁烯二醯亞胺基或鹵乙醯基的部分。根據本文揭示，這種不可裂解的連接子據說衍生自基於順丁烯二醯亞胺基或鹵乙醯基的部分。

【0163】包含基於順丁烯二醯亞胺基的部分的交聯試劑包括但不限於*N*-丁二醯亞胺基-4-(順丁烯二醯亞胺基甲基)環己烷-1-羧酸酯(SMCC)、磺基丁二醯亞胺基4-(*N*-順丁烯二醯亞胺基甲基)環己烷-1-羧酸酯(磺基-SMCC)、*N*-丁二醯亞胺基-4-(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的「長鏈」類似物(LC-SMCC)、 κ -順丁烯二醯亞胺基十一烷酸*N*-丁二醯亞胺酯(KMUA)、 γ -順丁烯二醯亞胺基丁酸*N*-丁二醯亞胺酯(GMBS)、 ϵ -順丁烯二醯亞胺基己酸*N*-丁二醯亞胺酯(EMCS)、間順丁烯二醯亞胺基苯甲醯基-*N*-羥基丁二醯亞胺酯(MBS)、*N*-(α -順丁烯二醯亞胺基乙醯氧基)-丁二醯亞胺酯(AMSA)、丁二醯亞胺基-6-(β -順丁烯二醯亞胺基丙醯胺基)己酸酯(SMPH)、*N*-丁二醯亞胺基-4-(對丁二醯亞胺基苯基)-丁酸酯(SMPB)、*N*-(對丁二醯亞胺基苯基)異氰酸酯(PMIP)、及含有聚乙二醇間隔物的基於順丁烯二醯亞胺基的交聯試劑，諸如順丁烯二醯亞胺-PEG-NHS，其在本文中也表示為MAL-PEG-NHS。這些交聯試劑形成衍生自基於順丁烯二醯亞胺基的部分的不可裂解的連接子。基於順丁烯二醯亞胺基的交聯試劑的代表性結構如下所示。



【0164】 在一些具體實施例中，連接子L衍生自N-丁二醯亞胺基-4-(順丁烯二醯亞胺基甲基)環己烷羧酸酯(SMCC)、磺基丁二醯亞胺基-4-(N-順丁烯二醯亞胺基甲基)環己烷-1-羧酸酯(磺基-SMCC)、或MAL-PEG-NHS。

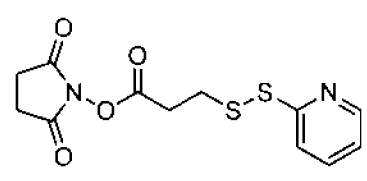
【0165】 包含基於鹵乙醯基的部分的交聯試劑包括N-丁二醯亞胺基碘乙酸酯(SIA)、N-丁二醯亞胺基(4-碘乙醯基)胺基苯甲酸酯(SIAB)、N-丁二醯亞胺基溴乙酸酯(SBA)、及N-丁二醯亞胺基3-(溴乙醯基)丙酸酯(SBAP)。這些交聯試劑形成衍生自基於鹵乙醯基的部分的不可裂解的連接子。基於鹵乙醯基的交聯試劑的代表性結構如下所示。



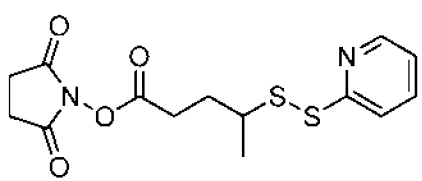
【0166】 在一些具體實施例中，連接子L衍生自N-丁二醯亞胺基碘乙酸酯(SIA)或N-丁二醯亞胺基(4-碘乙醯基)胺基苯甲酸酯(SIAB)。

【0167】 在藥物部分D和貝倫妥昔抗體之間形成可裂解連接子的合適交聯試劑為本領域周知的。含二硫化物的連接子為可藉由二硫化物交換而裂解的連

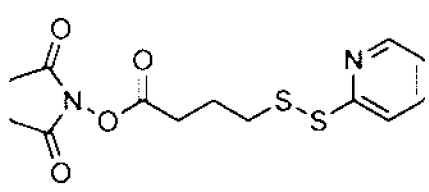
接子，該交換可在生理條件下發生。根據本文揭示，這種可裂解的連接子據說衍生自基於二硫化物的部分。合適的二硫化物交聯試劑包括N-丁二醯亞胺基-3-(2-吡啶基二硫)丙酸酯(SPDP)、N-丁二醯亞胺基-4-(2-吡啶基二硫)戊酸酯(SPP)、N-丁二醯亞胺基-4-(2-吡啶基二硫)丁酸酯(SPDB)、及N-丁二醯亞胺基-4-(2-吡啶基二硫)2-硫-丁酸酯(sulfo-SPDB)，其結構如下所示。這些二硫化物交聯試劑形成衍生自基於二硫化物的部分的可裂解的連接子。



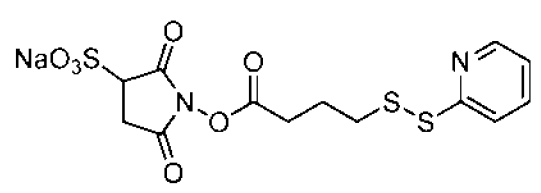
N-丁二醯亞胺基-3-(2-吡啶基二硫)丙酸酯(SPDP)，



N-丁二醯亞胺基-4-(2-吡啶基二硫)丁酸酯(SPDB)



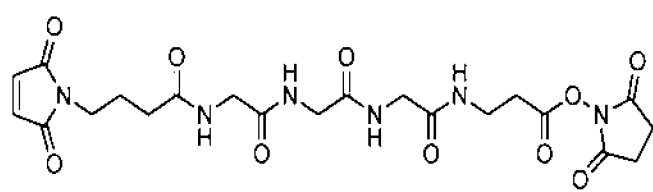
N-丁二醯亞胺基-4-(2-吡啶基二硫)丁酸酯(SPDB)



N-丁二醯亞胺基-4-(2-吡啶基二硫)2-硫-丁酸酯(sulfo-SPDB)。

【0168】 在一些具體實施例中，連接子L衍生自N-丁二醯亞胺基-4-(2-吡啶基二硫)丁酸酯(SPDB)。

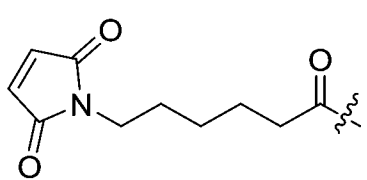
【0169】 在藥物部分D和貝倫妥昔抗體之間形成帶電荷的連接子的合適交聯試劑稱作預帶電荷的交聯試劑。在一個具體實施例中，連接子L衍生自預帶電荷的交聯試劑CX1-1。CX1-1的結構如下所示：



2,5-二氧吡咯啉-1-基17-(2,5-二氧-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)-5,8,11,14-四氧-4,7,10,13-四氮雜十七-癸-1-酸酯(CX1-1)

【0170】 可適用於本文揭示的貝倫妥昔藥物共軛體的其他連接子為順丁烯二醯亞胺基己醯基(MC)、具有自裂解肽的順丁烯二醯亞胺基己醯基(MC)、具有自裂解肽的順丁烯二醯亞胺二胺基丙醯基(mDPR)、及4-(N-順丁烯二醯亞胺基甲基)-環己烷-1-羰基(MCC)。

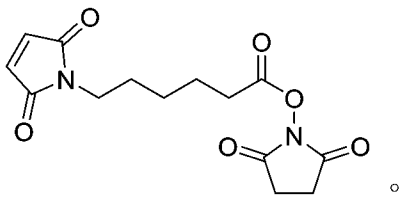
【0171】 在一些具體實施例中，連接子為順丁烯二醯亞胺基己醯基(MC)。順丁烯二醯亞胺基己醯基具有以下結構：



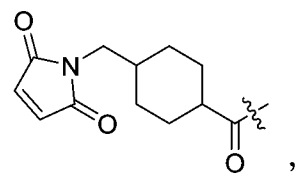
其中波浪線表示連接子的羰基碳原子與貝倫妥昔藥物共軛體的另一部分的共價連接，特別是與貝倫妥昔或抗原結合片段(Ab)或藥物部分(D)的共價連接，較佳與藥物部分(D)的共價連接。作為非限制性實例，在包含MC連接子的

貝倫妥昔藥物共軛體中，貝倫妥昔或其抗原結合片段(Ab)可與順丁烯二醯亞胺部分共價連接，且藥物部分(D)可與連接子的羰基碳原子共價連接，如以上結構式中的波浪線所示。

【0172】 順丁烯二醯亞胺基己醯基連接子可例如衍生自交聯試劑，其為具有以下結構的NHS酯：



【0173】 在一些具體實施例中，連接子為4-(N-順丁烯二醯亞胺基甲基)-環己烷-1-羰基(MCC)。MCC具有以下結構：



其中波浪線表示連接子的羰基碳原子與貝倫妥昔藥物共軛體的另一部分，特別是與貝倫妥昔或抗原結合片段(Ab)或藥物部分(D)，較佳與貝倫妥昔或抗原結合片段(Ab)的共價連接。作為非限制性實例，在包含MCC連接子的貝倫妥昔藥物共軛體中，貝倫妥昔或其抗原結合片段(Ab)可與連接子的羰基碳原子共價連接，如以上結構式中的波浪線所示，且藥物部分(D)可與順丁烯二醯亞胺部分共價連接。

【0174】 在一些具體實施例中，連接子為具有自裂解肽的順丁烯二醯亞胺基己醯基(MC)。具有自裂解肽的順丁烯二醯亞胺基己醯基連接子的非限制性實例描述如下。

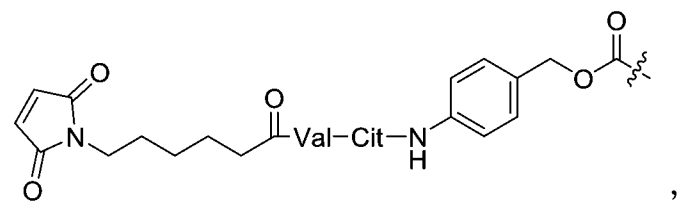
【0175】 在一些具體實施例中，連接子為具有自裂解肽的順丁烯二醯亞胺基二胺基丙醯基(mDPR)。具有自裂解肽的順丁烯二醯亞胺基二胺基丙醯基(mDPR)連接子的非限制性實例描述如下。

【0176】 在一些具體實施例中，本文所述的貝倫妥昔藥物共軛體 $Ab-(L-(D)_x)_y$ 中的任一個的連接子(L)衍生自交聯試劑，該交聯試劑選自由以下組成的群組：N-丁二醯亞胺基-3-(2-吡啶基二硫)丙酸酯(SPDP)、N-丁二醯亞胺基-4-(2-吡啶基二硫)戊酸酯(SPP)、N-丁二醯亞胺基-4-(2-吡啶基二硫)丁酸酯(SPDB)、N-丁二醯亞胺基-4-(2-吡啶基二硫)-2-硫-丁酸酯(磺基-SPDB)、N-丁二醯亞胺基碘乙酸酯(SIA)、N-丁二醯亞胺基(4-碘乙醯基)胺基苯甲酸酯(SIAB)、順丁烯二醯亞胺-PEG-NHS、順丁烯二醯亞胺基己醯基(MC)、具有自裂解肽的順丁烯二醯亞胺基己醯基(MC)、具有自裂解肽的順丁烯二醯亞胺基二胺基丙醯基(mDPR)、4-(N-順丁烯二醯亞胺基甲基)-環己烷-1-羧基(MCC)、N-丁二醯亞胺基-4-(順丁烯二醯亞胺基甲基)環己烷-1-羧酸酯(SMCC)、N-磺基丁二醯亞胺-4-(順丁烯二醯亞胺基甲基)環己烷-1-羧酸酯(磺基-SMCC)、及2,5-二氧吡咯啶-1-基-17-(2,5-二氧-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)-5,8,11,14-四氧-4,7,10,13-四氮雜十七-癸-1-酸酯(CX1-1)。在較佳的具體實施例中，連接子衍生自選自由以下所組成的群組的交聯試劑：N-丁二醯亞胺基-4-(2-吡啶基二硫)丁酸酯(SPDB)、順丁烯二醯亞胺基己醯基(MC)、具有自裂解肽的順丁烯二醯亞胺基己醯基(MC)、具有自裂解肽的順丁烯二醯亞胺基二胺基丙醯基(mDPR)、4-(N-順丁烯二醯亞胺基甲基)-環己烷-1-羧基(MCC)、N-丁二醯亞胺基-4-(順丁烯二醯亞胺基甲基)環己烷-1-羧酸酯(SMCC)。因此，在一些具體實施例中，連接子衍生自N-丁二醯亞胺基-4-(2-吡啶基二硫)丁酸酯(SPDB)。

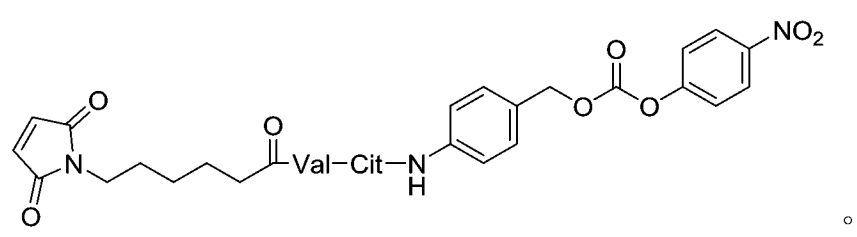
【0177】 在一些具體實施例中，連接子衍生自順丁烯二醯亞胺基己醯基(MC)。在一些具體實施例中，連接子衍生自具有自裂解肽的順丁烯二醯亞胺基己醯基(MC)。在一些具體實施例中，連接子衍生自具有自裂解肽的順丁烯二醯亞胺基二胺基丙醯基(mDPR)。在一些具體實施例中，連接子衍生自4-(N-順丁烯二醯亞胺基甲基)-環己烷-1-羧基(MCC)。在一些具體實施例中，連接子衍生自N-丁二醯亞胺基-4-(順丁烯二醯亞胺基甲基)環己烷-1-羧酸酯(SMCC)。

【0178】 如上文所述，連接子可為具有自裂解肽的順丁烯二醯亞胺基己醯基(MC)。在一些具體實施例中，具有自裂解肽的連接子選自由以下組成的群組：順丁烯二醯亞胺基己醯基-纈胺酸-瓜胺酸-對胺基苄氧羰基(MC-VC-PAB)、順丁烯二醯亞胺基己醯基-纈胺酸-丙胺酸-對胺基苄氧羰基(MC-VA-PAB)、順丁烯二醯亞胺基己醯基-離胺酸-苯丙胺酸-對胺基苄氧羰基(MC-KF-PAB)、順丁烯二醯亞胺基己醯基-纈胺酸-離胺酸-對胺基苄氧羰基(MC-VK-PAB)。具有自裂解肽的順丁烯二醯亞胺基己醯基(MC)連接子例如揭示在美國專利申請公開案US 2006/0074008、G.M. Dubowchik等人，Bioconjugate Chem. 2002，13，855-869、或S.O. Doronina等人，Nature Biotechnology，vol. 21，778-784(2003)中，這些文獻的內容在此藉由引用而併入。

【0179】 在一些具體實施例中，具有自裂解肽的連接子為順丁烯二醯亞胺基己醯基-纈胺酸-瓜胺酸-對胺基苄氧羰基(MC-VC-PAB)。MC-VC-PAB連接子具有以下結構：



其中波浪線表示連接子的羰基碳原子與貝倫妥昔藥物共軛體的另一部分的共價連接，特別是與貝倫妥昔或抗原結合片段(Ab)或藥物部分(D)的共價連接，較佳與藥物部分(D)的共價連接。作為非限制性實例，在包含MC-VC-PAB連接子的貝倫妥昔藥物共軛體中，貝倫妥昔或其抗原結合片段(Ab)可與順丁烯二醯亞胺部分共價連接，且藥物部分(D)可與連接子的羰基碳原子共價連接，如以上結構式中的波浪線所示。連接子及以下含有對胺基苄氧羰基的具有自裂解肽的順丁烯二醯亞胺基己醯基連接子可例如衍生自交聯試劑，其中對硝基苯氧基連接在波浪線所示的位置(請見例如，G.M. Dubowchik等人，Bioconjugate Chem. 2002，13，855-869，或S.O. Doronina et al.，Nature Biotechnology，vol. 21，778-784(2003))。在MC-VC-PAB連接子的情況下，交聯試劑因此可具有以下結構：

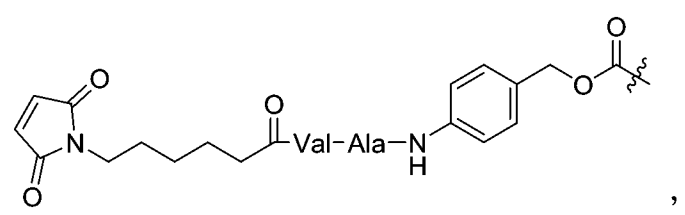


當例如這種交聯試劑與藥物部分反應時，對硝基苯氧基可被藥物部分代替。

【0180】不希望受特定理論的束縛下，在MC-VC-PAB連接子及以下所述含有對胺基苄氧羰基的具有自裂解肽的順丁烯二醯亞胺基己醯基連接子中，蛋白酶的裂解可發生在肽部分和對胺基苄氧羰基部分之間(請見例如，G.M. Dubowchik等人，Bioconjugate Chem. 2002，13，855-869，或S.O. Doronina等人，Nature Biotechnology，vol. 21，778-784(2003))。對胺基苄氧羰基部分接著可作為自消耗型基團。在這點上，「自消耗型基團」乙詞涉及能夠使兩個間隔開的

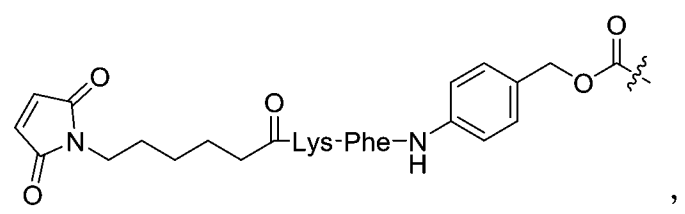
化學部分共價連接在一起形成正常穩定的三聯分子的雙官能化學部分。若其與第一部分的鍵被裂解，則其將自發地與第二化學部分分離。

【0181】 在一些具體實施例中，具有自裂解肽的连接子為順丁烯二醯亞胺基己醯基-纈胺酸-丙胺酸-對胺基苄氧羰基(MC-VA-PAB)。MC-VA-PAB連接子具有以下結構：



其中波浪線表示連接子的羰基碳原子與貝倫妥昔藥物共軛體的另一部分的共價連接，特別是與貝倫妥昔或抗原結合片段(Ab)或藥物部分(D)的共價連接，較佳與藥物部分(D)的共價連接。作為非限制性實例，在包含MC-VA-PAB連接子的貝倫妥昔藥物共軛體中，貝倫妥昔或其抗原結合片段(Ab)可與順丁烯二醯亞胺部分共價連接，且藥物部分(D)可與連接子的羰基碳原子共價連接，如以上結構式中的波浪線所示。

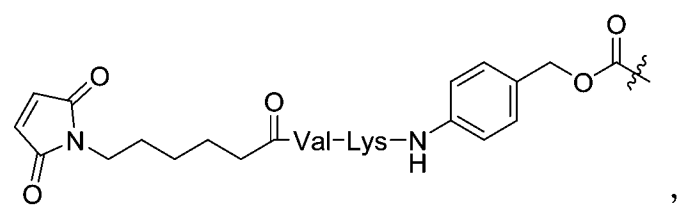
【0182】 在一些具體實施例中，具有自裂解肽的连接子為順丁烯二醯亞胺基己醯基-離胺酸-苯丙胺酸-對胺基苄氧羰基(MC-KF-PAB)。MC-KF-PAB連接子具有以下結構：



其中波浪線表示連接子的羰基碳原子與貝倫妥昔藥物共軛體的另一部分的共價連接，特別是與貝倫妥昔或抗原結合片段(Ab)或藥物部分(D)的共價連接，較佳與藥物部分(D)的共價連接。作為非限制性實例，在包含MC-KF-PAB

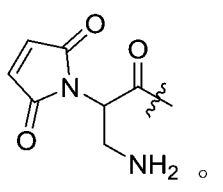
連接子的貝倫妥昔藥物共軛體中，貝倫妥昔或其抗原結合片段(Ab)可與順丁烯二醯亞胺部分共價連接，且藥物部分(D)可與連接子的羰基碳原子共價連接，如以上結構式中的波浪線所示。

【0183】 在一些具體實施例中，具有自裂解肽的連接子為順丁烯二醯亞胺基己醯基-纈胺酸-離胺酸-對胺基苄氧羰基(MC-VK-PAB)。MC-VK-PAB連接子具有以下結構：



其中波浪線表示連接子的羰基碳原子與貝倫妥昔藥物共軛體的另一部分的共價連接，特別是與貝倫妥昔或抗原結合片段(Ab)或藥物部分(D)的共價連接，較佳與藥物部分(D)的共價連接。作為非限制性實例，在包含MC-VK-PAB連接子的貝倫妥昔藥物共軛體中，貝倫妥昔或其抗原結合片段(Ab)可與順丁烯二醯亞胺部分共價連接，且藥物部分(D)可與連接子的羰基碳原子共價連接，如以上結構式中的波浪線所示。

【0184】 如上文所述，連接子可為具有自裂解肽的順丁烯二醯亞胺基二胺基丙醯基(mDPR)。這種連接子包含具有以下結構的順丁烯二醯亞胺基二胺基丙醯基部分(mDPR)：

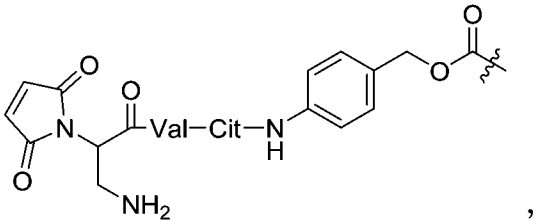


【0185】 在一些具體實施例中，具有自裂解肽的順丁烯二醯亞胺基二胺基丙醯基(mDPR)連接子選自由以下組成的群組：順丁烯二醯亞胺基二胺基丙醯基-

纈胺酸-瓜胺酸-對胺基苄氧羰基(mDPR-VC-PAB)、順丁烯二醯亞胺基二胺基丙
醯基-纈胺酸-丙胺酸-對胺基苄氧羰基(mDPR-VA-PAB)、順丁烯二醯亞胺基二胺
基丙醯基-離胺酸-苯丙胺酸-對胺基苄氧羰基(mDPR-KF-PAB)、順丁烯二醯亞胺
基二胺基丙醯基-纈胺酸-離胺酸-對胺基苄氧羰基(mDPR-VK-PAB)。具有自裂解
肽的順丁烯二醯亞胺基二胺基丙醯基(mDPR)連接子例如揭示在美國專利申請公
開案US 2013/0309256中，其全部內容在此藉由引用而併入。

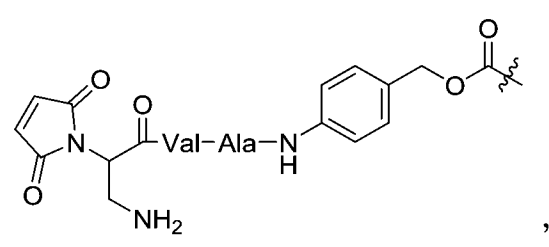
【0186】 在一些具體實施例中，具有自裂解肽的连接子為順丁烯二醯亞胺基二胺基丙醯基-纈胺酸-瓜胺酸-對胺基苄氧羰基(mDPR-VC-PAB)。

mDPR-VC-PAB连接子具有以下結構：



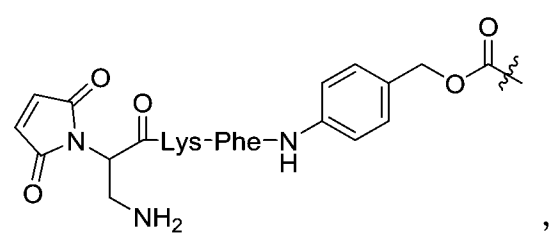
其中波浪線表示連接子的羰基碳原子與貝倫妥昔藥物共軛體的另一部分的共價連接，特別是與貝倫妥昔或抗原結合片段(Ab)或藥物部分(D)的共價連接，較佳與藥物部分(D)的共價連接。作為非限制性實例，在包含mDPR-VC-PAB連接子的貝倫妥昔藥物共軛體中，貝倫妥昔或其抗原結合片段(Ab)可與順丁烯二醯亞胺部分共價連接，且藥物部分(D)可與連接子的羰基碳原子共價連接，如以上結構式中的波浪線所示。不希望受特定理論的束縛下，在mDPR-VC-PAB連接子及以下所述含有對胺基苄氧羰基的具有自裂解肽的順丁烯二醯亞胺基二胺基丙醯基連接子中，蛋白酶的裂解可發生在肽部分和對胺基苄氧羰基部分之間。對胺基苄氧羰基部分接著可作為自消耗型基團。

【0187】 在一些具體實施例中，具有自裂解肽的连接子為順丁烯二醯亞胺基二胺基丙醯基-纈胺酸-丙胺酸-對胺基苄氧羰基 (mDPR-VA-PAB) 。
mDPR-VA-PAB连接子具有以下結構：



其中波浪線表示连接子的羰基碳原子與貝倫妥昔藥物共軛體的另一部分的共價連接，特別是與貝倫妥昔或抗原結合片段(Ab)或藥物部分(D)的共價連接，較佳與藥物部分(D)的共價連接。作為非限制性實例，在包含mDPR-VA-PAB连接子的貝倫妥昔藥物共軛體中，貝倫妥昔或其抗原結合片段(Ab)可與順丁烯二醯亞胺部分共價連接，且藥物部分(D)可與连接子的羰基碳原子共價連接，如以上結構式中的波浪線所示。

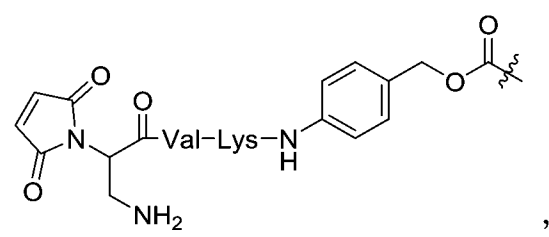
【0188】 在一些具體實施例中，具有自裂解肽的连接子為順丁烯二醯亞胺基二胺基丙醯基-離胺酸-苯丙胺酸-對胺基苄氧羰基 (mDPR-KF-PAB) 。
mDPR-KF-PAB连接子具有以下結構：



其中波浪線表示连接子的羰基碳原子與貝倫妥昔藥物共軛體的另一部分的共價連接，特別是與貝倫妥昔或抗原結合片段(Ab)或藥物部分(D)的共價連接，較佳與藥物部分(D)的共價連接。作為非限制性實例，在包含mDPR-KF-PAB连接子的貝倫妥昔藥物共軛體中，貝倫妥昔或其抗原結合片段(Ab)可與順丁烯二

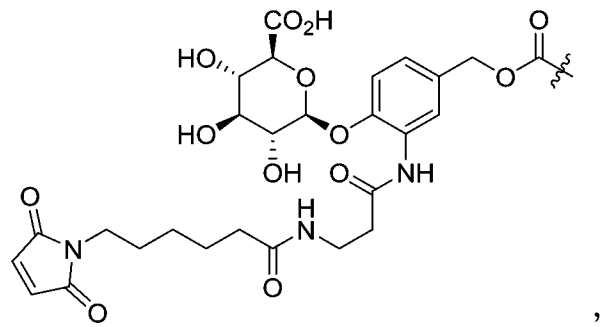
醯亞胺部分共價連接，且藥物部分(D)可與連接子的羰基碳原子共價連接，如以上結構式中的波浪線所示。

【0189】 在一些具體實施例中，具有自裂解肽的連接子為順丁烯二醯亞胺基二胺基丙醯基-纈胺酸-離胺酸-對胺基苄氧羰基(mDPR-VK-PAB)。
mDPR-VK-PAB連接子具有以下結構：



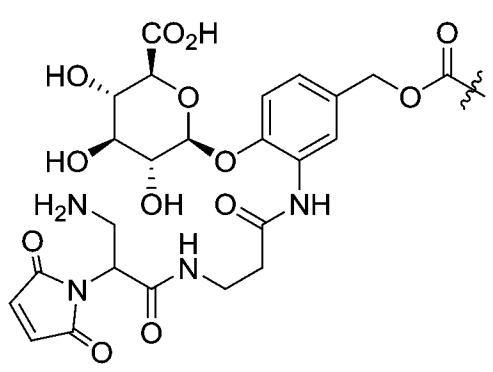
【0191】 在一些具體實施例中，包含葡萄糖醛酸修飾物的該連接子可為順丁烯二醯亞胺基己醯基-葡萄糖醛酸苷(MC-G)或順丁烯二醯亞胺基二胺基丙醯基-葡萄糖醛酸苷(mDPR-G)。

【0192】 該順丁烯二醯亞胺基己醯基-葡萄糖醛酸苷(MC-G)連接子具有以下結構：



其中波浪線表示連接子的羰基碳原子與貝倫妥昔藥物共軛體的另一部分的共價連接，特別是與貝倫妥昔或抗原結合片段(Ab)或藥物部分(D)的共價連接，較佳與藥物部分(D)的共價連接。作為非限制性實例，在包含MC-G連接子的貝倫妥昔藥物共軛體中，貝倫妥昔或其抗原結合片段(Ab)可與順丁烯二醯亞胺部分共價連接，且藥物部分(D)可與連接子的羰基碳原子共價連接，如以上結構式中的波浪線所示。

【0193】 該順丁烯二醯亞胺基二胺基丙醯基-葡萄糖醛酸苷(mDPR-G)連接子具有以下結構：

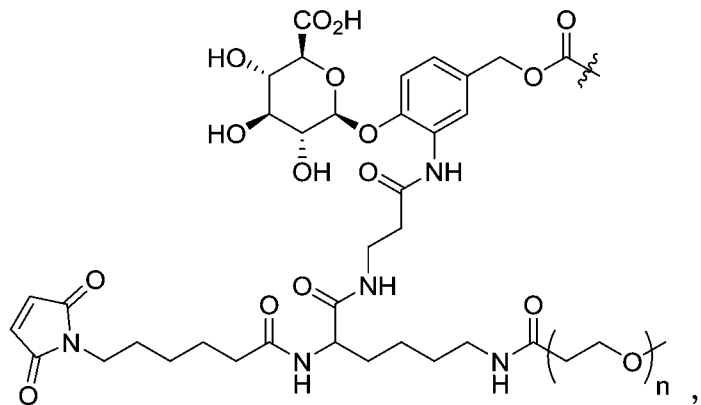


其中波浪線表示連接子的羰基碳原子與貝倫妥昔藥物共軛體的另一部分的共價連接，特別是與貝倫妥昔或抗原結合片段(Ab)或藥物部分(D)的共價連接，較佳與藥物部分(D)的共價連接。作為非限制性實例，在包含mDPR-G連接子的貝倫妥昔藥物共軛體中，貝倫妥昔或其抗原結合片段(Ab)可與順丁烯二醯亞胺部分共價連接，且藥物部分(D)可與連接子的羰基碳原子共價連接，如以上結構式中的波浪線所示。

【0194】 在一些具體實施例中，包含葡萄糖醛酸修飾物的該連接子進一步包含聚乙二醇修飾物。對於具有葡萄糖醛酸修飾物及聚乙二醇修飾物的連接子，請見例如R.P. Lyon等人，Nature Biotechnology，vol. 33，733-736(2015)及國際專利申請公開案WO 2015/057699，這些文獻的全部內容在此藉由引用而併入。

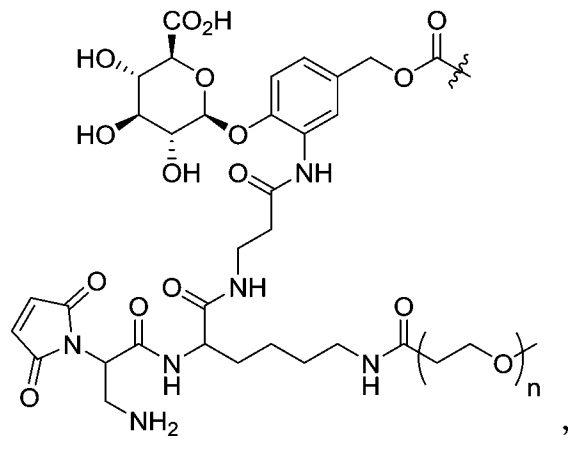
【0195】 在一些具體實施例中，包含葡萄糖醛酸修飾物並進一步包含聚乙二醇修飾物的該連接子可為順丁烯二醯亞胺基己醯基-葡萄糖醛酸苷-聚乙二醇(MC-G-PEG)、順丁烯二醯亞胺基二胺基丙醯基-葡萄糖醛酸苷-聚乙二醇(mDPR-G-PEG)、或順丁烯二醯亞胺丙醯基-葡萄糖醛酸苷-聚乙二醇(MP-G-PEG)。

【0196】 該順丁烯二醯亞胺基己醯基-葡萄糖醛酸苷-聚乙二醇(MC-G-PEG)連接子具有以下結構：



其中n為6到72、8到72、12到72、10到72、12到36或38、6到24、或8到24的整數；且其中波浪線表示連接子的羰基碳原子與貝倫妥昔藥物共軛體的另一部分的共價連接，特別是與貝倫妥昔或抗原結合片段(Ab)或藥物部分(D)的共價連接，較佳與藥物部分(D)的共價連接。作為非限制性實例，在包含MC-G-PEG連接子的貝倫妥昔藥物共軛體中，貝倫妥昔或其抗原結合片段(Ab)可與順丁烯二醯亞胺部分共價連接，且藥物部分(D)可與連接子的羰基碳原子共價連接，如以上結構式中的波浪線所示。

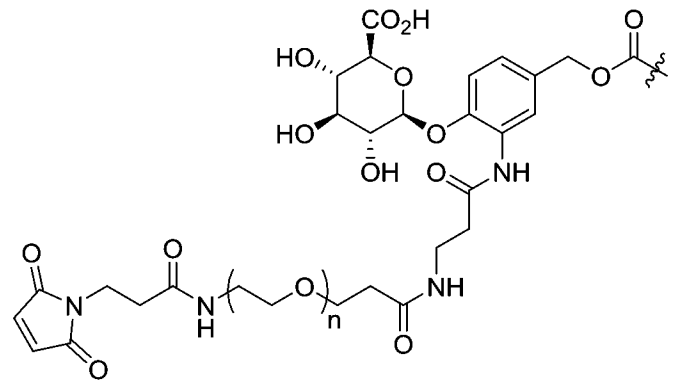
【0197】 該順丁烯二醯亞胺基二胺基丙醯基-葡萄糖醛酸苷-聚乙二醇(mDPR-G-PEG)連接子具有以下結構：



其中n為6到72、8到72、10到72、12到72、12到36或38、6到24、或8到24的整數；且其中波浪線表示連接子的羰基碳原子與貝倫妥昔藥物共軛體的另一部分的共價連接，特別是與貝倫妥昔或抗原結合片段(Ab)或藥物部分(D)的共價連接，較佳與藥物部分(D)的共價連接。作為非限制性實例，在包含mDPR-G-PEG連接子的貝倫妥昔藥物共軛體中，貝倫妥昔或其抗原結合片段(Ab)可與順丁烯二醯亞胺部分共價連接，且藥物部分(D)可與連接子的羰基碳原子共價連接，如以上結構式中的波浪線所示。

【0198】 該順丁烯二醯亞胺丙醯基-葡萄糖醛酸苷-聚乙二醇(MP-G-PEG)

連接子具有以下結構：

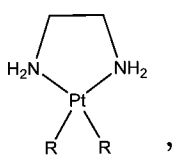


其中n為6到72、8到72、10到72、12到72、12到36或38、6到24、或8到24的整數；且其中波浪線表示連接子的羰基碳原子與貝倫妥昔藥物共軛體的另一部分的共價連接，特別是與貝倫妥昔或抗原結合片段(Ab)或藥物部分(D)的共價連接，較佳與藥物部分(D)的共價連接。作為非限制性實例，在包含MP-G-PEG連接子的貝倫妥昔藥物共軛體中，貝倫妥昔或其抗原結合片段(Ab)可與順丁烯二醯亞胺部分共價連接，且藥物部分(D)可與連接子的羰基碳原子共價連接，如以上結構式中的波浪線所示。

【0199】 不希望受特定理論的束縛下，可藉由葡萄糖醛酸苷酶裂解葡萄糖醛酸部分來引發藥物從包含該MC-G、mDPR-G、MC-G-PEG、mDPR-G-PEG或MP-G-PEG連接子的貝倫妥昔藥物共軛體中的釋放(請見例如，S.C. Jeffrey等人，Bioconjugate Chem. 2006，17，831-840)。

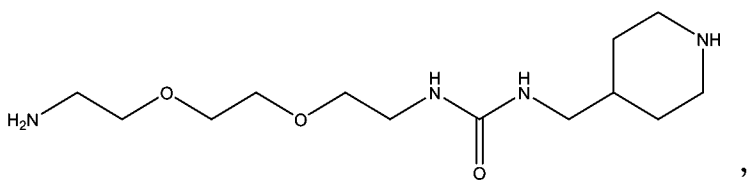
【0200】 在一些具體實施例中，連接子為鉑複合物連接子。對於鉑複合物類的連接子，請見例如N.J. Sijbrandi等人，Cancer Res. 2016，77(2)，257-267、D. Walboer等人，ChemMedChem 2015，10，797-803、或美國專利申請案US 2014/377174，這些文獻的全部內容在此藉由引用而併入。

【0201】 在一些具體實施例中，該鉑複合物連接子為具有以下結構的乙二胺鉑(II)連接子：

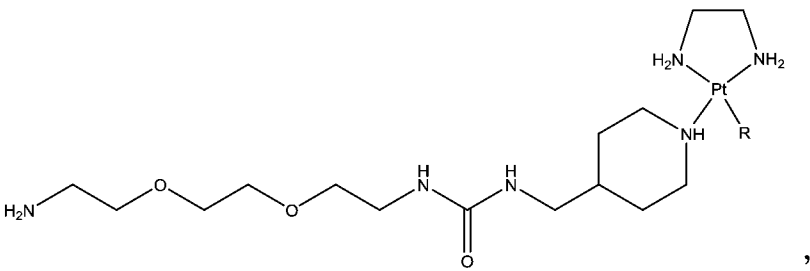


其中R獨立地代表鹵素原子，例如Cl、Br、F或I，較佳為Cl。作為非限制性實例，在包含鉑複合物連接子的貝倫妥昔藥物共軛體中，一個貝倫妥昔或其抗原結合片段(Ab)及一個藥物部分(D)可與鉑複合物結合。

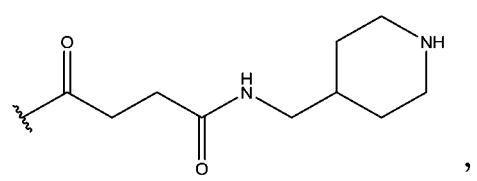
【0202】 在一些具體實施例中，該鉑複合物連接子，特別是乙二胺鉑(II)連接子，以及貝倫妥昔藥物共軛體的另一部分，特別是貝倫妥昔或抗原結合片段(Ab)或藥物部分(D)，較佳為藥物部分(D)，可被間隔子隔開。合適的間隔子在長度、組成或可裂解性上可具有不同的特性。在一些具體實施例中，該間隔子為具有下式的1-(2-(2-(2-胺基乙氧基)乙氧基)乙基)-3-(哌啶-4-基甲基)脲：



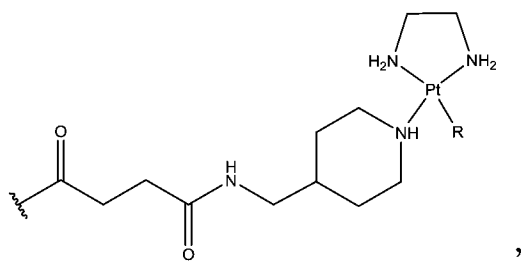
其中間隔子的NH₂基團與貝倫妥昔藥物共軛體的另一部分結合，特別是與貝倫妥昔或抗原結合片段(Ab)或與藥物部分(D)結合，較佳與藥物部分(D)結合，且哌啶基的氮原子與該鉑複合物連接子結合。以下結構示出使用這種間隔子的較佳具體實施例：



其中NH₂基團與貝倫妥昔藥物共軛體的另一部分結合，特別是與貝倫妥昔或抗原結合片段(Ab)或與藥物部分(D)結合，較佳與藥物部分(D)結合，且R表示與貝倫妥昔藥物共軛體的另一部分的連接，特別是與貝倫妥昔或抗原結合片段(Ab)或藥物部分(D)的連接，較佳是與貝倫妥昔或抗原結合片段(Ab)的連接。較佳地，NH₂基團與藥物部分(D)共價連接，且該鉑複合物連接子與貝倫妥昔或抗原結合片段(Ab)結合，如R所示。在一些具體實施例中，間隔子為具有以下結構的4-氧-4-((哌啶-4-基甲基)胺基)丁醯基：



其中波浪線表示間隔子的羰基碳原子與貝倫妥昔藥物共軛體的另一部分的共價連接，特別是與貝倫妥昔或抗原結合片段(Ab)或與藥物部分(D)的共價連接，較佳與藥物部分(D)的共價連接，且其中哌啶基的氮原子與該鉑複合物連接子結合。以下結構示出使用這種間隔子的較佳具體實施例：

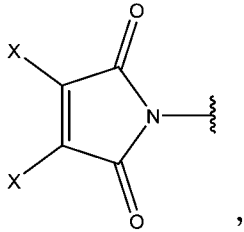


其中波浪線表示羰基碳原子與貝倫妥昔藥物共軛體的另一部分的共價連接，特別是與貝倫妥昔或抗原結合片段(Ab)或與藥物部分(D)的共價連接，較佳與藥物部分(D)的共價連接，且R表示與貝倫妥昔藥物共軛體的另一部分的連接，特別是與貝倫妥昔或抗原結合片段(Ab)或藥物部分(D)的連接，較佳是與貝倫妥昔或抗原結合片段(Ab)的連接。較佳地，羰基碳與藥物部分(D)共價連接，

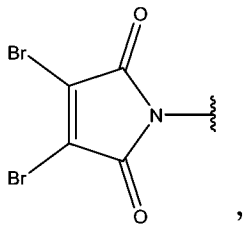
如波浪線所示，且鉑複合物連接子與貝倫妥昔或抗原結合片段(Ab)結合，如R所示。

【0203】 在一些具體實施例中，連接子為二硫化物鍵代替連接子。本文揭示通篇使用的「二硫化物鍵代替連接子」乙詞表示能夠代替由貝倫妥昔(Ab)的兩個半胱胺酸產生的二硫化物鍵的連接子。因此，在這種二硫化物鍵代替連接子與藥物部分(D)結合的情況下，藥物部分(D)被引入到貝倫妥昔(Ab)的兩個半胱胺酸之間的空間中。對於二硫化物鍵代替連接子，請見例如M.E.B. Smith等人，J. Am. Chem. Soc. 2010，132，1960-1965及國際專利申請案WO 2013/173393，這些文獻的全部內容在此藉由引用而併入。

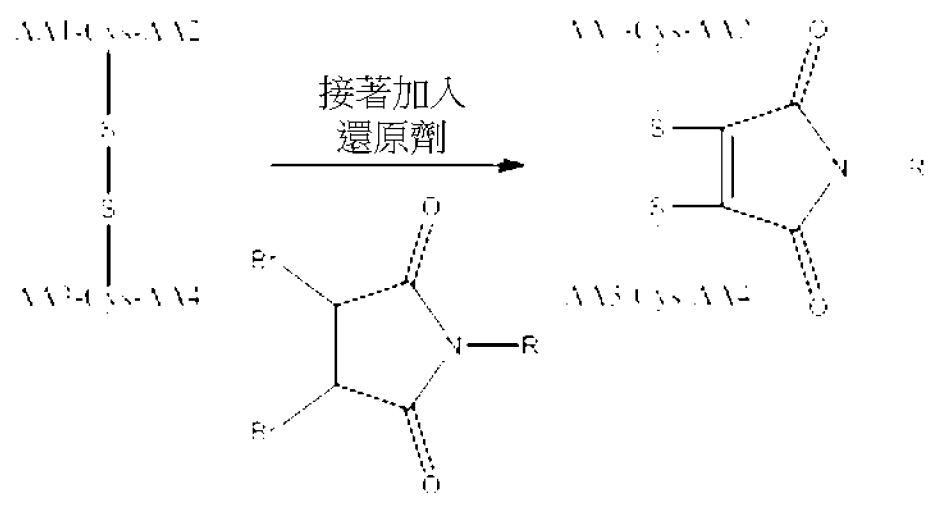
【0204】 在一些具體實施例中，該二硫化物鍵代替連接子可為具有以下結構的順丁烯二醯亞胺連接子：



其中X代表鹵素原子，例如Cl、Br、F或I，較佳為Cl或Br，更佳為Br，且其中波浪線表示氮原子與藥物部分(D)的共價連接。對於這種連接子，請見M.E.B. Smith等人，J. Am. Chem. Soc. 2010，132，1960-1965。一個較佳的具體實施例為具有以下結構的二溴順丁烯二醯亞胺：

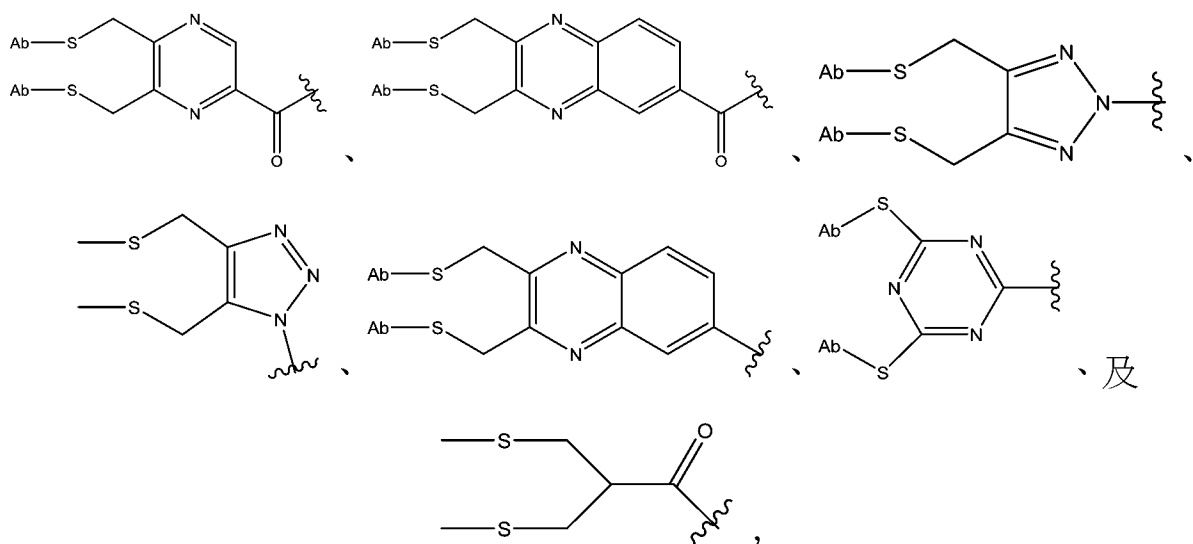


其中波浪線表示藥物部分(D)與順丁烯二醯亞胺部分的共價連接。一個或兩個溴原子可與硫醇基團反應，該硫醇基團藉由從貝倫妥昔或抗原結合片段(Ab)的二硫化物鍵還原而獲得，例如，如以下反應方案所示：

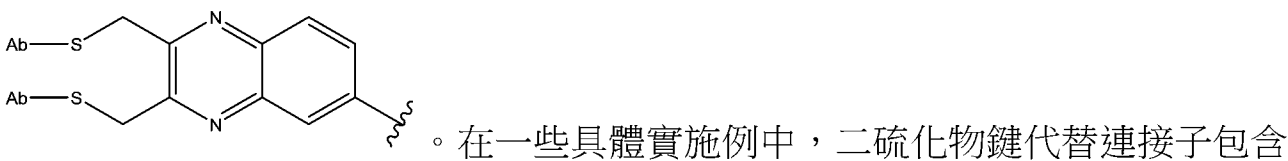
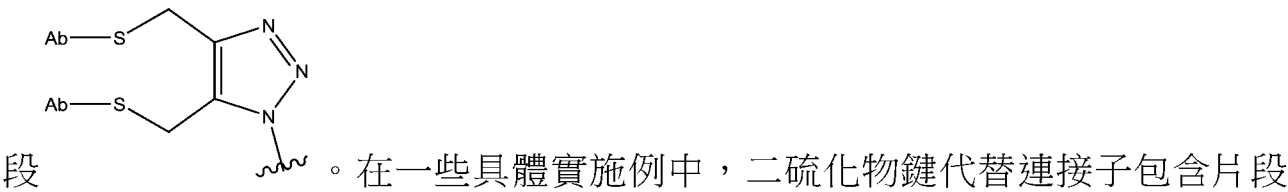
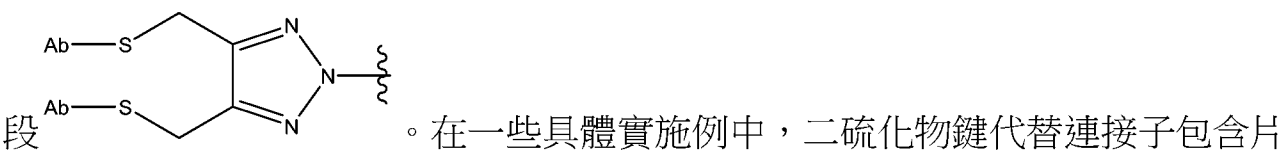
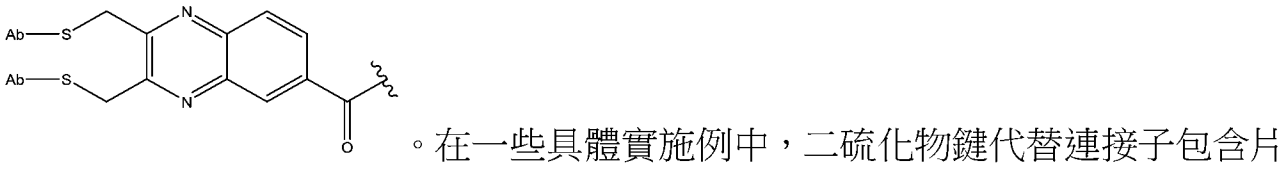
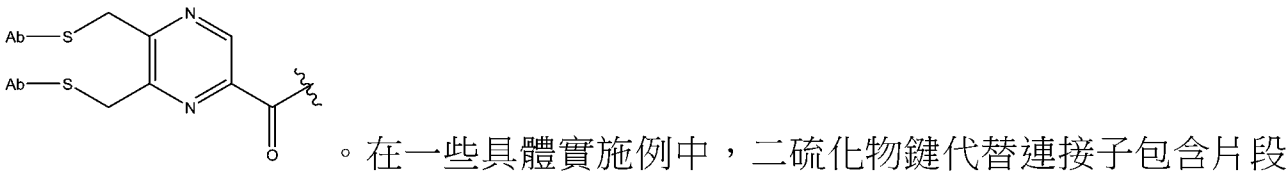


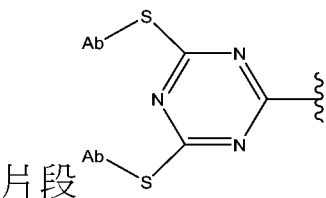
其中AA1、AA2、AA3及AA4包含貝倫妥昔或抗原結合片段(Ab)的肽鏈。AA1、AA2、AA3及AA4可為單個肽鏈的一部分，或可不為單個肽鏈的一部分。在一個較佳的具體實施例中，藥物部分與順丁烯二醯亞胺部分共價連接，如R所示。在與二溴順丁烯二醯亞胺反應之前，使用還原劑還原貝倫妥昔或抗原結合片段(Ab)的二硫化物鍵以獲得游離的硫醇基團。合適的還原劑包含例如二硫蘇糖醇(DTT)、二硫亞磺酸鈉、硫代硫酸鈉、亞硫酸鈉、或參(2-羧乙基)膦(TCEP)，較佳參(2-羧乙基)膦(TCEP)。在還原步驟之後，使二溴順丁烯二醯亞胺添加到貝倫妥昔(Ab)中，且該二溴順丁烯二醯亞胺與游離硫醇基團反應以在該一或多個肽鏈的半胱氨酸的兩個硫醇基團之間形成橋鍵。

【0205】 在一些具體實施例中，二硫化物鍵代替連接子包含選自由以下所組成的群組的片段：

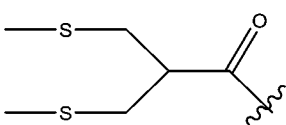


其中**Ab**表示與貝倫妥昔或抗原結合片段的肽鏈的連接，且波浪線表示與貝倫妥昔藥物共軛體的藥物部分(**D**)的連接。對於這種連接子，請見WO 2013/173393。因此，在一些具體實施例中，二硫化物鏈代替連接子包含片段

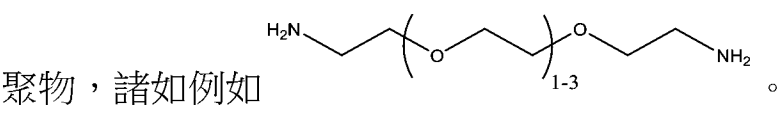




。在一些具體實施例中，二硫化物鍵代替連接子包含片段



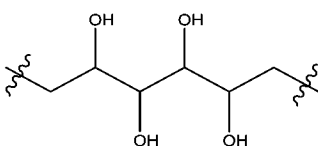
中，藥物可藉由任選的間隔子與片段連接。這種間隔子可例如衍生自乙二醇寡



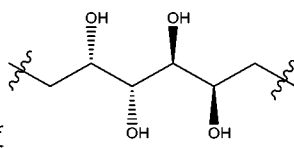
【0206】 在一些具體實施例中，連接子為醣連接子(glycolinker)。本文揭示通篇使用的「醣連接子」乙詞大體上表示包含單醣或寡醣片段的連接子。醣連接子例如描述在F.S. Ekholm等人，ChemMedChem 2016，11，2501-2505、美國專利申請案US 2016/0820797、美國專利申請案US 2016/0257764、國際專利申請案WO 2016/053107、美國專利申請案US 2016/0106860、及國際專利申請案WO 2016/001485中，這些文獻的全部內容在此藉由引用而併入。

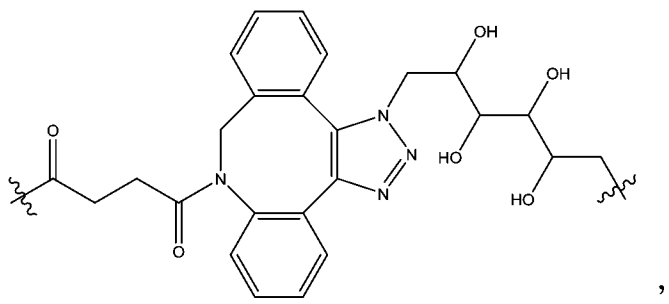
【0207】 因此，本文所用的醣連接子可包含片段-G-，其中G為單醣，或包含2到20、較佳2到12、更佳2到10、甚至更佳2到8、且最佳2到6個醣部分的直鏈或支鏈寡醣。片段-G-中可能存在的糖部分為本領域技術人員已知的，且包括例如葡萄糖(Glc)、半乳糖(Gal)、甘露糖(Man)、海藻糖(Fuc)、N-乙醯葡萄糖胺糖(GlcNAc)、N-乙醯半乳糖胺糖(GalNAc)、N-乙醯神經胺酸(NeuNAc)或唾液酸、木糖(Xyl)。

【0208】 在一些具體實施例中，醣連接子可包含片段

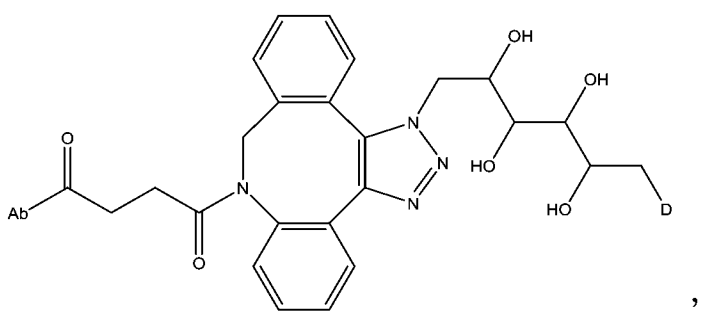


倫妥昔藥物共軛體的藥物部分(D)的连接。例如，在一些具體實施例中，可使用

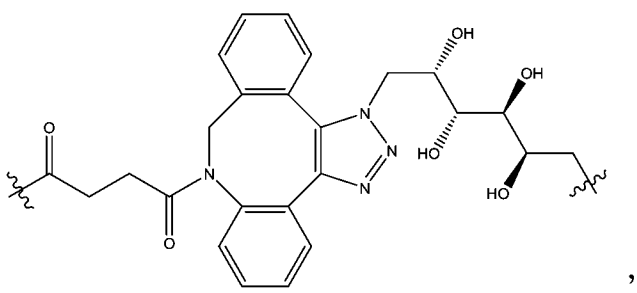
來自半乳糖的醣連接子，其包含片段。在一些具體實施例中，
片段可藉由任選的間隔子與貝倫妥昔或抗原結合片段(Ab)及/或與藥物部分(D)
連接。例如，包含單醣片段及間隔子的醣連接子可具有以下結構：



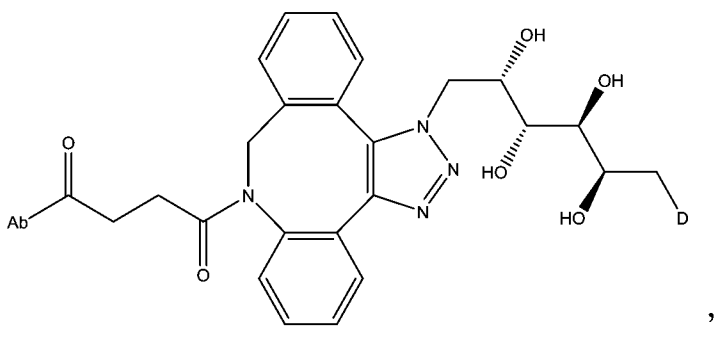
其中波浪線表示與貝倫妥昔或抗原結合片段(Ab)以及與貝倫妥昔藥物共軛體的藥物部分(D)的连接。例如，貝倫妥昔或抗原結合片段(Ab)可在羰基碳原子處與醣連接子連接，且藥物部分(D)可與單醣片段連接，從而產生以下結構：



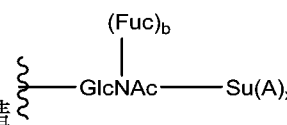
其中Ab為貝倫妥昔或抗原結合片段，且D為藥物部分。在一些具體實施例中，在單醣片段為半乳糖的情況下，醣連接子可具有以下結構：



其中波浪線表示與貝倫妥昔或抗原結合片段(Ab)以及與貝倫妥昔藥物共軛體的藥物部分(D)的連接。例如，貝倫妥昔或抗原結合片段(Ab)可在羰基碳原子處與醣連接子連接，且藥物部分(D)可與單醣片段連接，從而產生以下結構：

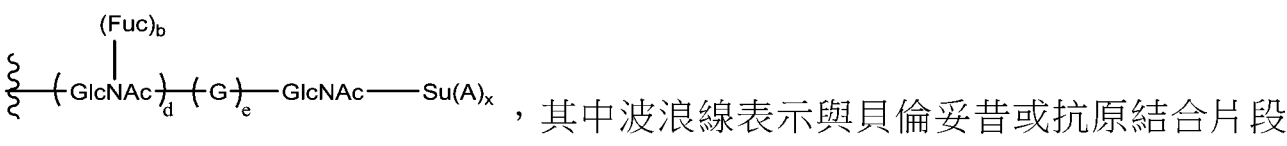


其中Ab為貝倫妥昔或抗原結合片段(Ab)，且D為藥物部分。這些具體實施例的醣連接子例如描述在F.S. Ekholm等人，ChemMedChem 2016，11，2501-2505中。

【0209】 在一些具體實施例中，醣連接子具有結構 ，其中波浪線表示與貝倫妥昔或抗原結合片段(Ab)的連接，其中Su(A)_x為包含x官能基A的糖衍生物Su，其中A獨立地選自由以下組成的群組：硫醇基或其前驅物、鹵素、磺醯氧基、鹵化乙醯胺基、硫醇基乙醯胺基、及磺化羥基乙醯胺基，其中x為1、2、3或4，且其中b為0或1。糖衍生物Su(A)_x衍生自糖或糖衍生物Su，例如胺基糖或其他衍生的糖。糖及糖衍生物的實例包括半乳糖(Gal)、甘露糖(Man)、葡萄糖(Glc)、N-乙醯神經胺酸(NeuNAc)或唾液酸、及海藻糖(Fuc)。糖衍生物Su(A)_x較佳衍生自半乳糖(Gal)、甘露糖(Man)、N-乙醯葡萄糖胺糖(GlcNAc)、海藻糖(Fuc)及N-乙醯神經胺酸(唾液酸Sia或NeuNAc)，較佳選自由GlcNAc、Glc、Gal及GalNAc組成的群組。更佳地Su(A)_x衍生自Gal或GalNAc，且最佳地Su(A)_x衍生自GalNAc。貝倫妥昔藥物共軛體的藥物部分(D)可藉由與官能

基A反應的方式與醣連接子連接。藥物部分可經由任選的間隔子(諸如例如包含順丁烯二醯亞胺部分的間隔子)與糖連接子連接。這些具體實施例的醣連接子例如描述在美國專利申請案US 2016/0280797中。

【0210】 在 一 些 具 體 實 施 例 中 ， 醣 連 接 子 具 有 結 構

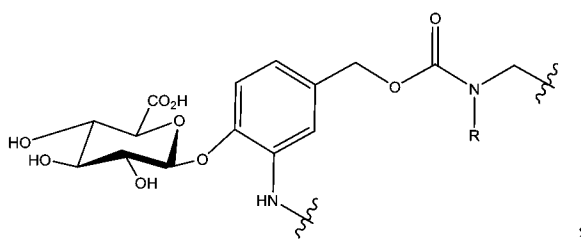


(Ab)的連接，其中Su(A)_x為包含x官能基A的糖衍生物Su，其中A獨立地選自由以下組成的群組：硫醇基或其前驅物、鹵素、磺醯氧基、鹵化乙醯胺基、硫醇基乙醯胺基、及磺化羥基乙醯胺基，其中x為1、2、3或4，其中b為0或1，其中d為0或1，其中e為0或1，且其中G為單醣或包含2到20個糖部分的直鏈或支鏈寡醣。糖衍生物Su(A)_x衍生自糖或糖衍生物Su，例如胺基糖或其他衍生的糖。糖及糖衍生物的實例包括半乳糖(Gal)、甘露糖(Man)、葡萄糖(Glc)、N-乙醯神經胺酸(NeuNAc)或唾液酸、及海藻糖(Fuc)。糖衍生物Su(A)_x較佳衍生自半乳糖(Gal)、甘露糖(Man)、N-乙醯葡萄糖胺糖(GlcNAc)、海藻糖(Fuc)及N-乙醯神經胺酸(唾液酸Sia或NeuNAc)，較佳選自由GlcNAc、Glc、Gal及GalNAc組成的群組。更佳地Su(A)_x衍生自Gal或GalNAc，且最佳地Su(A)_x衍生自GalNAc。G表示單醣，或包含2到20、較佳2到12、更佳2到10、甚至更佳2到8、且最佳2到6個醣部分的直鏈或支鏈寡醣。片段G中可能存在的糖部分為本領域技術人員已知的，且包括例如葡萄糖(Glc)、半乳糖(Gal)、甘露糖(Man)、海藻糖(Fuc)、N-乙醯葡萄糖胺糖(GlcNAc)、N-乙醯半乳胺糖(GalNAc)、N-乙醯神經胺酸(NeuNAc)或唾液酸、木糖(Xyl)。貝倫妥昔藥物共軛體的藥物部分(D)可藉由與官能基A反應的方式與醣連接子連接。藥物部分(D)可經由任選的間隔子(諸如例如包含順丁烯二醯亞胺部

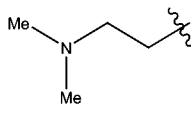
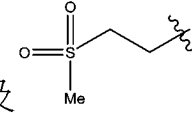
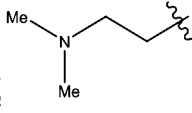
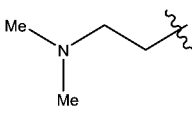
分的間隔子)與糖連接子連接。這些具體實施例的糖連接子例如描述在美國專利申請案US 2016/0280797中。

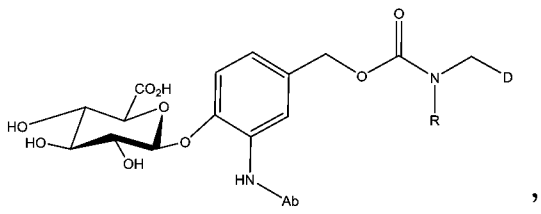
【0211】 在一些具體實施例中，連接子為亞甲基烷氧基胺基甲酸酯連接子。對於亞甲基烷氧基胺基甲酸酯連接子，請見例如R.V. Kolakowski等人，Angew. Chem. Int. Ed. 2016，55，7948-7951或國際專利申請案WO 2015/095755，這些文獻的全部內容在此藉由引用而併入。

【0212】 在一些具體實施例中，該亞甲基烷氧基胺基甲酸酯連接子具有以下結構：

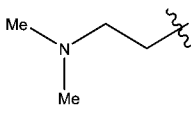
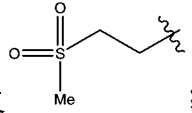
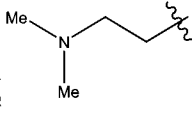
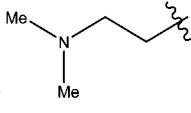


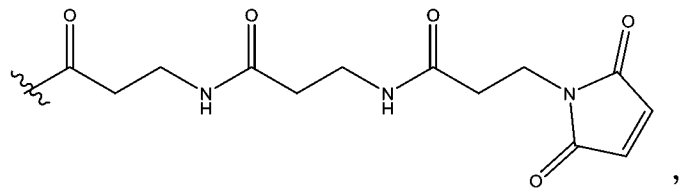
其中波浪線表示與貝倫妥昔或抗原結合片段(Ab)以及與貝倫妥昔藥物共軛

體的藥物部分(D)的連接，且R基團選自由C₁-C₄烷基、及組成的群組。較佳地，R為C₁-C₄烷基，諸如乙基或。更佳地，R為。在一些具體實施例中，貝倫妥昔或抗原結合片段(Ab)及藥物部分(D)與亞甲基烷氧基胺基甲酸酯連接子連接，如以下結構所示：

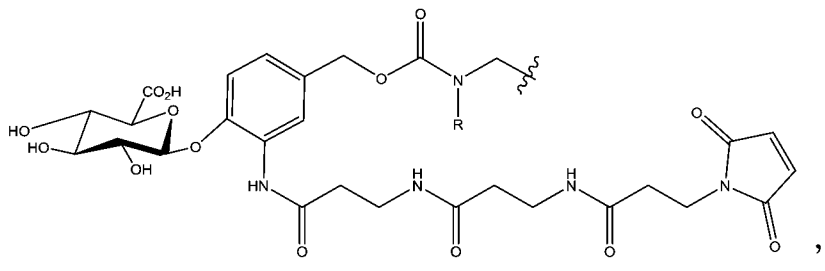


其中Ab為貝倫妥昔或抗原結合片段，且D為藥物部分。在這些具體實施例

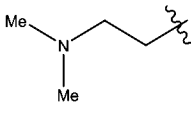
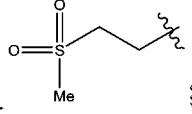
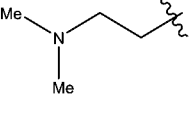
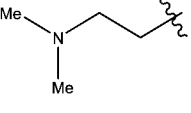
中，R基團選自由C₁-C₄烷基、及組成的群組。較佳地，R為C₁-C₄烷基，諸如乙基或。更佳地，R為。在一些具體實施例中，貝倫妥昔或抗原結合片段(Ab)及/或藥物部分(D)藉由任選的間隔子與亞甲基烷氧基胺基甲酸酯連接子連接。這種間隔子可例如具有以下結構：



其中波浪線表示與亞甲基烷氧基胺基甲酸酯連接子的連接。這導致以下結構：



其中波浪線表示連接子與貝倫妥昔藥物共軛體的另一部分的共價連接，特別是與貝倫妥昔或抗原結合片段(Ab)或藥物部分(D)的共價連接，較佳與藥物部分(D)的共價連接。作為非限制性實例，在包含這種亞甲基烷氧基胺基甲酸酯連接子的貝倫妥昔藥物共軛體中，貝倫妥昔或其抗原結合片段(Ab)可與順丁烯二醯亞胺部分連接，且藥物部分(D)可與由波浪線指示的位置連接。在這些具體實施

例中，R基團選自由C₁-C₄烷基、及組成的群組。較佳地，R為C₁-C₄烷基，諸如乙基或。更佳地，R為。

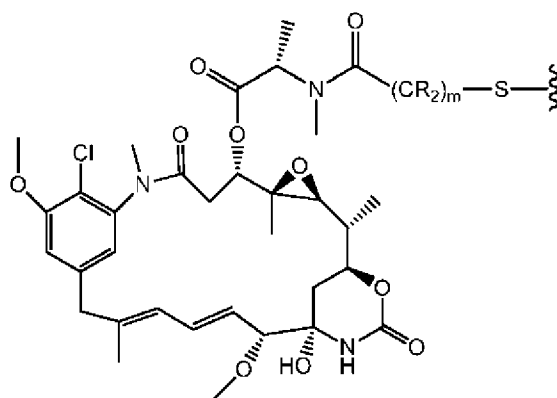
【0213】 在一些具體實施例中，連接子(L)選自以下：-(丁二醯亞胺-3-基-N)-CH₂CH₂-C(=O)-GGFG-NH-CH₂CH₂CH₂-C(=O)-、-(丁二醯亞胺-3-基-N)-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-C(=O)-GGFG-NH-CH₂CH₂CH₂-C(=O)-、-(丁二醯亞胺-3-基-N)-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-C(=O)-GGFG-NH-CH₂-O-CH₂-C(=O)-、-(丁二醯亞胺-3-基-N)-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-C(=O)-GGFG-NH-CH₂CH₂-O-CH₂-C(=O)-、-(丁二醯亞胺-3-基-N)-CH₂CH₂-C(=O)-NH-CH₂CH₂O-CH₂CH₂O-CH₂CH₂-C(=O)-GGFG-NH-CH₂CH₂CH₂-C(=O)-、及-(丁二醯亞胺-3-基-N)-CH₂CH₂-C(=O)-NH-CH₂CH₂O-CH₂CH₂O-CH₂CH₂O-CH₂CH₂O-CH₂CH₂-C(=O)-GGFG-NH-CH₂CH₂CH₂-C(=O)-，較佳選自-(丁二醯亞胺-3-基-N)-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-C(=O)-GGFG-NH-CH₂-O-CH₂-C(=O)-。

「D」：藥物部分

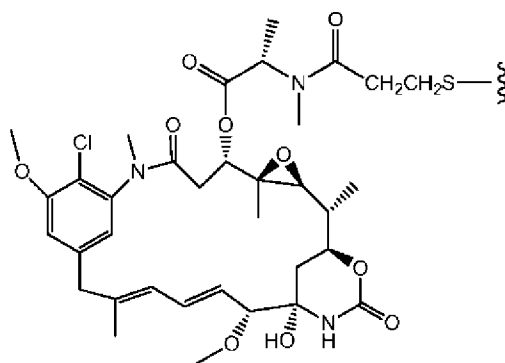
【0214】 本文揭示提供包含藥物部分的抗體藥物共軛體。本文所用的「藥物部分」或「有效負載」，兩用語可互換使用，涉及與抗體或抗原結合片段共軛的化學或生化部分。在這點上，再次提及本文所述的「ADC化學式」：Ab-(L-(D)_x)_y。可使用本文所述的或本領域已知的任何方法使貝倫妥昔與若干相同或不同的藥物部分共軛。在一些較佳的具體實施例中，藥物部分為抗癌劑。因此，該藥物可選自由以下組成的群組：喜樹鹼、拓撲異構酶抑制劑、類美登素(maytansinoid)、卡奇黴素(calicheamycin)、倍癌黴素(duocarmycin)、微管溶素(tubulysin)、鵝膏毒素(amatotoxin)、尾海兔素(dolastatin)及阿瑞他汀(auristatin)，諸如單甲基阿瑞他汀E(MMAE)、吡咯并苯并二氮呋二聚體、吲哚啉并-苯并二氮呋二聚體、放射性同位素、治療性蛋白及肽(或其片段)、核酸、PROTAC、激酶抑

其中波浪線表示類美登素的硫原子與抗體藥物共軛體的連接子的共價連接。R在每次出現時獨立地為H或C₁-C₆烷基。使醯胺基與硫原子連接的伸烷基鏈可為甲基、乙基或丙基，也就是m為1、2或3。(美國專利號633,410、美國專利號5,208,020、Chari等人(1992) Cancer Res. 52:127-131、Lui等人(1996) Proc. Natl. Acad. Sci. 93 :8618-8623)。

【0218】 本文揭示的抗體藥物共軛體考慮了類美登素藥物部分的所有立體異構物，也就是類美登素的手性碳上的R及S構型的任何組合。在一些具體實施例中，類美登素藥物部分具有以下立體化學：

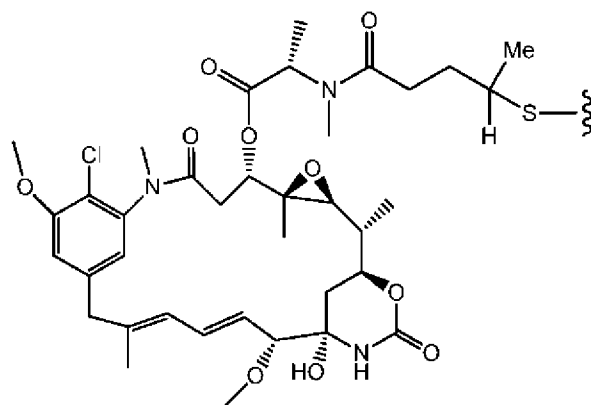


【0219】 在一些具體實施例中，類美登素藥物部分為N^{2'}-去乙酰基-N^{2'}-(3-硫醇基-1-氧丙基)-美登素(maytansine)(也稱作DM1)。DM1由以下結構表示：



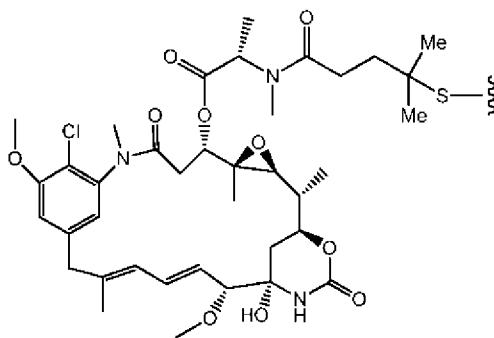
DM1 。

【0220】 在一些具體實施例中，類美登素藥物部分為 $N^{2'}$ -去乙醯基- $N^{2'}$ -(4-硫醇基-1-氧戊基)-美登素(也稱作DM3)。DM3由以下結構表示：



DM3。

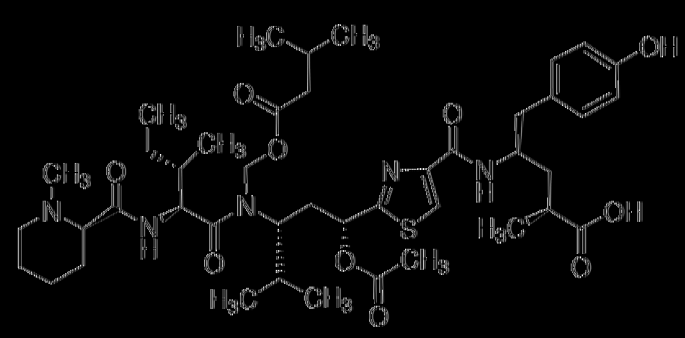
【0221】 在一些具體實施例中，類美登素藥物部分為 $N^{2'}$ -去乙醯基- $N^{2'}$ -(4-甲基-4-硫醇基-1-氧戊基)-美登素(也稱作DM4)。DM4由以下結構表示：



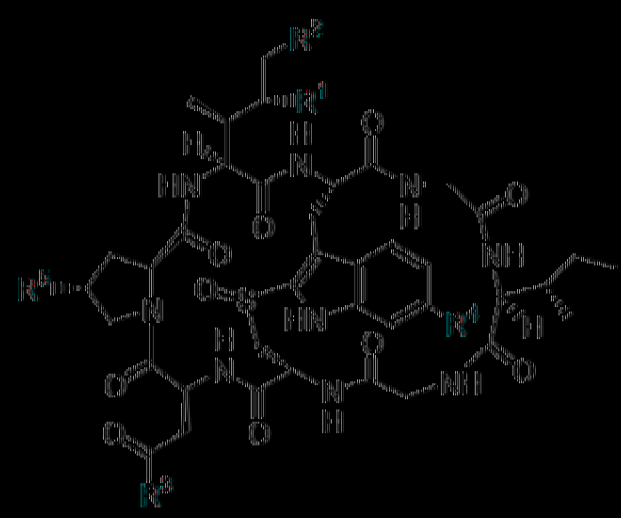
DM4。

【0222】 較佳地，在本文揭示的包含類美登素藥物部分的抗體藥物共軛體中，類美登素為 $N^{2'}$ -去乙醯基- $N^{2'}$ -(3-硫醇基-1-氧丙基)-美登素(DM1)或 $N^{2'}$ -去乙醯基- $N^{2'}$ -(4-甲基-4-硫醇基-1-氧戊基)-美登素(DM4)。

【0223】 藥物部分可為卡奇黴素。如本文所用，「卡奇黴素」涉及一類衍生自棘孢小單孢菌(*Micromonospora echinospora*)的烯二炔抗腫瘤抗生素，其中卡奇黴素 γ 1最引人注目。其最初是在1980年代中期從位於德克薩斯州的克爾維爾



[(022/1)] 藥物部分可為鵓膏毒素。鵓膏毒素為至少八種相關毒性化合物的子群的總稱，該等化合物存在於若干毒蕈菇屬中，最著名的為毒鵓膏(Amanita phalloides)及若干其他鵓膏菌屬成員，以及一些錐蓋傘屬(Conocybe)、盤孢傘屬(Galerina)及環柄菇屬(Lepiota)蕈菇物種。即使是小劑量的鵓膏毒素也能致命。這些化合物具有相似的結構，即八個胺基酸殘基排列在保守的人雙環基序(當計算脯胺酸及色胺酸衍生的殘基中同有的環時，其為總體的五環結構)中。所有的鵓膏毒素均為合成為35個胺基酸的前蛋白的寡肽，其中最後8個胺基酸被脯胺酸酯寡肽酶裂解。鵓膏毒素的示意性胺基酸序列為Ile-Trp-Gly-Ile-Gly-Cys-Asn-Pro，Trp和Cys之間經由硫醚(S-O)部分交聯，並在分子變體中糖基化。目前有十種已知可能為藥物部分的鵓膏毒素：



名稱	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵
α 鵓膏菌素(amanitin)	OH	OH	NH ₂	OH	OH
β 鵓膏菌素	OH	OH	OH	OH	OH

γ -鵪荳菌素	OH	H	NH ₂	OH	OH
ϵ -鵪荳菌素	OH	H	OH	OH	OH
鵪荳無赤環肽(amanullin)	H	H	NH ₂	OH	OH
γ -鵪荳赤肽羧酸(amanullinic acid)	H	H	OH	OH	OH
γ -鵪荳赤肽酰胺(amaninamide)	OH	OH	NH ₂	H	OH
鵪荳素(amanin)	OH	OH	OH	H	OH
鵪荳草鹼(proamanullin)	H	H	NH ₂	OH	H

【0238】 藥物部分可為激酶抑制劑，較佳為與促腫瘤形成功能相關的激酶抑制劑。示例性的激酶抑制劑包括伊馬替尼(imatinib)、尼羅替尼(nilotinib)、達沙替尼(dasatinib)、伯舒替尼(bosutinib)、普納替尼(ponatinib)、吉非替尼(gefitinib)、埃羅替尼(erlotinib)、阿法替尼(afatinib)、奧希替尼(osimertinib)、拉帕替尼(lapatinib)、來那替尼(neratinib)、索拉非尼(sorafenib)、舒尼替尼(sunitinib)、帕唑帕尼(pazopanib)、阿西替尼(axitinib)、樂伐替尼(lenvatinib)、卡博替尼(cabozatinib)、凡德他尼(vandetanib)、瑞戈非尼(regorafenib)、維羅非尼(vemurafenib)、達拉非尼(dabrafenib)、曲美替尼(trametinib)、考比替尼(cobimetinib)、克唑替尼(crizotinib)、色瑞替尼(certinib)、艾樂替尼(alectinib)、布加替尼(brigatinib)、勞拉替尼(lorlatinib)、依魯替尼(ibrutinib)、阿卡替尼(acalibrutinib)、米哌妥林(midostaurin)、蘆可替尼(ruxolitinib)、艾德昔布(idelalisib)、考班昔布(copanlisib)、帕泊昔布(palbociclib)、瑞博西尼(ribociclib)、或阿貝力布(abemaciclib)。

【0239】 藥物部分可為MEK抑制劑。如本文所用的MEK抑制劑描述抑制促分裂原活化蛋白激酶MEK1及/或MEK2的化學物質或藥物。其可用於影響通常在某些癌症中過度活躍的MAPK/ERK路徑。因此，MEK抑制劑具有治療某些癌症的潛力，特別是BRAF突變的黑色素瘤及KRAS/BRAF突變的結腸直腸癌。典型的MEK抑制劑包括曲美替尼(GSK1120212)、考比替尼或XL518、畢尼替尼(binimetinib)(MEK162)、司美替尼(selumetinib)、PD-325901、CI-1040、PD035901、或TAK-733。

【0240】藥物部分可為KSP(紡錘體驅動蛋白)抑制劑。KSP抑制劑的例子包括伊斯平斯(Ispinesib)(SB-715992)、SB743921、AZ 3146、GSK923295、BAY 1217389、MPI-0479605及ARQ 621。

【0241】藥物部分可為核酸。當用作藥物部分時，核酸可能涉及DNA/RNA分子，例如具有免疫調節功能(較佳對先天免疫)的DNA/RNA分子。免疫調節可涉及增加或降低免疫反應，較佳為降低。DNA/RNA分子也可為siRNA，較佳地設計以用於(特異性)調節/操縱(例如減少)靶蛋白表現(示例性的靶可為失養性肌強直蛋白激酶(DMPK))。

【0242】藥物部分可為PROTAC。靶向蛋白水解的嵌合體(PROTAC)為異雙官能小分子，其包含兩個活性結構域及一個能夠去除特定不需要的蛋白的連接子。PROTAC並非作為典型的酶抑制劑，而是藉由誘導選擇性細胞內蛋白水解而發揮作用。PROTAC大體上包含兩個共價連接的蛋白結合分子：一個能夠與E3泛蛋白連接酶結合，而另一個與要降解的靶蛋白結合。E3連接酶招集到靶蛋白會導致泛蛋白化，且隨後靶蛋白被蛋白酶體降解。示例性的PROTACS描述在Sakamoto等人(2001)，*PNAS*，98(15):8554–9中，其在此藉由引用而併入。

製造ADC的方法

【0243】製造本發明ADC的方法為本領域已知的。具體而言，WO 2016/066749、WO 2017/186855、Schumacher等人，*Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**，54，13787-13791已描述了在多肽的C末端處引入或添加微管蛋白酪胺酸連接酶的識別序列，並在微管蛋白酪胺酸連接酶的存在下使多肽(此處為貝倫妥昔)與非天然胺基酸接觸，以及使包含藥物部分的連接子與該連接的貝倫妥昔共軛，所

有上述文獻均在此藉由引用而併入。實例的材料及方法部分也包含何以製造或獲得本發明ADC的指導。

【0244】 因此，本發明進一步涉及製造如本文所界定的ADC的方法，其包含：

(a)在貝倫妥昔的輕鏈、重鏈或輕鏈及重鏈兩者的C末端引入或添加微管蛋白酪胺酸連接酶的識別序列；

(b)在微管蛋白酪胺酸連接酶及非天然胺基酸存在下，在適合微管蛋白酪胺酸連接酶使該貝倫妥昔與該非天然胺基酸連接的條件下，使步驟(a)中獲得的貝倫妥昔接觸；以及

(c)使包含藥物部分的任選可裂解的连接子與步驟(b)中獲得的經連接的該貝倫妥昔共軛。

【0245】 如本文所述，在貝倫妥昔的C末端處引入或添加TTL識別序列。例如，可藉由基因工程或藉由合成(化學蛋白合成或經由合成生物學)引入或添加這種識別序列。

【0246】 本發明進一步涉及可藉由本文所界定的製造ADC的方法獲得的ADC。本發明進一步涉及藉由本文所界定的製造ADC的方法獲得的ADC。

醫藥組合物

【0247】 本發明進一步涉及包含本發明ADC的醫藥組合物。根據本發明的醫藥組合物可進一步包含一或多個醫藥上可接受的載體。在一個特定的具體實施例中，「醫藥上可接受的」乙詞涉及由管理機構或其他公認的藥典批准用於動物，且更具體地用於人類。醫藥上可接受的載體為本領域周知的，且包括例如水溶液，諸如水、5%葡萄糖或生理緩衝鹽水或其他溶劑或媒介物，諸如乙二

醇、甘油、油，諸如橄欖油、或適合施用於人類或非人類個體的可注射有機酯。具體示例性的醫藥上可接受的載體包括(生物可降解的)脂質體；由可生物降解的聚合物聚(D,L-乳酸-共-乙醇酸)(PLGA)製成的微球、白蛋白微球；合成聚合物(可溶性)；奈米纖維、蛋白-DNA複合物；蛋白共軛體；紅血球；或病毒體。各種基於載體的劑型包含以下：固體脂質奈米顆粒(SLN)、聚合物奈米顆粒、陶瓷奈米顆粒、水凝膠奈米顆粒、共聚肽奈米顆粒、奈米晶體及奈米懸浮液、奈米晶體、奈米管及奈米線、官能化奈米載體、奈米球、奈米膠囊、脂質體、脂質乳劑、脂質微管/微圓柱體、脂質微泡、脂球體、脂聚普粒(lipopolyplexe)、反脂質微胞、樹枝狀聚合物、醇質體(ethosome)、多組分超薄膠囊、水質體(aquasome)、藥質體(pharmacosome)、膠體體(colloidosome)、類脂質體(niosome)、盤狀體(discome)、原核生物質體(proniosome)、微球、微乳液、及聚合物微胞。其他合適的醫藥上可接受的載體及賦形劑特別描述在Remington's Pharmaceutical Sciences，15th Ed.，Mack Publishing Co.，New Jersey (1991)中。也請見例如Remington: The Science and Practice of Pharmacy，21st edition；Lippincott Williams & Wilkins，2005。

【0248】 在一些具體實施例中，醫藥上可接受的載體或組合物為無菌的。除了活性劑之外，醫藥組合物也可包含生理上可接受的化合物，其例如作為填充劑、填加劑、增溶劑、穩定劑、滲透劑、吸收增強劑等。生理上可接受的化合物包括例如碳水化合物，諸如葡萄糖、蔗糖、乳糖；右旋糖酐；多元醇，諸如甘露醇；抗氧化劑，諸如抗壞血酸或麩胺基硫；防腐劑；螯合劑；緩衝劑；或其他穩定劑或賦形劑。

【0249】醫藥上可接受的載體及/或生理學上可接受的化合物的選擇可取決於例如活性劑的性質，例如溶解度、相容性(意味著這些物質可用在普通使用情況下會顯著降低醫藥組合物的藥效的方式一起存在於組合物中而不相互作用)及/或組合物的施用途徑。

【0250】本發明的醫藥組合物包含治療有效量的本文所述的ADC，且可以用各種形式，例如以固體、液體、氣體或凍乾形式構成，且可特別呈軟膏、乳膏、經皮貼劑、凝膠、粉末、片劑、溶液、霧劑、顆粒、丸劑、懸浮液、乳液、膠囊、糖漿、液體、酏劑、萃取物、酏劑或液體萃取物的形式、或呈特別適合局部或口服施用的形式。多種途徑適用於本發明多肽的施用，包括但不限於口服、局部、經皮、皮下、靜脈內、腹膜內、肌內、或眼內。然而，若有需要，則本領域技術人員可容易地選擇任何其他途徑。

治療方法中的用途

【0251】如實施例4及5所示，本發明的ADC可用於治療，特別是癌症的治療。因此，本發明進一步涉及本發明的ADC或本發明的醫藥組合物在治療疾病的方法中的用途，任選地包含像有需要其的個體或患者施用有效量的本發明的ADC或本發明的醫藥組合物。較佳地，疾病與CD30的過度表現有關。疾病可為與CD30的過度表現有關的癌症。更佳地，疾病選自由以下組成的群組：淋巴瘤，諸如何杰金氏淋巴瘤(HL)、非何杰金氏淋巴瘤(NHL)、退行性大細胞淋巴瘤(ALCL)、大型B細胞淋巴瘤、兒童淋巴瘤、T細胞淋巴瘤及腸病變相關T細胞淋巴瘤(EATL)；白血病，諸如急性骨髓性白血病(AML)、急性淋巴母細胞白血病(ALL)及肥大細胞白血病；生殖細胞癌；移植物抗宿主病(GvHD)；以及狼瘡，特別是全身性紅斑狼瘡(SLE)；較佳為何杰金氏淋巴瘤(HL)或退行性大細胞淋巴

瘤(ALCL)。疾病可選自由以下組成的群組：非特指型的周邊T細胞淋巴瘤(PTCL-NOS)、血管免疫母細胞T細胞淋巴瘤(AITL)、腸病變相關T細胞淋巴瘤(EATL)、成人T細胞白血病/淋巴瘤(ATLL)、結外自然殺手/T細胞淋巴瘤(ENKTCL)、肝脾及腸道 γ/δ -T細胞淋巴瘤、具有TFH表現型的結性周邊T細胞淋巴瘤、以及濾泡性T細胞淋巴瘤。疾病可為周邊T細胞淋巴瘤(PTCL)，包括退行性大細胞淋巴瘤(ALCL)。疾病可為皮膚T細胞淋巴瘤(CTCL)，包括原發性皮膚退行性大細胞淋巴瘤(pcALCL)。疾病可為何杰金氏淋巴瘤(HL)。

【0252】 本發明也涉及本發明的ADC在製備用於治療疾病的藥物中的用途。本發明也涉及本發明的醫藥組合物在製備用於治療疾病的藥物中的用途。較佳地，疾病與CD30的過度表現有關。疾病可為與CD30的過度表現有關的癌症。更佳地，疾病選自由以下組成的群組：淋巴瘤，諸如何杰金氏淋巴瘤(HL)、非何杰金氏淋巴瘤(NHL)、退行性大細胞淋巴瘤(ALCL)、大型B細胞淋巴瘤、兒童淋巴瘤、T細胞淋巴瘤及腸病變相關T細胞淋巴瘤(EATL)；白血病，諸如急性骨髓性白血病(AML)、急性淋巴母細胞白血病(ALL)及肥大細胞白血病；生殖細胞癌；移植物抗宿主病(GvHD)；以及狼瘡，特別是全身性紅斑狼瘡(SLE)；較佳為何杰金氏淋巴瘤(HL)或退行性大細胞淋巴瘤(ALCL)。疾病可選自由以下組成的群組：非特指型的周邊T細胞淋巴瘤(PTCL-NOS)、血管免疫母細胞T細胞淋巴瘤(AITL)、腸病變相關T細胞淋巴瘤(EATL)、成人T細胞白血病/淋巴瘤(ATLL)、結外自然殺手/T細胞淋巴瘤(ENKTCL)、肝脾及腸道 γ/δ -T細胞淋巴瘤、具有TFH表現型的結性周邊T細胞淋巴瘤、以及濾泡性T細胞淋巴瘤。疾病可為周邊T細胞淋巴瘤(PTCL)，包括退行性大細胞淋巴瘤(ALCL)。疾病可為皮膚T細胞淋巴瘤

(CTCL)，包括原發性皮膚退行性大細胞淋巴瘤(pcALCL)。疾病可為何杰金氏淋巴瘤(HL)。

【0253】 本發明也涉及治療疾病的方法，包含向有需要其的個體或患者施加有效量的本發明的ADC。本發明也涉及治療疾病的方法，包含向有需要其的個體或患者施加有效量的本發明的醫藥組合物。較佳地，疾病與CD30的過度表現有關。疾病可為與CD30的過度表現有關的癌症。更佳地，疾病選自由以下組成的群組：淋巴瘤，諸如何杰金氏淋巴瘤(HL)、非何杰金氏淋巴瘤(NHL)、退行性大細胞淋巴瘤(ALCL)、大型B細胞淋巴瘤、兒童淋巴瘤、T細胞淋巴瘤及腸病變相關T細胞淋巴瘤(EATL)；白血病，諸如急性骨髓性白血病(AML)、急性淋巴母細胞白血病(ALL)及肥大細胞白血病；生殖細胞癌；移植物抗宿主病(GvHD)；以及狼瘡，特別是全身性紅斑狼瘡(SLE)；較佳為何杰金氏淋巴瘤(HL)或退行性大細胞淋巴瘤(ALCL)。疾病可為但不限於以下：非特指型的周邊T細胞淋巴瘤(PTCL-NOS)、血管免疫母細胞T細胞淋巴瘤(AITL)、腸病變相關T細胞淋巴瘤(EATL)、成人T細胞白血病/淋巴瘤(ATLL)、結外自然殺手/T細胞淋巴瘤(ENKTCL)、肝脾及腸道 γ/δ -T細胞淋巴瘤、具有TFH表現型的結性周邊T細胞淋巴瘤、或濾泡性T細胞淋巴瘤。疾病也可為周邊T細胞淋巴瘤(PTCL)，包括退行性大細胞淋巴瘤(ALCL)或皮膚T細胞淋巴瘤(CTCL)，包括原發性皮膚退行性大細胞淋巴瘤(pcALCL)。疾病也可為何杰金氏淋巴瘤(HL)。

【0254】 「有效量」用語涉及治療劑(例如本發明的ADC)的量，當單獨使用或與另一個治療劑組合使用時，其保護個體抵抗疾病的發作或促進疾病消退，上述藉由疾病症狀的嚴重程度的降低、無疾病症狀時期的頻率及持續時間的增加、或由於疾病痛苦引起的損傷或殘疾的預防來證明。治療劑促進疾病消

退的能力可使用本領域技術人員已知的多種方法來評估，諸如在臨床試驗期間在人類個體中、在預測人類中的功效的動物模型系統中、或藉由在體外測定中測定試劑的活性。確切的量將取決於治療的目的，且本領域技術人員可使用已知的技術確定(請見例如，Lloyd (1999) *The Art, Science and Technology of Pharmaceutical Compounding*)。

【0255】另外，本發明涉及如本文所揭示的抗體藥物共軛體，其用於治療患者的癌症的方法中。根據本發明，「患者」乙詞涉及人類、非人類靈長類動物或另一個動物，特別是哺乳動物，諸如牛、馬、豬、綿羊、山羊、狗、貓、或嚙齒動物，諸如小鼠及大鼠。在一個特別較佳的具體實施例中，患者為人類。除非另有說明，否則「患者」或「個體」等詞在本文中可互換使用。「治療」乙詞在其所有文法形式中包括治療性或預防性治療。「治療性或預防性治療」包含旨在完全預防臨床及/或病理表現的預防性治療，或旨在改善或緩解臨床及/或病理表現的治療性治療。因此，「治療」乙詞也包括疾病的改善或預防。

【0256】本發明的ADC可以用治療有效的任何劑量施用。上限通常是指在副作用方面仍然可安全施用的劑量。通常，本發明的ADC可以用0.5到20 mg/kg的(有效)劑量施用。本發明的ADC可以用1到10 mg/kg的(有效)劑量施用。本發明的ADC可以用1到9 mg/kg的(有效)劑量施用。本發明的ADC可以用1.2到9 mg/kg的(有效)劑量施用。本發明的ADC可以用1.8到8 mg/kg的(有效)劑量施用。本發明的ADC可以用2到6 mg/kg的(有效)劑量施用。作為說明性實例，本發明的ADC可以用20 mg/kg、18 mg/kg、16 mg/kg、14 mg/kg、12 mg/kg、10 mg/kg、9 mg/kg、8 mg/kg、7 mg/kg、6 mg/kg、5 mg/kg、4 mg/kg、3 mg/kg、2 mg/kg、或1 mg/kg的(有效)劑量施用。若認為有利或有必要，則也可使用其他劑量。

【0257】本發明的ADC可與其他試劑，特別是抗癌藥，或增強這些藥試的作用的化合物，來共同施用。共同施用包含順序施用及同時施用。合適的抗癌醫藥包括例如一或多個本文所述的藥物部分。本發明的ADC可與環磷醯胺、多柔比星(doxorubicin)及潑尼松(prednisone)共同施用(CHP方案)。本發明的ADC特別是可與抗癌藥物，如免疫調節藥物、檢查點抑制劑、化學治療劑(例如環磷醯胺、鹽酸多柔比星(經基道諾黴素)、硫酸長春新鹼(Oncovin)、及潑尼松(CHOP方案)依託泊苷(etoposide)、長春新鹼、氮芥(chlormethine))、蛋白抑制劑等共同施用。

【0258】「腫瘤」是指由失調的細胞增殖所形成的一組細胞或組織，特別為癌症。腫瘤可能顯示部分或完全缺乏結構組織以及與正常組織的功能協調，且通常形成獨特的組織腫塊，其可為良性或惡性的。特別地，「腫瘤」乙詞涉及惡性腫瘤。根據一個具體實施例，「腫瘤」或「腫瘤細胞」等詞也涉及非實體癌及非實體癌的細胞，諸如白血病細胞。根據另一個具體實施例，「腫瘤」及「腫瘤細胞」等詞不涵蓋相應的非實體癌或其細胞。

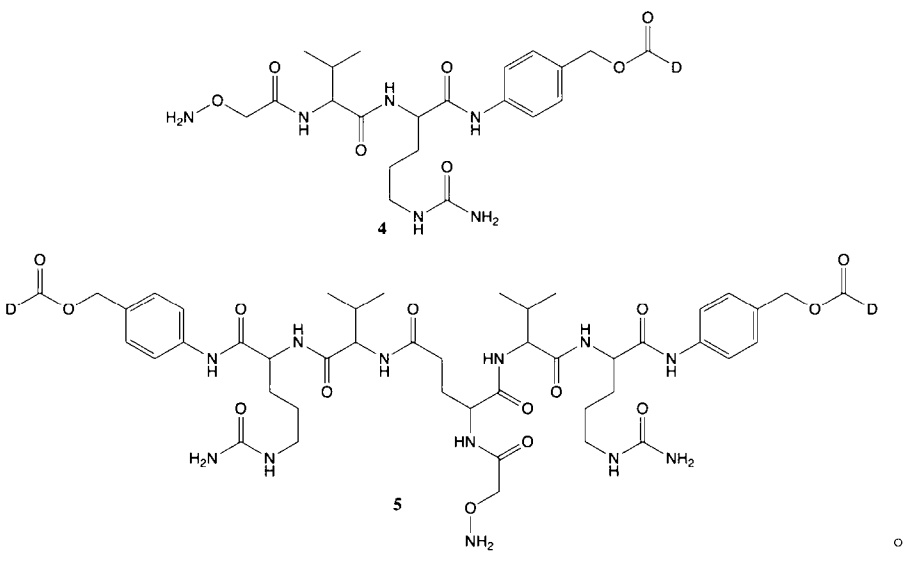
【0259】「轉移」是指癌細胞從其原始部位擴散到身體的另一部分。轉移的形成是個非常複雜的過程，且通常涉及癌細胞從原發性腫瘤脫離，進入身體循環並沉降以在身體其他地方的正常組織內生長。當腫瘤細胞轉移時，新腫瘤被稱作繼發性或轉移性腫瘤，且其細胞通常類似於原始腫瘤中的那些。這意味著，例如，若乳癌轉移到肺，則繼發性腫瘤會由異常乳房細胞組成，而非由異常肺細胞組成。肺部的腫瘤則被稱作轉移性乳癌，而非肺癌。

本發明的示例性ADC

【0260】 在下表中，揭示了示例性ADC的概述。在那些示例性ADC中，非天然氨基酸為3-甲醯基酪胺酸，且藥物部分(D)為本文所界定的藥物部分，較佳為MMAE：

貝倫妥昔輕鏈	貝倫妥昔重鏈	連接子
SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO: 12	結構 4
	(包含 TTL 識別序列)	
SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO: 12	結構 5
SEQ ID NO: 11	SEQ ID NO: 1	結構 4
(包含 TTL 識別序列)		
SEQ ID NO: 11	SEQ ID NO: 1	結構 5
SEQ ID NO: 11	SEQ ID NO:12	結構 4
SEQ ID NO: 11	SEQ ID NO: 12	結構 5
SEQ ID NO: 14	SEQ ID NO: 1	結構 4
(包含 TTL 識別序列)		
SEQ ID NO: 14	SEQ ID NO: 1	結構 5
SEQ ID NO: 14	SEQ ID NO: 12	結構 4
SEQ ID NO: 14	SEQ ID NO: 12	結構 5

【0261】 結構4及5重複如下：



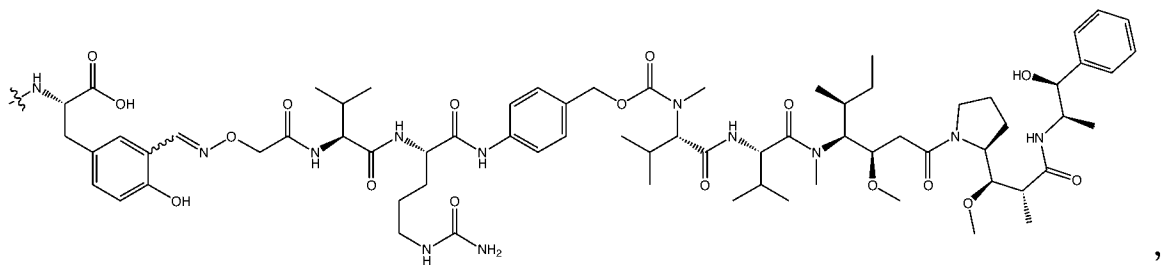
【0262】 在一些具體實施例中，本發明涉及抗體-藥物共軛體(ADC)，其包含：

- (a)貝倫妥昔，其中貝倫妥昔在每個輕鏈的C末端包含微管蛋白-酪胺酸連接酶的識別序列；

每個輕鏈，包括識別序列，具有SEQ ID NO: 11；且

貝倫妥昔的每個重鏈具有SEQ ID NO: 1；以及

(b)每個輕鏈的識別序列的C末端經由醯胺鍵與具有以下結構的基團結合：



其中波浪線表示與每個輕鏈的識別序列的C末端的連接。

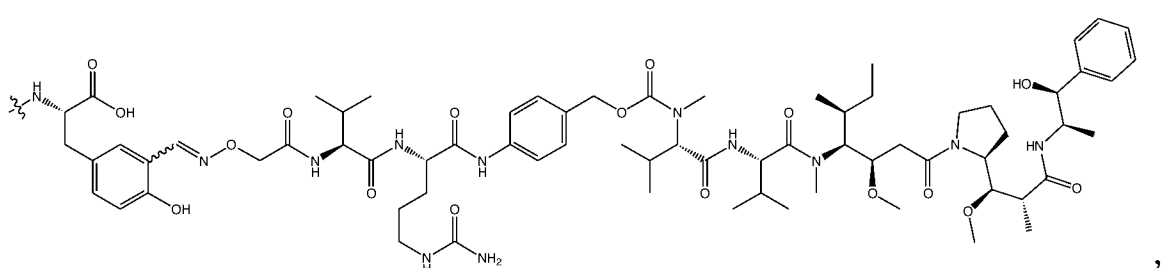
【0263】 在一些具體實施例中，本發明涉及抗體-藥物共軛體(ADC)，其包含：

(a)貝倫妥昔，其中貝倫妥昔在每個重鏈的C末端包含微管蛋白-酪胺酸連接酶的識別序列；

每個重鏈，包括識別序列，具有SEQ ID NO: 12；且

貝倫妥昔的每個輕鏈具有SEQ ID NO: 2；以及

(b)每個重鏈的識別序列的C末端經由醯胺鍵與具有以下結構的基團結合：



其中波浪線表示與每個重鏈的識別序列的C末端的連接。

【0264】 在一些具體實施例中，本發明涉及抗體-藥物共軛體(ADC)，其包含：

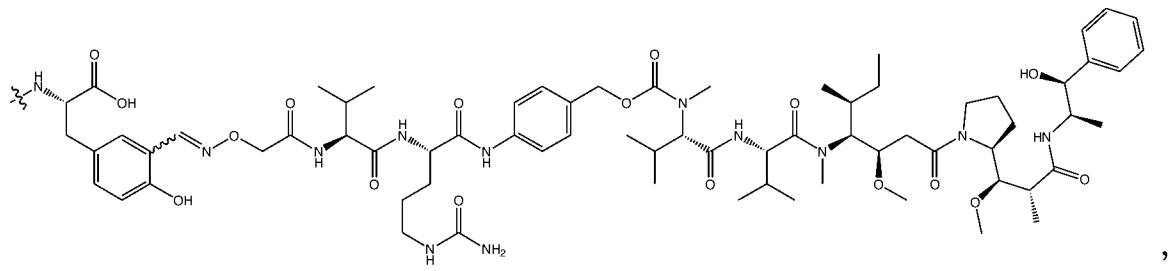
(a)貝倫妥昔，其中貝倫妥昔在每個重鏈的C末端包含微管蛋白-酪胺酸連接酶的識別序列；

每個重鏈，包括識別序列，具有SEQ ID NO: 12；且

其中貝倫妥昔在每個輕鏈的C末端包含微管蛋白-酪胺酸連接酶的識別序列；

每個輕鏈，包括識別序列，具有SEQ ID NO: 11；且

(b)每個重鏈的識別序列的C末端及每個輕鏈的識別序列的C末端，經由醯胺鍵與具有以下結構的基團結合：



其中波浪線表示與每個重鏈的識別序列的C末端及每個輕鏈的識別序列的C末端的連接。

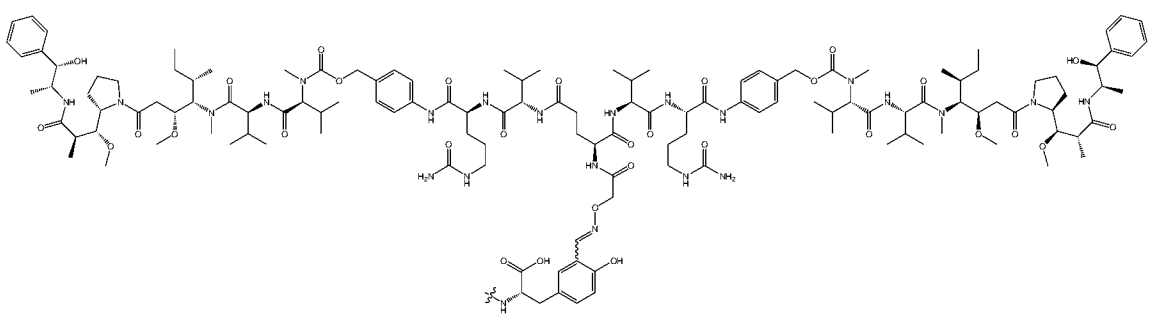
【0265】 在一些具體實施例中，本發明涉及抗體-藥物共軛體(ADC)，其包含：

(a)貝倫妥昔，其中貝倫妥昔在每個輕鏈的C末端包含微管蛋白-酪胺酸連接酶的識別序列；

每個輕鏈，包括識別序列，具有SEQ ID NO: 11；且

貝倫妥昔的每個重鏈具有SEQ ID NO: 1；以及

(b)每個輕鏈的識別序列的C末端經由醯胺鍵與具有以下結構的基團結合：



其中波浪線表示與每個輕鏈的識別序列的C末端的連接。

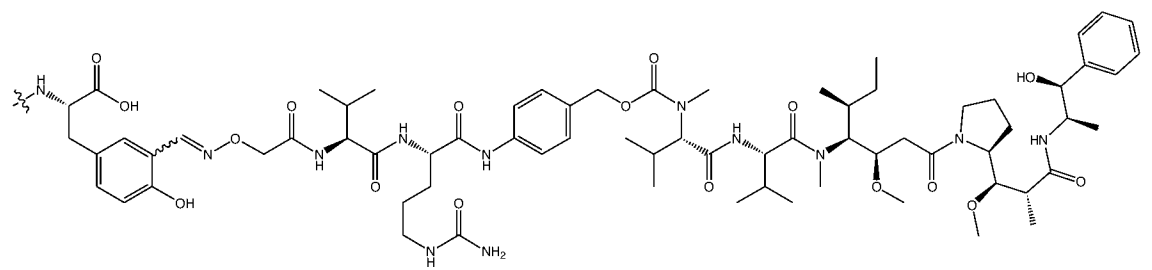
【0266】 在一些具體實施例中，本發明涉及一種抗體-藥物共軛體(ADC)，其包含：

(a)貝倫妥昔，其中貝倫妥昔在每個輕鏈的C末端包含微管蛋白-酪胺酸連接酶的識別序列；

每個輕鏈，包括識別序列，具有SEQ ID NO: 14；且

貝倫妥昔的每個重鏈具有SEQ ID NO: 1；以及

(b)每個輕鏈的識別序列的C末端經由醯胺鍵與具有以下結構的基團結合：



其中波浪線表示與每個輕鏈的識別序列的C末端的連接。

【0267】 在一些具體實施例中，本發明涉及抗體-藥物共軛體(ADC)，其包含：

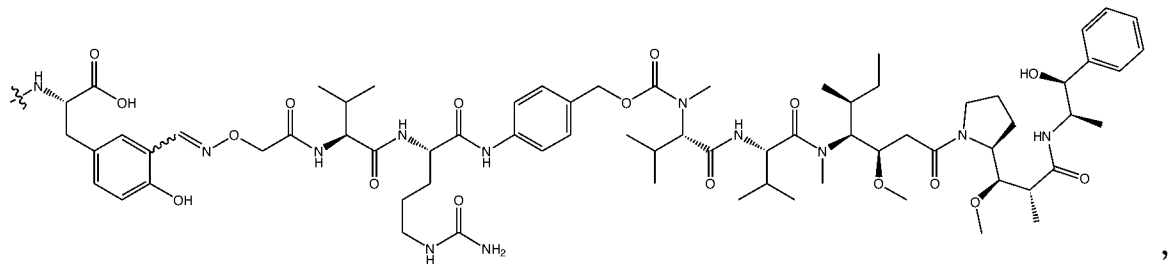
(a)貝倫妥昔，其中貝倫妥昔在每個重鏈的C末端包含微管蛋白-酪胺酸連接酶的識別序列；

每個重鏈，包括識別序列，具有SEQ ID NO: 12；且

其中貝倫妥昔在每個輕鏈的C末端包含微管蛋白-酪胺酸連接酶的識別序列；

每個輕鏈，包括識別序列，具有SEQ ID NO: 14；且

(b)每個重鏈的識別序列的C末端及每個輕鏈的識別序列的C末端，經由醯胺鍵與具有以下結構的基團結合：



其中波浪線表示與每個重鏈的識別序列的C末端及每個輕鏈的識別序列的C末端的連接。

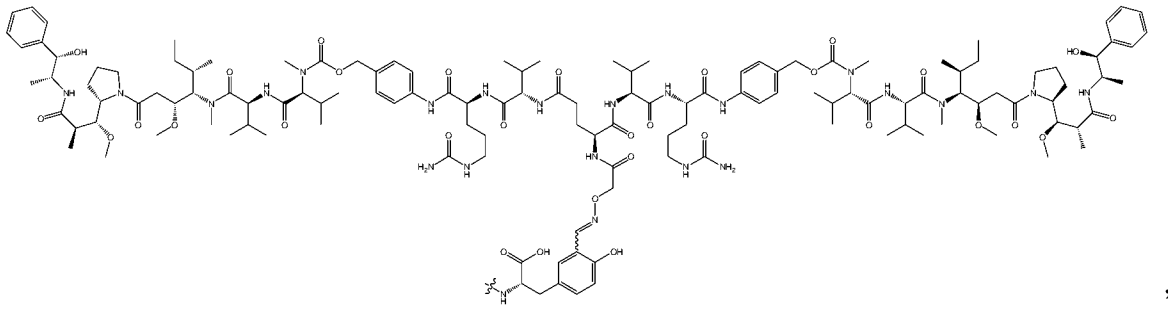
【0268】 在一些具體實施例中，本發明涉及抗體-藥物共軛體(ADC)，其包含：

(a)貝倫妥昔，其中貝倫妥昔在每個輕鏈的C末端包含微管蛋白-酪胺酸連接酶的識別序列；

每個輕鏈，包括識別序列，具有SEQ ID NO: 14；且

貝倫妥昔的每個重鏈具有SEQ ID NO: 1；以及

(b)每個輕鏈的識別序列的C末端經由醯胺鍵與具有以下結構的基團結合：



其中波浪線表示與每個輕鏈的識別序列的C末端的連接。

序列

【0269】 本文揭示特別涉及以下序列。

【0270】 貝倫妥昔/cAC10重鏈(SEQ ID NO: 1)：

Gln-Ile-Gln-Leu-Gln-Gln-Ser-Gly-Pro-Glu-Val-Val-Lys-Pro-Gly-Ala-Ser-Val-Lys-Ile-Ser-Cys-Lys-Ala-Ser-Gly-Tyr-Thr-Phe-Thr-Asp-Tyr-Tyr-Ile-Thr-Trp-Val-Lys-Gln-Lys-Pro-Gly-Gln-Gly-Leu-Glu-Trp-Ile-Gly-Trp-Ile-Tyr-Pro-Gly-Ser-Gly-Asn-Thr-Lys-Tyr-Asn-Glu-Lys-Phe-Lys-Gly-Lys-Ala-Thr-Leu-Thr-Val-Asp-Thr-Ser-Ser-Ser-Thr-Ala-Phe-Met-Gln-Leu-Ser-Ser-Leu-Thr-Ser-Glu-Asp-Thr-Ala-Val-Tyr-Phe-Cys-Ala-Asn-Tyr-Gly-Asn-Tyr-Trp-Phe-Ala-Tyr-Trp-Gly-Gln-Gly-Thr-Gln-Val-Thr-Val-Ser-Ala-Ala-Ser-Thr-Lys-Gly-Pro-Ser-Val-Phe-Pro-Leu-Ala-Pro-Ser-Ser-Lys-Ser-Thr-Ser-Gly-Gly-Thr-Ala-Ala-Leu-Gly-Cys-Leu-Val-Lys-Asp-Tyr-Phe-Pro-Glu-Pro-Val-Thr-Val-Ser-Trp-Asn-Ser-Gly-Ala-Leu-Thr-Ser-Gly-Val-His-Thr-Phe-Pro-Ala-Val-Leu-Gln-Ser-Ser-Gly-Leu-Tyr-Ser-Leu-Ser-Ser-Val-Val-Thr-Val-Pro-Ser-Ser-Ser-Leu-Gly-Thr-Gln-Thr-Tyr-Ile-Cys-Asn-Val-Asn-His-Lys-Pro-Ser-Asn-Thr-Lys-Val-Asp-Lys-Lys-Val-Glu-Pro-Lys-Ser-Cys-Asp-Lys-Thr-His-Thr-Cys-Pro-Pro-Cys-Pro-Ala-Pro-Glu-Leu-Leu-Gly-Gly-Pro-Ser-Val-Phe-Leu-Phe-Pro-Pro-Lys-Pro-Lys-Asp-Thr-Leu-Met-Ile-Ser-Arg-Thr-Pro-Glu-Val-Thr-Cys-Val-Val-Val-Asp-Val-Ser-His-Glu-Asp-Pro-Glu-Val-Lys-Phe-Asn-Trp-Tyr-Val-Asp-Gly-Val-Glu-Val-His-Asn-Ala-Lys-Thr-Lys-Pro-Arg-Glu-Glu-Gln-Tyr-Asn-Ser-Thr-Tyr-Arg-Val-Val-Ser-Val-Leu-Thr-Val-Leu-His-Gln-Asp-Trp-Leu-Asn-Gly-Lys-Glu-Tyr-Lys-Cys-Lys-Val-Ser-Asn-Lys-Ala-Leu-Pro-Ala-Pro-Ile-Glu-Lys-Thr-Ile-Ser-Lys-Ala-Lys-Gly-Gln-Pro-Arg-Glu-Pro-Gln-Val-Tyr-Thr-Leu-Pro-Pro-Ser-Arg-Asp-Glu-Leu-Thr-Lys-Asn-Gln-Val

l-Ser-Leu-Thr-Cys-Leu-Val-Lys-Gly-Phe-Tyr-Pro-Ser-Asp-Ile-Ala-Val-Glu-Trp-Glu
-Ser-Asn-Gly-Gln-Pro-Glu-Asn-Asn-Tyr-Lys-Thr-Thr-Pro-Pro-Val-Leu-Asp-Ser-As
p-Gly-Ser-Phe-Phe-Leu-Tyr-Ser-Lys-Leu-Thr-Val-Asp-Lys-Ser-Arg-Trp-Gln-Gln-Gl
y-Asn-Val-Phe-Ser-Cys-Ser-Val-Met-His-Glu-Ala-Leu-His-Asn-His-Tyr-Thr-Gln-L
ys-Ser-Leu-Ser-Leu-Ser-Pro-Gly-Lys

【0271】 貝倫妥昔/cAC10輕鏈(SEQ ID NO: 2)：

Asp-Ile-Val-Leu-Thr-Gln-Ser-Pro-Ala-Ser-Leu-Ala-Val-Ser-Leu-Gly-Gln-Arg-Ala-T
hr-Ile-Ser-Cys-Lys-Ala-Ser-Gln-Ser-Val-Asp-Phe-Asp-Gly-Asp-Ser-Tyr-Met-Asn-T
rp-Tyr-Gln-Gln-Lys-Pro-Gly-Gln-Pro-Pro-Lys-Val-Leu-Ile-Tyr-Ala-Ala-Ser-Asn-Le
u-Glu-Ser-Gly-Ile-Pro-Ala-Arg-Phe-Ser-Gly-Ser-Gly-Ser-Gly-Thr-Asp-Phe-Thr-Leu
-Asn-Ile-His-Pro-Val-Glu-Glu-Glu-Asp-Ala-Ala-Thr-Tyr-Tyr-Cys-Gln-Gln-Ser-Asn-
Glu-Asp-Pro-Trp-Thr-Phe-Gly-Gly-Gly-Thr-Lys-Leu-Glu-Ile-Lys-Arg-Thr-Val-Ala-
Ala-Pro-Ser-Val-Phe-Ile-Phe-Pro-Pro-Ser-Asp-Glu-Gln-Leu-Lys-Ser-Gly-Thr-Ala-S
er-Val-Val-Cys-Leu-Leu-Asn-Asn-Phe-Tyr-Pro-Arg-Glu-Ala-Lys-Val-Gln-Trp-Lys-
Val-Asp-Asn-Ala-Leu-Gln-Ser-Gly-Asn-Ser-Gln-Glu-Ser-Val-Thr-Glu-Gln-Asp-Ser
-Lys-Asp-Ser-Thr-Tyr-Ser-Leu-Ser-Ser-Thr-Leu-Thr-Leu-Ser-Lys-Ala-Asp-Tyr-Glu-
Lys-His-Lys-Val-Tyr-Ala-Cys-Glu-Val-Thr-His-Gln-Gly-Leu-Ser-Ser-Pro-Val-Thr-
Lys-Ser-Phe-Asn-Arg-Gly-Glu-Cys

【0272】 TTL識別序列(SEQ ID NO: 3)：

Xaa₁-Xaa₂-Xaa₃-Glu，

其中：

Xaa₁為任意胺基酸；作為說明性實例，Xaa₁可為Glu、Asp、Ala、Lys或Pro；

Xaa₂為任意胺基酸；作為說明性實例，Xaa₂可為Gly、Ser、Ala、Val或Phe；

以及

Xaa₃為Glu、Asp或Cys。

【0273】 TTL識別序列(SEQ ID NO: 4)：

Glu-Gly-Glu-Glu

【0274】 TTL識別序列(SEQ ID NO: 5)：

Val-Asp-Ser-Val-Glu-Gly-Glu-Gly-Glu-Glu-Gly-Glu-Glu

【0275】 TTL識別序列(SEQ ID NO: 6)：

Ser-Val-Glu-Gly-Glu-Gly-Glu-Glu-Glu-Gly-Glu-Glu

【0276】 TTL識別序列(SEQ ID NO: 7)：

Ser-Ala-Asp-Gly-Glu-Asp-Glu-Gly-Glu-Glu

【0277】 TTL識別序列(SEQ ID NO: 8)：

Ser-Val-Glu-Ala-Glu-Ala-Glu-Glu-Gly-Glu-Glu

【0278】 TTL識別序列(SEQ ID NO: 9)：

Ser-Tyr-Glu-Asp-Glu-Asp-Glu-Gly-Glu-Glu

【0279】 TTL識別序列(SEQ ID NO: 10)：

Ser-Phe-Glu-Glu-Glu-Asn-Glu-Gly-Glu-Glu

【0280】 貝倫妥昔輕鏈，其包含Gly-Gly-Gly-Gly-Ser-連接子以及在C末端的TTL識別序列(SEQ ID NO: 11)：

Asp-Ile-Val-Leu-Thr-Gln-Ser-Pro-Ala-Ser-Leu-Ala-Val-Ser-Leu-Gly-Gln-Arg-Ala-Thr-Ile-Ser-Cys-Lys-Ala-Ser-Gln-Ser-Val-Asp-Phe-Asp-Gly-Asp-Ser-Tyr-Met-Asn-Tyr-Tyr-Gln-Gln-Lys-Pro-Gly-Gln-Pro-Pro-Lys-Val-Leu-Ile-Tyr-Ala-Ala-Ser-Asn-Leu

u-Glu-Ser-Gly-Ile-Pro-Ala-Arg-Phe-Ser-Gly-Ser-Gly-Ser-Gly-Thr-Asp-Phe-Thr-Leu-
-Asn-Ile-His-Pro-Val-Glu-Glu-Glu-Asp-Ala-Ala-Thr-Tyr-Tyr-Cys-Gln-Gln-Ser-Asn-
Glu-Asp-Pro-Trp-Thr-Phe-Gly-Gly-Gly-Thr-Lys-Leu-Glu-Ile-Lys-Arg-Thr-Val-Ala-
Ala-Pro-Ser-Val-Phe-Ile-Phe-Pro-Pro-Ser-Asp-Glu-Gln-Leu-Lys-Ser-Gly-Thr-Ala-S
er-Val-Val-Cys-Leu-Leu-Asn-Asn-Phe-Tyr-Pro-Arg-Glu-Ala-Lys-Val-Gln-Trp-Lys-
Val-Asp-Asn-Ala-Leu-Gln-Ser-Gly-Asn-Ser-Gln-Glu-Ser-Val-Thr-Glu-Gln-Asp-Ser
-Lys-Asp-Ser-Thr-Tyr-Ser-Leu-Ser-Ser-Thr-Leu-Thr-Leu-Ser-Lys-Ala-Asp-Tyr-Glu-
Lys-His-Lys-Val-Tyr-Ala-Cys-Glu-Val-Thr-His-Gln-Gly-Leu-Ser-Ser-Pro-Val-Thr-
Lys-Ser-Phe-Asn-Arg-Gly-Glu-Cys-Gly-Gly-Gly-Gly-Ser-Val-Asp-Ser-Val-Glu-Gly
-Glu-Gly-Glu-Glu-Glu-Gly-Glu-Glu

【0281】 在C末端與TTL識別序列(SEQ ID NO: 12)融合的貝倫妥昔重鏈：

Gln-Ile-Gln-Leu-Gln-Gln-Ser-Gly-Pro-Glu-Val-Val-Lys-Pro-Gly-Ala-Ser-Val-Lys-Il
e-Ser-Cys-Lys-Ala-Ser-Gly-Tyr-Thr-Phe-Thr-Asp-Tyr-Tyr-Ile-Thr-Trp-Val-Lys-Gln
-Lys-Pro-Gly-Gln-Gly-Leu-Glu-Trp-Ile-Gly-Trp-Ile-Tyr-Pro-Gly-Ser-Gly-Asn-Thr-
Lys-Tyr-Asn-Glu-Lys-Phe-Lys-Gly-Lys-Ala-Thr-Leu-Thr-Val-Asp-Thr-Ser-Ser-Ser-
Thr-Ala-Phe-Met-Gln-Leu-Ser-Ser-Leu-Thr-Ser-Glu-Asp-Thr-Ala-Val-Tyr-Phe-Cys-
Ala-Asn-Tyr-Gly-Asn-Tyr-Trp-Phe-Ala-Tyr-Trp-Gly-Gln-Gly-Thr-Gln-Val-Thr-Val
-Ser-Ala-Ala-Ser-Thr-Lys-Gly-Pro-Ser-Val-Phe-Pro-Leu-Ala-Pro-Ser-Ser-Lys-Ser-T
hr-Ser-Gly-Gly-Thr-Ala-Ala-Leu-Gly-Cys-Leu-Val-Lys-Asp-Tyr-Phe-Pro-Glu-Pro-
Val-Thr-Val-Ser-Trp-Asn-Ser-Gly-Ala-Leu-Thr-Ser-Gly-Val-His-Thr-Phe-Pro-Ala-
Val-Leu-Gln-Ser-Ser-Gly-Leu-Tyr-Ser-Leu-Ser-Ser-Val-Val-Thr-Val-Pro-Ser-Ser-Se
r-Leu-Gly-Thr-Gln-Thr-Tyr-Ile-Cys-Asn-Val-Asn-His-Lys-Pro-Ser-Asn-Thr-Lys-Va
l-Asp-Lys-Lys-Val-Glu-Pro-Lys-Ser-Cys-Asp-Lys-Thr-His-Thr-Cys-Pro-Pro-Cys-Pr

o-Ala-Pro-Glu-Leu-Leu-Gly-Gly-Pro-Ser-Val-Phe-Leu-Phe-Pro-Pro-Lys-Pro-Lys-Asp-Thr-Leu-Met-Ile-Ser-Arg-Thr-Pro-Glu-Val-Thr-Cys-Val-Val-Val-Asp-Val-Ser-His-Glu-Asp-Pro-Glu-Val-Lys-Phe-Asn-Trp-Tyr-Val-Asp-Gly-Val-Glu-Val-His-Asn-Ala-Lys-Thr-Lys-Pro-Arg-Glu-Glu-Gln-Tyr-Asn-Ser-Thr-Tyr-Arg-Val-Val-Ser-Val-Leu-Thr-Val-Leu-His-Gln-Asp-Trp-Leu-Asn-Gly-Lys-Glu-Tyr-Lys-Cys-Lys-Val-Ser-Asn-Lys-Ala-Leu-Pro-Ala-Pro-Ile-Glu-Lys-Thr-Ile-Ser-Lys-Ala-Lys-Gly-Gln-Pro-Arg-Glu-Pro-Gln-Val-Tyr-Thr-Leu-Pro-Pro-Ser-Arg-Asp-Glu-Leu-Thr-Lys-Asn-Gln-Val-Ser-Leu-Thr-Cys-Leu-Val-Lys-Gly-Phe-Tyr-Pro-Ser-Asp-Ile-Ala-Val-Glu-Trp-Glu-Ser-Asn-Gly-Gln-Pro-Glu-Asn-Asn-Tyr-Lys-Thr-Thr-Pro-Pro-Val-Leu-Asp-Ser-Asp-Gly-Ser-Phe-Phe-Leu-Tyr-Ser-Lys-Leu-Thr-Val-Asp-Lys-Ser-Arg-Trp-Gln-Gln-Gly-Asn-Val-Phe-Ser-Cys-Ser-Val-Met-His-Glu-Ala-Leu-His-Asn-His-Tyr-Thr-Gln-Lys-Ser-Leu-Ser-Leu-Ser-Pro-Gly-Lys-Val-Asp-Ser-Val-Glu-Gly-Glu-Gly-Glu-Glu-Glu-Gly-Glu-Glu

【0282】 來自灰狼的TTL(SEQ ID NO: 13)：

Met-Tyr-Thr-Phe-Val-Val-Arg-Asp-Glu-Asn-Ser-Ser-Val-Tyr-Ala-Glu-Val-Ser-Arg-Leu-Leu-Leu-Ala-Thr-Gly-His-Trp-Lys-Arg-Leu-Arg-Arg-Asp-Asn-Pro-Arg-Phe-Asn-Leu-Met-Leu-Gly-Glu-Arg-Asn-Arg-Leu-Pro-Phe-Gly-Arg-Leu-Gly-His-Glu-Pro-Gly-Leu-Met-Gln-Leu-Val-Asn-Tyr-Tyr-Arg-Gly-Ala-Asp-Lys-Leu-Cys-Arg-Lys-Ala-Ser-Leu-Val-Lys-Leu-Ile-Lys-Thr-Ser-Pro-Asp-Leu-Ala-Glu-Ser-Cys-Thr-Trp-Phe-Pro-Glu-Ser-Tyr-Val-Ile-Tyr-Pro-Thr-Asn-Leu-Lys-Thr-Pro-Val-Ala-Pro-Ala-Gln-Asn-Gly-Ile-His-Pro-Pro-Ile-His-Asn-Ser-Arg-Thr-Asp-Glu-Arg-Glu-Phe-Phe-Leu-Ala-Ser-Tyr-Asn-Arg-Lys-Lys-Glu-Asp-Gly-Glu-Gly-Asn-Val-Trp-Ile-Ala-Lys-Ser-Ser-Ala-Gly-Ala-Lys-Gly-Glu-Gly-Ile-Leu-Ile-Ser-Ser-Glu-Ala-Thr-Glu-Leu-Leu-A

sp-Phe-Ile-Asp-Asn-Gln-Gly-Gln-Val-His-Val-Ile-Gln-Lys-Tyr-Leu-Glu-His-Pro-Leu-Leu-Leu-Glu-Pro-Gly-His-Arg-Lys-Phe-Asp-Ile-Arg-Ser-Trp-Val-Leu-Val-Asp-His-Gln-Tyr-Asn-Ile-Tyr-Leu-Tyr-Lys-Glu-Gly-Val-Leu-Arg-Thr-Ala-Ser-Glu-Pro-Tyr-His-Val-Asp-Asn-Phe-Gln-Asp-Lys-Thr-Cys-His-Leu-Thr-Asn-His-Cys-Ile-Gln-Lys-Glu-Tyr-Ser-Lys-Asn-Tyr-Gly-Lys-Tyr-Glu-Glu-Gly-Asn-Glu-Met-Phe-Phe-Glu-Glu-Phe-Asn-Gln-Tyr-Leu-Ile-Ser-Ala-Leu-Asn-Ile-Thr-Leu-Glu-Ser-Ser-Ile-Leu-Leu-Gln-Ile-Lys-His-Ile-Ile-Arg-Ser-Cys-Leu-Met-Ser-Val-Glu-Pro-Ala-Ile-Ser-Thr-Arg-Tyr-Leu-Pro-Tyr-Gln-Ser-Phe-Gln-Leu-Phe-Gly-Phe-Asp-Phe-Met-Val-Asp-Glu-Thr-Leu-Lys-Val-Trp-Leu-Ile-Glu-Val-Asn-Gly-Ala-Pro-Ala-Cys-Ala-Gln-Arg-Leu-Tyr-Ala-Glu-Leu-Cys-Gln-Gly-Ile-Val-Asp-Ile-Ala-Ile-Ser-Ser-Val-Phe-Pro-Pro-Pro-Asp-Val-Glu-Pro-Gln-His-Ile-Gln-Pro-Ala-Ala-Phe-Ile-Lys-Leu

【0283】 在C末端包含TTL識別序列(SEQ ID NO: 14)的貝倫妥昔輕鏈：

Asp-Ile-Val-Leu-Thr-Gln-Ser-Pro-Ala-Ser-Leu-Ala-Val-Ser-Leu-Gly-Gln-Arg-Ala-Thr-Ile-Ser-Cys-Lys-Ala-Ser-Gln-Ser-Val-Asp-Phe-Asp-Gly-Asp-Ser-Tyr-Met-Asn-Trp-Tyr-Gln-Gln-Lys-Pro-Gly-Gln-Pro-Pro-Lys-Val-Leu-Ile-Tyr-Ala-Ala-Ser-Asn-Leu-Glu-Ser-Gly-Ile-Pro-Ala-Arg-Phe-Ser-Gly-Ser-Gly-Ser-Gly-Thr-Asp-Phe-Thr-Leu-Asn-Ile-His-Pro-Val-Glu-Glu-Glu-Asp-Ala-Ala-Thr-Tyr-Tyr-Cys-Gln-Gln-Ser-Asn-Glu-Asp-Pro-Trp-Thr-Phe-Gly-Gly-Gly-Thr-Lys-Leu-Glu-Ile-Lys-Arg-Thr-Val-Ala-Ala-Pro-Ser-Val-Phe-Ile-Phe-Pro-Pro-Ser-Asp-Glu-Gln-Leu-Lys-Ser-Gly-Thr-Ala-Ser-Val-Val-Cys-Leu-Leu-Asn-Asn-Phe-Tyr-Pro-Arg-Glu-Ala-Lys-Val-Gln-Trp-Lys-Val-Asp-Asn-Ala-Leu-Gln-Ser-Gly-Asn-Ser-Gln-Glu-Ser-Val-Thr-Glu-Gln-Asp-Ser-Lys-Asp-Ser-Thr-Tyr-Ser-Leu-Ser-Ser-Thr-Leu-Thr-Leu-Ser-Lys-Ala-Asp-Tyr-Glu-Lys-His-Lys-Val-Tyr-Ala-Cys-Glu-Val-Thr-His-Gln-Gly-Leu-Ser-Ser-Pro-Val-Thr-

Lys-Ser-Phe-Asn-Arg-Gly-Glu-Cys-Val-Asp-Ser-Val-Glu-Gly-Glu-Gly-Glu-Glu-Glu-Gly-Glu-Glu

本發明的項目

本發明進一步涉及以下項目：

1.一種抗體-藥物共軛體(ADC)，其包含：

(a)貝倫妥昔(brentuximab)，其中貝倫妥昔在該貝倫妥昔的輕鏈、重鏈或全部重鏈及輕鏈的C末端包含微管蛋白酪胺酸連接酶的識別序列及非天然胺基酸；以及

(b)至少一種藥物部分；

其中藥物部分透過連接子與該等非天然胺基酸的每一個共軛。

2.如項目1之ADC，其中貝倫妥昔的重鏈具有包含SEQ ID NO: 1的胺基酸序列或與SEQ ID NO: 1具有至少95%的序列一致性，及/或其中貝倫妥昔的輕鏈具有包含SEQ ID NO: 2的胺基酸序列或與SEQ ID NO: 2具有至少95%的序列一致性；較佳地，貝倫妥昔由重鏈及輕鏈所組成，該等重鏈由SEQ ID NO: 1的胺基酸序列所組成，且該等輕鏈由SEQ ID NO: 2的胺基酸序列所組成。

3.如前述項目中任一項之ADC，其中該藥物部分選自由以下組成的群組：喜樹鹼、類美登素(maytansinoid)、卡奇黴素(calicheamycin)、倍癌黴素(duocarmycin)、微管溶素(tubulysin)、鵝膏毒素(amatotoxin)、尾海兔素(dolastatin)及阿瑞他汀(auristatin)，諸如單甲基阿瑞他汀E(MMAE)、吡咯并苯并二氮呋二聚體、吲哚啉并-苯并二氮呋二聚體、放射性同位素、治療性蛋白及肽(或其片段)、核酸、PROTAC、激酶抑制劑、MEK抑制劑、KSP抑制劑、及其類似物或前驅藥；較佳地，該藥物部分為MMAE。

4.如前述項目中任一項之ADC，其中該微管蛋白酪胺酸連接酶的識別序列至少具有胺基酸序列 $X_1X_2X_3X_4$ (SEQ ID NO: 3)，其中 X_1 及 X_2 為任意胺基酸， X_3 為E、D或C，且 X_4 為E；較佳其中 X_2 為G、S、A、V或F，及/或其中 X_1 為E、D、A、K或P。

5.如前述項目中任一項之ADC，其中該識別序列為EGEE(SEQ ID No. 4)，較佳其中該識別序列為VDSVEGEGEEEGEE(SEQ ID No. 5)、SVEGEGEEEGEE(SEQ ID No. 6)、SADGEDEGEE(SEQ ID No. 7)、SVEAEAEEGEE(SEQ ID No. 8)、SYEDEDEGEE(SEQ ID No. 9)、或SFEEENEGEE(SEQ ID No. 10)。

6.如前述項目中任一項之ADC，其中該非天然胺基酸為2-取代、3-取代或4-取代的酪胺酸，或在苳基位置取代的酪胺酸衍生物。

7.如項目6之ADC，其中該3-取代或4-取代的酪胺酸衍生物為3-硝基酪胺酸、3-胺基酪胺酸、3-疊氮基酪胺酸、3-甲醯基酪胺酸、3-乙醯酪胺酸、或4-胺基苯丙胺酸；較佳地，該非天然胺基酸為3-甲醯基酪胺酸。

8.如前述項目中任一項之ADC，其中該連接子為可裂解的，較佳為蛋白酶可裂解的，更佳為組織蛋白酶(諸如組織蛋白酶B)可裂解的。

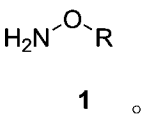
8a.如項目1到7中任一項之ADC，其中該連接子為不可裂解的。

9.如前述項目中任一項之ADC，其中該連接子包含纈胺酸-瓜胺酸部分。

10.如前述項目中任一項之ADC，其中該連接子包含羥胺基團且該非天然胺基酸包含位於芳環(諸如3-甲醯基酪胺酸)中羥基鄰位的甲醯基，且其中共軛後該連接子的該羥胺基團與該非天然胺基酸的甲醯基形成酐。

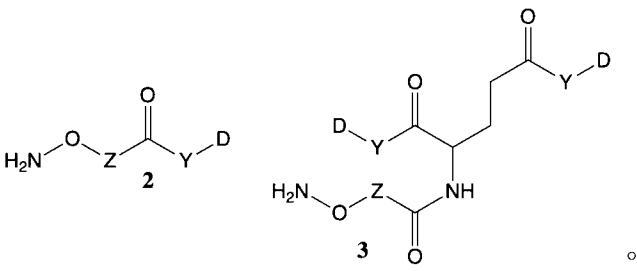
11.如前述項目中任一項之ADC，其中貝倫妥昔與兩個、四個、六個或八個，較佳與兩個或四個藥物部分，更佳與兩個藥物部分共軛。

12.如前述項目中任一項之ADC，其中該連接子在與該非天然胺基酸共軛之前具有如結構1所示的結構：



其中R為一或多個藥物部分，其任選地藉由一或多個裂解位點與結構1的該羥胺共軛，較佳其中結構1的該羥胺與該非天然胺基酸共軛。

13.如前述項目中任一項之ADC，其中該連接子在與該非天然胺基酸共軛之前具有如結構2或3所示的結構：



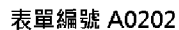
其中Z選自由以下組成的群組：取代或未取代的烷基、取代或未取代的烯基、取代或未取代的炔基、取代或未取代的環烷基、取代或未取代的芳基、取代或未取代的芳烷基、取代或未取代的雜芳基、取代或未取代的雜芳烷基、取代或未取代的雜環基、取代或未取代的雜烷基、取代或未取代的雜烯基、及取代或未取代的雜炔基；

其中D為一或多個藥物部分；以及

其中Y為裂解位點，諸如組織蛋白酶(諸如組織蛋白酶B)的裂解位點；

較佳其中結構2或結構3的該羥胺與該非天然胺基酸共軛。

14.如前述項目中任一項之ADC，其中該連接子在與該非天然胺基酸共軛之前具有如結構4或5所示的結構，其中D為藥物部分，較佳為MMAE：



1113105940-0

(a) 貝倫妥昔，其中貝倫妥昔在每個輕鏈的C末端包含微管蛋白-酪胺酸連接酶的識別序列；

貝倫妥昔的每個重鏈具有SEQ ID NO: 1；以及

CC(C)[C@H](NC(=O)CC[C@H](NC(=O)Nc1ccc(COC(=O)N2C(C)C(=O)N2C)cc1)C(=O)N[C@@H](C)C(=O)CO/N=N/c3ccc(O)cc3CC[C@H](O)C(=O)N

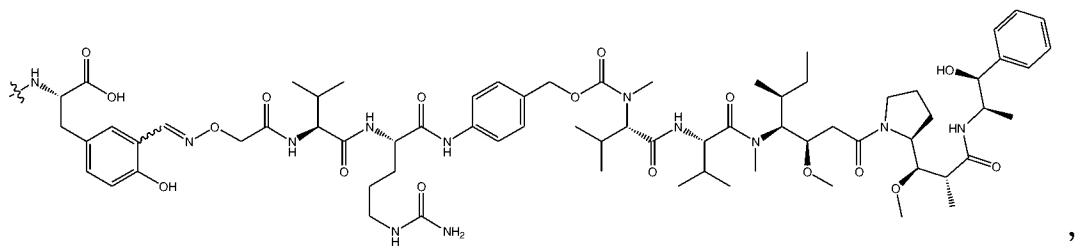
其中波浪線表示與每個輕鏈的該識別序列的該C末端的連接。

17.一種抗體-藥物共軛體(ADC)，其包含：

(a)貝倫妥昔，其中貝倫妥昔在每個重鏈的C末端包含微管蛋白-酪胺酸連接酶的識別序列；

每個重鏈，包括識別序列，具有SEQ ID NO: 12；且貝倫妥昔的每個輕鏈具有SEQ ID NO: 2；以及

(b)每個重鏈的該識別序列的該C末端經由醯胺鍵與具有以下結構的基團結合：



其中波浪線表示與每個重鏈的該識別序列的該C末端的連接。

18.一種抗體-藥物共軛體(ADC)，其包含：

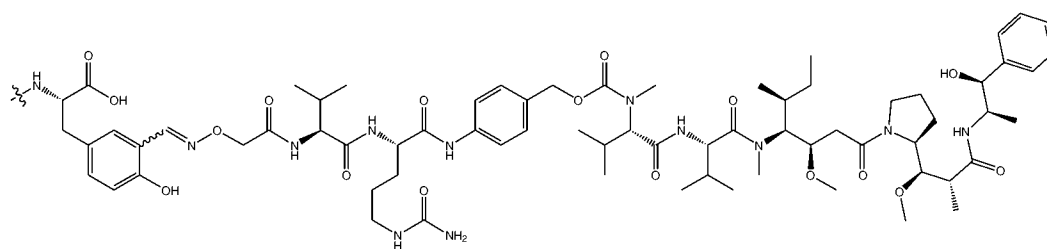
(a)貝倫妥昔，其中貝倫妥昔在每個重鏈的C末端包含微管蛋白-酪胺酸連接酶的識別序列；

每個重鏈，包括該識別序列，具有SEQ ID NO: 12；且

其中貝倫妥昔在每個輕鏈的C末端包含微管蛋白-酪胺酸連接酶的識別序列；

每個輕鏈，包括該識別序列，具有SEQ ID NO: 11；且

(b)每個重鏈的該識別序列的該C末端及每個輕鏈的該識別序列的該C末端經由醯胺鍵與具有以下結構的基團結合：



其中波浪線表示與每個重鏈的該識別序列的該C末端及每個輕鏈的該識別序列的該C末端的連接。

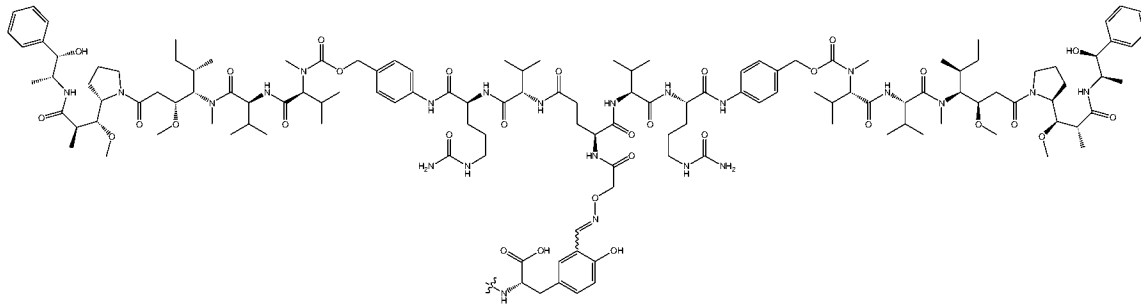
19.一種抗體-藥物共軛體(ADC)，其包含：

(a) 貝倫妥昔，其中貝倫妥昔在每個輕鏈的C末端包含微管蛋白-酪胺酸連接酶的識別序列；

每個輕鏈，包括該識別序列，具有SEQ ID NO: 11；且

貝倫妥昔的每個重鏈具有SEQ ID NO: 1；以及

(b)每個輕鏈的該識別序列的該C末端經由醯胺鍵與具有以下結構的基團結合：



其中波浪線表示與每個輕鏈的該識別序列的該C末端的連接。

20.一種製造如項目1到19中任一項所界定之ADC之方法，其包含：

(a)在貝倫妥昔的輕鏈、重鏈或輕鏈及重鏈兩者的C末端引入或添加微管蛋白酪胺酸連接酶的識別序列；

(b)在微管蛋白酪胺酸連接酶及非天然胺基酸存在下，在適合微管蛋白酪胺酸連接酶使該貝倫妥昔與該非天然胺基酸連接的條件下，使步驟(a)中獲得的貝倫妥昔接觸；以及

(c)使包含藥物部分的任選可裂解的連接子與步驟(b)中獲得的經連接的該貝倫妥昔共軛。

21.一種ADC，其可藉由項目20之方法獲得或正在獲得。

22.一種醫藥組合物，其包含項目1到19或21中任一項之ADC。

23.一種如項目1到19或21中任一項之ADC或如項目22之醫藥組合物供使用於治療疾病的方法。

24.如項目23之供使用之ADC或醫藥組合物，其中該疾病與CD30的過度表現有關。

25.如項目23或24之供使用之ADC或醫藥組合物之用途，其中該疾病選自由以下組成的群組：淋巴瘤，諸如何杰金氏淋巴瘤(HL)、非何杰金氏淋巴瘤(NHL)、退行性大細胞淋巴瘤(ALCL)、大型B細胞淋巴瘤、兒童淋巴瘤、T細胞淋巴瘤及腸病變相關T細胞淋巴瘤(EATL)；白血病，諸如急性骨髓性白血病(AML)、急性淋巴母細胞白血病(ALL)及肥大細胞白血病；生殖細胞癌；移植物抗宿主病(GvHD)；以及狼瘡，特別是全身性紅斑狼瘡(SLE)；較佳為何杰金氏淋巴瘤(HL)或退行性大細胞淋巴瘤(ALCL)。

25a.如項目23或24之供使用之ADC或醫藥組合物之用途，其中該疾病選自由以下組成的群組：非特指型的周邊T細胞淋巴瘤(PTCL-NOS)、血管免疫母細胞T細胞淋巴瘤(AITL)、腸病變相關T細胞淋巴瘤(EATL)、成人T細胞白血病/淋

巴瘤(ATLL)、結外自然殺手/T細胞淋巴瘤(ENKTCL)、肝脾及腸道 γ/δ -T細胞淋巴瘤、具有TFH表現型的結性周邊T細胞淋巴瘤、以及濾泡性T細胞淋巴瘤。

25b.如項目23或24之供使用之ADC或醫藥組合物之用途，其中該疾病為周邊T細胞淋巴瘤(PTCL)，包括退行性大細胞淋巴瘤(ALCL)；或皮膚T細胞淋巴瘤(CTCL)，包括原發性皮膚退行性大細胞淋巴瘤(pcALCL)。

26.一種如項目1到19或21之ADC之用途，其用於製造用於治療與CD30的過度表現相關的疾病的藥物。

27.如項目26之用途，其中該疾病選自由以下組成的群組：淋巴瘤，諸如何杰金氏淋巴瘤(HL)、非何杰金氏淋巴瘤(NHL)、退行性大細胞淋巴瘤(ALCL)、大型B細胞淋巴瘤、兒童淋巴瘤、T細胞淋巴瘤及腸病變相關T細胞淋巴瘤(EATL)；白血病，諸如急性骨髓性白血病(AML)、急性淋巴母細胞白血病(ALL)及肥大細胞白血病；生殖細胞癌；移植物抗宿主病(GvHD)；以及狼瘡，特別是全身性紅斑狼瘡(SLE)。

28.如項目27之用途，其中該疾病為何杰金氏淋巴瘤(HL)或退行性大細胞淋巴瘤(ALCL)。

28a.如項目26之用途，其中該疾病選自由以下組成的群組：非特指型的周邊T細胞淋巴瘤(PTCL-NOS)、血管免疫母細胞T細胞淋巴瘤(AITL)、腸病變相關T細胞淋巴瘤(EATL)、成人T細胞白血病/淋巴瘤(ATLL)、結外自然殺手/T細胞淋巴瘤(ENKTCL)、肝脾及腸道 γ/δ -T細胞淋巴瘤、具有TFH表現型的結性周邊T細胞淋巴瘤、以及濾泡性T細胞淋巴瘤。

28b.如項目26之用途，其中該疾病為周邊T細胞淋巴瘤(PTCL)，包括退行性大細胞淋巴瘤(ALCL)；或皮膚T細胞淋巴瘤(CTCL)，包括原發性皮膚退行性大細胞淋巴瘤(pcALCL)。

29.一種如項目22之醫藥組合物之用途，其用於製造用於治療與CD30過度表現相關的疾病的藥物。

30.如項目29之用途，其中該疾病選自由以下組成的群組：淋巴瘤，諸如何杰金氏淋巴瘤(HL)、非何杰金氏淋巴瘤(NHL)、退行性大細胞淋巴瘤(ALCL)、大型B細胞淋巴瘤、兒童淋巴瘤、T細胞淋巴瘤及腸病變相關T細胞淋巴瘤(EATL)；白血病，諸如急性骨髓性白血病(AML)、急性淋巴母細胞白血病(ALL)及肥大細胞白血病；生殖細胞癌；移植物抗宿主病(GvHD)；以及狼瘡，特別是全身性紅斑狼瘡(SLE)。

31.如項目30之用途，其中該疾病為何杰金氏淋巴瘤(HL)或退行性大細胞淋巴瘤(ALCL)。

31a.如項目29之用途，其中該疾病選自由以下組成的群組：非特指型的周邊T細胞淋巴瘤(PTCL-NOS)、血管免疫母細胞T細胞淋巴瘤(AITL)、腸病變相關T細胞淋巴瘤(EATL)、成人T細胞白血病/淋巴瘤(ATLL)、結外自然殺手/T細胞淋巴瘤(ENKTCL)、肝脾及腸道 γ/δ -T細胞淋巴瘤、具有TFH表現型的結性周邊T細胞淋巴瘤、以及濾泡性T細胞淋巴瘤。

31b.如項目29之用途，其中該疾病為周邊T細胞淋巴瘤(PTCL)，包括退行性大細胞淋巴瘤(ALCL)；或皮膚T細胞淋巴瘤(CTCL)，包括原發性皮膚退行性大細胞淋巴瘤(pcALCL)。

32.一種治療與CD30過度表現相關的疾病之方法，其包括使有效量的如項目1到19中任一項的ADC施加到有需要其的個體或患者。

33.如項目32之方法，其中該疾病為與CD30過度表現相關的癌症。

34.如項目32或33之方法，其中該疾病選自由以下組成的群組：淋巴瘤，諸如何杰金氏淋巴瘤(HL)、非何杰金氏淋巴瘤(NHL)、退行性大細胞淋巴瘤(ALCL)、大型B細胞淋巴瘤、兒童淋巴瘤、T細胞淋巴瘤及腸病變相關T細胞淋巴瘤(EATL)；白血病，諸如急性骨髓性白血病(AML)、急性淋巴母細胞白血病(ALL)及肥大細胞白血病；生殖細胞癌；移植物抗宿主病(GvHD)；以及狼瘡，特別是全身性紅斑狼瘡(SLE)；較佳為何杰金氏淋巴瘤(HL)或退行性大細胞淋巴瘤(ALCL)。

35.如項目34之方法，其中該疾病為何杰金氏淋巴瘤(HL)或退行性大細胞淋巴瘤(ALCL)。

35a.如項目32或33之方法，其中該疾病選自由以下組成的群組：非特指型的周邊T細胞淋巴瘤(PTCL-NOS)、血管免疫母細胞T細胞淋巴瘤(AITL)、腸病變相關T細胞淋巴瘤(EATL)、成人T細胞白血病/淋巴瘤(ATLL)、結外自然殺手/T細胞淋巴瘤(ENKTCL)、肝脾及腸道 γ/δ -T細胞淋巴瘤、具有TFH表現型的結性周邊T細胞淋巴瘤、以及濾泡性T細胞淋巴瘤。

35b.如項目32或33之方法，其中該疾病為周邊T細胞淋巴瘤(PTCL)，包括退行性大細胞淋巴瘤(ALCL)；或皮膚T細胞淋巴瘤(CTCL)，包括原發性皮膚退行性大細胞淋巴瘤(pcALCL)。

36.如項目32到35b中任一項之方法，其中該ADC是以14 mg/kg、12 mg/kg、10 mg/kg、9 mg/kg、8 mg/kg、7 mg/kg、6 mg/kg、5 mg/kg、4 mg/kg、3 mg/kg、2 mg/kg或1 mg/kg的劑量施加；或以2–6 mg/kg的劑量施加。

37.一種治療與CD30過度表現相關的疾病之方法，其包括使有效量的如項目22的醫藥組合物施加到有需要其的個體或患者。

38.如項目37之方法，其中該疾病為與CD30過度表現相關的癌症。

39.如項目37或38之方法，其中該疾病選自由以下組成的群組：淋巴瘤，諸如何杰金氏淋巴瘤(HL)、非何杰金氏淋巴瘤(NHL)、退行性大細胞淋巴瘤(ALCL)、大型B細胞淋巴瘤、兒童淋巴瘤、T細胞淋巴瘤及腸病變相關T細胞淋巴瘤(EATL)；白血病，諸如急性骨髓性白血病(AML)、急性淋巴母細胞白血病(ALL)及肥大細胞白血病；生殖細胞癌；移植物抗宿主病(GvHD)；以及狼瘡，特別是全身性紅斑狼瘡(SLE)；較佳為何杰金氏淋巴瘤(HL)或退行性大細胞淋巴瘤(ALCL)。

40.如項目39之方法，其中該疾病為何杰金氏淋巴瘤(HL)或退行性大細胞淋巴瘤(ALCL)。

40a.如項目37或38之方法，其中該疾病選自由以下組成的群組：非特指型的周邊T細胞淋巴瘤(PTCL-NOS)、血管免疫母細胞T細胞淋巴瘤(AITL)、腸病變相關T細胞淋巴瘤(EATL)、成人T細胞白血病/淋巴瘤(ATLL)、結外自然殺手/T細胞淋巴瘤(ENKTCL)、肝脾及腸道 γ/δ -T細胞淋巴瘤、具有TFH表現型的結性周邊T細胞淋巴瘤、以及濾泡性T細胞淋巴瘤。

40b.如項目37或38之方法，其中該疾病為周邊T細胞淋巴瘤(PTCL)，包括退行性大細胞淋巴瘤(ALCL)；或皮膚T細胞淋巴瘤(CTCL)，包括原發性皮膚退行性大細胞淋巴瘤(pcALCL)。

41.如項目37到40b中任一項之方法，其中該ADC是以14 mg/kg、12 mg/kg、10 mg/kg、9 mg/kg、8 mg/kg、7 mg/kg、6 mg/kg、5 mg/kg、4 mg/kg、3 mg/kg、2 mg/kg或1 mg/kg的劑量施加；或以2–6 mg/kg的劑量施加。

【0284】 請注意，如本文所用，除非上下文有明確指示，否則單數形式「一」、「一個」及「該」包括複數指示物。因此，例如，提及「試劑」包括一或多個這樣的不同的試劑，且提及「方法」包括提及本領域普通技術人員已知的等同步驟及方法，其可以被修改或替代本文所述的方法。

【0285】 除非另有說明，否則在一系列元件之前的「至少」乙詞應理解為涉及該系列中的每個元件。本領域技術人員將認識到，或不需要使用典型實驗即可確定許多與本文所述的本發明的特定具體實施例的等同實施例。這樣的等同實施例旨在涵蓋在本發明中。

【0286】 本文中使用的「及/或」乙詞包括「及」、「或」及「由該用語連接的元件的所有或任何其他組合」的含義。

【0287】 「小於」或「大於」等詞不包括具體的數字。

【0288】 例如，小於20意味著小於所指示的數字。類似地，多於或大於意味著多於或大於所指示的數字，例如多於80%涉及多於或大於所指示的80%的數字。

【0289】 在整篇說明書及隨後的申請專利範圍中，除非上下文另有要求，否則「包括」詞語及其變體，諸如「包括」及「包含」，應理解為暗示包括所述的整數或步驟或整數或步驟的群組，但不排除任何其他整數或步驟或整數或步驟的群組。當在本文中使用时，「包含」乙詞可用「含有」或「包括」等詞代替，或有時當在本文中使用时以「具有」乙詞代替。當在本文中使用时，「由...所組成」排除未指定的任何元件、步驟或成分。

【0290】 「包括」乙詞涉及「包括但不限於」。「包括」及「包括但不限於」可互換使用。

【0291】 如本文所用，「約」、「大約」或「實質上」等詞是指在給定值或範圍的20%內，較佳在15%內，較佳在10%內，且更佳在5%內。其也包括具體的數字，也就是「約20」包括數字20。

【0292】 應當理解，本發明不限於本文所述的特定方法、方案、材料、試劑及物質等，且因此可變化。本文使用的用語僅用於描述特定具體實施例的目的，並不旨在限制本發明的範圍，該範圍僅由申請專利範圍所界定。

【0293】 本說明書全文中引用的所有文獻(包括所有專利、專利申請、科學文獻、說明書等)，無論在上文或下文，均藉由引用而整體併入本文。本文中的任何內容均不應被解釋為承認本發明無權依靠在先發明而提前這種揭示。在藉由引用併入的材料與本說明書矛盾或不一致的程度，本說明書將取代任何這種材料。

【0294】 本文引用的所有文獻及專利文獻的內容藉由引用而整體併入本文。

實施例

【0295】 從以下僅用於說明目的之實例中可看出，將更好地理解本發明及其優點。這些實例不旨在以任何方式限制本發明的範圍。

材料及方法

化學品、材料、試劑及溶劑

【0296】 化學品及溶劑購自Merck(Merck group, 德國)、TCI(Tokyo chemical industry CO., LTD., 日本)及Acros Organics (Thermo Fisher scientific, 美國)、Sigma-Aldrich(Merck group, 德國)、Carl Roth(Carl Roth GmbH, 德國)、Cytiva(Cytiva UK Limited, 英國)，且無需進一步純化即可使用。無水溶劑購自Acros Organics(Thermo Fisher scientific, 美國)。

TTL表現及純化

【0297】 如前所述 (Schumacher 等人 (2015), *Angewandte Chemie (International ed. in English)*, 54:13787-13791、WO 2016/066749、WO 2017/186855)，微管蛋白-酪胺酸連接酶(TTL)在具有N-末端His-及SUMO3溶解性標籤的大腸桿菌BL21(DE3)中表現。在補充有卡那黴素(kanamycin)(30 µg/mL)的LB培養基中，在37°C、180 rpm下進行培養，直到OD₆₀₀達到0.6到0.8為止。使培養物冷卻到18°C後，以0.5 mM的IPTG誘導細胞，並在18°C下完成蛋白表現18小時。

【0298】 藉由離心收集培養物後，經由在補充有溶菌酶(100 µg/ml)、DNase(25 µg/ml)及PMSF(1 mM)的TTL結合緩衝液(20 mM Tris/HCl pH8.2、250 mM NaCl、20 mM 咪唑、3 mM β-硫醇基乙醇)中音波振盪進行裂解，接著在20,000 g下進行碎片離心30分鐘，並過濾上清液。

【0299】 使用5 ml His-Trap HP(Cytiva)對沖提緩衝液(20 mM Tris/HCl pH 8.2, 250 mM NaCl, 500 mM咪唑, 3 mM β -硫醇基乙醇)採用超過4 CV線性梯度, 以純化His-SUMO3-TTL。純化的蛋白質隨後在PD-10 Sephadex G-25M管柱(Cytiva)上藉由緩衝液交換到TTL儲存緩衝液(20 mM MOPS/KCl pH7.4、100 mM KCl、10 mM $MgCl_2$ 、50 mM L-精胺酸、3 mM β -硫醇基乙醇)中進行去鹽。使蛋白等分試樣急速冷凍並儲存在-80°C下。

貝倫妥昔Tub-tag表現及純化

【0300】 在懸浮適應的CHO細胞中進行貝倫妥昔Tub-tag的重組表現。種子在化學界定的條件下生長；藉由離心及隨後的過濾來收集不含動物組分的培養基及上清液。使用蛋白A親和層析法(MabSelect SuRe, Cytiva)實現純化。使HCCF的pH調節到7.5, 並以結合緩衝液(20 mM NaH_2PO_4 、50 mM NaCl、1 mM EDTA pH 7.5)平衡管柱。根據培養物的滴定量調整流速以實現在管柱上的最佳滯留時間。在沖提緩衝液(100 mM檸檬酸三鈉, pH 3.0)的步驟中進行沖提。在沖提物中和且緩衝液交換到儲存緩衝液(PBS、100 mM L-精胺酸)後, 使抗體以8到15 mg/mL、2到8°C下儲存(短期儲存), 或急速冷凍並儲存在-80°C下(長期儲存)。

採用TTL的貝倫妥昔Tub-tag共軛反應。

【0301】 根據先前文獻(Schumacher等人(2015), *Angewandte Chemie (International ed. in English)*, 54:13787-13791、WO 2016/066749、WO 2017/186855)進行TTL催化連接。簡而言之, 在由20 mM MOPS/KCl、100 mM KCl、10 mM $MgCl_2$ 、5 mM ATP、5 mM 3-甲醯基-L-酪胺酸、PH值7.0組成的各種體積中, 使3-甲醯基-L-酪胺酸與貝倫妥昔Tub-tag單株抗體連接。調節pH值後, 加入貝倫妥昔Tub-tag及TTL, 且反應在18°C下進行12小時以使抗體酪胺酸化。

酪胺酸化貝倫妥昔-Tub-tag的純化

【0302】 稀釋粗酪胺酸化反應以降低傳導率(<10 mS/cm)。隨後使混合物負載到5 mL HiTrap Capto Q ImpRes管柱(Cytiva)中。在以5 CV AEX結合緩衝液(14.4 mM Na₂HPO₄、5.6 mM NaH₂PO₄，pH 4.5)及5 CV 10% AEX沖提緩衝液(14.4 mM Na₂HPO₄、5.6 mM NaH₂PO₄、1 M NaCl pH 4.5)洗滌管柱後，以超過10 CV線性梯度到50%的沖提緩衝液來實現酪胺酸化貝倫妥昔Tub-tag的沖提。以UV280方法(NanoPhotometer NP80，IMPLEN)測量含有區分的儲集(pooled)產物的蛋白濃度。

TTL反應後的脗連接

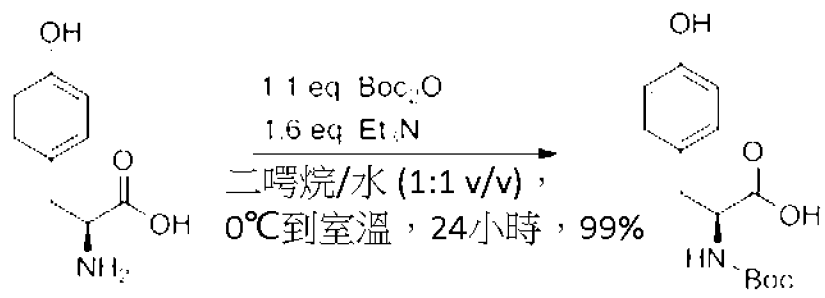
【0303】 調整經由陰離子交換層析法純化後酪胺酸化貝倫妥昔Tub-tag的蛋白濃度，並添加DMSO作為共溶劑(最終2% v/v)。在18°C下，使用稍微過量的**2**(HA-vc-PAB-MMAE)或**3**(HA-(VC-PAB-MMAE)₂)進行脗連接，直到反應完成為止。有效負載**2**及**3**的結構描述在**方案2**中。

貝倫妥昔Tub-tag ADC的純化

【0304】 以CEX結合緩衝液(1到1 v/v，14.4 mM Na₂HPO₄、5.6 mM NaH₂PO₄，pH 4.5)稀釋粗脗-連接物，並使其負載到5 mL HiTrap Capto S ImpAct管柱(Cytiva)中。在以10 CV CEX洗滌緩衝液(14.4 mM Na₂HPO₄、5.6 mM NaH₂PO₄、0.1% Triton-x-114，pH 4.5)及5 CV CEX結合緩衝液洗滌管柱後，以超過20 CV線性梯度到100%的CEX沖提緩衝液(14.4 mM Na₂HPO₄、5.6 mM NaH₂PO₄、1 M NaCl pH 4.5)來實現TUB-010的沖提。使儲集區分的pH調節到7.2。經由TFF(Vivaflow 50R)進行緩衝液交換，以配置緩衝液。

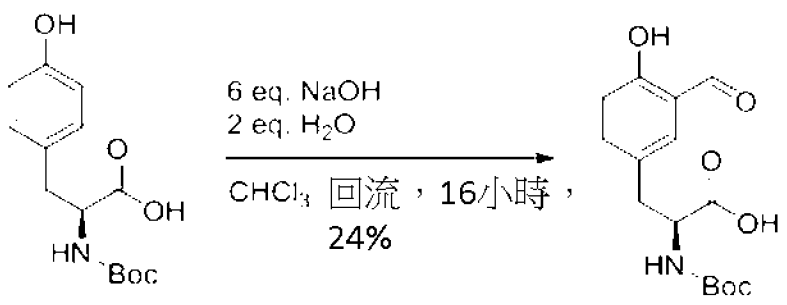
3-甲醯基-L-酪胺酸的合成

N-[(三級丁氧基)羰基]-L-酪胺酸



【0305】向20 g L-酪胺酸(0.110mol, 1當量)在300 ml H_2O 及300 ml 1,4-二噁烷中的溶液中緩慢加入24.5 ml三乙胺(0.176 mol, 1.6當量)。使反應混合物冷卻到 0°C , 並分批加入26.4 g二碳酸二三級丁酯(0.121 mol, 1.1當量)。然後, 使反應混合物緩慢升溫到室溫隔夜。減壓去除有機溶劑, 並以2N HCl 使溶液酸化到pH 1。以200 ml EtOAc 萃取水相3次、合併有機成分、以 MgSO_4 乾燥, 並減壓去除所有揮發物。得到所需化合物, 為白色固體(30.6 g, 0.109 mMol, 99%)。分析數據與先前報導的結果一致(Schumacher等人(2015), *Angewandte Chemie (International ed. in English)*, 54:13787-13791)。

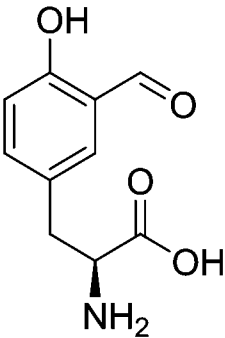
N-[(三級丁氧基)羰基]-L-甲醯基酪胺酸



【0306】向20 g N-[(三級丁氧基)羰基]-L-酪胺酸(0.071 mol, 1當量)在300 ml氯仿中的懸浮液中, 分批加入2.56 ml H_2O (0.142 mol, 2當量)及17.1 mg粉末狀氫氧化鈉(0.427 mol, 6當量)。在劇烈攪拌下使反應混合物加熱回流隔夜。然後使混合物冷卻到室溫, 並以300 ml H_2O 稀釋。分離出有機層並丟棄。以2N HCl 使水層酸化到pH 1, 並以200 ml EtOAc 萃取3次。合併有機成分、以 MgSO_4 乾燥,

並減壓去除所有揮發物。藉由二氧化矽管柱層析法純化(5% MeOH/CH₂Cl₂+ 0.5% 甲酸)粗產物，並得到淡黃色固體。(5.26 g，0.017 mol，24%)。分析數據與先前報導的結果一致(Schumacher等人(2015)，*Angewandte Chemie (International ed. in English)*，54:13787-13791)。

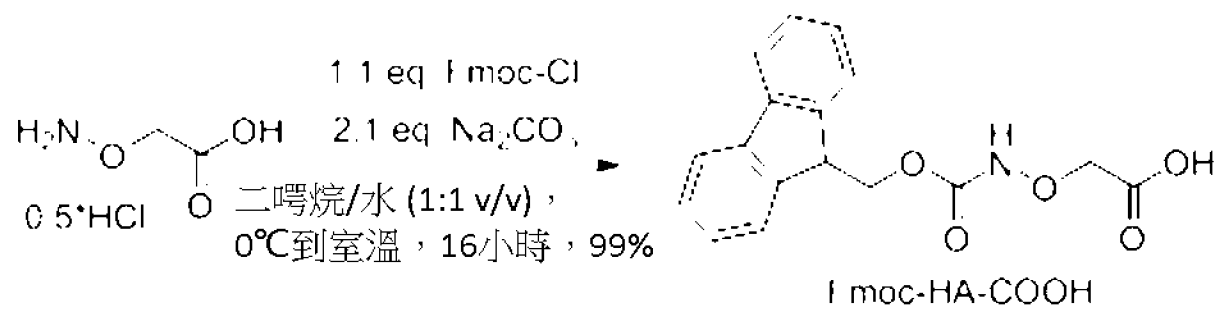
L-甲醯基酪胺酸TFA鹽



【0307】使500 mg N-[(三級丁氧基)羰基]-L-甲醯基酪胺酸(1.616 mmol，1 當量)懸浮在1 ml CH₂Cl₂中並冷卻到0°C。加入0.1 ml H₂O，然後滴加1 ml三氟乙酸。使反應混合物在0°C攪拌3小時，在氮氣流中去除所有揮發物，且粗產物藉由製備型HPLC(Gilson Inc)以VP 250/32 Macherey-Nagel Nucleodur C18 HTec Spum管柱(Macherey-Nagel GmbH)來純化，梯度如下：(A = H₂O + 0.1% TFA，B = MeCN(乙腈)+ 0.1% TFA，流率30 ml/分鐘，5% B 0到5分鐘，5到30% B 5到50分鐘，99% B 50到60分鐘。冷凍乾燥後得到所需產物TFA鹽，為淡黃色粉末。(397 mg，1.228 mmol，76%)。分析數據與先前報導的結果一致(Schumacher等人(2015)，*Angewandte Chemie (International ed. in English)*，54:13787-13791)。

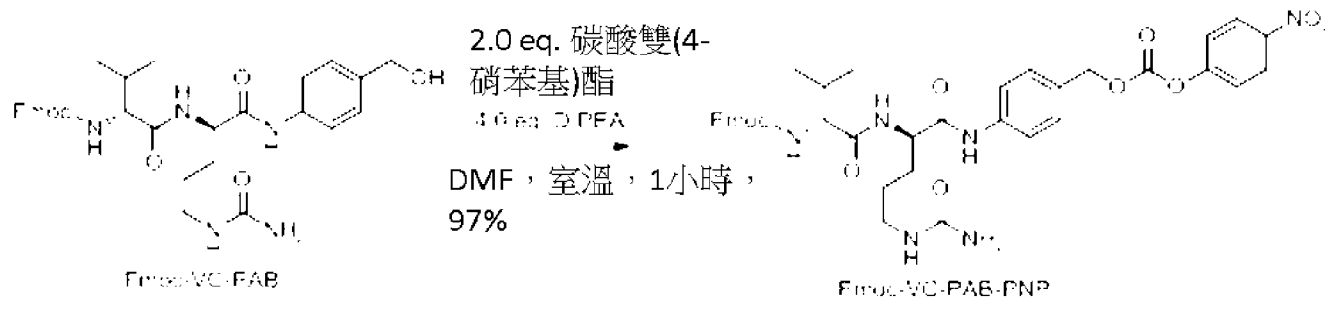
經胺- MMAE(HA-VC-PAB- MMAE)的合成

(Fmoc-胺基氧基)乙酸(FMOC-HA-COOH)



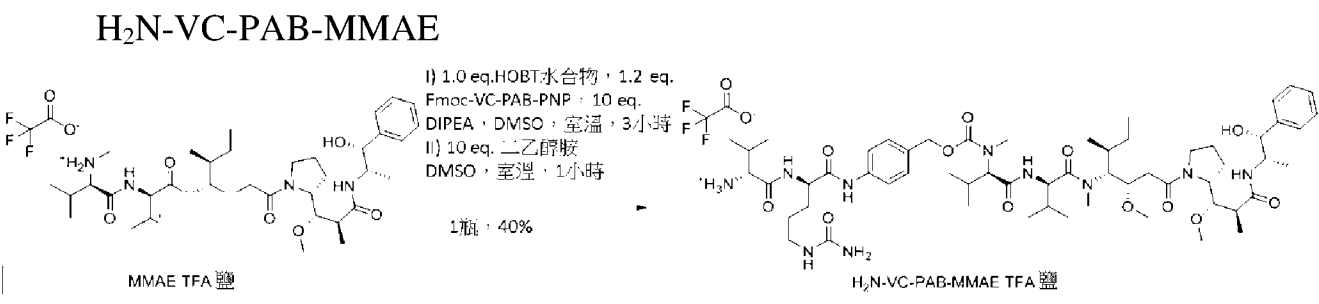
【0308】 在50 ml圓底燒瓶中加入100 mg(0.915 mmol，1.0當量)分批加入溶於4 ml水中的O-(羧甲基)羧胺半鹽酸鹽(Sigma-Aldrich)及240 mg(2.264 mmol，2.1當量)的碳酸鈉。使溶液冷卻到0℃，並滴加260 mg(1.005 mmol，1.1當量)芴甲氧羰基氯(TCI-chemicals)在2 ml 1,4-二噁烷中的溶液。使溶液升溫到室溫隔夜。減壓去除二噁烷、加入50 ml水，並以2 mol/l HCl酸化溶液。水相以乙酸乙酯萃取三次，且合併的有機相以MgSO₄乾燥。在減壓下去除所有揮發物，並得到所需化合物，為白色固體。(283 mg，99.0%)分析數據與先前報導的結果一致(Clavé等人(2008)，Organic & Biomolecular Chemistry，6:3065-3078)。

Fmoc-VC-PAB-PNP



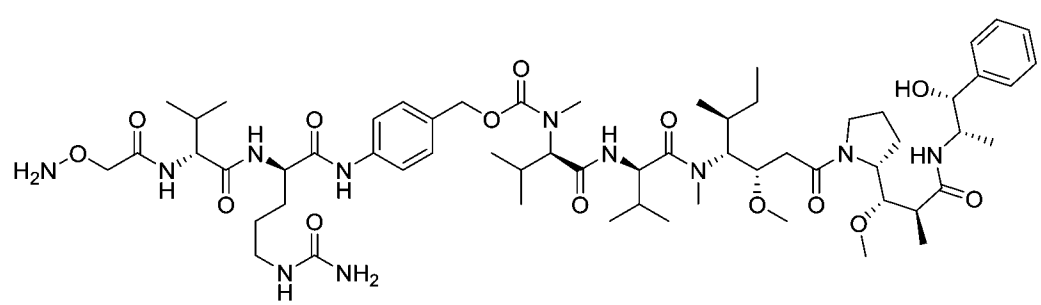
【0309】 在10 ml的螺帽小瓶中加入200 mg Fmoc-VC-PAB(0.333 mmol，1.0當量)、202 mg碳酸雙(4-硝苯基)酯(0.333 mmol，1.0當量)、及1 ml DMF。加入232 μl DIPEA(1.332 mmol，4.0當量)，且使反應在室溫下攪拌1小時。使反應混合物倒入冰冷的二乙醚中，並經由離心收集濾液。使濾液再次溶解在1 ml的DMF中，並第二次以冰冷的二乙醚沉澱。藉由離心收集沉澱物、真空乾燥，並得到所需

產物，為淡黃色粉末。(247 mg，97.0%)。分析數據與先前報導的結果一致 (WO2004010957)。



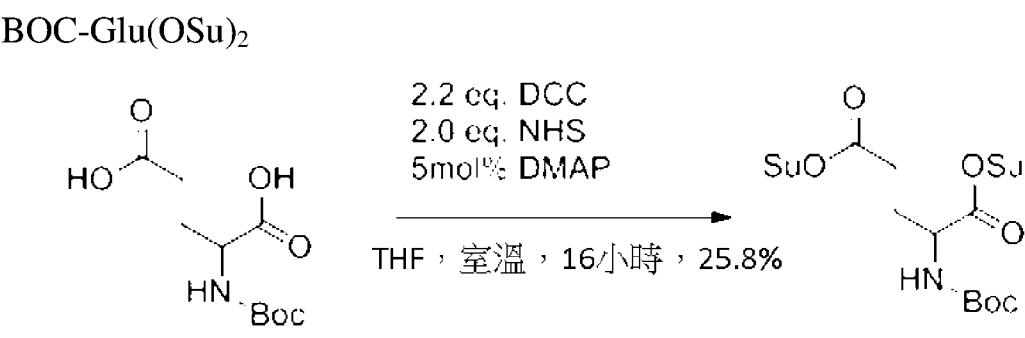
【0310】 在10 ml的螺帽小瓶中加入60 μ l 1mol/l MMAE TFA鹽在DMSO中的溶液(50 mg，0.06 mmol，1.0當量)、180 μ l 0.4 mol/L Fmoc-VC-PAB-PNP在DMSO中的溶液(0.072 mmol，1.2當量)、及60 μ l 1mol/l 羥基苯并三唑水合物在DMSO中的溶液(0.06 mmol，1.0當量)。加入105 μ l DIPEA(0.6 mmol，10.0當量)，使黃色溶液在室溫下攪拌3小時。在藉由UPLC/MS監測的MMAE原料完全消耗後，加入120 μ l 二乙醇胺在DMSO中的50%(w/w)溶液，並使黃色溶液進一步攪拌1小時。加入1.5 ml 乙腈及3 ml 水，並經由製備型HPLC(Gilson Inc)以VP 250/32 Macherey-Nagel Nucleodur C18 HTec Spum管柱(Macherey-Nagel GmbH)來純化溶液，梯度如下：(A = H₂O + 0.1% TFA，B = MeCN(乙腈)+ 0.1% TFA，流率30 ml/分鐘，30% B 0到5分鐘，30到60% B 5到25分鐘，99% B 25到35分鐘。冷凍乾燥後得到所需產物TFA鹽，為白色粉末。(29.5 mg，39.7%)。分析數據與先前報導的結果一致(Tang 等人(2016)，Organic & Biomolecular Chemistry，14(40): 9501-9518)。

HA-VC-PAB-MMAE

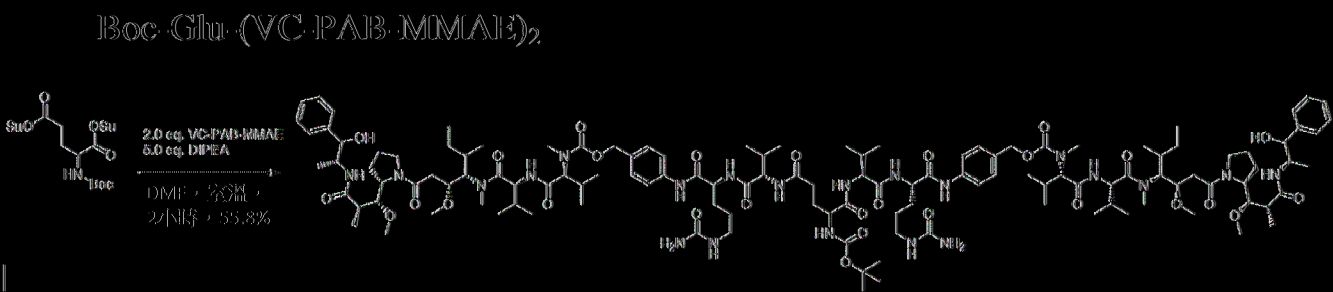


【0311】 在10 ml的螺帽小瓶中加入23.3 mg H₂N-VC-PAB-MMAE(0.0188 mmol，1.0當量)、38 μl 0.6mol/L Fmoc-HA-COOH在DMSO中的溶液(0.0226 mmol，1.2當量)、及38 μl 0.6 mol/L Pybop在DMSO中的溶液(0.0226 mmol，1.2當量)。加入33 μl DIPEA(0.1880 mmol，10.0當量)，並使溶液在室溫下攪拌2小時。加入150 μl 50%(w/w)二乙醇胺在DMSO中的溶液，並使溶液進一步攪拌1小時。加入1.5 ml 乙腈及3 ml 水，並經由製備型HPLC(Gilson Inc)以VP 250/32 Macherey-Nagel Nucleodur C18 HTec Spum管柱(Macherey-Nagel GmbH)來純化溶液，梯度如下：(A = H₂O + 0.1% TFA，B = MeCN(乙腈)+ 0.1% TFA，流率30 ml/分鐘，30% B 0到5分鐘，30到99% B 5到60分鐘，99% B 60到70分鐘。冷凍乾燥後得到所需產物TFA鹽，為白色粉末。(20.1 mg，81.6 %)。HR-MS測定C₆₀H₉₈N₁₁O₁₄⁺ [M+H]⁺計算值：1196.7290，實測值：1196.7278。純化物質的HPLC層析圖請見圖15。

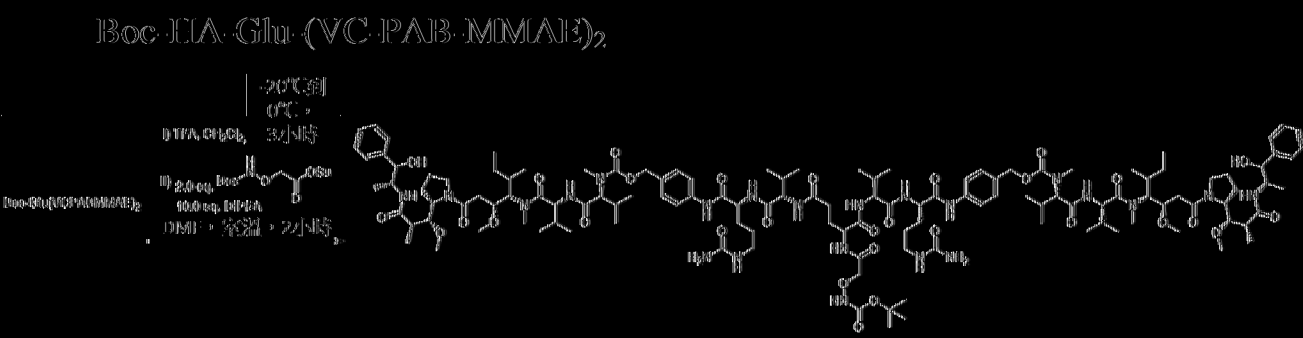
支鏈MMAE羧胺HA-(VC-PAB-MMAE)₂的合成



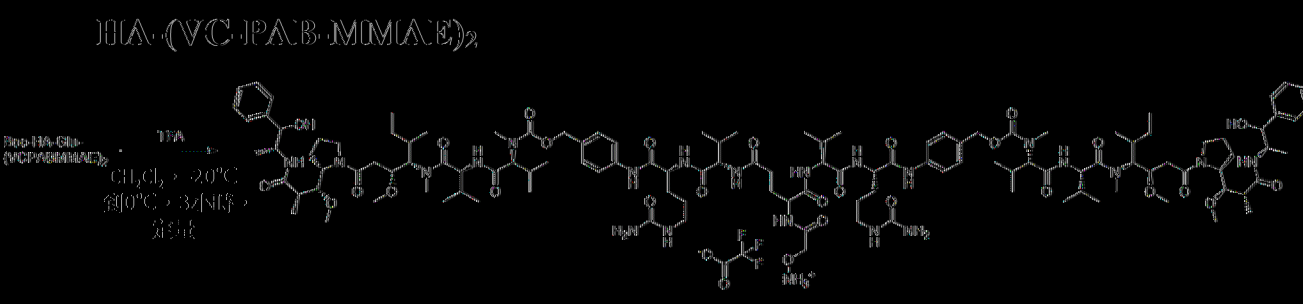
在50 ml的圓底燒瓶中加入溶於20 ml無水DMF中的1.00 g Boc-Glu-OSu(4.04 mmol，1.00當量)、0.93 g N-羥基丁二酰肼(8.08 mmol，2.00當量)、及25 mg DMAP(0.20 mmol，0.05當量)。使懸浮液冷卻到0℃，並滴加溶解在10 ml無水DMF中的1.84 g 二環己碳二亞胺(8.88 mmol，2.2當量)。使白色懸浮液升溫到室溫隔夜。過濾混合物，蒸發濾液，並藉由矽膠快速管柱層析法來純化殘餘物。得到所需產物，為無色油狀物。(460 mg，1.04 mmol，25.8%)。分析數據與先前報導的結果一致(Koshi等人，*J. Am. Chem. Soc.* 2008，130，1，245-251)。



[(0312)] 在10 ml的螺紋小瓶中加入15.83 mg H₂N-VC-PAB-MMAE TFA鹽(0.012 mmol，2.00當量)、2.84 mg Boc-Glu(OSu)₂(0.06 mmol，1.00當量)、及150 μL DMF。加入4.5 μL DIPEA(0.0256 mmol，4.0當量)，並使溶液在室溫下攪拌2小時。加入1.5 ml乙腈及3 ml水，並使用Gilson PLC 2020系統(Gilson Inc，WI，Middleton，美國)經由製備型HPLC以VP 250/21 Macherey-Nagel Nucleodur C18 Ectec Spum管柱(Macherey-Nagel GmbH & Co. Kg，德國)來純化溶液，梯度如下：(A：(H₂O)+0.1% TFA，B：(MeCN(乙腈))+0.1% TFA，流率10 ml/分鐘，30% B 0到5分鐘，30到99% B 5到60分鐘，99% B 60到70分鐘。冷凍乾燥後得到所需產物，為白色粉末。(8.84 mg，0.0036 mmol，55.8%)。HR-MS測定[C₁₂₆H₂₀₃N₂₁O₂₈]²⁺ [M+2H]²⁺計算值：1229,7565，實測值：1229,7567。純化物質的HPLC分析圖請見圖16。



[0313] 在 10 ml 的螺帽小瓶中 加入 3.99 mg Boc-Glu-(VC-PAIB-MMAIE)₂ (1.63 μmol, 1.00當量), 溶於100 μL CH₂Cl₂中並冷卻到-20°C。滴加100 μL 三氟乙酸。在-20°C下3小時後, 使溶液升溫到0°C, 且在N₂流中去除所有揮發物。加入溶解在100 μL DMF中的0.94 mg Boc-Glu-OSu (3.26 μmol, 2.00當量), 然後加入2.8 μL DIPEA (0.163 μmol, 10.0當量), 且溶液在室溫下攪拌2小時。加入1.5 ml 乙腈及3 ml 水, 並使用Gilson PLC 2020系統(Gilson Inc, WI, Middleton, 美國)經由製備型CPLC以VP 250/10 Macherey-Nagel Nucleodur C18 ETEC Spum管柱(Macherey-Nagel GmbH & Co. Kg, 德國)來純化溶液, 梯度如下: (A: H₂O + 0.1% TFA, B: MeCN(乙腈)+ 0.1% TFA, 流率5 ml/分鐘, 30% B 0到5分鐘, 30到99% B 5到60分鐘, 99% B 60到70分鐘。冷凍乾燥後得到所需產物, 為白色粉末。(2.11 mg, 0.148 μmol, 46%)。HR-MS測定[C₁₂₈H₂₀₆N₂₂O₃₀]²⁺ [M+2H]²⁺計算值: 1266,2647, 實測值: 1266,2644。純化物質的CPLC分析圖請見圖17。



【0314】在 10 ml 的螺帽小瓶中加入 2.11 mg Boc-Glu-(VC-PAB-MMAE)₂(0.75 μmol)，溶於100 μL CH₂Cl₂中並冷卻到-20°C。滴加100 μL三氟乙酸。在-20°C下3小時後，使溶液升溫到0°C，且在N₂流中去除所有揮發物。從50%的MeCN/H₂O冷凍乾燥後得到所需產物，為白色粉末。(1.90 mg，0.748 μmol，定量)。HR-MS測定C₁₂₃H₁₉₈N₂₂O₂₈²⁺ [M+2H]²⁺計算值：1216,2384，實測值：1216,2326。純化物質的HPLC層析圖請見圖18。

快速及薄層層析法

【0315】使用NORMASIL 60®矽膠40到63 μm(VWR international，美國)進行快速管柱層析法。塗覆有螢光指示劑F254s的玻璃TLC板，矽膠60 W購自Merck(Merck Group，德國)。藉由以254 nm燈螢光耗盡或錳染色(10 g K₂CO₃、1.5 g KMnO₄、0.1 g NaOH在200 ml H₂O中)，接著加熱，來觀察斑點。

製備型HPLC

【0316】製備型HPLC在Gilson PLC 2020系統上(Gilson Inc，WI，Middleton，美國)使用VP 250/32 Macherey-Nagel Nucleodur C18 HTec Spum管柱(Macherey-Nagel GmbH & Co. Kg，德國)來進行。使用以下梯度：方法C：(A=H₂O + 0.1% TFA(三氟乙酸)，B = MeCN(乙腈)+ 0.1% TFA，流率30 ml/分鐘，5% B 0到5分鐘，5到90% B 5到60分鐘，90% B 60到65分鐘。方法D：(A = H₂O + 0.1% TFA，B = MeCN + +0.1% TFA)，流率30 ml/分鐘，5% B 0到5分鐘，5到25% B 5到10分鐘，25%到45% B 10到50分鐘，45到90% 50到60分鐘，90% B 60到65分鐘。方法E：0.1% TFA，流率18 ml/分鐘，5% B 0到5分鐘，5-90% B 5到60分鐘，90% B 60到65分鐘，使用 VP 250/21 Macherey-Nagel Nucleodur C18 HTec Spum管柱(Macherey-Nagel GmbH & Co. Kg，德國)。

HR-MS

【0317】 在配備有四元溶劑管理器、Waters樣品管理器-FTN、Waters PDA 檢測器、及Waters管柱管理器的Waters H類儀器上紀錄高分辨率ESI-MS譜，該儀器具有Acquity UPLC蛋白BEH C18管柱(1.7 μm，2.1 mm x 50 mm)。樣品以0.3 mL/分鐘的流率沖提。使用以下梯度：A：0.01% FA的H₂O溶液；B：0.01% FA的MeCN溶液。5% B：0到1分鐘；5到95% B：1到7分鐘；95% B：7到8.5分鐘。以Waters XEVO G2-XS QToF分析儀進行質量分析。

UPLC-UV/MS

【0318】 在配備有四元溶劑管理器、Waters自動進樣器、Waters TUV檢測器、及Waters Acquity QDa檢測器的Waters H類儀器上記錄UPLC-UV/MS跡線，該儀器具有Acquity UPLC BEH C18 1.7 μm，2.1 x 50 mm RP管柱，流率為0.6 mL/分鐘(Waters Corp.，美國)。使用以下梯度進行純度分析：A：0.1% TFA的H₂O溶液；B：0.1% TFA的MeCN溶液。5% B 0 到1.5分鐘，5到95% B 1.5到11分鐘，95% B 11到13分鐘，5% B 13到15分鐘。

完整蛋白MS

【0319】 使用配備有四元溶劑管理器、Waters樣品管理器-FTN、Waters PDA檢測器、及Waters管柱管理器的Waters H類儀器分析完整蛋白，該儀器具有Acquity UPLC蛋白BEH C4管柱(300 Å，1.7 μm，2.1 mm x 50 mm)。蛋白以0.3 mL/分鐘的流率沖提。使用以下梯度：A：0.01% FA的H₂O溶液；B：0.01% FA的MeCN溶液。5到95% B 0到6分鐘。以Waters XEVO G2-XS QToF分析儀進行質量分析。以施加40 kV的錐電壓的正離子模式電離蛋白。以MaxEnt 1分析原始數據。

刃天青(resazurin)測定

【0320】 HL60及Karpas細胞株培養在補充有10% FCS及0.5%青黴-鏈黴素的RPMI-1640中。使細胞以 5×10^3 細胞/孔的密度接種在96孔細胞培養微孔板中。在細胞培養基中進行ADC或抗體的1:4連續稀釋，起始終濃度為 $3 \mu\text{g/ml}$ ，並一式兩份轉移到微孔板上的各孔中。使板在 37°C 、5%的 CO_2 下培養96小時。隨後，加入刃天青到終濃度為 $50 \mu\text{M}$ ，接著在 37°C 、5%的 CO_2 下培養3到4小時。在Tecan Infinite M1000微孔板讀數器上藉由試鹵靈(resorufin)的螢光訊號($\lambda_{\text{EX}} = 560 \text{ nm}$ ， $\lambda_{\text{EM}} = 590 \text{ nm}$)來定量刃天青到試鹵靈的代謝轉化。從一式兩份計算平均值及標準偏差，正規化為未處理對照組，並對抗體濃度作圖。以MatLab R2016軟體進行數據分析。

藉由A-SEC對ADC特性化及穩定性評估

【0321】 使ADC調節到在PBS(Dulbeccos 磷酸鹽緩衝生理鹽水，Sigma-Aldrich Merck KGaA)中的 1 mg/mL 的蛋白濃度，並過濾除菌(Ultrafree-MC離心過濾裝置units，Merck Millipore)。樣品在 4°C 、 37°C 及 40°C 下儲存長達14天。對於在高溫下儲存的樣品，要確保無冷凝物形成。在藉由A-SEC分析之前，使樣品在 4°C 、 $4000 \times g$ 下離心4分鐘。

活體內異種移植模型

【0322】 根據動物福利法進行活體內功效實驗，並得到地方當局批准。簡而言之，在第0天使Karpas 299細胞皮下注射到CB17-Scid小鼠中。當腫瘤達到一定的平均腫瘤體積時開始治療。在小鼠隨機分呈治療組及對照組後，以靜脈注射的形式施用ADC。在整個研究期間記錄腫瘤體積、體重及一般健康狀況。

藥物動力學分析

【0323】 根據動物福利法進行實驗，並得到地方當局批准。在第1天，藉由單次靜脈內(推注)注射使測試項目施用到史-道二氏大鼠(Sprague Dawley rat)。為了進行生物分析，在各個時間點經由目標體積為1 mL的頸靜脈收集血液，收集時間長達504小時。使樣品在室溫下保存至少1小時以讓其凝結。使樣品在以1500 g、4°C下離心10分鐘。使所得血清儲存在-20°C下。使用Phoenix(WinNonlin)藥物動力學軟體1.4(Certara, 6.4)計算PK參數，使用與靜脈內(推注)施用途徑一致的非隔室方法，採取活體內形成曲線方法(血管外)用於游離有效負載。

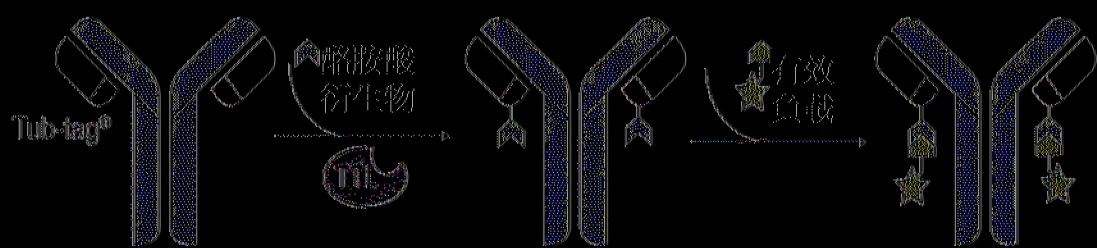
重複劑量毒性研究

【0324】 根據動物福利法進行實驗，並得到地方當局批准。雄性及雌性史-道二氏大鼠(10隻/性別/組)每周(第1、8、15及22天)以對照組(媒介物)、貝倫妥昔Tub-tag ADC(10 mg/kg)或貝倫妥昔維多汀(10 mg/kg)給藥，在第26天進行主要給藥期屍體剖檢(5隻/性別/組)，在第51天進行恢復期屍體剖檢(5隻/性別/組)。在整個研究期間，每天測定臨床觀察、體重及食物消耗。在每次給藥前、每次給藥後15分鐘、及在屍體剖檢時，會從每隻動物獲得藥物動力學樣品。對所有動物屍體剖檢，器官稱重並保留在固定劑中。屍體剖檢時也收集臨床病理學(血液學、臨床化學及凝血終點)樣品。

實施例1：用於治療CD30+適應症的貝倫妥昔Tub-tag ADC

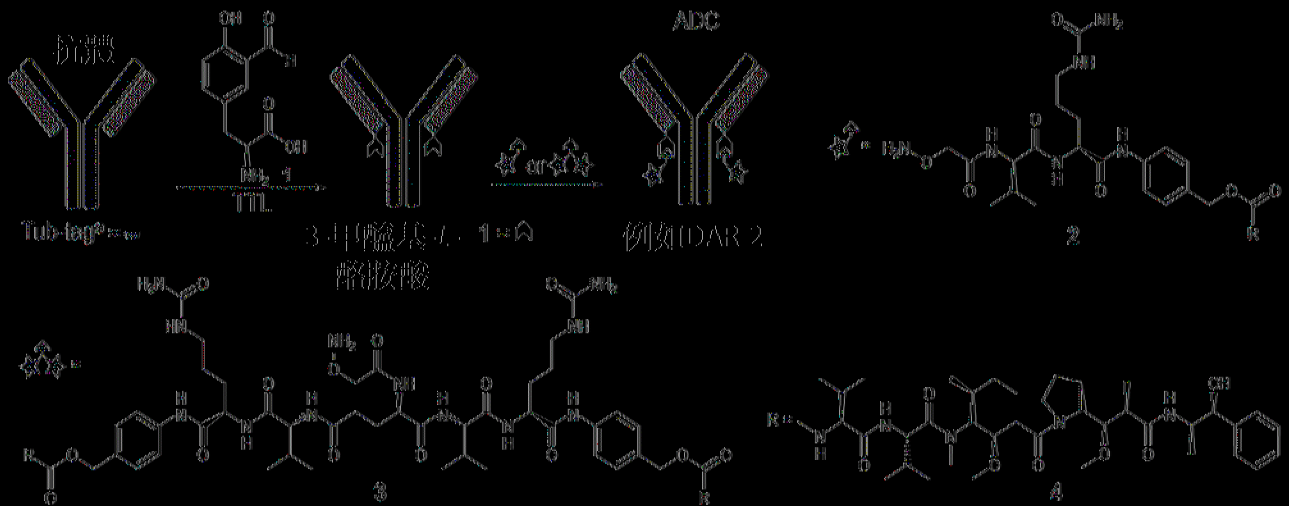
【0325】 Tub-tag技術利用天然 α -微管蛋白衍生肽，其為高度極性且用作酶微管蛋白酪胺酸連接酶(TTL)的識別序列，也就是本文揭示含義內的微管蛋白酪胺酸連接酶的識別序列。

[(0326)] TUL識別知的親水性肽標籤(Tub-tag)，並催化與酪胺酸衍生物及類胺基酸結構單元形成肽鍵。在此，發明人證明，Tub-tag技術可用於使有效負載與抗體貝倫妥昔(cAC10)共軛、促進CD30與ADC結合，就穩定性、功效及毒物學而言，其驚人地勝過已批准的基於貝倫妥昔的ADC貝倫妥昔維多汀。



方案1：藉由Tubulis專有的Tub-tag®(「TUL識別序列」)技術，使藥物部分經由連接子(有效負載)與單株抗體(諸如貝倫妥昔)進行位點特異性融合。TUL：微管蛋白酪胺酸連接酶。

[(0327)] 發明人藉由如下開啟他們的研究：使微管蛋白酪胺酸連接酶的識別序列與單株抗體cAC10(貝倫妥昔，在方案2中示例性地示出為與輕鏈融合的Tub-tag)的輕鏈(輕鏈SEQ ID NO: 11，重鏈：SEQ ID NO: 1)、重鏈(輕鏈SEQ ID NO: 1，重鏈：SEQ ID NO: 12)、或輕鏈及重鏈(輕鏈SEQ ID NO: 11，重鏈：SEQ ID NO: 12)融合(在核酸程度上)，任選地與排列在微管蛋白酪胺酸連接酶的識別序列和相應抗體鏈之間的Gly4Ser胺基酸連接子的序列融合。



方案2：用於ADC製造的化學酶共軛。(藍色)Tub-tag識別序列，(黑色)酪胺酸衍生物，(黃色)具有生物正交柄的有效負載。可使Tub-tag置於輕鏈及/或重鏈，使得能夠得夠藥物對抗體的比率(DAR)範圍為2到8的均質ADC，這取決於所用Tub-tag的數目。也描述了有效負載**2**及**3**。

使用已建立的細胞培養方法讓這些貝倫妥昔變體進行重組表現，隨後以蛋白A層析法成功純化。粒徑篩析層析法(SEC)的分析顯示，Tub-tag抗體的純度非常好，且僅觀察到極少量的高分子量物質(HMWS)(HMWS = 1.5到7%)。結果示於**圖1**。這些結果顯示，抗體在表現及純化後為高度單體的。如**圖1B**中所示，Tub-tag識別序列與貝倫妥昔重鏈的連接導致高分子量物質從11%降低到僅1.5%，也就是降低10倍。

圖1A示出在蛋白A層析(PAC)後未經修飾的貝倫妥昔的粒徑篩析層析圖，該未經修飾的貝倫妥昔在本文中也僅表示為「貝倫妥昔」。「HMWC」代表「高分子量組分」。

圖1B示出在蛋白A層析(PAC)後貝倫妥昔的粒徑篩析層析圖，該貝倫妥昔包含與重鏈(輕鏈：SEQ ID NO: 2，重鏈：SEQ ID NO: 12)融合的TTL識別序列(Tub-tag)，其在本文中也表示為「Bren. HC-Tub」。

圖1C示出在蛋白A層析(PAC)後貝倫妥昔的粒徑篩析層析圖，該貝倫妥昔包含與輕鏈(輕鏈：SEQ ID NO: 11，重鏈：SEQ ID NO: 1)融合的TTL識別序列(Tub-tag)，其在本文中也表示為「Bren. LC-Tub」。

圖1D示出在蛋白A層析(PAC)後貝倫妥昔的粒徑篩析層析圖，該貝倫妥昔包含與輕鏈及重鏈(輕鏈：SEQ ID NO: 11，重鏈：SEQ ID NO: 12)融合的TTL識別序列(Tub-tag)，其在本文中也表示為「Bren. LCHC-Tub」。

【0328】 在示出了在貝倫妥昔的輕鏈、重鏈或所有重鏈及輕鏈的C末端包含微管蛋白酪胺酸連接酶的識別序列(「Tub-tag變體」或「貝倫妥昔Tub-tag」)的貝倫妥昔的可製造性後，發明人藉由親水性相互作用層析法(HIC)測定了滯留時間，該HIC為疏水性的常用量度。此研究揭示了所有Tub-tag變體與未修飾的cAC10(貝倫妥昔)相比具有更高的親水性及表面極性(圖2A)。

圖2A示出貝倫妥昔(黑色)、Bren. LC-Tub(灰色，虛線)、Bren. HC-Tub(灰色)、及Bren. LCHC-Tub(黑色，虛線)的分析性疏水相互作用層析圖。層析圖示出在220 nm處記錄的正規化吸收光譜。滯留時間為疏水性的量度。疏水相互作用層析圖中較長的滯留時間表明較大的疏水性。較短的滯留時間表示較大的親水性。

由於抗體骨架的改變會導致結構及穩定性的擾動，因此使用微差掃描螢光法(DSF)測量貝倫妥昔及Tub-tag變體的熔點(T_m)。這些實驗證實，Tub-tag變體具有與未修飾的單株抗體相同的熔點($T_m = 70.9\text{--}71.8^\circ\text{C}$)，因此具有相同的抗熱應力的穩定性($T_m = 71.0^\circ\text{C}$)(圖2B)。

圖2B示出用於測定貝倫妥昔、Bren. LC-Tub、Bren. HC-Tub、及Bren. LCHC-Tub的熔點(T_m)的微差掃描螢光法曲線。

【0329】 發明人測試了不同酪胺酸衍生物對Tub-tag-抗體的酶修飾，而3-甲醯基-L-酪胺酸被證明為ADC製造的最佳選擇。簡而言之，發明人使不同的貝倫妥昔Tub-tag變體與TTL一同培養，以使3-甲醯基-L-酪胺酸與Tub-tag的末端麩胺酸殘基共價連接。特別地，3-甲醯基-L-酪胺酸的胺基與Tub-tag的C末端連接。然後，以蛋白A層析法或陰離子交換層析法(AEX)去除過量的3-L-甲醯基-酪胺酸及殘留的TTL。隨後，藉由生物正交反應使連接子-有效負載(「連接子-藥物部分」)

共價連接。利用陽離子交換層析(CEX)純化所得的ADC，以去除過量的連接子有效負載，並改善ADC的純度。此方法的最後一步涉及經由切向流過濾(TFF)及無菌過濾的配製。為了製造藥物對抗體的比率(DAR)為2的ADC，吾人採用線性有效負載**2**(如**方案2**中示出，如說明書及申請專利範圍中界定之與MMAE共軛的「結構4」)。為了製造DAR為4的ADC，吾人採用支鏈有效負載**3**(如**方案2**中示出，如說明書及申請專利範圍中界定之與MMAE共軛的「結構5」)。特別地，有效負載**2**及有效負載**3**的H₂N-O-部分與結合到TTL識別序列的3-甲醯基-L-酪胺酸的甲醯基反應，得到具有-C=N-O-結構的脞。此程序得到純的、均質的ADC，且品質例如藉由SEC、HIC(圖3)及中間MS(圖4)而受到控制，顯示出優異的純度及均質性。

製備以下ADC，並在實例中進一步研究(有效負載**2**及**3**示於**方案2**中)：

ADC	貝倫妥昔輕鏈	貝倫妥昔重鏈	非天然胺基酸	有效負載	藥物對抗體的比率(DAR)
Bren. HC-2	SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO: 12 (包含 TTL 識別序列)	3-甲醯基-L-酪胺酸	有效負載 2	2
Bren. LC-2	SEQ ID NO: 11 (包含 TTL 識別序列)	SEQ ID NO: 1	3-甲醯基-L-酪胺酸	有效負載 2	2
Bren. LCHC-2	SEQ ID NO: 11	SEQ ID NO:12	3-甲醯基-L-酪胺酸	有效負載 2	4
Bren. LC-3	SEQ ID NO: 11	SEQ ID NO: 1	3-甲醯基-L-酪胺酸	有效負載 3	4

圖3示出經由SEC(圖3A到3C)及HIC(圖3D到3F)對貝倫妥昔Tub-tag ADC的分析。圖3A及3D示出Bren. HC-vc-PAB-MMAE DAR2(本文也稱作Bren. HC-2)的結果，圖3B及3E示出Bren. LC-vc-PAB-MMAE DAR2(本文也稱作Bren. LC-2)的結果，且圖3C及3F示出Bren. LCHC-vc-PAB-MMAE DAR4(本文也稱作Bren. LCHC-2)的結果。每個貝倫妥昔變體都被表現、以PAC純化，並與有效負載**2**共

軛以產生DAR2，且與有效負載**2**或有效負載**3**共軛以產生DAR 4 ADC。在以HIC及緩衝液交換進行最後拋光後，根據聚集體含量及DAR同質性來分析Tub-tag ADC。所有Tub-tag ADC均含有非常低的HMWS(<1%)並顯示出優異的DAR同質性。

圖4示出在去醣基化後藉由中間蛋白MS對貝倫妥昔Tub-tag ADC的分析。顯示了解卷積譜。**圖4A**示出Bren. HC-Tub的結果；**圖4B**示出Bren. LCHC-Tub的結果；**圖4C**示出Bren-LC-Tub的結果；**圖4D**示出Bren. HC-vc-PAB-MMAE(本文也稱為「Bren. HC-2」)的結果；**圖4E**示出Bren-LCHC-vc-PAB-MMAE(本文也稱為「Bren. LCHC-2」)的結果；且**圖4F**示出Bren. LC-2(vc-PAB-MMAE)(本文也稱為「Bren. LC-3」)的結果。1369 m/z的質量偏移是由於3-甲醯基-L-酪胺酸的摻入且脗與有效負載**2**的連接所導致。在脗與有效負載**3**連接後，觀察到2604 m/z的質量差。這些結果與計算值一致。

在與抗體共軛之前，已分析有效負載**2**及**3**對蛋白酶組織蛋白酶B裂解的敏感性(**圖5**)。結果示出，有效負載**2**及**3**被組織蛋白酶B裂解，釋放出游離的藥物單甲基阿瑞他汀E(MMAE)。

圖5示出在**圖5A**中以蛋白酶組織蛋白酶B(每個vc部分為1:1000)消化反應期間，含有纈胺酸-瓜胺酸(vc)的有效負載**2**的RP-HPLC分析。在分析之前，以E-64終止反應。在220 nm處記錄150分鐘的反應時間後的層析圖。**圖5B**的圖示出在與組織蛋白酶B反應期間，游離MMAE隨時間的增加(黑色)及有效負載**2**的減少(灰色，圓圈)。**圖5C**示出有效負載**3**的裂解。在有效負載**3**與組織蛋白酶B反應期間，形成含有一個MMAE部分的中間體(灰色，三角形)。

實施例2：ADC的活體外穩定性

【0330】為了闡明實施例1中所述的貝倫妥昔ADC的穩定性，發明人基於螢光染料SYPRO Orange進行熱應力測試。DSF實驗闡明，貝倫妥昔Tub-tag ADC具有與相應單株抗體相似的熔點(貝倫妥昔 $T_m = 71.0^{\circ}\text{C}$ ，貝倫妥昔Tub-tag ADC $T_m = 70.9\text{--}72.9^{\circ}\text{C}$)。這說明了貝倫妥昔Tub-tag ADC的類抗體穩定性。用於比較的貝倫妥昔維多汀顯示 68.5°C 的較低熔點，且熔解曲線覆蓋較高溫度範圍。另外，在緩衝液及小鼠血漿中進行ADC的穩定性研究。經由SEC分離緩衝液中儲存的樣品，以分析HMWS(高分子量物質)的形成。在 4°C 下儲存兩周後，並未觀察到層析圖中的顯著變化。然而，在高溫儲存期間，差異變得明顯。根據製造商指南溶解貝倫妥昔維多汀後，測定HMWS為0.74%。在 40°C 下儲存14天期間，該值增加到11.44%，代表HMWS增加15.5倍。與這些值相比，貝倫妥昔Tub-tag ADC非常穩定，且測得的HMWS含量低倍增加1.0–5.0倍(圖6A)。儘管貝倫妥昔LC-3 DAR 4含有與貝倫妥昔維多汀(DAR_{av} 4)相同的藥物負載，且因此具有由有效負載衍生的高疏水性的特點，但測得的HMWS含量的低量增加。在以DAR 4製造Tub-tag ADC Bren. LC-3後，測定的HMWS為0.47%。在 40°C 下儲存期間，僅觀察到HMWS少量增加到2.34%。(圖6C，為了比較，圖6B中示出貝倫妥昔維多汀的結果)。

圖6示出在高溫下貝倫妥昔維多汀及貝倫妥昔Tub-tag ADC的儲存結果。圖6A示出在研究過程中HMWS的增加(Bren. LC-2(vc-PAB-MMAE)(本文也稱為「Bren. LC-3」)；Bren. LC-vc-PAB-MMAE(本文也稱為「Bren. LC-2」)；Bren. HC-vc-PAB-MMAE(本文也稱為「Bren. HC-2」)；以及貝倫妥昔維多汀。貝倫妥昔維多汀的聚集體含量增加最多。相比之下，Tub-tag ADC的HMWS含量幾乎保持不變。圖6B及6C示出SEC層析圖，其示出貝倫妥昔維多汀(平均藥物對抗體的

比率 (DAR_{av}) 4)及與有效負載**3**共軛的Bren. LC (Bren. LC-3, DAR 4)在220 nm處記錄的正規化吸收光譜。

【0331】 另外，已在小鼠血漿中評估貝倫妥昔Tub-tag ADC的穩定性，顯示出Tub-tag ADC優異的穩定性。相比之下，貝倫妥昔維多汀被快速分解(圖7，表1)。最近已示出順丁烯二醯亞胺連接的ADC(如貝倫妥昔維多汀)的快速分解，且逆麥可加成可能為吾人觀察到的一種解釋。

表1：在37°C下，使貝倫妥昔維多汀及貝倫妥昔Tub-tag ADC在小鼠血漿中儲存7天。

ADC	血漿培養前的DAR	血漿培養後的DAR _{av} n=2	有效負載損失[%]
Bren. HC-2	2	1.8	10
Bren. LC-2	2	1.8	10
Bren. LCHC-2	3.8	3.63	5
Bren. LC-3	4	3.59	10
貝倫妥昔維多汀	4.02	1.53	62

圖7示出與貝倫妥昔維多汀相比，貝倫妥昔Tub-tag ADC在小鼠血漿中的穩定性的示例性說明。圖7A及7B示出在小鼠血漿中在37°C下儲存貝倫妥昔維多汀的結果。圖7C及7D示出在小鼠血漿中在37°C下儲存Bren. LC-3 DAR 4的結果。

實施例3：ADC的活體外功效

【0332】 接著，發明人在基於細胞的存活力測定中評估貝倫妥昔Tub-tag ADC的活體外功效，並使結果與貝倫妥昔維多汀進行比較。CD30過度表現細胞株Karpas299以及CD30陰性細胞株HL60用於該刃天青測定(圖8)。在抗原陽性細胞株Karpas299中測定的貝倫妥昔維多汀(IC₅₀ = 2.08)的IC₅₀值與文獻數據一致。整體來說，貝倫妥昔Tub-tag ADC示出低IC₅₀值及良好的活體外功效(表2)。

表2：藉由刃天青測定決定貝倫妥昔維多汀及貝倫妥昔Tub-tag ADC的IC₅₀值。

ADC	IC ₅₀ Karpas299 細胞
Bren. HC-2	5.24 n=1*2
Bren. LC-2	5.63 n=4*2
Bren. LCHC-2	1.70 n=2*2
Bren. LC-3	1.06 n=5*2
貝倫妥昔維多汀	2.08 n=5*2

圖8示出貝倫妥昔Tub-tag ADC在CD30過度表現細胞株Karpas299及CD30陰性細胞株HL60中的活體外功效。

實施例4：貝倫妥昔Tub-tag ADC的活體內功效

【0333】 在免疫缺陷的CB17-SCID小鼠中，以Karpas299衍生的腫瘤模型評估貝倫妥昔Tub-tag ADC的活體內功效。如**圖9**及**10**所示，Bren. LC-2顯示出與貝倫妥昔維多汀類似的出乎意料的高活體內功效。儘管貝倫妥昔LC-2具有一半的藥物負載，因為與共軛到4個MMAE分子的貝倫妥昔維多汀相比，其為DAR 2 MMAE ADC，但仍進行此一觀察。另外，出乎意料的是，Bren. LC-3顯著勝過貝倫妥昔維多汀的活體內功效，其中位數存活增加2.5倍(**圖11**)。

圖9示出以腫瘤體積(cm³)表示的Bren. LC-2的活體內功效。為了評估Bren. LC-2的活體內功效，腫瘤體積在100到150 mm³之間的小鼠被隨機分配，並在腫瘤移植後第7天及第10天兩次注射1.5 mg/kg進行治療。

圖10示出Bren. LC-2的活體內功效，以腫瘤體積(cm³)及治療動物的存活百分比表示(卡普蘭-麥爾圖)。為了評估Bren. LC-2的活體內功效，腫瘤體積在100到150 mm³之間的小鼠被隨機分配，並以單次注射1.0 mg/kg進行治療。

圖11示出Bren. LC-3的活體內功效，以腫瘤體積(cm³)及治療動物的存活百分比表示。為了評估Bren. LC-3的活體內功效，腫瘤體積在100到150 mm³之間的小鼠被隨機分配，並在腫瘤移植後第8天及第11天兩次注射0.5 mg/kg進行治療。

實施例5：貝倫妥昔Tub-tag ADC的藥物動力學

【0334】 貝倫妥昔Tub-tag ADC具有高活體外穩定性及優異活體內功效的特點，在這一驚人發現的激勵下，發明人希望闡明活體外穩定性是否轉化為活的生物體，並在史-道二氏大鼠中進行藥物動力學分析。在第1天，藉由單次靜脈內(推注)注射使測試項目施用到動物。為了分析ADC隨時間的含量，已開發基於ELISA的測定來檢測抗體及完整的ADC(藉由測量與抗體連接的有效負載)。總抗體測定提供有關抗體清除的有用訊息，且與完整ADC測定相比，檢測差異可解釋抗體的有效負載損失。另外，發明人開發基於MS的測定，其便於測定有效負載損失及有效負載轉移到血液蛋白。研究示出，貝倫妥昔Tub-tag ADC具有優異的活體內穩定性(圖12A)。另外，與貝倫妥昔維多汀相比，貝倫妥昔Tub-tag ADC不具有能夠使有效負載轉移並與血液蛋白共價連接的特點(圖12B)。

圖12示出貝倫妥昔Tub-tag MMAE(Bren LC-2)的藥物動力學(PK)分析。在圖12A中，示出與貝倫妥昔維多汀相比完整ADC的量。在圖12B中，示出藉由MS-analysis所分析的轉移到血液蛋白的MMAE的量。

實施例6：TUB-010的重複劑量毒性研究

【0335】 到目前為止，已示出貝倫妥昔Tub-tag ADC具有增加活體內功效及穩定性的特點。因此，發明人想知道增加活體內穩定性是否導致貝倫妥昔Tub-tag ADC的有益毒物學特性。這是有利的，因為增進毒物學特性與增進功效的組合可顯著擴大治療範圍，並因此對患者的治療具有很大的優點。因此，發

明人評估貝倫妥昔Tub-tag ADC在史-道二氏雄性及雌性大鼠中的毒性及毒物動力學，並將該特性與貝倫妥昔維多汀的特性進行比較。雄性及雌性史-道二氏大鼠每周(第1、8、15及22天)以對照組(媒介物)、貝倫妥昔Tub-tag ADC(Bren LC-2)或貝倫妥昔維多汀(10 mg/kg)給藥，在第26天進行主要給藥期屍體剖檢(5隻/性別/組)，在第51天進行恢復期屍體剖檢(5隻/性別/組)。在整個研究期間，每天測定臨床觀察、體重及食物消耗。在每次給藥前、每次給藥後15分鐘、及在屍體剖檢時，會從每隻動物獲得藥物動力學樣品。對所有動物屍體剖檢，器官稱重並保留在固定劑中。屍體剖檢時也收集臨床病理學(血液學、臨床化學及凝血終點)樣品。完整ADC及總抗體的平均血清濃度示於圖13中。該圖清楚地證明，以Bren LC-2給藥，在重複給藥後會導致活體內產生合理濃度的血清濃度。完整ADC和Bren LC-2的總抗體之間的高度重疊再次突顯出構築體在活體內的優異穩定性，並使其與貝倫妥昔維多汀組區分開來。

圖13示出與貝倫妥昔維多汀相比，在第1、8、15及22天以10 mg/kg靜脈內(推注)施用貝倫妥昔Tub-tag ADC後，雄性及雌性大鼠中完整ADC及總抗體的平均血清濃度。

【0336】與貝倫妥昔維多汀相反，使用貝倫妥昔Tub-tag ADC(Bren LC-2)並未觀察到對紅血球群的影響。這可抵消在臨床實踐中以貝倫妥昔維多汀觀察到的貧血(及潛在的血小板減少症)。Bren LC-2及貝倫妥昔維多汀均觀察到預期的MMAE驅動的睪丸變化，但在Bren LC-2中發生延遲，其中貝倫妥昔Tub-tag ADC的穩定性可能在睪丸毒性的延遲發生中起到作用。Bren. LC-2的示例性毒性特性示於圖14中。

圖14示出與貝倫妥昔維多汀(左條)相比，在雄性及雌性大鼠中貝倫妥昔Tub-tag ADC(Bren LC-2)(右條)的示例性毒性特性。**圖14**中描述的貝倫妥昔Tub-tag ADC Bren LC-2的參數為網狀紅血球的計數/微升(RET，以K/ μ l為單位)、紅血球的計數/微升(RBC，以M/ μ L為單位)、血紅素的計數/微升(Hb，以M/ μ L為單位)、血比容體積百分比(HTC，以%為單位)、嗜酸性球的計數/微升(EOS，以K/ μ l為單位)、活化部分凝血質時間(APPT)(以秒為單位)、葡萄糖濃度/升(以mmol/L為單位)、胸腺重量(以g為單位)、以及睪丸重量(以g為單位)。作為參考，大鼠以對照組(媒介物)給藥(未示出數據)。

特別地，**圖14**示出：

網狀紅血球：以貝倫妥昔維多汀治療對網狀紅血球計數具有顯著影響，而在以貝倫妥昔Tub-tag ADC治療下並未觀察到任何影響。因此，與使用貝倫妥昔維多汀治療(與紅血球、血紅素及血比容數據一致)相比，預期使用貝倫妥昔Tub-tag ADC治療在臨床上會導致較少的貧血。

紅血球：以貝倫妥昔維多汀治療對紅血球計數具有顯著影響，而在以貝倫妥昔Tub-tag ADC治療下並未觀察到任何顯著的影響。因此，與使用貝倫妥昔維多汀治療(與網狀紅血球、血紅素及血比容數據一致)相比，預期使用貝倫妥昔Tub-tag ADC治療在臨床上會導致較少的貧血。

血紅素：使用貝倫妥昔維多汀治療會降低血紅素濃度(主要在男性中)，而在以貝倫妥昔Tub-tag ADC治療下並未觀察到任何顯著的影響。因此，與使用貝倫妥昔維多汀治療(與紅血球、網狀紅血球及血比容數據一致)相比，預期使用貝倫妥昔Tub-tag ADC治療在臨床上會導致較少的貧血。

血比容：使用貝倫妥昔維多汀治療會降低血比容(主要在男性中)，而在以貝倫妥昔Tub-tag ADC治療下並未觀察到任何顯著的影響。因此，與使用貝倫妥昔維多汀治療(與紅血球、血紅素及網狀紅血球數據一致)相比，預期使用貝倫妥昔Tub-tag ADC治療在臨床上會導致較少的貧血。

嗜酸性球：與使用貝倫妥昔Tub-tag ADC治療相比，使用貝倫妥昔維多汀治療會導致較低的嗜酸性球計數。假設這是對白血球的普遍影響，與使用貝倫妥昔維多汀治療相比，預期使用貝倫妥昔Tub-tag ADC治療會導致在臨床上會導致較少的嗜中性白血球減少症。

APTT：與使用貝倫妥昔Tub-tag ADC治療相比，使用貝倫妥昔維多汀治療會導致較低的APTT值。由於貝倫妥昔維多汀在臨床上對凝血時間/APTT不具任何影響，因此鑑於所提供的數據，也預期貝倫妥昔Tub-tag ADC不會引起任何關於凝血時間的擔憂。

葡萄糖：與使用貝倫妥昔Tub-tag ADC治療相比，使用貝倫妥昔維多汀治療會導致更高濃度的葡萄糖。因此，與使用貝倫妥昔維多汀治療相比，使用貝倫妥昔Tub-tag ADC治療會導致較低的葡萄糖濃度。因此，使用貝倫妥昔Tub-tag ADC的治療不太可能導致高血糖症，這在臨床上使用貝倫妥昔維多汀治療時已觀察到。

胸腺：與使用貝倫妥昔Tub-tag ADC治療相比，使用貝倫妥昔維多汀治療會導致較低的胸腺重量。在以包含MMAE的ADC治療下觀察到的胸腺重量變化為典型的與靶無關/與游離毒素相關的毒性，其由MMAE引起的細胞耗盡所致。因此，與貝倫妥昔維多汀相比，預期貝倫妥昔Tub-tag ADC在較少的與靶無關/與游離MMAE相關的毒性方面具有更有利的臨床安全性特性。

睪丸：與使用貝倫妥昔Tub-tag ADC治療相比，使用貝倫妥昔維多汀治療會導致較低的睪丸重量。在以包含MMAE的ADC治療下觀察到的睪丸重量變化為典型的與靶無關/與游離毒素相關的毒性。因此，與貝倫妥昔維多汀相比，預期貝倫妥昔Tub-tag ADC在較少的與靶無關/與游離MMAE相關的毒性方面具有更有利的臨床安全性特性。

總體而言，提供的數據示出，與在大鼠中的貝倫妥昔維多汀相比，貝倫妥昔Tub-tag ADC具有更佳的安全性。因此，在臨床上，貝倫妥昔Tub-tag ADC不大可能導致貝倫妥昔維多汀的特定劑量限制性毒性，包括貧血、嗜中性白血球減少症及高血糖症。對於貝倫妥昔Tub-tag ADC，缺乏與貝倫妥昔維多汀相關的與靶無關/與游離毒素相關的毒性，也可抵消在許多包含MMAE的ADC(包括貝倫妥昔維多汀)中所見的周邊神經病變等特性變化。

實施例7：貝倫妥昔Tub-tag MMAE在石蟹獼猴中的重複劑量毒性研究

【0337】 接著，在石蟹獼猴中評估貝倫妥昔Tub-tag MMAE(Bren. LC-2)的毒性。本研究的目的為評估貝倫妥昔Tub-tag MMAE(Bren. LC-2)在石蟹獼猴中的毒性及毒物動力學(TK)。以6、12及15 mg/kg(6 mg/kg為Q3Wx4，12及15 mg/kg為Q3Wx2)施用貝倫妥昔Tub-tag ADC。在整個研究期間對臨床狀況(包括體重、食物消耗及臨床觀察)、臨床病理學及免疫表型(T、B及NK細胞)進行評估，並頻繁取樣以測定TK及抗藥物抗體。對所有動物進行全面屍體剖檢，並進行詳細宏觀觀察。貝倫妥昔Tub-tag MMAE(Bren. LC-2)在6、12及15 mg/kg下臨床耐受性良好，對體重沒有影響。根據FDA PharmTox審查，石蟹獼猴對6 mg/kg耐受性較差(MTD為3 mg/kg)，在第一次給藥後的11到15天內死亡並早期安樂死。相比之下，在本研究中對於貝倫妥昔Tub-tag MMAE(Bren. LC-2)並未觀察到死亡率以及

宏觀或嚴重的細微發現。對於貝倫妥昔Tub-tag MMAE(Bren. LC-2)在12及15 mg/kg時，已注意到紅血球、血紅素及嗜中性球的減少，這與使用Adcetris在3 mg/kg時觀察到的那些相對一致(歷史數據)。另外，如圖19所示，貝倫妥昔Tub-tag MMAE(Bren. LC-2)在毒物動力學分析中具有高穩定性的特點。

【0338】 為了分析石蟹獼猴血清中ADC含量隨時間的變化，已開發基於ELISA的測定來檢測抗體及完整的ADC含量(藉由測量與抗體連接的有效負載；在大鼠的藥物動力學及重複劑量毒性研究中使用相同的ELISA測定設置，區別在於該測定已進一步驗證可用於石蟹獼猴)。總抗體測定提供有關抗體清除的有用訊息，且與完整ADC測定相比，檢測差異可解釋抗體的有效負載損失。圖19中完整ADC及總單株抗體曲線的高度重疊示出貝倫妥昔Tub-tag MMAE的有效負載損失最小且ADC穩定性高。

【0339】 圖19示出在石蟹獼猴中給予12及15 mg/kg劑量的貝倫妥昔Tub-tag MMAE(即Bren. LC-2)的毒物動力學分析。藉由ELISA評估單株抗體及完整ADC的總量。完整ADC及總單株抗體曲線的高度重疊示出在兩劑量濃度下貝倫妥昔Tub-tag MMAE的高穩定性。在貝倫妥昔Tub-tag MMAE(Bren. LC-2)的重複劑量研究期間，監測石蟹獼猴的體重及不同的血液值，也就是淋巴球、嗜中性球及白血球的濃度。

圖20示出在石蟹獼猴中在貝倫妥昔Tub-tag MMAE(Bren. LC-2)的重複劑量研究中收集的體重及不同血液值的選擇所獲得的值。更詳細地，圖20的左側上圖示出體重隨時間變化。圖20的右側上圖示出淋巴球濃度隨時間變化。圖20的左側下圖示出嗜中性球濃度隨時間變化。圖20的右側下圖示出白血球濃度隨時間變化。在每種情況下，數據示出為三組兩隻雌性動物重複給予6、12及15 mg/kg

貝倫妥昔Tub-tag MMAE(Bren. LC-2)的平均值及誤差，並與FDA報告「Clinical Pharmacology And Biopharmaceutics Review(s)(申請號：125388Orig1S00)」(可獲自

https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2011/125388orig1s000clinpharmr.pdf)的毒性研究結果進行比較。體重以千克為單位，淋巴球以每升十億為單位，嗜中性球以每升十億為單位，且白血球以每升十億為單位。

臨床上貝倫妥昔維多汀的劑量限制性毒性之一為嗜中性白血球減少症。圖20的左側下圖所示的數據組示出，與貝倫妥昔維多汀直接相比，即使施用兩倍(6 mg/kg)、四倍(12 mg/kg)及五倍(15 mg/kg)的貝倫妥昔維多汀劑量(3 mg/kg)，貝倫妥昔Tub-tag MMAE(Bren. LC-2)有利地也不會導致更多的嗜中性球減少。另外，觀察到體重增加(圖20的左側上圖)。並未測定到淋巴球濃度及白血球濃度的顯著變化。(圖20的右側上圖及右側下圖)。

觀察到的嗜中性球濃度、在整個研究期間所有動物體重增加、以及白血球及淋巴球濃度並無顯著變化的組合，清楚地示出本文揭示的ADC具有良好的耐受性，其超過貝倫妥昔維多汀的耐受性。因此，數據清楚地表明臨床耐受性良好，其超過貝倫妥昔維多汀的耐受性。

【0340】總之，所呈現的結果示出，貝倫妥昔Tub-tag ADC的特點在於出乎意料的活體外及活體內高穩定性，其轉化為優異的活體內功效及毒物學特性。

【符號說明】無

【生物材料寄存】無

序列表

- <110> 慕尼黑大學
柏林研究協會
- <120> 增進的CD30靶向抗體藥物共軛體及其用途
- <130> TUB17066PCT
- <160> 14
- <170> PatentIn 3.5版
- <210> 1
- <211> 447
- <212> PRT
- <213> 人工序列
- <220>
- <223> 貝倫妥昔/cAC10重鏈
- <400> 1

Gln Ile Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro 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 Asp Tyr
20 25 30

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

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

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

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

Ala Asn Tyr Gly Asn Tyr Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln
100 105 110

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

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

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160

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

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

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

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

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
245 250 255

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 2
<211> 218
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 貝倫妥昔/cAC10輕鏈

<400> 2

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

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

Gly Asp Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

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

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

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

Glu Asp Pro Trp 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> 3
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> TTL識別序列

<220>
<221> 其他特徵
<222> (1)..(2)
<223> X可為任何胺基酸

<220>
<221> 其他特徵
<222> (3)..(3)
<223> X可為E、D或C

<400> 3

Xaa Xaa Xaa Glu
1

<210> 4
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> TTL識別序列

<400> 4

Glu Gly Glu Glu
1

<210> 5
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> TTL識別序列

<400> 5

Val Asp Ser Val Glu Gly Glu Gly Glu Glu Glu Gly Glu Glu
1 5 10

<210> 6
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> TTL識別序列

<400> 6

Ser Val Glu Gly Glu Gly Glu Glu Glu Gly Glu Glu
1 5 10

<210> 7
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> TTL識別序列

<400> 7

Ser Ala Asp Gly Glu Asp Glu Gly Glu Glu
1 5 10

<210> 8
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> TTL識別序列

<400> 8

Ser Val Glu Ala Glu Ala Glu Glu Gly Glu Glu
1 5 10

<210> 9
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> TTL識別序列

<400> 9

Ser Tyr Glu Asp Glu Asp Glu Gly Glu Glu
1 5 10

<210> 10
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> TTL識別序列

<400> 10

Ser Phe Glu Glu Glu Asn Glu Gly Glu Glu
1 5 10

<210> 11
<211> 237
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 貝倫妥昔輕鏈在C末端包含TTL識別序列

<400> 11

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

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

Gly Asp Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

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

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

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

Glu Asp Pro Trp 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 Gly Gly Gly Gly Ser Val
210 215 220

Asp Ser Val Glu Gly Glu Gly Glu Glu Gly Glu Glu
225 230 235

<210> 12
<211> 461
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 貝倫妥昔重鏈在C末端與TTL識別序列融合

<400> 12

Gln Ile Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro 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 Asp Tyr
20 25 30

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

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

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

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

Ala Asn Tyr Gly Asn Tyr Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln
100 105 110

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

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

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160

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

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

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

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

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
245 250 255

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Asp Ser Val Glu Gly Glu Gly Glu Glu Glu Gly Glu Glu
450 455 460

<210> 13
<211> 377
<212> PRT
<213> 灰狼

<400> 13

Met Tyr Thr Phe Val Val Arg Asp Glu Asn Ser Ser Val Tyr Ala Glu
1 5 10 15

Val Ser Arg Leu Leu Leu Ala Thr Gly His Trp Lys Arg Leu Arg Arg
20 25 30

Asp Asn Pro Arg Phe Asn Leu Met Leu Gly Glu Arg Asn Arg Leu Pro
35 40 45

Phe Gly Arg Leu Gly His Glu Pro Gly Leu Met Gln Leu Val Asn Tyr
50 55 60

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

Ile Lys Thr Ser Pro Asp Leu Ala Glu Ser Cys Thr Trp Phe Pro Glu

85 90 95

Ser	Tyr	Val	Ile	Tyr	Pro	Thr	Asn	Leu	Lys	Thr	Pro	Val	Ala	Pro	Ala
			100					105					110		
Gln	Asn	Gly	Ile	His	Pro	Pro	Ile	His	Asn	Ser	Arg	Thr	Asp	Glu	Arg
		115					120					125			
Glu	Phe	Phe	Leu	Ala	Ser	Tyr	Asn	Arg	Lys	Lys	Glu	Asp	Gly	Glu	Gly
	130					135					140				
Asn	Val	Trp	Ile	Ala	Lys	Ser	Ser	Ala	Gly	Ala	Lys	Gly	Glu	Gly	Ile
145					150					155					160
Leu	Ile	Ser	Ser	Glu	Ala	Thr	Glu	Leu	Leu	Asp	Phe	Ile	Asp	Asn	Gln
				165					170					175	
Gly	Gln	Val	His	Val	Ile	Gln	Lys	Tyr	Leu	Glu	His	Pro	Leu	Leu	Leu
			180					185					190		
Glu	Pro	Gly	His	Arg	Lys	Phe	Asp	Ile	Arg	Ser	Trp	Val	Leu	Val	Asp
		195					200					205			
His	Gln	Tyr	Asn	Ile	Tyr	Leu	Tyr	Lys	Glu	Gly	Val	Leu	Arg	Thr	Ala
	210					215					220				
Ser	Glu	Pro	Tyr	His	Val	Asp	Asn	Phe	Gln	Asp	Lys	Thr	Cys	His	Leu
225					230					235					240
Thr	Asn	His	Cys	Ile	Gln	Lys	Glu	Tyr	Ser	Lys	Asn	Tyr	Gly	Lys	Tyr
				245					250					255	
Glu	Glu	Gly	Asn	Glu	Met	Phe	Phe	Glu	Glu	Phe	Asn	Gln	Tyr	Leu	Ile
			260					265					270		
Ser	Ala	Leu	Asn	Ile	Thr	Leu	Glu	Ser	Ser	Ile	Leu	Leu	Gln	Ile	Lys
		275					280					285			
His	Ile	Ile	Arg	Ser	Cys	Leu	Met	Ser	Val	Glu	Pro	Ala	Ile	Ser	Thr
	290					295					300				
Arg	Tyr	Leu	Pro	Tyr	Gln	Ser	Phe	Gln	Leu	Phe	Gly	Phe	Asp	Phe	Met
305					310					315					320
Val	Asp	Glu	Thr	Leu	Lys	Val	Trp	Leu	Ile	Glu	Val	Asn	Gly	Ala	Pro
				325					330					335	

Ala Cys Ala Gln Arg Leu Tyr Ala Glu Leu Cys Gln Gly Ile Val Asp
340 345 350

Ile Ala Ile Ser Ser Val Phe Pro Pro Pro Asp Val Glu Pro Gln His
355 360 365

Ile Gln Pro Ala Ala Phe Ile Lys Leu
370 375

<210> 14
<211> 232
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 貝倫妥昔輕鏈在C末端包含TTL識別序列

<400> 14

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

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

Gly Asp Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

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

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

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

Glu Asp Pro Trp 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

202237166

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 Val Asp Ser Val Glu Gly
210 215 220

Glu Gly Glu Glu Glu Gly Glu Glu
225 230

【發明申請專利範圍】

【請求項1】 一種抗體-藥物共軛體(ADC)，其包含：

(a)貝倫妥昔(brentuximab)，其中貝倫妥昔在該貝倫妥昔的輕鏈、重鏈或全部重鏈及輕鏈的C末端包含微管蛋白酪胺酸連接酶的識別序列及非天然胺基酸；以及

(b)至少一種藥物部分；

其中藥物部分經由連接子與該等非天然胺基酸的每一個共軛。

【請求項2】 如請求項1之ADC，

其中貝倫妥昔的該等重鏈具有包含SEQ ID NO: 1或由其組成的胺基酸序列，或與SEQ ID NO: 1具有至少95%的序列一致性；及/或

其中貝倫妥昔的該等輕鏈具有包含SEQ ID NO: 2或由其組成的胺基酸序列，或與SEQ ID NO: 2具有至少95%的序列一致性。

【請求項3】 如請求項2之ADC，其中貝倫妥昔由重鏈及輕鏈組成，該等重鏈由SEQ ID NO: 1的胺基酸序列組成，該等輕鏈由SEQ ID NO: 2的胺基酸序列組成。

【請求項4】 如前述請求項中任一項之ADC，其中該藥物部分選自由以下組成的群組：喜樹鹼、類美登素(maytansinoid)、卡奇黴素(calicheamycin)、倍癌黴素(duocarmycin)、微管溶素(tubulysin)、鵝膏毒素(amatotoxin)、尾海兔素(dolastatin)及阿瑞他汀(auristatin)，諸如單甲基阿瑞他汀E(MMAE)、吡咯并苯并二氮呋二聚體、吲哚啉并-苯并二氮呋二聚體、放射性同位素、治療性蛋白及肽(或其片段)、核酸、PROTAC、激酶抑制劑、MEK抑制劑、KSP抑制劑、及其類似物或前驅藥。

【請求項5】 如請求項4之ADC，其中該藥物部分為MMAE。

【請求項6】 如前述請求項中任一項之ADC，其中該微管蛋白酪胺酸連接酶的識別序列至少具有胺基酸序列 $X_1X_2X_3X_4$ (SEQ ID NO: 3)，其中 X_1 及 X_2 為任意胺基酸， X_3 為E、D或C，且 X_4 為E。

【請求項7】 如請求項6之ADC，其中 X_2 為G、S、A、V或F，及/或其中 X_1 為E、D、A、K或P。

【請求項8】 如請求項7之ADC，其中該識別序列為EGEE(SEQ ID No. 4)。

【請求項9】 如請求項7之ADC，其中該識別序列為VDSVEGEGEEEGEE(SEQ ID No. 5)、SVEGEGEEEGEE(SEQ ID No. 6)、SADGEDEGEE(SEQ ID No. 7)、SVEAEAEEGEE(SEQ ID No. 8)、SYEDEDEGEE(SEQ ID No. 9)、或SFEEENEGEE(SEQ ID No. 10)。

【請求項10】 如前述請求項中任一項之ADC，其中該非天然胺基酸為2-取代、3-取代或4-取代的酪胺酸，或在苄基位置取代的酪胺酸衍生物。

【請求項11】 如請求項10之ADC，其中該3-取代或4-取代的酪胺酸衍生物為3-硝基酪胺酸、3-胺基酪胺酸、3-疊氮基酪胺酸、3-甲醯基酪胺酸、3-乙醯基酪胺酸、或4-胺基苯丙胺酸。

【請求項12】 如請求項11之ADC，其中該3-取代或4-取代的酪胺酸衍生物為3-甲醯基酪胺酸。

【請求項13】 如前述請求項中任一項之ADC，其中該連接子為可裂解的。

【請求項14】 如請求項13之ADC，其中該連接子為蛋白酶可裂解的。

【請求項15】 如請求項14之ADC，其中該蛋白酶為組織蛋白酶，諸如組織蛋白酶B。

【請求項16】 如前述請求項中任一項之ADC，其中該連接子包含纈胺酸-瓜胺酸部分。

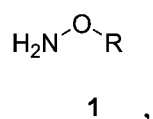
【請求項17】 如前述請求項中任一項之ADC，其中該連接子包含羥胺基團且該非天然胺基酸包含位於芳環中羥基鄰位的甲醯基，且其中共軛後該連接子的該羥胺基團與該非天然胺基酸的甲醯基形成𬝰。

【請求項18】 如前述請求項中任一項之ADC，其中貝倫妥昔與兩個、四個、六個或八個藥物部分共軛。

【請求項19】 如請求項18之ADC，其中貝倫妥昔與兩個或四個藥物部分共軛。

【請求項20】 如請求項19之ADC，其中貝倫妥昔與兩個藥物部分共軛。

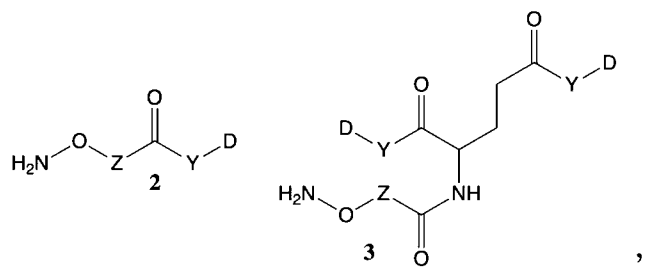
【請求項21】 如前述請求項中任一項之ADC，其中該連接子在與該非天然胺基酸共軛之前具有如結構1所示的結構：



其中R為一或多個藥物部分，其任選地藉由一或多個裂解位點與結構1的該羥胺共軛。

【請求項22】 如請求項21之ADC，其中結構1的該羥胺與該非天然胺基酸共軛。

【請求項23】 如前述請求項中任一項之ADC，其中該連接子在與該非天然胺基酸共軛之前具有如結構2或3所示的結構：



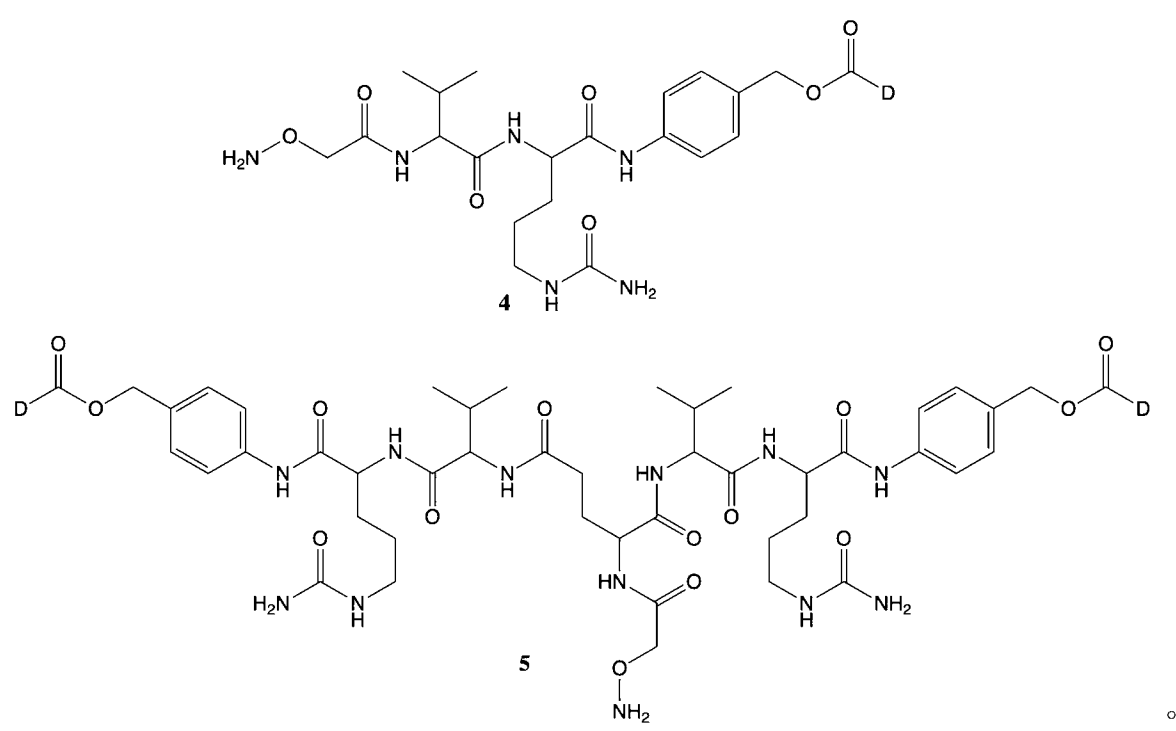
其中Z選自由以下組成的群組：取代或未取代的烷基、取代或未取代的烯基、取代或未取代的炔基、取代或未取代的環烷基、取代或未取代的芳基、取代或未取代的芳烷基、取代或未取代的雜芳基、取代或未取代的雜芳烷基、取代或未取代的雜環基、取代或未取代的雜烷基、取代或未取代的雜烯基、及取代或未取代的雜炔基；

其中D為一或多個藥物部分；以及

其中Y為裂解位點，諸如組織蛋白酶(諸如組織蛋白酶B)的裂解位點。

【請求項24】 如請求項23之ADC，其中結構2或結構3的該羥胺與該非天然胺基酸共軛。

【請求項25】 如前述請求項中任一項之ADC，其中該連接子在與該非天然胺基酸共軛之前具有如結構4或5所示的結構，其中D為藥物部分：



【請求項26】 如請求項25之ADC，其中該非天然胺基酸為3-甲醯基酪胺酸，且該連接子的該羥胺基團與該非天然胺基酸的3-甲醯基形成肟。

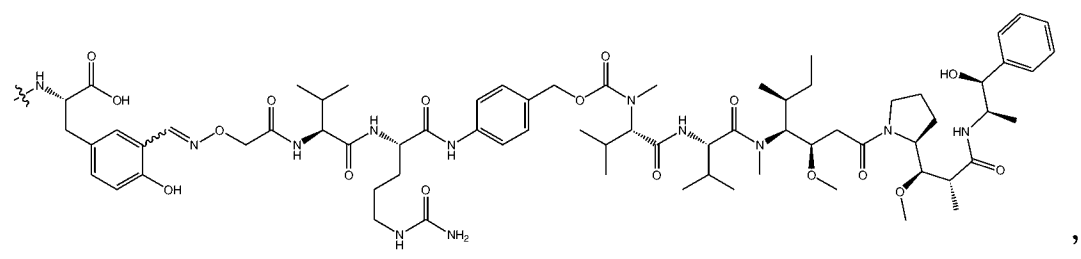
【請求項27】 如請求項26之ADC，其中該藥物部分為MMAE。

【請求項28】 一種抗體-藥物共軛體(ADC)，其包含：

(a)貝倫妥昔，其中貝倫妥昔在每個輕鏈的C末端包含微管蛋白-酪胺酸連接酶的識別序列；

每個輕鏈，包括該識別序列，具有SEQ ID NO: 11；且貝倫妥昔的每個重鏈具有SEQ ID NO: 1；以及

(b)每個輕鏈的該識別序列的該C末端經由醯胺鍵與具有以下結構的基團結合：



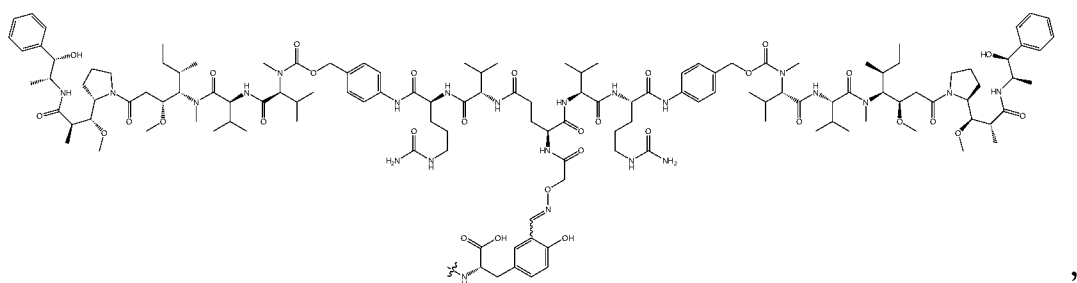
其中波浪線表示與每個輕鏈的該識別序列的該C末端的連接。

【請求項29】 一種抗體-藥物共軛體(ADC)，其包含：

(a)貝倫妥昔，其中貝倫妥昔在每個輕鏈的C末端包含微管蛋白-酪胺酸連接酶的識別序列；

每個輕鏈，包括該識別序列，具有SEQ ID NO: 11；且貝倫妥昔的每個重鏈具有SEQ ID NO: 1；以及

(b)每個輕鏈的該識別序列的該C末端經由醯胺鍵與具有以下結構的基團結合：



其中波浪線表示與每個輕鏈的該識別序列的該C末端的連接。

【請求項30】 一種製造如請求項1到29中任一項所界定之ADC之方法，其包含：

(a)在貝倫妥昔的輕鏈、重鏈或輕鏈及重鏈兩者的C末端引入或添加微管蛋白酪胺酸連接酶的識別序列；

(b)在微管蛋白酪胺酸連接酶及非天然胺基酸存在下，在適合微管蛋白酪胺酸連接酶使該貝倫妥昔與該非天然胺基酸連接的條件下，使步驟(a)中獲得的貝倫妥昔接觸；以及

(c)使包含藥物部分的任選可裂解的連接子與步驟(b)中獲得的經連接的該貝倫妥昔共軛。

【請求項31】 一種ADC，其可藉由請求項30之方法獲得或正在獲得。

【請求項32】 一種醫藥組合物，其包含請求項1到29或31中任一項之ADC。

【請求項33】 一種如請求項1到29或31中任一項之ADC供使用於治療疾病的方法。

【請求項34】 如請求項33之供使用之ADC，其中該疾病與CD30的過度表現有關。

【請求項35】 如請求項33或34之供使用之ADC，其中該疾病選自由以下組成的群組：淋巴瘤，諸如何杰金氏淋巴瘤(HL)、非何杰金氏淋巴瘤(NHL)、退行性大細胞淋巴瘤(ALCL)、大型B細胞淋巴瘤、兒童淋巴瘤、T細胞淋巴瘤及腸病變相關T細胞淋巴瘤(EATL)；白血病，諸如急性骨髓性白血病(AML)、急性淋巴母細胞白血病(ALL)及肥大細胞白血病；生殖細胞癌；移植物抗宿主病(GvHD)；以及狼瘡，特別是全身性紅斑狼瘡(SLE)；或

其中該疾病選自由以下組成的群組：非特指型的周邊T細胞淋巴瘤(PTCL-NOS)、血管免疫母細胞T細胞淋巴瘤(AITL)、腸病變相關T細胞淋巴瘤(EATL)、成人T細胞白血病/淋巴瘤(ATLL)、結外自然殺手/T細胞淋巴瘤(ENKTCL)、肝脾及腸道 γ/δ -T細胞淋巴瘤、具有TFH表現型的結性周邊T細胞淋巴瘤、以及濾泡性T細胞淋巴瘤。

【請求項36】 如請求項35之供使用之ADC，其中該疾病為何杰金氏淋巴瘤(HL)或退行性大細胞淋巴瘤(ALCL)；或

其中該疾病為周邊T細胞淋巴瘤(PTCL)，包括退行性大細胞淋巴瘤(ALCL)；或皮膚T細胞淋巴瘤(CTCL)，包括原發性皮膚退行性大細胞淋巴瘤(pcALCL)。

【請求項37】 一種如請求項32之醫藥組合物供使用於治療疾病的方法。

【請求項38】 如請求項37之供使用之醫藥組合物，其中該疾病與CD30的過度表現有關。

【請求項39】 如請求項37或38之供使用之醫藥組合物，其中該疾病選自由以下組成的群組：淋巴瘤，諸如何杰金氏淋巴瘤(HL)、非何杰金氏淋巴瘤(NHL)、退行性大細胞淋巴瘤(ALCL)、大型B細胞淋巴瘤、兒童淋巴瘤、T細胞淋巴瘤及腸病變相關T細胞淋巴瘤(EATL)；白血病，諸如急性骨髓性白血病(AML)、急性淋巴母細胞白血病(ALL)及肥大細胞白血病；生殖細胞癌；移植物抗宿主病(GvHD)；以及狼瘡，特別是全身性紅斑狼瘡(SLE)；或

其中該疾病選自由以下組成的群組：非特指型的周邊T細胞淋巴瘤(PTCL-NOS)、血管免疫母細胞T細胞淋巴瘤(AITL)、腸病變相關T細胞淋巴瘤(EATL)、成人T細胞白血病/淋巴瘤(ATLL)、結外自然殺手/T細胞淋巴瘤(ENKTCL)、肝脾及腸道 γ/δ -T細胞淋巴瘤、具有TFH表現型的結性周邊T細胞淋巴瘤、以及濾泡性T細胞淋巴瘤。

【請求項40】 如請求項39之供使用之醫藥組合物，其中該疾病為何杰金氏淋巴瘤(HL)或退行性大細胞淋巴瘤(ALCL)；或

其中該疾病為周邊T細胞淋巴瘤(PTCL)，包括退行性大細胞淋巴瘤(ALCL)；或皮膚T細胞淋巴瘤(CTCL)，包括原發性皮膚退行性大細胞淋巴瘤(pcALCL)。

【請求項41】 一種如請求項1到29或31之ADC之用途，其用於製造用於治療與CD30的過度表現相關的疾病的藥物。

【請求項42】 如請求項41之用途，其中該疾病選自由以下組成的群組：淋巴瘤，諸如何杰金氏淋巴瘤(HL)、非何杰金氏淋巴瘤(NHL)、退行性大細胞淋巴瘤

(ALCL)、大型B細胞淋巴瘤、兒童淋巴瘤、T細胞淋巴瘤及腸病變相關T細胞淋巴瘤(EATL)；白血病，諸如急性骨髓性白血病(AML)、急性淋巴母細胞白血病(ALL)及肥大細胞白血病；生殖細胞癌；移植物抗宿主病(GvHD)；以及狼瘡，特別是全身性紅斑狼瘡(SLE)；或

其中該疾病選自由以下組成的群組：非特指型的周邊T細胞淋巴瘤(PTCL-NOS)、血管免疫母細胞T細胞淋巴瘤(AITL)、腸病變相關T細胞淋巴瘤(EATL)、成人T細胞白血病/淋巴瘤(ATLL)、結外自然殺手/T細胞淋巴瘤(ENKTCL)、肝脾及腸道 γ/δ -T細胞淋巴瘤、具有TFH表現型的結性周邊T細胞淋巴瘤、以及濾泡性T細胞淋巴瘤。

【請求項43】 如請求項42之用途，其中該疾病為何杰金氏淋巴瘤(HL)或退行性大細胞淋巴瘤(ALCL)；或

其中該疾病為周邊T細胞淋巴瘤(PTCL)，包括退行性大細胞淋巴瘤(ALCL)；或皮膚T細胞淋巴瘤(CTCL)，包括原發性皮膚退行性大細胞淋巴瘤(pcALCL)。

【請求項44】 一種如請求項32之醫藥組合物之用途，其用於製造用於治療與CD30過度表現相關的疾病的藥物。

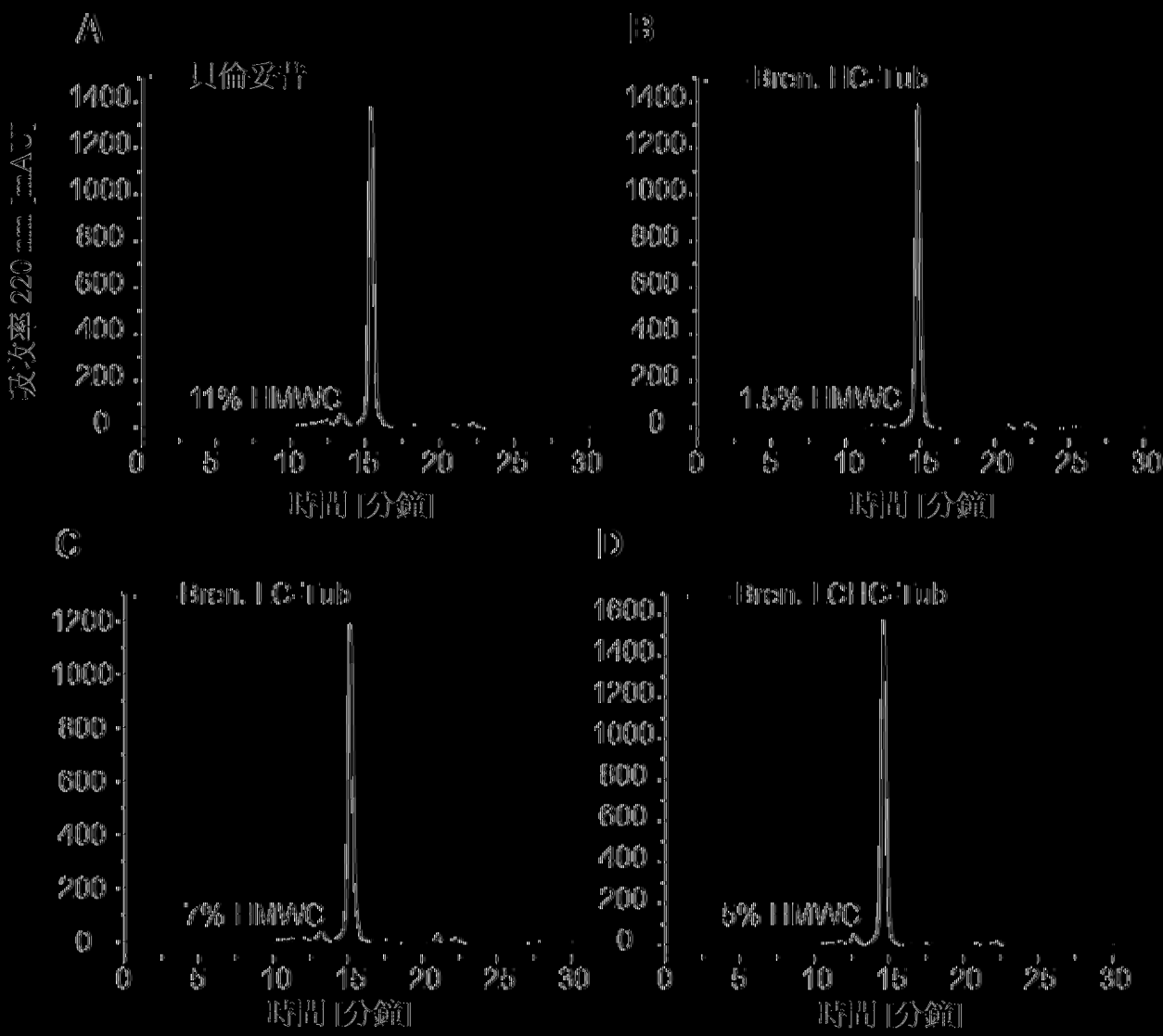
【請求項45】 如請求項44之用途，其中該疾病選自由以下組成的群組：淋巴瘤，諸如何杰金氏淋巴瘤(HL)、非何杰金氏淋巴瘤(NHL)、退行性大細胞淋巴瘤(ALCL)、大型B細胞淋巴瘤、兒童淋巴瘤、T細胞淋巴瘤及腸病變相關T細胞淋巴瘤(EATL)；白血病，諸如急性骨髓性白血病(AML)、急性淋巴母細胞白血病(ALL)及肥大細胞白血病；生殖細胞癌；移植物抗宿主病(GvHD)；以及狼瘡，特別是全身性紅斑狼瘡(SLE)；或

其中該疾病選自由以下組成的群組：非特指型的周邊T細胞淋巴瘤(PTCL-NOS)、血管免疫母細胞T細胞淋巴瘤(AITL)、腸病變相關T細胞淋巴瘤(EATL)、成人T細胞白血病/淋巴瘤(ATLL)、結外自然殺手/T細胞淋巴瘤(ENKTCL)、肝脾及腸道 γ/δ -T細胞淋巴瘤、具有TFH表現型的結性周邊T細胞淋巴瘤、以及濾泡性T細胞淋巴瘤。

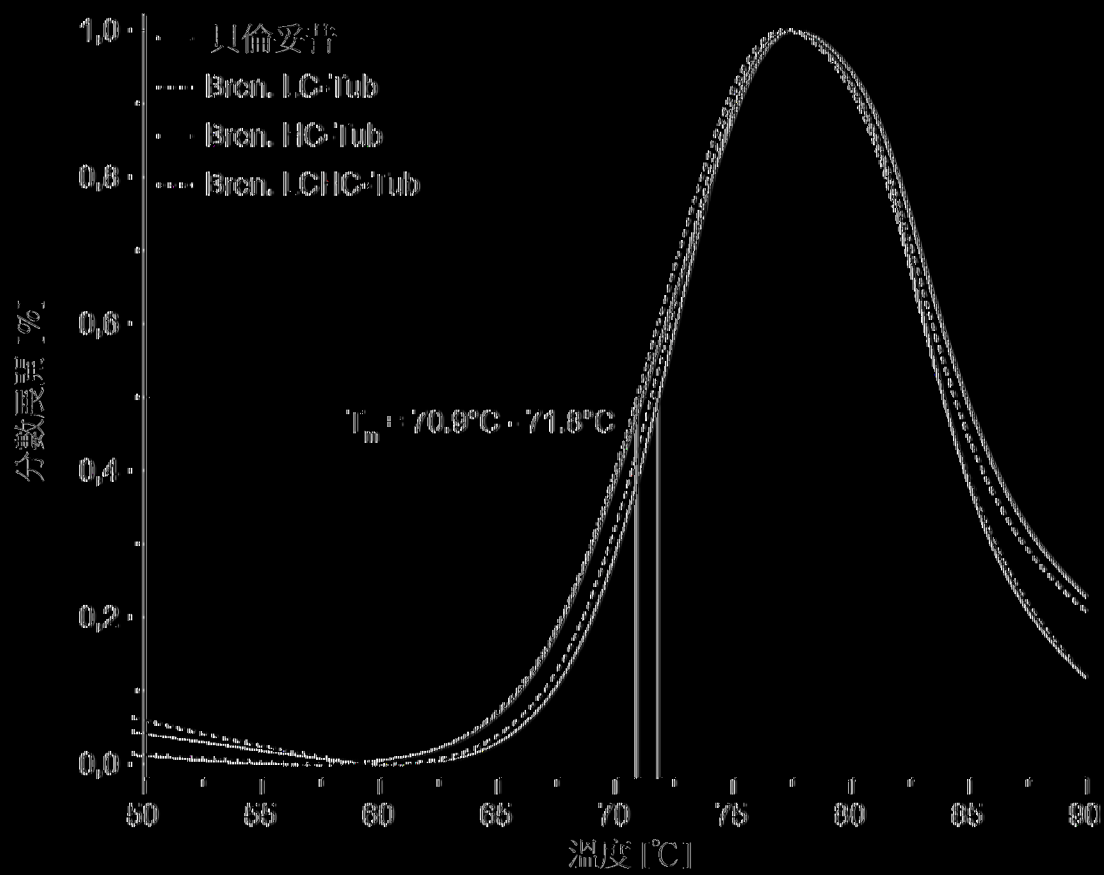
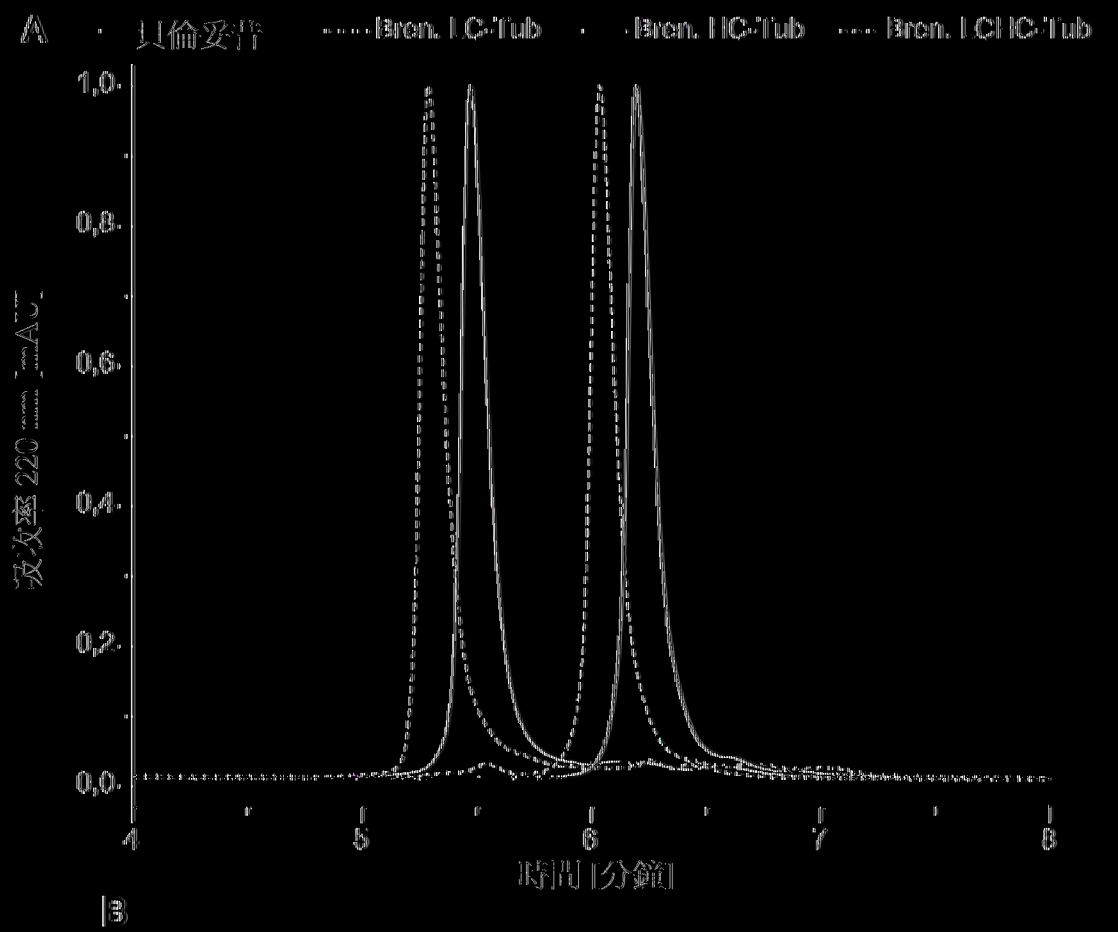
【請求項46】 如請求項45之用途，其中該疾病為何杰金氏淋巴瘤(HL)或退行性大細胞淋巴瘤(ALCL)；或

其中該疾病為周邊T細胞淋巴瘤(PTCL)，包括退行性大細胞淋巴瘤(ALCL)；或皮膚T細胞淋巴瘤(CTCL)，包括原發性皮膚退行性大細胞淋巴瘤(pcALCL)。

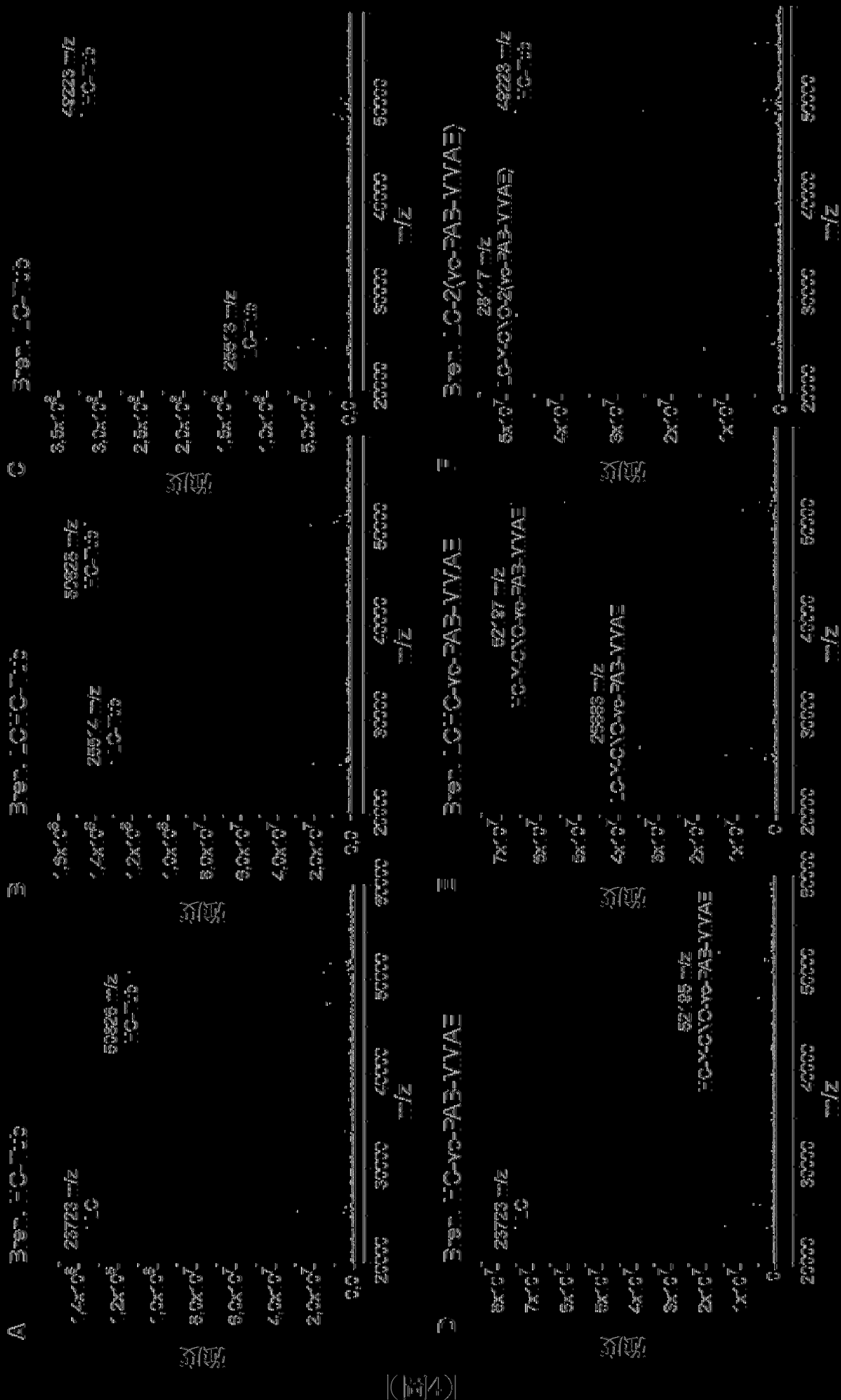
|(發明圖式)|

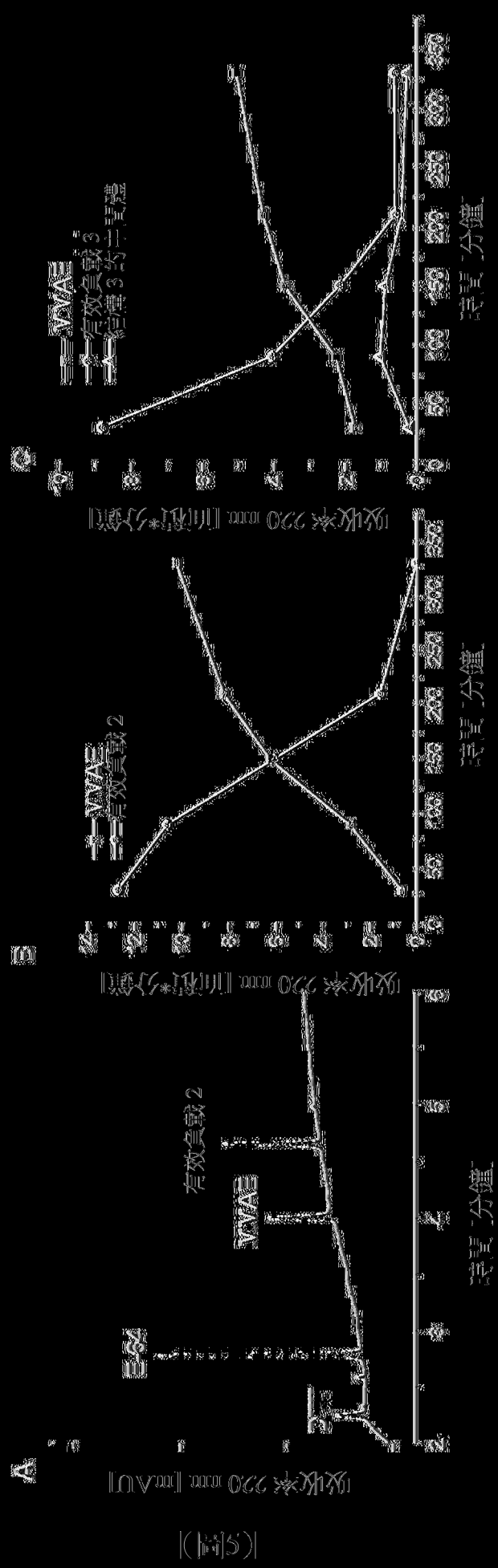


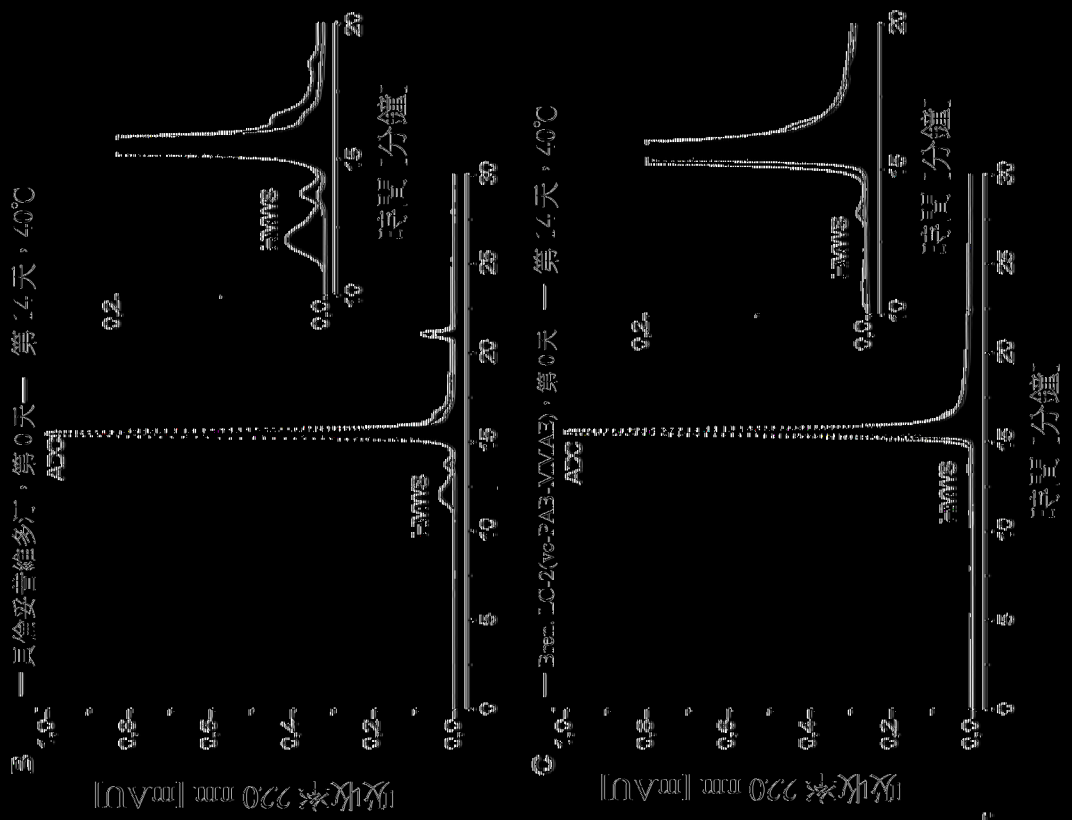
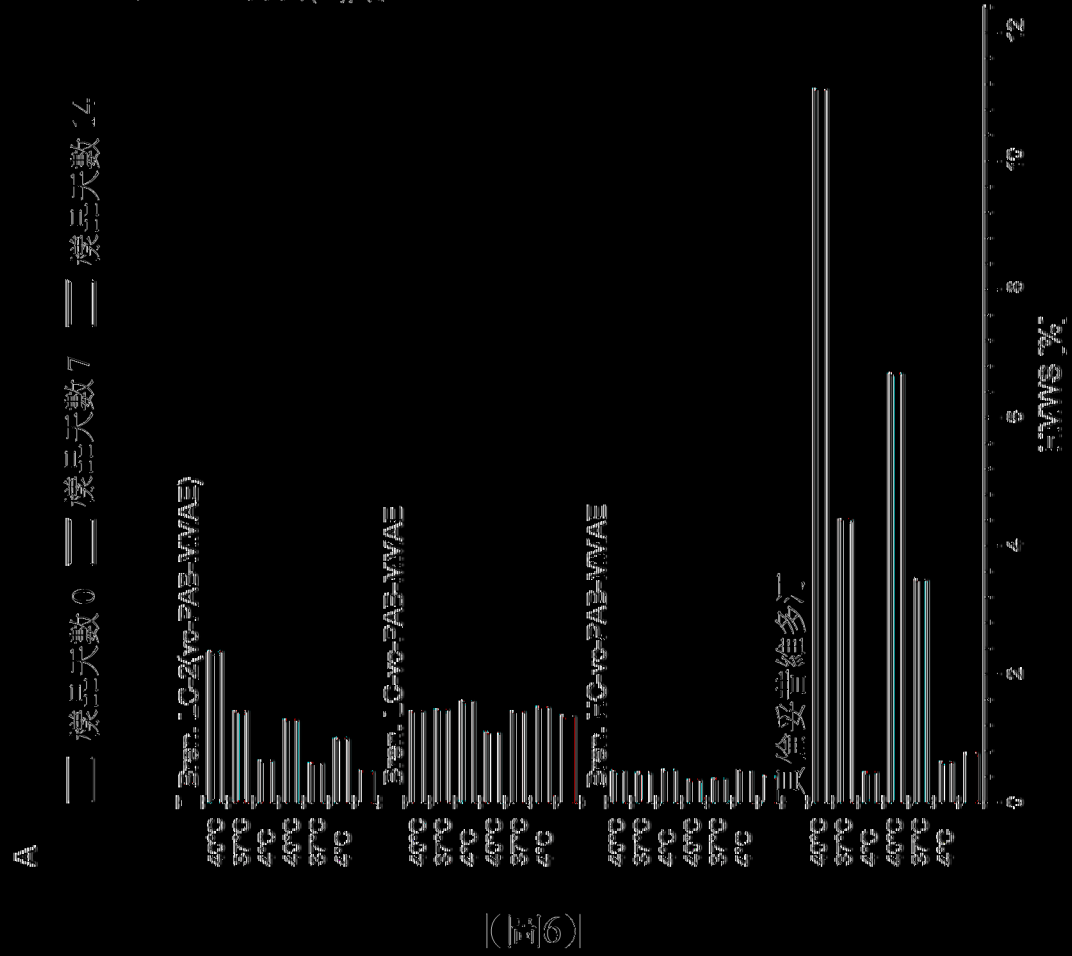
| (圖1) |

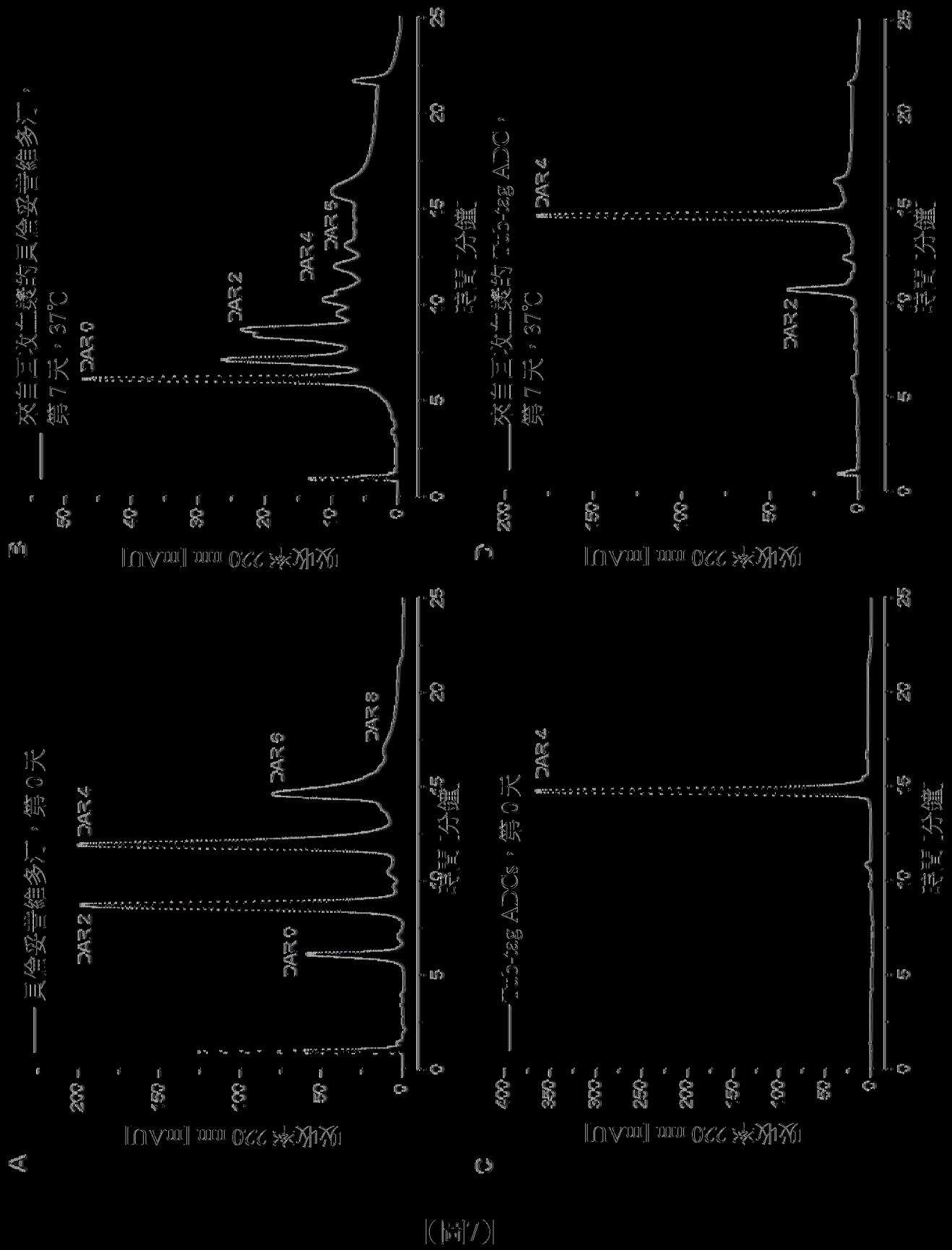


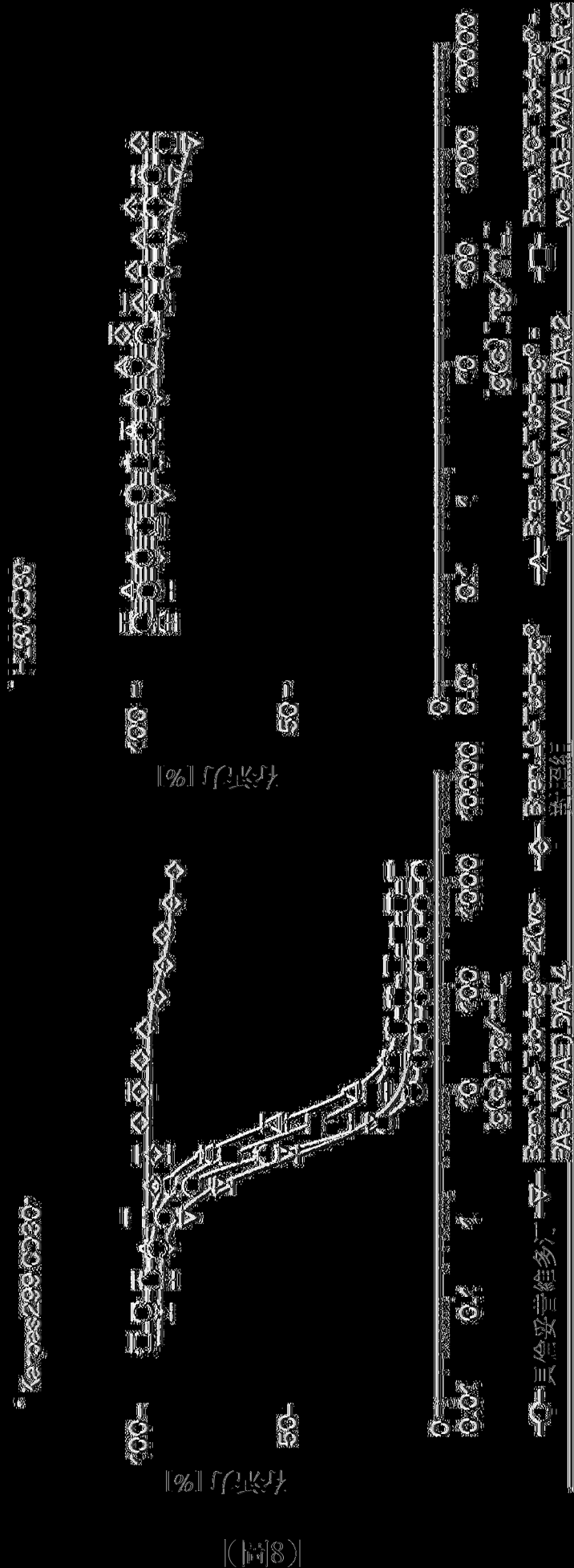
[(圖2)]

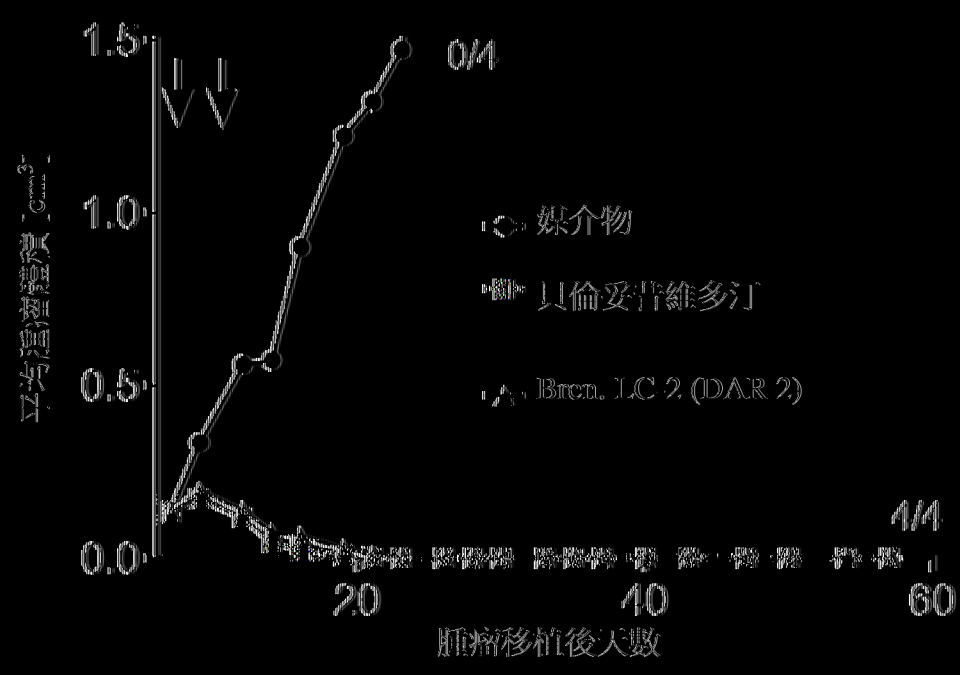




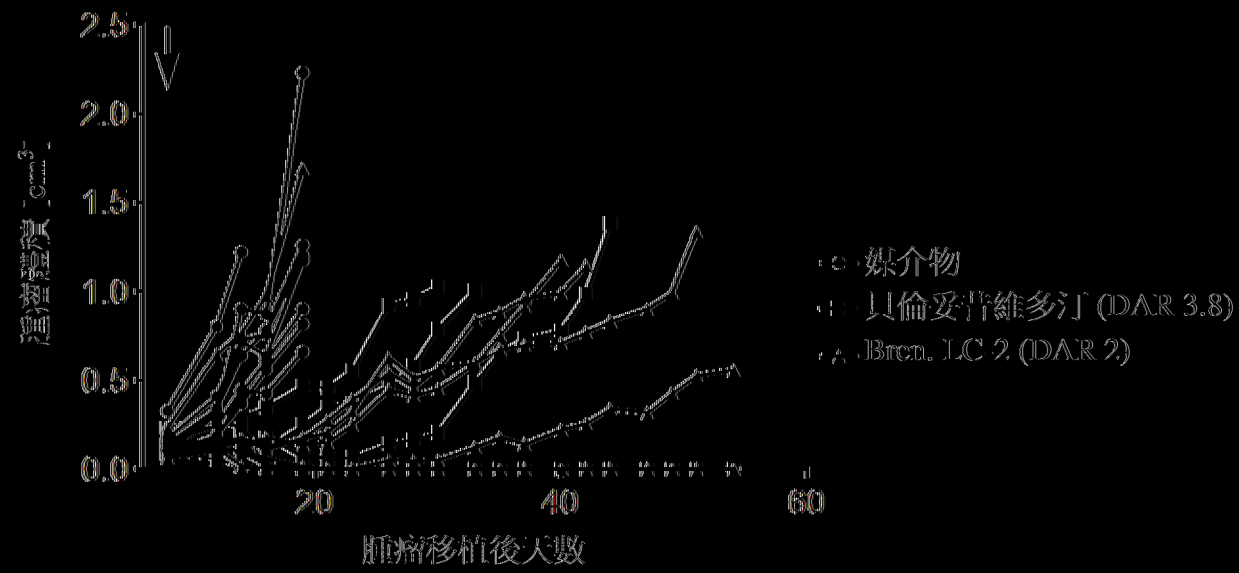




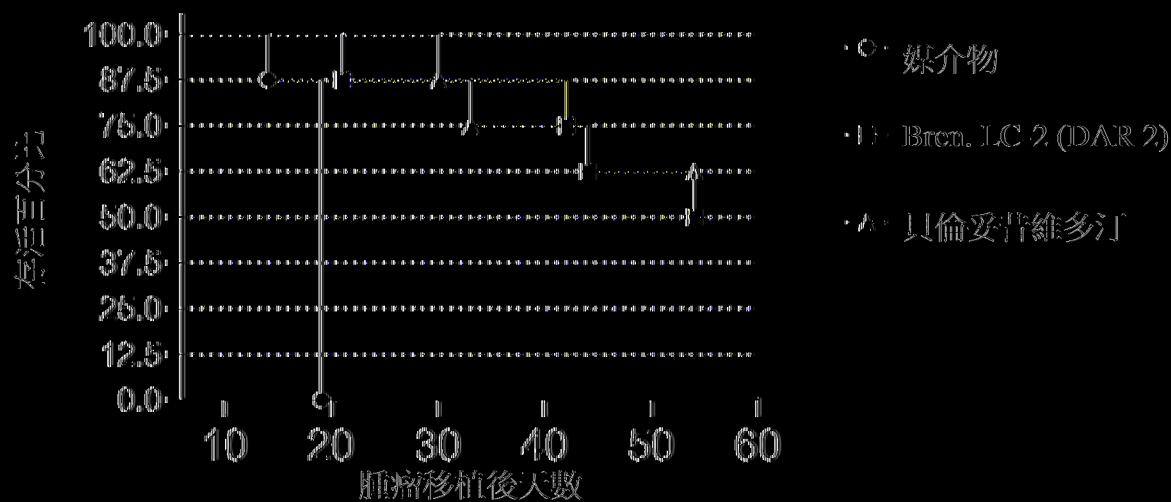




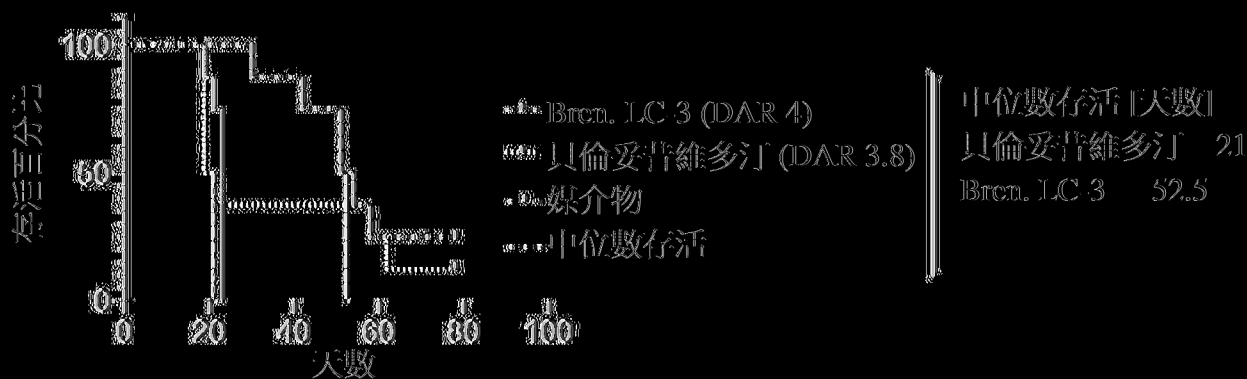
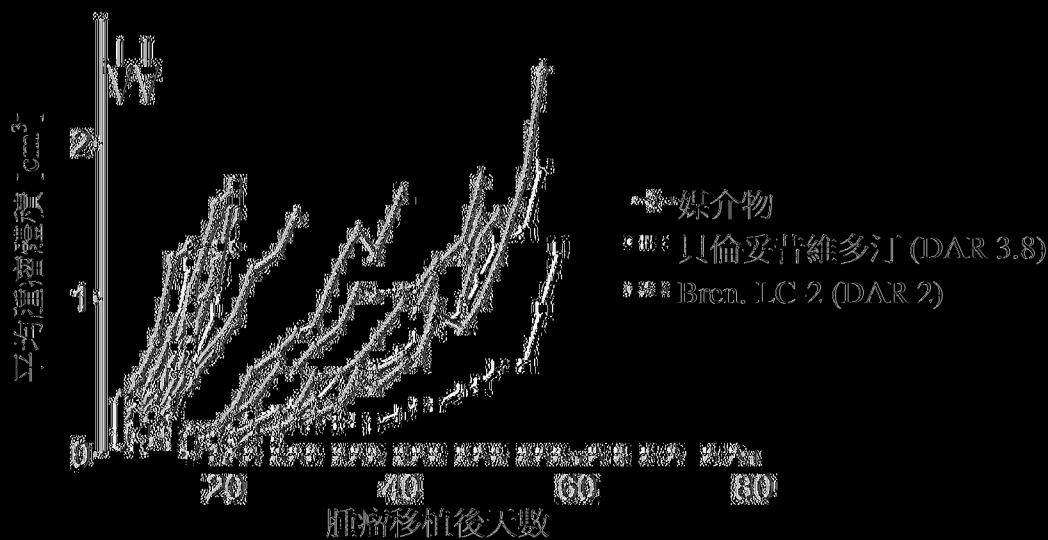
[(圖9)]



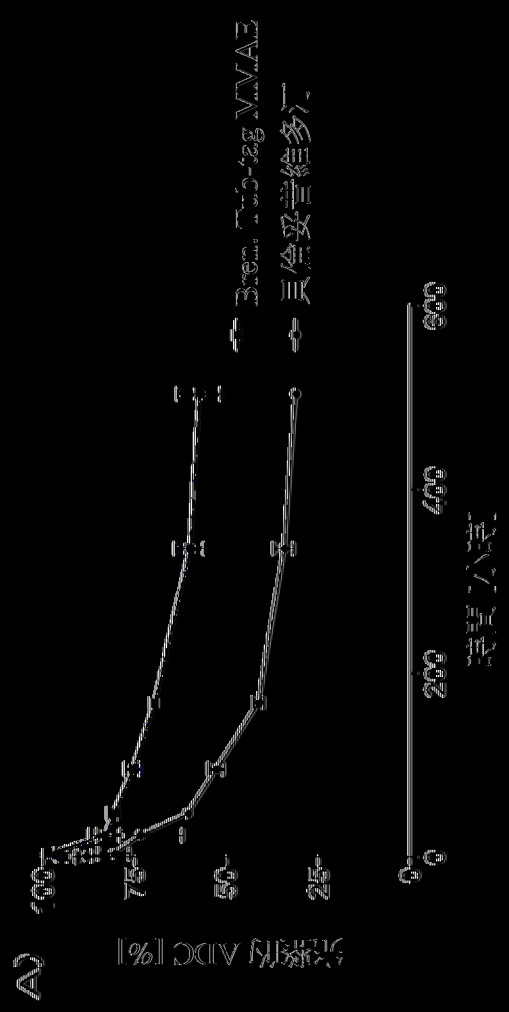
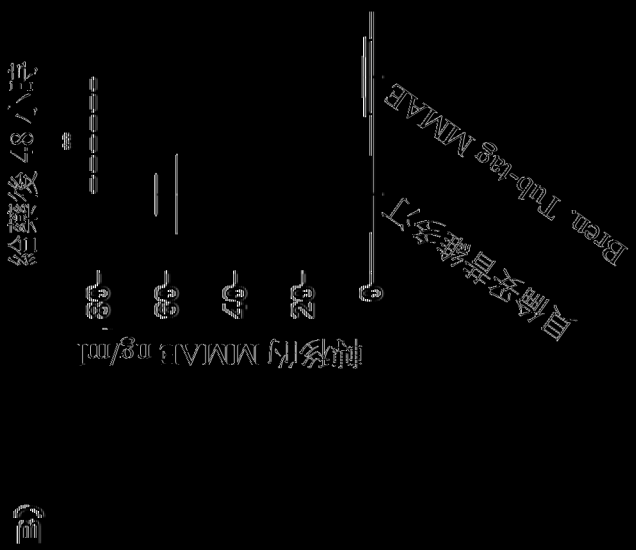
[(圖10)]



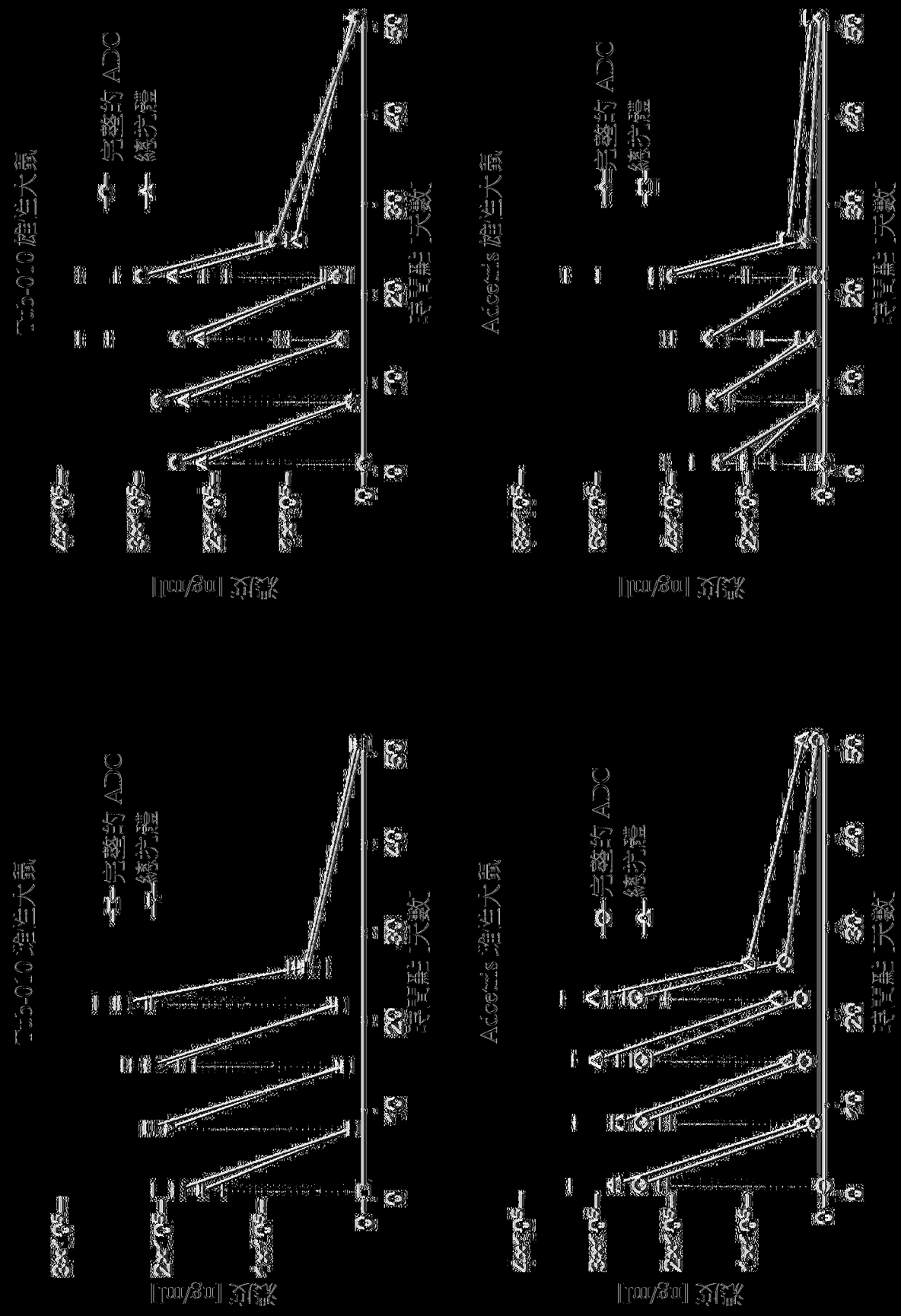
[(圖10(續))]



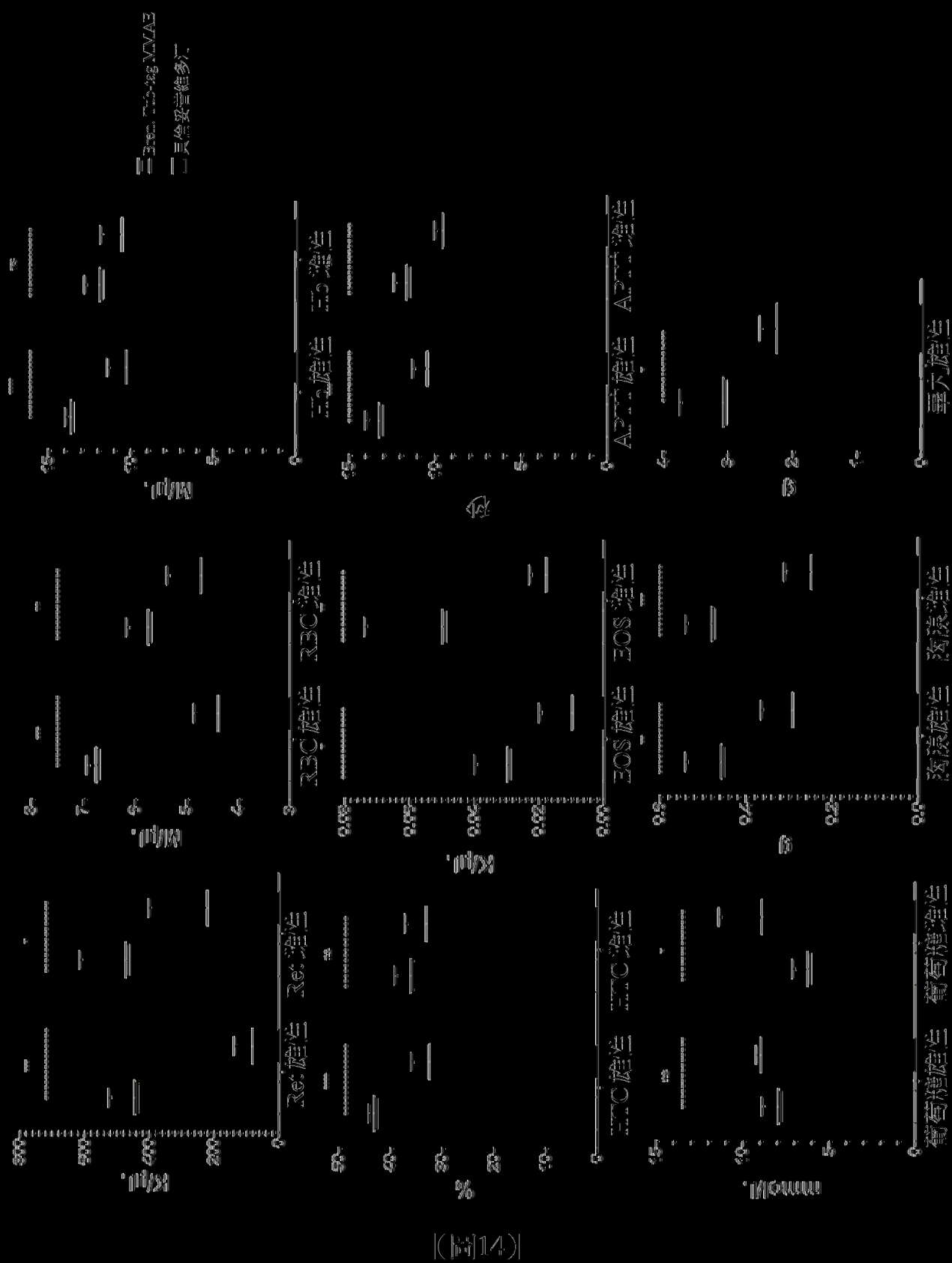
[(圖11)]



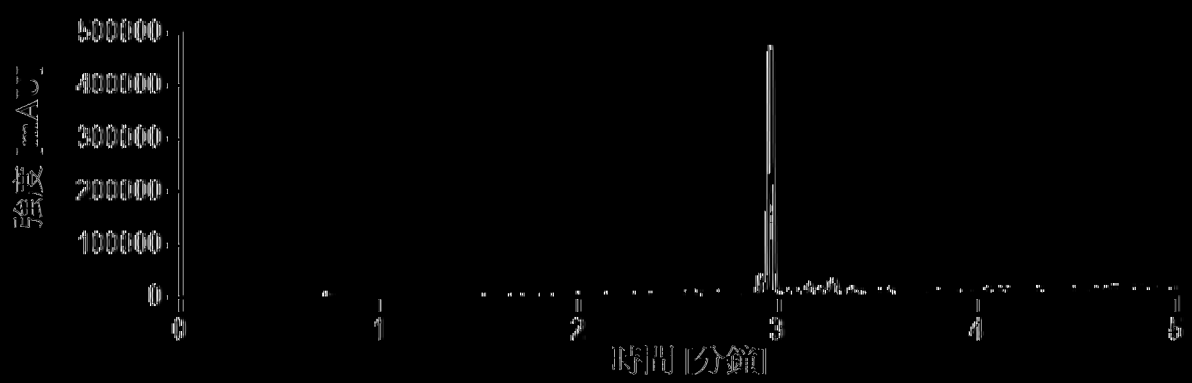
(圖12)



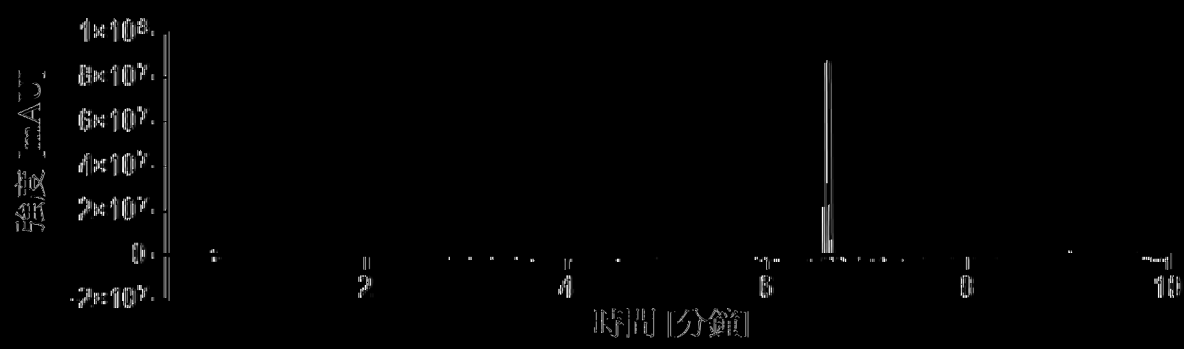
(F13)



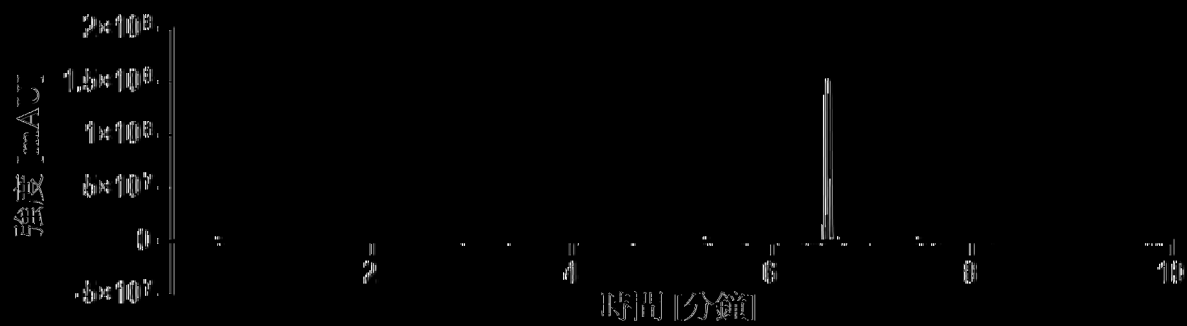
(圖14)



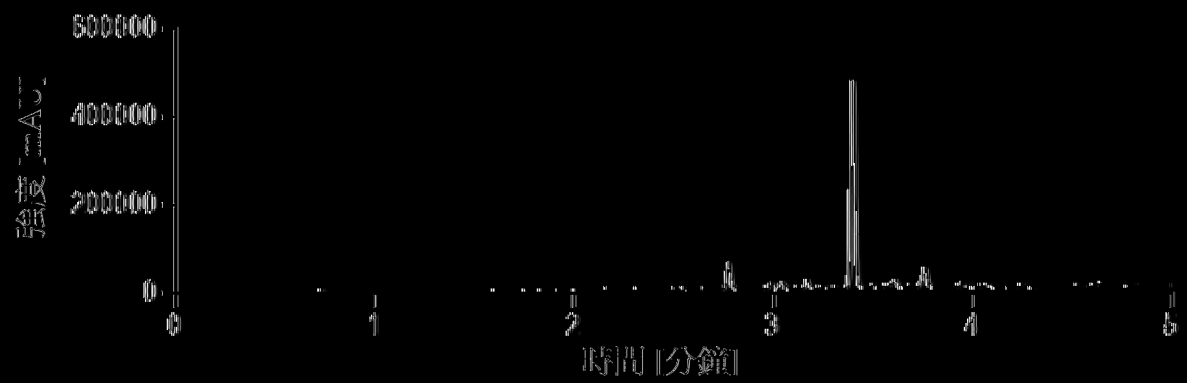
[(圖]15)]



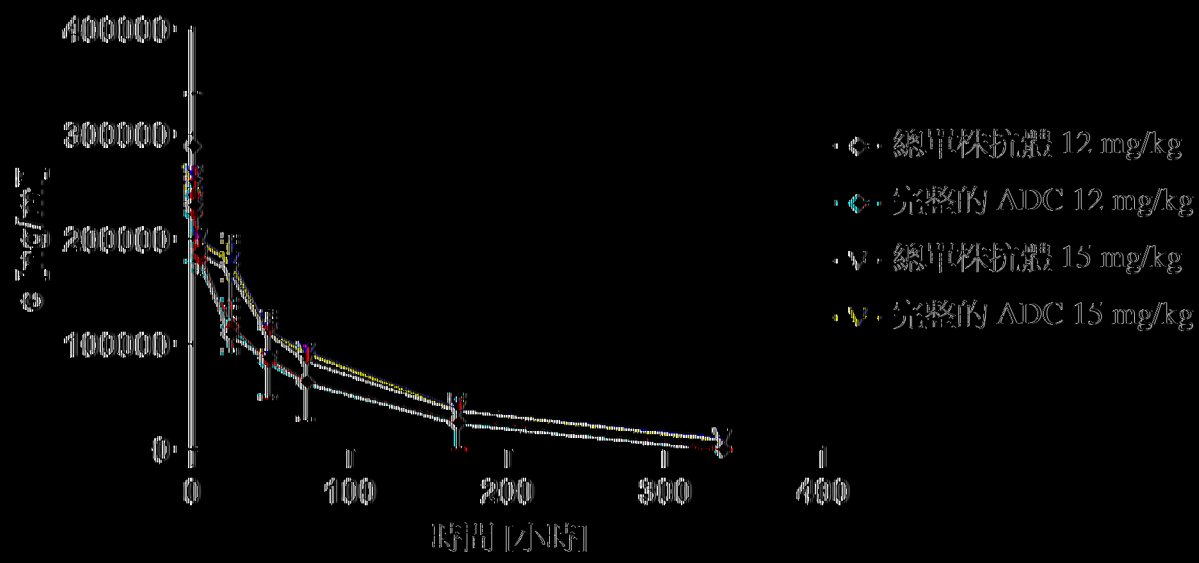
[(圖]16)]



[(圖]17)]

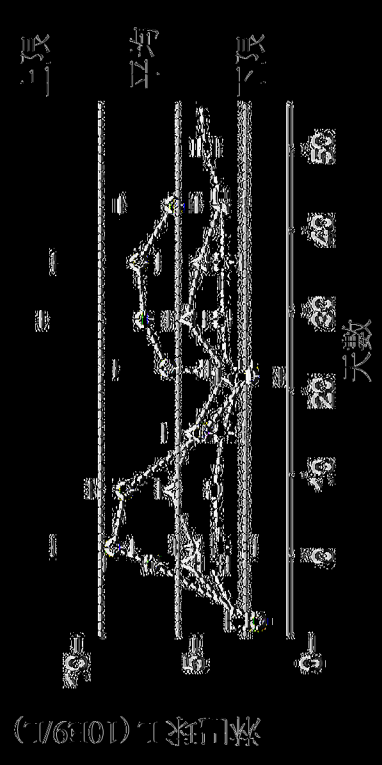
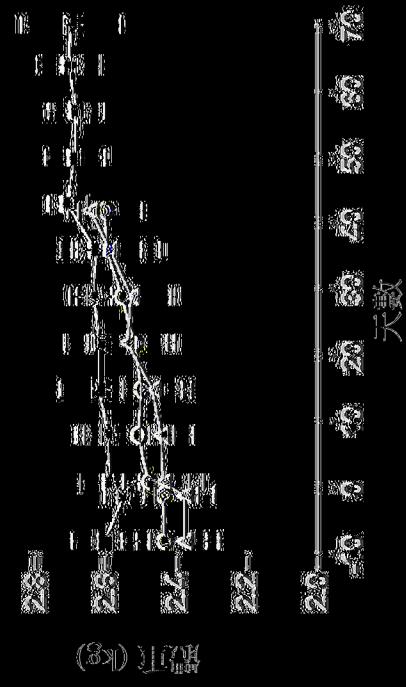


[(圖]18)]

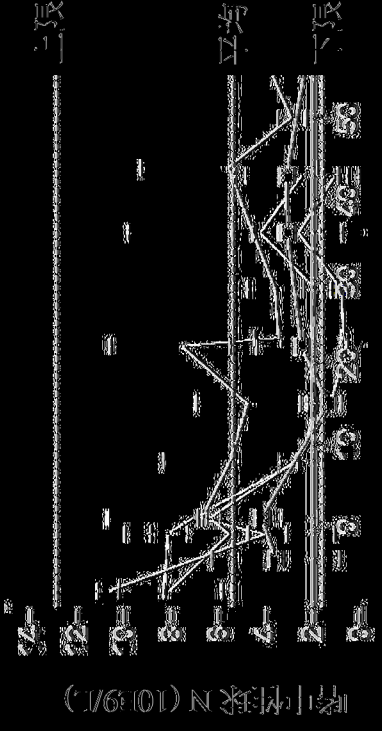


[(圖]19)]

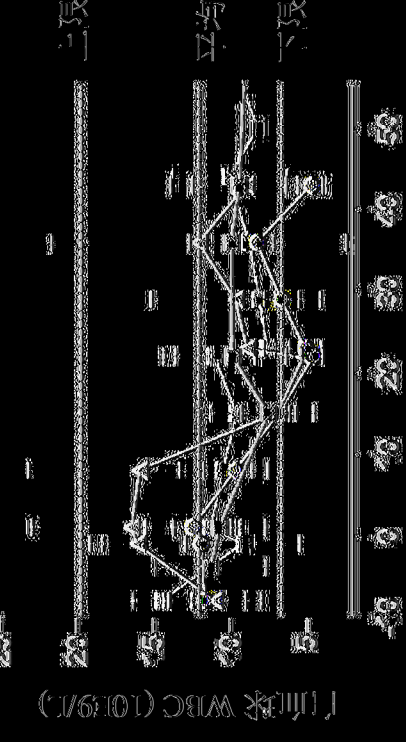
●第1組 (6 mg/kg) ●第2組 (12 mg/kg) ▲第3組 (15 mg/kg)
●第1組 (6 mg/kg) ●第2組 (12 mg/kg) ▲第3組 (15 mg/kg)



—第1組 (6 mg/kg) —第2組 (12 mg/kg)
—第3組 (15 mg/kg) —Accoasis (3 mg/kg)



—第1組 (6 mg/kg) ▲第2組 (12 mg/kg)
●第3組 (15 mg/kg) —Accoasis (3 mg/kg)



(F20)

表 21

DI VITOSPAS	I AVSLGORAT	I SCRASQSVI	PDGDSYNNIT	QOKPGOPPKV
II YVANSNIES	GI PARPSGSG	SETDITINIH	PVIGINDATY	YCOOSNDIPW
III GGGTKIIT	KRTVAAPSVI	II PPSPDFOLK	SGTASVVCII	NNIYPREAKV
QWKVDNATOS	GNSCISVTHO	DSKIDSTYSLI	STHITSKADY	NKHKVYACIV
THOGISSIPVI	RSIDNRGIC			

表 22

QIQLOOSGPI	VVKPGASVKI	SCKASGYTIT	DYYITWVKOK	PGGGLTWIGW
IYPGSONTKY	NKTKGKATJ	TVDTSSSTAT	NOISSITSTID	TA VYTCANYC
NYETAYWQOG	TOYIVSAAST	KGPSVITPLAP	SSKSTISGGIY	AI GCI VKDYI
IIIVTVSWNS	GAITSGVHTI	PAVLOSSEGLY	SLSEVVIVIPS	SSI GTOTYIC
NVNHKPSNTK	VDKKVETKSC	DKTHTCTPCP	APPIAGGPSV	IIITPKIKDT
IMTSKTPPIVI	GVVVDVSHED	PIVKITWYVD	GVVVDNARTK	PRITQYNSTY
RVVSVITVINE	QDWINGKIYK	QKVSNAKALPA	PIPKITSKAK	GOPRTPOVYT
IIIPSKDEIIRK	NOVSIATCIYK	GIYPSDIAYE	WESNGGPIINN	YKTTPEVIDS
DGSEITLYSKI	TVDKSRWQOG	NVITSCSVNIE	ALINHYTQKS	ISTSPG(K)

([21])