



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 112135638 A

(43) 申请公布日 2020.12.25

(21) 申请号 202080001611.1

(22) 申请日 2020.03.05

(30) 优先权数据

10-2019-0025987 2019.03.06 KR

10-2020-0027373 2020.03.04 KR

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2020.08.19

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/KR2020/003100 2020.03.05

(87) PCT国际申请的公布数据

WO2020/180121 KO 2020.09.10

(71) 申请人 乐高化学生物科学股份有限公司

地址 韩国大田市

申请人 Y生物股份有限公司

(72) 发明人 朴昌植 崔敏智 张太翼 朴允姬

宋昊永 白周烈 金星民 李炫政

李柱泳 金炯來 李建重 金容柱

李昌宣 蔡济旭 李相弼 申智英

尹善河 崔允瑄 朴哉垠 李智秀

朴范灿 朴荣佑

(74) 专利代理机构 北京律盟知识产权代理有限公司 11287

代理人 林彦

(51) Int.Cl.

A61K 47/68 (2006.01)

A61K 47/65 (2006.01)

A61K 31/5517 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

C07K 16/28 (2006.01)

A61K 45/06 (2006.01)

权利要求书22页 说明书50页

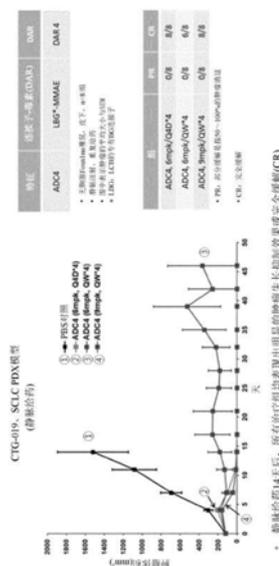
序列表39页 附图1页

(54) 发明名称

包含抗人DLK1抗体的抗体-药物偶联物及其用途

(57) 摘要

本发明涉及一种以DLK1为靶向的新颖的抗体-药物偶联物(antibody-drug conjugate, ADC)、所述ADC的活性代谢物、所述ADC的制造方法、用以治疗及/或预防疾病的所述ADC的用途、以及用以生产治疗及/或预防疾病的药剂的所述ADC的用途,所述疾病更详细而言为增殖及/或血管新生疾病,例如为癌症,更具体而言,涉及一种包含与DLK1结合的抗体或所述抗体的抗原结合片段的抗体-药物偶联物、及包含所述抗体-药物偶联物的药学组合物。



1. 一种通式I的抗体偶联物或其药学上可容许的盐或其溶剂化物：

[通式I]

Ab-(X)_y

在所述式中，

Ab为与包含重链可变区及轻链可变区的DLK1 (delta-like 1 homolog (Drosophila)) 特异性地结合的抗体或所述抗体的抗原结合片段，

与所述DLK1特异性地结合的抗体或所述抗体的抗原结合片段包含重链可变区及轻链可变区，

所述重链可变区包含：选自由序列号2、16、30、44、58、72及86所组成的群中的一个以上的重链CDR1；

选自由序列号4、18、32、46、60、74及88所组成的群中的一个以上的重链CDR2；

选自由序列号6、20、34、48、62、76及90所组成的群中的一个以上的重链CDR3；

所述轻链可变区包含：选自由序列号9、23、37、51、65、79、93、115及121所组成的群中的一个以上的轻链CDR1；

选自由序列号11、25、39、53、67、81及95所组成的群中的一个以上的轻链CDR2；及

选自由序列号13、27、41、55、69、83、97、116及125所组成的群中的一个以上的轻链CDR3；

所述X独立地为包含一个以上的活性剂及连接子的化学残基，且

所述连接子将抗体与活性剂连接，所述y为1至20的整数。

2. 根据权利要求1所述的抗体偶联物或其药学上可容许的盐或其溶剂化物，其特征在于，与所述DLK1特异性地结合的抗体或所述抗体的抗原结合片段包含：

选自由序列号1、15、29、43、57、71、85及119所组成的群中的一个以上的重链FR1；

选自由序列号3、17、31、45、59、73及87所组成的群中的一个以上的重链FR2；

选自由序列号5、19、33、47、61、75及89所组成的群中的一个以上的重链FR3；

选自由序列号7、21、35、49、63、77及91所组成的群中的一个以上的重链FR4；

选自由序列号8、22、36、50、64、78、92、117及120所组成的群中的一个以上的轻链FR1；

选自由序列号10、24、38、52、66、80、94及122所组成的群中的一个以上的轻链FR2；

选自由序列号12、26、40、54、68、82、96、118及123所组成的群中的一个以上的轻链FR3；

或

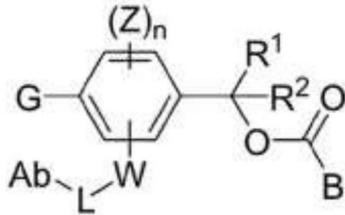
选自由序列号14、28、42、56、70、84、98及125所组成的群中的一个以上的轻链FR4。

3. 根据权利要求1所述的抗体偶联物或其药学上可容许的盐或其溶剂化物，其特征在于，与所述DLK1特异性地结合的抗体或所述抗体的抗原结合片段包含与选自由序列号99、101、103、105、107、109、111及127所组成的群中的序列具有90%以上的序列同源性的序列。

4. 根据权利要求1所述的抗体偶联物或其药学上可容许的盐或其溶剂化物，其特征在于，与所述DLK1特异性地结合的抗体或所述抗体的抗原结合片段包含与选自由序列号100、102、104、106、108、110、112、126及128所组成的群中的序列具有90%以上的序列同源性的序列。

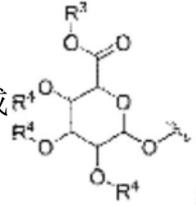
5. 根据权利要求1所述的抗体偶联物或其药学上可容许的盐或其溶剂化物，其特征在于，所述连接子具有通式II的结构：

[通式II]



在所述式中，

G为葡萄糖醛酸部分 (glucuronic acid moiety) 或

所述R³为氢或羧基保护基团，所述各R⁴独立地为氢或羟基保护基团；

Ab为与DLK1特异性地结合的抗体或所述抗体的抗原结合片段；

B为活性剂；

R¹及R²分别独立地为氢、C₁~C₈烷基或C₃~C₈环烷基；

W为-C(O)-、-C(O)NR'-、-C(O)O-、-SO₂NR'-、-P(O)R''NR'-、-SONR'-或-PO₂NR'-，所述C、S或P与苯环 (phenyl ring) 直接结合，所述NR'与L键合，所述R'及R''分别独立地为氢、C₁~C₈烷基、C₃~C₈环烷基、C₁~C₈烷氧基、C₁~C₈烷硫基、单或二-C₁~C₈烷基氨基、C₃~C₂₀杂芳基或C₆~C₂₀芳基；。

Z独立地为C₁~C₈烷基、卤素、氰基或硝基；

n为0至3的整数；

L为下述A)、B)中的任一种：

A) 为C₁~C₅₀亚烷基或1~50个原子的亚杂芳基，满足下述(i)、(ii)、(iii)、(iv)中的一个以上；

B) 包含一个以上的能够由类异戊二烯转移酶识别的下述通式III的异戊烯基衍生物单元；

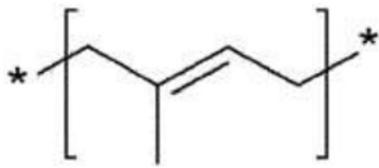
(i) L包含一个以上的不饱和键，

(ii) L中的2个原子经如取代体的2价取代体取代，这种取代形成亚杂芳基 (heteroarylene)，

(iii) L为1至50个原子的亚杂芳基，

(iv) 所述亚烷基经一个以上的C₁~₂₀烷基取代，

[通式III]



6. 根据权利要求5所述的抗体偶联物或其药学上可容许的盐或其溶剂化物，其特征在于，所述L为含氮的1~50个原子的亚杂烷基，所述连接子包含亲水性氨基酸的2个以上的原

子,所述氮与选自由精氨酸、天冬氨酸、天冬酰胺、谷氨酸、谷氨酰胺、组氨酸、赖氨酸、鸟氨酸、脯氨酸、丝氨酸及苏氨酸所组成的群中的亲水性氨基酸的羰基形成肽键。

7. 根据权利要求5所述的抗体偶联物或其药学上可容许的盐或其溶剂化物,其特征在于,所述W为 $-C(O)NR'$,所述W的氮为选自由精氨酸、天冬氨酸、天冬酰胺、谷氨酸、谷氨酰胺、组氨酸、赖氨酸、鸟氨酸、脯氨酸、丝氨酸及苏氨酸所组成的群中的亲水性氨基酸的氮原子。

8. 根据权利要求6或7所述的抗体偶联物或其药学上可容许的盐或其溶剂化物,其特征在于,所述氨基酸使连接子的肟(oxime)与连接子的聚乙二醇单元共价键合。

9. 根据权利要求6或7所述的抗体偶联物或其药学上可容许的盐或其溶剂化物,其特征在于,所述亲水性氨基酸为选自由天冬氨酸、谷氨酸、鸟氨酸、赖氨酸及精氨酸所组成的群中的亲水性氨基酸,所述亲水性氨基酸包含具有在水溶液中性pH值条件下带电荷的部分(moiety)的侧链。

10. 根据权利要求5所述的抗体偶联物或其药学上可容许的盐或其溶剂化物,其特征在于,所述连接子包含肽,所述肽包含2至20个氨基酸,包含选自由丙氨酸、天冬氨酸、天冬酰胺、谷氨酸、谷氨酰胺、甘氨酸、赖氨酸、鸟氨酸、脯氨酸、丝氨酸及苏氨酸所组成的群中的一个以上的亲水性氨基酸,包含选自由天冬氨酸、谷氨酸、鸟氨酸、赖氨酸及精氨酸所组成的群中的一个以上的亲水性氨基酸,所述亲水性氨基酸包含具有在水溶液中性pH值条件下带电荷的部分(moiety)的侧链。

11. 根据权利要求10所述的抗体偶联物或其药学上可容许的盐或其溶剂化物,其特征在于,W为 $-C(O)NR'$,所述W的氮为所述肽的N-末端氨基酸的氮原子。

12. 根据权利要求10所述的抗体偶联物或其药学上可容许的盐或其溶剂化物,其特征在于,所述肽使连接子的肟(oxime)与连接子的聚乙二醇单元共价键合。

13. 根据权利要求5所述的抗体偶联物或其药学上可容许的盐或其溶剂化物,其特征在于,所述L通过硫醚键与抗体共价键合,所述硫醚键包含抗体的半胱氨酸的硫原子。

14. 根据权利要求13所述的抗体偶联物或其药学上可容许的盐或其溶剂化物,其特征在于,所述抗体在能够由类异戊二烯转移酶识别的抗体的C-末端包含氨基酸基序,所述硫醚键包含所述氨基酸基序的半胱氨酸的硫原子。

15. 根据权利要求14所述的抗体偶联物或其药学上可容许的盐或其溶剂化物,其特征在于,所述氨基酸基序为CYYX序列,

C为半胱氨酸,

Y为选自由丙氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、甲硫氨酸及缬氨酸所组成的群中的脂肪族氨基酸,

X为选自由谷氨酰胺、谷氨酸、丝氨酸、半胱氨酸、甲硫氨酸、丙氨酸及亮氨酸所组成的群中的任一种,且

所述硫醚键包含所述氨基酸基序的半胱氨酸的硫原子。

16. 根据权利要求15所述的抗体偶联物或其药学上可容许的盐或其溶剂化物,其特征在于,所述氨基酸基序为CVIM或CVLL序列。

17. 根据权利要求14至16中任一项所述的抗体偶联物或其药学上可容许的盐或其溶剂化物,其特征在于,氨基酸基序前面的1至10个氨基酸中的一个以上选自由甘氨酸、脯氨酸、

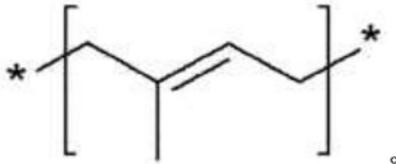
冬氨酸、精氨酸及丝氨酸所组成的群。

18. 根据权利要求17所述的抗体偶联物或其药学上可容许的盐或其溶剂化物,其特征在于,氨基酸基序前面的1至10个氨基酸分别为甘氨酸。

19. 根据权利要求5所述的抗体偶联物或其药学上可容许的盐或其溶剂化物,其特征在于,所述L在C-末端包含氨基酸序列GGGGGGCVIM。

20. 根据权利要求5所述的抗体偶联物或其药学上可容许的盐或其溶剂化物,其特征在于,所述L包含一个以上的能够由类异戊二烯转移酶识别的下述通式III的异戊烯基衍生物单元:

[通式III]

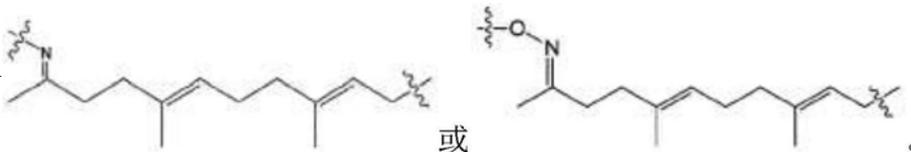


21. 根据权利要求5所述的抗体偶联物或其药学上可容许的盐或其溶剂化物,其特征在于,所述L为包含卟的3至50个亚杂芳基,所述卟的氧原子位于与W连接的L的侧面,卟的碳原子位于与Ab连接的L的侧面;或者

所述卟的碳原子位于与W连接的L的侧面,卟的氧原子位于与Ab连接的L的侧面。

22. 根据权利要求20或21所述的抗体偶联物或其药学上可容许的盐或其溶剂化物,其特征在于,所述L包含卟,一个以上的异戊二烯基单元使卟与Ab共价键合。

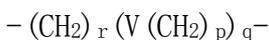
23. 根据权利要求5所述的抗体偶联物或其药学上可容许的盐或其溶剂化物,其特征在于,所述L包含



24. 根据权利要求5所述的抗体偶联物或其药学上可容许的盐或其溶剂化物,其特征在于,

所述L还包含通式VIII或通式IX所表示的连接单元:

[通式VIII]



[通式IX]



所述V为单键、-O-、-S-、-NR²¹-、-C(O)NR²²-、-NR²³C(O)-、-NR²⁴SO₂-或-SO₂NR²⁵-;

X为-O-、C₁~C₈亚烷基或-NR²¹-;

R²¹至R²⁵分别独立地为氢、C₁~C₆烷基、C₁~C₆烷基C₆~C₂₀芳基或C₁~C₆烷基C₃~C₂₀杂芳基;

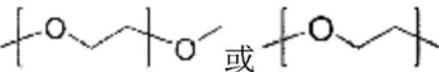
r为0至10的整数;

p为0至10的整数;

q为1至20的整数;且

w为1至20的整数。

25. 根据权利要求24所述的抗体偶联物或其药学上可容许的盐或其溶剂化物,其特征

在于,所述L包含以  所示的1至20个聚乙二醇单元。

26. 根据权利要求25所述的抗体偶联物或其药学上可容许的盐或其溶剂化物,其特征在于,所述L包含1至12个 $-OCH_2CH_2-$ 单元。

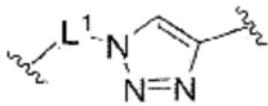
27. 根据权利要求25所述的抗体偶联物或其药学上可容许的盐或其溶剂化物,其特征在于,L包含脒,1至20个聚乙二醇单元使脒与活性剂共价键合。

28. 根据权利要求5所述的抗体偶联物或其药学上可容许的盐或其溶剂化物,其特征在于,所述L还包含通过1,3-偶极环加成反应(1,3-dipolar cycloaddition reactions)、异狄尔斯-阿尔德反应(hetero-diels reactions)、亲核取代反应(nucleophilic substitution reactions)、非醇醛型羰基反应(non-aldol type carbonyl reactions)、碳-碳多重键加成(additions to carbon-carbon multiple bonds)、氧化反应(oxidation reactions)或点击反应(click reaction)形成的结合单元。

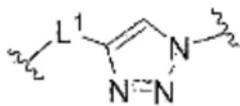
29. 根据权利要求28所述的抗体偶联物或其药学上可容许的盐或其溶剂化物,其特征在于,所述结合单元是通过乙炔与叠氮化物的反应、或醛基或酮基与肼或羟胺的反应而形成。

30. 根据权利要求5所述的抗体偶联物或其药学上可容许的盐或其溶剂化物,其特征在于,所述L还包含下述通式IV、V、VI或VII所表示的结合单元:

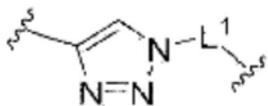
[通式IV]



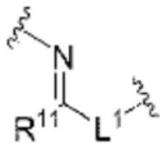
[通式V]



[通式VI]



[通式VII]



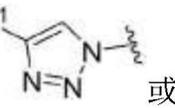
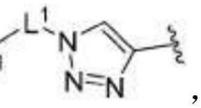
在所述式中,

所述 L^1 为单键或 $C_1 \sim C_{30}$ 的亚烷基;

R^{11} 为氢或 $C_1 \sim C_{10}$ 的烷基。

31. 根据权利要求30所述的抗体偶联物或其药学上可容许的盐或其溶剂化物,其特征在于,所述 L^1 为单键、或 C_{11} 或 C_{12} 的亚烷基。

32. 根据权利要求30所述的抗体偶联物或其药学上可容许的盐或其溶剂化物,其特征

在于,所述L包含 $\text{---}(\text{CH}_2)_r(\text{V}(\text{CH}_2)_p)_q\text{---L}^1$  或 $\text{---}(\text{CH}_2)_r(\text{V}(\text{CH}_2)_p)_q\text{---L}^1$ ,

所述V为单键、-O-、-S-、-NR²¹-、-C(O)NR²²-、-NR²³C(O)-、-NR²⁴SO₂-、或-SO₂NR²⁵-;

R²¹至R²⁵独立地为氢、C₁₋₆烷基、C₁₋₆烷基C₆₋₂₀芳基、或C₁₋₆烷基C₃₋₂₀杂芳基;

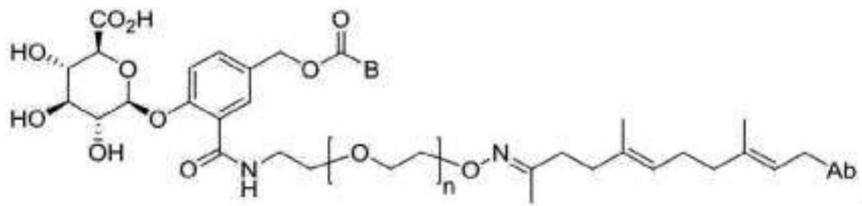
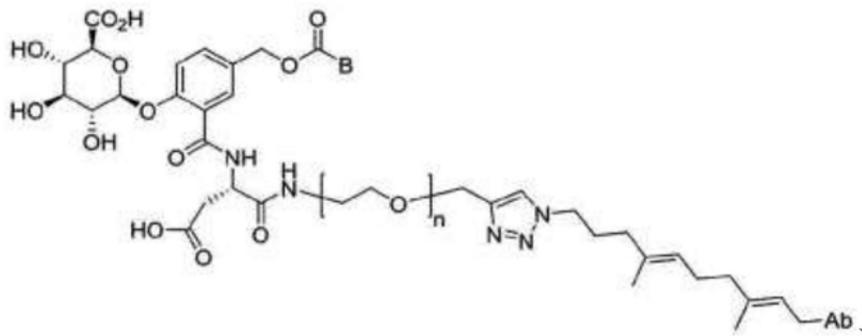
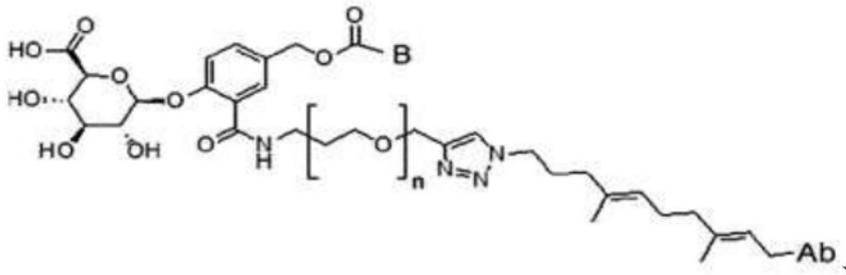
r为1至10的整数;

p为0至10的整数;

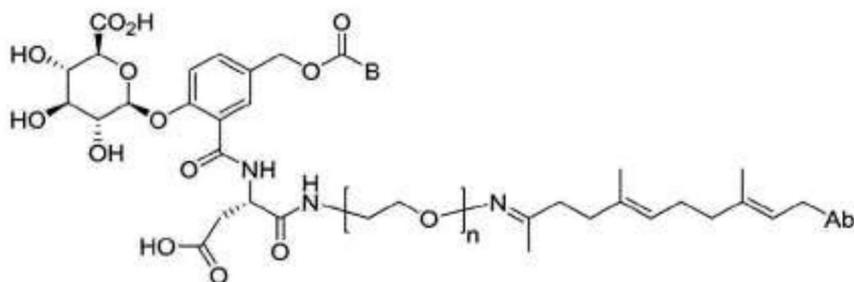
q为1至20的整数;且

L¹为单键。

33. 根据权利要求32所述的抗体偶联物或其药学上可容许的盐或其溶剂化物,其特征在于,所述L包含选自由



及



所组成的群中的任一

种,

所述Ab为与DLK1特异性地结合的抗体或所述抗体的抗原结合片段,B为活性剂,n为0至20的整数。

34. 根据权利要求5所述的抗体偶联物或其药学上可容许的盐或其溶剂化物,其特征在

于,类异戊二烯转移酶为法尼酰基转移酶 (FTase) 或香叶烯基转移酶 (GGTase)。

35. 根据权利要求5所述的抗体偶联物或其药学上可容许的盐或其溶剂化物,其特征在于,L包含共价键合在Ab的一个以上的分枝型连接子,

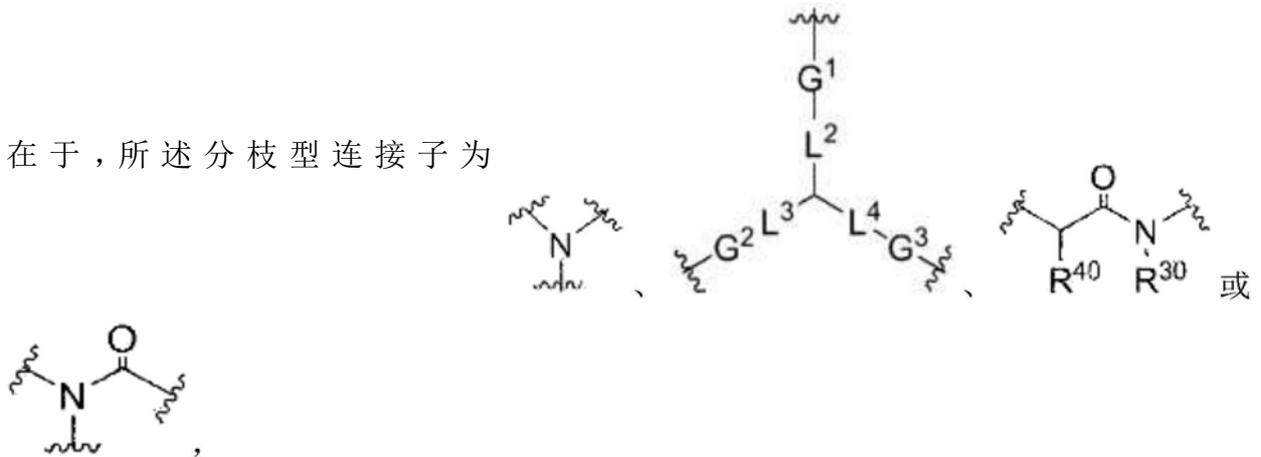
i) 各分枝型连接子包含通过主连接子 (PL) 共价键合在Ab的分支单元 (BR) ;

ii) 各分枝型连接子包含第一分枝 (B1), 所述第一分枝 (B1) 使第一活性剂与分支单元结合且包含第二连接子 (SL) 及切割基团 (CG) ;

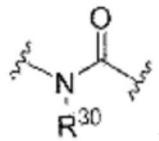
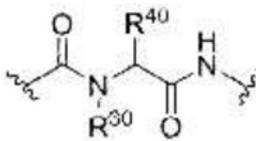
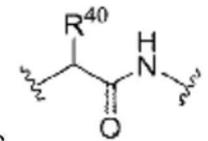
iii) 各分枝型连接子包含a) 第二活性剂通过第二连接子 (SL) 及切割基团 (CG) 共价键合在分支单元的第二分枝 (B2)、或b) 聚乙二醇部分共价键合在分支单元的第二分枝,所述各切割基团为了从抗体偶联物释放活性剂而水解。

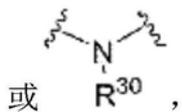
36. 根据权利要求35所述的抗体偶联物或其药学上可容许的盐或其溶剂化物,其特征

在于,所述分枝型连接子为



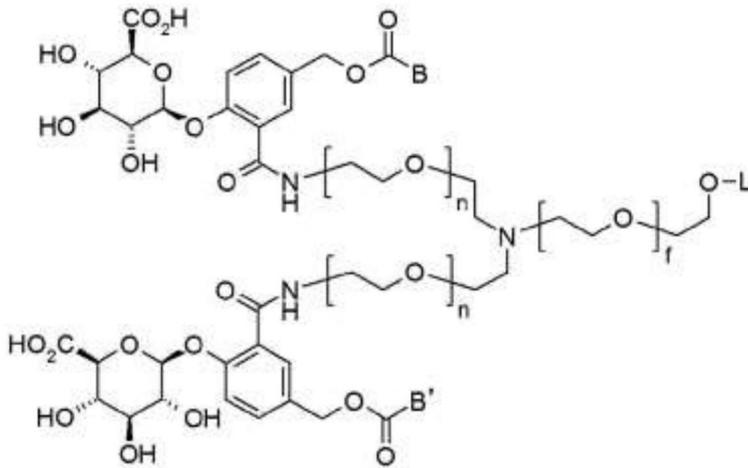
所述L²、L³、L⁴分别独立地为直接键或-C_nH_{2n}-, 所述n为1至30的整数,

所述G¹、G²、G³独立地为直接键、、、



所述R³⁰为氢或C₁₋₃₀烷基。

37. 根据权利要求36所述的抗体偶联物或其药学上可容许的盐或其溶剂化物,其特征在于包含



所述B及B'可表示相同或不同的活性剂，
n分别独立地表示0至30的整数，
f分别独立地表示0至30的整数，且
L表示针对Ab的键。

38. 根据权利要求37所述的抗体偶联物或其药学上可容许的盐或其溶剂化物，其特征在于，L包含脞，1至20个聚乙二醇单元使脞与活性剂共价键合。

39. 根据权利要求35所述的抗体偶联物或其药学上可容许的盐或其溶剂化物，其特征在于，切割基团可在靶细胞内切割。

40. 根据权利要求5所述的抗体偶联物或其药学上可容许的盐或其溶剂化物，其特征在于，L包含共价键合在Ab的1至6个分枝型连接子，且包含共价键合在所述分枝型连接子的2至6个相同或不同的活性剂。

41. 根据权利要求40所述的抗体偶联物或其药学上可容许的盐或其溶剂化物，其特征在于，各活性剂通过能够切割的键与分枝型连接子结合。

42. 根据权利要求40所述的抗体偶联物或其药学上可容许的盐或其溶剂化物，其特征在于，各分枝型连接子包含分枝型单元，各活性剂通过2次连接子结合到分枝型单元，所述分枝型单元通过1次连接子与Ab结合。

43. 根据权利要求42所述的抗体偶联物或其药学上可容许的盐或其溶剂化物，其特征在于，所述分枝型单元为氮原子或赖氨酸单元。

44. 根据权利要求42所述的抗体偶联物或其药学上可容许的盐或其溶剂化物，其特征在于，所述分枝型单元为酰胺，1次连接子或2次连接子包含酰胺的羰基。

45. 根据权利要求5所述的抗体偶联物或其药学上可容许的盐或其溶剂化物，其特征在于，活性剂为化疗剂或毒素。

46. 根据权利要求5所述的抗体偶联物或其药学上可容许的盐或其溶剂化物，其特征在于，活性剂为免疫调节化合物、抗癌剂、抗病毒剂、抗菌剂、抗真菌剂、抗寄生虫剂或其等的组合。

47. 根据权利要求5所述的抗体偶联物或其药学上可容许的盐或其溶剂化物，其特征在于，活性剂为选自下述物质中的任一种：

(a) 埃罗替尼(erlotinib)、硼替佐米(bortezomib)、氟维司群(fulvestrant)、索坦(sutent)、来曲唑(letrozole)、甲磺酸伊马替尼(imatinib mesylate)、PTK787/ZK222584、

奥沙利铂(oxaliplatin)、5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil)、亚叶酸(leucovorin)、雷帕霉素(rapamycin)、拉帕替尼(lapatinib)、洛那法尼(lonafarnib)、索拉非尼(sorafenib)、吉非替尼(gefitinib)、AG1478、AG1571、噻替派(thiotepa)、环磷酰胺(cyclophosphamide)、白消安(busulfan)、英丙舒凡(improsulfan)、哌泊舒凡(piposulfan)、苯丙多巴(benzodopa)、卡波醌(carboquone)、美妥替哌(meturedopa)、乌瑞替派(uredopa)、乙烯亚胺(ethylenimine)、六甲嘧胺(altretamine)、三亚乙基蜜胺(triethylenemelamine)、三乙烯磷酰胺(triethylenephosphoramidate)、三亚乙基硫代磷酰胺(triethylenethiophosphoramidate)、三羟甲基蜜胺(trimethylolomelamine)、泡番荔枝辛(bullatacin)、泡番荔枝辛酮(bullatacinone)、喜树碱(camptothecin)、托泊替康(topotecan)、苔藓抑素(bryostatins)、卡丽丝汀(callystatin)、CC-1065、阿多来新(adozelesin)、卡折来新(carzelesin)、比折来新(bizelesin)、念珠藻素1(cryptophycin 1)、念珠藻素8(cryptophycin 8)、多拉司他汀(dolastatin)、倍癌霉素(duocarmycin)、KW-2189、CB1-TM1、软珊瑚醇(eleutherobin)、水鬼蕉碱(pancratistatin)、匍枝珊瑚醇(sarcodictyin)、海绵抑制素(spongistatin)、苯丁酸氮芥(chlorambucil)、萘氮芥(chlornaphazine)、胆磷酰胺(cholophosphamide)、雌氮芥(estramustine)、异环磷酰胺(ifosfamide)、氮芥(mechlorethamine)、美法仑(melphalan)、新氮芥(novembichin)、胆甾醇苯乙酸氮芥(phenesterine)、松龙苯芥(prednimustine)、曲磷胺(trofosfamide)、尿嘧啶氮芥(uracil mustard)、亚硝基脲氮芥(carmustine)、氯脲菌素(chlorozotocin)、福莫司汀(fotemustine)、洛莫司汀(lomustine)、尼莫司汀(nimustine)、雷莫司汀(ranimustine)、卡奇霉素(calicheamicin)、卡奇霉素 γ 1(calicheamicin gamma1)、卡奇霉素 ω 1(calicheamicin omega 1)、达内霉素(dynemicin)、达内霉素A(dynemicin A)、氯膦酸盐(clodronate)、埃斯培拉霉素(esperamicin)、新制癌菌素生色团(neocarzinostatin chromophore)、阿克拉霉素类(aclacinomysins)、放射菌素(actinomycin)、安替比林(antrmycin)、重氮丝氨酸(azaserine)、博来霉素(bleomycins)、放线菌素C(cactinomycin)、卡柔比星(carabycin)、洋红霉素(carninomycin)、嗜癌霉素(carzinophilin)、色霉素(chromomycins)、放线菌素D(dactinomycin)、道诺菌素(daunorubicin)、地托比星(detorubicin)、6-重氮-5-氧代-L-正亮氨酸(6-diazo-5-oxo-L-norleucine)、阿霉素(doxorubicin)、吗啉代-阿霉素(morpholino-doxorubicin)、氰基吗啉代-阿霉素(cyanomorpholino-doxorubicin)、2-吡咯烷子基-阿霉素(2-pyrrolino-doxorubicin)、脂质体阿霉素(liposomal doxorubicin)、去氧阿霉素(deoxydoxorubicin)、表柔比星(epirubicin)、依索比星(esorubicin)、麻西罗霉素(marcellomycin)、丝裂霉素C(mitomycin C)、霉酚酸(mycophenolic acid)、诺加霉素(nogalamycin)、橄榄霉素(olivomycins)、培洛霉素(peplomycin)、泊非霉素(potfiromycin)、嘌呤霉素(puromycin)、三铁阿霉素(quelamycin)、罗多比星(rodorubicin)、链黑菌素(streptomigrin)、链脲霉素(streptozocin)、杀结核菌素(tubercidin)、乌苯美司(ubenimex)、新制癌菌素(zinostatin)、佐柔比星(zorubicin)、5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil)、二甲叶酸(denopterin)、甲氨蝶呤(methotrexate)、蝶罗呤(pteropterin)、三甲曲沙(trimetrexate)、氟达拉滨(fludarabine)、6-巯基嘌呤(6-mercaptopurine)、硫咪嘌呤(thiamiprine)、硫鸟嘌呤(thiguanine)、盐酸环胞苷

(ancitabine)、阿扎胞苷(azacitidine)、6-氮尿苷(6-azauridine)、卡莫氟(carmofur)、阿糖胞苷(cytarabine)、双脱氧尿苷(dideoxyuridine)、去氧氟尿苷(doxifluridine)、依诺他滨(enocitabine)、氟尿苷(floxuridine)、二甲睾酮(calusterone)、屈他雄酮(dromostanolone)、丙酸酯(propionate)、环硫雄醇(epitiostanol)、美雄烷(mepitiothane)、睾内酯(testolactone)、氨基鲁米特(aminogluthetimide)、米托坦(mitotane)、曲洛司坦(trilostane)、亚叶酸(folinic acid)、醋葡醛内酯(aceglatone)、醛磷酰胺糖苷(aldophosphamide glycoside)、氨基乙酰丙酸(aminolevulinic acid)、恩尿嘧啶(eniluracil)、安吡啶(amsacrine)、巴斯布西(bestrabucil)、比生群(bisantrene)、依达曲沙(edatraxate)、地磷酰胺(defofamine)、地美可辛(demecolcine)、地吡醌(diaziquone)、依氟鸟氨酸(elfornithine)、依利醋铵(elliptinium acetate)、依托格鲁(etoglucid)、硝酸镓(gallium nitrate)、羟基脲(hydroxyurea)、蘑菇多糖(lentinan)、氯尼达明(lonidainine)、美登素(maytansine)、安丝菌素(ansamitocins)、丙脒脞(mitoguanzone)、米托蒽醌(mitoxantrone)、莫哌达醇(mopidanmol)、二胺硝吡啶(nitraerine)、喷司他丁(pentostatin)、蛋氨酸芥(phenamet)、吡柔比星(pirarubicin)、洛索蒽醌(losoxantrone)、2-乙基酰肼(2-ethylhydrazide)、甲基苄肼(procarbazine)、云芝多糖-k(polysaccharide-k)、雷佐生(razoxane)、根霉素(rhizoxin)、西索菲兰(sizofiran)、锗螺胺(spirogermanium)、细交链孢菌酮酸(tenuazonic acid)、三亚胺醌(triaziquone)、2,2',2''-三氯三乙胺(2,2',2''-trichlorotriethylamine)、T-2毒素、黏液霉素A(verracurin A)、杆孢菌素A(roridin A)、蛇形菌素(anguidine)、乌拉坦(urethane)、长春地辛(vindesine)、达卡巴嗪(dacarbazine)、甘露醇氮芥(mannomustine)、二溴甘露醇(mitobronitol)、二溴卫矛醇(mitolactol)、溴丙哌嗪(pipobroman)、干胞嘧啶(gacytosine)、阿拉伯糖苷(arabinoside)、环磷酰胺(cyclophosphamide)、噻替派(thiotepa)、紫杉醇(paclitaxel)、紫杉醇、紫杉醇的白蛋白工程化纳米颗粒制剂(albumin-engineered nanoparticle formulation of paclitaxel)、多西紫杉醇、苯丁酸氮芥、吉西他滨、6-硫代鸟嘌呤、巯基嘌呤、顺铂、卡铂(carboplatin)、长春碱(vinblastine)、铂(platinum)、鬼臼乙叉甙(etoposide)、异环磷酰胺(ifosfamide)、米托蒽醌(mitoxantrone)、长春新碱、长春瑞滨(vinorelbine)、诺消灵(novantrone)、替尼泊苷(teniposide)、依达曲沙(edatrexate)、柔红霉素(daunomycin)、氨基嘌呤(aminopterin)、希罗达(xeloda)、伊拜膦酸盐(ibandronate)、CPT-11、拓扑异构酶抑制剂RFS 2000、二氟甲基鸟氨酸(difluoromethylornithine)、视黄酸(retinoic acid)、卡培他滨(capecitabine)、或其等药学上可容许的盐、溶剂化物或酸；

(b) 单核因子(monokine)、淋巴因子(lympokine)、多肽激素(traditional polypeptide hormone)、甲状旁腺激素(parathyroid hormone)、甲状腺素(thyroxine)、松弛素(relaxin)、松弛素原(prorelaxin)、糖蛋白激素(glycoprotein hormone)、促卵泡激素(follicle stimulating hormone)、促甲状腺激素(thyroid stimulating hormone)、黄体化激素(luteinizing hormone)、肝细胞生长因子成纤维细胞生长因子(hepatic growth factor fibroblast growth factor)、催乳素(prolactin)、胎盘催乳素(placental lactogen)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α)、肿瘤坏死因子- β 、苗勒氏管抑制物质(mullerian-inhibiting substance)、小鼠促性腺激素相关肽(mouse gonadotropin-

associated peptide)、抑制素(inhibin)、活化素(activin)、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor)、血小板生成素(thrombopoietin)、促红细胞生成素(erythropoietin)、成骨诱导因子(osteoinductive factor)、干扰素、干扰素- α 、干扰素- β 、干扰素- γ 、集落刺激因子(colony stimulating factor,CSF)、巨噬细胞-CSF、粒细胞-巨噬细胞-CSF(granulocyte-macrophage-CSF)、粒细胞-CSF、白细胞介素(IL)、IL-1、IL-1 α 、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-9、IL-10、IL-11、IL-12、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor)、TNF- α 、TNF- β 、多肽因子、LIF、试剂盒配体(kit ligand)、或其等的调配物；

(c) 白喉毒素、肉毒杆菌毒素、破伤风毒素、痢疾毒素、霍乱毒素、鹅膏素、 α -鹅膏素、吡咯开苯并吡庚三烯、吡咯开苯并吡庚三烯衍生物、河豚毒素、裸藻毒素(brevetoxin)、雪卡毒素(ciguatoxin)、蓖麻毒蛋白(ricin)、AM毒素、澳瑞他汀(auristatin)、微管蛋白裂解素(tubulysin)、格尔德霉素(geldanamycin)、美登素(maytansinoid)、卡奇霉素(calicheamycin)、柔红霉素(daunomycin)、阿霉素(doxorubicin)、甲氨蝶呤(methotrexate)、长春地辛(vindesine)、SG2285、多拉司他汀(dolastatin)、多拉司他汀类似物(dolastatin analog)、澳瑞他汀(auristatin)、念珠藻素(cryptophycin)、喜树碱(camptothecin)、根霉素(rhizoxin)、根霉素衍生物(rhizoxin derivatives)、CC-1065、CC-1065、类似物或衍生物、倍癌霉素(duocarmycin)、烯二炔抗生素(enediyne antibiotic)、埃斯培拉霉素(esperamicin)、埃博霉素(epothilone)、类毒素(toxoid)、或其等的调配物；

(d) 亲和性配体(affinity ligand),其中,亲和性配体为基质、抑制剂、活化剂、神经传递物质、放射性同位元素、或其等的调配物；

(e) 放射性标记(radioactive label)、 ^{32}P 、 ^{35}S 、荧光染料、电子致密试剂(electron dense reagent)、酶、生物素、链霉抗生物素蛋白(streptavidin)、二氧胍基(dioxigenin)、半抗原(hapten)、免疫原性蛋白(immunogenic protein)、具有靶向互补序列的核酸分子(nucleic acid molecule with a sequence complementary to a target)或其等的调配物；

(f) 免疫调节化合物(immunomodulatory compound)、抗癌剂(anti-cancer agent)、抗病毒剂(anti-viral agent)、抗菌剂(anti-bacterial agent)、抗真菌剂(anti-fungal agent)、及抗寄生虫剂(anti-parasitic agent)、或其等的调配物；

(g) 他莫昔芬(tamoxifen)、雷洛昔芬(raloxifene)、屈洛昔芬(droloxifene)、4-羟基他莫昔芬(4-hydroxytamoxifen)、曲沃昔芬(trioxifene)、那洛昔芬(keoxifene)、LY117018、奥那司酮(onapristone)或托瑞米芬(toremifene)；

(h) 4(5)-咪唑、氨鲁米特(aminoglutethimide)、醋酸甲地孕酮(megestrol acetate)、依西美坦(exemestane)、来曲唑(letrozole)Ehms阿那曲唑(anastrozole)

(i) 氟他胺(flutamide)、尼鲁米特(nilutamide)、比卡鲁胺(bicalutamide)、亮丙瑞林(leuprolide)、戈舍瑞林(goserelin)、或曲沙他滨(troxacitabine)；

(j) 芳香酶抑制剂；

(k) 蛋白激酶抑制剂；

(l) 脂质激酶抑制剂；

- (m) 反义寡核苷酸；
 (n) 核酶；
 (o) 疫苗；及
 (p) 抗血管生成剂(anti-angiogenic agent)。

48. 根据权利要求1所述的抗体偶联物或其药学上可容许的盐或其溶剂化物,其特征在于,所述活性剂为吡咯开苯并吡庚三烯(pyrrolobenzodiazepine)二聚体,所述连接子将Ab连接到吡咯开苯并吡庚三烯二聚体的N10或N'10位置。

49. 根据权利要求48所述的抗体偶联物或其药学上可容许的盐或其溶剂化物,其特征在于,所述活性剂为吡咯开苯并吡庚三烯二聚体,

所述吡咯开苯并吡庚三烯二聚体在N10位置经X取代、或在N'10位置经X'取代,

其中,X或X'将吡咯开苯并吡庚三烯二聚体连接到连接子,

X及X'分别独立地为为-C(O)O^{-*}、-S(O)O^{-*}、-C(O)-^{*}、-C(O)NR^{X-*}、-S(O)₂NR^{X-*}、-(P(O)R')NR^{X-*}、-S(O)NR^{X-*}、或PO₂NR^{X-*},

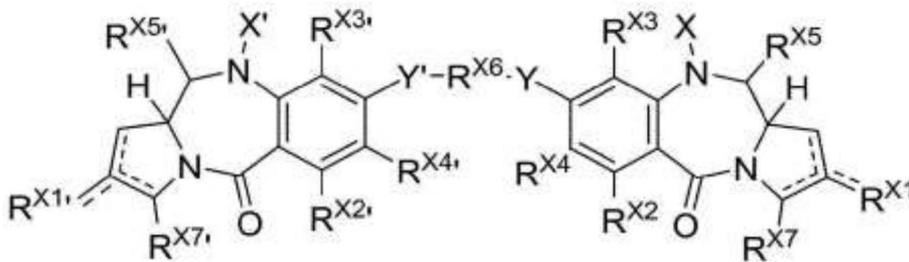
R^X为H、C₁₋₈烷基、C₃₋₈环烷基、C₃₋₂₀杂芳基、或C₅₋₂₀芳基,

R^{X'}为OH、N₃、CN、SH、C₁₋₈烷基、C₃₋₈环烷基、C₁₋₈烷氧基、C₁₋₈烷硫基、C₃₋₂₀杂芳基、C₅₋₂₀芳基、或氨基,且

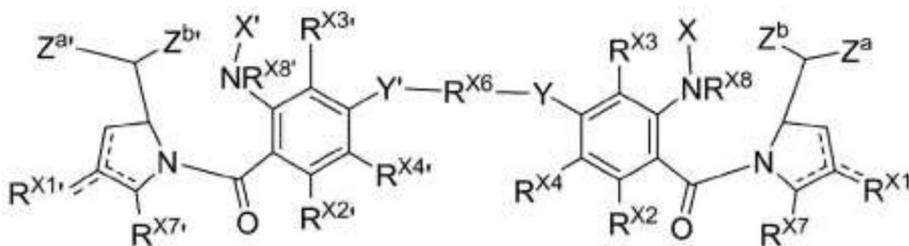
*为吡咯开苯并吡庚三烯二聚体与连接子之间的结合位点。

50. 根据权利要求49所述的抗体偶联物或其药学上可容许的盐或其溶剂化物,其特征在于,所述吡咯开苯并吡庚三烯二聚体由下述通式X或通式XI表示:

[通式X]



[通式XI]



在所述式中,

所述虚线表示在C1与C2之间、C2与C3之间、C'1与C'2之间、或C'2与C'3之间选择性地存在双键,

R^{X1}及R^{X1'}独立地选自H、OH、=O、=CH₂、CN、R^m、OR^m、=CH-R^{m'}、=C(R^{m'})₂、O-SO₂-R^m、CO₂R^m、COR^m、卤素及二卤素,

R^{m'}选自R^m、CO₂R^m、COR^m、CHO、CO₂H、及卤素,

各 R^m 独立地选自 C_{1-12} 烷基、 C_{2-12} 烯基、 C_{2-12} 炔基、 C_{5-20} 芳基、 C_{5-20} 杂芳基、 C_{3-6} 环烷基、3至7元杂环基、3至7元杂环烷基、及5至7元杂芳基所组成的群，

R^{X2} 、 $R^{X2'}$ 、 R^{X3} 、 $R^{X3'}$ 、 R^{X5} 、及 $R^{X5'}$ 独立地选自H、 R^m 、OH、 OR^m 、SH、 SR^m 、 NH_2 、 NHR^m 、 NR^m_2 、 NO_2 、 Me_3Sn 及卤素，

R^{X4} 及 $R^{X4'}$ 独立地选自H、 R^m 、OH、 OR^m 、SH、 SR^m 、 NH_2 、 NHR^m 、 NR^m_2 、 NO_2 、 Me_3Sn 、卤素、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{3-6} 环烷基、3至7元杂环烷基、 C_{5-12} 芳基、5至7元杂芳基、 $-CN$ 、 $-NCO$ 、 $-OR^n$ 、 $-OC(O)R^n$ 、 $-OC(O)NR^nR^{n'}$ 、 $-OS(O)R^n$ 、 $-OS(O)_2R^n$ 、 $-SR^n$ 、 $-S(O)R^n$ 、 $-S(O)_2R^n$ 、 $-S(O)NR^nR^{n'}$ 、 $-S(O)_2NR^nR^{n'}$ 、 $-OS(O)NR^nR^{n'}$ 、 $-OS(O)_2NR^nR^{n'}$ 、 $-NR^nR^{n'}$ 、 $-NR^nC(O)R^o$ 、 $-NR^nC(O)OR^o$ 、 $-NR^nC(O)NR^oR^{o'}$ 、 $-NR^nS(O)R^o$ 、 $-NR^nS(O)_2R^o$ 、 $-NR^nS(O)NR^oR^{o'}$ 、 $-NR^nS(O)_2NR^oR^{o'}$ 、 $-C(O)R^n$ 、 $-C(O)OR^n$ 及 $-C(O)NR^nR^{n'}$ ，

R^X 及 $R^{X'}$ 独立地选自H、OH、 N_3 、CN、 NO_2 、SH、 NH_2 、 ONH_2 、 $NHNH_2$ 、卤素、 C_{1-8} 烷基、 C_{3-8} 环烷基、 C_{1-8} 烷氧基、 C_{1-8} 烷硫基、 C_{3-20} 杂芳基、 C_{5-20} 芳基或单或二(di)- C_{1-8} 烷基氨基，

Y及Y'独立地选自O、S、及N(H)，

R^{X6} 独立地选自 C_{3-12} 亚烷基、 C_{3-12} 亚烯基、或 C_{3-12} 亚杂芳基，

R^{X7} 及 $R^{X7'}$ 独立地选自H、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{3-6} 环烷基、3至7元杂环烷基、 C_{6-10} 芳基、5至7元杂芳基、 $-OR^r$ 、 $-OC(O)R^r$ 、 $-OC(O)NR^rR^{r'}$ 、 $-OS(O)R^r$ 、 $-OS(O)_2R^r$ 、 $-SR^r$ 、 $-S(O)R^r$ 、 $-S(O)_2R^r$ 、 $-S(O)NR^rR^{r'}$ 、 $-S(O)_2NR^rR^{r'}$ 、 $-OS(O)NR^rR^{r'}$ 、 $-OS(O)_2NR^rR^{r'}$ 、 $-NR^rR^{r'}$ 、 $-NR^rC(O)R^s$ 、 $-NR^rC(O)OR^s$ 、 $-NR^rC(O)NR^sR^{s'}$ 、 $-NR^rS(O)R^s$ 、 $-NR^rS(O)_2R^s$ 、 $-NR^rS(O)NR^sR^{s'}$ 、 $-NR^rS(O)_2NR^sR^{s'}$ 、 $-C(O)R^r$ 、 $-C(O)OR^s$ 或 $-C(O)NR^rR^{r'}$ ，

各 R^r 、 $R^{r'}$ 、 R^s 、及 $R^{s'}$ 独立地选自H、 C_{1-7} 烷基、 C_{2-7} 烯基、 C_{2-7} 炔基、 C_{3-13} 环烷基、3至7元杂环烷基、 C_{5-10} 芳基、及5至7元杂芳基，

各 R^{X8} 及 $R^{X8'}$ 独立地选自H、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{3-6} 杂烷基、3至7元杂环烷基、 C_{5-10} 芳基、5至7元杂芳基、 $-S(O)R^m$ 、 $-S(O)_2R^m$ 、 $-S(O)NR^mR^{m'}$ 、 $-S(O)_2NR^mR^{m'}$ 、 $-NR^mR^{m'}$ 、 $-NR^mC(O)R^m$ 、 $-NR^mC(O)OR^n$ 、 $-NR^mC(O)NR^nR^{n'}$ 、 $-NR^mS(O)R^n$ 、 $-NR^mS(O)_2R^n$ 、 $-NR^mS(O)NR^nR^{n'}$ 、 $-NR^mS(O)_2NR^nR^{n'}$ 、 $-C(O)R^m$ 、 $-C(O)OR^m$ 及 $-C(O)NR^mR^{m'}$ ，

Z^a 选自 OR^{X12a} 、 $NR^{X12a}R^{X12a}$ 、或 SR^{X12a} ，

Z^b 选自 OR^{X13a} 、 $NR^{X13a}R^{X13a}$ 、或 SR^{X13a} ，

$Z^{a'}$ 选自 OR^{X12a} 、 $NR^{X12a}R^{X12a}$ 、或 rSR^{X12a} ，

$Z^{b'}$ 选自 $OR^{X13a'}$ 、 $NR^{X13a'}R^{X13a'}$ 或 $SR^{X13a'}$ ，

各 R^{X12a} 、 $R^{X12a'}$ 、 R^{X13a} 及 $R^{X13a'}$ 独立地选自H、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{3-6} 环烷基、3至7元杂环烷基、 C_{5-10} 芳基、5至7元杂芳基、 $-C(O)R^{X15a}$ 、 $-C(O)OR^{X15a}$ 及 $-C(O)NR^{X15a}R^{X15a'}$ ，且

各 R^{X15a} 及 $R^{X15a'}$ 独立地选自 C_{1-12} 烷基、 C_{2-12} 烯基、 C_{2-12} 炔基、 C_{5-20} 芳基、 C_{5-20} 杂芳基、 C_{3-6} 环烷基、3至7元杂环基、3至7元杂环烷基、及5至7元杂芳基，

所述 R^{X13a} 及 R^{X14a} 与附着在其等上的原子任意地结合而一起形成3至7元杂环基、3至7元杂环烷基、或3至7元杂芳基， $R^{X13a'}$ 及 $R^{X14a'}$ 与附着在其等上的原子任意地结合而一起形成3至7元杂环基、3至7元杂环烷基、或3至7元杂芳基，且所述各 R^n 、 $R^{n'}$ 、 R^o 、 $R^{o'}$ 、 R^p 、及 $R^{p'}$ 独立地选自H、 C_{1-7} 烷基、 C_{2-7} 烯基、 C_{2-7} 炔基、 C_{3-13} 环烷基、3至7元杂环烷基、 C_{5-10} 芳基、及5至7元杂芳基。

51. 根据权利要求50所述的抗体偶联物或其药学上可容许的盐或其溶剂化物，其特征

在于,所述 R^m 独立地选自由 C_{1-12} 烷基、 C_{2-12} 烯基、 C_{2-12} 炔基、 C_{5-20} 芳基、 C_{5-20} 杂芳基、 C_{3-6} 环烷基、3至7元杂环基、3至7元杂环烷基、及5至7元杂芳基所组成的群,

所述 R^m 进一步经 C_{1-12} 烷基、 C_{2-12} 烯基、 C_{2-12} 炔基、 C_{5-20} 芳基、 C_{5-20} 杂芳基、 C_{3-6} 环烷基、3至7元杂环基、3至7元杂环烷基、或5至7元杂芳基取代。

52. 根据权利要求50所述的抗体偶联物或其药学上可容许的盐或其溶剂化物,其特征在于,所述 R^{X4} 及 $R^{X4'}$ 独立地选自H、 R^m 、OH、OR^m、SH、SR^m、NH₂、NHR^m、NR^mR^{m'}、NO₂、Me₃Sn、卤素、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{3-6} 环烷基、3至7元杂环烷基、 C_{5-12} 芳基、5至7元杂芳基、-CN、-NCO、-ORⁿ、-OC(O)Rⁿ、-OC(O)NRⁿR^{n'}、-OS(O)Rⁿ、-OS(O)₂Rⁿ、-SRⁿ、-S(O)Rⁿ、-S(O)₂Rⁿ、-S(O)NRⁿR^{n'}、-S(O)₂NRⁿR^{n'}、-OS(O)NRⁿR^{n'}、-OS(O)₂NRⁿR^{n'}、-NRⁿR^{n'}、-NRⁿC(O)R^o、-NRⁿC(O)OR^o、-NRⁿC(O)NR^oR^{o'}、-NRⁿS(O)R^o、-NRⁿS(O)₂R^o、-NRⁿS(O)NR^oR^{o'}、-NRⁿS(O)₂NR^oR^{o'}、-C(O)Rⁿ、-C(O)ORⁿ及-C(O)NRⁿR^{n'},

所述 R^{X4} 或 $R^{X4'}$ 为 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{3-6} 环烷基、3至7元杂环烷基、 C_{5-12} 芳基或5至7元杂芳基,进一步经一个以上的 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{3-6} 环烷基、3至7元杂环烷基、 C_{5-10} 芳基、5至7元杂芳基、-OR^p、-OC(O)R^p、-OC(O)NR^pR^{p'}、-OS(O)R^p、-OS(O)₂R^p、-SR^p、-S(O)R^p、-S(O)₂R^p、-S(O)NR^pR^{p'}、-S(O)₂NR^pR^{p'}、-OS(O)NR^pR^{p'}、-OS(O)₂NR^pR^{p'}、-NR^pR^{p'}、-NR^pC(O)R^q、-NR^pC(O)OR^q、-NR^pC(O)NR^qR^{q'}、-NR^pS(O)R^q、-NR^pS(O)₂R^q、-NR^pS(O)NR^qR^{q'}、-NR^pS(O)₂NR^qR^{q'}、-C(O)R^p、-C(O)OR^p或-C(O)NR^pR^{p'}取代。

53. 根据权利要求50所述的抗体偶联物或其药学上可容许的盐或其溶剂化物,其特征在于,所述 R^{X7} 及 $R^{X7'}$ 独立地选自H、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{3-6} 环烷基、3至7元杂环烷基、 C_{6-10} 芳基、5至7元杂芳基、-OR^r、-OC(O)R^r、-OC(O)NR^rR^{r'}、-OS(O)R^r、-OS(O)₂R^r、-SR^r、-S(O)R^r、-S(O)₂R^r、-S(O)NR^rR^{r'}、-S(O)₂NR^rR^{r'}、-OS(O)NR^rR^{r'}、-OS(O)₂NR^rR^{r'}、-NR^rR^{r'}、-NR^rC(O)R^s、-NR^rC(O)OR^s、-NR^rC(O)NR^sR^{s'}、-NR^rS(O)R^s、-NR^rS(O)₂R^s、-NR^rS(O)NR^sR^{s'}、-NR^rS(O)₂NR^sR^{s'}、-C(O)R^r、-C(O)OR^s或-C(O)NR^rR^{r'},

所述 R^{X7} 或 $R^{X7'}$ 为 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{3-6} 环烷基、3至7元杂环烷基、 C_{6-10} 芳基、5至7元杂芳基,进一步经 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{3-6} 环烷基、3至7元杂环烷基、 C_{6-10} 芳基、5至7元杂芳基、-OR^t、-OC(O)R^t、-OC(O)NR^tR^{t'}、-OS(O)R^t、-OS(O)₂R^t、-SR^t、-S(O)R^t、-S(O)₂R^t、-S(O)NR^tR^{t'}、-S(O)₂NR^tR^{t'}、-OS(O)NR^tR^{t'}、-OS(O)₂NR^tR^{t'}、-NR^tR^{t'}、-NR^tC(O)R^u、-NR^tC(O)OR^u、-NR^tC(O)NR^uR^{u'}、-NR^tS(O)R^u、-NR^tS(O)₂R^u、-NR^tS(O)NR^uR^{u'}、-NR^tS(O)₂NR^uR^{u'}、-C(O)R^t、-C(O)OR^t或-C(O)NR^tR^{t'}取代,

所述 R^r 、 $R^{r'}$ 、 R^s 、 $R^{s'}$ 、 R^t 、 $R^{t'}$ 、 R^u 及 $R^{u'}$ 独立地选自H、 C_{1-7} 烷基、 C_{2-7} 烯基、 C_{2-7} 炔基、 C_{3-13} 环烷基、3至7元杂环烷基、 C_{5-10} 芳基、及5至7元杂芳基。

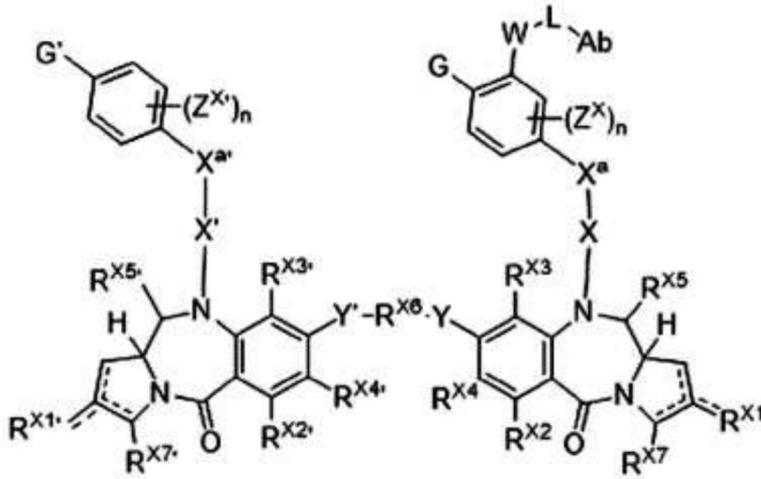
54. 根据权利要求50所述的抗体偶联物或其药学上可容许的盐或其溶剂化物,其特征在于, R^{X6} 为 C_{3-12} 亚烷基、 C_{3-12} 亚烯基或 C_{3-12} 亚杂芳基,所述 R^{X6} 经-NH₂、-NHR^m、-NHC(O)R^m、-NHC(O)CH₂-[OCH₂CH₂]_n-R^{XX}、或-[CH₂CH₂O]_n-R^{XX}取代,

所述 R^{XX} 为H、OH、N₃、CN、NO₂、SH、NH₂、ONH₂、NHNH₂、卤素、 C_{1-8} 烷基、 C_{3-8} 环烷基、 C_{1-8} 烷氧基、 C_{1-8} 烷硫基、 C_{3-20} 杂芳基、 C_{5-20} 芳基或单或二- C_{1-8} 烷基氨基,且

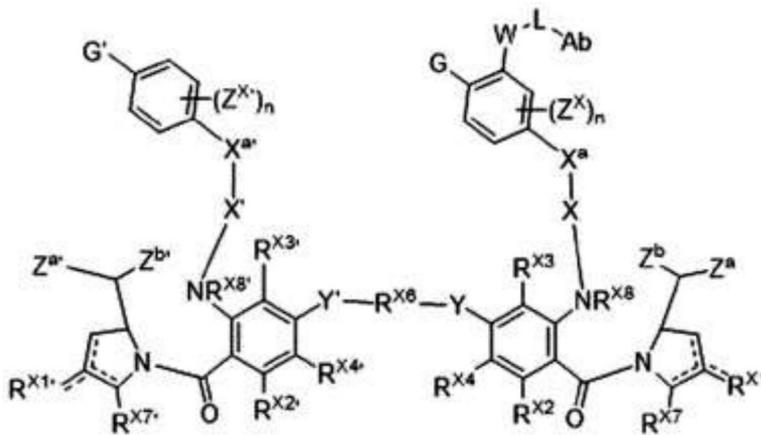
n为1至6的整数。

55. 根据权利要求50所述的抗体偶联物或其药学上可容许的盐或其溶剂化物,其特征在于,所述活性剂为通式XII或通式XIII所表示的吡咯开苯并吡庚三烯二聚体:

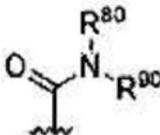
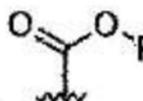
[通式XII]



[通式XIII]



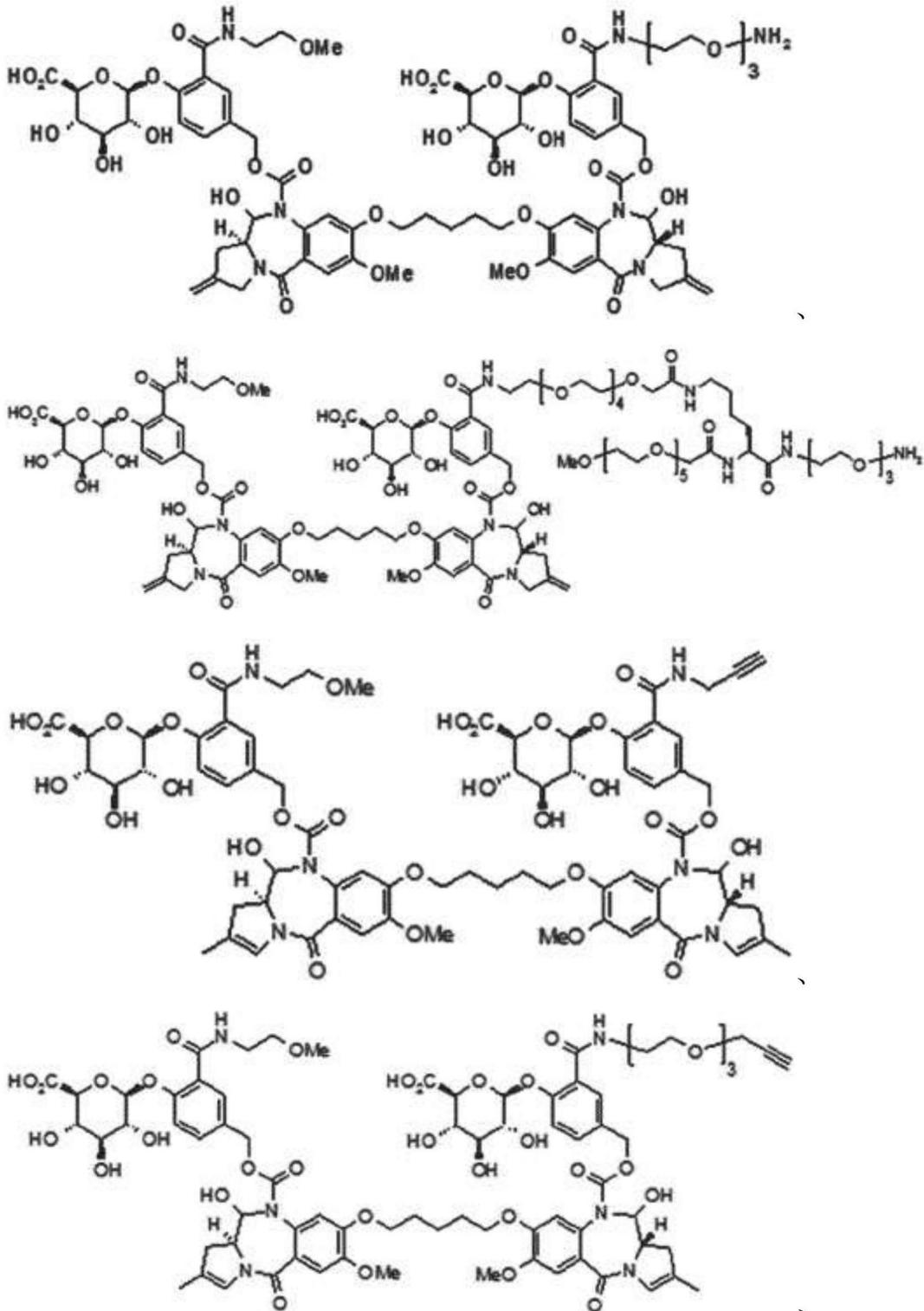
所述X^a及X^{a'}独立地选自键或C₁₋₆亚烷基，

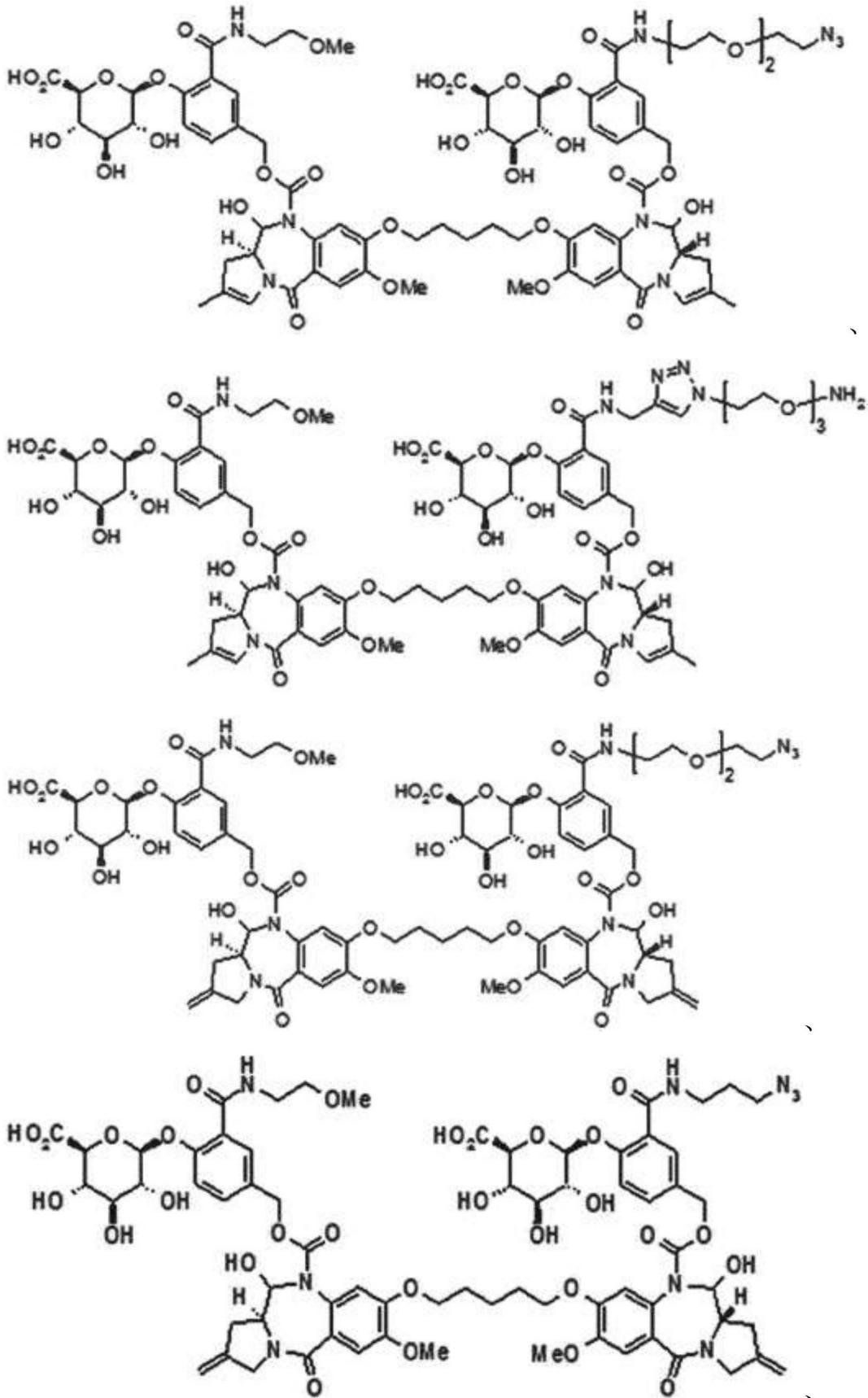
Z^{X'}及Z^X独立地选自氢、C₁₋₈烷基、卤素、氰基、硝基、、或-

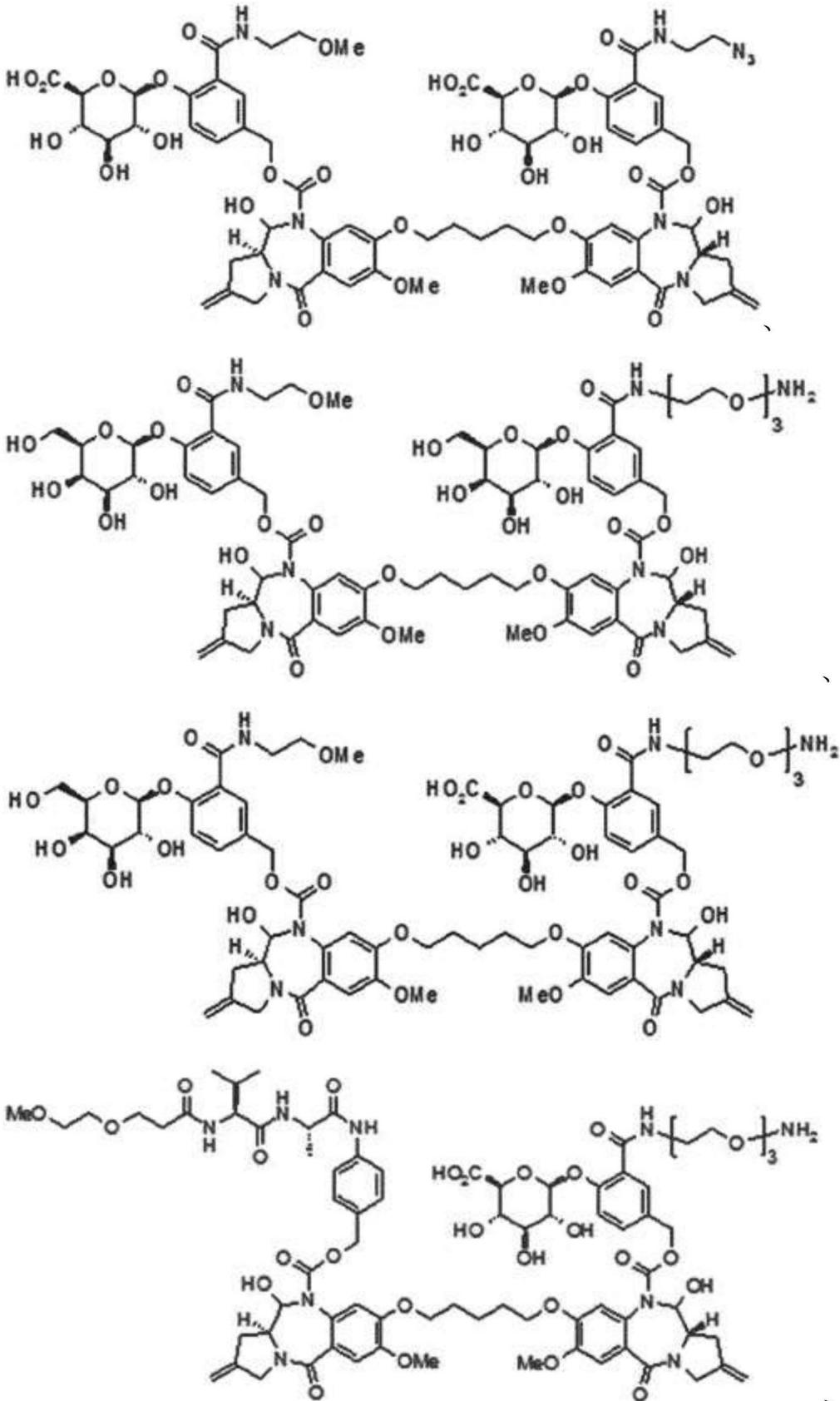
(CH₂)_m-OCH₃，

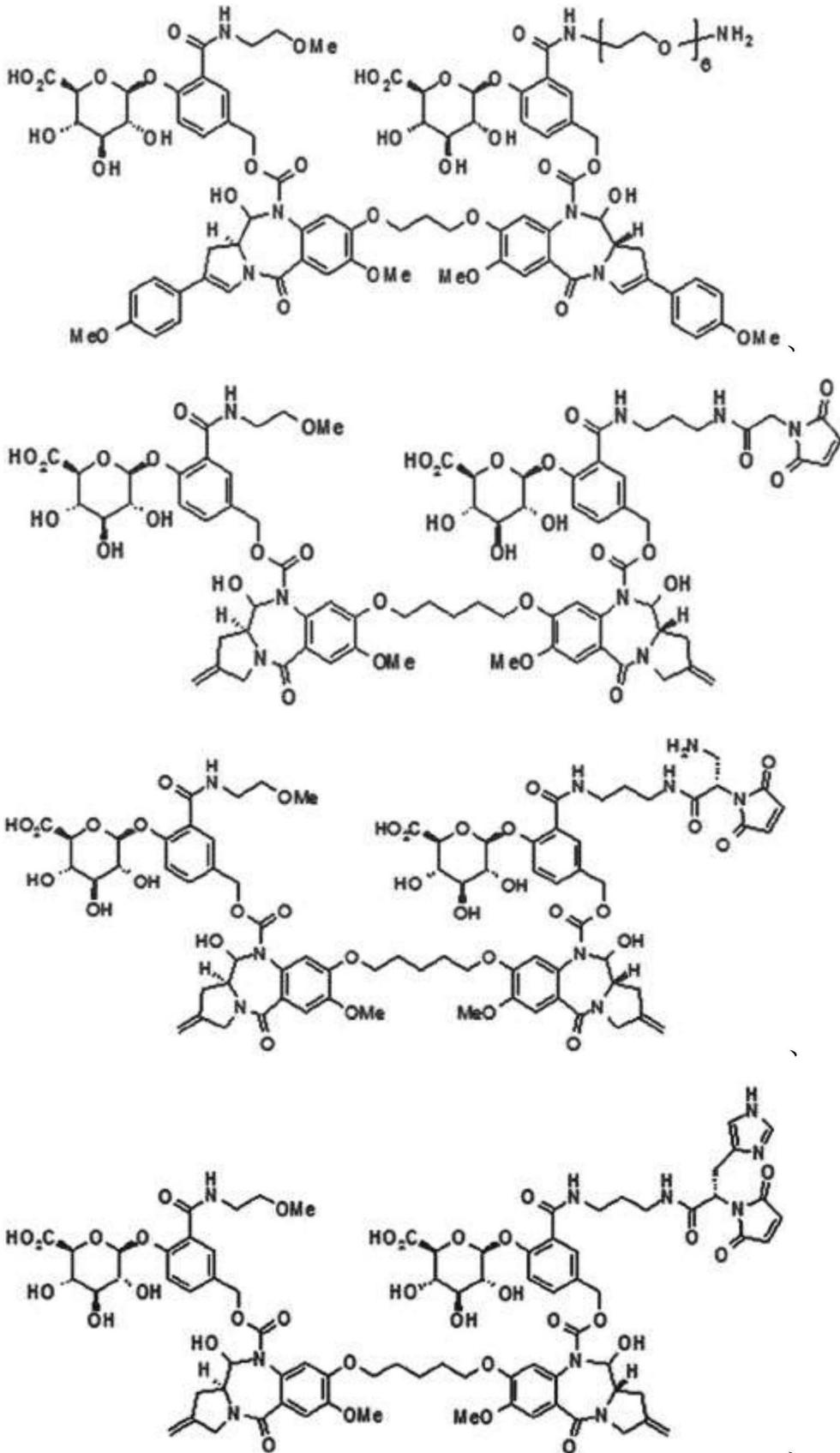
各R⁸⁰、R⁹⁰及R¹⁰⁰选自氢、C₁₋₈烷基、C₂₋₆烯基、及C₁₋₆烷氧基，且m为0至12的整数。

56. 根据权利要求1所述的抗体偶联物或其药学上可容许的盐或其溶剂化物，其特征在于，所述活性剂为选自由









包含抗人DLK1抗体的抗体-药物偶联物及其用途

技术领域

[0001] 本发明涉及一种以DLK1 (Delta-like 1 homolog, δ 样1同源物) 为靶向的新颖的抗体-药物偶联物 (antibody-drug conjugate, ADC)、所述ADC的活性代谢物、所述ADC的制造方法、用以治疗及/或预防疾病的所述ADC的用途、以及用以生产治疗及/或预防疾病的药剂的所述ADC的用途, 所述疾病更详细而言为增殖及/或血管新生疾病, 例如为癌, 更具体而言, 涉及一种包含与DLK1结合的抗体或所述抗体的抗原结合片段的抗体-药物偶联物、及包含所述抗体-药物偶联物的药学组合物。

背景技术

[0002] 癌 (cancer) 是指由人体组织自主性地过剩生长而异常地形成的块体引起的疾病, 其是无法在各种组织中调节的细胞生长的结果。初期肿瘤能够通过手术及放射治疗等措施来去除, 而发生转移的肿瘤则通常是通过化疗剂来进行缓解治疗。

[0003] 非口服给药的多数化疗剂在进行全身给药后, 会引发未期望的副作用, 甚至会产生毒性等严重的影响, 因此开发一种通过将这些化疗剂经改善且选择性地应用到肿瘤细胞或相邻的组织来同时实现药效的增加及毒性/副作用的最小化的新颖的化疗剂逐渐成为焦点。

[0004] 抗体-药物偶联物 (ADC, antibody-drug conjugate) 是一种使毒素或药物结合到与抗原结合的抗体后, 在细胞内部释放毒性物质来使癌细胞等凋亡的靶向性新技术。所述技术如下: 对健康的细胞最小限度地产生影响, 并且将药物准确地传递到靶向癌细胞, 并仅在特定条件下释放, 因此功效优于抗体治疗剂本身, 与现有的抗癌剂相比, 能够大幅降低副作用的危害性。

[0005] 这种抗体-药物偶联物的基本结构包含“抗体-连接子-低分子药物(毒素)”。其中, 连接子不仅需简单地发挥使抗体与药物连接的功能性作用, 而且需使抗体-药物偶联物在体内循环时稳定地到达靶细胞后进入到细胞内, 之后通过抗体-药物间的解离现象 (例如, 通过酶介导的水解) 使药物良好地掉落, 并且对靶向癌细胞发挥药效。即, 抗体-药物偶联物的功效及全身毒性 (systemic toxicity) 等安全性取决于连接子的稳定性, 连接子发挥非常重要的作用 (Discovery Medicine 2010, 10 (53) : 329-39)。

[0006] 本发明的发明人曾开发出一种包含自牺牲基团 (self-immolative group) 的连接子, 并获得了专利, 所述连接子在血浆内更加稳定, 在体内循环时也较为稳定, 且能够在癌细胞内容易地释放药物而发挥药效 (韩国注册专利第1,628,872号等)。另一方面, 使用单克隆抗体来治疗癌症获得巨大成功。单克隆抗体相当于肿瘤组织及肿瘤细胞的靶向性处理 (addressing)。抗体-药物偶联物已成为用于制造淋巴瘤与实体癌的强有力的新治疗选项, 最近, 免疫调节抗体也在临床上获得巨大成功。治疗抗体的开发是以对癌血清学、蛋白质工程技术及其作用、抵抗性机制及免疫系统与癌细胞间的相互作用的深刻了解为基础。

[0007] 在人类癌细胞表面上表达的抗原是指较正常组织过度表达、或突变及选择性地表达的广泛的目标物。核心问题在于: 对基于抗体的治疗方法鉴定适当的抗原。这种治疗剂对

抗原或受体功能(即,作为刺激剂或拮抗剂的功能)的变化发挥介质作用,通过Fc与T细胞活化来调节免疫系统,通过传递与以特定抗原为靶向的抗体结合的特定药物来发挥功效。能够改变抗体药代动力学(pharmacokinetics)、作用功能、大小及免疫刺激性的分子技术在基于新抗体的治疗方法的开发中成为核心要素。对以癌症患者为对象的治疗抗体进行临床试验获得的证据强调了靶抗原与抗体的亲和性及结合性、抗体结构的选择、包含治疗性接近法(信号传输阻断或免疫作用功能)的用以选择最佳抗体的接近法的重要性。

[0008] 与此相关,正在以DLK1为抗原来对抗体进行研究。人DLK1(delta-like 1 homolog(果蝇属(*Drosophila*)))是包含总共383个氨基酸的一次膜贯通型膜蛋白,所述蛋白质在细胞外部区域具有6个EGF-样重复(epidermal growth factor-like repeat)区。

[0009] DLK1因氨基酸序列与作为细胞分化控制因子的Notch受体的配体 δ (Delta)的同源性而通常被称为DLK1基因,除此之外,也被称为Pref-1、pG2、SCP-1及ZOG。DLK1虽为膜蛋白,但也作为具有单独功能性的蛋白质而被熟知,所述蛋白质是其细胞外部区域通过肿瘤坏死因子 α 转换酶(Tumor necrosis factor alpha converting enzyme, TACE)从细胞膜掉落(shedding)而产生的。

[0010] DLK1在未分化而增殖能力较高的胎儿细胞中高表达。尤其,在胎儿的肝脏、肾脏、骨骼肌、脑等中高表达,但在出生后,在大部分组织中未确认到DLK1的表达,且仅在前脂肪细胞(preadipocyte)、胰岛细胞(pancreatic islet cell)、胸腺基质细胞(thymic stromal cell)、肾上腺细胞(adrenal gland cell)等特定细胞中表达。

[0011] DLK1已知为Pref-1(preadipocyte factor-1,前脂肪细胞因子-1),其是抑制脂肪细胞分化的因子,因此朝该方向进行的功能研究最活跃。除了抑制脂肪细胞分化的能力以外,已知DLK1发挥抑制造血干细胞(hematopoietic stem cells)分化、调整淋巴祖细胞(lymphoid progenitor cell)分化的作用,且参与到创伤愈合(wound healing)。

[0012] 另外,已报告DLK1还在多种癌症或肿瘤中以高频率表达。迄今为止,作为已确认到所述DLK1表达的癌症种类,在实体癌中已知有神经内分泌肿瘤、神经母细胞瘤、神经胶质瘤、1型神经纤维瘤病、小细胞肺癌、肝癌、肾癌、卵巢癌、结直肠癌、乳腺癌及胰腺癌,在血癌中已知有骨髓增殖异常综合症及急性骨髓性白血病。关于对DLK1与癌症之间的关联性的研究,已报告:DLK1在脑癌细胞(神经胶质瘤(glioma))中过表达,如果使DLK1的cDNA(Complementary Deoxyribonucleic Acid,互补脱氧核糖核酸)在脑癌细胞中过表达,则脑癌细胞的增殖(proliferation)增强,从而促进转移(migration);且已报告:DLK1在肝癌中的表达高于在正常肝细胞中的表达,在通过siRNA(Small interfering Ribonucleic Acid,小干扰核糖核酸)实验减少DLK1表达时,肿瘤的大小减少。

[0013] 在这种背景技术下,本发明的发明人为了开发与DLK1特异性地结合的抗体而进行努力,结果开发出对DLK1表现出优异的结合力的抗DLK1抗体,且确认到如下情况而完成了本发明:为了进一步强化抗体的效果,将包含有效的自牺牲基团(self-immolative group)的连接子应用于与DLK1特异性地结合的抗癌治疗用抗体,从而能够提供一种以对治疗及/或预防增殖及/或转移癌有效的DLK1为靶向的新颖的抗体-药物偶联物(ADC),所述连接子在血浆内更加稳定、在体内循环时也较为稳定、能够在癌细胞内容易地释放药物而产生药效。

发明内容

[0014] [发明要解决的问题]

[0015] 本发明提供一种以DLK1为靶向的新颖的抗体-连接子-药物偶联物或其盐、溶剂化物。

[0016] 本发明提供一种抗体-药物偶联物及包含所述抗体-药物偶联物的药学组合物,所述抗体-药物偶联物包含与DLK1特异性地结合的抗体、及与所述抗体结合的药物。

[0017] 本发明提供一种预防或治疗增殖、癌症或血管新生疾病的方法,其包括:将抗体-药物偶联物给药给个体的步骤,所述抗体-药物偶联物包含与药学有效量的DLK1特异性地结合的抗体、及与所述抗体结合的药物。

[0018] 本发明提供一种抗体-药物偶联物用作用于预防或治疗增殖、癌症或血管新生疾病的药学组合物的用途,所述抗体-药物偶联物包含与DLK1特异性地结合的抗体、及与所述抗体结合的药物。

[0019] 另外,在本发明中,提供一种抗体-连接子-药物(毒素)系统,所述系统通过结合包含自牺牲基团的连接子技术,既能够使药物及/或毒素稳定地到达靶细胞而有效地发挥药效,又能够大幅减少毒性,所述连接子在血浆内更加稳定,在体内循环时也较为稳定,且能够在癌细胞内容易地释放药物而将药效极大化。

[0020] [解决问题的技术手段]

[0021] 在本发明的一实施方式中,提供一种具有下述通式I的结构的偶联物或其药学上可容许的盐或溶剂化物:

[0022] [通式I] Ab-(X)_y

[0023] 其中,

[0024] Ab为抗DLK1抗体或所述抗体的抗原结合片段,

[0025] 所述X独立地为包含一个以上的活性剂及连接子的化学残基,且

[0026] 所述连接子将抗体与活性剂连接,

[0027] 所述y为1至20的整数。

[0028] 所述抗DLK1抗体或其抗原结合片段、即与DLK1结合的抗体或所述抗体的抗原结合片段包含:重链可变区,其包含选自由序列号2、16、30、44、58、72及86所组成的群中的一个以上的重链CDR (Complementarity Determining Region,互补性决定区域) 1、选自由序列号4、18、32、46、60、74及88所组成的群中的一个以上的重链CDR2、选自由序列号6、20、34、48、62、76及90所组成的群中的一个以上的重链CDR3;及

[0029] 轻链可变区,其包含选自由序列号9、23、37、51、65、79、93、115及121所组成的群中的一个以上的轻链CDR1、选自由序列号11、25、39、53、67、81及95所组成的群中的一个以上的轻链CDR2、及选自由序列号13、27、41、55、69、83、97、116及125所组成的群中的一个以上的轻链CDR3。

[0030] 本发明的抗体例如能够与人DLK1的细胞外区域特异性地结合。

[0031] 本说明书中所使用的术语“抗体(antibody)”是指与DLK1、尤其人DLK1蛋白的细胞外区域特异性地结合的抗DLK1抗体。本发明的范围不仅包含与DLK1特异性地结合的完整抗体形态,而且还包含所述抗体分子的抗原结合片段。

[0032] 完整抗体呈具有2个全长轻链及2个全长重链的结构,各轻链通过二硫键与重链连

接。重链恒定区有伽马(γ)、谬(μ)、阿尔法(α)、德耳塔(δ)及艾普西隆(ϵ)类型,作为亚类,有伽马1(γ 1)、伽马2(γ 2)、伽马3(γ 3)、伽马4(γ 4)、阿尔法1(α 1)及阿尔法2(α 2)。轻链恒定区有喀帕(κ)及拉姆达(λ)类型。

[0033] 所谓抗体的抗原结合片段或抗体片段是指具有抗原结合功能的片段,包含Fab、F(ab')、F(ab')₂及Fv等。在抗体片段中,Fab呈具有轻链及重链的可变区、与轻链恒定区及重链的第一恒定区(CH1)的结构,具有1个抗原结合位点。Fab'在如下方面与Fab存在差异:包含在重链CH1区的C-末端具有一个以上的半胱氨酸残基的铰链区(hinge region)。F(ab')₂抗体是Fab'铰链区的半胱氨酸残基形成二硫键而生成。Fv是仅具有重链可变区及轻链可变区的最小抗体片段,生成Fv片段的重组技术揭露于PCT国际公开专利申请案W088/10649、W088/106630、W088/07085、W088/07086及W088/09344中。双链Fv(two-chain Fv)中重链可变区与轻链可变区通过非共价键连接,单链Fv(single-chain Fv, scFv)中重链可变区与轻链可变区通常通过共价键以肽连接子连接、或在C-末端直接连接,因此能够构成像双链Fv一样的二聚体结构。这种抗体片段可利用蛋白水解酶获得(例如,可利用木瓜蛋白酶限制性地切割完整抗体来获得Fab,可利用胃蛋白酶限制性地切割来获得F(ab')₂片段),也可通过基因重组技术来制作。

[0034] 在一个实施例中,本发明的抗体为Fv形态(例如,scFv)或完整抗体形态。另外,重链恒定区可选自伽马(γ)、谬(μ)、阿尔法(α)、德耳塔(δ)或艾普西隆(ϵ)中的任一同种型。例如,恒定区为伽马1(IgG1)、伽马3(IgG3)或伽马4(IgG4)。轻链恒定区可为喀帕或拉姆达型。

[0035] 本说明书中所使用的术语“重链”是指包含可变区结构域VH及3个恒定区结构域CH1、CH2及CH3的全长重链及其片段两者,所述可变区结构域包含具有足以对抗原赋予特异性的可变区序列的氨基酸序列。另外,本说明书中所使用的术语“轻链”是指包含可变区结构域VL及恒定区结构域CL的全长轻链及其片段两者,所述可变区结构域包含具有足以对抗原赋予特异性的可变区序列的氨基酸序列。

[0036] 发明的抗体包含单克隆抗体、多特异性抗体、人抗体、人源化抗体、嵌合抗体、单链Fvs(scFV)、单链抗体、Fab片段、F(ab')片段、二硫键Fvs(sdFV)及抗独特型(抗Id)抗体、或所述抗体的表位-结合片段等,但并不限于此。

[0037] 所述单克隆抗体是指相同的抗体,不包括可能的天然发生的突变,其中从实质上同质的抗体群体获得的抗体、即群体中的各抗体能够以微量存在。由于单克隆抗体的特异性较高,因此针对单一抗原位点所诱导。与典型地包括针对不同的决定簇(表位)的不同抗体的普通(多克隆)抗体制剂相反,各单克隆抗体针对抗原上的单一决定簇。例如,可用于本发明的单克隆抗体可通过杂交瘤方法制造,或者在细菌、真核动物或植物细胞中使用重组DNA(Deoxyribonucleic Acid,脱氧核糖核酸)方法来制造(参照美国专利4,816,567)。另外,单克隆抗体可从噬菌体抗体库分离。

[0038] 在本发明的一实施例中,通过噬菌体展示方法对天然人scFv库(native human single chain Fv library)进行淘选来制造与DLK1特异性地结合的7种单克隆人抗体。

[0039] “噬菌体展示”为如下技术:使变异体多肽作为与外壳蛋白的至少一部分融合的蛋白质而展示到噬菌体、例如纤维状噬菌体粒子的表面。噬菌体展示作用如下:能够以大型随机化蛋白变异体库为对象,快速且高效地对以高亲和力与靶抗原结合的序列进行分类。在

噬菌体上展示肽及蛋白质库已经用于筛选数百万个多肽,以确认具有特异性结合特性的多肽。

[0040] 噬菌体展示技术对生成及筛选与特定配体(例如,抗原)结合的新颖的蛋白质提供了强大的手段。通过使用噬菌体展示技术,能够形成大型蛋白质变异体库,将以高亲和性与靶抗原结合的序列快速分类。使编码变异体多肽的核酸与编码病毒性外壳蛋白、例如基因III蛋白或基因VIII蛋白的核酸序列融合。已开发出单相噬菌体展示系统,其使编码蛋白质或多肽的核酸序列与编码基因III蛋白的一部分的核酸序列融合。在单相噬菌体展示系统中,基因融合物以低水平表达,还表达野生型基因III蛋白,由此保持粒子感染性。

[0041] 对于抗体噬菌体展示库的开发而言,重要的是证明肽在纤维状噬菌体表面上的表达与功能性抗体片段在大肠杆菌(E.coli)的外周细胞质的表达。通过多种方式制造抗体或抗原结合性多肽库,例如有通过插入随机DNA序列来改变单基因的方法、或克隆相关基因序列的方法。可针对具有目标特征的抗体或抗原结合蛋白的表达对库加以筛选。

[0042] 与用以制造具有目标特征的抗体的通常的杂交瘤及重组方法相比,噬菌体展示技术具有若干优点。这种技术即便不使用动物,也能够在规定时间内生成具有各种序列的大型抗体库。杂交瘤的制造或人源化抗体的制造需要历经数月的制造时间。另外,由于完全不需要免疫力,因此噬菌体抗体库也能够针对毒性或抗原性较低的抗原生成抗体。也可使用噬菌体抗体库生成及确认新颖的治疗性抗体。

[0043] 可使用利用噬菌体展示库从被免疫、未被免疫的人、种系序列、或未致敏的B细胞Ig基因库(repertory)生成成人抗体的技术。可使用各种淋巴系统组织制造未致敏或非免疫抗原结合库。

[0044] 能够从噬菌体展示库确认及分离高亲和性抗体的技术对于分离新颖的治疗性抗体而言很重要。从库分离高亲和性抗体取决于库的大小、在细菌性细胞中的生产效率及库的多样性。库的大小会因抗体或抗原结合蛋白的错误折叠及终止密码子的存在所致的无效生产而变小。在抗体或抗原结合区域未适当地折叠的情况下,能够抑制在细菌性细胞中的表达。可通过如下方式改善表达:使可变/恒定界面表面上的残基或筛选出的CDR残基交替地突变。在细菌性细胞中生成抗体噬菌体库时,框架区的序列是提供适当折叠的一个要素。

[0045] 在高亲和性抗体的分离中,重要的是生成抗体或抗原结合蛋白的各种库。已知CDR3区域经常参与抗原结合。重链上的CDR3区域的大小、序列及结构立体形态非常多样,因此可利用所述CDR3区域制造各种库。

[0046] 另外,可通过在各位置使用所有20种氨基酸而将可变重链及轻链的CDR区域随机化来实现多样性。如果使用20种氨基酸,则能够生成多样性较大的变异体抗体序列,确认新颖的抗体的机会增加。

[0047] “表位”是指抗体能够特异性地结合的蛋白质决定位点(determinant)。表位通常包含化学活性表面分子群、例如氨基酸或糖侧链,通常不仅具有特定的三维结构特征,而且还具有特定的电荷特性。立体表位与非立体表位的区别在于:在存在改性溶剂的条件下,电子与立体表位的结合丧失,而非立体表位的结合不丧失。

[0048] 所述“人源化”形态的非人(例如,鼠源)抗体是包含源自非人免疫球蛋白的最小序列的嵌合抗体。在大多数情况下,人源化抗体是人免疫球蛋白(受体抗体),其中来自受体超变区的残基被来自非人源种(供体抗体)、例如小鼠、大鼠、兔或非人灵长类的超变区的残基

代替,从而具有目标特异性、亲和性及能力。

[0049] 所述“人抗体”是指源自人免疫球蛋白的分子,其中包含互补性决定区域、结构区域的构成抗体的所有氨基酸序列均包含人免疫球蛋白。

[0050] 所述人抗体不仅包含“嵌合”抗体(免疫球蛋白),而且包含表现出目标生物活性的所述抗体的片段,在所述嵌合抗体中,重链及/或轻链的一部分源自特别的种类,或者与属于特别的抗体类别或亚类的抗体中的相应序列相同、或与其为同源性,与此相反,其余的链源自其他种类,或者与属于其他抗体类别或亚类的抗体中的相应序列相同、或与其为同源性。

[0051] 如本申请案中所使用的“抗体可变区域”是指抗体分子的轻链及重链部分,所述轻链及重链部分包含互补性决定区域(CDR,即CDR1、CDR2及CDR3)、及框架区(FR)的氨基酸序列。VH是指重链的可变区域。VL是指轻链的可变区域。

[0052] “互补性决定区域”(CDR,即CDR1、CDR2及CDR3)是指为了实现抗原结合所需的抗体可变区域的氨基酸残基。各可变区域典型的是具有被确认为CDR1、CDR2及CDR3的3个CDR区域。

[0053] 在本发明中,与所述DLK1结合的抗体或所述抗体的抗原结合片段可具体地包含下表1中所记载的CDR序列。其中,在韩国申请案第10-2018-0107639号中确认到:可将两种抗DLK1抗体(18A5、27F7)与两种其他18A5变异抗体(18A5_LS_1A10、18A5_AM_1A12)开发为抗DLK1抗体-药物偶联物,所述抗体-药物偶联物能够与过表达DLK1的细胞结合并使癌细胞凋亡,同时靶向在癌细胞表面上表达的DLK1。

[0054] [表1]

克隆	FR1	CDR1	FR2	CDR2	FR3	CDR3	FR4	序列号
17B11- HC	QVQL VESG GTLV QPGG SLRLS CAAS	GFTF SSHA	MSWV RQTPG KGLE WVSS	ITKS GSGT	YSADSVK GRFTISR DNSKNTL YLQMNSL RAEDTAV YYC	TREG LGYY YGMD V	WGQ GTTV TVSS	99
序列号	1	2	3	4	5	6	7	
17B11- LC	QLVLT QPPSV SGAPG QRVVI SCTGS	SSNI GAG YD	VHWY QQLPG TAPRL LIY	GST	NRPSGVP DRFSGSK SGTSASL AITGLQA EDEADYY C	QSYD NLSA HYV	FGIG TKVT VL	100
序列号	8	9	10	11	12	13	14	
18A5- HC	QVQL VQSG GAVV QPGH SLRLS CEAS	GFK FKD YG	MHWV RQAPG KGLE WLAV	ISHD GRN K	NYADSVK GRLTISR DNSKNTL SFQMNSL RAEDTAV YYC	VRDW SYAFD I	WGQ GTLV TVSS	101
序列号	15	16	17	18	19	20	21	
18A5- LC	DIQM TQSPS FLSAS VGDR VNITC RAS	QDIS RR	LAWY QQKP GKAP KLLIY	GAA	SLQSAVAS RFSGSGS GIEFTLI SSLQPEDF ANYC	QQIY TIPLT	FGGG TKVE IK	102
序列号	22	23	24	25	26	27	28	
20D3- HC	QMQL VQSG GGLV QPGRS LRLSC AAS	GFTF DDY A	MHWV RQAPG KGLE WVSG	ISWN SGSI	GYADSVK GRFTISR DNAKNSL YLQMNSL RAEDTAV YYC	TKGP GLAT GKVY FNS	WGQ GTQV TVSS	103
序列号	29	30	31	32	33	34	35	

[0055]

20D3- LC	DIQM TQSPS SVSAS VGDR VTITC RAS	QRIS SW	LAWY QQKP GRAPK LLIH	SAS	TLHNGVP SRFSGSAS GTDFTLTI SSLQPEDF AIYYC	QQGH SFPYT	FGQG TKLD IK	104
序列号	36	37	38	39	40	41	42	
21D8- HC	QVQL VESG GGLV QPGG SLRLS CAAS	GFTF SSY W	MNWX RQAPG KGLV WVSR	ISPD GSST	TYADSVK GRFTISR DNAKNTL YLQMNSL RAEDTAV YYC	ARGY SPKYP TVGL DV	WGQ GTTI TVSS	105
序列号	43	44	45	46	47	48	49	
21D8- LC	DIVMT QSPLS SPVTL GQPAS ISCRS S	ESLL HSN GNT Y	LTWL QQRP GQPPR LLIH	KIS	NRFSGVP DRFSGSG AGTDFTL QITRVET EDVGVYY C	VQTT QWP WT	FGQG TKVE IK	106
序列号	50	51	52	53	54	55	56	
21F9- HC	QVQL VQSG AEVK KPGAS VRVSC KVS	GYSL SEFP	IHWVR QAPR MGLE WMGG	SYPE DGE T	LYAQKFQ GRVTMT EDTSTD AYMELSS LRSEDTA VYYC	ARLN YFEST DYWV DAFDI	WGQ GTM VTVS S	107
序列号	57	58	59	60	61	62	63	
21F9- LC	QLVLT QPYSV SESPG KTITIS CTRS	SGSI ASNF	VQWY QQRP GSAPT PVIY	EDN	QRPSGVP DRFSGSID SSSNSASL TISGVM EDEADYY C	QSYD SGSS WV	FGGG TKLT VL	108
序列号	64	65	66	67	68	69	70	

[0056]

[0057]

27F7- HC	QMQL VESG GGLV KPGG SLTL CDAT	GFNF GSY Y	MNVV RQAPG KGLE WLAH	ISST GRTI	YYADSVK GRFTISR DNAKSSL DLQMNSL RAEDTAV YYC	ARDQ GYPF GMDV	WGH GTIV TVSS	109
序列号	71	72	73	74	75	76	77	
27F7- LC	QLVLT QPSSV SGAPG QRVTI SCTGS	SSNI GAG YD	VDWY QQLPG IAPKL LIY	GNT	NRPSGVP DRFSGSK SGTSASL AITGLQA EDDSDDY C	QSYD SSLSA WV	FGGG TKLI VL	110
序列号	78	79	80	81	82	83	84	
35E2- HC	QVQL VESG GGVV QPGRS LRLSC AAS	GFTF SSYA	MHWV RQAPG KGLE WVAV	IYSG GST	YYADSVK GRFTISR DNSKNL YLQMNSL RAEDTAV YYC	AREG SYDV MTYT RIGG YFDY	WGQ GALV TVSS	111
序列号	85	86	87	88	89	90	91	
35E2- LC	DIQM TQSPS SVSAS VGDR VIHC RAS	QGIS DW	VAWY QQKP GKAP KLLIY	AAS	SLQSGVP SRFSGSG SGTEFSLI ISNLQPE DEATYYC	QQAN SFPLI	FGPG TKVE IK	112
序列号	92	93	94	95	96	97	98	
18A5- LS_1A 10 -HC	QVQL VQSG GAVV QPGH SLRLS CEAS	GFK FKD YG	MHWV RQAPG KGLE WLAV	ISHD GRN K	NYADSVK GRLTISR DNSKNL SFQMNSL RAEDTAV YYC	VRDW SYAF DI	WGQ GTLV TVSS	101
序列号	15	16	17	18	19	20	21	

[0058]

18A5_ LS_1A 10-LC	DIQM TQSPS SLSAS LGDR VTIIC RAS	QGIS SA	LAWY QQKP GKAP KLLIY	AAS	SLQSGVP SRFSGSG SGTDFTL TINSLQPE DFATYYC	QQSY TIPLT	FGGG TKVE IK	126
序列号	117	115	24	95	118	116	28	
18A5_ AM_1 A12 -HC	QVQL VQSG GGVV QPGG SLRLS CAAS	GFK FKD YG	MHWV RQAPG KGLE WLAV	ISHD GRN K	NYADSVK GRLTISR DNSKNL SFQMNSL RAEDTAV YYC	VRDW SYAF DI	WGQ GTLV TVSS	127
序列号	119	16	17	18	19	20	21	
18A5_ AM_1 A12 -LC	DIQM TQSPS FLSAS VGDR VTIIC RAS	HDIS SS	LAWY QQKS GKAP KLLIY	SAS	NLKSGVP SRFSGSG SGTDFSL TISSLQPE DFATYYC	QQSY ITVL T	FGGG TKLE IK	128
序列号	120	121	122	39	123	124	125	

[0059] “框架区”(FR)是指除了CDR残基以外的可变区域残基。各可变区域典型的是具有被确认为FR1、FR2、FR3及FR4的4个FR。

[0060] 根据本发明的一实施例,所述FR可包含选自由序列号1、15、29、43、57、71、85及119所组成的群中的一个以上的重链FR1、选自由序列号3、17、31、45、59、73及87所组成的群中的一个以上的重链FR2、选自由序列号5、19、33、47、61、75及89所组成的群中的一个以上的重链FR3、选自由序列号7、21、35、49、63、77及91所组成的群中的一个以上的重链FR4、选自由序列号8、22、36、50、64、78、92、117及120所组成的群中的一个以上的轻链FR1、选自由序列号10、24、38、52、66、80、94及122所组成的群中的一个以上的轻链FR2、选自由序列号12、26、40、54、68、82、96、118及123所组成的群中的一个以上的轻链FR3、或选自由序列号14、28、42、56、70、84、98及125所组成的群中的一个以上的轻链FR4。

[0061] “Fv”片段是含有完整的抗体识别及结合位点的抗体片段。这种区域包含二聚体,所述二聚体是1个重链可变区域与1个轻链可变区域通过例如scFv紧密地联合、实际上为共价联合而成。

[0062] “Fab”片段含有轻链的可变及恒定区域、与重链的可变及第一恒定区域(CH1)。F(ab')₂抗体片段通常包含一对Fab片段,所述一对Fab片段通过所述F(ab')₂抗体片段之间的铰链半胱氨酸而共价连接在所述F(ab')₂抗体片段的羧基末端附近。

[0063] “单链Fv”或“scFv”抗体片段包含抗体的VH及VL区域,这些区域存在于单个多肽链内。Fv多肽还可包含VH区域与VL区域之间多肽连接子,以使scFv可形成用于抗原结合的靶结构。

[0064] 本发明的抗体为1价或2价,包含单链或双链。

[0065] 就功能方面而言,抗体对DLK1的细胞外区域的结合亲和力在 10^{-5}M 至 10^{-12}M 范围内。例如,结合亲和力为 10^{-6}M 至 10^{-12}M 、 10^{-7}M 至 10^{-12}M 、 10^{-8}M 至 10^{-12}M 、 10^{-9}M 至 10^{-12}M 、 10^{-5}M 至 10^{-11}M 、 10^{-6}M 至 10^{-11}M 、 10^{-7}M 至 10^{-11}M 、 10^{-8}M 至 10^{-11}M 、 10^{-9}M 至 10^{-11}M 、 10^{-10}M 至 10^{-11}M 、 10^{-5}M 至 10^{-10}M 、 10^{-6}M 至 10^{-10}M 、 10^{-7}M 至 10^{-10}M 、 10^{-8}M 至 10^{-10}M 、 10^{-9}M 至 10^{-10}M 、 10^{-5}M 至 10^{-9}M 、 10^{-6}M 至 10^{-9}M 、 10^{-7}M 至 10^{-9}M 、 10^{-8}M 至 10^{-9}M 、 10^{-5}M 至 10^{-8}M 、 10^{-6}M 至 10^{-8}M 、 10^{-7}M 至 10^{-8}M 、 10^{-5}M 至 10^{-7}M 、 10^{-6}M 至 10^{-7}M 或 10^{-5}M 至 10^{-6}M 。

[0066] 另外,本发明的抗体是对抗原的亲和力(affinity)增加的抗体。术语“亲和力”是指特异性地识别抗原的特定位点并结合的能力,在免疫应答中,高亲和力与抗体对抗原的特异性同为重要因素。可使用业界公知的各种分析中的任一种、例如放射免疫分析法(RIA)及ELISA(Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay,酶联免疫吸附测定法)来确定亲和力,并且能够以各种测定值来表示。抗体对抗原的亲和力通常能够以特定抗体-抗原相互作用的解离常数(dissociation constant, Kd)来表示。Kd值越低,则表示抗体对抗原的亲和力越高。例如,18A5抗体的Kd值为0.52,27F7抗体的Kd值为0.22,由此可知本发明的抗体为与人DLK1特异性地结合的高亲和力抗体。

[0067] 与上述DLK1的细胞外区域结合的抗体或上述抗体的抗原结合片段可包含重链可变区,所述重链可变区包含与选自序列号99、101、103、105、107、109、111及127所组成的群中的序列具有90%以上的序列同源性的序列。与上述DLK1的细胞外区域结合的抗体或上述抗体的抗原结合片段可包含选自序列号99、101、103、105、107、109、111及127所组成的群中的重链可变区。

[0068] 另外,与上述DLK1的细胞外区域结合的抗体或上述抗体的抗原结合片段可包含轻链可变区,所述轻链可变区包含与选自序列号100、102、104、106、108、110、112、126及128所组成的群中的序列具有90%以上的序列同源性的序列。与上述DLK1的细胞外区域结合的抗体或上述抗体的抗原结合片段可包含选自序列号100、102、104、106、108、110、112、126及128所组成的群中的轻链可变区。

[0069] 本发明的抗体或抗体片段只要能够特异性地识别DLK1的细胞外区域,则不仅可包含本说明书中所记载的本发明的抗DLK1抗体的序列,而且也可包含所述抗DLK1抗体的生物学等同物。例如,为了进一步改善抗体的结合亲和力及/或其他生物学特性,可进而改变抗体的氨基酸序列。这种变形例如包含抗体的氨基酸序列残基的缺失、插入及/或取代。这种氨基酸变异是基于氨基酸侧链取代体的相对相似性、例如疏水性、亲水性、电荷、大小等而实现。通过对氨基酸侧链取代体的大小、形状及种类进行分析可知:精氨酸、赖氨酸及组氨酸均为带正电荷的残基;丙氨酸、甘氨酸及丝氨酸具有相似的大小;苯丙氨酸、色氨酸及酪氨酸具有相似的形状。因此,基于这种参考事项,可将精氨酸、赖氨酸及组氨酸;丙氨酸、甘氨酸及丝氨酸;以及苯丙氨酸、色氨酸及酪氨酸设为生物学上的功能等同物。

[0070] 当考虑到具有上述生物学等同活性的变异时,根据本发明的抗体或编码所述抗体的核酸分子被解释为还包含与序列号中所记载的序列表现出实质同一性(substantial identity)的序列。所述实质同一性序列是指如下序列:以本发明的所述序列与其他任意序列最大限度地对应的方式进行比对,利用业界常用的算法对经比对的序列进行分析时,至少表现出90%的同源性,最优选为至少表现出95%的同源性、表现出96%以上、97%以上、98%以上、99%以上的同源性。

[0071] 用以进行序列对比的比对方法为业界所公知的方法。NCBI (National Center for Biotechnology Information, 美国国家生物技术信息中心) 的BLAST (Basic Local Alignment Search Tool, 局部序列比对基本检索工具) 可通过NCBI等获得, 可与因特网上的如blastp、blastm、blastx、tblastn及tblastx的序列分析程序联合利用。BLAST可通过www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/连接。利用所述程序的序列同源性对比方法可在www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/blast_help.html中确认。

[0072] 由此, 在与说明书中所记载的明确指出的序列或整个序列进行对比时, 本发明的抗体或其抗原结合片段可具有90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高的同源性。这种同源性可通过利用业界所公知的方法进行序列对比及/或比对来确定。例如, 可利用序列对比算法 (即, BLAST或BLAST2.0)、人工比对、目测检查来确定本发明的核酸或蛋白质的序列同源性百分比。

[0073] 在本发明的另一观点中, 涉及一种编码所述抗体其抗原结合片段的核酸。

[0074] 可通过分离编码本发明的抗体或其抗原结合片段的核酸来以重组方式生产抗体或其抗原结合片段。将核酸分离并插入到能够复制所述核酸的载体内, 之后进一步克隆 (DNA扩增) 或进一步表达。由此, 在本发明的另一观点中, 涉及一种包含所述核酸的载体。

[0075] “核酸”具有一并包含DNA (gDNA (Genomic Deoxyribonucleic Acid, 基因组脱氧核糖核酸) 及cDNA) 及RNA (Ribonucleic Acid, 核糖核酸) 分子的含义, 作为核酸的基本构成单元的核苷酸不仅包含天然核苷酸, 而且也包含糖或碱基部分变形的类似物 (analogue)。本发明的编码重链及轻链可变区的核酸的序列可变形。所述变形包含核苷酸的添加、缺失、或非保守取代或保守取代。

[0076] 编码所述抗体的DNA可使用常规过程 (例如, 使用能够与编码抗体重链及轻链的DNA特异性地结合的寡核苷酸探针) 容易地分离或合成。能够获取多种载体。载体成分通常包含以下成分中的一种以上, 但并不限制于此: 信号序列、复制起点、一种以上的标记物基因、增强子元件、启动子、及转录终止序列。

[0077] 本说明书中所使用的术语“载体”是指用以在宿主细胞中表达靶基因的手段, 包含质粒载体、粘粒载体、如噬菌体载体、腺病毒载体、逆转录病毒载体及腺相关病毒载体的病毒载体等。在所述载体中编码抗体的核酸与启动子可操作地连接。

[0078] “可操作地连接”是指核酸表达调节序列 (例如, 启动子、信号序列、或转录调节因子结合位点阵列) 与其他核酸序列之间的功能性的结合, 使得所述调节序列调节所述其他核酸序列的转录及/或翻译。

[0079] 在以原核细胞为宿主的情况下, 通常包含能够推进转录的强大的启动子 (例如, tac启动子、lac启动子、lacUV5启动子、lpp启动子、pL_λ启动子、pR_λ启动子、rac5启动子、amp启动子、recA启动子、SP6启动子、trp启动子及T7启动子等)、用以开始翻译的核糖体结合位点及转录/翻译终止序列。另外, 例如在以真核细胞为宿主的情况下, 可利用源自哺乳动物细胞基因组的启动子 (例如, 金属硫蛋白启动子、β-肌动蛋白启动子、人血红蛋白启动子及人肌酸启动子)、或源自哺乳动物病毒的启动子 (例如, 腺病毒后期启动子、牛痘病毒7.5K启动子、SV40启动子、巨细胞病毒 (CMV) 启动子、HSV (Herpes Simplex Virus, 单纯疱疹病毒) 的tk启动子、小鼠乳腺瘤病毒 (MMTV) 启动子、HIV (Human Immunodeficiency Virus, 人体免疫缺损病毒) 的LTR (Long Terminal Repeat, 长末端重复序列) 启动子、莫洛尼病毒的启动

子爱泼斯坦-巴尔病毒 (EBV) 的启动子及劳氏肉瘤病毒 (RSV) 的启动子), 通常具有聚腺苷酸化序列作为转录终止序列。

[0080] 为了使由载体表达的抗体的纯化变容易, 载体也可视情况而与其他序列融合。融合的序列例如有谷胱甘肽S-转移酶 (Pharmacia, USA)、麦芽酚结合蛋白 (NEB, USA)、FLAG (IBI, USA) 及六组氨酸 (6x His (hexahistidine), Quiagen, USA) 等。

[0081] 所述载体包含业界常用的抗生素抗性基因作为选择标记物, 例如有针对氨苄青霉素、庆大霉素、羧苄青霉素、氯霉素、链霉素、卡那霉素、遗传霉素、新霉素及四环素的抗性基因。

[0082] 在本发明的另一观点中, 涉及一种利用以上所提及的载体转化的细胞。用于生成本发明的抗体的细胞可为原核生物、酵母或高等真核生物细胞, 但并不限制于此。

[0083] 可利用如大肠埃希氏杆菌 (*Escherichia coli*)、枯草芽孢杆菌及苏云金杆菌的杆菌属菌株、链霉菌属 (*Streptomyces*)、假单胞菌属 (*Pseudomonas*) (例如, 恶臭假单胞菌 (*Pseudomonas putida*))、奇异变形杆菌 (*Proteus mirabilis*) 及葡萄球菌 (*Staphylococcus*) (例如, 肉葡萄球菌 (*Staphylococcus carnosus*)) 的原核宿主细胞。

[0084] 然而, 作为对动物细胞的兴趣最大且有用的宿主细胞株的示例, 可为COS-7、BHK、CHO、CHOK1、DXB-11、DG-44、CHO/-DHFR、CV1、COS-7、HEK293、BHK、TM4、VERO、HELA、MDCK、BRL 3A、W138、Hep G2、SK-Hep、MMT、TRI、MRC 5、FS4、3T3、RIN、A549、PC12、K562、PER.C6、SP2/0、NS-0、U2OS、或HT1080, 但并不限制于此。

[0085] 在本发明的另一观点中, 涉及一种所述抗体或其抗原结合片段的制造方法, 其包括: (a) 培养所述细胞的步骤; 及 (b) 从所培养的所述细胞回收抗体或其抗原结合片段的步骤。

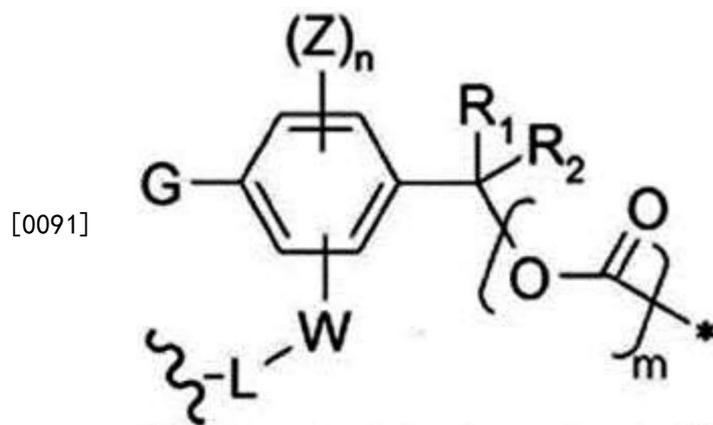
[0086] 可在各种培养基中培养所述细胞。作为培养基, 可无限制地使用市售培养基。能够以适当的浓度包含业者公知的所有其他必需补充物。培养条件、例如温度、pH值等常规地用于所选用于表达的宿主细胞, 这对业者而言是显而易见的。

[0087] 所述抗体或其抗原结合片段的回收如下: 例如, 可通过离心分离或超滤来去除杂质, 例如利用亲和层析法等来纯化所得产物。作为其他另外的纯化技术, 例如可使用阴离子或阳离子交换层析法、疏水性相互作用层析法、羟基磷灰石层析法等。

[0088] 在本发明的一实施方式中, 抗体与活性剂之间的连接子可为能够切割的连接子。

[0089] 在本发明的一实施方式中, 所述连接子具有下述化学式IIa的结构:

[0090] [化学式IIa]



[0092] 在所述式中，

[0093] G为糖(sugar)、糖酸(sugar acid)或糖衍生物(sugar derivatives)，

[0094] W为 $-C(O)-$ 、 $-C(O)NR'-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-S(O)_2NR'-$ 、 $-P(O)R''NR'-$ 、 $-S(O)NR'-$ 或 $-PO_2NR'-$ ，

[0095] 在C(O)、S或P与苯环(phenyl ring)直接连接的情况下，R'及R''分别独立地为氢、(C₁~C₈)烷基、(C₃~C₈)环烷基、(C₁~C₈)烷氧基、(C₁~C₈)烷硫基、单或二-(C₁~C₈)烷基氨基、(C₃~C₂₀)杂芳基、或(C₆~C₂₀)芳基，

[0096] Z分别独立地为氢、(C₁~C₈)烷基、卤素、氰基或硝基，

[0097] n为0至3的整数，

[0098] m为0或1，

[0099] L不存在，或者

[0100] 含有至少一个分枝单元(branching unit, BR)及至少一个连接单元(connection unit)，

[0101] R₁及R₂分别独立地为氢、(C₁~C₈)烷基或(C₃~C₈)环烷基，或者

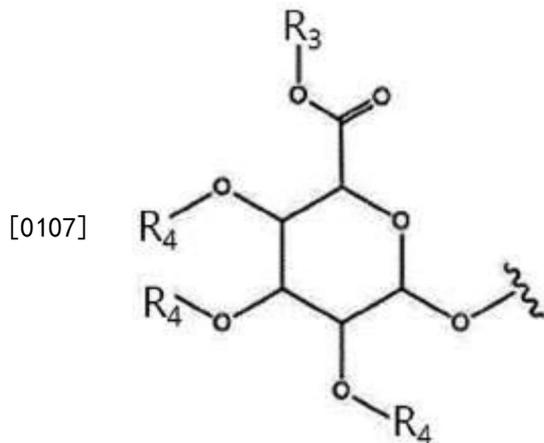
[0102] R₁及R₂与附着在其等上的碳原子一起形成(C₃~C₈)环烷基环，

[0103] 在所述式中，波浪号为与抗体连接的位点，

[0104] *号表示与药物或毒素连接的位点。在本发明的一实施方式中，所述糖或糖酸为单糖。

[0105] 在本发明的一实施方式中，所述G为葡萄糖醛酸部分(glucuronic acid moiety)或下述化学式(IIIa)结构的化合物：

[0106] [化学式(IIIa)]



[0108] 其中，

[0109] R₃为氢或羧基保护基团，

[0110] 各R₄分别独立地为氢或羟基保护基团。

[0111] 在本发明的一实施方式中，所述R₃为氢，各R₄为氢。

[0112] 另外，所述R₁及R₂分别为氢。

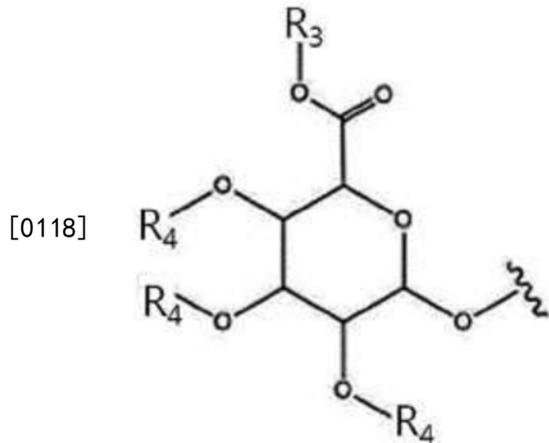
[0113] 另外，所述Z分别独立地为(C₁~C₈)烷基、卤素、氰基或硝基。

[0114] 另外，所述W为 $-C(O)-$ 、 $-C(O)NR'-$ 或 $-C(O)O-$ ，更具体而言，所述W为 $-C(O)NR'-$ ，其中，C(O)与苯环连接，NR'与L键合。

[0115] 另外,所述n为0、1、2或3,更具体而言为0、1或2,进一步具体而言为0。

[0116] 更具体而言,所述G为下述化学式(IIIa)结构的化合物:

[0117] [化学式(IIIa)]



[0119] 其中,

[0120] R_3 为氢或羧基保护基团,

[0121] 各 R_4 分别独立地为氢或羟基保护基团,

[0122] W 为 $-C(O)NR'$,其中, $C(O)$ 与苯环连接, NR' 与L键合,各Z为($C_1 \sim C_8$)烷基、卤素、氰基或硝基, n 为0, m 为1, R_1 及 R_2 分别为氢。

[0123] 在本发明的一实施方式中,至少一个分枝单元为具有1至100个碳原子的亚烷基,其中,亚烷基的碳原子可经选自由N、O及S所组成的群中的一个或一个以上的杂原子取代,亚烷基可进一步经具有1至20个碳原子的一个以上的烷基取代。

[0124] 具体而言,至少一个分枝单元为 $C_1 \sim C_{50}$ 亚烷基或1~50个原子的亚杂芳基,可满足下述内容中的一个以上:

[0125] (i) 包含一个以上的不饱和键;

[0126] (ii) 分枝单元内的2个原子经如取代体的2价取代体取代,这种取代形成亚杂芳基(heteroarylene);

[0127] (iii) 分枝单元为1至50个原子的亚杂芳基;

[0128] (iv) 所述亚烷基经一个以上的 $C_{1 \sim 20}$ 烷基取代。

[0129] 另外,所述至少一个分枝单元为含氮的1~50个原子的亚杂芳基,连接子包含亲水性氨基酸的2个以上的原子,所述氮可与亲水性氨基酸的羰基形成肽键。

[0130] 在本发明的一实施方式中,至少一个分枝单元为亲水性氨基酸(hydrophilic amino acid)。

[0131] 在本发明的一实施方式中,亲水性氨基酸可为精氨酸、天冬氨酸、天冬酰胺、谷氨酸、谷氨酰胺、组氨酸、赖氨酸、鸟氨酸、脯氨酸、丝氨酸或苏氨酸。

[0132] 另外,所述亲水性氨基酸可使连接子的肟(oxime)共价键合到连接子的聚乙二醇单元。

[0133] 在本发明的一实施方式中,亲水性氨基酸可为包含如下侧链的氨基酸:具有在水溶液中性pH值条件下带电荷的残基。

[0134] 在本发明的一实施方式中,亲水性氨基酸为天冬氨酸或谷氨酸。

[0135] 在本发明的一实施方式中,亲水性氨基酸为鸟氨酸或赖氨酸。

[0136] 在本发明的一实施方式中,亲水性氨基酸为精氨酸。

[0137] 在本发明的一实施方式中,至少一个分枝单元为 $-C(O)-$ 、 $-C(O)NR'-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-S(O)_2NR'-$ 、 $-P(O)R''NR'-$ 、 $-S(O)NR'-$ 、或 $-PO_2NR'$, R' 及 R'' 分别独立地为氢、 $(C_1\sim C_8)$ 烷基、 $(C_3\sim C_8)$ 环烷基、 $(C_1\sim C_8)$ 烷氧基、 $(C_1\sim C_8)$ 烷硫基、单或二- $(C_1\sim C_8)$ 烷基氨基、 $(C_3\sim C_{20})$ 杂芳基、或 $(C_6\sim C_{20})$ 芳基。

[0138] 在本发明的一实施方式中,至少一个分枝单元为 $-C(O)NR'-$, R' 为氢。

[0139] 在本发明的一实施方式中,至少一个连接单元由通式VIII或通式IX表示:

[0140] [通式VIII]

[0141] $-(CH_2)_r(V(CH_2)_p)_q-$

[0142] [通式IX]

[0143] $-(CH_2CH_2X)_w-$

[0144] 所述V为单键、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-NR^{21}-$ 、 $-C(O)NR^{22}-$ 、 $-NR^{23}C(O)-$ 、 $-NR^{24}SO_2-$ 或 $-SO_2NR^{25}-$;

[0145] X为 $-O-$ 、 $C_1\sim C_8$ 亚烷基或 $-NR^{21}-$;

[0146] R^{21} 至 R^{25} 分别独立地为氢、 $C_1\sim C_6$ 烷基、 $C_1\sim C_6$ 烷基 $C_6\sim C_{20}$ 芳基或 $C_1\sim C_6$ 烷基 $C_3\sim C_{20}$ 杂芳基;

[0147] r为0至10的整数;

[0148] p为0至10的整数;

[0149] q为1至20的整数;且

[0150] w为1至20的整数。

[0151] 在本发明的一实施方式中,q可为4至20,更具体而言,可为6至20。另外,q可为2至12,更具体而言,可为2、5或11。另外,r可为2。另外,p可为2。另外,V可为 $-O-$ 。

[0152] 更具体而言,r为2,p为2,q为2、5或11,V可为 $-O-$ 。

[0153] 另外,在本发明的一实施方式中,X可为 $-O-$ 。另外,w可为6至20的整数。

[0154] 更具体而言,X为 $-O-$,w可为6至20。

[0155] 在本发明的一实施方式中,至少一个连接单元为至少一个聚乙二醇单元,具有



[0156] 在本发明的一实施方式中,至少一个连接单元为1至12个 $-OCH_2CH_2-$ 单元、或3至12个 $-OCH_2CH_2-$ 单元、或5至12个 $-OCH_2CH_2-$ 单元、或6至12个 $-OCH_2CH_2-$ 单元、或3个 $-OCH_2CH_2-$ 单元。

[0157] 在本发明的一实施方式中,至少一个连接单元为 $-(CH_2CH_2X)_w-$,

[0158] 其中,X为单键、 $-O-$ 、 $(C_1\sim C_8)$ 亚烷基、或 $-NR_{21}-$;

[0159] R_{21} 为氢、 $(C_1\sim C_6)$ 烷基、 $(C_1\sim C_6)$ 烷基 $(C_6\sim C_{20})$ 芳基、或 $(C_1\sim C_6)$ 烷基 $(C_3\sim C_{20})$ 杂芳基;

[0160] w为1至20的整数,具体而言为1、3、6或12。

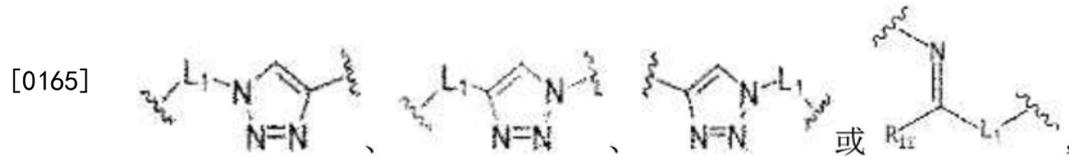
[0161] 在本发明的一实施方式中,X为 $-O-$,w为6至20的整数。

[0162] 在本发明的一实施方式中,连接子还包含通过1,3-偶极环加成反应(1,3-dipolar cycloaddition reactions)、异狄尔斯-阿尔德反应(hetero-Diels-Alder reactions)、亲

核取代 (nucleophilic substitution) 反应、非醇醛型羰基反应 (non-aldol type carbonyl reactions)、碳-碳多重键加成 (addition to carbon-carbon multiple bond)、氧化反应 (oxidation reactions) 或点击反应 (click reactions) 形成的结合单元。

[0163] 在本发明的一实施方式中,通过乙炔与叠氮化物之间的反应、或者醛基或酮基与肼或烷氧基胺之间的反应形成结合单元。

[0164] 在本发明的一实施方式中,结合单元为



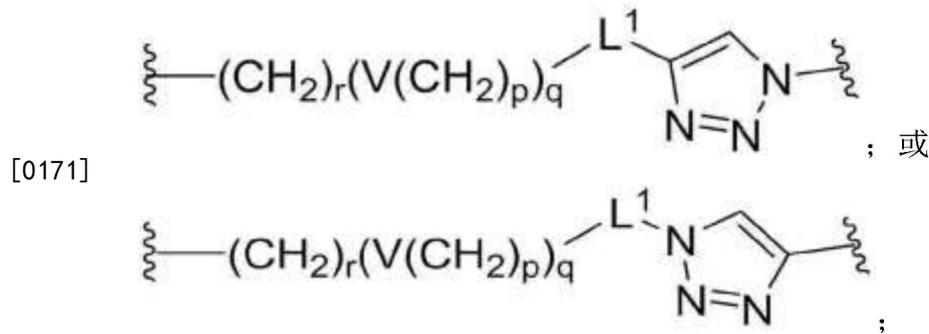
[0166] 其中,

[0167] L_1 为单键或具有1至30个碳原子的亚烷基,

[0168] R_{11} 为氢或具有1至10个碳原子的烷基,具体而言为甲基。

[0169] 在本发明的一实施方式中, L_1 为单键、或具有11个碳原子的亚烷基、或具有12个碳原子的亚烷基。

[0170] 另外,在本发明的一实施方式中,结合单元包含:



[0172] 所述V为单键、-O-、-S-、 $-NR^{21}-$ 、 $-C(O)NR^{22}-$ 、 $-NR^{23}C(O)-$ 、 $-NR^{24}SO_2-$ 、或 $-SO_2NR^{25}-$;

[0173] R^{21} 至 R^{25} 独立地为氢、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷基 C_{6-20} 芳基、或 C_{1-6} 烷基 C_{3-20} 杂芳基;

[0174] r为1至10的整数;

[0175] p为0至10的整数;

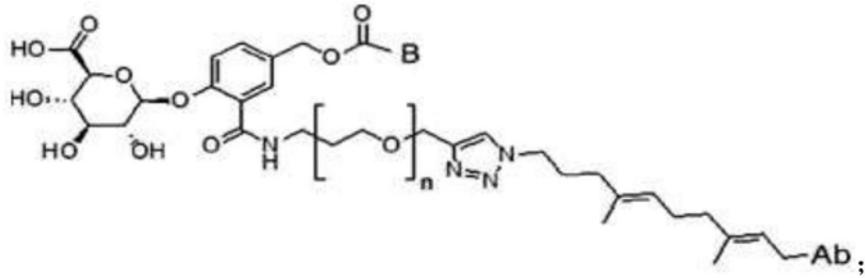
[0176] q为1至20的整数;且

[0177] L^1 为单键。

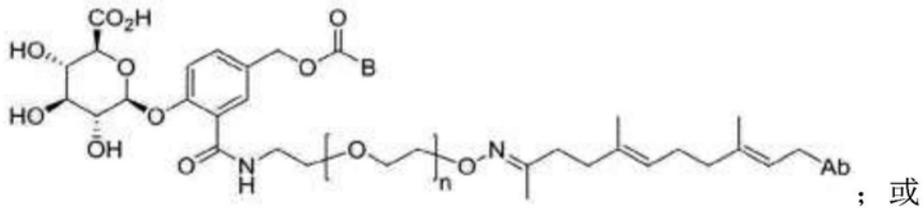
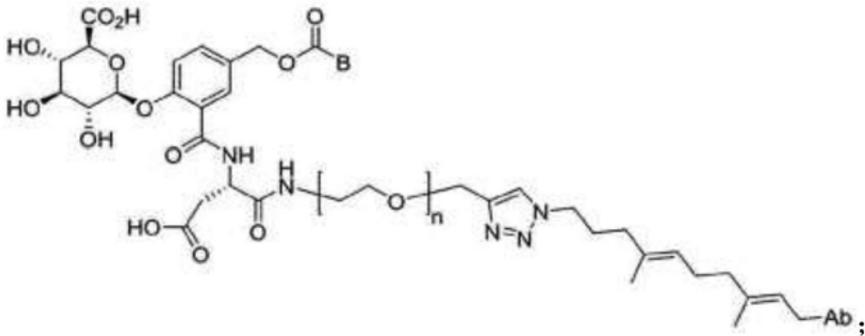
[0178] 在本发明的一实施方式中,所述r可为2或3。另外,p可为1或2。另外,q可为1至6。

[0179] 更具体而言,在所述结合单元中,r可为2或3,p可为1或2,q可为1至6。

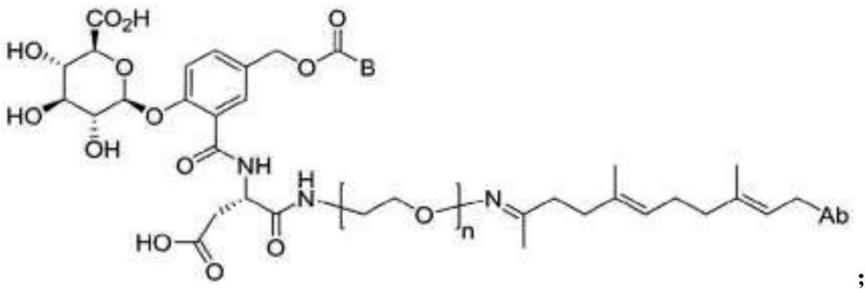
[0180] 另外,在本发明的一实施方式中,所述结合单元可为:



[0181]



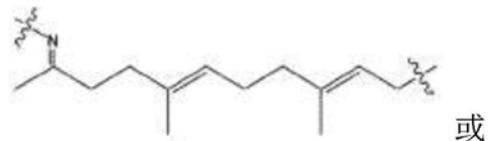
[0182]



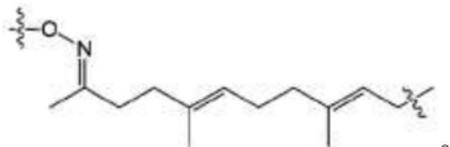
[0183] 其中，

[0184] Ab为与DLK1特异性地结合的抗体或所述抗体的抗原结合片段，B为活性剂，n为0至20的整数。

[0185] 在本发明的一实施方式中，分枝单元为



或



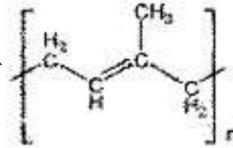
[0186] 在本发明的一实施方式中，连接子可包含具有脞的3至50个亚杂芳基，

[0187] 所述脞的氧原子位于与W连接的L的侧面，脞的碳原子位于与Ab连接的L的侧面；或者

[0188] 可为所述脞的碳原子位于与W连接的L的侧面，脞的氧原子位于与Ab连接的L的侧

面。

[0189] 在本发明的一实施方式中,连接子还可含有具有



一个以上的异戊二烯基单元,其中,n至少为2以上。

[0190] 在本发明的一实施方式中,至少一个异戊二烯基单元为类异戊二烯转移酶的基质或类异戊二烯转移酶的产物。

[0191] 在本发明的一实施方式中,连接子的异戊二烯基单元通过硫醚键与抗体共价键合,硫醚键包含抗体的半胱氨酸的硫原子。

[0192] 另外,异戊二烯基单元可使连接子所包含的脞共价键合到抗体。

[0193] 在本发明的一实施方式中,抗体包含由类异戊二烯转移酶识别的氨基酸基序,硫醚键包含氨基酸基序的半胱氨酸的硫原子。

[0194] 在本发明的一实施方式中,与DLK1结合的抗体或所述抗体的抗原结合片段包含由类异戊二烯转移酶识别的氨基酸基序,硫醚键包含氨基酸基序的半胱氨酸的硫原子。

[0195] 在本发明的一实施方式中,氨基酸基序为选自CXX、CXC、XCXC、XXCC及CYYX所组成的群中的序列,其中,C表示半胱氨酸,Y在各情况下独立地表示脂肪族氨基酸,X在各情况下独立地表示谷氨酰胺、谷氨酸、丝氨酸、半胱氨酸、甲硫氨酸、丙氨酸或亮氨酸,硫醚键包含氨基酸基序的半胱氨酸的硫原子。

[0196] 在本发明的一实施方式中,氨基酸基序为CYYX序列,Y在各情况下独立地为丙氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、甲硫氨酸或缬氨酸。

[0197] 在本发明的一实施方式中,氨基酸基序为CVIM或CVLL序列。

[0198] 在本发明的一实施方式中,氨基酸基序前面的1至10个氨基酸中的一个以上可分别独立地选自甘氨酸、精氨酸、冬氨酸及丝氨酸。例如,在本发明的一实施方式中,氨基酸基序前面的7个氨基酸中至少一个为甘氨酸。或者,氨基酸基序前面的7个氨基酸中的3个以上分别独立地选自甘氨酸、精氨酸、冬氨酸及丝氨酸。或者,氨基酸基序前面的1至10个氨基酸为甘氨酸,具体而言,氨基酸基序前面的至少1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个氨基酸为甘氨酸。

[0199] 在本发明的一实施方式中,抗体可包含GGGGGGCVIM的氨基酸序列。

[0200] 在本发明的一实施方式中,L包含共价键合在Ab的一个以上的分枝型连接子,

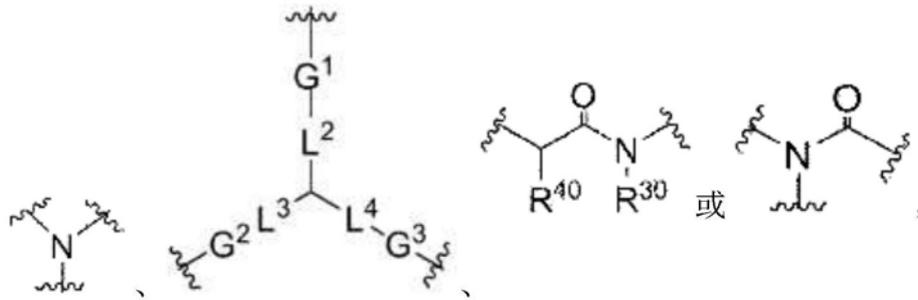
[0201] i) 各分枝型连接子包含通过主连接子(PL)共价键合在Ab的分枝单元(BR);

[0202] ii) 各分枝型连接子包含第一分枝(B1),所述第一分枝使第一活性剂结合到分枝单元且包含第二连接子(SL)及切割基团(CG);且

[0203] iii) 各分枝型连接子包含a) 第二活性剂通过第二连接子(SL)及切割基团(CG)共价键合在分枝单元的第二分枝(B2)、或b) 聚乙二醇部分共价键合在分枝单元的第二分枝;

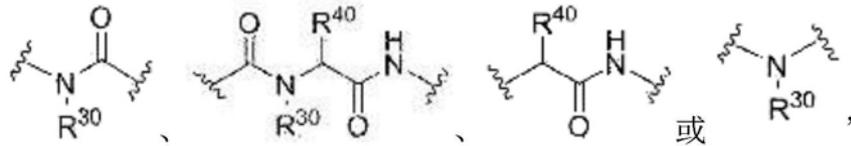
[0204] 所述各切割基团可以是为了从抗体偶联物释放活性剂而水解的切割基团。

[0205] 在本发明的一实施方式中,所述分枝型连接子为



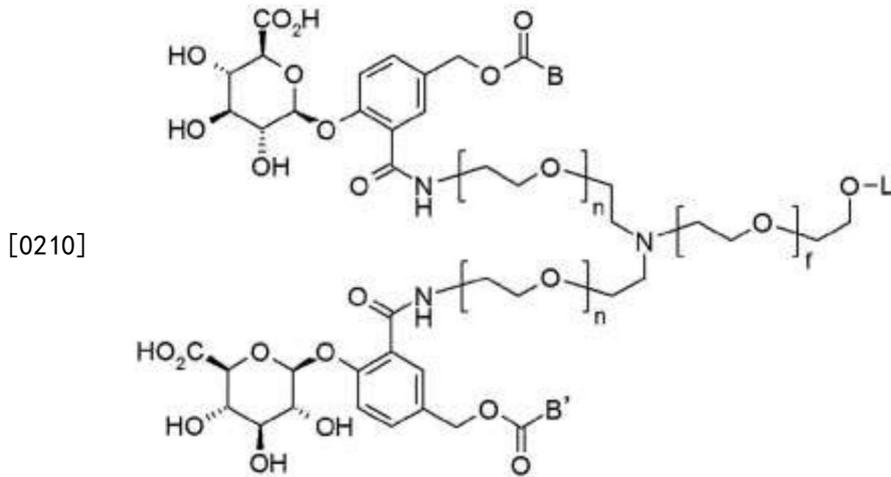
[0206] 所述 L^2 、 L^3 、 L^4 分别独立地为直接键或 $-C_nH_{2n}-$ ，所述n为1至30的整数，

[0207] 所述 G^1 、 G^2 、 G^3 独立地为直接键、



[0208] 所述 R^{30} 为氢或 C_{1-30} 烷基。

[0209] 更具体而言，分枝型连接子包含



[0211] 所述B及 B' 可表示相同或不同的活性剂；

[0212] n分别独立地表示0至30的整数；

[0213] f分别独立地表示0至30的整数；且

[0214] L表示针对Ab的键。

[0215] 在本发明的一实施方式中，所述n为1至20的整数，更具体而言为1至10的整数、或4至20的整数。

[0216] 在本发明的一实施方式中，L包含脞，至少一个聚乙二醇单元使脞共价键合到活性剂。

[0217] 在本发明的一实施方式中，所述切割基团可在靶细胞内切割，能够释放一个以上的活性剂。

[0218] 在本发明的一实施方式中，包含共价键合在Ab的一个以上的分枝型连接子，且包含共价键合在分枝型连接子的2个以上的活性剂。

[0219] 具体而言，1个分枝型连接子可与Ab结合。

[0220] 另外，可为2个以上的分枝型连接子与Ab结合，各分枝型连接子与2个以上的活性

剂结合。更具体而言,可为3个分枝型连接子与Ab结合。或者,可为4个分枝型连接子与Ab结合。

[0221] 在本发明的一实施方式中,各分枝型连接子与2个以上的相同或不同的活性剂结合。在本发明的一实施方式中,各活性剂通过能够切割的结合而与分枝型连接子结合。

[0222] 在本发明的一实施方式中,各分枝型连接子包含分枝型单元,各活性剂通过2次连接子与分枝型单元结合,所述分枝型单元通过1次连接子与抗体结合。

[0223] 在本发明的一实施方式中,所述分枝型单元可为氮原子。或者,可为所述分枝型单元为酰胺,1次连接子或2次连接子包含酰胺的羰基。或者,所述分枝型单元可为赖氨酸单元。

[0224] 在本发明的另一实施方式中,连接子可含有:

[0225] (a) 一个以上的分枝单元; (b) 一个以上的连接单元; (c) 一个以上的结合单元(binding unit, BU); 及 (d) 一个以上的触发单元(trigger unit, TU)。

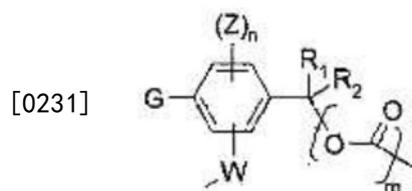
[0226] 其中,连接单元将触发单元与结合单元、触发单元与分枝单元、或分枝单元与结合单元连接,

[0227] 其中,一个以上的触发单元能够释放一个以上的药物或毒素,

[0228] 其中,分枝单元将连接单元与触发单元、或连接单元与其他连接单元连接。

[0229] 在本发明的一实施方式中,触发单元具有以下化学式(IIb)的结构:

[0230] [化学式(IIb)]



[0232] 在所述式中,

[0233] G为糖(sugar)、糖酸(sugar acid)、糖衍生物(sugar derivatives),

[0234] W为 $-C(O)-$ 、 $-C(O)NR'-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-S(O)_2NR'-$ 、 $-P(O)R''NR'-$ 、 $-S(O)NR'-$ 、或 $-PO_2NR'-$,

[0235] 在C(O)、S或P与苯环直接连接的情况下,R'及R''分别独立地为氢、(C₁~C₈)烷基、(C₃~C₈)环烷基、(C₁~C₈)烷氧基、(C₁~C₈)烷硫基、单或二-(C₁~C₈)烷基氨基、(C₃~C₂₀)杂芳基、或(C₆~C₂₀)芳基,W与连接单元或分枝单元连接,

[0236] 各Z分别独立地为氢、(C₁~C₈)烷基、卤素、氰基或硝基,

[0237] n为1至3的整数,

[0238] m为0或1,

[0239] R₁及R₂分别独立地为氢、(C₁~C₈)烷基或(C₃~C₈)环烷基,或者

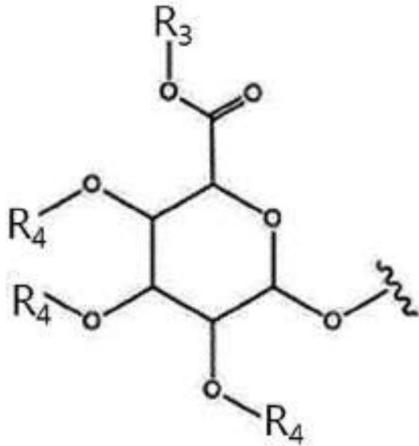
[0240] R₁及R₂与附着在其等上的碳原子一起形成(C₃~C₈)环烷基环。

[0241] 在本发明的一实施方式中,所述糖或糖酸为单糖。

[0242] 在本发明的一实施方式中,G为下述化学式(IIIa)结构的化合物:

[0243] [化学式(IIIa)]

[0244]



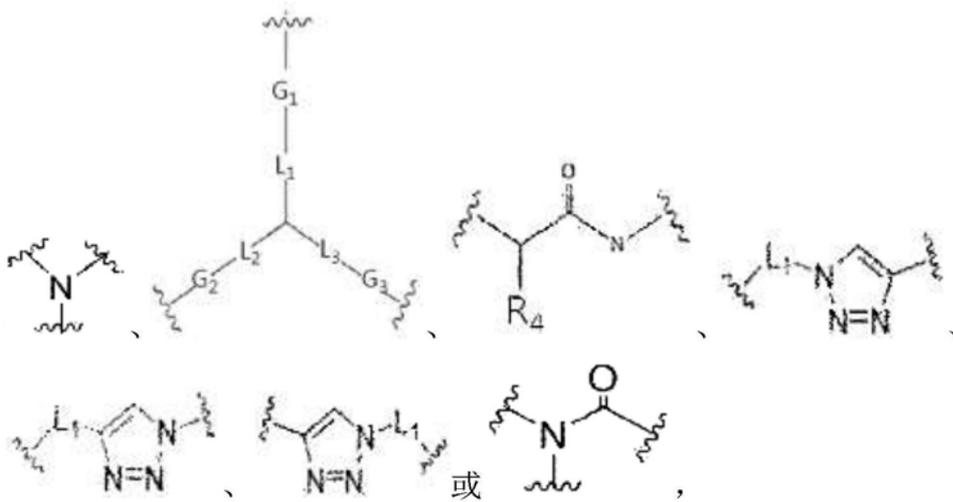
[0245] 其中，

[0246] R_3 为氢或羧基保护基团，[0247] 各 R_4 分别独立地为氢或羟基保护基团。[0248] 在本发明的一实施方式中， R_3 为氢，各 R_4 为氢。[0249] 在本发明的一实施方式中， W 为 $-C(O)NR'$ ，其中， $C(O)$ 与苯环连接， NR' 与连接单元连接。[0250] 在本发明的一实施方式中， Z 为氢。[0251] 在本发明的一实施方式中， R_1 及 R_2 分别为氢。[0252] 在本发明的一实施方式中，以 $-(CH_2)_r(V(CH_2)_p)_q-$ 、 $-((CH_2)_pV)_q-$ 、 $-(CH_2)_r(V(CH_2)_p)_qY-$ 、 $-((CH_2)_pV)_q(CH_2)_r-$ 、 $-Y((CH_2)_pV)_q-$ 或 $-(CH_2)_r(V(CH_2)_p)_qYCH_2-$ 表示连接单元，

[0253] 其中，

[0254] r 为0至10的整数；[0255] p 为1至10的整数；[0256] q 为1至20的整数；[0257] V 及 Y 分别独立地为单键、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-NR_{21}-$ 、 $-C(O)NR_{22}-$ 、 $-NR_{23}C(O)-$ 、 $-NR_{24}SO_2-$ 、或 $-SO_2NR_{25}-$ ；[0258] R_{21} 至 R_{25} 分别独立地为氢、 $(C_1\sim C_6)$ 烷基、 $(C_1\sim C_6)$ 烷基 $(C_6\sim C_{20})$ 芳基或 $(C_1\sim C_6)$ 烷基 $(C_3\sim C_{20})$ 杂芳基。[0259] 在本发明的一实施方式中， r 为2。[0260] 在本发明的一实施方式中， p 为2。[0261] 在本发明的一实施方式中， q 为6至20的整数。[0262] 在本发明的一实施方式中， q 为2、5或11。[0263] 在本发明的一实施方式中， V 及 Y 分别独立地为 $-O-$ 。

[0264] 所述连接单元为



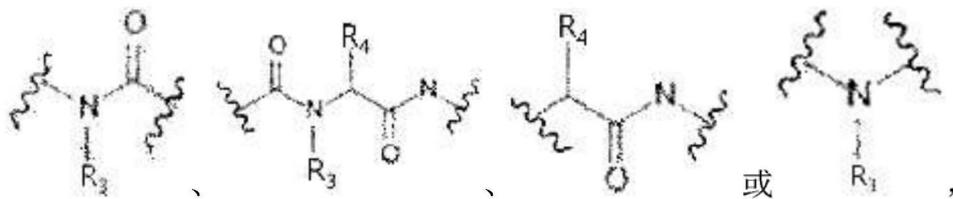
[0265] 其中，

[0266] L₁、L₂及L₃分别独立地为直接键 (direct bond) 或-C_nH_{2n}-，

[0267] 其中，n为1至30的整数，

[0268] 其中，

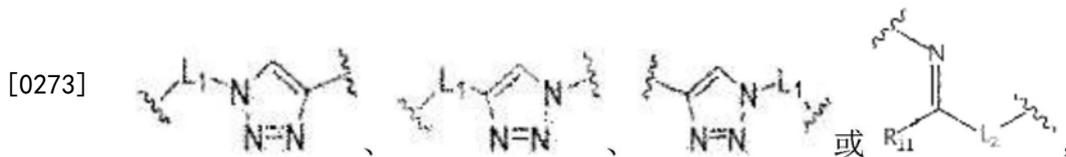
[0269] G₁、G₂、G₃分别独立地为直接键、



[0270] 其中，R₃为氢或C₁~C₃₀烷基，

[0271] 其中，R₄为氢或-L₄-COOR₅，其中，L₄为直接键或-C_nH_{2n}-，其中，n为1至10的整数，R₅为氢或C₁~C₃₀烷基。

[0272] 在本发明的一实施方式中，分枝单元为



[0274] 其中，L₁为直接键或具有1至30个碳原子的亚烷基，

[0275] R₁₁为氢或具有1至10个碳原子的烷基，具体而言为甲基，

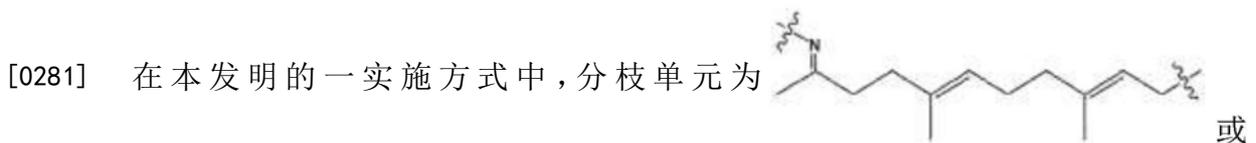
[0276] L₂为具有1至30个碳原子的亚烷基，

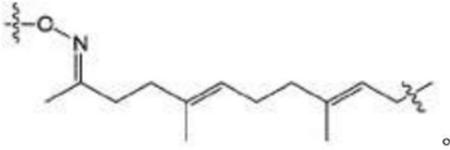
[0277] 其中，分枝单元将连接单元与抗体连接。

[0278] 在本发明的一实施方式中，L₁为具有12个碳原子的亚烷基。

[0279] 在本发明的一实施方式中，R₁₁为甲基。

[0280] 在本发明的一实施方式中，L₂为具有11个碳原子的亚烷基。





[0282] 在本发明的一实施方式中,结合单元通过硫醚键与抗体共价键合,硫醚键包含抗体的半胱氨酸的硫原子。

[0283] 在本发明的一实施方式中,抗体包含由类异戊二烯转移酶识别的氨基酸基序,硫醚键包含氨基酸基序的半胱氨酸的硫原子。

[0284] 在本发明的一实施方式中,氨基酸基序为选自CXX、CXC、XCXC、XXCC及CYYX所组成的群中的序列,其中,C表示半胱氨酸,Y在各情况下独立地表示脂肪族氨基酸,X在各情况下独立地表示谷氨酰胺、谷氨酸、丝氨酸、半胱氨酸、甲硫氨酸、丙氨酸或亮氨酸,硫醚键包含氨基酸基序的半胱氨酸的硫原子。

[0285] 在本发明的一实施方式中,氨基酸基序为CYYX序列,Y在各情况下独立地为丙氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、甲硫氨酸或缬氨酸。

[0286] 在本发明的一实施方式中,氨基酸基序为CVIM或CVLL序列。

[0287] 在本发明的一实施方式中,氨基酸基序前面的7个氨基酸中的至少一个为甘氨酸。

[0288] 在本发明的一实施方式中,氨基酸基序前面的7个氨基酸中的3个以上可分别独立地选自甘氨酸、精氨酸、冬氨酸及丝氨酸。

[0289] 在本发明的一实施方式中,氨基酸基序前面的1至10个氨基酸为甘氨酸,具体而言,氨基酸基序前面的至少1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个氨基酸为甘氨酸。

[0290] 在本发明的一实施方式中,抗体可包含GGGGGGCVIM的氨基酸序列。

[0291] 另外,在本发明的一实施方式中,活性剂可为化疗剂或毒素。

[0292] 另外,活性剂可为免疫调节化合物、抗癌剂、抗病毒剂、抗菌剂、抗真菌剂、抗寄生虫剂或其等的组合,可自以下所列出的活性剂中选择:

[0293] (a) 埃罗替尼(erlotinib)、硼替佐米(bortezomib)、氟维司群(fulvestrant)、索坦(sutent)、来曲唑(letrozole)、甲磺酸伊马替尼(imatinib mesylate)、PTK787/ZK222584、奥沙利铂(oxaliplatin)、5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil)、亚叶酸(leucovorin)、雷帕霉素(rapamycin)、拉帕替尼(lapatinib)、洛那法尼(lonafarnib)、索拉非尼(sorafenib)、吉非替尼(gefitinib)、AG1478、AG1571、噻替派(thiotepa)、环磷酰胺(cyclophosphamide)、白消安(busulfan)、英丙舒凡(improsulfan)、哌泊舒凡(piposulfan)、苯丙多巴(benzodopa)、卡波醌(carboquone)、美妥替哌(meturedopa)、乌瑞替派(uredopa)、乙烯亚胺(ethylenimine)、六甲嘧胺(altretamine)、三亚乙基蜜胺(triethylenemelamine)、三乙烯磷酰胺(triethylenephosphoramidate)、三亚乙基硫代磷酰胺(triethylenethiophosphoramidate)、三羟甲基蜜胺(trimethylolomelamine)、泡番荔枝辛(bullatacin)、泡番荔枝辛酮(bullatacinone)、喜树碱(camptothecin)、托泊替康(topotecan)、苔藓抑素(bryostatin)、卡丽丝汀(callystatin)、CC-1065、阿多来新(adozelesin)、卡折来新(carzelesin)、比折来新(bizelesin)、念珠藻素1(cryptophycin 1)、念珠藻素8(cryptophycin 8)、多拉司他汀(dolastatin)、倍癌霉素(duocarmycin)、KW-2189、CB1-TM1、软珊瑚醇(eleutherobin)、水鬼蕉碱(pancratistatin)、葡枝珊瑚醇

(sarcodictyin)、海绵抑制素(spongistatin)、苯丁酸氮芥(chlorambucil)、萘氮芥(chlornaphazine)、胆磷酰胺(cholophosphamide)、雌氮芥(estramustine)、异环磷酰胺(ifosfamide)、氮芥(mechlorethamine)、美法仑(melphalan)、新氮芥(novembichin)、胆甾醇苯乙酸氮芥(phenesterine)、松龙苯芥(prednimustine)、曲磷胺(trofosfamide)、尿嘧啶氮芥(uracil mustard)、亚硝基脲氮芥(carmustine)、氯脲菌素(chlorozotocin)、福莫司汀(fotemustine)、洛莫司汀(lomustine)、尼莫司汀(nimustine)、雷莫司汀(ranimustine)、卡奇霉素(calicheamicin)、卡奇霉素 γ 1(calicheamicin gamma 1)、卡奇霉素 ω 1(calicheamicin omega 1)、达内霉素(dynemicin)、达内霉素A(dynemicin A)、氯膦酸盐(clodronate)、埃斯培拉霉素(esperamicin)、新制癌菌素生色团(neocarzinostatin chromophore)、阿克拉霉素类(aclacinomysins)、放射菌素(actinomycin)、安替比林(antrmycin)、重氮丝氨酸(azaserine)、博来霉素(bleomycins)、放线菌素C(cactinomycin)、卡柔比星(carabycin)、洋红霉素(carninomycin)、嗜癌霉素(carzinophilin)、色霉素(chromomycins)、放线菌素D(dactinomycin)、道诺菌素(daunorubicin)、地托比星(detorubicin)、6-重氮-5-氧代-L-正亮氨酸(6-diazo-5-oxo-L-norleucine)、阿霉素(doxorubicin)、吗啉代-阿霉素(morpholino-doxorubicin)、氰基吗啉代-阿霉素(cyanomorpholino-doxorubicin)、2-吡咯烷子基-阿霉素(2-pyrrolino-doxorubicin)、脂质体阿霉素(liposomal doxorubicin)、去氧阿霉素(deoxydoxorubicin)、表柔比星(epirubicin)、依索比星(esorubicin)、麻西罗霉素(marcellomycin)、丝裂霉素C(mitomycin C)、霉酚酸(mycophenolic acid)、诺加霉素(nogalamycin)、橄榄霉素(olivomycins)、培洛霉素(peplomycin)、泊非霉素(potfiromycin)、嘌呤霉素(puromycin)、三铁阿霉素(quelamycin)、罗多比星(rodorubicin)、链黑菌素(streptomigrin)、链脲霉素(streptozocin)、杀结核菌素(tubercidin)、乌苯美司(ubenimex)、新制癌菌素(zinostatin)、佐柔比星(zorubicin)、5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil)、二甲叶酸(denopterin)、甲氨蝶呤(methotrexate)、蝶罗呤(pteropterin)、三甲曲沙(trimetrexate)、氟达拉滨(fludarabine)、6-巯基嘌呤(6-mercaptopurine)、硫咪嘌呤(thiamiprine)、硫鸟嘌呤(thiguanine)、盐酸环胞苷(ancitabine)、阿扎胞苷(azacitidine)、6-氮尿苷(6-azauridine)、卡莫氟(carmofur)、阿糖胞苷(cytarabine)、双脱氧尿苷(dideoxyuridine)、去氧氟尿苷(doxifluridine)、依诺他滨(enocitabine)、氟尿苷(floxuridine)、二甲睾酮(calusterone)、屈他雄酮(dromostanolone)、丙酸酯(propionate)、环硫雄醇(epitiostanol)、美雄烷(mepitiostane)、睾内酯(testolactone)、氨基鲁米特(aminoglutethimide)、米托坦(mitotane)、曲洛司坦(trilostane)、亚叶酸(folinic acid)、醋葡醛内酯(aceglatone)、醛磷酰胺糖苷(aldophosphamide glycoside)、氨基乙酰丙酸(aminolevulinic acid)、恩尿嘧啶(eniluracil)、安吡啶(amsacrine)、巴斯布西(bestrabucil)、比生群(bisantrene)、依达曲沙(edatraxate)、地磷酰胺(defofamine)、地美可辛(demecolcine)、地吡醌(diaziquone)、依氟鸟氨酸(elfornithine)、依利醋铵(elliptinium acetate)、依托格鲁(etoglucid)、硝酸镓(gallium nitrate)、羟基脲(hydroxyurea)、蘑菇多糖(lentinan)、氯尼达明(lonidainine)、美登素(maytansine)、安丝菌素(ansamitocins)、丙脒脞(mitoguazone)、米托蒽醌(mitoxantrone)、莫哌达醇(mopidanmol)、二胺硝吡啶

(nitraerine)、喷司他丁(pentostatin)、蛋氨酸芥(phenamet)、吡柔比星(pirarubicin)、洛索蒽醌(losoxantrone)、2-乙基酰肼(2-ethylhydrazide)、甲基苄肼(procarbazine)、云芝多糖-k(polysaccharide-k)、雷佐生(razoxane)、根霉素(rhizoxin)、西索菲兰(sizofiran)、锗螺胺(spirogermanium)、细交链孢菌酮酸(tenuazonic acid)、三亚胺醌(triaziquone)、2,2',2''-三氯三乙胺(2,2',2''-trichlorotriethylamine)、T-2毒素、黏液霉素A(verracurin A)、杆孢菌素A(roridin A)、蛇形菌素(anguidine)、乌拉坦(urethane)、长春地辛(vindesine)、达卡巴嗪(dacarbazine)、甘露醇氮芥(mannomustine)、二溴甘露醇(mitobronitol)、二溴卫矛醇(mitolactol)、溴丙哌嗪(pipobroman)、干胞嘧啶(gacytosine)、阿拉伯糖苷(arabinoside)、环磷酰胺(cyclophosphamide)、噻替派(thiotepa)、紫杉醇(paclitaxel)、紫杉醇、紫杉醇的白蛋白工程化纳米颗粒制剂(albumin-engineered nanoparticle formulation of paclitaxel)、多西紫杉醇、苯丁酸氮芥、吉西他滨、6-硫代鸟嘌呤、巯基嘌呤、顺铂、卡铂(carboplatin)、长春碱(vinblastine)、铂(platinum)、鬼臼乙叉甙(etoposide)、异环磷酰胺(ifosfamide)、米托蒽醌(mitoxantrone)、长春新碱、长春瑞滨(vinorelbine)、诺消灵(novantrone)、替尼泊苷(teniposide)、依达曲沙(edatrexate)、柔红霉素(daunomycin)、氨喋呤(aminopterin)、希罗达(xeloda)、伊拜膦酸盐(ibandronate)、CPT-11、拓扑异构酶抑制剂RFS 2000、二氟甲基鸟氨酸(difluoromethylornithine)、视黄酸(retinoic acid)、卡培他滨(capecitabine)、或所述物质的药学上可容许的盐、溶剂化物或酸；

[0294] (b) 单核因子(monokine)、淋巴因子(lympokine)、多肽激素(traditional polypeptide hormone)、甲状旁腺激素(parathyroid hormone)、甲状腺素(thyroxine)、松弛素(relaxin)、松弛素原(prorelaxin)、糖蛋白激素(glycoprotein hormone)、促卵泡激素(follicle stimulating hormone)、促甲状腺激素(thyroid stimulating hormone)、黄体化激素(luteinizing hormone)、肝细胞生长因子成纤维细胞生长因子(hepatic growth factor fibroblast growth factor)、催乳素(prolactin)、胎盘催乳素(placental lactogen)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α)、肿瘤坏死因子- β 、苗勒氏管抑制物质(mullerian-inhibiting substance)、小鼠促性腺激素相关肽(mouse gonadotropin-associated peptide)、抑制素(inhibin)、活化素(activin)、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor)、血小板生成素(thrombopoietin)、促红细胞生成素(erythropoietin)、成骨诱导因子(osteoinductive factor)、干扰素、干扰素- α 、干扰素- β 、干扰素- γ 、集落刺激因子(colony stimulating factor,CSF)、巨噬细胞-CSF、粒细胞-巨噬细胞-CSF(granulocyte-macrophage-CSF)、粒细胞-CSF、白细胞介素(IL)、IL-1、IL-1 α 、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-9、IL-10、IL-11、IL-12、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor)、TNF- α 、TNF- β 、多肽因子、LIF(Leukemia Inhibitory Factor,白血病抑制因子)、试剂盒配体(kit ligand)、或其等的调配物；

[0295] (c) 白喉毒素、肉毒杆菌毒素、破伤风毒素、痢疾毒素、霍乱毒素、鹅膏素、 α -鹅膏素、吡咯开苯并吡庚三烯、吡咯开苯并吡庚三烯衍生物、河豚毒素、裸藻毒素(brevetoxin)、雪卡毒素(ciguatoxin)、蓖麻毒蛋白(ricin)、AM毒素、澳瑞他汀(auristatin)、微管蛋白裂解素(tubulysin)、格尔德霉素(geldanamycin)、美登素(maytansinoid)、卡奇霉素(calicheamycin)、柔红霉素(daunomycin)、阿霉素(doxorubicin)、甲氨蝶呤

(methotrexate)、长春地辛(vindesine)、SG2285、多拉司他汀(dolastatin)、多拉司他汀类似物(dolastatin analog)、澳瑞他汀(auristatin)、念珠藻素(cryptophycin)、喜树碱(camptothecin)、根霉素(rhizoxin)、根霉素衍生物(rhizoxin derivatives)、CC-1065、CC-1065、类似物或衍生物、倍癌霉素(duocarmycin)、烯二炔抗生素(enediyne antibiotic)、埃斯培拉霉素(esperamicin)、埃博霉素(epothilone)、类毒素(toxoid)、或其等的调配物；

[0296] (d) 亲和性配体(affinity ligand), 其中, 亲和性配体为基质、抑制剂、活化剂、神经传递物质、放射性同位元素或其等的调配物；

[0297] (e) 放射性标记(radioactive label)、³²P、³⁵S、荧光染料、电子致密试剂(electron dense reagent)、酶、生物素、链霉抗生物素蛋白(streptavidin)、二氧胍基(dioxigenin)、半抗原(hapten)、免疫原性蛋白(immunogenic protein)、具有靶向互补序列的核酸分子(nucleic acid molecule with a sequence complementary to a target)或其等的调配物；

[0298] (f) 免疫调节化合物(immunomodulatory compound)、抗癌剂(anti-cancer agent)、抗病毒剂(anti-viral agent)、抗菌剂(anti-bacterial agent)、抗真菌剂(anti-fungal agent)、及抗寄生虫剂(anti-parasitic agent)、或其等的调配物；

[0299] (g) 他莫昔芬(tamoxifen)、雷洛昔芬(raloxifene)、屈洛昔芬(droloxifene)、4-羟基他莫昔芬(4-hydroxytamoxifen)、曲沃昔芬(trioxifene)、那洛昔芬(keoxifene)、LY117018、奥那司酮(onapristone)或托瑞米芬(toremifene)；

[0300] (h) 4(5)-咪唑、氨基米特(aminoglutethimide)、醋酸甲地孕酮(megestrol acetate)、依西美坦(exemestane)、来曲唑(letrozole) Ehsms阿那曲唑(anastrozole)

[0301] (i) 氟他胺(flutamide)、尼鲁米特(nilutamide)、比卡鲁胺(bicalutamide)、亮丙瑞林(leuprolide)、戈舍瑞林(goserelin)、或曲沙他滨(troxacitabine)；

[0302] (j) 芳香酶抑制剂；

[0303] (k) 蛋白激酶抑制剂；

[0304] (l) 脂质激酶抑制剂；

[0305] (m) 反义寡核苷酸；

[0306] (n) 核酶；

[0307] (o) 疫苗；及

[0308] (p) 抗血管生成剂(anti-angiogenic agent)。

[0309] 在本发明的另一实施方式中, 提供一种抗体-药物偶联物或其药学上可容许的盐或溶剂化物在制造用以预防或治疗增殖、癌症或血管新生疾病的药剂中的用途。

[0310] 在本发明的另一实施方式中, 提供一种将药学组合物给药给个体来预防或治疗增殖、癌症或血管新生疾病的方法, 所述药学组合物将抗体-药物偶联物或其药学上可容许的盐或溶剂化物包含作有效成分, 用于预防或治疗增殖、癌症或血管新生疾病, 此时, 还提供一种调配一种以上的抗增殖、细胞抑制性或细胞毒性物质并给药的方法。

[0311] 在本发明的另一实施方式中, 提供一种以下通式Ia的抗体-药物偶联物：

[0312] [通式Ia]

[0313] Ab-(Linker-D)_n

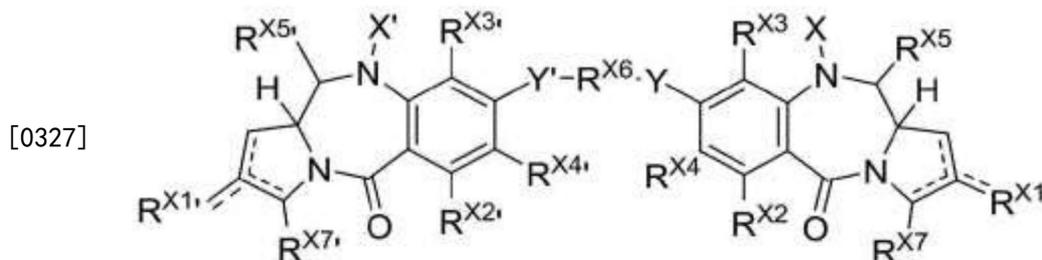
- [0314] 在所述式中，
- [0315] Ab为抗DLK1抗体，
- [0316] Linker为连接子，
- [0317] D作为活性剂，其是吡咯开苯并吡庚三烯二聚体，
- [0318] 连接子与抗体通过所述吡咯开苯并吡庚三烯二聚体的N10或N10'位置连接。
- [0319] 在吡咯开苯并吡庚三烯二聚体的N10及N'10位置分别独立地附着选自自由-C(O)O*、-S(O)O*、-C(O)*、-C(O)NR*、-S(O)₂NR*、-P(O)R'NR*、-S(O)NR*及-PO₂NR*基团所组成的群中的任一基团，
- [0320] 其中,*为附着连接子的部分，
- [0321] 其中,R及R'分别独立地为H、OH、N₃、CN、NO₂、SH、NH₂、ONH₂、NHNH₂、卤素、经取代或未经取代的C₁₋₈烷基、经取代或未经取代的C₃₋₈环烷基、经取代或未经取代的C₁₋₈烷氧基、经取代或未经取代的C₁₋₈烷硫基、经取代或未经取代的C₃₋₂₀杂芳基、经取代或未经取代的C₅₋₂₀芳基或单或二-C₁₋₈烷基氨基，
- [0322] 其中,在C₁₋₈烷基、C₃₋₈环烷基、C₁₋₈烷氧基、C₁₋₈烷硫基、C₃₋₂₀杂芳基、C₅₋₂₀芳基经取代的情况下,经选自自由H、OH、N₃、CN、NO₂、SH、NH₂、ONH₂、NHNH₂、卤素、C₁₋₆烷基、C₁₋₆烷氧基及C₆₋₁₂芳基所组成的群中的取代基取代的吡咯开苯并吡庚三烯二聚体的前驱物(pyrrolobenzodiazepine dimer prodrug)、其药学上可容许的盐或溶剂化物可用作活性剂。

[0323] 在本发明的一实施方式中,提供一种吡咯开苯并吡庚三烯二聚体的前驱物。在以本发明的前驱物形态给药的情况下,在暴露在血液中时,需通过另外的反应转化成有效的药物,因此能够将连接子意外分解时产生的副作用防患于未然,在对正常细胞的毒性减少、药物更加稳定的方面而言,具有优于现有的PBD(Pyrrolo Benzo Diazepine,吡咯并苯并二氮杂)药物的优点。

[0324] 另外,在制造抗体-药物偶联物时,通过现有方法制造的抗体-药物偶联物存在杂质含量较高,所暴露的亚胺基团受到亲核体(nucleophile)的攻击而生成未期望的结构的药物的担忧,与此相反,通过本发明的方法制造的抗体-药物偶联物具有纯度较高而容易分离优点,与现有的PBD或PBD二聚体相比,物性进一步提高。

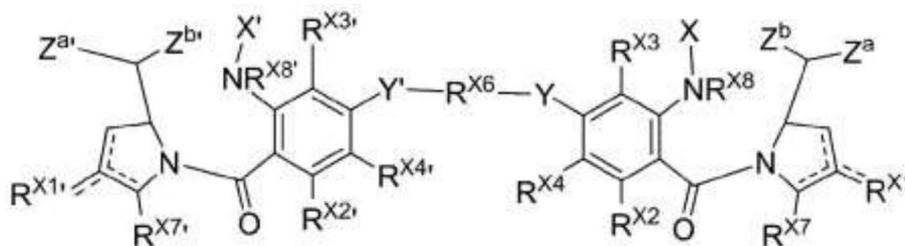
[0325] 在本发明的一实施方式中,吡咯开苯并吡庚三烯二聚体的前驱物为特征在于具有下述通式X或通式XI的结构吡咯开苯并吡庚三烯二聚体的前驱物、其药学上可容许的盐或溶剂化物:

[0326] [通式X]



[0328] [通式XI]

[0329]



[0330] 在所述式中，

[0331] 所述虚线表示在C1与C2之间、C2与C3之间、C'1与C'2之间、或C'2与C'3之间选择性地存在双键；

[0332] R^{X1} 及 $R^{X1'}$ 独立地选自H、OH、=O、=CH₂、CN、R^m、OR^m、=CH-R^m、=C(R^m)₂、O-SO₂-R^m、CO₂R^m、COR^m、卤素及二卤素；[0333] R^m选自R^m、CO₂R^m、COR^m、CHO、CO₂H及卤素；[0334] 各R_m独立地选自自由C₁₋₁₂烷基、C₂₋₁₂烯基、C₂₋₁₂炔基、C₅₋₂₀芳基、C₅₋₂₀杂芳基、C₃₋₆环烷基、3至7元杂环基、3至7元杂环烷基、及5至7元杂芳基所组成的群；[0335] R^{X2} 、 $R^{X2'}$ 、 R^{X3} 、 $R^{X3'}$ 、 R^{X5} 及 $R^{X5'}$ 独立地选自H、R^m、OH、OR^m、SH、SR^m、NH₂、NHR^m、NR^m₂、NO₂、Me₃Sn及卤素；[0336] R^{X4} 及 $R^{X4'}$ 独立地选自H、R^m、OH、OR^m、SH、SR^m、NH₂、NHR^m、NR^m₂、NO₂、Me₃Sn、卤素、C₁₋₆烷基C₁₋₆烷氧基、C₂₋₆烯基、C₂₋₆炔基、C₃₋₆环烷基、3至7元杂环烷基、C₅₋₁₂芳基、5至7元杂芳基、-CN、-NCO、-ORⁿ、-OC(O)Rⁿ、-OC(O)NRⁿRⁿ、-OS(O)Rⁿ、-OS(O)₂Rⁿ、-SRⁿ、-S(O)Rⁿ、-S(O)₂Rⁿ、-S(O)NRⁿRⁿ、-S(O)₂NRⁿRⁿ、-OS(O)NRⁿRⁿ、-OS(O)₂NRⁿRⁿ、-NRⁿRⁿ、-NRⁿC(O)R^o、-NRⁿC(O)OR^o、-NRⁿC(O)NR^oR^o、-NRⁿS(O)R^o、-NRⁿS(O)₂R^o、-NRⁿS(O)NR^oR^o、-NRⁿS(O)₂NR^oR^o、-C(O)Rⁿ、-C(O)ORⁿ及-C(O)NRⁿRⁿ；[0337] R^X 及 $R^{X'}$ 独立地选自H、OH、N₃、CN、NO₂、SH、NH₂、ONH₂、NHNH₂、卤素、C₁₋₈烷基、C₃₋₈环烷基、C₁₋₈烷氧基、C₁₋₈烷硫基、C₃₋₂₀杂芳基、C₅₋₂₀芳基或单或二(di)-C₁₋₈烷基氨基；

[0338] Y及Y'独立地选自O、S及N(H)；

[0339] R^{X6} 独立地选自C₃₋₁₂亚烷基、C₃₋₁₂亚烯基、或C₃₋₁₂亚杂芳基；[0340] R^{X7} 及 $R^{X7'}$ 独立地选自H、C₁₋₆烷基、C₂₋₆烯基、C₂₋₆炔基、C₃₋₆环烷基、3至7元杂环烷基、C₆₋₁₀芳基、5至7元杂芳基、-OR^r、-OC(O)R^r、-OC(O)NR^rR^r、-OS(O)R^r、-OS(O)₂R^r、-SR^r、-S(O)R^r、-S(O)₂R^r、-S(O)NR^rR^r、-S(O)₂NR^rR^r、-OS(O)NR^rR^r、-OS(O)₂NR^rR^r、-NR^rR^r、-NR^rC(O)R^s、-NR^rC(O)OR^s、-NR^rC(O)NR^sR^s、-NR^rS(O)R^s、-NR^rS(O)₂R^s、-NR^rS(O)NR^sR^s、-NR^rS(O)₂NR^sR^s、-C(O)R^r、-C(O)OR^s或-C(O)NR^rR^r；[0341] 各R^r、R^{r'}、R^s及R^{s'}独立地选自H、C₁₋₇烷基、C₂₋₇烯基、C₂₋₇炔基、C₃₋₁₃环烷基、3至7元杂环烷基、C₅₋₁₀芳基、及5至7元杂芳基；[0342] 各R^{X8}及R^{X8'}独立地选自H、C₁₋₆烷基、C₂₋₆烯基、C₂₋₆炔基、C₃₋₆杂烷基、3至7元杂环烷基、C₅₋₁₀芳基、5至7元杂芳基、-S(O)R^m、-S(O)₂R^m、-S(O)NR^mR^m、-S(O)₂NR^mR^m、-NR^mR^m、-NR^mC(O)R^m、-NR^mC(O)ORⁿ、-NR^mC(O)NRⁿRⁿ、-NR^mS(O)Rⁿ、-NR^mS(O)₂Rⁿ、-NR^mS(O)NRⁿRⁿ、-NR^mS(O)₂NRⁿRⁿ、-C(O)R^m、-C(O)OR^m及-C(O)NR^mR^m；[0343] Z^a选自OR^{X12a}、NR^{X12a}R^{X12a}、或SR^{X12a}；[0344] Z^b选自OR^{X13a}、NR^{X13a}R^{X13a}、或SR^{X13a}；

[0345] Z^a 选自 OR^{X12a} 、 $NR^{X12a}R^{X12a}$ 、或 rSR^{X12a} ;

[0346] Z^b 选自 OR^{X13a} 、 $NR^{X13}R^{X13a}$ 、或 SR^{X13a} ;

[0347] 各 R^{X12a} 、 $R^{X12a'}$ 、 R^{X13a} 及 $R^{X13a'}$ 独立地选自 H、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{3-6} 环烷基、3 至 7 元杂环烷基、 C_{5-10} 芳基、5 至 7 元杂芳基、 $-C(O)R^{X15a}$ 、 $-C(O)OR^{X15a}$ 及 $-C(O)NR^{X15a}R^{X15a'}$;
且

[0348] 各 R^{X15a} 及 $R^{X15a'}$ 独立地选自 C_{1-12} 烷基、 C_{2-12} 烯基、 C_{2-12} 炔基、 C_{5-20} 芳基、 C_{5-20} 杂芳基、 C_{3-6} 环烷基、3 至 7 元杂环基、3 至 7 元杂环烷基、及 5 至 7 元杂芳基;

[0349] 所述 R^{X13a} 及 R^{X14a} 与附着在其等上的原子任意地结合而一起形成 3 至 7 元杂环基、3 至 7 元杂环烷基、或 3 至 7 元杂芳基, 且 $R^{X13a'}$ 及 $R^{X14a'}$ 与附着在其等上的原子任意地结合而一起形成 3 至 7 元杂环基、3 至 7 元杂环烷基、或 3 至 7 元杂芳基; 且

[0350] 所述各 R^n 、 $R^{n'}$ 、 R^o 、 $R^{o'}$ 、 R^p 、及 $R^{p'}$ 独立地选自 H、 C_{1-7} 烷基、 C_{2-7} 烯基、 C_{2-7} 炔基、 C_{3-13} 环烷基、3 至 7 元杂环烷基、 C_{5-10} 芳基、及 5 至 7 元杂芳基。

[0351] 另外, 所述 R^m 独立地为选自由 C_{1-12} 烷基、 C_{2-12} 烯基、 C_{2-12} 炔基、 C_{5-20} 芳基、 C_{5-20} 杂芳基、 C_{3-6} 环烷基、3 至 7 元杂环基、3 至 7 元杂环烷基、及 5 至 7 元杂芳基所组成的群,

[0352] 所述 R^m 进一步经 C_{1-12} 烷基、 C_{2-12} 烯基、 C_{2-12} 炔基、 C_{5-20} 芳基、 C_{5-20} 杂芳基、 C_{3-6} 环烷基、3 至 7 元杂环基、3 至 7 元杂环烷基、或 5 至 7 元杂芳基取代。

[0353] 另外, 所述 R^{X4} 及 $R^{X4'}$ 独立地选自 H、 R^m 、OH、 OR^m 、SH、 SR^m 、 NH_2 、 NHR^m 、 NR^mR^m 、 NO_2 、 Me_3Sn 、卤素、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{3-6} 环烷基、3 至 7 元杂环烷基、 C_{5-12} 芳基、5 至 7 元杂芳基、 $-CN$ 、 $-NCO$ 、 $-OR^n$ 、 $-OC(O)R^n$ 、 $-OC(O)NR^nR^n$ 、 $-OS(O)R^n$ 、 $-OS(O)_2R^n$ 、 $-SR^n$ 、 $-S(O)R^n$ 、 $-S(O)_2R^n$ 、 $-S(O)NR^nR^n$ 、 $-S(O)_2NR^nR^n$ 、 $-OS(O)NR^nR^n$ 、 $-OS(O)_2NR^nR^n$ 、 $-NR^nR^n$ 、 $-NR^nC(O)R^o$ 、 $-NR^nC(O)OR^o$ 、 $-NR^nC(O)NR^oR^o$ 、 $-NR^nS(O)R^o$ 、 $-NR^nS(O)_2R^o$ 、 $-NR^nS(O)NR^oR^o$ 、 $-NR^nS(O)_2NR^oR^o$ 、 $-C(O)R^n$ 、 $-C(O)OR^n$ 及 $-C(O)NR^nR^n$;

[0354] 所述 R^{X4} 或 $R^{X4'}$ 为 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{3-6} 环烷基、3 至 7 元杂环烷基、 C_{5-12} 芳基或 5 至 7 元杂芳基, 进一步经一个以上的 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{3-6} 环烷基、3 至 7 元杂环烷基、 C_{5-10} 芳基、5 至 7 元杂芳基、 $-OR^p$ 、 $-OC(O)R^p$ 、 $-OC(O)NR^pR^p$ 、 $-OS(O)R^p$ 、 $-OS(O)_2R^p$ 、 $-SR^p$ 、 $-S(O)R^p$ 、 $-S(O)_2R^p$ 、 $-S(O)NR^pR^p$ 、 $-S(O)_2NR^pR^p$ 、 $-OS(O)NR^pR^p$ 、 $-OS(O)_2NR^pR^p$ 、 $-NR^pR^p$ 、 $-NR^pC(O)R^q$ 、 $-NR^pC(O)OR^q$ 、 $-NR^pC(O)NR^qR^q$ 、 $-NR^pS(O)R^q$ 、 $-NR^pS(O)_2R^q$ 、 $-NR^pS(O)NR^qR^q$ 、 $-NR^pS(O)_2NR^qR^q$ 、 $-C(O)R^p$ 、 $-C(O)OR^p$ 或 $-C(O)NR^pR^p$ 取代。

[0355] 另外, 所述 R^{X7} 及 $R^{X7'}$ 独立地选自 H、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{3-6} 环烷基、3 至 7 元杂环烷基、 C_{6-10} 芳基、5 至 7 元杂芳基、 $-OR^r$ 、 $-OC(O)R^r$ 、 $-OC(O)NR^rR^r$ 、 $-OS(O)R^r$ 、 $-OS(O)_2R^r$ 、 $-SR^r$ 、 $-S(O)R^r$ 、 $-S(O)_2R^r$ 、 $-S(O)NR^rR^r$ 、 $-S(O)_2NR^rR^r$ 、 $-OS(O)NR^rR^r$ 、 $-OS(O)_2NR^rR^r$ 、 $-NR^rR^r$ 、 $-NR^rC(O)R^s$ 、 $-NR^rC(O)OR^s$ 、 $-NR^rC(O)NR^sR^s$ 、 $-NR^rS(O)R^s$ 、 $-NR^rS(O)_2R^s$ 、 $-NR^rS(O)NR^sR^s$ 、 $-NR^rS(O)_2NR^sR^s$ 、 $-C(O)R^r$ 、 $-C(O)OR^r$ 或 $-C(O)NR^rR^r$;

[0356] 所述 R^{X7} 或 $R^{X7'}$ 为 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{3-6} 环烷基、3 至 7 元杂环烷基、 C_{6-10} 芳基、5 至 7 元杂芳基, 进一步经 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{3-6} 环烷基、3 至 7 元杂环烷基、 C_{6-10} 芳基、5 至 7 元杂芳基、 $-OR^t$ 、 $-OC(O)R^t$ 、 $-OC(O)NR^tR^t$ 、 $-OS(O)R^t$ 、 $-OS(O)_2R^t$ 、 $-SR^t$ 、 $-S(O)R^t$ 、 $-S(O)_2R^t$ 、 $-S(O)NR^tR^t$ 、 $-S(O)_2NR^tR^t$ 、 $-OS(O)NR^tR^t$ 、 $-OS(O)_2NR^tR^t$ 、 $-NR^tR^t$ 、 $-NR^tC(O)R^u$ 、 $-NR^tC(O)OR^u$ 、 $-NR^tC(O)NR^uR^u$ 、 $-NR^tS(O)R^u$ 、 $-NR^tS(O)_2R^u$ 、 $-NR^tS(O)NR^uR^u$ 、 $-NR^tS(O)_2NR^uR^u$ 、 $-C(O)R^t$ 、 $-C(O)OR^t$ 或 $-C(O)NR^tR^t$ 取代,

[0357] 所述 R^r 、 $R^{r'}$ 、 R^s 、 $R^{s'}$ 、 R^t 、 $R^{t'}$ 、 R^u 及 $R^{u'}$ 独立地选自H、 C_{1-7} 烷基、 C_{2-7} 烯基、 C_{2-7} 炔基、 C_{3-13} 环烷基、3至7元杂环烷基、 C_{5-10} 芳基、及5至7元杂芳基。

[0358] 另外,所述 R^{X1} 及 $R^{X1'}$ 独立地选自 R^m ;且

[0359] R^m 选自 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{5-7} 芳基及 C_{3-6} 杂芳基。

[0360] 另外,所述 R^{X2} 、 $R^{X2'}$ 、 R^{X3} 、 $R^{X3'}$ 、 R^{X5} 、及 $R^{X5'}$ 独立地选自H或OH。

[0361] 另外, R^{X4} 及 $R^{X4'}$ 独立地选自 R^m ;且

[0362] R^m 为 C_{1-6} 烷氧基。

[0363] 另外,所述 R^{X4} 及 $R^{X4'}$ 独立地为选自自由甲氧基、乙氧基及丁氧基所组成的群中的任一个。

[0364] 另外,所述Y及Y'为0。

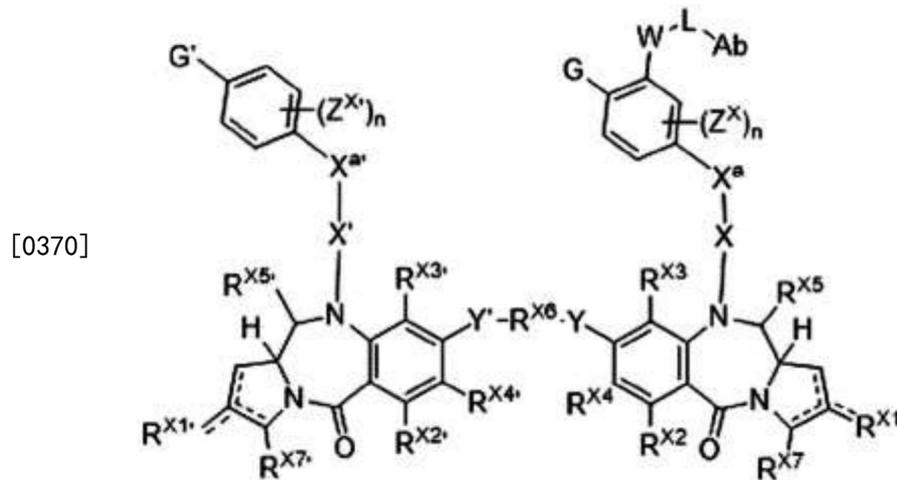
[0365] 另外,所述 R^{X6} 为 C_{3-12} 亚烷基、 C_{3-12} 亚烯基或 C_{3-12} 亚杂芳基,所述 R^{X6} 经 $-NH_2$ 、 $-NHR^m$ 、 $-NHC(O)R^m$ 、 $-NHC(O)CH_2-[OCH_2CH_2]_n-R^{XX}$ 、或 $-[CH_2CH_2O]_n-R^{XX}$ 取代;

[0366] 所述 R^{XX} 为H、OH、 N_3 、CN、 NO_2 、SH、 NH_2 、 ONH_2 、 $NHNH_2$ 、卤素、 C_{1-8} 烷基、 C_{3-8} 环烷基、 C_{1-8} 烷氧基、 C_{1-8} 烷硫基、 C_{3-20} 杂芳基、 C_{5-20} 芳基或单或二- C_{1-8} 烷基氨基;且

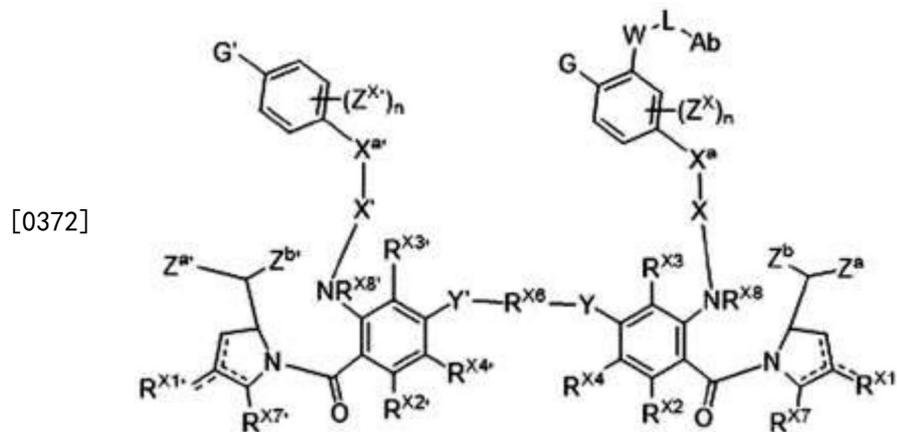
[0367] n为1至6的整数。

[0368] 另外,在本发明的一实施方式中,所述活性剂为通式XII或通式XIII所表示的吡咯开苯并吡庚三烯二聚体:

[0369] [通式XII]

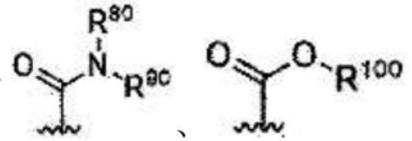


[0371] [通式XIII]



[0373] 所述X^a及X^{a'}独立地选自键或C₁₋₆亚烷基;

[0374] Z^{x'}及Z^x独立地选自氢、C₁₋₈烷基、卤素、氰基、硝基、

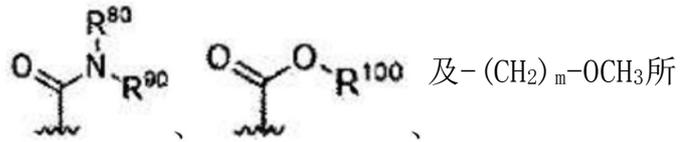


或-(CH₂)_m-OCH₃;

[0375] 各R⁸⁰、R⁹⁰及R¹⁰⁰选自氢、C₁₋₈烷基、C₂₋₆烯基、及C₁₋₆烷氧基;且

[0376] m为0至12的整数。

[0377] 所述Z^{x'}及Z^x独立地为选自由氢、

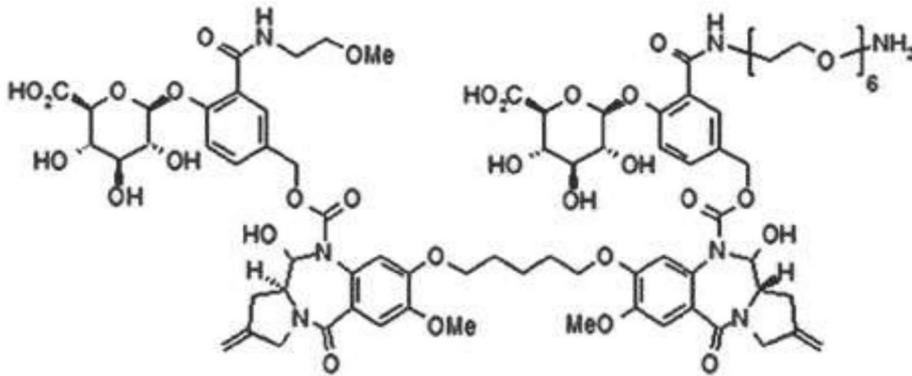


组成的群中的任一个,

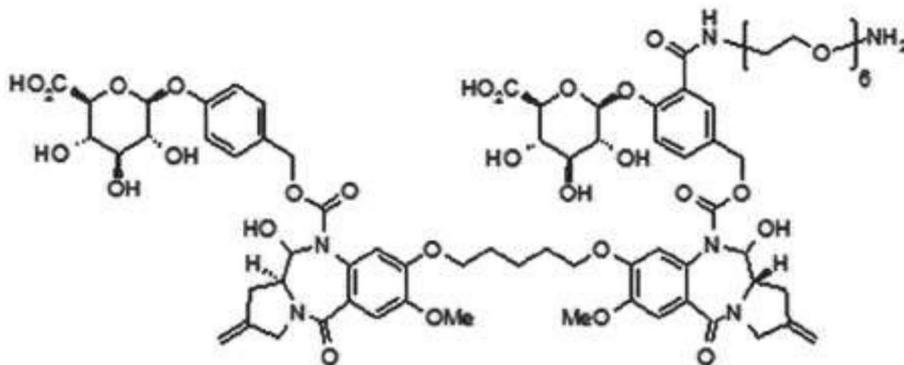
[0378] 所述各R⁸⁰、R⁹⁰及R¹⁰⁰为选自由氢、C₁₋₃烷基及C₁₋₃烷氧基所组成的群中的任一个,

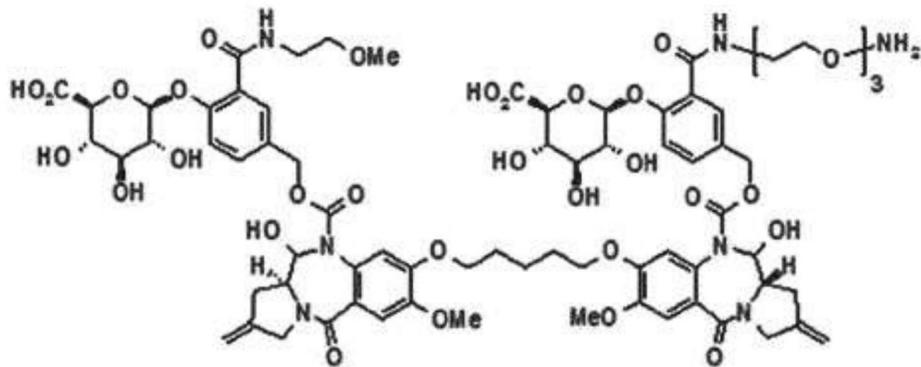
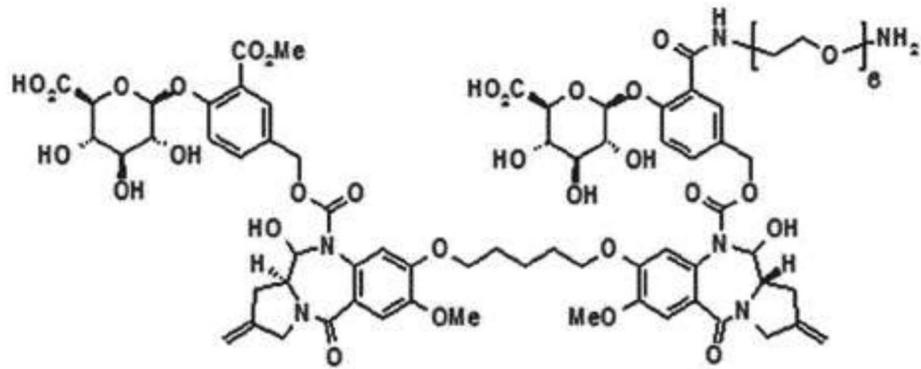
[0379] m为1至6的整数,

[0380] 所述活性剂为选自由

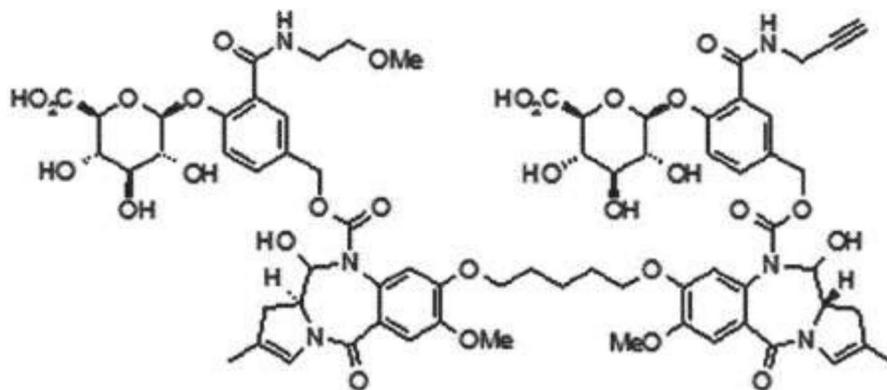
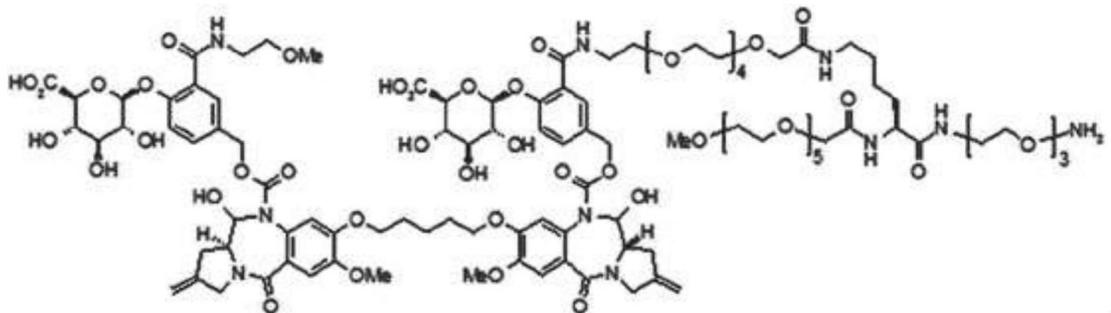


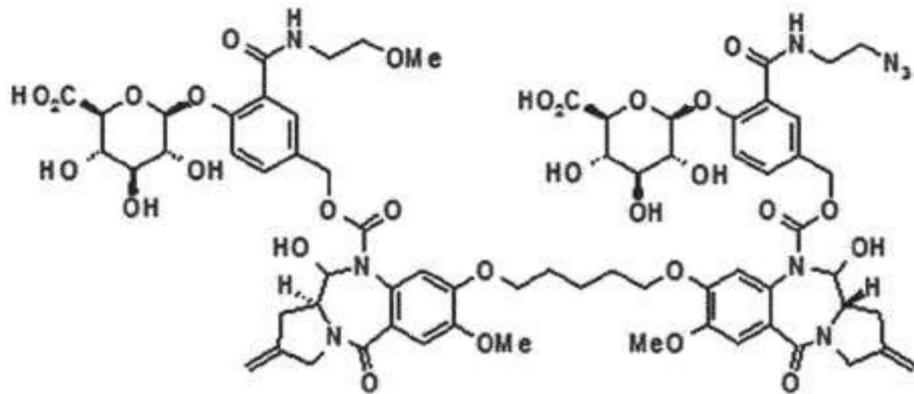
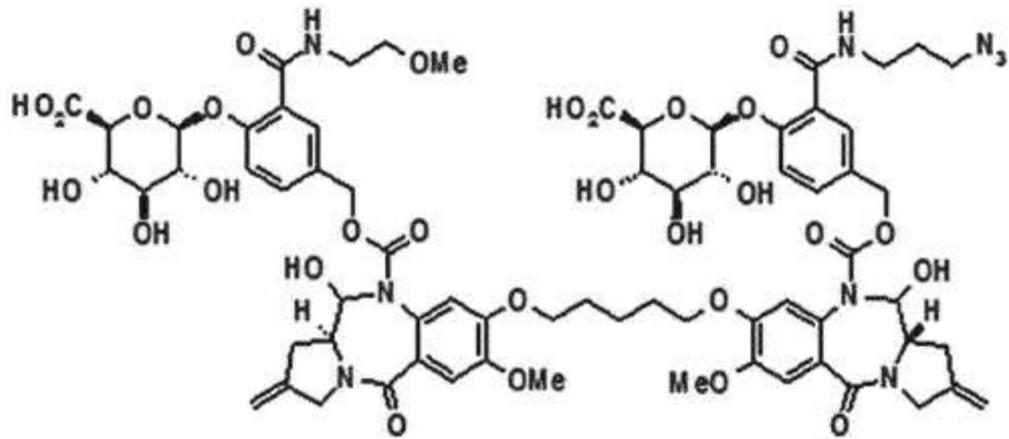
[0381]



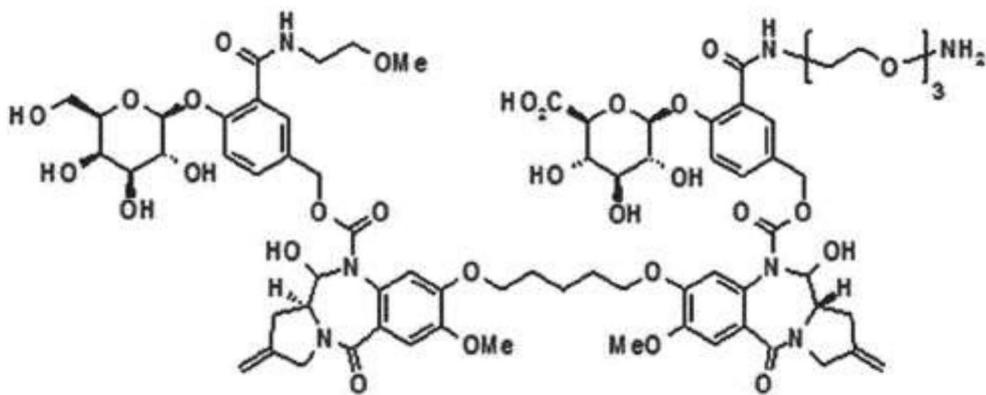
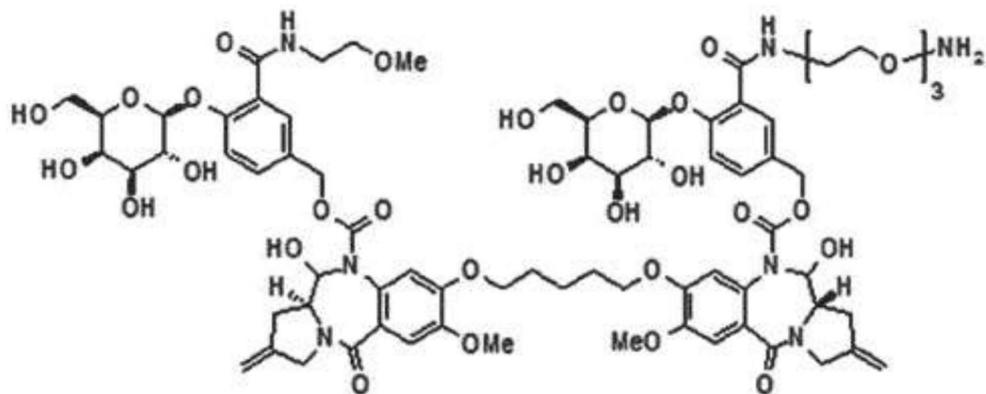


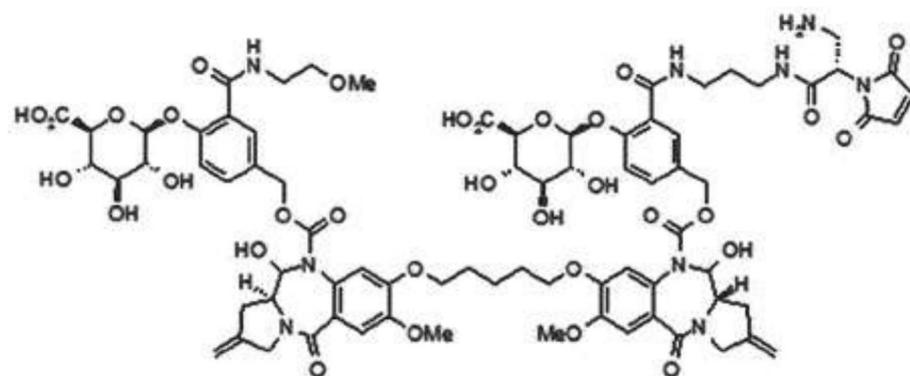
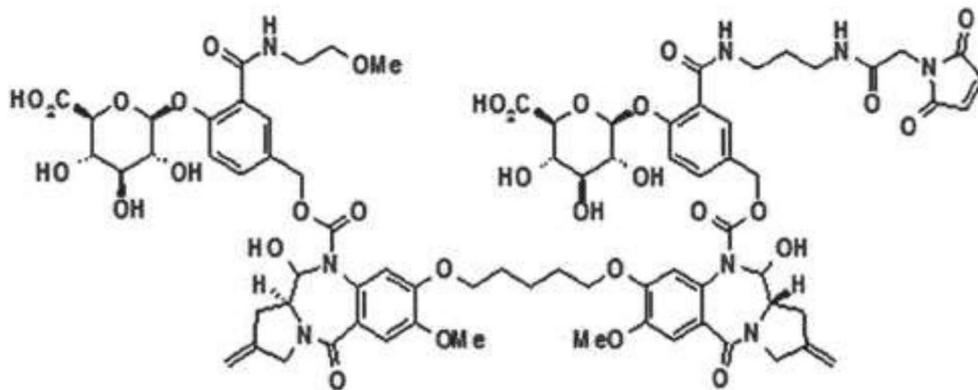
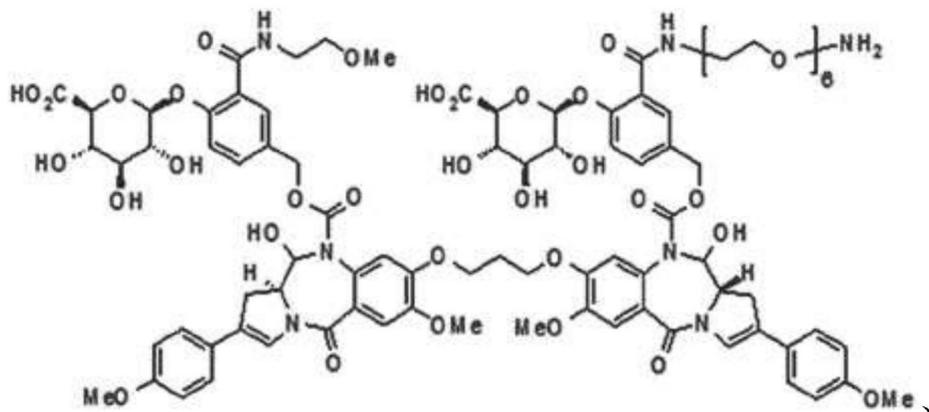
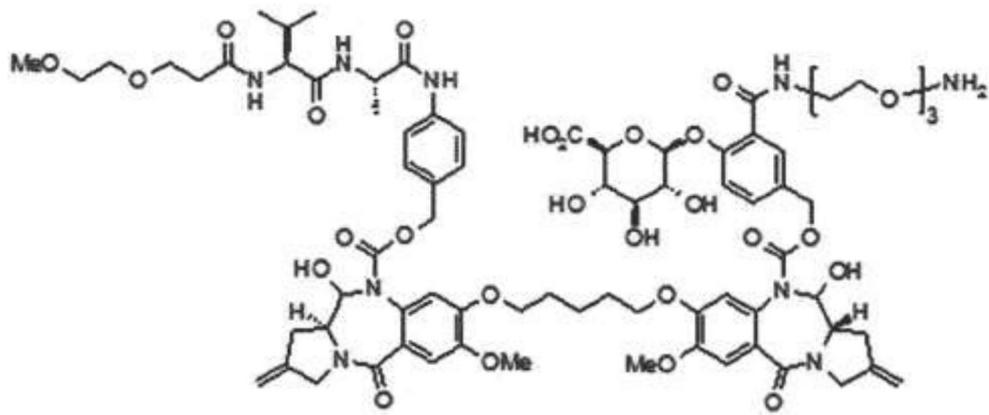
[0382]

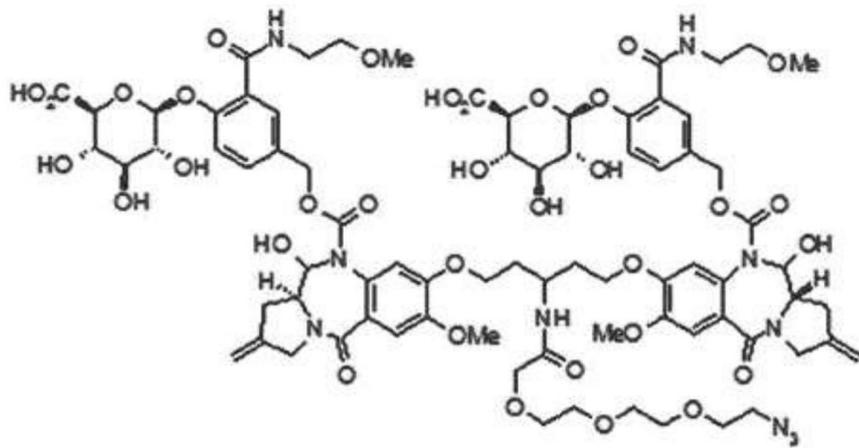
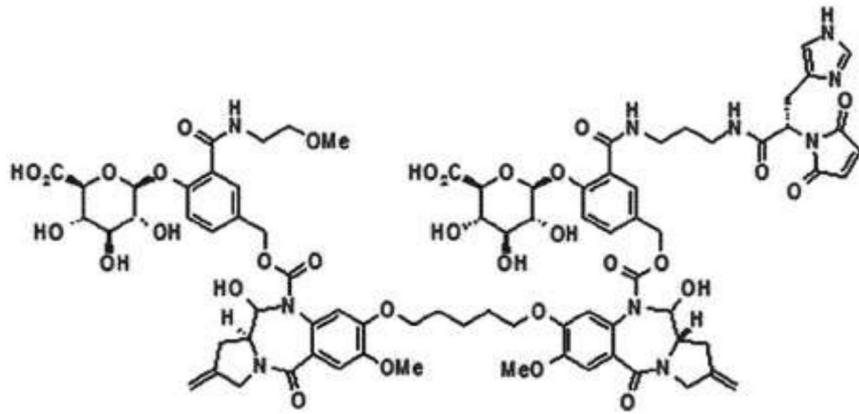




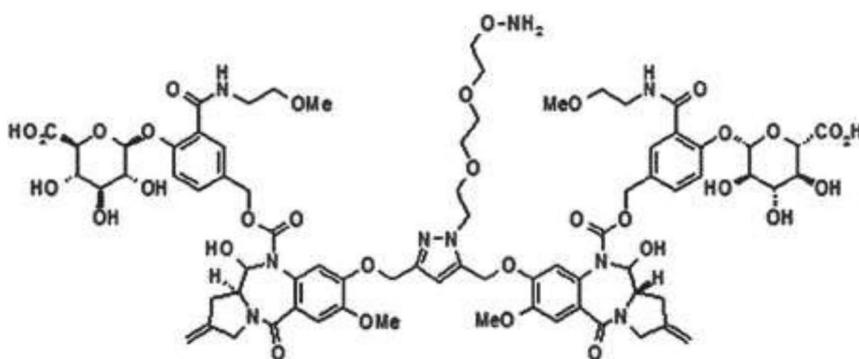
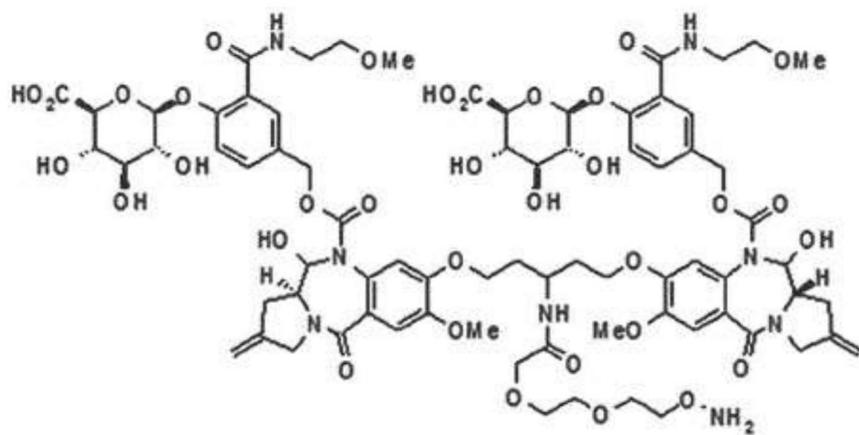
[0384]

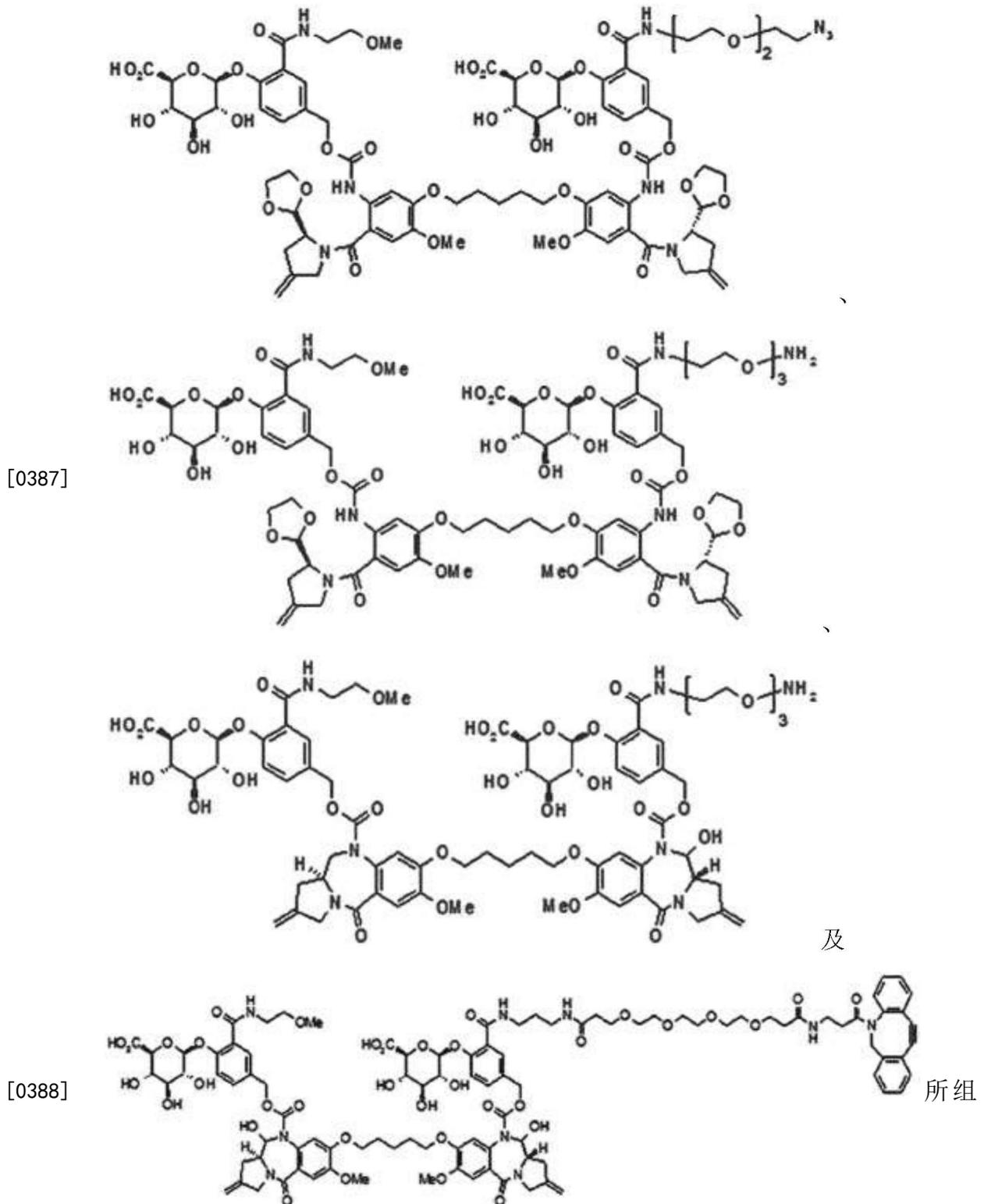






[0386]





成的群中的任一个。

[0389] 在本说明书中，“偶联物 (conjugates)”是指与细胞毒性化合物的一个以上的分子共价键合的细胞结合剂。其中，“细胞结合剂”作为对生物标靶具有亲和度的分子，例如可为配体、蛋白质、抗体，具体而言，可为单克隆抗体、蛋白质或抗体片段、肽、寡核苷酸、寡糖，结合剂发挥将生物活性化合物引导至生物标靶的功能。在本发明的一实施方式中，偶联物能够通过细胞表面抗原将肿瘤细胞靶向化的方式设计。抗原可为在非正常细胞类型中过表

达或表达的细胞表面抗原。具体而言,靶抗原可为仅能够在增殖性细胞(例如肿瘤细胞)上表达的抗原。通常,靶抗原可基于增殖性组织与正常组织之间的不同的表达来选择。在本发明中,配体结合在连接子。

[0390] 在本说明书中,“抗体”是指能够通过位于免疫球蛋白分子的可变区的至少1个抗原识别位点来与标靶、例如碳水化合物、多聚核苷酸、脂质、多肽等特异性地结合的免疫球蛋白分子。本说明书中所使用的术语“抗体”不仅包含无损伤多克隆或单克隆抗体,而且包含:具有与指定抗原特异性地结合的能力的无损伤抗体的任意抗原结合部分(例如,“抗原-结合片段”)或其单链;包含抗体的融合蛋白;及包含抗原识别位点的免疫球蛋白分子的变形的其他任意排列,例如有Fab、Fab’、F(ab’)₂Fd片段、Fv片段、单区抗体(dAb)片段、所单离的互补性决定区域(CDR),但并不限于此;单链(scFv)及单区抗体(例如,鲨鱼及骆驼类抗体);大型抗体;微抗体;胞内抗体;二聚体;三聚体;四聚体;v-NAR;及双-scFv(例如,参照文献[Hollinger and Hudson,2005,Nature Biotechnology 23(9):1126-1136])。

[0391] 抗体包含任意类别的抗体、例如IgG、IgA或IgM(或其亚类),抗体无需为任意特定的类别。免疫球蛋白可根据抗体的重链恒定区的氨基酸序列来分类成不同类别。5种主要类别的免疫球蛋白有IgA、IgD、IgE、IgG及IgM,其中几个可进一步分成亚类(同种型)、例如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1及IgA2。与不同类别的免疫球蛋白对应的重链(HC)恒定区域分别称为阿尔法、德耳塔、艾普西隆、伽马及谬。不同类别的免疫球蛋白的子单元结构及三维构型已被熟知。本发明的抗体可利用相关技术领域内所熟知的技术、例如重组技术、噬菌体展示技术、合成技术或所述技术的组合、或相关技术领域内普遍公知的其他技术来制造。

[0392] 在本说明书中,“单离的抗体”是指实质上不含有具有不同的抗原特异性的其他抗体的抗体,可实质上不含有其他细胞物质及/或化学物质。

[0393] 在本说明书中,“生物标靶”是指位于肿瘤、癌细胞、细胞基质(extracellular matrix)表面的抗原。

[0394] 在本说明书中,“连接子”是指使细胞毒性化合物共价键合到配体的化合物。在本发明的一实施方式中,作为连接子,可使用PCT/US2016/063564号及PCT/US2016/063595号中所揭露的连接子。

[0395] 在本说明书中,“治疗剂”是指对增殖性疾病、例如癌细胞或活化的免疫细胞发挥细胞毒性、细胞增殖抑制及/或免疫调节效果的作用剂。作为治疗剂的示例,包含细胞毒性剂、化疗剂、细胞增殖抑制剂及免疫调节剂。

[0396] 在本说明书中,“化疗剂”是对治疗癌症有用的化学化合物。

[0397] 在本说明书中,“受试者”包含人及非人动物、尤其哺乳动物。作为受试者的示例,可列举人,例如包含患有本说明书中所记载的障碍、更具体而言为癌症的人类患者或正常受试者。“非人动物”包含所有脊椎动物、例如非哺乳动物(例如,鸡、两栖类、爬虫类)及哺乳动物,哺乳动物例如有非人灵长类、家畜及/或农业动物(例如,羊、狗、猫、牛、猪等)及啮齿类(例如,小鼠、大鼠、仓鼠、豚鼠等)。在特定实施例中,受试者为人类患者。

[0398] 在本说明书中,“治疗”或“进行治疗”是指治疗性处理及预防学或预防性措施两者。需要进行治疗的受试者包含已患有疾病的受试者、及容易患病的受试者或需预防疾病的受试者。因此,在对患有疾病或需要进行治疗的受试者使用的情况下,所述术语包含与未进行处理的受试者相比,疾病的发展受阻或减缓、预防症状、减少疾病及/或症状的重症度

或缩短患病时间,但并不限于于此。

[0399] 在本说明书中,“给药”或“进行给药”是指为了达成所期望的效果而通过任意适当的路径提供及/或接触及/或传递化合物或多种化合物。给药可包含口服给药、舌下给药、非口服给药(例如,静脉内注射、皮下注射、皮内注射、肌肉内注射、关节内注射、动脉内注射、滑膜内注射、胸骨内注射、脊椎腔内注射、病变内注射或颅骨内注射)、经皮给药、局部给药、颊侧给药、直肠给药、阴道给药、鼻腔给药、眼内给药、吸入给药及通过植入物的给药,但并不限于于此。

[0400] 在本说明书中,“未经取代或经取代”是指可未经取代或可经取代的母基团(parent group),“经取代”是指具有1个以上的取代基的母基团(parent group),取代基是指共价键合在母基团(parent group)或融合在母基团(parent group)的化学部分。

[0401] 在本说明书中,“卤素”是指氟、氯、溴、碘等。

[0402] 在本说明书中,“烷基”是从脂肪族或脂环族、饱和或不饱和(不饱和、完全不饱和)烃化合物的碳原子去除氢原子而获得的1价部分,作为饱和烷基的示例,可列举甲基、乙基、丙基、丁基、戊基、己基、庚基等,作为饱和直链型烷基的示例,可列举甲基、乙基、正丙基、正丁基、正戊基(戊基)、正己基、正庚基等,作为饱和支链型烷基的示例,可列举异丙基、异丁基、仲丁基、叔丁基、异戊基、新戊基等。

[0403] 在本说明书中,“烷氧基”是指-OR[其中,R为烷基],作为示例,可列举甲氧基、乙氧基、正丙氧基、异丙氧基、正丁氧基、仲丁氧基、异丁氧基、叔丁氧基等。

[0404] 在本说明书中,“芳基”是指从具有环原子的芳香族化合物的芳香族环原子去除氢原子而获得的1价部分。

[0405] 在本说明书中,“烯基”是具有1个以上的碳-碳双键的烷基,作为不饱和烯基的示例,可列举乙烯基(vinyl、 $-\text{CH}=\text{CH}_2$)、1-丙烯基($-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_3$)、2-丙烯基、异丙烯基、丁烯基、戊烯基、己烯基等。

[0406] 在本说明书中,“炔基”是具有1个以上的碳-碳三键的烷基,作为不饱和炔基的示例,可列举乙炔基及2-丙炔基等。

[0407] 在本说明书中,“羧基”是指 $-\text{C}(=\text{O})\text{OH}$ 。

[0408] 在本说明书中,“甲酰基”是指 $-\text{C}(=\text{O})\text{H}$ 。

[0409] 在本说明书中,“芳基”是指从芳香族化合物的芳香族环原子去除氢原子而获得的1价部分。例如,“ C_{5-7} 芳基”作为部分具有5至7个环原子的芳基,是指从芳香族化合物的芳香族环原子去除氢原子而获得的1价部分,“ C_{5-10} 芳基”作为部分具有5至10个环原子的芳基,是指从芳香族化合物的芳香族环原子去除氢原子而获得的1价部分。其中,前缀(C_{5-7} 、 C_{5-10} 等)与碳原子或杂原子无关地表示环原子数或环原子数的范围。例如,“ C_{5-6} 芳基”是指具有5或6个环原子的芳基。其中,环原子可像“碳芳基”一样全部为碳原子。作为碳芳基的示例,包含从苯、萘、甘菊环、蒽、菲、并四苯及苊衍生的碳芳基,但并不限制于此。作为包含至少一个为芳香族环的稠环的芳基的示例,包含从茚满、茚、异茚、四氢化萘、茈、芴、亚苯基、醋菲及醋蒽衍生的基团,但并不限制于此。或者,环原子可像“杂芳基”一样包含一个以上的杂原子。

[0410] 在本说明书中,“杂芳基”是包含1个以上的杂原子的芳基,作为示例,可列举吡啶、嘧啶、苯噻吩、咪唑基、二氧杂环戊烷基、吡咯基、恶唑基、吡啶基、哒嗪基、嘧啶基等,更具体

而言,可列举:从苯并呋喃、异苯并呋喃、吡啶、异吡啶、吡啶嗪、吡啶啉、异吡啶啉、嘌呤(腺嘌呤或鸟嘌呤)、苯并咪唑、咪唑、苯并恶唑、苯并异恶唑、苯并间二氧杂环戊烯、苯并呋喃、苯并三唑、硫茛、苯并噻唑、苯并噻二唑衍生的具有2个稠环的C₉;从苯并吡喃、异苯并吡喃、色烷、异色烷、苯并二恶烷、喹啉、异喹啉、喹啉、苯并恶嗪、苯并二嗪、吡啶并吡啶、喹啉啉、喹啉啉、噌啉、酞嗪、茶啉、蝶啶衍生的具有2个稠环的C₁₀;从苯并二氮卓衍生的具有2个稠环的C₁₁;从咪唑、二苯并呋喃、二苯噻吩、咪唑、伯啉、吡啶并吡啶衍生的具有3个稠环的C₁₃;从吡啶、咕吨、噻吨、恶葱、吩恶嗪、吩嗪、吩恶嗪、吩噻嗪、噻葱、菲啉、菲咯啉、吩嗪衍生的具有3个稠环的C₁₄。

[0411] 在本说明书中,“环烷基”为作为环基的烷基,且为从环(cyclic)烃化合物的脂环族环原子去除氢原子而获得的1价部分。作为环烷基的示例,包含从下述物质衍生的环烷基,但并不限制于此。

[0412] 饱和单环烃化合物:环丙烷、环丁烷、环戊烷、环己烷、环庚烷、甲基环丙烷、二甲基环丙烷、甲基环丁烷、二甲基环丁烷、甲基环戊烷、二甲基环戊烷及甲基环己烷;

[0413] 不饱和单环烃化合物:环丙烯、环丁烯、环戊烯、环己烯、甲基环丙烯、二甲基环丙烯、甲基环丁烯、二甲基环丁烯、甲基环戊烯、二甲基环戊烯及甲基环己烯;及

[0414] 饱和杂环烃化合物:降萘烷、降蒾烷、降蒾烷。

[0415] 在本说明书中,“杂环基”是指从杂环化合物的环原子去除氢原子而获得的1价部分。

[0416] 在本说明书中,前缀(例如C_{1~12}、C_{3~8}等)与碳原子或杂原子无关地表示环原子数或环原子数的范围。例如,本说明书中所使用的术语“C_{3~6}杂环基”是指具有3至6个环原子的杂环基。

[0417] 作为单环杂环基的示例,包含从下述物质衍生的单环杂环基,但并不限制于此。

[0418] N₁:氮丙啉、吡啶啉、吡咯烷、吡咯啉、2H-或3H-吡咯、哌啶、二氢吡啶、四氢吡啶、吡啶啉;

[0419] N₂:咪唑啉、吡唑啉、咪唑啉、吡唑啉、哌嗪;

[0420] O₁:环氧乙烷、氧杂环丁烷、氧杂环戊烷、氧杂环戊烯、恶烷、二氢吡喃、吡喃、氧杂环庚三烯;

[0421] O₂:二氧杂环戊烷、二恶烷及二氧杂环庚烷;

[0422] O₃:三恶烷;

[0423] N₁O₁:四氢恶唑、二氢恶唑、四氢异恶唑、二氢异恶唑、吗啉、四氢恶嗪、二氢恶嗪、恶嗪

[0424] S₁:硫杂环丙烷、硫杂环丁烷、硫杂环戊烷、硫杂环己烷、硫杂环庚烷;

[0425] N₁S₁:噻唑啉、噻唑啉、二氧烷;

[0426] N₂O₁:恶二嗪;

[0427] O₁S₁:氧硫杂环戊烯、氧硫杂环己烷;及

[0428] N₁O₁S₁:氧杂噻嗪。

[0429] 在本说明书中,“前驱物(prodrug)”是指能够在体内的生理条件下(例如酶性氧化(enzymatic oxidation)、还原(reduction)及/或水解等),通过酶、胃酸的作用直接或间接转化成吡咯并苯并二氮杂药物的化合物。

[0430] 在本说明书中,作为“药学上可容许的盐”,可使用由可在药学上容许的游离酸 (free acid) 形成的酸加成盐,作为所述游离酸,可使用有机酸或无机酸。

[0431] 所述有机酸包含柠檬酸、乙酸、乳酸、酒石酸、顺丁烯二酸、反丁烯二酸、甲酸、丙酸、草酸、三氟乙酸、苯甲酸、葡萄糖酸、甲磺酸、乙醇酸、琥珀酸、4-甲苯磺酸、谷氨酸及冬氨酸,但并不限于此。另外,所述无机酸包含盐酸、溴酸、硫酸及磷酸,但并不限制于此。

[0432] 例如,在化合物为阴离子或具有可为阴离子的作用基的情况下(例如, $-COOH$ 可为 $-COO^-$),能够以适当的阳离子形成盐。作为适当的无机阳离子的示例,包含如 Na^+ 及 K^+ 的碱金属离子、如 Ca^{2+} 及 Mg^{2+} 的碱土金属阳离子、如 Al^{3+} 的其他阳离子,但并不限于此。作为适当的有机阳离子的示例,包含铵离子(即, NH_4^+)及经取代的铵离子(例如, NH_3R^+ 、 $NH_2R_2^+$ 、 NHR_3^+ 、 NR_4^+),但并不限于此。

[0433] 作为一部分适当的经取代的铵离子的示例,不仅有从乙胺、二乙胺、二环己基胺、三乙胺、丁胺、乙二胺、乙醇胺、二乙醇胺、哌嗪、苄胺、苯基苄胺、胆碱、葡甲胺及三乙醇胺衍生的铵离子,而且有从氨基酸、例如赖氨酸及精氨酸衍生的铵离子。作为普通的四级铵离子的示例,有 $N(CH_3)_4^+$ 。

[0434] 在化合物为阳离子或具有可为阳离子的作用基的情况下(例如, $-NH_2$ 可为 $-NH_3^+$),能够以适当的阴离子形成盐。作为适当的无机阴离子的示例,包含从下述无机酸衍生的无机阴离子,但并不限于此:可列举盐酸、氢溴酸、氢碘酸、硫酸、亚硫酸、硝酸、亚硝酸、磷酸及亚磷酸等。

[0435] 作为适当的有机阴离子的示例,包含从下述有机酸衍生的有机阴离子,但并不限于此:可列举2-邻乙酰氧基苯甲酸、乙酸、抗坏血酸、冬氨酸、苯甲酸、樟脑磺酸、肉桂酸、柠檬酸、依地酸、乙二磺酸、乙磺酸、反丁烯二酸、葡庚糖酸、葡萄糖酸、谷氨酸、乙醇酸、羟基顺丁烯二酸、羟基萘羧酸、羟乙磺酸、乳酸、乳糖酸、月桂酸、顺丁烯二酸、苹果酸、甲磺酸、粘液酸、反油酸、草酸、棕榈酸、扑酸、泛酸、苯乙酸、苯磺酸、丙酸、丙酮酸、水杨酸、硬脂酸、琥珀酸、对氨基苯磺酸、酒石酸、甲苯磺酸及戊酸等。作为适当的聚合物有机阴离子的示例,包含从下述聚合物酸衍生的有机阴离子,但并不限于此:可列举丹宁酸、羧基甲基纤维素等。

[0436] 在本说明书中,“溶剂化物(solvate)”是指本发明的化合物与溶剂分子(solvent molecules)之间的分子复合物(molecular complex),作为溶剂化物的示例,包含水、异丙醇、乙醇、甲醇、二甲亚砜(dimethylsulfoxide)、乙酸乙酯、乙酸、乙醇胺或与其等的混合溶液结合的本发明的化合物,但并不限制于此。

[0437] 制造、纯化及/或处理相当于活性化合物的溶剂化物会较为便利或优选。术语“溶剂化物”为了在本说明书中表示溶质(例如,活性化合物、活性化合物的盐)及溶剂的络合物而以普通的含义来使用。在溶剂为水的情况下,可将溶剂化物简便地称为水合物、例如一水合物、二水合物、三水合物等。

[0438] 本发明的所述药学组合物可包含药学上可容许的担载体。药学上可容许的担载体通常可包含缓慢地代谢的巨分子、例如蛋白质、多糖类、聚乳酸、聚乙醇酸、聚合氨基酸、氨基酸共聚物、脂质凝聚物等,这种药学上可容许的担载体可由业者适当地选择使用。

[0439] 包含药学上可容许的担载体的所述组合物可为口服或非口服等多种剂型。在制剂化时,使用常用的填充剂、增量剂、结合剂、润湿剂、崩解剂、界面活性剂等稀释剂或赋形剂

来制备。

[0440] 用以口服的固体制剂包含锭剂、丸剂、散剂、颗粒剂、胶囊剂等,这种固体制剂是在一种以上的化合物中混合至少一种以上的赋形剂、例如淀粉、碳酸钙、蔗糖或乳糖、明胶等而制备。另外,除简单的赋形剂以外,也可使用如硬脂酸镁、滑石等的润滑剂。

[0441] 作为用以口服的液体制剂,有悬浮剂、内用液剂、乳剂、糖浆剂等,除常用的作为简单稀释剂的水、液态石蜡以外,可包含如润湿剂、甜味剂、芳香剂、保存剂等的多种赋形剂。

[0442] 非口服制剂包含经灭菌的水溶液、非水性溶剂、悬浮剂、乳剂、冻干剂、栓剂。作为非水性溶剂、悬浮溶剂,可使用:如丙二醇(propylene glycol)、聚乙二醇、橄榄油的植物性油;如油酸乙酯的可注射的酯等。作为栓剂的基剂,可使用半合成脂肪酸酯(witepsol)、聚乙二醇、吐温(tween) 61、可可脂、月桂酸甘油酯、甘油明胶等。

[0443] 所述药学组合物可呈选自自由注射剂、锭剂、丸剂、散剂、颗粒剂、胶囊剂、悬浮剂、内用液剂、乳剂、糖浆剂、经灭菌的水溶液、非水性溶剂、悬浮剂、乳剂、冻干剂及栓剂所组成的群中的任一剂型。

[0444] 为了进行静脉内注射、皮肤注射或皮下注射等,活性成分可为非口服用形态,且为无热原(pyrogen-free) 且具有适当的pH值、等张性及稳定性的可容许的水溶液形态。业者例如可使用如氯化钠水溶液、林格氏液、乳酸林格氏液等的等张性媒剂制造适当的溶液,有时会用作保存剂、稳定剂、缓冲剂、抗氧化剂或其他添加剂。适于注射的固体形态还可制成乳液形态或多肽封装在脂质体的形态。

[0445] 本说明书中所使用的词语“有效量”或“治疗有效量”是指达成所期望的治疗效果(相对于给药量、给药时间及方法)所需的量。有效量为至少对受试者产生治疗效果所需的活性剂的最小量,且小于毒性量。例如,给药量能够以约100ng至约100mg/kg的范围对各患者进行给药,更典型的是,能够以约1 μ g/kg至约10mg/kg的范围进行给药。在活性化合物为盐、酯、酰胺、前驱物药物(prodrug)等的情况下,给药量是以母体化合物为基准进行计算,因此使用的实际重量成正比地增加。本发明的吡咯开苯并吡庚三烯化合物能够以如下方式剂型化,但并不限于此:使单位剂型(dosage form)包含活性成分0.1mg至3000mg、1mg至2000mg、10mg至1000mg。活性成分能够以获得约0.05 μ M至100 μ M、1 μ M至50 μ M、5 μ M至30 μ M的活性化合物的等离子体峰值浓度的方式给药。例如,可任意通过静脉注射生理盐水中的活性成分为0.1w/v%至5w/v%的溶液来给药。

[0446] 药学组合物中的活性化合物的浓度可取决于药物的吸收、灭活化及排出率及本技术领域内的技术人员已知的其他因素。给药量会根据症状/疾病的严重度而不同。另外,可综合考虑患者的症状/疾病程度、必要性、年龄、对药物的反应性等而根据给药监督人的职业性判断来调整针对某个患者的给药量及给药方法,本发明中所提出的浓度范围仅为一例,所申请的组合物的实施方式并不限于此。另外,活性成分可给药1次,也可分数次来给药更少的给药量。

[0447] 本发明的前驱物化合物、或前驱物-连接子化合物、前驱物-连接子-配体偶联物化合物可用于治疗增殖性疾病、尤其癌症。术语“增殖性疾病”是指细胞在试管内或体内异常地新生或过度形成及生长而增殖,且无法调节该增殖。增殖性疾病例如包含赘生物、肿瘤、癌症、白血病、牛皮癣、骨质疾病、纤维增殖性障碍、动脉粥样硬化症等,且可包含良性、转恶性或恶性细胞增殖,但并不限制于此。所述癌症可为肺癌、小细胞肺癌、胃肠道癌、结直肠

癌、肠癌、乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌、睾丸癌、肝癌、肾癌、膀胱癌、胰腺癌、脑癌、肉瘤、骨癌、卡波西肉瘤或黑色素瘤,但并不限制于此。

[0448] [发明效果]

[0449] 本发明的抗体-药物偶联物表现出如下效果:包含与DLK1表达细胞特异性地结合而进入到细胞内的抗DLK1抗体,由此能够有效、特异且选择性地传递药物,能够使药物稳定地结合到抗体而保持体内稳定性,并且表现出所期望的细胞毒性,尤其结合了包含自牺牲基团的连接子技术,由此提供一种药物-连接子-配体系统,所述连接子在血浆内更加稳定、在体内循环时也较为稳定且能够在癌细胞内容易地释放药物而将药效极大化,所述药物-连接子-配体系统能够使药物及/或毒素稳定地到达靶细胞而有效地发挥药效,并且能够大幅降低毒性。

附图说明

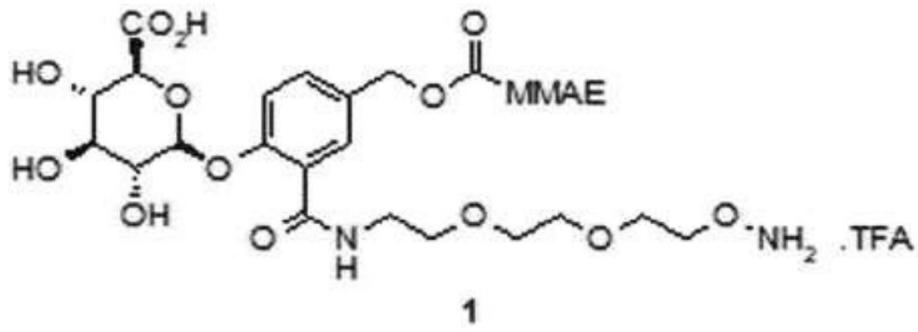
[0450] 图1是在患者源性肿瘤动物模型中确认本发明的ADC的功效的图。

具体实施方式

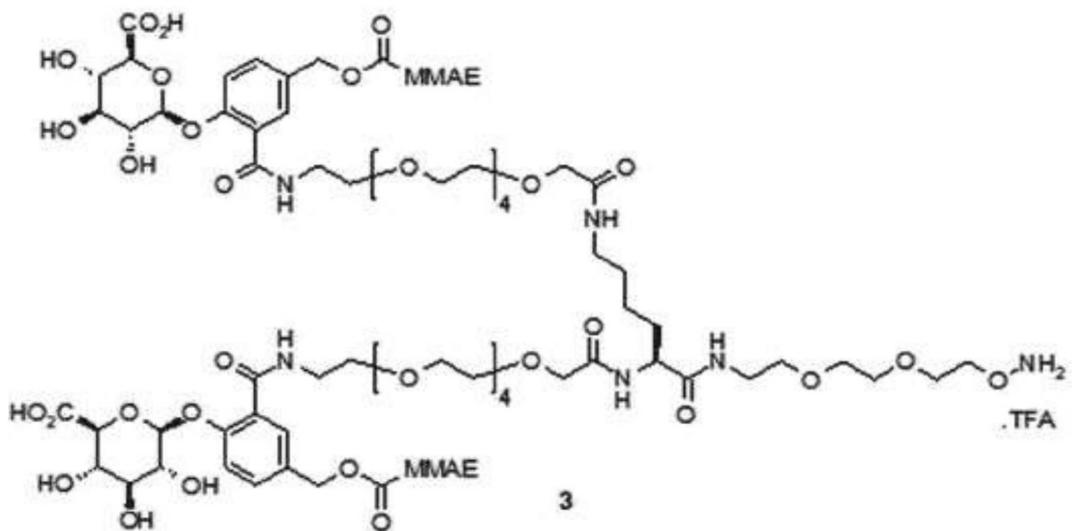
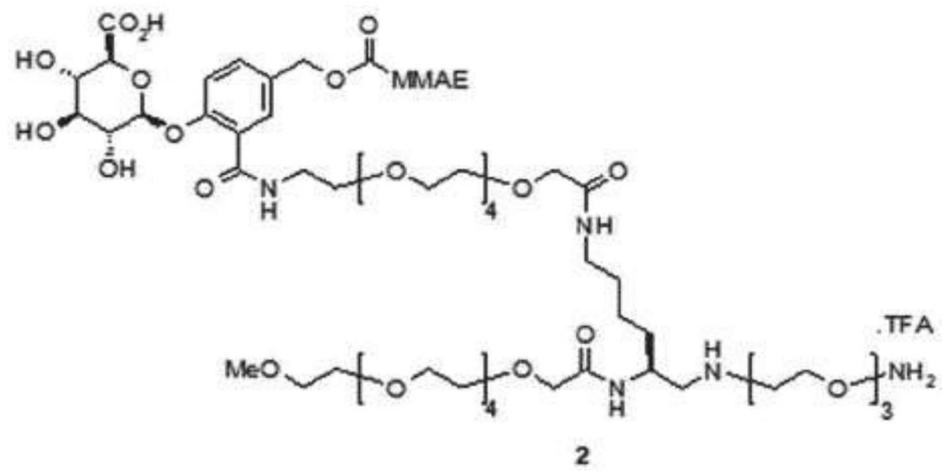
[0451] 以下,根据实施例及实验例,更详细地对本发明进行说明。

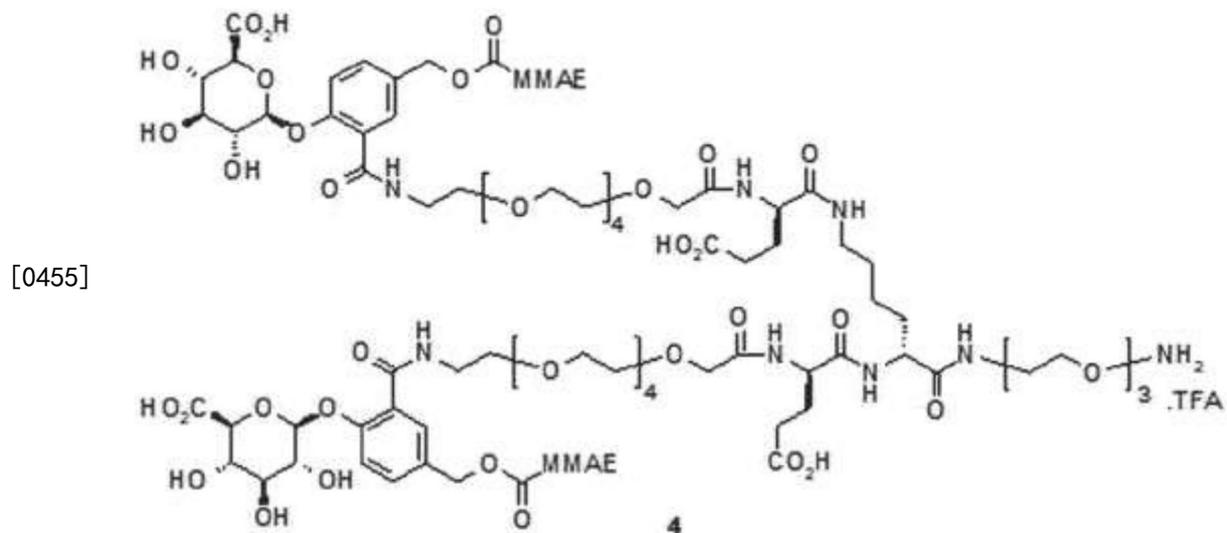
[0452] 下述实施例及实验例用于帮助理解本发明,并非意欲将本发明的权利范围限定于此。

[0453] <实施例1>化合物1、2、3及4的制造



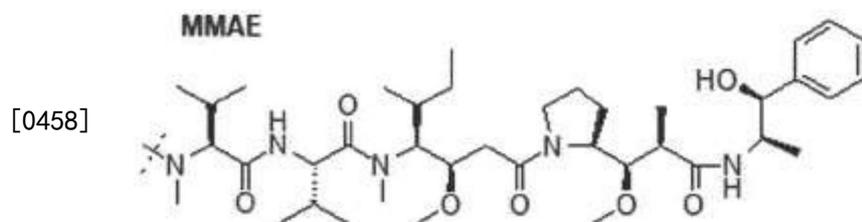
[0454]



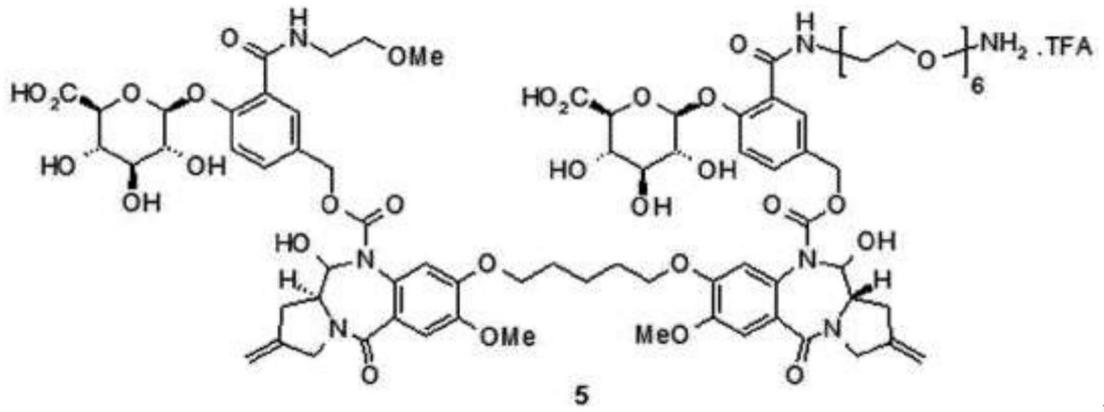


[0456] 通过国际公开专利W02017-089895中所记载的方法制造所述化合物1、2、3及4。

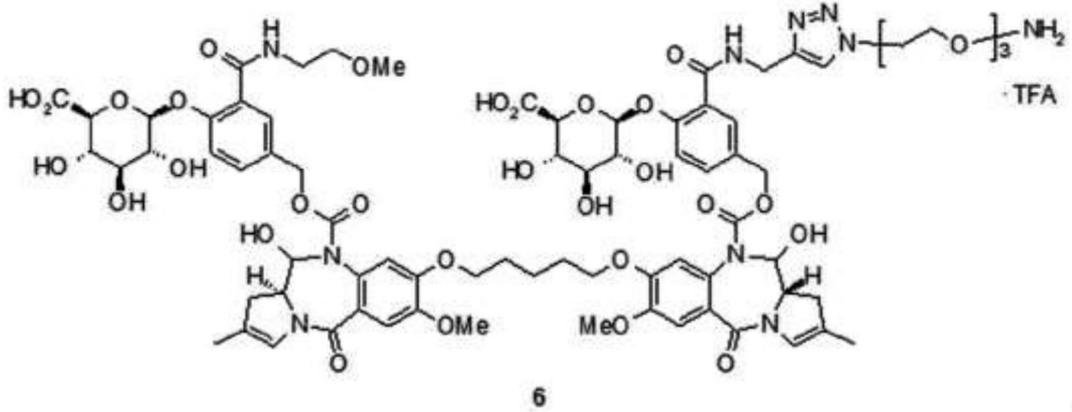
[0457] 在所述所述化合物1、2、3及4中, MMAE (Monomethyl Auristatin E, 一甲基澳瑞他汀E) 的结构如下。



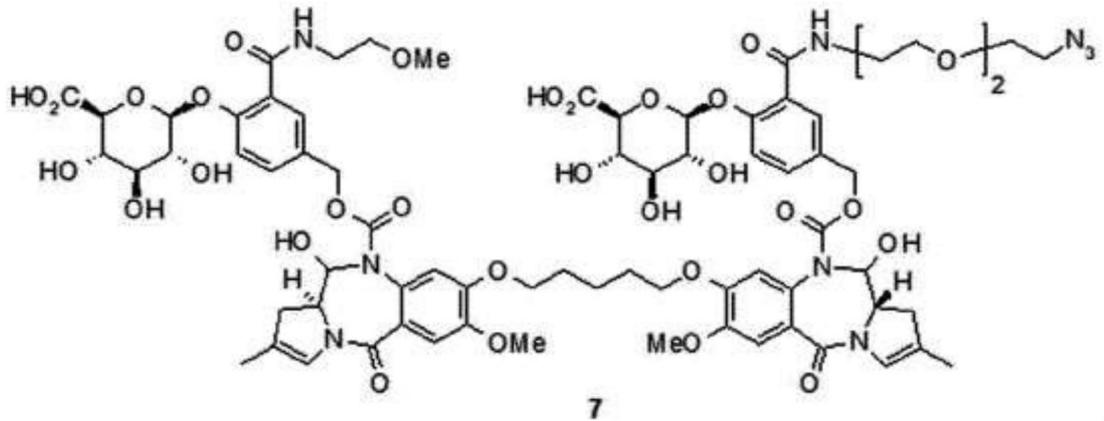
[0459] <实施例2> 化合物5、6、7及8的制造



[0460]

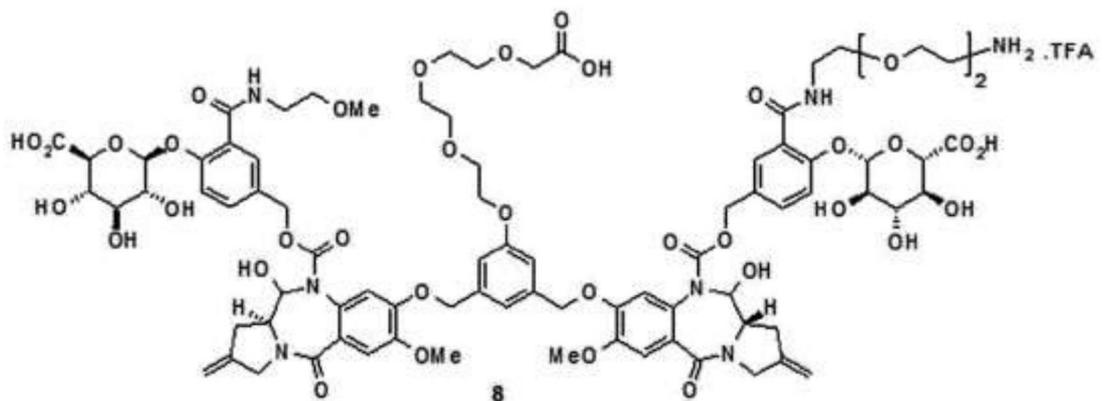


[0461]



[0462] 通过韩国公开专利第10-2018-0110645号中所记载的方法制造所述化合物5、6及7。

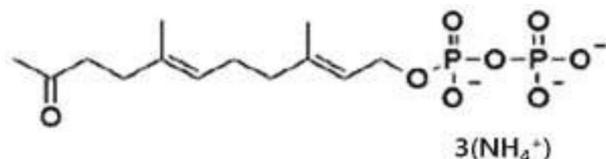
[0463]



[0464] 通过韩国申请案第10-2019-0000514号中所记载的方法制造所述化合物8。

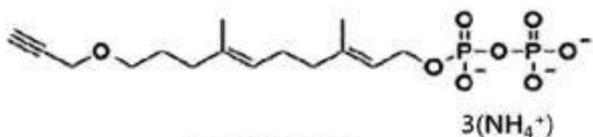
[0465] <实施例3>ADC的制造

[0466] 通过以下两个步骤制造ADC,通过韩国公开专利第10-2014-0035393号中所记载的方法制造共同使用的LCB14-0511及LCB14-0606。LCB14-0511及LCB14-0606的结构式如下:



LCB14-0606

[0467]



LCB14-0511

[0468] 步骤1:异戊二烯化抗体 (prenylated antibody) 的制造

[0469] 制造通过韩国申请案第10-2018-0107639号中所记载的方法制造的抗体 (18A5) 的异戊烯化反应混合物,在30℃下反应16小时。反应混合物包含24μM的抗体 (18A5)、及包含200nM的FTase (Calbiochem, #344145) 与0.144mM的LCB14-0511或LCB14-0606的缓冲溶液 (50mM的Tris-HCl (pH值为7.4)、5mM的MgCl₂、10μM的ZnCl₂、0.144mM的DTT (Dithiothreitol, 二硫苏糖醇))。在反应结束后,利用以PBS (Phosphate Buffer Saline, 磷酸盐缓冲液) 缓冲溶液平衡化的G25琼脂糖 (Sepharose) 柱 (AKTA purifier, GE healthcare) 对异戊烯化抗体进行脱盐。

[0470] 步骤2:药物偶联 (drug-conjugation) 方法

[0471] <肟键反应 (conjugation by oxime bond formation) >

[0472] 混合pH值为5.2的乙酸钠缓冲溶液100mM、10%DMSO (Dimethyl Sulfoxide, 二甲基亚砜)、20μM的抗体与200μM连接子-药物 (in house, 实施例1、2的化合物1、2、3、4、5、7及8) 来制造异戊烯化抗体与连接子-药物间的肟键生成反应混合物,在30℃下略微搅拌。在反应6小时或24小时后,经由FPLC (Fast Protein Liquid Chromatography, 快速蛋白质液相层析) (AKTA purifier, GE healthcare) 过程去除使用过量的低分子化合物,收集蛋白组分并进行浓缩。

[0473] <通过点击反应实现的共轭 (conjugation by click reaction) >

[0474] 混合10%DMSO、20μM的抗体与200μM的连接子-药物 (in house, 实施例2的化合物6)、1mM的硫酸铜五水合物、2mM的 (BimC₄A)₃ (Sigma-Aldrich 696854)、10mM的抗坏血酸钠 (sodium ascorbate) 及10mM的氨基胍盐酸盐来制造异戊烯化抗体与连接子-药物间的肟键生成反应混合物,在25℃下反应3小时,之后利用2.0mM的EDTA (Ethylenediaminetetraacetic acid, 乙二胺四乙酸) 进行处理来反应30分钟。在反应结束后,经由FPLC (AKTA purifier, GE healthcare) 过程去除使用过量的低分子化合物,收集蛋白组分并进行浓缩。

[0475] [表2]ADC制造目录

	ADCs	抗体	连接子-毒素
	ADC1	1BA5	化合物 1
	ADC2		化合物 2
	ADC3		化合物 3
[0476]	ADC4		化合物 4
	ADC5		化合物 5
	ADC6		化合物 6
	ADC7		化合物 7
	ADC8		化合物 8

[0477] <实验例1> 体外 (In vitro) 细胞毒性评估

[0478] 对下述表3中所记载的药物及所述<实施例3>中制造的ADC的癌细胞株测定细胞增殖抑制活性。使用市售中的人胰腺癌细胞株MIA-PaCa2 (DLK1阴性或正常) 及MIA-PaCa2-DLK1过表达细胞株作为癌细胞株。使用MMAF-OMe作为药物, 使用表2的ADC作为ADC。

[0479] 按照如下方式将各癌细胞株接种 (seeding) 到96-孔板并培养24小时后, 将药物与ADC处理成0.0015~10.0nM (连续稀释3倍) 浓度: 72小时处理组为各孔 (well) 4,000~5,000个; 96小时处理组为各孔2,000~3,000个; 168小时处理组为各孔800~1,000个。使用SRB (Sulforhodamine B, 磺酰罗丹明B) 染料对72/96/168小时后存活的细胞数进行测定。

[0480] [表3]

测试样品	IC50(nM)					
	MIA-PaCa2-DLK1 阴性			MIA-PaCa2-DLK1 阳性		
	72hr	96h	168hr	72hr	96h	168hr
MMAF-OMe	0.41	0.12	0.12	0.30	0.13	0.06
ADC1	>10	N.T	>10	0.54	N.T	0.09
ADC2	>10	>10	>10	0.57	0.26	0.09
ADC3	>10	>10	>10	0.19	0.11	0.03
ADC4	N.T	>10	N.T	N.T	0.05	N.T
ADC5	>10	N.T	>10	0.22	0.01	0.003
ADC6	N.T	N.T	>10	N.T	N.T	0.21
ADC7	>10	N.T	>10	0.008	N.T	0.004
ADC8	N.T	>10	N.T	N.T	0.008	N.T

[0482] *NT: 未测试 (not tested)。

[0483] 确认到大部分抗体-药物复合物在DLK1过表达的胰腺癌细胞株中的细胞毒性远远优于在不表达DLK1的胰腺癌细胞株中的细胞毒性。确认到在DLK1过表达的胰腺癌细胞株中反应相同时间的细胞毒性试验中, 吡咯开苯并吡啶三烯类抗体-药物复合物 (ADC5、7、8) 的细胞毒性比澳瑞他汀类抗体-药物复合物 (ADC1、2、3、4) 更强。另外, 确认到与澳瑞他汀类抗体-药物复合物相比, 吡咯开苯并吡啶三烯类抗体-药物复合物的反应时间越长, 则细胞毒性越强。

[0484] <实验例2> 体内 (In vivo) 功效评估

[0485] 在患者源性肿瘤动物模型中评估所述<实施例3>中制造的ADC的功效。具体而言, 患者源性小细胞肺癌小鼠模型 (PDX模型) 获取自Champions Oncology公司。向所述PDX模型尾部静脉给药作为对照组的PBS, 且分别按照6mpk/Q4D*4、6mpk/QW*4、9mpk/QW*4三种

条件静脉给药作为实验组的ADC4,之后测定肿瘤的大小。

[0486] 其结果,如图1所示,确认到:在6mpk/Q4D*4组与9mpk/QW*4组中,8个实验动物的肿瘤全部消失(CR,complete remission),在6mpk/QW*4组中,8个实验动物中的6个实验动物的肿瘤消失。

[0487] [工业上的可利用性]

[0488] 本发明涉及一种以DKL1为靶向的新颖的抗体-药物偶联物(antibody-drug conjugate,ADC)及包含所述抗体-药物偶联物的药学组合物,本发明的ADC能够用于生产用以治疗及/或预防增殖及/或血管新生疾病、例如癌症的药剂。

1	5	10	15
---	---	----	----

Ser

<210> 4

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 4

Ile Thr Lys Ser Gly Ser Gly Thr

1	5
---	---

<210> 5

<211> 38

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 5

Tyr Ser Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn

1	5	10	15
---	---	----	----

Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp

	20	25	30
--	----	----	----

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

	35
--	----

<210> 6

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 6

Thr Arg Glu Gly Leu Gly Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val

1	5	10
---	---	----

<210> 7

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 7

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

1 5 10

<210> 8

<211> 25

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 8

Gln Leu Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln

1 5 10 15

Arg Val Ile Ile Ser Cys Thr Gly Ser

20 25

<210> 9

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 9

Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly Tyr Asp

1 5

<210> 10

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 10

Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Arg Leu Leu Ile

1 5 10 15

Tyr

<210> 11

<211> 3

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 11

Gly Ser Thr

1

<210> 12

<211> 36

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 12

Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly

1 5 10 15

Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu Gln Ala Glu Asp Glu Ala

 20 25 30

Asp Tyr Tyr Cys

 35

<210> 13

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 13

Gln Ser Tyr Asp Asn Ser Leu Ser Ala His Tyr Val

1 5 10

<210> 14

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 14

Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu

1 5 10

<210> 15

<211> 25

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 15

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Ala Val Val Gln Pro Gly His

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser

 20 25

<210> 16

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 16

Gly Phe Lys Phe Lys Asp Tyr Gly

1 5

<210> 17

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 17

Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu Ala

1 5 10 15

Val

<210> 18

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 18

Ile Ser His Asp Gly Arg Asn Lys

1 5

<210> 19

<211> 38

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 19

Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Leu Thr Ile Ser Arg Asp Asn

1 5 10 15

Ser Lys Asn Thr Leu Ser Phe Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp

 20 25 30

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

 35

<210> 20

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 20

Val Arg Asp Trp Ser Tyr Ala Phe Asp Ile

1 5 10

<210> 21

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 21

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

1 5 10

<210> 22

<211> 26

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 22

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Asn Ile Thr Cys Arg Ala Ser

 20 25

<210> 23

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 23

Gln Asp Ile Ser Arg Arg

1 5

<210> 24

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 24

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

1 5 10 15

Tyr

<210> 25

<211> 3

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 25

Gly Ala Ala

1

<210> 26

<211> 36

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 26

Ser Leu Gln Ser Ala Val Ala Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly

1 5 10 15

Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala

 20 25 30

Asn Tyr Tyr Cys

35

<210> 27

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 27

Gln Gln Ile Tyr Thr Thr Pro Leu Thr

1 5

<210> 28

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 28

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

1 5 10

<210> 29

<211> 25

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 29

Gln Met Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser

20 25

<210> 30

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 30

Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ala

1 5

<210> 31

1	5	10	15
<210> 35			
<211> 11			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 人工序列			
<400> 35			
Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser			
1	5	10	
<210> 36			
<211> 26			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 人工序列			
<400> 36			
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly			
1	5	10	15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser			
	20	25	
<210> 37			
<211> 6			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 人工序列			
<400> 37			
Gln Arg Ile Ser Ser Trp			
1	5		
<210> 38			
<211> 17			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 人工序列			
<400> 38			
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Arg Ala Pro Lys Leu Leu Ile			
1	5	10	15

His

<210> 39

<211> 3

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 39

Ser Ala Ser

1

<210> 40

<211> 36

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 40

Thr Leu His Asn Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Ala Ser Gly

1

5

10

15

Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala

20

25

30

Ile Tyr Tyr Cys

35

<210> 41

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 41

Gln Gln Gly His Ser Phe Pro Tyr Thr

1

5

<210> 42

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 42

Ile Ser Pro Asp Gly Ser Ser Thr

1 5

<210> 47

<211> 38

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 47

Thr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn

1 5 10 15

Ala Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp

20 25 30

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

35

<210> 48

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 48

Ala Arg Gly Tyr Ser Pro Lys Tyr Pro Thr Val Gly Leu Asp Val

1 5 10 15

<210> 49

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 49

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Ile Thr Val Ser Ser

1 5 10

<210> 50

<211> 26

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 50

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Ser Pro Val Thr Leu Gly

1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser

20 25

<210> 51

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 51

Glu Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr

1 5 10

<210> 52

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 52

Leu Thr Trp Leu Gln Gln Arg Pro Gly Gln Pro Pro Arg Leu Leu Ile

1 5 10 15

His

<210> 53

<211> 3

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 53

Lys Ile Ser

1

<210> 54

<211> 36

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 54

Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ala Gly

1 5 10 15

Thr Asp Phe Thr Leu Gln Ile Thr Arg Val Glu Thr Glu Asp Val Gly

 20 25 30

Val Tyr Tyr Cys

 35

<210> 55

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 55

Val Gln Thr Thr Gln Trp Pro Trp Thr

1 5

<210> 56

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 56

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

1 5 10

<210> 57

<211> 25

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 57

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Arg Val Ser Cys Lys Val Ser

 20 25

<210> 58

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 58

Gly Tyr Ser Leu Ser Glu Phe Pro

1 5

<210> 59

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 59

Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Arg Met Gly Leu Glu Trp Met Gly

1 5 10 15

Gly

<210> 60

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 60

Ser Tyr Pro Glu Asp Gly Glu Thr

1 5

<210> 61

<211> 38

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 61

Leu Tyr Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Glu Asp Thr

1 5 10 15

Ser Thr Asp Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp

20 25 30

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

35

<210> 62

His

<210> 74

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 74

Ile Ser Ser Thr Gly Arg Thr Ile

1 5

<210> 75

<211> 38

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 75

Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn

1 5 10 15

Ala Lys Ser Ser Leu Asp Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp

20 25 30

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

35

<210> 76

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 76

Ala Arg Asp Gln Gly Tyr Pro Phe Gly Met Asp Val

1 5 10

<210> 77

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 77

Trp Gly His Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 78

<211> 25

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 78

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

Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser
20 25

<210> 79

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 79

Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly Tyr Asp
1 5

<210> 80

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 80

Val Asp Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu Ile
1 5 10 15

Tyr

<210> 81

<211> 3

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 81

Gly Asn Thr

1

<210> 82

<211> 36

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 82

Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly

1

5

10

15

Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu Gln Ala Glu Asp Asp Ser

20

25

30

Asp Tyr Tyr Cys

35

<210> 83

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 83

Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Leu Ser Ala Trp Val

1

5

10

<210> 84

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 84

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

1

5

10

<210> 85

<211> 25

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 85

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser

 20 25

<210> 86

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 86

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala

1 5

<210> 87

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 87

Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala

1 5 10 15

Val

<210> 88

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 88

Ile Tyr Ser Gly Gly Ser Thr

1 5

<210> 89

<211> 38

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 89

Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn

1 5 10 15

Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp

 20 25 30

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

 35

<210> 90

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 90

Ala Arg Glu Gly Ser Tyr Asp Val Met Thr Tyr Thr Arg Ile Gly Gly

1 5 10 15

Tyr Phe Asp Tyr

 20

<210> 91

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 91

Trp Gly Gln Gly Ala Leu Val Thr Val Ser Ser

1 5 10

<210> 92

<211> 26

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 92

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser

 20 25

<210> 93

35

<210> 97

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 97

Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Leu Thr

1

5

<210> 98

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 98

Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

1

5

10

<210> 99

<211> 120

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 99

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Thr Leu Val Gln Pro Gly Gly

1

5

10

15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser His

20

25

30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35

40

45

Ser Ser Ile Thr Lys Ser Gly Ser Gly Thr Tyr Ser Ala Asp Ser Val

50

55

60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

65

70

75

80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85

90

95

Thr Arg Glu Gly Leu Gly Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln

	100		105		110
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser					
	115		120		
<210> 100					
<211> 112					
<212> PRT					
<213> 人工序列					
<220>					
<223> 人工序列					
<400> 100					
Gln Leu Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln					
1	5		10		15
Arg Val Ile Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly					
	20		25		30
Tyr Asp Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Arg Leu					
	35		40		45
Leu Ile Tyr Gly Ser Thr Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe					
	50		55		60
Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu					
65	70		75		80
Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Asn Ser					
	85		90		95
Leu Ser Ala His Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu					
	100		105		110
<210> 101					
<211> 117					
<212> PRT					
<213> 人工序列					
<220>					
<223> 人工序列					
<400> 101					
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Ala Val Val Gln Pro Gly His					
1	5		10		15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe Lys Phe Lys Asp Tyr					
	20		25		30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu					
	35		40		45
Ala Val Ile Ser His Asp Gly Arg Asn Lys Asn Tyr Ala Asp Ser Val					
	50		55		60

	20		25		30												
Ala	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val		
	35						40					45					
Ser	Gly	Ile	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ser	Ile	Gly	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val		
	50					55						60					
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ala	Lys	Asn	Ser	Leu	Tyr		
65					70					75				80			
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys		
			85						90					95			
Thr	Lys	Gly	Pro	Gly	Leu	Ala	Thr	Gly	Lys	Val	Tyr	Phe	Asn	Ser	Trp		
			100						105					110			
Gly	Gln	Gly	Thr	Gln	Val	Thr	Val	Ser	Ser								
	115								120								

<210> 104

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 104

Asp	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Val	Ser	Ala	Ser	Val	Gly		
1			5					10						15			
Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Arg	Ala	Ser	Gln	Arg	Ile	Ser	Ser	Trp		
			20					25						30			
Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Arg	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile		
			35					40						45			
His	Ser	Ala	Ser	Thr	Leu	His	Asn	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly		
			50				55					60					
Ser	Ala	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro		
65					70					75				80			
Glu	Asp	Phe	Ala	Ile	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Gly	His	Ser	Phe	Pro	Tyr		
				85						90				95			
Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Leu	Asp	Ile	Lys							
			100						105								

<210> 105

<211> 122

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 105

Gln	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly
1				5						10				15	
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Ser	Tyr
			20						25					30	
Trp	Met	Asn	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Val	Trp	Val
		35					40						45		
Ser	Arg	Ile	Ser	Pro	Asp	Gly	Ser	Ser	Thr	Thr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val
		50				55						60			
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ala	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr
65					70					75				80	
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
					85				90					95	
Ala	Arg	Gly	Tyr	Ser	Pro	Lys	Tyr	Pro	Thr	Val	Gly	Leu	Asp	Val	Trp
			100						105					110	
Gly	Gln	Gly	Thr	Thr	Ile	Thr	Val	Ser	Ser						
			115						120						

<210> 106

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 106

Asp	Ile	Val	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Leu	Ser	Ser	Pro	Val	Thr	Leu	Gly
1				5							10			15	
Gln	Pro	Ala	Ser	Ile	Ser	Cys	Arg	Ser	Ser	Glu	Ser	Leu	Leu	His	Ser
			20							25				30	
Asn	Gly	Asn	Thr	Tyr	Leu	Thr	Trp	Leu	Gln	Gln	Arg	Pro	Gly	Gln	Pro
			35				40						45		
Pro	Arg	Leu	Leu	Ile	His	Lys	Ile	Ser	Asn	Arg	Phe	Ser	Gly	Val	Pro
			50			55					60				
Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ala	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Gln	Ile
65					70					75				80	
Thr	Arg	Val	Glu	Thr	Glu	Asp	Val	Gly	Val	Tyr	Tyr	Cys	Val	Gln	Thr
					85					90				95	
Thr	Gln	Trp	Pro	Trp	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys
			100						105					110	

<210> 107

<211> 125

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 107

Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala
1				5					10					15	
Ser	Val	Arg	Val	Ser	Cys	Lys	Val	Ser	Gly	Tyr	Ser	Leu	Ser	Glu	Phe
			20						25					30	
Pro	Ile	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Arg	Met	Gly	Leu	Glu	Trp	Met
			35				40						45		
Gly	Gly	Ser	Tyr	Pro	Glu	Asp	Gly	Glu	Thr	Leu	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe
			50				55						60		
Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Met	Thr	Glu	Asp	Thr	Ser	Thr	Asp	Thr	Ala	Tyr
65					70					75					80
Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
					85					90					95
Ala	Arg	Leu	Asn	Tyr	Phe	Glu	Ser	Thr	Asp	Tyr	Trp	Val	Asp	Ala	Phe
					100					105				110	
Asp	Ile	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Met	Val	Thr	Val	Ser	Ser			
			115					120						125	

<210> 108

<211> 111

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 108

Gln	Leu	Val	Leu	Thr	Gln	Pro	Tyr	Ser	Val	Ser	Glu	Ser	Pro	Gly	Lys
1				5					10					15	
Thr	Ile	Thr	Ile	Ser	Cys	Thr	Arg	Ser	Ser	Gly	Ser	Ile	Ala	Ser	Asn
				20					25					30	
Phe	Val	Gln	Trp	Tyr	Gln	Gln	Arg	Pro	Gly	Ser	Ala	Pro	Thr	Pro	Val
				35			40						45		
Ile	Tyr	Glu	Asp	Asn	Gln	Arg	Pro	Ser	Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser
				50			55					60			
Gly	Ser	Ile	Asp	Ser	Ser	Ser	Asn	Ser	Ala	Ser	Leu	Thr	Ile	Ser	Gly

65		70		75		80
Val Met Thr Glu Asp	Glu Ala Asp Tyr Tyr	Cys Gln Ser Tyr	Asp Ser			
	85		90		95	
Ser Ser Ser Trp	Val Phe Gly Gly	Gly Thr Lys Leu	Thr Val Leu			
	100		105		110	

<210> 109

<211> 119

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 109

Gln Met Gln Leu	Val Glu Ser Gly	Gly Gly Leu Val	Lys Pro Gly Gly
1	5	10	15
Ser Leu Thr Leu	Ser Cys Asp Ala	Thr Gly Phe Asn	Phe Gly Ser Tyr
	20	25	30
Tyr Met Asn Trp	Val Arg Gln Ala	Pro Gly Lys Gly	Leu Glu Trp Leu
	35	40	45
Ala His Ile Ser	Ser Thr Gly Arg	Thr Ile Tyr Tyr	Ala Asp Ser Val
	50	55	60
Lys Gly Arg Phe	Thr Ile Ser Arg	Asp Asn Ala Lys	Ser Ser Leu Asp
65	70	75	80
Leu Gln Met Asn	Ser Leu Arg Ala	Glu Asp Thr Ala	Val Tyr Tyr Cys
	85	90	95
Ala Arg Asp Gln	Gly Tyr Pro Phe	Gly Met Asp Val	Trp Gly His Gly
	100	105	110
Thr Thr Val Thr	Val Ser Ser		
	115		

<210> 110

<211> 111

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 110

Gln Leu Val Leu	Thr Gln Pro Ser	Ser Val Ser Gly	Ala Pro Gly Gln
1	5	10	15
Arg Val Thr Ile	Ser Cys Thr Gly	Ser Ser Ser Asn	Ile Gly Ala Gly
	20	25	30

Tyr Asp Val Asp Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu
 35 40 45
 Leu Ile Tyr Gly Asn Thr Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
 50 55 60
 Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu
 65 70 75 80
 Gln Ala Glu Asp Asp Ser Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Ser
 85 90 95
 Leu Ser Ala Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105 110

<210> 111

<211> 126

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 111

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Val Ile Tyr Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 50 55 60
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
 65 70 75 80
 Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95
 Arg Glu Gly Ser Tyr Asp Val Met Thr Tyr Thr Arg Ile Gly Gly Tyr
 100 105 110
 Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Ala Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 112

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 112

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asp Trp
 20 25 30
 Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Leu
 85 90 95
 Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 113

<211> 38

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 113

agggggccgt gggggccgct gaatgcttcc cggcctgc 38

<210> 114

<211> 40

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 114

tagcggccga cgcggccaac tggcctcgg tgaggagagg 40

<210> 115

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 115

Gln Gly Ile Ser Ser Ala

1 5
 <210> 116
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 人工序列
 <400> 116
 Gln Gln Ser Tyr Thr Thr Pro Leu Thr
 1 5
 <210> 117
 <211> 26
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 人工序列
 <400> 117
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser
 20 25
 <210> 118
 <211> 36
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 人工序列
 <400> 118
 Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
 1 5 10 15
 Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala
 20 25 30
 Thr Tyr Tyr Cys
 35
 <210> 119
 <211> 25
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>

<223> 人工序列

<400> 119

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser

 20 25

<210> 120

<211> 26

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 120

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser

 20 25

<210> 121

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 121

His Asp Ile Ser Ser Ser

1 5

<210> 122

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 122

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

1 5 10 15

Tyr

<210> 123

<211> 36

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 123

Asn Leu Lys Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly

1 5 10 15

Thr Asp Phe Ser Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala

 20 25 30

Thr Tyr Tyr Cys

 35

<210> 124

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 124

Gln Gln Ser Tyr Thr Thr Val Leu Thr

1 5

<210> 125

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 125

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

1 5 10

<210> 126

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<400> 126

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala

 20 25 30

<400> 128

Asp	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Phe	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly
1				5					10					15	
Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Arg	Ala	Ser	His	Asp	Ile	Ser	Ser	Ser
			20					25						30	
Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Ser	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile
		35					40					45			
Tyr	Ser	Ala	Ser	Asn	Leu	Lys	Ser	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly
		50				55						60			
Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Ser	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro
65					70					75				80	
Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Ser	Tyr	Thr	Thr	Val	Leu
				85					90					95	
Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys					
			100						105						

CTG-019、SCLC PDX模型
(静脉给药)

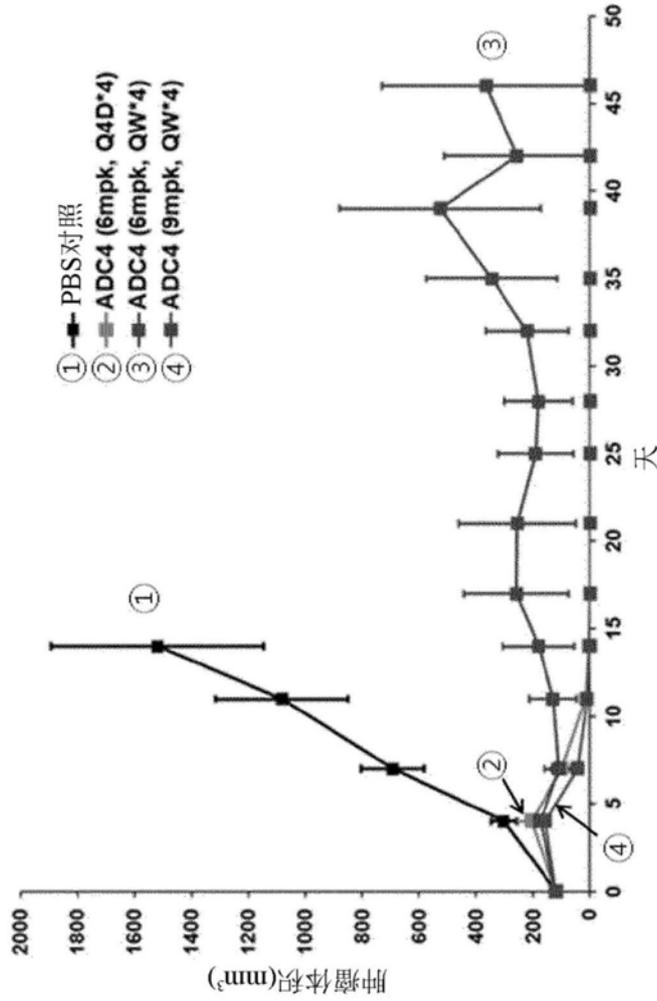


图1

特征	连接子-毒素(DAR)	DAR
ADC4	LBG*-MMAE	DAR 4

- 无胸腺Foxn1nu裸鼠，皮下，n=8/组
- 静脉注射，重复给药
- 图中表示肿瘤的平均大小与SEM
- * LBG: LCB的专有BG连接子

组	PR	CR
ADC4, 6mpk/Q4D*4	0/8	8/8
ADC4, 6mpk/QW*4	0/8	6/8
ADC4, 9mpk/QW*4	0/8	8/8

- PR: 部分缓解是指50~100%的肿瘤消退
- CR: 完全缓解

• 静脉给药14天后，所有治疗组均表现出明显的肿瘤生长抑制效果或完全缓解(CR)