



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201116300 A1

(43)公開日：中華民國 100 (2011) 年 05 月 16 日

(21)申請案號：099132526

(22)申請日：中華民國 99 (2010) 年 09 月 24 日

(51)Int. Cl. : *A61K47/48 (2006.01)*

A61K39/395 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

(30)優先權：2009/09/24 美國

61/245,462

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

美國

第一三共股份有限公司 (日本) DAIICHI SANKYO COMPANY, LIMITED (JP)

日本

(72)發明人：市川公久 ICHIKAWA, KIMIHISA (JP)；藤原康策 FUJIWARA, KOSAKU (JP)；好田宏子 YOSHIDA, HIROKO (JP)；矢田步美 YADA, AYUMI (JP)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：37 項 圖式數：36 共 149 頁

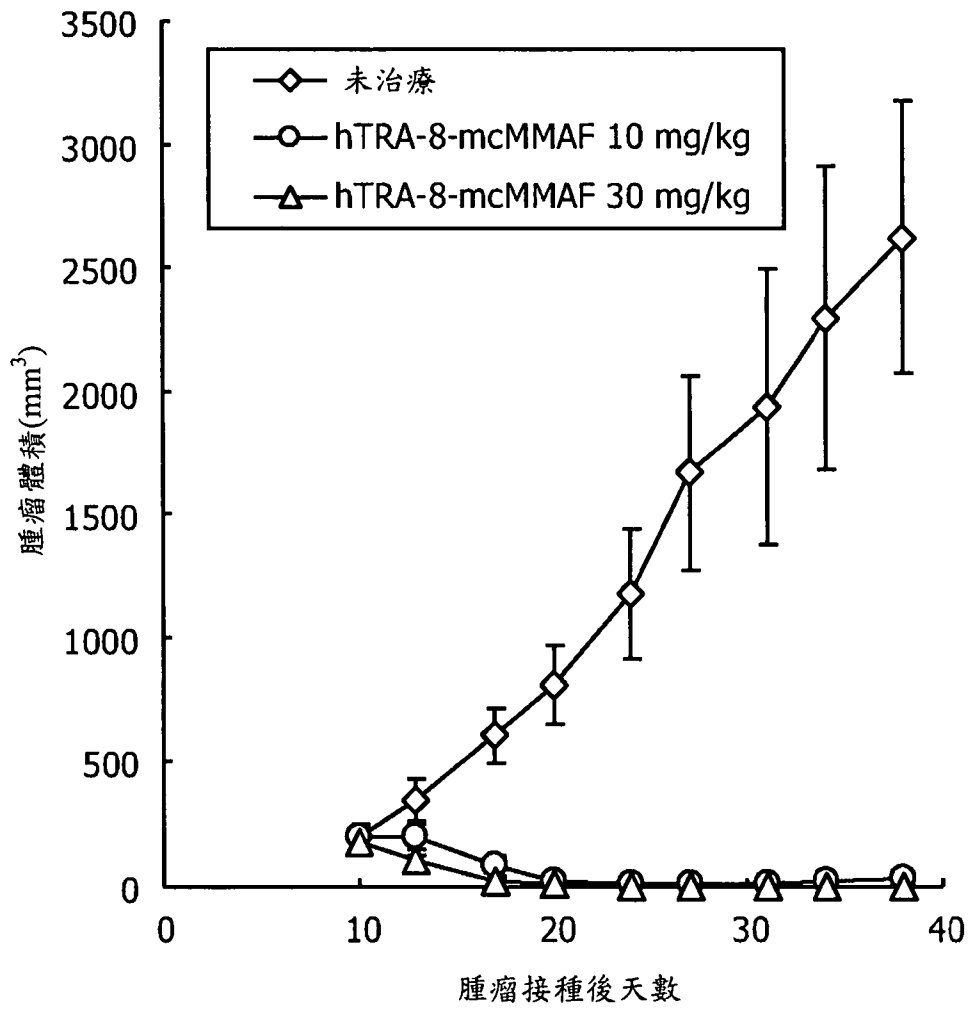
(54)名稱

D R 5 配位體藥物共軛物

DR5 LIGAND DRUG CONJUGATES

(57)摘要

本發明提供配位體藥物共軛物，其具有 DR5 結合部分經由連接基團及/或間隔體連接至治療劑，且可有效治療各種癌症。





(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201116300 A1

(43)公開日：中華民國 100 (2011) 年 05 月 16 日

(21)申請案號：099132526

(22)申請日：中華民國 99 (2010) 年 09 月 24 日

(51)Int. Cl. : *A61K47/48 (2006.01)*

A61K39/395 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

(30)優先權：2009/09/24 美國

61/245,462

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

美國

第一三共股份有限公司 (日本) DAIICHI SANKYO COMPANY, LIMITED (JP)

日本

(72)發明人：市川公久 ICHIKAWA, KIMIHISA (JP)；藤原康策 FUJIWARA, KOSAKU (JP)；好田宏子 YOSHIDA, HIROKO (JP)；矢田步美 YADA, AYUMI (JP)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：37 項 圖式數：36 共 149 頁

(54)名稱

D R 5 配位體藥物共軛物

DR5 LIGAND DRUG CONJUGATES

(57)摘要

本發明提供配位體藥物共軛物，其具有 DR5 結合部分經由連接基團及/或間隔體連接至治療劑，且可有效治療各種癌症。

六、發明說明：

本申請案主張2009年9月24日申請之美國臨時申請案第61/245,462號之優先權權利，該案之全部內容出於所有目的以引用方式併入本文中。

【先前技術】

參與細胞凋亡誘導之細胞表面受體(例如含有死亡結構域之受體)由於配位體結合而在細胞膜上多聚化，且以生物方式觸發細胞中凋亡信號之誘導(Cell Death and Differentiation, 10:66-75 (2003))。該等細胞表面受體之實例包括與腫瘤壞死因子(下文中稱為TNF)相關之細胞凋亡誘導配位體(下文中稱為TRAIL)受體家族。TRAIL係TNF蛋白質家族之成員，其包括Fas配位體及TNF- α (Wiley SR等人，Immunity 1995年12月；3(6):673-82)。該等蛋白質係有效的細胞凋亡誘導物。

TNF家族蛋白質之受體的特徵在於細胞外結構域中之富含半胱氨酸重複序列。其中，Fas(Fas配位體之受體)及TNF受體I(下文中稱為TNFRI，TNF- α 之受體)統稱為含有死亡結構域之受體。該等受體具有對凋亡信號傳導至關重要之細胞內結構域，其稱為死亡結構域且與果蠅屬(Drosophila)自殺基因reaper同源(Golstein, P.等人，(1995) Cell. 81, 185-186；White, K等人，(1994) Science 264, 677-683)。

已鑒定出五種TRAIL受體，且其中兩種受體(DR4 [TRAIL-R1]及DR5 [TRAIL-R2])能夠誘導凋亡信號傳導，

而其他三種受體(DcR1 [TRAIL-R3]、DcR2 [TRAIL-R4]及骨保護素(osteoprotegerin) [OPG])不誘導凋亡信號傳導。與Fas及TNFRI一樣，DR4及DR5之細胞內區段含有死亡結構域並經由包括Fas相關死亡結構域蛋白質(下文中稱為FADD)及半胱天冬酶-8之路徑來誘導凋亡信號傳導(Chaudhary PM等人，Immunity 1997年12月；7(6): 821-30；Schneider P等人，Immunity 1997年12月；7(6): 831-36)。

對於上文Fas、TNFRI、DR4及DR5，分別結合該等分子之激動型抗體對表面上具有該等靶分子之細胞具有細胞凋亡誘導活性(Journal of Cellular Physiology, 209: 1021-1028 (2006)；Leukemia, Apl; 21 (4): 805-812 (2007)；Blood, 99: 1666-1675 (2002)；Cellular Immunology, 1月；153 (1): 184-193 (1994))。該等激動型抗體之功效藉由與二級抗體或效應細胞交聯而增強(Journal of Immunology, 149: 3166-3173 (1992)；European Journal of Immunology, 10月；23 (10): 2676-2681 (1993))。

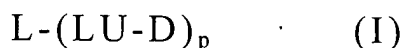
能夠結合參與細胞凋亡誘導之細胞表面受體的抗-DR5抗體當前正作為治療劑處於臨床研發中，且預期會顯示治療效果並以特異性及激動方式殺死表現該受體之細胞(癌細胞及免疫疾病相關細胞)。已提出該抗體之作用機制係藉由在抗體與受體結合之前或之後抗體分子交聯在一起形成多聚體來調介。抗體之該多聚化隨後使得抗原受體多聚化(即，細胞凋亡誘導)。看來，在活體外實驗中，需要藉由添加對抗該抗體之二級抗體實施人工交聯來增強該抗體之

活性，且在活體內，與免疫效應細胞上之Fc受體交聯係產生抗體活性所需要之作用機制。最近，已嘗試藉由改變抗體之結構來進一步增強抗體之原始功能。例如，據報導，移除抗體上之特定碳水化合物結構可改良對Fc受體之親和性。該作用機制表明細胞表面受體之非內化抗體較佳。

然而，仍然需要治療DR5表現癌症之方法。

【發明內容】

本發明尤其提供用於將藥物靶向遞送至DR5表現細胞之配位體藥物共軛物。本發明者已實施大量研究且發現，含有能夠誘導細胞凋亡之抗體的抗體-藥物共軛物比單獨該抗體具有更顯著之癌症治療效果。藉由使用本發明之抗體-藥物共軛物，抗體本身呈現細胞凋亡誘導效應且接合至抗體之藥物亦呈現治療效果。由於該等原因，該抗體-藥物共軛物對單獨抗體不能有效治療之患者具有有效的治療效果。本文所述之配位體藥物共軛物對表現DR5之細胞(例如表現DR5之癌細胞)具有強效細胞毒性及/或細胞生長抑制活性。在一些實施例中，配位體藥物共軛物具有下式：



其中L係配位體單元，LU係連接體單元且D係藥物單元(或細胞毒性劑)。下標p係1至20之整數。因此，配位體藥物共軛物包含共價連接到至少一個藥物單元之配位體單元。藥物單元可直接或經由連接體單元(-LU-)共價連接。下文更全面闡述之配位體單元係DR5結合劑，例如抗-DR5抗

體。因此，本發明亦提供治療例如各種癌症之方法。該等方法涵蓋使用配位體單元係特異性結合DR5之抗-DR5結合劑的配位體藥物共軛物。DR5結合劑可為例如抗-DR5抗體、抗-DR5抗原結合片段、或包含人類化抗體重鏈及/或輕鏈可變區之胺基酸序列的其他DR5結合劑、或其衍生物。

【實施方式】

定義及縮寫

除非文中另有說明，否則當在本文中使用的商品名時，提及商品名亦指商品名產品之產品調配物、學名藥(generic drug)及活性醫藥成份。

本文所用之術語「DR5結合劑」及「抗-DR5結合劑」係指特異性結合DR5之分子(例如，蛋白質)。實例可包括全長抗-DR5抗體、全長抗-DR5抗體之片段、或包括抗體重鏈及/或輕鏈可變區之其他藥劑、及其衍生物。

本文所用之術語「抑制(inhibit或inhibition of)」意指降低可量測的量或完全阻止。

在DR5結合劑對DR5表現細胞之效果的上下文中，術語「消滅(deplete)」係指減少DR5表現細胞之數量或消除該等細胞。

術語「化合物」係指且涵蓋化學化合物本身以及以下物質(無論是否明確陳述，且除非上下文明確指出排除以下物質)：化合物之非晶形及結晶形式，包括多晶形式，其中該等形式可為混合物之一部分或處於分離狀態；化合

物之游離酸及游離鹼形式，其通常為本文所提供結構中所顯示的形式；化合物之異構體，其係指光學異構體及互變異構體，其中光學異構體包括對映異構體及非對映異構體、對掌性異構體及非對掌性異構體，且光學異構體包括分離的光學異構體以及光學異構體混合物，包括外消旋及非外消旋混合物；其中異構體可呈分離形式或呈與一或多種其他異構體之混合物形式；化合物之同位素，包括含有氘及氚之化合物，且包括含有放射性同位素(包括治療及診斷上有效之放射性同位素)之化合物；化合物之多聚形式，包括二聚、三聚等形式；化合物之鹽，較佳為醫藥上可接受之鹽，包括酸加成鹽及鹼加成鹽，包括具有有機抗衡離子及無機抗衡離子之鹽，且包括兩性離子形式，其中若化合物涉及兩種或更多種抗衡離子，則該兩種或更多種抗衡離子可相同或不同；及化合物之溶劑合物，包括半溶劑合物、單溶劑合物、二溶劑合物等，包括有機溶劑合物及無機溶劑合物，該等無機溶劑合物包括水合物；其中若化合物涉及兩種或更多種溶劑分子，則該兩種或更多種溶劑分子可相同或不同。在一些情形下，在本文中提及本發明化合物將包括明確提及上述形式中之一或多種形式，例如，鹽及/或溶劑合物，然而，該提及僅出於強調目的，且不應理解為排除其他上文確定之上述形式。

除非另有說明，否則術語「烷基」係指具有約1個至約20個碳原子(以及其中碳原子之範圍及具體數目的所有組合及次組合)之飽和直鏈或具支鏈烴，其中約1個至約8個

碳原子較佳。烷基之實例係甲基、乙基、正丙基、異丙基、正丁基、異丁基、第二丁基、第三丁基、正戊基、2-戊基、3-戊基、2-甲基-2-丁基、正己基、正庚基、正辛基、正壬基、正癸基、3-甲基-2-丁基、3-甲基-1-丁基、2-甲基-1-丁基、1-己基、2-己基、3-己基、2-甲基-2-戊基、3-甲基-2-戊基、4-甲基-2-戊基、3-甲基-3-戊基、2-甲基-3-戊基、2,3-二甲基-2-丁基及3,3-二甲基-2-丁基。

無論單獨抑或作為另一基團之一部分，烷基可以「經取代」形式提及。經取代烷基係經一或多個基團、較佳1至3個基團(及選自鹵素之任何其他取代基)取代之烷基，該等基團包括(但不限於)-鹵素、-O-(C₁-C₈烷基)、-O-(C₂-C₈烯基)、-O-(C₂-C₈炔基)、-芳基、-C(O)R'、-OC(O)R'、-C(O)OR'、-C(O)NH₂、-C(O)NHR'、-C(O)N(R')₂、-NHC(O)R'、-SR'、-SO₃R'、-S(O)₂R'、-S(O)R'、-OH、=O、-N₃、-NH₂、-NH(R')、-N(R')₂及-CN，其中各R'獨立地選自-H、-C₁-C₈烷基、-C₂-C₈烯基、-C₂-C₈炔基或-芳基，且其中該-O-(C₁-C₈烷基)、-O-(C₂-C₈烯基)、-O-(C₂-C₈炔基)、-芳基、-C₁-C₈烷基、-C₂-C₈烯基及-C₂-C₈炔基可視情況經一或多個包括(但不限於)以下之基團進一步取代：-C₁-C₈烷基、-C₂-C₈烯基、-C₂-C₈炔基、-鹵素、-O-(C₁-C₈烷基)、-O-(C₂-C₈烯基)、-O-(C₂-C₈炔基)、-芳基、-C(O)R''、-OC(O)R''、-C(O)OR''、-C(O)NH₂、-C(O)NHR''、-C(O)N(R'')₂、-NHC(O)R''、-SR''、-SO₃R''、-S(O)₂R''、-S(O)R''、-OH、-N₃、-NH₂、-NH(R'')、-N(R'')₂及-CN，其中各R''獨

立地選自 $-H$ 、 $-C_1-C_8$ 烷基、 $-C_2-C_8$ 烯基、 $-C_2-C_8$ 炔基或 -芳基。

除非另有說明，否則術語「烯基」及「炔基」係指具有約2個至約20個碳原子(以及其中碳原子之範圍及具體數目的所有組合及次組合)之直鏈及具支鏈碳鏈，其中約2個至約8個碳原子較佳。烯基鏈在鏈中具有至少一個雙鍵，而炔基鏈在鏈中具有至少一個三鍵。烯基之實例包括(但不限於)乙烯基(ethylene或vinyl)、烯丙基、-1-丁烯基、-2-丁烯基、-異丁烯基、-1-戊烯基、-2-戊烯基、-3-甲基-1-丁烯基、-2-甲基-2-丁烯基及-2,3-二甲基-2-丁烯基。炔基之實例包括(但不限於)炔屬基團(acetylenic)、炔丙基、乙炔基、丙炔基、-1-丁炔基、-2-丁炔基、-1-戊炔基、-2-戊炔基及-3-甲基-1-丁炔基。

與烷基一樣，烯基及炔基可經取代。「經取代」烯基或炔基係經一或多個基團、較佳1至3個基團(及選自鹵素之任何其他取代基)取代之烯基或炔基，該等基團包括(但不限於)-鹵素、 $-O-(C_1-C_8\text{烷基})$ 、 $-O-(C_2-C_8\text{烯基})$ 、 $-O-(C_2-C_8\text{炔基})$ 、-芳基、 $-C(O)R'$ 、 $-OC(O)R'$ 、 $-C(O)OR'$ 、 $-C(O)NH_2$ 、 $-C(O)NHR'$ 、 $-C(O)N(R')_2$ 、 $-NHC(O)R'$ 、 $-SR'$ 、 $-SO_3R'$ 、 $-S(O)_2R'$ 、 $-S(O)R'$ 、 $-OH$ 、 $=O$ 、 $-N_3$ 、 $-NH_2$ 、 $-NH(R')$ 、 $-N(R')_2$ 及 $-CN$ ，其中各 R' 獨立地選自 $-H$ 、 $-C_1-C_8$ 烷基、 $-C_2-C_8$ 烯基、 $-C_2-C_8$ 炔基或-芳基，且其中該 $-O-(C_1-C_8\text{烷基})$ 、 $-O-(C_2-C_8\text{烯基})$ 、 $-O-(C_2-C_8\text{炔基})$ 、-芳基、 $-C_1-C_8$ 烷基、 $-C_2-C_8$ 烯基及 $-C_2-C_8$ 炔基可視情況經一或多個包括(但不限於)

以下之取代基進一步取代： $-C_1-C_8$ 烷基、 $-C_2-C_8$ 烯基、 $-C_2-C_8$ 炔基、-鹵素、 $-O-(C_1-C_8$ 烷基)、 $-O-(C_2-C_8$ 烯基)、 $-O-(C_2-C_8$ 炔基)、-芳基、 $-C(O)R''$ 、 $-OC(O)R''$ 、 $-C(O)OR''$ 、 $-C(O)NH_2$ 、 $-C(O)NHR''$ 、 $-C(O)N(R'')_2$ 、 $-NHC(O)R''$ 、 $-SR''$ 、 $-SO_3R''$ 、 $-S(O)_2R''$ 、 $-S(O)R''$ 、 $-OH$ 、 $-N_3$ 、 $-NH_2$ 、 $-NH(R'')$ 、 $-N(R'')_2$ 及 $-CN$ ，其中各 R'' 獨立地選自 $-H$ 、 $-C_1-C_8$ 烷基、 $-C_2-C_8$ 烯基、 $-C_2-C_8$ 炔基或-芳基。

除非另有說明，否則術語「伸烷基」係指如下飽和具支鏈或直鏈烴基團：具有約1個至約20個碳原子(以及其中碳原子之範圍及具體數目的所有組合及次組合)，其中約1個至約8個碳原子較佳；且具有藉由自母體烷烴之相同或兩個不同碳原子移除兩個氫原子而得到之兩個單價基團中心。典型伸烷基包括(但不限於)亞甲基、伸乙基、伸丙基、伸丁基、伸戊基、伸己基、伸庚基、伸辛基、伸壬基、伸癸基、1,4-伸環己基及諸如此類。無論單獨抑或作為另一基團之一部分，伸烷基可視情況經一或多個基團、較佳1至3個基團(及選自鹵素之任何其他取代基)取代，該等基團包括(但不限於)-鹵素、 $-O-(C_1-C_8$ 烷基)、 $-O-(C_2-C_8$ 烯基)、 $-O-(C_2-C_8$ 炔基)、-芳基、 $-C(O)R'$ 、 $-OC(O)R'$ 、 $-C(O)OR'$ 、 $-C(O)NH_2$ 、 $-C(O)NHR'$ 、 $-C(O)N(R')_2$ 、 $-NHC(O)R'$ 、 $-SR'$ 、 $-SO_3R'$ 、 $-S(O)_2R'$ 、 $-S(O)R'$ 、 $-OH$ 、 $=O$ 、 $-N_3$ 、 $-NH_2$ 、 $-NH(R')$ 、 $-N(R')_2$ 及 $-CN$ ，其中各 R' 獨立地選自 $-H$ 、 $-C_1-C_8$ 烷基、 $-C_2-C_8$ 烯基、 $-C_2-C_8$ 炔基或-芳基，且其中該 $-O-(C_1-C_8$ 烷基)、 $-O-(C_2-C_8$ 烯基)、 $-O-(C_2-C_8$

炔基)、-芳基、-C₁-C₈烷基、-C₂-C₈烯基及-C₂-C₈炔基可視情況經一或多個包括(但不限於)以下之取代基進一步取代：-C₁-C₈烷基、-C₂-C₈烯基、-C₂-C₈炔基、-鹵素、-O-(C₁-C₈烷基)、-O-(C₂-C₈烯基)、-O-(C₂-C₈炔基)、-芳基、-C(O)R''、-OC(O)R''、-C(O)OR''、-C(O)NH₂、-C(O)NHR''、-C(O)N(R'')₂、-NHC(O)R''、-SR''、-SO₃R''、-S(O)₂R''、-S(O)R''、-OH、-N₃、-NH₂、-NH(R'')、-N(R'')₂及-CN，其中各R''獨立地選自-H、-C₁-C₈烷基、-C₂-C₈烯基、-C₂-C₈炔基或-芳基。

除非另有說明，否則術語「伸烯基」係指含有至少一個碳碳雙鍵之視情況經取代之伸烷基。實例性伸烯基基團包括(例如)伸乙烯基(-CH=CH-)及伸丙烯基(-CH=CHCH₂-)。

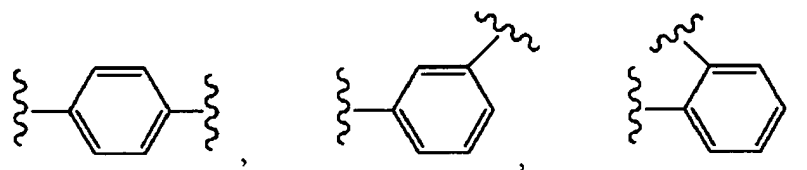
除非另有說明，否則術語「伸炔基」係指含有至少一個碳碳三鍵之視情況經取代之伸烷基。實例性伸炔基基團包括(例如)伸乙炔基(-C≡C-)、炔丙基(-CH₂C≡C-)及4-戊炔基(-CH₂CH₂CH₂C≡CH-)。

除非另有說明，否則術語「芳基」係指藉由自母體芳香族環系統之單一碳原子移除一個氫原子而得到之具有6-20個碳原子(以及其中碳原子之範圍及具體數目的所有組合及次組合)之單價芳香族烴基團。一些芳基在實例性結構中表示成「Ar」。典型芳基包括(但不限於)衍生自苯、經取代苯、苯基、萘、蒽、聯苯及諸如此類之基團。

無論單獨抑或作為另一基團之一部分，芳基可視情況經一或多個、較佳1至5個或甚至1至2個基團取代，該等基團

包括(但不限於)-鹵素、 $-C_1-C_8$ 烷基、 $-C_2-C_8$ 烯基、 $-C_2-C_8$ 炔基、 $-O-(C_1-C_8$ 烷基)、 $-O-(C_2-C_8$ 烯基)、 $-O-(C_2-C_8$ 炔基)、 $-$ 芳基、 $-C(O)R'$ 、 $-OC(O)R'$ 、 $-C(O)OR'$ 、 $-C(O)NH_2$ 、 $-C(O)NHR'$ 、 $-C(O)N(R')_2$ 、 $-NHC(O)R'$ 、 $-SR'$ 、 $-SO_3R'$ 、 $-S(O)_2R'$ 、 $-S(O)R'$ 、 $-OH$ 、 $-NO_2$ 、 $-N_3$ 、 $-NH_2$ 、 $-NH(R')$ 、 $-N(R')_2$ 及 $-CN$ ，其中各 R' 獨立地選自 $-H$ 、 $-C_1-C_8$ 烷基、 $-C_2-C_8$ 烯基、 $-C_2-C_8$ 炔基或 $-$ 芳基，且其中該 $-C_1-C_8$ 烷基、 $-C_2-C_8$ 烯基、 $-C_2-C_8$ 炔基、 $-O-(C_1-C_8$ 烷基)、 $-O-(C_2-C_8$ 烯基)、 $-O-(C_2-C_8$ 炔基)及 $-$ 芳基可視情況經一或多個包括(但不限於)以下之取代基進一步取代： $-C_1-C_8$ 烷基、 $-C_2-C_8$ 烯基、 $-C_2-C_8$ 炔基、 $-$ 鹵素、 $-O-(C_1-C_8$ 烷基)、 $-O-(C_2-C_8$ 烯基)、 $-O-(C_2-C_8$ 炔基)、 $-$ 芳基、 $-C(O)R''$ 、 $-OC(O)R''$ 、 $-C(O)OR''$ 、 $-C(O)NH_2$ 、 $-C(O)NHR''$ 、 $-C(O)N(R'')_2$ 、 $-NHC(O)R''$ 、 $-SR''$ 、 $-SO_3R''$ 、 $-S(O)_2R''$ 、 $-S(O)R''$ 、 $-OH$ 、 $-N_3$ 、 $-NH_2$ 、 $-NH(R'')$ 、 $-N(R'')_2$ 及 $-CN$ ，其中各 R'' 獨立地選自 $-H$ 、 $-C_1-C_8$ 烷基、 $-C_2-C_8$ 烯基、 $-C_2-C_8$ 炔基或 $-$ 芳基。

除非另有說明，否則術語「伸芳基」係指視情況經取代之二價芳基(即，藉由自母體芳香族環系統之相同或兩個不同碳原子移除兩個氫原子而得到)，且可如以下結構中所示呈鄰位、間位或對位構型，其中以苯基作為實例性芳基：



典型「 $-(C_1-C_8\text{伸烷基})\text{芳基}$ 」、「 $-(C_2-C_8\text{伸烯基})\text{芳基}$ 」及「 $-(C_2-C_8\text{伸炔基})\text{芳基}$ 」基團包括(但不限於)苄基、2-苯基乙烷-1-基、2-苯基乙烯-1-基、萘基甲基、2-萘基乙烷-1-基、2-萘基乙烯-1-基、萘并苄基、2-萘并苯基乙烷-1-基及諸如此類。

除非另有說明，否則術語「雜環」係指具有3至14個環原子(亦稱為環成員)且其中至少一個環中之至少一個環原子係選自N、O、P或S之雜原子(以及其中碳原子及雜原子之範圍及具體數目的所有組合及次組合)的單環狀、二環狀或多環狀環系統。該雜環可具有1至4個獨立地選自N、O、P或S之環雜原子。雜環中之一或多個N、C或S原子可經氧化。單環狀雜環較佳具有3至7個環成員(例如，2至6個碳原子及1至3個獨立地選自N、O、P或S之雜原子)，且二環狀雜環較佳具有5至10個環成員(例如，4至9個碳原子及1至3個獨立地選自N、O、P或S之雜原子)。包括雜原子之環可為芳香族或非芳香族環。除非另有說明，否則雜環可在任何雜原子或碳原子處連接至其側基，從而產生穩定結構。

雜環闡述於Paquette，「Principles of Modern Heterocyclic Chemistry」(W.A. Benjamin, New York, 1968)，尤其第1、3、4、6、7及9篇；「The Chemistry of Heterocyclic Compounds, A series of Monographs」(John Wiley & Sons, New York, 1950年至今)，尤其第13、14、16、19及28卷；及J. Am. Chem. Soc. 82:5566 (1960)。

除非另有說明，否則術語「雜環基(heterocyclo)」係指視情況經取代之二價(即，藉由自母體雜環狀環系統之相同或兩個不同碳原子移除兩個氫原子而得到)的如上文所定義之雜環基團。

「雜環」基團之實例包括(例如且不加以限制)吡啶基、二氫吡啶基、四氫吡啶基(六氫吡啶基)、噻唑基、嘧啶基、呋喃基、噻吩基、吡咯基、吡唑基、咪唑基、四唑基、苯并呋喃基、萘硫基(thianaphthalenyl)、吡啶基、假吡啶基、喹啉基、異喹啉基、苯并咪唑基、六氫吡啶基、4-六氫吡啶酮基、吡咯啶基、2-吡咯啶酮基、吡咯啉基、四氫呋喃基、雙-四氫呋喃基、四氫吡喃基、雙-四氫吡喃基、四氫喹啉基、四氫異喹啉基、十氫喹啉基、八氫異喹啉基、氮呋基、三嗪基、6H-1,2,5-噻二嗪基、2H,6H-1,5,2-二噻嗪基、噻吩基、噻蒾基、吡喃基、異苯并呋喃基、苯并吡喃基、咕啞基、啡噁噻基、2H-吡咯基、異噻唑基、異噁唑基、吡嗪基、嗒嗪基、中氮茛基、異吡啶基、3H-吡啶基、1H-吡啶基、嘌呤基、4H-喹嗪基、呋嗪基、萘啶基、喹啉基、喹啉基、吡啶基、喋啶基、4H-呋嗪基、呋嗪基、 β -呋喃基、啡啶基、呋啶基、嘧啶基、啡喃基、啡嗪基、啡噻嗪基、呋咕基、啡噁嗪基、異苯并二氫吡喃基、苯并二氫吡喃基、咪唑啶基、咪唑啉基、吡啶啶基、吡啶啉基、六氫吡嗪基、二氫吡啶基、異二氫吡啶基、吡啶基、嗎啉基、噁啶基、苯并三唑基、苯并異噁唑基、羥吡啶基、苯并噁唑啉基及靛紅基

(isatinoyl)。較佳之「雜環」基團包括(但不限於)苯并呋喃基、苯并苯硫基、吲哚基、苯并吡啶基、香豆素基(coumarinyl)、異喹啉基、吡咯基、苯硫基、呋喃基、噻唑基、咪唑基、吡唑基、三唑基、喹啉基、嘧啶基、吡啶基、吡啶酮基、吡嗪基、噻嗪基、異噻唑基、異噁唑基及四唑基。

無論單獨抑或作為另一基團之一部分，雜環基團可視情況經一或多個基團、較佳1至2個基團取代，該等基團包括但不限於 $-C_1-C_8$ 烷基、 $-C_2-C_8$ 烯基、 $-C_2-C_8$ 炔基、-鹵素、 $-O-(C_1-C_8$ 烷基)、 $-O-(C_2-C_8$ 烯基)、 $-O-(C_2-C_8$ 炔基)、-芳基、 $-C(O)R'$ 、 $-OC(O)R'$ 、 $-C(O)OR'$ 、 $-C(O)NH_2$ 、 $-C(O)NHR'$ 、 $-C(O)N(R')_2$ 、 $-NHC(O)R'$ 、 $-SR'$ 、 $-SO_3R'$ 、 $-S(O)_2R'$ 、 $-S(O)R'$ 、 $-OH$ 、 $-N_3$ 、 $-NH_2$ 、 $-NH(R')$ 、 $-N(R')_2$ 及 $-CN$ ，其中各 R' 獨立地選自 $-H$ 、 $-C_1-C_8$ 烷基、 $-C_2-C_8$ 烯基、 $-C_2-C_8$ 炔基或-芳基，且其中該 $-O-(C_1-C_8$ 烷基)、 $-O-(C_2-C_8$ 烯基)、 $-O-(C_2-C_8$ 炔基)、 $-C_1-C_8$ 烷基、 $-C_2-C_8$ 烯基、 $-C_2-C_8$ 炔基及-芳基可視情況經一或多個包括(但不限於)以下之取代基進一步取代： $-C_1-C_8$ 烷基、 $-C_2-C_8$ 烯基、 $-C_2-C_8$ 炔基、-鹵素、 $-O-(C_1-C_8$ 烷基)、 $-O-(C_2-C_8$ 烯基)、 $-O-(C_2-C_8$ 炔基)、-芳基、 $-C(O)R''$ 、 $-OC(O)R''$ 、 $-C(O)OR''$ 、 $-C(O)NH_2$ 、 $-C(O)NHR''$ 、 $-C(O)N(R'')_2$ 、 $-NHC(O)R''$ 、 $-SR''$ 、 $-SO_3R''$ 、 $-S(O)_2R''$ 、 $-S(O)R''$ 、 $-OH$ 、 $-N_3$ 、 $-NH_2$ 、 $-NH(R'')$ 、 $-N(R'')_2$ 及 $-CN$ ，其中各 R'' 獨立地選自 $-H$ 、 $-C_1-C_8$ 烷基、 $-C_2-C_8$ 烯基、 $-C_2-C_8$ 炔基或芳

基。

例如且不加以限制，碳鍵結之雜環可在以下位置鍵結：吡啶之2、3、4、5或6位；嗒嗒之3、4、5或6位；嘧啶之2、4、5或6位；吡嗒之2、3、5或6位；呋喃、四氫呋喃、硫代呋喃、噻吩、吡咯或四氫吡咯之2、3、4或5位；噁唑、咪唑或噻唑之2、4或5位；異噁唑、吡唑或異噻唑之3、4或5位；氮丙啶之2或3位；氮雜環丁烷之2、3或4位；喹啉之2、3、4、5、6、7或8位；或異喹啉之1、3、4、5、6、7或8位。仍更通常地，碳鍵結之雜環包括2-吡啶基、3-吡啶基、4-吡啶基、5-吡啶基、6-吡啶基、3-嗒嗒基、4-嗒嗒基、5-嗒嗒基、6-嗒嗒基、2-嘧啶基、4-嘧啶基、5-嘧啶基、6-嘧啶基、2-吡嗒基、3-吡嗒基、5-吡嗒基、6-吡嗒基、2-噻唑基、4-噻唑基或5-噻唑基。

例如且不加以限制，氮鍵結之雜環可在以下位置鍵結：氮丙啶、氮雜環丁烷、吡咯、吡咯啶、2-吡咯啉、3-吡咯啉、咪唑、咪唑啶、2-咪唑啉、3-咪唑啉、吡唑、吡唑啉、2-吡唑啉、3-吡唑啉、六氫吡啶、六氫吡嗒、吲哚、二氫吲哚或1H-吲哚之1位；異吲哚或異二氫吲哚之2位；嗎啉之4位；及呋唑或β-呋啉之9位。仍更通常地，氮鍵結之雜環包括1-氮丙啶基、1-氮雜環丁基、1-吡咯基、1-咪唑基、1-吡唑基及1-六氫吡啶基。

除非另有說明，否則術語「碳環」係指具有3至14個環原子(以及其中碳原子之範圍及具體數目的所有組合及次組合)之飽和或不飽和的非芳香族單環狀、二環狀或多環

狀環系統，其中所有環原子均為碳原子。單環狀碳環較佳具有3至6個環原子，仍更佳地具有5或6個環原子。二環狀碳環較佳具有7至12個環原子，例如，以二環[4,5]、[5,5]、[5,6]或[6,6]系統排列；或具有9或10個環原子，以二環[5,6]或[6,6]系統排列。術語「碳環」包括(例如)稠合至芳基環之單環狀碳環(例如，稠合至苯環之單環狀碳環)。碳環較佳具有3至8個碳環原子。

無論單獨抑或作為另一基團之一部分，碳環基團可視情況經例如一或多個基團、較佳1或2個基團(及選自鹵素之任何其他取代基)取代，該等基團包括(但不限於)-鹵素、 $-C_1-C_8$ 烷基、 $-C_2-C_8$ 烯基、 $-C_2-C_8$ 炔基、 $-O-(C_1-C_8$ 烷基)、 $-O-(C_2-C_8$ 烯基)、 $-O-(C_2-C_8$ 炔基)、-芳基、 $-C(O)R'$ 、 $-OC(O)R'$ 、 $-C(O)OR'$ 、 $-C(O)NH_2$ 、 $-C(O)NHR'$ 、 $-C(O)N(R')_2$ 、 $-NHC(O)R'$ 、 $-SR'$ 、 $-SO_3R'$ 、 $-S(O)_2R'$ 、 $-S(O)R'$ 、 $-OH$ 、 $=O$ 、 $-N_3$ 、 $-NH_2$ 、 $-NH(R')$ 、 $-N(R')_2$ 及 $-CN$ ，其中各 R' 獨立地選自 $-H$ 、 $-C_1-C_8$ 烷基、 $-C_2-C_8$ 烯基、 $-C_2-C_8$ 炔基或-芳基，且其中該 $-C_1-C_8$ 烷基、 $-C_2-C_8$ 烯基、 $-C_2-C_8$ 炔基、 $-O-(C_1-C_8$ 烷基)、 $-O-(C_2-C_8$ 烯基)、 $-O-(C_2-C_8$ 炔基)及-芳基可視情況經一或多個包括(但不限於)以下之取代基進一步取代： $-C_1-C_8$ 烷基、 $-C_2-C_8$ 烯基、 $-C_2-C_8$ 炔基、-鹵素、 $-O-(C_1-C_8$ 烷基)、 $-O-(C_2-C_8$ 烯基)、 $-O-(C_2-C_8$ 炔基)、-芳基、 $-C(O)R''$ 、 $-OC(O)R''$ 、 $-C(O)OR''$ 、 $-C(O)NH_2$ 、 $-C(O)NHR''$ 、 $-C(O)N(R'')_2$ 、 $-NHC(O)R''$ 、 $-SR''$ 、 $-SO_3R''$ 、 $-S(O)_2R''$ 、 $-S(O)R''$ 、 $-OH$ 、 $-N_3$ 、 $-NH_2$ 、

-NH(R'')、-N(R'')₂及-CN，其中各R''獨立地選自-H、-C₁-C₈烷基、-C₂-C₈烯基、-C₂-C₈炔基或-芳基。

單環狀碳環取代基之實例包括-環丙基、-環丁基、-環戊基、-1-環戊-1-烯基、-1-環戊-2-烯基、-1-環戊-3-烯基、環己基、-1-環己-1-烯基、-1-環己-2-烯基、-1-環己-3-烯基、-環庚基、-環辛基、-1,3-環己二烯基、-1,4-環己二烯基、-1,3-環庚二烯基、-1,3,5-環庚三烯基及-環辛二烯基。

無論單獨抑或作為另一基團之一部分使用，「碳環基(carbocyclo)」係指視情況經取代之二價(即，藉由自母體碳環系統之相同或兩個不同碳原子移除兩個氫原子而得到)的如上文所定義之碳環基團。

除非上下文另有說明，否則連字號(-)表示與懸垂分子(pendant molecule)的連接點。因此，術語「-(C₁-C₈伸烷基)芳基」或「-C₁-C₈伸烷基(芳基)」係指如下之如本文所定義之C₁-C₈伸烷基基團：伸烷基基團在該伸烷基基團之任一碳原子處連接至懸垂分子且鍵結至該伸烷基基團之碳原子之一個氫原子被如本文所定義之芳基基團替換。

當特定基團係「經取代」時，該基團可具有一或多個取代基、較佳地1至5個取代基、更佳地1至3個取代基、最佳地1至2個取代基，該等取代基獨立地選自取代基列表。然而，該基團通常可具有任何數量之選自鹵素之取代基。經取代基團係如此簡要地說明。

分子中特定位置上任何取代基或變量之定義意欲獨立於該分子中其他地方之定義。應瞭解，熟習此項技術者可選

擇本發明化合物上之取代基及取代模式，以提供化學上穩定且可藉由業內已知技術以及彼等下文所述方法容易地合成的化合物。

本文所用之保護基團係指選擇性地阻斷(暫時地或永久地)多官能團化合物中之一個反應位點的基團。適用於本發明之羥基-保護基團係醫藥上可接受的，且可需要或可不需要在投予至個體後自母體化合物裂解以使化合物具有活性。在體內通過正常的代謝過程進行裂解。羥基保護基團已為熟習此項技術者所熟知，參見，PROTECTIVE GROUPS IN ORGANIC SYNTHESIS, T. W. Greene及P. G. M. Wuts(John Wiley & sons, 第3版)，該文獻之全部內容出於所有目的以引用方式併入本文中，且包括例如醚(例如，烷基醚及甲矽烷基醚，包括例如二烷基甲矽烷基醚、三烷基甲矽烷基醚、二烷基烷氧基甲矽烷基醚)、酯、碳酸酯、胺基甲酸酯、磺酸酯及磷酸酯保護基團。羥基保護基團之實例包括(但不限於)甲基醚；甲氧基甲基醚、甲基硫代甲基醚、(苯基二甲基甲矽烷基)甲氧基甲基醚、苄基氧基甲基醚、對-甲氧基苄基氧基甲基醚、對-硝基苄基氧基甲基醚、鄰-硝基苄基氧基甲基醚、(4-甲氧基苯氧基)甲基醚、愈創木酚甲基醚、第三丁氧基甲基醚、4-戊烯基氧基甲基醚、甲矽烷氧基甲基醚、2-甲氧基乙氧基甲基醚、2,2,2-三氯乙氧基甲基醚、雙(2-氯乙氧基)甲基醚、2-(三甲基甲矽烷基)乙氧基甲基醚、甲氧基甲基醚、四氫吡喃基醚、1-甲氧基環己基醚、4-甲氧基四氫硫代吡喃基醚、

4-甲氧基四氫硫代吡喃基醚S,S-二氧化物、1-[(2-氯-4-甲基)苯基]-4-甲氧基六氫吡啶-4-基醚、1-(2-氟苯基)-4-甲氧基六氫吡啶-4-基醚、1,4-二噁烷-2-基醚、四氫呋喃基醚、四氫硫代呋喃基醚；經取代乙基醚，例如1-乙氧基乙基醚、1-(2-氯乙氧基)乙基醚、1-[2-(三甲基甲矽烷基)乙氧基]乙基醚、1-甲基-1-甲氧基乙基醚、1-甲基-1-苄基氧基乙基醚、1-甲基-1-苄基氧基-2-氟乙基醚、1-甲基-1-苯氧基乙基醚、2-三甲基甲矽烷基醚、第三丁基醚、烯丙基醚、炔丙基醚、對-氯苯基醚、對-甲氧基苯基醚、苄基醚、對-甲氧基苄基醚、3,4-二甲氧基苄基醚、三甲基甲矽烷基醚、三乙基甲矽烷基醚、三丙基甲矽烷基醚、二甲基異丙基甲矽烷基醚、二乙基異丙基甲矽烷基醚、二甲基己基甲矽烷基醚、第三丁基二甲基甲矽烷基醚、二苯基甲基甲矽烷基醚、苯甲醯基甲酸酯、乙酸酯、氯乙酸酯、二氯乙酸酯、三氯乙酸酯、三氟乙酸酯、甲氧基乙酸酯、三苯基甲氧基乙酸酯、苯基乙酸酯、苯甲酸酯、烷基甲基碳酸酯、烷基9-芡基甲基碳酸酯、烷基乙基碳酸酯、烷基2,2,2,-三氯乙基碳酸酯、1,1-二甲基-2,2,2-三氯乙基碳酸酯、烷基磺酸酯、甲烷磺酸酯、苄基磺酸酯、甲苯磺酸酯、亞甲基縮醛、亞乙基縮醛及第三丁基亞甲基縮酮。較佳之保護基團由式-R、-Si(R)(R)(R)、-C(O)R、-C(O)OR、-C(O)NH(R)、-S(O)₂R、-S(O)₂OH、P(O)(OH)₂及-P(O)(OH)OR表示，其中R係C₁-C₂₀烷基、C₂-C₂₀烯基、C₂-C₂₀炔基、-C₁-C₂₀伸烷基(碳環)、-C₂-C₂₀伸烯基(碳環)、-C₂-C₂₀伸炔

基(碳環)、 $-C_6-C_{10}$ 芳基、 $-C_1-C_{20}$ 伸烷基(芳基)、 $-C_2-C_{20}$ 伸烯基(芳基)、 $-C_2-C_{20}$ 伸炔基(芳基)、 $-C_1-C_{20}$ 伸烷基(雜環)、 $-C_2-C_{20}$ 伸烯基(雜環)或 $-C_2-C_{20}$ 伸炔基(雜環)，其中該等烷基、烯基、炔基、伸烷基、伸烯基、伸炔基、芳基、碳環及雜環基團無論單獨抑或作為另一基團之一部分皆視情況經取代。

縮寫「AFP」係指二甲基纈胺酸-纈胺酸-D,L-異白胺酸(dolaisoleuine)-D,L-脯胺酸(dolaproine)-苯丙胺酸-對-伸苯基二胺(參見下文式XVIII)。

縮寫「MMAE」係指單甲基奧瑞司他汀(auristatin) E(參見下文式XIII)。

縮寫「AEB」係指藉由使奧瑞司他汀E與對乙醯基苯甲酸反應而生成之酯(參見下文式XXII)。

縮寫「AEVB」係指藉由使奧瑞司他汀E與苯甲醯基戊酸反應而生成之酯(參見下文式XXIII)。

縮寫「MMAF」係指D-纈胺酸-纈胺酸-D,L-異白胺酸-D,L-脯胺酸-苯丙胺酸(參見下文式XXI)。

術語「醫藥上可接受的」意指已獲得聯邦或州政府管理機構批准或已列於美國藥典(U.S. Pharmacopeia)或其他公認藥典中可用於動物(且更具體而言用於人類)中。術語「醫藥上相容之成份」係指與抗體或抗體衍生物一起投予之醫藥上可接受之稀釋劑、佐劑、賦形劑或媒劑。

術語「動物」係指人類、非人類哺乳動物(例如，狗、貓、兔、牛、馬、綿羊、山羊、豬、鹿及諸如此類)及非

哺乳動物(例如，禽類及諸如此類)。

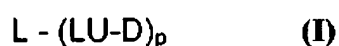
概述

本文所述方法涵蓋使用配位體單元係特異性結合DR5之抗-DR5結合劑的配位體藥物共軛物。DR5結合劑可為例如抗-DR5抗體、抗-DR5抗原結合片段、或包含人類化抗體重鏈及/或輕鏈可變區之胺基酸序列的其他DR5結合劑、或其衍生物。

配位體藥物共軛物

本發明尤其提供用於靶向遞送藥物之配位體藥物共軛物。本發明者已發現，該等配位體藥物共軛物對表現DR5之細胞具有強效細胞毒性及/或細胞生長抑制活性。該等配位體藥物共軛物包含共價連接到至少一個藥物單元之配位體單元。藥物單元可直接或經由連接體單元(-LU-)共價連接。

在一些實施例中，配位體藥物共軛物具有下式：



或其醫藥上可接受之鹽；其中：

L係配位體單元，即，本發明之DR5結合劑；且

(LU-D)係連接體單元-藥物單元部分，其中：

LU-係連接體單元，且

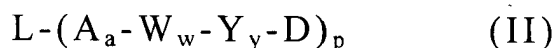
-D係對靶細胞具有細胞生長抑制或細胞毒性活性之藥物單元；且

p介於1至20之間。

在一些實施例中，p介於1至10、1至9、1至8、1至7、1

至 6、1 至 5、1 至 4、1 至 3 或 1 至 2 之間。在一些實施例中，p 介於 2 至 10、2 至 9、2 至 8、2 至 7、2 至 6、2 至 5、2 至 4 或 2 至 3 之間。在其他實施例中，p 係 1、2、3、4、5 或 6。

在一些實施例中，配位體藥物共軛物具有下式：



或其醫藥上可接受之鹽；

其中：

L 係配位體單元，即 DR5 結合劑；且

-A_a-W_w-Y_y- 係連接體單元 (LU)，其中：

-A- 係延伸體單元 (Stretcher unit)，

a 係 0 或 1，

各 -W- 獨立地為胺基酸單元，

w 係介於 0 至 12 間之整數，

-Y- 係自脫落 (self-immolative) 間隔體單元，

y 係 0、1 或 2；

-D 係對靶細胞具有細胞生長抑制或細胞毒性活性之藥物單元；且

p 介於 1 至 20 之間。

在一些實施例中，a 係 0 或 1，w 係 0 或 1，且 y 係 0、1 或 2。

在一些實施例中，a 係 0 或 1，w 係 0 或 1，且 y 係 0 或 1。在

一些實施例中，p 介於 1 至 10、1 至 9、1 至 8、1 至 7、1 至 6、1

至 5、1 至 4、1 至 3 或 1 至 2 之間。在一些實施例中，p 介於 2

至 10、2 至 9、2 至 8、2 至 7、2 至 6、2 至 5、2 至 4 或 2 至 3 之

間。在其他實施例中，p 係 1、2、3、4、5 或 6。在一些實

施例中，當 w 不為 0 時， y 係 1 或 2。在一些實施例中，當 w 係 1 至 12 時， y 係 1 或 2。在一些實施例中， w 係 2 至 12 且 y 係 1 或 2。在一些實施例中， a 係 1 且 w 及 y 係 0。

在包含多種配位體藥物共軛物之組合物中， p 係每一配位體之藥物分子的平均數，亦稱為平均載藥數。平均載藥數可為每一配位體介於 1 個至約 20 個藥物 (D) 之間。在一些實施例中，當 p 表示平均載藥數時， p 係約 1、約 2、約 3、約 4、約 5 或約 6。接合反應製備中每一配位體之藥物平均數可藉由諸如質譜、ELISA 分析及 HPLC 等習用手段測定。亦可測定就 p 而言配位體藥物共軛物之定量分佈。在一些情形下，可藉由諸如反相 HPLC 或電泳等手段來達成 p 為一定值之同質配位體藥物共軛物與具有其他載藥數之配位體藥物共軛物的分離、純化及表徵。在實例性實施例中， p 介於 2 至約 8 之間。

配位體藥物共軛物之產生可由熟習此項技術者所知之任何技術達成。簡言之，配位體藥物共軛物包含 DR5 結合劑作為配位體單元，藥物，及視情況將藥物與結合劑連接在一起之連接體。可利用許多不同反應將藥物及/或連接體共價連接至結合劑。此通常由結合劑(例如抗體分子)之胺基酸殘基反應達成，該等胺基酸殘基包括離胺酸之胺基、麩胺酸及天冬胺酸之游離羧酸基、半胱胺酸之巰基及芳香族胺基酸之各部分。一種最常用之非特異性共價連接方法係實施碳化二亞胺反應以使化合物之羧基(或胺基)與抗體之胺基(或羧基)連接。另外，已使用諸如二醛或亞胺酸酯

等雙官能劑來使化合物之胺基與抗體分子之胺基連接。亦可利用席夫鹼反應(Schiff base reaction)使藥物連接至結合劑。該方法涉及含有二醇或羥基之藥物的高碘酸鹽氧化，由此形成醛，其隨後與結合劑反應。經由與結合劑之胺基形成席夫鹼而發生連接。亦可使用異硫氰酸酯作為偶合劑將藥物共價連接至結合劑。其他技術已為熟習此項技術者所知且在本發明之範圍內。

在某些實施例中，使中間體(其為連接體之前體)與藥物在適合條件下反應。在某些實施例中，在藥物及/或中間體上使用反應性基團。隨後使藥物與中間體間之反應產物(或衍化藥物)與DR5結合劑在適合條件下反應。

配位體藥物共軛物之每一特定單元在本文中予以更詳細闡述。實例性連接體單元、延伸體單元、胺基酸單元、自脫落間隔體單元及藥物單元之合成及結構亦闡述於美國專利申請公開案第2003-0083263號、第2005-0238649號、第2005-0009751號、第2006-0074008號及第2009-0010945號中，每一公開案之全部內容出於所有目的以引用方式併入本文中。

連接體單元

通常，配位體藥物共軛物在藥物單元與配位體單元之間包含連接體區域。在一些實施例中，連接體在細胞內條件下可裂解，由此在細胞內環境中連接體裂解使得藥物單元自配位體釋放。在再一些其他實施例中，連接體單元不可裂解且藉由例如抗體降解來釋放藥物。

在一些實施例中，連接體可由存在於細胞內環境中(例如，在溶酶體或胞內體或胞膜窖內)之裂解劑裂解。連接體可為例如由包括(但不限於)溶酶體或胞內體蛋白酶在內之細胞內肽酶或蛋白酶裂解之肽基連接體。在一些實施例中，肽基連接體長至少兩個胺基酸或長至少三個胺基酸。裂解劑可包括組織蛋白酶B及D及纖溶酶，已知所有此等裂解劑均使二肽藥物衍生物水解，從而導致活性藥物在靶細胞內釋放(參見例如Dubowchik及Walker，1999，Pharm. Therapeutics 83:67-123)。最典型者係可由存在於DR5表現細胞中之酶裂解之肽基連接體。例如，可使用可由硫醇依賴性蛋白酶組織蛋白酶-B(其高度表現於癌性組織中)裂解之肽基連接體(例如，Phe-Leu或Gly-Phe-Leu-Gly連接體(SEQ ID NO: __))。該等連接體之其他實例闡述於(例如)美國專利第6,214,345號中，該專利之全部內容出於所有目的以引用方式併入本文中。在一具體實施例中，可由細胞內蛋白酶裂解之肽基連接體係Val-Cit連接體或Phe-Lys連接體(參見例如美國專利第6,214,345號，該專利闡述使用val-cit連接體來合成多柔比星(doxorubicin))。利用治療劑之細胞內蛋白水解釋放之一個優點在於接合時藥劑通常經減毒且共軛物之血清穩定性通常較高。

在其他實施例中，可裂解連接體係pH敏感性的，即，在某些pH值下對水解敏感。通常，pH敏感性連接體可在酸性條件下水解。例如，可使用可在溶酶體中水解之酸不穩定性連接體(例如，脞、半卡巴脞、硫代半卡巴脞、順式-

烏頭醯胺、原酸酯、縮醛、縮酮或諸如此類)。(參見例如美國專利第5,122,368號；第5,824,805號；第5,622,929號；Dubowchik及Walker, 1999, Pharm. Therapeutics 83:67-123；Neville等人，1989, Biol. Chem. 264:14653-14661)。該等連接體在中性pH條件下(例如在血液中)相對穩定，但在低於pH 5.5或5.0下(溶酶體之近似pH)不穩定。在某些實施例中，可水解連接體係硫醚連接體(例如，經由醯胺鍵連接至治療劑之硫醚)(參見例如美國專利第5,622,929號)。

在再一些其他實施例中，連接體可在還原條件下裂解(例如，二硫化物連接體)。各種二硫化物連接體已為熟習此項技術者所習知，包括例如可使用SATA (N-琥珀醯亞胺基-S-乙醯基硫代乙酸酯)、SPDP (N-琥珀醯亞胺基-3-(2-吡啶基二硫代)丙酸酯)、SPDB (N-琥珀醯亞胺基-3-(2-吡啶基二硫代)丁酸酯)及SMPT (N-琥珀醯亞胺基-氧基羰基- α -甲基- α -(2-吡啶基-二硫代)甲苯)、SPDB及SMPT形成者(參見例如Thorpe等人，1987, Cancer Res. 47:5924-5931；Wawrzynczak等人，In Immunoconjugates: Antibody Conjugates in Radioimager and Therapy of Cancer(C. W. Vogel編輯，Oxford U. Press, 1987)。亦參見美國專利第4,880,935號)。

在再一些其他具體實施例中，連接體係丙二酸酯連接體(Johnson等人，1995, Anticancer Res. 15:1387-93)、馬來醯亞胺基苯甲醯基連接體(Lau等人，1995, Bioorg-Med-Chem. 3(10):1299-1304)或3'-N-醯胺類似物(Lau等人，1995, Bioorg-Med-Chem. 3(10):1305-12)。

在再一些其他實施例中，連接體單元不可裂解且藉由抗體降解來釋放藥物。(參見例如美國公開案第20050238649號，其全部內容出於所有目的以引用方式併入本文中)。

通常，連接體對細胞外環境基本上不敏感。在連接體情形下，本文所用之「對細胞外環境基本上不敏感」意指當配位體藥物共軛物存在於細胞外環境中(例如，在血漿中)時，配位體藥物共軛物試樣中不多於約20%、通常不多於約15%、更通常地不多於約10%且甚至更通常地不多於約5%、不多於約3%或不多於約1%的連接體裂解。可藉由例如將配位體藥物共軛物與血漿一起培育預定時間段(例如，2、4、8、16或24小時)且隨後定量血漿中存在之游離藥物的量來確定連接體對細胞外環境是否基本上不敏感。

在其他非互斥實施例中，連接體促進細胞內化。在某些實施例中，當接合至治療劑時(即，在本文所述之配位體藥物共軛物之連接體-治療劑部分的背景下)，連接體促進細胞內化。在再一些其他實施例中，當接合至奧瑞司他衍化合物及抗-DR5抗體二者時，連接體促進細胞內化。

可用於本發明組合物及方法之各種實例性連接體闡述於WO 2004-010957、美國公開案第20060074008號、美國公開案第20050238649號及美國公開案第20060024317號中(各文件之全部內容出於所有目的以引用方式併入本文中)。

「連接體單元」(LU)係可用於將藥物單元與配位體單元連接在一起以形成配位體藥物共軛物之雙官能化合物。在

一些實施例中，連接體單元具有下式：



其中：-A-係延伸體單元，

a係0或1，

各-W-獨立地為胺基酸單元，

w係介於0至12間之整數，

-Y-係自脫落間隔體單元，且

y係0、1或2。

在一些實施例中，a係0或1，w係0或1，且y係0、1或2。

在一些實施例中，a係0或1，w係0或1，且y係0或1。在一些實施例中，當w係1至12時，y係1或2。在一些實施例中，w係2至12且y係1或2。在一些實施例中，a係1且w及y係0。

延伸體單元

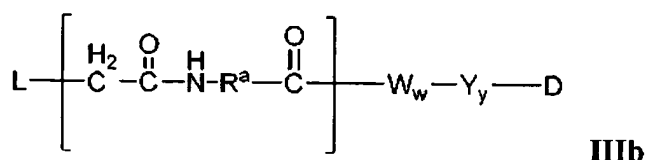
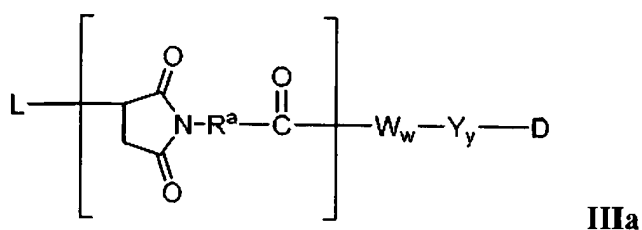
當存在時，延伸體單元(A)能夠使配位體單元連接至胺基酸單元(-W-)(若存在)；連接至間隔體單元(-Y-)(若存在)；或連接至藥物單元(-D)。可天然或經由化學操作存在於DR5結合劑上之有用官能團包括(但不限於)巰基、胺基、羥基、碳水化合物之異頭羥基(anomeric hydroxyl group)、及羧基。適宜官能團係巰基及胺基。在一個實例中，巰基可藉由還原抗-DR5抗體之分子內二硫鍵來產生。在另一實施例中，巰基可藉由使抗-DR5抗體之離胺酸部分之胺基與2-亞胺基硫嘧(Traut試劑)或其他巰基產生試劑反應來產生。在某些實施例中，抗-DR5抗體係重組抗體，且

經改造以帶有一或多個離胺酸。在某些其他實施例中，重組抗-DR5抗體經改造以帶有額外巰基，例如，額外半胱胺酸。

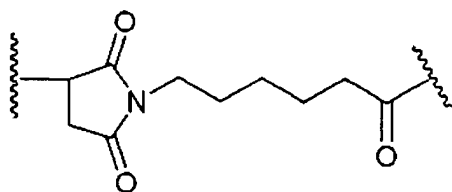
在一個實施例中，延伸體單元與配位體單元之硫原子形成鍵。硫原子可衍生自配位體之巰基。該實施例之代表性延伸體單元繪示於式IIIa及IIIb之方括號內，其中L-、-W-、-Y-、-D、w及y如上文所定義，且R^a選自-C₁-C₁₀伸烷基-、-C₂-C₁₀伸烯基-、-C₂-C₁₀伸炔基-、-碳環基-、-O-(C₁-C₈伸烷基)-、O-(C₂-C₈伸烯基)-、-O-(C₂-C₈伸炔基)-、-伸芳基-、-C₁-C₁₀伸烷基-伸芳基-、-C₂-C₁₀伸烯基-伸芳基-、-C₂-C₁₀伸炔基-伸芳基-、-伸芳基-C₁-C₁₀伸烷基-、-伸芳基-C₂-C₁₀伸烯基-、-伸芳基-C₂-C₁₀伸炔基-、-C₁-C₁₀伸烷基-(碳環基)-、-C₂-C₁₀伸烯基-(碳環基)-、-C₂-C₁₀伸炔基-(碳環基)-、-(碳環基)-C₁-C₁₀伸烷基-、-(碳環基)-C₂-C₁₀伸烯基-、-(碳環基)-C₂-C₁₀伸炔基、雜環基-、-C₁-C₁₀伸烷基-(雜環基)-、-C₂-C₁₀伸烯基-(雜環基)-、-C₂-C₁₀伸炔基-(雜環基)-、-(雜環基)-C₁-C₁₀伸烷基-、-(雜環基)-C₂-C₁₀伸烯基-、-(雜環基)-C₂-C₁₀伸炔基-、-(CH₂CH₂O)_r-或-(CH₂CH₂O)_r-CH₂-，且r係介於1至10間之整數，其中該等烷基、烯基、炔基、伸烷基、伸烯基、伸炔基、芳基、碳環、碳環基、雜環基及伸芳基基團無論單獨抑或作為另一基團之一部分皆視情況經取代。在一些實施例中，該等烷基、烯基、炔基、伸烷基、伸烯基、伸炔基、芳基、碳環、碳環基、雜環基及伸芳基基團無論單獨抑或作為另一

基團之一部分均未經取代。在一些實施例中， R^a 選自 $-C_1-C_{10}$ 伸烷基-、-碳環基-、 $-O-(C_1-C_8 \text{伸烷基})-$ 、-伸芳基-、 $-C_1-C_{10}$ 伸烷基-伸芳基-、-伸芳基- $-C_1-C_{10}$ 伸烷基-、 $-C_1-C_{10}$ 伸烷基-(碳環基)-、-(碳環基)- $-C_1-C_{10}$ 伸烷基-、 $-C_3-C_8$ 雜環基-、 $-C_1-C_{10}$ 伸烷基-(雜環基)-、-(雜環基)- $-C_1-C_{10}$ 伸烷基-、 $-(CH_2CH_2O)_r-$ 及 $-(CH_2CH_2O)_r-CH_2-$ ；且 r 係介於 1 至 10 間之整數，其中該等伸烷基未經取代且其餘基團視情況經取代。

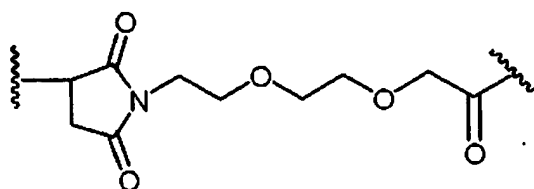
自所有實例性實施例可以瞭解到，即使未明確指出，1 至 20 個藥物部分可連接至配位體 ($p=1-20$)。



例示性延伸體單元係 R^a 為 $-(CH_2)_5-$ 之式 IIIa 中者：

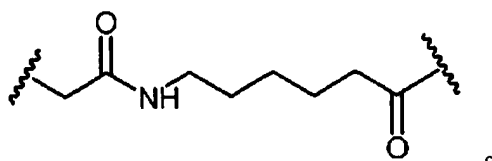


另一例示性延伸體單元係 R^a 為 $-(CH_2CH_2O)_r-CH_2-$ ；且 r 為 2 之式 IIIa 中者：

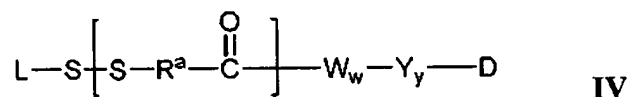


例示性延伸體單元係 R^a 為-伸芳基-或伸芳基- C_1 - C_{10} 伸烷基-之式IIIa中者。在一些實施例中，芳基係未經取代之苯基。

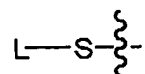
又一例示性延伸體單元係 R^a 為 $-(CH_2)_5-$ 之式IIIb中者：



在某些實施例中，延伸體單元經由配位體單元之硫原子與延伸體單元之硫原子間之二硫鍵連接至配位體單元。該實施例之代表性延伸體單元繪示於式IV之方括號內，其中 R^a 、L-、-W-、-Y-、-D、w及y如上文所定義。

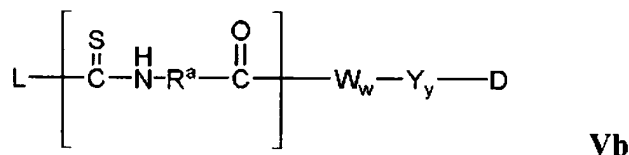
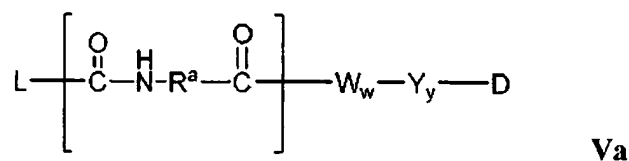


應注意，除非上下文另有說明，否則在通篇本申請案中下式中之S部分係指配位體單元之硫原子。

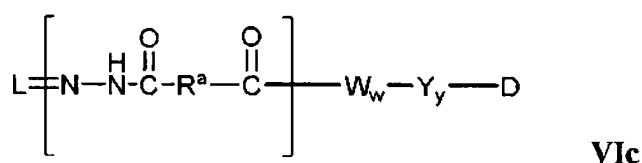
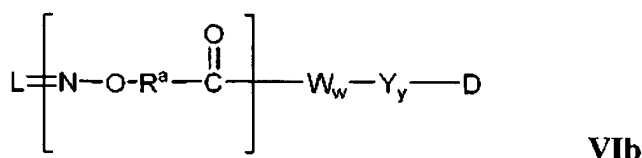
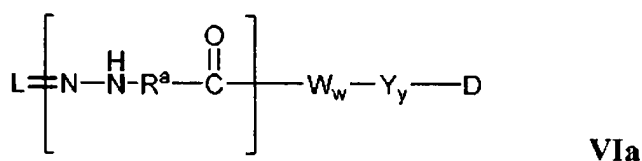


在再一些其他實施例中，在連接至L之前，延伸體含有可與配位體之一級或二級胺基形成鍵之反應位點。該等反應位點之實例包括(但不限於)活性酯，例如琥珀醯亞胺酯、4-硝基苯基酯、五氟苯基酯、四氟苯基酯、酸酐、醯氯、磺醯氯、異氰酸酯及異硫氰酸酯。該實施例之代表性延伸體單元繪示於式Va及Vb之方括號內，其中 $-R^a$ 、L-、

-W-、-Y-、-D、w及y如上文所定義。



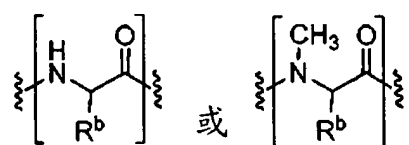
在一些實施例中，延伸體含有對可存在於配位體上之經修飾碳水化合物之(-CHO)基團具有反應性的反應位點。例如，可使用諸如高碘酸鈉等試劑將碳水化合物適度氧化，且可使經氧化碳水化合物之所得(-CHO)單元與含有諸如醯肼、肼、一級或二級胺、肼、硫代半卡巴脒、肼羧酸酯及芳基醯肼等官能團之延伸體(例如 Kaneko 等人，1991, Bioconjugate Chem. 2:133-41闡述者)縮合。該實施例之代表性延伸體單元繪示於式 VIa、VIb及 VIc之方括號內，其中 -R^a-、L-、-W-、-Y-、-D、w及y如上文所定義。



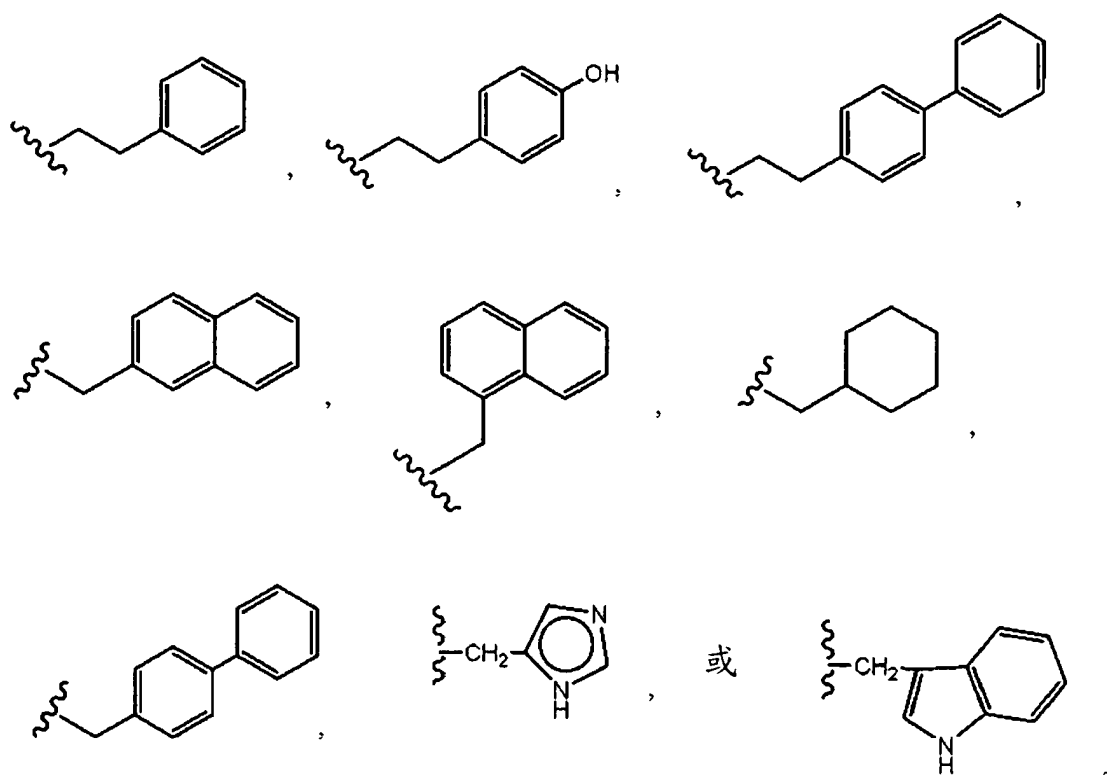
胺基酸單元

胺基酸單元(-W-)(存在時)將延伸體單元連接至間隔體單元(若存在間隔體單元)，將延伸體單元連接至藥物部分(若不存在間隔體單元)，且將配位體單元連接至藥物單元(若不存在延伸體單元及間隔體單元)。

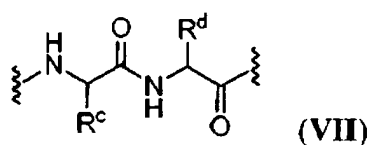
W_w -可為例如單肽、二肽、三肽、四肽、五肽、六肽、七肽、八肽、九肽、十肽、十一肽或十二肽單元。各-W-單元獨立地具有下文方括號中所示之式，且w係介於0至12間之整數：



其中 R^b 係氫、甲基、異丙基、異丁基、第二丁基、苄基、對-羥基苄基、 $-\text{CH}_2\text{OH}$ 、 $-\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SCH}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{CONH}_2$ 、 $-\text{CH}_2\text{COOH}$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CONH}_2$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$ 、 $-(\text{CH}_2)_3\text{NHC}(=\text{NH})\text{NH}_2$ 、 $-(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2$ 、 $-(\text{CH}_2)_3\text{NHCOCH}_3$ 、 $-(\text{CH}_2)_3\text{NHCHO}$ 、 $-(\text{CH}_2)_4\text{NHC}(=\text{NH})\text{NH}_2$ 、 $-(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$ 、 $-(\text{CH}_2)_4\text{NHCOCH}_3$ 、 $-(\text{CH}_2)_4\text{NHCHO}$ 、 $-(\text{CH}_2)_3\text{NHCONH}_2$ 、 $-(\text{CH}_2)_4\text{NHCONH}_2$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{NH}_2$ 、2-吡啶基甲基-、3-吡啶基甲基-、4-吡啶基甲基-、苯基、環己基、

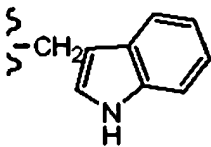


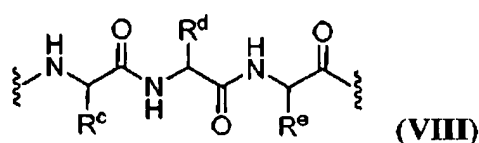
在一些實施例中，胺基酸單元可由一或多種酶(包括癌症或腫瘤相關蛋白酶)酶促裂解，以釋出藥物單元(-D)，在一個實施例中其在釋放以提供藥物(D)後於活體內被質子化。在某些實施例中，胺基酸單元可包含天然胺基酸。在其他實施例中，胺基酸單元可包含非天然胺基酸。例示性W_w單元由式(VII)-(IX)表示：



其中R^c及R^d如下：

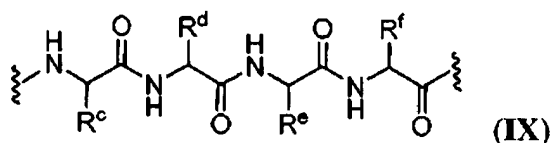
R ^c	R ^d
苄基	(CH ₂) ₄ NH ₂ ；
甲基	(CH ₂) ₄ NH ₂ ；
異丙基	(CH ₂) ₄ NH ₂ ；
異丙基	(CH ₂) ₃ NHCONH ₂ ；

苄基	$(\text{CH}_2)_3\text{NHCONH}_2$;
異丁基	$(\text{CH}_2)_3\text{NHCONH}_2$;
第二丁基	$(\text{CH}_2)_3\text{NHCONH}_2$;
	$(\text{CH}_2)_3\text{NHCONH}_2$;
苄基	甲基 ;
苄基	$(\text{CH}_2)_3\text{NHC}(=\text{NH})\text{NH}_2$;



其中 R^c 、 R^d 及 R^e 如下 :

R^c	R^d	R^e
苄基	苄基	$(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$;
異丙基	苄基	$(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$; 及
H	苄基	$(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$;



其中 R^c 、 R^d 、 R^e 及 R^f 如下 :

R^c	R^d	R^e	R^f
H	苄基	異丁基	H ; 及
甲基	異丁基	甲基	異丁基。

實例性胺基酸單元包括(但不限於)其中如下之式 VII 單元 : R^c 係苄基且 R^d 係 $-(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$; R^c 係異丙基且 R^d 係 $-(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$; 或 R^c 係異丙基且 R^d 係 $-(\text{CH}_2)_3\text{NHCONH}_2$ 。另一實例性胺基酸單元係其中如下之式 VIII 單元 : R^c 係苄

一實例性胺基酸單元係其中如下之式 VIII 單元： R^c 係苄基， R^d 係苄基且 R^e 係 $-(CH_2)_4NH_2$ 。

可設計有用之 $-W_w-$ 單元並在由特定酶(例如，腫瘤相關蛋白酶)酶促裂解之選擇性方面進行最優化。在一個實施例中， $-W_w-$ 單元係由組織蛋白酶 B、C 及 D 或纖溶酶蛋白酶催化裂解者。

在一個實施例中， $-W_w-$ 係二肽、三肽、四肽或五肽。當 R^b 、 R^c 、 R^d 、 R^e 或 R^f 不為氫時，連接 R^b 、 R^c 、 R^d 、 R^e 或 R^f 之碳原子具有對掌性。

連接 R^b 、 R^c 、 R^d 、 R^e 或 R^f 之各碳原子獨立地呈 (S) 或 (R) 構型。

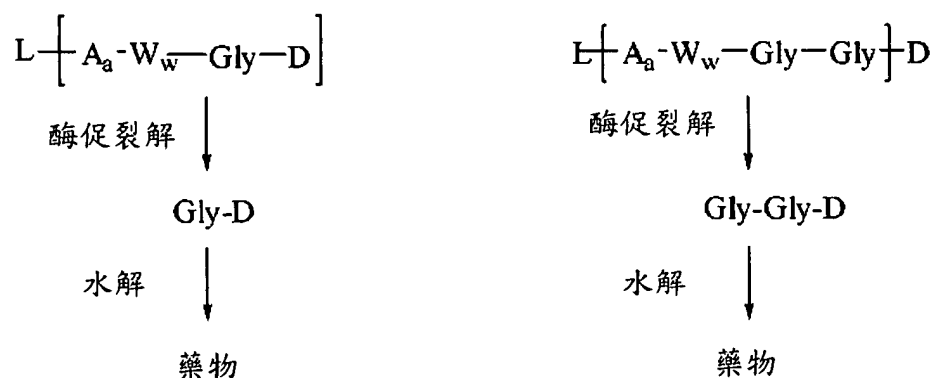
在胺基酸單元之一個態樣中，胺基酸單元係纈胺酸-瓜胺酸(vc 或 val-cit)。在另一態樣中，胺基酸單元係苯丙胺酸-離胺酸(即，fk)。在胺基酸單元之再一態樣中，胺基酸單元係 N-甲基纈胺酸-瓜胺酸。在再一態樣中，胺基酸單元係 5-氨基戊酸、高苯丙胺酸離胺酸、四異喹啉羧酸酯離胺酸、環己基丙胺酸離胺酸、六氫異菸酸離胺酸、 β -丙胺酸離胺酸、甘胺酸絲胺酸纈胺酸麩醯胺酸及六氫異菸酸。

間隔體單元

當存在胺基酸單元時，間隔體單元 $(-Y-)$ (存在時) 將胺基酸單元連接至藥物單元。或者，當不存在胺基酸單元時，間隔體單元將延伸體單元連接至藥物單元。當胺基酸單元與延伸體單元二者均不存在時，間隔體單元亦將藥物單元連接至配位體單元。

間隔體單元具有兩種一般類型：非自脫落或自脫落。非自脫落間隔體單元係其中間隔體單元之一部分或全部在胺基酸單元自配位體-藥物共軛物裂解(尤其酶促裂解)後仍保持結合至藥物部分的間隔體單元。非自脫落間隔體單元之實例包括(但不限於)(甘胺酸-甘胺酸)間隔體單元及甘胺酸間隔體單元(二者均繪示於反應圖1中)(下文)。當含有甘胺酸-甘胺酸間隔體單元或甘胺酸間隔體單元之共軛物經歷經由酶(例如，腫瘤細胞相關蛋白酶、癌細胞相關蛋白酶或淋巴細胞相關蛋白酶)之酶促裂解時，甘胺酸-甘胺酸-藥物部分或甘胺酸-藥物部分自L-Aa-Ww-裂解。在一個實施例中，在靶細胞內發生獨立的水解反應，使甘胺酸-藥物部分鍵裂解並釋出藥物。

反應圖 1



在一些實施例中，非自脫落間隔體單元(-Y-)係-Gly-。在一些實施例中，非自脫落間隔體單元(-Y-)係-Gly-Gly-。

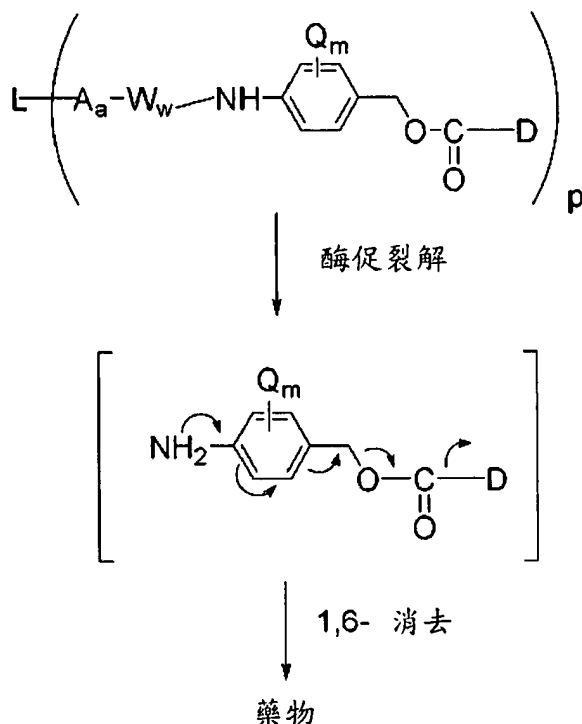
在一個實施例中，提供不存在間隔體單元(y=0)之藥物-連接體共軛物或其醫藥上可接受之鹽。

或者，含有自脫落間隔體單元之共軛物可釋放-D。本文所用之術語「自脫落間隔體」係指能夠將兩個隔開之化學部分共價連接在一起成為穩定的由三部分組成的分子之雙官能化學部分。若其與第一部分之鍵裂解，其將自發地與第二化學部分分開。

在一些實施例中， $-Y_y$ -係對-胺基苄基醇(PAB)單元(參見反應圖2及3)，其伸苯基部分經 Q_m 取代，其中 Q 係 $-C_1-C_8$ 烷基、 $-C_2-C_8$ 烯基、 $-C_2-C_8$ 炔基、 $-O-(C_1-C_8$ 烷基)、 $-O-(C_2-C_8$ 烯基)、 $-O-(C_2-C_8$ 炔基)、-鹵素、-硝基或-氰基；且 m 係介於0至4間之整數。烷基、烯基及炔基無論單獨抑或作為另一基團之一部分均可視情況經取代。

在一些實施例中， $-Y$ -係PAB基團，其經由PAB基團之胺基氮原子連接至 $-W_w$ -且經由碳酸酯、胺基甲酸酯或醚基團直接連接至-D。不欲受限於任何特定理論或機制，反應圖2繪示經由胺基甲酸酯或碳酸酯基團直接連接至-D之PAB基團之可能的藥物釋放機制，如Toki等人，2002, J. Org. Chem. 67:1866-1872所述。

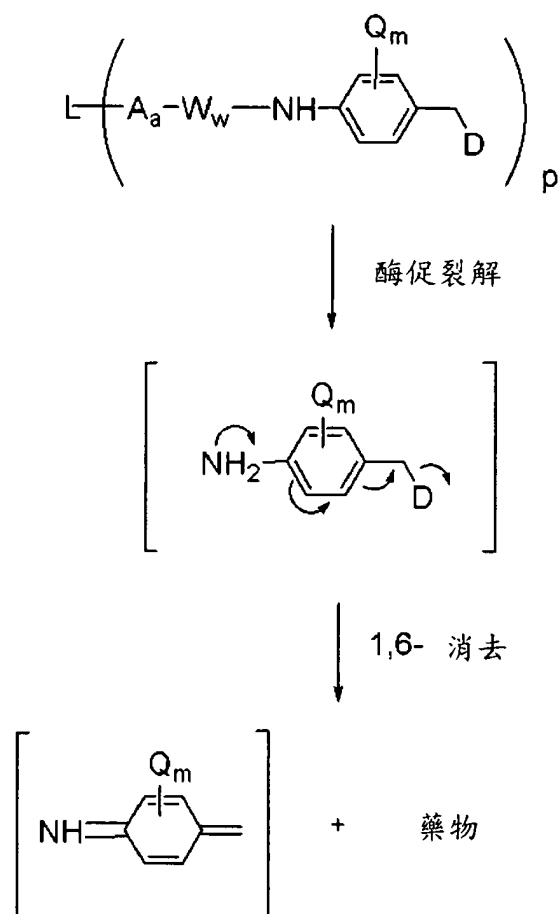
反應圖 2



在反應圖 2 中，Q 係 $-C_1-C_8$ 烷基、 $-C_2-C_8$ 烯基、 $-C_2-C_8$ 炔基、 $-O-(C_1-C_8$ 烷基)、 $-O-(C_2-C_8$ 烯基)、 $-O-(C_2-C_8$ 炔基)、 $-$ 鹵素、 $-$ 硝基或 $-$ 氰基；m 係介於 0 至 4 間之整數；且 p 介於 1 至約 20 之間。烷基、烯基及炔基無論單獨抑或作為另一基團之一部分均可視情況經取代。

不欲受限於任何特定理論或機制，反應圖 3 繪示經由醚或胺鍵結直接連接至 $-D$ 之 PAB 基團之可能的藥物釋放機制，其中 D 包括氧或氮基團(其為藥物單元之一部分)。

反應圖 3



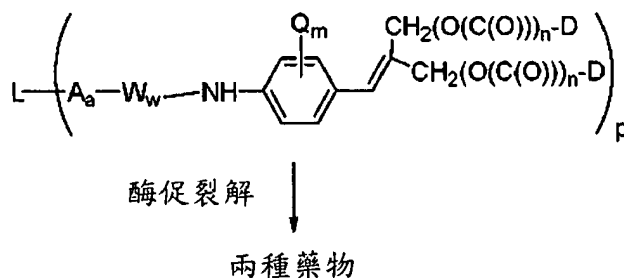
在反應圖3中，Q係-C₁-C₈烷基、-C₂-C₈烯基、-C₂-C₈炔基、-O-(C₁-C₈烷基)、-O-(C₂-C₈烯基)、-O-(C₂-C₈炔基)、-鹵素、-硝基或-氰基；m係介於0至4間之整數；且p介於1至約20之間。烷基、烯基及炔基無論單獨抑或作為另一基團之一部分均可視情況經取代。

自脫落間隔體之其他實例包括(但不限於)在電子學上與PAB基團類似之芳香族化合物，例如2-胺基咪唑-5-甲醇衍生物(Hay等人，1999, Bioorg. Med. Chem. Lett. 9:2237)及鄰或對-胺基苄基縮醛。可使用在醯胺鍵水解後經歷環化

之間隔體，例如經取代及未經取代之4-胺基丁酸醯胺 (Rodrigues等人，1995, Chemistry Biology 2:223)、經適當取代之二環[2.2.1]及二環[2.2.2]環系統 (Storm等人，1972, J. Amer. Chem. Soc. 94:5815)及2-胺基苯基丙酸醯胺 (Amsberry等人，1990, J. Org. Chem. 55:5867)。在甘胺酸之 α -位置經取代之含胺藥物之消去 (Kingsbury等人，1984, J. Med. Chem. 27:1447)亦為自脫落間隔體之實例。

在一個實施例中，間隔體單元係如反應圖4中所繪示之具支鏈雙(羥基甲基)-苯乙烯(BHMS)單元，其可用於納入及釋放多種藥物。

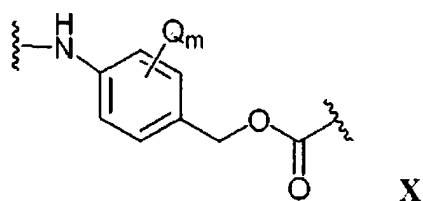
反應圖 4



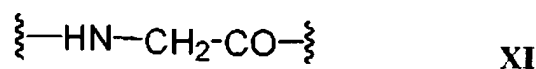
在反應圖4中，Q係-C₁-C₈烷基、-C₂-C₈烯基、-C₂-C₈炔基、-O-(C₁-C₈烷基)、-O-(C₂-C₈烯基)、-O-(C₂-C₈炔基)、-鹵素、-硝基或-氰基；m係介於0至4間之整數；n係0或1；且p係1至約20之整數。烷基、烯基及炔基無論單獨抑或作為另一基團之一部分均可視情況經取代。

在一些實施例中，-D部分相同。在再一實施例中，-D部分不同。

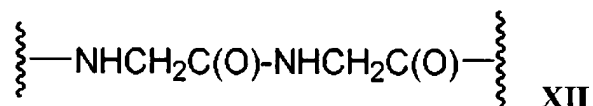
在一個態樣中，間隔體單元(-Y_y-)由式(X)-(XII)表示：



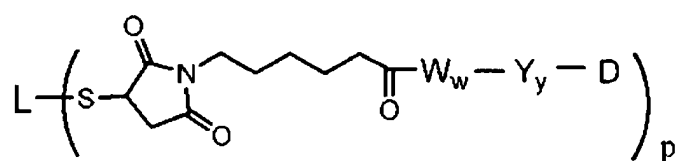
其中Q係-C₁-C₈烷基、-C₂-C₈烯基、-C₂-C₈炔基、-O-(C₁-C₈烷基)、-O-(C₂-C₈烯基)、-O-(C₂-C₈炔基)、-鹵素、-硝基或-氰基；且m係介於0至4間之整數。烷基、烯基及炔基無論單獨抑或作為另一基團之一部分均可視情況經取代。



及

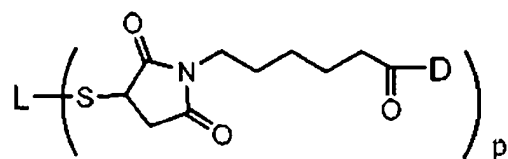


在所選實施例之一群組中，式I及II之共軛物係：

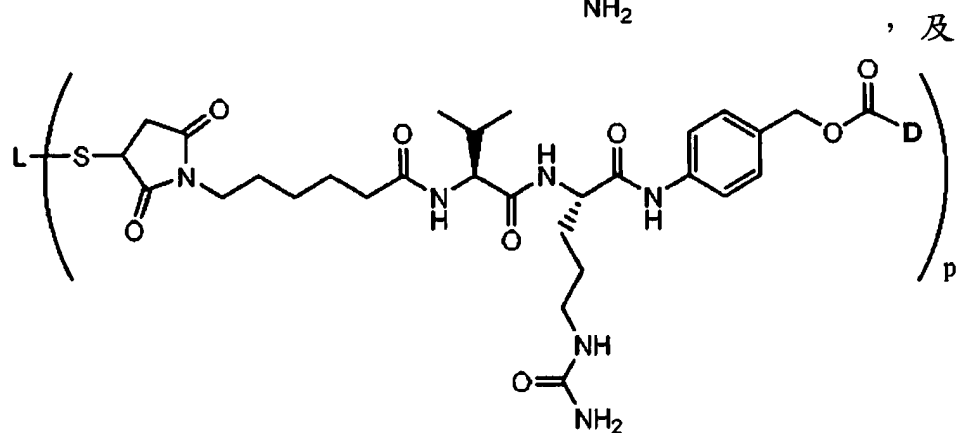
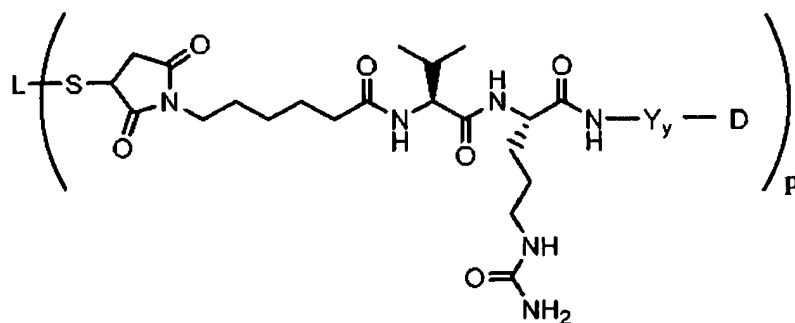
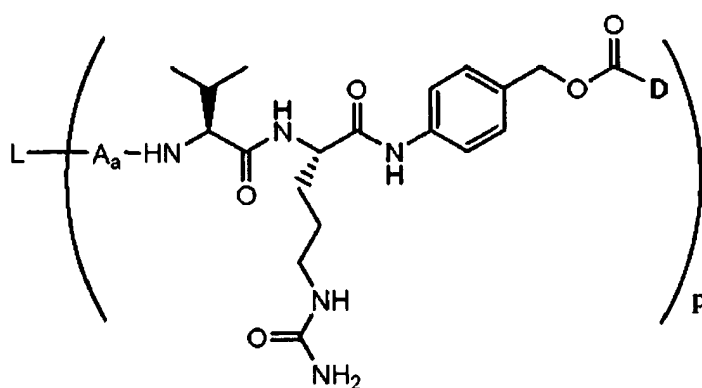
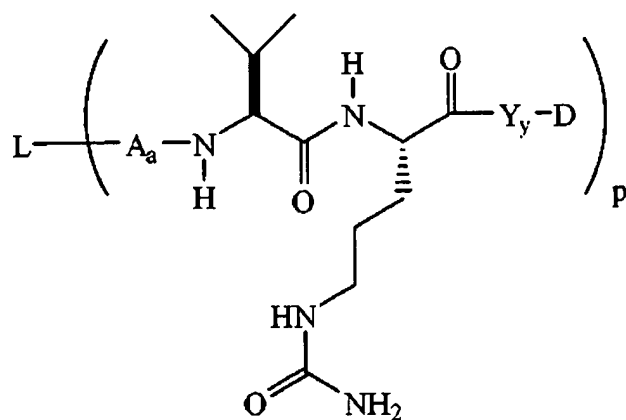


其中w及y各自為0、1或2，

及，



其中w及y各自為0，



其中 A_a 、 W_w 、 Y_y 、 D 及 L 具有上文所提供之含義。

藥物單元

藥物部分(D)可為任何細胞毒性、細胞生長抑制或免疫調節(例如, 免疫抑制)劑或藥物。D係具有可與間隔體單元、與胺基酸單元、與延伸體單元或與配位體單元形成鍵之原子的藥物單元(部分)。在一些實施例中, 藥物單元D具有可與間隔體單元形成鍵之氮原子。本文所用之術語「藥物單元」及「藥物部分」同義且可互換使用。

有用之細胞毒性或免疫調節劑種類包括(例如)抗微管蛋白劑、DNA小溝結合劑、DNA複製抑制劑及烷基化劑。

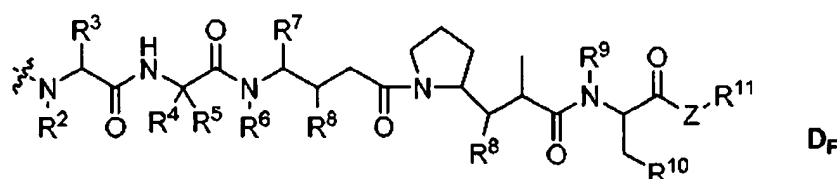
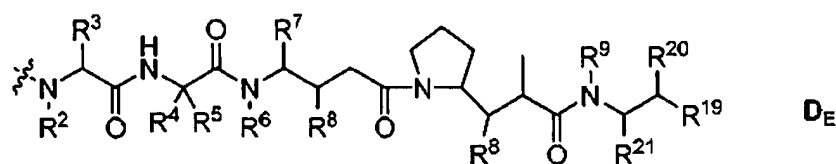
在一些實施例中, 藥物係奧瑞司他汀, 例如奧瑞司他汀E(業內亦稱為多拉司他汀-10 (dolastatin-10)之衍生物)或其衍生物。奧瑞司他汀可為(例如)由奧瑞司他汀E與酮酸形成之酯。例如, 可使奧瑞司他汀E與對乙醯基苯甲酸或苯甲醯基戊酸反應以分別產生AEB及AEVB。其他典型奧瑞司他汀包括AFP、MMAF及MMAE。實例性奧瑞司他汀之合成及結構闡述於美國專利申請公開案第2003-0083263號、第2005-0238649號及第2005-0009751號; 國際專利公開案第WO 04/010957號、國際專利公開案第WO 02/088172號及美國專利第6,323,315號; 第6,239,104號; 第6,034,065號; 第5,780,588號; 第5,665,860號; 第5,663,149號; 第5,635,483號; 第5,599,902號; 第5,554,725號; 第5,530,097號; 第5,521,284號; 第5,504,191號; 第5,410,024號; 第5,138,036號; 第5,076,973號; 第4,986,988號; 第4,978,744號; 第4,879,278號; 第4,816,444號; 及第4,486,414號中, 各文

件之全部內容出於所有目的以引用方式併入本文中。

已顯示奧瑞司他汀會干擾微管動力學及核及細胞分裂，且具有抗癌活性。本發明之奧瑞司他汀結合微管蛋白，且可對DR5表現細胞系施加細胞毒性或細胞生長抑制效應。業內已知諸多可用於測定奧瑞司他汀或所得抗體-藥物共軛物是否對期望細胞系施加細胞生長抑制或細胞毒性效應之不同分析。

用於測定化合物是否結合微管蛋白之方法已為業內所習知。參見例如Muller等人，Anal. Chem 2006, 78, 4390-4397；Hamel等人，Molecular Pharmacology, 1995 47: 965-976；及Hamel等人，The Journal of Biological Chemistry, 1990 265:28, 17141-17149。出於本發明之目的，可測定化合物對微管蛋白之相對親和性。本發明之一些較佳奧瑞司他汀結合微管蛋白之親和性介於MMAE對微管蛋白之結合親和性之1/10(較弱親和性)至MMAE對微管蛋白之結合親和性之10倍、20倍或甚至100倍(較高親和性)範圍內。

在一些實施例中，-D係式D_E或D_F之奧瑞司他汀：



或其醫藥上可接受之鹽形式；其中，在每一位置上獨立地：

波形線表示鍵；

R^2 係 $-C_1-C_{20}$ 烷基、 $-C_2-C_{20}$ 烯基或 $-C_2-C_{20}$ 炔基；

R^3 係 $-H$ 、 $-C_1-C_{20}$ 烷基、 $-C_2-C_{20}$ 烯基、 $-C_2-C_{20}$ 炔基、碳環、 $-C_1-C_{20}$ 伸烷基(碳環)、 $-C_2-C_{20}$ 伸烯基(碳環)、 $-C_2-C_{20}$ 伸炔基(碳環)、 $-$ 芳基、 $-C_1-C_{20}$ 伸烷基(芳基)、 $-C_2-C_{20}$ 伸烯基(芳基)、 $-C_2-C_{20}$ 伸炔基(芳基)、 $-$ 雜環、 $-C_1-C_{20}$ 伸烷基(雜環)、 $-C_2-C_{20}$ 伸烯基(雜環)或 $-C_2-C_{20}$ 伸炔基(雜環)；

R^4 係 $-H$ 、 $-C_1-C_{20}$ 烷基、 $-C_2-C_{20}$ 烯基、 $-C_2-C_{20}$ 炔基、碳環、 $-C_1-C_{20}$ 伸烷基(碳環)、 $-C_2-C_{20}$ 伸烯基(碳環)、 $-C_2-C_{20}$ 伸炔基(碳環)、 $-$ 芳基、 $-C_1-C_{20}$ 伸烷基(芳基)、 $-C_2-C_{20}$ 伸烯基(芳基)、 $-C_2-C_{20}$ 伸炔基(芳基)、 $-$ 雜環、 $-C_1-C_{20}$ 伸烷基(雜環)、 $-C_2-C_{20}$ 伸烯基(雜環)或 $-C_2-C_{20}$ 伸炔基(雜環)；

R^5 係 $-H$ 或 $-C_1-C_8$ 烷基；

或者 R^4 與 R^5 一起形成碳環且具有式 $-(CR^aR^b)_s-$ ，其中 R^a 及 R^b 獨立地為 $-H$ 、 $-C_1-C_{20}$ 烷基、 $-C_2-C_{20}$ 烯基、 $-C_2-C_{20}$ 炔基或 $-$ 碳環，且 s 係 2、3、4、5 或 6，

R^6 係 $-H$ 、 $-C_1-C_{20}$ 烷基、 $-C_2-C_{20}$ 烯基或 $-C_2-C_{20}$ 炔基；

R^7 係 $-H$ 、 $-C_1-C_{20}$ 烷基、 $-C_2-C_{20}$ 烯基、 $-C_2-C_{20}$ 炔基、 $-$ 碳環、 $-C_1-C_{20}$ 伸烷基(碳環)、 $-C_2-C_{20}$ 伸烯基(碳環)、 $-C_2-C_{20}$ 伸炔基(碳環)、 $-$ 芳基、 $-C_1-C_{20}$ 伸烷基(芳基)、 $-C_2-C_{20}$ 伸烯基(芳基)、 $-C_2-C_{20}$ 伸炔基(芳基)、 $-$ 雜環、 $-C_1-C_{20}$ 伸烷基(雜環)、 $-C_2-C_{20}$ 伸烯基(雜環)或 $-C_2-C_{20}$ 伸炔基(雜環)；

各 R^8 獨立地為 $-H$ 、 $-OH$ 、 $-C_1-C_{20}$ 烷基、 $-C_2-C_{20}$ 烯基、 $-C_2-C_{20}$ 炔基、 $-O-(C_1-C_{20}$ 烷基)、 $-O-(C_2-C_{20}$ 烯基)、 $-O-(C_1-C_{20}$ 炔基) 或 -碳環；

R^9 係 $-H$ 、 $-C_1-C_{20}$ 烷基、 $-C_2-C_{20}$ 烯基或 $-C_2-C_{20}$ 炔基；

R^{19} 係 -芳基、-雜環或 -碳環；

R^{20} 係 $-H$ 、 $-C_1-C_{20}$ 烷基、 $-C_2-C_{20}$ 烯基、 $-C_2-C_{20}$ 炔基、-碳環、 $-O-(C_1-C_{20}$ 烷基)、 $-O-(C_2-C_{20}$ 烯基)、 $-O-(C_2-C_{20}$ 炔基) 或 OR^{18} ，其中 R^{18} 係 $-H$ 、羥基保護基團，或在 OR^{18} 表示 $=O$ 之情形下係直接鍵；

R^{21} 係 $-H$ 、 $-C_1-C_{20}$ 烷基、 $-C_2-C_{20}$ 烯基或 $-C_2-C_{20}$ 炔基、-芳基、雜環或 -碳環；

R^{10} 係 -芳基或 -雜環；

Z 係 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-NH-$ 或 $-NR^{12}-$ ，其中 R^{12} 係 $-C_1-C_{20}$ 烷基、 $-C_2-C_{20}$ 烯基或 $-C_2-C_{20}$ 炔基；

R^{11} 係 $-H$ 、 $-C_1-C_{20}$ 烷基、 $-C_2-C_{20}$ 烯基、 $-C_2-C_{20}$ 炔基、-芳基、-雜環、 $-(R^{13}O)_m-R^{14}$ 或 $-(R^{13}O)_m-CH(R^{15})_2$ ；

m 係介於 1 至 1000 間之整數；

R^{13} 係 $-C_2-C_{20}$ 伸烷基、 $-C_2-C_{20}$ 伸烯基或 $-C_2-C_{20}$ 伸炔基；

R^{14} 係 $-H$ 、 $-C_1-C_{20}$ 烷基、 $-C_2-C_{20}$ 烯基或 $-C_2-C_{20}$ 炔基；

R^{15} 在每次出現時獨立地為 $-H$ 、 $-COOH$ 、 $-(CH_2)_n-N(R^{16})_2$ 、 $-(CH_2)_n-SO_3H$ 、 $-(CH_2)_n-SO_3-C_1-C_{20}$ 烷基、 $-(CH_2)_n-SO_3-C_2-C_{20}$ 烯基或 $-(CH_2)_n-SO_3-C_2-C_{20}$ 炔基；

R^{16} 在每次出現時獨立地為 $-H$ 、 $-C_1-C_{20}$ 烷基、 $-C_2-C_{20}$ 烯基、 $-C_2-C_{20}$ 炔基或 $-(CH_2)_n-COOH$ ；且

n 係介於0至6間之整數；其中該等烷基、烯基、炔基、伸烷基、伸烯基、伸炔基、芳基、碳環及雜環基團無論單獨抑或作為另一基團之一部分皆視情況經取代。

式 D_E 之奧瑞司他竹包括該等烷基、烯基、炔基、伸烷基、伸烯基、伸炔基、芳基、碳環及雜環基團未經取代者。

式 D_E 之奧瑞司他竹包括 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 及 R^9 基團未經取代且 R^{19} 、 R^{20} 及 R^{21} 基團視情況如本文所述經取代者。

式 D_E 之奧瑞司他竹包括如下者：

R^2 係 $-C_1-C_8$ 烷基；

R^3 、 R^4 及 R^7 獨立地選自 $-H$ 、 $-C_1-C_{20}$ 烷基、 $-C_2-C_{20}$ 烯基、 $-C_2-C_{20}$ 炔基、單環狀 C_3-C_6 碳環、 $-C_1-C_{20}$ 伸烷基(單環狀 C_3-C_6 碳環)、 $-C_2-C_{20}$ 伸烯基(單環狀 C_3-C_6 碳環)、 $-C_2-C_{20}$ 伸炔基(單環狀 C_3-C_6 碳環)、 $-C_6-C_{10}$ 芳基、 $-C_1-C_{20}$ 伸烷基(C_6-C_{10} 芳基)、 $-C_2-C_{20}$ 伸烯基(C_6-C_{10} 芳基)、 $-C_2-C_{20}$ 伸炔基(C_6-C_{10} 芳基)、 $-$ 雜環、 $-C_1-C_{20}$ 伸烷基(雜環)、 $-C_2-C_{20}$ 伸烯基(雜環)或 $-C_2-C_{20}$ 伸炔基(雜環)；其中該等烷基、烯基、炔基、伸烷基、伸烯基、伸炔基、碳環、芳基及雜環基團視情況經取代；

R^5 係 $-$ 氫；

R^6 係 $-C_1-C_8$ 烷基；

各 R^8 獨立地選自 $-OH$ 、 $-O-(C_1-C_{20} \text{ 烷基})$ 、 $-O-(C_2-C_{20} \text{ 烯基})$ 或 $-O-(C_2-C_{20} \text{ 炔基})$ ，其中該等烷基、烯基及炔基基團視

情況經取代；

R^9 係 - 氫或 $-C_1-C_8$ 烷基；

R^{19} 係視情況經取代之苯基；

R^{20} 係 OR^{18} ；其中 R^{18} 係 H、羥基保護基團，或在 OR^{18} 表示 $=O$ 之情形下係直接鍵；

R^{21} 選自 $-H$ 、 $-C_1-C_{20}$ 烷基、 $-C_2-C_{20}$ 烯基、 $-C_2-C_{20}$ 炔基或 $-$ 碳環；其中該等烷基、烯基、炔基及碳環基團視情況經取代；或其醫藥上可接受之鹽形式。

式 D_E 之奧瑞司他竹包括如下者：

R^2 係甲基；

R^3 係 $-H$ 、 $-C_1-C_8$ 烷基、 $-C_2-C_8$ 烯基或 $-C_2-C_8$ 炔基，其中該等烷基、烯基及炔基基團視情況經取代；

R^4 係 $-H$ 、 $-C_1-C_8$ 烷基、 $-C_2-C_8$ 烯基、 $-C_2-C_8$ 炔基、單環狀 C_3-C_6 碳環、 $-C_6-C_{10}$ 芳基、 $-C_1-C_8$ 伸烷基 (C_6-C_{10} 芳基)、 $-C_2-C_8$ 伸烯基 (C_6-C_{10} 芳基)、 $-C_2-C_8$ 伸炔基 (C_6-C_{10} 芳基)、 $-C_1-C_8$ 伸烷基 (單環狀 C_3-C_6 碳環)、 $-C_2-C_8$ 伸烯基 (單環狀 C_3-C_6 碳環)、 $-C_2-C_8$ 伸炔基 (單環狀 C_3-C_6 碳環)；其中該等烷基、烯基、炔基、伸烷基、伸烯基、伸炔基、芳基及碳環基團無論單獨抑或作為另一基團之一部分皆視情況經取代；

R^5 係 H； R^6 係甲基；

R^7 係 $-C_1-C_8$ 烷基、 $-C_2-C_8$ 烯基或 $-C_2-C_8$ 炔基；

各 R^8 係甲氧基；

R^9 係 - 氫或 $-C_1-C_8$ 烷基；

R^{19} 係苯基；

R^{20} 係 OR^{18} ；其中 R^{18} 係 -H、羥基保護基團，或在 OR^{18} 表示 =O 之情形下係直接鍵；

R^{21} 係甲基；或其醫藥上可接受之鹽形式。

式 D_E 之奧瑞司他竹包括如下者：

R^2 係甲基； R^3 係 H 或 C_1-C_3 烷基； R^4 係 C_1-C_5 烷基； R^5 係 H； R^6 係甲基； R^7 係異丙基或第二丁基； R^8 係甲氧基； R^9 係氫或 C_1-C_8 烷基； R^{19} 係苯基； R^{20} 係 OR^{18} ；其中 R^{18} 係 H、羥基保護基團，或在 OR^{18} 表示 =O 之情形下係直接鍵；且 R^{21} 係甲基；或其醫藥上可接受之鹽形式。

式 D_E 之奧瑞司他竹包括如下者：

R^2 係甲基或 C_1-C_3 烷基； R^3 係 H 或 C_1-C_3 烷基； R^4 係 C_1-C_5 烷基； R^5 係 H； R^6 係 C_1-C_3 烷基； R^7 係 C_1-C_5 烷基； R^8 係 C_1-C_3 烷氧基； R^9 係氫或 C_1-C_8 烷基； R^{19} 係苯基； R^{20} 係 OR^{18} ；其中 R^{18} 係 H、羥基保護基團，或在 OR^{18} 表示 =O 之情形下係直接鍵；且 R^{21} 係 C_1-C_3 烷基；或其醫藥上可接受之鹽形式。

式 D_F 之奧瑞司他竹包括如下者：

R^2 係甲基；

R^3 、 R^4 及 R^7 獨立地選自 -H、 $-C_1-C_{20}$ 烷基、 $-C_2-C_{20}$ 烯基、 $-C_2-C_{20}$ 炔基、單環狀 C_3-C_6 碳環、 $-C_1-C_{20}$ 伸烷基(單環狀 C_3-C_6 碳環)、 $-C_2-C_{20}$ 伸烯基(單環狀 C_3-C_6 碳環)、 $-C_2-C_{20}$ 伸炔基(單環狀 C_3-C_6 碳環)、 $-C_6-C_{10}$ 芳基、 $-C_1-C_{20}$ 伸烷基(C_6-C_{10} 芳基)、 $-C_2-C_{20}$ 伸烯基(C_6-C_{10} 芳基)、 $-C_2-C_{20}$ 伸炔基(C_6-C_{10} 芳基)、-雜環、 $-C_1-C_{20}$ 伸烷基(雜環)、 $-C_2-C_{20}$ 伸烯基(雜環)或 $-C_2-C_{20}$ 伸炔基(雜環)；其中該等烷基、烯基、

炔基、伸烷基、伸烯基、伸炔基、碳環、芳基及雜環基團無論單獨抑或作為另一基團之一部分皆視情況經取代；

R^5 係 -H；

R^6 係 甲基；

各 R^8 係 甲氧基；

R^9 係 -H、 $-C_1-C_{20}$ 烷基、 $-C_2-C_{20}$ 烯基或 $-C_2-C_{20}$ 炔基；其中該等烷基、烯基及炔基基團視情況經取代；

R^{10} 係視情況經取代之芳基或視情況經取代之雜環；

Z 係 -O-、-S-、-NH- 或 $-NR^{12}-$ ，其中 R^{12} 係 $-C_1-C_{20}$ 烷基、 $-C_2-C_{20}$ 烯基或 $-C_2-C_{20}$ 炔基，其各自視情況經取代；

R^{11} 係 -H、 $-C_1-C_{20}$ 烷基、 $-C_2-C_{20}$ 烯基、 $-C_2-C_{20}$ 炔基、-芳基、-雜環、 $-(R^{13}O)_m-R^{14}$ 或 $-(R^{13}O)_m-CH(R^{15})_2$ ，其中該等烷基、烯基、炔基、芳基及雜環基團視情況經取代；

m 係介於 1 至 1000 間之整數；

R^{13} 係 $-C_2-C_{20}$ 伸烷基、 $-C_2-C_{20}$ 伸烯基或 $-C_2-C_{20}$ 伸炔基，其各自視情況經取代；

R^{14} 係 -H、 $-C_1-C_{20}$ 烷基、 $-C_2-C_{20}$ 烯基或 $-C_2-C_{20}$ 炔基，其中該等烷基、烯基及炔基基團視情況經取代；

R^{15} 在每次出現時獨立地為 -H、 $-COOH$ 、 $-(CH_2)_n-N(R^{16})_2$ 、 $-(CH_2)_n-SO_3H$ 、 $-(CH_2)_n-SO_3-C_1-C_{20}$ 烷基、 $-(CH_2)_n-SO_3-C_2-C_{20}$ 烯基或 $-(CH_2)_n-SO_3-C_2-C_{20}$ 炔基，其中該等烷基、烯基及炔基基團視情況經取代；

R^{16} 在每次出現時獨立地為 -H、 $-C_1-C_{20}$ 烷基、 $-C_2-C_{20}$ 烯基、 $-C_2-C_{20}$ 炔基或 $-(CH_2)_n-COOH$ ，其中該等烷基、烯基及

炔基基團視情況經取代；

n 係介於0至6間之整數；或其醫藥上可接受之鹽形式。

在某些該等實施例中， R^{10} 係視情況經取代之苯基；

式 D_F 之奧瑞司他汀包括 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 及 R^9 基團未經取代且 R^{10} 及 R^{11} 基團如本文所述者。

式 D_F 之奧瑞司他汀包括該等烷基、烯基、炔基、伸烷基、伸烯基、伸炔基、芳基、碳環及雜環基團未經取代者。

式 D_F 之奧瑞司他汀包括如下者：

R^2 係 C_1 - C_3 烷基； R^3 係H或 C_1 - C_3 烷基； R^4 係 C_1 - C_5 烷基； R^5 係H； R^6 係 C_1 - C_3 烷基； R^7 係 C_1 - C_5 烷基； R^8 係 C_1 - C_3 烷氧基； R^9 係氫或 C_1 - C_8 烷基； R^{10} 係視情況經取代之苯基； Z 係O、S或NH；且 R^{11} 如本文所定義；或其醫藥上可接受之鹽形式。

式 D_F 之奧瑞司他汀包括如下者：

R^2 係甲基； R^3 係H或 C_1 - C_3 烷基； R^4 係 C_1 - C_5 烷基； R^5 係H； R^6 係甲基； R^7 係異丙基或第二丁基； R^8 係甲氧基； R^9 係氫或 C_1 - C_8 烷基； R^{10} 係視情況經取代之苯基； Z 係O、S或NH；且 R^{11} 如本文所定義；或其醫藥上可接受之鹽形式。

式 D_F 之奧瑞司他汀包括如下者：

R^2 係甲基； R^3 係H或 C_1 - C_3 烷基； R^4 係 C_1 - C_5 烷基； R^5 係H； R^6 係甲基； R^7 係異丙基或第二丁基； R^8 係甲氧基； R^9 係氫或 C_1 - C_8 烷基； R^{10} 係苯基；且 Z 係O或NH且 R^{11} 如本文所定義，較佳為氫；或其醫藥上可接受之鹽形式。

式 D_F 之奧瑞司他汀包括如下者：

R^2 係 C_1 - C_3 烷基； R^3 係 H 或 C_1 - C_3 烷基； R^4 係 C_1 - C_5 烷基； R^5 係 H； R^6 係 C_1 - C_3 烷基； R^7 係 C_1 - C_5 烷基； R^8 係 C_1 - C_3 烷氧基； R^9 係 氫 或 C_1 - C_8 烷基； R^{10} 係 苯基；且 Z 係 O 或 NH 且 R^{11} 如本文所定義，較佳為 氫；或其醫藥上可接受之鹽形式。

式 D_E 或 D_F 之奧瑞司他汀包括如下者： R^3 、 R^4 及 R^7 獨立地為 異丙基 或 第二丁基 且 R^5 係 -H。在一實例性實施例中， R^3 及 R^4 各自為 異丙基， R^5 係 H，且 R^7 係 第二丁基。其餘取代基如本文所定義。

式 D_E 或 D_F 之奧瑞司他汀包括如下者： R^2 及 R^6 各自為 甲基，且 R^9 係 H。其餘取代基如本文所定義。

式 D_E 或 D_F 之奧瑞司他汀包括 R^8 在每次出現時為 $-OCH_3$ 者。其餘取代基如本文所定義。

式 D_E 或 D_F 之奧瑞司他汀包括如下者： R^3 及 R^4 各自為 異丙基， R^2 及 R^6 各自為 甲基， R^5 係 H， R^7 係 第二丁基， R^8 在每次出現時為 $-OCH_3$ ，且 R^9 係 H。其餘取代基如本文所定義。

式 D_F 之奧瑞司他汀包括 Z 係 -O- 或 -NH- 者。其餘取代基如本文所定義。

式 D_F 之奧瑞司他汀包括 R^{10} 係 芳基 者。其餘取代基如本文所定義。

式 D_F 之奧瑞司他汀包括 R^{10} 係 - 苯基 者。其餘取代基如本文所定義。

式 D_F 之奧瑞司他汀包括 Z 係 -O- 且 R^{11} 係 H、甲基 或 第三丁基 者。其餘取代基如本文所定義。

式 D_F 之奧瑞司他汀包括如下者：當 Z 係 -NH 時， R^{11} 係

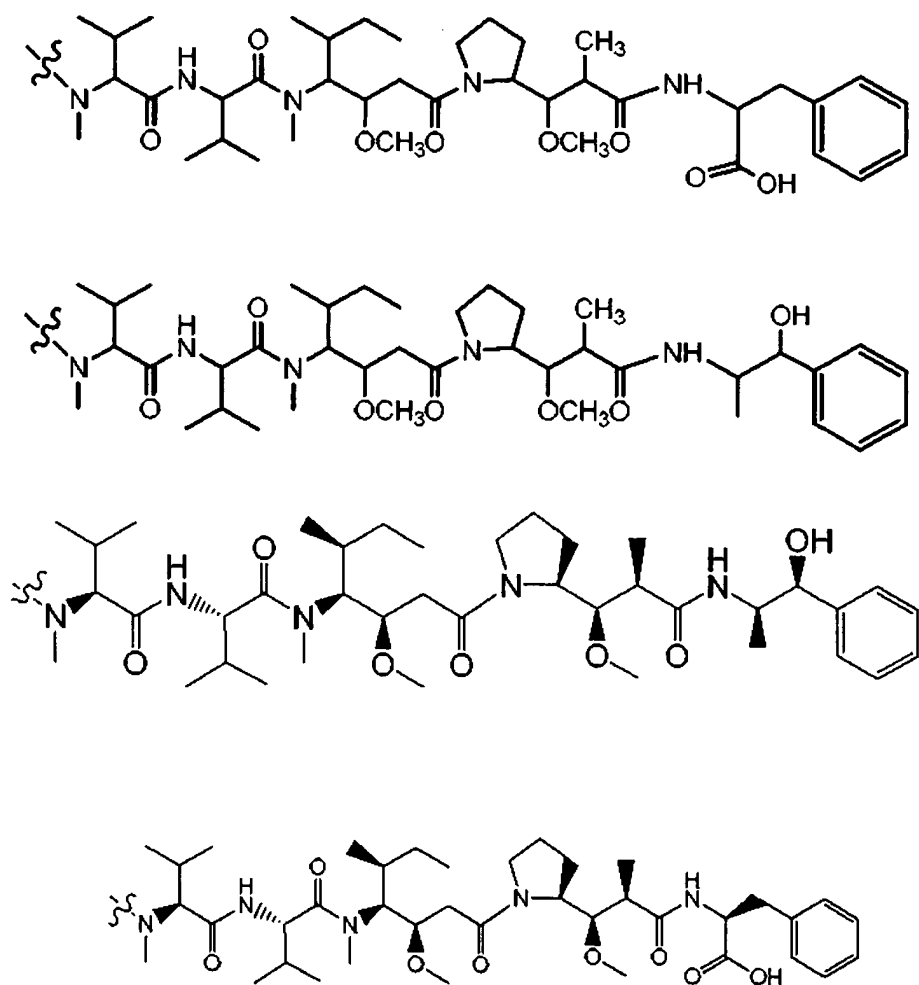
$-(R^{13}O)_m-CH(R^{15})_2$ ，其中 R^{15} 係 $-(CH_2)_n-N(R^{16})_2$ ，且 R^{16} 係 $-C_1-C_8$ 烷基或 $-(CH_2)_n-COOH$ 。其餘取代基如本文所定義。

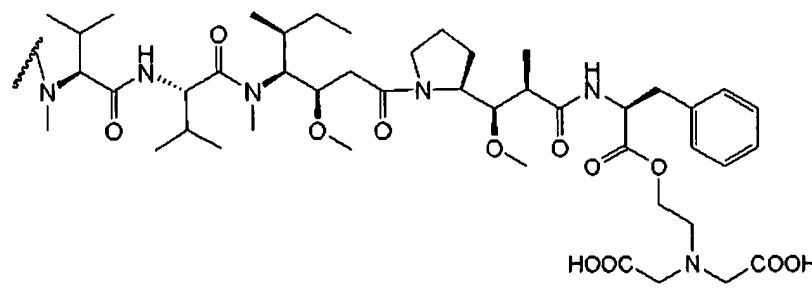
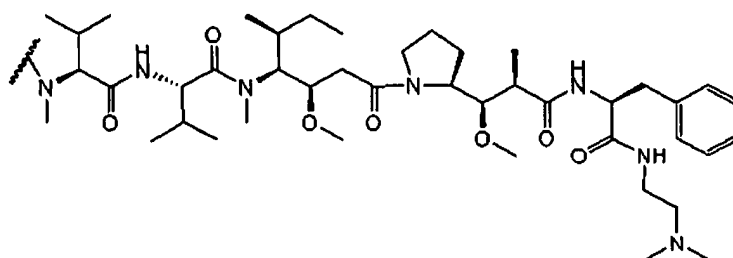
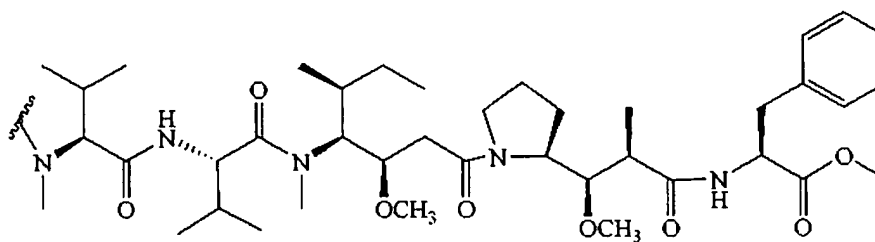
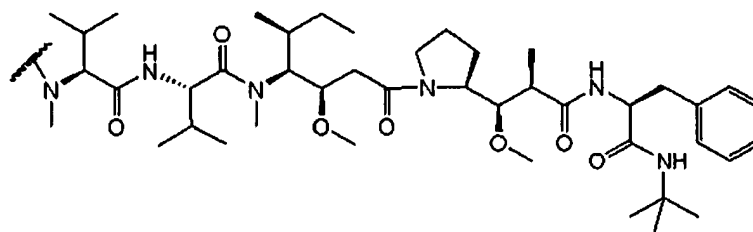
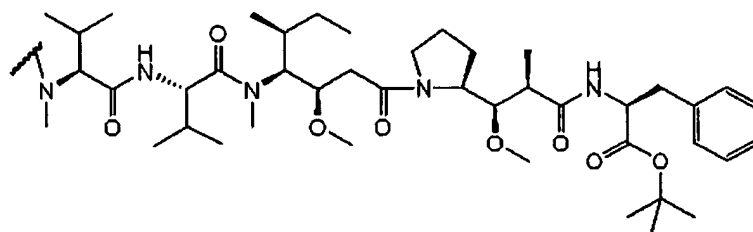
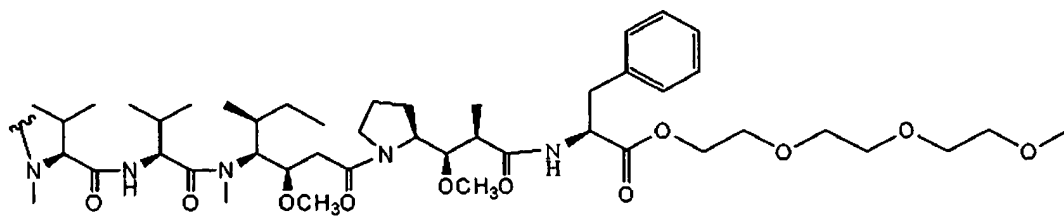
式 D_F 之奧瑞司他汀包括如下者：當 Z 係 $-NH$ 時， R^{11} 係 $-(R^{13}O)_m-CH(R^{15})_2$ ，其中 R^{15} 係 $-(CH_2)_n-SO_3H$ 。其餘取代基如本文所定義。

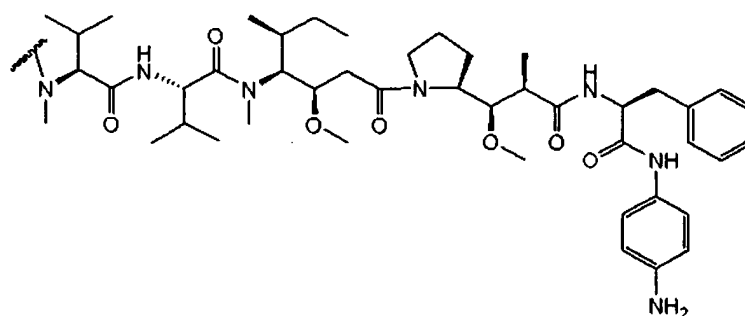
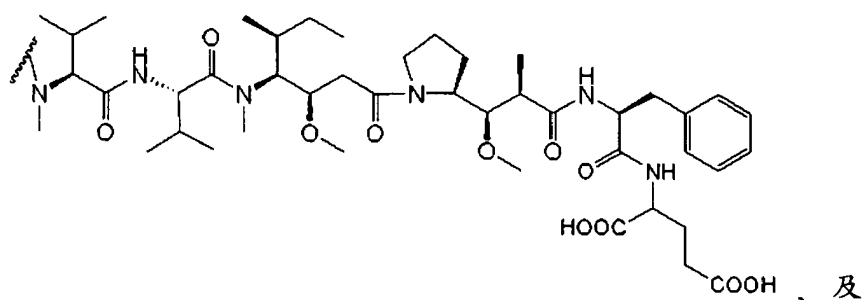
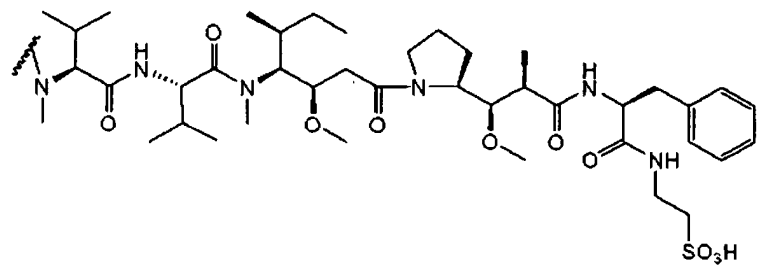
在較佳實施例中，當 D 係式 D_E 之奧瑞司他汀時， w 係介於 1 至 12、較佳 2 至 12 間之整數， y 係 1 或 2，且 a 較佳為 1。

在一些實施例中，當 D 係式 D_F 之奧瑞司他汀時， a 係 1 且 w 及 y 係 0。

例示性藥物單元 ($-D$) 包括具有以下結構之藥物單元：





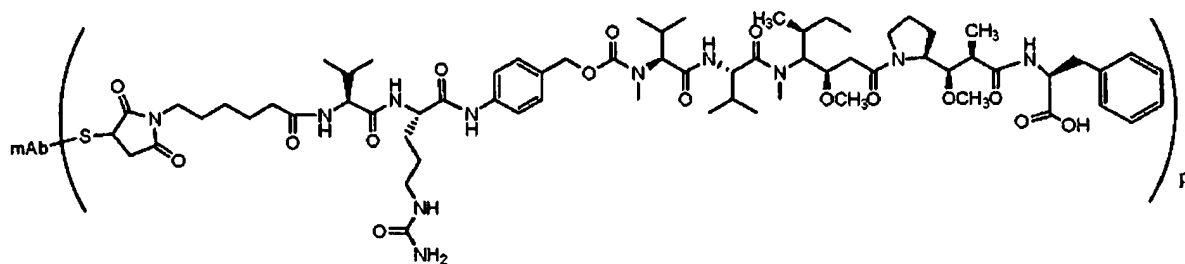
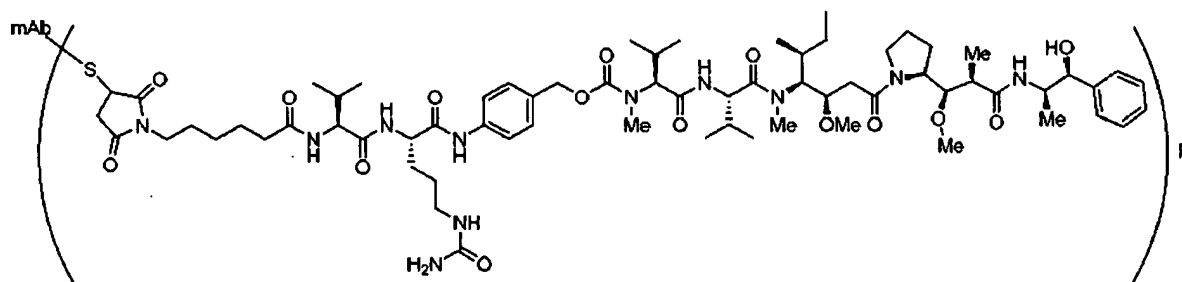


或其醫藥上可接受之鹽或溶劑合物。

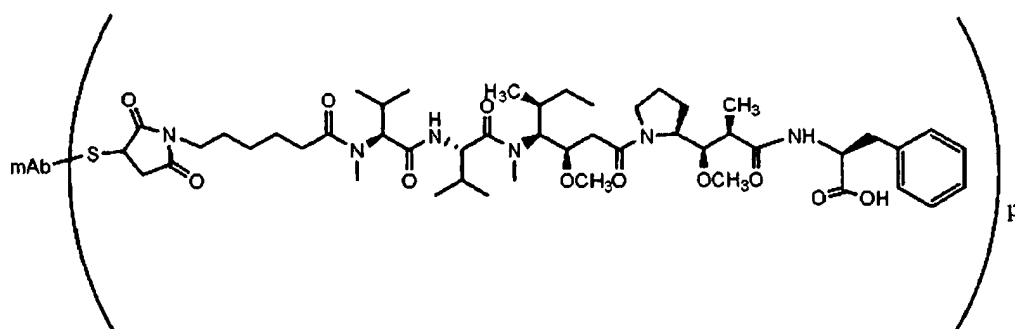
在一個態樣中，可使親水性基團(例如但不限於三乙二醇酯(TEG))在 R^{11} 處連接至藥物單元。不欲受限於理論，親水性基團有助於藥物單元之內化及不凝聚。

在一些實施例中，藥物單元不是TZT-1027。在一些實施例中，藥物單元不是奧瑞司他汀E、多拉司他汀10或奧瑞司他汀PE。

實例性配位體藥物共軛物具有以下結構，其中「mAb」表示抗-DR5抗體且S係抗體之硫原子。下標p係1至約20且較佳1至約5之整數。

**L-mc-vc-MMAF****L-mc-vc-MMAE**

或

**L-mc-MMAF**

或其醫藥上可接受之鹽形式。

在一些實施例中，藥物單元係卡奇黴素(calicheamicin)、喜樹鹼(camptothecin)、類美登素(maytansinoid)或蔥環類抗生素(anthracycline)。在一些實施例中，藥物係紫杉

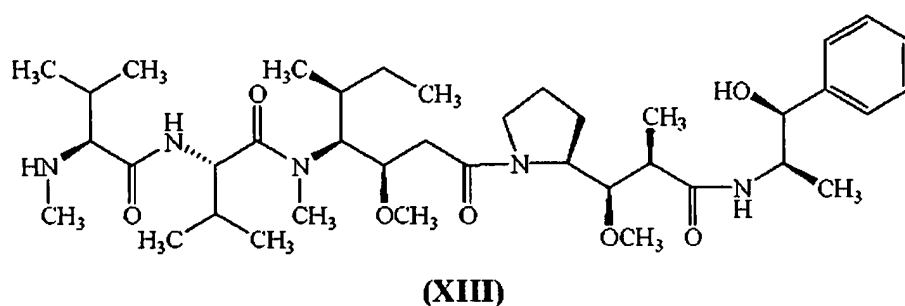
烷、拓撲異構酶抑制劑、長春花生物鹼或諸如此類。

在一些典型實施例中，適宜細胞毒性劑包括(例如)DNA小溝結合劑(例如，烯二炔及來昔菌素(lexitropsin)、CBI化合物；亦參見美國專利第6,130,237號)、多卡米星(duocarmycin)、紫杉烷(例如，紫杉醇(paclitaxel)及多西他賽(docetaxel))、嘌呤黴素(puromycin)及長春花生物鹼。其他細胞毒性劑包括(例如)CC-1065、SN-38、托泊替康(topotecan)、嗎啉基-多柔比星(morpholino-doxorubicin)、根黴素(rhizoxin)、氰基嗎啉基-多柔比星、棘黴素(echinomycin)、考布他汀(combretastatin)、紡錘菌素(netropsin)、埃博黴素(epothilone) A及B、雌莫司汀(estramustine)、藍藻菌素(cryptophysins)、西馬多丁(cemadotin)、類美登素、盤皮海綿內酯(discodermolide)、軟珊瑚醇(eleutherobin)及米托蒽醌(mitoxantrone)。

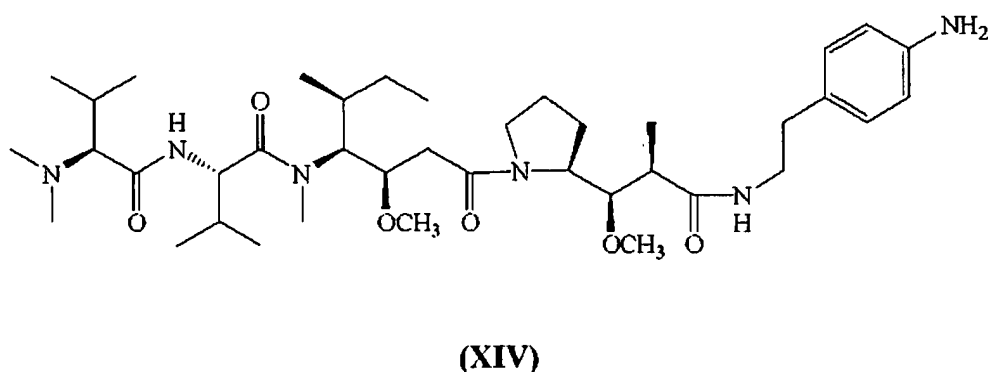
在一些實施例中，藥物係抗微管蛋白劑。抗微管蛋白劑之實例包括奧瑞司他汀、紫杉烷(例如，Taxol®(紫杉醇)、Taxotere®(多西他賽))、T67 (Tularik)及長春花生物鹼(例如，長春新鹼(vincristine)、長春鹼(vinblastine)、長春地辛(vindesine)及長春瑞濱(vinorelbine))。其他抗微管蛋白劑包括(例如)漿果赤黴素(baccatin)衍生物、紫杉烷類似物(例如，埃博黴素A及B)、諾考達唑(nocodazole)、秋水仙素(colchicine)及秋水仙鹽胺(colcimid)、雌莫司汀、藍藻菌素、西馬多丁、類美登素、考布他汀、盤皮海綿內酯及軟珊瑚醇。

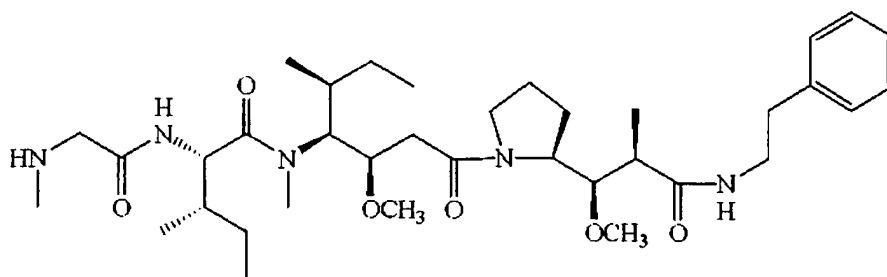
在某些實施例中，細胞毒性劑係另一類抗微管蛋白劑類美登素。例如，在具體實施例中，類美登素係美坦辛(maytansine)或 DM-1(ImmunoGen 公司；亦參見 Chari 等人，1992, Cancer Res. 52:127-131)。

在某些實施例中，細胞毒性或細胞生長抑制劑係多拉司他汀。在某些實施例中，細胞毒性或細胞生長抑制劑係奧瑞司他汀類。因此，在一具體實施例中，細胞毒性或細胞生長抑制劑係 MMAE(式 XIII)。在另一具體實施例中，細胞毒性或細胞生長抑制劑係 AFP(式 XVIII)。

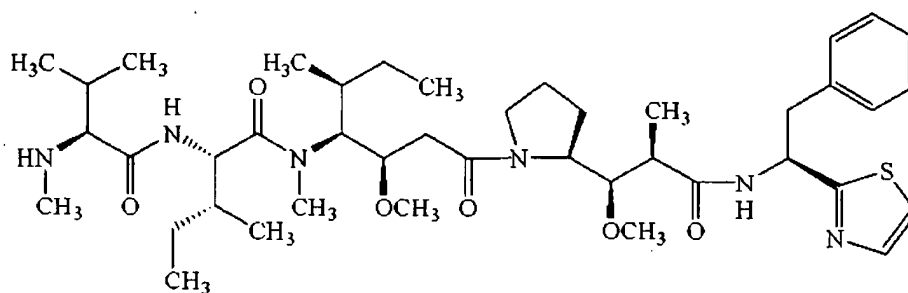


在某些實施例中，細胞毒性或細胞生長抑制劑係式 XII-XXI 化合物或其醫藥上可接受之鹽形式：

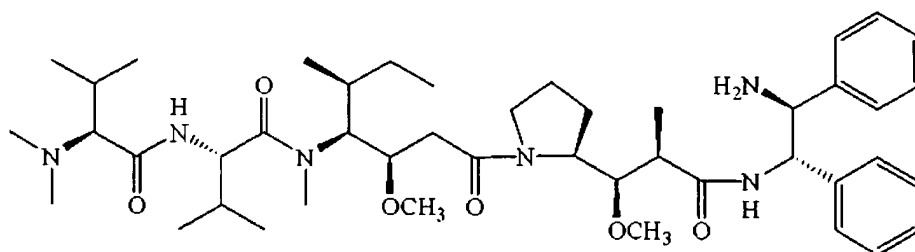




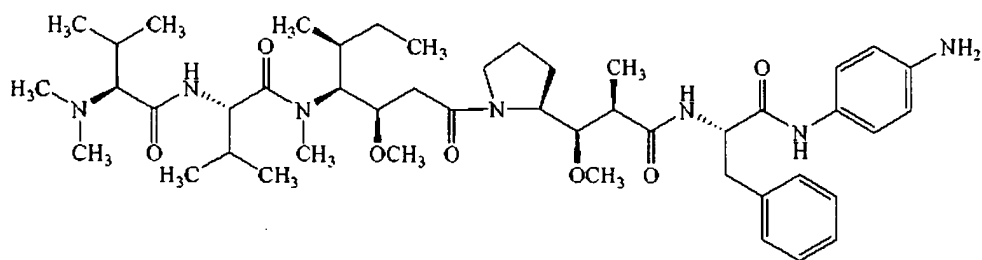
(XV)



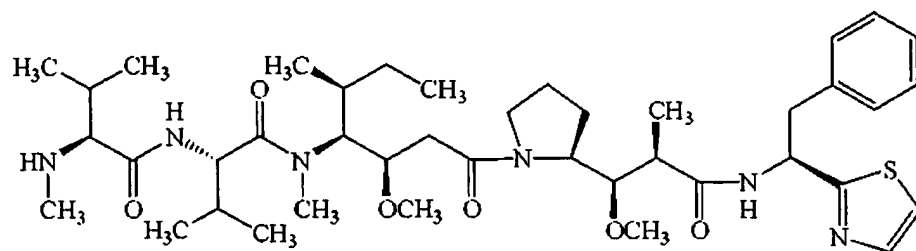
(XVI)



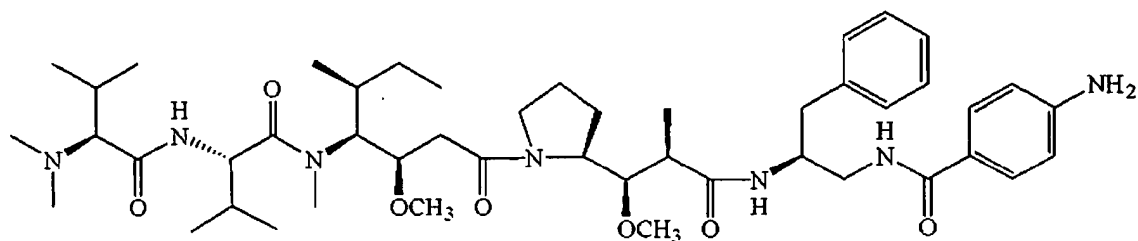
(XVII)



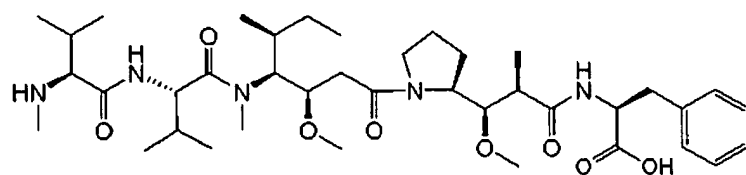
(XVIII)



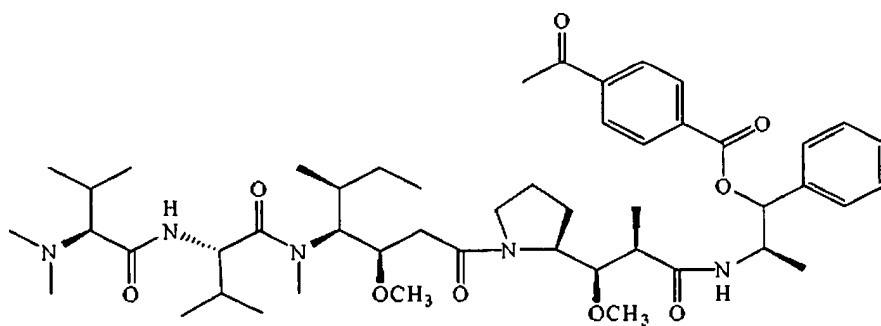
(XIX)



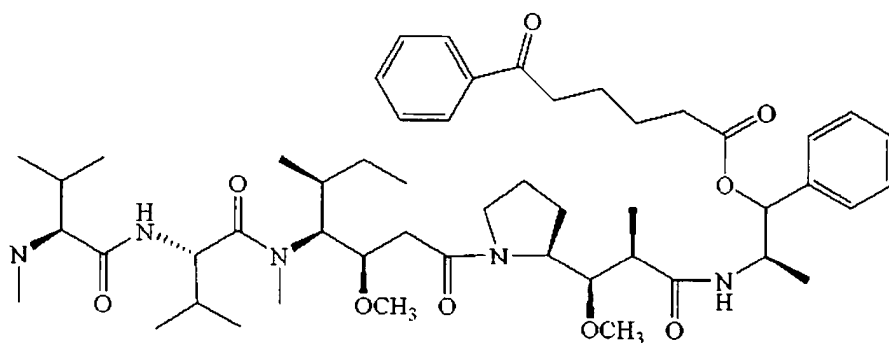
(XX)



(XXI)



(XXII)



(XXIII)

配位體單元

在本發明中，配位體藥物共軛物中之配位體單元(例如，抗體)特異性結合DR5且經由內化而呈現細胞毒性活性。配位體藥物共軛物到達表現配位體單元(例如，抗體)作為靶標而特異性結合之DR5的癌組織。因此，接合至抗體之藥物單元能夠選擇性地作用於靶細胞。因此，抗體-藥物共軛物之功效與單獨抗體相比可大大增強。結合含有死亡結構域之受體之抗體(尤其抗-DR5抗體)可選擇作為可包含於本發明抗體-藥物共軛物中之抗體。

結合DR5之抗體

(1) DR5基因

人類死亡受體5 (DR5)基因之核苷酸序列及胺基酸序列已以 GI:22547118(登記號為 NM_147187)註冊於 GenBank 中。編碼DR5胺基酸序列中一或多個胺基酸經替換、缺失或添加之胺基酸序列且具有與DR5相當之生物活性的核苷酸序列亦包括於DR5基因之核苷酸序列中。另外，由DR5

胺基酸序列中一或多個胺基酸經替換、缺失或添加之胺基酸序列組成且具有與DR5相當之生物活性的蛋白質亦包括於DR5中。

(2) 抗DR5抗體

本發明之抗DR5抗體可以常用方式藉由用DR5或選自DR5胺基酸序列之任何多肽免疫動物來獲得。可收集及純化在活體中產生之該抗體。

另外，單株抗體亦可自藉由按照習知方法使產生抗DR5抗體之抗體產生細胞與骨髓瘤細胞融合而建立之雜交瘤獲得(例如，Kohler及Milstein，Nature (1975) 256，第495-497頁；Kennet, R.編輯，Monoclonal Antibody，第365-367頁，Prenum Press, N.Y. (1980))。

作為抗原之DR5可自表現DR5基因之基因改造宿主細胞獲得。

更具體而言，DR5可藉由製備能夠表現DR5基因之載體、將該載體引入宿主細胞中以表現該基因及純化所表現之DR5來獲得。

另外，在構建使DR5之細胞外區域與抗體恆定區融合之人工基因後，在合適基因表現系統中製備之蛋白質亦可用作免疫原。

(3) 其他抗體

除對抗上文DR5之單株抗體外，本發明抗體包括經人工改造以降低針對人類之異源抗原性之重組抗體，例如嵌合抗體、人類化抗體及人類抗體。該等抗體可藉由習知方法

來製備。

該等嵌合抗體包括可變區與恆定區彼此異源之抗體，且其實例係藉由使衍生自小鼠之抗體之可變區基因連結至人類恆定區基因而產生之嵌合抗體(Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 81, 6851-6855, (1984))。

該等人類化抗體之實例包括僅互補決定區(CDR)轉移至人類抗體中之抗體(Nature (1986) 321, 第522-525頁)以及CDR序列及部分框架中之胺基酸殘基藉由CDR移植而移植至人類抗體中之抗體(國際公開案第WO90/07861號)。

另外，存在人類抗體。術語人類抗DR5抗體係指僅具有衍生自人類染色體之抗體之基因序列的人類抗體。抗-人類DR5抗體可藉由使用產生人類抗體且具有含有人類抗體重鏈及輕鏈基因之染色體片段的小鼠之方法來獲得(Tomizuka, K.等人，Nature Genetics (1997) 16, 第133-143頁；Kuroiwa, Y.等人，Nuc. Acids Res. (1998) 26, 第3447-3448頁；Yoshida, H.等人，Animal Cell Technology: Basic and Applied Aspects, 第10卷, 第69-73頁(Kitagawa, Y., Matuda, T.及Iijima, S.編輯), Kluwer Academic Publishers, 1999；Tomizuka, K.等人，Proc. Natl. Acad. Sci. USA (2000) 97, 第722-727頁)。

該轉基因動物或更具體而言非人類哺乳動物中之內源免疫球蛋白重鏈及輕鏈基因座被破壞且反之人類免疫球蛋白重鏈及輕鏈基因座已經由酵母人工染色體(YAC)載體或諸如此類引入該基因敲除動物中之基因修飾動物可藉由製備如上文所述基因敲除動物及轉基因動物並使該等動物雜交

育種來產生。

抗體亦可自藉由以下產生之培養物上清液獲得：藉由重組DNA技術用cDNA、較佳含有編碼每一人類化抗體重鏈及輕鏈之cDNA的載體轉化真核細胞並培養產生重組人類單株抗體之轉化細胞。

在本文中，可用作宿主之細胞的實例包括真核細胞，較佳哺乳動物細胞，例如CHO細胞、淋巴細胞及骨髓瘤。

另外，亦已知獲得篩選自人類抗體文庫且衍生自噬菌體展示之人類抗體的方法 (Wormstone, I. M. 等人，Investigative Ophthalmology & Visual Science (2002) 43 (7)，第2301-2308頁；Carmen, S. 等人，Briefings in Functional Genomics and Proteomics (2002), 1 (2)，第189-203頁；Siriwardena, D. 等人，Ophthalmology (2002) 109 (3)，第427-431頁)。

例如，將人類抗體重鏈及輕鏈可變區以單鏈抗體(scFv)展示於噬菌體表面上，且隨後選擇抗原結合噬菌體(Nature Biotechnology (2005), 23, (9)，第1105-1116頁)。

編碼抗原結合人類抗體可變區之DNA序列可藉由分析藉由抗原結合選擇之噬菌體的基因來測定。

在清楚抗原結合scFv之DNA序列後，可藉由製備具有該序列之表現載體並將該載體引入適於表現之宿主中來獲得人類抗體 (WO92/01047、WO92/20791、WO93/06213、WO93/11236、WO93/19172、WO95/01438、WO95/15388；Annu. Rev. Immunol (1994) 12，第433-455頁；Nature Biotechnology (2005) 23 (9)，第1105-1116頁)。

當抗體基因被分離且隨後引入合適宿主中以製備抗體時，可使用宿主與表現載體之合適組合。

當使用真核細胞作為宿主時，可使用動物細胞、植物細胞或真核微生物。

該等動物細胞之實例包括猿猴COS細胞 (Gluzman, Y., Cell (1981) 23, 第175-182頁, ATCC CRL-1650)、鼠科動物成纖維細胞NIH3T3(ATCC號為CRL-1658)及中國倉鼠卵巢細胞之二氫葉酸還原酶缺失品系(CHO細胞, ATCC CCL-61)(Urlaub, G.及Chasin, L. A., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. (1980) 77, 第4216-4220頁)。

可使用之原核細胞的實例包括大腸桿菌(*Escherichia coli*)及枯草桿菌(*Bacillus subtilis*)。

抗體可藉由經由轉化將目標抗體基因引入該等細胞中並在活體外培養經轉化細胞來獲得。

本發明抗體之同種型並無限制，其實例包括IgG(IgG1、IgG2、IgG3及IgG4)、IgM、IgA(IgA1及IgA2)、IgD及IgE，但IgG及IgM較佳。

另外，本發明抗體可為具有抗體之抗原結合位點之抗體片段或其修飾形式(只要其保持抗原結合)。

該等抗體功能片段之實例包括Fab、F(ab')₂、藉由還原F(ab')₂獲得之單價可變區片段Fab'、Fv、藉由經由合適連接體使重鏈與輕鏈Fv連接而獲得之單鏈Fv (scFv)、雙鏈抗體(diabody或diabodies)、線性抗體及由抗體片段形成之多特異性抗體，但該等片段並不限於上述片段，只要其保持

抗原結合即可。上述抗體片段可藉由使用諸如木瓜蛋白酶或胃蛋白酶等酶處理全長抗體分子來獲得。上述抗體片段亦可藉由使用編碼上述抗體片段之重鏈及輕鏈之核酸序列以容許合適基因表現系統產生對應蛋白質來獲得。

該等抗體片段可藉由以與上文相同之方式獲得及表現該等基因以容許宿主產生對應蛋白質來製備。

本發明抗體可為多株抗體、具有不同胺基酸序列之數種抗-DR5抗體之混合物。該多株抗體之實例係具有不同CDR之數種抗體之混合物。可使用藉由培養產生不同抗體之細胞的混合物並純化培養物而獲得之抗體作為該多株抗體(WO2004/061104)。

可對獲得之抗體統一進行純化。抗體之分離及純化可藉由用於一般蛋白質之分離及純化方法來實施。

例如，抗體可藉由適當選擇及組合層析管柱、過濾器、超濾、鹽析、透析、製備型聚丙烯醯胺凝膠電泳、等電聚焦及諸如此類進行分離及純化(Strategies for Protein Purification and Characterization: A Laboratory Course Manual, Daniel R. Marshak等人，Cold Spring Harbor Laboratory Press (1996)；Antibodies: A Laboratory Manual. Ed Harlow及David Lane, Cold Spring Harbor Laboratory (1988))，但分離及純化方法並不限於該等方法。

層析之實例包括親和層析、離子交換層析、疏水層析、凝膠過濾、反相層析及吸附層析。該等類型之層析可藉由使用諸如HPLC及FPLC等液相層析來實施。

用於親和層析之管柱的實例包括蛋白質A管柱及蛋白質G管柱。

蛋白質A管柱之實例包括Hyper D、POROS、Sephrose F. F. (Pharmacia)。

另外，亦可藉由抗體與固定於載體上之抗原的結合對抗體進行純化。

(4) 抗-DR5抗體之實例

例如，闡述於國際公開案第WO98/51793號、第WO2001/83560號、第WO2002/94880號、第WO2003/54216號、第WO2004/50895號、第WO2006/83971號及第WO2007/22157號中之誘導DR5表現細胞凋亡之抗-DR5抗體可用作本發明抗體-藥物共軛物之組份。另外，稱為來沙木單抗(Lexatumumab)、HGS-TR2J、Apomab、Apomab7.3、西他土珠(Conatumumab)及LBY135之抗-DR5抗體及其變體亦可用作本發明抗體-藥物共軛物之組份。然而，可用作該等組份之抗體並不限於上述實例，只要該等抗體能夠結合DR5蛋白質即可。

本發明之配位體單元通常為DR5結合劑。在一組實施例中，配位體單元包含對應於人類化TRA-8之重鏈胺基酸序列(SEQ ID NO:1)。人類化TRA-8在本說明書中縮寫為hTRA-8。在另一組實施例中，配位體單元包含對應於人類化TRA-8之輕鏈胺基酸序列(SEQ ID NO:2)。在再一實施例中，配位體單元包含SEQ ID NO: 1及2之重鏈及輕鏈胺基酸序列。在該實施例中用作配位體單元之抗-DR5抗體具有國際非專利名稱替加珠單抗(Tigatuzumab)。在又一實施

例中，配位體單元包含(a) 重鏈免疫球蛋白，其具有由SEQ ID NO:3之胺基酸殘基1-5組成之CDR1、由SEQ ID NO:4之胺基酸殘基1-17組成之CDR2及由SEQ ID NO:5之胺基酸殘基1-10組成之CDR3；及(b) 輕鏈免疫球蛋白，其具有由SEQ ID NO: 6之胺基酸殘基1-11組成之CDR1、由SEQ ID NO:7之胺基酸殘基1-7組成之CDR2及由SEQ ID NO:8之胺基酸殘基1-8組成之CDR3。在另一實施例中，配位體單元包含hTRA-8之重鏈可變區，其包含SEQ ID NO:1之胺基酸殘基1-118；及hTRA-8之輕鏈可變區，其包含SEQ ID NO:2之胺基酸殘基1-107。

另外，配位體單元(L)具有至少一個可與連接體單元之官能團形成鍵之官能團。可天然、經由化學操作或經由改造存在於配位體單元上之有用官能團包括(但不限於)巰基(-SH)、胺基、羥基、羧基、碳水化合物之異頭羥基、及羧基。在一些實施例中，配位體單元官能團係巰基。巰基通常為溶劑可及巰基，例如半胱胺酸殘基上之溶劑可及巰基。巰基可藉由還原配位體之分子內或分子間二硫鍵來產生。巰基亦可藉由使用2-亞胺基硫噻(Traut試劑)或另一巰基產生試劑使配位體離胺酸部分之胺基反應來產生。

在一些實施例中，藉由例如胺基酸取代將一或多個巰基改造至配位體單元中。例如，可將巰基引入配位體單元中。在一些實施例中，藉由絲胺酸或蘇胺酸至半胱胺酸殘基之胺基酸取代及/或藉由向配位體單元中添加半胱胺酸殘基(經改造半胱胺酸殘基)來引入巰基。在一些實施例

中，半胱胺酸殘基係內部半胱胺酸殘基，即，不位於配位體部分之N-端或C-端。

在一實例性實施例中，可藉由胺基酸取代將半胱胺酸殘基改造至抗體重鏈或輕鏈可變區(例如，諸如雙鏈抗體等抗體片段之重鏈或輕鏈可變區)中。胺基酸取代通常引入框架區中且位於可變區之抗原決定部位-結合面之遠端。例如，胺基酸取代距離抗原決定部位-結合面或CDR可至少10埃、至少20埃或至少25埃。半胱胺酸殘基之適宜取代位置可基於已知或預測之抗體可變區的三維結構來確定。(通常參見Holliger及Hudson, 2005, Nature BioTechnology 23(9):1126-1136)。在實例性實施例中，在V_H區之胺基酸位置84處及/或V_L區之位置14處(按照Kabat等人，Sequences of Proteins of Immunological Interest, 第5版(Bethesda, MD, NIH) 1991之編號系統)引入絲胺酸至半胱胺酸之胺基酸取代。

為控制連接至配位體單元之藥物或連接體單元-藥物單元之數量，可藉由胺基酸取代來除去一或多個半胱胺酸殘基。例如，可藉由半胱胺酸至絲胺酸殘基之胺基酸取代來減少免疫球蛋白鉸鏈區中溶劑可及半胱胺酸殘基之數量。

在一些實施例中，配位體單元含有1、2、3、4、5、6、7或8個溶劑可及半胱胺酸殘基。在一些實施例中，配位體單元含有2或4個溶劑可及半胱胺酸殘基。

分析

已知測定藥物或配位體藥物共軛物是否對細胞施加細胞

生長抑制及/或細胞毒性效應之方法。通常，配位體藥物共軛物之細胞毒性或細胞生長抑制活性可藉由以下來量測：使表現靶蛋白之哺乳動物細胞暴露於存於細胞培養基中之配位體藥物共軛物；將細胞培養約6小時至約5天之時間段；及量測細胞生存力。可利用基於細胞之活體外分析來量測生存力(增殖)、配位體藥物共軛物之細胞毒性及對細胞凋亡之誘導(半胱天冬酶激活)。

可利用胸苷納入分析來測定配位體藥物共軛物是否施加細胞生長抑制效應。例如，可將以5,000個細胞/孔之密度鋪板於96孔板中之表現靶抗原之癌細胞培養72小時時間段，並在72小時時間段之最後8小時期間暴露於0.5 μCi ^3H -胸苷。在存在及不存在配位體藥物共軛物下量測 ^3H -胸苷至培養物中之細胞的納入。

測定細胞毒性時，可量測壞死或細胞凋亡(程序性細胞死亡)。壞死通常伴隨質膜通透性增加；細胞腫脹；及質膜破裂。細胞凋亡之特徵通常在於膜起泡、細胞質濃縮及內源內切核酸酶激活。對癌細胞之該等效應中任一者的確定均表明配位體藥物共軛物可用於治療癌症。

細胞生存力可藉由測定細胞中諸如中性紅、錐蟲藍或ALAMAR™藍等染料之攝取來量測(參見例如Page等人，1993, Intl. J. Oncology 3:473-476)。在該分析中，在含有染料之培養基中培育細胞，洗滌細胞，並藉由分光光度法來量測剩餘染料，剩餘染料反映細胞之染料攝取。蛋白質結合染料磺醯羅丹明B (sulforhodamine B) (SRB)亦可用於

量測細胞毒性(Skehan等人, 1990, J. Natl. Cancer Inst. 82:1107-12)。

或者, 在藉由檢測活(而非死亡)細胞之哺乳動物細胞存活及增殖之定量比色分析中使用四唑鹽(例如MTT)(參見例如Mosmann, 1983, J. Immunol. Methods 65:55-63)。

可藉由量測例如DNA斷裂來定量細胞凋亡。可利用用於DNA斷裂之定量活體外測定之市售光度測定方法。該等分析之實例包括TUNEL(其檢測斷裂DNA中標記核苷酸之納入)及基於ELISA之分析, 其闡述於Biochemica, 1999, 第2期, 第34-37頁(Roche Molecular Biochemicals)中。

亦可藉由量測細胞之形態變化來測定細胞凋亡。例如, 與壞死一樣, 質膜完整性之喪失可藉由量測某些染料(例如, 螢光染料, 例如, 吖啶橙或溴化乙錠)之攝取來測定。Duke及Cohen, Current Protocols in Immunology(Coligan等人編輯, 1992, 第3.17.1-3.17.16頁)已闡述量測凋亡細胞數量之方法。亦可用DNA染料(例如, 吖啶橙、溴化乙錠或碘化丙錠)標記細胞, 並針對染色質濃縮及沿內層核膜之著邊(margination)觀察細胞。可進行量測以測定細胞凋亡之其他形態變化包括(例如)細胞質濃縮、膜起泡增加及細胞皺縮。

可在培養物之附著及「漂浮」兩個部分中量測凋亡細胞之存在。例如, 可藉由移除上清液, 使附著細胞胰蛋白酶化, 在離心洗滌步驟(例如, 在2000 rpm下10分鐘)之後組合製備品及檢測細胞凋亡(例如, 藉由量測DNA斷裂)來收

集該兩個部分。(參見例如Piazza等人, 1995, Cancer Research 55:3110-16)。

可在動物模型中測試或驗證配位體藥物共軛物之效應。熟習此項技術者已知諸多確定之癌症動物模型, 可使用其中之任一者來分析配位體藥物共軛物之功效。該等模型之非限制性實例闡述於下文中。而且, 可藉由將人類腫瘤細胞系植入合適的免疫缺陷齧齒類動物品系(例如, 無胸腺裸小鼠或SCID小鼠)中來創建用以檢測配位體藥物共軛物之活體內功效的小動物模型。

組合物及投予方法

已知多種遞送系統且可使用該等系統來投予配位體-藥物共軛物。引入方法包括(但不限於)皮內、肌內、腹膜內、靜脈內及皮下途徑。可藉由例如輸注或濃注來投予。在某些較佳實施例中, 藉由輸注來投予配位體藥物共軛物。非經腸投予係較佳之投予途徑。

可以包含一或多種醫藥上相容之成份之醫藥組合物形式來投予配位體藥物共軛物。例如, 醫藥組合物通常包括一或多種醫藥載劑(例如, 無菌液體, 例如水及油, 油包括石油、動物油、植物油或合成來源之油, 例如花生油、大豆油、礦物油、芝麻油及諸如此類)。當靜脈內投予醫藥組合物時, 水係更典型之載劑。亦可採用鹽水溶液及水性右旋糖及甘油溶液作為液體載劑, 尤其對於可注射溶液而言。適宜醫藥賦形劑已為熟習此項技術者所習知。若需要, 該組合物亦可含有少量潤濕劑或乳化劑或pH緩衝劑。

適宜醫藥載劑之實例闡述於E.W. Martin之「Remington's Pharmaceutical Sciences」中。調配物與投予方式相對應。

在典型實施例中，將醫藥組合物按照常規程序調配成適於靜脈內投予至人類之醫藥組合物。通常，用於靜脈內投予之組合物係存於無菌等滲水性緩衝液中之溶液。需要時，該藥品亦可包括增溶劑及局部麻醉劑(例如利多卡因(lignocaine))以減輕注射部位之疼痛。通常，該等成份可單獨地或混合在一起以單位劑型提供，例如，作為凍乾粉末或不含水之濃縮物存於諸如安瓿或藥囊等標明活性劑之量的密封容器中。當藥品擬藉由輸注進行投予時，其可使用例如含有無菌醫藥級水或鹽水之輸注瓶來分配。當藥品係藉由注射進行投予時，可提供例如注射用無菌水或鹽水的安瓿以便在投予之前混合各成份。

有效治療特定病症或病狀之化合物的量應端視病症或病狀之性質而定，且可藉由標準臨床技術來確定。另外，可視情況採用活體外或活體內分析來幫助確定最佳劑量範圍。擬用於組合物中之準確劑量亦應端視投予途徑及疾病或病症之嚴重程度而定，且應根據執業醫師之判斷及各患者之情況來決定。

組合物包含有效量之化合物，由此獲得適宜劑量。通常，以組合物之重量計，該量為至少約0.01%之化合物。

靜脈內投予時，組合物可包含約0.01至約100 mg化合物/kg動物體重。在一個態樣中，組合物可包括約1至約100 mg化合物/kg動物體重。在另一態樣中，投予量介於約0.1至

約 25 mg 化合物/kg 體重範圍內。

通常，投予至患者之化合物的劑量通常為約 0.01 mg/kg 至約 100 mg/kg 個體體重。在一些實施例中，投予至患者之劑量介於約 0.01 mg/kg 至約 15 mg/kg 個體體重之間。在一些實施例中，投予至患者之劑量介於約 0.1 mg/kg 與約 15 mg/kg 個體體重之間。在一些實施例中，投予至患者之劑量介於約 0.1 mg/kg 與約 20 mg/kg 個體體重之間。在一些實施例中，投予劑量介於約 0.1 mg/kg 至約 5 mg/kg 或約 0.1 mg/kg 至約 10 mg/kg 個體體重之間。在一些實施例中，投予劑量介於約 1 mg/kg 至約 15 mg/kg 個體體重之間。在一些實施例中，投予劑量介於約 1 mg/kg 至約 10 mg/kg 個體體重之間。

通常將醫藥組合物調配成滅菌的實質上等滲形式，且完全符合美國食品與藥物管理局 (U.S. Food and Drug Administration) 之所有良好製造規範 (Good Manufacturing Practice) (GMP) 規章制度。

使用配位體藥物共軛物之治療方法

該等配位體藥物共軛物可用於抑制腫瘤細胞或癌細胞之繁殖或用於治療動物癌症。因此，該等配位體藥物共軛物可以多種設定用於治療動物癌症。

可使用該等配位體藥物共軛物治療之特定癌症類型包括 (但不限於)：(1) 實體腫瘤，包括但不限於纖維肉瘤、黏液肉瘤、脂肪肉瘤、軟骨肉瘤、成骨性肉瘤、脊索瘤、血管肉瘤、內皮肉瘤、淋巴管肉瘤、淋巴管內皮肉瘤、滑膜

瘤、間皮瘤、尤文氏瘤(Ewing's tumor)、平滑肌肉瘤、橫紋肌肉瘤、結腸癌、結腸直腸癌、腎癌、胰腺癌、骨癌、乳癌、卵巢癌、前列腺癌、食道癌、胃癌、口癌、鼻癌、喉癌、鱗狀細胞癌、基底細胞癌、腺癌、汗腺癌、皮脂腺癌、乳頭狀癌、乳頭狀腺癌、囊腺癌、髓樣癌、枝氣管原癌、腎細胞癌、肝細胞瘤、膽管癌、絨毛膜癌、精原細胞瘤、胚胎性癌、維爾姆斯瘤(Wilms' tumor)、子宮頸癌、子宮癌、睪丸癌、小細胞肺癌、膀胱癌、肺癌、上皮癌、神經膠質瘤、膠質母細胞瘤、多形性星形細胞瘤、髓母細胞瘤、顱咽管瘤、室管膜瘤、松果體瘤、血管母細胞瘤、聽神經瘤、少突神經膠質瘤、腦膜瘤、皮膚癌、黑色素瘤、神經母細胞瘤及視網膜母細胞瘤；(2) 血源性癌症，包括但不限於急性淋巴母細胞性白血病「ALL」、急性淋巴母細胞性B-細胞白血病、急性淋巴母細胞性T-細胞白血病、急性骨髓母細胞性白血病「AML」、急性前骨髓細胞性白血病「APL」、急性單核母細胞性白血病、急性紅白血病性白血病、急性巨核母細胞性白血病、急性骨髓單核細胞性白血病、急性非淋巴細胞性白血病、急性未分化性白血病、慢性骨髓細胞性白血病「CML」、慢性淋巴細胞性白血病「CLL」、多毛細胞白血病、多發性骨髓瘤、急性及慢性白血病，例如淋巴母細胞性髓性白血病及淋巴細胞性骨髓細胞性白血病；及(3) 淋巴瘤，例如霍奇金氏病(Hodgkin's disease)、非霍奇金氏淋巴瘤、多發性骨髓瘤、沃爾登斯特倫巨球蛋白血症(Waldenstrom's macro-

globulinemia)、重鏈病及真性紅血球增多症。

在一些實施例中，本發明提供治療癌症之方法，其包含向需要其之個體投予有效量之包含共價連接至細胞毒性劑之DR5結合劑的配位體藥物共軛物或其醫藥組合物。在一些實施例中，配位體藥物共軛物包含上文所提供之式I。配位體藥物共軛物之有效量應端視所治療之個體、患病之嚴重程度及投予方式而定。有效量之確定已為彼等熟習此項技術者所熟知，尤其可根據本文所提供之詳細揭示內容來確定。通常，配位體藥物共軛物之靈驗或有效量係藉由以下來確定：首先投予低劑量或少量，且隨後遞增所投予之劑量(dose或dosage)，直至在治療個體中觀察到期望治療效果而毒性副作用最小或沒有。用於確定本發明投予之合適劑量及投用時間表之適用方法闡述於(例如)Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics，第11版，Brunton、Lazo及Parker編輯，McGraw-Hill (2006)及Remington: The Science and Practice of Pharmacy，第21版，Gennaro編輯，Lippencott Williams & Wilkins (2003)，二者均以引用方式併入本文中。

實例

DR5抗體藥物共軛物之接合

如下製備hTRA-8抗體藥物共軛物。使用包含對應於胺基酸序列SEQ ID NO: 1之重鏈且包含對應於胺基酸序列SEQ ID NO: 2之輕鏈的hTRA-8抗體作為配位體單元。該hTRA-8抗體稱為替加珠單抗。使7.6 mg/mL之hTRA-8抗體

溶液在37°C下預平衡，且隨後添加15%體積之500 mM硼酸鈉(pH 8.0)以使pH升高至7.5-8.0。該溶液亦含有1 mM DTPA。藉由添加2.6當量TCEP/莫耳抗體並在37°C下攪拌來部分還原抗體。28分鐘後，將還原抗體之溶液置於冰上，隨後立即使用4.8-4.9莫耳當量(相對於抗體)之藥物連接體(例如，mc-vc-MMAF或mc-vc-MMAE或mc-MMAF)以存於DMSO中之20.5 mM溶液形式進行處理。引入額外DMSO以使混合物達到10體積%之DMSO。將反應混合物在冰上攪拌約90分鐘，隨後使用5倍莫耳過量之N-乙醯基半胱胺酸(相對於mc-vc-MMAF)進行處理。藉由正切流動過濾來分離共軛物，首先濃縮至約10 mg/mL，隨後使用約10透析過濾體積(diavolume)之PBS進行透析過濾。所得抗體藥物共軛物之平均載藥數為每一抗體約四個藥物-連接體單元。在附圖及說明書中使用以下縮寫：與mc-vc-MMAF接合之hTRA-8的抗體藥物共軛物縮寫為hTRA-8-vc-MMAF；與mc-vc-MMAE接合之hTRA-8的抗體藥物共軛物縮寫為hTRA-8-vc-MMAE；且與mc-MMAF接合之hTRA-8的抗體藥物共軛物縮寫為hTRA-8-mc-MMAF。

製備平均載藥數為每一抗體約兩個藥物-連接體單元之抗體藥物共軛物時，藉由使TCEP的量降低50%來修改方案(上文)。藥物連接體之量亦降低50%。對應抗體藥物共軛物縮寫為hTRA-8-vc-MMAF(2)。

在活體外hTRA-8 ADC對數種人類腫瘤細胞系之細胞毒性

使用1 µg/mL山羊抗-人類IgG Fc抗體溶液(MP Bioscience)

將 hTRA-8 及 hTRA-8 抗體藥物共軛物稀釋至 2000 ng/mL。將該等溶液使用培養基連續稀釋 10 倍。將 50 μ L 之各濃度該等溶液之等分試樣添加至 96 孔微量培養板(Corning)中。將細胞懸浮液調節至 1.0×10^5 個存活細胞/mL 培養基，並以 50 μ L/孔添加至各孔中。空白孔中未接種細胞。將該等板在 CO₂ 培育箱中培育 72 h 後，使用 CellTiter-Glo 發光細胞生存力分析(Promega)按照製造商說明書實施 ATP 檢測分析。藉由微量培養板讀數器(Mithras LB940, Berthold Technologies)來量測發光。一式三份實施分析，並按照以下等式來計算各孔之細胞生存力：

$$\text{生存力}(\%) = 100 \times (\text{測試孔之發光} - \text{空白孔之平均發光}) / (\text{含有未處理細胞之孔的平均發光} - \text{空白孔之平均發光})。$$

圖 1-11 提供使用本發明之 hTRA-8 配位體藥物共軛物進行評價之 11 種細胞系的結果。如圖中所示，該等抗體藥物共軛物與 hTRA-8 (呈非接合形式) 相比更有效地誘導所測試 11 種細胞系中之 6 種細胞系發生細胞死亡。

hTRA-8 ADC 之 DR5 結合活性

在 4°C 下，使用存於 50 mM NaHCO₃ (pH 9.5) 中之 0.25 μ g/mL 人類 DR5-Fc 將平底 96 孔微量培養板(Nalge Nunc International)塗敷過夜。使用 200 μ L 含有 0.05% Tween 20 之 PBS (PBS-Tween) 洗滌該等孔後，將板使用 100 μ L 稀釋於 PBS 中之 1% BSA 在室溫下阻斷 1.5 h。使用 PBS 將 hTRA-8 及 hTRA-8 ADC 連續稀釋兩倍，自 20 μ g/mL 至 0.16 μ g/mL。使用 PBS-Tween 洗滌該等孔後，向存在 50 μ L 生物素標記之

hTRA-8的孔中添加50 μL hTRA-8及hTRA-8 ADC之連續稀釋物。將該等板在室溫下培育2 h。使用PBS-Tween洗滌該等孔後，向各孔中添加100 μL 抗生蛋白鏈菌素-辣根過氧化物酶共軛物(以1/5000稀釋於PBS中，Amersham Life Science)，並在室溫下培育1 h。使用PBS-Tween洗滌該等孔後，藉由在室溫下暴露於50 μL HRP受質溶液(Sumilon)來實施顯色反應，並在490 nm下於微量培養板讀數器(Spectra MAX M5; Molecular Devices)上量測吸光度。一式三份實施分析。結果提供於圖12中。

在圖12中，觀察hTRA-8配位體藥物共軛物與hTRA-8(呈非接合形式)相比對人類DR5之結合活性。

hTRA-8 ADC對人類原代肝細胞之細胞毒性

製備原代人類肝細胞時，使用由解凍培養基、接種培養基及培育培養基組成之培養基套組(Biopredic International)。將一小瓶冰凍肝細胞解凍並使用解凍培養基洗滌。將細胞再懸浮於接種培養基中，並以 3.5×10^4 個存活細胞/孔接種於塗敷有膠原之96孔板(IWAKI)中。空白孔中未接種細胞。在 CO_2 培育箱中培養細胞。培育4 h後，抽吸培養物上清液，並向各孔中添加100 μL 培育培養基。培育過夜後，抽吸培養物上清液。使用0.5 $\mu\text{g/mL}$ 山羊抗-人類IgG Fc抗體溶液(MP Bioscience)將hTRA-8及hTRA-8抗體藥物共軛物稀釋至1000 ng/mL。將該等溶液使用培養基連續稀釋至100、10、1 ng/mL。將TRAIL (R&D Systems)使用培育培養基稀釋至1000、100、10、1 ng/mL。向含有肝細胞之板

中添加100 μL 各濃度該等溶液之等分試樣。將肝細胞在 CO_2 培育箱中培育6 h後，使用CellTiter-Glo發光細胞生存力分析(Promega)按照製造商說明書實施ATP檢測分析。藉由微量培養板讀數器(Mithras LB940, Berthold Technologies)來量測發光。一式三份實施分析，並按照以下等式來計算各孔之細胞生存力：

生存力(%)=100×(測試孔之發光-空白孔之平均發光)/(含有未處理細胞之孔的平均發光-空白孔之平均發光)。

如圖13中所示，hTRA-8配位體藥物共軛物未顯示對原代人類肝細胞之細胞毒性(亦顯示使用單獨hTRA-8之結果)。

共軛物之活體內活性-方法

將6至8週齡之無特定病原體之Balb/cA Jcl nu/nu裸小鼠(Charles River Laboratories Japan公司)在無特定病原體之條件下飼養超過5天以適應環境，隨後用於研究。將小鼠圈養在已滅菌的籠子中，該等籠子置於乾淨的層流架(laminar airflow rack)中。給小鼠餵以已滅菌的固體飲食(FR-2，Funabashi Farms有限公司)，並給予藉由添加5至15 ppm次氯酸鈉溶液而製備之已滅菌之自來水。

在所有研究中，藉由使用電子數位卡尺(CD-15C，Mitutoyo公司)每週量測兩次腫瘤長度及腫瘤寬度來計算腫瘤體積(mm^3)。按照以下等式來計算腫瘤體積：

$$\text{腫瘤體積}(\text{mm}^3)=1/2 * \text{腫瘤長度}(\text{mm}) * \{\text{腫瘤寬度}(\text{mm})\}^2$$

將hTRA-8及與藥物接合之hTRA-8稀釋於鹽水中，並以

10 mL/kg小鼠體重之體積投予至具有腫瘤之裸小鼠中。

每一人類腫瘤異種移植物研究之詳細程序如下所述：

COLO205

人類結腸直腸腺癌細胞系 COLO205購自美國典型細胞保藏中心(ATCC)。第0天，將 2×10^6 個細胞經皮下接種至雌性裸小鼠之右肋腹中。第7天，將所有具有腫瘤之裸小鼠隨機分成實驗組。在實驗1(圖14)中，在第7、14及21天以3 mg/kg之劑量靜脈內投予hTRA-8、hTRA-8-vcMMAE、hTRA-8-vcMMAF及hTRA-8-mcMMAF。在實驗2(圖15)中，在第7、14及21天以10 mg/kg之劑量靜脈內投予hTRA-8、hTRA-8-vcMMAF(2)、hTRA-8-vcMMAF及hTRA-8-mcMMAF。

A375

人類黑色素瘤細胞系 A375購自美國典型細胞保藏中心(ATCC)。第0天，將 2×10^6 個細胞經皮下接種至雌性裸小鼠之右肋腹中。第10天，將所有具有腫瘤之裸小鼠隨機分成實驗組。在實驗1(圖16)中，在第10、17、24及31天以3 mg/kg之劑量靜脈內投予hTRA-8、hTRA-8-vcMMAE、hTRA-8-vcMMAF及hTRA-8-mcMMAF。在實驗2(圖17)中，在第10、17、24及31天以3 mg/kg之劑量靜脈內投予hTRA-8、hTRA-8-vcMMAF(2)、hTRA-8-vcMMAF及hTRA-8-mcMMAF。

A549

人類肺腺癌細胞系 A549購自美國典型細胞保藏中心(ATCC)。第0天，將 5×10^6 個細胞經皮下接種至雌性裸小

鼠之右肋腹中。第14天，將所有具有腫瘤之裸小鼠隨機分成實驗組。在第14、21、28及35天以3 mg/kg之劑量靜脈內投予 hTRA-8、hTRA-8-vcMMAE、hTRA-8-vcMMAF及 hTRA-8-mcMMAF。結果提供於圖18中。

A2058

人類黑色素瘤細胞系 A2058購自美國典型細胞保藏中心(ATCC)。第0天，將 1×10^6 個細胞經皮下接種至雌性裸小鼠之右肋腹中。第14天，將所有具有腫瘤之裸小鼠隨機分成實驗組。在第14、21及28天以3 mg/kg之劑量靜脈內投予 hTRA-8、hTRA-8-vcMMAE、hTRA-8-vcMMAF及 hTRA-8-mcMMAF。結果提供於圖19中。

AN3CA

人類子宮腺癌細胞系 AN3CA購自美國典型細胞保藏中心(ATCC)。第0天，將保持於裸小鼠中之實體腫瘤碎片(大小為 $3 \times 3 \times 3 \text{ mm}^3$)經皮下接種至雌性裸小鼠之右肋腹中。第7天，將所有具有腫瘤之裸小鼠隨機分成實驗組。在第7、14及21天以3 mg/kg之劑量靜脈內投予 hTRA-8、hTRA-8-vcMMAF及 hTRA-8-mcMMAF。結果提供於圖20中。

BxPC-3

人類胰腺腺癌細胞系 BxPC-3購自美國典型細胞保藏中心(ATCC)。第0天，將 1×10^7 個細胞經皮下接種至雌性裸小鼠之右肋腹中。第7天，將所有具有腫瘤之裸小鼠隨機分成實驗組。在第7、14、21及28天以3 mg/kg之劑量靜脈內投予 hTRA-8、hTRA-8-vcMMAE、hTRA-8-vcMMAF及

hTRA-8-mcMMAF。結果提供於圖 21 中。

NCI-H2122

人類肺腺癌細胞系 NCI-H2122 購自美國典型細胞保藏中心(ATCC)。第 0 天，將 2×10^6 個細胞經皮下接種至雌性裸小鼠之右肋腹中。第 11 天，將所有具有腫瘤之裸小鼠隨機分成實驗組。在第 11、18、25 及 32 天以 3 mg/kg 之劑量靜脈內投予 hTRA-8、hTRA-8-vcMMAE、hTRA-8-vcMMAF 及 hTRA-8-mcMMAF。結果提供於圖 22 中。

MIA PaCa-2

人類胰腺腺癌細胞系 MIA PaCa-2 購自美國典型細胞保藏中心(ATCC)。第 0 天，將保持於裸小鼠中之實體腫瘤碎片(大小為 $5 \times 5 \times 5 \text{ mm}^3$)經皮下接種至雌性裸小鼠之右肋腹中。第 10 天，將所有具有腫瘤之裸小鼠隨機分成實驗組。在第 10、17 及 24 天以 3 mg/kg 之劑量靜脈內投予 hTRA-8、hTRA-8-vcMMAE、hTRA-8-vcMMAF 及 hTRA-8-mcMMAF。結果提供於圖 23 中。

PC-3

人類前列腺腺癌細胞系 PC-3 購自美國典型細胞保藏中心(ATCC)。第 0 天，將 2×10^6 個細胞經皮下接種至雄性裸小鼠之右肋腹中。第 35 天，將所有具有腫瘤之裸小鼠隨機分成實驗組。在第 35、42 及 49 天以 3 mg/kg 之劑量靜脈內投予 hTRA-8、hTRA-8-vcMMAF 及 hTRA-8-mcMMAF。結果提供於圖 24 中。

HCT-116

人類結腸直腸腺癌細胞系 HCT-116 購自美國典型細胞保藏中心(ATCC)。第0天，將 1×10^7 個細胞經皮下接種至雌性裸小鼠之右肋腹中。第10天，將所有具有腫瘤之裸小鼠隨機分成實驗組。在第10、17、24及31天以 3 mg/kg 之劑量靜脈內投予 hTRA-8、hTRA-8-vcMMAF 及 hTRA-8-mcMMAF。結果提供於圖 25 中。

DU145

人類前列腺腺癌細胞系 DU145 購自美國典型細胞保藏中心(ATCC)。第0天，將藉由經皮下植入至裸小鼠中來保持之實體腫瘤碎片(大小為 $5 \times 5 \times 5 \text{ mm}^3$)經皮下接種至雄性裸小鼠之右肋腹中。第9天，將所有具有腫瘤之裸小鼠隨機分成實驗組。在第9、16、23及30天以 3 mg/kg 之劑量靜脈內投予 hTRA-8、hTRA-8-vcMMAF 及 hTRA-8-mcMMAF。結果提供於圖 26 中。

共軛物之活體內活性-結果

在測試之11種腫瘤細胞系中，A375、A549、A2058、AN3CA、BXPC-3、PC-3、HCT-116及DU145顯示對hTRA-8有抗性。該8種腫瘤細胞系中，hTRA-8-vcMMAF及hTRA-8-mcMMAF顯示對A375、PC-3及HCT-116之抗腫瘤功效。另外，hTRA-8-vcMMAF亦顯示對A2058、BXPC-3及DU145之抗腫瘤功效。hTRA-8顯示對NCI-H2122具有中等抗腫瘤功效，而hTRA-8-vcMMAF及hTRA-8-mcMMAF顯示比hTRA-8強效之抗腫瘤功效。另一方面，以3 mg/kg劑量時，所有與藥物接合之hTRA-8皆顯示比hTRA-8弱之對

COLO205之抗腫瘤功效。當投予劑量增加至10 mg/kg時，hTRA-8-vcMMAF及hTRA-8-mcMMAF顯示與hTRA-8相當之功效。A549及AN3CA對hTRA-8及與藥物接合之hTRA-8有抗性。該等結果表明hTRA-8配位體藥物共軛物具有比hTRA-8強效之抗腫瘤功效，且顯示共軛物對抗hTRA-8腫瘤具有功效。

活體內競爭研究-方法

4至6週齡之無特定病原體之雌性 CAnN.Cg-Foxn1nu/CrlCrlj 小鼠(裸小鼠)購自 Charles River Laboratories Japan公司，且在其達到5至8週齡時使用。將5至6隻小鼠一起圈養在已滅菌之籠子中，並保持在無特定病原體之條件下。在實驗室中，環境條件設置為23℃之溫度及55%濕度，且人工照明12 h (8:00-20:00)。給小鼠餵以FR-2飲食(Funabashi Farm有限公司)，並隨意提供含有氯(5-15 ppm)之水。

在所有研究中，選擇具有腫瘤之小鼠並基於腫瘤體積劃分實驗組。在裸小鼠中建立腫瘤後，使用數位卡尺(CD15-C, Mituyo公司)量測所有具有腫瘤之小鼠中之腫瘤長度及寬度(mm)，精確至小數點後兩位。數據自動記錄於Sankyo動物實驗數據管理系統(SMAD, JMAC公司)中。在SMAD中按照以下等式自動計算各小鼠之腫瘤體積：

$$\text{腫瘤體積 (mm}^3\text{)} = 1/2 * \text{腫瘤長度 (mm)} * \{\text{腫瘤寬度 (mm)}\}^2$$

將重組人類DR5-Fc (rhDR5-Fc)、人類IgG (hIgG)、與藥物接合之hIgG及與藥物接合之hTRA-8稀釋於鹽水中，並以10 mL/kg小鼠體重之體積投予至具有腫瘤之裸小鼠中。

每一人類腫瘤異種移植研究之詳細程序如下所述。

A375

人類黑色素瘤細胞系 A375 購自美國典型培養物保藏中心 (ATCC)。第 0 天，將 2×10^6 個細胞經皮下接種至裸小鼠之右肋腹中。第 10 天，將所有具有腫瘤之小鼠劃分成實驗組。在即將投予 ADC 之前，將 rhDR5-Fc 及 hIgG 以 3 mg/kg 之劑量靜脈內投予至小鼠中。隨後將 hIgG-vcMMAF (與 mc-vc-MMAF 接合之 hIgG) 及 hIgG-mcMMAF (與 mc-MMAF 接合之 hIgG) 以 10 mg/kg 之劑量投予至小鼠中，並將 hTRA-8-vcMMAF 及 hTRA-8-mcMMAF 以 3 mg/kg 之劑量投予至小鼠中。在第 11-14 天及第 17-21 天，將 1 mg/kg rhDR5-Fc 及 hIgG 靜脈內投予至小鼠中。結果提供於圖 27 中。

HCT 116

人類結腸直腸癌細胞系 HCT 116 購自美國典型培養物保藏中心 (ATCC)。第 0 天，將 1×10^7 個細胞經皮下接種至裸小鼠之右肋腹中。第 10 天，將所有具有腫瘤之小鼠劃分成實驗組。在即將投予 ADC 之前，將 6 mg/kg rhDR5-Fc 及 10 mg/kg hIgG 靜脈內投予至小鼠中。隨後，以 10 mg/kg 之劑量將 hIgG-vcMMAF、hIgG-mcMMAF、hTRA-8-vcMMAF 及 hTRA-8-mcMMAF 投予至小鼠中。在第 11-14 天及第 17-21 天，將 1 mg/kg rhDR5-Fc 及 2 mg/kg hIgG 靜脈內投予至小鼠中。結果提供於圖 28 中。

活體內競爭研究-結果

在兩種異種移植模型中，rhDR5-Fc 完全抑制 hTRA-8-

vcMMAF及hTRA-8-mcMMAF之抗腫瘤功效。然而，hIgG未抑制hIgG-vcMMAF、hIgG-mcMMAF、hTRA-8-vcMMAF及hTRA-8-mcMMAF之抗腫瘤功效。該等結果表明，hTRA-8-vcMMAF及hTRA-8-mcMMAF之抗腫瘤功效對hDR5具有特異性。

對抗乳癌及卵巢癌之活體內活性-方法

4至6週齡之無特定病原體之雌性CAnN.Cg-Foxn1nu/CrlCrlj小鼠(裸小鼠)購自Charles River Laboratories Japan公司，且在其達到5至8週齡時使用。將5至6隻小鼠一起圈養在已滅菌之籠子中，並保持在無特定病原體之條件下。在實驗室中，環境條件設置為23℃之溫度及55%濕度，且人工照明12 h (8:00-20:00)。給小鼠餵以FR-2飲食(Funabashi Farm有限公司)，並隨意提供含有氯(5-15 ppm)之水。

在所有研究中，選擇具有腫瘤之小鼠並基於腫瘤體積劃分實驗組。在裸小鼠中建立腫瘤後，使用數位卡尺(CD15-C, Mituyo公司)量測所有具有腫瘤之小鼠中之腫瘤長度及寬度(mm)，精確至小數點後兩位。數據自動記錄於Sankyo動物實驗數據管理系統(SMAD, JMAC公司)中。在SMAD中按照以下等式自動計算各小鼠之腫瘤體積：

$$\text{腫瘤體積}(\text{mm}^3)=1/2 * \text{腫瘤長度}(\text{mm}) * \{\text{腫瘤寬度}(\text{mm})\}^2$$

將hTRA-8-mcMMAF稀釋於鹽水中，並以10 mL/kg小鼠體重之體積靜脈內投予至具有腫瘤之裸小鼠中。每一人類腫瘤異種移植物研究之詳細程序如下所述。

JIMT-1

人類乳癌細胞系 JIMT-1 購自 Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH(DSMZ, 德國微生物及細胞培養物保藏中心 (German Collection of Microorganisms and Cell Cultures))。第0天, 將 6×10^6 個細胞經皮下接種至裸小鼠之右肋腹中。第10天, 將所有具有腫瘤之小鼠劃分成實驗組。在第10、17及24天, 將10及30 mg/kg hTRA-8-mcMMAF靜脈內投予至小鼠中。結果提供於圖29中。

MDA-MB-231

人類乳房腺癌(breast adenocarcinoma)細胞系 MDA-MB-231購自美國典型培養物保藏中心(ATCC)。第0天, 將保持於裸小鼠中之實體腫瘤碎片(一側約5 mm)經皮下接種至裸小鼠之右肋腹中。在第10、17及24天, 將10及30 mg/kg hTRA-8-mcMMAF靜脈內投予至小鼠中。結果提供於圖30中。

A2780

人類卵巢腺癌細胞系 A2780購自歐洲細胞培養物保藏中心(European Collection of Cell Cultures) (ECACC)。第0天, 將 5×10^6 個細胞經皮下接種至裸小鼠之右肋腹中。第10天, 將所有具有腫瘤之小鼠劃分成實驗組。在第10、17及24天, 將10及30 mg/kg hTRA-8-mcMMAF靜脈內投予至小鼠中。結果提供於圖31中。

SK-OV-3

人類卵巢腺癌細胞系 SK-OV-3購自美國典型培養物保藏

中心(ATCC)。第0天，將保持於裸小鼠中之實體腫瘤碎片(一側約5 mm)經皮下接種至裸小鼠之右肋腹中。在第17、24及31天，將10及30 mg/kg hTRA-8-mcMMAF靜脈內投予至小鼠中。結果提供於圖32中。

對抗乳癌及卵巢癌之活體內活性-結果

hTRA-8-mcMMAF在JIMT-1、MDA-MB-231、A2780及SK-OV-3異種移植物小鼠中顯示抗腫瘤功效。該等結果表明hTRA-8-mcMMAF對乳癌及卵巢癌具有強效抗腫瘤活性。

對抗血液癌症之活體內活性-方法

4至6週齡之無特定病原體之雌性NOD.CB17-Prkdc^{scid}/J小鼠(NOD-scid小鼠)購自Charles River Laboratories Japan公司，且在其達到5至8週齡時使用。將5至6隻小鼠一起圈養在已滅菌之籠子中，並保持在無特定病原體之條件下。在實驗室中，環境條件設置為23℃之溫度及55%濕度，且人工照明12 h (8:00-20:00)。給小鼠餵以FR-2飲食(Funabashi Farm有限公司)，並隨意提供含有氯(5-15 ppm)之水。

在所有研究中，在第7天，將所有小鼠隨機劃分成實驗組。隨後，將hTRA-8-mcMMAF稀釋於鹽水中，並以10 mL/kg小鼠體重之體積靜脈內投予至小鼠中。每一人類腫瘤異種移植物研究之詳細程序如下所述。

U-937

人類組織細胞淋巴瘤細胞系U-937購自美國典型培養物

保藏中心(ATCC)。在第0天，將 1×10^7 個細胞靜脈內接種至小鼠中。在第7、14及21天，將30 mg/kg hTRA-8-mcMMAF靜脈內投予至小鼠中。結果提供於圖33中。

MOLT-4

人類急性淋巴母細胞性白血病細胞系MOLT-4購自美國典型培養物保藏中心(ATCC)。在第0天，將 5×10^6 個細胞靜脈內接種至小鼠中，該等小鼠先前已經由在第-2及-1天靜脈內投予150 mg/kg環磷醯胺進行處理。在第7、14、21及28天，將30 mg/kg hTRA-8-mcMMAF靜脈內投予至小鼠中。結果提供於圖34中。

MOLM-14

人類急性單核細胞性白血病細胞系MOLM-14係自Hayashibara Biochemical Labs公司獲得。在第0天，將 5×10^6 個細胞靜脈內接種至小鼠中，該等小鼠先前已經由在第-2及-1天靜脈內投予150 mg/kg環磷醯胺進行處理。在第7、14及21天，將30 mg/kg hTRA-8-mcMMAF靜脈內投予至小鼠中。結果提供於圖35中。

MV-4-11

人類骨髓單核細胞性白血病細胞系MV-4-11購自美國典型培養物保藏中心(ATCC)。在第0天，將 5×10^6 個細胞靜脈內接種至小鼠中。在第7、14、21、28、35、42及49天，將30 mg/kg hTRA-8-mcMMAF靜脈內投予至小鼠中。結果提供於圖36中。

對抗血液癌症之活體內活性-結果

hTRA-8-mcMMAF延長靜脈內接種血液癌症MOLM-14、U-937、MV-4-11及MOLT-4之小鼠的壽命。該等結果表明hTRA-8-mcMMAF對血液癌症具有強效抗腫瘤活性。

【圖式簡單說明】

圖1-11提供使用本發明之hTRA-8配位體藥物共軛物進行評價之11種細胞系的結果；

圖12顯示hTRA-8配位體藥物共軛物與hTRA-8(呈非接合形式)相比對人類DR5之結合活性；

圖13顯示hTRA-8配位體藥物共軛物與hTRA-8相比未顯示對原代人類肝細胞之細胞毒性；

圖14-26提供本發明配位體藥物共軛物之活體內結果；

圖27顯示A375異種移植物模型中hTRA-8配位體藥物共軛物之抗腫瘤活性的競爭；

圖28顯示HCT116異種移植物模型中hTRA-8配位體藥物共軛物之抗腫瘤活性的競爭；

圖29顯示hTRA-8配位體藥物共軛物在JIMT-1異種移植物模型中之活體內抗腫瘤功效；

圖30顯示hTRA-8配位體藥物共軛物在MDA-MB-231異種移植物模型中之活體內抗腫瘤功效；

圖31顯示hTRA-8配位體藥物共軛物在A2780異種移植物模型中之活體內抗腫瘤功效；

圖32顯示hTRA-8配位體藥物共軛物在SK-OV-3異種移植物模型中之活體內抗腫瘤功效；

圖33顯示hTRA-8配位體藥物共軛物在接種U-937之小鼠

中之活體內生命延長功效；

圖 34 顯示 hTRA-8 配位體藥物共軛物在接種 MOLT-4 之小鼠中之活體內生命延長功效；

圖 35 顯示 hTRA-8 配位體藥物共軛物在接種 MOLM-14 之小鼠中之活體內生命延長功效；及

圖 36 顯示 hTRA-8 配位體藥物共軛物在接種 MV-4-11 之小鼠中之活體內生命延長功效。

序 列 表

<110> 美商西雅圖遺傳學公司
<120> DR5配位體藥物共軛物
<130> FPUSX0903
<140> 099132526
<141> 2010-09-24
<150> 61/245,462
<151> 2009-09-24
<160> 8
<170> PatentIn version 3.4
<210> 1
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工的
<220>
<223> 人類化 TRA-8 之重鏈胺基酸序列
<220>
<223> 發明人：Ichikawa, Kimihisa; Kosaku, Fujiwara
<223> 發明人：Yoshida, Hiroko; Yada, Ayumi; Senter, Peter
<220>
<400> 1
Glu 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
Val Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
Ala Thr Ile Ser Ser Gly Gly Ser Tyr Thr Tyr Tyr Pro 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 Arg Gly Asp Ser Met Ile Thr Thr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val

290 295 300

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Lys

<210> 2
<211> 213
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 人類化 TRA-8 之輕鏈胺基酸序列

<400> 2

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

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

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

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

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

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

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
 100 105 110

Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
 115 120 125

Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
 130 135 140

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

Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
 165 170 175

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

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

Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 3
<211> 5
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<223> TRA-8 之重鏈之 CDR1

<400> 3

Ser Tyr Val Met Ser
1 5

<210> 4
<211> 17
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<223> TRA-8 之重鏈之 CDR2

<400> 4

Thr Ile Ser Ser Gly Gly Ser Tyr Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 5
<211> 10
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<223> TRA-8 之重鏈之 CDR3

<400> 5

Arg Gly Asp Ser Met Ile Thr Thr Asp Tyr
1 5 10

<210> 6
<211> 11
<212> PRT

發明專利說明書

(本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※申請案號： 99132526

※申請日： 99. 9. 24

※IPC 分類：~~A61K~~

A61K 47/48

(2006.01)

A61K 39/395

(2006.01)

A61P 35/00

(2006.01)

一、發明名稱：(中文/英文)

DR5配位體藥物共軛物

DR5 LIGAND DRUG CONJUGATES

二、中文發明摘要：

本發明提供配位體藥物共軛物，其具有DR5結合部分經由連接基團及/或間隔體連接至治療劑，且可有效治療各種癌症。

三、英文發明摘要：

Ligand Drug Conjugates are provided having a DR5 binding moiety attached via linking groups and/or spacers to a therapeutic agent and are effective in treatment of various cancers.

七、申請專利範圍：

1. 一種配位體藥物共軛物，其包含DR5結合劑共價連接至細胞毒性劑。
2. 一種配位體藥物共軛物，其具有式(I)：



或其醫藥上可接受之鹽，其對表現DR5之靶細胞具有特异性，其中

L係配位體單元，其為DR5結合劑；及

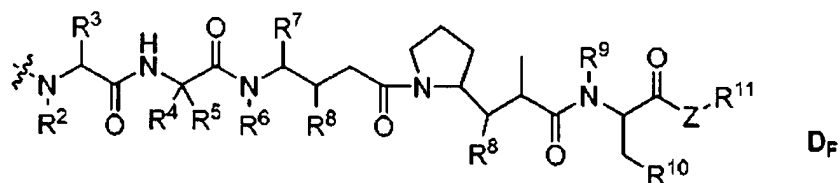
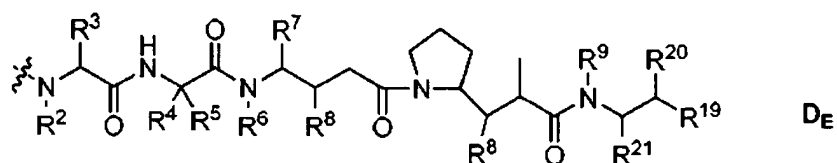
(LU-D)係連接體單元-藥物單元部分，其中

LU係連接體單元，及

D係對該等靶細胞具有細胞生長抑制(cytostatic)或細胞毒性活性之藥物單元；及

下標p係1至20之整數。

3. 如請求項2之配位體藥物共軛物，其中該藥物單元具有式D_E或D_F：



或其醫藥上可接受之鹽形式；

其中，在各位置上獨立地：

波形線表示與該配位體藥物共軛物之其餘部分之連接點；

R^2 係 $-C_1-C_{20}$ 烷基、 $-C_2-C_{20}$ 烯基或 $-C_2-C_{20}$ 炔基；

R^3 係 $-H$ 、 $-C_1-C_{20}$ 烷基、 $-C_2-C_{20}$ 烯基、 $-C_2-C_{20}$ 炔基、碳環、 $-C_1-C_{20}$ 伸烷基(碳環)、 $-C_2-C_{20}$ 伸烯基(碳環)、 $-C_2-C_{20}$ 伸炔基(碳環)、 $-$ 芳基、 $-C_1-C_{20}$ 伸烷基(芳基)、 $-C_2-C_{20}$ 伸烯基(芳基)、 $-C_2-C_{20}$ 伸炔基(芳基)、 $-$ 雜環、 $-C_1-C_{20}$ 伸烷基(雜環)、 $-C_2-C_{20}$ 伸烯基(雜環)或 $-C_2-C_{20}$ 伸炔基(雜環)；

R^4 係 $-H$ 、 $-C_1-C_{20}$ 烷基、 $-C_2-C_{20}$ 烯基、 $-C_2-C_{20}$ 炔基、碳環、 $-C_1-C_{20}$ 伸烷基(碳環)、 $-C_2-C_{20}$ 伸烯基(碳環)、 $-C_2-C_{20}$ 伸炔基(碳環)、 $-$ 芳基、 $-C_1-C_{20}$ 伸烷基(芳基)、 $-C_2-C_{20}$ 伸烯基(芳基)、 $-C_2-C_{20}$ 伸炔基(芳基)、 $-$ 雜環、 $-C_1-C_{20}$ 伸烷基(雜環)、 $-C_2-C_{20}$ 伸烯基(雜環)或 $-C_2-C_{20}$ 伸炔基(雜環)；

R^5 係 $-H$ 或 $-C_1-C_8$ 烷基；

或者 R^4 與 R^5 一起形成碳環且具有式 $-(CR^aR^b)_s-$ ，其中 R^a 及 R^b 獨立地為 $-H$ 、 $-C_1-C_{20}$ 烷基、 $-C_2-C_{20}$ 烯基、 $-C_2-C_{20}$ 炔基或 $-$ 碳環， s 係 2、3、4、5 或 6，

R^6 係 $-H$ 、 $-C_1-C_{20}$ 烷基、 $-C_2-C_{20}$ 烯基或 $-C_2-C_{20}$ 炔基；

R^7 係 $-H$ 、 $-C_1-C_{20}$ 烷基、 $-C_2-C_{20}$ 烯基、 $-C_2-C_{20}$ 炔基、 $-$ 碳環、 $-C_1-C_{20}$ 伸烷基(碳環)、 $-C_2-C_{20}$ 伸烯基(碳環)、 $-C_2-C_{20}$ 伸炔基(碳環)、 $-$ 芳基、 $-C_1-C_{20}$ 伸烷基(芳基)、 $-C_2-C_{20}$ 伸烯基(芳基)、 $-C_2-C_{20}$ 伸炔基(芳基)、 $-$ 雜環、 $-C_1-$

C_{20} 伸烷基(雜環)、 $-C_2-C_{20}$ 伸烯基(雜環)或 $-C_2-C_{20}$ 伸炔基(雜環)；

各 R^8 獨立地為 $-H$ 、 $-OH$ 、 $-C_1-C_{20}$ 烷基、 $-C_2-C_{20}$ 烯基、 $-C_2-C_{20}$ 炔基、 $-O-(C_1-C_{20}$ 烷基)、 $-O-(C_2-C_{20}$ 烯基)、 $-O-(C_2-C_{20}$ 炔基)或-碳環；

R^9 係 $-H$ 、 $-C_1-C_{20}$ 烷基、 $-C_2-C_{20}$ 烯基或 $-C_2-C_{20}$ 炔基；

R^{19} 係-芳基、-雜環或-碳環；

R^{20} 係 $-H$ 、 $-C_1-C_{20}$ 烷基、 $-C_2-C_{20}$ 烯基、 $-C_2-C_{20}$ 炔基、-碳環、 $-O-(C_1-C_{20}$ 烷基)、 $-O-(C_2-C_{20}$ 烯基)、 $-O-(C_2-C_{20}$ 炔基)或 OR^{18} ，其中 R^{18} 係 $-H$ 、羥基保護基團，或在 OR^{18} 表示 $=O$ 之情形下係直接鍵；

R^{21} 係 $-H$ 、 $-C_1-C_{20}$ 烷基、 $-C_2-C_{20}$ 烯基或 $-C_2-C_{20}$ 炔基、-芳基、-雜環或-碳環；

R^{10} 係-芳基或-雜環；

Z 係 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-NH-$ 或 $-NR^{12}-$ ，其中 R^{12} 係 $-C_1-C_{20}$ 烷基、 $-C_2-C_{20}$ 烯基或 $-C_2-C_{20}$ 炔基；

R^{11} 係 $-H$ 、 $-C_1-C_{20}$ 烷基、 $-C_2-C_{20}$ 烯基、 $-C_2-C_{20}$ 炔基、-芳基、-雜環、 $-(R^{13}O)_m-R^{14}$ 或 $-(R^{13}O)_m-CH(R^{15})_2$ ；

m 係介於0至1000間之整數；

R^{13} 係 $-C_2-C_{20}$ 伸烷基、 $-C_2-C_{20}$ 伸烯基或 $-C_2-C_{20}$ 伸炔基；

R^{14} 係 $-H$ 、 $-C_1-C_{20}$ 烷基、 $-C_2-C_{20}$ 烯基或 $-C_2-C_{20}$ 炔基；

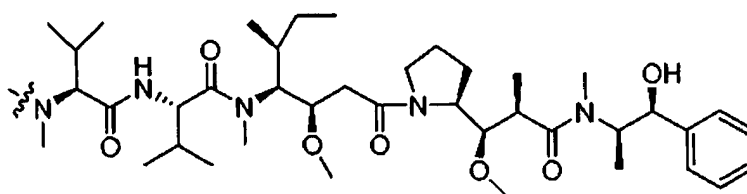
R^{15} 在每次出現時獨立地為 $-H$ 、 $-COOH$ 、 $-(CH_2)_n-N(R^{16})_2$ 、 $-(CH_2)_n-SO_3H$ 、 $-(CH_2)_n-SO_3-C_1-C_{20}$ 烷基、

$-(\text{CH}_2)_n-\text{SO}_3-\text{C}_2-\text{C}_{20}$ 烯基 或 $-(\text{CH}_2)_n-\text{SO}_3-\text{C}_2-\text{C}_{20}$ 炔基；

R^{16} 在每次出現時獨立地為 $-\text{H}$ 、 $-\text{C}_1-\text{C}_{20}$ 烷基、 $-\text{C}_2-\text{C}_{20}$ 烯基、 $-\text{C}_2-\text{C}_{20}$ 炔基 或 $-(\text{CH}_2)_n-\text{COOH}$ ；及

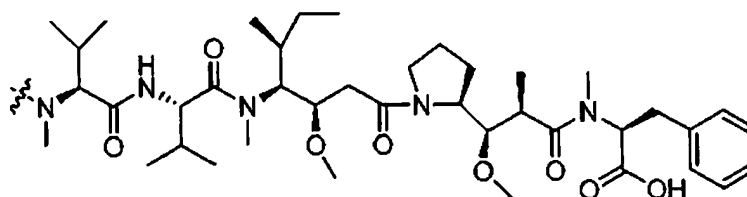
n 係介於 0 至 6 間之整數；其中該等烷基、烯基、炔基、伸烷基、伸烯基、伸炔基、芳基、碳環及雜環基團無論單獨或為另一基團之一部分皆視情況經取代。

4. 如請求項 3 之配位體藥物共軛物，其中該藥物單元具有式 D_E 或其醫藥上可接受之鹽形式。
5. 如請求項 3 之配位體藥物共軛物，其中該藥物單元具有下式：



或其醫藥上可接受之鹽形式；該 DR5 結合劑係抗- DR5 抗體，其經由該抗體之硫原子連接至該連接體單元；該連接體單元包含 $-\text{Val-Cit}-$ 部分；該下標 p 係 1 至 8 之整數。

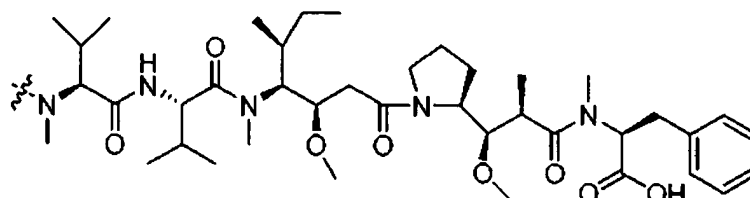
6. 如請求項 3 之配位體藥物共軛物，其中該藥物單元具有下式：



或其醫藥上可接受之鹽形式；該 DR5 結合劑係抗- DR5 抗

體，其經由該抗體之硫原子連接至該連接體單元；該連接體單元包含-Val-Cit-部分；該下標p係1至8之整數。

7. 如請求項3之配位體藥物共軛物，其中該藥物單元具有下式：



或其醫藥上可接受之鹽形式；該DR5結合劑係抗-DR5抗體，其經由該抗體之硫原子連接至該連接體單元；該連接體單元包含-琥珀醯亞胺-己酸-部分；該下標p係1至8之整數。

8. 如請求項2之配位體藥物共軛物，其中LU具有下式：



或其醫藥上可接受之鹽形式，其中，

-A-係延伸體單元；

下標a係0或1；

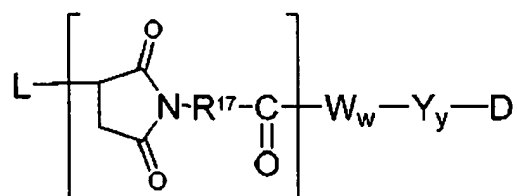
各W獨立地為胺基酸單元；

下標w係0至12之整數；

-Y-係間隔體單元；及

下標y係0、1或2。

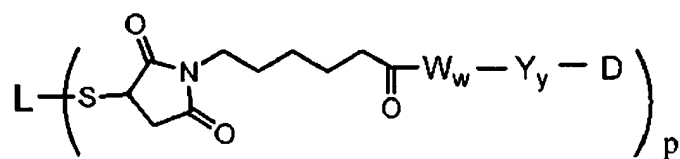
9. 如請求項8之配位體藥物共軛物，其具有下式：



或其醫藥上可接受之鹽形式，其中

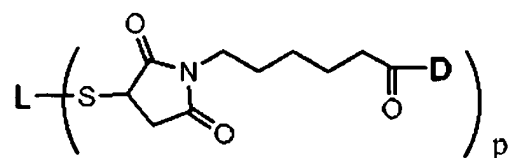
R^{17} 係選自由下列組成之群的成員： $-\text{C}_1-\text{C}_{10}$ 伸烷基-、 $-\text{C}_2-\text{C}_{10}$ 伸烯基-、 $-\text{C}_2-\text{C}_{10}$ 伸炔基-、-碳環基-、 $-\text{O}-(\text{C}_1-\text{C}_8$ 伸烷基)-、 $\text{O}-(\text{C}_2-\text{C}_8$ 伸烯基)-、 $-\text{O}-(\text{C}_2-\text{C}_8$ 伸炔基)-、-伸芳基-、 $-\text{C}_1-\text{C}_{10}$ 伸烷基-伸芳基-、 $-\text{C}_2-\text{C}_{10}$ 伸烯基-伸芳基-、 $-\text{C}_2-\text{C}_{10}$ 伸炔基-伸芳基-、-伸芳基- $-\text{C}_1-\text{C}_{10}$ 伸烷基-、-伸芳基- $-\text{C}_2-\text{C}_{10}$ 伸烯基-、-伸芳基- $-\text{C}_2-\text{C}_{10}$ 伸炔基-、 $-\text{C}_1-\text{C}_{10}$ 伸烷基-(碳環基)-、 $-\text{C}_2-\text{C}_{10}$ 伸烯基-(碳環基)-、 $-\text{C}_2-\text{C}_{10}$ 伸炔基-(碳環基)-、-(碳環基)- $-\text{C}_1-\text{C}_{10}$ 伸烷基-、-(碳環基)- $-\text{C}_2-\text{C}_{10}$ 伸烯基-、-(碳環基)- $-\text{C}_2-\text{C}_{10}$ 伸炔基-、雜環基-、 $-\text{C}_1-\text{C}_{10}$ 伸烷基-(雜環基)-、 $-\text{C}_2-\text{C}_{10}$ 伸烯基-(雜環基)-、 $-\text{C}_2-\text{C}_{10}$ 伸炔基-(雜環基)-、-(雜環基)- $-\text{C}_1-\text{C}_{10}$ 伸烷基-、-(雜環基)- $-\text{C}_2-\text{C}_{10}$ 伸烯基-、-(雜環基)- $-\text{C}_2-\text{C}_{10}$ 伸炔基-、 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_r-$ 及 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_r-\text{CH}_2-$ ，其中 r 係1至10之整數，且其中該等烷基、烯基、炔基、伸烷基、伸烯基、伸炔基、芳基、碳環、碳環基、雜環基及伸芳基無論單獨或為另一基團之一部分皆視情況經取代。

10. 如請求項8之配位體藥物共軛物，其具有下式：



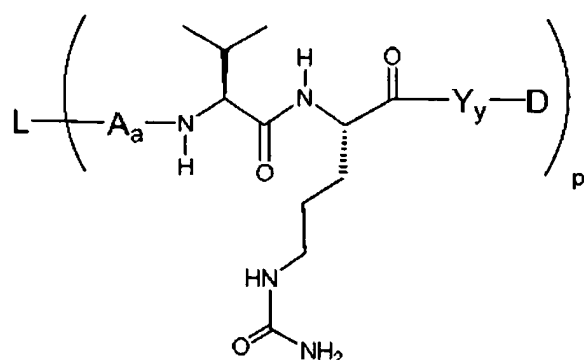
或其醫藥上可接受之鹽形式，其中S係該配位體單元(L)提供之硫原子。

11. 如請求項8之配位體藥物共軛物，其具有下式：



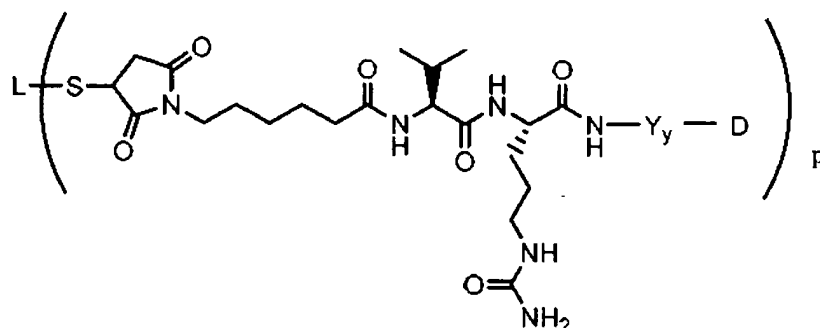
或其醫藥上可接受之鹽形式，其中S係該配位體單元(L)提供之硫原子。

12. 如請求項8之配位體藥物共軛物，其具有下式：



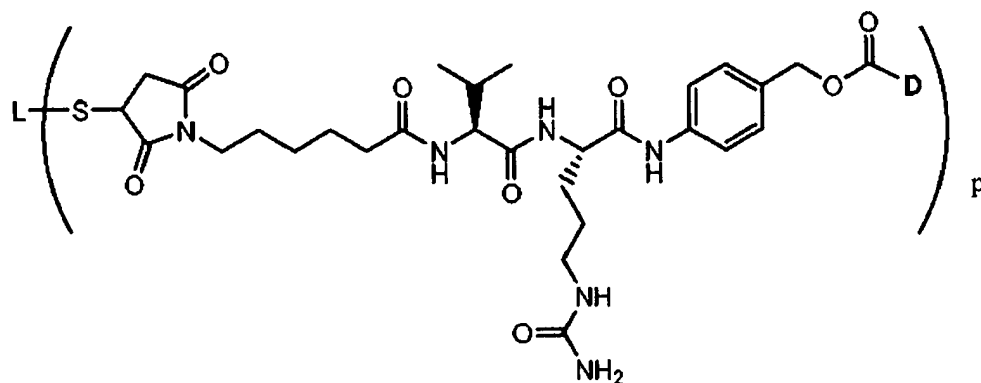
或其醫藥上可接受之鹽形式。

13. 如請求項8之配位體藥物共軛物，其具有下式：



或其醫藥上可接受之鹽形式。

14. 如請求項8之配位體藥物共軛物，其具有下式：



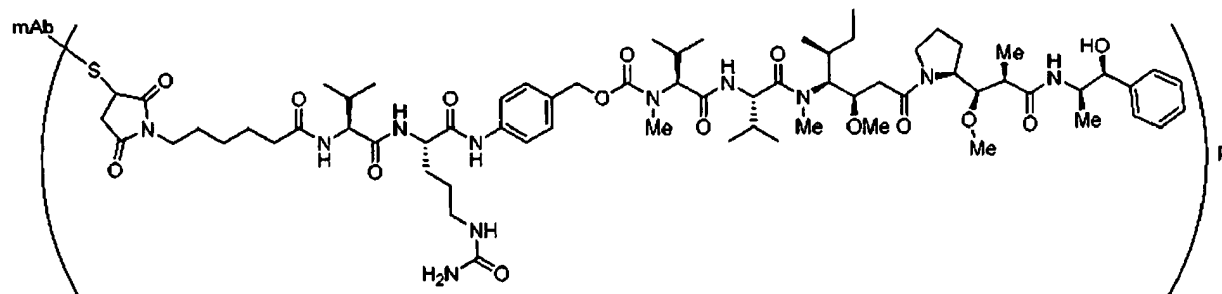
或其醫藥上可接受之鹽形式。

15. 如請求項8之配位體藥物共軛物，其中w係介於2至12間之整數，y係1或2。

16. 如請求項8之配位體藥物共軛物，其中w係2，y係1或2。

17. 如請求項8之配位體藥物共軛物，其中W_w係-纈胺酸-瓜胺酸-，y係1或2。

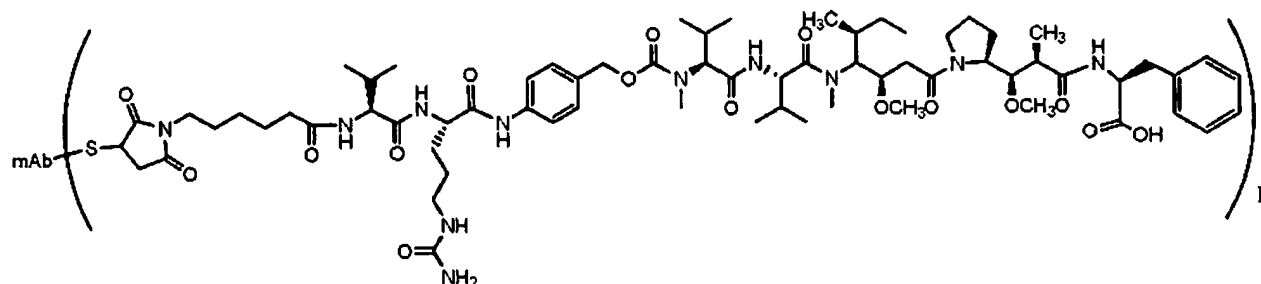
18. 一種配位體藥物共軛物，其具有下式：



或其醫藥上可接受之鹽形式，其中mAb係抗-DR5抗體，

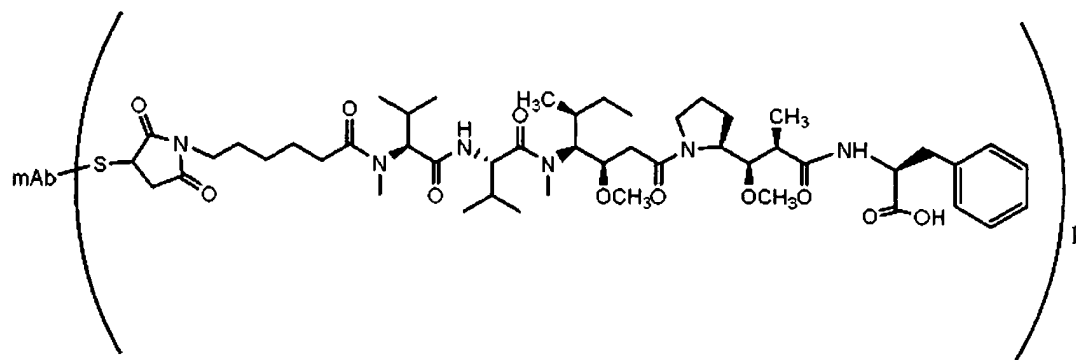
S係該抗體之硫原子，p係1至8之整數。

19. 一種配位體藥物共軛物，其具有下式：



或其醫藥上可接受之鹽形式；其中 mAb 係抗-DR5 抗體，
S 係該抗體之硫原子，p 係 1 至 8 之整數。

20. 一種配位體藥物共軛物，其具有下式：



或其醫藥上可接受之鹽形式，其中 mAb 係抗-DR5 抗體，
S 係該抗體之硫原子，p 係 1 至 8 之整數。

21. 如請求項 3 之配位體藥物共軛物，其中 D 係 D_E。
22. 如請求項 3 之配位體藥物共軛物，其中 D 係 D_F。
23. 如請求項 3 之配位體藥物共軛物，其中 L 係抗-DR5 抗體。
24. 如請求項 18、19 或 20 中任一項之配位體藥物共軛物，其中該抗-DR5 抗體包含 (a) 重鏈免疫球蛋白，其具有由 SEQ ID NO: 3 之胺基酸殘基 1-5 組成之 CDR1、由 SEQ ID NO: 4 之胺基酸殘基 1-17 組成之 CDR2 及由 SEQ ID NO: 5 之胺基酸殘基 1-10 組成之 CDR3；及 (b) 輕鏈免疫球蛋白，其具有由 SEQ ID NO: 6 之胺基酸殘基 1-11 組成之 CDR1、由 SEQ ID NO: 7 之胺基酸殘基 1-7 組成之 CDR2 及由 SEQ ID NO: 8 之胺基酸殘基 1-8 組成之 CDR3。
25. 如請求項 18、19 或 20 中任一項之配位體藥物共軛物，其中該抗-DR5 抗體包含重鏈可變區，其包含 SEQ ID NO: 1

之胺基酸殘基 1-118；及輕鏈可變區，其包含 SEQ ID NO:2之胺基酸殘基 1-107。

26. 如請求項 18、19 或 20 中任一項之配位體藥物共軛物，其中該抗-DR5 抗體包含由 SEQ ID NO:1 之胺基酸殘基 1-449 組成之重鏈及由 SEQ ID NO:2 之胺基酸殘基 1-213 組成之輕鏈。
27. 如請求項 18 之配位體藥物共軛物，其中 p 係 3 至 5。
28. 如請求項 19 之配位體藥物共軛物，其中 p 係 1 至 3。
29. 如請求項 19 之配位體藥物共軛物，其中 p 係 3 至 5。
30. 如請求項 20 之配位體藥物共軛物，其中 p 係 3 至 5。
31. 一種醫藥組合物，其包含如請求項 1 至 30 中任一項之配位體藥物共軛物與醫藥上可接受之賦形劑混合。
32. 一種抗腫瘤劑，其包含如請求項 1 至 30 中任一項之配位體藥物共軛物作為有效成份。
33. 一種如請求項 1 至 30 中任一項之配位體藥物共軛物的用途，其用以製造用於治療癌症之藥劑。
34. 如請求項 33 之用途，其中該癌症選自由下列組成之群：
黑色素瘤、結腸直腸癌、非小細胞肺癌、子宮癌、胰腺癌、前列腺癌、乳癌、卵巢癌及血液癌症。
35. 如請求項 33 之用途，其中該癌症係胰腺癌。
36. 如請求項 33 之用途，其中該癌症係黑色素瘤。
37. 如請求項 33 之用途，其中該癌症係乳癌。

八、圖式：

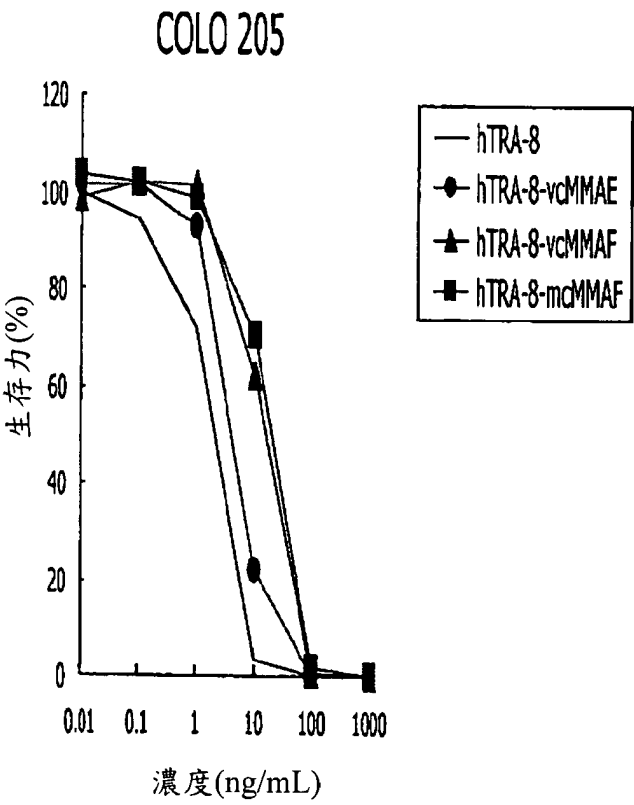


圖 1

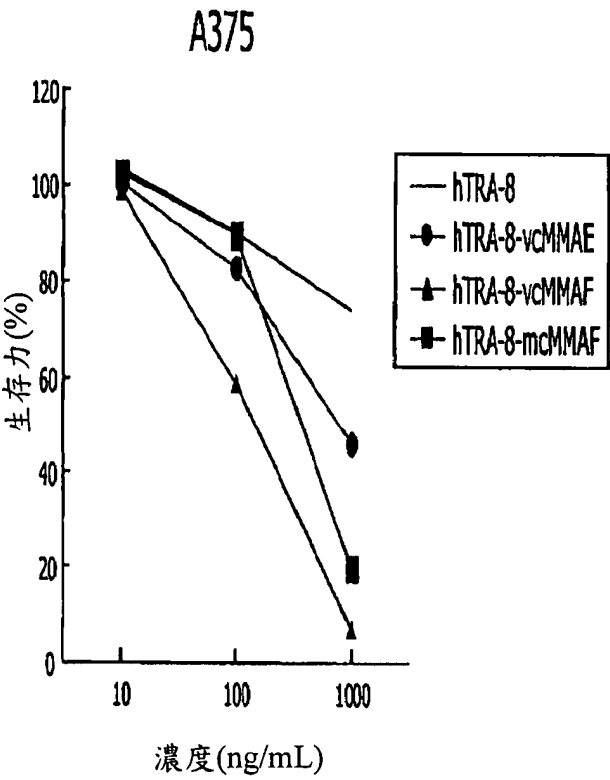


圖2

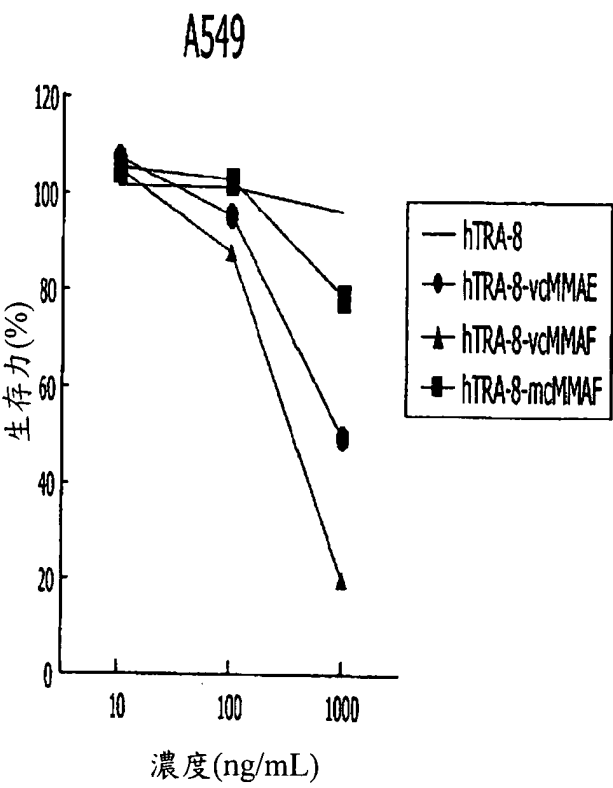


圖 3

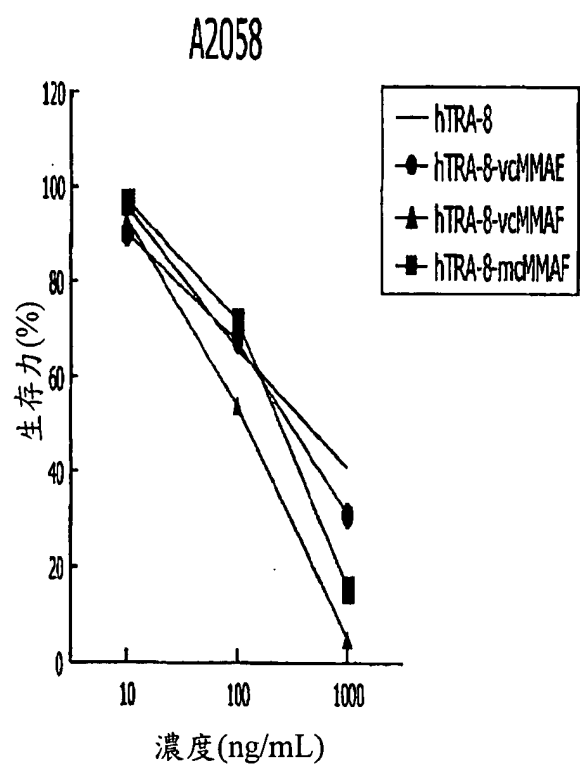


圖 4

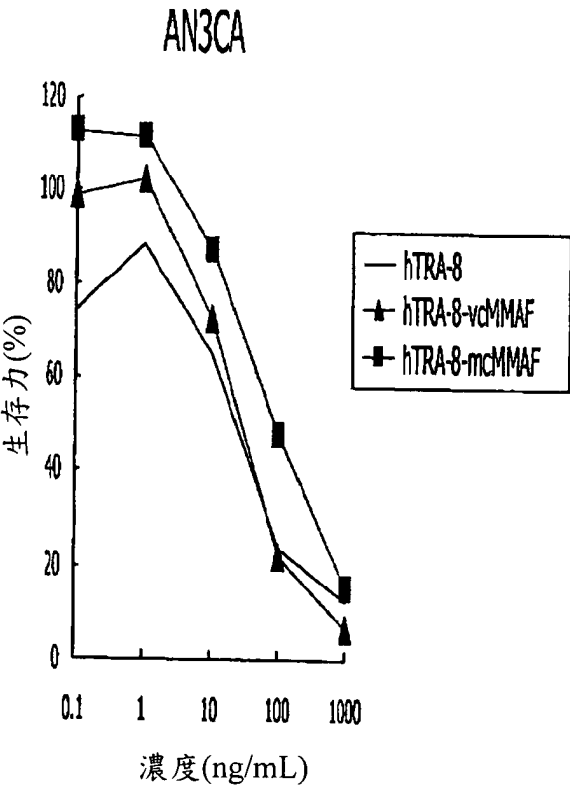


圖 5

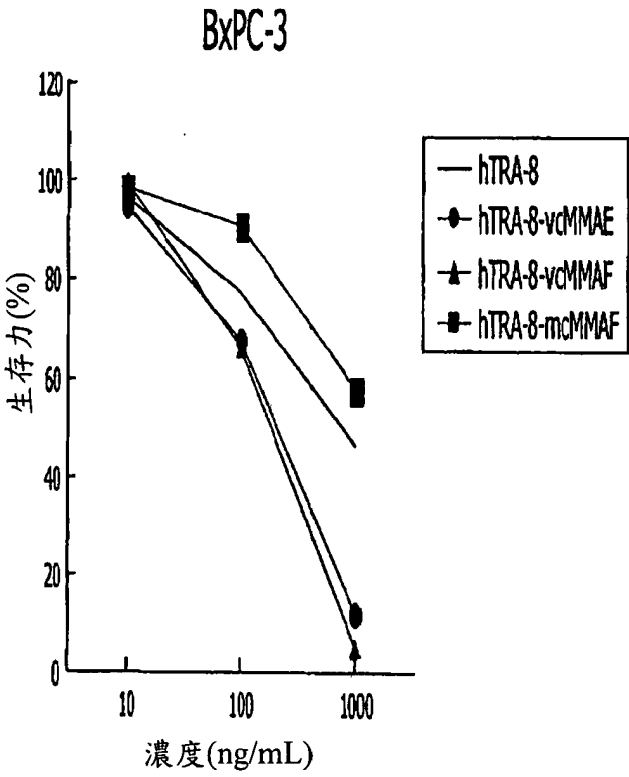


圖 6

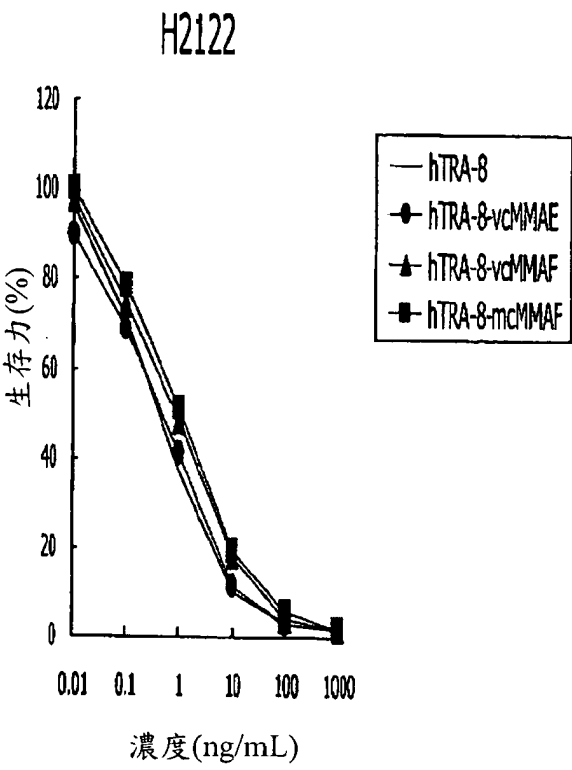


圖 7

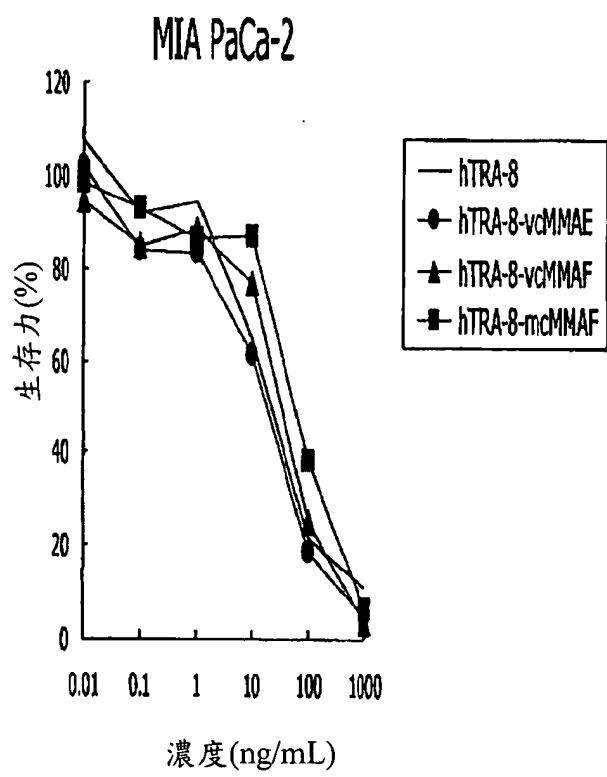


圖 8

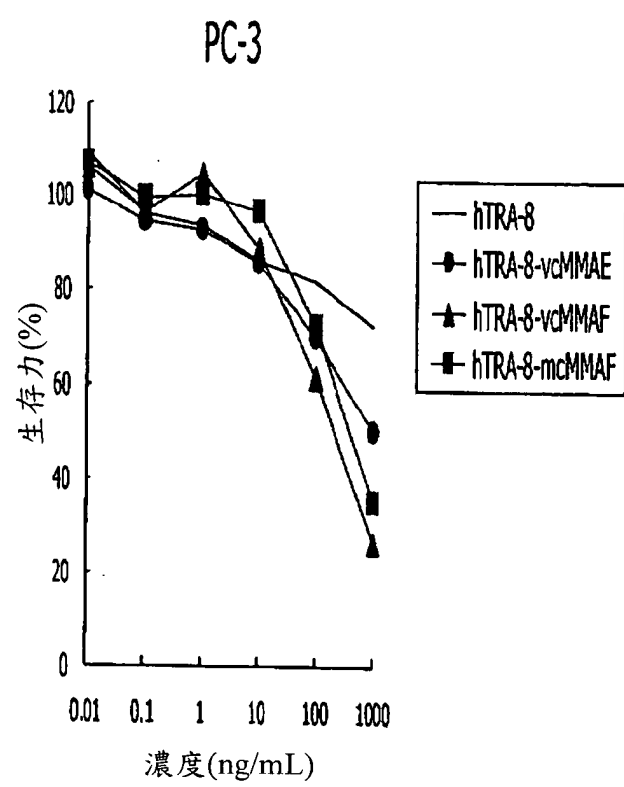


圖9

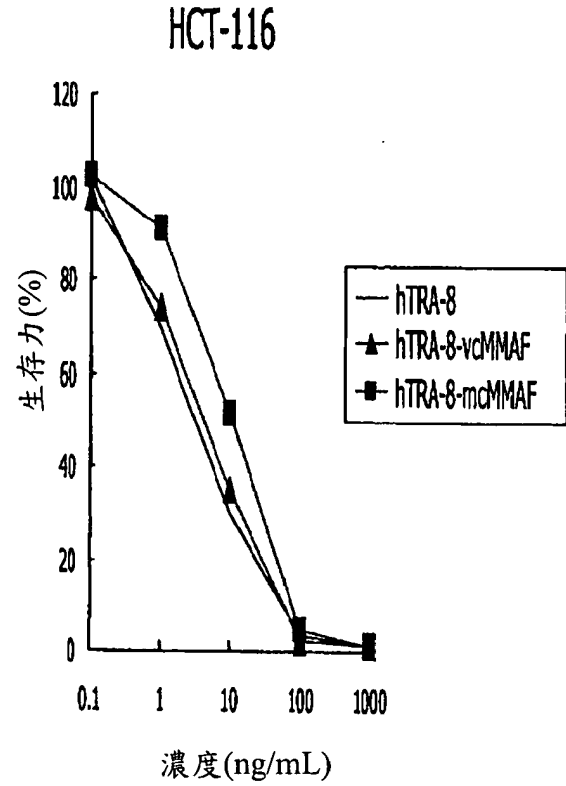


圖 10

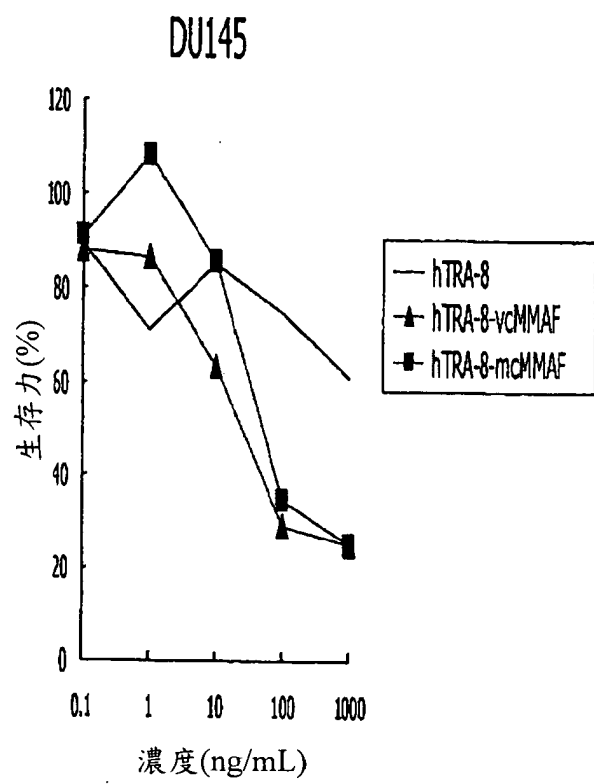


圖 11

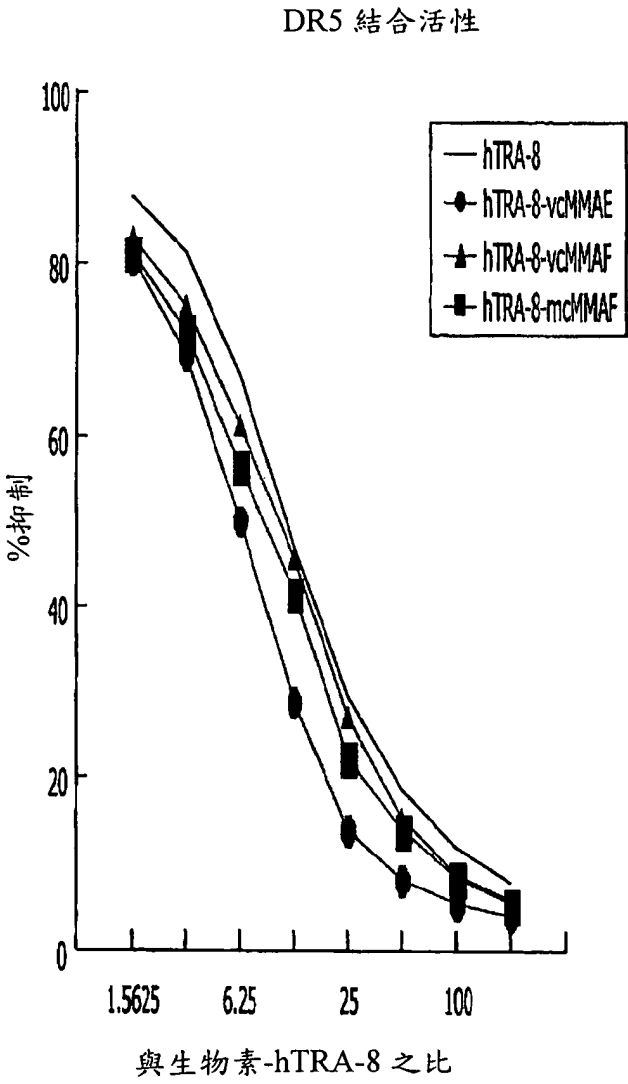


圖 12

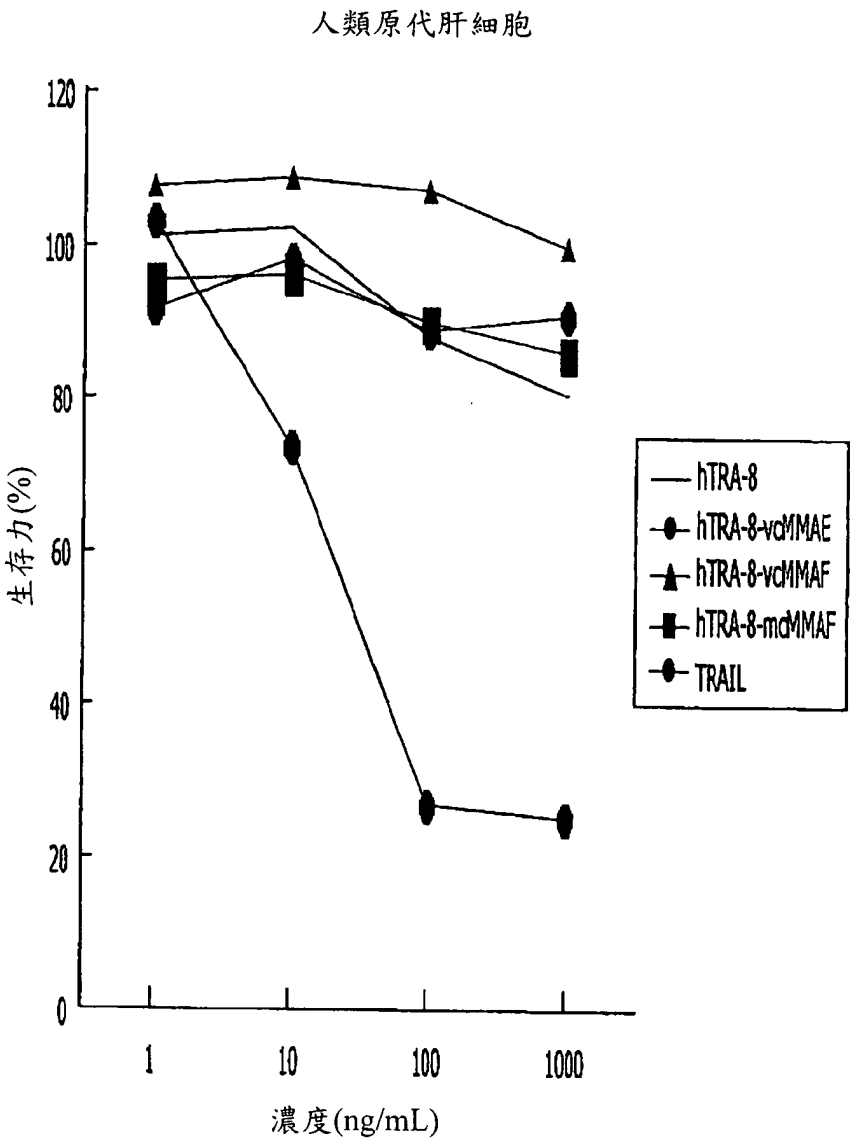


圖 13

COLO 205

細胞系	COLO205
疾病	結腸直腸腺癌
接種細胞	2×10^6
投予 (天)	7,14,21

此為抗體超過 ADC 之唯一實驗

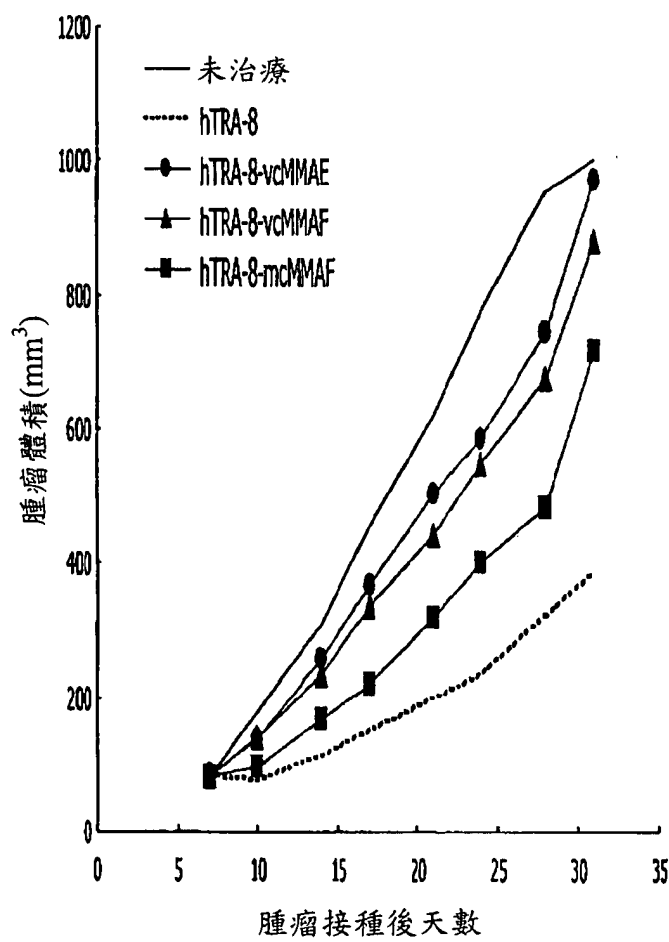


圖 14

COLO 205 2nd

細胞系	COLO205
疾病	結腸直腸腺癌
接種細胞	2×10^6
投予(天)	7,14,21

以 10 mg/kg 實施該實驗！

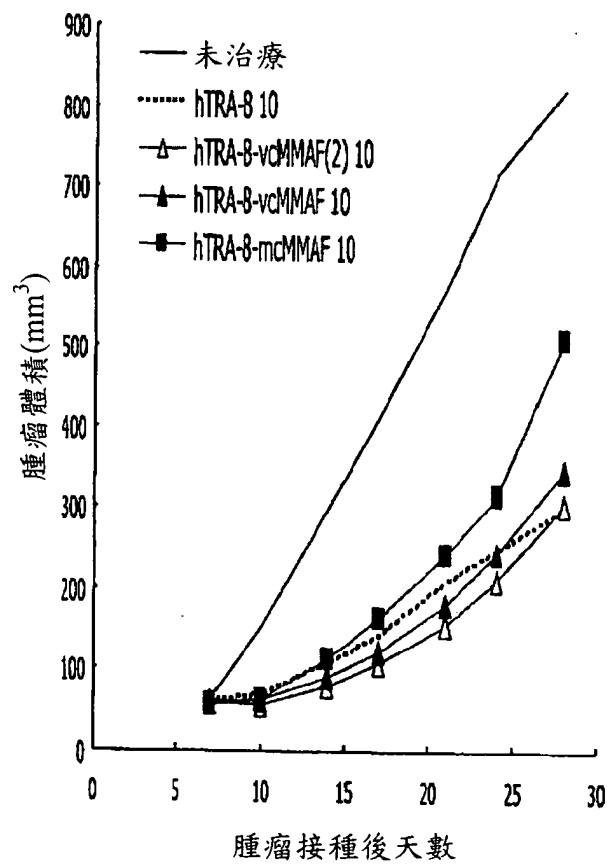


圖 15

A375

細胞系	A375
疾病	黑色素瘤
接種細胞	2×10^6
投予(天)	10,17,24,31

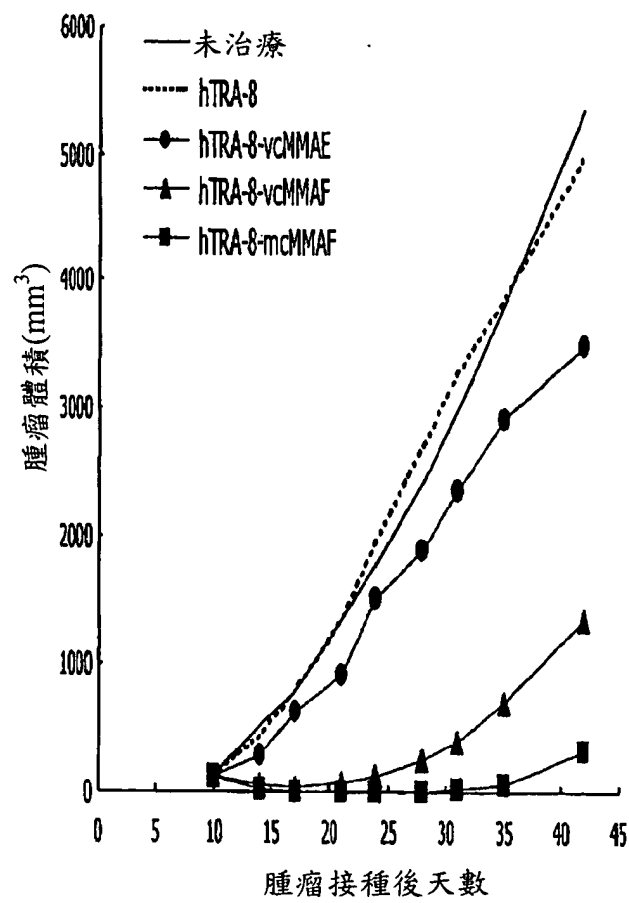


圖 16

A375 2nd

細胞系	A375
疾病	黑色素瘤
接種細胞	2×10^6
投予(天)	10,17,24,31

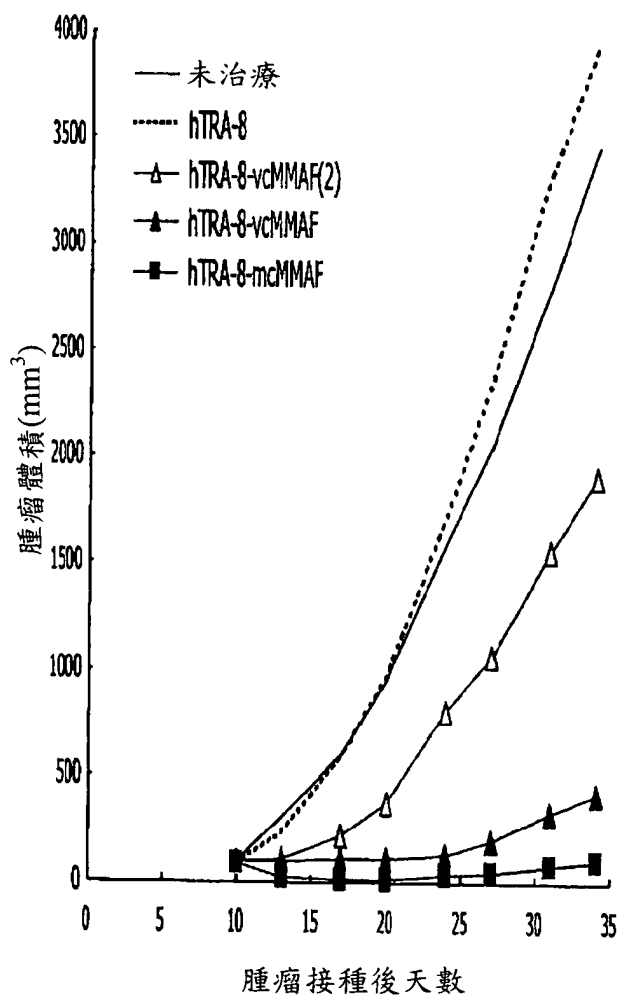


圖 17

A549

細胞系	A549
疾病	NSCLC
接種細胞	5×10^6
投予(天)	14,21,28,35

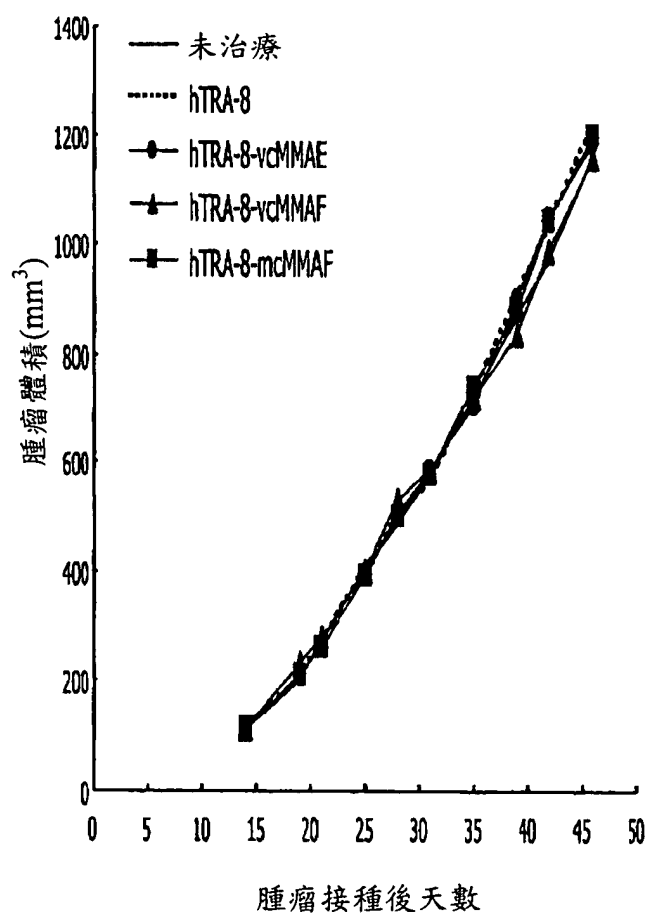


圖 18

A2058

細胞系	A2058
疾病	黑色素瘤
接種細胞	10 ⁶
投予(天)	14,21,28

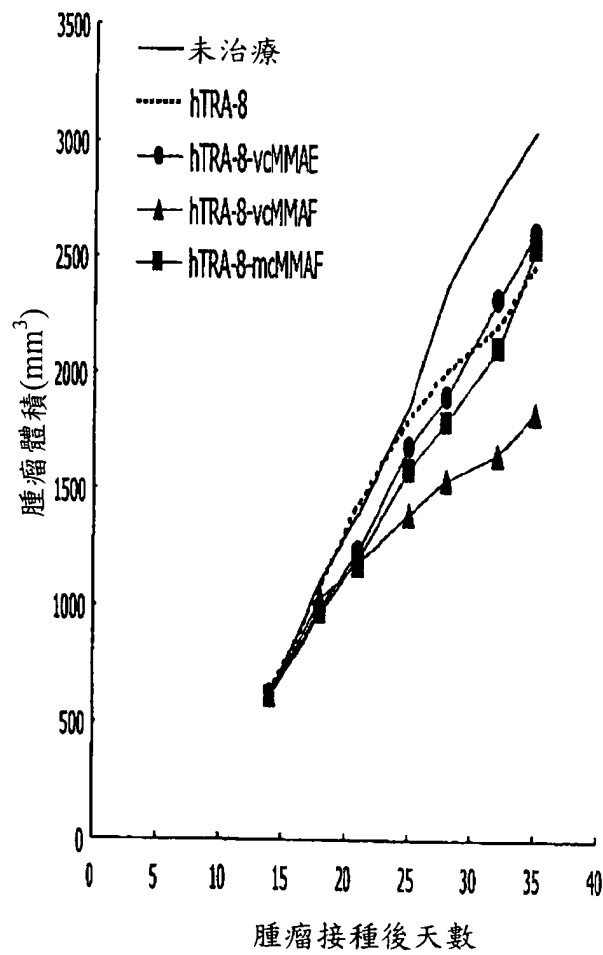


圖 19

AN3CA

細胞系	AN3CA
疾病	子宮腺癌
接種細胞	實體腫瘤碎片
投予 (天)	7,14,21

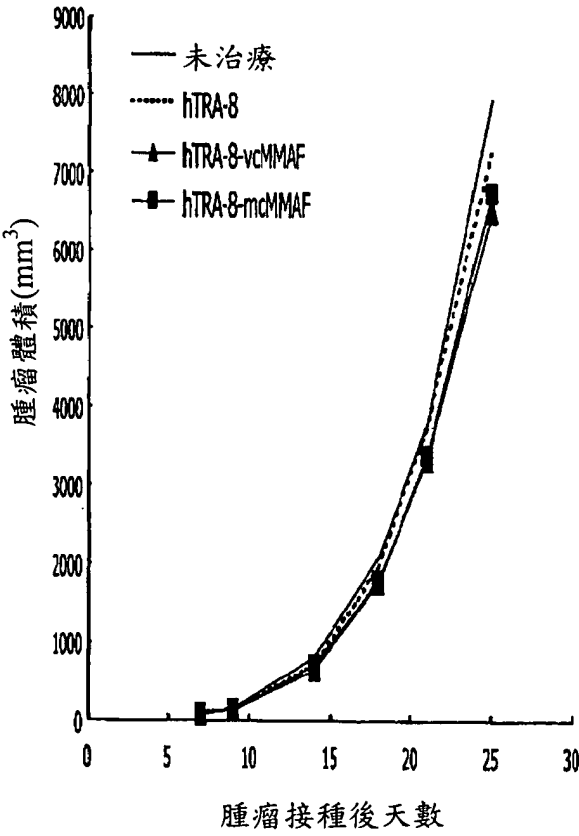


圖 20

BxPC-3

細胞系	BxPC-3
疾病	胰腺腺癌
接種細胞	10 ⁷
投予(天)	7,14,21,28

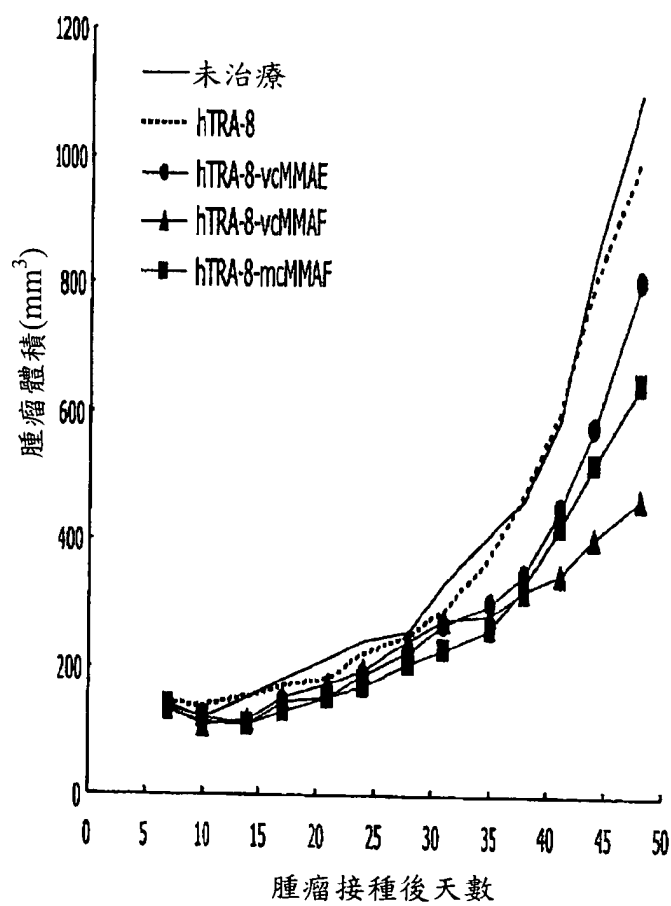


圖21

H2122

細胞系	H2122
疾病	NSCLC
接種細胞	2×10^6
投予(天)	11,18,25,32

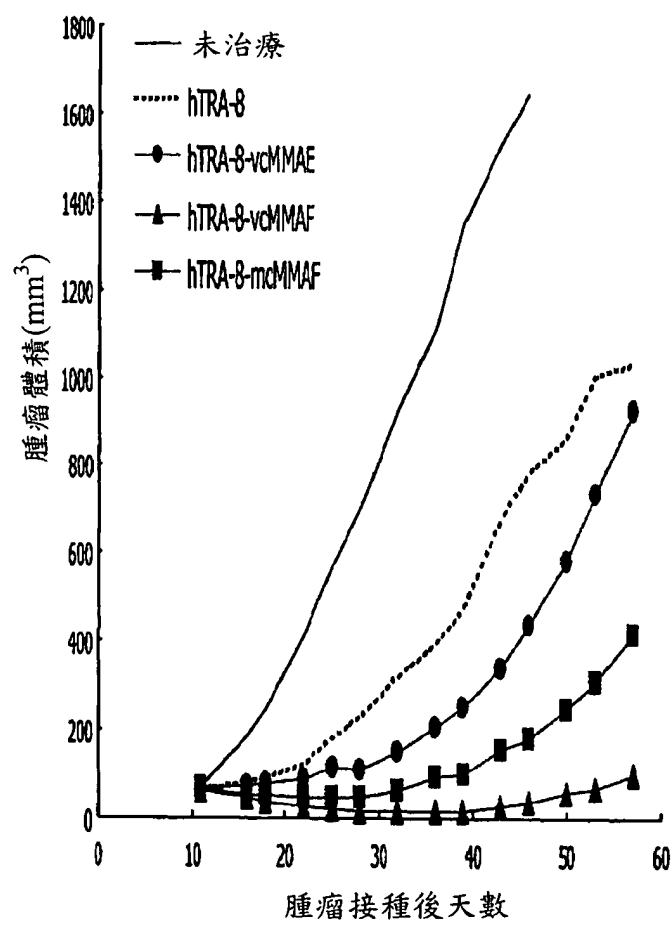


圖22

MIA PaCa-2

細胞系	MIA PaCa-2
疾病	胰腺腺癌
接種細胞	實體腫瘤碎片
投予(天)	10,17,24

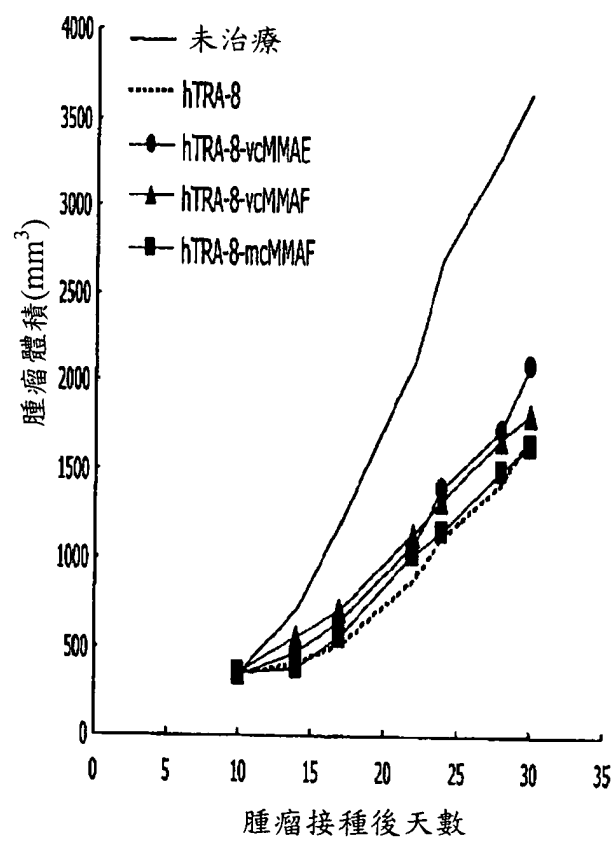


圖 23

PC-3

細胞系	PC-3
疾病	前列腺腺癌
接種細胞	2×10^6
投予(天)	35,42,49

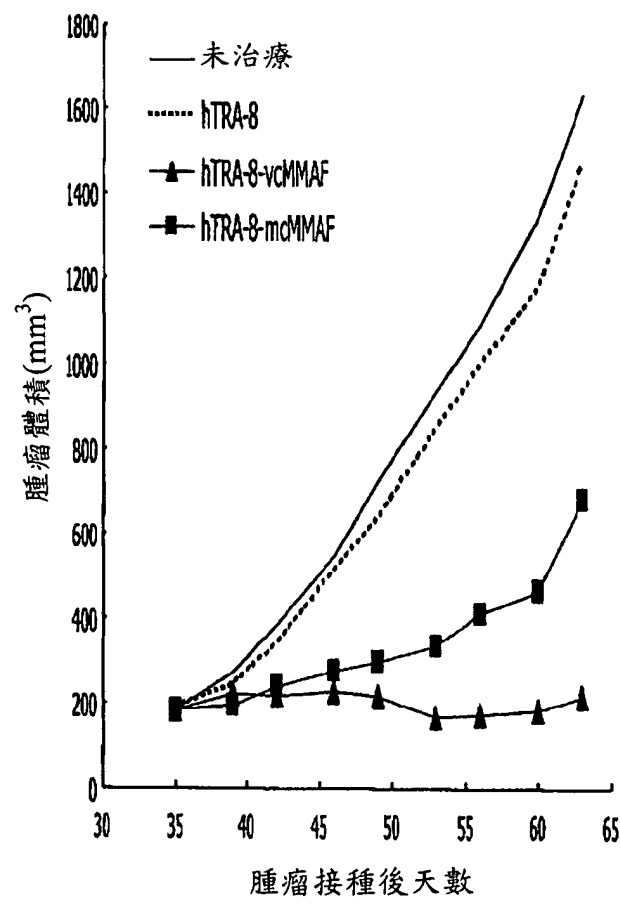


圖 24

HCT-116

細胞系	HCT-116
疾病	結腸直腸腺癌
接種細胞	10 ⁷
投予(天)	10,17,24,31

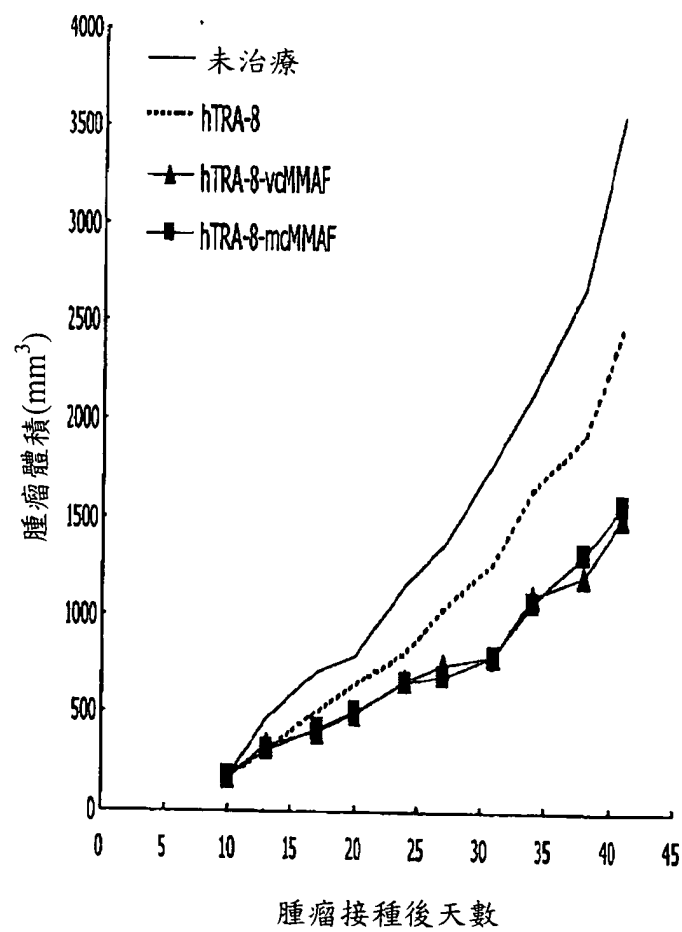


圖25

DU145

細胞系	DU145
疾病	前列腺腺癌
接種細胞	實體腫瘤碎片
投予 (天)	第 9、16、23、30 天

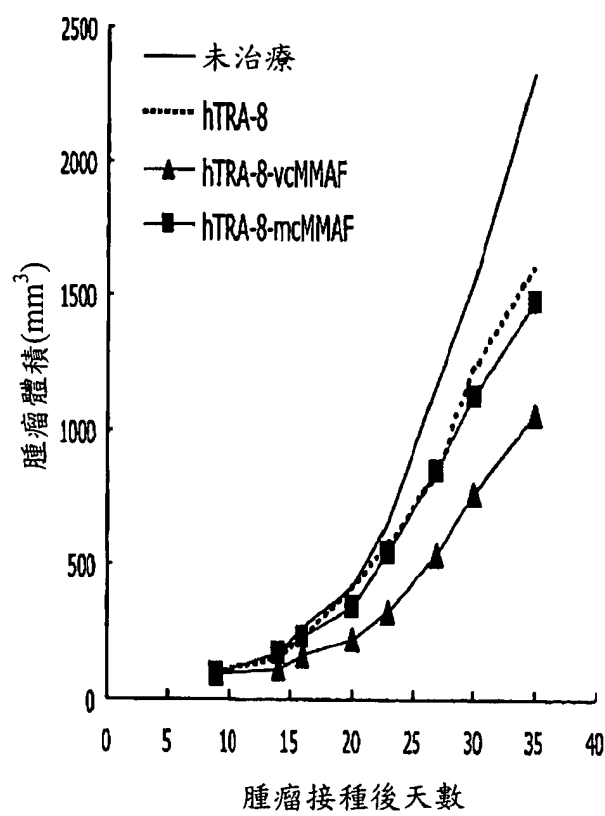


圖 26

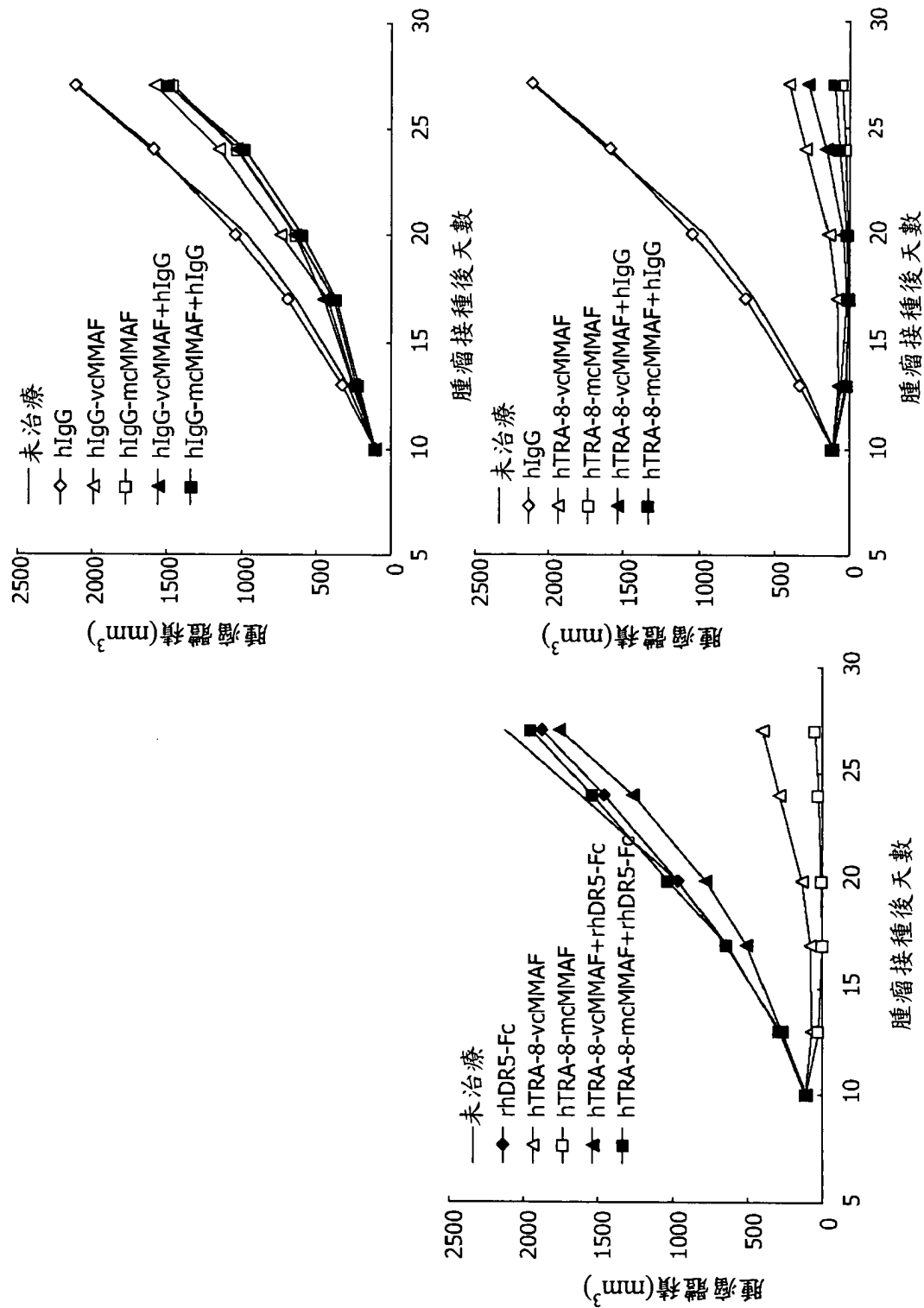


圖27

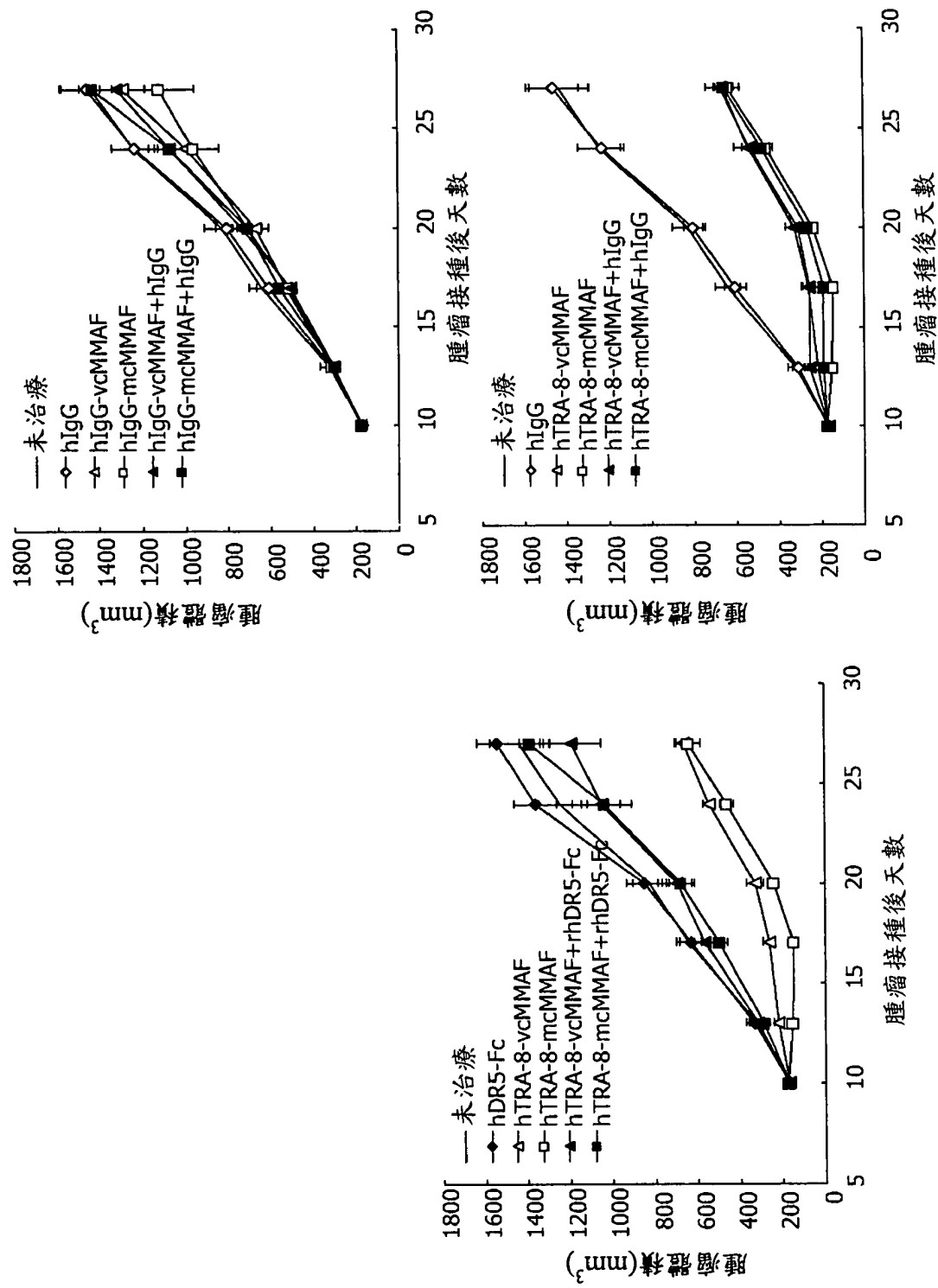


圖28

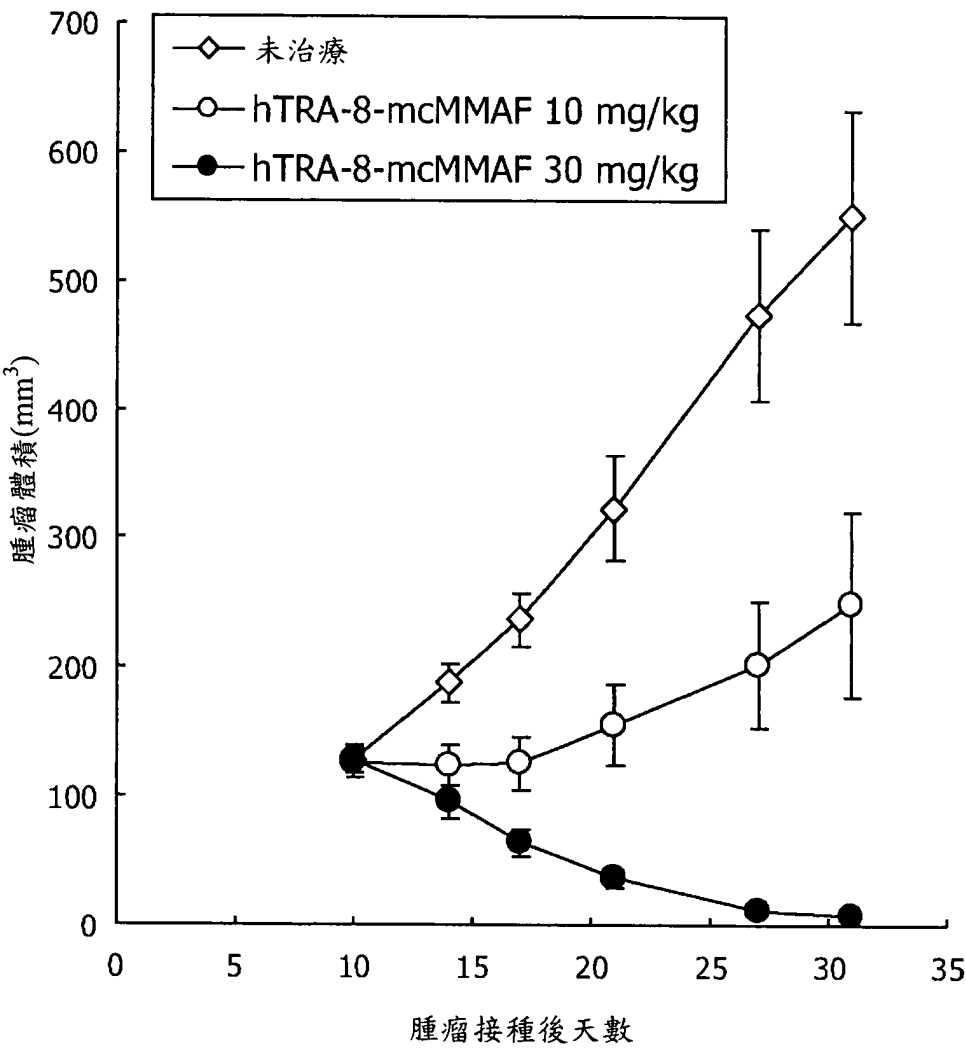


圖29

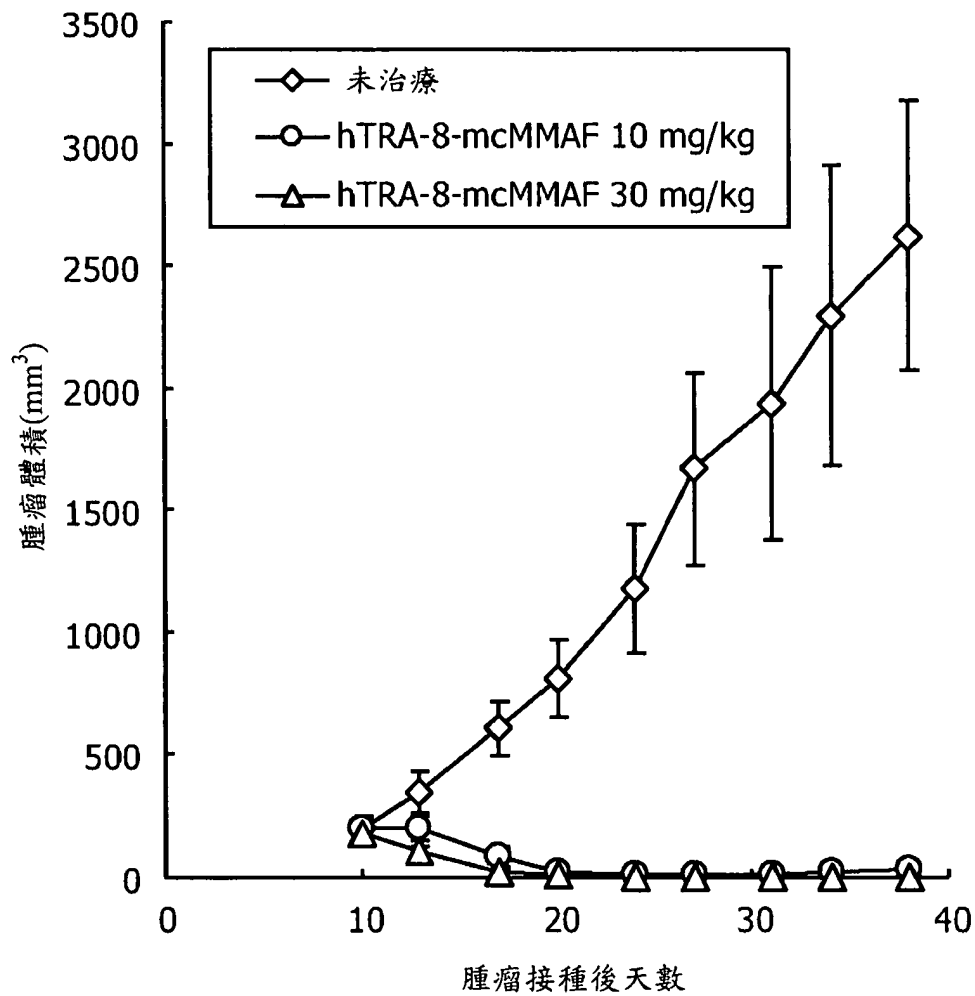


圖30

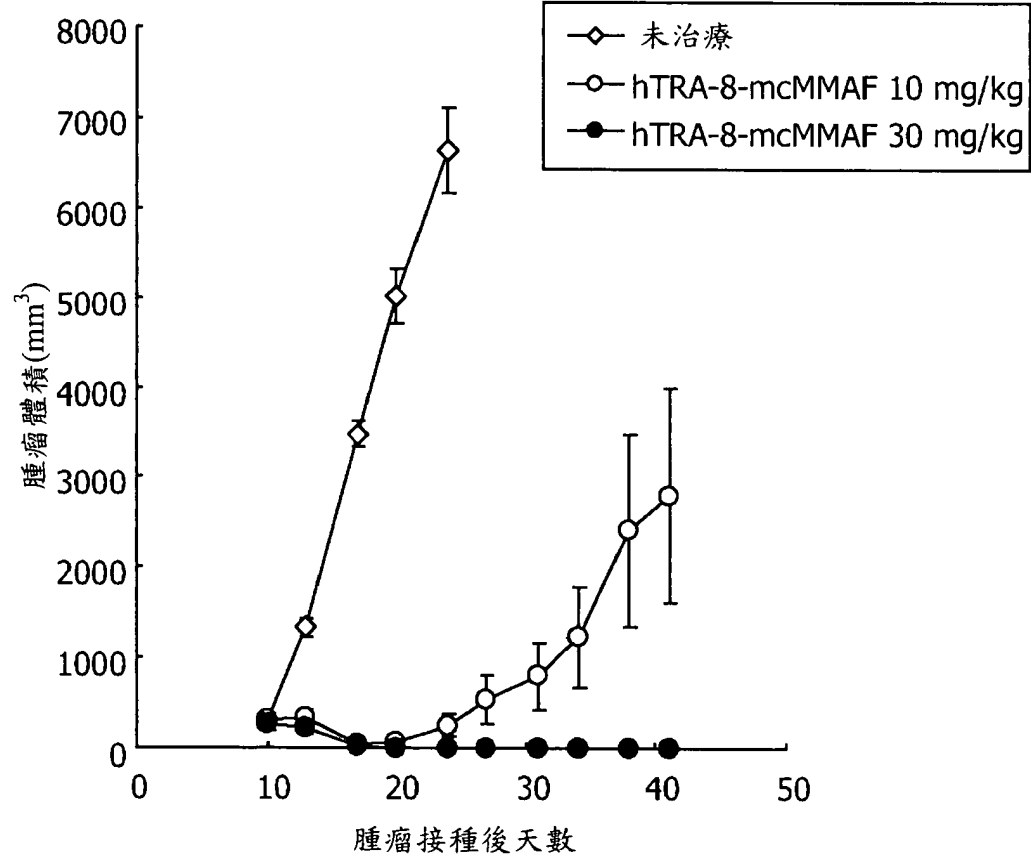


圖31

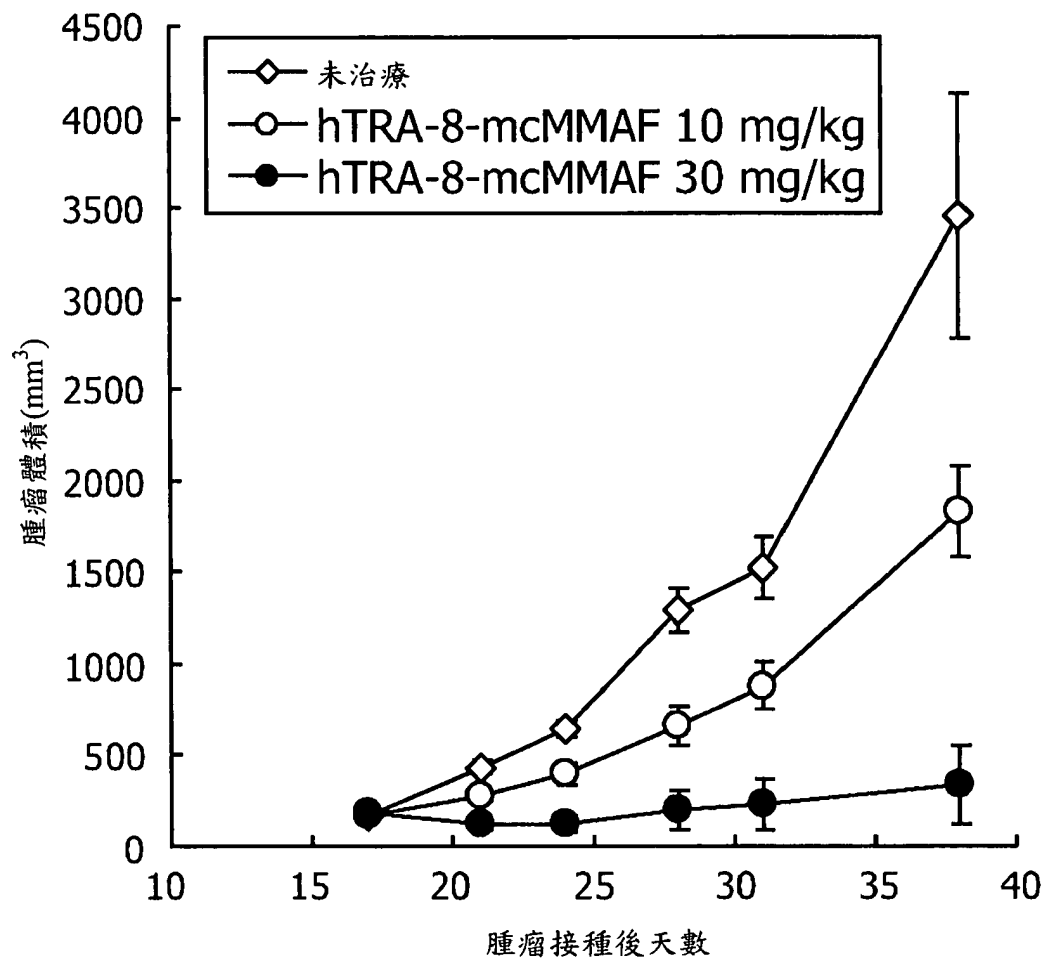


圖32

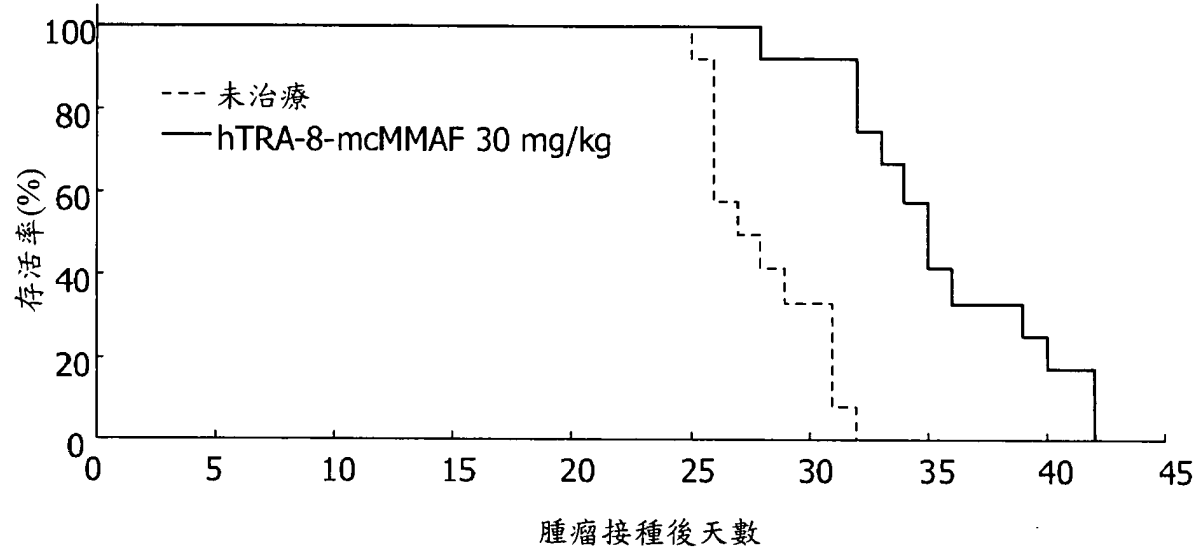


圖33

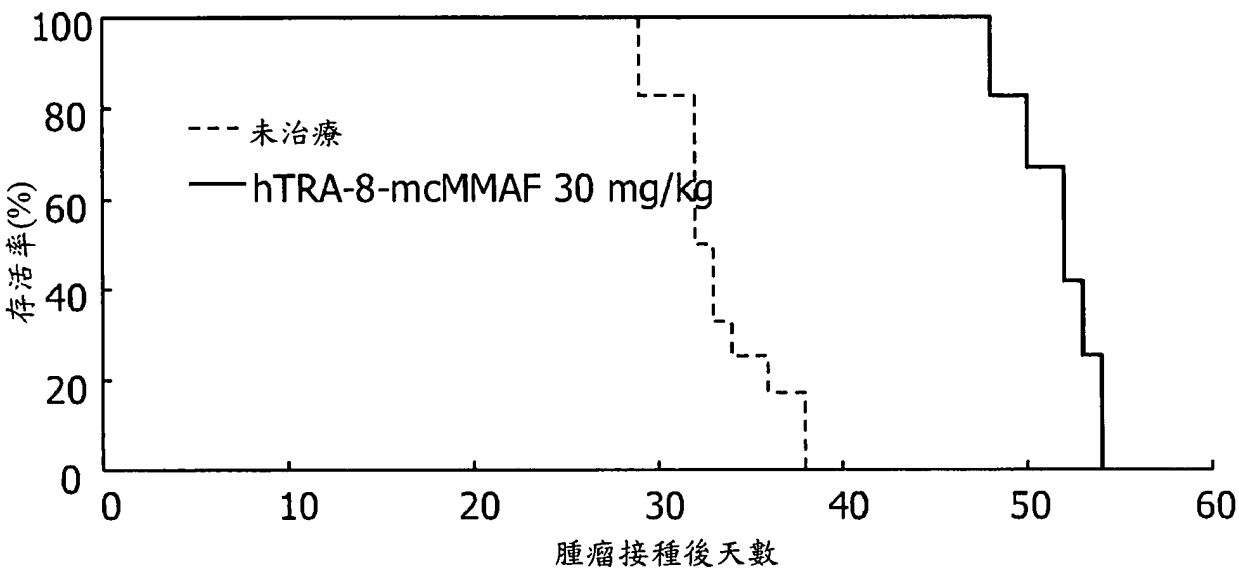


圖34

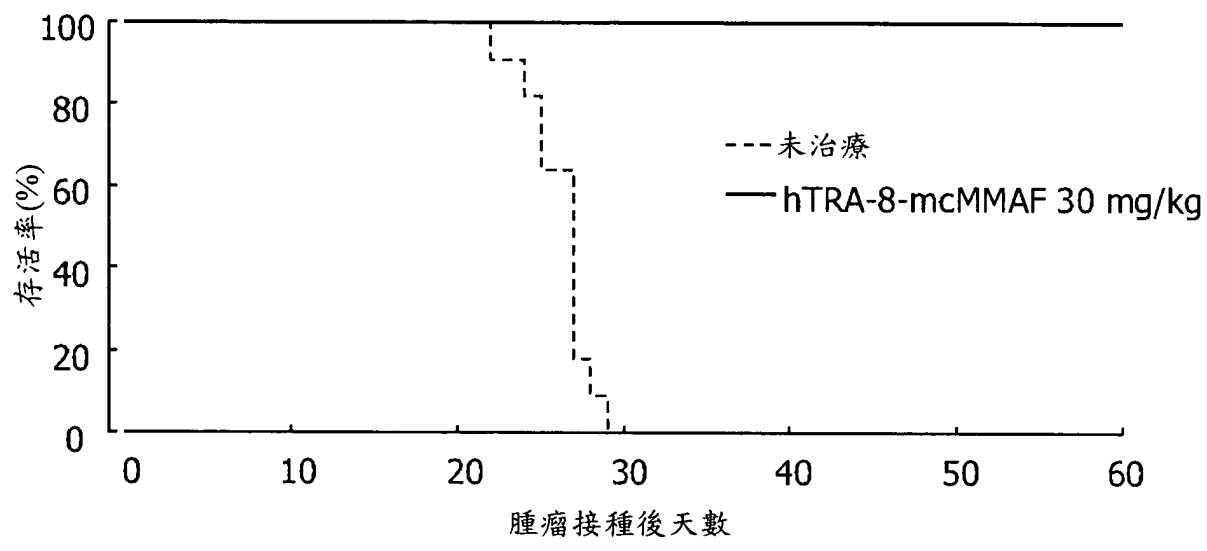


圖35

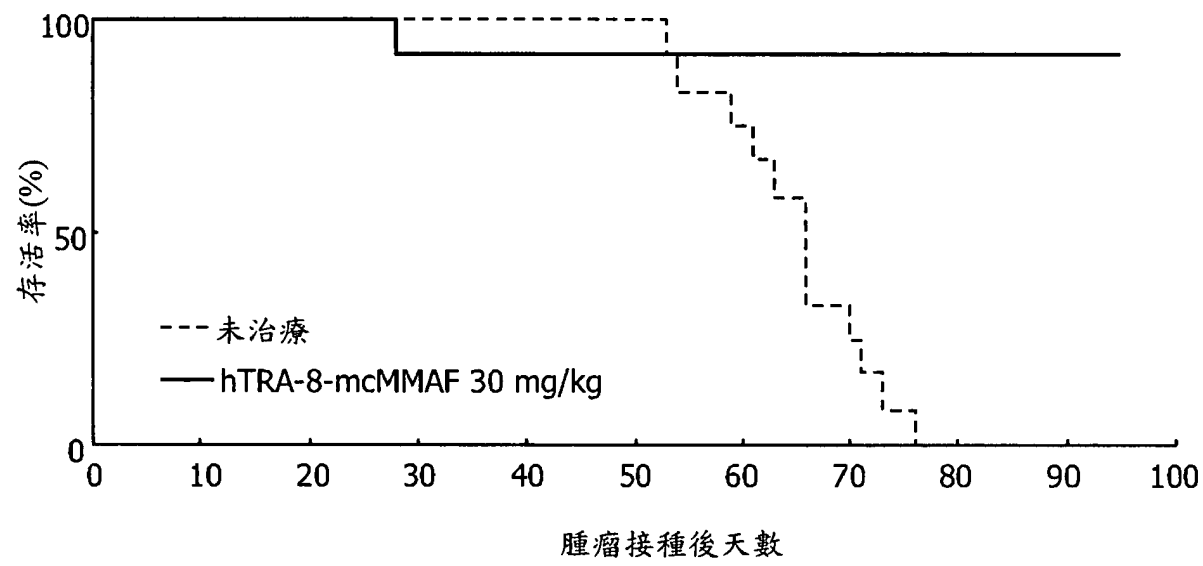


圖36

四、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第(30)圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

(無元件符號說明)

五、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

(無)