



(19) 中華民國智慧財產局

(12) 發明說明書公告本

(11) 證書號數：TW I689313 B

(45) 公告日：中華民國 109 (2020) 年 04 月 01 日

(21) 申請案號：103109817 (22) 申請日：中華民國 103 (2014) 年 03 月 14 日

(51) Int. Cl. : A61K39/395 (2006.01) A61K47/50 (2017.01)

(30) 優先權：2013/03/15 美國 61/790,490

(71) 申請人：德商艾伯維德國有限及兩合公司 (德國) ABBVIE DEUTSCHLAND GMBH & CO.  
KG (DE)

德國

美商艾伯維有限公司 (美國) ABBVIE INC. (US)

美國

(72) 發明人：泰斯寇普 馬克司 TSCHOEPE, MARKUS (DE)；卡樂塔 凱瑟雷那 KALETA,  
KATHARINA (DE)；庫瑪 維尼特 KUMAR, VINEET (US)

(74) 代理人：陳長文

(56) 參考文獻：

US 2005/0232929A1

US 2011/0091372A1

WO 2011/116090A1

WO 2011/140254A1

審查人員：張子威

申請專利範圍項數：34 項 圖式數：9 共 126 頁

(54) 名稱

抗-EGFR 抗體藥物結合物調配物

(57) 摘要

本發明提供一穩定調配物，該調配物包括抗-EGFR 抗體藥物結合物(antibody drug conjugate；ADC)(包括結合至奧裡斯他汀(auristatin，例如 MMAF)之抗-EGFR 抗體，例如抗體 1)、組胺酸、糖及表面活性劑。

The invention provides a stable formulation comprising an anti-EGFR antibody drug conjugate (ADC), including an anti-EGFR antibody, e.g., antibody 1, conjugated to an auristatin, e.g., MMAF, histidine, a sugar, and a surfactant.

指定代表圖：

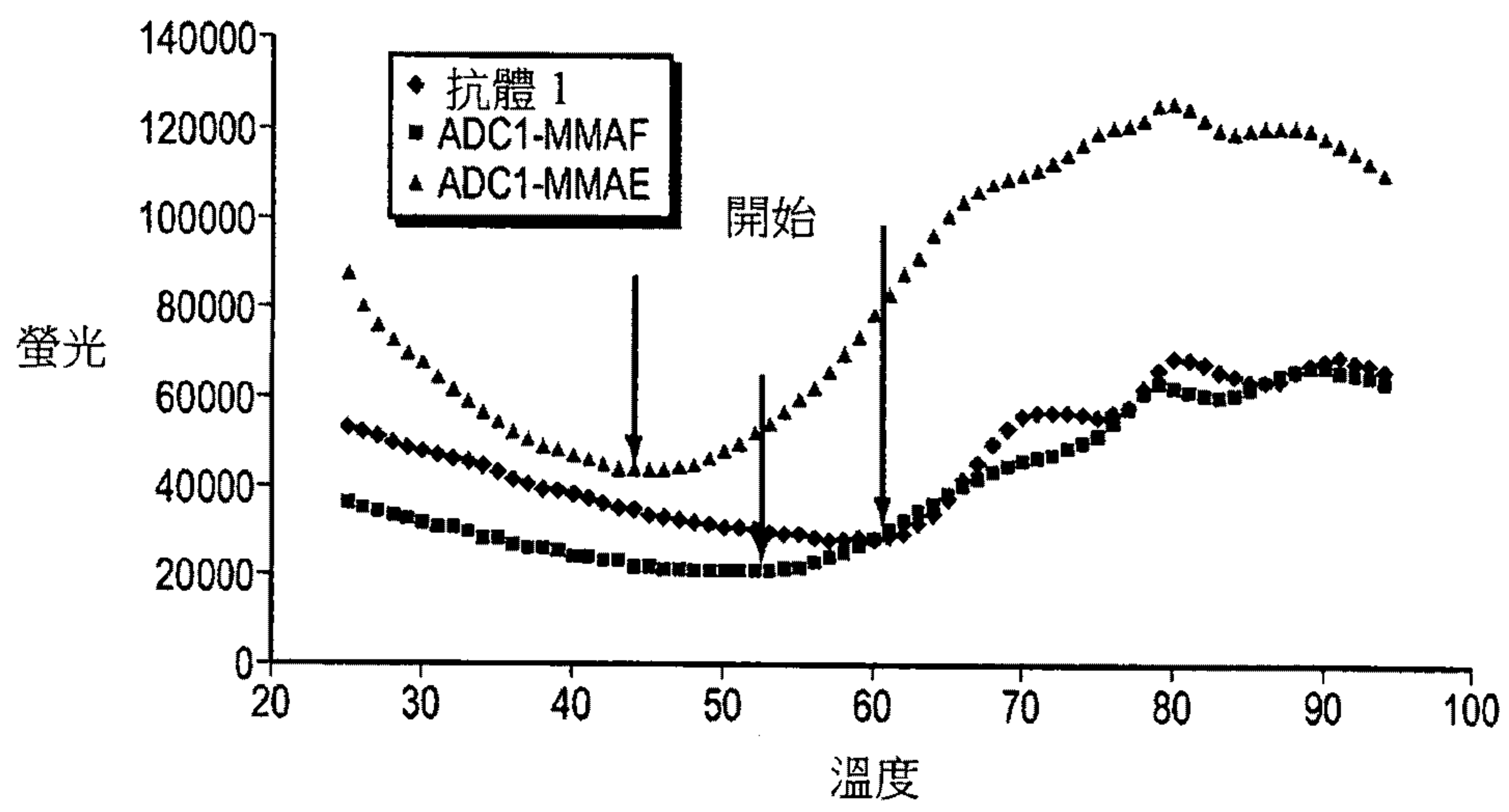


圖 3A

I689313

# 發明摘要

※ 申請案號： 103109817

※ 申請日： 103年3月14日

※IPC 分類： **A61K 39/395** (2006.01)  
**A61K 47/50** (2017.01)

## 【發明名稱】

抗-EGFR抗體藥物結合物調配物

ANTI-EGFR ANTIBODY DRUG CONJUGATE FORMULATIONS

## 【中文】

本發明提供一穩定調配物，該調配物包括抗-EGFR抗體藥物結合物 (antibody drug conjugate ; ADC)(包括結合至奧裡斯他汀 (auristatin，例如 MMAF)之抗-EGFR抗體，例如抗體1)、組胺酸、糖及表面活性劑。

## 【英文】

The invention provides a stable formulation comprising an anti-EGFR antibody drug conjugate (ADC), including an anti-EGFR antibody, *e.g.*, antibody 1, conjugated to an auristatin, *e.g.*, MMAF, histidine, a sugar, and a surfactant.

**【代表圖】**

**【本案指定代表圖】**：第（3A）圖。

**【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-EGFR抗體藥物結合物調配物

ANTI-EGFR ANTIBODY DRUG CONJUGATE FORMULATIONS

## 相關申請案

本申請案主張於2013年3月15日提出申請之美國臨時申請案第61/790,490號之權益。上文所提及優先權文件之內容之全文以引用方式併入本文中。

## 【先前技術】

人類表皮生長因子受體(亦稱為HER-1或Erb-B1，且在本文中稱為「EGFR」)係由c-erbB原癌基因編碼之170 kDa跨膜受體，且展現固有酪胺酸激酶活性(Modjtahedi等人，Br. J. Cancer 73:228-235 (1996)；Herbst及Shin，Cancer 94:1593-1611 (2002))。SwissProt數據庫登入號P00533提供EGFR之序列。EGFR經由酪胺酸激酶介導之信號轉導途徑調控多個細胞過程，包含(但不限於)控制細胞增殖、分化、細胞存活、細胞凋亡、血管生成、有絲分裂及轉移之信號轉導途徑之活化(Atalay等人，Ann. Oncology 14:1346-1363 (2003)；Tsao及Herbst，Signal 4:4-9 (2003)；Herbst及Shin，Cancer 94:1593-1611 (2002)；Modjtahedi等人，Br. J. Cancer 73:228-235 (1996))。

已在多種人類惡性病況中對EGFR之過表現進行了報導，該等病況包含膀胱癌、腦癌、頭頸癌、胰臟癌、肺癌、乳癌、卵巢癌、結腸癌、前列腺癌及腎癌。(Atalay等人，Ann. Oncology 14:1346-1363 (2003)；Herbst及Shin，Cancer 94:1593-1611 (2002)；Modjtahedi等人，Br. J. Cancer 73:228-235 (1996))。在該等病況中之許多中，EGFR

之過表現與患者之較差預後關聯或相關。(Herbst及Shin, *Cancer* 94:1593-1611 (2002); Modjtahedi等人, *Br. J. Cancer* 73:228-235 (1996))。EGFR亦在正常組織(尤其皮膚、肝臟及胃腸道之上皮組織)之細胞中表現,但表現量通常低於惡性細胞(Herbst及Shin, *Cancer* 94:1593-1611 (2002))。

較大比例之含有EGFR基因之擴增(即,多個EGFR基因拷貝)之腫瘤亦共表現受體之截短形式(Wikstrand等人(1998) *J. Neurovirol.* 4, 148-158),其稱為de2-7 EGFR、 $\Delta$ EGFR或 $\Delta$ 2-7(各術語在本文中可互換使用)(Olapade-Olaopa等人(2000) *Br. J. Cancer.* 82, 186-94)。可見於de2-7 EGFR中之重排產生缺少跨越外顯子2-7之801個核苷酸之框內成熟mRNA(Wong等人(1992) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 89, 2965-9; Yamazaki等人(1990) *Jpn. J. Cancer Res.* 81, 773-9; Yamazaki等人(1988) *Mol. Cell. Biol.* 8, 1816-20; Sugawa等人(1990) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 87, 8602-6)。相應EGFR蛋白具有267個胺基酸缺失,包括細胞外結構域之殘基6-273及融合接頭處之新穎甘胺酸殘基(Sugawa等人, 1990)。此缺失與甘胺酸殘基之插入一起在缺失界面處產生獨特的接頭肽(Sugawa等人, 1990)。

已在多個腫瘤類型中對de2-7EGFR進行了報導,該等類型包含神經膠質瘤、乳癌、肺癌、卵巢癌及前列腺癌(Wikstrand等人(1997) *Cancer Res.* 57, 4130-40; Olapade-Olaopa等人(2000) *Br. J. Cancer.* 82, 186-94; Wikstrand等人(1995) *Cancer Res.* 55, 3140-8; Garcia de Palazzo等人(1993) *Cancer Res.* 53, 3217-20)。儘管此截短受體並不結合配體,但其具有低組成活性,且賦予以裸小鼠中之腫瘤異種移植物生長之神經膠質瘤細胞重要的生長優點(Nishikawa等人(1994) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 91, 7727-31),並能夠轉化NIH3T3細胞(Batra等人(1995) *Cell Growth Differ.* 6, 1251-9)及MCF-7細胞。de2-7 EGFR在

神經膠質瘤細胞中所利用之細胞機制並未經全面定義，但據報導包含細胞凋亡之減少(Nagane等人(1996) *Cancer Res.* 56, 5079-86)及增殖之小幅增強(Nagane等人，1996)。

由於此截短受體之表現限於腫瘤細胞，故其代表用於抗體療法之高度特異性靶。因此，業內需要可向有需要之彼等提供有效治療之抗-EGFR抗體及調配物。

抗體藥物結合物(ADC)代表包括經由化學連接體結合至細胞毒性藥物之抗體之新型治療劑。多種ADC目前正在臨床試驗中進行測試，包含曲妥珠單抗(trastuzumab) (連接至DM1之賀癌平(Herceptin，抗HER2抗體)；Genentech / Roche)及格雷帕珠單抗-維多汀(glembatumumab vedotin)(CDX-011；連接至MMAE之抗-GPNMB抗體；Celldex Therapeutics)。ADC之治療概念係使用抗體作為媒劑藉助與靶表面抗原結合將細胞毒性藥物遞送至腫瘤細胞。ADC具有比未經結合抗體更複雜且不均一之結構。因此，ADC呈現針對出於治療目的進行調配之挑戰。

### 【發明內容】

本發明提供包括抗體-藥物結合物(ADC)之調配物及關於使用該等結合物治療需要使用抗表皮生長因子受體(抗-EGFR) ADC來治療之病症(例如癌症)的方法。

本發明提供包括抗表皮生長因子受體(EGFR)抗體藥物結合物(ADC)、糖、組胺酸及表面活性劑之調配物，其中該調配物具有約5-7之pH，且其中該抗-EGFR ADC包括結合至奧裡斯他汀(auristatin)之抗-EGFR抗體或其抗原結合部分。

本發明提供包括抗表皮生長因子受體(EGFR)抗體藥物結合物(ADC)、糖、琥珀酸鹽或檸檬酸鹽及/或磷酸鹽緩衝液及表面活性劑之調配物，其中該調配物具有約5-7之pH，且其中該抗-EGFR ADC包括

結合至奧裡斯他汀之抗-EGFR抗體或其抗原結合部分。在一實施例中，調配物經凍乾。

在一實施例中，調配物包括為聚山梨醇酯(例如聚山梨醇酯80)或泊洛沙姆(poloxamer)之表面活性劑。在一實施例中，調配物包括0.05-0.15 mg/ml之聚山梨醇酯。

在另一實施例中，調配物包括約60-80 mg/ml之糖。在一實施例中，糖係選自由以下組成之群：甘露醇、山梨醇、蔗糖及海藻糖。

在一實施例中，本發明調配物包括約5-25 mM組胺酸。

在另一實施例中，調配物經凍乾。在一實施例中，調配物經凍乾且糖為蔗糖。在本發明之另一實施例中，凍乾調配物不包括乳糖酸。在本發明之另一實施例中，凍乾調配物不包括糖酸。

在一實施例中，本發明調配物為水性，且包括約1-40 mg/ml之抗-EGFR ADC。

在另一實施例中，本發明調配物包括1-150 mg抗-EGFR ADC。在一實施例中，本發明調配物包括90-110 mg抗-EGFR ADC。

在一實施例中，本發明調配物具有約5至7之pH。在另一實施例中，調配物具有約5.5至6.5之pH。

在一實施例中，奧裡斯他汀係單甲基奧裡斯他汀F (MMAF)。在一實施例中，本發明調配物包括包含結合至單甲基奧裡斯他汀F (MMAF)之抗-EGFR抗體或其抗原結合部分之抗-EGFR ADC。在另一實施例中，MMAF係利用馬來醯亞胺基己醯基連接體結合至抗體。

本發明進一步提供包括以下各項之凍乾調配物：抗表皮生長因子受體(EGFR)抗體藥物結合物(ADC)，其包括結合至奧裡斯他汀之抗-EGFR抗體或其抗原結合部分；糖(例如蔗糖)；表面活性劑(例如聚山梨醇酯，例如聚山梨醇酯80)；及組胺酸。在一實施例中，凍乾調配物包括1-20 mg組胺酸、約320-410 mg糖、約0.1-0.9 mg表面活性劑及



約1-150 mg抗-EGFR ADC。

本發明亦提供包括以下各項之水性調配物：約1-100 mg/ml之抗表皮生長因子受體(EGFR)抗體藥物結合物(ADC)，其包括結合至奧裡斯他汀之抗-EGFR抗體或其抗原結合部分；約1-10 mg/mL組胺酸；約50-90 mg/ml之糖，例如蔗糖；及約0.01-0.2 mg/ml之表面活性劑，例如聚山梨醇酯80。

在一實施例中，本發明調配物包括抗-EGFR ADC，其中抗-EGFR抗體經人類化。

在另一實施例中，本發明調配物包括抗-EGFR ADC，其中抗-EGFR抗體包括重鏈可變區，其包括闡釋於SEQ ID NO: 13中之胺基酸序列；及輕鏈可變區，其包括闡釋於SEQ ID NO: 18中之胺基酸序列。

在另一實施例中，本發明調配物包括抗-EGFR ADC，其中抗-EGFR抗體包括重鏈可變區，其具有闡釋於SEQ ID NO: 13中之胺基酸序列；重鏈恆定區，其具有如SEQ ID NO: 14中所闡釋之胺基酸序列；輕鏈可變區，其具有闡釋於SEQ ID NO: 18中之胺基酸序列；及輕鏈恆定區，其具有如SEQ ID NO: 19中所闡釋之胺基酸序列，

在另一實施例中，本發明調配物包括抗-EGFR ADC，其中該抗體包括重鏈可變區，其包括包含闡釋於SEQ ID NO: 15、16及17中之胺基酸序列之互補決定區(CDR)；且包括輕鏈可變區，其包括包含闡釋於SEQ ID NO: 20、21及22中之胺基酸序列之CDR。

在本發明之另一實施例中，抗-EGFR ADC包括闡釋於SEQ ID NO: 18之胺基酸序列中之輕鏈可變區中所闡述之CDR (即，輕鏈CDR1、CDR2及CDR3)及SEQ ID NO: 13之胺基酸序列中所闡述之CDR (即，重鏈CDR1、CDR2及CDR3)。

本發明進一步提供包括蔗糖、聚山梨醇酯80及組胺酸之凍乾調

配物，且其中抗體包括重鏈可變區，其包括包含闡釋於SEQ ID NO: 15、16及17中之胺基酸序列之互補決定區(CDR)；且包括輕鏈可變區，其包括包含闡釋於SEQ ID NO: 20、21及22中之胺基酸序列之CDR。在一實施例中，調配物包括1-110 mg抗-EGFR ADC。

在一實施例中，本發明調配物含有包括平均DAR為約3之抗-EGFR ADC之ADC混合物或包括平均DAR為約2-4之抗-EGFR ADC之ADC混合物。

在一實施例中，本發明調配物包括包含結合至單甲基奧裡斯他汀F (MMAF)之抗-EGFR抗體或其抗原結合部分之抗-EGFR ADC (其中該ADC 1-MMAF包括重鏈可變區，其包括包含闡釋於SEQ ID NO: 15、16及17中之胺基酸序列之互補決定區(CDR)；且包括輕鏈可變區，其包括包含闡釋於SEQ ID NO: 20、21及22中之胺基酸序列之CDR)、蔗糖、組胺酸及聚山梨醇酯80，其中該調配物包括平均DAR為約3之ADC混合物或DAR為約2-4之ADC混合物。在本發明之另一實施例中，調配物經凍乾。在另一發明中，抗-EGFR抗體經由馬來醯亞胺基己醯基連接體連接至MMAF。在另一實施例中，抗-EGFR抗體或其抗原結合部分包括重鏈可變區，其包括闡釋於SEQ ID NO: 13中之胺基酸序列；及輕鏈可變區，其包括闡釋於SEQ ID NO: 18中之胺基酸序列。

在一實施例中，本發明調配物包括包含結合至單甲基奧裡斯他汀E (MMAE)之抗-EGFR抗體或其抗原結合部分之抗-EGFR ADC (其中該ADC 1-MMAE包括重鏈可變區，其包括包含闡釋於SEQ ID NO: 15、16及17中之胺基酸序列之互補決定區(CDR)；且包括輕鏈可變區，其包括包含闡釋於SEQ ID NO: 20、21及22中之胺基酸序列之CDR)、蔗糖、組胺酸及聚山梨醇酯80，其中該調配物包括平均DAR為約3之ADC混合物或DAR為約2-4之ADC混合物。在本發明之另一實

施例中，調配物經凍乾。在另一實施例中，抗-EGFR抗體或其抗原結合部分包括重鏈可變區，其包括闡釋於SEQ ID NO: 13中之胺基酸序列；及輕鏈可變區，其包括闡釋於SEQ ID NO: 18中之胺基酸序列。

在一實施例中，本發明調配物係醫藥調配物。

本發明之特徵亦在於製備調配物之方法，其中該方法包括凍乾pH介於約5至7範圍內且包括1-20 mg組胺酸、約320-410 mg糖、約0.1 mg至0.9 mg表面活性劑及約1-150 mg抗-EGFR ADC之水性調配物。

本發明進一步提供用於治療個體之方法，其包括向個體投與治療有效量之於本文所闡述調配物中之抗-EGFR ADC，其中該個體患有需要使用抗-EGFR ADC治療之病症。在一實施例中，需要使用抗-EGFR ADC治療之病症為癌症，例如神經膠質母細胞瘤、非小細胞肺癌、肺癌、結腸癌、頭頸癌、乳癌、鱗狀細胞腫瘤、肛門癌、皮膚癌及外陰癌。

在一實施例中，使用本發明調配物來治療可能使表皮生長因子受體(EGFR)過表現之實體腫瘤或鱗狀非小細胞肺癌(NSCLC)。

在一實施例中，使用本發明調配物來治療選自由以下組成之群之癌症：鱗狀腫瘤(包含肺、頭頸、子宮頸等之鱗狀腫瘤)、神經膠質母細胞瘤、神經膠質瘤、非小細胞肺癌、肺癌、結腸癌、頭頸癌、乳癌、鱗狀細胞腫瘤、肛門癌、皮膚癌及外陰癌。

在一實施例中，使用本發明調配物來治療多形性神經膠質母細胞瘤。

在一實施例中，使用本發明調配物來治療具有EGFR之過表現之實體腫瘤。在一實施例中，使用本發明調配物來治療患有可能使EGFR過表現之晚期實體腫瘤之個體。

在一實施例中，本發明調配物經靜脈內投與。

本發明亦提供包括本文所闡述調配物之套組。

**【圖式簡單說明】**

**圖1**係顯示藉由連接體偶合至所關注抗體(mAb)之MMAE之結構(GN連接體 + 奧裡斯他汀：vcMMAE)之圖。

**圖2**係顯示藉由連接體偶合至所關注抗體(mAb)之MMAF之結構(連接體 + 奧裡斯他汀：mcMMAF)之圖。

**圖3 (A及B)**以圖表形式繪示如利用動態掃描螢光(A)及差示掃描量熱(B)測定之去摺疊溫度之開始。◆ 抗體1；■ 抗體藥物結合物(ADC) 1- MMAF；▲ ADC 1-MMAE。

**圖4 (A及B)**以圖表形式繪示使用傅立葉轉換紅外光譜術(Fourier Transform Infrared Spectroscopy, FTIR) (A)及近紫外圓二色性(near UV- Circular Dichroism, CD) (B)之抗體1、ADC 1-MMAF及ADC 1-MMAE中非結構化元素之存在。◆ 抗體1；■ ADC 1-MMAF；▲ ADC 1-MMAE。

**圖5**以圖表形式繪示ADC 1-MMAE在低濃度下與ADC 1-MMAF及抗體1相比之聚集傾向。

**圖6**以圖表形式繪示ADC 1-MMAE在高濃度下與ADC 1-MMAF及抗體1相比之聚集傾向。

**圖7**顯示血清穩定性分析之示意圖，且闡述多種分子(包含抗體1、ADC 1-MMAF及ADC 1-MMAE)之活體外血清穩定性。

**圖8 (A及B)**以圖表形式繪示以所存在單體之百分比指示之冷凍/解凍穩定性，如藉由於pH 5.75之15 mM組胺酸緩衝液(A)以及1 mg/ml pH 7.0 10 mM檸檬酸鹽及10 mM磷酸鹽緩衝液中之抗體1、ADC 1-MMAF及ADC 1-MMAE調配物之SEC所測定。

**圖9 (A及B)**係量化如藉由微血流成像(MFI)所測定之冷凍-解凍期間之亞可視粒子形成。

**【實施方式】**

## I. 定義

為可更容易地理解本發明，首先定義某些術語。此外，應注意，每當列舉參數之值或值之範圍時，所列舉值中間之值及範圍亦欲係本發明之一部分。

術語「抗表皮生長因子抗體藥物結合物」或「抗-EGFR抗體藥物結合物」及「抗-EGFR ADC」在本文中可互換使用，其係指包括特異性結合至EGFR之抗體之抗體-藥物結合物，其中該抗體結合至藥物，例如細胞毒性劑，例如奧裡斯他汀(例如單甲基奧裡斯他汀F)。在一實施例中，抗-EGFR抗體藥物結合物為ADC 1-MMAF，其係經由馬來醯亞胺基己醯基(mc)連接結合至MMAF之抗體1。對應於抗體1之輕鏈及重鏈之胺基酸序列提供於SEQ ID NO: 13至22中。除非另有說明，否則如本文所使用之術語「ADC1-MMAF」包含經純化之ADC1-MMAF (亦稱為ADC1-MMAFp)。

如本文所使用之術語「奧裡斯他汀」係指抗有絲分裂劑家族。奧裡斯他汀衍生物亦包含在術語「奧裡斯他汀」之定義內。奧裡斯他汀之實例包含(但不限於)奧裡斯他汀E (AE)、單甲基奧裡斯他汀E (MMAE)、單甲基奧裡斯他汀F (MMAF)及多拉斯他汀(dolastatin)之合成類似物。

術語「抗-EGFR抗體」欲指特異性結合至EGFR之抗體。「結合」所關注抗原(即EGFR)之抗體係能夠以足夠親和力結合該抗原以使該抗體可用於靶向表現該抗原之細胞之抗體。

如本文所使用之術語「ADC混合物」係指含有ADC之不均一DAR分佈之組合物。在一實施例中，ADC混合物含有具有1至8、例如2、4、6及8之DAR分佈(即2、4、6及8之藥物負載物質)之抗-EGFR ADC。在另一實施例中，ADC混合物含有DAR小於4、例如DAR為2-4之抗-EGFR ADC。應注意，可產生降解產物以使混合物中亦可包含

1、3、5及7之DAR。此外，混合物內之ADC亦可具有大於8之DAR。ADC混合物係源自鏈間二硫化物還原隨後結合。

如本文所使用之術語「ADC1-MMAFp」係指在ADC混合物內發現之ADC1-MMAF分子，該分子已經純化以使ADC之DAR在期望範圍內(例如(DAR為2-4))或使ADC包含在具有期望範圍(例如，平均DAR為3)之ADC混合物內。

如本文所使用之術語「調配物」欲指水性調配物或凍乾調配物。在一實施例中，本發明調配物經凍乾。在一實施例中，本發明調配物為水性。在一實施例中，本發明調配物不包含螯合劑。在一實施例中，本發明之凍乾調配物不包含螯合劑。

術語「水性調配物」係指其中溶劑為水之溶液。在一實施例中，術語「水性調配物」係指其中溶劑為水之液體調配物，其中該調配物先前未經凍乾(即並非源自凍乾調配物之重構)。在另一實施例中，術語「水性調配物」係指其中溶劑為水之液體調配物，其中該調配物先前經凍乾(即，經重構調配物)。

如本文所使用之術語「凍乾」結合本發明調配物表示藉由業內已知之任何冷凍-乾燥方法(例如市售冷凍-乾燥裝置)冷凍調配物且隨後使來自冷凍內容物之冰昇華來乾燥之調配物。

「經重構」調配物係藉由以下方式製備之調配物：將含有蛋白質(例如ADC)之凍乾調配物溶解於稀釋劑中，以使該蛋白質分散於經重構調配物中。經重構調配物適於投與(例如靜脈內投與)欲使用所關注蛋白質(例如，抗-EGFR抗體藥物結合物)治療之個體。

本文所關注之「稀釋劑」為醫藥上可接受(對於投與人類安全且無毒)且可用於製備液體調配物(例如在凍乾後經重構之調配物)之稀釋劑。實例性稀釋劑包含無菌水、抑菌性注射用水(BWFI)、pH緩衝溶液(例如磷酸鹽緩衝鹽水)、無菌鹽水溶液、林格氏溶液(Ringer's

solution)或右旋糖溶液。在替代實施例中，稀釋劑可包含鹽之水溶液及/或緩衝液。

術語「緩衝液」係指當於溶液中時藉由其酸-鹼結合物組份之作用來抵抗pH變化之化合物。在一實施例中，用於本發明中之緩衝液具有介於約4.5至約7.5範圍內之pH。將pH控制在此範圍內之緩衝液之實例包含乙酸鹽(例如乙酸鈉)、琥珀酸鹽(例如琥珀酸鈉)、葡萄糖酸鹽、甲硫胺酸、咪唑、組胺酸、甘胺酸、精胺酸、檸檬酸鹽、磷酸鹽、檸檬酸鹽與磷酸鹽、Tris及其他有機酸緩衝液。在一實施例中，用於調配物中之緩衝液包括組胺酸、琥珀酸鹽或檸檬酸鹽或磷酸鹽緩衝液。在本發明之一實施例中，調配物包括約1-10 mg/mL之包括組胺酸之緩衝液。在本發明之另一實施例中，調配物包括1-20 mg包括組胺酸之緩衝液。

如本文所使用之術語「糖」意欲表示單糖或寡糖。單糖係無法藉由酸水解之單體碳水化合物，包含簡單糖及其衍生物，例如胺基糖。單糖之實例包含(但不限於)葡萄糖、果糖、半乳糖、甘露糖、山梨糖、核糖、去氧核糖、神經胺酸。寡糖係由一種以上之單體糖單元經由糖苷鍵連接而組成之碳水化合物，其可具支鏈或呈鏈狀。寡糖內之單體糖單元可相同或不同。端視單體糖單元之數量，寡糖為二糖、三糖、四糖、五糖等。寡糖之實例包含(但不限於)麥芽糖、蔗糖、乳糖、松三糖、海藻糖、山梨糖及棉子糖。與多糖相反，單糖及寡糖具有水溶性。糖之實例包含(但不限於)還原糖、非還原糖、糖醇及糖酸。「還原糖」係含有游離醛或酮基且可還原金屬離子或與蛋白質中之離胺酸及其他胺基共價反應之糖。「非還原糖」係缺少游離醛或酮基且無法由溫和氧化劑(例如斐林溶液(Fehling's solution)或本氏溶液(Benedict's solution))氧化之糖。還原糖之實例為果糖、甘露糖、麥芽糖、乳糖、阿拉伯糖、木糖、核糖、鼠李糖、半乳糖及葡萄糖。非還

原糖包含蔗糖、海藻糖、山梨糖、松三糖及棉子糖。甘露醇、木糖醇、丁四醇、蘇糖醇、山梨醇及甘油係糖醇之實例。在本發明之一實施例中，糖為甘露醇、山梨醇、蔗糖或海藻糖。在本發明之另一實施例中，調配物包括約50-90 mg/ml之糖，例如蔗糖。在本發明之另一實施例中，調配物包括約60-80 mg/ml之糖，例如蔗糖。在本發明之另一實施例中，調配物包括約70 mg/ml之糖，例如蔗糖。在本發明之另一實施例中，凍乾調配物包括約320-410 mg之糖。

術語「表面活性劑」通常係指具有兩親性結構之有機物質；即，其係由溶解度趨勢相反之基團、通常油溶性烴鏈及水溶性離子基團構成。表面活性劑可根據表面活性部分之電荷分類成陰離子、陽離子及非離子型表面活性劑。通常使用表面活性劑作為生物材料之多種醫藥組合物及製劑之潤濕劑、乳化劑、增溶劑及分散劑。適宜表面活性劑之實例包含(但不限於)月桂基硫酸鈉、聚山梨醇酯(例如聚氧乙烯去水山梨醇單油酸酯、單月桂酸酯、單棕櫚酸酯、單硬脂酸酯或聚氧乙烯去水山梨醇之另一酯(例如，市售TWEEN，例如TWEEN 20及TWEEN 80 (ICI Speciality Chemicals)))、二辛基磺基琥珀酸鈉(DOSS)、卵磷脂、硬脂醇、鯨蠟硬脂醇、膽固醇、聚氧乙烯蓖麻油、聚氧乙烯脂肪酸甘油酯、泊洛沙姆(例如，Pluronic F68™及F108™，其係氧化乙烯及氧化丙烯之嵌段共聚物)；聚氧乙烯蓖麻油衍生物或其混合物。

如本文所使用之術語「聚山梨醇酯」係指通常與氧化乙烯共聚之山梨醇及其酸酐之油酸酯。在一實施例中，聚山梨醇酯具有介於約1200 Da (聚山梨醇酯20之近似分子量)至約1350 Da (聚山梨醇酯80之近似分子量)範圍內之分子量。在一實施例中，調配物包括聚山梨醇酯20、聚山梨醇酯40、聚山梨醇酯60或聚山梨醇酯80。在一實施例中，調配物包括約0.1 mg至0.9 mg聚山梨醇酯。在另一實施例中，調



配物包括約0.01-0.2 mg/ml之聚山梨醇酯。在另一實施例中，調配物包括0.05-0.15 mg/ml之聚山梨醇酯。

術語「醫藥上調配物」係指呈容許活性成份之生物活性有效之形式且因此可投與個體用於治療用途之製劑。

「穩定」調配物係抗-EGFR抗體藥物結合物在儲存時基本上保留其物理穩定性及/或化學穩定性及/或生物活性之調配物。用於量測蛋白質穩定性之多種分析技術可於業內獲得且綜述於例如Peptide and Protein Drug Delivery，第247-301頁，Vincent Lee編輯，Marcel Dekker公司，New York, N.Y., Pubs. (1991)及Jones (1993) Adv. Drug Delivery Rev. 10: 29-90中。在一實施例中，根據含有低百分比之降解(例如，片段化)及/或聚集蛋白質之溶液中單體蛋白質之百分比來確定抗-EGFR抗體藥物結合物之穩定性。例如，包括穩定抗-EGFR抗體藥物結合物之調配物可包含至少95%的單體抗-EGFR抗體藥物結合物。另一選擇為，調配物可包含不大於5%的聚集及/或降解之抗-EGFR抗體藥物結合物。

若在視覺檢查色彩及/或透明度後或如藉由UV光散射或藉由粒徑排阻層析所量測，抗-EGFR抗體藥物結合物實質上不顯示聚集、沈澱及/或變性之標誌，則其在醫藥調配物中「保留其物理穩定性」。在一實施例中，穩定水性調配物係在調配物中具有小於約5%之抗-EGFR抗體藥物結合物聚集之調配物。

若給定時間處之化學穩定性使得將抗-EGFR抗體藥物結合物視為仍保留其如下文所定義之生物活性，則抗-EGFR抗體藥物結合物在醫藥調配物中「保留其化學穩定性」。化學穩定性可藉由檢測且量化抗-EGFR抗體藥物結合物之化學變化形式來評價。化學變化可涉及大小修飾(例如，剪切)，其可使用例如粒徑排阻層析、SDS-PAGE及/或基質輔助雷射脫附離子化/飛行時間質譜術(MALDI/TOF MS)來評估。其

他類型之化學變化包含電荷變化(例如，作為去醯胺之結果出現)，其可藉由例如離子交換層析來評估。

若醫藥調配物中之蛋白質具有用於其預定目的之生物活性，則抗-EGFR抗體藥物結合物在醫藥調配物中「保留其生物活性」。例如，若醫藥調配物中抗-EGFR抗體藥物結合物之生物活性在醫藥調配物製備時所展現生物活性(例如，如在抗原結合分析中量測)的約30%、約20%或約10%內(在分析誤差內)，則保留抗-EGFR抗體藥物結合物之生物活性。在一實施例中，生物活性為表皮樣癌細胞之細胞毒性。

術語「抗體」廣義地指保留Ig分子之基本靶結合特徵之免疫球蛋白(Ig)分子，其包括四條多肽鏈、兩條重(H)鏈及兩條輕(L)鏈或其任何功能片段、突變體、變體或衍生物。

在全長抗體中，每一重鏈包括重鏈可變區(在本文中縮寫為HCVR或VH)及重鏈恆定區。重鏈恆定區包括三個結構域：CH1、CH2及CH3。每一輕鏈包括輕鏈可變區(在本文中縮寫為LCVR或VL)及輕鏈恆定區。輕鏈恆定區包括一個結構域CL。可將VH及VL區進一步細分成超變區(稱為互補決定區(CDR))及更保守之區(稱為框架區(FR))，二者間雜排列。每一VH及VL由三個CDR及四個FR構成，其自胺基端至羧基端按下列順序排列：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。免疫球蛋白分子可具有任何類型(例如IgG、IgE、IgM、IgD、IgA及IgY)及類別(例如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1及IgA2)或子類。

如本文所使用之術語抗體之「抗原結合部分」係指抗體之一或多個保留特異性結合至抗原(例如hIL-13)之能力之片段。已顯示，抗體之抗原結合功能可由全長抗體之片段來實施。該等抗體實施例亦可具有雙特異性、雙重特異性或多特異性格式；特異性結合至兩種或更

多種不同抗原。涵蓋於術語抗體之「抗原結合部分」內之結合片段之實例包含(i) Fab片段，其係由VL、VH、CL及CH1結構域組成之單價片段；(ii) F(ab')<sub>2</sub>片段，其係由兩個由鉸鏈區之二硫橋鍵連接之Fab片段組成之二價片段；(iii) Fd片段，其係由VH及CH1結構域組成；(iv) Fv片段，其係由抗體單臂之VL及VH結構域組成；(v) dAb片段(Ward等人，(1989) *Nature* 341:544-546；Winter等人，PCT公開案WO 90/05144 A1，該等文獻以引用方式併入本文中)，其包括單一可變結構域；及(vi) 經分離互補決定區(CDR)。此外，儘管Fv片段之兩個結構域VL及VH係由單獨基因編碼，但可使用重組方法藉由合成連接體將其連接，該合成連接體使其能夠以其中VL及VH區配對形成單價分子之單一蛋白鏈(稱為單鏈Fv (scFv))產生(例如，參見Bird等人(1988) *Science* 242:423-426；及Huston等人(1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:5879-5883)。該等單鏈抗體亦欲涵蓋於術語抗體之「抗原結合部分」內。亦涵蓋單鏈抗體之其他形式，例如雙價抗體。雙價抗體係二價雙特異性抗體，其中VH及VL結構域在單一多肽單鏈上表現，但所用連接體太短而不允許同一鏈上之兩個結構域之間配對，從而迫使該等結構域與另一鏈之互補結構域配對並產生兩個抗原結合位點(參見，例如Holliger, P.等人(1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:6444-6448；Poljak, R.J.等人(1994) *Structure* 2:1121-1123)。該等抗體結合部分已為業內所知(Kontermann及Dubel編輯，*Antibody Engineering* (2001) Springer-Verlag. New York. 第790頁(ISBN 3-540-41354-5)。

如本文所使用之「經分離抗體」欲指實質上不含具有不同抗原特異性之其他抗體之抗體(例如，特異性結合EGFR之經分離抗體實質上不含特異性結合除EGFR外之抗原的抗體)。然而，特異性結合EGFR之經分離抗體可具有針對其他抗原(例如來自其他物種之EGFR分子)之交叉反應性。此外，經分離抗體可實質上不含其他細胞材料

及/或化學品。

術語「人類化抗體」係指包括來自非人類物種(例如小鼠)之重鏈及輕鏈可變區序列但其中VH及/或VL序列之至少一部分已變得更「人類樣(human-like)」(即更類似於人類種系可變序列)之抗體。在具體實施例中，術語「人類化抗體」係指抗體或抗體變體、衍生物或片段，其特異性結合至所關注抗原，且包括實質上具有人類抗體之胺基酸序列之框架(FR)區，並包括實質上具有非人類抗體之胺基酸序列的CDR。如本文所使用，術語「實質上」在CDR背景下係指具有與非人類抗體CDR之胺基酸序列至少80%、較佳至少85%、至少90%、至少95%、至少98%或至少99%一致之胺基酸序列之CDR。在一實施例中，一種類型之人類化抗體係CDR移植抗體，其中將人類CDR序列引入非人類VH及VL序列中來置換相應的非人類CDR序列。

如本文所使用，術語「CDR」係指抗體可變序列內之互補決定區。對於每一可變區而言，在重鏈及輕鏈可變區中之每一者中存在三個CDR，其稱為CDR1、CDR2及CDR3。如本文所使用之術語「CDR組」係指存在於能夠結合抗原之單一可變區中之三個CDR之群。已根據不同系統不同地定義該等CDR之確切邊界。由Kabat闡述之系統(Kabat等人，*Sequences of Proteins of Immunological Interest* (National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1987)及(1991))不僅提供適用於抗體之任一可變區的明確殘基編號系統，且亦提供定義該三個CDR之精確殘基邊界。該等CDR可稱為Kabat CDR。Chothia及同事(Chothia及Lesk, *J. Mol. Biol.* 196:901-917 (1987)以及Chothia等人，*Nature* 342:877-883 (1989))發現，Kabat CDR內之某些子部分採用幾乎相同之肽骨架構型，但在胺基酸序列層面上具有較大差別。該等子部分稱為L1、L2及L3或H1、H2及H3，其中「L」及「H」分別表示輕鏈區及重鏈區。該等區可稱為Chothia CDR，其具有與Kabat CDR重疊之

邊界。定義與Kabat CDR重疊之CDR之其他邊界已由Padlan(FASEB J. 9:133-139 (1995))及MacCallum (J Mol Biol 262(5):732-45 (1996))加以闡述。其他CDR邊界定義可不嚴格遵循上述系統中之一者，而是仍將與Kabat CDR重疊，但其可根據以下預測或實驗發現縮短或延長：具體殘基或殘基群或甚至整個CDR不會顯著影響抗原結合。本文所使用之方法可利用根據該等系統中之任一者定義之CDR，但較佳實施例使用Kabat或Chothia定義之CDR。

術語「病症」係指將自本發明調配物之治療受益之任何病況，例如需要使用調配物中之抗-EGFR抗體治療之病症。該術語包含慢性及急性病症或疾病，包含彼等使個體易患所述病症之病理學病況。

術語「癌症」欲指或闡述哺乳動物中特徵通常在於細胞生長失調之生理學病況。癌症之實例包含(但不限於)癌瘤、淋巴瘤、母細胞瘤、肉瘤及白血病或淋巴樣惡性腫瘤。該等癌症之更具體實例包含神經膠質母細胞瘤、非小細胞肺癌、肺癌、結腸癌、頭頸癌、乳癌、鱗狀細胞腫瘤、肛門癌、皮膚癌及外陰癌。在一實施例中，將調配物投與患有含有EGFR基因之擴增之腫瘤的患者，其中該腫瘤表現EGFR de2-7之截短形式。在一實施例中，可向個體投與包括ADC1-MMAF之調配物來治療結腸直腸癌、頭頸癌(包含(但不限於)下咽癌、口咽癌、食道癌、喉癌及口腔癌)、非小細胞肺癌、胰臟癌、胃癌、乳癌、實體腫瘤(例如，可能使表皮生長因子受體(EGFR)過表現之實體腫瘤或多形性神經膠質母細胞瘤)。

如本文所使用之術語「投與」欲指用於達成治療目標(例如，治療EGFR相關病症)之物質(例如，抗-EGFR抗體藥物結合物)遞送。投與模式可為非經腸、經腸及局部。非經腸投與通常藉助注射，且包含(但不限於)靜脈內、肌內、動脈內、鞘內、囊內、眶內、心內、皮內、腹膜內、經氣管、皮下、表皮下、關節內、囊下、蛛網膜下、脊

柱內及胸骨內注射及輸注。

如本文所使用之術語ADC之「治療有效量」或「有效量」係指可有效地預防或治療或減輕可經ADC有效治療之病症之症狀的量。

術語「治療」係指治療性治療與預防性 (prophylactic 或 preventative) 措施二者。彼等需要治療之患者包含彼等已患有病症者以及彼等欲預防病症者。

本發明之多個態樣進一步詳細闡述於以下子部分中。

## II. 本發明之抗-EGFR抗體藥物結合物調配物

本發明之特徵在於包括抗-EGFR抗體或其抗原結合部分之調配物，其中該EGFR抗體結合至一或多種藥物，例如奧裡斯他汀(例如 MMAF)。本發明係至少部分地藉由以下發現：在將調配物於5°C及25°C下儲存高達6個月後，包括抗-EGFR抗體藥物結合物(ADC) (其中抗-EGFR抗體或其抗原結合部分結合至一或多種諸如MMAF等奧裡斯他汀分子)之調配物能夠維持重構後ADC之生物活性，且維持重構後藥物對抗體比率。

本文所闡述之調配物可為凍乾或水性調配物。除非另外指明，否則術語「調配物」指示凍乾及水性調配物二者。

某些調配物較佳包括抗表皮生長因子受體(EGFR)抗體藥物結合物(ADC)、糖、緩衝液及聚山梨醇酯，其中該調配物具有約5-7之pH。在某些實施例中，調配物進一步包括包含結合至一或多種諸如MMAF等奧裡斯他汀分子之抗-EGFR抗體或其抗原結合部分(例如抗體1)之抗-EGFR ADC。

在一實施例中，本發明提供包括抗-EGFR抗體藥物結合物、糖(例如蔗糖)、表面活性劑(例如聚山梨醇酯(例如聚山梨醇酯80))及組胺酸之凍乾調配物，其中該調配物具有約5-7之pH，且其中該抗-EGFR抗體藥物結合物包括結合至單甲基奧裡斯他汀F (MMAF)之抗-

EGFR抗體或其抗原結合部分。

在一實施例中，本發明提供包括抗-EGFR抗體藥物結合物、蔗糖、表面活性劑及緩衝液之凍乾調配物，其中該調配物具有約5-7之pH，且其中該抗-EGFR抗體藥物結合物包括經由馬來醯亞胺基己醯基連接體結合至單甲基奧裡斯他汀F (MMAF) (mc-MMAF)之抗-EGFR抗體或其抗原結合部分，例如抗體1。

在一實施例中，本發明提供包括抗-EGFR抗體藥物結合物、蔗糖、聚山梨醇酯及組胺酸之凍乾調配物，其中該調配物具有約5-7之pH，且其中該抗-EGFR抗體藥物結合物包括經由馬來醯亞胺基己醯基連接體結合至單甲基奧裡斯他汀F (MMAF) (mc-MMAF)之抗-EGFR抗體或其抗原結合部分，例如抗體1。

本文所闡述之調配物較佳具有約4.0至約8.0之pH。在一實施例中，調配物之pH介於約5.0至約7.0範圍內；另一選擇為，pH可介於約5至約6.5範圍內；另一選擇為，調配物之pH可介於約5.5至約6.5範圍內。在上文所提及pH值中間之範圍(例如，約5.6至約6.4)亦欲係本發明之一部分。使用上文所提及值中之任一者之組合作為上限/下限之值之範圍亦欲包含在例如約5.5至約6.2之pH範圍內。

本發明調配物較佳包括抗-EGFR ADC、糖、表面活性劑及緩衝液。業內已知可用於本發明調配物中之緩衝液之實例包含(但不限於)乙酸鹽、組胺酸、甘胺酸、精胺酸、磷酸鹽、Tris及檸檬酸鹽。在一實施例中，用於調配物中之緩衝液為組胺酸。

在一實施例中，調配物包括1-20 mg/ml之組胺酸緩衝液(例如，約1 mg/ml至約20 mg/ml、約1 mg/ml至約10 mg/ml、約1 mg/ml至約5 mg/ml或約1 mg/ml至約3 mg/ml)，且pH為約5.0至約7.0，pH為約5至約6.5，或pH為約5.5至約6.5；及其之間之範圍。

在一實施例中，調配物包括約5-25 mM組胺酸(例如，約2 mM至

約25 mM、約5 mM至約25 mM、約10 mM至約25 mM或約20 mM至約25 mM)；及其之間之範圍。

在一實施例中，調配物包括1-20 mg/ml之琥珀酸鹽緩衝液(例如，約1 mg/ml至約20 mg/ml、約1 mg/ml至約10 mg/ml、約5 mg/ml至約20 mg/ml或約5 mg/ml至約10 mg/ml)，且pH為約5.0至約7.0，pH為約5至約6.5，或pH為約5.5至約6.5；及其之間之範圍。在一實施例中，調配物包括約1-10 mg/ml之琥珀酸鹽緩衝液，且pH為約5.0至約7.0，pH為約5至約6.5，或pH為約5.5至約6.5；及其之間之範圍。

在一實施例中，調配物包括1-20 mg/ml之檸檬酸鹽緩衝液(例如約1 mg/ml至約20 mg/ml、約1 mg/ml至約10 mg/ml、約5 mg/ml至約20 mg/ml或約5 mg/ml至約10 mg/ml)，且pH為約5.0至約7.0，pH為約5至約6.5，或pH為約5.5至約6.5；及其之間之範圍。在一實施例中，用於調配物中之緩衝液包括約1-10 mg/ml之檸檬酸鹽緩衝液，且pH為約5.0至約7.0，pH為約5至約6.5，或pH為約5.5至約6.5；及其之間之範圍。

在一實施例中，調配物包括1-20 mg/ml之磷酸鹽緩衝液(例如約1 mg/ml至約20 mg/ml、約1 mg/ml至約10 mg/ml、約5 mg/ml至約20 mg/ml或約5 mg/ml至約10 mg/ml)，且pH為約5.0至約7.0，pH為約5至約6.5，或pH為約5.5至約6.5；及其之間之範圍。在一實施例中，用於調配物中之緩衝液包括約1-10 mg/ml之磷酸鹽緩衝液，且pH為約5.0至約7.0，pH為約5至約6.5，或pH為約5.5至約6.5；及其之間之範圍。

在一實施例中，調配物包括1-20 mg/ml之檸檬酸鹽/磷酸鹽緩衝液(例如約1 mg/ml至約20 mg/ml、約1 mg/ml至約10 mg/ml、約5 mg/ml至約20 mg/ml或約5 mg/ml至約10 mg/ml)，且pH為約5.0至約7.0，pH為約5至約6.5，或pH為約5.5至約6.5。在一實施例中，用於調配物中之緩衝液包括約1-10 mg/ml之檸檬酸鹽/磷酸鹽緩衝液，且pH



為約5.0至約7.0，pH為約5至約6.5，或pH為約5.5至約6.5；及其之間之範圍。

除緩衝液外，調配物中亦包含糖。可用於調配物中之糖之實例包含(但不限於)甘露醇、山梨醇、蔗糖及海藻糖。在一實施例中，用於調配物中之糖為蔗糖。

在一實施例中，調配物包括以下濃度之糖：約50 mg/ml至約90 mg/ml、約50 mg/ml至約85 mg/ml、約50 mg/ml至約80 mg/ml、約50 mg/ml至約75 mg/ml、約50 mg/ml至約70 mg/ml、約50 mg/ml至約65 mg/ml、約50 mg/ml至約60 mg/ml、約60 mg/ml至約90 mg/ml、約60 mg/ml至約85 mg/ml、約60 mg/ml至約75 mg/ml、約60 mg/ml至約70 mg/ml或約60 mg/ml至約75 mg/ml；及其之間之範圍，例如約55 mg/ml至約85 mg/ml之糖及其之間之範圍。

在一實施例中，調配物包括以下濃度之蔗糖：約50 mg/ml至約90 mg/ml、約50 mg/ml至約85 mg/ml、約50 mg/ml至約80 mg/ml、約50 mg/ml至約75 mg/ml、約50 mg/ml至約70 mg/ml、約50 mg/ml至約65 mg/ml、約50 mg/ml至約60 mg/ml、約60 mg/ml至約90 mg/ml、約60 mg/ml至約85 mg/ml、約60 mg/ml至約75 mg/ml、約60 mg/ml至約70 mg/ml或約60 mg/ml至約75 mg/ml；及其之間之範圍，例如約55 mg/ml至約85 mg/ml之蔗糖及其之間之範圍。

亦向調配物中添加表面活性劑以例如添加穩定性。實例性表面活性劑包含(但不限於)非離子型洗滌劑，例如聚山梨醇酯(例如聚山梨醇酯20、80)或泊洛沙姆(例如泊洛沙姆188)。

在一實施例中，調配物包括以下濃度之聚山梨醇酯(例如聚山梨醇酯80)：約0.05-0.20 mg/ml (例如約0.05-0.19 mg/ml、0.05-0.18 mg/ml、0.05-0.17 mg/ml、0.05-0.16 mg/ml、0.05-0.15 mg/ml、0.05-0.14 mg/ml、0.05-0.13 mg/ml、0.05-0.12 mg/ml、0.05-0.11 mg/ml或

0.05-0.10 mg/ml；及其之間之範圍)。在一實施例中，水性調配物包括0.05-0.15 mg/ml之聚山梨醇酯(例如聚山梨醇酯80)。

在一實施例中，調配物包括以下濃度之抗-EGFR抗體藥物結合物：約1-150 mg/ml (例如約1 mg/ml、5 mg/ml、10 mg/ml、15 mg/ml、20 mg/ml、25 mg/ml、30 mg/ml、35 mg/ml、40 mg/ml、45 mg/ml、50 mg/ml、55 mg/ml、60 mg/ml、65 mg/ml、70 mg/ml、75 mg/ml、80 mg/ml、85 mg/ml、90 mg/ml、95 mg/ml、100 mg/ml、105 mg/ml、110 mg/ml、120 mg/ml、125 mg/ml、130 mg/ml、135 mg/ml、140 mg/ml、145 mg/ml或150 mg/ml及其之間之值之抗-EGFR抗體藥物結合物)。

在一實施例中，調配物包括以下量之抗-EGFR抗體藥物結合物：約1-150 mg、約10-150 mg、約20-150 mg、約30-150 mg、約40-150 mg、約50-150 mg、約60-150 mg、約70-150 mg、約80-150 mg、約90-150 mg、約100-150 mg、約10-140 mg、約20-140 mg、約30-140 mg、約40-140 mg、約50-140 mg、約60-140 mg、約70-140 mg、約80-140 mg、約90-140 mg、約100-140 mg、約10-130 mg、約20-130 mg、約30-130 mg、約40-130 mg、約50-130 mg、約60-130 mg、約70-130 mg、約80-130 mg、約90-130 mg、約100-130 mg、約10-120 mg、約20-120 mg、約30-120 mg、約40-120 mg、約50-120 mg、約60-120 mg、約70-120 mg、約80-120 mg、約90-120 mg、約100-120 mg、約10-110 mg、約20-110 mg、約30-110 mg、約40-110 mg、約50-110 mg、約60-110 mg、約70-110 mg、約80-110 mg、約90-110 mg及約100-110 mg；及其之間之範圍。

在一實施例中，調配物包括以下濃度之抗-EGFR抗體藥物結合物：1 mg/ml、2 mg/ml、3 mg/ml、4 mg/ml、5 mg/ml、6 mg/ml、7 mg/ml、8 mg/ml、9 mg/ml、10 mg/ml、11 mg/ml、12 mg/ml、13

mg/ml、14 mg/ml、15 mg/ml、16 mg/ml、17 mg/ml、18 mg/ml、19 mg/ml、20 mg/ml、21 mg/ml、22 mg/ml、23 mg/ml、24 mg/ml、25 mg/ml、26 mg/ml、27 mg/ml、28 mg/ml、29 mg/ml、30 mg/ml、31 mg/ml、32 mg/ml、33 mg/ml、34 mg/ml、35 mg/ml、36 mg/ml、37 mg/ml、38 mg/ml、39 mg/ml、40 mg/ml、41 mg/ml、42 mg/ml、43 mg/ml、44 mg/ml、45 mg/ml、46 mg/ml、47 mg/ml、48 mg/ml、49 mg/ml、50 mg/ml、51 mg/ml、52 mg/ml、53 mg/ml、54 mg/ml、55 mg/ml、56 mg/ml、57 mg/ml、58 mg/ml、59 mg/ml、60 mg/ml、61 mg/ml、62 mg/ml、63 mg/ml、64 mg/ml、65 mg/ml、66 mg/ml、67 mg/ml、68 mg/ml、69 mg/ml、70 mg/ml、71 mg/ml、72 mg/ml、73 mg/ml、74 mg/ml、75 mg/ml、76 mg/ml、77 mg/ml、78 mg/ml、79 mg/ml、80 mg/ml、81 mg/ml、82 mg/ml、83 mg/ml、84 mg/ml、85 mg/ml、86 mg/ml、87 mg/ml、88 mg/ml、89 mg/ml、90 mg/ml、91 mg/ml、92 mg/ml、93 mg/ml、94 mg/ml、95 mg/ml、96 mg/ml、97 mg/ml、98 mg/ml、99 mg/ml、100 mg/ml、101 mg/ml、102 mg/ml、103 mg/ml、104 mg/ml、105 mg/ml、106 mg/ml、107 mg/ml、108 mg/ml、109 mg/ml、110 mg/ml、111 mg/ml、112 mg/ml、113 mg/ml、114 mg/ml、115 mg/ml、116 mg/ml、117 mg/ml、118 mg/ml、119 mg/ml、120 mg/ml、121 mg/ml、122 mg/ml、123 mg/ml、124 mg/ml、125 mg/ml、126 mg/ml、127 mg/ml、128 mg/ml、129 mg/ml、130 mg/ml、131 mg/ml、132 mg/ml、133 mg/ml、134 mg/ml、135 mg/ml、136 mg/ml、137 mg/ml、138 mg/ml、139 mg/ml、140 mg/ml、141 mg/ml、142 mg/ml、143 mg/ml、144 mg/ml、145 mg/ml、146 mg/ml、147 mg/ml、148 mg/ml、149 mg/ml或150 mg/ml之抗體。在本發明中亦包含包括上文所提及數值中任一者之範圍，例如10-150 mg/ml、10-100 mg/ml、20-

90 mg/ml、10-70 mg/ml、10-40 mg/ml及1-70 mg/ml。

在一態樣中，本發明之特徵在於自包括抗-EGFR抗體藥物結合物之凍乾調配物重構之水性調配物，其中經重構水性調配物包括約1-100 mg/ml之抗-EGFR ADC、約1-10 mg/ml之緩衝液(例如組胺酸)、約50-90 mg/ml之糖(例如蔗糖)及約0.01-0.2 mg/ml之聚山梨醇酯(例如聚山梨醇酯80)，並具有約5-7之pH，且其中該抗-EGFR抗體藥物結合物包括結合至奧裡斯他汀(例如MMAF)之抗-EGFR抗體或其抗原結合部分(例如抗體1)。

最初將凍乾調配物製造成凍乾前調配物，其係凍乾製程前之調配物。藉由考慮期望劑量體積、投與模式等來測定存在於凍乾前調配物中之抗-EGFR抗體藥物結合物之量。

在一態樣中，本發明之特徵在於包括抗-EGFR抗體藥物結合物、糖(例如蔗糖)、表面活性劑(例如聚山梨醇酯80)及組胺酸之凍乾調配物，其中該調配物具有約5.0至7.0之pH，且其中該抗-EGFR抗體藥物結合物包括結合至奧裡斯他汀(例如MMAF)之抗-EGFR抗體(例如抗體1)。

在本發明之一實施例中，凍乾調配物包括抗-EGFR ADC (例如ADC1-MMAF)、蔗糖、聚山梨醇酯(例如聚山梨醇酯80)及組胺酸，且不包含或實質上不含甘露醇及/或絲胺酸。在本發明之一實施例中，凍乾調配物包括抗-EGFR ADC (例如ADC1-MMAF)、蔗糖、聚山梨醇酯(例如聚山梨醇酯80)及組胺酸，且不包含或實質上不含二價陽離子。在本發明之另一實施例中，凍乾調配物不包含乳糖酸。在本發明之另一實施例中，凍乾調配物不包含糖酸。

在某些實例性態樣中，本發明之特徵在於以下凍乾調配物：具有介於約5.0至7.0範圍內之pH，且包括1-20 mg緩衝液(例如組胺酸)、約320-410 mg糖(例如蔗糖)、約0.1 mg至0.9 mg表面活性劑(例如聚山

梨醇酯80)及約50-150 mg抗-EGFR抗體藥物結合物，其中該抗-EGFR抗體藥物結合物包括結合至奧裡斯他汀(例如MMAF)之抗-EGFR抗體(例如抗體1)。

在一實施例中，凍乾調配物包括約320-410 mg、約330-400 mg、約340 mg至390 mg、約350 mg至380 mg或約360 mg至370 mg糖(例如蔗糖)；及其之間之範圍(例如355 mg至375 mg)。

在一實施例中，凍乾調配物包括約0.1-0.9 mg表面活性劑(例如約0.1-0.8、0.1-0.7、0.01-0.6、0.01-0.55、0.2-0.6、0.3-0.6、0.4-0.6；及其之間之範圍)。

在一實施例中，凍乾調配物包括以下量之抗-EGFR抗體藥物結合物：約1-150 mg、約10-150 mg、約20-150 mg、約30-150 mg、約40-150 mg、約50-150 mg、約60-150 mg、約70-150 mg、約80-150 mg、約90-150 mg、約100-150 mg、約10-140 mg、約20-140 mg、約30-140 mg、約40-140 mg、約50-140 mg、約60-140 mg、約70-140 mg、約80-140 mg、約90-140 mg、約100-140 mg、約10-130 mg、約20-130 mg、約30-130 mg、約40-130 mg、約50-130 mg、約60-130 mg、約70-130 mg、約80-130 mg、約90-130 mg、約100-130 mg、約10-120 mg、約20-120 mg、約30-120 mg、約40-120 mg、約50-120 mg、約60-120 mg、約70-120 mg、約80-120 mg、約90-120 mg、約100-120 mg、約10-110 mg、約20-110 mg、約30-110 mg、約40-110 mg、約50-110 mg、約60-110 mg、約70-110 mg、約80-110 mg、約90-110 mg及約100-110 mg；及其之間之範圍。

在一實施例中，凍乾調配物包括1-20 mg/ml之組胺酸，或另一選擇為2-18 mg、3-17 mg、4-16 mg、5-15 mg、6-14 mg或7-13 mg；及其之間之範圍。

可根據業內已知之方法實施凍乾。例如，許多不同的冷凍-乾燥

機可用於此目的，例如HULL50 (Hull, USA)或GT20 (Leybold-Heraeus, Germany)冷凍-乾燥機。冷凍-乾燥係藉由冷凍調配物且隨後使來自冷凍內容物之冰在適於初級乾燥之溫度下昇華來完成。在此條件下，產物溫度低於調配物之共熔點或陷縮溫度。通常，在通常介於約50毫托至250毫托範圍內之適宜壓力下，用於初級乾燥之擱板溫度將介於約-30°C至25°C範圍內(前提係產物在初級乾燥期間保持冷凍)。容納樣品之容器(例如玻璃小瓶)之調配物、大小及類型以及液體體積主要取決於乾燥所需之時間，其可介於幾小時至數天(例如40-60 hr)範圍內。視情況，亦可端視產物中之期望殘餘水分含量來實施二級乾燥階段。實施二級乾燥時之溫度介於約0-40°C範圍內，此主要端視容器之類型及大小以及所採用蛋白質之類型而定。例如，凍乾之整個除水期中之擱板溫度可介於約15°C-30°C (例如約20°C)範圍內。二級乾燥所需之時間及壓力將使得產生適宜凍乾餅狀物，此端視例如溫度及其他參數而定。二級乾燥時間取決於產物中之期望殘餘水分含量，且通常持續至少約5小時(例如10-15小時)。壓力可與初級乾燥步驟期間所採用之壓力相同。冷凍-乾燥條件可端視調配物及小瓶大小而變化。

在投與患者之前，醫藥上可接受之稀釋劑重構凍乾調配物，以使得例如根據治療需要經重構調配物中抗-EGFR抗體藥物結合物之濃度為例如至少約1-150 mg/ml。重構通常係在約25°C之溫度下進行以確保完全水合，但可視需要採用其他溫度。重構所需之時間將端視例如稀釋劑之類型、賦形劑及蛋白質之量而定。實例性稀釋劑包含無菌水、抑菌性注射用水(BWFI)、pH緩衝溶液(例如磷酸鹽緩衝鹽水)、無菌鹽水溶液(例如0.9%鹽水溶液)、林格氏溶液或右旋糖溶液。在一實施例中，將凍乾劑溶解於無菌注射用水中且稀釋於無菌生理鹽水溶液中。稀釋劑視情況含有防腐劑。實例性防腐劑已在上文中加以闡述，且諸如苧醇或酚醇等芳香醇為較佳防腐劑。利用蛋白質及防腐劑功效

測試藉由評價不同防腐劑濃度之相容性來測定所採用防腐劑之量。例如，若防腐劑係芳香醇(例如苧醇)，則其可以約0.1%-2.0%、約0.5%-1.5%或約1.0%-1.2%之量存在。

### III.用於本發明調配物中之抗-EGFR抗體藥物結合物

本文所闡述之調配物及方法涵蓋包括特異性結合至EGFR之抗-EGFR抗體或其抗原結合部分之抗體藥物結合物(ADC)的應用。用於本發明調配物中之抗-EGFR抗體藥物結合物結合至治療劑，其中該治療劑發揮針對表現EGFR之細胞之細胞毒性、細胞生長抑制性或免疫阻抑效應。

具體而言，本發明係關於包括抗-EGFR抗體藥物結合物之調配物，該抗體藥物結合物包括識別在致瘤、過度增殖或異常細胞中發現之EGFR表位之抗體或其抗原結合部分，其中無法在正常或野生型細胞中檢測到該表位。較佳地，在過表現不存在及正常EGFR翻譯後修飾存在下，抗體或其抗原結合部分並不結合至或識別含有正常或野生型EGFR表位之正常或野生型細胞。

適用於本發明調配物及方法之抗-EGFR抗體通常為單株抗體，且可包含例如嵌合(例如，具有人類恆定區及小鼠可變區)、人類化或人類抗體；單鏈抗體；或諸如此類。免疫球蛋白分子可為任何類型(例如IgG、IgE、IgM、IgD、IgA及IgY)、類別(例如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1及IgA2)或子類之免疫球蛋白分子。例如，用於本發明抗-EGFR抗體藥物結合物中之抗-EGFR抗體可係抗-EGFR抗體1或2或其抗原結合部分。抗體1及2之序列及特徵闡述於下文中(亦參見WO 2011/041319及US20110076232 (例如，參見圖55之抗體序列)，該等申請案之全文以引用方式併入本文中)。抗體1及2各自靶向表皮生長因子受體(EGFR)之存在於上皮來源之所有癌症之50%中的過表現形式。

在本發明之具體實施例中，用於抗-EGFR抗體藥物結合物中之抗-EGFR抗體識別經擴增之野生型EGFR及de2-7 EGFR。抗-EGFR抗體(或抗-EGFR ADC)展示有用特異性之處在於，其識別de2-7 EGFR及經擴增EGFR，但並不識別正常、野生型EGFR或de2-7 EGFR所特有之獨特的接頭肽。具有該等結合特徵之抗體之實例係抗體1、抗體2及抗體3。抗體1及抗體2之序列提供於下文中。

抗體2係單株鼠類抗-EGFR抗體。抗體2 VH鏈包括核酸序列(SEQ ID NO: 1)及具有信號肽(SEQ ID NO: 2)之胺基酸序列，如下文所顯示(信號肽在SEQ ID NO: 2中加下劃線)。

SEQ ID NO: 1

ATGAGAGTGCTGATTCTTTTGTGGCTGTTACAGCCTTTCCTGGTGTCCTGTCTGA  
TGTGCAGCTTCAGGAGTCGGGACCTAGCCTGGTGAAACCTTCTCAGTCTCTGTCC  
CTCACCTGCACTGTCACTGGCTACTCAATCACCAGTGATTTTGCCTGGAAGTGGGA  
TCCGGCAGTTTCCAGGAAACAAGCTGGAGTGGATGGGCTACATAAGTTATAGTG  
GTAACACTAGGTACAACCCATCTCTCAAAGTCGAATCTCTATCACTCGAGACAC  
ATCCAAGAACCAATTCTTCCTGCAGTTGAATTCTGTGACTATTGAGGACACAGCC  
ACATATTACTGTGTAACGGCGGGACGCGGGTTTCCTTATTGGGGCCAAGGGACTC  
TGGTCACTGTCTCTGCA

SEQ ID NO: 2

MRVLILLWLFTAFPGVLSDVQLQESGPSLVKPSQSLSLTCTVTGYSITSDFAWNWIRQ  
FPGNKLEWMGYISYSGNTRYNPSLKSRI  
SITRDTSKNQFFLQLNSVTIEDTATYYCVT  
AGRGFPYWGQGTLVTVSA

抗體2 VL鏈包括核酸序列(SEQ ID NO: 3)及胺基酸序列(SEQ ID NO: 4)，如下文所顯示(信號肽在SEQ ID NO: 4中加下劃線)。

SEQ ID NO: 3



ATGGTGTCCACAGCTCAGTTCCTTGCATTCTTGTTGCTTTGGTTTCCAGGTGCAAG  
 ATGTGACATCCTGATGACCCAATCTCCATCCTCCATGTCTGTATCTCTGGGAGAC  
 ACAGTCAGCATCACTTGCCATTCAAGTCAGGACATTAACAGTAATATAGGGTGGT  
 TGCAGCAGAGACCAGGGAAATCATTTAAGGGCCTGATCTATCATGGAACCAACT  
 TGGACGATGAAGTTCCATCAAGGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGAGCCGATTATTC  
 TCTCACCATCAGCAGCCTGGAATCTGAAGATTTTGCAGACTATTACTGTGTACAG  
 TATGCTCAGTTTCCGTGGACGTTTCGGTGGAGGCACCAAGCTGGAAATCAAACGT

SEQ ID NO: 4

MVSTAQFLAFLLLWFPGARCDILMTQSPSSMSVSLGDTVSICHSSQDINSNIGWLQQ  
 RPGKSFKGLIYHGTLNLDDEVPSRFSGSGSGADYSLTISSEDFADYYCVQYAQFPW  
 TFGGGTKLEIKR

不含信號肽(SEQ ID NO: 11)之VH鏈序列SEQ ID NO: 2之互補決定區CDR1、CDR2及CDR3 (分別為SEQ ID NO: 5、6及7)在下文中藉由加下劃線來指示。VH鏈序列(SEQ ID NO: 11)之關鍵殘基為24、37、48、67及78。

SEQ ID NO: 11

DVQLQESGPSLVKPSQSLSLTCTVTGYSITSDFAWNWIRQFPGNKLEWMGYISYSGN  
TR

CDR1

CDR2

YNPSLKSRISITRDTSKNQFFLQLNSVTIEDTATYYCVTAGRGFPYWGQGLVTVSA

CDR3

不含信號肽(SEQ ID NO: 12)之VL鏈序列SEQ ID NO :4之互補決定區CDR1、CDR2及CDR3 (分別為SEQ ID NO: 8、9及10)在下文中藉由加下劃線來指示。VH鏈序列(SEQ ID NO: 12)之關鍵殘基為36、46、57及71。

SEQ ID NO: 12

DILMTQSPSSMSVSLGDTVSICHSSQDINSNIGWLQQRPGKSFKGLIYHGTNLDDEV  
PSR

CDR1

CDR2

FSGSGSGADYSLTISSEDFADYYCVOYAQFPWTFGGGTKLEIKR

CDR3

抗體3係包括抗體2輕鏈及重鏈之可變結構域及人類恆定區之嵌合抗體。

在本發明之一實施例中，用於本發明調配物及方法中之抗-EGFR抗體為抗體1。如上文所闡述，抗體1係包含抗體2之CDR之人類化抗-EGFR抗體。抗體1之重鏈可變(VH)區及恆定(CH)區在下文中分別顯示為SEQ ID NO: 13及14。VH區CDR1、CDR2及CDR3 (分別為SEQ ID NO: 15、16及17)係藉由加下劃線來指示。

SEQ ID NO: 13

QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGYSSDFAWNWIRQPPGKGLEWMGYISYSGN  
TR

CDR1

CDR2

YQPSLKSRITISRDTSKNQFFLKLNSVTAADTATYYCVTAGRGFPYWGQGLVTVSS

CDR3

SEQ ID NO: 14

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSQGVHTFPAVL  
QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP  
ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT  
KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP  
QVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGS  
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVDFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

抗體1之輕鏈可變(VL)區及恆定(CL)區在下文中分別顯示為SEQ ID NO: 18及19。VL區CDR1、CDR2及CDR3 (分別為SEQ ID NO: 20、21及22)係藉由加下劃線來指示。

SEQ ID NO: 18

DIQMTQSPSSMSVSVGDRVTITCHSSQDINSNIGWLQKPGKSFKGLIYHGTNLDDGV  
PS

CDR1

CDR2

RFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCVOYAQFPWTFGGGTKLEIKR

CDR3

SEQ ID NO: 19

TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE  
QDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

在一實施例中，本發明之特徵在於包括抗-EGFR抗體藥物結合物、蔗糖、聚山梨醇酯80及組胺酸之凍乾調配物，其中該調配物具有約5-7之pH，其中該抗-EGFR抗體藥物結合物包括結合至單甲基奧裡斯他汀F (MMAF)之抗-EGFR抗體或其抗原結合部分，且其中該抗體包括重鏈可變區，其包括包含闡釋於SEQ ID NO: 15、16及17中之胺基酸序列之互補決定區(CDR)；且包括輕鏈可變區，其包括包含闡釋於SEQ ID NO: 20、21及22中之胺基酸序列之CDR。

在一實施例中，本發明提供具有約5-7之pH且包括以下各項之凍乾調配物：抗-EGFR ADC (其包括包含以下各項之抗體或其抗原結合部分：重鏈可變區，其具有闡釋於SEQ ID NO: 13中之胺基酸序列；及重鏈恆定區，其具有如SEQ ID NO: 14中所闡釋之胺基酸序列；及輕鏈可變區，其具有闡釋於SEQ ID NO: 18中之胺基酸序列；及輕鏈恆定區，其具有如SEQ ID NO: 19中所闡釋之胺基酸序列)、組胺酸、糖(例如蔗糖)及聚山梨醇酯(例如聚山梨醇酯80)。

在一實施例中，本發明提供包括包含抗-EGFR抗體(結合至奧裡斯他汀，例如MMAF)之ADC之調配物，該抗-EGFR抗體具有包括如SEQ ID NO: 18之胺基酸序列中所闡述之CDR之輕鏈可變區、包括如SEQ ID NO: 13之胺基酸序列中所闡述之CDR的重鏈可變區。

可用於製造抗-EGFR抗體藥物結合物之抗-EGFR抗體可藉由業內已知之任何適宜方法來產生。例如，可使用眾多種技術來製備單株抗體，該等技術包含例如使用雜交瘤、重組及噬菌體展示技術或其組合。雜交瘤技術通常論述於例如 Harlow 等人，*Antibodies: A Laboratory Manual*, (Cold Spring Harbor Laboratory Press，第2版，1988)；及 Hammerling 等人，*In Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas*，第563-681頁(Elsevier, N.Y., 1981)。可用於製造抗-CD70抗體之噬菌體展示方法之實例包含例如以下文獻中所揭示之彼等：Brinkman 等人，1995, *J Immunol Methods* 182:41-50；Ames 等人，1995, *J Immunol Methods* 184:177-186；Kettleborough 等人，1994, *Eur J Immunol* 24:952-958；Persic 等人，1997, *Gene* 187:9-18；Burton 等人，1994, *Advances in Immunology* 57:191-280；PCT 公開案第 PCT/GB91/01 134號；PCT 公開案 WO 90/02809；WO 91/10737；WO 92/01047；WO 92/18619；WO 93/11236；WO 95/15982；WO 95/20401；及美國專利第 5,698,426 號；第 5,223,409 號；第 5,403,484 號；第 5,580,717 號；第 5,427,908 號；第 5,750,753 號；第 5,821,047 號；第 5,571,698 號；第 5,427,908 號；第 5,516,637 號；第 5,780,225 號；第 5,658,727 號；第 5,733,743 號及第 5,969,108 號(該等文獻之揭示內容皆以引用方式併入本文中)。

業內通常已知用於產生識別特異性表位之抗體片段之技術。例如，可使用酶(例如木瓜酶(以產生 Fab 片段)或胃蛋白酶(以產生 F(ab')<sub>2</sub> 片段))藉由蛋白水解裂解免疫球蛋白分子來產生 Fab 及 F(ab')<sub>2</sub> 片段。F(ab')<sub>2</sub> 片段含有可變區、輕鏈恆定區及重鏈之 CH1 結構域。重組產生 Fab、Fab' 及 F(ab')<sub>2</sub> 片段之技術亦可使用例如以下文獻中所揭示之方法來利用：PCT 公開案 WO 92/22324；Mullinax 等人，1992, *BioTechniques* 12(6):864-869；及 Sawai 等人，1995, *AJRI* 34:26-34；

及Better等人，1988, *Science* 240:1041-1043 (該等文獻之揭示內容皆以引用方式併入本文中)。

可用於產生單鏈Fvs及抗體之技術之實例包含以下文獻中所闡述之彼等：美國專利第4,946,778號及第5,258,498號；Huston等人，1991, *Methods in Enzymology* 203:46-88；Shu等人，1993, *Proc Natl Acad Sci USA* 90:7995-7999；及Skerra等人，1988, *Science* 240:1038-1040。

抗體可藉由業內已知多種技術中之任一者來產生。例如，自宿主細胞表現，其中藉由標準技術將編碼重鏈及輕鏈之表現載體轉染至宿主細胞中。術語「轉染」之各種形式意欲涵蓋眾多種常用於將外源DNA引入原核或真核宿主細胞中之技術，例如，電穿孔、磷酸鈣沈澱、DEAE-葡聚糖轉染及諸如此類。

用於表現本發明重組抗體之哺乳動物宿主細胞包含中國倉鼠卵巢細胞(CHO細胞) (包含dhfr-CHO細胞，其闡述於Urlaub及Chasin，(1980) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:4216-4220中，其與DHFR選擇標記物(例如，如Kaufman及Sharp (1982) *J. Mol. Biol.* 159:601-621中所闡述)一起使用)及DG44或DUXB11細胞(Urlaub等人(1986) *Som. Cell Molec. Genet.* 12:555；Haynes等人(1983) *Nuc. Acid. Res.* 11:687-706；Lau等人(1984) *Mol. Cell. Biol.* 4:1469-1475)、NS0骨髓瘤細胞、猴腎系(例如CVI及COS，例如COS 7 細胞)、SP2細胞、人類胚腎(HEK)細胞(例如HEK-293細胞)、中國倉鼠纖維母細胞(例如R1610)、人類子宮頸癌(例如HELA)、鼠類纖維母細胞(例如BALBc/3T3)、鼠類骨髓瘤(P3x63-Ag3.653；NS0；SP2/O)、倉鼠腎系(例如HAK)、鼠類L細胞(例如L-929)、人類淋巴球(例如RAJI)、人類腎(例如293及293T)。宿主細胞系通常市面有售(例如來自BD Biosciences, Lexington, Ky.；Promega, Madison, Wis.；Life Technologies, Gaithersburg, Md.)或來自

American Type Culture Collection (ATCC, Manassas, Va.)。

當將編碼抗體之重組表現載體引入哺乳動物宿主細胞中時，藉由將宿主細胞培養一段時間來產生抗體，該段時間足以使抗體在宿主細胞中之表現或使抗體分泌至生長宿主細胞之培養基中。可使用標準蛋白質純化方法自培養基回收抗體。

在用於重組表現抗體之實例性系統中，藉由磷酸鈣介導之轉染將編碼抗體重鏈及抗體輕鏈二者之重組表現載體引入dhfr-CHO細胞中。在重組表現載體內，抗體重鏈及輕鏈cDNA各自可操作地連接至CMV增強子/AdMLP啟動子調控元件以驅動高程度之cDNA轉錄。重組表現載體亦攜帶編碼DHFR之cDNA，此允許可對已利用胺甲喋呤選擇/擴增經載體轉染之CHO細胞進行選擇。對所選轉化體宿主細胞進行培養以表現抗體重鏈及輕鏈並自培養基回收完整抗體。使用標準分子生物學技術來製備重組表現載體，對宿主細胞實施轉染，選擇轉化體，培養宿主細胞且自培養基回收抗體。此外，本發明提供合成抗體之方法，其係藉由在適宜培養基中培養本發明宿主細胞直至抗體合成來實施。該方法可進一步包括自培養基分離抗體。

用於本發明中之抗-EGFR抗體藥物結合物包括結合至細胞毒性劑或免疫阻抑劑之抗-EGFR抗體或其抗原結合部分，以使所得ADC發揮針對表現EGFR之癌症細胞之細胞毒性或細胞生長抑制效應。因此，抗-EGFR抗體藥物結合物發揮針對表現EGFR之癌症細胞之細胞毒性或細胞生長抑制效應。在一實施例中，抗-EGFR ADC在表現EGFR之細胞內內在化且積聚，其中ADC發揮治療效應(例如細胞毒性、細胞生長抑制性或免疫阻抑效應)。

適於結合至抗體之部分之實例包含化學治療劑、前藥轉化酶、放射性同位素或化合物或毒素。在實例性實施例中，抗-EGFR抗體或其抗原結合部分結合至奧裡斯他汀，例如MMAF或MMAE。可使用發

揮針對癌細胞或經活化免疫細胞之治療效應之任何藥劑作為結合至抗-EGFR抗體或其衍生物之治療劑。(例如，參見WO 2004/010957，「Drug Conjugates and Their Use for Treating Cancer, An Autoimmune Disease or an Infectious Disease」(參見上文)及美國臨時公開案第60/400,403號(參見上文))。通常，治療劑為細胞毒性劑。在一些實施例中，抗-EGFR藥物結合物包括一種以上之治療劑/結合物，例如約1至約20種治療劑/結合物。

在較佳實施例中，抗-EGFR抗體或其抗原結合部分係結合至奧裡斯他汀(一或多種)。已顯示，奧裡斯他汀會干擾微管動力學、GTP水解及/或核及細胞分裂，且具有抗癌及/或抗真菌活性。

本發明之抗-EGFR抗體可結合至至少一種奧裡斯他汀。奧裡斯他汀代表通常已經證明會藉由干擾微管動力學及GTP水解，而藉此會抑制細胞分裂而具有抗癌活性之多拉斯他汀類似物之群。例如，奧裡斯他汀E (闡述於美國專利第5,635,483號中，該專利以引用方式併入本文中)係海洋天然產物多拉斯他汀10之合成類似物，其係藉由結合至微管蛋白上與抗癌藥物長春新鹼(vincristine)相同之位點來抑制微管蛋白聚合之化合物(G. R. Pettit, Prog. Chem. Org. Nat. Prod, 70: 1-79 (1997))。多拉斯他汀10、奧裡斯他汀PE及奧裡斯他汀E係具有4個胺基酸之直鏈肽，該等胺基酸中之三個為多拉斯他汀類化合物所特有。有絲分裂抑制劑之奧裡斯他汀子類之實例性實施例包含(但不限於)單甲基奧裡斯他汀D (MMAD或奧裡斯他汀D衍生物)、單甲基奧裡斯他汀E (MMAE或奧裡斯他汀E衍生物)、單甲基奧裡斯他汀F (MMAF或奧裡斯他汀F衍生物)、奧裡斯他汀F苯二胺(AFP)、奧裡斯他汀EB (AEB)、奧裡斯他汀EFP (AEFP)及5-苯甲醯基戊酸-AE酯(AEVB)。奧瑞斯他汀衍生物之合成及結構闡述於例如以下文獻中：美國專利申請公開案第2003-0083263號、第2005-0238649號及第2005-0009751號；

國際專利公開案第 WO 04/010957 號、國際專利公開案第 WO 02/088172 號及美國專利第 6,323,315 號；第 6,239,104 號；第 6,034,065 號；第 5,780,588 號；第 5,665,860 號；第 5,663,149 號；第 5,635,483 號；第 5,599,902 號；第 5,554,725 號；第 5,530,097 號；第 5,521,284 號；第 5,504,191 號；第 5,410,024 號；第 5,138,036 號；第 5,076,973 號；第 4,986,988 號；第 4,978,744 號；第 4,879,278 號；第 4,816,444 號；及第 4,486,414 號，該等文獻中之每一者皆以引用方式併入本文中。

在一實施例中，抗-EGFR 抗體(例如抗體 1)藉由連接體(例如(但不限於)馬來醯亞胺基己醯基)結合至至少一種 MMAF (單甲基奧裡斯他汀 F) (mc-MMAF)。MMAF 之結構提供於圖 2 中。抗-EGFR-抗體 ADC 可具有 2、4、6 或 8 之藥物對抗體比率(DAR)。應注意，ADC 之 DAR 可介於 0 至 8 範圍內，但較高負載(例如 10)亦可。單甲基奧裡斯他汀 F (MMAF)藉由阻斷微管蛋白之聚合來抑制細胞分裂。其具有帶電荷之 C 端苯丙胺酸殘基，此與其不帶電荷之對應部分 MMAE 相比減弱其細胞毒性活性。因其具有毒性，故其本身無法用作藥物，但可連接至將其引導至癌細胞之單株抗體(mAb)。在一實施例中，用於抗-EGFR 抗體之連接體在細胞外液中係穩定的，但一旦結合物進入腫瘤細胞中即會由組織蛋白酶裂解，由此活化抗有絲分裂機制。

在一實施例中，本發明之抗-EGFR 抗體結合至至少一種 MMAE (單甲基奧裡斯他汀 E)。MMAE 之結構以及包括 MMAE 之實例性 ADC 提供於圖 1 中。單甲基奧裡斯他汀 E (MMAE，維多汀)藉由阻斷微管蛋白之聚合來抑制細胞分裂。因其毒性較高，故其本身亦無法用作藥物。在最新癌症療法研發中，其連接至識別癌細胞中之特異性標記物表現且將 MMAE 引導至癌細胞之單株抗體(mAb)。在一實施例中，連接 MMAE 與抗-EGFR 抗體之連接體在細胞外液(即，在細胞外部之培



養基或環境)中穩定，但一旦ADC結合至特異性癌細胞抗原且進入癌症細胞中即由組織蛋白酶裂解，由此釋放毒性MMAE且活化強效抗有絲分裂機制。

在一實施例中，抗-EGFR抗體或其抗原結合部分結合至為MMAF之奧裡斯他汀。在一實施例中，抗-EGFR ADC為ADC 1-MMAF。ADC 1-MMAF包括共價連接至一或多種單甲基奧裡斯他汀F (MMAF)分子之抗體1 (闡述於上文及SEQ ID NO: 13至22中) (結構參見圖2)。為產生ADC 1-MMAF，將抗體1之鏈間二硫鍵還原成巰基。然後經由該等巰基將MMAF偶合至抗體。ADC 1-MMAF係使用非裂解連接體(即非裂解馬來醯亞胺基己醯基(mc)連接)來產生，如圖2中所顯示。

在一具體實施例中，本發明調配物包括標記有可檢測或功能標記之抗-EGFR ADC。可檢測標記包含(但不限於)可使用抗體成像領域中已知之習用化學附接至本發明抗體之放射性標記，例如同位素 $^2\text{H}$ 、 $^3\text{H}$ 、 $^{11}\text{C}$ 、 $^{13}\text{C}$ 、 $^{14}\text{C}$ 、 $^{32}\text{P}$ 、 $^{33}\text{S}$ 、 $^{34}\text{S}$ 、 $^{35}\text{S}$ 、 $^{36}\text{S}$ 、 $^{36}\text{Cl}$ 、 $^{51}\text{Cr}$ 、 $^{57}\text{Co}$ 、 $^{58}\text{Co}$ 、 $^{59}\text{Fe}$ 、 $^{90}\text{Y}$ 、 $^{121}\text{I}$ 、 $^{124}\text{I}$ 、 $^{125}\text{I}$ 、 $^{131}\text{I}$ 、 $^{211}\text{At}$ 、 $^{198}\text{Au}$ 、 $^{67}\text{Cu}$ 、 $^{225}\text{Ac}$ 、 $^{213}\text{Bi}$ 、 $^{99}\text{Tc}$ 及 $^{186}\text{Re}$ 。標記亦包含螢光標記及通常用於MRI-CT成像領域中之標記。其亦包含諸如辣根過氧化物酶(horseradish peroxidase)等酶標記。標記進一步包含可經由結合至特異性同源可檢測部分(例如經標記之抗生物素蛋白)來檢測之化學部分，例如生物素。

功能標記亦可包含經設計以靶向腫瘤位點從而破壞腫瘤組織之物質。該等功能標記包含細胞毒性藥物(例如5-氟尿嘧啶或蓖麻毒素)及酶(例如細菌羧肽酶或硝基還原酶)，其能夠在腫瘤位點處將前藥轉化成活性藥物。

如彼等熟習此項技術者所理解，上文所闡釋之藥劑以及其他適宜藥劑可以任何適宜方式結合或附接至抗-EGFR抗體(例如抗體1)以產生可用於本發明中之抗-EGFR ADC。例如且不限於，在本發明之多個

實施例中，抗-EGFR抗體及藥劑可共價附接及/或可使用連接體、間隔體及/或伸展體(stretcher)化合物來結合，該等化合物在本發明之多個實施例中可裂解或不可裂解，且產生由靶細胞內在化之治療劑。

在一實施例中，使用非裂解馬來醯亞胺基己醯基連接將抗體1結合至MMAF (抗體1-mc-MMAF)。

用於結合治療劑與蛋白質、且尤其抗體之技術為業內所熟知。(例如，參見Arnon等人，「Monoclonal Antibodies For Immunotargeting Of Drugs In Cancer Therapy」，Monoclonal Antibodies And Cancer Therapy (Reisfeld等人編輯，Alan R. Liss公司，1985)；Hellstrom等人，「Antibodies For Drug Delivery」，Controlled Drug Delivery (Robinson等人編輯，Marcel Dekker公司，第2版，1987)；Thorpe，「Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy: A Review」，Monoclonal Antibodies '84: Biological And Clinical Applications (Pinchera等人編輯，1985)；「Analysis, Results, and Future Prospective of the Therapeutic Use of Radiolabeled Antibody In Cancer Therapy」，Monoclonal Antibodies For Cancer Detection And Therapy (Baldwin等人編輯，Academic Press, 1985)；及Thorpe等人，1982, Immunol. Rev. 62:119-58。例如，亦參見PCT公開案WO 89/12624。)

在一實施例中，ADC包括介於細胞毒性劑與抗體之間之連接體區。例如，該等連接體、間隔體及/或擔架化合物包含(但不限於)以下各項：胺基苯甲酸間隔體(例如，參見且不限於美國專利第7,091,186號及第7,553,816號，該等專利中每一者之全文皆以引用方式併入本文中)；馬來醯亞胺基己醯基；對胺基苄基胺甲醯基(PAB)；溶酶體酶可裂解連接體(例如，參見且不限於美國專利第6,214,345號，該專利之全文以引用方式併入本文中)；馬來醯亞胺基己醯基-聚乙二醇20

(MC(PEG)6-OH)；N-甲基-纈胺酸瓜胺酸；4-(N-馬來醯亞胺基甲基)環己烷-1-甲酸N-琥珀醯亞胺基酯(SMCC) (例如，參見且不限於Yoshitake等人(1979) *Eur. J. Biochem.*, 101, 395-399，該文獻之全文以引用方式併入本文中)；4-(2-吡啶基二硫代)丁酸N-琥珀醯亞胺基酯(SPDB) (例如，參見且不限於美國專利第4,563,304號，該專利之全文以引用方式併入本文中)；4-(2-吡啶基硫代)戊酸N-琥珀醯亞胺基酯(SPP)；纈胺酸-瓜胺酸；及其他連接體、間隔體及/或擔架化合物(例如，參見且不限於美國專利第7,090,843號、第7,223,837號及第7,659,241號以及美國專利公開案第2004/0018194號、第2004/0121940號、第2006/0116422號、第2007/0258987號、第2008/0213289號、第2008/0241128號、第2008/0311136號、第2008/0317747號及第2009/0010945號，該等專利中每一者之全文皆以引用方式併入本文中)。一般而言，用於將上文所測試藥劑以及其他藥劑附接及/或結合至本發明之特異性結合成員、尤其抗體及其片段之技術為業內已知。例如，參見且不限於Amon等人，「Monoclonal Antibodies For Immunotargeting Of Drugs In Cancer Therapy」，*Monoclonal Antibodies And Cancer Therapy*，Reisfeld等人(編輯)，第243-56頁(Alan R. Liss公司1985)；Hellstrom等人，「Antibodies For Drug Delivery」，*Controlled Drug Delivery* (第2版)，Robinson等人(編輯)，第623-53頁(Marcel Dekker公司1987)；Thorpe，「Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy: A Review」，*Monoclonal Antibodies '84: Biological And Clinical Applications*，Pinchera等人(編輯)，第475-506頁(1985)；「Analysis, Results, And Future Prospective Of The Therapeutic Use Of Radiolabeled Antibody In Cancer Therapy」，*Monoclonal Antibodies For Cancer Detection And Therapy*，Baldwin等人(編輯)，第303-16頁(Academic Press 1985)；及Thorpe等人，「The Preparation And

Cytotoxic Properties Of Antibody-Toxin Conjugates」, Immunol. Rev., 62:119-58 (1982), 該等專利中每一者之全文皆以引用方式併入本文中。

可使用多種不同反應將藥物共價附接至抗體。此通常係藉由抗體分子之胺基酸殘基之反應來完成，該等殘基包含離胺酸之胺基、麩胺酸及天冬胺酸之游離羧酸基團、半胱胺酸之巯基及芳香族胺基酸之各個部分。共價附接之最常用非特異性方法係將化合物之羧基(或胺基)連接至抗體之胺基(或羧基)之碳化二亞胺反應。此外，已使用諸如二醛或亞胺基酯等雙功能藥劑將化合物之胺基連接至抗體分子之胺基。亦可使用希夫鹼(Schiff base)反應將藥物附接至抗體。此方法涉及含有二醇或羥基之藥物之過碘酸鹽氧化，由此形成醛，然後使該醛與抗體分子反應。附接係經由與抗體分子之胺基形成希夫鹼來進行。亦可使用異硫氰酸酯作為偶合劑將藥物共價附接至抗體。其他技術為熟習此項技術者已知且在本發明之範疇內。該等技術之非限制性實例闡述於例如美國專利第5,665,358號、第5,643,573號及第5,556,623號中，該等專利之全文以引用方式併入本文中。

在某些實施例中，使為連接體前體之中間體與藥物在適宜條件下反應。在某些實施例中，在藥物及/或中間體上使用反應基團。隨後使藥物與中間體之間之反應產物或衍生藥物與抗-EGFR抗體在適宜條件下反應。

結合方法之其他實例闡述於美國專利第7,837,980號(Seattle Genetics)；Carter及Senter (2008) *Cancer J*, 14(3):154；以及美國公開申請案第2004-0157782 A1號及第2005-0238649號；以及國際專利申請案第PCT/US04/038392號中。

在某些實施例中，抗-EGFR ADC可經純化以獲得具有期望藥物對抗體比率(DAR)之ADC。在本發明之一實施例中，調配物含有包括

具有平均期望藥物對抗體比率(DAR)、例如平均DAR為約3之抗-EGFR ADC之抗-EGFR ADC混合物。在本發明之一實施例中，調配物包括包含具有期望DAR範圍、例如DAR為約2-4之抗-EGFR ADC之ADC混合物。

在一實施例中，調配物含有ADC混合物，其中所存在ADC之70%具有4或更小之藥物負載物質，且其中該ADC包括抗-EGFR抗體及奧裡斯他汀。另一選擇為，所存在ADC之75%具有4或更小之藥物負載物質；所存在ADC之80%具有4或更小之藥物負載物質；所存在ADC之85%具有4或更小之藥物負載物質；所存在ADC之90%具有4或更小之藥物負載物質；或所存在ADC之95%具有4或更小之藥物負載物質。

在本發明之一實施例中，調配物包括包含結合至單甲基奧裡斯他汀F (MMAF)之抗-EGFR抗體或其抗原結合部分之抗-EGFR ADC (其中該ADC 1-MMAF包括重鏈可變區，其包括包含闡釋於SEQ ID NO: 15、16及17中之胺基酸序列之互補決定區(CDR)；且包括輕鏈可變區，其包括包含闡釋於SEQ ID NO: 20、21及22中之胺基酸序列之CDR)、蔗糖、組胺酸及聚山梨醇酯80，其中該調配物包括平均DAR為約3之ADC混合物或DAR為約2-4之ADC混合物。在本發明之另一實施例中，調配物經凍乾。在另一實施例中，抗-EGFR抗體經由馬來醯亞胺基己醯基連接體連接至MMAF。在另一實施例中，抗-EGFR抗體或其抗原結合部分包括重鏈可變區，其包括闡釋於SEQ ID NO: 13中之胺基酸序列；及輕鏈可變區，其包括闡釋於SEQ ID NO: 18中之胺基酸序列。

在一實施例中，調配物包括包含結合至單甲基奧裡斯他汀E (MMAE)之抗-EGFR抗體或其抗原結合部分之抗-EGFR ADC (其中該ADC 1-MMAE包括重鏈可變區，其包括包含闡釋於SEQ ID NO: 15、

16及17中之胺基酸序列之互補決定區(CDR)；且包括輕鏈可變區，其包括包含闡釋於SEQ ID NO: 20、21及22中之胺基酸序列之CDR)、蔗糖、組胺酸及聚山梨醇酯80，其中該調配物包括平均DAR為約3之ADC混合物或DAR為約2-4之ADC混合物。在本發明之另一實施例中，調配物經凍乾。在另一實施例中，抗-EGFR抗體或其抗原結合部分包括重鏈可變區，其包括闡釋於SEQ ID NO: 13中之胺基酸序列；及輕鏈可變區，其包括闡釋於SEQ ID NO: 18中之胺基酸序列。

可以收集具有某些DAR之ADC之方式來純化ADC。例如，可使用HIC樹脂來分離高藥物負載ADC與具有最佳藥物對抗體比率(DAR)、例如DAR為4或更小之ADC。在一實施例中，將疏水性樹脂添加至ADC混合物中以使不期望ADC(即，較高藥物負載ADC)結合樹脂且可自混合物選擇性移除。在某些實施例中，ADC之分離可藉由使ADC混合物(例如，包括4或更小之藥物負載ADC物質及6或更大之藥物負載ADC物質之混合物)與疏水性樹脂接觸來達成，其中樹脂之量足以結合自ADC混合物移除之藥物負載物質。將樹脂與ADC混合物混合在一起，以使得所移除之ADC物質(例如6或更大之藥物負載物質)結合至樹脂且可與ADC混合物中之其他ADC物質分離。用於該方法中之樹脂之量係基於欲移除物質與樹脂之間之重量比，其中所使用樹脂之量不允許大量結合期望藥物負載物質。因此，可使用方法將平均DAR 5.5減小至小於4。此外，可使用純化方法來分離具有任何期望範圍之藥物負載物質(例如，4或更小之藥物負載物質、3或更小之藥物負載物質、2或更小之藥物負載物質、1或更小之藥物負載物質)之ADC。

分子之某些物質基於該等物質與疏水性樹脂之間之疏水性相互作用結合至表面。在一實施例中，本發明方法涉及依賴於混雜疏水性樹脂與ADC混合物之純化製程，其中添加至混合物中之樹脂之量決定

結合哪種物質(例如DAR為6或更大之ADC)。產生並純化來自表現系統(例如哺乳動物表現系統)之抗體後，將抗體還原且經由結合反應偶合至藥物。所得ADC混合物通常含有具有一定範圍之DAR(例如1至8)之ADC。在一實施例中，ADC混合物包括4或更小之藥物負載物質及6或更大之藥物負載物質。根據本發明方法，ADC混合物可使用諸如(但不限於)分批製程等製程來純化，以使得選擇出具有4或更小之藥物負載物質之ADC且與具有較高藥物負載之ADC(例如，具有6或更大之藥物負載物質之ADC)分離。應注意，可使用本文所闡述之純化方法來分離具有任何期望範圍之DAR(例如4或更小之DAR、3或更小之DAR、2或更小之DAR)之ADC。

因此，在一實施例中，可使包括4或更小之藥物負載物質及6或更大之藥物負載物質之ADC混合物與疏水性樹脂接觸以形成樹脂混合物，其中與ADC混合物接觸之疏水性樹脂之量足以使6或更大之藥物負載物質結合至樹脂，但不允許大量結合4或更小之藥物負載物質；及自ADC混合物移除疏水性樹脂，以獲得包括ADC之組合物，其中該組合物包括小於15%之6或更大之藥物負載物質，且其中ADC包括結合至奧裡斯他汀之抗體。在單獨實施例中，該方法可包含使包括4或更小之藥物負載物質及6或更大之藥物負載物質之ADC混合物與疏水性樹脂接觸以形成樹脂混合物，其中與ADC混合物接觸之疏水性樹脂之量足以使6或更大之藥物負載物質結合至樹脂，但不允許大量結合4或更小之藥物負載物質；及自ADC混合物移除疏水性樹脂，以獲得包括ADC之組合物，其中該組合物包括小於15%之6或更大之藥物負載物質，且其中ADC包括結合至奧裡斯他汀之抗體，其中疏水性樹脂重量係ADC混合物中6或更大之藥物負載物質重量的3至12倍。

該ADC分離方法可使用分批純化方法來實施。分批純化製程通常包含將ADC混合物添加至於容器中之疏水性樹脂中，混合，且隨後

分離樹脂與上清液。例如，在分批純化背景下，在期望平衡緩衝液中製備疏水性樹脂或將該疏水性樹脂平衡至該期望平衡緩衝液。由此可獲得疏水性樹脂之漿液。然後可使ADC混合物與漿液接觸以吸附欲藉由疏水性樹脂分離之特異性ADC物質。然後可藉由例如過濾或使漿液沉降並移除上清液自漿液分離包括不與疏水性樹脂材料結合之期望ADC之溶液。可使所得漿液經歷一或多個洗滌步驟。為溶析所結合ADC，可降低鹽濃度。在一實施例中，用於本發明中之製程包含不大於50 g的疏水性樹脂。

因此，可使用分批方法使包括4或更小之藥物負載物質及6或更大之藥物負載物質之ADC混合物與疏水性樹脂接觸以形成樹脂混合物，其中與ADC混合物接觸之疏水性樹脂之量足以使6或更大之藥物負載物質結合至樹脂，但不允許大量結合4或更小之藥物負載物質；及自ADC混合物移除疏水性樹脂，以獲得包括ADC之組合物，其中該組合物包括小於15%之6或更大之藥物負載物質，且其中ADC包括結合至奧裡斯他汀之抗體。在單獨實施例中，使用分批方法使包括4或更小之藥物負載物質及6或更大之藥物負載物質之ADC混合物與疏水性樹脂接觸以形成樹脂混合物，其中與ADC混合物接觸之疏水性樹脂之量足以使6或更大之藥物負載物質結合至樹脂，但不允許大量結合4或更小之藥物負載物質；及自ADC混合物移除疏水性樹脂，以獲得包括ADC之組合物，其中該組合物包括小於15%之6或更大之藥物負載物質，且其中ADC包括結合至奧裡斯他汀之抗體，其中疏水性樹脂重量係ADC混合物中6或更大之藥物負載物質重量的3至12倍。

另一選擇為，可使用循環製程來實施純化，其中將樹脂填充於容器中且使ADC混合物通過疏水性樹脂床，直至移除欲分離之特異性ADC物質。然後自容器泵送上清液(含有期望ADC物質)，且可使樹脂床經歷洗滌步驟。



亦可使用循環製程使包括4或更小之藥物負載物質及6或更大之藥物負載物質之ADC混合物與疏水性樹脂接觸以形成樹脂混合物，其中與ADC混合物接觸之疏水性樹脂之量足以使6或更大之藥物負載物質結合至樹脂，但不允許大量結合4或更小之藥物負載物質；及自ADC混合物移除疏水性樹脂，以獲得包括ADC之組合物，其中該組合物包括小於15%之6或更大之藥物負載物質，且其中ADC包括結合至奧裡斯他汀之抗體。在單獨實施例中，使用循環製程使包括4或更小之藥物負載物質及6或更大之藥物負載物質之ADC混合物與疏水性樹脂接觸以形成樹脂混合物，其中與ADC混合物接觸之疏水性樹脂之量足以使6或更大之藥物負載物質結合至樹脂，但不允許大量結合4或更小之藥物負載物質；及自ADC混合物移除疏水性樹脂，以獲得包括ADC之組合物，其中該組合物包括小於15%之6或更大之藥物負載物質，且其中ADC包括結合至奧裡斯他汀之抗體，其中疏水性樹脂重量係ADC混合物中6或更大之藥物負載物質重量的3至12倍。

另一選擇為，可使用流過製程來實施純化，其中將樹脂填充於容器(例如管柱)中，且使ADC混合物通過填充樹脂，以使期望ADC物質實質上不與樹脂結合並流過樹脂，且使不期望ADC物質結合至樹脂。流過製程可以單通過模式(其中所關注ADC物質係藉由單次通過容器之樹脂而獲得)或多通過模式(其中所關注ADC物質係藉由多次通過容器之樹脂而獲得)來實施。實施流過製程，以使得所選重量之樹脂結合至不期望ADC群體，且使期望ADC (例如DAR 2-4)流過樹脂並在一或多次通過後收集於流過部分(flow through)中。

在本發明之一實施例中，可使用流過製程使包括4或更小之藥物負載物質及6或更大之藥物負載物質之ADC混合物與疏水性樹脂接觸，其中與ADC混合物接觸之疏水性樹脂之量足以使6或更大之藥物負載物質結合至樹脂，但不允許大量結合4或更小之藥物負載物質，

其中使4或更小之藥物負載物質通過樹脂，且隨後在一或多次通過後收集，以獲得包括期望ADC (例如DAR 2-4)之組合物，其中該組合物包括小於15%之6或更大之藥物負載物質，且其中ADC包括結合至奧裡斯他汀之抗體。在單獨實施例中，使用流過製程藉由使ADC混合物通過樹脂使包括4或更小之藥物負載物質及6或更大之藥物負載物質之ADC混合物與疏水性樹脂接觸，其中與ADC混合物接觸之疏水性樹脂之量足以使6或更大之藥物負載物質結合至樹脂，但不允許大量結合4或更小之藥物負載物質，其中使4或更小之藥物負載物質通過樹脂且隨後收集，以獲得包括ADC之組合物，其中該組合物包括小於15%之6或更大之藥物負載物質，且其中ADC包括結合至奧裡斯他汀之抗體，其中疏水性樹脂重量之量係ADC混合物中6或更大之藥物負載物質重量的3至12倍。

純化方法可基於使用疏水性樹脂來分離高對低藥物負載ADC物質來實施。疏水性樹脂包括與ADC之疏水性基團相互作用之疏水性基團。ADC上之疏水性基團與疏水性樹脂內之疏水性基團相互作用。蛋白質之疏水性越高，其與疏水性管柱之相互作用將越強。

疏水性樹脂通常包括疏水性配體(例如烷基或芳基)所偶合之基底基質(例如交聯瓊脂糖或合成共聚物材料)。許多疏水性樹脂市面有售。實例包含(但不限於)具有低或高取代之苯基Sepharose™ 6快速流動管柱(Pharmacia LKB Biotechnology, AB, Sweden)；苯基Sepharose™ 高效管柱(Pharmacia LKB Biotechnology, AB, Sweden)；辛基Sepharose™ 高效管柱(Pharmacia LKB Biotechnology, AB, Sweden)；Fractogel™ EMD 丙基或Fractogel™ EMD 苯基管柱(E. Merck, Germany)；Macro-Prep™ 甲基或Macro-Prep™ 第三丁基載體(Bio-Rad, California)；WP HI-丙基(C<sub>3</sub>)™ 管柱(J. T. Baker, New Jersey)；及Toyopearl™ 醚、己基、苯基或丁基管柱(TosoHaas, PA)。在一實施例

中，疏水性樹脂為丁基疏水性樹脂。在另一實施例中，疏水性樹脂為苯基疏水性樹脂。在另一實施例中，疏水性樹脂為己基疏水性樹脂、辛基疏水性樹脂或癸基疏水性樹脂。在一實施例中，疏水性樹脂係具有正丁基配體之甲基丙烯酸聚合物(例如TOYOPEARL®丁基-600M)。

用於純化單獨低及高DAR ADC之其他方法揭示於美國臨時公開案第61/792,834號及於2014年3月14日提出申請的美國公開案第xx/xxxxxx號[代理人案號：117813-07002，標題為「ANTIBODY DRUG CONJUGATE (ADC) PURIFICATION」)中，該等公開案之揭示內容以引用方式併入本文中。

#### IV.調配物應用

根據本發明方法，將包括抗-EGFR ADC之調配物投與患有需要使用抗-EGFR抗體或抗-EGFR-ADC治療之病症(或具有罹患該病症之風險)之個體。包括抗-EGFR ADC之調配物可單獨或與其他組合物組合投與用於預防或治療需要使用抗-EGFR抗體治療之病症。

如本文所使用，術語「EGFR活性有害之病症」意欲包含疾病及其他病症，其中已顯示EGFR活性在患有該病症之個體中之存在係或懷疑係負責該病症之病理生理學的原因或導致該病症惡化之因素。因此，EGFR活性有害之病症係預期抑制EGFR活性會減輕病症之症狀及/或進展的病症。該等病症可藉由例如存在於罹患該病症之個體之生物樣品中之EGFR的活性增加或EGFR之量增加(例如，個體之組織樣品、血清、血漿、滑液等中之EGFR的濃度增加)來證實，該增加可例如使用抗-EGFR抗體來檢測。

可使用本發明調配物來治療癌症。可治療癌症之實例包含(但不限於)神經膠質母細胞瘤、非小細胞肺癌、肺癌、結腸癌、頭頸癌、乳癌、鱗狀細胞腫瘤、肛門癌、皮膚癌及外陰癌。

在一實施例中，可向個體投與包括ADC1-MMAF之調配物來治療

結腸直腸癌、頭頸癌(包含(但不限於)下咽癌、口咽癌、食道癌、喉癌及口腔癌)、胰臟癌及胃癌。在本發明之一態樣中，向個體投與包括ADC1-MMAF之調配物來治療可能使表皮生長因子受體(EGFR)過表現之實體腫瘤、鱗狀非小細胞肺癌(NSCLC)或多形性神經膠質母細胞瘤。可使用本發明組合物治療之該等癌症之其他實例包含鱗狀腫瘤(包含肺、頭頸、子宮頸等之鱗狀腫瘤)、神經膠質母細胞瘤、神經膠質瘤、非小細胞肺癌、肺癌、結腸癌、頭頸癌、乳癌、鱗狀細胞腫瘤、肛門癌、皮膚癌及外陰癌。

抗-EGFR ADC之獨特特異性提供診斷及治療用途以用於鑒定、表徵、靶向並治療、減少或消除多種致瘤細胞類型及腫瘤類型，該等類型為例如(但不限於)神經膠質母細胞瘤、非小細胞肺癌、肺癌、結腸癌、頭頸癌、乳癌、鱗狀細胞腫瘤、肛門癌、皮膚癌及外陰癌，而不具有利用先前已知EGFR抗體可觀察到之與正常組織攝取相關之問題。因此，可利用抗-EGFR ADC來識別、分離、表徵、靶向並治療或消除過表現EGFR (例如藉由擴增或表現突變體或變體EGFR)之細胞及在具體實施例中展示異常翻譯後修飾之彼等。

在本發明之一態樣中，提供用於治療個體之方法，其包括投與治療有效量之如本文所闡述調配物中任一者中之抗-EGFR ADC，其中該個體患有需要使用調配物中之抗-EGFR抗體治療之病症(例如腫瘤、癌性病況、癌前病況及與過度增殖性細胞生長相關或源自其之任何病況)，例如(但不限於)可能使表皮生長因子受體(EGFR)過表現之實體腫瘤或多形性神經膠質母細胞瘤。

用於檢測EGFR在腫瘤中之表現之方法為業內已知，例如EGFR pharmDx™套組(Dako)。與之相比，「EGFR陰性腫瘤」定義為如藉由免疫組織化學技術所測定，在腫瘤樣品中之背景上方不存在EGFR膜染色之腫瘤。

因此，可特定使用包括抗-EGFR ADC之調配物來對EGFR腫瘤或致瘤細胞之性質進行歸類，該歸類係藉由染色或以其他方式識別其中存在EGFR過表現、尤其擴增及/或EGFR突變、尤其de2-7 EGFR之彼等腫瘤或細胞來實施。此外，已顯示抗-EGFR ADC展示針對含有經擴增EGFR之腫瘤及de2-7 EGFR陽性異種移植物之顯著的活體內抗腫瘤活性。

因此，在本發明之另一態樣中，提供治療腫瘤、癌性病況、癌前病況及與過度增殖性細胞生長相關或源自其之任何病況之方法，其包括投與本文所闡述調配物中之抗-EGFR ADC。

多種遞送系統為業內已知且可用於投與包括抗-EGFR ADC之調配物。引入方法包含(但不限於)皮內、肌內、腹膜內、靜脈內、皮下、鼻內、硬膜外及口服途徑。ADC可例如藉由輸注或濃注注射、藉由上皮或黏膜皮膚內襯(例如，口腔黏膜、直腸及腸黏膜及諸如此類)吸收來投與，且可與其他生物活性劑(例如化學治療劑)一起投與。投與可為全身性或局部。在一實施例中，本發明調配物經靜脈內遞送至個體。在另一實施例中，本發明調配物經皮下遞送至個體。在一實施例中，個體向其自身投與(自我投與)調配物。

可有效地治療或預防需要使用調配物中之抗-EGFR ADC治療之病症(例如癌症)之ADC的量可藉由標準臨床技術來確定。此外，可視情況採用活體外分析來幫助鑒定最佳劑量範圍。精確劑量亦將端視投與途徑及免疫病症或表現EGFR之癌症之階段而定，且可根據從業醫師之判斷及各患者之情況來決定。在一實施例中，向有需要之個體投與治療有效量之於調配物中之抗-EGFR ADC。如本文所使用之術語抗-EGFR ADC之「治療有效量」或「有效量」係指可有效地預防或治療或減輕可經ADC有效治療之病症之症狀的量。調配物中之抗-EGFR ADC之治療有效量的實例係足以抑制有害EGFR活性或治療其中EGFR

活性有害之病症之量。

抗-EGFR ADC之劑量可以例如下列方式投與：每天、每週一次(每週)、每週兩次、每週三次、每週四次、每週五次、每兩週、每三週一次、每月或每四週或視需要以其他方式。

在某些實施例中，抗-EGFR ADC可與一或多種其他治療劑共投與個體來治療癌症。術語「共投與」意指投與以於相同醫藥組合物或單獨醫藥組合物中之組合投與個體之兩種或更多種不同的醫藥劑或治療劑(例如輻射治療)。因此，共投與涉及同時投與包括兩種或更多種醫藥劑之單一醫藥組合物或同時或不同時向同一個體投與兩種或更多種不同的組合物。

抗-EGFR ADC (或包括抗-EGFR ADC之調配物)可與治療有效量之一或多種藥劑共投與來治療癌症，其中藥劑之實例包含例如輻射、烷基化劑、血管生成抑制劑、抗體、抗代謝物、抗有絲分裂劑、抗增生劑、抗病毒劑、極光激酶抑制劑(aurora kinase inhibitor)、細胞凋亡促進劑(例如Bcl-xL、Bcl-w及Bfl-1)抑制劑、死亡受體途徑活化劑、Bcr-Abl激酶抑制劑、BiTE (雙特異性T細胞銜接物(Engager))抗體、抗體藥物結合物、生物反應改質劑、細胞週期蛋白依賴性激酶抑制劑、細胞週期抑制劑、環氧合酶-2抑制劑、DVD (雙重可變結構域抗體)、白血病毒致癌基因同源物(ErbB2)受體抑制劑、生長因子抑制劑、熱休克蛋白(HSP)-90抑制劑、組蛋白去乙酰酶(HDAC)抑制劑、激素療法、免疫劑、細胞凋亡蛋白抑制劑(IAP)之抑制劑、嵌入抗生素、激酶抑制劑、驅動蛋白抑制劑、Jak2抑制劑、哺乳動物雷帕黴素(rapamycin)靶抑制劑、微小RNA、分裂素活化之細胞外信號調控激酶抑制劑、多價結合蛋白、非類固醇抗發炎藥物(NSAID)、聚ADP (二磷酸腺苷)-核糖聚合酶(PARP)抑制劑、鉑化學治療劑、保羅樣激酶(polo-like kinase, Plk)抑制劑、磷酸肌醇-3激酶(布羅莫結構域

(bromodomain))抑制劑、蛋白體抑制劑、嘌呤類似物、嘧啶類似物、受體酪胺酸激酶抑制劑、類視色素/三角肌植物生物鹼、小抑制核糖核酸(siRNA)、拓撲異構酶抑制劑、泛素連接酶抑制劑及諸如此類及一或多種該等試劑之組合。

抗-EGFR ADC (或包括抗-EGFR ADC之調配物)可與治療有效量之一或多種藥劑共投與來治療癌症，該等藥劑包含BiTE抗體，其係藉由同時結合該兩種細胞引導T細胞攻擊癌細胞之雙特異性抗體。然後T細胞攻擊靶癌細胞。BiTE抗體之實例包含阿德木單抗(adecatumumab) (Micromet MT201)、蘭妥莫單抗(blinatumomab) (Micromet MT103)及諸如此類。不受限於理論，T細胞誘發靶癌細胞凋亡之一種機制係藉由細胞溶解顆粒組份(包含穿孔蛋白及顆粒酶B)之胞吐作用。就此而言，已顯示Bcl-2可減弱穿孔蛋白及顆粒酶B二者對於細胞凋亡之誘導。該等數據表明抑制Bcl-2可增強T細胞在靶向癌細胞時誘發之細胞毒性效應(V.R. Sutton、D.L. Vaux及J.A. Trapani, *J. of Immunology* 1997, 158 (12), 5783)。

抗-EGFR ADC (或包括抗-EGFR ADC之調配物)可與治療有效量之一或多種藥劑共投與來治療癌症，該等藥劑包含siRNA。SiRNA係具有內源性RNA鹼基或化學修飾核苷酸之分子。修飾不會消除細胞活性，而是賦予增大之穩定性及/或增大之細胞效能。化學修飾之實例包含硫代磷酸酯基團、2'-去氧核苷酸、含有2'-OCH<sub>3</sub>之核糖核苷酸、2'-F-核糖核苷酸、2'-甲氧基乙基核糖核苷酸、其組合及諸如此類。siRNA可具有不同長度(例如，10-200 bp)及結構(例如，髮夾、單鏈/雙鏈、凸起、凹痕/空隙、錯配)且可在細胞中處理以提供活性基因沉默。雙鏈siRNA (dsRNA)可在各鏈(鈍末端)或不對稱末端(突出端)上具有相同數量之核苷酸。1-2個核苷酸之突出端可存在於有義鏈及/或反義鏈上，亦可存在於給定鏈之5'末端及/或3'末端。

抗-EGFR ADC (或包括抗-EGFR ADC之調配物)可與治療有效量之一或多種藥劑共投與來治療癌症，該等藥劑包含DVD及其他多價結合蛋白。多價結合蛋白係包括兩個或更多個抗原結合位點之結合蛋白。多價結合蛋白經改造以具有三個或更多個抗原結合位點且通常並非天然抗體。術語「多特異性結合蛋白」意指能夠結合兩個或更多個相關或不相關靶之結合蛋白。雙重可變結構域(DVD)結合蛋白係結合包括兩個或更多個抗原結合位點之蛋白質的四價或多價結合蛋白。該等DVD可具有單特異性(即，能夠結合一種抗原)或多特異性(即，能夠結合兩種或更多種抗原)。包括兩條重鏈DVD多肽及兩條輕鏈DVD多肽之DVD結合蛋白稱為DVD Ig。DVD Ig之每一半皆包括重鏈DVD多肽、輕鏈DVD多肽及兩個抗原結合位點。每一結合位點包括重鏈可變結構域及輕鏈可變結構域，每個抗原結合位點具有總共6個參與抗原結合之CDR。多特異性DVD包含結合DLL4及VEGF或C-met及EGFR或ErbB3及EGFR之DVD結合蛋白。

抗-EGFR ADC (或包括抗-EGFR ADC之調配物)可與治療有效量之一或多種藥劑共投與來治療癌症，該等藥劑包含烷基化劑。烷基化劑包含六甲嘧胺、AMD-473、AP-5280、阿普淨醌(apaziquone)、苯達莫司汀(bendamustine)、伯斯坦尼辛(brostallicin)、白消安(busulfan)、卡波醌(carboquone)、卡莫司汀(carmustine) (BCNU)、苯丁酸氮芥(chlorambucil)、CLORETAZINE<sup>®</sup> (拉羅司汀(laromustine)、VNP 40101M)、環磷醯胺、達卡巴吡(decarbazine)、雌莫司汀(estramustine)、福莫司汀(fotemustine)、麥磺醯胺(glufosfamide)、異環磷醯胺(ifosfamide)、KW-2170、洛莫司汀(lomustine) (CCNU)、馬磷醯胺(mafosfamide)、美法侖(melphalan)、二溴甘露醇(mitobronitol)、二溴衛矛醇(mitolactol)、尼莫司汀(nimustine)、氮芥N-氧化物、雷莫司汀(ranimustine)、替莫唑胺(temozolomide)、噻替哌



(thiotepa)、TREANDA<sup>®</sup> (苯達莫司汀)、曲奧舒凡(treosulfan)、曲磷胺(rofosfamide)及諸如此類。

抗-EGFR ADC (或包括抗-EGFR ADC之調配物)可與治療有效量之一或多種藥劑共投與來治療癌症，該等藥劑包含血管生成抑制劑。血管生成抑制劑包含內皮特異性受體酪胺酸激酶(Tie-2)抑制劑、表皮生長因子受體(EGFR)抑制劑、胰島素生長因子-2受體(IGFR-2)抑制劑、基質金屬蛋白酶-2 (MMP-2)抑制劑、基質金屬蛋白酶-9 (MMP-9)抑制劑、血小板源生長因子受體(PDGFR)抑制劑、凝血酶敏感蛋白類似物、血管內皮生長因子受體酪胺酸激酶(VEGFR)抑制劑及諸如此類。

抗-EGFR ADC (或包括抗-EGFR ADC之調配物)可與治療有效量之一或多種藥劑共投與來治療癌症，該等藥劑包含抗代謝物。抗代謝物包含ALIMTA<sup>®</sup> (美曲塞二鈉(pemetrexed disodium)、LY231514、MTA)、5-阿紫胞苷(5-azacitidine)、XELODA<sup>®</sup> (卡培他濱(capecitabine))、卡莫氟(carmofur)、LEUSTAT<sup>®</sup> (克拉屈濱(cladribine))、氯法拉濱(clofarabine)、阿糖胞苷(cytarabine)、阿糖胞苷十八烷基磷酸鹽(cytarabine ocfosfate)、胞嘧啶阿拉伯糖苷、地西他濱(decitabine)、去鐵胺、去氧氟尿苷、依氟鳥胺酸(eflornithine)、EICAR (5-乙炔基-1-β-D-核糖呋喃基咪唑-4-甲醯胺)、依諾他濱(enocitabine)、乙炔基胞苷、氟達拉濱(fludarabine)、單獨5-氟尿嘧啶或與甲醯四氫葉酸(leucovorin)之組合、GEMZAR<sup>®</sup> (吉西他濱(gemcitabine))、羥基脲、ALKERAN<sup>®</sup> (美法侖)、巯基嘌呤、6-巯基嘌呤核苷、胺甲喋呤、黴酚酸(mycophenolic acid)、耐拉濱(nelarabine)、諾拉曲塞(nolatrexed)、十八烷基磷酸鹽、培裡克松(pelitrexol)、噴司他丁(pentostatin)、雷替曲塞(raltitrexed)、利巴韋林(Ribavirin)、特那平(triapine)、曲美沙特(trimetrexate)、S-1、噻唑呋

林(tiazofurin)、替加氟(tegafur)、TS-1、阿糖腺苷(vidarabine)、UFT及諸如此類。

抗-EGFR ADC (或包括抗-EGFR ADC之調配物)可與治療有效量之一或多種藥劑共投與來治療癌症，該等藥劑包含抗病毒劑。抗病毒劑包含利托那韋(ritonavir)、羥基氯喹(hydroxychloroquine)及諸如此類。

抗-EGFR ADC (或包括抗-EGFR ADC之調配物)可與治療有效量之一或多種藥劑共投與來治療癌症，該等藥劑包含極光激酶抑制劑。極光激酶抑制劑包含ABT-348、AZD-1152、MLN-8054、VX-680、極光A特異性激酶抑制劑、極光B特異性激酶抑制劑、pan-極光激酶抑制劑及諸如此類。

抗-EGFR ADC (或包括抗-EGFR ADC之調配物)可與治療有效量之一或多種藥劑共投與來治療癌症，該等藥劑包含Bcl-2蛋白質抑制劑。Bcl-2蛋白抑制劑包含AT-101 ((-)-棉酚(gossypol))、GENASENSE<sup>®</sup> (G3139或奧利默森(oblimersen) (Bcl-2-靶向反義寡核苷酸))、IPI-194、IPI-565、N-(4-(4-((4'-氯(1,1'-聯苯)-2-基)甲基)六氫吡啶-1-基)苯甲醯基)-4-(((1R)-3-(二甲基胺基)-1-((苯基硫基)甲基)丙基)胺基)-3-硝基苯磺醯胺) (ABT-737)、N-(4-(4-((2-(4-氯苯基)-5,5-二甲基-1-環己-1-烯-1-基)甲基)六氫吡啶-1-基)苯甲醯基)-4-(((1R)-3-(嗎啉-4-基)-1-((苯基硫基)甲基)丙基)胺基)-3-((三氟甲基)磺醯基)苯磺醯胺(ABT-263)、GX-070 (奧巴克拉(obatoclox))、ABT-199及諸如此類。

抗-EGFR ADC (或包括抗-EGFR ADC之調配物)可與治療有效量之一或多種藥劑共投與來治療癌症，該等藥劑包含Bcr-Abl激酶抑制劑，例如DASATINIB<sup>®</sup> (BMS-354825)、GLEEVEC<sup>®</sup> (伊馬替尼(imatinib))及諸如此類。

抗-EGFR ADC (或包括抗-EGFR ADC之調配物)可與治療有效量

之一或多種藥劑共投與來治療癌症，該等藥劑包含CDK抑制劑。CDK抑制劑包含 AZD-5438、BMI-1040、BMS-032、BMS-387、CVT-2584、夫拉平度 (flavopyridol)、GPC-286199、MCS-5A、PD0332991、PHA-690509、斯利西克(seliciclib) (CYC-202、R-羅可韋汀(R-roscovitine))、ZK-304709及諸如此類。

抗-EGFR ADC (或包括抗-EGFR ADC之調配物)可與治療有效量之一或多種藥劑共投與來治療癌症，該等藥劑包含COX-2抑制劑。COX-2抑制劑包含 ABT-963、ARCOXIA<sup>®</sup> (依託考昔(etoricoxib))、BEXTRA<sup>®</sup> (伐地考昔(valdecoxib))、BMS347070、CELEBREX<sup>®</sup> (塞來考昔(celecoxib))、COX-189 (魯米考昔(lumiracoxib))、CT-3、DERAMAXX<sup>®</sup> (地拉考昔(deracoxib))、JTE-522、4-甲基-2-(3,4-二甲基苯基)-1-(4-胺磺醯基苯基-1H-吡咯)、MK-663 (依託考昔)、NS-398、帕瑞考昔(parecoxib)、RS-57067、SC-58125、SD-8381、SVT-2016、S-2474、T-614、VIOXX<sup>®</sup> (羅非考昔(rofecoxib))及諸如此類。

抗-EGFR ADC (或包括抗-EGFR ADC之調配物)可與治療有效量之一或多種藥劑共投與來治療癌症，該等藥劑包含其他EGFR抑制劑。EGFR抑制劑包含EGFR抗體、ABX-EGF、抗-EGFR免疫脂質體、EGF-疫苗、EMD-7200、ERBITUX<sup>®</sup> (西妥昔單抗(cetuximab))、HR3、IgA抗體、IRESSA<sup>®</sup> (吉非替尼(gefitinib))、TARCEVA<sup>®</sup> (埃羅替尼(erlotinib)或OSI-774)、TP-38、EGFR融合蛋白、TYKERB<sup>®</sup> (拉帕替尼(lapatinib))及諸如此類。

抗-EGFR ADC (或包括抗-EGFR ADC之調配物)可與治療有效量之一或多種藥劑共投與來治療癌症，該等藥劑包含HER2抑制劑。ErbB2受體抑制劑包含CP-724-714、CI-1033 (卡納替尼(canertinib))、賀癌平<sup>®</sup> (曲司佐單抗(trastuzumab))、TYKERB<sup>®</sup> (拉帕替尼)、OMNITARG<sup>®</sup> (2C4、佩佐單抗(petuzumab))、TAK-165、GW-572016

(洛那法尼 (ionafarnib))、GW-282974、EKB-569、PI-166、dHER2 (HER2疫苗)、APC-8024 (HER-2疫苗)、抗-HER/2neu雙特異性抗體、B7.her2IgG3、AS HER2三功能雙特異性抗體、mAB AR-209、mAB 2B-1及諸如此類。

抗-EGFR ADC (或包括抗-EGFR ADC之調配物)可與治療有效量之一或多種藥劑共投與來治療癌症，該等藥劑包含組蛋白去乙酰酶抑制劑，例如酯肽、LAQ-824、MS-275、曲譜辛(trapoxin)、異羧肟酸(SAHA)、TSA、丙戊酸及諸如此類。

HSP-90抑制劑包含17-AAG-nab、17-AAG、CNF-101、CNF-1010、CNF-2024、17-DMAG、格爾德黴素(geldanamycin)、IPI-504、KOS-953、MYCOGRAB<sup>®</sup> (HSP-90之人類重組抗體)、NCS-683664、PU24FC1、PU-3、根赤殼菌素(radicalin)、SNX-2112、STA-9090 VER49009及諸如此類。

抗-EGFR ADC (或包括抗-EGFR ADC之調配物)可與治療有效量之一或多種藥劑共投與來治療癌症，該等藥劑包含細胞凋亡蛋白抑制劑之抑制劑，例如HGS1029、GDC-0145、GDC-0152、LCL-161、LBW-242及諸如此類。

抗-EGFR ADC (或包括抗-EGFR ADC之調配物)可與治療有效量之一或多種藥劑共投與來治療癌症，該等藥劑包含其他ADC，例如抗-CD22-MC-MMAF、抗-CD22-MC-MMAE、抗-CD22-MCC-DM1、CR-011-vcMMAE、PSMA-ADC、MEDI-547、SGN-19Am SGN-35、SGN-75 ADC及諸如此類。

抗-EGFR ADC (或包括抗-EGFR ADC之調配物)可與治療有效量之一或多種藥劑共投與來治療癌症，該等藥劑包含死亡受體途徑之活化劑，例如TRAIL、抗體或靶向TRAIL或死亡受體(例如，DR4及DR5)之其他藥劑，例如阿普單抗(Apomab)、可那木單抗

(conatumumab) 、 ETR2-ST01 、 GDC0145 、 (來沙木單抗 (lexatumumab)) 、 HGS-1029 、 LBY-135 、 PRO-1762及曲妥珠單抗。

抗-EGFR ADC (或包括抗-EGFR ADC之調配物)可與治療有效量之一或多種藥劑共投與來治療癌症，該等藥劑包含驅動蛋白抑制劑，例如Eg5抑制劑，例如AZD4877、ARRY-520；CENPE抑制劑，例如GSK923295A及諸如此類。

抗-EGFR ADC (或包括抗-EGFR ADC之調配物)可與治療有效量之一或多種藥劑共投與來治療癌症，該等藥劑包含JAK-2抑制劑，例如CEP-701 (來他替尼(lesaurtinib))、XL019及INCB018424及諸如此類。

抗-EGFR ADC (或包括抗-EGFR ADC之調配物)可與治療有效量之一或多種藥劑共投與來治療癌症，該等藥劑包含MEK抑制劑，例如ARRY-142886、ARRY-438162 PD-325901、PD-98059及諸如此類。

抗-EGFR ADC (或包括抗-EGFR ADC之調配物)可與治療有效量之一或多種藥劑共投與來治療癌症，該等藥劑包含mTOR抑制劑，例如AP-23573、CCI-779、依維莫司、RAD-001、雷帕黴素、特癌適 (temsirolimus)、ATP競爭性TORC1/TORC2抑制劑，包含PI-103、PP242、PP30、托林1 (Torin 1)及諸如此類。

抗-EGFR ADC (或包括抗-EGFR ADC之調配物)可與治療有效量之一或多種藥劑共投與來治療癌症，該等藥劑包含非類固醇抗發炎藥物(NSAID)，例如AMIGESIC<sup>®</sup> (雙水楊酸酯)、DOLOBID<sup>®</sup> (二氟尼柳 (diflunisal))、MOTRIN<sup>®</sup> (布洛芬(ibuprofen))、ORUDIS<sup>®</sup> (可多普洛菲 (ketoprofen))、RELAFEN<sup>®</sup> (萘丁美酮(nabumetone))、FELDENE<sup>®</sup> (吡羅昔康(piroxicam))、布洛芬乳膏、ALEVE<sup>®</sup> (萘普生(naproxen))及NAPROSYN<sup>®</sup> (萘普生)、VOLTAREN<sup>®</sup> (待克菲那(diclofenac))、INDOCIN<sup>®</sup> (吲哚美辛(indomethacin))、CLINORIL<sup>®</sup> (蘇林達克

(sulindac))、TOLECTIN<sup>®</sup> (妥美汀(tolmetin))、LODINE<sup>®</sup> (依託度酸(etodolac))、TORADOL<sup>®</sup> (克多羅多克(ketorolac))、DAYPRO<sup>®</sup> (奧沙普秦(oxaprozin))及諸如此類。

抗-EGFR ADC (或包括抗-EGFR ADC之調配物)可與治療有效量之一或多種藥劑共投與來治療癌症，該等藥劑包含PDGFR抑制劑，例如C-451、CP-673、CP-868596及諸如此類。

抗-EGFR ADC (或包括抗-EGFR ADC之調配物)可與治療有效量之一或多種藥劑共投與來治療癌症，該等藥劑包含鉑化學治療劑，例如順鉑(cisplatin)、ELOXATIN<sup>®</sup> (奧沙利鉑(oxaliplatin)) 依他鉑(eptaplatin)、洛鉑(lobaplatin)、奈達鉑(nedaplatin)、PARAPLATIN<sup>®</sup> (卡鉑(carboplatin))、沙鉑(satraplatin)、吡鉑(picoplatin)及諸如此類。

抗-EGFR ADC (或包括抗-EGFR ADC之調配物)可與治療有效量之一或多種藥劑共投與來治療癌症，該等藥劑包含保羅樣激酶抑制劑，例如BI-2536及諸如此類。

抗-EGFR ADC (或包括抗-EGFR ADC之調配物)可與治療有效量之一或多種藥劑共投與來治療癌症，該等藥劑包含磷酸肌醇-3激酶(PI3K)抑制劑，例如渥漫青黴素(wortmannin)、LY294002、XL-147、CAL-120、ONC-21、AEZS-127、ETP-45658、PX-866、GDC-0941、BGT226、BEZ235、XL765及諸如此類。

抗-EGFR ADC (或包括抗-EGFR ADC之調配物)可與治療有效量之一或多種藥劑共投與來治療癌症，該等藥劑包含凝血酶敏感蛋白類似物，例如ABT-510 (凝血酶敏感蛋白模擬物)、ABT-567、ABT-898 (凝血酶敏感蛋白-1模擬肽)、TSP-1及諸如此類。

抗-EGFR ADC (或包括抗-EGFR ADC之調配物)可與治療有效量之一或多種藥劑共投與來治療癌症，該等藥劑包含VEGFR抑制劑，例如AVASTIN<sup>®</sup> (貝伐單抗(bevacizumab))、ABT-869、AEE-788、

ANGIOZYME™ (抑制血管生成之核酶(Ribozyme Pharmaceuticals (Boulder公司)及Chiron, (Emeryville, CA))、阿昔替尼(axitinib) (AG-13736)、AZD-2171、CP-547,632、IM-862、MACUGEN (培加尼布(pegaptamib))、NEXAVAR® (索拉非尼(sorafenib)、BAY43-9006)、帕唑帕尼(pazopanib) (GW-786034)、伐他拉尼(vatalanib) (PTK-787、ZK-222584)、SUTENT® (舒尼替尼(sunitinib)、SU-11248)、VEGF特拉普(VEGF trap)、ZACTIMA™ (凡德他尼(vandetanib)、ZD-6474)、GA101、歐法單抗(ofatumumab)、ABT-806 (mAb-806)、ErbB3特異性抗體、BSG2特異性抗體、DLL4特異性抗體及C-met特異性抗體及諸如此類。抗-EGFR ADC (或包括抗-EGFR ADC之調配物)可與治療有效量之一或多種藥劑共投與來治療癌症，該等藥劑包含抗生素，例如嵌入抗生素阿柔比星(aclarubicin)、放線菌素D (actinomycin D)、氨柔比星(amrubicin)、脂質體蔥環黴素(annamycin)、多柔比星(adriamycin)、BLENOXANE® (博來黴素(bleomycin))、唐黴素(daunorubicin)、CAELYX®或MYOCET® (脂質體多柔比星)、依沙蘆星(elsamitrucin)、泛艾黴素(epirubicin)、格拉比星(glarbuicin)、ZAVEDOS® (艾達黴素(idarubicin))、絲裂黴素C (mitomycin C)、奈莫柔比星(nemorubicin)、新製癌菌素(neocarzinostatin)、培洛黴素(peplomycin)、吡柔比星(pirarubicin)、蝴蝶黴素(rebeccamycin)、左旋咪唑(stimalamer)、鏈脲黴素(streptozocin)、VALSTAR® (戊柔比星(valrubicin))、淨司他丁(zinostatin)及諸如此類。

抗-EGFR ADC (或包括抗-EGFR ADC之調配物)可與治療有效量之一或多種藥劑共投與來治療癌症，該等藥劑包含拓撲異構酶抑制劑，例如阿柔比星、9-胺基喜樹鹼(9-aminocamptothecin)、胺萘非特(amonafide)、安吡啶(amsacrine)、貝特卡林(becatecarin)、貝洛替康

(belotecan)、BN-80915、CAMPTOSAR<sup>®</sup> (鹽酸伊立替康 (irinotecan hydrochloride))、喜樹鹼、CARDIOXANE<sup>®</sup> (右旋丙亞胺 (dexrazoxine))、二氟替康 (diflomotecan)、伊都特瑞 (edotecarin)、ELLENCE<sup>®</sup> 或 PHARMORUBICIN<sup>®</sup> (表柔比星 (epirubicin))、依託泊苷 (etoposide)、伊沙替康 (exatecan)、10-羥基喜樹鹼、吉馬替康 (gimatecan)、勒托替康 (lurtotecan)、米托蒽醌 (mitoxantrone)、奧拉賽星 (orathecin)、吡柔比星 (pirarbucin)、匹善重 (pixantrone)、盧比替康 (rubitecan)、索布佐生 (sobuzoxane)、SN-38、他氟普沙 (tafluposide)、托泊替康 (topotecan) 及諸如此類。

抗-EGFR ADC (或包括抗-EGFR ADC之調配物) 可與治療有效量之一或多種藥劑共投與來治療癌症，該等藥劑包含治療性抗體，例如 AVASTIN<sup>®</sup> (貝伐單抗)、CD40-特異性抗體、chTNT-1/B、地諾單抗 (denosumab)、ERBITUX<sup>®</sup> (西妥昔單抗)、HUMAX-CD4<sup>®</sup> (紫木單抗 (zanolimumab))、IGF1R 特異性抗體、林妥珠單抗 (lintuzumab)、PANOREX<sup>®</sup> (依決洛單抗 (edrecolomab))、RENCAREX<sup>®</sup> (WX G250)、RITUXAN<sup>®</sup> (利妥昔單抗 (rituximab))、替西莫單抗 (ticilimumab)、曲妥單抗 (trastuzimab)、I型及II型CD20抗體及諸如此類。

抗-EGFR ADC (或包括抗-EGFR ADC之調配物) 可與治療有效量之一或多種藥劑共投與來治療癌症，該等藥劑包含激素療法，例如 ARIMIDEX<sup>®</sup> (阿那曲唑 (anastrozole))、AROMASIN<sup>®</sup> (依西美坦 (exemestane))、阿佐昔芬 (arxoxifene)、CASODEX<sup>®</sup> (比卡魯胺 (bicalutamide))、CETROTIDE<sup>®</sup> (西曲瑞克 (cetorelix))、地加瑞克 (degarelix)、地洛瑞林 (deslorelin)、DESOPAN<sup>®</sup> (曲洛司坦 (trilostane))、地塞米松 (dexamethasone)、DROGENIL<sup>®</sup> (氟利坦 (flutamide))、EVISTA<sup>®</sup> (雷洛昔芬 (raloxifene))、AFEMA<sup>™</sup> (法屈唑 (fadrozole))、FARESTON<sup>®</sup> (托瑞米芬 (toremifene))、FASLODEX<sup>®</sup> (氟



維司群 (fulvestrant)、FEMARA<sup>®</sup> (來曲唑 (letrozole))、福美司坦 (formestane)、糖皮質激素、HECTOROL<sup>®</sup> (度骨化醇 (doxercalciferol))、RENAGEL<sup>®</sup> (碳酸司維拉姆 (sevelamer carbonate))、拉索昔芬 (lasofoxifene)、乙酸亮丙瑞林 (leuprolide acetate)、MEGACE<sup>®</sup> (美可治 (megesterol))、MIFEPREX<sup>®</sup> (米非司酮 (mifepristone))、NILANDRON<sup>™</sup> (尼魯米特 (nilutamide))、NOLVADEX<sup>®</sup> (檸檬酸他莫昔芬 (tamoxifen citrate))、PLENAXIS<sup>™</sup> (阿巴瑞克 (abarelix))、強的松 (prednisone)、PROPECIA<sup>®</sup> (非那雄胺 (finasteride))、瑞樂司坦 (rilostane)、SUPREFACT<sup>®</sup> (布舍瑞林 (buserelin))、TRELSTAR<sup>®</sup> (黃體生成激素釋放激素 (LHRH))、VANTAS<sup>®</sup> (組胺瑞林 (Histrelin) 植入物)、VETORYL<sup>®</sup> (曲洛司坦或莫卓司坦 (modrastane))、ZOLADEX<sup>®</sup> (福斯瑞林 (fosreltin))、戈舍瑞林 (goserelin) 及諸如此類。

抗-EGFR ADC (或包括抗-EGFR ADC之調配物) 可與治療有效量之一或多種藥劑共投與來治療癌症，該等藥劑包含三角肌及類視色素，例如西奧骨化醇 (seocalcitol, EB1089、CB1093)、來沙骨化醇 (lexacalcitrol, KH1060)、芬維A銨 (fenretinide)、PANRETIN<sup>®</sup> (順式視黃酸 (aliretinoin))、ATRAGEN<sup>®</sup> (脂質體維甲酸)、TARGRETIN<sup>®</sup> (貝沙羅汀 (bexarotene))、LGD-1550 及諸如此類。

抗-EGFR ADC (或包括抗-EGFR ADC之調配物) 可與治療有效量之一或多種藥劑共投與來治療癌症，該等藥劑包含PARP抑制劑，例如維力帕尼 (veliparib)、奧拉帕尼 (olaparib)、KU-59436、AZD-2281、AG-014699、BSI-201、BGP-15、INO-1001、ONO-2231 及諸如此類。

抗-EGFR ADC (或包括抗-EGFR ADC之調配物) 可與治療有效量之一或多種藥劑共投與來治療癌症，該等藥劑包含植物生物鹼，例如 (但不限於) 長春新鹼、長春鹼 (vinblastine)、長春地辛 (vindesine)、長

春瑞濱(vinorelbine)及諸如此類。

抗-EGFR ADC (或包括抗-EGFR ADC之調配物)可與治療有效量之一或多種藥劑共投與來治療癌症，該等藥劑包含蛋白酶體抑制劑，例如VELCADE<sup>®</sup> (硼替佐米(bortezomib))、MG132、NPI-0052、PR-171及諸如此類。

抗-EGFR ADC (或包括抗-EGFR ADC之調配物)可與治療有效量之一或多種藥劑共投與來治療癌症，該等藥劑包含免疫劑。免疫劑之實例包含干擾素及其他免疫增強劑。干擾素包含干擾素 $\alpha$ 、干擾素 $\alpha$ -2a、干擾素 $\alpha$ -2b、干擾素 $\beta$ 、干擾素 $\gamma$ -1a、ACTIMMUNE<sup>®</sup> (干擾素 $\gamma$ -1b)或干擾素 $\gamma$ -n1、其組合及諸如此類。其他藥劑包含ALFAFERONE<sup>®</sup> (IFN- $\alpha$ )、BAM-002 (氧化麩胱甘肽)、BEROMUN<sup>®</sup> (他索那明(tasonermin))、BEXXAR<sup>®</sup> (托西莫單抗(tositumomab))、CAMPATH<sup>®</sup> (阿來組單抗(alemtuzumab))、CTLA4 (細胞毒性淋巴球抗原4)、達卡巴吡、德尼白介素(denileukin)、依帕珠單抗(epratuzumab)、GRANOCYTE<sup>®</sup> (來格司亭(lenograstim))、蘑菇多糖(lentinan)、白血球 $\alpha$ 干擾素、咪喹莫特(imiquimod)、MDX-010 (CTLA-4)、黑素瘤疫苗、米托莫單抗(mitumomab)、莫拉司亭(molgramostim)、MYLOTARG<sup>™</sup> (吉妥單抗(gemtuzumab ozogamicin))、NEUPOGEN<sup>®</sup> (非格司亭(filgrastim))、OncoVAC-CL、OVAREX<sup>®</sup> (奧伐伏單抗(oregovomab))、皮托莫單抗(pemtumomab) (Y-muHMFG1)、PROVENGE<sup>®</sup> (西普魯塞T(sipuleucel-T))、沙格司亭(sargaramostim)、西索非蘭(sizofilan)、替西白介素(teceleukin)、THERACYS<sup>®</sup> (卡介苗(Bacillus Calmette-Guerin))、烏苯美司(ubenimex)、VIRULIZIN<sup>®</sup> (免疫治療劑，Lorus Pharmaceuticals)、Z-100 (Maruyama之特異性物質(SSM))、WF-10 (四氯十氧化物(TCDO))、PROLEUKIN<sup>®</sup> (阿地白介素(aldesleukin))、ZADAXIN<sup>®</sup> (胸腺法新(thymalfasin))、ZENAPAX<sup>®</sup> (達利珠單抗

(daclizumab))、ZEVALIN<sup>®</sup> (90Y-替伊莫單抗 (90Y-Ibritumomab tiuxetan))及諸如此類。

抗-EGFR ADC (或包括抗-EGFR ADC之調配物)可與治療有效量之一或多種藥劑共投與來治療癌症，該等藥劑包含生物反應改質劑，例如改變活有機體之防禦機制或生物反應(例如組織細胞之存活、生長或分化)以引導其具有抗腫瘤活性之藥劑，且包含雲芝素(krestin)、蘑菇多糖、西佐喃(sizofiran)、溶鏈菌素(picibanil) PF-3512676 (CpG-8954)、烏苯美司及諸如此類。

抗-EGFR ADC (或包括抗-EGFR ADC之調配物)可與治療有效量之一或多種藥劑共投與來治療癌症，該等藥劑包含嘧啶類似物，例如阿糖胞苷(ara C或阿糖核苷C)、胞嘧啶阿糖核苷、去氧氟尿苷(doxifluridine)、FLUDARA<sup>®</sup> (氟達拉濱(fludarabine))、5-FU (5-氟尿嘧啶)、氟尿苷、GEMZAR<sup>®</sup> (吉西他濱(gemcitabine))、TOMUDEX<sup>®</sup> (雷替曲塞(ratitrexed))、TROXATYL<sup>™</sup> (三乙醯尿苷曲沙他濱(triacetyluridine troxacitabine))及諸如此類。

抗-EGFR ADC (或包括抗-EGFR ADC之調配物)可與治療有效量之一或多種藥劑共投與來治療癌症，該等藥劑包含嘌呤類似物，例如LANVIS<sup>®</sup> (硫鳥嘌呤)及PURI-NETHOL<sup>®</sup> (巯基嘌呤)。

抗-EGFR ADC (或包括抗-EGFR ADC之調配物)可與治療有效量之一或多種藥劑共投與來治療癌症，該等藥劑包含抗有絲分裂劑，例如巴他布林(batabulin)、埃博黴素D (epothilone D, KOS-862)、N-(2-((4-羥基苯基)胺基)吡啶-3-基)-4-甲氧基苯磺醯胺、伊沙匹隆(ixabepilone, BMS 247550)、太平洋紫杉醇(paclitaxel)、TAXOTERE<sup>®</sup> (多西他賽(docetaxel))、PNU100940 (109881)、帕土匹龍(patupilone)、XRP-9881 (拉羅他賽(larotaxel))、長春氟寧(vinflunine)、ZK-EPO (合成埃博黴素)及諸如此類。

抗-EGFR ADC (或包括抗-EGFR ADC之調配物)可與治療有效量之一或多種藥劑共投與來治療癌症，該等藥劑包含泛素連接酶抑制劑，例如MDM2抑制劑(例如努特林(nutlin))、NEDD8抑制劑(例如MLN4924)及諸如此類。

本發明化合物亦可用作增強放射療法功效之放射敏化劑。放射療法之實例包含外部光束放射療法、遠程放射療法、近程放射療法及密封、未密封源放射療法及諸如此類。

抗-EGFR ADC (或包括抗-EGFR ADC之調配物)可與治療有效量之一或多種共投與來治療癌症，該等藥劑包含化學治療劑，例如ABRAXANE™ (ABI-007)、ABT-100 (法尼基轉移酶抑制劑)、ADVEXIN® (Ad5CMV-p53疫苗)、ALTOCOR®或MEVACOR® (洛伐他汀(lovastatin))、AMPLIGEN® (聚I：聚C12U，一種合成RNA)、APTOSYN® (依昔舒林(exisulind))、AREDIA® (帕米膦酸(pamidronic acid))、阿格拉賓(arglabin)、L-天冬醯胺酶、阿他美坦(atamestane)(1-甲基-3,17-二酮-雄固-1,4-二烯)、AVAGE® (他紮羅汀(tazarotene))、AVE-8062 (康布瑞他汀(combrestatin)衍生物)、BEC2 (米托莫單抗)、惡病質素(cachectin)或卡車星(cachexin) (腫瘤壞死因子)、康伐星(canvaxin) (疫苗)、CEAVAC® (癌症疫苗)、CELEUK® (西莫白介素(celmoleukin))、CEPLENE® (組胺二鹽酸鹽)、CERVARIX® (人類乳頭瘤病毒疫苗)、CHOP® (C：CYTOXAN® (環磷醯胺)；H：多柔比星®(羥基多柔比星)；O：長春新鹼(ONCOVIN®)；P：強的松)、CYPAT™ (乙酸環丙孕酮(cyproterone acetate))、康布瑞他汀A4P、DAB(389)EGF (經由His-Ala連接體融合至人類表皮生長因子之白喉毒素的催化及轉運結構域)或TransMID-107R™ (白喉毒素)、達卡巴吡、放線菌素D、5,6-二甲基咕噸酮-4-乙酸(DMXAA)、恩尿嘧啶(eniluracil)、EVIZON™ (乳酸角鯊胺(squalamine lactate))、

DIMERICINE<sup>®</sup> (T4N5脂質體洗劑)、圓皮海綿內酯(discodermolide)、  
 DX-8951f (甲磺酸依沙替康(exatecan mesylate))、恩紫妥寧  
 (enzastaurin)、EPO906 (埃坡黴素B (epithilone B))、GARDASIL<sup>®</sup> (四  
 價人類乳頭瘤病毒(6、11、16、18型)重組疫苗)、  
 GASTRIMMUNE<sup>®</sup>、GENASENSE<sup>®</sup>、GMK (神經節苷脂結合物疫苗)、  
 GVAX<sup>®</sup> (前列腺癌疫苗)、鹵夫酮(halofuginone)、組胺瑞林  
 (histerelin)、羥基脲、伊班膦酸(ibandronic acid)、IGN-101、IL-13-  
 PE38、IL-13-PE38QQR (貝辛白介素(cintredekin besudotox))、IL-13-  
 假單胞菌外毒素(IL-13-pseudomonas exotoxin)、干擾素- $\alpha$ 、干擾素-  
 $\gamma$ 、JUNOVAN<sup>™</sup>或MEPACT<sup>™</sup> (米伐木肽(mifamurtide))、洛那法尼、  
 5,10-亞甲基四氫葉酸酯、米替福新(miltefosine) (十六烷基磷酸膽  
 鹼)、NEOVASTAT<sup>®</sup> (AE-941)、NEUTREXIN<sup>®</sup> (三甲曲沙葡萄糖醛酸酯  
 (trimetrexate glucuronate))、NIPENT<sup>®</sup> (噴托他丁)、ONCONASE<sup>®</sup> (核  
 糖核酸酶)、ONCOPHAGE<sup>®</sup> (黑色素瘤疫苗治療)、ONCOVAX<sup>®</sup> (IL-2疫  
 苗)、ORATHECIN<sup>™</sup> (盧比替康)、OSIDEM<sup>®</sup> (基於抗體之細胞藥物)、  
 OVAREX<sup>®</sup> MAb (鼠類單株抗體)、太平洋紫杉醇、PANDIMEX<sup>™</sup> (來  
 自包括20(S)原人參二醇(aPPD)及20(S)原人參三醇(aPPT)之人參的苷  
 配基皂苷)、帕尼單抗(panitumumab)、PANVAC<sup>®</sup>-VF (調查研究用癌症  
 疫苗)、培加帕酶(pegaspargase)、PEG干擾素A、苯妥帝爾  
 (phenoxodiol)、丙卡巴肼(procarbazine)、瑞馬斯他(rebimastat)、  
 REMOVAB<sup>®</sup> (卡妥索單抗(catumaxomab))、REVLIMID<sup>®</sup> (來那度胺  
 (lenalidomide))、RSR13 (乙丙昔羅(efaproxiral))、SOMATULINE<sup>®</sup> LA  
 (蘭瑞肽(lanreotide))、SORIATANE<sup>®</sup> (維生素A酸)、星形孢菌素  
 (staurosporine) (鏈黴菌星形孢子(Streptomyces staurospore))、他波司  
 他(talabostat) (PT100)、TARGRETIN<sup>®</sup> (貝沙羅汀)、TAXOPREXIN<sup>®</sup>  
 (DHA-太平洋紫杉醇)、TELCYTA<sup>®</sup> (坎磷醯胺(canfosfamide))、

TLK286)、特米利芬(temilifene)、TEMODAR<sup>®</sup> (替莫唑胺)、替米利芬(tesmilifene)、沙立度胺(thalidomide)、THERATOPE<sup>®</sup> (STn-KLH)、塞米他(thymitaq) (2-胺基-3,4-二氫-6-甲基-4-側氧基-5-(4-吡啶硫代)喹啉二鹽酸鹽)、TNFERADE<sup>™</sup> (腺病毒載體：含有腫瘤壞死因子- $\alpha$ 之基因的DNA載體)、TRACLEER<sup>®</sup>或ZAVESCA<sup>®</sup> (骨化三醇(bosentan))、維甲酸(維A酸)、粉防己鹼(tetrandrine)、TRISENOX<sup>®</sup> (三氧化二砷)、VIRULIZIN<sup>®</sup>、尿激酶(ukrain) (來自較大白屈菜(celandine)植物之生物鹼的衍生物)、維他辛(vitaxin) (抗 $\alpha v \beta 3$ 抗體)、XCYTRIN<sup>®</sup> (莫特沙芬釷(motexafin gadolinium))、XINLAY<sup>™</sup> (阿曲生坦(atrasentan))、XYOTAX<sup>™</sup> (聚麩胺酸太平洋紫杉醇(paclitaxel poliglumex))、YONDELIS<sup>®</sup> (曲貝替定(trabectedin))、ZD-6126、ZINECARD<sup>®</sup> (右雷佐生)、ZOMETA<sup>®</sup> (唑來膦酸(zolendronic acid))、佐柔比星(zorubicin)及諸如此類。

在一實施例中，向患有神經膠質母細胞瘤之個體靜脈內投與包括抗-EGFR-ADC之調配物與輻射及/或TEMODAR<sup>®</sup> (替莫唑胺)之組合。

此外，在一實施例中，調配物可以醫藥套組形式來提供，該套組包括(a) 容器，其含有呈凍乾形式之抗-EGFR ADC；及(b) 第二容器，其含有醫藥上可接受之注射用稀釋劑(例如無菌水)。醫藥上可接受之稀釋劑可用於重構或稀釋凍乾ADC。視情況，該(等)容器可附帶有監管醫藥物或生物產品之製造、使用或銷售之政府機構所規定形式之公告，該公告顯示政府機構已批准用於人類投與之製造、使用或銷售。

本發明進一步闡述於以下實例中，該等實例並不意欲限制本發明之範疇。

## 實例

## 實例1：抗體藥物結合物(ADC)之穩定性測試

以下實例闡述用於分析某些ADC (呈液體形式)與未經結合抗體相比之穩定性之測試。測試結合至MMAF之抗體(參見圖2) (在下文中稱為「ADC 1-MMAF」, 其係人類化抗-EGFR抗體1-MMAF結合物)或結合至MMAE之抗體(參見圖1) (在下文中稱為「ADC 1-MMAE」, 其係人類化抗-EGFR抗體1-MMAE結合物), 且與單獨人類化抗-EGFR抗體1進行比較。尤其檢查以下特性：使用動態掃描螢光及DSC之去摺疊溫度之開始、分別藉由FTIR及近UV-CD之二級及三級結構分析、在低及高濃度下之加速穩定性、血清穩定性、在低及高濃度下之冷凍/解凍穩定性及溶解度。此實例中所闡述之調配物為液體調配物。

### *使用動態掃描螢光(DSF)及差示掃描量熱(DSC)對去摺疊開始之分析*

使用兩種不同技術(動態掃描螢光(DSF)及差示掃描量熱(DSC))來測定抗體1、ADC 1-MMAF及ADC 1-MMAE在熱變性期間之去摺疊開始及構型穩定性。如圖3A中所顯示, 螢光強度之變化與蛋白質去摺疊程度及溫度相關。比較熱穩定性量測之結果與使用DSC獲得之數據(圖3B)。使用蛋白質在大於55°C之溫度下之去摺疊作為穩定性之量度。如圖3A及3B中所顯示, 比較在ADC 1-MMAE中在較低溫度(46°C)下與在ADC 1-MMAF (55°C)中發生之去摺疊開始, 且抗體1 (61°C)最高, 此指示抗體1係3種分子中最穩定之分子。因此, ADC顯示熱力學穩定性降低, 此與ADC 1-MMAF及ADC-1 MMAE對單獨抗體1之較低去摺疊溫度所反映一致。

### *抗體1、ADC 1-MMAF及ADC 1-MMAE之二級及三級結構分析*

使用傅立葉轉換紅外光譜術(FTIR)及近紫外圓二色性(CD)二者來測定抗體1、ADC 1-MMAF及ADC 1-MMAE之穩定性。已顯示, 可分析260 nm與約180 nm之間之CD光譜之不同二級結構類型： $\alpha$ 螺旋、平行及反向平行 $\beta$ 褶板、小彎及其他類型。藉由FTIR (圖4A)及CD (圖

4B)監測抗體1、ADC 1-MMAF及ADC 1-MMAE在pH 5/6/7之單獨檸檬酸鹽/磷酸鹽緩衝液中之二級結構變化。如圖4A及4B中所顯示，與抗體1相比，ADC 1-MMAE及ADC 1-MMAF之物理特徵之非結構化元素稍有變化。與單獨抗體1相比，ADC 1-MMAE及ADC 1-MMAF之非結構化元素亦稍有變化，如藉由圖4A中之FTIR數據所證實。然而，通常，三個分子中之每一者皆顯示在 $1638\text{ cm}^{-1}$ 下存在 $> 40\%$ 之 $\beta$ 褶板帶。CD結果顯示ADC 1-MMAE與ADC 1-MMAF及抗體1相比之不同曲線(圖4B)。然而，通常，每一分子皆具有在280 nm下具有負橢圓率之S形曲線。

#### *抗體1、ADC 1-MMAF及ADC 1-MMAE之加速穩定性研究*

加速穩定性研究可幫助提供關於於通常原本在較長時段內發生之條件下短期暴露之效應之資訊。抗體1、ADC 1-MMAF及ADC 1-MMAE係以於10 mM檸檬酸鹽/磷酸鹽緩衝液(pH 6)中之低濃度(1 mg/ml)及於15 mM組胺酸(pH 5.75)中之較高濃度(60 mg/ml)二者來調配。穩定性定義為在最穩定pH下保持7天後在 $40^{\circ}\text{C}$ 下小於5%之單體損失。

該等研究之結果顯示於圖5及圖6中。圖5顯示在初始時間點(T0)下及在 $40^{\circ}\text{C}$ 下儲存7天後之聚集(以聚集物%表示；藉由SEC分析測定)。圖5顯示在1 mg/ml之濃度下，與ADC 1-MMAF及抗體1相比，ADC 1-MMAE在低濃度下之聚集傾向增加。圖6顯示在初始時間點(T0)下及在 $40^{\circ}\text{C}$ 下儲存7天後之聚集(以聚集物%表示)。圖6顯示在60 mg/ml之濃度下，如與ADC 1-MMAF及抗體1相比，ADC 1-MMAE在高濃度下之聚集傾向顯著增加。此外，如羥基丙基 $\beta$ 環糊精(在圖6中標記為「HPBCD」)等已知穩定劑對聚集無影響。

#### *抗體1、ADC 1-MMAF及ADC 1-MMAE之血漿穩定性*

血漿穩定性在藥物發現及研發中起重要作用，此乃因不穩定化



合物往往具有快速清除率及較短半衰期，從而產生較差活體內性能。以血清穩定性分析中評估抗體1、ADC 1-MMAF及ADC 1-MMAE之活體外血清穩定性。簡言之，使用Aexa Flur® (Life Technologies)對抗體進行標記。然後在經過濾血清中培育經標記抗體1及ADC-1-MMAF及ADC-1-MMAE。在第0天、第1天、第3天、第5天、第7天時收集樣品，且藉由粒徑排阻層析(SEC)來分析。計算第0天與第7天之間之高分子量(HMW)聚集物%之斜率。穩定性定義為每天小於1%之HMW物質。因此，斜率越低，存在之聚集越少。更特定而言，圖7中之圖顯示ADC 1-MMAF之斜率(0.5%)低於抗體1 (1.10%)及ADC 1-MMAE (2.30)，從而指示較少聚集及較佳血漿穩定性。圖7亦出於比較目的闡述一系列其他分子(例如抗體及DVD-Ig)之HMW聚集物%之斜率。

*高及低濃度抗體1、ADC 1-MMAF及ADC 1-MMAE之冷凍/解凍穩定性*

可藉由在研發、生產及儲存期間冷凍-解凍及升高溫度(典型應力因子)來誘導抗體之聚集。使抗體1、ADC 1-MMAF及ADC 1-MMAE經歷0、1或2個冷凍-解凍循環，且藉由光譜學技術(SEC)加以表徵。將高濃度抗體1 (210 mg/ml)、ADC 1-MMAF (135 mg/ml)及ADC 1-MMAE (145 mg/ml)調配於pH為5.75之15 mM組胺酸緩衝液中。顯示單體% (藉由SEC測定)之結果闡述於圖8A中，且表明在三種分子中無聚集變化(定義為在2個F/T循環後< 2%之HMW物質增加)。在顯示於圖8B中之實驗中，將相同濃度之抗體1、ADC 1-MMAF及ADC 1-MMAE以1 mg/ml之濃度調配於pH為7.0之10 mM檸檬酸鹽及10 mM磷酸鹽緩衝液中。如圖8A及圖8B中所顯示，在一或兩個冷凍/解凍循環後，高或低濃度之抗體1、ADC 1-MMAF及ADC 1-MMAE之冷凍/解凍穩定性並無顯著變化。

亦測試三種分子在1 mg/ml之濃度下在pH 6之單獨檸檬酸鹽/磷酸鹽緩衝液中在冷凍-解凍(0、1或2個冷凍解凍循環)期間之粒子形成。

亞可視粒子(分別為 $\geq 10 \mu\text{m}$ 及 $\geq 25 \mu\text{m}$ )經測定小於藥典限值(分別為 $\geq 10 \mu\text{m}$ 及小於或等於600/ Ml ( $\geq 25 \mu\text{m}$ )) (圖9A)。亦使用微血流成像(MFI)來檢測及量化亞可視粒子(小於10微米) (圖9B)。圖9A及圖9B闡述抗體1、ADC 1-MMAF及ADC 1-MMAE隨時間之亞可視粒子之總體增加。

#### *抗體1對具有MMAF或MMAE之ADC 1之溶解度*

在5°C下檢查抗體1、ADC 1-MMAF及ADC 1-MMAE在含有pH 6之10 mM檸檬酸鹽及10 mM磷酸鹽緩衝液系統之調配物中之溶解度。溶解度定義為在至少50 mg/ml之濃度調配時不具沈澱之溶液。抗體1、ADC 1-MMAF及ADC 1-MMAE中每一者之溶解度經測定如下：抗體1  $> 210 \text{ mg/mL}$ ；ADC 1-MMAF： $> 135 \text{ mg/mL}$  (來源1)；ADC 1-MMAF： $> 92 \text{ mg/mL}$  (來源2)；ADC 1-MMAE： $> 145 \text{ mg/mL}$  (來源1)；及ADC 1-MMAE： $> 116 \text{ mg/mL}$  (來源2)。應注意，溶解度可已超過上文所提及之濃度，此乃因有限的材料阻止進一步濃度升高。

#### *結論*

總體上，ADC 1-MMAF及ADC1-MMAE顯示低於未經結合抗體1之穩定性，如例如在本文所闡述之加速研究及去摺疊分析中所闡述。

#### **實例2：ADC 1-MMAF穩定的凍乾調配物**

ADC 1-MMAF係包括共價連接至MMAF之抗體1之抗-EGFR抗體藥物結合物。ADC 1-MMAF在重構並封裝於玻璃小瓶中後調配成注射用凍乾粉劑。凍乾粉劑係使用5 mL無菌注射用水(SWFI)來重構且提供20 mg/ml之注射用ADC 1-MMAF溶液。藥品調配物係用於單一應用且不含防腐劑。每小瓶(凍乾粉劑)及每mL (經重構溶液) ADC 1-MMAF之組成闡述於下表1中。用0.9%鹽水溶液(氯化鈉注射液，USP)稀釋經重構藥品以便藉由輸注進行劑量投與。

**表1. 用於20 mg/mL注射溶液之ADC 1-MMAF粉劑之組成**

| 成份名稱            | 功能    | 每小瓶之量<br>(mg)    | 經重構之量<br>(mg/mL)   |
|-----------------|-------|------------------|--------------------|
| ADC 1-MMAF      | 藥物物質  | 105              | 20                 |
| 組胺酸             | 緩衝劑   | 12               | 2.3                |
| 蔗糖              | 膨脹劑   | 368              | 70                 |
| 聚山梨醇酯80         | 表面活性劑 | 0.53             | 0.10               |
| 鹽酸 <sup>a</sup> | pH調節  | 適量               | 適量                 |
| 注射用水/用於注射之水     | 媒劑    | 不適用 <sup>b</sup> | 補足至1032 mg<br>之總重量 |

a. 用作10%溶液

b. 在冷凍乾燥後不存在

表1中所闡述之調配物代表抗-EGFR ADC之凍乾調配物，其中結合物為奧裡斯他汀衍生物，例如MMAF。該調配物包括緩衝液、糖、表面活性劑及抗-EGFR抗體藥物結合物。

實例3-5闡述測試實例2中所闡述之凍乾ADC 1-MMAF調配物之穩定性研究。實例6-8闡述測試實例2中所闡述之經純化凍乾ADC 1-MMAF調配物之穩定性研究。對於穩定性研究，將ADC 1-MMAF (或ADC1-MMAFp)以凍乾物形式儲存在20 ml無色玻璃小瓶中，用灰色橡膠塞及灰色塑膠帽閉合。將ADC 1-MMAF (或ADC1-MMAFp)儲存在以下三種單獨條件下：5°C；25°C (60%相對濕度)；40°C (75%相對濕度)以供穩定性測試。

### 實例3：ADC 1-MMAF在5°C下在凍乾調配物中之穩定性

在初始時間點處使用SWFI重構後及在將凍乾物於5°C下儲存高達18個月後重構後實施以下實驗。

*凍乾物及經重構溶液之外觀不受在5°C下長期儲存之影響*

視覺評價凍乾物及經重構溶液之外觀以確認在封裝材料中凍乾物實際上不含可視外源微粒物質且不含水分。在初始時間點處及在5

°C 下儲存高達12個月後重構後，凍乾物之外觀符合前述準則。在5°C 下儲存高達12個月後重構後，經重構溶液為無色至微黃色溶液，且實際上不含可視微粒物質。

#### *溶液之色彩不受在5°C 下長期儲存之影響*

使用藍/黃標度(BY-標度)評價經重構溶液(視覺)之色彩，其中該等樣品係針對參考溶液進行測試且報告各值。在初始時間點處及在5°C 下儲存高達12個月後重構後，所有經重構溶液皆具有小於或等於7之BY-標度量度。因此，儲存並不影響溶液之色彩。

#### *溶液之透明度及乳光不受在5°C 下長期儲存之影響*

藉由標準濁度計使用光散射原理且遵循各別Ph. Eur.或USP方法(實例4至8亦如此實施)來量測經重構溶液之透明度及乳光。在初始時間點處及在5°C 下儲存高達12個月後重構後，經重構溶液之外觀之乳光不如參考懸浮液IV強(根據歐洲藥典(European Pharmacopeia), ph. Eur) ( $\leq$  RSII)。

#### *溶液之蛋白質含量不受在5°C 下長期儲存之影響*

測定經重構溶液之蛋白質含量。使用280 nm之波長及ADC1-MMAF消光係數(1.43)以分光光度計方式測定ADC之蛋白質濃度(實例4至8亦如此實施)。在初始時間點處，經重構溶液之蛋白質含量為18.8 mg/ml。在5°C 下儲存3個月後重構後，經重構溶液之蛋白質含量為20.2 mg/ml。

#### *溶液之生物活性不受在5°C 下長期儲存之影響*

利用使用人類表皮樣癌細胞系之細胞毒性分析來測試經重構溶液與ADC1-MMAF對照相比之生物活性(%)，該對照先前已經確認具有細胞毒性活性(該對照具有100%活性)。在初始時間點處，相對生物活為109%。在5°C 下儲存1個月後重構後，相對生物活性為105%。在5°C 下儲存3個月後重構後，相對生物活性為97%。在5°C 下儲存6個月

後重構後，相對生物活性為108%。在5°C下儲存9個月後重構後，相對生物活性為105%。在5°C下儲存12個月後重構後，相對生物活性為99%。在5°C下儲存18個月後重構後，相對生物活性為112%。

*分子大小及/或分子複合物不受在5°C下長期儲存之影響*

使用粒徑排阻-高效液相層析(SE-HPLC)來實施經重構溶液之粒徑排阻層析。使用粒徑排阻HPLC來測定ADC1-MMAF之純度。在凝膠過濾HPLC期間根據所減小分子大小等度地分離大分子。藉由比較ADC1-MMAF主峰之面積與樣品層析圖(不包含與緩衝液相關之峰)之總面積來測定純度。該方法能夠解析來自ADC1-MMAF主峰之高分子量聚集物及截短抗體物質。此方法亦用於實例4至8中。

量測主峰(%)以及高分子量物質(%)及低分子量物質(%)。在初始時間點處，主峰為98.9%。高分子量物質為0.9%且低分子量物質為0.2%。

在5°C下儲存1個月後重構後，主峰為98.8%。高分子量物質為0.9%且低分子量物質為0.2%。

在5°C下儲存3個月後重構後，主峰為98.8%。高分子量物質為1.0%且低分子量物質為0.2%。

在5°C下儲存6個月後重構後，主峰為99.0%。高分子量物質為0.9%且低分子量物質為0.2%。在5°C下儲存9個月後重構後，主峰為98.9%。高分子量物質為0.9%且低分子量物質為0.3%。

在5°C下儲存12個月後重構後，主峰為98.8%。高分子量物質為0.8%且低分子量物質為0.4%。

在5°C下儲存18個月後重構後，主峰為98.8%。高分子量物質為0.9%且低分子量物質為0.3%。

因此，在初始、1個月、3個月、6個月、9個月、12個月及18個月時間點量測中，所有時間點皆顯示極少至無的主峰%以及高及低分

子量物質變化。

#### *溶液之層析峰不因在5°C下長期儲存而變化*

使用高效液相層析(CEX-HPLC)對重構溶液實施陽離子交換層析(CEX)。在陽離子交換層析中，帶正電荷之分子被吸引至帶負電荷之固體載體上。陽離子交換(CEX-HPLC)層析分析係基於所帶電荷之分離方法，其用於經由與參考標準(先前已經表徵之ADC1-MMAF)進行比較來監測ADC1-MMAF在測試樣品中之穩定性。該方法能夠解析酸性及鹼性物質之主峰。

在初始時間點處及在5°C下儲存高達18個月後重構後，經重構溶液之外觀之特徵在於，樣品之主要層析峰圖案與先前已經表徵之ADC1-MMAF對照之圖案一致。因此，層析峰在5°C下在18個月之過程中保持相對不變。

#### *溶液之純度不受在5°C下長期儲存之影響*

在初始時間點處及在5°C下儲存高達18個月後重構後，對經重構溶液實施毛細管凝膠電泳(CE-SDS-R)以測定溶液之純度。在初始時間點處，純度%為97.4%。在5°C下儲存1個月後重構後，純度%為97.6%。在5°C下儲存3個月後重構後，純度%為96.9%。在5°C下儲存6個月後重構後，純度%為97.1%。在5°C下儲存9個月後重構後，純度%為96.7%。在5°C下儲存12個月後重構後，純度%為97.2%。在5°C下儲存18個月後重構後，純度%為97.3%。因此，在初始時間點與重構後高達18個月之間，經重構溶液之純度無顯著變化。

#### *溶液之藥物對抗體比率在5°C下長期儲存後無變化*

對經重構溶液實施疏水性相互作用層析(HIC)以測定在18個月時間段內之藥物對抗體比率(DAR)。基於相對疏水性使用HIC來分離蛋白質。HIC方法係ADC1-MMAF疏水性之量測。藉由使用減小流動相之鹽濃度之梯度按照疏水性遞增之順序將所結合組份溶析掉配體。對

於ADC1-MMAF，自管柱溶析之第一峰為未經結合抗體。剩餘峰代表每個抗體遞增數量之藥物連接體分子。因此，藉由峰滯留時間及相對峰面積來測定每個抗體藥物連接體之數量。此方法亦用於實例4至8中。在初始時間點處及在5°C下儲存高達18個月後重構後，所有經重構溶液之藥物對抗體比率(DAR)經量測為4.1-4.2。

#### *溶液中之未經結合抗體%在5°C下長期儲存後無變化*

亦使用上文用於測定DAR所闡述之HIC方法對經重構溶液進行分析以測定ADC1-MMAF之未經結合抗體% (且亦用於實例4至8)。在初始時間點處，百分數不大於4.1。在5°C下儲存1個月後重構後，百分數不大於4.1。在5°C下儲存3個月後重構後，百分數不大於4.1。在5°C下儲存6個月後重構後，百分數不大於3.9。在5°C下儲存9個月後重構後，百分數不大於4.0。在5°C下儲存12個月後重構後，百分數不大於4.0。在5°C下儲存18個月後重構後，百分數不大於4.0。因此，所有時間點處之百分數皆相似。

#### *溶液中之淬滅藥物連接體%不因在5°C下長期儲存而變化*

對經重構溶液實施反相層析(RP-HPLC)以測定淬滅藥物連接體%。RP-HPLC係分子之在很大程度上基於其極性之基於其與疏水性基質之相互作用的分離。此方法測定溶液中淬滅藥物連接體之量及總雜質。藉由使用甲醇沈澱然後藉由離心自樣品移除ADC1-MMAF。藉由RP-HPLC使用C-18管柱且在214 nm下進行UV檢測來分析淬滅藥物連接體及總雜質之上清液。此方法亦用於實例4至8中。

在初始時間點處，百分數不大於0.007。在5°C下儲存1個月後重構後，百分數不大於0.005。在5°C下儲存3個月後重構後，百分數不大於0.006。在5°C下儲存6個月後重構後，百分數不大於0.005。在5°C下儲存9個月後重構後，百分數不大於0.005。在5°C下儲存12個月後重構後，百分數不大於0.007。在5°C下儲存18個月後重構後，百分數

不大於0.005。因此，所有時間點處之淬滅藥物連接體%皆相似。

#### *溶液中之總雜質在5°C下長期儲存後無變化*

亦使用RP-HPLC使用上文針對淬滅連接體%闡述之方法來分析經重構溶液以測定總雜質% (亦用於實例4至8)。在初始時間點處，百分數不大於0.007。在5°C下儲存1個月後重構後，百分數不大於0.005。在5°C下儲存3個月後重構後，百分數不大於0.006。在5°C下儲存6個月後重構後，百分數不大於0.005。在5°C下儲存9個月後重構後，百分數不大於0.005。在5°C下儲存12個月後重構後，百分數不大於0.007。在5°C下儲存18個月後重構後，百分數不大於0.005。因此，所有時間點處之總雜質%皆相似。

#### *溶液之微粒污染不受在5°C下長期儲存之影響*

藉由測定亞可視粒子來評價微粒污染。藉由確定每個容器大於10 µm之粒子數不大於6000 (USP (美國藥典)及歐洲藥典標準)來滿足接受準則。在初始時間點處，每個容器大於10 µm之粒子數為33。在5°C下儲存1個月後重構後，每個容器大於10 µm之粒子數為22。在5°C下儲存3個月後重構後，每個容器大於10 µm之粒子數為25。在5°C下儲存6個月後重構後，每個容器大於10 µm之粒子數為73。在5°C下儲存12個月後重構後，每個容器大於10 µm之粒子數為20。因此，所有時間點皆滿足每個容器大於10 µm之粒子數之接受準則。

亦藉由確定每個容器大於25 µm之粒子數不大於600 (USP (美國藥典)及歐洲藥典標準)來滿足接受準則。在初始時間點處，每個容器大於25 µm之粒子數為0。在5°C下儲存1個月後重構後，每個容器大於25 µm之粒子數為2。在5°C下儲存3個月後重構後，每個容器大於25 µm之粒子數為2。在5°C下儲存6個月後重構後，每個容器大於25 µm之粒子數為10。在5°C下儲存12個月後重構後，每個容器大於25 µm之粒子數為3。因此，所有時間點皆滿足每個容器大於25 µm之粒子數之



接受準則。

*溶液之水含量不受在5°C下長期儲存之影響*

藉由Karl-Fischer滴定來評價水含量。Karl Fischer滴定使用庫侖(coulometric)或體積滴定來測定樣品中之痕量水，報告為%。在初始時間點處，經重構溶液中之水%為2.0%。在5°C下儲存3個月後重構後，經重構溶液中之水%為0.7%。在5°C下儲存6個月後重構後，經重構溶液中之水%為0.7%。在5°C下儲存12個月後重構後，經重構溶液中之水%為0.8%。因此，在初始時間點處及在5°C下儲存1個月、3個月、6個月及12個月後重構後，經重構溶液之水含量可忽略。

*溶液之pH不受在5°C下長期儲存之影響*

在初始時間點處及在5°C下儲存1個月、3個月、6個月及12個月後重構後，測定經重構溶液之pH。在初始時間點處，經重構溶液之pH值為6.0。在5°C下儲存3個月後，經重構溶液之pH值為5.9。在5°C下儲存6個月後，經重構溶液之pH值為5.9。在5°C下儲存12個月後，經重構溶液之pH值為5.9。

*溶液之滲透壓不受在5°C下長期儲存之影響*

在初始時間點處及在5°C下儲存1個月後重構後，藉由量測每公斤溶劑之溶質毫滲莫耳數(mOsmol/kg)的平均值來測定經重構溶液之滲透壓。在初始時間點處，滲透壓為235 mOsmol/kg。在1個月時，滲透壓為251 mOsmol/kg。

#### **實例4：ADC 1-MMAF在25°C下在凍乾調配物中之穩定性**

在初始時間點處使用SWFI重構後及在將凍乾物於25°C (60%相對濕度)下儲存1個月、3個月及6個月後重構後實施以下測試。

*凍乾物及經重構溶液之外觀不受在25°C下長期儲存之影響*

視覺評價凍乾物及經重構溶液之外觀以確認在封裝材料中凍乾物實際上不含可視外源微粒物質且不含水分。在初始時間點處及在25

°C (60%相對濕度)下儲存1個月、3個月及6個月後重構後，凍乾物之外觀符合前述準則。重構後，經重構溶液為實際上不含可視微粒物質之無色至微黃色溶液。因此，在初始時間點處及在25°C (60%相對濕度)下儲存1個月、3個月及6個月後重構後，經重構溶液之外觀係實際上不含可視微粒物質之無色至微黃色溶液。

#### *溶液之色彩不受在25°C下長期儲存之影響*

使用藍/黃標度(BY-標度)評價溶液(視覺)之色彩，其中該等樣品係針對參考溶液進行測試且報告各值。在初始時間點處及在25°C (60%相對濕度)下儲存1個月、3個月及6個月後重構後，所有經重構溶液皆具有小於或等於7之BY-標度量度。因此，儲存並不影響溶液之色彩。

#### *溶液之透明度及乳光不受在25°C下長期儲存之影響*

評價經重構溶液之透明度及乳光。若經重構溶液之乳光不如參考懸浮液IV強(根據歐洲藥典，ph. Eur.)，則滿足經重構溶液之接受準則。在初始時間點處及在25°C (60%相對濕度)下儲存1個月、3個月及6個月後重構後，經重構溶液之外觀之乳光並不如參考懸浮液IV強(根據歐洲藥典，ph. Eur.) ( $\leq$  RSII)。

#### *溶液之生物活性不受在25°C下長期儲存之影響*

利用使用人類表皮樣癌細胞系之細胞毒性分析來測試經重構溶液與ADC1-MMAF對照相比之生物活性(%)，該對照先前已經確認具有細胞毒性活性(該對照具有100%活性)。在初始時間點處，相對生物活性為109%。在25°C (60%相對濕度)下儲存1個月後重構後，相對生物活性為113%。在25°C /60%相對濕度下儲存3個月後重構後，相對生物活性為103%。在25°C /60%相對濕度下儲存6個月後重構後，相對生物活性為109%。

#### *分子大小及/或分子複合物不受在25°C下長期儲存之影響*

藉由粒徑排阻-高效液相層析(SE-HPLC)實施粒徑排阻層析。量測主峰(%)以及高分子量物質(%)及低分子量物質(%)。在初始時間點處，主峰為98.9%。高分子量物質為0.9%且低分子量物質為0.2%。在25°C (60%相對濕度)下儲存1個月後重構後，主峰為98.8%。高分子量物質為1.0%且低分子量物質為0.2%。在25°C (60%相對濕度)下儲存3個月後重構後，主峰為98.8%。高分子量物質為1.0%且低分子量物質為0.2%。在25°C (60%相對濕度)下儲存6個月後重構後，主峰為98.9%。高分子量物質為0.9%且低分子量物質為0.2%。因此，在初始、1個月、3個月及6個月量測中存在極少至無的主峰%以及高及低分子量物質變化。

#### *溶液之層析峰不因在25°C下長期儲存而變化*

藉由高效液相層析(CEX-HPLC)實施陽離子交換層析(CEX)。在初始時間點處及在25°C /60%相對濕度下儲存1個月、3個月及6個月後重構後，經重構溶液之外觀之特徵在於，樣品之主要層析峰圖案與參考標準之圖案一致。

#### *溶液之純度不受在25°C下長期儲存之影響*

在初始時間點處及在25°C (60%相對濕度)下儲存1個月、3個月及6個月後重構後，對經重構溶液實施毛細管凝膠電泳(CE-SDS-R)。在初始時間點處，純度%為97.4%。在儲存1個月後重構後，純度%為97.4%。在儲存3個月後重構後，純度%為96.9%。在儲存6個月後重構後，純度%為97.1%。因此，在初始時間點與在25°C (60%相對濕度)下儲存1個月、3個月及6個月後重構時及重構後之間，經重構溶液之純度無顯著變化。

#### *溶液之藥物對抗體比率在25°C下長期儲存後無變化*

對經重構溶液實施疏水性相互作用層析(HIC)。在初始時間點處及在25°C (60%相對濕度)下儲存1個月、3個月及6個月後重構後，所

有經重構溶液之DAR經量測為4.2。

#### *溶液中之未經結合抗體%在長期儲存後無變化*

對經重構溶液進行分析以測定未經結合抗體%。在初始時間點處，百分數不大於4.1。在25°C (60%相對濕度)下儲存1個月後重構後，百分數不大於4.1。在25°C (60%相對濕度)下儲存3個月後重構後，百分數不大於4.1。在25°C (60%相對濕度)下儲存6個月後重構後，百分數不大於3.9。

#### *溶液中之淬滅藥物連接體%不因在25°C下長期儲存而變化*

對經重構溶液實施反相層析(RP-HPLC)以測定淬滅連接體%。在初始時間點處，百分數不大於0.007。在25°C (60%相對濕度)下儲存1個月後重構後，百分數不大於0.005。在25°C (60%相對濕度)下儲存3個月後重構後，百分數不大於0.006。在25°C (60%相對濕度)下儲存6個月後重構後，百分數不大於0.005。因此，所有時間點處之淬滅藥物連接體%皆相似。

#### *溶液中之總雜質在25°C下長期儲存後無變化*

對經重構溶液進行分析以測定總雜質%。在初始時間點處，百分數不大於0.007。在25°C (60%相對濕度)下儲存1個月後重構後，百分數不大於0.005。在25°C (60%相對濕度)下儲存3個月後重構後，百分數不大於0.006。在25°C (60%相對濕度)下儲存6個月後重構後，百分數不大於0.005。因此，所有時間點處之總雜質%皆相似。

#### *溶液之微粒污染不受在25°C下長期儲存之影響*

藉由測定亞可視粒子來評價微粒污染。藉由確定每個容器大於10  $\mu\text{m}$ 之粒子數不大於6000 (USP (美國藥典)及歐洲藥典標準)來滿足接受準則。在初始時間點處每個容器大於10  $\mu\text{m}$ 之粒子數為33。在25°C (60%相對濕度)下儲存1個月後重構後，每個容器大於10  $\mu\text{m}$ 之粒子數為18。在25°C (60%相對濕度)下儲存3個月後重構後，每個容器大

於10 µm之粒子數為25。在25°C (60%相對濕度)下儲存6個月後重構後，每個容器大於10 µm之粒子數為50。因此，所有時間點皆滿足每個容器大於10 µm之粒子數之接受準則。亦藉由確定每個容器大於25 µm之粒子數不大於600來滿足接受準則。在初始時間點處，每個容器大於25 µm之粒子數為0。在25°C (60%相對濕度)下儲存1個月後重構後，每個容器大於25 µm之粒子數為2。在25°C (60%相對濕度)下儲存3個月後重構後，每個容器大於25 µm之粒子數為2。在25°C (60%相對濕度)下儲存6個月後重構後，每個容器大於25 µm之粒子數為2。因此，所有時間點皆滿足每個容器大於25 µm之粒子數之接受準則。

#### *溶液之水含量不受在25°C下長期儲存之影響*

藉由Karl-Fischer滴定來評價水含量。在初始時間點處，經重構溶液中之水%為2.0%。在25°C (60%相對濕度)下儲存1個月後重構後，無法檢測到經重構溶液中之水%。在25°C (60%相對濕度)下儲存3個月後重構後，經重構溶液中之水%為0.8%。在25°C (60%相對濕度)下儲存6個月後重構後，經重構溶液中之水%為0.9%。因此，在初始時間點處及在儲存1個月、3個月及6個月後重構後，經重構溶液之水含量可忽略。

#### *溶液之pH不受在25°C下長期儲存之影響*

在初始時間點處及在25°C (60%相對濕度)下儲存3個月及6個月後重構後測定經重構溶液之pH。在初始時間點處，經重構溶液之pH值為6.0。在25°C (60%相對濕度)下儲存3個月後重構後，經重構溶液之pH為5.9。在25°C (60%相對濕度)下儲存6個月後重構後，經重構溶液之pH值為5.9。

#### **實例5：ADC 1-MMAF凍乾調配物在40°C下之穩定性**

在初始時間點處使用SWFI對闡述於實例2中之經凍乾ADC1-MMAF調配物進行重構後及在將凍乾物於40°C/(75%相對濕度)下儲存

1個月、3個月及6個月後重構後實施以下測試。

*凍乾物及經重構溶液之外觀不受在40°C下長期儲存之影響*

視覺評價凍乾物及經重構溶液之外觀以確認在封裝材料中凍乾物實際上不含可視外源微粒物質且不含水分。在初始時間點處及在40°C (75%相對濕度)下儲存1個月、3個月及6個月後重構後，凍乾物之外觀符合前述準則。重構後，經重構溶液為實際上不含可視微粒物質之無色至微黃色溶液。在初始時間點處及在40°C (75%相對濕度)下儲存1個月、3個月及6個月後重構後，經重構溶液之外觀為實際上不含可視微粒物質之無色至微黃色溶液。

*溶液之色彩不受在40°C下長期儲存之影響*

使用BY-標度評價溶液(視覺)之色彩，其中該等樣品係針對參考溶液進行測試且報告各值。在初始時間點處及在40°C (75%相對濕度)下儲存1個月、3個月及6個月後重構後，所有經重構溶液皆具有小於或等於7之BY-標度量度。因此，儲存並不影響溶液之色彩。

*溶液之透明度及乳光不受在40°C下長期儲存之影響*

評價經重構溶液之透明度及乳光。若經重構溶液之乳光不如參考懸浮液IV強(根據歐洲藥典，Ph. Eur.)，則滿足經重構溶液之接受準則。在初始時間點處及在40°C (75%相對濕度)下儲存1個月、3個月及6個月後重構後，經重構溶液之外觀之乳光不如參考懸浮液IV強(根據歐洲藥典，Ph. Eur.) ( $\leq$  RSII)。

*溶液之生物活性不受在40°C下長期儲存之影響*

利用使用人類表皮樣癌細胞系之細胞毒性分析來測試經重構溶液與ADC1-MMAF對照相比之生物活性(%)，該對照先前已經確認具有細胞毒性活性(該對照具有100%活性)。在初始時間點處，生物活性為109%。在40°C (75%相對濕度)下儲存1個月後重構後，相對生物活性為117%。在40°C (75%相對濕度)下儲存3個月後重構後，相對生物

活性為113%。在40°C (75%相對濕度)下儲存6個月後重構後，相對生物活性為110%。因此，在所有時間點處之生物活性%皆具有100%以上之生物活性。

#### *分子大小及/或分子複合物不受在40°C下長期儲存之影響*

藉由粒徑排阻-高效液相層析(SE-HPLC)實施粒徑排阻層析。量測主峰(%)以及高分子量物質(%)及低分子量物質(%)。在初始時間點處，主峰為98.9%。高分子量物質為0.9%且低分子量物質為0.2%。在40°C (75%相對濕度)下儲存1個月後重構後，主峰為98.8%。高分子量物質為1.0%且低分子量物質為0.2%。在40°C (75%相對濕度)下儲存3個月後重構後，主峰為98.7%。高分子量物質為1.1%且低分子量物質為0.2%。在40°C (75%相對濕度)下儲存6個月後重構後，主峰為98.8%。高分子量物質為1.0%且低分子量物質為0.2%。因此，在初始、1個月、3個月及6個月量測中存在極少至無的主峰%以及高及低分子量物質變化。

#### *溶液之層析峰不因在40°C下長期儲存而變化*

藉由高效液相層析(CEX-HPLC)實施陽離子交換層析(CEX)。在初始時間點處及在40°C (75%相對濕度)下儲存1個月、3個月及6個月後重構後，經重構溶液之外觀之特徵在於，樣品之主要層析峰圖案與參考標準之圖案一致。

#### *溶液之純度不受長期儲存之影響*

在初始時間點處及在40°C (75%相對濕度)下儲存1個月、3個月及6個月後重構後，對經重構溶液實施毛細管凝膠電泳(CE-SDS-R)，且使用其來測定溶液之純度%。在初始時間點處，純度%為97.4%。在儲存1個月後重構後，純度%為97.5%。在儲存3個月後重構後，純度%為96.9%。在儲存6個月後重構後，純度%為97.2%。因此，在初始時間點與在40°C (75%相對濕度)下儲存1個月、3個月及6個月後重

構時及重構後之間，經重構溶液之純度無顯著變化。

*溶液之藥物對抗體比率在40°C下長期儲存後無變化*

對經重構溶液實施疏水性相互作用層析(HIC)。在初始時間點處及在40°C (75%相對濕度)下儲存1個月、3個月及6個月後重構後，所有經重構溶液之DAR經量測為4.2。

*溶液中之未經結合抗體%在40°C下長期儲存後無變化*

在初始時間點處，百分數不大於4.1。在40°C (75%相對濕度)下儲存1個月後重構後，百分數不大於4.1。在40°C (75%相對濕度)下儲存3個月後重構後，百分數不大於4.1。在40°C (75%相對濕度)下儲存6個月後重構後，百分數不大於3.9。因此，所有時間點處之百分數皆相似。

*溶液中之淬滅藥物連接體%不因在40°C下長期儲存而變化*

對經重構溶液實施反相層析(RP-HPLC)以測定淬滅藥物連接體%。在初始時間點處，百分數不大於0.007。在40°C (75%相對濕度)下儲存1個月後重構後，百分數不大於0.005。在40°C (75%相對濕度)下儲存3個月後重構後，百分數不大於0.006。在40°C (75%相對濕度)下儲存6個月後重構後，百分數不大於0.005。因此，所有時間點處之淬滅藥物連接體%皆相似。

*溶液中之總雜質在40°C下長期儲存後無變化*

使用RP-HPLC對經重構溶液進行分析以測定總雜質%。在初始時間點處，百分數不大於0.007。在40°C (75%相對濕度)下儲存1個月後重構後，百分數不大於0.005。在40°C (75%相對濕度)下儲存3個月後重構後，百分數不大於0.006。在40°C (75%相對濕度)下儲存6個月後重構後，百分數不大於0.005。因此，所有時間點處之總雜質%皆相似。

*溶液之微粒污染不受在40°C下長期儲存之影響*



藉由測定亞可視粒子來評價微粒污染。藉由確定每個容器大於10  $\mu\text{m}$ 之粒子數不大於6000 (USP (美國藥典)及歐洲藥典標準)來滿足接受準則。在初始時間點處每個容器大於10  $\mu\text{m}$ 之粒子數為33。在40 $^{\circ}\text{C}$  (75%相對濕度)下儲存1個月後重構後，每個容器大於10  $\mu\text{m}$ 之粒子數為5。在40 $^{\circ}\text{C}$  (75%相對濕度)下儲存3個月後重構後，每個容器大於10  $\mu\text{m}$ 之粒子數為12。在40 $^{\circ}\text{C}$  (75%相對濕度)下儲存6個月後重構後，每個容器大於10  $\mu\text{m}$ 之粒子數為32。因此，所有時間點皆滿足每個容器大於10  $\mu\text{m}$ 之粒子數之接受準則。亦藉由確定每個容器大於25  $\mu\text{m}$ 之粒子數不大於600來滿足接受準則。在初始時間點處每個容器大於25  $\mu\text{m}$ 之粒子數為0。在40 $^{\circ}\text{C}$  (75%相對濕度)下儲存1個月後重構後，每個容器大於25  $\mu\text{m}$ 之粒子數為0。在40 $^{\circ}\text{C}$  (75%相對濕度)下儲存3個月後重構後，每個容器大於25  $\mu\text{m}$ 之粒子數為0。在40 $^{\circ}\text{C}$  (75%相對濕度)下儲存6個月後重構後，每個容器大於25  $\mu\text{m}$ 之粒子數為2。因此，所有時間點皆滿足每個容器大於25  $\mu\text{m}$ 之粒子數之接受準則。

#### *溶液之水含量不受在40 $^{\circ}\text{C}$ 下長期儲存之影響*

藉由Karl-Fischer滴定來評價水含量。Karl Fischer滴定使用庫侖或體積滴定來測定樣品中之痕量水，報告為%。在初始時間點處，經重構溶液中之水%為2.0%。在40 $^{\circ}\text{C}$  (75%相對濕度)下儲存1個月後重構後，無法檢測到經重構溶液中之水%。在40 $^{\circ}\text{C}$  (75%相對濕度)下儲存3個月後重構後，經重構溶液中之水%為0.9%。在40 $^{\circ}\text{C}$  (75%相對濕度)下儲存6個月後重構後，經重構溶液中之水%為1.0%。因此，在初始時間點處及在儲存1個月、3個月及6個月後重構後，經重構溶液之水含量可忽略。

#### *溶液之pH不受在40 $^{\circ}\text{C}$ 下長期儲存之影響*

在初始時間點處及在40 $^{\circ}\text{C}$  (75%相對濕度)下儲存1個月、3個月及6個月後重構後測定經重構溶液之pH。在初始時間點處，經重構溶

液之pH值為6.0。在40°C (75%相對濕度)下儲存3個月後重構後，經重構溶液之pH為5.9。在40°C (75%相對濕度)下儲存6個月後重構後，經重構溶液之pH值為5.9。

根據本文及美國臨時公開案第61/792834號及於2014年3月x日提出申請之美國公開案第xx/xxxxxx號[代理人案號為117813-07002，標題為「ANTIBODY DRUG CONJUGATE (ADC) PURIFICATION」]中所闡述之分批純化方法來純化ADC 1-MMAF，該等公開案之內容皆以引用方式併入本文中。實例6至8中所闡述包括ADC1-MMAFp之ADC混合物之平均DAR為約3.0。

在初始時間點處使用SWFI重構後及在將包括ADC1-MMAFp之凍乾物於5°C下儲存3個月以及在25°C (60%相對濕度)及40°C (75%相對濕度)二者下儲存1個月及3個月後重構後，實施實例6至8中所闡述之穩定性實驗。

#### **實例6：經純化ADC 1-MMAF (ADC1-MMAFp)在5°C下在凍乾調配物中之穩定性**

在初始時間點處使用SWFI對闡述於實例2中之經凍乾ADC1-MMAFp調配物進行重構後及在將凍乾物於5°C下儲存高達3個月後將調配物重構後實施以下測試。

##### *凍乾物及經重構溶液之外觀不受在5°C下長期儲存之影響*

視覺評價凍乾物及經重構溶液之外觀以確認在封裝材料中凍乾物實際上不含可視外源微粒物質且不含水分。在初始時間點處及在5°C下儲存3個月後重構後，凍乾物之外觀符合前述準則。重構後，經重構溶液為無色至微黃色溶液，且實際上不含可視微粒物質。

##### *溶液之色彩不受在5°C下長期儲存之影響*

使用藍/黃標度(BY-標度)評價經重構溶液(視覺)之色彩，其中該等樣品係針對參考溶液及所報導之值進行測試。在初始時間點處及在

5°C 下儲存3個月後重構後，所有經重構溶液皆具有小於或等於7之BY-標度量度。因此，ADC1-MMAFp調配物之儲存並不影響溶液之色彩。

#### *溶液之透明度及乳光不受在5°C下長期儲存之影響*

評價經重構溶液之透明度及乳光。在初始時間點處及在5°C下儲存3個月後重構後，經重構溶液之外觀之乳光不如參考懸浮液IV強(根據歐洲藥典，ph. Eur) ( $\leq$  RSII)。

#### *溶液之生物活性不受在5°C下長期儲存之影響*

利用使用人類表皮樣癌細胞系之細胞毒性分析來測試經重構溶液與ADC1-MMAF對照相比之生物活性(%)，該對照先前已經確認具有細胞毒性活性(該對照具有100%活性)。在初始時間點處，相對生物活性為102%。在5°C下以凍乾形式儲存3個月後重構後，相對生物活性為98%。

#### *分子大小及/或分子複合物不受在5°C下長期儲存之影響*

使用粒徑排阻-高效液相層析(SE-HPLC)來實施經重構溶液之粒徑排阻層析。量測主峰(%)以及高分子量物質(%)及低分子量物質(%)。在初始時間點處，主峰為99.5%。高分子量物質為0.2%且低分子量物質為0.2%。在5°C下以凍乾形式儲存3個月後重構後，主峰為99.6%。在初始時及以凍乾形式儲存3個月後重構時，高分子量物質皆為0.2%且低分子量物質皆為0.2%。

因此，在初始及3個月時間點量測中，所有時間點皆顯示極少至無的主峰%以及高及低分子量物質變化。

#### *溶液之層析峰不因在5°C下長期儲存而變化*

使用高效液相層析(CEX-HPLC)對重構溶液實施陽離子交換層析(CEX)。在陽離子交換層析中，帶正電荷之分子被吸引至帶負電荷之固體載體上。在初始時間點處及在5°C下以凍乾形式儲存3個月後重構

後，經重構溶液之外觀之特徵在於，樣品之主要層析峰圖案與先前已經表徵之ADC1-MMAF對照之圖案一致。因此，層析峰在5°C下在3個月之過程中保持相對不變。

#### *溶液之純度不受在5°C下長期儲存之影響*

在初始時間點處及在5°C下儲存3個月後重構後，對經重構溶液實施毛細管凝膠電泳(CE-SDS-R)以測定溶液之純度。在初始時間點處，純度%為97.4%。在5°C下以凍乾形式儲存3個月後重構後，純度%為97.6%。因此，在初始時間點與3個月儲存之間，經重構溶液之純度並無顯著變化。

#### *ADC1-MMAF之藥物對抗體比率(DAR)在5°C下儲存後保持不變*

對經重構溶液實施疏水性相互作用層析(HIC)以測定在3個月儲存時段內之藥物對抗體比率(DAR)。基於相對疏水性使用HIC來分離蛋白質。在初始時間點處及在5°C下以凍乾形式儲存3個月後重構後，ADC1-MMAF之平均藥物對抗體比率(DAR)經量測分別為3.0及2.9。

#### *溶液中之未經結合抗體1%在5°C下儲存後無變化*

亦對經重構溶液進行分析以測定ADC1-MMAF之未經結合抗體%。在初始時間點處，百分數不大於7.6。在5°C下以凍乾形式儲存3個月後重構後，百分數不大於7.6。因此，未經結合抗體1之%在3個月所得內保持相同。

#### *溶液中之淬滅藥物連接體%不因在5°C下儲存而變化*

對經重構溶液實施反相層析(RP-HPLC)以測定淬滅藥物連接體%。在初始時及在5°C下以凍乾形式儲存3個月後重構後，皆未檢測到淬滅藥物連接體%(實際檢測限值為0.001%)。

#### *溶液中之總雜質不因儲存在5°C下儲存後而變化*

亦使用RP-HPLC對經重構溶液進行分析以測定總雜質%。在初始時及在5°C下以凍乾形式儲存3個月後重構後，皆無法檢測到總雜質%

(實際檢測限值為0.001%；實際量化限值為0.003%)。

#### *溶液之微粒污染不受在5°C下儲存之影響*

藉由使用兩種不同的接受準則測定亞可視粒子來評價微粒污染。

藉由確定每個容器大於10 µm之粒子數不大於6000 (USP (美國藥典)及歐洲藥典標準)來滿足接受準則。在初始時間點處每個容器大於10 µm之粒子數為13。在5°C下以凍乾形式儲存3個月後重構後，每個容器大於10 µm之粒子數為20。因此，兩個時間點皆滿足每個容器大於10 µm之粒子數之接受準則。

亦藉由確定每個容器大於25 µm之粒子數不大於600 (USP (美國藥典)及歐洲藥典標準)來滿足接受準則。在初始時間點處每個容器大於25 µm之粒子數為0。在5°C下儲存3個月後重構後，每個容器大於25 µm之粒子數為0。因此，兩個時間點皆滿足每個容器大於25 µm之粒子數之接受準則。

#### *溶液之水含量不受在5°C下儲存之影響*

藉由Karl-Fischer滴定來評價水含量。Karl Fischer滴定使用庫侖或體積滴定來測定樣品中之痕量水，報告為%。在初始時間點處，經重構溶液中之水%為0.8%。在5°C下以凍乾形式儲存3個月後重構後，經重構溶液中之水%為0.8%。因此，在初始時間點處及在5°C下儲存3個月後重構後，經重構溶液之水含量可忽略。

#### *溶液之pH不受在5°C下儲存之影響*

在初始時間點處及在5°C下儲存3個月後重構後，測定經重構溶液之pH。在初始時間點處，經重構溶液之pH值為5.9。在5°C下儲存3個月後，經重構溶液之pH值為5.9。因此，將ADC1-MMAFp組合物在5°C下儲存3個月並不影響pH。

#### **實例7：ADC 1-MMAFp在25°C下在凍乾調配物中之穩定性**

在初始時間點處使用SWFI對經凍乾ADC1-MMAFp調配物(參見實例2)進行重構後及在將凍乾物於25°C/(60%相對濕度)下儲存1個月及3個月後重構後實施以下實驗。

#### *凍乾物及經重構溶液之外觀不受在25°C下儲存之影響*

視覺評價凍乾物及經重構溶液之外觀以確認在封裝材料中凍乾物實際上不含可視外源微粒物質且不含水分。在初始時間點處及在25°C下儲存1個月及3個月後重構後，凍乾物之外觀符合前述準則。重構後，經重構溶液為實際上不含可視微粒物質之無色至微黃色溶液。因此，在初始時間點處及在25°C下儲存1個月及3個月後重構後，經重構溶液之外觀為該溶液係無色至微黃色溶液且實際上不含可視微粒物質。

#### *溶液之色彩不受在25°C下儲存之影響*

使用藍/黃標度(BY-標度)評價溶液(視覺)之色彩，其中該等樣品係針對參考溶液進行測試且報告各值。在初始時間點處及在25°C下儲存1個月及3個月後重構後，所有經重構溶液皆具有小於或等於7之BY-標度量度。因此，儲存並不影響溶液之色彩。

#### *溶液之透明度及乳光不受在25°C下儲存之影響*

評價經重構溶液之透明度及乳光。若經重構溶液之乳光不如參考懸浮液IV強(根據歐洲藥典，ph. Eur.)，則滿足經重構溶液之接受準則。在初始時間點處及在25°C下儲存1個月及3個月後重構後，經重構溶液之外觀之乳光不如參考懸浮液IV強(根據歐洲藥典，ph. Eur.) ( $\leq$  RSII)。

#### *溶液之生物活性不受在25°C下儲存之影響*

利用使用人類表皮樣癌細胞系之細胞毒性分析來測試經重構溶液與ADC1-MMAF對照相比之生物活性(%)，該對照先前已經確認具有細胞毒性活性(該對照具有100%活性)。在初始時間點處，相對生物

活性為102%。在25°C下儲存1個月後重構後，相對生物活性為101%。在25°C下儲存3個月後重構後，相對生物活性為97%。

*分子大小及/或分子複合物不受在25°C下儲存之影響*

藉由粒徑排阻-高效液相層析(SE-HPLC)實施粒徑排阻層析。量測主峰(%)以及高分子量物質(%)及低分子量物質(%)。在初始時間點處，主峰為99.5%。高分子量物質為0.2%且低分子量物質為0.2%。在25°C下儲存1個月後重構後，主峰為99.5%。高分子量物質為0.3%且低分子量物質為0.2%。在25°C下儲存3個月後重構後，主峰為99.6%。高分子量物質為0.3%且低分子量物質為0.2%。因此，在初始、1個月及3個月量測中存在極少至無的主峰%以及高及低分子量物質變化。

*溶液之層析峰不因在25°C下儲存而變化*

藉由高效液相層析(CEX-HPLC)實施陽離子交換層析(CEX)。在初始時間點處及在25°C下儲存1個月及3個月後重構後，經重構溶液之外觀之特徵在於，樣品之主要層析峰圖案與參考標準之圖案一致。

*溶液之純度不受在25°C下儲存之影響*

在初始時間點處及在25°C下儲存1個月及3個月後重構後，對經重構溶液實施毛細管凝膠電泳(CE-SDS-R)。在初始時間點處，純度%為97.4%。在儲存1個月後重構後，純度%為97.5%。在儲存3個月後重構後，純度%為97.6%。因此，在初始時間點與在25°C下儲存1個月及3個月後重構後之間，經重構溶液之純度並無顯著變化。

*溶液中之ADC1-MMAFp之藥物對抗體比率(DAR)在25°C下儲存後保持不變*

對經重構溶液實施疏水性相互作用層析(HIC)。在初始時間點處，DAR經量測為3.0。在25°C下儲存1個月後重構後，DAR經量測為3.0。在25°C下儲存3個月後重構後，DAR經量測為2.9。因此，在初始

時間點與在25°C下儲存1個月及3個月後重構後之間，ADC1-MMAFp之DAR並無顯著變化。

#### *溶液中之未經結合抗體1%在25°C下儲存後無變化*

對經重構溶液進行分析以測定未經結合抗體1%。在初始時間點處，百分數不大於7.6。在25°C下儲存1個月後重構後，百分數不大於7.6。在25°C下儲存3個月後重構後，百分數不大於7.6。

#### *溶液中之淬滅藥物連接體%不因在25°C下儲存而變化*

對經重構溶液實施反相層析(RP-HPLC)以測定淬滅連接體%。在初始時間點處、1個月時間點處及3個月時間點處，無法檢測到淬滅連接體%(實際檢測限值為0.001%；實際量化限值為0.003%)。

#### *溶液中之總雜質在25°C下儲存後無變化*

對經重構溶液進行分析以測定總雜質%。在初始時間點處，未檢測到百分數。在25°C下儲存1個月後重構後，雜質%小於0.003。在25°C下儲存3個月後重構後，未檢測到百分數(實際檢測限值為0.001%；實際量化限值為0.003%)。因此，所有時間點處之總雜質%皆相似。

#### *溶液之微粒污染不受在25°C下儲存之影響*

藉由根據兩種接受準則測定亞可視粒子來評價微粒污染。

藉由確定每個容器大於10 μm之粒子數不大於6000 (USP (美國藥典)及歐洲藥典標準)來滿足接受準則。在初始時間點處每個容器大於10 μm之粒子數為13。在25°C下儲存1個月後重構後，每個容器大於10 μm之粒子數為12。在25°C下儲存3個月後重構後，每個容器大於10 μm之粒子數為17。因此，所有時間點皆滿足每個容器大於10 μm之粒子數之接受準則。亦藉由確定每個容器大於25 μm之粒子數不大於600來滿足接受準則。在初始時間點處每個容器大於25 μm之粒子數為0。在25°C下儲存1個月後重構後，每個容器大於25 μm之粒子數為0。在25°C下儲存3個月後重構後，每個容器大於25 μm之粒子數為7。



因此，所有時間點皆滿足每個容器大於25  $\mu\text{m}$ 之粒子數之接受準則。

#### *溶液之水含量不受在25°C下儲存之影響*

藉由Karl-Fischer滴定來評價水含量。在初始時間點處，經重構溶液中之水%為0.8%。在25°C下儲存1個月後重構後，經重構溶液中之水%為0.8%。在25°C下儲存3個月後重構後，經重構溶液中之水%為0.8%。因此，在初始時間點處及在儲存1個月及3個月後重構後，經重構溶液之水含量可忽略。

#### *溶液之pH不受在25°C下儲存之影響*

在初始時間點處及在25°C下儲存1個月及3個月後重構後測定經重構溶液之pH。在初始時間點處，經重構溶液之pH值為5.9。在25°C下儲存3個月後重構後，經重構溶液之pH為5.9。在25°C下儲存6個月後重構後，經重構溶液之pH值為5.9。

#### **實例8：ADC 1-MMAFp凍乾調配物在40°C下之穩定性**

在初始時間點處使用SWFI對闡述於實例2中之經凍乾ADC1-MMAFp調配物進行重構後及在將凍乾物於40°C/(75%相對濕度)下儲存1個月及3個月後重構後實施以下測試。

#### *凍乾物及經重構溶液之外觀不受在40°C下儲存之影響*

視覺評價凍乾物及經重構溶液之外觀以確認在封裝材料中凍乾物實際上不含可視外源微粒物質且不含水分。在初始時間點處及在40°C下儲存1個月及3個月後重構後，凍乾物之外觀符合前述準則。重構後，經重構溶液為實際上不含可視微粒物質之無色至微黃色溶液。在初始時間點處及在40°C下儲存1個月及3個月後重構後，經重構溶液之外觀為該溶液係實際上不含可視微粒物質之無色至微黃色溶液。

#### *溶液之色彩不受在40°C下儲存之影響*

使用BY-標度評價溶液(視覺)之色彩，其中該等樣品係針對參考

溶液進行測試且報告各值。在初始時間點處及在40°C下儲存1個月及3個月後重構後，所有經重構溶液皆具有小於或等於7之BY-標度量度。因此，儲存並不影響溶液之色彩。

#### *溶液之透明度及乳光不受在40°C下儲存之影響*

評價經重構溶液之透明度及乳光。若經重構溶液之乳光不如參考懸浮液IV強(根據歐洲藥典，Ph. Eur.)，則滿足經重構溶液之接受準則。在初始時間點處及在40°C下儲存1個月及3個月後重構後，經重構溶液之外觀之乳光不如參考懸浮液IV強(根據歐洲藥典，Ph. Eur.) ( $\leq$  RSII)。

#### *溶液之生物活性不受在40°C下儲存之影響*

利用使用人類表皮樣癌細胞系之細胞毒性分析來測試經重構溶液與ADC1-MMAF對照相比之生物活性(%)，該對照先前已經確認具有細胞毒性活性(該對照具有100%活性)。在初始時間點處，生物活性為102%。在40°C下儲存1個月後重構後，相對生物活性為101%。在40°C下儲存3個月後重構後，相對生物活性為105%。因此，在所有時間點處之生物活性%皆具有實例2之調配物之100%以上之生物活性。

#### *分子大小及分子複合物不受在40°C下儲存之影響*

藉由粒徑排阻-高效液相層析(SE-HPLC)實施粒徑排阻層析。量測主峰(%)以及高分子量物質(%)及低分子量物質(%)。在初始時間點處，主峰為99.5%。高分子量物質為0.2%且低分子量物質為0.2%。在40°C下儲存1個月後重構後，主峰為99.5%。高分子量物質為0.3%且低分子量物質為0.2%。在40°C下儲存3個月後重構後，主峰為99.5%。高分子量物質為0.3%且低分子量物質為0.2%。因此，在初始、1個月及3個月量測中存在極少至無的主峰%以及高及低分子量物質變化。

#### *溶液之層析峰不因在40°C下儲存而變化*

藉由高效液相層析(CEX-HPLC)實施陽離子交換層析(CEX)。在初始時間點處及在40°C下儲存1個月及3個月後重構後，經重構溶液之外觀之特徵在於，樣品之主要層析峰圖案與參考標準之圖案一致。

#### *溶液之純度不受在40°C下儲存之影響*

在初始時間點處及在40°C下儲存1個月、3個月及6個月後重構後，對經重構溶液實施毛細管凝膠電泳(CE-SDS-R)，且使用其來測定溶液之純度%。在初始時間點處，純度%為97.4%。在儲存1個月後重構後，純度%為97.5%。在儲存3個月後重構後，純度%為97.6%。因此，在初始時間點與在40°C下儲存1個月及3個月後重構時及重構後之間，經重構溶液之純度並無顯著變化。

#### *ADC1-MMAFp之藥物對抗體比率(DAR)不因在40°C下儲存而變化*

對經重構溶液實施疏水性相互作用層析(HIC)。在初始時間點處，DAR經量測為3.0。在40°C下儲存1個月後重構後，DAR經量測為3.0。在40°C下儲存3個月後重構後，DAR經量測為2.9。因此，在初始時間點與在40°C下儲存1個月及3個月後重構後之間，DAR並無顯著變化。

#### *溶液中之未經結合抗體1%不因在40°C下儲存而變化*

在初始時間點處，未經結合抗體1之%不大於7.6。在40°C下儲存1個月後重構後，未經結合抗體1之%不大於7.6。在40°C下儲存3個月後重構後，未經結合抗體1之%不大於7.6。因此，所有時間點處之百分數皆相似。

#### *溶液中之淬滅藥物連接體%不因在40°C下儲存而變化*

對經重構溶液實施反相層析(RP-HPLC)以測定淬滅藥物連接體%。在初始時間點處，未檢測到百分數。在40°C下儲存1個月後重構後，未檢測到百分數。在40°C下儲存3個月後重構後，未檢測到百分數。因此，在所有時間點處未檢測到淬滅藥物連接體%。

### 溶液中之總雜質在40℃下儲存後無變化

使用RP-HPLC對經重構溶液進行分析以測定總雜質%。在初始時間點處，未檢測到百分數。在40℃下儲存1個月後重構後，百分數小於0.003。在40℃下儲存3個月後重構後，未檢測到百分數。因此，所有時間點處之總雜質%皆相似。

### 溶液之微粒污染不受在40℃下儲存之影響

藉由根據兩種接受準則測定亞可視粒子來評價微粒污染。

藉由確定每個容器大於10 μm之粒子數不大於6000 (USP (美國藥典)及歐洲藥典標準)來滿足接受準則。在初始時間點處每個容器大於10 μm之粒子數為13。在40℃下儲存1個月後重構後，每個容器大於10 μm之粒子數為5。在40℃下儲存3個月後重構後，每個容器大於10 μm之粒子數為8。因此，所有時間點皆滿足每個容器大於10 μm之粒子數之接受準則。

亦藉由確定每個容器大於25 μm之粒子數不大於600來滿足接受準則。在初始時間點處每個容器大於25 μm之粒子數為0。在40℃下儲存1個月後重構後，每個容器大於25 μm之粒子數為0。在40℃下儲存3個月後重構後，每個容器大於25 μm之粒子數為2。因此，所有時間點皆滿足每個容器大於25 μm之粒子數之接受準則。

### 溶液之水含量不受在40℃下儲存之影響

藉由Karl-Fischer滴定來評價水含量。Karl Fischer滴定使用庫侖或體積滴定來測定樣品中之痕量水，報告為%。在初始時間點處，經重構溶液中之水%為0.8%。在40℃下儲存1個月後重構後，經重構溶液中之水%為0.8%。在40℃下儲存3個月後重構後，經重構溶液中之水%為0.8%。因此，在初始時間點處及在儲存1個月及3個月後重構後，經重構溶液之水含量可忽略。

### 溶液之pH不受在40℃下儲存之影響

在初始時間點處及在40°C下儲存1個月及3個月後重構後測定經重構溶液之pH。在初始時間點處，經重構溶液之pH值為5.9。在40°C下儲存3個月後重構後，經重構溶液之pH為5.9。在40°C下儲存6個月後重構後，經重構溶液之pH值為5.9。

### 實例9：ADC 1-MMAF凍乾調配物之大規模製造

為製備本體溶液，將組胺酸溶解於注射用水中，用10% w/w鹽酸調節pH，且添加注射用水至最終重量。對調配物緩衝液賦形劑(蔗糖及聚山梨醇酯80)稱重且將其溶解於15 mM組胺酸溶液中。然後檢查所得溶液之外觀。

在30°C下在水浴中將ADC 1-MMAF解凍，檢查外觀，彙集且稱重。將15 mM組胺酸緩衝液、聚山梨醇酯80及蔗糖添加至ADC 1-MMAF中。檢查溶液之外觀且測定其pH及密度，然後進行無菌過濾。然後在受控條件下凍乾溶液。

在用於20 mg/mL注射溶液之ADC 1-MMAF粉劑製造期間實施之關鍵過程中測試列示於下表2中。

**表2. 過程中控制測試及接受限值**

| 操作     | 測試                      | 接受限值                                       |
|--------|-------------------------|--|
| 第一次過濾  | 過濾器完整性                  | 上流測試、擴散速率或鼓泡點必須符合過濾器說明書                    |
| 藉由過濾除菌 | 在第二次過濾前之生物負荷量<br>過濾器完整性 | < 10 CFU/100 mL<br>上流測試、擴散速率或鼓泡點必須符合過濾器說明書 |

用於凍乾用ADC 1-MMAF溶液之典型批次之ADC 1-MMAF及緩衝溶液的量顯示於下表3中。用於製造調配物緩衝液之組份及量之列表闡述於表4及表5中。

表3. ADC 1-MMAF藥品本體溶液之批次配方

|                     |                        |
|---------------------|------------------------|
| 劑量強度                | 20 mg/mL               |
| 批次大小                | 27 L <sup>a</sup>      |
| 組份                  | 每批之量(kg)               |
| ADC 1-MMAF藥物物質      | 15.57 <sup>b·c·d</sup> |
| 調配物緩衝液 <sup>e</sup> | 12.29 <sup>d</sup>     |

a. 本體溶液之密度：1.032 g/mL

b. 在35 g蛋白質/L藥物物質濃縮物下之0.540 kg蛋白質之等效物；藥物物質濃縮物之密度：1.0089 g/mL

c. 藥物物質濃縮物含有15 mM組胺酸

d. 量端視藥物物質濃縮物之實際蛋白質濃度而變化

e. 此材料之批次配方呈現於表4中

表4. 調配物緩衝溶液之批次配方

|                         |                      |
|-------------------------|----------------------|
| 批次大小                    | 11.58 L <sup>a</sup> |
| 組份 <sup>b</sup>         | 每批之量(g)              |
| 蔗糖                      | 1890 <sup>b</sup>    |
| 聚山梨醇酯80                 | 2.7 <sup>c</sup>     |
| 15 mM組胺酸溶液 <sup>d</sup> | ad 12290             |

縮寫：ad = 至.....之總重量

a. 溶液之密度：1.0616 g/mL

b. 量對應於產品本體溶液之70 g/L之最終濃度

c. 量對應於產品本體溶液之0.10 g/L之最終濃度

d. 此材料之批次配方呈現於表6中。

表5. 15 mM組胺酸溶液之批次配方

|                          |                   |
|--------------------------|-------------------|
| 批次大小                     | 15 L <sup>a</sup> |
| 組份                       | 每批之量(g)           |
| 組胺酸                      | 34.95             |
| 10% (w/w)鹽酸 <sup>b</sup> | 適量                |
| 注射用水                     | ad 14999          |

縮寫：ad = 至.....之總重量

a. 溶液之密度：0.9993 g/mL

b. 用於pH調節

應理解，本文所闡述實例及實施例僅出於說明之目的，且基於

其之各種修改或變化將為熟習此項技術者所瞭解，且欲包含在隨附申請專利範圍之精神與範圍內。出於所有目的，本發明所引用之所有公開案、專利及專利申請案之全文皆以引用方式併入本文中。

### 序列概述

|               |     |                                |
|---------------|-----|--------------------------------|
| SEQ ID NO: 1  | 核酸  | 抗體2 (鼠類抗-EGFR Ab)之可變重鏈序列       |
| SEQ ID NO: 2  | 蛋白質 | 抗體2 (鼠類抗-EGFR Ab)之可變重鏈序列       |
| SEQ ID NO: 3  | 核酸  | 抗體2 (鼠類抗-EGFR Ab)之可變輕鏈序列       |
| SEQ ID NO: 4  | 蛋白質 | 抗體2 (鼠類抗-EGFR Ab)之可變輕鏈序列。      |
| SEQ ID NO: 5  | 蛋白質 | 可變重鏈序列SEQ ID NO:2之CDR1         |
| SEQ ID NO: 6  | 蛋白質 | 可變重鏈序列SEQ ID NO:2之CDR2         |
| SEQ ID NO: 7  | 蛋白質 | 可變重鏈序列SEQ ID NO:2之CDR3         |
| SEQ ID NO: 8  | 蛋白質 | 可變輕鏈序列SEQ ID NO:2之CDR1         |
| SEQ ID NO: 9  | 蛋白質 | 可變輕鏈序列SEQ ID NO:2之CDR2         |
| SEQ ID NO: 10 | 蛋白質 | 可變輕鏈序列SEQ ID NO:2之CDR3         |
| SEQ ID NO: 11 | 蛋白質 | 不具信號肽之抗體2 (鼠類抗-EGFR Ab)之可變重鏈序列 |
| SEQ ID NO: 12 | 蛋白質 | 不具信號肽之抗體2 (鼠類抗-EGFR Ab)之可變輕鏈序列 |
| SEQ ID NO: 13 | 蛋白質 | 抗體1 (人類化抗-EGFR Ab)之可變重鏈序列      |
| SEQ ID NO: 14 | 蛋白質 | 抗體1 (人類化抗-EGFR Ab)之恆定重鏈序列      |
| SEQ ID NO: 15 | 蛋白質 | 可變重鏈序列SEQ ID NO:13之CDR1        |
| SEQ ID NO: 16 | 蛋白質 | 可變重鏈序列SEQ ID NO:13之CDR2        |
| SEQ ID NO: 17 | 蛋白質 | 可變重鏈序列SEQ ID NO:13之CDR3        |
| SEQ ID NO: 18 | 蛋白質 | 抗體1 (人類化抗-EGFR Ab)之可變輕鏈序列      |
| SEQ ID NO: 19 | 蛋白質 | 抗體1 (人類化抗-EGFR Ab)之恆定輕鏈序列      |
| SEQ ID NO: 20 | 蛋白質 | 可變輕鏈序列SEQ ID NO:18之CDR1        |
| SEQ ID NO: 21 | 蛋白質 | 可變輕鏈序列SEQ ID NO:18之CDR2        |
| SEQ ID NO: 22 | 蛋白質 | 可變輕鏈序列SEQ ID NO:18之CDR3        |

### 【符號說明】

無

## 【序列表】

<110> 美商艾伯維有限公司  
 <120> 抗-EGFR 抗體藥物結合物調配物  
 <130> 117813-06020  
 <140>  
 <141>  
 <150> 61/790,490  
 <151> 2013-03-15  
 <160> 22  
 <170> PatentIn version 3.5  
 <210> 1  
 <211> 402  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工序列之描述：合成多核苷酸

<400> 1  
 atgagagtgc tgattctttt gtggctgttc acagcctttc ctgggtgtcct gtctgatgtg 60  
 cagcttcagg agtcgggacc tagcctgggtg aaaccttctc agtctctgtc cctcacctgc 120  
 actgtcactg gctactcaat caccagtgat ttgcctgga actggatccg gcagtttcca 180  
 ggaaacaagc tggagtggat gggctacata agttatagtg gtaacactag gtacaacca 240  
 tctctcaaaa gtcgaatctc taccactcga gacacatcca agaaccaatt cttcctgcag 300  
 ttgaattctg tgactattga ggacacagcc acatattact gtgtaacggc gggacgcggg 360  
 tttccttatt ggggccaagg gactctggtc actgtctctg ca 402

<210> 2  
 <211> 134  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 2  
 Met Arg Val Leu Ile Leu Leu Trp Leu Phe Thr Ala Phe Pro Gly Val  
 1 5 10 15



Leu Ser Asp Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Ser Leu Val Lys Pro  
 20 25 30

Ser Gln Ser Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Thr Gly Tyr Ser Ile Thr  
 35 40 45

Ser Asp Phe Ala Trp Asn Trp Ile Arg Gln Phe Pro Gly Asn Lys Leu  
 50 55 60

Glu Trp Met Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Asn Thr Arg Tyr Asn Pro  
 65 70 75 80

Ser Leu Lys Ser Arg Ile Ser Ile Thr Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln  
 85 90 95

Phe Phe Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Ile Glu Asp Thr Ala Thr Tyr  
 100 105 110

Tyr Cys Val Thr Ala Gly Arg Gly Phe Pro Tyr Trp Gly Gln Gly Thr  
 115 120 125

Leu Val Thr Val Ser Ala  
 130

<210> 3  
 <211> 384  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 人工序列之描述：合成多核苷酸

<400> 3  
 atggtgtcca cagctcagtt ccttgcattc ttgttgcttt ggtttccagg tgcaagatgt 60  
 gacatcctga tgaccaatc tccatcctcc atgtctgtat ctctgggaga cacagtcagc 120  
 atcacttgcc attcaagtca ggacattaac agtaatatag ggtggttgca gcagagacca 180  
 gggaaatcat ttaagggcct gatctatcat ggaaccaact tggacgatga agttccatca 240  
 aggttcagtg gcagtggatc tggagccgat tattctctca ccatcagcag cctggaatct 300  
 gaagattttg cagactatta ctgtgtacag tatgctcagt ttccgtggac gttcgggtgga 360

ggcaccaagc tggaaatcaa acgt

<210> 4  
 <211> 128  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 4  
 Met Val Ser Thr Ala Gln Phe Leu Ala Phe Leu Leu Leu Trp Phe Pro  
 1 5 10 15  
 Gly Ala Arg Cys Asp Ile Leu Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Met Ser  
 20 25 30  
 Val Ser Leu Gly Asp Thr Val Ser Ile Thr Cys His Ser Ser Gln Asp  
 35 40 45  
 Ile Asn Ser Asn Ile Gly Trp Leu Gln Gln Arg Pro Gly Lys Ser Phe  
 50 55 60  
 Lys Gly Leu Ile Tyr His Gly Thr Asn Leu Asp Asp Glu Val Pro Ser  
 65 70 75 80  
 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ala Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser  
 85 90 95  
 Ser Leu Glu Ser Glu Asp Phe Ala Asp Tyr Tyr Cys Val Gln Tyr Ala  
 100 105 110  
 Gln Phe Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg  
 115 120 125

<210> 5  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 5  
 Ser Asp Phe Ala Trp Asn  
 1 5

<210> 6  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 6  
 Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Asn Thr Arg Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser  
 1 5 10 15

<210> 7  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 7  
 Val Thr Ala Gly Arg Gly Phe Pro Tyr  
 1 5

<210> 8  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 8  
 His Ser Ser Gln Asp Ile Asn Ser Asn Ile Gly  
 1 5 10

<210> 9  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 9  
His Gly Thr Asn Leu Asp Asp  
1 5

<210> 10  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 10  
Val Gln Tyr Ala Gln Phe Pro Trp Thr  
1 5

<210> 11  
<211> 116  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 11  
Asp Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Ser Leu Val Lys Pro Ser Gln  
1 5 10 15

Ser Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Thr Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp  
20 25 30

Phe Ala Trp Asn Trp Ile Arg Gln Phe Pro Gly Asn Lys Leu Glu Trp  
35 40 45

Met Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Asn Thr Arg Tyr Asn Pro Ser Leu  
50 55 60

Lys Ser Arg Ile Ser Ile Thr Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Phe  
65 70 75 80

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

Val Thr Ala Gly Arg Gly Phe Pro Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val

100

105

110

Thr Val Ser Ala  
115

<210> 12  
<211> 108  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 12  
Asp Ile Leu Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Met Ser Val Ser Leu Gly  
1 5 10 15

Asp Thr Val Ser Ile Thr Cys His Ser Ser Gln Asp Ile Asn Ser Asn  
20 25 30

Ile Gly Trp Leu Gln Gln Arg Pro Gly Lys Ser Phe Lys Gly Leu Ile  
35 40 45

Tyr His Gly Thr Asn Leu Asp Asp Glu Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Asp Tyr Tyr Cys Val Gln Tyr Ala Gln Phe Pro Trp  
85 90 95

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

<210> 13  
<211> 116  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 13

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Asp  
20 25 30

Phe Ala Trp Asn Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp  
35 40 45

Met Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Asn Thr Arg Tyr Gln Pro Ser Leu  
50 55 60

Lys Ser Arg Ile Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Phe  
65 70 75 80

Leu Lys Leu Asn Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys  
85 90 95

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

Thr Val Ser Ser  
115

<210> 14

<211> 330

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 14

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys  
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr  
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser  
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |    |  |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|----|--|
| 50  |     |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     |     |     |     |     |     | 60 |  |
| Leu | Ser | Ser | Val | Val | Thr | Val | Pro | Ser | Ser | Ser | Leu | Gly | Thr | Gln | Thr |    |  |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |    |  |
| Tyr | Ile | Cys | Asn | Val | Asn | His | Lys | Pro | Ser | Asn | Thr | Lys | Val | Asp | Lys |    |  |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |    |  |
| Lys | Val | Glu | Pro | Lys | Ser | Cys | Asp | Lys | Thr | His | Thr | Cys | Pro | Pro | Cys |    |  |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |    |  |
| Pro | Ala | Pro | Glu | Leu | Leu | Gly | Gly | Pro | Ser | Val | Phe | Leu | Phe | Pro | Pro |    |  |
|     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |    |  |
| Lys | Pro | Lys | Asp | Thr | Leu | Met | Ile | Ser | Arg | Thr | Pro | Glu | Val | Thr | Cys |    |  |
|     | 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |    |  |
| Val | Val | Val | Asp | Val | Ser | His | Glu | Asp | Pro | Glu | Val | Lys | Phe | Asn | Trp |    |  |
| 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |    |  |
| Tyr | Val | Asp | Gly | Val | Glu | Val | His | Asn | Ala | Lys | Thr | Lys | Pro | Arg | Glu |    |  |
|     |     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |    |  |
| Glu | Gln | Tyr | Asn | Ser | Thr | Tyr | Arg | Val | Val | Ser | Val | Leu | Thr | Val | Leu |    |  |
|     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |    |  |
| His | Gln | Asp | Trp | Leu | Asn | Gly | Lys | Glu | Tyr | Lys | Cys | Lys | Val | Ser | Asn |    |  |
|     |     | 195 |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |    |  |
| Lys | Ala | Leu | Pro | Ala | Pro | Ile | Glu | Lys | Thr | Ile | Ser | Lys | Ala | Lys | Gly |    |  |
|     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |    |  |
| Gln | Pro | Arg | Glu | Pro | Gln | Val | Tyr | Thr | Leu | Pro | Pro | Ser | Arg | Asp | Glu |    |  |
| 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |    |  |
| Leu | Thr | Lys | Asn | Gln | Val | Ser | Leu | Thr | Cys | Leu | Val | Lys | Gly | Phe | Tyr |    |  |
|     |     |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |    |  |
| Pro | Ser | Asp | Ile | Ala | Val | Glu | Trp | Glu | Ser | Asn | Gly | Gln | Pro | Glu | Asn |    |  |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |    |  |

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe  
 275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn  
 290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr  
 305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 325 330

<210> 15  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 15  
 Ser Asp Phe Ala Trp Asn  
 1 5

<210> 16  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 16  
 Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Asn Thr Arg Tyr Gln Pro Ser Leu Lys Ser  
 1 5 10 15

<210> 17  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 17  
 Val Thr Ala Gly Arg Gly Phe Pro Tyr



1

5

<210> 18  
 <211> 108  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 18  
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Met Ser Val Ser Val Gly  
 1 . . . . . 5 . . . . . 10 . . . . . 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ser Ser Gln Asp Ile Asn Ser Asn  
 . . . . . 20 . . . . . 25 . . . . . 30

Ile Gly Trp Leu Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Phe Lys Gly Leu Ile  
 . . . . . 35 . . . . . 40 . . . . . 45

Tyr His Gly Thr Asn Leu Asp Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 . . . . . 50 . . . . . 55 . . . . . 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Val Gln Tyr Ala Gln Phe Pro Trp  
 . . . . . 85 . . . . . 90 . . . . . 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg  
 . . . . . 100 . . . . . 105

<210> 19  
 <211> 106  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 19  
 Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln  
 1 . . . . . 5 . . . . . 10 . . . . . 15

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

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser  
 35 40 45

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr  
 50 55 60

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys  
 65 70 75 80

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro  
 85 90 95

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 100 105

<210> 20  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 20  
 His Ser Ser Gln Asp Ile Asn Ser Asn Ile Gly  
 1 5 10

<210> 21  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 21  
 His Gly Thr Asn Leu Asp Asp  
 1 5

<210> 22  
 <211> 9  
 <212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 22

Val Gln Tyr Ala Gln Phe Pro Trp Thr  
1 5

## 申請專利範圍

1. 一種穩定凍乾醫藥調配物，其包括抗表皮生長因子受體(EGFR)抗體藥物結合物(ADC)、糖、組胺酸及聚山梨醇酯，其中該調配物重構後具有約5-7之pH，且其中該抗-EGFR ADC包括結合至奧裡斯他汀(auristatin)之人類化抗-EGFR抗體，其中該抗體包括重鏈可變區及輕鏈可變區，該重鏈可變區包括包含SEQ ID NO: 15、16及17所載胺基酸序列之互補決定區(CDR)；且該輕鏈可變區包括包含SEQ ID NO: 20、21及22所載胺基酸序列之CDR，其中該奧裡斯他汀為單甲基奧裡斯他汀F (Monomethylauristatin F；MMAF)。
2. 如請求項1之調配物，其中該MMAF係利用馬來醯亞胺基己醯基連接體結合至該抗體。
3. 如請求項1之調配物，其中該聚山梨醇酯為聚山梨醇酯80。
4. 如請求項3之調配物，其中該調配物包括0.1 mg至0.9 mg之該聚山梨醇酯。
5. 如請求項1至4中任一項之調配物，其中該調配物包括約1 mg至120 mg之該抗-EGFR ADC。
6. 如請求項1至4中任一項之調配物，其中該調配物包括約320 mg至410 mg之該糖。
7. 如請求項1至4中任一項之調配物，其中該糖係蔗糖。
8. 如請求項1至4中任一項之調配物，其包括約1 mg至20 mg之組胺酸。
9. 如請求項1之調配物，其中該調配物重構後包括約1 mg/ml至100 mg/ml之該抗-EGFR ADC、約1 mg/ml至10 mg/mL組胺酸、約50 mg/ml至90 mg/ml之該糖及約0.01 mg/ml至0.2 mg/ml之聚山梨醇

酯，其中該糖為蔗糖。

10. 如請求項9之調配物，其中該調配物具有約5.5至6.5之pH。
11. 如請求項9之調配物，其包括1 mg/ml至50 mg/ml之該抗-EGFR ADC。
12. 如請求項11之調配物，其包括1 mg/ml至40 mg/ml之該抗-EGFR ADC。
13. 如請求項1至4中任一項之調配物，其中該抗體包括重鏈可變區及輕鏈可變區，該重鏈可變區包括SEQ ID NO: 13所載之胺基酸序列；且該輕鏈可變區包括SEQ ID NO: 18所載之胺基酸序列。
14. 如請求項1至4中任一項之調配物，其中該調配物包括平均藥物對抗體比率(DAR)為約3之ADC混合物或DAR為2-4之ADC混合物。
15. 一種穩定凍乾醫藥調配物，其包括  
    抗-EGFR ADC，其包括結合至單甲基奧裡斯他汀F (MMAF)之抗-EGFR抗體，其中該抗-EGFR抗體包括重鏈可變區及輕鏈可變區，該重鏈可變區包括包含SEQ ID NO: 15、16及17所載胺基酸序列之互補決定區(CDR)；且該輕鏈可變區包括包含SEQ ID NO: 20、21及22所載胺基酸序列之CDR，  
    蔗糖，  
    組胺酸，及  
    聚山梨醇酯80，  
    其中該調配物包括平均DAR為3之ADC混合物或DAR為2-4之ADC混合物。
16. 如請求項15之調配物，其中該抗-EGFR抗體包括重鏈可變區及輕鏈可變區，該重鏈可變區包括SEQ ID NO: 13所載之胺基酸序列；且該輕鏈可變區包括SEQ ID NO: 18所載之胺基酸序列。

17. 如請求項16之調配物，其包含1 mg至150 mg抗-EGFR ADC、1 mg至20 mg組胺酸、0.1 mg至0.9 mg聚山梨醇酯80，及320 mg至410 mg蔗糖。
18. 如請求項16之調配物，其包含90 mg至120 mg抗-EGFR ADC。
19. 如請求項16之調配物，其包含1 mg至20 mg組胺酸。
20. 如請求項16之調配物，其包含0.1 mg至0.9 mg聚山梨醇酯80。
21. 如請求項16之調配物，其包含320 mg至410 mg蔗糖。
22. 如請求項1之調配物，其中重構(reconstitution)後，藉由粒徑排阻層析(SEC)測定低於5%之抗-EGFR ADC降解及/或聚集。
23. 如請求項15之調配物，其中重構後，藉由粒徑排阻層析(SEC)測定低於5%之抗-EGFR ADC降解及/或聚集。
24. 如請求項15之調配物，其中重構後該調配物具有5-7之pH。
25. 如請求項24之調配物，其中該pH為約5.5。
26. 如請求項1之調配物，其中該pH為約5.5。
27. 如請求項1之調配物，其中該調配物係封裝於玻璃小瓶。
28. 如請求項15之調配物，其中該調配物係封裝於玻璃小瓶。
29. 一種穩定凍乾醫藥調配物，其包括1 mg至150 mg之抗-EGFR ADC、糖、聚山梨醇酯及組胺酸，其中該抗-EGFR ADC包括結合至單甲基奧裡斯他汀F (MMAF)之抗-EGFR IgG1抗體，其包含重鏈可變區及輕鏈可變區，該重鏈可變區包括SEQ ID NO: 13所載之胺基酸序列；且該輕鏈可變區包括SEQ ID NO: 18所載之胺基酸序列。
30. 如請求項29之調配物，其中該MMAF係利用馬來醯亞胺基己醯基連接體結合至抗體。
31. 如請求項29或30之調配物，其中該糖係蔗糖。
32. 如請求項29或30之調配物，包含約320 mg至410 mg之該糖。

33. 如請求項29或30之調配物，其中該調配物於抗-EGFR ADC之濃度為1 mg/ml至100 mg/ml時以水重構後具有5-7之pH。
34. 如請求項29或30之調配物，其中以水重構後，藉由粒徑排阻層析(SEC)測定低於5%之抗-EGFR ADC降解及/或聚集。

圖式

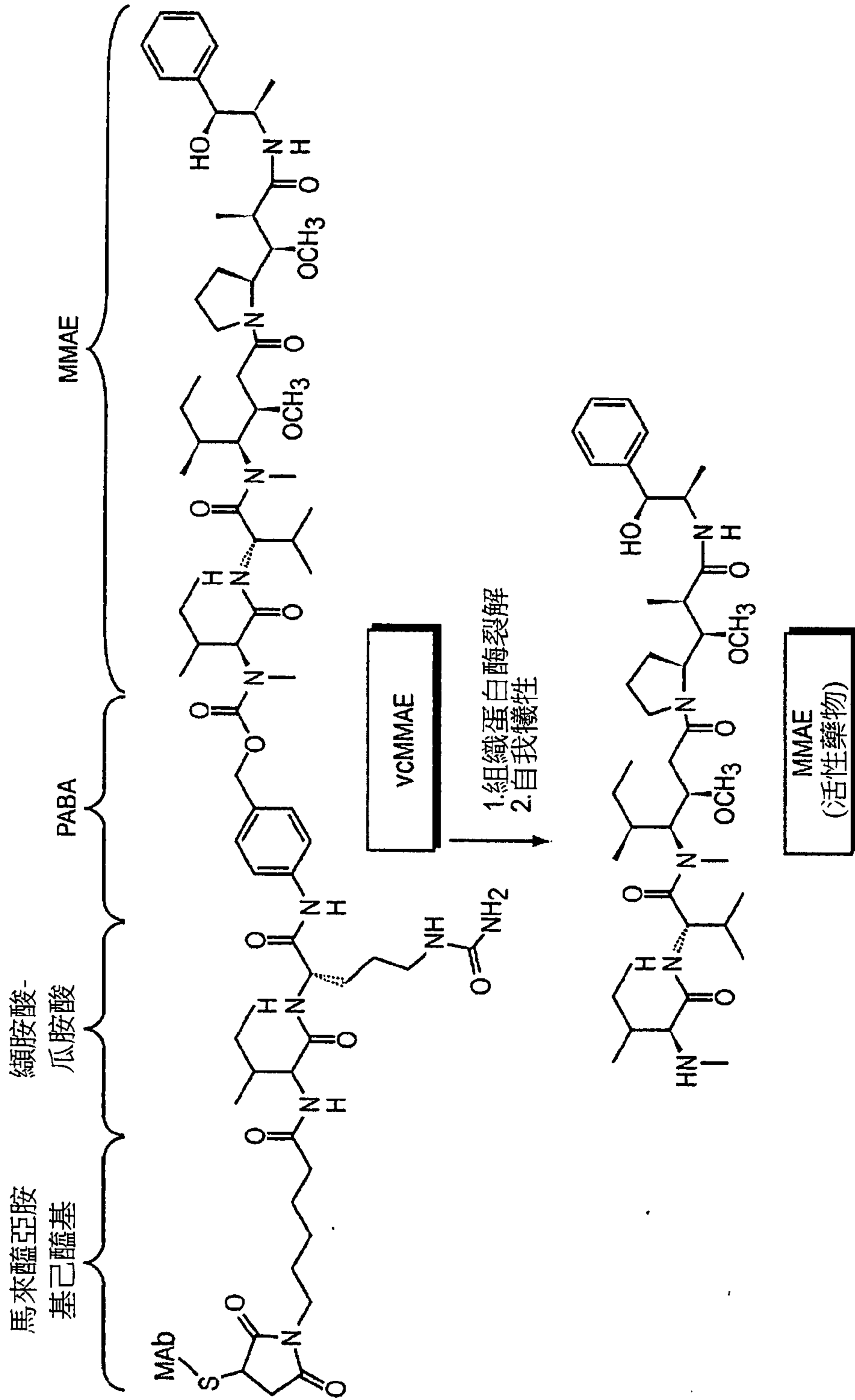


圖 1



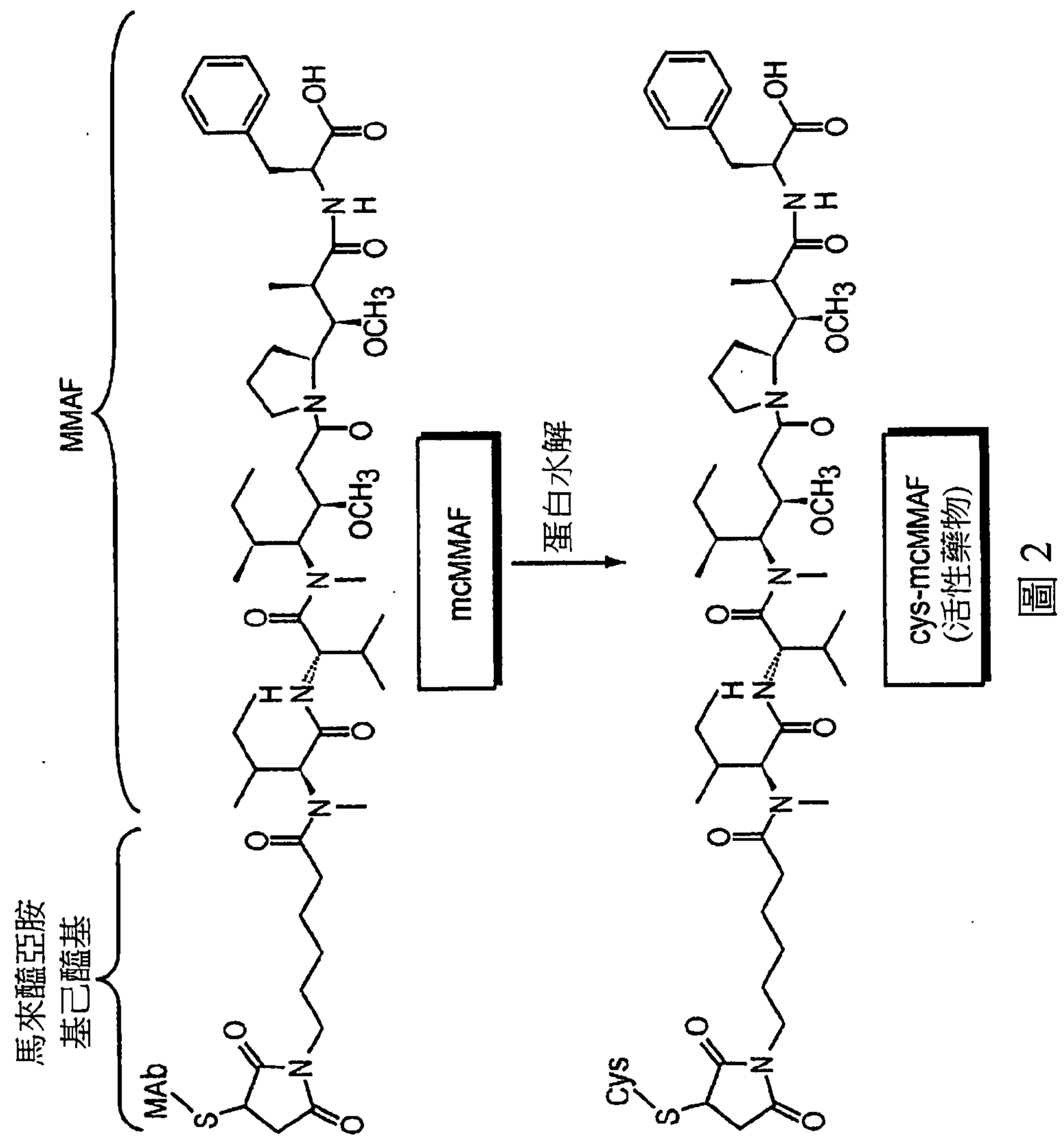


圖 2

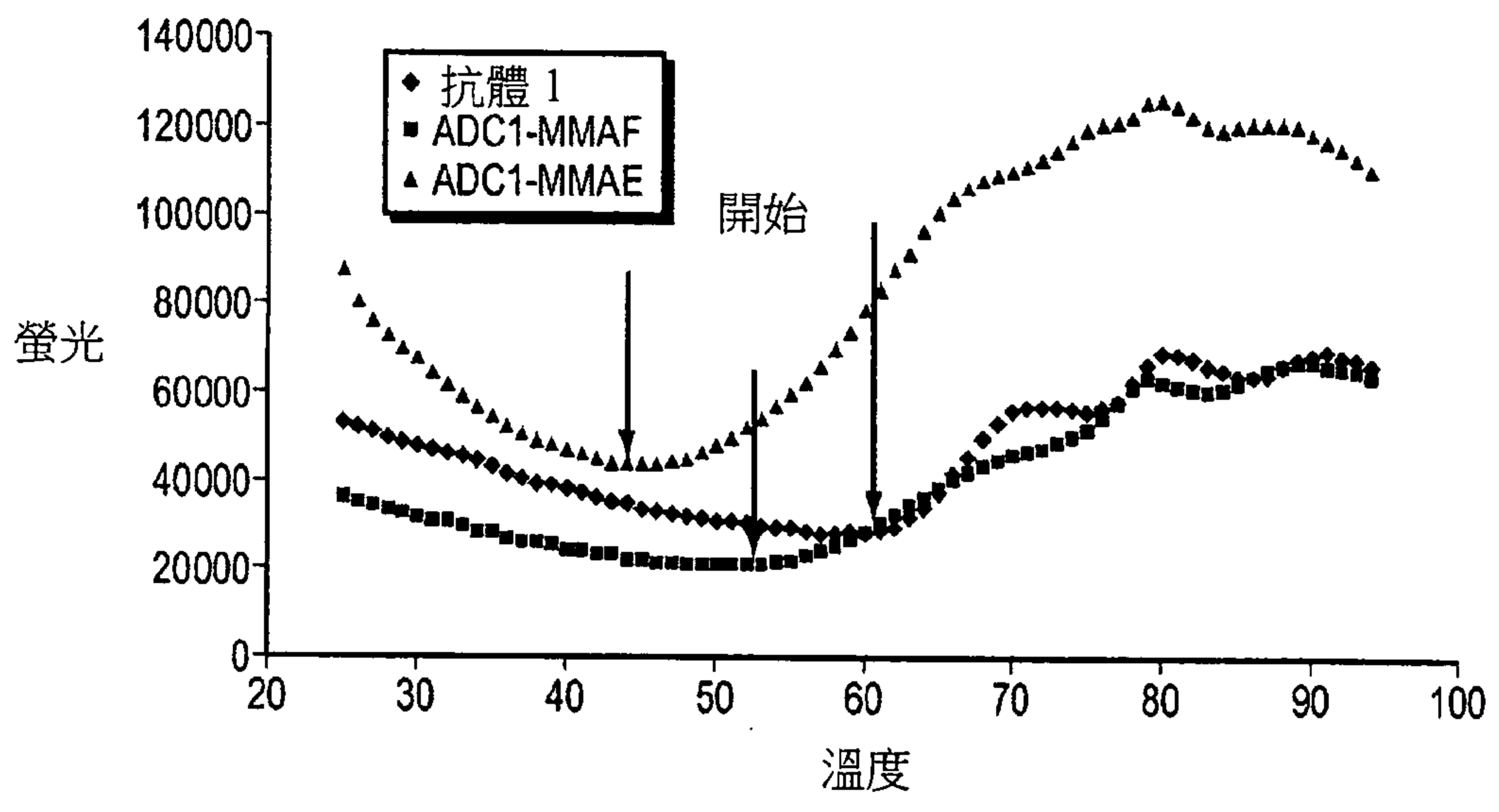


圖 3A

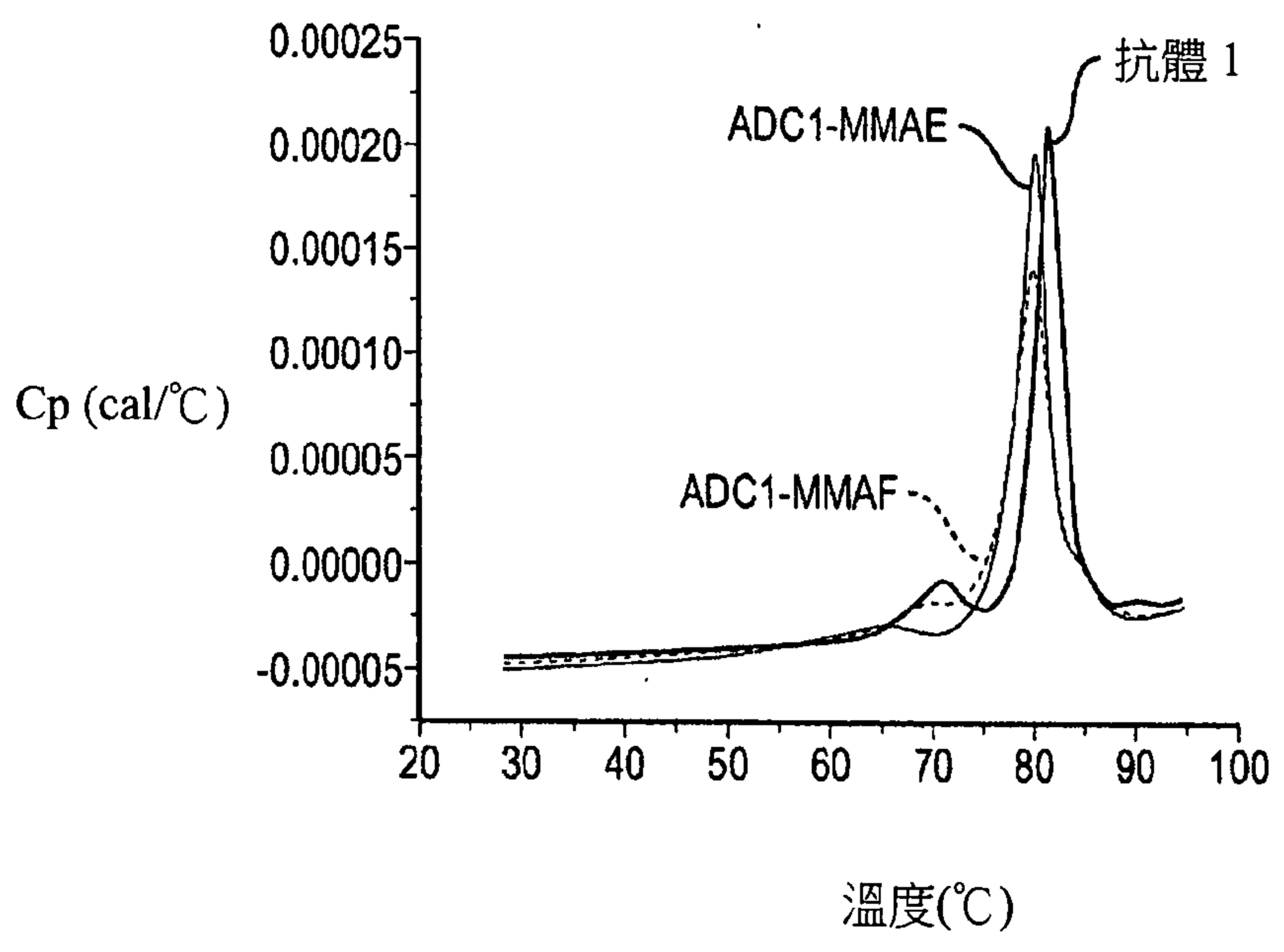


圖 3B

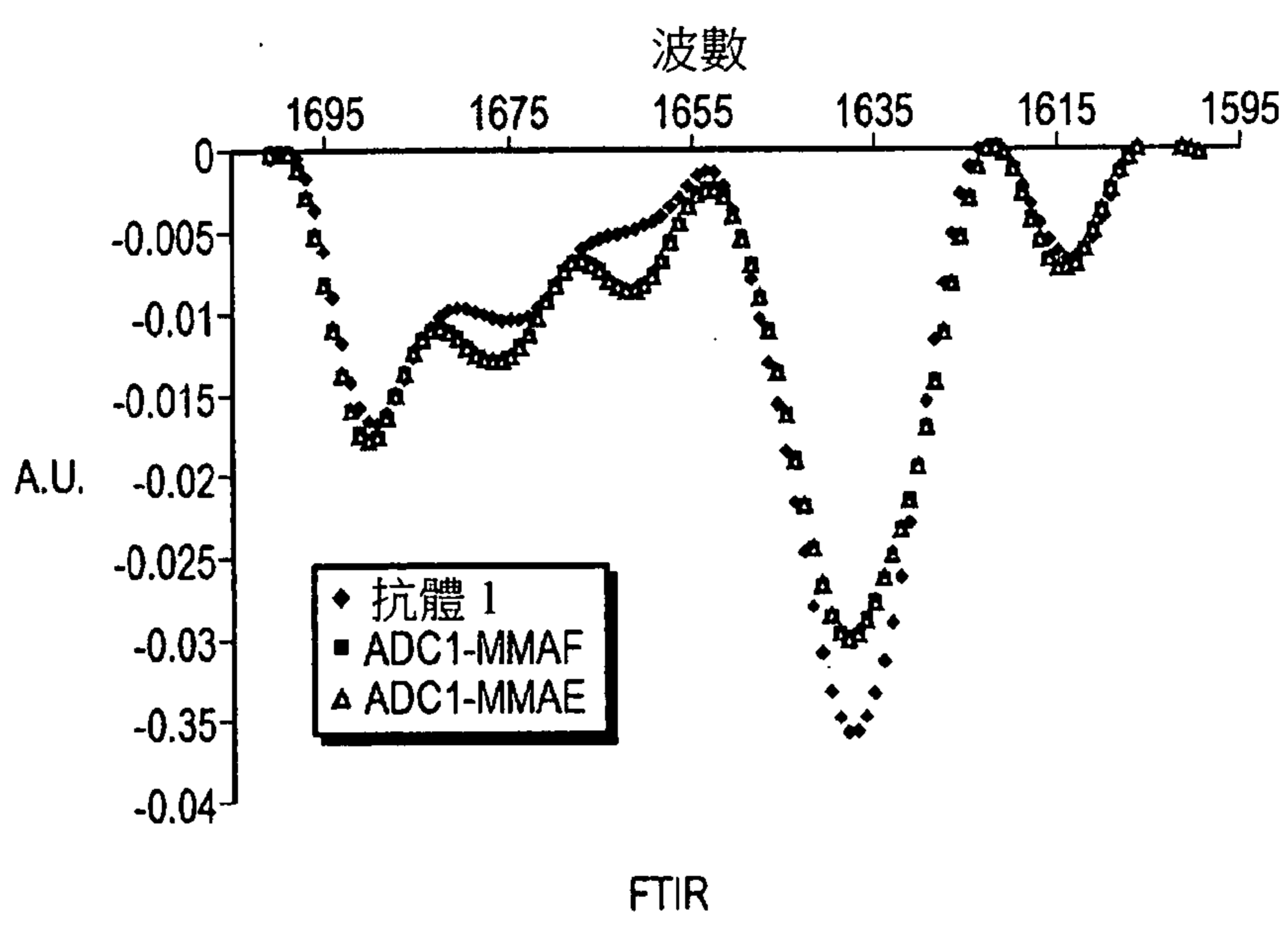


圖 4A

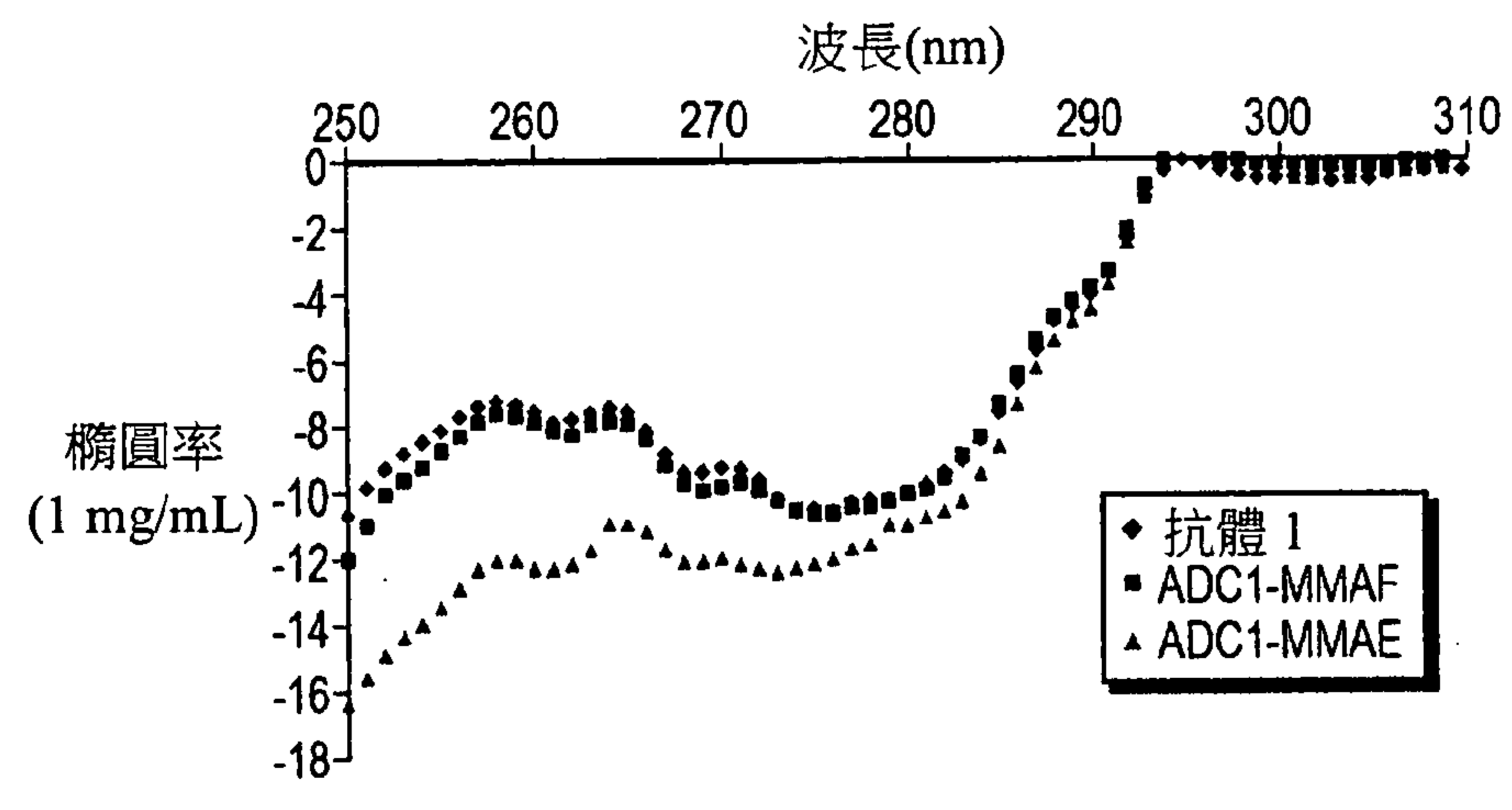


圖 4B

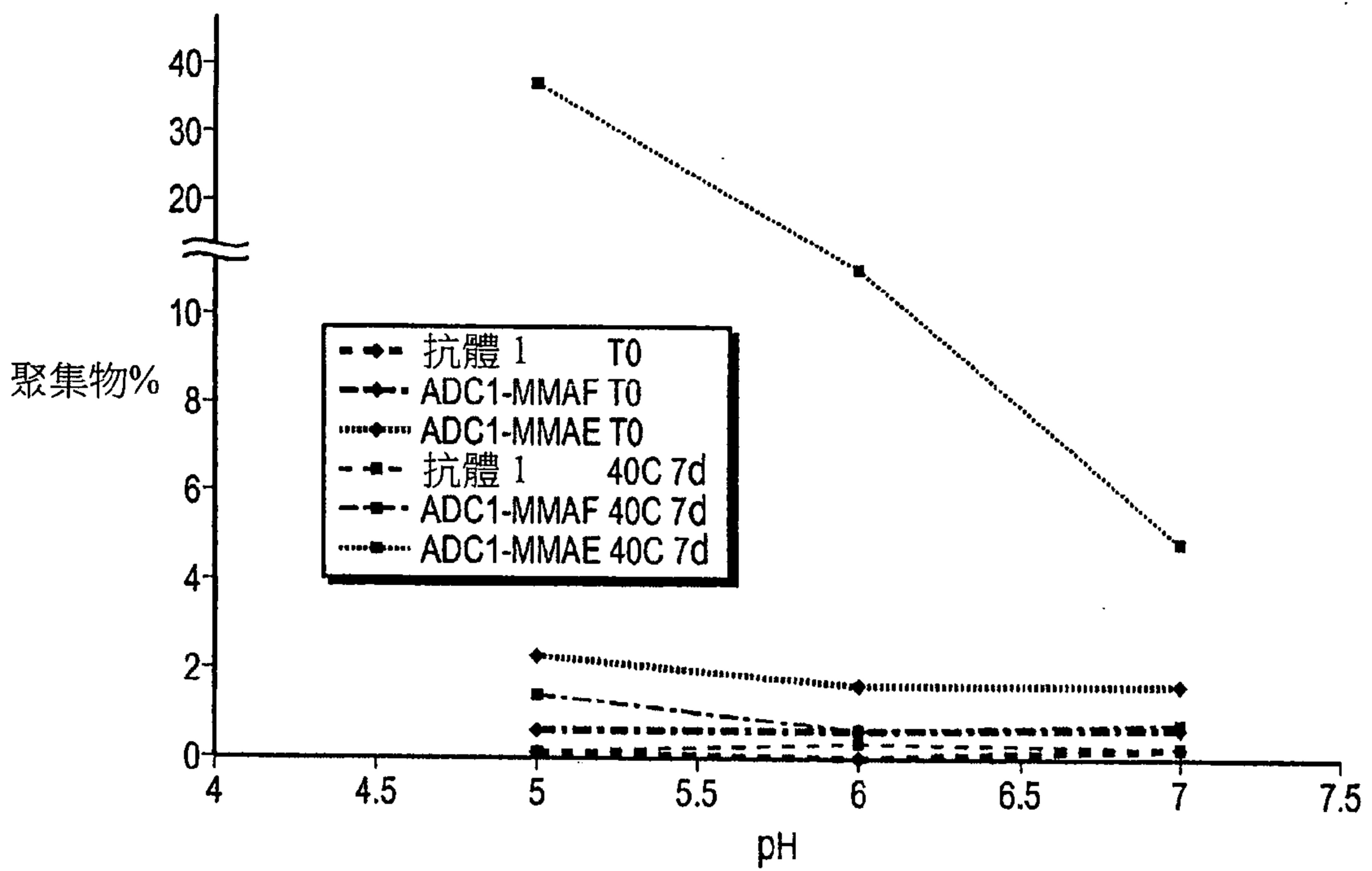


圖 5

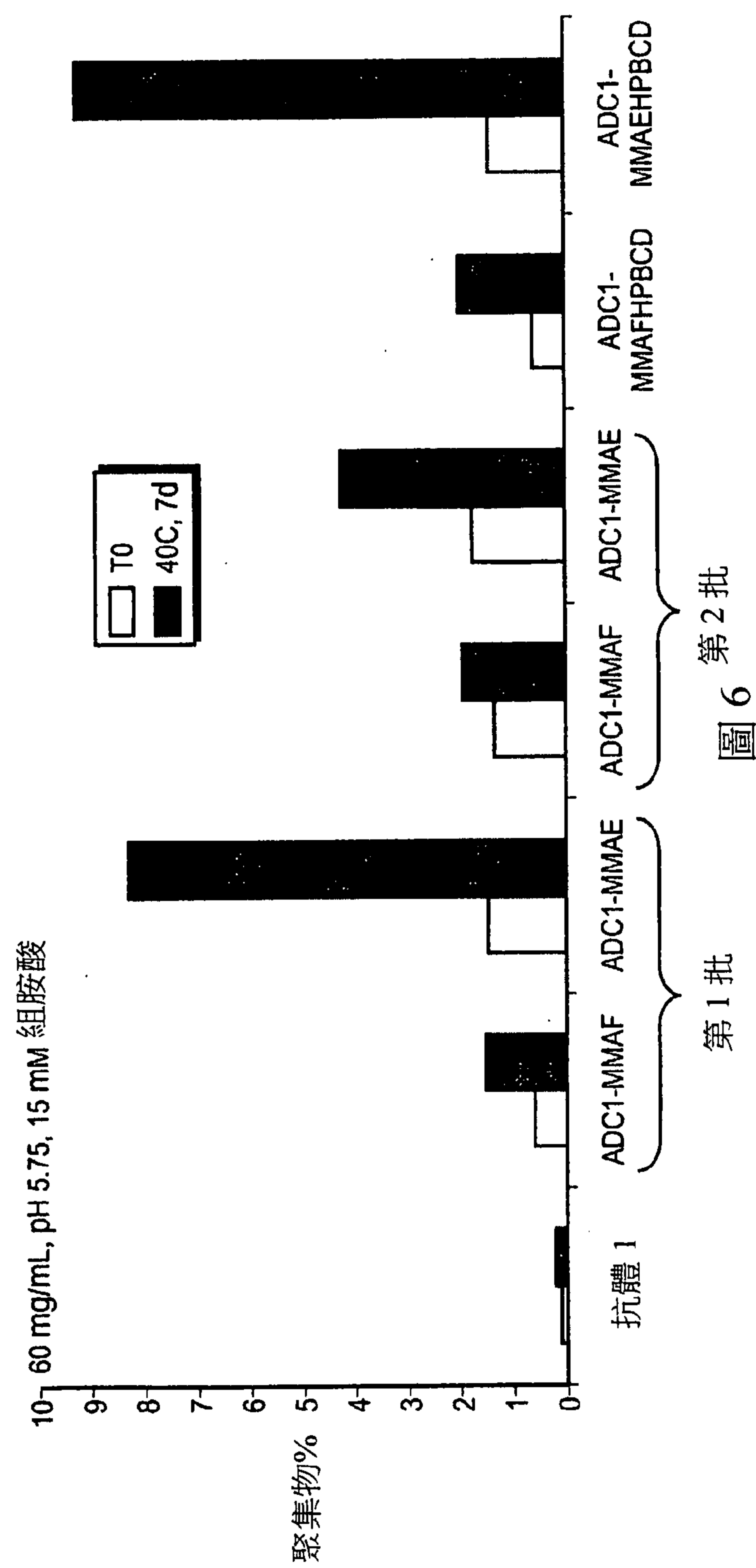




圖 7

↓ 高分子量(斜率)

| 樣品        | 斜率   |
|-----------|------|
| 抗體 1      | 1.10 |
| ADC1-MMAF | 0.50 |
| ADC1-MMAE | 2.30 |
| 抗體 A      | 2.17 |

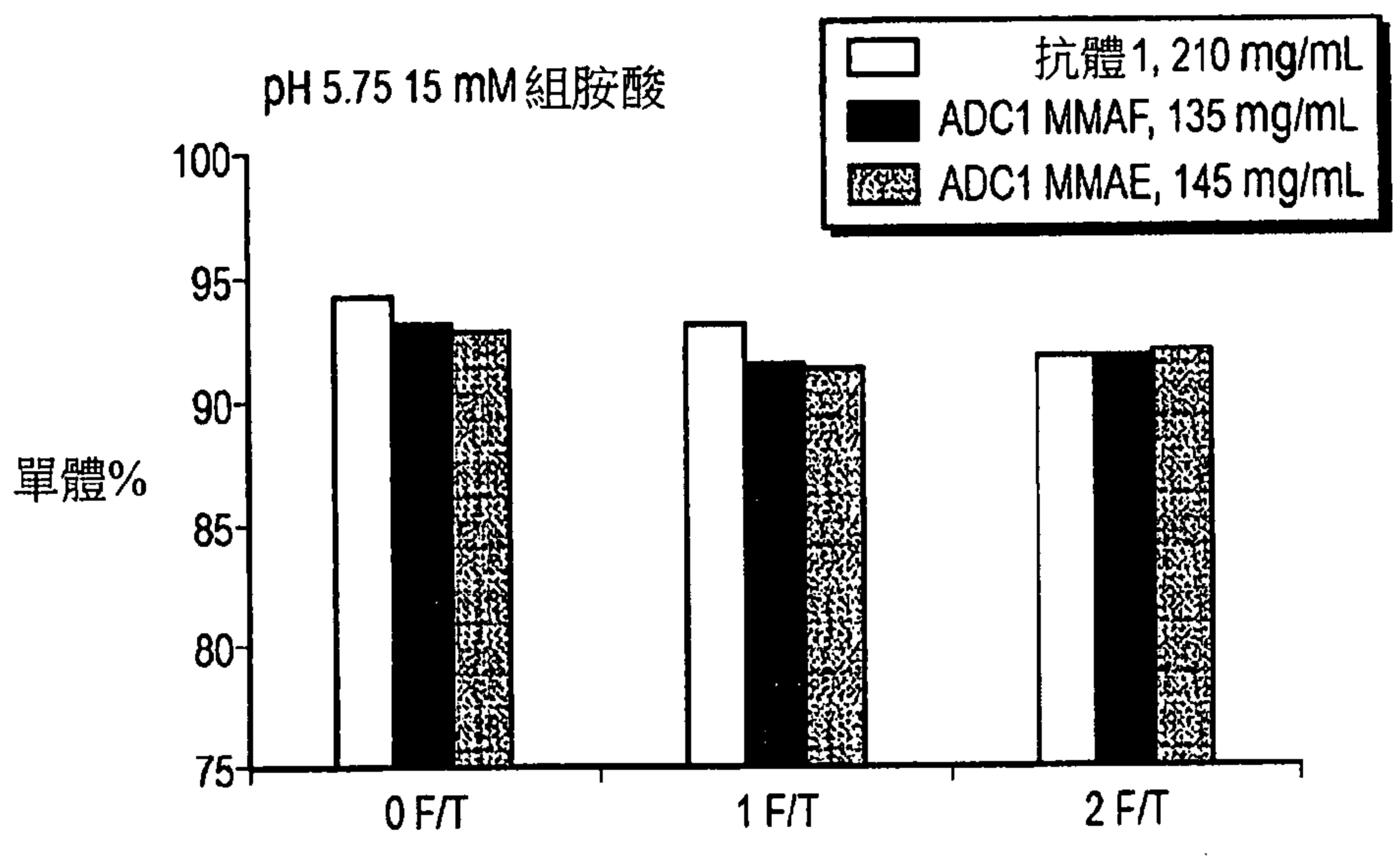


圖 8A

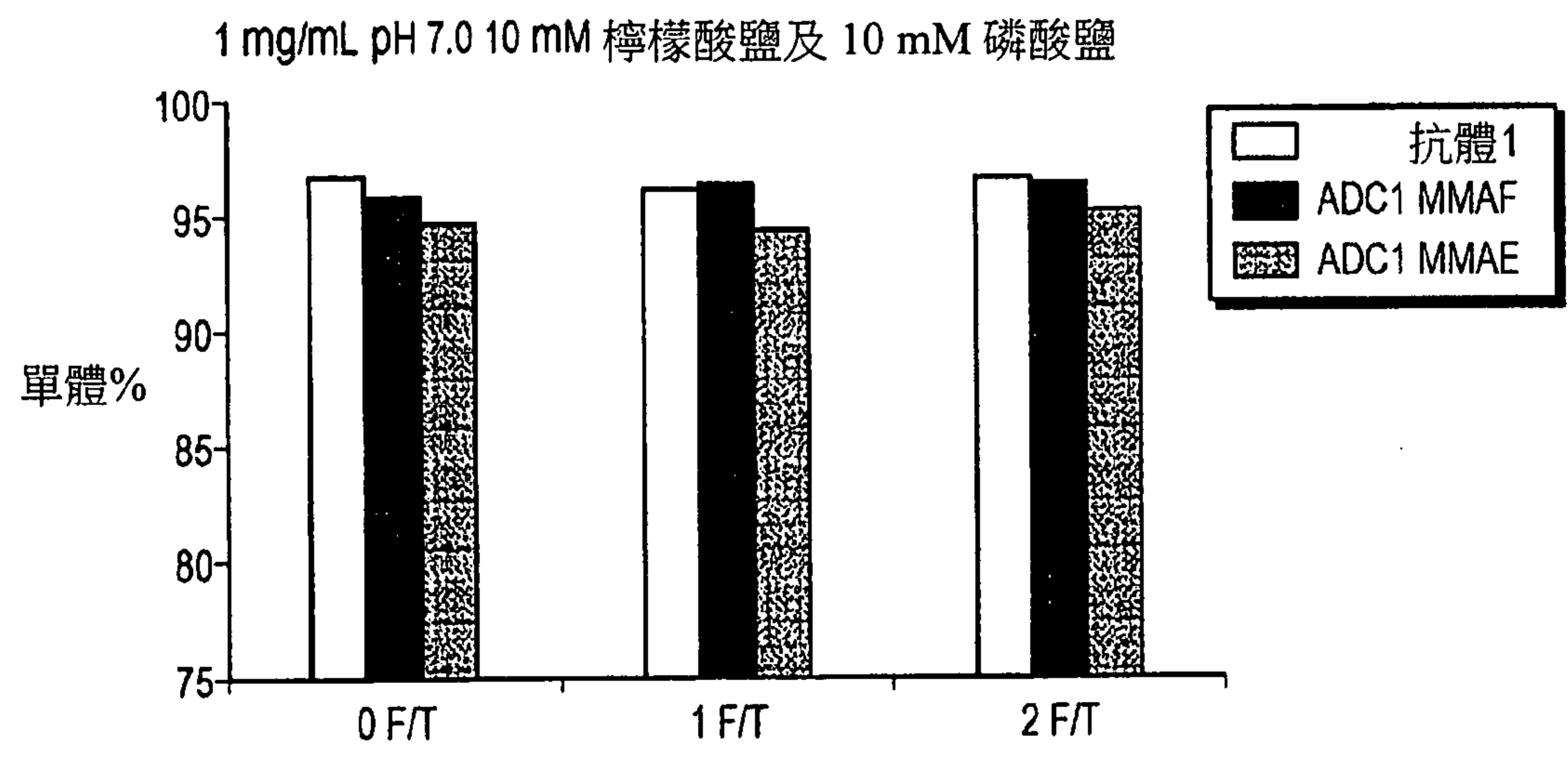


圖 8B

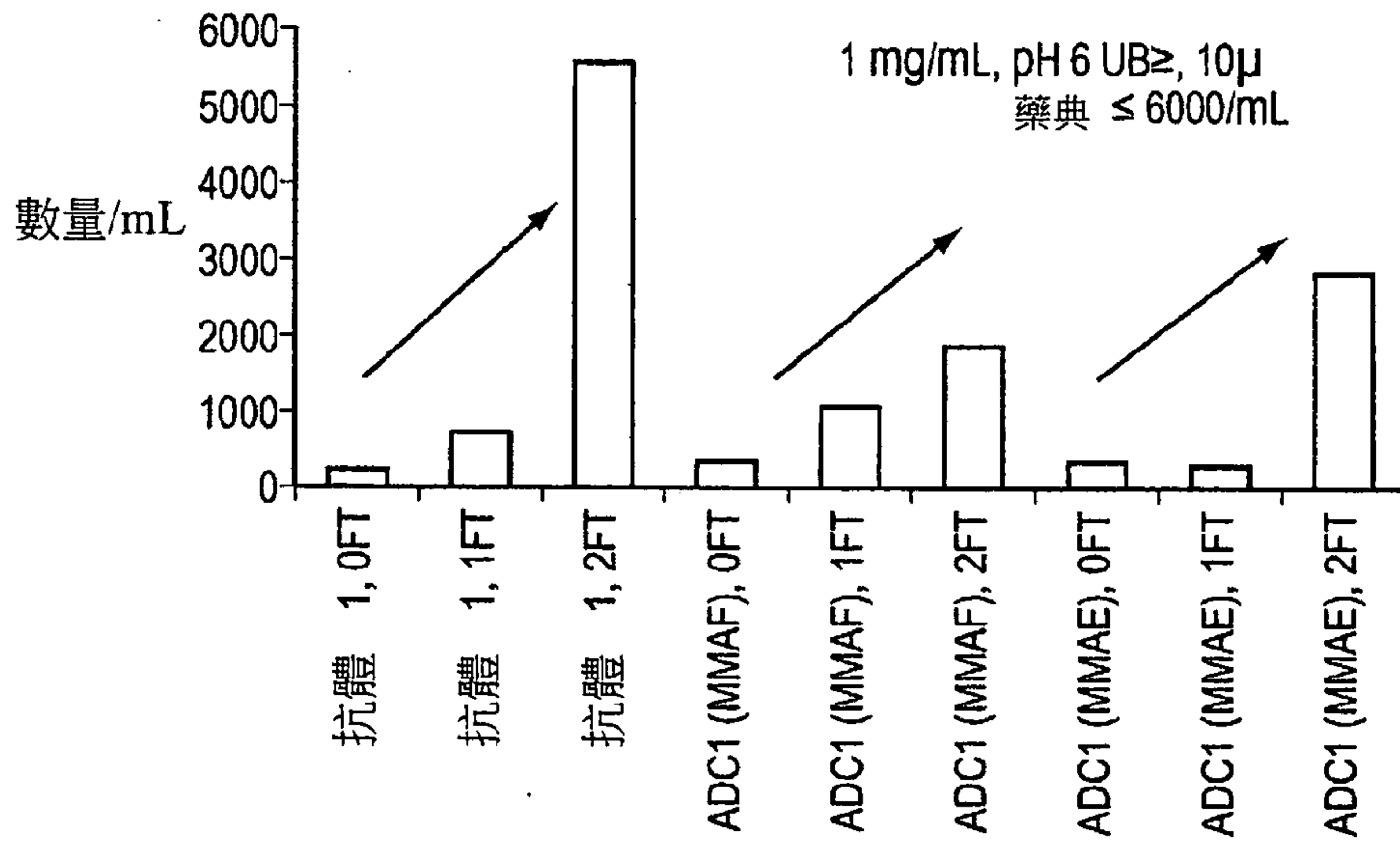


圖 9A

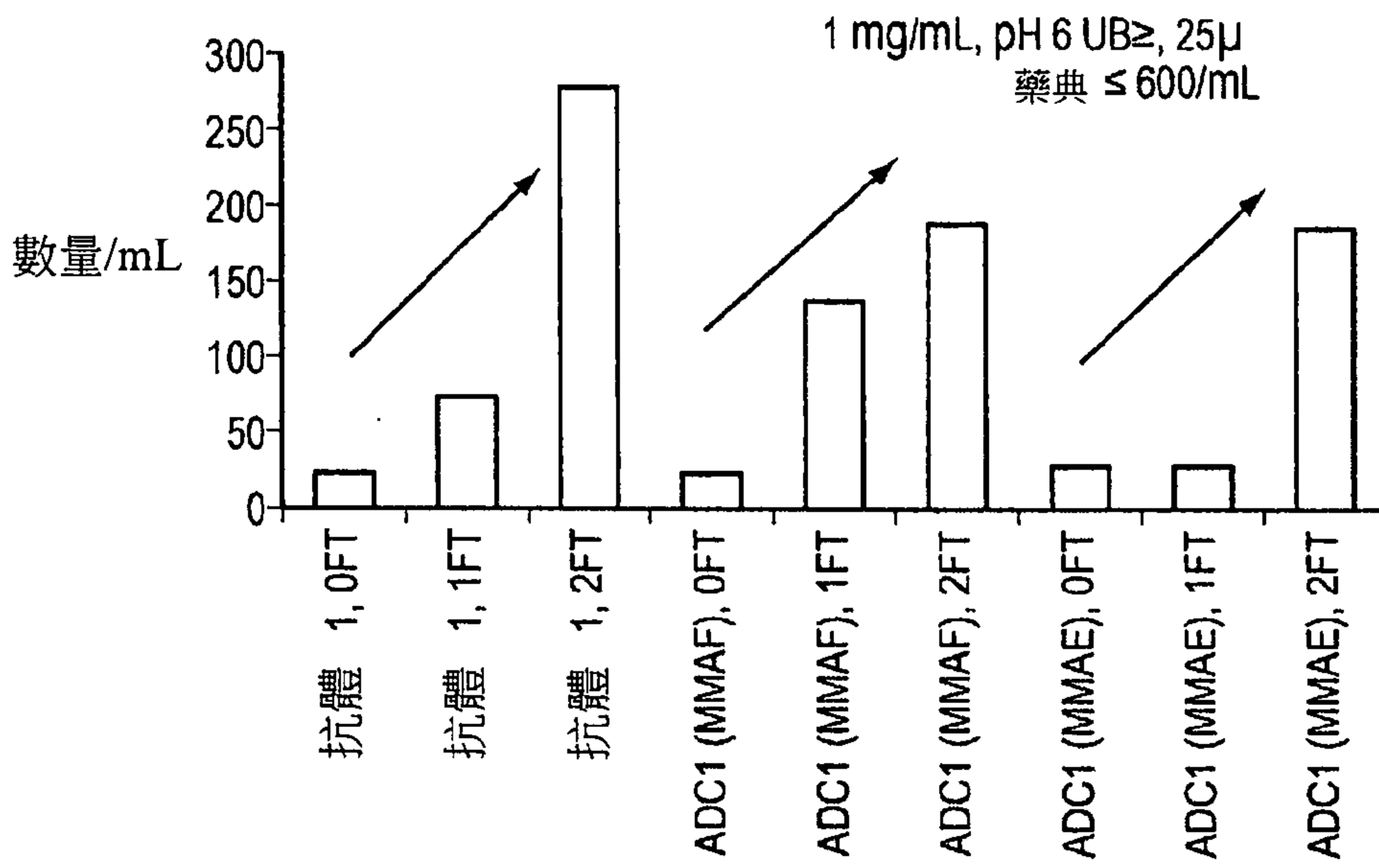


圖 9B