

台灣藥物法規  
資訊法規公告台灣藥品  
臨床試驗資訊TFDA藥物  
食品安全過程致力法規科學  
守護生命健康

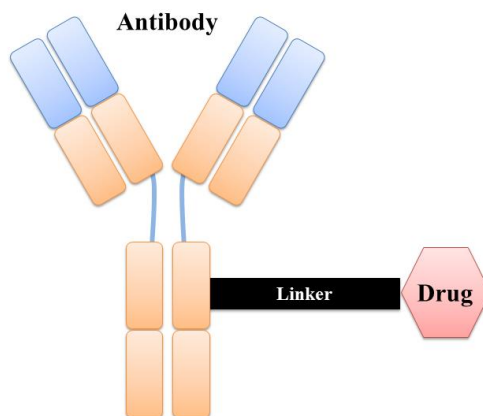
Dedicated to Regulatory Science, Service for Life

## 抗體藥物複合體之特性分析考量

王誌慶 林俞廷<sup>1</sup>

### 前言

抗體藥物複合體(antibody-drug conjugates, ADCs)是結合抗體和藥物(payload)於一體的標靶治療藥品，其主要目的是經由標靶特性使藥物的治療區間(therapeutic window)變寬。一個成功有效的抗體藥物複合體可從三個基本組成來探討，分別是單株抗體(monoclonal antibodies, mAbs)、連接子(linker)和小分子藥物(圖一)。單株抗體的功能是與目標抗原結合，使藥物有標靶治療的特性。除此之外，抗體本身也有其治療機制，像是效用功能(effector function)，包括抗體依賴型細胞介導的細胞毒性作用(antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity, ADCC)和補體依賴型細胞毒性作用(complement-dependent cytotoxicity, CDC)等。藥物是指對病灶內有療效的小分子。連接子主要功能是連結抗體和藥物，當連接子的兩端分別透過共價鍵接上抗體和藥物後，即稱為抗體藥物複合體<sup>[1]</sup>。



圖一、抗體藥物複合體示意圖

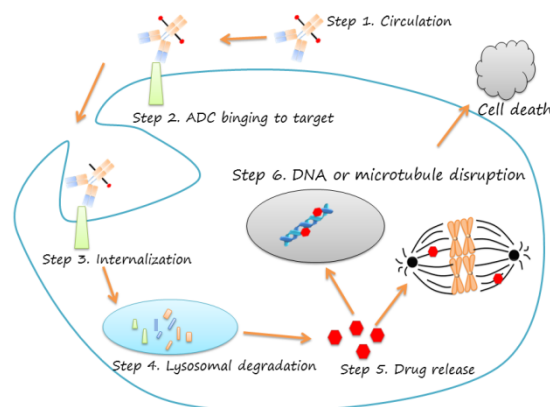
目前多數發展抗體藥物複合體，是做為治療癌症用藥。其作用機制是當抗體藥物複合體進入血液循環系統後，經由抗體藥物複合體之抗體分子，辨識與結合高度表現於細胞表面之抗原(antigen)，再經胞吞作用(endocytosis)，將抗體藥物複

<sup>1</sup> 財團法人醫藥品查驗中心藥劑科技組

台灣藥物法規  
資訊網法規公告台灣藥品  
臨床試驗資訊TFDA 藥物  
食品安全過程致力法規科學  
守護生命健康

Dedicated to Regulatory Science, Service for Life

合體內吞入細胞內。進入細胞內的抗體藥物複合體會經由不同機制釋放出具細胞毒性之藥物(cytotoxic chemicals)，其釋放機制可有由溶酶體(lysosome)降解蛋白質，或是特殊酵素水解連接子等。釋放出的藥物或其衍生物會透過破壞 DNA 或是微管(microtubule)等方式使細胞死亡(圖二)<sup>[5, 6]</sup>。



圖二、抗體藥物複合體作用機制

台灣於 2014 年和 2013 年分別核准 Adcetris® (brentuximab vedotin, SGN-35) 和 Kadcylla® (ado-trastuzumab emtansine, T-DM1) 上市，這是現今台灣、歐洲與美國市場上唯二的抗體藥物複合體。從 2013 年後已有超過 30 個新的抗體藥物複合體癌症用藥進入臨床試驗，且有超過 100 個癌症臨床試驗正在進行中，可見得此領域正在迅速發展當中<sup>[1,2,5]</sup>。有鑑於目前尚未有法規單位發表專屬抗體藥物複合體的化學管制製造(Chemistry, Manufacturing and Controls, CMC)相關法規或指導原則，本文將藉由回顧已上市之抗體藥物複合體，探討化學管制製造之特性分析的審查考量。

## 已獲准上市之抗體藥物複合體

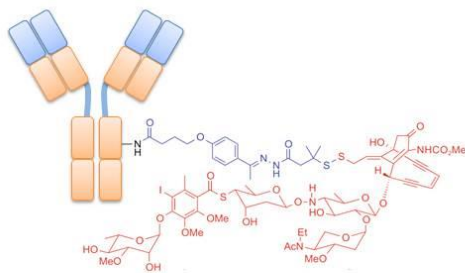
表一整理三個已(曾)獲准上市之抗癌藥物複合體，詳列其開發廠商、適應症、標的抗原、抗體、連接子及美國、歐盟和台灣上市時間。美國食品藥物管理局(US FDA)於 2000 年核准第一個抗體藥物複合體，為 Pfizer 的 Mylotarg® (gemtuzumab ozogamicin)，此藥卻於 2010 年主動於美國下市(圖三)。目前美國、歐洲與台灣市場上唯二經核准的抗體藥物複合體，有 2011 年 US FDA 最先核准由 Seattle Genetics 所研發的 Adcetris® (brentuximab vedotin, SGN-35)，和 2013 年 US FDA

台灣藥物法規  
資訊法規公告台灣藥品  
臨床試驗資訊FDA 藥物  
食品安全通報致力法規科學  
守護生命健康

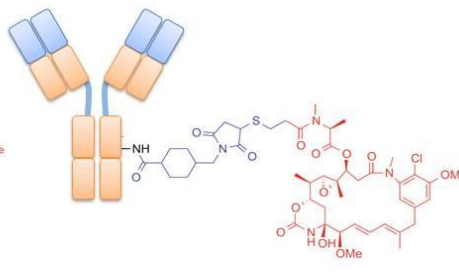
Regulatory Science, Service for Life

最先核准由羅氏藥廠所研發的 Kadcylla® (ado-trastuzumab emtansine, T-DM1)，此兩項藥物也分別於 2014 年和 2013 年於台灣獲准上市。

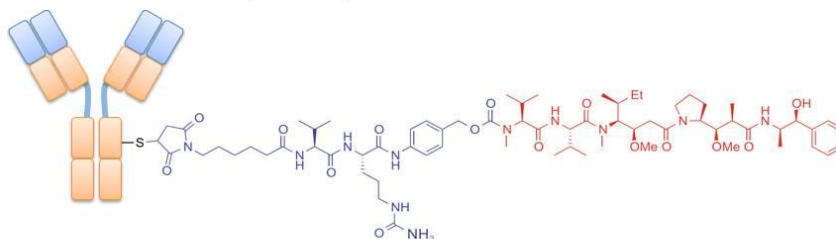
a. Gemtuzumab ozogamicin (Mylotarg®)



b. Trastuzumab emtansine (Kadcylla®)



c. Brentuximab vedotin (Adcetris®)



圖三、已(曾)獲准上市之抗體藥物複合體之化學結構

### 一、Mylotarg® (Gemtuzumab ozogamicin)

Pfizer 之 Mylotarg® (gemtuzumab ozogamicin) 於 2000 年獲准上市時之適應症是用於治療急性骨髓性白血病 (Acute Myelogenous Leukemia, AML)。惟上市後研究發現，與單獨接受化學治療 (chemotherapy) 相比，並無法有效地延長病患存活時間，且顯示有較高的致死率，並有導致肝靜脈栓塞之風險。因此，Pfizer 於 2010 年主動於美國下市。Mylotarg 是由抗體 hP67.6，連接子 4-(4-acetylphenoxy) butanoic acid (AcBut) 與具細胞毒性的抗腫瘤抗生素 N-acetyl- $\gamma$ -calicheamicin 所組成。此藥物複合體之作用機制是藉 hP67.6 與抗原 CD 33 作用後，Mylotarg 經胞吞作用進入細胞內，當其位於細胞溶酶體內時，Calicheamicin 的衍生物會被釋放出來與雙股 DNA 作用，進而造成癌細胞死亡，達到療效。

hP67.6 是 humanized IgG4 kappa 抗體，可與 CD 33 抗原結合。IgG4 亞型抗體的特性包括有較長的 circulating half-life，及沒有抗體依賴型細胞介導的細胞毒性作用和補體依賴型細胞毒性作用<sup>[3,5]</sup>。每一個抗體經由 Lysine 殘基隨機鍵結 1-8

個 Calicheamicin，每一抗體藥物複合體的平均藥物含量(drug per antibody ratios，DAR)是 2-3 個 Calicheamicin。

Acid-labile hydrozone 4-(4-acetylphenoxy) butanoic acid 是一種可切斷的連接子，在酸性條件下可水解切除。因此透過 Lysosome (pH~4.8) 的 pH 值低於在血液循環中 pH 值的特性，可達到選擇性釋放藥物的目的<sup>[7]</sup>。

Calicheamicin 是一具細胞毒性的抗腫瘤抗生素，早在 1980 年代即由細菌 *Micromonospora echinospora* 中純化而得。自複合體中經水解釋放出來的 Calicheamicin 衍生物，會與雙股 DNA 小凹槽(minor groove)中之 TCCTAGGA 序列結合，造成雙股 DNA 斷裂進而導致細胞死亡<sup>[5, 6]</sup>。

Mylotarg 可視為第一代的抗體藥物複合體，具有下列特性：(i) 有 CD 33-specific 和 CD 33-independent 兩種內在化機制；(ii) 酸水解性連接子不穩定，以致於藥物容易釋出；(iii) 高度分子異質性(heterogeneity)，每一個抗體可以鍵結 1-8 個 Calicheamicin，雖然抗體藥物複合體的平均藥物含量是 2-3 個 Calicheamicin，但是有 50% hP67.6 沒有鍵結任何 Calicheamicin，這些沒有鍵結藥物之 hP67.6 會與有鍵結藥物之 hP67.6 產生競爭作用，進而抑制 Mylotarg 的療效<sup>[2, 6]</sup>。

## 二、Adcetris® (Brentuximab vedotin, SGN-35)

Adcetris® (Brentuximab vedotin)適應症有二，分別是：1)用於成人患者，治療復發或頑固型 CD 30+ 何杰金氏淋巴瘤(Hodgkin's Lymphoma, HL)；及 2)用於成人患者，治療復發或頑固型全身性退行分化型大細胞淋巴瘤(systemic anaplastic large cell lymphoma, sALCL)。Brentuximab vedotin 是由 Chimeric IgG1 抗體 cAC10，valine-citrulline dipeptide linker 和微管蛋白聚合抑制劑 monomethyl auristatin E (MMAE)三個分子所構成。Brentuximab vedotin 可結合抗原 CD 30，並經由依賴網格蛋白的胞吞作用進入細胞(caveolae-mediated uptake)內，再由酵素 cathepsin B 作用於連接子釋放出 MMAE。MMAE 會抑制微管蛋白聚合，進而導致細胞死亡<sup>[2, 3]</sup>。Brentuximab vedotin 沒有補體依賴型細胞毒性作用，但有部分抗體依賴型細胞介導的細胞毒性作用。

cAC10 是 chimeric anti-CD30 抗體，不可變區是人類抗體重鏈 Gamma 1 和輕鏈 Kappa 所構成，有抗體依賴型細胞介導的細胞毒性作用<sup>[5]</sup>。當位在 cAC10 Hinge 的 inter-chain 雙硫鍵還原打斷，使形成 cysteine sulfhydryl (Cys-SH) groups 時，連接子會與其反應鍵結，每個 cAC10 可鍵結 2-8 個 MMAE，平均每個 cAC10 會鍵



結 4 個 MMAE<sup>[3, 5]</sup>。

Valine-citrulline dipeptide linker 對 cathepsin B 會有反應，而 cathepsin B 是一種 lysosomal protease，會大量表現在多種癌細胞中，其主要切點位置是胺基酸序列 phenylalanine-lysine (Phe-Lys)和 valine-citrulline (Val-Cit)。此連接子會與 cAC10 有限的 cysteine 反應，因此 brentuximab vedotin 可以有較好的藥物含量管控和分子異質性管控，此外因為利用酵素可切型的連接子，只有進入會表現 Cathepsin B 的癌細胞中，才會有效地水解釋放出藥物，所以在血液循環中較穩定，且具有特异性(Specificity)<sup>[7, 10]</sup>。

MMAE 是微管蛋白聚合抑制劑，作用機制是與 $\alpha$ - $\beta$  tubulin 中的 $\beta$ -subunit 結合，中斷 Polymerization，達到抑制微管蛋白生長的效果。MMAE 另一特點是有 Bystander effect，此效應是因為 MMAE 疏水性分子的特性，所以具有可以從標的細胞中擴散到鄰近細胞的能力，以至於除了毒殺標的細胞之外，也會導致鄰近非標的細胞的死亡<sup>[1, 5, 12, 14]</sup>。

### 三、Kadcyla® (Ado-trastuzumab emtansine, T-DM1)

Kadcyla® (T-DM1)的適應症是治療 HER2 陽性乳癌，此複合體藥物由三個分子構成，分別是 1) Humanized IgG1 抗體 trastuzumab；2) 連接子 *N*-maleimidomethyl cyclohexane-1-carboxylate (MCC)；及 3) 微管蛋白聚合抑制劑 maytansinoid DM1。連接子會先與 trastuzumab 中之 lysine 的 epsilon-amino group 形成 amide bond，後與 DM1 形成 thioether bond 鍵結，最終成為 ado-trastuzumab emtansine。當 Kadcyla 與 human epidermal growth factor receptor 2 (HER2)結合，並內吞入細胞內後，會經由酵素水解(lysosomal degradation)作用釋放出 Lys-DM1。Lys-DM1 會抑制微管蛋白聚合，造成細胞死亡。此外 T-DM1 保有抗體依賴型細胞介導的細胞毒性作用<sup>[14]</sup>。

Trastuzumab 是一 Humanized IgG(1) kappa 單株抗體，其抗原是人類上皮因子接受體第二型蛋白(human epidermal growth factor receptor 2, HER2)。其適應症為治療 HER2 過度表現或 HER2 基因 Amplification 之早期乳癌及轉移性乳癌。作用機制包括抗體依賴型細胞介導的細胞毒性作用，抑制 HER2 dimerization，抑制 HER2 extracellular domain cleavage 和抑制 PI3K-AKT 訊息傳導路徑等等<sup>[9]</sup>。就抗體藥物複合體觀點來看，trastuzumab 具有可以有效地內在化及降解等特性<sup>[7]</sup>。Trastuzumab 可與 0-9 個 DM1 鍵結，每個 trastuzumab 平均會接 3.5 個 DM1。

MCC 連接子是屬於不可切斷型的連接子(non-cleavable Linkers)，因連接子與 trastuzumab 和 DM1 間分別以 amide bond 和 thioether bond 鍵結，所以當 T-DM1 經由 Cytosolic 和 Lysosomal proteases 作用降解後，所釋放出的為 Lys-DM1，而非 DM1<sup>[7, 10]</sup>。不可切斷型連接子相對於可切斷型連接子有較佳的穩定性。

Maytansinoid DM1 是微管蛋白聚合抑制劑，其作用機制是與正在形成中的 Microtubule 的 Plus end 結合，中斷 Polymerization<sup>[2, 5]</sup>。此複合體藥物經降解作用後釋出的 Lys-DM1 沒有 Bystander killing effect。

表一、已(曾)核准上市之抗體藥物複合體

	Gemtuzumab ozogamicin (Mylotarg®)	Brentuximab vedotin (Adcetris®)	Ado-trastuzumab emtansine (Kadcyla®)
廠商	Pfizer	Seattle Genetics	Genentech
適應症	acute myeloid leukemia (AML)	Relapsed Hodgkin lymphoma (HL) and systemic anaplastic large cell lymphoma (sALCL)	Relapsed or chemotherapy refractory HER2-positive breast cancer
標的抗原	CD 33	CD 30	human epidermal growth factor receptor 2 (HER2)
抗體(類型)	hP67.6 (Humanized IgG4)	cAC10 (Chimeric IgG1)	Trastuzumab (Humanized IgG1)
連接子	4-(4-acetylphenoxy) butanoic acid (AcBut): Cleavable acid-labile hydrozone linker attached to random lysine residues	valine-citrulline dipeptide linker: Cathepsin B cleavable linker attached to the hinge cysteine residues	N-succinimidyl 4-(N-maleimidomethyl) cyclohexane-1-carboxylate (SMCC): Non-cleavable thioether linker attached to random lysine residues
藥物/細胞作用機制	N-acetyl gamma calicheamicin dimethyl hydrazide (NAc-gamma calicheamicin DMH) <ul style="list-style-type: none"> <li>DNA-targeting agents</li> </ul>	Monomethyl auristatin E (MMAE) <ul style="list-style-type: none"> <li>Tubulin-targeting agents</li> </ul>	Mertansine (Maytansinoid DM1) <ul style="list-style-type: none"> <li>Tubulin-targeting agents</li> </ul>
比例	2-3 calicheamicin moieties per IgG (about 50% of antibody is linked to calicheamicin with average 4-6 ADR)	4 MMAE moieties per IgG	3-4 DM1 moieties per IgG

台灣藥物法規  
資訊法規公告台灣藥品  
臨床試驗資訊TFDA藥物  
食品安全過程致力法規科學  
守護生命健康

Regulatory Science, Service for Life

US FDA 上(下)市時間	IND submission : in 1993 Accelerated approval: in 2000 Withdrawn: in 2010	IND submission : in 2006 Accelerated approval: in 2011	IND submission : in 2005 Approval: in 2013
EMA 上市時間	X	Approved in 2012	Approved in 2013
TFDA 上市時間 及核准適應症	X	2014 雅詩力凍晶注射劑 (衛部菌疫輸字第 000964 號) 1.ADCETRIS 核准用於 成人患者，治療復發或 頑固型 CD 30+何杰金 氏淋巴瘤(HL)：1)已接 受自體幹細胞移植 (ASCT)，及 2)無法使用 ASCT 或多重藥物化 療，且先前至少已接受 兩種治療。 2.ADCETRIS 核准用於 成人患者，治療復發或 頑固型全身性退行分化 型大細胞淋巴瘤 (systemic anaplastic large cell lymphoma ; sALCL)	2013 賀癌寧凍晶注射劑 衛部菌疫輸字第 000949 號 KADCYLA 單獨使用時 能夠治療 HER2 陽性、之 前分別接受過 trastuzumab 與一種 taxane 藥物治療或其合 併療法的轉移性乳癌病 患。說明：病患應符合 下列條件： 之前已經接 受過轉移性癌症治療，或 在輔助療法治療期間或 完成治療後 6 個月內癌 症復發。

由以上回顧分析可知，針對抗體藥物複合體之品質，除須分析一般抗體藥物要求的項目包括抗體分子對於標的細胞的選擇性和分子異質性等外，內在化機制、鍵結藥物位置是否影響作用機制等亦應納入考量。抗體藥物複合體中，連接子對藥物釋放機制有重要的影響，並非只是連接抗體與藥物而已，因此須考量的特性包括在血液循環中的穩定性、釋放藥物機制及造成分子異質性的影響等。至於藥物複合體還須考量在血液循環中及溶酶體中的穩定性；若是透過不可切斷型連接子鍵結，其衍生物是否依然有療效；及對於疏水性藥物是否有 Bystander killing effect 等等。

## 化學管制製造之特性分析考量

抗體藥物複合體中之抗體和藥物皆視為中間物(intermediate)，當由連接子鍵結兩者後則為原料藥(Drug substance)。抗體分子在作用機制上扮演重要的角色，因此對抗體藥物複合體、小分子藥物/連接子中間物及抗體中間物都應有足夠的

特性分析<sup>[11]</sup>。

### 一、小分子藥物/連接子中間物特性分析(Characterization of Drug/Linker Intermediate)

小分子藥物/連接子中間物應針對外觀、鑑別、不純物、含量或其他可能影響品質與安全之特性，進行管制並訂定合理之允收標準。其製造(如全合成、半合成、發酵等)應包含製程及製程管制之描述、物料管制、關鍵步驟及中間體管制、製程確效、製程開發等。其特徵及結構鑑定應包含紫外光光譜(UV)、紅外光光譜(IR)、質譜(MS)、核磁共振圖譜(NMR)、元素分析等足以確認其結構之資料。依據小分子藥物/連接子中間物之製程，應評估可能產生之不純物(包含降解及製程相關不純物、重金屬、殘餘溶劑等)，以判斷其品質管制之適當性。安定性試驗應涵蓋小分子藥物/連接子中間物之物理及化學安定性，以確保再驗期間之品質。

### 二、抗體中間物特性分析(Characterization of Antibody Intermediate)

此項分析可依 ICH Q6B 原則，分成物理化學特性分析(physicochemical properties)、生物活性分析(biological activity)、免疫化學性質分析(immunochemical property)、純度(purity)、不純物(impurity)、汙染物(contaminants)和含量(quantity)等。物理化學特性分析應包含組成分析、一級結構、高級結構及轉譯後修飾作用(post-translational modifications)所造成的分子異質性等。生物活性分析是藉由動物實驗(animal-based assay)、細胞實驗(cell culture-based assay)或是生化實驗(biochemical assay)等分析方法，為產品品質屬性提供資訊和建立藥品效價。對於抗體而言，免疫化學性質分析是必要的，應包括抗體與抗原間的結合能力、辨識區域和效用功能(Effector function)等。不純物分析應包括製程相關不純物(process-related impurity)和產品相關不純物(product-related impurity)。製程相關不純物，包括上游製程中的宿主細胞衍生蛋白質和 DNA 及培養細胞之培養基組成殘留等。下游製程相關不純物，包括酵素、無機鹽類、溶劑及純化管柱基質蛋白殘留等。產品相關不純物，包括截短型片段抗體(truncated form)、抗體的聚集物(aggregats)、氧化作用後的抗體(oxidized form)、及含不正確雙硫鍵的抗體(mismatched S-S linked form)等。對於產品相關不純物，須考量其對抗體藥物複合體的影響，例如與抗體藥物複合體相互競爭結合區，進而抑制療效等。另外對於汙染物(contaminants)包括病毒和黴漿菌等應有適當的管控與確效，相關規定可參考 ICH Q5A(R1)<sup>[19]</sup>和 Q5D<sup>[20]</sup>。



### 三、抗體藥物複合體特性分析(Characterization of Antibody-Drug Conjugate)

此項分析，應與抗體中間物要求相同，包含物理化學特性分析、生物活性分析、免疫化學性質分析、純度、不純物、汙染物和含量等。與抗體中間物不同的是，抗體藥物複合體著重於因連接藥物或是連接子所造成的分子異質性、連接子於血液循環中的穩定性及反應前後抗體分子的物理化學特性與功能性。鍵結步驟(conjugation)對於抗體藥物複合體之大小、帶電量和生物活性等特性會有影響，因此在執行這些特性分析時須特別注意。例如以帶電量為原理的分析方法，對於 lysine 連接型的抗體藥物複合體，便無法有效分析鍵結藥物前後抗體分子之特性，因為 lysine 是帶電胺基酸，當 lysine 連接藥物時會改變其帶電特性，隨著 Drug-Antibody ratio 的不同，複合體的帶電量不同，以至於有額外分子異質性的產生，但此異質性卻無法反映鍵結前後抗體分子是否有差異。

一般常見的分析列於表二，以下就其中幾項提出討論：

**鑑別測定(identity)：**鑑別方法須能專一性地辨識抗體藥物複合體，確認其含有抗體及具有功能小分子兩個基本組成。可以用物理化學方法及功能性試驗，做為正交試驗(orthogonal method)來鑑別藥品。

**效價測定(potency)：**因抗體藥物複合體作用機制的的第一步即是與抗原結合，所以測定抗體藥物複合體之效價時，須探討鍵結過程(conjugation process)與所鍵結的藥物，是否對抗體與抗原間的結合能力產生影響。此外，如果抗體有治療作用機制像是效用功能(effector function)等，也應對該機制加以評估。常用 ELISA 與 Cell-based 測定方法評估抗體藥物複合體和抗原結合效率與細胞毒性。Cell-based 測定方法須可證明從抗體藥物複合體與細胞表面抗原結合，而後發生內吞作用再到最終的毒殺細胞等一系列作用機制<sup>[4]</sup>。

**分子異質性：**抗體藥物複合體異質性是指抗體中間物與不等數目小分子在不同喜好鍵結位置鍵結所形成的現象。不同變異體(variant)效價可能不同，也可能會有不同藥物動力學的特性。因此抗體藥物複合體的平均藥物含量分析(average drug per antibody ratios, average DAR)、抗體藥物複合體的藥物含量分布(drug load distribution)及不同藥物含量之個別變異(individual drug load variants)分析，皆是重要的特性分析項目<sup>[4, 5, 13]</sup>。常見分析分子異質性的技術，有疏水性作用層析法(hydrophobic interaction high performance liquid chromatography, HIC-HPLC)、分子篩層析(size exclusion chromatography、SEC-HPLC)、逆相層析法(reversed phase chromatography, RP-HPLC)、毛細管電泳(capillary electrophoresis with sodium

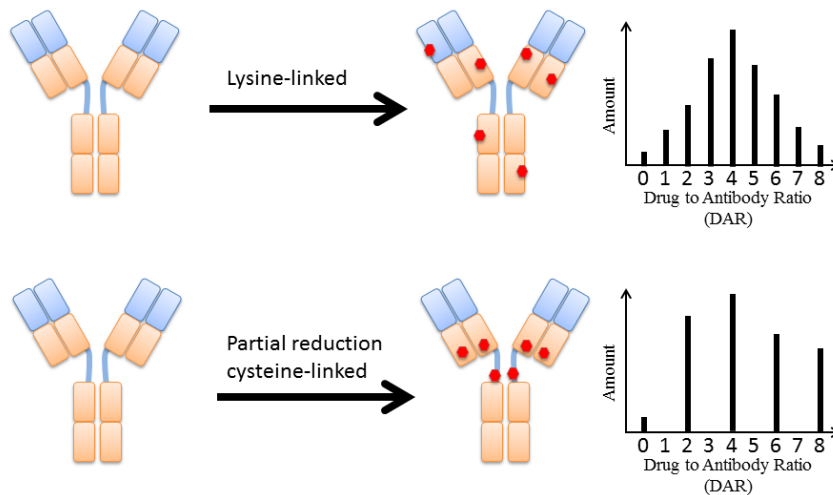
dodecyl sulfate, CE-SDS)、質譜分析及序列測定(Peptide mapping)等等。經由 lysine 或是 cysteine 鍵結連接子是兩個常見的隨機鍵結策略，圖四為兩種鍵結策略造成的抗體藥物複合體分子異質性及其藥物含量分布(drug load distribution)示意圖。以 cysteine 鍵結的抗體藥物複合體，一般會選用疏水性作用層析法來進行分析；而以 lysine 鍵結的抗體藥物複合體一般會選用基質輔助雷射脫附游離/飛行時間質譜(MALDI-TOF MS)或是電噴灑游離/飛行時間質譜(ESI-TOF MS)來進行分子異質性分析。

表二、抗體中間物與抗體藥物複合體之特性分析

	Antibody Intermediate	Antibody-Drug Conjugate
Primary structure	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Sequence analysis</li> <li>2. N, C-terminal sequence analysis</li> <li>3. Peptide mapping</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Drug attachment sites</li> </ol>
Secondary and high order structure	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Size and charge variants</li> <li>2. Molecular weight</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Size and charge variants</li> <li>2. Molecular weight</li> <li>3. Drug/antibody ratio(DAR)</li> <li>4. Drug load distribution</li> <li>5. Individual drug load variants</li> </ol>
Post-translation modification	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Glycosylation                             <ol style="list-style-type: none"> <li>a. Sialic acid,</li> <li>b. Monosaccharide content,</li> <li>c. Oligosaccharide profile analysis</li> <li>d. others</li> </ol> </li> <li>2. Other</li> </ol>	
Impurity	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Product-related impurity:                             <ol style="list-style-type: none"> <li>a. dimers, aggregates and degradation products</li> <li>b. charge variants</li> </ol> </li> <li>2. Process-related Impurity: Microbial contaminants, HCP, host cell DNA</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Product-related impurity (loss binding affinity)</li> <li>2. Unconjugated mAb</li> <li>3. Disulfide bond scramble</li> <li>4. Free drug and its related substance,</li> <li>5. Residual solvents,</li> <li>6. Heavy metal</li> <li>7. Quenching agents</li> </ol>
Biological activity	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Target specific binding affinity</li> <li>2. Effector function</li> <li>3. FcRn binding affinity</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Target specific binding affinity</li> <li>2. Effector function</li> <li>3. FcRn binding affinity</li> <li>4. Cytotoxicity</li> </ol>

台灣藥物法規  
資訊法規公告台灣藥品  
臨床試驗資訊TFDA 藥物  
食品安全過程致力法規科學  
守護生命健康

Regulatory Science, Service for Life



圖四、抗體藥物複合體分子異質性及其藥物含量分析

不純物：產品相關不純物應包括抗體聚集物和截短型片段、沒有鍵結藥物之抗體含量及因連接子不穩定而釋放出的藥物等。因為抗體藥物複合體中的藥物，通常都是具有高毒性的分子，因此殘餘的藥物要有適當的管控。此外，對於其他製程相關不純物(process-related impurity)，例如殘餘連接子、藥物連接子中間物(drug-linker- intermediate)、阻停劑(quenching agent)、藥物與連接子所使用之助溶劑及進行化學反應時所使用的試劑等，皆應有適當的管控，相關原則可參考 ICH Q3A(R2)<sup>[16]</sup>、ICH Q3B(R2)<sup>[17]</sup> 及 ICH Q3C(R5)<sup>[18]</sup>。

另外，亦應考慮抗體藥物複合體於血液循環中連接子與小分子的穩定性，相關試驗原則可參美國 FDA 之 CBER 部門於 1997 年所頒布之「Points to Consider in the Manufacture and Testing of Monoclonal Antibody Products for Human Use」<sup>[15]</sup>。

## 結語

自 2000 年美國食品藥物管理局核准第一個抗體藥物複合體，迄今共有兩個抗體藥物複合體在台灣核准上市，而全世界有超過 100 個臨床試驗正在進行中。

有鑑於該領域已蓬勃發展，但尚未有因應的法規或是指導原則，本文特別藉由回顧已上市三個抗體藥物複合體，探討此類藥品其化學管制製造之特性分析考量。由先前三種藥品的開發經驗，可知對於抗體藥物複合體之抗體分子，須特別注意其對於標的細胞的選擇性、抗體分子異質性、內在化機制及潛在鍵結藥物位置等；對於連接子須特別分析其在血液循環中的穩定性、斷裂釋放藥物的機制及造成分子異質性的影響；對於小分子藥物則是要分析在血液循環中和溶酶體中的藥物穩定性、藥物經鍵結連接子後形成的衍生物是否依然有效、以及是否有 Bystander killing effect 等；而對於抗體藥物複合體之特性分析則應注意抗體藥物複合體的平均藥物含量、抗體藥物複合體的藥物含量分布、以及抗體藥物複合體於血液循環中連接子與小分子的穩定性。

## 參考文獻

1. Adam C. Parslow, Sagun Parakh, Fook-Thean Lee, Hui K. Gan and Andrew M. Scott (2016) Antibody–Drug Conjugates for Cancer Therapy. *Biomedicines* **4(3)**, 14.
2. Alain Beck, Liliane Goetsch, Charles Dumontet and Nathalie Corvaia (2017) Strategies and challenges for the next generation of antibody–drug conjugates. *Nature Reviews Drug Discovery* **16(5)**, 315-337.
3. Alejandro D. Ricart (2011) Antibody-Drug Conjugates of Calicheamicin Derivative: Gemtuzumab Ozogamicin and Inotuzumab Ozogamicin. *Clinical Cancer Research* **17(20)**, 6417-27
4. CBER 1997. Points to Consider in the Manufacture and Testing of Monoclonal Antibody Products for Human Use, US FDA, Rockville.
5. Christina Peters and Stuart Brown (2015) Antibody–drug conjugates as novel anti-cancer chemotherapeutics. *Bioscience Reports* **35**, 1-20
6. Eunhee G. Kim and Kristine M. Kim (2015) Strategies and Advancement in Antibody-Drug Conjugate Optimization for Targeted Cancer. Therapeutics. *Biomolecules & Therapeutics* **23**, 493-509
7. Gregory S. Hamilton (2015) Antibody-drug conjugates for cancer therapy: The technological and regulatory challenges of developing drug-biologic hybrids. *Biologicals* **43(5)**, 318-32.



8. Jessica Katz, John E. Janik, and Anas Younes (2011) Brentuximab Vedotin (SGN-35). *Clinical Cancer Research* **17(20)**, 6428-36
9. Karly P. Garnock-Jones, Gillian M. Keating and Lesley J. Scott (2010) Trastuzumab: A review of its use as adjuvant treatment in human epidermal growth factor receptor 2 (HER2)-positive early breast cancer. *Drugs* **70(2)**, 215-39
10. Kyoji Tsuchikama and Zhiqiang An (2016) Antibody-drug conjugates: recent advances in conjugation and linker chemistries. *Protein Cell* PMID: 27743348 DOI: 10.1007/s13238-016-0323-0
11. Miksinski SP, Shapiro M. Regulatory considerations for antibody-drug conjugates. AAPS Meet October 18, 2012. Accessed at [www.fda.gov/downloads/AboutFDA/CentersOffices/OfficeofMedicalProductsandTobacco/CDER/UCM341177.pdf](http://www.fda.gov/downloads/AboutFDA/CentersOffices/OfficeofMedicalProductsandTobacco/CDER/UCM341177.pdf).
12. Mireille Vankemmelbeke and Lindy Durrant (2016) Third-generation antibody drug conjugates for cancer therapy – a balancing act. *Therapeutic Delivery* **7(3)**, 141–144
13. Nareshkumar Jain, Sean W. Smith, Sanjeevani Ghone and Bruce Tomczuk (2015) Current ADC Linker Chemistry. *Pharmaceutical Research* **32**, 3526–3540
14. Pamela A. Trail (2013) Antibody Drug Conjugates as Cancer Therapeutics. *Antibodies* **2**, 113-129.
15. Points to Consider in the Manufacture and Testing of Monoclonal Antibody Products for Human Use, CDER 1997
16. ICH Q3A(R2) Impurities in new drug substances
17. CH Q3B(R2) Impurities in new drug products
18. ICH Q3C(R6) Impurities: Guideline for residual solvents
19. ICH Q5A(R1) Viral safety evaluation of biotechnology products derived from cell lines of human or animal origin
20. ICH Q5D Derivation and characterization of substrates used for production of biotechnological/biological products