



(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 201605479 A

(43)公開日：中華民國 105 (2016) 年 02 月 16 日

(21)申請案號：103126492

(22)申請日：中華民國 103 (2014) 年 08 月 01 日

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

A61P35/00 (2006.01)

(30)優先權：2013/08/02 歐洲專利局

13306119.2

(71)申請人：賽諾菲公司 (法國) SANOFI (FR)

法國

(72)發明人：阿薩朵瑞恩 席爾菲 ASSADOURIAN, SYLVIE (FR)；米格納德 多明尼克
MIGNARD, DOMINIQUE (FR)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：35 項 圖式數：3 共 95 頁

(54)名稱

抗 Muc 1 類美登素免疫綴合物抗體用於治療實體腫瘤之用途

USE OF ANTI-MUC1 MAYTANSINOID IMMUNOCONJUGATE ANTIBODY FOR THE
TREATMENT OF SOLID TUMORS

(57)摘要

本發明係關於一種綴合物，其包含：(i)與人黏蛋白-1(MUC1)醣蛋白結合之細胞結合劑，連接至
(ii)至少一種細胞毒性劑，用於治療癌症，其中該綴合物之投藥劑量為至少 120mg/m²。

The present invention concerns a conjugate comprising (i) a cell binding agent which binds to the human mucin-1 (MUC1) glycoprotein, linked to (ii) at least one cytotoxic agent, for use to treat cancer, wherein said conjugate is administered at a dose of at least 120 mg/m².

發明摘要

※ 申請案號：

103126492

※ 申請日：

103.8.1

※IPC 分類：A61K ⁴⁷/₄₈ (2006.01)A61P ³⁵/₅₀ (2006.01)

【發明名稱】

抗Muc1類美登素免疫綴合物抗體用於治療實體腫瘤之用途

USE OF ANTI-MUC1 MAYTANSINOID IMMUNOCONJUGATE

ANTIBODY FOR THE TREATMENT OF SOLID TUMORS

【中文】

本發明係關於一種綴合物，其包含：(i)與人黏蛋白-1(MUC1)醣蛋白結合之細胞結合劑，連接至(ii)至少一種細胞毒性劑，用於治療癌症，其中該綴合物之投藥劑量為至少120 mg/m²。

【英文】

The present invention concerns a conjugate comprising (i) a cell binding agent which binds to the human mucin-1 (MUC1) glycoprotein, linked to (ii) at least one cytotoxic agent, for use to treat cancer, wherein said conjugate is administered at a dose of at least 120 mg/m².

【代表圖】

【本案指定代表圖】：(無)。

【本代表圖之符號簡單說明】：

無

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：

(無)

發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

【發明名稱】

抗Muc1類美登素免疫綴合物抗體用於治療實體腫瘤之用途

USE OF ANTI-MUC1 MAYTANSINOID IMMUNOCONJUGATE

ANTIBODY FOR THE TREATMENT OF SOLID TUMORS

【技術領域】

本發明係關於一種綴合物，其包含(i)與人黏蛋白-1(MUC1)醣蛋白結合之細胞結合劑，連接至(ii)至少一種細胞毒性劑，用於治療癌症，其中該綴合物之投藥劑量為至少120 mg/m²。

【先前技術】

為了開發特異性破壞目標癌細胞而不損害周圍非癌細胞及組織之抗癌治療劑，人們已進行許多嘗試。此類治療劑具有極大地改善人類患者之癌症治療之潛能。

一種有前途之方法為細胞結合劑(諸如單株抗體)與細胞毒性藥物連接。視細胞結合劑之選擇而定，基於在此類細胞表面上所表達之分子之表達概況，可將此等細胞毒性綴合物設計用於僅識別及結合特定類型之癌細胞。

國際專利申請案WO 02/16401描述鼠類單株抗體DS6，其與人類漿液性卵巢癌表達之抗原CA6反應。因此，此鼠類單株抗體DS6可以靶向癌細胞。

CA6抗原更具體地表徵於美國專利第7,834,155號中，其為一種由癌細胞表達之MUC1黏蛋白受體上之唾液酸醣抗原決定基(sialoglycotope)。此專利亦提供能夠識別MUC1黏蛋白受體之此CA6唾液酸醣抗原決定基之抗體，具體地為人類化抗體，諸如人類化

hDS6抗體。

細胞毒類藥物，諸如甲胺喋呤(methotrexate)、柔紅黴素(daunorubicin)、多柔比星(doxorubicin)、長春新鹼(vincristine)、長春鹼(vinblastine)、美法侖(melphalan)、絲裂黴素C(mitomycin C)及苯丁酸氮芥(chlorambucil)，已經在細胞毒性綴合物中使用，連接至許多鼠類單株抗體。在某些情況下，藥物分子經由中間載體分子(諸如血清白蛋白)連接至抗體分子。

在繼續改進用於治療癌症患者之方法中，研發特異性識別具體癌細胞類型之細胞毒性綴合物將會為重要的。

為此，本發明係有關開發包含細胞結合劑(諸如抗體)以及特異性靶向癌細胞表面上表達之分子/受體之細胞毒性劑的綴合物。

更具體地，本發明係有關包含抗體之綴合物，較佳人類化抗體，該等抗體識別癌細胞表達之Muc1黏蛋白受體之CA6唾液酸醣抗原決定基，並且在細胞毒性劑之情形下，可用於抑制表達CA6醣抗原決定基(glycotope)之細胞的生長。此等綴合物之一為SAR566658。

SAR566658為由人類化單株抗體組成之免疫綴合物，針對與細胞毒性類美登素DM4綴合之腫瘤相關之唾液酸醣抗原決定基CA6(huDS6)。

更具體地，本發明提供細胞毒性綴合物，其識別Muc1黏蛋白受體之CA6唾液酸醣抗原決定基，為了獲得耐受性良好的能夠治療罹患癌症之患者(尤其罹患CA6陽性癌症(尤其為乳癌或卵巢癌)之患者)之抗癌治療，必須確定合適之投藥劑量及方案。

【發明內容】

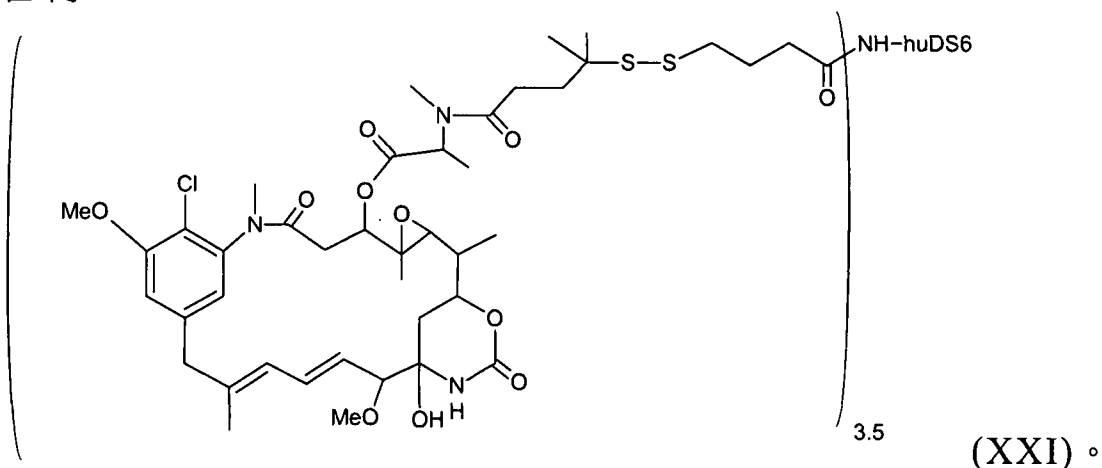
因此，本發明係關於綴合物，其包含(i)與人黏蛋白-1(MUC1)醣蛋白結合之細胞結合劑，連接至(ii)至少一種細胞毒性劑，用於治療癌症，其中該綴合物之投藥劑量為至少120 mg/m²。

本發明亦關於綴合物，其包含(i)與人黏蛋白-1(MUC1)醣蛋白結合之細胞結合劑，連接至(ii)至少一種細胞毒性劑，用於治療選自由乳癌及卵巢癌組成之群的癌症。

在本發明之一些實施例中，細胞結合劑為人類化抗CA6抗體，且細胞毒性劑為類美登素。

在另一實施例中，細胞結合劑為包含序列SEQ ID NO: 9之重鏈及序列SEQ ID NO: 10之輕鏈的人類化抗CA6抗體huDS6，且細胞毒性劑為美登素(maytansine)化合物，諸如DM1或DM4。

在一具體實施例中，在本發明情形中使用之綴合物為下式(XXI)之化合物SAR566658



本發明亦關於一種製品，其包含：

a)包裝材料；

b)綴合物，其包含(i)與人黏蛋白-1(MUC1)醣蛋白結合之細胞結合劑，連接至(ii)至少一種細胞毒性劑；更具體而言，式(XXI)之化合物SAR566658，及

c)含在該包裝材料內之標籤或包裝說明書，其標明該綴合物之投藥劑量為至少120 mg/m²。

本發明亦關於一種製品，其包含：

a)包裝材料；

b)綴合物，其包含(i)與人黏蛋白-1(MUC1)醣蛋白結合之細胞結合劑，連接至(ii)至少一種細胞毒性劑；更具體而言，式(XXI)之化合物SAR566658，及

c)含在該包裝材料內之標籤或包裝說明書，其標明投與該綴合物用於治療選自由乳癌及卵巢癌組成之群的癌症。

【圖式簡單說明】

圖1概述利用劑量治療之患者，以及在劑量遞增測定中所考慮之關鍵事件。

圖2顯示在實例中展現之治療期間觀察到之最壞等級之眼毒性(每個患者及每個週期)。

圖3顯示在實例之2.6.3部分中量測之DLCO降低(每個患者及每個週期)。

【實施方式】

定義

在本發明之上下文中，術語「**MUC1醣蛋白**」係指人*MUC1*基因編碼之黏蛋白。MUC1為其胞外域廣泛O-連接糖基化之醣蛋白。MUC1具有120-225 kDa之核心蛋白質質量，隨糖基化而提高至250-500 kDa。其超出細胞之表面延伸200-500 nm。該蛋白利用跨膜域錨定於許多上皮之頂表面。超出跨膜域的為含有釋放大胞外域之裂解位點之SEA域。胞外域包括20個胺基酸可變數量串聯重複(VNTR)域，在不同個體中，重複數量在20至120之間變化。此等重複富含容許大量O-糖基化之絲胺酸、蘇胺酸及脯胺酸殘基。

在本發明之上下文中，術語「**CA6醣抗原決定基**」或「**CA6唾液酸醣抗原決定基**」係指存在於MUC1醣蛋白之胞外域上之腫瘤相關之抗原，作為攜帶唾液酸依賴性之碳水化合物抗原決定基，其由Kearse等人 (2000) *Int. J. Cancer*. **88**: 866-872鑑定。

如本文所用，序列「**至少與參比序列相同85%**」為序列之整個長度與參比序列之整個長度具有85%或85%以上(具體地為90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%、99.6%、99.7%、99.8%、99.9%或100%)序列一致性之序列。

「**序列一致性**」之百分比可以藉由在比較窗中比較兩個最優比對之序列來確定，其中對於兩序列之最優比對而言，比較窗中之多肽序列部分可以包含與參比序列(其不包含添加或缺失)相比較之添加或缺失(亦即，缺口)。如下計算百分比：確定相同胺基酸殘基出現在兩個序列中之位置的數量，得到匹配位置之數量，用匹配位置之數量除以對比窗口中位置總數量，並將結果乘以100，得到序列一致性之百分比。用於對比之序列之最優比對為藉由全局成對比對(global pairwise alignment)進行，例如，使用Needleman及Wunsch (1970) *J. Mol. Biol.* **48**: 443之演算法。可以容易地測定序列一致性之百分比，例如，使用程式Needle (帶有BLOSUM62矩陣)以及下列參數：空位開放=10，空位擴展=0.5。

在本發明之上下文中，「**保守胺基酸取代**」為這樣的取代：一個胺基酸殘基經另一胺基酸殘基取代，其中該另一胺基酸殘基帶有化學性質(例如，電荷或疏水性)類似之側鏈基團。通常，保守胺基酸取代不會實質上改變蛋白之功能性。帶有化學性質類似之側鏈之胺基酸基團之實例包括：1)脂族側鏈：甘胺酸、丙胺酸、纈胺酸、白胺酸及異白胺酸；2)脂族-羥基側鏈：絲胺酸及蘇胺酸；3)含有醯胺之側鏈：天冬醯胺及麩醯胺酸；4)芳族側鏈：苯丙胺酸、酪胺酸及色胺酸；5)鹼性側鏈：離胺酸、精胺酸及組胺酸；6)酸性側鏈：天冬胺酸及麩胺酸；及7)含硫側鏈：半胱胺酸及甲硫胺酸。保守胺基酸取代基為：纈胺酸-白胺酸-異白胺酸、苯丙胺酸-酪胺酸-色胺酸、離胺酸-精胺酸、丙胺酸-纈胺酸、麩胺酸-天冬胺酸及天冬醯胺-麩醯胺酸。

如本文所用，術語「**個體**」表示哺乳動物，諸如啮齒動物、貓、犬及靈長動物。具體地，按照本發明之個體為人。

如本文所用，「**綴合物**」、「**免疫綴合物**」、「**抗體-藥物綴合物**」或「**ADC**」具有相同含義且可以互換。

在本申請案通篇中，將術語「**包含**」解釋為涵蓋所有具體提到之特徵，以及視情況選用的、額外的、未指明的特徵。如本文所用，術語「**包含**」之使用亦揭示不存在具體提到之特徵以外之特徵的實施例(亦即「**由...組成**」)。

細胞結合劑

如本文所用，術語「**細胞結合劑**」係指特異性地識別並結合細胞表面上之人黏蛋白-1 (MUC1)糖蛋白之藥劑。在一具體實施例中，細胞結合劑更具體地特異性結合如上文「**定義**」部分所定義之MUC1糖蛋白之胞外域。在另一實施例中，細胞結合劑識別並結合如上文「**定義**」部分所定義之MUC1糖蛋白上之CA6糖抗原決定基。

在一個實施例中，細胞結合劑特異性地識別人MUC1糖蛋白，具體地為MUC1糖蛋白之胞外域，更具體地為MUC1糖蛋白上之CA6糖抗原決定基，由此其使得綴合物以靶向方式起作用而具有很小的由非特異性結合引起之副作用。

在另一實施例中，本發明之細胞結合劑亦特異性地識別人MUC1糖蛋白，具體地為MUC1糖蛋白之胞外域，更具體地為MUC1糖蛋白上之CA6糖抗原決定基，由此綴合物將與目標細胞接觸足夠的時間，從而允許綴合物之細胞毒性劑部分作用於細胞及/或允許綴合物經細胞內吞之充足時間。

本發明之綴合物作為治療劑之效果視仔細選擇適當細胞結合劑而定，該細胞結合劑與人黏蛋白-1 (MUC1)糖蛋白結合，尤其與MUC1糖蛋白之胞外域結合，更尤其與MUC1糖蛋白上之CA6糖抗原

決定基結合。細胞結合劑可以為目前已知的或知名的任何類別之細胞結合劑，並且包括肽及非肽，僅要其與人MUC1醣蛋白結合、尤其與MUC1醣蛋白之胞外域結合、更尤其與MUC1醣蛋白上之CA6醣抗原決定基結合即可。通常，此等可為抗體(尤其為單株抗體)、淋巴因子、激素、生長因子、維生素、營養素運輸分子(諸如轉鐵蛋白)或任何其他細胞結合分子物質。

可使用之細胞結合劑之更具體實例包括：

- 多株抗體；
- 單株抗體；
- 抗體之抗原決定基結合片段，諸如Fab、Fab'、F(ab')₂或Fv。

適當細胞結合劑之選擇為視欲靶向之具體細胞群體而定之選擇問題，但通常，抗體或其抗原決定基結合片段在可獲得適當的或可經製備時為較佳的，更佳為單株抗體。

「**抗體**」可以為天然或習知抗體，其中兩個重鏈利用二硫鍵相互連接，並且每個重鏈利用二硫鍵與一個輕鏈連接。有兩個類型之輕鏈：lambda(λ)及kappa(κ)。有五個主要重鏈類別(或同型)，其決定抗體分子IgM、IgD、IgG、IgA及IgE之功能活性。每個鏈含有獨特的序列域。輕鏈包括兩個域或區：可變域(VL)及恆定域(CL)。重鏈包括四個域：一個可變域(VH)及三個恆定域(CH1、CH2及CH3，統稱為CH)。輕鏈(VL)及重鏈(VH)之可變區決定結合識別及對抗原之特異性。輕鏈(CL)及重鏈(CH)之恆定區域賦予重要的生物學特性，諸如抗體鏈結合、分泌、透過胎盤之移動性、補體結合以及與Fc受體(FcR)結合。Fv片段為免疫球蛋白之Fab片段之N端部分，並且由一個輕鏈及一個重鏈之可變部分組成。抗體之特異性在於抗體結合位點及抗原決定子之間的結構互補性。抗體結合位點由殘基組成，該等殘基主要源於高變或互補決定區(CDR)。有時，源於非高變或構架區(FR)之殘

基影響所有域結構，並由此影響結合位點。

「**互補決定區**」或「**CDR**」係指同時定義天然免疫球蛋白結合位點之天然Fv域之結合親和性及特異性的胺基酸序列。免疫球蛋白之輕鏈及重鏈各自具有三個CDR，分別稱為CDR1-L、CDR2-L、CDR3-L及CDR1-H、CDR2-H、CDR3-H。因此，習知抗體抗原結合位點包括六個CDR，其包含來自每個重鏈及輕鏈V區之CDR組。

「**構架區**」(FR)係指插在CDR之間的胺基酸序列，亦即，免疫球蛋白輕鏈及重鏈可變區之彼等部分，其在單一物種之不同免疫球蛋白當中相對保守。免疫球蛋白之輕鏈及重鏈各自具有四個FR，分別稱為FR1-L、FR2-L、FR3-L、FR4-L，以及FR1-H、FR2-H、FR3-H、FR4-H。

如本文所用，「**人類構架區**」為與天然存在之人類抗體之構架區實質上相同(大約85%或85%以上，尤其為90%、95%、97%、99%或100%)之構架區。

在本發明之上下文中，基於IMGT定義來確定免疫球蛋白輕鏈或重鏈中之CDR/FR定義(Lefranc等人 (2003) *Dev Comp Immunol.* 27(1): 55-77; www.imgt.org)。

如本文所用，術語「**抗體**」表示習知抗體及其片段，以及單域抗體及其片段，尤其為單域抗體之可變重鏈，以及嵌合、人類化、雙特異性或多特異性抗體。

如本文所用，抗體或免疫球蛋白亦包括最近描述之「**單域抗體**」，其為互補決定區屬於單域多肽一部分之抗體。單域抗體之實例包括：重鏈抗體、天然缺乏輕鏈之抗體、衍生自習知四鏈抗體之單域抗體、工程化單域抗體。單域抗體可以來源於任何物種，包括但不限於：小鼠、人、駱駝、美洲駝、山羊、兔及牛。單域抗體可以為天然存在之單域抗體，被稱為缺乏輕鏈之重鏈抗體。具體而言，駱駝科

(*Camelidae*)物種，諸如駱駝、單峰駱駝、美洲駝、羊駝及原駝，產生天然缺乏輕鏈之重鏈抗體。駱駝重鏈抗體亦缺乏CH1域。

缺乏輕鏈之此等單域抗體之可變重鏈在此項技術中稱為「VHH」或「**奈米抗體**」。與習知VH域相似，VHH含有四個FR及三個CDR。奈米抗體優於習知抗體：其比IgG分子小約十倍，且因此適當摺疊之功能性奈米抗體可以藉由活體外表達來製備，同時達成高產率。此外，奈米抗體非常穩定，並且耐受蛋白酶之作用。Harmsen及De Haard (Harmsen及De Haard (2007) *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 77: 13-22)已經綜述奈米抗體之特性及製備。

本文所用之術語「**單株抗體**」或「**mAb**」係指單胺基酸組成之抗體分子，其針對特定抗原，並且不應理解為需要利用任何具體方法製備之抗體。單株抗體可利用B細胞或雜交瘤之單一純系來製備，但亦可以為重組的，亦即，藉由蛋白質工程化來製備。

術語「**嵌合抗體**」係指工程化抗體，廣義上，其含有源於一個抗體之一或多個區，以及源於一或多個其他抗體之一或多個區。具體而言，嵌合抗體包含來源於非人類動物之抗體之VH域及VL域與其他抗體(尤其為人類抗體)之CH域及CL域之組合。至於非人類動物，可以使用任何動物，諸如小鼠、大鼠、倉鼠、兔或其類似動物。嵌合抗體亦可以代表對於至少兩種不同抗原具有特異性之多特異性抗體。在一實施例中，嵌合抗體具有小鼠源之可變域及人源之恆定域。

術語「**人類化抗體**」係指這樣的抗體，最初其完全或部分為非人源抗體，並且為了避免在人中產生免疫反應或使免疫反應減至最小，對其進行修飾，替代某些胺基酸，具體地為在重鏈及輕鏈之構架區中之胺基酸。人類化抗體之恆定域在大部分情況下為人類CH及CL域。在一實施例中，人類化抗體具有人源之恆定域。

(習知)抗體之「**片段**」包含一部分完整抗體，具體為完整抗體之

抗原結合區或可變區。抗體片段之實例包括： F_v 、 Fab 、 $F(ab')_2$ 、 Fab' 、 dsF_v 、 $(dsF_v)_2$ 、 scF_v 、 $sc(F_v)_2$ 、雙功能抗體、由抗體片段形成之雙特異性及多特異性抗體。習知抗體之片段亦可以為單域抗體，諸如重鏈抗體或VHH。

術語「**Fab**」代表具有約50,000 Da之分子量及抗原結合活性之抗體片段，其中，在藉由用蛋白酶番木瓜蛋白酶處理IgG所獲得之片段當中，約一半的H鏈之N端側及整個L鏈經由二硫鍵結合在一起。

術語「**F(ab')₂**」係指具有約100,000 Da之分子量及抗原結合活性之抗體片段，在藉由用蛋白酶胃蛋白酶處理IgG所獲得之片段當中，其比經由鉸鏈區之二硫鍵結合之Fab稍大。

術語「**Fab'**」係指具有大約50,000 Da之分子量及抗原結合活性之抗體片段，其係藉由切斷 $F(ab')_2$ 片段之鉸鏈區之二硫鍵而獲得的。

單鏈 F_v (「**scFv**」)多肽為共價連接之 $VH::VL$ 雜二聚體，其通常由基因融合來表達，基因融合包括利用肽編碼連接子連接之VH及VL編碼基因。本發明之人類 scF_v 片段包括尤其藉由使用基因重組技術而擁有合適構形之CDR。二價及多價抗體片段可以自發地藉由單價 scF_v 之結合來形成，或可以藉由一價 scF_v 與肽連接子偶合(諸如二價 $sc(F_v)_2$)來產生。

「**dsFv**」為利用二硫鍵穩定之 $VH::VL$ 雜二聚體。

「**(dsFv)₂**」代表利用肽連接子偶合之兩個 dsF_v 。

術語「**雙特異性抗體**」或「**BsAb**」代表組合單分子內之兩個抗體之抗原結合位點的抗體。因此，BsAb能夠同時結合兩個不同抗原。如例如EP 2 050 764 A1中所述，愈加頻繁地使用基因工程化來設計、修飾及製備抗體或抗體衍生物，使其具有所需結合特性及效應功能組。

術語「**多特異性抗體**」代表組合單分子內之兩個或兩個以上抗

體之抗原結合位點的抗體。

術語「**雙功能抗體**」係指具有兩個抗原結合位點之小抗體片段，該等片段包含與同一多肽鏈(VH-VL)中之輕鏈可變域(VL)連接之重鏈可變域(VH)。藉由使用太短以至於不能使在同一個鏈上之兩個域之間形成配對之連接子，迫使該等域與另一條鏈之互補域配對，並形成兩個抗原結合位點。

在一具體實施例中，抗原決定基結合片段係選自由以下組成之群：Fv、Fab、F(ab')₂、Fab'、dsFv、(dsFv)₂、scFv、sc(Fv)₂、雙功能抗體及VHH。

在一具體實施例中，本發明之綴合物包含抗體或其抗原決定基結合片段，該抗體或其抗原決定基結合片段包含一或多個具有選自由以下組成之群的胺基酸序列之CDR：SYNMH (SEQ ID NO: 1)、YIYPGNGATNYNQKFKG (SEQ ID NO: 2)、GDSVPFAY (SEQ ID NO: 3)、SAHSSVSFMH (SEQ ID NO: 4)、STSSLAS (SEQ ID NO: 5)及QQRSSFPLT (SEQ ID NO: 6)。

在另一實施例中，本發明之綴合物可包含抗體或其抗原決定基結合片段，該抗體或其抗原決定基結合片段包含序列SEQ ID NO: 1之CDR1-H、序列SEQ ID NO: 2之CDR2-H及序列SEQ ID NO: 3之CDR3-H。

在另一實施例中，本發明之綴合物可包含抗體或其抗原決定基結合片段，該抗體或其抗原決定基結合片段包含序列SEQ ID NO: 4之CDR1-L、序列SEQ ID NO: 5之CDR2-L及序列SEQ ID NO: 6之CDR3-L。

在另一實施例中，本發明之綴合物可包含抗體或其抗原決定基結合片段，該抗體或其抗原決定基結合片段包含序列SEQ ID NO: 1之CDR1-H、序列SEQ ID NO: 2之CDR2-H、序列SEQ ID NO: 3之CDR3-

H、序列SEQ ID NO: 4之CDR1-L、序列SEQ ID NO: 5之CDR2-L及序列SEQ ID NO: 6之CDR3-L。

亦提供包含抗體或其抗原決定基結合片段之綴合物，該抗體或其抗原決定基結合片段包含下列序列之重鏈可變區：

QAQLVQSGAEVVKPGASVKMSCKASGYTFTSYNMHWWKQTPGQGLEWIGYIYP
GNGATNYNQKFQGKATLTADPSSSTAYMQISSLTSEDSAVYFCARGDSVPFAYW
GQGTLVTVSA (SEQ ID NO: 7)

或與其相同至少85%、更尤其至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%之序列，較佳地條件為該序列含有序列SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 2及SEQ ID NO: 3。

亦提供包含抗體或其抗原決定基結合片段之綴合物，該抗體或其抗原決定基結合片段包含下列序列之輕鏈可變區：

EIVLTQSPATMSASPGERVITITCSAHSSVSFMHWFQQKPGTSPKLWIYSTSSLAS
GVPARFGGSGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYCQQRSSFPLTFGAGTKLELKR (SEQ ID NO: 8)

或與其相同至少85%、更尤其至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%之序列，較佳地條件為該序列含有序列SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 5及SEQ ID NO: 6。

亦提供包含抗體或其抗原決定基結合片段之綴合物，該抗體或其抗原決定基結合片段包含下列序列之重鏈：

QAQLVQSGAEVVKPGASVKMSCKASGYTFTSYNMHWWKQTPGQGLEWIGYIYPGNGA
TNYNQKFQGKATLTADPSSSTAYMQISSLTSEDSAVYFCARGDSVPFAYWGQGLTVTVS
AASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ
SSGLYSLSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELL
GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE
QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS

RDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVD
KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 9) ,

或與其相同至少85%、更尤其至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%之序列，較佳地條件為該

序列含有序列SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 2及SEQ ID NO: 3。

亦提供包含抗體或其抗原決定基結合片段之綴合物，該抗體或其抗原決定基結合片段包含下列序列之輕鏈：

EIVLTQSPATMSASPGERVITITCSAHSSVSFMHWFQQKPGTSPKLWIYSTSSLASGVPAR
FGGSGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYCQQRSSFPLTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPS
DEQLKSGTASVCLLNFPYFPAKGVQWVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSSTL
TLISKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 10)

或與其相同至少85%、更尤其至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%之序列，較佳地條件為該序列含有序列SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 5及SEQ ID NO: 6。

在另一實施例中，提供人類化抗MUC1抗體及其抗原決定基結合片段，其具有人類化或表面重建之重鏈可變區，該重鏈可變區具有對應於SEQ ID NO: 7之胺基酸序列。

類似地，提供人類化抗MUC1抗體及其抗原決定基結合片段，其具有人類化或表面重建之輕鏈可變區，該輕鏈可變區具有對應於SEQ ID NO: 8之胺基酸序列。

如本文所用，術語「**人類化抗體**」係指含有衍生自非人類免疫球蛋白之最小序列之嵌合抗體。

如本文所用，「**嵌合抗體**」為這樣的抗體：其中恆定區或其一部分經改變、替代或交換，使得可變區連接不同物種之恆定區，或屬於另一抗體類別或子類。「**嵌合抗體**」亦指這樣的抗體：可變區或其一部分經改變、替代或交換，使得恆定區連接不同物種之可變區，或屬於另一抗體類別或子類。

人類化之目標為，為了引入至人中，同時保持抗體之全部抗原結合親和性及特異性，而使異種抗體(諸如鼠類抗體)之免疫原性降低。人類化抗體或適合於不被其他哺乳動物排斥之抗體，可以使用若干種技術來製備，諸如表面重建及CDR移植。如本文所用，表面重建

技術使用分子模建、統計分析及誘變之組合，從而改變抗體可變區之非CDR表面，使其類似於目標宿主之已知抗體之表面。

抗體之表面重建之策略及方法以及在不同宿主中降低抗體免疫原性之其他方法，揭示在美國專利第5,639,641號中。簡言之，利用下列具體方法：(1)產生抗體重鏈及輕鏈可變區之位置比對，得到一組重鏈及輕鏈可變區構架表面暴露之位置，其中所有可變區之比對位置具有至少約98%一致性；(2)對於噬齒動物抗體(或其片段)，定義一組重及輕鏈可變區構架表面暴露之胺基酸殘基；(3)鑑定一組重鏈及輕鏈可變區構架表面暴露之胺基酸殘基，該等胺基酸殘基與噬齒動物表面暴露之胺基酸殘基最密切地相同；(4)除噬齒動物抗體之互補決定區之任何殘基之任何原子在5Å內的胺基酸殘基外，用步驟(3)所鑑定之重鏈及輕鏈可變區構架表面暴露之胺基酸殘基組，代替步驟(2)所定義之重鏈及輕鏈可變區構架表面暴露之胺基酸殘基組；及(5)製備具有結合特異性之人類化噬齒動物抗體。

使用各種其他技術，可使抗體人類化，包括CDR-移植(EP0239400；WO91/09967；美國專利第5,530,101號及第5,585,089號)、外表或表面重建(EP0592106；EP0519596；Padlan(1991) *Molecular Immunology* 28(4/5): 489-498；Studnicka等人(1994) *Protein Engineering* 7(6): 805-814；Roguska等人(1994) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 91:969-973)及鏈改組(美國專利第5,565,332號)。可以用此項技術中已知之各種方法，包括噬菌體展示方法，製備人類抗體。參見美國專利第4,444,887號、第4,716,111號、第5,545,806號及第5,814,318號；以及國際專利申請案WO98/46645、WO98/50433、WO98/24893、WO98/16654、WO96/34096、WO96/33735及WO91/10741。

此類人類化抗體之一實施例為人類化huDS6抗體，其包含序列

SEQ ID NO: 9之重鏈及序列SEQ ID NO: 10之輕鏈，或其抗原決定基結合片段，或與其相同至少85%、更尤其至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%之序列，較佳地條件為該序列含有序列SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 5及SEQ ID NO: 6。

細胞毒性劑

本文所用之術語「**細胞毒性劑**」係指降低或阻斷細胞之功能或生長及/或導致細胞破壞之物質。相應地，本發明之綴合物中使用之細胞毒性劑可以為引起細胞死亡、或誘導細胞死亡、或以一些方式降低細胞生存力之任何化合物。如下文所定義，細胞毒性劑之實例包括：類美登素及類美登素類似物、前藥、托馬黴素(tomamycin)衍生物、類毒素(toxoid)、來普黴素(leptomycin)衍生物、CC-1065及CC-1065類似物。

在可用於本發明形成綴合物之細胞毒性劑當中，可使用**類美登素及類美登素類似物**。合適之類美登素之實例包括：美登醇及美登醇類似物。類美登素為抑制微管形成且對於哺乳動物細胞具有高毒性之藥物。

適合之美登醇類似物之實例包括帶有修飾之芳族環者以及其他位置帶有修飾者。此類合適之類美登素揭示在美國專利第4,424,219號、第4,256,746號、第4,294,757號、第4,307,016號、第4,313,946號、第4,315,929號、第4,331,598號、第4,361,650號、第4,362,663號、第4,364,866號、第4,450,254號、第4,322,348號、第4,371,533號、第6,333,410號、第5,475,092號、第5,585,499號及第5,846,545號中。

帶有修飾的芳族環之美登醇之適合類似物之具體實例包括：

(1) C-19-脫氯(美國專利第4,256,746號)，藉由安絲菌素

(ansamycin) P2之LAH還原來製備；

(2) C-20-羥基(或C-20-脫甲基)+/-C-19-脫氯(美國專利第4,361,650號及第4,307,016號)，藉由使用鏈黴菌屬(*Streptomyces*)或放線菌屬(*Actinomyces*)進行脫甲基化或使用LAH進行脫氯來製備；及

(3) C-20-脫甲氧基、C-20-醯基氧基(-OCOR)， +/-脫氯(美國專利第4,294,757號)，藉由使用醯基氯進行醯化來製備。

其他位置帶有修飾之美登醇之適合類似物之具體實例包括：

(1) C-9-SH (美國專利第4,424,219號)，藉由美登醇與H₂S或P₂S₅反應來製備；

(2) C-14-烷氧基甲基(脫甲氧基/CH₂OR)(美國專利第4,331,598號)；

(3) C-14-羥基甲基或醯基氧基甲基(CH₂OH或CH₂OAc)(美國專利第4,450,254號)，由諾卡氏菌屬(*Nocardia*)製備；

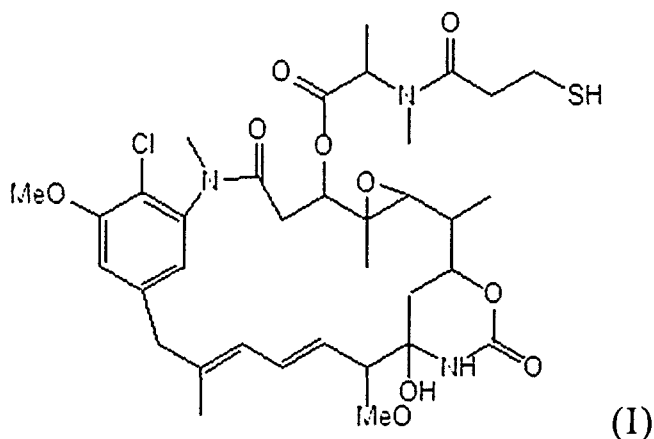
(4) C-15-羥基/醯氧基(美國專利第4,364,866號)，利用鏈黴菌屬藉由美登醇之轉化來製備；

(5) C-15-甲氧基(美國專利第4,313,946號及第4,315,929號)，自滑桃樹(*Trewia nudiflora*)中分離；

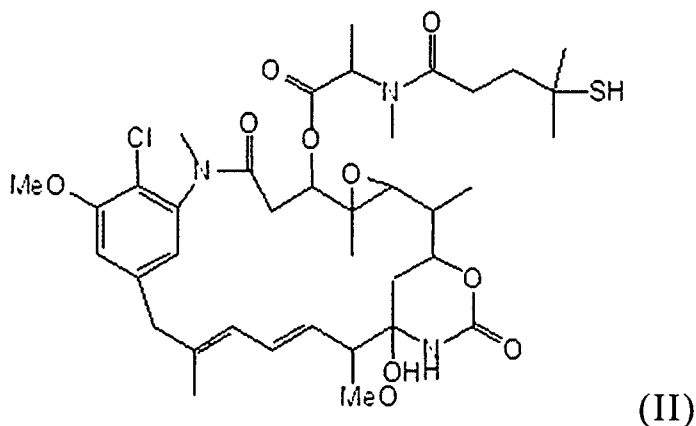
(6) C-18-N-脫甲基(美國專利第4,362,663號及第4,322,348號)，利用鏈黴菌屬藉由美登醇之脫甲基化來製備；及

(7) 4,5-脫氧(美國專利第4,371,533號)，藉由美登醇之三氯化鈦/LAH還原來製備。

在一具體實施例中，本發明之綴合物使用含有巯基(thiol)之類美登素DM1作為細胞毒性劑，其正式稱為N^{2'}-脫乙醯-N^{2'}-(3-巯基-1-側氧基丙基)-美登素。DM1由下列結構式(I)代表：

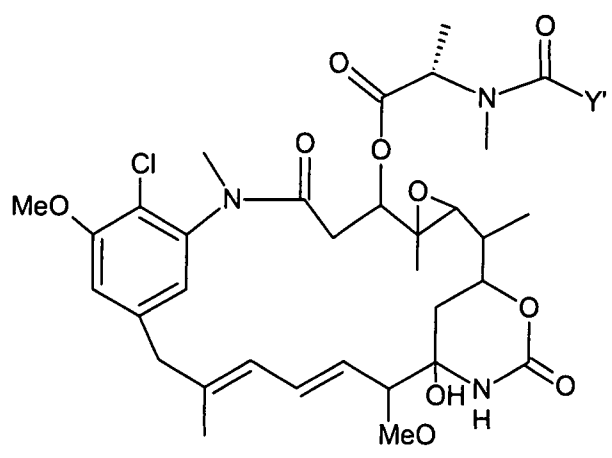


在另一實施例中，本發明之綴合物使用含有巰基之類美登素DM4作為細胞毒性劑，其正式稱為 $N^{2'}$ -脫乙醯- $N^{2'}$ -(4-甲基-4-巰基-1-側氧基戊基)-美登素。DM4由下列結構式(II)代表：



在本發明之另一實施例中，可以使用其他美登素，包括含有巰基及二硫之在攜帶硫原子之碳原子上攜帶單或二烷基取代基之類美登素。此等包括在C-3、C-14羥基甲基、C-15羥基或C-20脫甲基處具有用攜帶位阻硫氫基之醯基之經醯化胺基酸側鏈的類美登素，其中攜帶巰基官能基之醯基之碳原子具有一或兩個取代基，該等取代基為 CH_3 、 C_2H_5 、具有1至10個碳原子之直鏈或分支鏈烷基或烯基、具有3至10個碳原子之環狀烷基或烯基、苯基、取代之苯基或雜環芳族基團或雜環烷基，且進一步地其中一個取代基可為H，且其中該醯基在羰基官能基及硫原子之間具有至少三個碳原子之直鏈長度。

該等另外的美登素包括由式(III)所代表之化合物：



其中：

Y'代表

$$(CR_7R_8)_l(CR_9=CR_{10})_p(C\equiv C)_qA_r(CR_5R_6)_mD_u(CR_{11}=CR_{12})_r(C\equiv C)_sB_t(CR_3R_4)_nCR_1R_2SZ,$$

其中

R₁及R₂各自獨立地為CH₃、C₂H₅、具有1至10個碳原子之直鏈烷基或烯基、具有3至10個碳原子之分支鏈或環狀烷基或烯基、苯基、取代之苯基或雜環芳族基團或雜環烷基，且此外R₂可為H；

A、B、D為具有3-10個碳原子之環烷基或環烯基、簡單或取代之芳基或雜環芳族基團或雜環烷基；

R₃、R₄、R₅、R₆、R₇、R₈、R₉、R₁₀、R₁₁及R₁₂各自獨立地為H、CH₃、C₂H₅、具有1至10個碳原子之直鏈烷基或烯基、具有3至10個碳原子之分支鏈或環狀烷基或烯基、苯基、取代之苯基或雜環芳族基團或雜環烷基；

l、m、n、o、p、q、r、s及t各自獨立地為0或1至5之整數，條件為在任一時刻l、m、n、o、p、q、r、s及t中之至少兩個不為零；且

Z為H、SR或-COR，其中R為具有1至10個碳原子之直鏈烷基或烯基、具有3至10個碳原子之分支鏈或環狀烷基或烯基、或簡單或取代之芳基或雜環芳族基團或雜環烷基。

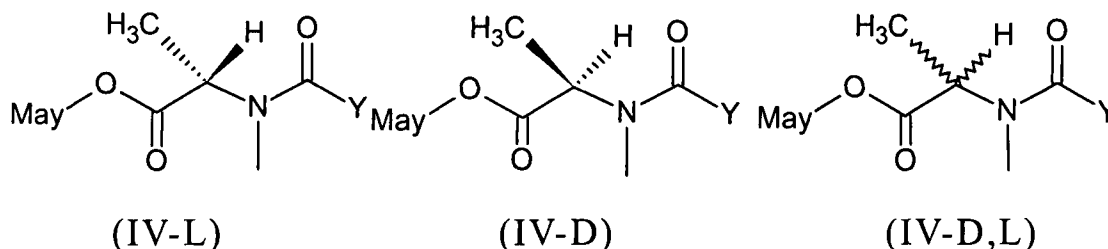
式(III)之較佳實施例包括式(III)之化合物，其中：

R_1 為甲基， R_2 為H且Z為H； R_1 及 R_2 為甲基且Z為H；

R_1 為甲基， R_2 為H且Z為 $-SCH_3$ ；

R_1 及 R_2 為甲基且Z為 $-SCH_3$ 。

該等另外的美登素亦包括式(IV-L)、(IV-D)或(IV-D,L)所代表之化合物：



其中：

Y代表 $(CR_7R_8)_l(CR_5R_6)_m(CR_3R_4)_nCR_1R_2SZ$ ，

其中：

R_1 及 R_2 各自獨立地為 CH_3 、 C_2H_5 、具有1至10個碳原子之直鏈烷基或烯基、具有3至10個碳原子之分支鏈或環狀烷基或烯基、苯基、取代之苯基或雜環芳族基團或雜環烷基，且此外 R_2 可為H；

R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 、 R_7 及 R_8 各自獨立地為H、 CH_3 、 C_2H_5 、具有1至10個碳原子之直鏈烷基或烯基、具有3至10個碳原子之分支鏈或環狀烷基或烯基、苯基、取代之苯基或雜環芳族基團或雜環烷基；

l、m及n各自獨立地為1至5之整數，且此外，n可為0；

Z為H、SR、 $-COR$ ，其中R為具有1至10個碳原子之直鏈或分支鏈烷基或烯基、具有3至10個碳原子之環狀烷基或烯基、或簡單或取代之芳基或雜環芳族基團或雜環基；且

May代表類美登素，其在C-3、C-14經甲基、C-15經基或C-20脫甲基處攜帶側鏈。

式(IV-L)、(IV-D)及(IV-D,L)之具體實施例包括式(IV-L)、(IV-D)及(IV-D,L)之化合物，其中：

R_1 為甲基， R_2 為H， R_5 、 R_6 、 R_7 及 R_8 各自為H， l 及 m 各自為1， n 為0，且Z為H；

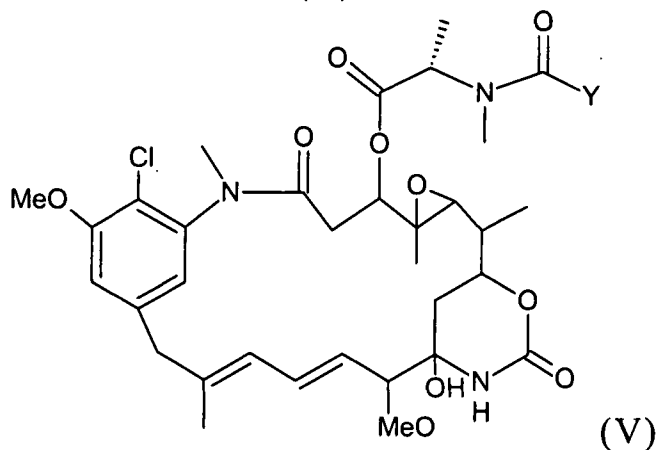
R_1 及 R_2 為甲基， R_5 、 R_6 、 R_7 及 R_8 各自為H， l 及 m 各自為1， n 為0，且Z為H；

R_1 為甲基， R_2 為H， R_5 、 R_6 、 R_7 及 R_8 各自為H， l 及 m 各自為1， n 為0，且Z為-SCH₃；

R_1 及 R_2 為甲基， R_5 、 R_6 、 R_7 及 R_8 各自為H， l 及 m 各自為1， n 為0，且Z為-SCH₃。

在一個實施例中，細胞毒性劑由式(IV-L)代表。

該等另外的美登素亦包括式(V)所代表之化合物：



其中：

Y代表 $(CR_7R_8)_l(CR_5R_6)_m(CR_3R_4)_nCR_1R_2SZ$ ，

其中：

R_1 及 R_2 各自獨立地為CH₃、C₂H₅、具有1至10個碳原子之直鏈烷基或烯基、具有3至10個碳原子之分支鏈或環狀烷基或烯基、苯基、取代之苯基或雜環芳族基團或雜環烷基，且此外 R_2 可為H；

R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 、 R_7 及 R_8 各自獨立地為H、CH₃、C₂H₅、具有1至10個碳原子之直鏈烷基或烯基、具有3至10個碳原子之分支鏈或環狀烷基或烯基、苯基、取代之苯基或雜環芳族基團或雜環烷基；

l 、 m 及 n 各自獨立地為1至5之整數，且此外 n 可為0；且

Z為H、SR或-COR，其中R為具有1至10個碳原子之直鏈烷基或烯基、具有3至10個碳原子之分支鏈或環狀烷基或烯基、或簡單或取代之芳基或雜環芳族基團或雜環烷基。

式(V)之具體實施例包括式(V)之化合物，其中：

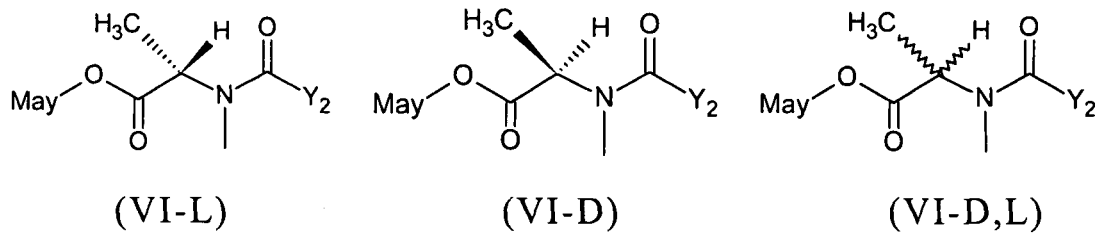
R_1 為甲基， R_2 為H， R_5 、 R_6 、 R_7 及 R_8 各自為H， l 及 m 各自為1， n 為0且Z為H；

R_1 及 R_2 為甲基， R_5 、 R_6 、 R_7 及 R_8 各自為H， l 及 m 為1， n 為0且Z為H；

R_1 為甲基， R_2 為H， R_5 、 R_6 、 R_7 及 R_8 各自為H， l 及 m 各自為1， n 為0且Z為-SCH₃；

R_1 及 R_2 為甲基， R_5 、 R_6 、 R_7 及 R_8 各自為H， l 及 m 為1， n 為0且Z為-SCH₃。

該等其他的美登素亦包括式(VI-L)、(VI-D)或(VI-D,L)所代表之化合物：



其中：

Y_2 代表 $(CR_7R_8)_l(CR_5R_6)_m(CR_3R_4)_nCR_1R_2SZ_2$ ，

其中：

R_1 及 R_2 各自獨立地為CH₃、C₂H₅、具有1至10個碳原子之直鏈烷基或烯基、具有3至10個碳原子之分支鏈或環狀烷基或烯基、苯基、取代之苯基或雜環芳族基團或雜環烷基，且此外 R_2 可為H；

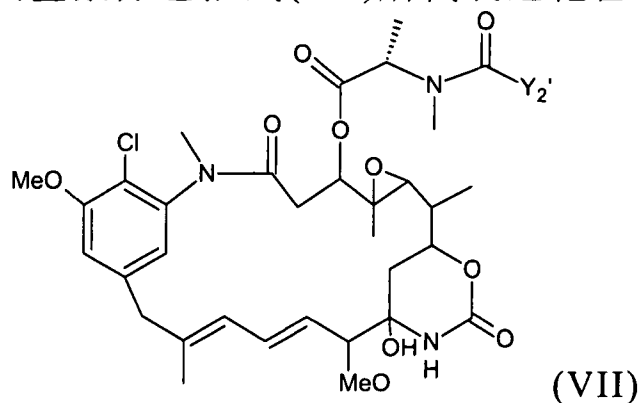
R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 、 R_7 及 R_8 各自獨立地為H、CH₃、C₂H₅、具有1至10個碳原子之直鏈烷基或烯基、具有3至10個碳原子之分支鏈或環狀烷基或烯基、苯基、取代之苯基或雜環芳族基團或雜環烷基；

1、m及n各自獨立地為1至5之整數，且此外n可為0；

Z_2 為SR或COR，其中R為1至10個碳原子之直鏈烷基或烯基、3至10個碳原子之分支鏈或環烷基或烯基、或簡單或取代之芳基或雜環芳族基團或雜環烷基；且

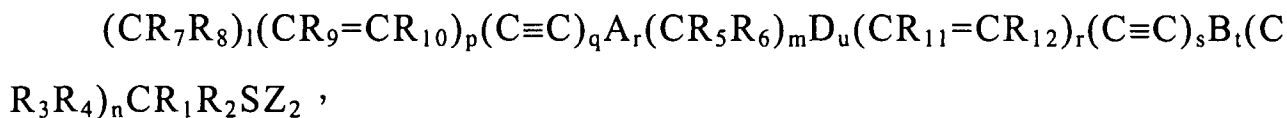
May為類美登素。

該等其他的美登素亦包括式(VII)所代表之化合物：



其中：

Y_2' 代表



其中：

R_1 及 R_2 各自獨立地為 CH_3 、 C_2H_5 、具有1至10個碳原子之直鏈烷基或烯基、具有3至10個碳原子之環狀烷基或烯基、苯基、取代之苯基或雜環芳族基團或雜環烷基，且此外 R_2 可為H；

A、B及D各自獨立地為具有3至10個碳原子之環烷基或環烯基、簡單或取代之芳基、或雜環芳族基團或雜環烷基；

R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 、 R_7 、 R_8 、 R_9 、 R_{10} 、 R_{11} 及 R_{12} 各自獨立地為H、 CH_3 、 C_2H_5 、具有1至10個碳原子之直鏈烷基或烯基、具有3至10個碳原子之分支鏈或環狀烷基或烯基、苯基、取代之苯基或雜環芳族基團或雜環烷基；

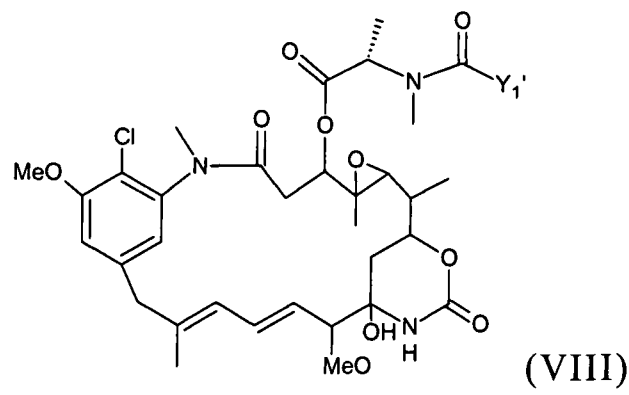
l 、 m 、 n 、 o 、 p 、 q 、 r 、 s 及 t 各自獨立地為0或1至5之整數，條件為在任一時刻 l 、 m 、 n 、 o 、 p 、 q 、 r 、 s 及 t 中之至少兩個不為零；且

Z_2 為SR或-COR，其中R為具有1至10個碳原子之直鏈烷基或烯基、具有3至10個碳原子之分支鏈或環狀烷基或烯基、或簡單之或取代之芳基或雜環芳族基團或雜環烷基。

式(VII)之具體實施例包括式(VII)之化合物，其中 R_1 為甲基，且 R_2 為H。

上述類美登素可以與上文「細胞結合劑」部分中所定義之細胞結合劑綴合，具體地為與包含序列SEQ ID NO: 9之重鏈及序列SEQ ID NO: 10之輕鏈之人類化抗體huDS6綴合，其中該細胞結合劑，具體地為包含序列SEQ ID NO: 9之重鏈及序列SEQ ID NO: 10之輕鏈之人類化huDS6抗體，使用存在於醯化之胺基酸鏈之醯基上的巰基或二硫官能基與類美登素連接，該醯化之胺基酸鏈在類美登素之C-3、C-14羥基甲基、C-15羥基或C-20脫甲基上發現，且其中醯化之胺基酸側鏈之醯基具有位於具有一或兩個取代基之碳原子上的其巰基或二硫化物官能基，該等取代基為 CH_3 、 C_2H_5 、具有1至10個碳原子之直鏈烷基或烯基、具有3至10個碳原子之分支鏈或環狀烷基或烯基、苯基、取代之苯基或雜環芳族基團或雜環烷基，且此外一個取代基可為H，且其中醯基在羰基官能基與硫原子之間具有至少三個碳原子之直鏈長度。

在本發明之一個實施例中，綴合物為與式(VIII)之類美登素綴合之綴合物，其包含上文「細胞結合劑」部分所定義之細胞結合劑，具體地為包含序列SEQ ID NO: 9之重鏈及序列SEQ ID NO: 10之輕鏈之人類化huDS6抗體：



其中：

Y_1' 代表

$(CR_7R_8)_l(CR_9=CR_{10})_p(C\equiv C)_qA_r(CR_5R_6)_mD_u(CR_{11}=CR_{12})_r(C\equiv C)_sB_t(CR_3R_4)_nCR_1R_2S-$ ，

其中

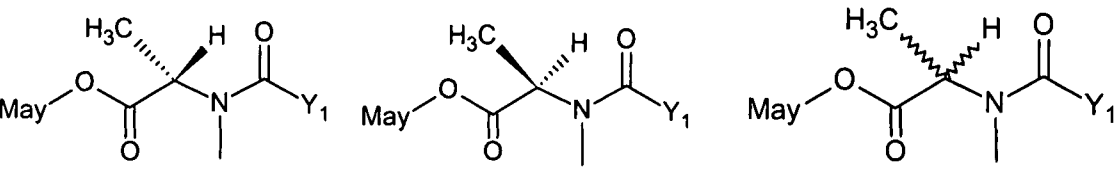
A、B及D各自獨立地為具有3-10個碳原子之環烷基或環烯基、簡單或取代之芳基、或雜環芳族基團或雜環烷基；

R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 、 R_7 、 R_8 、 R_9 、 R_{10} 、 R_{11} 及 R_{12} 各自獨立地為H、 CH_3 、 C_2H_5 、具有1至10個碳原子之直鏈烷基或烯基、具有3至10個碳原子之分支鏈或環狀烷基或烯基、苯基、取代之苯基或雜環芳族基團或雜環烷基；且

l 、 m 、 n 、 o 、 p 、 q 、 r 、 s 及 t 各自獨立地為0或1至5之整數，條件為在任一時刻 l 、 m 、 n 、 o 、 p 、 q 、 r 、 s 及 t 中之至少兩個不為零。

具體地， R_1 為甲基， R_2 為H，或 R_1 及 R_2 為甲基。

在本發明之另一實施例中，綴合物為與式(IX-L)、(IX-D)或(IX-D,L)之類美登素綴合之綴合物，其包含上文「細胞結合劑」部分所定義之細胞結合劑，具體地為包含序列SEQ ID NO: 9之重鏈及序列SEQ ID NO: 10之輕鏈的人類化huDS6抗體：



(IX-L) (IX-D) (IX-D,L)

其中：

Y₁代表(CR₇R₈)_l(CR₅R₆)_m(CR₃R₄)_nCR₁R₂S-，

其中

R₁及R₂各自獨立地為CH₃、C₂H₅、具有1至10個碳原子之直鏈烷基或烯基、具有3至10個碳原子之分支鏈或環狀烷基或烯基、苯基、取代之苯基、雜環芳族基團或雜環烯基，此外R₂可為H；

R₃、R₄、R₅、R₆、R₇及R₈各自獨立地為H、CH₃、C₂H₅、具有1至10個碳原子之直鏈烷基或烯基、具有3至10個碳原子之分支鏈或環狀烷基或烯基、苯基、取代之苯基或雜環芳族基團或雜環烷基；

l、m及n各自獨立地為1至5之整數，此外n可為0；且

May代表美登醇，其在C-3、C-14羥基甲基、C-15羥基或C-20脫甲基處攜帶側鏈。

式(IX-L)、(IX-D)及(IX-D,L)之具體實施例包括式(IX-L)、(IX-D)及(IX-D,L)之化合物，其中：

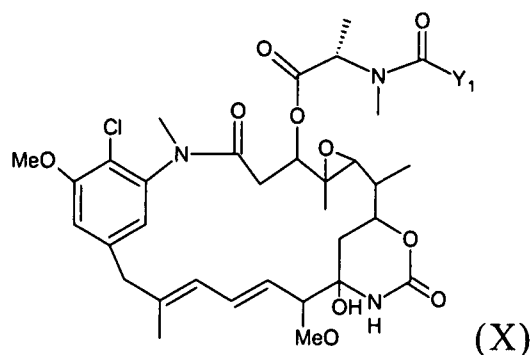
R₁為甲基且R₂為H，或R₁及R₂為甲基，

R₁為甲基，R₂為H，R₅、R₆、R₇及R₈各自為H，l及m各自為1，且n為0，

R₁及R₂為甲基，R₅、R₆、R₇及R₈各自為H，l及m各自為1，且n為0。

更具體地，細胞毒性劑由式(IX-L)代表。

在本發明之另一實施例中，綴合物為與式(X)之類美登素綴合之綴合物，其包含上文「細胞結合劑」部分所定義之細胞結合劑，具體地為包含序列SEQ ID NO: 9之重鏈及序列SEQ ID NO: 10之輕鏈之人類化huDS6抗體：



其中該等取代基如上文式(IX)所定義。

在另一實施例中，在上述化合物中， R_1 為H， R_2 為甲基， R_5 、 R_6 、 R_7 及 R_8 各自為H， l 及 m 各自為1，且 n 為0。

在另一實施例中，在上述化合物中， R_1 及 R_2 為甲基， R_5 、 R_6 、 R_7 及 R_8 各自為H， l 及 m 各自為1，且 n 為0。

此外，較佳為L-胺基醯基立體異構體。

2004年5月20日提交之美國專利申請案第10/849,136號中所教示之每個類美登素亦可用作本發明綴合物中之細胞毒性劑。

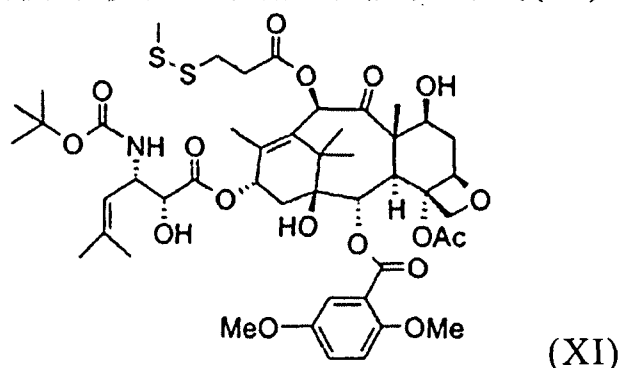
對於上文「細胞結合劑」部分所定義之細胞結合劑，具體地為抗體，與類美登素藥物之綴合物，可以評估其活體外抑制各種不需要之細胞株之增殖的能力。舉例而言，可以容易地使用細胞株，諸如人類表皮樣癌株A-431、人類小細胞肺癌細胞株SW2、人類乳房腫瘤株SKBR3及伯基特氏淋巴瘤(Burkitt's lymphoma)細胞株Namalwa，以供評估此等化合物之細胞毒性。可使所評估之細胞暴露於化合物24小時，且利用已知方法，用直接分析法量測細胞之存活分率。隨後可由分析之結果計算 IC_{50} 值。

按照本發明之綴合物中使用之細胞毒性劑亦可為紫杉烷或其衍生物。

紫杉烷為一族化合物，其包括廣泛用於癌症治療之兩種化合物：細胞毒性天然產物太平洋紫杉醇(泰素(taxol))及半合成之衍生物多西他賽(泰索帝(Taxotere))。紫杉烷為有絲分裂紡錘體毒素，其抑制

微管蛋白之解聚，導致細胞死亡。儘管多西他賽及太平洋紫杉醇為癌症治療之有效藥劑，但由於其針對正常細胞之非特異性毒性，其抗腫瘤活性受到限制。

在綴合物之製備中使用之具體紫杉烷為式(XI)之紫杉烷：



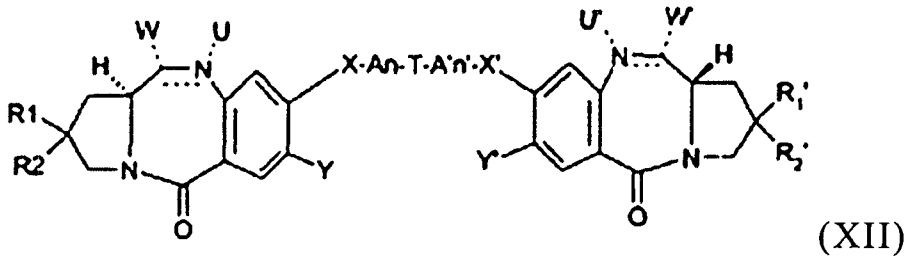
美國專利第 5,416,064 號、第 5,475,092 號、第 6,340,701 號、第 6,372,738 號及第 6,436,931 號以及美國申請案第 10/024,290 號、第 10/144,042 號、第 10/207,814 號、第 10/210,112 號及第 10/369,563 號，詳細描述合成可用於本發明之細胞毒性綴合物之紫杉烷的方法，以及使紫杉烷與上文「細胞結合劑」部分所定義之細胞結合劑綴合之方法，該細胞結合劑諸如包含序列 SEQ ID NO: 9 之重鏈及序列 SEQ ID NO: 10 之輕鏈的人類化 huDS6 抗體。

按照本發明之細胞毒性劑亦可為托馬黴素(tomaymycin)衍生物。托馬黴素衍生物為一類已知之化合物吡咯并[1,4]苯并二氮呋(PBD)，其藉由與 DNA 小溝中鳥嘌呤之 N2 共價結合，發揮其生物學特性。PBD 包括許多小溝結合劑，諸如安麴黴素(anthramycin)、新茴黴素(neothramycin)及 DC-81。

在國際申請案第 PCT/IB2007/000142 號中，描述新穎托馬黴素衍生物，其保持高細胞毒性並且可以有效地連接上文「細胞結合劑」部分所定義之細胞結合劑。細胞結合劑-托馬黴素衍生物複合物允許托馬黴素衍生物之全部程度之細胞毒性作用以靶向方式僅針對不需要之細胞，因此避免由於破壞非靶向健康細胞而產生之副作用。

按照本發明之細胞毒性劑可包含一或多種經由連接基團與上文「細胞結合劑」部分所定義之細胞結合劑連接之托馬黴素衍生物，該細胞結合劑諸如為包含序列SEQ ID NO: 9之重鏈及序列SEQ ID NO: 10之輕鏈的人類化huDS6抗體。連接基團為經由習知方法與托馬黴素衍生物共價結合之化學部分之一部分。在一具體實施例中，該化學部分可經由二硫鍵與托馬黴素衍生物共價結合。

本發明使用之托馬黴素衍生物具有如下所示之式(XII)：



其中

---代表視情況存在之單鍵；

====代表單鍵或雙鍵；

條件為，當====代表單鍵時，相同或不同之U及U'獨立地代表H，且相同或不同之W及W'獨立地選自由以下組成之群：OH；醚，諸如-OR；酯(諸如乙酸酯)，諸如-OCOR；碳酸酯，諸如-OCOOR；胺基甲酸酯，諸如-OCONRR'；環狀胺基甲酸酯，使得N10及C11為該環之一部分；脲，諸如-NRCONRR'；硫代胺基甲酸酯，諸如-OCSNHR；環狀硫代胺基甲酸酯，使得N10及C11為該環之一部分；-SH；硫化物，諸如-SR；亞砷，諸如-SOR；砷，諸如-SOOR；磺酸酯，諸如-SO3-；磺醯胺，諸如-NRSOOR；胺，諸如-NRR'；視情況選用之環狀胺，使得N10及C11為該環之一部分；羥基胺衍生物，諸如-NROR'；醯胺，諸如-NRCOR'；疊氮基，諸如-N3；氰基；鹵素；三烷基或三芳基磷；胺基酸衍生之基團。較佳地相同或不同之W及W'為OH、OMe、OEt、NHCONH₂、SMe；



當 $\equiv$ 代表雙鍵時，U及U'不存在，且W及W'代表H；

- R1、R2、R1'、R2'相同或不同，並且獨立地選自鹵化物或視情況經一或多個Hal、CN、NRR'、CF₃、OR、芳基、Het、S(O)_qR取代之烷基，或R1及R2以及R1'及R2'一起形成分別含有基團=B及=B'之雙鍵。

在一個實施例中，R1及R2以及R1'及R2'一起形成分別含有基團=B及=B'之雙鍵。

- B及B'相同或不同，並且獨立地選自視情況經一或多個Hal、CN、NRR'、CF₃、OR、芳基、Het、S(O)_qR取代之烯基，或B及B'代表氧原子。

在一個實施例中，B=B'。

在另一實施例中，B=B'=CH₂或CH-CH₃，

- X及X'相同或不同，並且獨立地選自一或多個-O-、-NR-、-(C=O)-、-S(O)_q-。

在一個實施例中，X=X'。

在另一實施例中，X=X'=O。

- A及A'相同或不同，並且獨立地選自視情況含有氧、氮或硫原子之烷基或烯基，各自視情況經一或多個Hal、CN、NRR'、CF₃、OR、S(O)_qR、芳基、Het、烷基、烯基取代。

在一個實施例中，A=A'。

在另一實施例中，A=A'=直鏈未取代之烷基。

- Y及Y'相同或不同，並且獨立地選自H、OR；

在一個實施例中，Y=Y'。

在另一實施例中，Y=Y'=O烷基，更佳為O甲基。

- T為-NR-、-O-、-S(O)_q-或4至10員芳基、環烷基、雜環或雜芳基，各自視情況經一或多個Hal、CN、NRR'、CF₃、R、OR、S(O)_qR

及/或連接基取代，或視情況經一或多個Hal、CN、NRR'、CF₃、OR、S(O)_qR及/或連接基取代之分支鏈烷基，或經一或多個Hal、CN、NRR'、CF₃、OR、S(O)_qR及/或連接基取代之直鏈烷基。

在一個實施例中，T為4至10員芳基或雜芳基，更佳地為視情況經一或多個連接基取代之苯基或吡啶基。

該連接基包含連接基團。適合之連接基團為此項技術中熟知的，並且包括巰基、硫化物、二硫化物基團、硫醚基團、酸不穩定基團、光不穩定基團、肽酶不穩定基團及酯酶不穩定基團。較佳為二硫化物基團及硫醚基團。

當連接基團為含有巰基-、硫化物(或所謂的硫醚-S-)或二硫化物(-S-S-)之基團時，攜帶巰基、硫化物或二硫化物基團之側鏈可為直鏈或分支鏈、芳族或雜環側鏈。一般技術者可以容易地鑑定適合之側鏈。

在一個實施例中，該連接基為式-G-D-(Z)P-S-Z'之連接基
其中

G為單或雙鍵、-O-、-S-或-NR-；

D為單鍵或-E-、-E-NR-、-E-NR-F-、-E-O-、-E-O-F-、-E-NR-CO-、-E-NR-CO-F-、-E-CO-、-CO-E-、-E-CO-F-、-E-S-、-E-S-F-、-E-NR-C-S-、-E-NR-CS-F-；

其中，E及F可以相同或不同，並且獨立地選自直鏈或分支鏈-(OCH₂CH₂)_i烷基(OCH₂CH₂)_j-、-烷基(OCH₂CH₂)_i-烷基-、-(OCH₂CH₂)_i-、-(OCH₂CH₂)_i環烷基(OCH₂CH₂)_j-、-(OCH₂CH₂)_i雜環(OCH₂CH₂)_j-、-(OCH₂CH₂)_i芳基(OCH₂CH₂)_j-、-(OCH₂CH₂)_i雜芳基(OCH₂CH₂)_j-、-烷基-(OCH₂CH₂)_i烷基(OCH₂CH₂)_j-、-烷基-(OCH₂CH₂)_i-、-烷基-(OCH₂CH₂)_i環烷基(OCH₂CH₂)_j-、-烷基(OCH₂CH₂)_i雜環(OCH₂CH₂)_j-、-烷基-(OCH₂CH₂)_i芳基(OCH₂CH₂)_j-、-烷基(OCH₂CH₂)_i雜芳基

$(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_j$ -、-環烷基-烷基-、-烷基-環烷基-、-雜環-烷基-、-烷基-雜環-、-烷基-芳基-、-芳基-烷基-、-烷基-雜芳基-、-雜芳基-烷基-；

其中相同或不同之 i 及 j 為整數，並且獨立地選自0、1至2000；

Z 為直鏈或分支鏈-烷基-；

p 為0或1；

Z' 代表H、巰基保護基，諸如COR、 R_{20} 或 SR_{20} ，其中 R_{20} 代表H、甲基、烷基、視情況經取代之環烷基、芳基、雜芳基或雜環，條件為，當 Z' 為H時，該化合物與藉由分子內部環化所形成之相應化合物保持平衡狀態，該分子內部環化係由於在一個PBD部分之亞胺鍵-NH=上加成巰基-SH而引起的。

- 相同或不同的 n 、 n' 為0或1。

- q 為0、1或2。

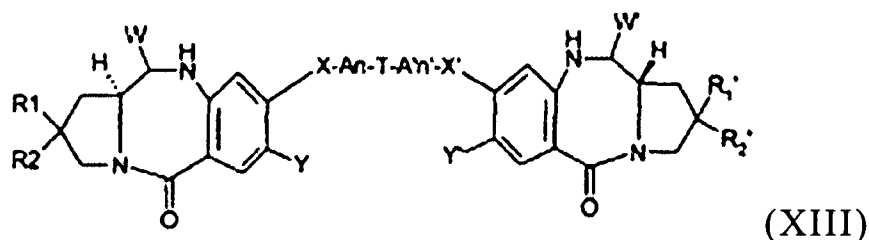
- R 及 R' 相同或不同，並且獨立地選自H、烷基、芳基，各自視情況經Hal、CN、 NRR' 、 CF_3 、 R 、OR、 $\text{S}(\text{O})_qR$ 、芳基、Het取代。

或其醫藥學上可接受之鹽、水合物或水合鹽，或此等化合物之多晶型結晶結構或其光學異構體、外消旋體、非對映異構體或對映異構體。

具有幾何及立體異構體之通式(XII)之化合物亦為本發明之一部分。

已知在水、醇、硫醇(thiol)、一級胺或二級胺、脲及其他親核試劑之存在下，式(XII)之托馬黴素衍生物之N-10、C-11雙鍵容易以可逆方式轉化為相應的亞胺加合物。此過程為可逆性的，並且在脫水劑之存在下，在非質子有機溶劑中，在真空或高溫下，可以容易地再生為相應的托馬黴素衍生物(Tozuka (1983) *J. Antibiotics* 36:276)。

因此，本發明亦可使用通式(XIII)之托馬黴素衍生物之可逆性衍生物：



其中A、X、Y、n、T、A'、X'、Y'、n'、R1、R2、R1'、R2'如式(XII)所定義，且W及W'可以相同或不同，並且選自由以下組成之群：OH；醚，諸如-OR；酯(諸如乙酸酯)，諸如-OCOR、-COOR；碳酸酯，諸如-OCOOR；胺基甲酸酯，諸如-OCONRR'；環狀胺基甲酸酯，使得N10及C11為該環之一部分；脲，諸如-NRCONRR'；硫代胺基甲酸酯，諸如-OCSNHR；環狀硫代胺基甲酸酯，使得N10及C11為該環之一部分；-SH；硫化物，諸如-SR；亞磺，諸如-SOR；磺，諸如-SOOR；磺酸酯，諸如-SO₃-；磺醯胺，諸如-NRSOOR；胺，諸如-NRR'；視情況選用之環胺，使得N10及C11為該環之一部分；羥基胺衍生物，諸如-NROR'；醯胺，諸如-NRCOR、-NRCONRR'；疊氮基，諸如-N₃；氰基；鹵素；三烷基或三芳基磷；胺基酸衍生之基團。較佳地W及W'相同或不同，並且為OH、OMe、OEt、NHCONH₂、SMe。

因此，當溶劑為水時，可認為式(XIII)之化合物為包括水之溶劑合物；此等溶劑合物可尤其適用。

在另一實施例中，本發明之托馬黴素衍生物係選自由以下組成之群：

- 8,8'-[1,3-苯二基雙(亞甲基氧基)]-雙[(S)-2-乙-(E)-亞基-7-甲氧基-1,2,3,11a-四氫-5H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮呋-5-酮]
- 8,8'-[5-甲氧基-1,3-苯二基雙(亞甲基氧基)]-雙[(S)-2-乙-(E)-亞基-7-甲氧基-1,2,3,11a-四氫-5H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮呋-5-酮]
- 8,8'-[1,5-戊二基雙(氧基)]-雙[(S)-2-乙-(E)-亞基-7-甲氧基-

1,2,3,11a-四氫-5H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮呋-5-酮]

- 8,8'-[1,4-丁二基雙(氧基)]-雙[(S)-2-乙-(E)-亞基-7-甲氧基-

1,2,3,11a-四氫-5H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮呋-5-酮]

- 8,8'-[3-甲基-1,5-戊二基雙(氧基)]-雙[(S)-2-乙-(E)-亞基-7-甲氧基-1,2,3,11a-四氫-5H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮呋-5-酮]

- 8,8'-[2,6-吡啶二基雙(氧基)]-雙[(S)-2-乙-(E)-亞基-7-甲氧基-1,2,3,11a-四氫-5H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮呋-5-酮]

- 8,8'-[4-(3-第三丁氧基羰基胺基丙氧基)-2,6-吡啶二基雙-(亞甲基氧基)]-雙[(S)-2-乙-(E)-亞基-7-甲氧基-1,2,3,11a-四氫-5H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮呋-5-酮]

- 8,8'-[5-(3-胺基丙氧基)-1,3-苯二基雙(亞甲基氧基)]-雙[(S)-2-乙-(E)-亞基-7-甲氧基-1,2,3,11a-四氫-5H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮呋-5-酮]

- 8,8'-[5-(N-甲基-3-第三丁氧基羰基胺基丙基)-1,3-苯二基雙-(亞甲基氧基)]-雙[(S)-2-乙-(E)-亞基-7-甲氧基-1,2,3,11a-四氫-5H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮呋-5-酮]

- 8,8'-{5-[3-(4-甲基-4-甲基二硫基-戊醯基胺基)丙氧基]-1,3-苯二基雙(亞甲基氧基)}-雙[(S)-2-乙-(E)-亞基-7-甲氧基-1,2,3,11a-四氫-5H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮呋-5-酮]

- 8,8'-[5-乙醯基硫甲基-1,3-苯二基雙(亞甲基氧基)]-雙[(S)-2-亞甲基-7-甲氧基-1,2,3,11a-四氫-5H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮呋-5-酮]

- 雙-{2-[(S)-2-亞甲基-7-甲氧基-5-側氧基-1,3,11a-四氫-5H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮呋-8-基氧基]-乙基}-胺基甲酸第三丁基酯

- 8,8'-[3-(2-乙醯基硫乙基)-1,5-戊二基雙(氧基)]-雙[(S)-2-亞甲基-7-甲氧基-1,2,3,11a-四氫-5H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮呋-5-酮]

- 8,8'-[5-(N-4-巰基-4,4-二甲基丁醯基)胺基-1,3-苯二基雙(亞甲基

氧基))-雙[7-甲氧基-2-亞甲基-1,2,3,11a-四氫-5H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮呋-5-酮]

- 8,8'-[5-(N-4-甲基二硫-4,4-二甲基丁醯基)-胺基-1,3-苯二基雙(亞甲基氧基))-雙[7-甲氧基-2-亞甲基-1,2,3,11a-四氫-5H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮呋-5-酮]

- 8,8'-[5-(N-甲基-N-(2-巰基-2,2-二甲基乙基)胺基-1,3-苯二基(亞甲基氧基))-雙[7-甲氧基-2-亞甲基-1,2,3,11a-四氫-5H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮呋-5-酮]

- 8,8'-[5-(N-甲基-N-(2-甲基二硫-2,2-二甲基乙基)胺基-1,3-苯二基(亞甲基氧基))-雙[7-甲氧基-2-亞甲基-1,2,3,11a-四氫-5H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮呋-5-酮]

- 8,8'-[(4-(2-(4-巰基-4-甲基)-戊醯胺基-乙氧基)-吡啶-2,6-二甲基)-二氧基]-雙[(S)-2-乙-(E)-亞基-7-二甲氧基-1,2,3,11a-四氫-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮呋-5-酮]

- 8,8'-[(1-(2-(4-甲基-4-甲基二硫基)-戊醯胺基-乙氧基)-苯-3,5-二甲基)-二氧基]-雙[(S)-2-乙-(E)-亞基-7-二甲氧基-1,2,3,11a-四氫-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮呋-5-酮]

- 8,8'-[(4-(3-(4-甲基-4-甲基二硫基)-戊醯胺基-丙氧基)-吡啶-2,6-二甲基)-二氧基]-雙[(S)-2-乙-(E)-亞基-7-二甲氧基-1,2,3,11a-四氫-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮呋-5-酮]

- 8,8'-[(4-(4-(4-甲基-4-甲基二硫基)-戊醯胺基-丁氧基)-吡啶-2,6-二甲基)-二氧基]-雙[(S)-2-乙-(E)-亞基-7-二甲氧基-1,2,3,11a-四氫-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮呋-5-酮]

- 8,8'-[(4-(3-[4-(4-甲基-4-甲基二硫基)-戊醯基)-哌嗪-1-基]-丙基)-吡啶-2,6-二甲基)-二氧基]-雙[(S)-2-乙-(E)-亞基-7-二甲氧基-1,2,3,11a-四氫-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮呋-5-酮]

• 8,8'-[(1-(3-[4-(4-甲基-4-甲基二硫基-戊醯基)-哌嗪-1-基]-丙基)-苯-3,5-二甲基)-二氧基]-雙[(S)-2-乙-(E)-亞基-7-二甲氧基-1,2,3,11a-四氫-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮呋-5-酮]

• 8,8'-[(4-(2-{2-[2-(4-甲基-4-甲基二硫基-戊醯基胺基)-乙氧基]-乙氧基}-乙氧基)-吡啶-2,6-二甲基)-二氧基]-雙[(S)-2-乙-(E)-亞基-7-二甲氧基-1,2,3,11a-四氫-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮呋-5-酮]

• 8,8'-[(1-(2-{2-[2-(2-{2-[2-(4-甲基-4-甲基二硫基-戊醯基胺基)-乙氧基]-乙氧基}-乙氧基)-乙氧基]-乙氧基}-乙氧基)-苯-3,5-二甲基)-二氧基]-雙[(S)-2-乙-(E)-亞基-7-二甲氧基-1,2,3,11a-四氫-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮呋-5-酮]

• 8,8'-[(1-(2-{2-[2-(4-甲基-4-甲基二硫基-戊醯基胺基)-乙氧基]-乙氧基}-乙氧基)-苯-3,5-二甲基)-二氧基]-雙[(S)-2-乙-(E)-亞基-7-二甲氧基-1,2,3,11a-四氫-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮呋-5-酮]

• 8,8'-[(4-(2-{2-[2-(2-{2-[2-(4-甲基-4-甲基二硫基-戊醯基胺基)-乙氧基]-乙氧基}-乙氧基)-乙氧基]-乙氧基}-乙氧基)-吡啶-2,6-二甲基)-二氧基]-雙[(S)-2-乙-(E)-亞基-7-二甲氧基-1,2,3,11a-四氫-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮呋-5-酮]

• 8,8'-[(1-(2-[甲基-(2-甲基-2-甲基二硫基-丙基)-胺基]-乙氧基)-苯-3,5-二甲基)-二氧基]-雙[(S)-2-乙-(E)-亞基-7-二甲氧基-1,2,3,11a-四氫-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮呋-5-酮]

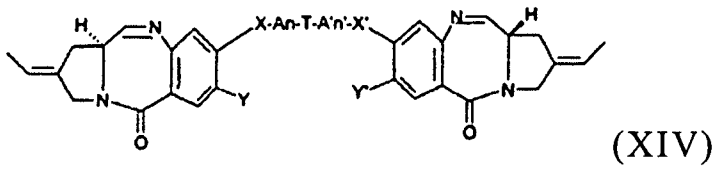
• 8,8'-[(4-(3-[甲基-(4-甲基-4-甲基二硫基-戊醯基)-胺基]-丙基)-吡啶-2,6-二甲基)-二氧基]-雙[(S)-2-乙-(E)-亞基-7-二甲氧基-1,2,3,11a-四氫-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮呋-5-酮]

• 8,8'-[(4-(3-[甲基-(2-甲基-2-甲基二硫基-丙基)-胺基]-丙基)-吡啶-2,6-二甲基)-二氧基]-雙[(S)-2-乙-(E)-亞基-7-二甲氧基-1,2,3,11a-四氫-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮呋-5-酮]

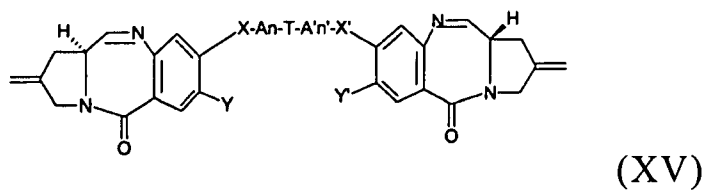
● 8,8'-[(1-(4-甲基-4-甲基二硫基)-戊醯胺基)-苯-3,5-二甲基]-二氧基]-雙[(S)-2-乙-(E)-亞基-7-二甲氧基-1,2,3,11a-四氫-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮呋-5-酮]

以及相應的巯基衍生物，或其醫藥學上可接受之鹽、水合物或水合鹽，或此等化合物之多晶型結晶結構或其光學異構體、外消旋體、非對映異構體以及對映異構體。

具體化合物為式(XIV)或(XV)之化合物：



或



其中，X、X'、A、A'、Y、Y'、T、n、n'如式(XII)所定義。

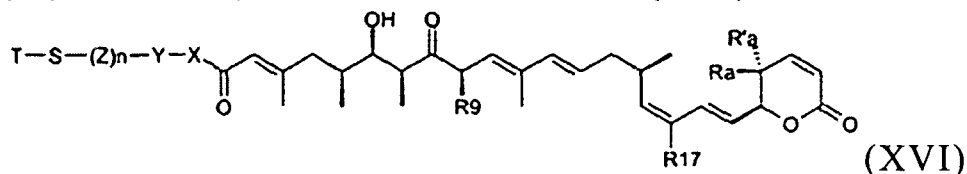
式(XII)之化合物可以熟習此項技術者熟知之許多方法製備。可以合成該等化合物，例如，應用或適應下述方法，或技術人員所瞭解之其變化形式。對於熟習此項技術者而言，適當修飾及取代為顯而易見且熟知的，或可容易自科學文獻獲得。具體地，該等方法可在下列文獻中找到：R.C. Larock, *Comprehensive Organic Transformations*, Wiley-VCH Publishers, 1999。

國際申請案第PCT/IB2007/000142號描述合成可用於本發明之托馬黴素衍生物之方法。本發明之化合物可利用各種合成路線製備。試劑及起始物質為市售的，或容易由一般技術者利用熟知之技術合成(參見，例如 WO00/12508、WO00/12507、WO2005/040170、WO2005/085260、FR1516743，Mori等人 (1986) *Tetrahedron* **42**:3793-3806)。

按照本發明之細胞毒性劑亦可為來普黴素衍生物。

按照本發明，「來普黴素衍生物」係指 Kalesse 等人 (2002) *Synthesis* 8: 981-1003 所定義之來普黴素家族之成員，並且包括：來普黴素，諸如來普黴素 A 及來普黴素 B，海綿多聚乙醯(callystatin)，拉加酮(ratjadone)，諸如拉加酮 A 及拉加酮 B，似蛇黴素(anguinomycin)，諸如似蛇黴素 A、B、C、D，上總黴素(kasusamycin)、來普托他汀(leptolstatin)、來普託福拉寧(leptofuranin)，諸如來普託福拉寧 A、B、C、D。較佳為來普黴素 A 及 B 之衍生物。

更具體地，來普黴素衍生物可為式(XVI)之化合物：



其中

Ra及Ra'為H或-Alk；較佳Ra為-Alk，較佳為甲基，且Ra'為H；

R17為視情況經OR、CN、NRR'、全氟烷基取代之烷基；較佳地，R17為烷基，更佳為甲基或乙基；

R9為視情況經OR、CN、NRR'、全氟烷基取代之烷基；較佳地，R9為烷基，更佳為甲基；

X為-O-或-NR-；較佳地，X為-NR-；

Y為-U-、-NR-U-、-O-U-、-NR-CO-U-、-U-NR-CO-、-U-CO-、-CO-U-；

較佳地，當X為-O-時，Y為-U-、-NR-U-、-U-NR-CO-；

其中，U係選自直鏈或分支鏈-Alk-、-Alk(OCH₂CH₂)_m-、-(OCH₂CH₂)_m-Alk-、-Alk(OCH₂CH₂)_m-Alk-、-(OCH₂CH₂)_m-、-環烷基-、-雜環-、-環烷基-Alk-、-Alk-環烷基-、-雜環-Alk-、-Alk-雜環-；

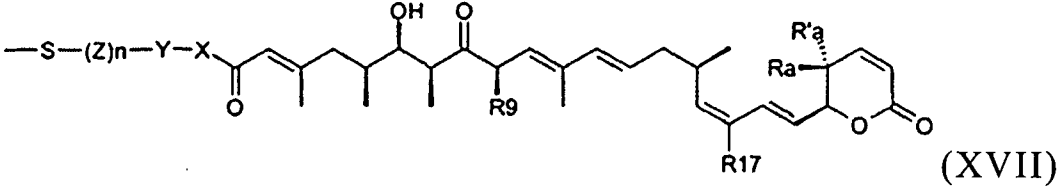
其中， m 為選自1至2000之整數；

較佳地， U 為直鏈或分支鏈-Alk-，

Z 為-Alk-；

n 為0或1；較佳地， n 為0；

T 代表H、巯基保護基，諸如Ac、 R_1 或 SR_1 ，其中 R_1 代表H、甲基、Alk、環烷基、視情況經取代之芳基或雜環，或 T 代表



其中：

R_a 、 $R_{a'}$ 、 R_{17} 、 R_9 、 X 、 Y 、 Z 、 n 如上文所定義；

較佳地， T 為H或 SR_1 ，其中 R_1 代表Alk，更佳為甲基；

相同或不同之 R 及 R' 為H或烷基；

Alk代表直鏈或分支鏈烷基；較佳Alk代表 $-(CH_2-q(CH_3)_q)_p-$ ，其中 p 代表1至10之整數，且 q 代表0至2之整數；較佳Alk代表 $-(CH_2)-$ 或 $-C(CH_3)_2-$ 。

或其醫藥學上可接受之鹽、水合物或水合鹽，或此等化合物之多晶型結晶結構或其光學異構體、外消旋體、非對映異構體或對映異構體。

具體化合物可選自：

- (2E,10E,12E,16Z,18E)-(R)-6-羥基-3,5,7,9,11,15,17-七甲基-19-((2S,3S)-3-甲基-6-側氧基-3,6-二氫-2H-吡喃-2-基)-8-側氧基-十九-2,10,12,16,18-五烯酸之(2-甲基硫基-乙基)-醯胺(amid)
- (2E,10E,12E,16Z,18E)-(R)-6-羥基-3,5,7,9,11,15,17-七甲基-19-((2S,3S)-3-甲基-6-側氧基-3,6-二氫-2H-吡喃-2-基)-8-側氧基-十九-2,10,12,16,18-五烯酸]之雙-[(2-巯基乙基)-醯胺

- (2E,10E,12E,16Z,18E)-(R)-6-羥基-3,5,7,9,11,15,17-七甲基-19-((2S,3S)-3-甲基-6-側氧基-3,6-二氫-2H-哌喃-2-基)-8-側氧基-十九-2,10,12,16,18-五烯酸之(2-巰基-乙基)-醯胺

- (2E,10E,12E,16Z,18E)-(R)-6-羥基-3,5,7,9,11,15,17-七甲基-19-((2S,3S)-3-甲基-6-側氧基-3,6-二氫-2H-哌喃-2-基)-8-側氧基-十九-2,10,12,16,18-五烯酸之(2-甲基二巰基-乙基)-醯胺

- (2E,10E,12E,16Z,18E)-(R)-6-羥基-3,5,7,9,11,15,17-七甲基-19-((2S,3S)-3-甲基-6-側氧基-3,6-二氫-2H-哌喃-2-基)-8-側氧基-十九-2,10,12,16,18-五烯酸之(2-甲基-2-甲基二巰基-丙基)-醯胺

- (2E,10E,12E,16Z,18E)-(R)-6-羥基-3,5,7,9,11,15,17-七甲基-19-((2S,3S)-3-甲基-6-側氧基-3,6-二氫-2H-哌喃-2-基)-8-側氧基-十九-2,10,12,16,18-五烯酸之(2-巰基-2-甲基-丙基)-醯胺

或其醫藥學上可接受之鹽、水合物或水合鹽，或此等化合物之多晶型結晶結構或其光學異構體、外消旋體、非對映異構體或對映異構體。

為了使衍生物與上文「細胞結合劑」部分所定義之細胞結合劑連接，衍生物必須包括使得衍生物經由鍵聯與細胞結合劑連接之部分(連接基團)，該鍵聯諸如二硫鍵、硫化物(或本文稱為硫醚)鍵、酸不穩定基團、光不穩定基團、肽酶不穩定基團或酯酶不穩定基團。製備衍生物使得其含有來普黴素衍生物與細胞結合劑經由例如二硫鍵、硫醚鍵、酸不穩定基團、光不穩定基團、肽酶不穩定基團或酯酶不穩定基團連接所必需之部分。為了進一步提高在水溶液中之溶解度，連接基團可含有聚乙二醇間隔基。在一實施例中，因為目標細胞之還原環境導致硫化物或二硫化物之裂解，並且釋放相關細胞毒性增大之衍生物，所以使用硫化物或二硫化物連接。

本發明之化合物可以利用多種合成路線製備。試劑及起始物質

為市售的，或容易由一般技術者利用熟知之技術合成。歐洲專利申請案第06290948.6號中詳細描述合成可用於本發明之細胞毒性綴合物之來普黴素衍生物之方法，以及使該等來普黴素衍生物與細胞結合劑(諸如抗體)綴合之方法。

在按照本發明之細胞毒性綴合物中使用之細胞毒性劑亦可為CC-1065或其衍生物。

CC-1065為自澤耳鏈黴菌(*Streptomyces zelensis*)之培養肉湯中分離之強力抗腫瘤抗生素。與常用的抗癌藥物(諸如多柔比星、甲胺喋呤及長春新鹼)相比，CC-1065在活體外更強力約1000倍(Bhuyan等人 (1982) *Cancer Res.* **42**:3532-3537)。CC-1065及其之類似物揭示在美國專利第6,372,738號、第6,340,701號、第5,846,545號及第5,585,499號中。

CC-1065之細胞毒性效能與其烷基化活性及其DNA結合或DNA嵌入活性相關。此兩種活性存在於分子之分離部分中。因此，烷基化活性含在環丙基吡咯并吡啶(CPI)次單位中，而DNA結合活性存在於兩個吡咯并吡啶次單位中。

雖然CC-1065作為細胞毒性劑具有某些誘人之特徵，但其在治療使用方面具有侷限性。投與小鼠CC-1065引起在靜脈內投與12.5 µg/kg之單劑量後50天導致死亡之遲發型肝臟毒性(Reynolds等人 (1986) *J. Antibiotics* **XXIX**: 319-334)。此情況已促使努力開發不會導致遲發毒性之類似物，且已描述仿製CC-1065之更簡單之類似物之合成(Warpehoski等人 (1988) *J. Med. Chem.* **31**: 590-603)。

在另一系列之類似物中，CPI部分經環丙基苯并吡啶(CBI)部分替代(Boger等人 (1990) *J. Org. Chem.* **55**: 5823-5833；Boger等人 (1991) *BioOrg. Med. Chem. Lett.* **1**: 115-120)。此等化合物保持較高母體藥物之活體外效能，且不在小鼠中導致遲發毒性。如CC-1065一般，此等

化合物為以共價方式與DNA之小溝結合導致細胞死亡之烷基化劑。然而，最有前途之類似物阿多來新(Adozelesin)及卡折來新(Carzelesin)之臨床評估的結果令人失望(Foster等人 (1996) *Investigational New Drugs* 13: 321-326；Wolff等人 (1996) *Clin. Cancer Res.* 2: 1717-1723)。由於具有較高全身毒性，此等藥物展現出較差治療效果。

藉由經靶向傳遞至腫瘤部位而改變活體內分佈，使得對非靶向組織之毒性降低，並由此降低全身毒性，可以極大地改善CC-1065類似物之治療效能。為了達成此目標，已經描述CC-1065之類似物及衍生物與特異性靶向腫瘤細胞之細胞結合劑之綴合物(美國專利 5,475,092、5,585,499、5,846,545)。在小鼠之人類腫瘤異種移植模型中，此等綴合物通常展現較高活體外目標特異性細胞毒性，以及突出的抗腫瘤活性(Chari等人 (1995) *Cancer Res.* 55: 4079-4084)。

近來，已經描述在水性介質中具有增加之溶解度之CC-1065類似物之前藥(歐洲專利申請案第06290379.4號)。在此等前藥中，用官能基保護分子之烷基化部分之酚基，相比於未保護之類似物，該官能基使得藥物在酸性水溶液中儲存時穩定，並且使藥物之水溶性提高。在生理學pH值下，保護基在活體內容易裂解，得到相應的活性藥物。在EP 06290379.4描述之前藥中，將酚取代基保護為含有胺基甲酸苯酯之磺酸形式，其在生理學pH值下帶有電荷，並由此具有增強的水溶性。為了進一步增強水溶性，可以將視情況選用之聚乙二醇間隔基引入至吡啶基次單位及可裂解的鍵聯(諸如二硫基)之間的連接基中。引入此間隔基不會改變藥物之效能。

EP 06290379.4及美國專利第5,475,092號、第5,846,545號、第5,585,499號、第6,534,660號及第6,586,618號以及美國申請案第10/116,053號及第10/265,452號中詳細描述可用於本發明之細胞毒性綴合物之CC-1065類似物之合成方法，以及使該等類似物與細胞結合

劑(諸如抗體)綴合之方法。

藥物，諸如甲胺喋呤、柔紅黴素、多柔比星、長春新鹼、長春鹼、美法侖、絲裂黴素C、苯丁酸氮芥、卡奇黴素(calicheamicin)、土布來星(tubulysin)及土布來星類似物、多卡米星(duocarmycin)及多卡米星類似物、多拉司他汀(dolastatin)及多拉司他汀類似物，亦適合於本發明之綴合物製劑。藥物分子亦可以經由中間載體分子(諸如血清白蛋白)連接抗體分子。諸如美國專利第6,630,579號所描述之多薩魯比星(Doxarubicin)及多諾魯比星(Danorubicin)化合物，亦可為有用的細胞毒性劑。

在本發明之一具體實施例中，至少一種細胞毒性劑為式(I)之美登素DM1。在本發明之另一具體實施例中，至少一種細胞毒性劑為式(II)之美登素DM4。

此等細胞毒性劑與本文揭示之細胞結合劑、抗體、抗體之抗原決定基結合片段綴合。

連接基

本文使用之「**連接基**」係指包含使多肽與藥物部分共價連接之共價鍵或原子鏈之化學部分。

可利用活體外方法製備綴合物。為了使藥物或前藥與細胞結合劑連接，具體地為與抗體連接，可使用連接基團。適合之連接基團為此項技術中熟知的，並且包括二硫化物基團、硫醚基團、酸不穩定基團、光不穩定基團、肽酶不穩定基團及酯酶不穩定基團。

如上文「**細胞結合劑**」部分所定義之細胞結合劑，具體地為本發明之抗體，與上文「**細胞毒性劑**」部分所定義之細胞毒性劑之綴合，可使用多種雙功能蛋白偶合劑進行，其包括但不限於：吡啶基二硫基丁酸N-丁二醯亞胺酯(SPDB)、丁酸4-[(5-硝基-2-吡啶基)二硫基]-2,5-二側氧基-1-吡咯啶酯(硝基-SPDB)、4-(吡啶-2-基二硫基)-2-磺基-

丁酸(磺基-SPDB)、(2-吡啶基二硫基)丙酸*N*-丁二醯亞胺酯(SPDP)、(*N*-順丁烯二醯亞胺基甲基)環己烷-1-甲酸丁二醯亞胺酯(SMCC)、亞胺基硫雜環戊烷(IT)、亞胺酸酯之雙功能衍生物(諸如己二亞胺酸二甲酯鹽酸鹽)、活性酯(諸如辛二酸二丁二醯亞胺酯)、醛(諸如戊二醛)、雙疊氮基化合物(諸如雙-(對疊氮基苯甲醯基)-己二胺)、雙重氮衍生物(諸如雙-(對重氮苯甲醯基)-乙二胺)、二異氰酸酯(諸如甲苯2,6-二異氰酸酯)及雙-活性氟化合物(諸如1,5-二氟-2,4-二硝基苯)。

在一具體實施例中，該連接基係選自由以下組成之群：吡啶基二硫基丁酸*N*-丁二醯亞胺酯(SPDB)、4-(吡啶-2-基二硫基)-2-磺基-丁酸(磺基-SPDB)及(*N*-順丁烯二醯亞胺基甲基)環己烷-1-甲酸丁二醯亞胺酯(SMCC)。

本發明之綴合物之細胞結合劑可以經由可裂解的或非可裂解的連接基與至少一種細胞毒性劑共價連接。

連接基可為促進細胞毒性劑在細胞中釋放之「可裂解的連接基」。舉例而言，可以使用酸不穩定連接基、肽酶敏感性連接基、酯酶不穩定連接基、光不穩定連接基或含有二硫化物之連接基(參見例如，美國專利第5,208,020號)。連接基亦可為「非可裂解的連接基」(例如SMCC連接基)，其在某些情況下可導致更好的耐受性。

可替換地，可藉由重組技術或肽合成，製備包含上文「細胞結合劑」部分所定義之本發明之細胞結合劑(具體地為抗體)及細胞毒性多肽之融合蛋白。DNA之長度可包含編碼彼此鄰近的或由編碼連接基肽之區域所分開之綴合物的兩個部分的相應區域，該連接基肽不會破壞綴合物之所需綴合物特性。

本發明之細胞結合劑(具體地為抗體)亦可藉由使多肽與前藥活化酶綴合而用於依賴性酶介導之前藥療法，該前藥活化酶使前藥(例如肽基化學治療劑，參見WO81/01145)轉化為活性抗癌藥物(參見例如，

WO88/07378及美國專利第4,975,278號)。用於ADEPT之免疫綴合物之酶組份包括能夠以此類方式作用於前藥使得其轉化為其更具活性之細胞毒性形式之任何酶。在本發明之方法中適用之酶包括但不限於：可用於將含有磷酸酯之前藥轉化為游離藥物之鹼性磷酸酶；可用於將含有硫酸酯之前藥轉化為游離藥物之芳基硫酸酯酶；可用於將無毒的氟胞嘧啶轉化為抗癌藥物5-氟尿嘧啶之胞嘧啶脫胺酶；可用於將含有肽之前藥轉化為游離藥物之蛋白酶，諸如沙雷氏菌屬(serratia)蛋白酶、嗜熱菌蛋白酶(thermolysin)、枯草桿菌蛋白酶(subtilisin)、羧肽酶及組織蛋白酶(cathepsin)(諸如組織蛋白酶B及L)；可用於轉化含有D-胺基酸取代基之前藥之D-丙胺醯基羧肽酶；可用於將糖基化之前藥轉化為游離藥物之碳水化合物裂解酶，諸如O-半乳糖苷酶及神經胺酸酶；可用於將用P-內醯胺衍生之藥物轉化為游離藥物之P-內醯胺酶；以及可用於將在胺氮用苯氧基乙醯基或苯基乙醯基衍生之藥物分別轉化為游離藥物之青黴素醯胺酶，諸如青黴素V醯胺酶或青黴素G醯胺酶。利用此項技術中熟知之技術，諸如使用上文討論之異源雙功能交聯試劑，酶可以與本發明之多肽共價結合。

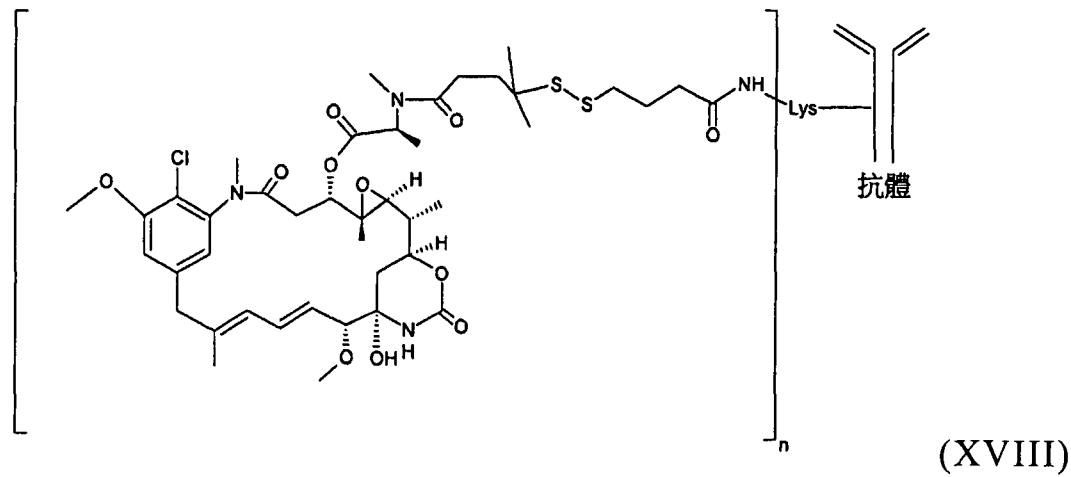
按照一具體實施例，在本發明之綴合物中，細胞毒性劑可為類美登素，具體地為DM1或DM4。

在此類綴合物中，上文「細胞結合劑」部分所定義之細胞結合劑，具體地為抗體，利用連接基團與至少一種該細胞毒性劑綴合。具體地，該連接基團為非可裂解的連接基，諸如SPDB、磺基-SPDB或SMCC。

在一具體實施例中，該連接基為吡啶基二硫基丁酸N-丁二醯亞胺酯(SPDB)且該細胞毒性劑為DM4。在另一具體實施例中，該連接基為4-(吡啶-2-基二硫基)-2-磺基-丁酸(磺基-SPDB)且該細胞毒性劑為DM4。

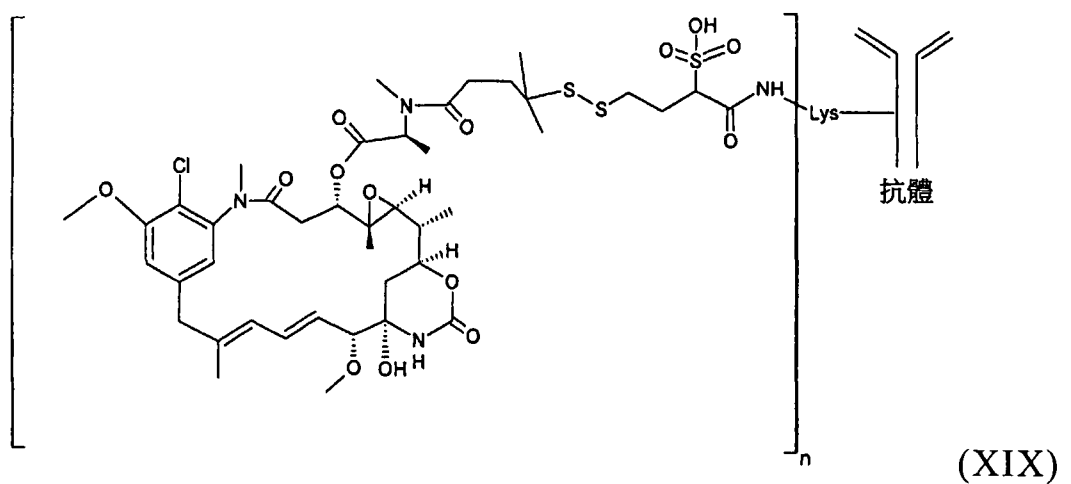
更具體地，綴合物可選自由以下組成之群：

i) 式(XVIII)之抗體-SPDB-DM4綴合物



Ab-SPDB-DM4

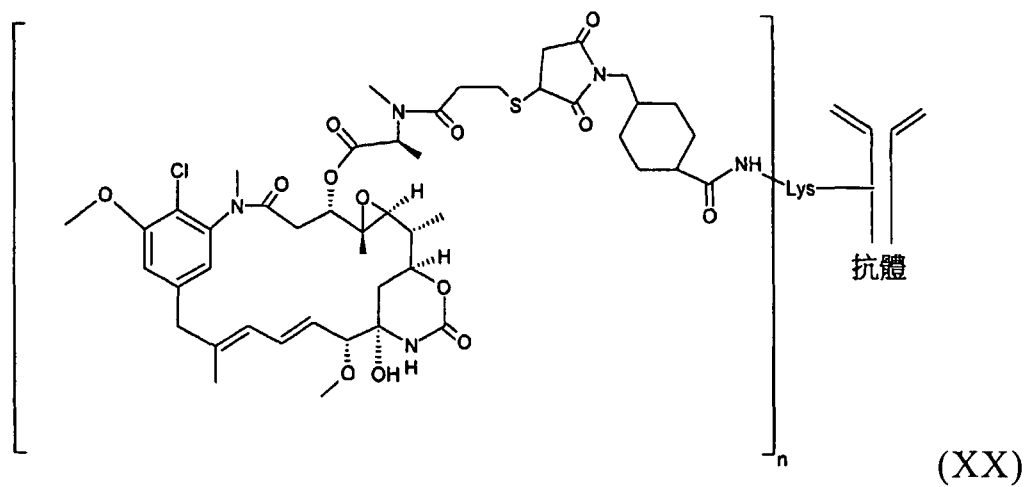
ii) 式(XIX)之抗體-磺基-SPDB-DM4綴合物



Ab-磺基SPDB-DM4

及

iii) 式(XX)之抗體-SMCC-DM1綴合物



Ab-SMCC-DM1

通常，綴合物可藉由包含下列步驟之方法來獲得：

(i) 使視情況經緩衝之細胞結合劑(例如，按照本發明之抗體)之水溶液與連接基及細胞毒性化合物的溶液接觸；

(ii) 隨後視情況將以(i)形式形成之綴合物與未反應之細胞結合劑分離。

可用緩衝液，諸如磷酸鉀、乙酸鹽、檸檬酸鹽或N-2-羥基乙基哌嗪-N'-2-乙磺酸(Hepes緩衝液)，將細胞結合劑之水溶液緩衝。緩衝液視細胞結合劑之性質而定。細胞毒性化合物係在有機極性溶劑(諸如二甲亞砜(DMSO)或二甲基乙醯胺(DMA))之溶液中。

反應溫度通常包含在20℃與40℃之間。反應時間可在1至24小時之間變化。細胞結合劑與細胞毒性劑之間的反應可藉由帶有折射量測及/或UV偵測器之尺寸排阻層析(SEC)來監測。若綴合物產率太低，則可以延長反應時間。

為了進行步驟(ii)之分離，熟習此項技術者可使用許多不同的層析方法：例如，可藉由SEC、吸附層析(諸如離子交換層析，IEC)、疏水性相互作用層析(HIC)、親和層析、混合載體層析(諸如羥磷灰石層析)或高效液相層析(HPLC)純化綴合物。亦可使用透析或透濾進行純化。

如本文所用，術語「**聚集物**」意指可在兩種或兩種以上細胞結合劑之間形成的結合，該等藥劑經修飾或沒有綴合。在許多參數之影響下，可形成聚集物，諸如細胞結合劑在溶液中之較高濃度、溶液之pH值、高剪切力、鍵合二聚體之數目及其疏水特徵、溫度(參見Wang及Gosh (2008) *J. Membr Sci.* **318**: 311-316，以及其中引用之參考文獻)；應注意，一些此等參數之相對影響尚不很明確。在蛋白及抗體之情況下，熟習此項技術者將參考Cromwell等人 (2006) *AAPS Journal*

8: E572-E579。可利用技術人員熟知之技術，諸如SEC(參見Walter等人 (1993) *Anal. Biochem.* **212**: 469-480)，測定聚集物中之內含物。

在步驟(i)或(ii)後，可以對含有綴合物之溶液進行層析、超濾及/或透濾之額外步驟(iii)。

在此等步驟之末期，回收水溶液中之綴合物。

在其中細胞毒性劑為類美登素之本發明之實施例中，為了使類美登素與上文「細胞結合劑」部分所定義之細胞結合劑(諸如包含序列SEQ ID NO: 9之重鏈及序列SEQ ID NO: 10之輕鏈之人類化huDS6抗體)連接，類美登素可包含連接部分。連接部分含有使完全活性之類美登素在具體部位釋放之化學鍵。適合之化學鍵為此項技術中熟知之，並且包括二硫鍵、酸不穩定鍵、光不穩定鍵、肽酶不穩定鍵及酯酶不穩定鍵。較佳為二硫鍵。

連接部分亦包含反應性化學基團。在一實施例中，反應性化學基團可經由二硫鍵連接部分與類美登素共價結合。

具體的反應性化學基團為*N*-丁二醯亞胺酯及*N*-硫代丁二醯亞胺酯。

包含含有反應性化學基團之連接部分之具體類美登素為美登醇及其類似物之C-3酯，其中連接部分含有二硫鍵且化學反應基團包含*N*-丁二醯亞胺基或*N*-硫代丁二醯亞胺基酯。

類美登素上之許多位置可作為化學連接該連接部分之位置。舉例而言，具有羥基之C-3位置、用羥基甲基修飾之C-14位置、用羥基修飾之C-15位置及具有羥基之C-20位置預計均為適用的。然而，較佳為C-3位置，並且尤其較佳為美登醇之C-3位置。

儘管就含有二硫鍵之連接部分而言，描述具有連接部分之美登醇之酯的合成，但熟習此項技術者應當理解，如同可用於其他類美登素一樣，具有其他化學鍵(如上所述)之連接部分亦可用於本發明。其

他化學鍵之具體實例包括酸不穩定鍵、光不穩定鍵、肽酶不穩定鍵及酯酶不穩定鍵。美國專利第5,208,020號之揭示內容教示攜帶此類鍵之類美登素之製備。

美國專利第6,441,163號及第6,333,410號以及美國申請案第10/161,651號描述具有攜帶反應性基團之二硫化物部分之類美登素及類美登素衍生物之合成。

含有反應性基團之類美登素(諸如DM1)與上文「細胞結合劑」部分所定義之細胞結合劑(具體地為抗體，諸如包含序列SEQ ID NO: 9之重鏈及序列SEQ ID NO: 10之輕鏈之人類化huDS6抗體)反應得到細胞毒性綴合物。可藉由HPLC或凝膠過濾方法純化此等綴合物。

美國專利第6,333,410號以及美國申請案第09/867,598號、第10/161,651號及第10/024,290號提供製備此類細胞結合劑-類美登素、尤其抗體-類美登素綴合物之一些極好的流程。

通常，可以將在緩衝水溶液中之抗體溶液與莫耳過量之具有攜帶反應性基團之二硫化物部分之類美登素一起培育。藉由加入過量之胺(諸如乙醇胺、牛磺酸等)可淬滅反應混合物。隨後，可藉由凝膠過濾來純化類美登素-抗體綴合物。

藉由分光光度量測在252 nm及280 nm處之吸光度之比例，可測定每個抗體分子結合之類美登素分子之數目。較佳為平均1-10個類美登素分子/抗體分子。

亦可使用美國申請案第10/024,290號闡述之PEG連接基團，使類美登素與細胞結合劑連接。此等PEG連接基團可溶於水及非水溶劑中，並且可用於使一或多種細胞毒性劑及細胞結合劑連接。例示性PEG連接基團包括異源雙功能PEG連接基，其經由一端之功能性硫氫基或二硫基以及另一端之活性酯，在連接基之相對端與細胞毒性劑及細胞結合劑結合。

作為使用PEG連接基團來合成細胞毒性綴合物之一般實例，具體詳情再參考美國申請案第10/024,290號。合成開始於攜帶反應性PEG部分之一或多種細胞毒性劑與細胞結合劑反應，其導致每個反應性PEG部分之末端活性酯經細胞結合劑(諸如包含序列SEQ ID NO: 9之重鏈及序列SEQ ID NO: 10之輕鏈之人類化huDS6抗體)之胺基酸殘基替換，得到含有一或多種經由PEG連接基團與細胞結合劑共價結合之細胞毒性劑之細胞毒性綴合物。

可使用任何技術形成本發明之綴合物分子。具體地，本發明之托馬黴素衍生物可以經由酸不穩定連接基或利用光不穩定連接基與上文「細胞結合劑」部分所定義之抗體或其他細胞結合劑連接。該等衍生物可與具有適合序列之肽縮合，且隨後連接至細胞結合劑，得到肽酶不穩定連接基。可製備含有一級羥基之綴合物，該一級羥基可經丁二醯化，並連接至細胞結合劑，得到可利用胞內酯酶裂解從而釋放游離衍生物之綴合物。較佳地，合成含有游離或保護之巰基之衍生物，且隨後，含有一或多種二硫化物或巰基之衍生物各自經由二硫鍵或硫醚連接基與細胞結合劑共價連接。

美國專利第5,416,064號及第5,475,092號教示許多綴合方法。可修飾托馬黴素衍生物，得到游離胺基，且隨後經由酸不穩定連接基或光不穩定連接基連接至抗體或其他細胞結合劑。具有游離胺基或羧基之托馬黴素衍生物可與肽縮合，且隨後連接至細胞結合劑，得到肽酶不穩定連接基。可將連接基上帶有游離羥基之托馬黴素衍生物丁二醯化，並連接至細胞結合劑，得到可利用胞內酯酶裂解從而釋放游離藥物之綴合物。最佳地，處理托馬黴素衍生物，產生游離或保護之巰基，且隨後，含有二硫化物或巰基之托馬黴素二聚體經由二硫鍵連接至細胞結合劑。

在一個實施例中，單株抗體-或細胞結合劑-托馬黴素衍生物綴合

物為經由如上所述之二硫鍵連接、能夠傳遞托馬黴素衍生物之綴合物。此類細胞結合綴合物利用已知方法，諸如藉由用吡啶基-二硫基丙酸丁二醯亞胺酯 (SPDP) 修飾單株抗體 (Carlsson 等人 (1978) *Biochem. J.* **173**: 723-737) 進行製備。隨後，用含有巰基之托馬黴素衍生物處理，替換所得到之硫基吡啶基，得到二硫化物連接之綴合物。可替換地，在芳基二硫-托馬黴素衍生物之情況下，藉由預先引入至抗體分子中之硫氫基，直接替換托馬黴素衍生物之芳基-巰基，形成細胞結合綴合物。利用任一方法可容易地製備經由二硫橋連接之含有 1 至 10 種托馬黴素衍生物藥物之綴合物。

更具體地，用含有巰基之托馬黴素衍生物 (1.3 莫耳當量/二硫基吡啶基)，處理二硫基-硝基吡啶基修飾之抗體之溶液 (濃度 2.5 mg/ml，在 0.05 M 磷酸鉀緩衝液中，pH 7.5，含有 2 mM EDTA)。在 325 nm 處，分光光度法監測硫基-硝基吡啶自修飾之抗體中之釋放，並在約 16 小時內完成。利用凝膠過濾，經由 Sephadex G-25 或 Sephacryl S300 管柱，將抗體-托馬黴素衍生物綴合物純化，且除去未反應之藥物及其他低分子量物質。可藉由量測在 230 nm 及 275 nm 處之吸光度之比例，測定每個抗體分子結合之托馬黴素衍生物部分之數目。利用此方法，每個抗體分子可以經由二硫鍵連接平均 1-10 個托馬黴素衍生物分子。

可使用先前 Liu 等人 (1996) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **93**: 8618-8623 所描述之方法，測定綴合對於針對抗原表達細胞結合親和性之作用。可藉由細胞增殖曲線之向後外推，如 Goldmacher 等人 (1985) *J. Immunol.* **135**: 3648-3651 所述，量測托馬黴素衍生物及其抗體綴合物對細胞株之細胞毒性。如 Goldmacher 等人 (1986) *J. Cell Biol.* **102**: 1312-1319 所述，可以利用細胞群落分析，測定此等化合物對附著細胞株之細胞毒性。

藥物與抗體之比例

按照一實施例，本發明之綴合物利用在1至10範圍內、例如2至5、尤其3至4、更尤其3.5之由DAR UV測定之「藥物與抗體之比例」(或「DAR」)來表徵。此通常係在綴合物包括類美登素分子之情況下。

DAR數值可隨所使用之細胞結合劑(具體地為抗體)及藥物(亦即，細胞毒性劑)之性質以及用於綴合之實驗條件(如細胞毒性劑/細胞結合劑之比例、反應時間、溶劑及共溶劑(若存在)之性質)而變化。因此，細胞結合劑及細胞毒性劑之間的接觸產生包含數種由於藥物與抗體比例不同而彼此不同的綴合物之混合物；視情況為裸細胞結合劑；視情況為聚集物。因此，測定之DAR為平均值。

本文稱為DAR UV之可用於測定DAR之方法由分光光度法量測實質上純化之綴合物之溶液在 λ_D 及280 nm處的吸光度的比例組成。280 nm為量測蛋白濃度(諸如抗體濃度)通常使用之波長。選擇波長 λ_D ，以便區別藥物與抗體，亦即，如技術人員容易瞭解之， λ_D 為藥物具有較高吸光度時之波長，並且 λ_D 足夠地遠離280nm，從而避免藥物及抗體之吸收峰出現顯著之重疊。在類美登素分子之情況下，可將 λ_D 選擇為252 nm。DAR計算之方法可來自下列文獻：Antony S. Dimitrov (編), LLC, 2009, Therapeutic Antibodies and Protocols, 第525卷, 445, Springer Science:

使用經典分光光度計設備(能夠計算「DAR參數」)，在 $\lambda_D(A_{\lambda_D})$ 及280 nm(A_{280})處，量測綴合物之吸光度。吸光度可如下表示：

$$A_{\lambda_D} = (c_D \times \epsilon_{D\lambda_D}) + (c_A \times \epsilon_{A\lambda_D})$$

$$A_{280} = (c_D \times \epsilon_{D280}) + (c_A \times \epsilon_{A280})$$

其中：

c_D 及 c_A 分別為藥物及抗體在溶液中之濃度

$\epsilon_{D\lambda_D}$ 及 ϵ_{D280} 分別為藥物在 λ_D 及280 nm處之莫耳消光係數

$\epsilon_{A\lambda_D}$ 及 ϵ_{A280} 分別為抗體在 λ_D 及280 nm處之莫耳消光係數

將具有兩個未知數之此兩個方程式分解，得到下列方程式：

$$c_D = \left[\left(\epsilon_{A280} \times A_{\lambda_D} \right) - \left(\epsilon_{A\lambda_D} \times A_{280} \right) \right] / \left[\left(\epsilon_{D\lambda_D} \times \epsilon_{A280} \right) - \left(\epsilon_{A\lambda_D} \times \epsilon_{D280} \right) \right]$$
$$c_A = [A_{280} - (c_D \times \epsilon_{D280})] / \epsilon_{A280}$$

隨後，由藥物濃度與抗體濃度之比例計算平均DAR：

$DAR = c_D / c_A$ 。

在一具體實施例中， λ_D 為252 nm。

相應地，在具體實施例中，綴合物之特徵在於：藥物與抗體比例(DAR)在3至4範圍內，尤其為3.5，由細胞毒性劑濃度(c_D)與細胞結合劑濃度(c_A)之比例計算DAR；

$$DAR = c_D / c_A$$

其中

$$c_D = \left[\left(\epsilon_{A280} \times A_{252} \right) - \left(\epsilon_{A252} \times A_{280} \right) \right] / \left[\left(\epsilon_{D252} \times \epsilon_{A280} \right) - \left(\epsilon_{A252} \times \epsilon_{D280} \right) \right]$$
$$c_A = [A_{280} - (c_D \times \epsilon_{D280})] / \epsilon_{A280}$$

且

ϵ_{D252} 及 ϵ_{D280} 分別為細胞毒性劑在252 nm及280 nm處之莫耳消光係數，

ϵ_{A252} 及 ϵ_{A280} 分別為細胞結合劑在252 nm及280 nm處之莫耳消光係數，且

A_{252} 及 A_{280} 分別為使用經典分光光度計設備量測之綴合物在252 nm(A_{252})及在280 nm(A_{280})處之吸光度。

治療

本發明者證明，患有癌症(尤其為乳癌或卵巢癌，更尤其為乳癌)之患者在投與其至少120 mg/m²劑量之綴合物SAR566658時顯示至少

一種具體響應。

因此，本發明係關於綴合物，其包含：(i)本文上文「細胞結合劑」部分所定義之與人黏蛋白-1 (MUC1)醣蛋白結合之細胞結合劑，連接至(ii)至少一種本文上文「細胞毒性劑」部分所定義之細胞毒性劑，用於治療癌症，其中該綴合物之投藥劑量為至少120 mg/m²。

本發明亦關於綴合物在製造意欲治療癌症之藥劑中之用途，該綴合物包含：(i)本文上文「細胞結合劑」部分所定義之與人黏蛋白-1 (MUC1)醣蛋白結合之細胞結合劑，連接至(ii)至少一種本文上文「細胞毒性劑」部分所定義之細胞毒性劑，其中該綴合物之投藥劑量為至少120 mg/m²。

本發明亦關於治療患者癌症之方法，該方法包含：以至少120 mg/m²之劑量向有需要之患者投與綴合物，該綴合物包含：(i)本文上文「細胞結合劑」部分所定義之與人黏蛋白-1 (MUC1)醣蛋白結合之細胞結合劑，連接至(ii)至少一種本文上文「細胞毒性劑」部分所定義之細胞毒性劑。

在本發明之上下文中，如本文所用，術語「治療」係指逆轉、減輕、抑制該術語所適用之病症或病況之進展，或預防該病症或病況，或該病症或病況之一或多種症狀。

如本文所用之術語「治療癌症」係指抑制腫瘤之惡性細胞之生長及/或自該腫瘤之轉移之進展。該治療亦可導致腫瘤生長之衰退，亦即，降低可量測腫瘤之大小。在一具體實施例中，該治療導致腫瘤或轉移之部分衰退。在另一具體實施例中，該治療導致腫瘤或轉移之完全衰退。

按照本發明，術語「患者」或「有需要之患者」意在指受到惡性腫瘤影響或可能受到惡性腫瘤影響之人類或非人類哺乳動物。

在一具體實施例中，所治療之患者可先前已用其他抗癌療法來

治療。具體地，欲治療之患者可先前已用基於奧沙利鉑、順鉑、卡鉑及/或太平洋紫杉醇-多西他賽之方案治療。

本發明綴合物之「治療有效量」意指，在適用於任何醫學治療之合理的效益/風險比下，治療該癌症疾病之綴合物之足夠量。然而，應理解，在周全的醫學判斷範疇內，本發明之綴合物之總的日用量將由主治醫師決定。任何具體患者之具體治療有效劑量將視多種因素而定，該等因素包括：所治療之病症及病症之嚴重程度；所使用之具體綴合物之活性；所使用之具體組合物；患者之年齡、體重、一般健康情況、性別及飲食；所使用之具體綴合物之投藥時間、投藥途徑及排泄速率；治療之持續時間；與所使用之具體綴合物組合或同時使用之藥物；及醫學技術中熟知之類似因素。

在一具體實施例中，投與患者之綴合物之該治療有效量為在 120 mg/m^2 至 240 mg/m^2 範圍內、更尤其在 150 mg/m^2 至 240 mg/m^2 範圍內之劑量，尤其為 190 mg/m^2 之劑量。

在另一實施例中，本發明之綴合物按照視欲治療之患者(年齡、體重、治療史等)而定之方案(其可由熟練的醫師確定)重複地投與。在本發明之一個態樣中，本發明之綴合物按照在每3週投藥之間具有間隔之間歇性計劃投與患者，視對於先前給藥之耐受性而定，給藥時間可延長1至2週。相應地，在一具體實施例中，作為新的週期，每3週重複投與綴合物。

在另一實施例中，週期之中位數為2。

可以醫藥組合物之形式投與本發明之綴合物，形成治療組合物，該醫藥組合物包括醫藥學上可接受之賦形劑及視情況選用之緩慢釋放基質，諸如可生物降解之聚合物。

「醫藥學上」或「醫藥學上可接受的」係指，當投與哺乳動物(尤其為人，視情況而定)時，不會產生不利的、過敏性的或其他不良反

應之分子實體及組合物。醫藥學上可接受之載體或賦形劑係指無毒的固體、半固體或液體填充劑、稀釋劑、密封材料或任何類型之調配物助劑。

包括本發明綴合物之醫藥組合物之形式及投藥途徑自然地視所治療之病況、疾病之嚴重程度、患者之年齡、體重及性別等而定。

可將本發明之綴合物調配用於局部、經口、非經腸、鼻內、靜脈內、肌內、皮下或眼內投藥及其類似投藥。在一具體實施例中，靜脈內投與本發明之綴合物。

具體地，包括本發明綴合物之醫藥組合物可含有媒劑，該等媒劑對於能夠注射之調配物為醫藥學上可接受的。此等媒劑可尤其為等張之無菌鹽水溶液(磷酸二氫鈉或磷酸二鈉，氯化鈉、氯化鉀、氯化鈣或氯化鎂及其類似物，或該等鹽之混合物)；或乾燥、尤其冷凍乾燥之組合物，其在加入(視情況而定)無菌水或生理鹽水時，容許形成注射溶液。

為了製備醫藥組合物，可將有效量之本發明之綴合物溶解或分散在醫藥學上可接受之載體或水性介質中。

適用於注射之醫藥形式包括無菌水溶液或分散液，及用於即時製備無菌注射溶液或分散液之無菌粉末。在所有情況下，該形式必須為無菌的，並且必須為流體達至存在易注射性之程度。其在製造及儲存條件下必須為穩定的，並且必須在抗微生物(諸如細菌及真菌)之污染作用下保存。

載劑可為溶劑或分散介質，其含有例如水、乙醇、多元醇(例如，甘油、丙二醇及液體聚乙二醇及其類似物)及其適合的混合物。適當流動性可藉由以下方式維持：諸如使用包衣，諸如卵磷脂，在分散液之情況下保持所需之粒徑，並且使用界面活性劑、穩定劑、冷凍保護劑或抗氧化劑。利用抗細菌劑及抗真菌劑，可防止微生物之作

用。在很多情況下，其將較佳包括等張劑，例如，糖或氯化鈉。

如下製備無菌注射溶液：根據需要，在適當溶劑中，將需要數量之活性化合物與上文列舉之一些其他成分合併，隨後過濾滅菌。通常，如下製備分散液：將各種消毒之活性成分併入無菌媒劑中，該無菌媒劑含有基礎分散介質及所需要之上文列舉之其他成分。在製備無菌注射溶液之無菌粉末之情況下，較佳的製備方法為真空乾燥及冷凍乾燥技術，此類技術可由活性成分以及任何其他所需成分之先前無菌過濾溶液得到其粉末。

一旦調配，溶液將以與劑量調配物相容之方式及以治療有效量投與。可以各種劑型容易地投與調配物，諸如上述注射液之類型，但亦可以使用藥物釋放膠囊及其類似物。

對於水溶液中之非經腸投藥，例如必要時，應將溶液適當地緩衝，並首先用足夠的鹽水或葡萄糖使液體稀釋劑等張。此等具體水溶液尤其適用於靜脈內、肌內、皮下及腹膜內投藥。在此方面，熟習此項技術者根據本發明將瞭解可使用之無菌水性介質。舉例而言，可以將一個劑量溶解於1 mL等張NaCl溶液中，以及或添加至1000 mL皮下輸液流體中，或在預計之輸液部位注射(參見例如「Remington's Pharmaceutical Sciences」第15版，第1035-1038頁及第1570-1580頁)。視所治療之個體之病況而定，劑量必然會出現一些變化。在任何情況下，負責投藥之人決定個別個體之適當劑量。

在一具體實施例中，以1 mL/min之速率，適合地靜脈內投與本發明之綴合物30分鐘，且隨後在沒有過敏性反應之情況下，速率升至2 mL/min之最大速率。

按照本發明治療之癌症包括任何類型之惡性腫瘤，尤其為實體腫瘤，例如乳癌及卵巢癌。

在一個實施例中，按照本發明治療之癌症為CA6陽性腫瘤。在另

一實施例中，所治療之癌症為乳癌，更具體為對雌激素、孕酮或HER2之受體非陽性之三陰性乳癌。

本發明之綴合物可與預防或控制角膜炎之藥劑、尤其與預防或治療角膜炎之眼用組合物組合投與。

序列之簡要描述

SEQ ID	序列	描述
1	SYNMH	huDS6之CDR1-H
2	YIYPGNGATNYNQKFKG	huDS6之CDR2-H
3	GDSVPFAY	huDS6之CDR3-H
4	SAHSSVSFMH	huDS6之CDR1-L
5	STSSLAS	huDS6之CDR2-L
6	QQRSSFPLT	huDS6之CDR3-L
7	QAQLVQSGAEVVKPGASVKMSCKASGYTFTSYNM HWVKQTPGQGLEWIGYIYP GNGATNYNQKFQGKATLTADPSSSTAYMQISSLTS EDSAVYFCARGDSVPFAYWGQGTLVTVSA	huDS6之重鏈可變區
8	EIVLTQSPATMSASPGERVITCSAHSSVSFMHWFQ QKPGTSPKLWIYSTSSLAS GVPARFGGSGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYCQQRS SFPLTFGAGTKLELKR	huDS6之輕鏈可變區
9	QAQLVQSGAEVVKPGASVKMSCKASGYTFTSYNM HWVKQTPGQGLEWIGYIYPGNGATNYNQKFQGKA TLTADPSSSTAYMQISSLTSEDSAVYFCARGDSVPF AYWGQGTLVTVSAASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGT AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK VDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	huDS6之重鏈
10	EIVLTQSPATMSASPGERVITCSAHSSVSFMHWFQ QKPGTSPKLWIYSTSSLASGVPARFGGSGSGTSYSL TISSMEAEDAATYYCQQRSSFPLTFGAGTKLELKRT VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	huDS6之重鏈

實例

材料及方法

試驗設計

為了確定SAR566658之最大耐受劑量(MTD)，將此試驗設計成為化合物SAR566658之開放標籤、劑量遞增研究，在患有CA6陽性及難治性實體腫瘤之成年患者中，每3週以單一藥劑形式靜脈內(IV)輸注投與化合物SAR566658。

主要終點

為了每3週測定SAR566658 IV之劑量限制性毒性(DLT)及最大耐受劑量(MTD)，按照國家癌症研究所不良事件常用術語準則第4.03版(National Cancer Institute Common Terminology Criteria for Adverse Events Version 4.03, NCI CTCAE v.4.03)，將毒性分級。

將劑量限制性毒性定義為任何下列事件，除非在第一個3週之研究治療期間該事件與SAR566658化合物無關：

○血液學毒性：

- 7天或7天以上連續日，出現4級嗜中性球減少症，
- 發熱性嗜中性球減少症或嗜中性球減少症性感染，
- 4級血小板減少症，或伴有3級血小板減少症之需要輸血之出血症。

○非血液學毒性：

- 4級輸液反應或3級輸液反應，若輸液反應不能在24小時內消退(resolve)，則不能投與IMP之全部劑量，
- 儘管使用足夠的止吐治療，但在48小時內不能消退至≤1級之4級嘔吐或3級噁心或嘔吐，
- 任何其他3級或3級以上的非血液學臨床不利事件(AE)，
- 任何3級或3級以上的實驗室異常，

- 與SAR566658相關之任何毒性，由於延遲回復至基線或≤1級，導致治療延遲2週以上。

劑量遞增規則

SAR566658之起始劑量(DL)為10 mg/m²劑量。

基於治療之第一階段期間觀察到之毒性，加速型劑量遞增方案用於前兩個DL 10 mg/m²及20 mg/m²：每個DL 1個患者，且在2個DL之間100%劑量遞增，直至報導任何≥2級之SAR566658相關之AE。若患者報導≥2之SAR566658相關之AE等級，則在相同DL下治療兩個其他患者，並且劑量遞增必須與經典方案一起進行。

即使在40 mg/m²之DL沒有毒性之情況下，劑量遞增仍然與經典方案一起進行(「3+3」)。劑量增加25%至50%而非100%，且每3週連續地用較高劑量之SAR566658治療3-6個患有CA6陽性晚期實體腫瘤之患者之順序隊列。在已經跟蹤在當前劑量下治療之至少3個患者至少3週並且滿足如下所述之劑量遞增準則之前，可不進行在較高劑量下之登記：

在給定DL下第1週期中具有DLT之患者數量	劑量遞增決定規則
前3個患者中0個	在下一個劑量，至少3個患者參加。
3個患者中≥2個	將停止劑量遞增。若在該劑量下治療≤3個患者，則在先前DL下，三個(3個)額外患者參加。
3個患者中之1個	在此DL下，至多6個患者參加。 若3個額外患者中沒有患者經歷DLT，則進行下一劑量。 若至多3個額外患者中之1個或1個以上患者經歷DLT，則停止劑量遞增。若在該劑量下治療≤3個患者，則在先前DL下，三個(3個)額外患者參加。

研究群體

沒有可用之標準療法之患有CA6陽性實體腫瘤之患者。

在中心實驗室，評估最近得到之腫瘤樣品的免疫組織化學(IHC)定義之CA6之陽性(亦即，≥30%之腫瘤細胞具有中度至強烈膜染色)。

SAR566558

調配：以25 mL可提取濃縮液提供SAR566558，用於含在30 mL玻璃小瓶中之125 mg之輸液用的溶液。

投藥途徑：利用IV輸注以速率1 mL/min投與SAR566558持續30分鐘，且隨後在沒有過敏性反應之情況下，升至2 mL/min之最大速率。

劑量方案/持續時間：在第1天投與SAR566558，每21天重複一次。此構成一個治療週期。患者可以繼續治療，直至疾病進展、無法接受之毒性或自願終止為止，隨後隨訪最少30天。

為了使所有患者具有至少2個可評估之週期，在劑量遞增階段治療之最後一個患者之後(週期2之末期)，第一個試驗截止日期計劃為6週。在劑量遞增階段治療之最後一個患者之後，第一個試驗截止日期實際上進行5週。因此，僅包括此患者之週期1。

研究期

第一個患者之治療日期：2010年9月15日

最後一個患者之治療日期：2013年6月12日

患者數量

- 登記之患者數量：43
- 治療之患者數量：34
- 可用於評估以下參數之患者數量：
 - 安全性：34
 - DLT：34
 - 藥物動力學：33
 - 藥效學：34
 - 功效：33

結果

1. 研究患者

1.1. 患者義務

自2010年9月15日至2013年6月12日，在2個美國地區及2個歐洲地區(1個在西班牙，1個在法國)，43個患者參加I期研究之遞增步驟，且治療34個患者。

1.2. 研究處置

34個患者中，28個患者中斷研究治療，6個仍然進行治療。在SAR566658治療群體中，治療中斷之最常見之原因為表1所述之『進行性疾病』。治療中斷之其他原因為3個患者出現不利事件(AE)：#840 002 019，120 mg/m²(胰臟癌患者中之肝功能測試增加)、#840 002 029，190 g/m²(胰臟癌患者中之非相關性肺栓塞)、#840 001 037，240 mg/m²(相關性腹瀉及嘔吐)。

表1 - 中斷研究治療之原因(治療之群體)

	初始計劃之SAR566658劑量(mg/m ²)						全部劑量
	≤60 (N=11)	90 (N=3)	120 (N=3)	150 (N=3)	190 (N=6)	240 (N=8)	
原因 ^a							
不利的感受	0	0	1	0	1	1	3
進行性疾病 ^b	11	3	2	3	4	2	25
同意退出							0
其他							0
全部	11/11	3/3	3/3	3/3	5/6	3/8	28/34

^a 每個患者一個原因

^b 包括放射證明之疾病進展及臨床及/或生物學進展

1.3. 人口統計學及基線特徵

已知的患者之基線特徵資料提供於表2中。

大部分患者為女性(23/34，68%)，年齡自32至77歲(11個患者≥65歲)，並且具有良好之ECOG行為狀態(100%，0級或1級)。

原發腫瘤位置不同，然而，卵巢癌為最常見之腫瘤(13/34，38%)，隨後為胰臟癌(10/34，29%)及乳癌(4/34，12%)。腺癌為最常見之組織學類型，主要為惡性腺瘤(13/34，38%)及上皮癌(13/34，38%，均為卵巢癌)。

所涉及之最常見之器官為：肝臟(18/34，53%)、腹膜(13/34，38%)、淋巴結(13/34，38%)及肺(11/34，32%)。

表2 - 人口統計學及基線特徵

	初始計劃之SAR566658劑量(mg/m ²)						全部劑量
	≤60	90	120	150	190	240	
患者總數	11	3	3	3	6	8	34
性別							
男性	2	3	1	1	3	1	11 (32.4%)
女性	9	0	2	2	3	7	23 (67.6%)
年齡(歲)							
中位數(最小-最大)	66 (32-70)	49 (37-64)	64 (55-65)	60 (58-63)	50 (48-77)	57 (42-70)	58.5 (32-77)
≥65	6	0	1	0	2	2	11
在第一次輸液之前的ECOG行為狀態							
0	5	1	2	2	2	5	17(50%)
1	6	2	1	1	4	3	17(50%)
原發腫瘤之解剖部位							
卵巢	4	0	2	0	1	6	13
胰腺	4	1	1	0	3	1	10
乳房	2	0	0	1	1	0	4
頭及頸	1	2	0	0	0	0	3
肺	0	0	0	0	1	1	2
其他 ^a	0	0	0	2	0	0	2
所涉及之器官數量							
中位數(最小-最大)	3 (1-4)	1 (1-4)	2 (1-3)	2 (1-4)	2.5 (2-3)	2.5 (1-4)	2.5 (1-4)
涉及之主要器官							
肝臟	6	2	0	2	5	3	18
腹膜	4	0	2	1	2	4	13
肺	4	1	1	1	0	4	11
淋巴結	4	1	1	1	2	4	13
預先放射療法							
有	5	2	1	2	3	0	13

^a 包括膀胱及子宮內膜癌(各自1個患者)

如表3所述，可評估所有患者參加研究時之CA6表達(IHC)。二十七個患者(27/34，79.4%)具有CA6陽性腫瘤，至少30%之陽性腫瘤細胞具有2+及3+之膜染色強度。七個患者之染色細胞之百分比低於此閾值，此係因為其中之大部分係在實施修訂3中之此閾值之前登記的。

表3 - 膜CA6表達(免疫組織化學測定)

藉由分類，強度評分2+或3+之染色細胞%	N (%)
[0-10]	6 (17.6%)
[10-20]	0
[20-30]	1
[30-50]	12 (35.3%)
[50-80]	12 (35.3%)
[80-100]	3 (8.8%)

2. 結果-安全性

2.1. 劑量及持續時間

如表4所示，在34個患者中，總共投藥114個週期：19個週期之劑量 $\leq 60 \text{ mg/m}^2$ ，7個週期之劑量為 90 mg/m^2 ，17個週期之劑量為 120 mg/m^2 ，23個週期之劑量為 150 mg/m^2 ，18個週期之劑量為 190 mg/m^2 ，30個週期之劑量為 240 mg/m^2 。

總的說來，週期之中位數為2，在1至14範圍內(120 mg/m^2)。然而，相比於較低劑量，在劑量 $\geq 120 \text{ mg/m}^2$ 時，所接受之週期數更高，在較低劑量時，由於在1或2個週期之後疾病進展，所以大部分患者中斷投藥。

觀察到有幾個週期出現延遲(18/114個週期)，且其中之大多數係由於在劑量 $\geq 150 \text{ mg/m}^2$ 時出現角膜炎，此係預期之SAR566658毒性。

SAR566658劑量降低很少(7/114個週期)，且由於角膜炎，其中之5個週期之劑量自 240 mg/m^2 降低至 190 mg/m^2 (表4)。

在所有的劑量下，相對劑量強度(RDI)接近1，但 240 mg/m^2 (0.79)之劑量除外，此係由於在6/8個患者中出現週期延遲及/或劑量降低。

表4 - 週期數-劑量修改

	初始計劃之SAR566658劑量(mg/m ²)						全部劑量
	≤60	90	120	150	190	240	
患者數量	11	3	3	3	6	8	34
≥1個週期延遲之患者數量	1	0	2	3	2	5	13
週期數量							
合計	19	7	17	23	18+	30+	114+
中位數[範圍]	2[1-4]	2[2-3]	2[1-14]	8[5-10]	2+[2-6]	3.5[1-9]	2[1-14]
週期延遲之數量	1	0	2	7	3	5	18
中間RDI	0.98	0.99	0.95	0.88	1.00	0.79	
[範圍]	[0.9-1.0]	[1.0-1.0]	[0.8-1.0]	[0.8-0.9]	[0.8-1.0]	[0.7-1.0]	
實際劑量強度中位數(mg/m ² /週)	13.51	29.85	37.91	44.03	63.24	63.51	-

N：數量，RDI：相對劑量強度

2.2. 不利事件

治療突發AE (TEAE)定義為在治療期期間觀察到之AE，該治療期定義為自SAR566658之第一個劑量至最後一個劑量之後30天之時間。

無論與研究治療之關係如何，三十三個(33/34，97.1%)患者具有至少一種臨床TEAE (所有等級)(本文未報導實驗室異常)。沒有觀察到劑量依賴性之AE，但主要在150mg/m² DL下觀察到之眼睛事件除外。

最常見之臨床TEAE (所有等級，無論與研究治療之關係如何，在至少6個患者中)為：

- 無力/疲勞(HLT)(28個患者，82.3%，包括16個具有研究-藥物相關事件之患者)
- 食慾降低(13個患者，38.2%，包括4個具有研究-藥物相關事件之患者)
- 角膜炎(11個患者，32.4%，認為均具有研究-藥物相關事件)

- 胃腸痛及腹痛(HLT)(10個患者，29.4%)，
- 噁心(10個患者，29.4%，包括6個具有研究-藥物相關事件之患者)
- 周邊神經病(HLT)(10個患者，29.4%，包括5個具有研究-藥物相關事件之患者)。應注意，3個患者出現感覺異常或感覺遲鈍，包括1個患者在同一週期中同時具有感覺異常/感覺遲鈍及周邊神經病。總共12個患者出現周邊神經病事件。
- 乾眼(8個患者，23.5%，包括5個具有研究-藥物相關事件之患者)
- 便秘、嘔吐、肌肉骨骼及結締組織疼痛(HLT)(每個事件：8個患者，23.5%)
- 腹瀉(7個患者，20.6%)
- 焦慮症、水腫(HLT)(每個事件：6個患者，17.6%)。

在SAR566658情況下，眼睛事件，諸如角膜炎、乾眼以及周邊神經病，為預期的事件，並且歸因於DM4荷載之ADC(參見2.6.1部分)。

總體而言，認為與研究治療相關之TEAE具有下列遞減次序：無力/疲勞(16個患者)，角膜炎(11個患者)，噁心、嘔吐(各6個患者)，周邊神經病或感覺異常/感覺遲鈍(分別有5個及3個患者)，乾眼(5個患者)，食慾降低及視力模糊(各4個患者)。

十二個(32.3%)患者具有至少一種3-4級TEAE (無論與研究治療之關係如何，實驗室異常除外)：在每個下列劑量下有1個患者：60、90、120及150 mg/m²，在190 mg/m²劑量下有4個患者(67%)，且在240 mg/m²劑量下有4個患者(50%)。總共四個患者具有至少一種認為與研究治療相關之3-4級臨床TEAE：角膜炎(2個患者，包括一個3級視力模糊之患者)、嘔吐及腹瀉(1個患者)及1個具有下列事件之患者：FEV1降低及射血分數降低(在肺栓塞及疾病進展之情形下)。除一個以

外，在240 mg/m² DL下觀察其他所有患者。兩個其他患者具有認為與研究治療相關之3-4級實驗室異常：在150mg/m²下嗜中性球減少症(1個患者)，且在120 mg/m²下轉胺酶增加(1個患者)。

藉由對研究治療中收集之血液進行評估，測定血液學測試異常(嗜中性球減少症、貧血及血小板減少)(表5)。在150及190 mg/m² DL下，觀察到兩個3級嗜中性球減少症，一個導致週期延遲。

表5 - 患者之血液毒性最壞等級

	初始計劃之SAR566658劑量 (mg/m ²)						全部 劑量
	≤60	90	120	150	190	240	
治療之患者總數[N]	11	3	3	3	6	8	34
可評估之患者總數*[N]	11	3	3	3	6	8	34
白細胞減少N(Gr 3-4 N)	5(1)	1(0)	1(0)	2(0)	2(0)	4(0)	15(0)
可評估之患者總數*[N]	11	3	3	3	6	8	34
嗜中性球減少症N(Gr 3-4 N)	2(0)	0(0)	0(0)	1(1)	1(1)	1(0)	5(2)
可評估之患者總數*[N]	11	3	3	3	6	8	34
貧血N(Gr 3-4 N)	10(0)	3(0)	3(0)	2(0)	5(0)	7(0)	30(0)
可評估之患者總數*[N]	11	3	3	3	6	8	34
血小板減少N(Gr 3-4 N)	3(0)	0(0)	1(0)	1(0)	3(0)	2(0)	10(0)

* 對於給定測試而言，若在兩次輸液之間具有至少一次血細胞計數，則可評估患者。

五個胰臟癌患者具有嚴重肝功能測試異常(2個患者具有3級轉胺酶AST或ALT，4個患者具有3級鹼性磷酸酶增加，3個患者具有3級膽紅素增加)，但沒有任何明顯劑量關係。沒有報導4級。

在各種較低劑量下，五個患者具有1級肌酐增加，且沒有報導≥2級。

2.3. 測定MTD及劑量限制性毒性

在研究之劑量遞增部分中，以9個劑量治療總共34個患者：10 mg/m²，1個患者；20 mg/m²，1個患者；40 mg/m²，4個患者；60 mg/m²，5個患者；下列DL：90、120及150 mg/m²，各3個患者；190 mg/m²，6個患者；240 mg/m²，8個患者。

可評估所有患者之安全性及劑量限制性毒性(DLT)。DLT觀察期定義為研究治療之第一週期。但在第1週期之後(後續週期)觀察到之DLT以及滿足DLT準則之不利事件提供於表6中。

表6 - 在第1週期及後續週期定義為DLT之毒性(實際資料)

SAR566658劑量	治療之患者數量	第1週期	後續週期
≤60mg/m ²	11	-	-
90 mg/m ²	3	-	-
120 mg/m ²	3	-	-
150 mg/m ²	3	-	-
190 mg/m ²	6	-	-
240 mg/m ²	8	腹瀉Gr3(037)	角膜炎gr 3，在cy2 (033, 040)

Gr：級；Cy：週期

圖1概述利用劑量治療之患者，以及在劑量遞增測定中所考慮之關鍵事件。

按照方案，加速型劑量遞增方案用於前兩個劑量(DL)，並且基於治療之第一週期期間觀察到之毒性。在10 mg/m²(DL1)及20 mg/m²(DL2)治療之患者中，沒有≥2級之相關毒性，或肺功能測試(PFT)之變化，使劑量遞增至DL2，且隨後遞增至DL3。自40 mg/m²之此DL3開始，劑量遞增與經典方案一起進行(3+3設計)。

用40 mg/m²治療三個患者。沒有觀察到DLT。然而，在第1週期之末期，所有患者均經歷一氧化碳彌散量(DLCO)降低，在1週以後之重複測試中，三個患者證實此點，但值仍然在正常範圍之內。按照NCI-CTC 4.03，此等降低轉變為0級或1級。如該方案所述，諮詢肺病外科醫生。同時，研究委員會決定在該DL下允許包括一個額外的患者。此患者沒有DLT，但在第1週期之末期，仍然經歷DLCO降低。下列為此4個患者之專家評述及評估：「相比於基準值，DLCO降低>15%，此係評估肺毒性之顯著變化。然而，病史為主要因素。具體地，晚期惡性疾病，且尤其為已知對肺具有潛在毒性並且在測試之前

的1年之內接受之在先療法(「回憶(recall)」現象)，為導致混淆之因素。此外，若仍然在正常範圍內，則該降低沒有顯著價值」。DLCO降低之此等事件不被專家視為DLT，但在預期之範圍內波動，並且其建議繼續進行劑量遞增。此決定進一步得到研究委員會之贊同。

由於決定繼續進行，用第四個劑量(60 mg/m²)治療三個患者。其中沒有一人經歷DLT。在第1週期之末期，一個患者(840002008)出現DLCO降低>15%，發生在伴有被動性肺擴張不全之肋膜積液惡化(疾病進展)之情形下。2個其他患者沒有經歷DLCO降低>15%。然而，3個患者當中之2個患者之藥物動力學(PK)概況不同於預期之藥物動力學特性：C_{max}為如劑量均衡性所預期的，但AUC較低。因此，在此DL下，決定加入2個額外患者，以便獲得額外PK資料。最後此2個患者(第4個及第5個)之PK參數(C_{max}、AUC、CL及V_{ss})反映60 mg/m²劑量之預期結果。C_{max}、AUC、CL及V_{ss}值反映預期之結果。在此相同劑量下，(5個患者當中)2個患者之出乎意料的PK結果至今仍然無法解釋，且可能由患者間差異性引起。在此DL4 (60 mg/m²)中，在2個額外患者中，沒有觀察到DLT及DLCO降低>15%。在第1週期，在疾病進展之情形下，一個患者經歷2次嚴重之AE (SAE)(非相關之4級一般健康惡化及3級高膽紅素血症)。在接受第一次輸液之後的第27天，此患者死於惡性疾病。在DL4 (60 mg/m²)下，兩個患者具有在記錄之疾病進展之情形下觀察到之非相關的3或4級AE：一個患者(上述患者)經歷門靜脈血栓形成、高膽紅素血症、一般健康惡化，且一個患者轉胺酶增加並且鹼性磷酸酶增加。兩個患者患有轉移性胰臟癌。研究委員會同意逐步升高至下一個劑量(DL5 90 mg/m²)。

在下列每個劑量下，治療三個患者：第5個DL(90 mg/m²)、第6個DL(120 mg/m²)、第7個DL(150 mg/m²)及第8個DL(190 mg/m²)。在後續DL中，允許劑量遞增，沒有報導DLT。在90 mg/m²，在第1週期之

末期，一個患者(840001015)經歷DLCO降低 $>15\%$ ，其出現在肺淋巴管炎惡化(疾病進展)之情形下。在 120 mg/m^2 下，在第1週期之末期，一個患者(724001022)經歷DLCO降低 $>15\%$ ，其出現在患者之一般狀況出現惡化、腹水增加及呼吸肌無力之情形下，按照呼吸科醫生之報導，此可以解釋PFT結果之此降低。在 150 mg/m^2 時，在第1週期之末期，一個患者(724001026)經歷DLCO降低 $>15\%$ ，其在重複測試中沒有得到證實。

在第九個劑量(240 mg/m^2)，治療三個患者。在第1週期之末期，其中沒有一人經歷DLT，並且沒有觀察到DLCO降低 $>15\%$ 。然而，在第2週期期間，第一個治療之患者出現3級角膜炎。此事件出現在DLT觀察期之外，但滿足DLT準則，並且在劑量遞增測定過程中被考慮到。為了記錄可能出現在第2週期之任何嚴重之眼睛不利事件，對於第二及第三個以 240 mg/m^2 治療之患者，決定等待第2週期結束。同時，以最低DL 190 mg/m^2 治療2個計劃篩選之患者。在第1週期之末期，其沒有出現任何DLT或DLCO降低 $>15\%$ 。考慮到以 240 mg/m^2 DL治療之2個最後的患者，在其第二個治療週期期間，沒有出現任何嚴重的眼毒性，決定以 240 mg/m^2 DL治療3個以上患者。在第1週期之末期，該等額外患者中之一個患者經歷DLT (3級腹瀉)。在以 240 mg/m^2 治療之6個患者當中，1/6患者在第1週期經歷DLT (Gr3腹瀉)，1/3患者在第2週期經歷Gr 3角膜炎(在當時，一個患者沒有接受第1週期而2個患者剛接受第2週期輸液)。決定按照謹慎的方法，在DL 240 mg/m^2 時加入另外兩個患者，並跟蹤安全性，直至第2週期完成。此外，因為一個患者在第1週期出現不滿足DLT準則之噁心及嘔吐，所以建議投與先前研究治療之預防性止吐藥。因此，以 240 mg/m^2 治療兩個額外患者。在第1週期之末期，沒有觀察到DLT及DLCO降低 $>15\%$ 。然而，第7及第8個患者均發展2級角膜炎。此外，在第2週期，第6個治

療之患者在此劑量下出現3級角膜炎，導致第3週期延遲，並且劑量減少至190 mg/m²。

結論：

在最高劑量240 mg/m²時，在第1週期，治療之八個患者當中的一個患者經歷DLT（用症狀矯正療法恢復之3級腹瀉）。在接受第二週期之7個患者當中，2個患者經歷3級角膜炎（滿足DLT準則），導致延遲在降低劑量下第3週期之投藥。此外，在第2週期，4個其他患者經歷2級角膜炎，導致3個患者之第3週期延遲。DL 240mg/m²被認為不可行，並且被定義為最高投藥劑量(MAD)。

在DL 190 mg/m²時，治療五個患者；所有患者均接受至少2個週期。三個患者出現2級角膜炎：在第2週期有2個患者（包括在治療投藥（在C1D1時臨床解析）之前具有2級角膜炎之一個患者），在第1週期有1個患者（已知該患者自C1D1開始報導出現乾眼）。在該等3個患者中之一個患者中，角膜炎事件導致第3週期延遲。儘管5個治療之患者當中之3個患者在DL190時經歷角膜炎，但對調查者來說，相比於在DL240時觀察到之眼毒性，此眼毒性似乎不太嚴重，更易控制，同時對研究治療之影響較小。此外，該等3個患者中之2個患者預先存在眼睛異常，此可影響眼睛評估。

因此，在190 mg/m²下治療第6個患者，完成該劑量下之登記。此患者沒有出現任何DLT。

DL190 mg/m²被選為推薦劑量。

2.4. 嚴重的不利事件

八個患者具有至少一種治療突發SAE，所有之治療突發SAE均視為與研究治療無關。

表7 - 嚴重的TEAE

SAR566658劑量	患者編號	週期	SAE
60 mg/m ²	008	Cy 1	疾病進展(NR)
120 mg/m ²	022	Cy 1	腸阻塞(NR)
150 mg/m ²	023	Cy 5	腹痛、背痛、腸阻塞(NR)
190 mg/m ²	035	Cy 2	向CNS轉移(NR)
	036	Cy 2	疾病進展(NR)
	029	Cy 1	頸痛(NR)
		Cy 2	腹痛、肺栓塞(NR)
240 mg/m ²	038	Cy 1	裝置相關之感染(NR)
	033	Cy 2	腹痛(NR)
		Cy 4	腹痛、GI出血(NR)

NR：與研究治療無關；Cy：週期；CNS：中樞神經系統；GI：胃腸道

2.5. 死亡

34個治療患者當中，9個患者具有死亡記錄。根據調查者，所有患者均死於惡性疾病。兩個患者(#008及036)在最後一次輸液之後30天內(分別在第1週期之第27天，以及第2週期之第18天)死亡。

2.6. 其他安全性量測：具體安全性

2.6.1. 眼毒性

眼睛不利事件主要在150 mg/m²時報導，與其他類美登素荷載之ADC所觀察到之事件一樣(表8及圖2)。

相關眼睛事件包括：乾眼、視力模糊、角膜炎、畏光、流淚增加、眼痛。總共15個患者(44.1%)具有至少一種相關眼睛事件，嚴重程度如下：1級，3個患者；2級，10個患者；且3級，2個患者。報導幾個認為與研究治療無關之其他輕度至中度眼睛事件：眼紅斑痤瘡、眼分泌物及病毒性結膜炎。

對於SAR566658，雙側角膜炎為觀察到之一種主要眼睛事件。此事件之前經常出現症狀，諸如輕度至中度乾眼、視力模糊或畏光。主要在第1週期觀察到該等初步症狀，而隨後在研究治療之第二或後續

週期期間，給出角膜炎之診斷。眼科報導通常描述淺層角膜炎，此類角膜炎具有保留中央角膜區之角膜儲存物。在240 mg/m²時，在2個嚴重病例中，僅報導一個上皮發炎(或間質發炎)。開始局部治療，並且包括人造淚液及皮質類固醇。迄今為止，視初始嚴重程度而定，在1至3週內，觀察到症狀痊癒。若在給定週期之第21天仍然存在症狀，則延遲後面的週期直至症狀消失，且條件為，用裂隙燈觀察，病變穩定，眼科醫師給出綠燈，重新開始治療。

由於在NCI CTC v4.03中不存在1級角膜炎，所有角膜炎均為2級。然而，在此2級分類當中，存在具有相關症狀及沒有症狀之淺層角膜炎。儘管角膜炎似乎在具有相同的2級之幾個週期中發展，角膜炎之改善足以允許投與研究治療，但沒有反映在等級變化上。實際上，此分類不會捕捉到2級之改善。

在240 mg/m²時，在第2週期期間，兩個患者經歷Gr 3眼毒性。該事件在第2週期之第8天及第15天之間開始，出現視敏度損失、視力模糊及乾眼。眼科醫師記錄具有保留角膜中心區域之線性儲存物之Gr 3雙側角膜炎。給予人造滴劑及局部皮質類固醇。在第2隨訪週期之末期(第21天)，記錄視力損失及症狀之部分痊癒，並且眼科醫師報導角膜炎之改善(自Gr 3至Gr 2)。在兩個患者中，第3週期均延遲2週，並且以降低劑量投藥(190 mg/m²)。

就發病率、等級或對研究治療之影響而言，在整個劑量中觀察差異性。在測試之最高劑量(240 mg/m²)下，觀察到最高發病率、最壞等級及對研究治療之最大影響。就出現之週期而言，沒有觀察到差異性。

迄今為止，所有相關的眼睛AE均得到恢復，或者利用局部療法(人造淚液及皮質類固醇)持續治療容易快速控制。

表 8 - 在治療期間最壞等級之相關眼睛 AE (每個患者及每個週期)

SAR566658 劑量	具有眼毒性 之患者數量	患者 編號	週期	眼睛AE	結果	週期 延遲劑量↓
≤60 mg/m ²	2個患者/11	004	Cy1	視力模糊，Gr1	痊癒	
		007	Cy1	乾眼，Gr2	痊癒	
120 mg/m ²	0/3	-				
150 mg/m ²	2個患者/3	023	Cy2-3-4-5	角膜炎，Gr2	痊癒	DD-DR
		026	Cy1-2-3-4- 5-6-7	乾眼，Gr1	痊癒	DDx3
			Cy3-5-6-7-8	角膜炎，Gr2	痊癒	
190mg/m ²	5個患者/6	031	Cy2-3	角膜炎，Gr2	痊癒	
		030	Cy2-3-4-5-6	乾眼，Gr1	痊癒	
			Cy3-4-6	角膜炎，Gr2	痊癒	DD
		035	Cy1-2	角膜炎，Gr2	痊癒	DD
			Cy2	流淚增加，Gr1	痊癒	
				畏光，Gr1	痊癒	
		036 ^a	Cy1-2	流淚增加，Gr1	未痊癒	
		043 ^b	Cy1	眼痛，Gr1	痊癒	
			Cy2	視力模糊，Gr1	未痊癒	
				角膜炎，Gr2	未痊癒	
240 mg/m ²	6個患者/8	034 ^b	Cy2-3-4-5- 6-7-8	角膜炎，Gr2	未痊癒	
		038 ^b	Cy2-3	角膜炎，Gr2	未痊癒	DD-DR
		033	Cy2	乾眼，Gr2	痊癒	
				角膜炎，Gr3	痊癒	DD-DR
				視力模糊，Gr2	痊癒	
		040	Cy1-2	乾眼，Gr1	痊癒	
			Cy2	角膜炎，Gr3	痊癒	DD-DR
				視力模糊，Gr3	痊癒	
		041	Cy2	角膜炎，Gr2	痊癒	DD-DR
		042	Cy2	角膜炎，Gr2	痊癒	DD-DR
合計	15 個 患 者 /34	出現角膜炎之中間週期：角膜炎(11個患者)，cy2 [1-3]；乾眼(6個患者)，cy1 [1-2]				

^a 在最後一次IP之後30天之內，臨終之時，事件仍在發展

^b 仍然在治療

2.6.2. 周邊神經病

在研究治療期間，十二個(35%)患者患有周邊神經病(HLT)或感覺異常/感覺遲鈍(HLT)。強度均為輕度至中度，並且該等事件沒有導致研究治療延遲或終止。應注意，所有患者為預先用化學療法治療之患者，該化學治療包括下列化合物中之一種或組合：奧沙利鉑、順

鉑、卡鉑、太平洋紫杉醇或多西他賽。此外，2個患者在參加研究時患有周邊神經病(021及035)。

8個患者之神經學事件歸因於研究治療。

關於周邊神經病(包括感覺異常及感覺遲鈍)，沒有觀察到明顯之劑量依賴性。

表9 - 初始計劃劑量所造成之最壞等級的周邊神經病(每個患者及每個週期)

SAR566658劑量	評估之患者數量	周邊神經病 ^a		感覺異常/感覺遲鈍 ^b		任何周邊神經事件	
		所有Gr	Gr3-4	所有Gr	Gr3-4	所有Gr	Gr3-4
≤60 mg/m ²	11	2	0	0	0	2	0
90mg/m ²	3	0	0	1	0	1	0
120 mg/m ²	3	1	0	0	0	1	0
150 mg/m ²	3	2	0	0	0	2	0
190mg/m ²	6	1	0	0	0	1	0
240 mg/m ²	8	4	0	2	0	5	0
總計	34	10(29.4%)	0	3	0	13(35.3%)	0

^a HLT周邊神經病NEC(周邊神經病、周邊感覺神經病)。

^b HLT

2.6.3. 肺毒性

按照實驗方案，在參加研究時及在每個週期之最後，進行肺功能測試。在第1週期之末期(DLT觀察期之末期)，將PFT結果發給肺病外科醫生，得到關於潛在肺毒性之建議。

迄今為止，在第1週期觀察到之PFT異常並非由肺毒性引起的(圖3)。

在一個以120 mg/m²治療之患者中，觀察到一種間質性肺炎。患有轉移性卵巢癌(涉及骨盆淋巴結及腹膜)之此患者(724001021)接受總共14個週期，且在第12週期出現肺症狀：1級呼吸困難及咳嗽。在顯現肺異常之相同週期期間，進行胸CT掃描。此外，PFT測試顯示，DLCO降低大約14%。因此，研究治療延遲，並開出類固醇及抗生素

之處方。患者感覺很好，且呼吸困難及咳嗽減輕。新的胸CT掃描證實先前之放射發現，且放射科醫師描述肺損害，疾病相關性不明顯，但不能排除與研究治療可能存在之相關性。與基線相比，PFT再次顯現DLCO降低約16%。決定進行支氣管鏡檢查，同時進行支氣管肺泡灌洗。繼續進行抗生素及類固醇治療。

治療延遲2週之後，在3月12日，患者感覺很好，咳嗽及呼吸困難得到改善。支氣管肺泡灌洗之後的微生物學檢查顯示陰性，沒有發現腫瘤細胞，且細胞學檢查顯示嗜中性白血球及嗜伊紅白血球浸潤。由於此等發現，不能排除研究治療關係。然而，由於良好的一般條件，呼吸道症狀得到改善，且對其腫瘤之益處提高。儘管與基線相比，DLCO降低10-20%，但調查者之決定(與發起人一致)為在相同劑量下繼續治療(按照方案)。進行第13週期及第14週期。在第14週期期間，咳嗽及呼吸困難痊癒。CT掃描顯示疾病進展(淋巴結損害增加)，並中斷治療。與基線相比，DLCO降低大約35%。其否認呼吸道症狀。在最後一次輸液之後45天，認為調查者解決間質性肺炎。

3. 功效結果

在劑量 $\geq 120 \text{ mg/m}^2$ 已經觀察到抗腫瘤臨床活性，亦即，放射學可評估之損害之腫瘤大小減小，或穩定時間較長，或腫瘤相關之症狀(諸如疼痛…)改善。

在33個可評估腫瘤響應之患者當中，一個患者證實PR，且報導15個穩定疾病(表10)。主要在劑量 $\geq 120 \text{ mg/m}^2$ 時觀察到SD及PR。實際上，在19個可評估在該等劑量下響應之患者當中，觀察到13個SD (包括2個未證實之PR及1個有待證實之PR)及1個PR。

應注意，無論劑量如何，腫瘤類型之該等PR/SD如下：

- 在9個胰臟癌中，2個短期SD，
- 在4個乳癌中，1個PR及1個未證實之PR (亦即SD)(已知分別用

10及40 mg/m²治療2個非響應性患者)，

- 在13個可評估之卵巢癌中，7個SD (包括一個未證實之PR及1個有待證實之PR)。

在150 mg/m²治療之一個63歲乳癌患者(724001026)中，報導PR。在第2週期觀察PR，證明在第4及6週期，靶向損害最大降低57%。在參加研究時，其具有2處肝臟靶向損害及多種肺部非靶向損害。先前抗癌療法包括3個前線化學療法：聚乙二醇化多柔比星-環磷醯胺，隨後太平洋紫杉醇及研究藥物(IND) 5個月，隨後吉西他濱(gemcitabine)及IND 1個月。此乳房腫瘤為對雌激素、孕酮或HER2之受體非陽性之三陰性腫瘤。按照IHC，CA6在存檔腫瘤(在參加研究之前1年)上之表達顯示70% 3+之膜染色。其總共接受8個週期之研究治療，並且由於記錄到肝臟疾病進展(靶向損害增加，並且出現新的損害)而中斷。

在15個SD當中，調查者報導2個未證實之PR及1個有待證實之PR：

- 一個患者(#724001021)，120 mg/m²：卵巢癌，65歲，預先用3個前線化學療法進行治療(太平洋紫杉醇-卡鉑，7個月；托泊替康(topotecan)，4個月；聚乙二醇化多柔比星，1個月)。其在參加研究時涉及腹膜及淋巴結。在研究治療期間，觀察到靶向損害之正常減退，相比於基線評估，在第10週期觀察到最大減退：在第8週期減退28.8%，在第10週期減退36.6%，在第12週期減退27.6%。在第14週期，觀察到靶向損害上之疾病進展，且患者中斷研究治療。按照IHC，CA6在存檔腫瘤(在參加研究之前12年)上之表達顯示40% 3+之膜染色。

- 一個患者(#250001031)，190 mg/m²：乳癌，49歲，預先用一些先前之抗癌劑治療法進行治療(氟尿嘧啶(flourouracile)-表柔比星-環磷醯胺、卡培他濱(capecitabine)、甲胺喋呤-環磷醯胺、多西他賽、

諾維本(navelbine)、艾立布林(eribulin)以及激素治療)。其在參加研究時涉及肝臟、淋巴結及骨。在第2週期觀察到靶向損害之減退(55%)，在第4週期仍然出現減退(71%)，但在第4週期診斷出癌性腦膜炎，且中斷治療。按照IHC，CA6在存檔腫瘤(在參加研究之前6年)上之表達顯示50% 2+之膜染色。

- 一個患者(840001041)，240 mg/m²：卵巢癌，67歲，2010年10月經診斷，隨後用手術及輔助性化學療法(太平洋紫杉醇-卡鉑)進行治療。在2013年1月診斷淋巴結復發，且其參加該試驗。在第2週期觀察到靶向損害之減退(35%)並且在第4週期得到證實。此外，報導腫瘤標誌物自39.5 UI/L降至11.3 UI/L (CA125)。按照IHC，CA6表達顯示15% 2+及35% 3+之膜染色。

此外，調查者報導，在一個患有膀胱癌之58歲男性患者中，觀察到一般狀態之改善。在參加研究時，其涉及骨盆淋巴結造成雙肢水腫。CT掃描顯示，穩定性至多達至第10週期，在第10週期中，觀察到新的損害，且患者中斷研究治療。

表10 - 最佳整體響應

SAR566658 劑量	治療之 患者數量	PR	SD	PD	NE
≤60 mg/m ²	11	0	1	10	-
90 mg/m ²	3	0	1	2	-
120 mg/m ²	3	0	2	1	-
150 mg/m ²	3	1 #026 乳癌	2 #021 PR未證實	0	-
190 mg/m ²	5	0	2 #031 PR未證實	3	1* (#043)
240 mg/m ²	8	0	7	1	0
合計	33	1	15	17	1*

* 太早，尚未評估患者

4. 藥物動力學(PK)結果

- SAR566658之平行消除概況，t_{1/2z}為大約5天

- 對SAR566658之暴露(C_{max} 及AUC)在10至240 mg/m^2 劑量範圍內增加，沒有劑量均衡性之嚴重偏離。

- 在20至240 mg/m^2 之劑量範圍內，清除率大致恆定，介於0.5及0.9公升/天之間，但用60 mg/m^2 治療之2個患者除外(CL約1.5-2公升/天)

- 總體而言，總差異性為較低至中等。

【符號說明】

無

【序列表】

<110> 法商賽諾菲公司
<120> 抗Muc1類美登素免疫綴合物抗體用於治療實體瘤之用途

<130> FR2013/032
<160> 10
<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> huDS6之CDR1-H

<400> 1

Ser Tyr Asn Met His
1 5

<210> 2
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> huDS6之CDR2-H

<400> 2

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

Gly

<210> 3
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> huDS6之CDR3-H

<400> 3

Gly Asp Ser Val Pro Phe Ala Tyr
1 5

<210> 4
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> huDS6之CDR1-L

<400> 4

Ser Ala His Ser Ser Val Ser Phe Met His
1 5 10

<210> 5
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> huDS6之CDR2-L

<400> 5

Ser Thr Ser Ser Leu Ala Ser
1 5

<210> 6
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> huDS6之CDR3-L

<400> 6

Gln Gln Arg Ser Ser Phe Pro Leu Thr
1 5

<210> 7
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> huDS6之重鏈可變區

<400> 7

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

<210> 8
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> huDS6之輕鏈可變區

<400> 8

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Met Ser Ala Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala His Ser Ser Val Ser Phe Met
20 25 30
His Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Thr Ser Pro Lys Leu Trp Ile Tyr
35 40 45

Ser Thr Ser Ser Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Gly Gly Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu
65 70 75 80

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

Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg
100 105

<210> 9
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> huDS6之重鏈

<400> 9

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

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

Asn Met His Trp Val Lys Gln Thr Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

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

Gln Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Pro Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Gly Asp Ser Val Pro Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ala Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<220>
<223> huDS6之輕鏈

<400> 10

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

Glu Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala His Ser Ser Val Ser Phe Met
20 25 30

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

Ser Thr Ser Ser Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Gly Gly Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu

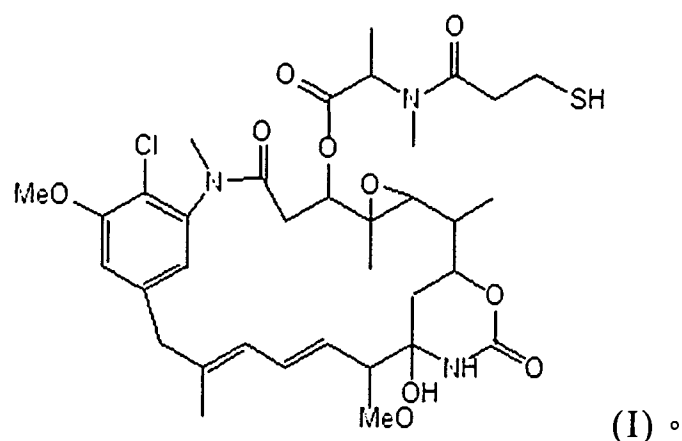
C183995SEQA.docx

申請專利範圍

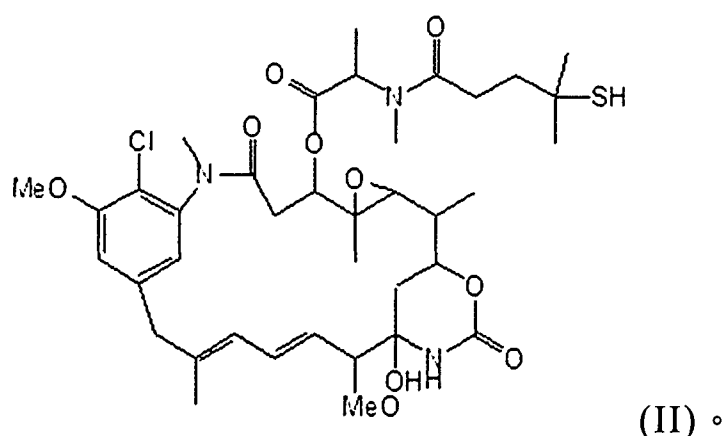
1. 一種綴合物之用途，其用於製造供治療癌症用之藥劑，該綴合物包含(i)與人黏蛋白-1(MUC1)醣蛋白結合之細胞結合劑，連接至(ii)至少一種細胞毒性劑，其中該綴合物之投藥劑量為至少120 mg/m²。
2. 如請求項1之用途，其中該細胞結合劑結合該MUC1醣蛋白之胞外域。
3. 如請求項1或2之用途，其中該細胞結合劑識別並結合該MUC1醣蛋白上之CA6醣抗原決定基。
4. 如請求項1或2之用途，其中該細胞結合劑為抗體或其抗原決定基結合片段。
5. 如請求項4之用途，其中該抗體或其抗原決定基結合片段包含一或多個互補決定區(CDR)，該互補決定區(CDR)具有選自由SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 5及SEQ ID NO: 6組成之群的胺基酸序列。
6. 如請求項5之用途，其中該抗體或其抗原決定基結合片段包含序列SEQ ID NO: 1之CDR1-H、序列SEQ ID NO: 2之CDR2-H、序列SEQ ID NO: 3之CDR3-H、序列SEQ ID NO: 4之CDR1-L、序列SEQ ID NO: 5之CDR2-L及序列SEQ ID NO: 6之CDR3-L。
7. 如請求項5之用途，其中該抗體或其抗原決定基結合片段包含序列SEQ ID NO: 7之重鏈可變區或與其至少相同85%之序列。
8. 如請求項5之用途，其中該抗體或其抗原決定基結合片段包含序列SEQ ID NO: 8之輕鏈可變區或與其至少相同85%之序列。
9. 如請求項4之用途，其中該抗原決定基結合片段係選自由以下組成之群：Fv、Fab、F(ab')₂、Fab'、dsFv、(dsFv)₂、scFv、

sc(Fv)₂、雙功能抗體及VHH。

10. 如請求項1或2之用途，其中該細胞結合劑為單株抗體，該單株抗體包含序列SEQ ID NO: 9之重鏈及序列SEQ ID NO: 10之輕鏈或與其至少相同85%之序列。
11. 如請求項1或2之用途，其中該至少一種細胞毒性劑係選自由以下組成之群：類美登素、小分子藥物、托馬黴素衍生物、來普黴素衍生物、前藥、紫杉烷、CC-1065及CC-1065類似物。
12. 如請求項11之用途，其中該至少一種細胞毒性劑為式(I)之美登素DM1



13. 如請求項11之用途，其中該至少一種細胞毒性劑為式(II)之美登素DM4



14. 如請求項1或2之用途，其中該細胞結合劑經由可裂解的或非可裂解的連接基與該至少一種細胞毒性劑共價連接。
15. 如請求項14之用途，其中該連接基係選自由以下組成之群：吡

啖基二硫基丁酸N-丁二醯亞胺酯(SPDB)、4-(吡啖-2-基二硫基)-2-磺基-丁酸(磺基-SPDB)及(N-順丁烯二醯亞胺基甲基)環己烷-1-甲酸丁二醯亞胺酯(SMCC)。

16. 如請求項14之用途，其中該連接基為吡啖基二硫基丁酸N-丁二醯亞胺酯(SPDB)且該細胞毒性劑為DM4。
17. 如請求項14之用途，其中該連接基為4-(吡啖-2-基二硫基)-2-磺基-丁酸(磺基-SPDB)且該細胞毒性劑為DM4。
18. 如請求項1或2之用途，其中該綴合物之藥物與抗體之比例(DAR)在3至4範圍內，該DAR由該細胞毒性劑濃度(c_D)與該細胞結合劑濃度(c_A)之比例計算；

$$DAR = c_D / c_A$$

其中

$$c_D = [(\epsilon_{A280} \times A_{252}) - (\epsilon_{A252} \times A_{280})] / [(\epsilon_{D252} \times \epsilon_{A280}) - (\epsilon_{A252} \times \epsilon_{D280})]$$

$$c_A = [A_{280} - (c_D \times \epsilon_{D280})] / \epsilon_{A280}$$

且

ϵ_{D252} 及 ϵ_{D280} 分別為該細胞毒性劑在252 nm及280 nm處之莫耳消光係數，

ϵ_{A252} 及 ϵ_{A280} 分別為該細胞結合劑在252 nm及280 nm處之莫耳消光係數，

A_{252} 及 A_{280} 分別為使用經典分光光度計設備量測之該綴合物在252 nm(A_{252})及在280 nm(A_{280})處之吸光度。

19. 如請求項1或2之用途，其中該綴合物之投藥劑量在150 mg/m²至240 mg/m²範圍內。
20. 如請求項1或2之用途，其中該綴合物之投藥劑量為190 mg/m²。
21. 如請求項1或2之用途，其中該綴合物之該投與每3週作為一個新的週期重複。

22. 如請求項21之用途，其中週期中位數為2。
23. 如請求項1或2之用途，其中該綴合物係靜脈內投與的。
24. 如請求項23之用途，其中該綴合物以1 mL/min之速率投與30分鐘，且隨後在沒有過敏性反應之情況下，升至2 mL/min之最大速率。
25. 如請求項1或2之用途，其中該癌症為實體腫瘤。
26. 如請求項1或2之用途，其中該癌症為CA6陽性腫瘤。
27. 如請求項25之用途，其中該癌症係選自由乳癌及卵巢癌組成之群。
28. 如請求項27之用途，其中該癌症為乳癌。
29. 如請求項28之用途，其中該乳癌為對雌激素、孕酮或HER2之受體非陽性之三陰性乳癌。
30. 如請求項1或2之用途，其中所治療之患者先前已經用基於奧沙利鉑、順鉑、卡鉑及/或太平洋紫杉醇、多西他賽之方案進行治療。
31. 如請求項1或2之用途，與預防或治療角膜炎之眼組合物組合。
32. 一種綴合物之用途，其用於製造供治療選自由乳癌及卵巢癌組成之群的癌症用之藥劑，該綴合物包含：(i)與人黏蛋白-1(MUC1)醣蛋白結合之細胞結合劑，連接至(ii)至少一種細胞毒性劑。
33. 一種綴合物之用途，其以至少120 mg/m²之劑量用於製造供治療癌症用之藥劑，該綴合物包含：(i)與人黏蛋白-1(MUC1)醣蛋白結合之細胞結合劑，連接至(ii)至少一種細胞毒性劑。
34. 一種製品，其包含：
 - a)包裝材料；
 - b)綴合物，其包含(i)與人黏蛋白-1(MUC1)醣蛋白結合之細胞

結合劑，連接至(ii)至少一種細胞毒性劑；及

c)含在該包裝材料內之標籤或包裝說明書，其標明該綴合物之投藥劑量為至少120 mg/m²。

35. 一種製品，其包含：

a)包裝材料；

b)綴合物，其包含(i)與人黏蛋白-1(MUC1)醣蛋白結合之細胞結合劑，連接至(ii)至少一種細胞毒性劑；及

c)含在該包裝材料內之標籤或包裝說明書，其標明投與該綴合物以用於治療選自由乳癌及卵巢癌組成之群的癌症。

圖式

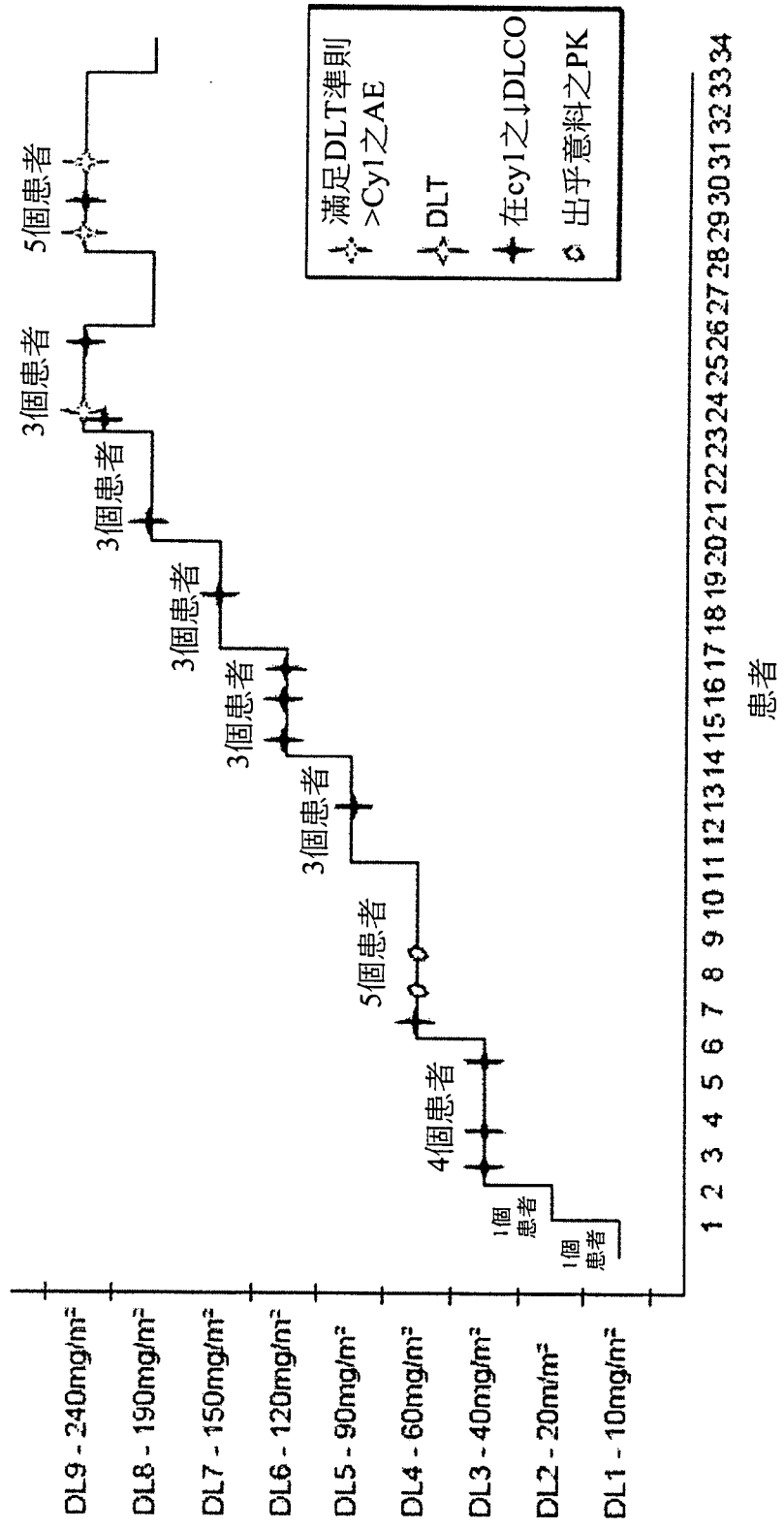


圖1

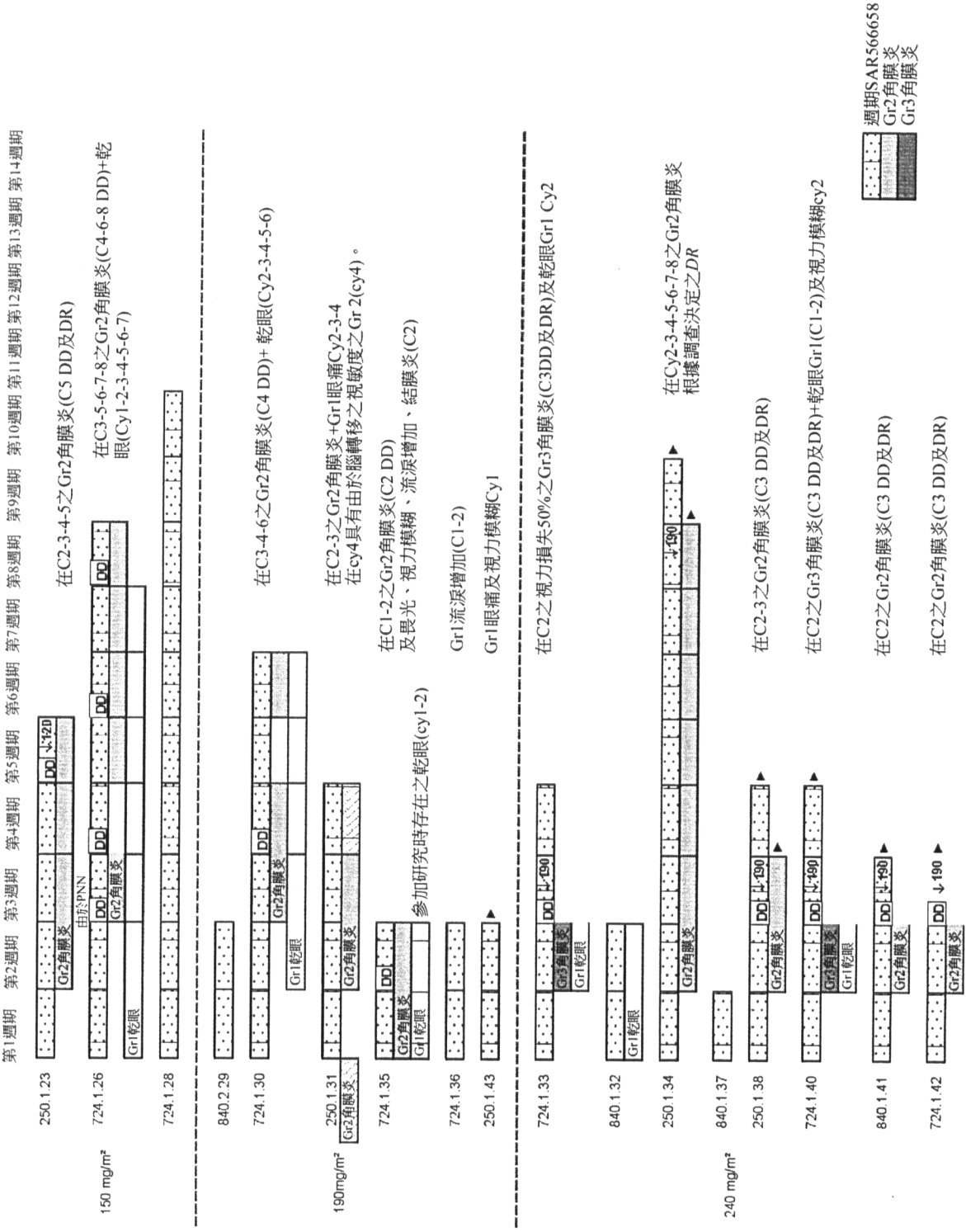


圖2

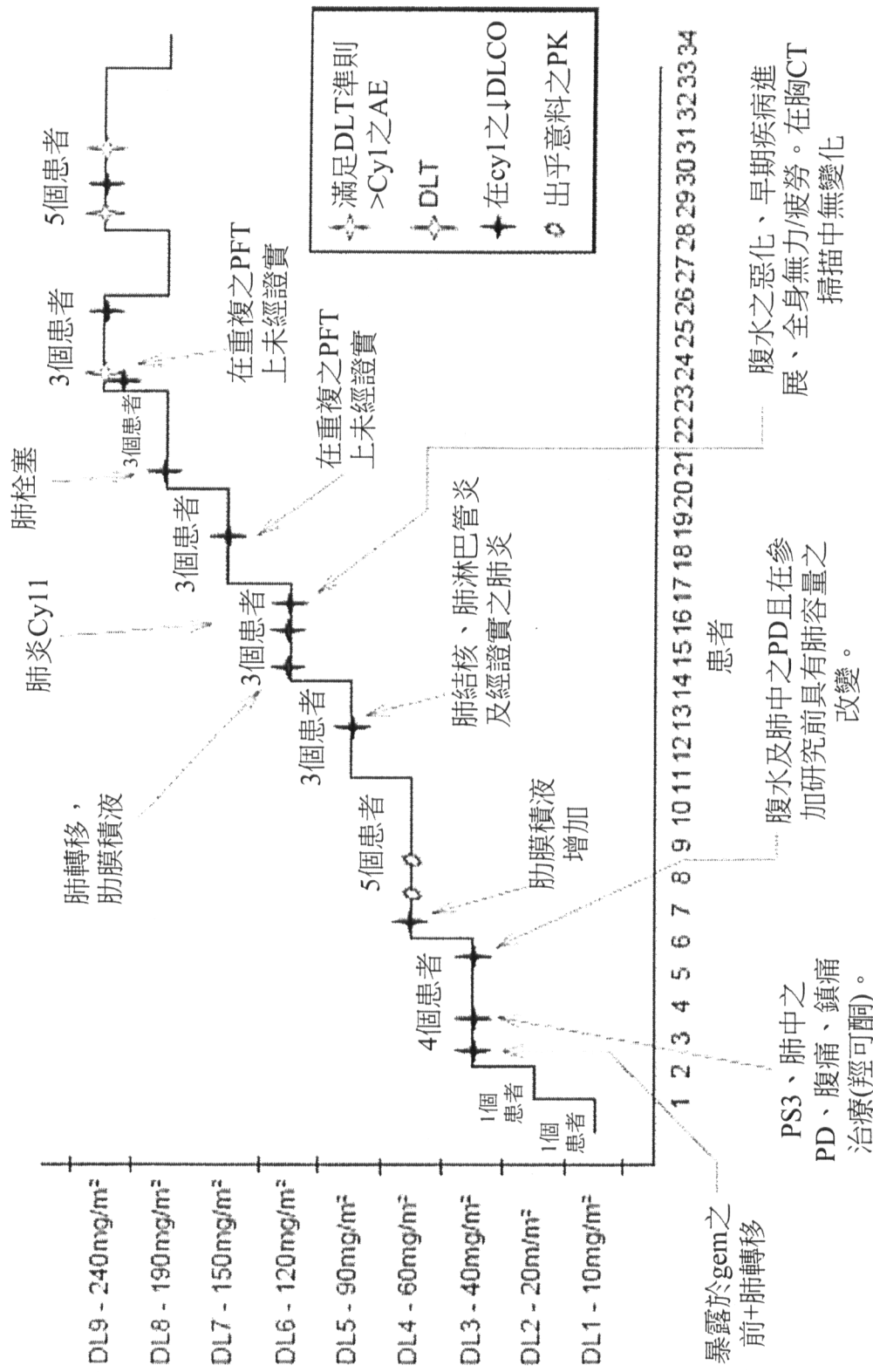


圖3