



**(19) 대한민국특허청(KR)**  
**(12) 등록특허공보(B1)**

(45) 공고일자 2021년09월29일  
(11) 등록번호 10-2305226  
(24) 등록일자 2021년09월16일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
A61K 47/48 (2006.01) A61K 31/40 (2006.01)  
A61K 47/26 (2017.01) C07K 16/22 (2006.01)  
(52) CPC특허분류  
A61K 47/6803 (2017.08)  
A61K 31/40 (2013.01)  
(21) 출원번호 10-2015-7029907  
(22) 출원일자(국제) 2014년03월14일  
심사청구일자 2019년03월14일  
(85) 번역문제출일자 2015년10월15일  
(65) 공개번호 10-2015-0131366  
(43) 공개일자 2015년11월24일  
(86) 국제출원번호 PCT/US2014/027868  
(87) 국제공개번호 WO 2014/143765  
국제공개일자 2014년09월18일  
(30) 우선권주장  
61/790,490 2013년03월15일 미국(US)  
(56) 선행기술조사문헌  
WO2011116090 A1  
US20050232929 A1

(73) 특허권자  
아비에 도이치란트 게엠베하 운트 콤파니 카게  
독일 65189 비스바덴 마인처 슈트라쎬 81  
에브비 인코포레이티드  
미국 일리노이주 60064 놀스 시카고 놀스 위키건  
로드 1  
(72) 발명자  
최폐 마르쿠스  
독일 67258 헤쓰하임 리드베그 4  
칼레타 카타리나  
독일 67071 루트비히스하펜 아돌프-디스테르베그  
-슈트라쎬 107  
쿠마 비닛  
미국 코네티컷주 06268 스토티 코트야드 레인 126  
(74) 대리인  
장훈

전체 청구항 수 : 총 30 항

심사관 : 이재정

(54) 발명의 명칭 **항-EGFR 항체 약물 접합체 제형**

**(57) 요약**

본 발명은, 항-EGFR 항체 약물 접합체(ADC), 히스티딘, 당 및 계면활성제를 포함하는 안정한 제형을 제공하고, 상기 항-EGFR ADC는 오리스타틴, 예를 들어, MMAF에 접합된 항-EGFR 항체, 예를 들어, 항체 1을 포함한다.

(52) CPC특허분류

*A61K 47/183* (2013.01)

*A61K 47/26* (2013.01)

*A61K 47/6851* (2017.08)

*C07K 16/22* (2013.01)

---

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

항-상피세포 성장 인자 수용체(EGFR: anti-Epidermal Growth Factor Receptor) 항체 약물 접합체(ADC: antibody drug conjugate), 당, 히스티딘 및 폴리소르베이트를 포함하는 안정한 동결건조 제형으로서, 상기 항-EGFR ADC는 링커를 통해 모노메틸오리스타틴 F (MMAF)에 접합된 항-EGFR 항체를 포함하고,

상기 항체는 서열 번호 15, 16 및 17에 제시된 아미노산 서열들을 포함하는 상보성결정 도메인 영역(CDR)들을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열 번호 20, 21 및 22에 제시된 아미노산 서열들을 포함하는 CDR들을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하고,

상기 당은 만니톨, 소르비톨, 수크로스 및 트레할로스로 이루어진 그룹으로부터 선택되는, 안정한 동결건조 제형.

#### 청구항 2

삭제

#### 청구항 3

제1항에 있어서, 상기 링커는 말레이미도카프로일 링커인, 제형.

#### 청구항 4

삭제

#### 청구항 5

제1항에 있어서, 상기 제형은 재구성시 0.05 내지 0.15mg/ml의 폴리소르베이트를 포함하는, 제형.

#### 청구항 6

제1항에 있어서, 상기 폴리소르베이트는 폴리소르베이트 80인, 제형.

#### 청구항 7

제1항, 제3항, 제5항 및 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제형은 재구성시 상기 항-EGFR ADC를 1 내지 40mg/ml 포함하는, 제형.

#### 청구항 8

제1항, 제3항, 제5항 및 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제형은 재구성시 상기 당을 60 내지 80mg/ml 포함하는, 제형.

#### 청구항 9

삭제

#### 청구항 10

제1항, 제3항, 제5항 및 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 재구성시 5 내지 25mM 히스티딘을 포함하는, 제형.

#### 청구항 11

제1항, 제3항, 제5항 및 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제형은 재구성시 5.5 내지 6.5의 pH를 갖는, 제형.

#### 청구항 12

삭제

**청구항 13**

제1항에 있어서, 상기 당은 수크로스인, 제형.

**청구항 14**

삭제

**청구항 15**

제13항에 있어서, 상기 폴리소르베이트는 폴리소르베이트 80인, 제형.

**청구항 16**

제1항에 있어서, 상기 제형은 재구성되어 1 내지 100mg/ml의 상기 항-EGFR ADC, 1 내지 10mg/ml의 상기 히스티딘, 50 내지 90mg/ml의 상기 당, 및 0.01 내지 0.2mg/ml의 상기 폴리소르베이트를 포함하는, 제형.

**청구항 17**

제16항에 있어서, 상기 당은 수크로스인, 제형.

**청구항 18**

제17항에 있어서, 상기 폴리소르베이트는 폴리소르베이트 80인, 제형.

**청구항 19**

제16항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제형은 재구성시 5.5 내지 6.5의 pH를 갖는, 제형.

**청구항 20**

제1항 또는 제3항에 있어서, 재구성시 상기 항-EGFR ADC를 1 내지 150mg/ml 포함하는, 제형.

**청구항 21**

제20항에 있어서, 재구성시 상기 항-EGFR ADC를 1 내지 40mg/ml 포함하는, 제형.

**청구항 22**

제1항, 제3항, 제5항, 제6항, 제13항 및 제15항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체가 사람화된 것인, 제형.

**청구항 23**

제1항, 제3항, 제5항, 제6항, 제13항 및 제15항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 서열 번호 13에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및 서열 번호 18에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는, 제형.

**청구항 24**

삭제

**청구항 25**

삭제

**청구항 26**

제15항에 있어서, 상기 항-EGFR ADC를 1 내지 120mg 포함하는, 제형.

**청구항 27**

제1항, 제3항, 제5항, 제6항, 제13항 및 제15항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제형은 3의 평균 약물 항체 비(DAR)를 갖는 ADC 혼합물 또는 2 내지 4의 DAR을 갖는 ADC 혼합물을 포함하는, 제형.

**청구항 28**

안정한 동결건조 제형으로서, 상기 제형은

말레이미도카프로일 링커를 사용하여 모노메틸오리스타틴 F(MMAF)에 접합된 항-EGFR 항체를 포함하는 항-EGFR ADC로서, 여기서, 상기 항-EGFR 항체는 서열 번호 15, 16 및 17에 제시된 아미노산 서열들을 포함하는 상보성결정 도메인 영역(CDR)들을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열 번호 20, 21 및 22에 제시된 아미노산 서열들을 포함하는 CDR들을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는, 항-EGFR ADC,

수크로스,

히스티딘, 및

폴리소르베이트 80

을 포함하고,

상기 제형은 3의 평균 DAR을 갖는 ADC 혼합물 또는 2 내지 4의 DAR을 갖는 ADC 혼합물을 포함하는, 안정한 동결건조 제형.

**청구항 29**

삭제

**청구항 30**

제28항에 있어서, 상기 항-EGFR 항체는 서열 번호 13에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및 서열 번호 18에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는, 제형.

**청구항 31**

제1항, 제3항, 제5항, 제6항, 제13항, 제15항 내지 제18항, 제26항, 제28항 및 제30항 중 어느 한 항에 있어서, 약제학적 제형인, 제형.

**청구항 32**

제1항 또는 제3항의 제형의 제조 방법으로서, 5 내지 7 범위의 pH를 갖고, 1 내지 20mg의 히스티딘, 320 내지 410mg의 당, 0.1 내지 0.9mg의 폴리소르베이트, 및 1 내지 150mg의 항-EGFR ADC를 포함하는 수성 제형을 동결건조시키는 단계를 포함하는, 방법.

**청구항 33**

제1항, 제3항, 제5항, 제6항, 제13항, 제15항 내지 제18항, 제26항, 제28항 및 제30항 중 어느 한 항에 있어서, 암을 치료하기 위한 제형.

**청구항 34**

삭제

**청구항 35**

삭제

**청구항 36**

제33항에 있어서, 상기 암은 편평상피 종양(squamous tumor), 교아종, 신경교종, 비-소세포 폐암(NSCLC), 폐암, 결장암, 두경부암, 유방암, 항문암, 피부암 및 외음부암으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는, 제형.

**청구항 37**

제36항에 있어서, 상기 편평상피 종양은 편평상피 폐 종양, 두경부의 편평상피 종양, 및 편평상피 자궁 종양으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는, 제형.

**청구항 38**

제33항에 있어서, 상기 암은 EGFR의 과발현을 갖는 고형 종양인, 제형.

**청구항 39**

제33항에 있어서, 상기 제형은 정맥내 투여용인, 제형.

**청구항 40**

제1항, 제3항, 제5항, 제6항, 제13항, 제15항 내지 제18항, 제26항, 제28항 및 제30항 중 어느 한 항의 제형을 포함하는 키트.

**발명의 설명**

**기술 분야**

**관련 출원**

[0001]

본 출원은 2013년 3월 15일자로 출원된 미국 가출원 제61/790,490호의 이익을 주장한다. 상기 언급된 우선권 서류의 내용은 이에 의해 이의 전문이 인용에 의해 포함된다.

[0002]

**배경 기술**

**도입**

[0003]

사람 상피세포 성장 인자 수용체(HER-1 또는 Erb-B1로도 공지되어 있고, 본원에서는 "EGFR"이라 지칭함)는 c-erbB 원발암 유전자에 의해 암호화되는 170kDa 막관통 수용체이며, 내인성 티로신 키나제 활성을 나타낸다(문헌 [Modjtahedi et al., Br. J. Cancer 73:228-235 (1996); Herbst and Shin, Cancer 94:1593-1611 (2002)]). 스위스프로트(SwissProt) 데이터베이스 항목 P00533은 EGFR의 서열을 제공한다. EGFR은 티로신-키나제 매개된 신호 전달 경로를 통해 다수의 세포 프로세스들을 조절하며, 이는 세포 증식, 분화, 세포 생존, 아포토시스, 혈관형성, 유사분열 및 전이를 제어하는 신호 전달 경로의 활성화를 비제한적으로 포함한다(문헌[Atalay et al., Ann. Oncology 14:1346-1363 (2003); Tsao and Herbst, Signal 4:4-9 (2003); Herbst and Shin, Cancer 94:1593-1611 (2002); Modjtahedi et al., Br. J. Cancer 73:228-235 (1996)]).

[0004]

EGFR의 과발현이 방광암, 뇌암, 두경부암, 췌장암, 폐암, 유방암, 난소암, 결장암, 전립선암 및 신장암을 포함하여 다수의 사람 악성 병태에서 보고되었다(문헌[Atalay et al., Ann. Oncology 14:1346-1363 (2003); Herbst and Shin, Cancer 94:1593-1611 (2002) Modjtahedi et al., Br. J. Cancer 73:228-235 (1996)]). 이들 병태들 다수에서, EGFR의 과발현은 환자의 불량한 예후와 상관되거나 관련이 있다(문헌[Herbst and Shin, Cancer 94:1593-1611 (2002) Modjtahedi et al., Br. J. Cancer 73:228-235 (1996)]). EGFR은 또한, 악성 세포에서 보다 일반적으로 더 적은 수준이긴 해도, 정상 조직, 특히 피부, 간 및 위장관 상피 조직의 세포에서도 발현된다(문헌[Herbst and Shin, Cancer 94:1593-1611 (2002)]).

[0005]

EGFR 유전자의 증폭(즉, EGFR 유전자의 복수의 카피)을 함유하는 상당수의 종양은 또한, de2-7 EGFR, ΔEGFR 또는 Δ2-7(이들 용어들은 본원에서 상호교환되어 사용됨)(문헌[Olapade-Olaopa et al. (2000) Br. J. Cancer. 82, 186-94])로서 공지된 절단된 형태의 수용체(문헌[Wikstrand et al. (1998) J. Neurovirol. 4, 148-158])를 동시-발현한다. de2-7 EGFR에서 나타난 재배열은 엑손 2 내지 7에 걸치는 801개의 뉴클레오티드가 결손된 인-프레임(in-frame) 성숙 mRNA를 초래한다(문헌[Wong et al. (1992) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 89, 2965-9; Yamazaki et al. (1990) Jpn. J. Cancer Res. 81, 773-9; Yamazaki et al. (1988) Mol. Cell. Biol. 8, 1816-20; Sugawa et al. (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 87, 8602-6]). 상응하는 EGFR 단백질은 세포의 도메인의 잔기 6 내지 273을 포함하는 267 아미노산 결실, 및 융합 연결부에서의 새로운 글리신 잔기를 갖는다(문헌[Sugawa et al., 1990]). 이러한 결실은 글리신 잔기의 삽입과 함께 결실 계면에서의 독특한 연결 펩티드를 생성한다(문헌[Sugawa et al., 1990]).

[0006]

de2-7 EGFR은 신경교종, 유방 종양, 폐 종양, 난소 종양 및 전립선 종양을 포함하는 다수의 종양 타입들에서 보

[0007]

고되었다(문헌[Wikstrand et al. (1997) Cancer Res. 57, 4130-40; Olapade-Olaopa et al. (2000) Br. J. Cancer. 82, 186-94; Wikstrand, et al. (1995) Cancer Res. 55, 3140-8; Garcia de Palazzo et al. (1993) Cancer Res. 53, 3217-20]). 이러한 절단형 수용체는 리간드에 결합하지는 않지만, 이는 낮은 구성적 활성을 보유하고, 누드 마우스에서 종양 이종이식물로서 성장하는 신경교종 세포에 현저한 성장 효과를 부여하며(문헌[Nishikawa et al. (1994) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 91, 7727-31]), NIH3T3 세포(문헌[Batra et al. (1995) Cell Growth Differ. 6, 1251-9]) 및 MCF-7 세포를 형질전환시킬 수 있다. 신경교종 세포 내에서 de2-7 EGFR에 의해 이용되는 세포 메커니즘은 충분히 규명되지 않았지만, 아포토시스의 감소(문헌[Nagane et al. (1996) Cancer Res. 56, 5079-86]) 및 약간의 증식 증진(문헌[Nagane et al., 1996])을 포함하는 것으로 보고된다.

[0008] 이러한 절단형 수용체의 발현은 종양 세포에 국한되기 때문에, 이는 항체 치료요법을 위한 매우 특이적인 표적을 나타낸다. 따라서, 당해 기술분야에서는 효과적인 치료를 필요로 하는 환자에게 이러한 효과적인 치료를 제공할 수 있는 항-EGFR 항체 및 제형에 대한 필요성이 존재한다.

[0009] 항체 약물 접합체(ADC)는 화학적 링커(linker)를 통해 세포독성 약물에 접합된 항체를 포함하는 신규한 부류의 치료제를 나타낸다. 트라스투주맵(DM1에 연결된 헤르셉틴(항-HER2 항체); 제넨테크(Genentech)/로체(Roche)) 및 글렘바투주맵 베도틴(CDX-011; MMAE에 연결된 항-GPNMB 항체; 셀덱스 테라퓨틱스(Celldex Therapeutics))을 포함하여 다수의 ADC가 현재 임상 시험 중에 있다. ADC의 치료학적 개념은 항체를 비히클로서 사용하여 표적 표면 항원에의 결합에 의해 종양 세포에 세포독성 약물을 전달하는 것이다. ADC는 비접합 항체보다 더 복잡하고 불균일한 구조를 갖는다. 따라서, ADC는 치료 목적을 위한 제형화에 대해 도전과제를 제시한다.

### 발명의 내용

[0010] 발명의 요약

[0011] 본 발명은, 항체-약물 접합체(ADC)를 포함하는 제형, 및 항-상피세포 성장 인자 수용체(항-EGFR) ADC를 사용하는 치료를 필요로 하는 장애, 예를 들어, 암을 치료하기 위한 상기 접합체의 사용 방법을 제공한다.

[0012] 본 발명은, 항-상피세포 성장 인자 수용체(EGFR) 항체 약물 접합체(ADC), 당, 히스티딘 및 계면활성제를 포함하는 제형을 제공하고, 여기서, 상기 제형은 약 5 내지 7의 pH를 갖고, 상기 항-EGFR ADC는 오리스타틴에 접합된 항-EGFR 항체 또는 이의 항원-결합부를 포함한다.

[0013] 본 발명은, 항-상피세포 성장 인자 수용체(EGFR) 항체 약물 접합체(ADC), 당, 석신산염 또는 시트르산염 및/또는 인산염 완충액 및 계면활성제를 포함하는 제형을 제공하고, 여기서, 상기 제형은 약 5 내지 7의 pH를 갖고, 상기 항-EGFR ADC는 오리스타틴에 접합된 항-EGFR 항체 또는 이의 항원-결합부를 포함한다. 하나의 양태에서, 제형은 동결건조된다.

[0014] 하나의 양태에서, 제형은 폴리소르베이트, 예를 들어, 폴리소르베이트 80, 또는 폴록사머인 계면활성제를 포함한다. 하나의 양태에서, 제형은 0.05 내지 0.15mg/ml의 폴리소르베이트를 포함한다.

[0015] 또 다른 양태에서, 제형은 약 60 내지 80mg/ml의 당을 포함한다. 하나의 양태에서, 당은 만니톨, 소르비톨, 수크로스 및 트레할로스로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.

[0016] 하나의 양태에서, 본 발명의 제형은 약 5 내지 25mM 히스티딘을 포함한다.

[0017] 또 다른 추가의 양태에서, 제형은 동결건조된다. 하나의 양태에서, 제형은 동결건조되고, 당은 수크로스이다. 본 발명의 또 다른 양태에서, 동결건조된 제형은 락토비온산을 포함하지 않는다. 본 발명의 또 다른 양태에서, 동결건조된 제형은 당 산(sugar acid)을 포함하지 않는다.

[0018] 하나의 양태에서, 본 발명의 제형은 수성이고, 약 1 내지 40mg/ml의 항-EGFR ADC를 포함한다.

[0019] 추가의 양태에서, 본 발명의 제형은 1 내지 150mg의 항-EGFR ADC를 포함한다. 하나의 양태에서, 본 발명의 제형은 90 내지 110mg의 항-EGFR ADC를 포함한다.

[0020] 하나의 양태에서, 본 발명의 제형은 약 5 내지 7의 pH를 갖는다. 추가의 양태에서, 제형은 약 5.5 내지 6.5의 pH를 갖는다.

[0021] 하나의 양태에서, 오리스타틴은 모노메틸오리스타틴 F(MMAF)이다. 하나의 양태에서, 본 발명의 제형은 모노메틸오리스타틴 F(MMAF)에 접합된 항-EGFR 항체 또는 이의 항원-결합부를 포함하는 항-EGFR ADC를 포함한다. 또

다른 양태에서, MMAF는 말레이미도카프로일 링커에 의해 항체에 접합된다.

- [0022] 본 발명은 추가로, 오리스타틴에 접합된 항-EGFR 항체 또는 이의 항원-결합부를 포함하는 항-상피세포 성장 인자 수용체(EGFR) 항체 약물 접합체(ADC), 당, 예를 들어, 수크로스, 계면활성제, 예를 들어, 폴리소르베이트, 예컨대 폴리소르베이트 80, 및 히스티딘을 포함하는 동결건조된 제형을 제공한다. 하나의 양태에서, 동결건조된 제형은 1 내지 20mg의 히스티딘, 약 320 내지 410mg의 당, 약 0.1 내지 0.9mg의 계면활성제, 및 약 1 내지 150mg의 항-EGFR ADC를 포함한다.
- [0023] 본 발명은 또한, 오리스타틴에 접합된 항-EGFR 항체 또는 이의 항원-결합부를 포함하는 약 1 내지 100mg/ml의 항-상피세포 성장 인자 수용체(EGFR) 항체 약물 접합체(ADC), 약 1 내지 10mg/ml의 히스티딘, 약 50 내지 90mg/ml의 당, 예를 들어, 수크로스, 및 약 0.01 내지 0.2mg/ml의 계면활성제, 예를 들어, 폴리소르베이트 80을 포함하는 수성 제형을 제공한다.
- [0024] 하나의 양태에서, 본 발명의 제형은 항-EGFR ADC를 포함하고, 여기서, 상기 항-EGFR 항체는 사라화된다.
- [0025] 또 다른 양태에서, 본 발명의 제형은 항-EGFR ADC를 포함하고, 여기서, 상기 항-EGFR 항체는 서열 번호 13에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및 서열 번호 18에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.
- [0026] 또 다른 양태에서, 본 발명의 제형은 항-EGFR ADC를 포함하고, 여기서, 상기 항-EGFR 항체는 서열 번호 13에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역, 서열 번호 14에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 불변 영역, 서열 번호 18에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역, 및 서열 번호 19에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 불변 영역을 포함한다.
- [0027] 추가의 양태에서, 본 발명의 제형은 항-EGFR ADC를 포함하고, 여기서, 상기 항체는 서열 번호 15, 16 및 17에 제시된 아미노산 서열들을 포함하는 상보성결정 도메인 영역(CDR)들을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함하고, 서열 번호 20, 21 및 22에 제시된 아미노산 서열들을 포함하는 CDR들을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.
- [0028] 본 발명의 또 다른 양태에서, 항-EGFR ADC는 서열 번호 18의 아미노산 서열에 제시된 경쇄 가변 영역에 기재된 CDR들(즉, 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3), 및 서열 번호 13의 아미노산 서열에 기재된 CDR들(즉, 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3)을 포함한다.
- [0029] 본 발명은 추가로, 수크로스, 폴리소르베이트 80 및 히스티딘을 포함하는 동결건조된 제형을 제공하고, 여기서, 항체는 서열 번호 15, 16 및 17에 제시된 아미노산 서열들을 포함하는 상보성결정 도메인 영역(CDR)들을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함하고, 서열 번호 20, 21 및 22에 제시된 아미노산 서열들을 포함하는 CDR들을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 하나의 양태에서, 제형은 1 내지 110mg의 항-EGFR ADC를 포함한다.
- [0030] 하나의 양태에서, 본 발명의 제형은 약 3의 평균 DAR을 갖는 항-EGFR ADC를 포함하는 ADC 혼합물 또는 약 2 내지 4의 DAR을 갖는 항-EGFR ADC를 포함하는 ADC 혼합물을 함유한다.
- [0031] 하나의 양태에서, 본 발명의 제형은 모노메틸 오리스타틴 F(MMAF)에 접합된 항-EGFR 항체 또는 이의 항원-결합부를 포함하는 항-EGFR ADC(여기서, 상기 ADC 1-MMAF는 서열 번호 15, 16 및 17에 제시된 아미노산 서열들을 포함하는 상보성결정 도메인 영역(CDR)들을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함하고, 서열 번호 20, 21 및 22에 제시된 아미노산 서열들을 포함하는 CDR들을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함함), 수크로스, 히스티딘 및 폴리소르베이트 80을 포함하고, 상기 제형은 약 3의 평균 DAR을 갖는 ADC 혼합물 또는 약 2 내지 4의 DAR을 갖는 ADC 혼합물을 포함한다. 본 발명의 추가의 양태에서, 제형은 동결건조된다. 다른 추가의 양태에서, 항-EGFR 항체는 말레이미도카프로일 링커를 통해 MMAF에 연결된다. 또 다른 추가의 양태에서, 항-EGFR 항체 또는 이의 항원-결합부는 서열 번호 13에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및 서열 번호 18에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.
- [0032] 하나의 양태에서, 본 발명의 제형은 모노메틸 오리스타틴 E(MMAE)에 접합된 항-EGFR 항체 또는 이의 항원-결합부를 포함하는 항-EGFR ADC(여기서, 상기 ADC 1-MMAE는 서열 번호 15, 16 및 17에 제시된 아미노산 서열들을 포함하는 상보성결정 도메인 영역(CDR)들을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함하고, 서열 번호 20, 21 및 22에 제시된 아미노산 서열들을 포함하는 CDR들을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함함), 수크로스, 히스티딘 및 폴리소르베이트 80을 포함하고, 상기 제형은 약 3의 평균 DAR을 갖는 ADC 혼합물 또는 약 2 내지 4의 DAR을 갖는 ADC 혼합물을 포함한다. 본 발명의 추가의 양태에서, 제형은 동결건조된다. 또 다른 추가의 양태에서, 항-EGFR 항체 또는 이의 항원-결합부는 서열 번호 13에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및 서열 번호 18에



제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.

- [0033] 하나의 양태에서, 본 발명의 제형은 약제학적 제형이다.
- [0034] 본 발명은 또한 제형의 제조 방법을 특징으로 하고, 상기 방법은, 약 5 내지 7 범위의 pH를 갖고, 1 내지 20mg의 히스티딘, 약 320 내지 410mg의 당, 약 0.1 내지 0.9mg의 계면활성제, 및 약 1 내지 150mg의 항-EGFR ADC를 포함하는 수성 제형을 동결건조시킴을 포함한다.
- [0035] 본 발명은 추가로, 본원에 기재된 제형 중의 항-EGFR ADC의 치료적 유효량을 대상체에게 투여함을 포함하는 대상체의 치료 방법을 제공하며, 여기서, 상기 대상체는 항-EGFR ADC를 사용하는 치료를 필요로 하는 장애를 갖는다. 하나의 양태에서, 항-EGFR ADC를 사용하는 치료를 필요로 하는 장애는 암, 예를 들어, 교아종, 비-소세포 폐암, 폐암, 결장암, 두경부암, 유방암, 편평상피 세포 종양, 항문암, 피부암 및 외음부암이다.
- [0036] 하나의 양태에서, 본 발명의 제형은 상피세포 성장 인자 수용체(EGFR) 과발현의 가능성이 있는 고형 종양 또는 편평상피 비-소세포 폐암(NSCLC)의 치료에 사용된다.
- [0037] 하나의 양태에서, 본 발명의 제형은 편평상피 종양(폐, 두경부, 자궁 등의 편평상피 종양을 포함함), 교아종, 신경교종, 비-소세포 폐암, 폐암, 결장암, 두경부암, 유방암, 편평상피 세포 종양, 항문암, 피부암 및 외음부암으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 암의 치료에 사용된다.
- [0038] 하나의 양태에서, 본 발명의 제형은 다형 교아종의 치료에 사용된다.
- [0039] 하나의 양태에서, 본 발명의 제형은 EGFR의 과발현을 갖는 고형 종양의 치료에 사용된다. 하나의 양태에서, 본 발명의 제형은 EGFR 과발현의 가능성이 있는 진행된 고형 종양을 갖는 대상체를 치료하는 데 사용된다.
- [0040] 하나의 양태에서, 본 발명의 제형은 정맥내로 투여된다.
- [0041] 본 발명은 또한 본원에 기재된 제형을 포함하는 키트를 제공한다.

**도면의 간단한 설명**

- [0042] 도 1은 링커에 의해 관심 항체(mAb)에 커플링된 MMAE의 구조를 나타내는 다이어그램이다(GN 링커 + 오리스타틴: vcMMAE).
- 도 2는 링커에 의해 관심 항체(mAb)에 커플링된 MMAF의 구조를 나타내는 다이어그램이다(링커 + 오리스타틴: mcMMAF).
- 도 3a 및 3b는 동적 주사 형광(3a) 및 시차 주사 열량계(3b)로 측정된 언폴딩(unfolding) 개시 온도를 그래프로 나타낸 것이다. ◆ 항체 1; ■ 항체 약물 접합체(ADC) 1-MMAF; ▲ ADC 1-MMAE.
- 도 4a 및 4b는 푸리에 변환 적외선 분광학(FTIR)(4a) 및 근 UV-원편광 이색성 분광법(CD)(4b)을 사용하여 항체 1, ADC 1-MMAF 및 ADC 1-MMAE의 구조화되지 않은 요소들의 존재를 그래프로 나타낸 것이다. ◆ 항체 1; ■ ADC 1-MMAF; ▲ ADC 1-MMAE.
- 도 5는 저농도에서의 ADC 1-MMAE의 응집 경향을 ADC 1-MMAF 및 항체 1과 비교하여 그래프로 나타낸 것이다.
- 도 6은 고농도에서의 ADC 1-MMAE의 응집 경향을 ADC 1-MMAF 및 항체 1과 비교하여 그래프로 나타낸 것이다.
- 도 7은 혈청 안정성 검정의 개략도를 나타내며, 항체 1, ADC 1-MMAF 및 ADC 1-MMAE를 포함하여 많은 분자들의 시험관내 혈청 안정성을 보여준다.
- 도 8a 및 8b는 동결/융해 안정성을 그래프로 나타낸 것으로, 이는 pH 5.75의 15mM 히스티딘 완충액(8a) 중의, 그리고 1mg/ml pH 7.0 10mM 시트르산염 및 10mM 인산염 완충액 중의, 항체 1, ADC 1-MMAF 및 ADC 1-MMAE 제형에 대해 SEC에 의해 측정된, 존재하는 단량체의 백분율에 의해 표시된다.
- 도 9a 및 9b는 동결-융해 동안 육안으로 보이지 않는(subvisible) 입자 형성을 정량화하는 그래프이며, 이는 미세유동 이미징(MFI: microflow imaging)에 의해 측정된 바와 같다.

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

[0043] 상세한 설명

[0044] I. 정의

- [0045] 본 발명을 더 쉽게 이해할 수 있도록 하기 위해, 특정 용어를 우선 정의한다. 또한, 파라미터의 수치 또는 수치 범위가 언급되는 모든 경우, 언급된 수치들의 중간 수치 및 범위도 본 발명의 일부인 것으로 의도됨을 주지해야 한다.
- [0046] 본원에서 상호교환되어 사용되는 용어 "항-상피세포 성장 인자 항체 약물 접합체" 또는 "항-EGFR 항체 약물 접합체" 및 "항-EGFR ADC"는 EGFR에 특이적으로 결합하는 항체를 포함하는 항체-약물 접합체를 나타내며, 이에 의해 항체가 약물, 예를 들어, 세포독성제, 예컨대 오리스타틴(예를 들어, 모노메틸 오리스타틴 F)에 접합된다. 하나의 양태에서, 항-EGFR 항체 약물 접합체는 말레이미도카프로일(mc) 연결기를 통해 MMAF에 접합된 항체 1인 ADC 1-MMAF이다. 항체 1의 경쇄 및 중쇄에 상응하는 아미노산 서열이 서열 번호 13 내지 22에 제공된다. 별도로 명시되지 않는 한, 본원에서 사용된 용어 "ADC1-MMAF"는 정제된 ADC1-MMAF(ADC1-MMAFp라고도 지칭됨)를 포함한다.
- [0047] 본원에서 사용된 용어 "오리스타틴"은 항유사분열제의 하나의 부류를 나타낸다. 오리스타틴 유도체도 용어 "오리스타틴"의 정의 내에 포함된다. 오리스타틴의 예에는 오리스타틴 E(AE), 모노메틸 오리스타틴 E(MMAE), 모노메틸 오리스타틴 F(MMAF) 및 돌라스타틴의 합성 유사체가 포함되지만, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0048] 용어 "항-EGFR 항체"는 EGFR에 특이적으로 결합하는 항체를 나타내도록 의도된다. 관심 항원, 즉 EGFR에 "결합하는" 항체는 충분한 친화도로 해당 항원에 결합할 수 있는 항체여서, 상기 항체는 항원 발현 세포를 표적화하는 데 유용하다.
- [0049] 본원에서 사용된 용어 "ADC 혼합물"은 불균일한 DAR 분포의 ADC들을 함유하는 조성물을 나타낸다. 하나의 양태에서, ADC 혼합물은 1 내지 8, 예를 들어, 2, 4, 6 및 8의 DAR 분포(즉, 2, 4, 6 및 8의 약물 부하된 종(drug loaded species))를 갖는 항-EGFR ADC들을 함유한다. 또 다른 양태에서, ADC 혼합물은 4 미만의 DAR, 예를 들어, 2 내지 4의 DAR을 갖는 항-EGFR ADC들을 함유한다. 명백하게는, 분해 생성물들이 생성될 수 있어, 1, 3, 5 및 7의 DAR도 혼합물 중에 포함될 수 있다. 또한, 혼합물 내의 ADC들은 8을 초과하는 DAR을 가질 수도 있다. ADC 혼합물은 쇠간(interchain) 이황화물 환원에 이어지는 접합에 기인한다.
- [0050] 본원에서 사용된 용어 "ADC1-MMAFp"는 ADC의 DAR이 원하는 범위(예를 들어, 2 내지 4의 DAR) 내에 있도록 또는 ADC가 원하는 평균(예를 들어, 평균 DAR 3)을 갖는 ADC 혼합물 내에 포함되도록 정제된 ADC 혼합물 내에서 발견되는 ADC1-MMAF 분자를 나타낸다.
- [0051] 본원에서 사용된 용어 "제형"은 수성 제형 또는 동결건조된 제형을 나타내도록 의도된다. 하나의 양태에서, 본 발명의 제형은 동결건조된다. 하나의 양태에서, 본 발명의 제형은 수성이다. 하나의 양태에서, 본 발명의 제형은 킬레이터를 포함하지 않는다. 하나의 양태에서, 본 발명의 동결건조된 제형은 킬레이터를 포함하지 않는다.
- [0052] 용어 "수성 제형"은 용매가 물인 용액을 나타낸다. 하나의 양태에서, 용어 "수성 제형"은 용매가 물인 액체 제형을 나타내며, 여기서, 상기 제형은 사전에 동결건조되지 않았다(즉, 동결건조된 제형의 재구성에 기인하지 않는다). 또 다른 양태에서, 용어 "수성 제형"은 용매가 물인 액체 제형을 나타내며, 여기서, 상기 제형은 사전에 동결건조되었다(즉, 재구성된 제형이다).
- [0053] 본 발명에 따른 제형과 관련하여 본원에서 사용된 용어 "동결건조된"이란, 당해 기술분야에 공지된 임의의 동결-건조 방법, 예를 들어, 시판의 동결-건조 장치에 의해 제형을 동결시키고 후속적으로 상기 동결된 내용물로부터 얼음을 승화시킴으로써 건조되는 제형을 의미한다.
- [0054] "재구성된" 제형은 단백질, 예를 들어, ADC를 함유하는 동결건조된 제형을 희석액에 용해시켜서, 재구성된 제형 내에 단백질이 분산되도록 함으로써 제조되는 제형이다. 재구성된 제형은 관심 단백질(예를 들어, 항-EGFR 항체 약물 접합체)로 치료될 대상체에 투여(예를 들어, 정맥내 투여)되기에 적합하다.
- [0055] 본원에서 관심 "희석액"은 약제학적으로 허용되고(사람에의 투여에 안전하고 비독성이며) 액체 제형, 예를 들어, 동결건조 후 재구성되는 제형의 제조에 유용한 것이다. 예시적인 희석액에는 멸균수, 주사용 정균수(BWFI), pH 완충 용액(예를 들어, 인산염-완충 염수), 멸균 염수 용액, 링거 용액 또는 텍스트로스 용액이 포함된다. 대안적인 양태에서, 희석액은 염의 수용액 및/또는 완충액을 포함할 수 있다.
- [0056] 용어 "완충액"은 용액 중에 있을 때 이의 산-염기 접합체 성분들의 작용에 의해 pH 변화에 저항하는 화합물을 나타낸다. 하나의 양태에서, 본 발명에서 사용되는 완충액은 약 4.5 내지 약 7.5 범위의 pH를 갖는다. pH를 상기 범위 내로 조절하는 완충액의 예에는 아세트산염(예를 들어, 아세트산나트륨), 석신산염(예를 들어, 석신

산나트륨), 글루콘산염, 메티오닌, 이미다졸, 히스티딘, 글리신, 아르기닌, 시트르산염, 인산염, 시트르산염 및 인산염, 트리스(Tris) 및 다른 유기 산 완충액이 포함된다. 하나의 양태에서, 제형에 사용되는 완충액은 히스티딘, 석신산염, 또는 시트르산염 또는 인산염 완충액을 포함한다. 본 발명의 하나의 양태에서, 제형은 히스티딘을 포함하는 완충액 약 1 내지 10mg/ml를 포함한다. 본 발명의 또 다른 양태에서, 제형은 히스티딘을 포함하는 완충액 1 내지 20mg을 포함한다.

[0057] 본원에서 사용된 용어 "당"은 모노사카라이드 또는 올리고사카라이드를 의미한다. 모노사카라이드는 산에 의해 가수분해될 수 없는 단량체성 탄수화물이며, 단당류 및 이들의 유도체, 예를 들어, 아미노당류를 포함한다. 모노사카라이드의 예에는 글루코스, 프룩토스, 갈락토스, 만노스, 소르보스, 리보스, 데옥시리보스, 뉴라민산이 포함되지만, 이에 제한되는 것은 아니다. 올리고사카라이드는 분지된 또는 쇠내 글리코시드 결합(들)을 통해 연결된 2개 이상의 단량체성 사카라이드 단위로 이루어진 탄수화물이다. 올리고사카라이드 내의 단량체성 사카라이드 단위들은 동일하거나 상이할 수 있다. 단량체성 사카라이드 단위의 개수에 따라 올리고사카라이드는 디사카라이드, 트리스카라이드, 테트라사카라이드, 펜타사카라이드 등이 된다. 올리고사카라이드의 예에는 말토스, 수크로스, 락토스, 멜레지토스, 트레할로스, 소르보스 및 라피노스가 포함되지만, 이에 제한되는 것은 아니다. 폴리사카라이드와 달리, 모노사카라이드 및 올리고사카라이드는 수용성이다. 당류의 예에는 환원 당, 비환원 당, 당 알코올 및 당 산이 포함되지만, 이에 제한되는 것은 아니다. "환원 당"은 유리 알데하이드 또는 케톤 그룹을 함유하며 금속 이온을 환원시킬 수 있거나 리신 및 단백질내 다른 아미노산 그룹과 공유적으로 반응할 수 있는 당이다. "비환원 당"은 유리 알데하이드 또는 케톤성 그룹이 결여되어 있고 온화한 산화제, 예를 들어, 펠링(Fehling) 용액 또는 베네딕트(Benedict) 용액에 의해 산화되지 않는 당이다. 환원 당의 예는 프룩토스, 만노스, 말토스, 락토스, 아라비노스, 크실로스, 리보스, 람노스, 갈락토스 및 글루코스이다. 비환원 당에는 수크로스, 트레할로스, 소르보스, 멜레지토스 및 라피노스가 포함된다. 만니톨, 크실리톨, 에리트리톨, 트라이톨, 소르비톨 및 글리세롤은 당 알코올의 예이다. 본 발명의 하나의 양태에서, 당은 만니톨, 소르비톨, 수크로스 또는 트레할로스이다. 본 발명의 또 다른 양태에서, 제형은 약 50 내지 90mg/ml의 당, 예를 들어, 수크로스를 포함한다. 본 발명의 또 다른 추가의 양태에서, 제형은 약 60 내지 80mg/ml의 당, 예를 들어, 수크로스를 포함한다. 본 발명의 또 다른 추가의 양태에서, 제형은 약 70mg/ml의 당, 예를 들어, 수크로스를 포함한다. 본 발명의 또 하나의 다른 추가 양태에서, 동결건조된 제형은 약 320 내지 410mg의 당을 포함한다.

[0058] 용어 "계면활성제"는 일반적으로 양친매성 구조를 갖는 유기 물질을 나타내며; 즉, 이들은 반대의 용해도 경향을 갖는 그룹들, 전형적으로는 유용성 탄화수소 쇠 및 수용성 이온 그룹으로 구성된다. 계면활성제는 표면-활성 모이어티의 전하에 따라 음이온성, 양이온성 및 비이온성 계면활성제로 분류될 수 있다. 계면활성제는 종종 생물학적 재료의 여러 약제학적 조성물 및 제제를 위한 습윤제, 유화제, 가용화제 및 분산제로서 사용된다. 적합한 계면활성제의 예에는 나트륨 라우릴 설페이트, 폴리소르베이트, 예를 들어, 폴리옥시에틸렌 소르비탄 모노올레에이트, 모노라우레이트, 모노팔미테이트, 모노스테아레이트 또는 또 다른 폴리옥시에틸렌 소르비탄 에스테르(예를 들어, 시판 TWEENS, 예를 들어, TWEEN 20 및 TWEEN 80(아이씨아이 스페셜티 케미칼스(ICI Speciality Chemicals)), 나트륨 디옥틸설포석시네이트(DOSS), 레시틴, 스테아릴 알코올, 세토스테아릴 알코올, 콜레스테롤, 폴리옥시에틸렌 리신 오일, 폴리옥시에틸렌 지방산 글리세라이드, 폴록사머(예를 들어, 에틸렌 옥사이드와 프로필렌 옥사이드의 블록 공중합체인 Pluronic F68™ 및 F108™); 폴리옥시에틸렌 피마자유 유도체 또는 이들의 혼합물이 포함되지만, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0059] 본원에서 사용된 용어 "폴리소르베이트"는 전형적으로는 에틸렌 옥사이드와 공중합된 소르비톨 올레에이트 에스테르 및 이의 무수물을 나타낸다. 하나의 양태에서, 폴리소르베이트는 약 1200Da(폴리소르베이트 20의 분자량 근사치) 내지 약 1350Da(폴리소르베이트 80의 분자량 근사치) 범위의 분자량을 갖는다. 하나의 양태에서, 제형은 폴리소르베이트 20, 폴리소르베이트 40, 폴리소르베이트 60 또는 폴리소르베이트 80을 포함한다. 하나의 양태에서, 제형은 약 0.1 내지 0.9mg의 폴리소르베이트를 포함한다. 또 다른 양태에서, 제형은 약 0.01 내지 0.2 mg/ml의 폴리소르베이트를 포함한다. 또 다른 양태에서, 제형은 0.05 내지 0.15mg/ml의 폴리소르베이트를 포함한다.

[0060] 용어 "약제학적 제형"은 활성 성분(들)의 생물학적 활성을 효과적이 되도록 할 수 있는 형태이며, 따라서 치료 용으로 대상체에게 투여될 수 있는 제제를 나타낸다.

[0061] "안정한" 제형은 항-EGFR 항체 약물 접합체가 저장 시 이의 물리적 안정성 및/또는 화학적 안정성 및/또는 생물학적 활성을 필수적으로 보유하는 제형이다. 단백질 안정성 측정을 위한 여러 분석 기술들이 당해 기술분야에서 이용가능하며, 예를 들어, 문헌[Peptide and Protein Drug Delivery, pp. 247-301, Vincent Lee Ed., Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., Pubs. (1991) 및 Jones (1993) Adv. Drug Delivery Rev. 10: 29-90]에

서 검토된다. 하나의 양태에서, 항-EGFR 항체 약물 접합체의 안정성은 용액 중 단량체 단백질의 비율에 따라 결정되는데, 분해된(예를 들어, 단편화된) 및/또는 응집된 단백질의 비율이 낮으면 안정하다. 예를 들어, 안정한 항-EGFR 항체 약물 접합체를 포함하는 제형은 적어도 95%의 단량체 항-EGFR 항체 약물 접합체를 포함할 수 있다. 대안적으로, 제형은 5% 이하의 응집물 및/또는 분해된 항-EGFR 항체 약물 접합체를 포함할 수 있다.

[0062] 항-EGFR 항체 약물 접합체는 색 및/또는 투명성의 육안 검사에서, 또는 UV 광 산란에 의해 또는 크기 배제 크로마토그래피에 의해 측정 시, 응집, 침전 및/또는 변성의 징후가 실질적으로 나타나지 않는 경우에 약제학적 제형 중에서 "이의 물리적 안정성을 보유한다". 하나의 양태에서, 안정한 수성 제형은 제형 중에서 약 5% 미만의 항-EGFR 항체 약물 접합체 응집을 갖는 제형이다.

[0063] 항-EGFR 항체 약물 접합체는 주어진 시간에 항-EGFR 항체 약물 접합체가 아래에 정의된 생물학적 활성을 여전히 보유하는 것으로 여겨지는 화학적 안정성을 갖는 경우에 약제학적 제형 중에서 "이의 화학적 안정성을 보유한다". 화학적 안정성은 항-EGFR 항체 약물 접합체의 화학적 변형 형태를 검출하고 정량화함으로써 평가될 수 있다. 화학적 변형은 크기 변경(예를 들어, 클리핑(clipping))을 수반할 수 있으며, 이는, 예를 들어, 크기 배제 크로마토그래피, SDS-PAGE 및/또는 매트릭스-보조 레이저 탈착 이온화/비행 시간 질량 분석(MALDI/TOF MS)을 사용하여 평가될 수 있다. 다른 유형의 화학적 변형에는 (예를 들어, 탈아미드화의 결과로서 발생하는) 전하 변화가 포함되며, 이는, 예를 들어, 이온-교환 크로마토그래피에 의해 평가될 수 있다.

[0064] 항-EGFR 항체 약물 접합체는 약제학적 제형 중의 단백질이 이의 의도된 목적에 대해 생물학적으로 활성인 경우에 약제학적 제형 중에서 "이의 생물학적 활성을 보유한다". 예를 들어, 항-EGFR 항체 약물 접합체의 생물학적 활성은 약제학적 제형 중의 항-EGFR 항체 약물 접합체의 생물학적 활성이 약제학적 제형 제조 시 나타난 생물학적 활성의 약 30%, 약 20% 또는 약 10% 내(검정의 오차 범위 내)인 경우에 보유된다(이는, 예를 들어, 항원 결합 검정에서 측정되는 바와 같다). 하나의 양태에서, 생물학적 활성은 표피양 암종 세포의 세포독성이다.

[0065] 용어 "항체"는 광범위하게는, 일반적으로 4개의 폴리펩티드 쇠, 2개의 중(H)쇄 및 2개의 경(L)쇄로 구성되는 면역글로불린(Ig) 분자, 또는 Ig 분자의 필수적인 표적 결합 특징을 보유하는 임의의 기능적 단편, 돌연변이체, 변이체 또는 이들의 유도체를 나타낸다.

[0066] 전장 항체에서, 각각의 중쇄는 중쇄 가변 영역(본원에서 HCVR 또는 VH라 약칭됨) 및 중쇄 불변 영역으로 구성된다. 중쇄 불변 영역은 3개의 도메인 CH1, CH2 및 CH3으로 구성된다. 각각의 경쇄는 경쇄 가변 영역(본원에서 LCVR 또는 VL이라 약칭됨) 및 경쇄 불변 영역으로 구성된다. 경쇄 불변 영역은 하나의 도메인 CL로 구성된다. VH 및 VL 영역은 상보성 결정 영역(CDR)이라 불리는 과가변 영역들로 추가로 세분될 수 있으며, 상기 과가변 영역들 사이에 프레임워크(framework) 영역(FR)이라 불리는 더 보존적인 영역들이 배치된다. 각각의 VH 및 VL은 3개의 CDR 및 4개의 FR로 구성되며, 이들은 아미노-말단으로부터 카복시-말단까지 다음의 순서로 배열된다: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. 면역글로불린 분자는 임의의 타입(예를 들어, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA 및 IgY) 및 부류(예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 및 IgA2) 또는 하위부류의 것일 수 있다.

[0067] 본원에서 사용된 용어 항체의 "항원-결합부"(또는 간단히 "항체 부위")는 항원(예를 들어, hIL-13)에 특이적으로 결합하는 능력을 보유하는 하나 이상의 항체 단편을 나타낸다. 항체의 항원-결합 기능은 전장 항체의 단편들에 의해 수행될 수 있는 것으로 밝혀졌다. 이러한 항체의 양태는 또한 이중 특이적, 이원 특이적 또는 다중-특이적 포맷일 수 있어; 2개 이상의 상이한 항원들에 특이적으로 결합할 수 있다. 항체의 "항원-결합부"라는 용어에 포함되는 결합 단편들의 예에는 (i) VL, VH, CL 및 CH1 도메인으로 이루어진 1가 단편인 Fab 단편; (ii) 힌지(hinge) 영역에서 이황화물 브릿지(bridge)에 의해 연결된 2개의 Fab 단편들을 포함하는 2가 단편인 F(ab')<sub>2</sub> 단편; (iii) VH 및 CH1 도메인으로 이루어진 Fd 단편; (iv) 항체의 단일 암(arm)의 VL 및 VH 도메인으로 이루어진 Fv 단편; (v) 단일 가변 도메인을 포함하는 dAb 단편(문헌[Ward et al., (1989) Nature 341:544-546], 인용에 의해 본원에 포함되는 윈터(Winter) 등의 PCT 공보 WO 제90/05144 A1호); 및 (vi) 단리된 상보성 결정 영역(CDR)이 포함된다. 추가로, Fv 단편의 2개의 도메인 VL 및 VH가 별개 유전자에 의해 암호화되기는 하지만, 이들은 재조합 방법을 사용하여 합성 링커에 의해 결합될 수 있으며, 상기 합성 링커는 VL 영역과 VH 영역이 쌍을 이루어 1가 분자를 형성하는 단일 단백질 쇠(단일 쇠 Fv(scFv)로서 공지됨; 예를 들어, 문헌[Bird et al. (1988) Science 242:423-426; 및 Huston et al. (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883] 참조)로서 제조되도록 할 수 있다. 이러한 단일 쇠 항체도 항체의 "항원-결합부"라는 용어에 포함되는 것으로 의도된다. 다른 형태의 단일 쇠 항체, 예를 들어, 다이아바디(diabody)가 또한 포함된다. 다이아바디는, VH 도메인과 VL 도메인이 단일 폴리펩티드 쇠 상에서 발현되지만, 동일 쇠 상의 2개의 도메인 사이에 쌍을 이루도록 하기에는 매우 짧은 링커를 사용함으로써 도메인들이 또 다른 쇠의 상보성 도메인들과 쌍을 이루게 하여 2개의



항원 결합 지점을 생성하는 2가의 이중 특이적 항체이다(예를 들면, 문헌[Holliger, P., et al. (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-6448; Poljak, R.J., et al. (1994) Structure 2:1121-1123] 참조). 이러한 항체 결합부는 당해 기술분야에 공지되어 있다(문헌[Kontermann and Dubel eds., Antibody Engineering (2001) Springer-Verlag, New York. 790 pp])(ISBN 3-540-41354-5).

[0068] 본원에서 사용된 바와 같이, "단리된 항체"는 상이한 항원 특이성을 갖는 다른 항체들을 실질적으로 함유하지 않는 항체를 나타내도록 의도된다(예를 들어, EGFR에 특이적으로 결합하는 단리된 항체는 EGFR이 아닌 항원에 특이적으로 결합하는 항체를 실질적으로 함유하지 않는다). 그러나, EGFR에 특이적으로 결합하는 단리된 항체는 다른 항원들, 예를 들어, 다른 종으로부터의 EGFR 분자들에 대해 교차-반응성을 가질 수 있다. 또한, 단리된 항체는 다른 세포 물질 및/또는 화학 물질들을 실질적으로 함유하지 않을 수 있다.

[0069] 용어 "사람화된 항체"는, 사람이 아닌 종(예를 들어, 마우스)으로부터의 중쇄 및 경쇄 가변 영역 서열들을 포함하지만, VH 및/또는 VL 서열의 적어도 일부가 더 "사람에 유사"하도록, 즉 사람 생식세포 가변 서열들에 더 유사하도록 변화된 항체를 나타낸다. 특정 양태에서, 용어 "사람화된 항체"는, 관심 항원에 특이적으로 결합하고, 실질적으로 사람 항체의 아미노산 서열을 갖는 프레임워크(FR) 영역을 포함하며, 실질적으로 사람이 아닌 항체의 아미노산 서열을 갖는 CDR을 포함하는, 항체 또는 항체 변이체, 유도체 또는 단편을 나타낸다. CDR의 맥락에서 본원에서 사용된 용어 "실질적으로"는 사람이 아닌 항체 CDR의 아미노산 서열과 적어도 80%, 바람직하게는 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 갖는 CDR을 나타낸다. 하나의 양태에서, 하나의 타입의 사람화된 항체는, 사람이 아닌 VH 및 VL 서열에 사람 CDR 서열을 도입하여, 상응하는 비사람 CDR 서열을 대체시킨 CDR-이식 항체이다.

[0070] 본원에서 사용된 용어 "CDR"은 항체 가변 서열 내의 상보성 결정 영역을 나타낸다. 각각의 중쇄 및 경쇄 가변 영역 내에는 3개의 CDR이 존재하며, 이들은 각각의 가변 영역에 대해 CDR1, CDR2 및 CDR3으로 표시된다. 본원에서 사용된 용어 "CDR 세트"는 항원에 결합할 수 있는 단일 가변 영역 내에 존재하는 3개의 CDR들의 그룹을 나타낸다. 이들 CDR들의 정확한 경계가 상이한 시스템들에 따라 각각 다르게 정의되었다. 카밧(Kabat)에 의해 기재된 시스템(문헌[Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest (National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1987) 및 (1991))]은 모든 항체 가변 영역에 적용될 수 있는 명백한 잔기 번호매김 시스템을 제공할 뿐만 아니라, 3개의 CDR을 정의하는 정밀한 잔기 경계도 제공한다. 이들 CDR을 카밧 CDR이라 지칭할 수 있다. 초티아(Chothia) 및 공동 연구자들(문헌[Chothia & Lesk, J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987) 및 Chothia et al., Nature 342:877-883 (1989)])은 카밧 CDR 내의 특정한 하위-부위들이 아미노산 서열 수준에서 높은 다양성을 가짐에도 불구하고 거의 동일한 펩티드 골격 입체구조를 채택한다는 것을 발견하였다. 이들 하위-부위들을 L1, L2 및 L3 또는 H1, H2 및 H3으로 표시하였으며, 여기서, "L" 및 "H"는 각각 경쇄 및 중쇄 영역을 표시한다. 이들 영역을 초티아 CDR이라 지칭할 수 있고, 이들은 카밧 CDR와 중첩되는 경계를 갖는다. 카밧 CDR과 중첩되는 CDR을 정의하는 다른 경계가 패들란(Padlan)(문헌[FASEB J. 9:133-139 (1995)]) 및 맥칼럼(MacCallum)(문헌[J Mol Biol 262(5):732-45 (1996)])에 의해 기재되었다. 또 다른 CDR 경계 정의들은 엄격하게는 상기 시스템들 중 하나를 따르지 않을 수 있지만 그럼에도 카밧 CDR과 중첩될 것이며, 그렇더라도 이들은 특정 잔기들 또는 잔기들의 그룹들 또는 심지어 전체 CDR이 항원 결합에 크게 영향을 미치지 않는다는 예측 또는 실험적 발견을 감안하여 단축될 수 있거나 연장될 수 있다. 본원에서 사용되는 방법은 이들 시스템들 중 어느 것에 따라 정의되는 CDR을 사용할 수 있지만, 바람직한 양태는 카밧 또는 초티아 정의된 CDR을 사용한다.

[0071] 용어 "장애"는 본 발명의 제형을 사용하는 치료로부터 효과를 얻게 되는 임의의 병태, 예를 들어, 제형 중의 항-EGFR 항체를 사용하는 치료를 필요로 하는 장애를 나타낸다. 이는, 대상체가 문제의 장애에 잘 걸리게 하는 병리학적 상태들을 포함하는 만성 및 급성 장애 또는 질환을 포함한다.

[0072] 용어 "암"은 전형적으로는 조절되지 않는 세포 성장을 특징으로 하는 포유동물에서의 생리학적 상태를 나타내거나 묘사하는 것을 의미한다. 암의 예에는 암종, 림프종, 아세포종, 육종 및 백혈병 또는 악성 림프종이 포함되지만, 이에 제한되는 것은 아니다. 이러한 암의 더욱 특정한 예에는 교아종, 비-소세포 폐암, 폐암, 결장암, 두경부암, 유방암, 편평상피 세포 종양, 항문암, 피부암 및 외음부암이 포함된다. 하나의 양태에서, 제형은 EGFR 유전자 증폭을 함유하는 종양(들)을 갖는 환자에게 투여되며, 상기 EGFR 유전자 증폭에 의해 종양은 절단된 형태의 EGFR de2-7을 발현한다. 하나의 양태에서, ADC1-MMAF를 포함하는 제형은 결장직장암, 두경부암(하인두암, 구인두암, 식도암, 후두암 및 구강암을 포함하지만, 이에 제한되는 것은 아님), 비-소세포 폐암, 췌장암, 위암, 유방암, 고형 종양, 예를 들어, 상피세포 성장 인자 수용체(EGFR) 과발현 가능성이 있는 고형 종양, 또는 다형 교아종의 치료를 위해 대상체에게 투여될 수 있다.

- [0073] 본원에서 사용된 용어 "투여되는"은 치료(예를 들어, EGFR-관련 장애의 치료) 목적을 달성하기 위한 물질(예를 들어, 항-EGFR 항체 약물 접합체)의 전달을 나타내도록 의도된다. 투여 방식은 비경구, 경장 및 국소일 수 있다. 비경구 투여는 보통 주사에 의한 것이며, 정맥내, 근육내, 동맥내, 경막내, 피막내, 안와내, 심내, 피내, 복강내, 경기관, 피하, 표피하, 관절내, 피막하, 지주막하, 척수내 및 흉골내 주사 및 주입을 비제한적으로 포함한다.
- [0074] 본원에서 사용된 용어 ADC의 "치료적 유효량" 또는 "유효량"은 ADC가 치료에 효과가 있는 장애의 증상을 예방하거나 치료하거나 완화시키는 데 효과적인 양을 나타낸다.
- [0075] 용어 "치료"는 치료적 처치 및 예방 또는 방지 조치 둘 모두를 나타낸다. 치료를 필요로 하는 환자는 장애에 이미 걸린 환자 뿐만 아니라, 장애를 예방하여야 하는 환자도 포함한다.
- [0076] 본 발명의 다양한 양상이 아래의 항목들에서 더욱 상세히 설명된다.
- [0077] **II. 본 발명의 항-EGFR 항체 약물 접합체 제형**
- [0078] 본 발명은 항-EGFR 항체 또는 이의 항원-결합부를 포함하는 제형을 특징으로 하고, 상기 EGFR 항체는 하나 이상의 약물, 예를 들어, 오리스타틴(예를 들어, MMAF)에 접합된다. 본 발명은, 항-EGFR 항체 약물 접합체(ADC)를 포함하는 제형(여기서, 상기 항-EGFR 항체 또는 이의 항원-결합부는 오리스타틴, 예를 들어, MMAF의 하나 이상의 분자에 접합된다)이 5°C 및 25°C에서 6개월까지 저장된 다음 재구성될 때 ADC의 생물학적 활성을 유지할 수 있고, 재구성 후 약물 대 항체 비를 유지할 수 있다는 사실의 발견에 적어도 부분적으로 기초한다.
- [0079] 본원에 기재된 제형은 동결건조될 수 있거나 수성일 수 있다. 별도의 지시가 없는 한, 용어 "제형"은 동결건조된 제형 및 수성 제형을 둘 다 나타낸다.
- [0080] 특정 제형은 바람직하게는 항-상피세포 성장 인자 수용체(EGFR) 항체 약물 접합체(ADC), 당, 완충액 및 폴리소르베이트를 포함하고, 여기서, 상기 제형은 약 5 내지 7의 pH를 갖는다. 특정 양태에서, 제형은, 오리스타틴, 예를 들어, MMAF의 하나 이상의 분자에 접합된 항-EGFR 항체 또는 이의 항원-결합부, 예를 들어, 항체 1을 포함하는 항-EGFR ADC를 추가로 포함한다.
- [0081] 하나의 양태에서, 본 발명은 항-EGFR 항체 약물 접합체, 당, 예를 들어, 수크로스, 계면활성제, 예를 들어, 폴리소르베이트(예를 들어, 폴리소르베이트 80) 및 히스티딘을 포함하는 동결건조된 제형을 제공하고, 여기서, 상기 제형은 약 5 내지 7의 pH를 갖고, 상기 항-EGFR 항체 약물 접합체는 모노메틸오리스타틴 F(MMAF)에 접합된 항-EGFR 항체 또는 이의 항원-결합부를 포함한다.
- [0082] 하나의 양태에서, 본 발명은 항-EGFR 항체 약물 접합체, 수크로스, 계면활성제 및 완충액을 포함하는 동결건조된 제형을 제공하고, 여기서, 상기 제형은 약 5 내지 7의 pH를 갖고, 상기 항-EGFR 항체 약물 접합체는 말레이미도카프로일 링커를 통해 모노메틸오리스타틴 F(MMAF)에 접합된(mc-MMAF) 항-EGFR 항체 또는 이의 항원-결합부, 예를 들어, 항체 1을 포함한다.
- [0083] 하나의 양태에서, 본 발명은 항-EGFR 항체 약물 접합체, 수크로스, 폴리소르베이트 및 히스티딘을 포함하는 동결건조된 제형을 제공하고, 여기서, 상기 제형은 약 5 내지 7의 pH를 갖고, 상기 항-EGFR 항체 약물 접합체는 말레이미도카프로일 링커를 통해 모노메틸오리스타틴 F(MMAF)에 접합된(mc-MMAF) 항-EGFR 항체 또는 이의 항원-결합부, 예를 들어, 항체 1을 포함한다.
- [0084] 본원에 기재된 제형은 바람직하게는 약 4.0 내지 약 8.0의 pH를 갖는다. 하나의 양태에서, 제형의 pH는 약 5.0 내지 약 7.0 범위이고; 대안적으로 pH는 약 5 내지 약 6.5 범위일 수 있으며; 대안적으로 제형의 pH는 약 5.5 내지 약 6.5 범위일 수 있다. 상기 언급된 pH 값들의 중간 범위, 예를 들어, 약 5.6 내지 약 6.4도 본 발명의 일부인 것으로 의도된다. 상기 언급된 상한치/하한치로서의 수치들 중 어느 것의 조합을 사용하는 수치 범위, 예를 들어, 약 5.5 내지 약 6.2의 pH 범위도 포함되는 것으로 의도된다.
- [0085] 본 발명의 제형은 바람직하게는 항-EGFR ADC, 당, 계면활성제 및 완충액을 포함한다. 본 발명의 제형에 사용될 수 있는 당해 기술분야에 공지된 완충액의 예에는 아세트산염, 히스티딘, 글리신, 아르기닌, 인산염, 트리스 및 시트르산염이 포함되지만, 이에 제한되는 것은 아니다. 하나의 양태에서, 당해 제형에 사용되는 완충액은 히스티딘이다.
- [0086] 하나의 양태에서, 제형은 1 내지 20mg/ml(예를 들어, 약 1 내지 약 20, 약 1 내지 약 10; 약 1 내지 약 5; 또는 약 1 내지 약 3mg/ml)의 히스티딘 완충액을 포함하고, 이때 상기 완충액은 약 5.0 내지 약 7.0의 pH; 약 5 내지

약 6.5의 pH; 또는 약 5.5 내지 약 6.5의 pH 및 이 사이의 범위의 pH를 갖는다.

- [0087] 하나의 양태에서, 제형은 약 5 내지 25mM(예를 들어, 약 2 내지 약 25mM; 약 5 내지 약 25mM; 약 10 내지 약 25mM; 또는 약 20 내지 약 25mM) 및 이 사이의 범위의 히스티딘을 포함한다.
- [0088] 하나의 양태에서, 제형은 1 내지 20mg/ml(예를 들어, 약 1 내지 약 20, 약 1 내지 약 10; 약 5 내지 약 20; 또는 약 5 내지 약 10mg/ml)의 석신산염 완충액을 포함하고, 이때 상기 완충액은 약 5.0 내지 약 7.0의 pH; 약 5 내지 약 6.5의 pH; 또는 약 5.5 내지 약 6.5의 pH 및 이 사이의 범위의 pH를 갖는다. 하나의 양태에서, 제형은 약 1 내지 10mg/ml의 석신산염 완충액을 포함하고, 이때 상기 완충액은 약 5.0 내지 약 7.0의 pH; 약 5 내지 약 6.5의 pH; 또는 약 5.5 내지 약 6.5의 pH 및 이 사이의 범위의 pH를 갖는다.
- [0089] 하나의 양태에서, 제형은 1 내지 20mg/ml(예를 들어, 약 1 내지 약 20, 약 1 내지 약 10; 약 5 내지 약 20; 또는 약 5 내지 약 10mg/ml)의 시트르산염 완충액을 포함하고, 이때 상기 완충액은 약 5.0 내지 약 7.0의 pH; 약 5 내지 약 6.5의 pH; 또는 약 5.5 내지 약 6.5의 pH 및 이 사이의 범위의 pH를 갖는다. 하나의 양태에서, 상기 제형에 사용되는 완충액은 약 1 내지 10mg/ml의 시트르산염 완충액을 포함하고, 이때 상기 완충액은 약 5.0 내지 약 7.0의 pH; 약 5 내지 약 6.5의 pH; 또는 약 5.5 내지 약 6.5의 pH 및 이 사이의 범위의 pH를 갖는다.
- [0090] 하나의 양태에서, 제형은 1 내지 20mg/ml(예를 들어, 약 1 내지 약 20, 약 1 내지 약 10; 약 5 내지 약 20; 또는 약 5 내지 약 10mg/ml)의 인산염 완충액을 포함하고, 이때 상기 완충액은 약 5.0 내지 약 7.0의 pH; 약 5 내지 약 6.5의 pH; 또는 약 5.5 내지 약 6.5의 pH 및 이 사이의 범위의 pH를 갖는다. 하나의 양태에서, 제형에 사용되는 완충액은 약 1 내지 10mg/ml의 인산염 완충액을 포함하고, 이때 상기 완충액은 약 5.0 내지 약 7.0의 pH; 약 5 내지 약 6.5의 pH; 또는 약 5.5 내지 약 6.5의 pH 및 이 사이의 범위의 pH를 갖는다.
- [0091] 하나의 양태에서, 제형은 1 내지 20mg/ml(예를 들어, 약 1 내지 약 20, 약 1 내지 약 10; 약 5 내지 약 20; 또는 약 5 내지 약 10mg/ml)의 시트르산염/인산염 완충액을 포함하고, 이때 상기 완충액은 약 5.0 내지 약 7.0의 pH; 약 5 내지 약 6.5의 pH; 또는 약 5.5 내지 약 6.5의 pH를 갖는다. 하나의 양태에서, 제형에 사용되는 완충액은 약 1 내지 10mg/ml의 시트르산염/인산염 완충액을 포함하고, 이때 상기 완충액은 약 5.0 내지 약 7.0의 pH; 약 5 내지 약 6.5의 pH; 또는 약 5.5 내지 약 6.5의 pH 및 이 사이의 범위의 pH를 갖는다.
- [0092] 완충액 외에도, 당이 제형에 포함된다. 제형에 사용될 수 있는 당류의 예에는 만니톨, 소르비톨, 수크로스 및 트레할로스가 포함되지만, 이에 제한되는 것은 아니다. 하나의 양태에서, 제형에 사용되는 당류는 수크로스이다.
- [0093] 하나의 양태에서, 제형은 약 50 내지 약 90mg/ml, 약 50 내지 약 85mg/ml, 약 50 내지 약 80mg/ml, 약 50 내지 약 75mg/ml, 약 50 내지 약 70mg/ml, 약 50 내지 약 65mg/ml, 약 50 내지 약 60mg/ml, 약 60 내지 약 90mg/ml, 약 60 내지 약 85mg/ml, 약 60 내지 약 75mg/ml, 약 60 내지 약 70mg/ml, 또는 약 60 내지 약 75mg/ml 및 이 사이의 범위의 농도의 당, 예를 들어, 약 55 내지 약 85mg/ml 및 이 사이의 범위의 당을 포함한다.
- [0094] 하나의 양태에서, 제형은 약 50 내지 약 90mg/ml, 약 50 내지 약 85mg/ml, 약 50 내지 약 80mg/ml, 약 50 내지 약 75mg/ml, 약 50 내지 약 70mg/ml, 약 50 내지 약 65mg/ml, 약 50 내지 약 60mg/ml, 약 60 내지 약 90mg/ml, 약 60 내지 약 85mg/ml, 약 60 내지 약 75mg/ml, 약 60 내지 약 70mg/ml, 또는 약 60 내지 약 75mg/ml 및 이 사이의 범위의 농도의 수크로스, 예를 들어, 약 55 내지 약 85mg/ml 및 이 사이의 범위의 수크로스를 포함한다.
- [0095] 계면활성제가 또한, 예를 들어, 안정성 추가를 위해 제형에 첨가된다. 예시적인 계면활성제에는 비이온성 세제, 예를 들어, 폴리소르베이트(예를 들어, 폴리소르베이트 20, 80) 또는 폴록사머(예를 들어, 폴록사머 188)가 포함되지만, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0096] 하나의 양태에서, 제형은 약 0.05 내지 0.20mg/ml(예를 들어, 약 0.05 내지 0.19, 0.05 내지 0.18, 0.05 내지 0.17, 0.05 내지 0.16, 0.05 내지 0.15, 0.05 내지 0.14, 0.05 내지 0.13, 0.05 내지 0.12, 0.05 내지 0.11, 또는 0.05 내지 0.10mg/ml 및 이 사이의 범위) 농도의 폴리소르베이트, 예를 들어, 폴리소르베이트 80을 포함한다. 하나의 양태에서, 수성 제형은 0.05 내지 0.15mg/ml의 폴리소르베이트, 예를 들어, 폴리소르베이트 80을 포함한다.
- [0097] 하나의 양태에서, 제형은 약 1 내지 150mg/ml 농도의 항-EGFR 항체 약물 접합체(예를 들어, 약 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 105, 110, 120, 125, 130, 135, 140, 145 또는 150mg/ml 및 이 사이의 값의 항-EGFR 항체 약물 접합체)를 포함한다.
- [0098] 하나의 양태에서, 제형은 약 1 내지 150mg, 약 10 내지 150mg, 약 20 내지 150mg, 약 30 내지 150mg, 약 40 내

지 150mg, 약 50 내지 150mg, 약 60 내지 150mg, 약 70 내지 150mg, 약 80 내지 150mg, 약 90 내지 150mg, 약 100 내지 150mg, 약 10 내지 140mg, 약 20 내지 140mg, 약 30 내지 140mg, 약 40 내지 140mg, 약 50 내지 140mg, 약 60 내지 140mg, 약 70 내지 140mg, 약 80 내지 140mg, 약 90 내지 140mg, 약 100 내지 140mg, 약 10 내지 130mg, 약 20 내지 130mg, 약 30 내지 130mg, 약 40 내지 130mg, 약 50 내지 130mg, 약 60 내지 130mg, 약 70 내지 130mg, 약 80 내지 130mg, 약 90 내지 130mg, 약 100 내지 130mg, 약 10 내지 120mg, 약 20 내지 120mg, 약 30 내지 120mg, 약 40 내지 120mg, 약 50 내지 120mg, 약 60 내지 120mg, 약 70 내지 120mg, 약 80 내지 120mg, 약 90 내지 120mg, 약 100 내지 120mg, 약 10 내지 110mg, 약 20 내지 110mg, 약 30 내지 110mg, 약 40 내지 110mg, 약 50 내지 110mg, 약 60 내지 110mg, 약 70 내지 110mg, 약 80 내지 110mg, 약 90 내지 110mg, 및 약 100 내지 110mg 및 이 사이의 범위의 양의 항-EGFR 항체 약물 접합체를 포함한다.

[0099] 하나의 양태에서, 제형은 1mg/ml, 2mg/ml, 3mg/ml, 4mg/ml, 5mg/ml, 6mg/ml, 7mg/ml, 8mg/ml, 9mg/ml, 10mg/ml, 11mg/ml, 12mg/ml, 13mg/ml, 14mg/ml, 15mg/ml, 16mg/ml, 17mg/ml, 18mg/ml, 19mg/ml, 20mg/ml, 21mg/ml, 22mg/ml, 23mg/ml, 24mg/ml, 25mg/ml, 26mg/ml, 27mg/ml, 28mg/ml, 29mg/ml, 30mg/ml, 31mg/ml, 32mg/ml, 33mg/ml, 34mg/ml, 35mg/ml, 36mg/ml, 37mg/ml, 38mg/ml, 39mg/ml, 40mg/ml, 41mg/ml, 42mg/ml, 43mg/ml, 44mg/ml, 45mg/ml, 46mg/ml, 47mg/ml, 48mg/ml, 49mg/ml, 50mg/ml, 51mg/ml, 52mg/ml, 53mg/ml, 54mg/ml, 55mg/ml, 56mg/ml, 57mg/ml, 58mg/ml, 59mg/ml, 60mg/ml, 61mg/ml, 62mg/ml, 63mg/ml, 64mg/ml, 65mg/ml, 66mg/ml, 67mg/ml, 68mg/ml, 69mg/ml, 70mg/ml, 71mg/ml, 72mg/ml, 73mg/ml, 74mg/ml, 75mg/ml, 76mg/ml, 77mg/ml, 78mg/ml, 79mg/ml, 80mg/ml, 81mg/ml, 82mg/ml, 83mg/ml, 84mg/ml, 85mg/ml, 86mg/ml, 87mg/ml, 88mg/ml, 89mg/ml, 90mg/ml, 91mg/ml, 92mg/ml, 93mg/ml, 94mg/ml, 95mg/ml, 96mg/ml, 97mg/ml, 98mg/ml, 99mg/ml, 100mg/ml, 101mg/ml, 102mg/ml, 103mg/ml, 104mg/ml, 105mg/ml, 106mg/ml, 107mg/ml, 108mg/ml, 109mg/ml, 110mg/ml, 111mg/ml, 112mg/ml, 113mg/ml, 114mg/ml, 115mg/ml, 116mg/ml, 117mg/ml, 118mg/ml, 119mg/ml, 120mg/ml, 121mg/ml, 122mg/ml, 123mg/ml, 124mg/ml, 125mg/ml, 126mg/ml, 127mg/ml, 128mg/ml, 129mg/ml, 130mg/ml, 131mg/ml, 132mg/ml, 133mg/ml, 134mg/ml, 135mg/ml, 136mg/ml, 137mg/ml, 138mg/ml, 139mg/ml, 140mg/ml, 141mg/ml, 142mg/ml, 143mg/ml, 144mg/ml, 145mg/ml, 146mg/ml, 147mg/ml, 148mg/ml, 149mg/ml 또는 150mg/ml 항체의 농도의 항-EGFR 항체 약물 접합체를 포함한다. 상기 언급된 수치들 중 어느 것을 포함하는 범위, 예를 들어, 10 내지 150mg/ml, 10 내지 100mg/ml, 20 내지 90mg/ml, 10 내지 70mg/ml, 10 내지 40mg/ml, 및 1 내지 70mg/ml도 본 발명에 포함된다.

[0100] 하나의 양상에서, 본 발명은 항-EGFR 항체 약물 접합체를 포함하는 동결건조된 제형으로부터 재구성되는 수성 제형을 특징으로 하고, 여기서, 상기 재구성된 수성 제형은 약 1 내지 100mg/ml의 항-EGFR ADC, 약 1 내지 10mg/ml의 완충액(예를 들어, 히스티딘), 약 50 내지 90mg/ml의 당(예를 들어, 수크로스) 및 약 0.01 내지 0.2mg/ml의 폴리소르베이트(예를 들어, 폴리소르베이트 80)를 포함하고, 약 5 내지 7의 pH를 가지며, 상기 항-EGFR 항체 약물 접합체는 오리스타틴(예를 들어, MMAF)에 접합된 항-EGFR 항체 또는 이의 항원-결합부(예를 들어, 항체 1)를 포함한다.

[0101] 동결건조된 제형은 우선 동결건조 공정 전의 제형인 예비-동결건조 제형으로서 제조된다. 예비-동결건조 제형 중에 존재하는 항-EGFR 항체 약물 접합체의 양은 원하는 용량 부피, 투여 방식(들) 등을 고려하여 결정된다.

[0102] 하나의 양상에서, 본 발명은 항-EGFR 항체 약물 접합체, 당(예를 들어, 수크로스), 계면활성제(예를 들어, 폴리소르베이트 80) 및 히스티딘을 포함하는 동결건조된 제형을 특징으로 하고, 여기서, 상기 제형은 약 5.0 내지 7.0의 pH를 갖고, 상기 항-EGFR 항체 약물 접합체는 오리스타틴(예를 들어, MMAF)에 접합된 항-EGFR 항체(예를 들어, 항체 1)를 포함한다.

[0103] 본 발명의 하나의 양태에서, 동결건조된 제형은 항-EGFR ADC, 예를 들어, ADC1-MMAF, 수크로스, 폴리소르베이트, 예를 들어, 폴리소르베이트 80, 및 히스티딘을 포함하고, 만니톨 및/또는 세린을 포함하지 않거나 실질적으로 함유하지 않는다. 본 발명의 하나의 양태에서, 동결건조된 제형은 항-EGFR ADC, 예를 들어, ADC1-MMAF, 수크로스, 폴리소르베이트, 예를 들어, 폴리소르베이트 80, 및 히스티딘을 포함하고, 2가 양이온을 포함하지 않거나 실질적으로 함유하지 않는다. 본 발명의 또 다른 양태에서, 동결건조된 제형은 락토비온산을 포함하지 않는다. 본 발명의 또 다른 양태에서, 동결건조된 제형은 당 산을 포함하지 않는다.

[0104] 특정한 예시적 양상에서, 본 발명은, 약 5.0 내지 7.0 범위의 pH를 갖고, 1 내지 20mg의 완충액(예를 들어, 히스티딘), 약 320 내지 410mg의 당(예를 들어, 수크로스), 약 0.1 내지 0.9mg의 계면활성제(예를 들어, 폴리소르베이트 80) 및 약 50 내지 150mg의 항-EGFR 항체 약물 접합체를 포함하는 동결건조된 제형을 특징으로 하고, 여기서, 상기 항-EGFR 항체 약물 접합체는 오리스타틴(예를 들어, MMAF)에 접합된 항-EGFR 항체(예를 들어, 항체 1)를 포함한다.



- [0105] 하나의 양태에서, 동결건조된 제형은 약 320 내지 410mg, 약 330 내지 400mg, 약 340 내지 390mg, 약 350 내지 380mg, 또는 약 360 내지 370mg, 및 이 사이의 범위(예를 들어, 355mg 내지 375mg)의 당(예를 들어, 수크로스)을 포함한다.
- [0106] 하나의 양태에서, 동결건조된 제형은 약 0.1 내지 0.9mg(예를 들어, 약 0.1 내지 0.8, 0.1 내지 0.7, 0.01 내지 0.6, 0.01 내지 0.55, 0.2 내지 0.6, 0.3 내지 0.6, 0.4 내지 0.6, 및 이 사이의 범위)의 계면활성제를 포함한다.
- [0107] 하나의 양태에서, 동결건조된 제형은 약 1 내지 150mg, 약 10 내지 150mg, 약 20 내지 150mg, 약 30 내지 150mg, 약 40 내지 150mg, 약 50 내지 150mg, 약 60 내지 150mg, 약 70 내지 150mg, 약 80 내지 150mg, 약 90 내지 150mg, 약 100 내지 150mg, 약 10 내지 140mg, 약 20 내지 140mg, 약 30 내지 140mg, 약 40 내지 140mg, 약 50 내지 140mg, 약 60 내지 140mg, 약 70 내지 140mg, 약 80 내지 140mg, 약 90 내지 140mg, 약 100 내지 140mg, 약 10 내지 130mg, 약 20 내지 130mg, 약 30 내지 130mg, 약 40 내지 130mg, 약 50 내지 130mg, 약 60 내지 130 mg 약 70 내지 130mg, 약 80 내지 130mg, 약 90 내지 130mg, 약 100 내지 130mg, 약 10 내지 120mg, 약 20 내지 120mg, 약 30 내지 120mg, 약 40 내지 120mg, 약 50 내지 120mg, 약 60 내지 120mg, 약 70 내지 120mg, 약 80 내지 120mg, 약 90 내지 120mg, 약 100 내지 120mg, 약 10 내지 110mg, 약 20 내지 110mg, 약 30 내지 110mg, 약 40 내지 110mg, 약 50 내지 110mg, 약 60 내지 110mg, 약 70 내지 110mg, 약 80 내지 110mg, 약 90 내지 110mg, 및 약 100 내지 110mg, 및 이 사이의 범위의 양의 항-EGFR 항체 약물 접합체를 포함한다.
- [0108] 하나의 양태에서, 동결건조된 제형은 1 내지 20mg/ml, 또는 대안적으로, 2 내지 18mg, 3 내지 17mg, 4 내지 16mg, 5 내지 15mg, 6 내지 14mg, 또는 7 내지 13mg, 및 이 사이의 범위의 히스티딘을 포함한다.
- [0109] 동결건조는 당해 기술분야에 공지된 방법에 따라 수행될 수 있다. 예를 들어, 상기 목적을 위해 다수의 상이한 동결-건조기, 예를 들어, HULL50(미국 소재의 홀(Hull)) 또는 GT20(독일 소재의 레이볼드-헤라우스(Leybold-Heraeus)) 동결-건조기를 사용할 수 있다. 동결-건조는 제형을 동결시키고 후속적으로 1차 건조에 적합한 온도에서 상기 동결된 내용물로부터 얼음을 승화시킴으로써 달성된다. 이러한 조건하에서, 생성물 온도는 공융점(eutectic point) 또는 제형 붕괴 온도 미만이다. 전형적으로, 1차 건조를 위한 저장 온도는 전형적으로 약 50 내지 250mTorr의 적합한 압력에서(생성물이 1차 건조 동안 동결된 채로 유지된다면) 약 -30 내지 25°C 범위일 것이다. 시료를 보유하는 용기의 조성, 크기 및 종류(예를 들어, 유리 바이알) 및 액체의 부피는 주로 건조에 필요한 시간을 지시할 것이며, 이는 수시간 내지 수일(예를 들어, 40 내지 60시간)의 범위일 수 있다. 임의로, 생성물 중 원하는 잔류 수분 수준에 따라 2차 건조 스테이지가 수행될 수도 있다. 2차 건조가 수행되는 온도는 사용되는 용기의 종류 및 크기 및 단백질의 유형에 따라 약 0 내지 40°C 범위이다. 예를 들어, 동결건조의 전체 수분 제거 단계에 걸쳐 저장 온도는 약 15 내지 30°C(예를 들어, 약 20°C)일 수 있다. 2차 건조에 필요한 시간 및 압력은 적합한 동결건조 계획을 생성하는 시간 및 압력일 것이며, 이는, 예를 들어, 온도 및 다른 파라미터들에 의존한다. 2차 건조 시간은 생성물 중 원하는 잔류 수분 수준에 의해 지시되며, 전형적으로는 적어도 약 5시간(예를 들어, 10 내지 15시간)이 소요된다. 압력은 1차 건조 단계 동안 사용되는 압력과 동일할 수 있다. 동결-건조 조건은 제형 및 바이알 크기에 따라 가변적일 수 있다.
- [0110] 환자에게 투여하기 전, 동결건조된 제형을 약제학적으로 허용되는 희석액으로 재구성하여, 재구성된 제형 중 항-EGFR 항체 약물 접합체의 농도가, 예를 들어, 치료에 필요한 농도, 예를 들어, 적어도 약 1 내지 150mg/ml가 되도록 한다. 재구성은 일반적으로는 완전한 수화를 보장하도록 약 25°C의 온도에서 수행되지만, 원하는 경우 다른 온도가 사용될 수 있다. 재구성에 필요한 시간은, 예를 들어, 희석액의 유형, 부형제(들) 및 단백질의 양에 의존할 것이다. 예시적인 희석액에는 멸균수, 주사용 정균수(BWFI), pH 완충 용액(예를 들어, 인산염-완충 염수), 멸균 염수 용액(예를 들어, 0.9% 염수 용액), 링거 용액 또는 텍스트로스 용액이 포함된다. 하나의 양태에서, 동결건조물은 주사용 멸균수에 용해되거나 멸균 생리 식염수에 희석되어야 한다. 희석액은 임의로 보존제를 함유한다. 예시적인 보존제는 상기에 기재되었으며, 벤질 또는 페놀 알코올과 같은 방향족 알코올이 바람직한 보존제이다. 사용되는 보존제의 양은 단백질과의 상용성을 위한 상이한 보존제 농도 평가 및 보존제 효능 시험에 의해 결정된다. 예를 들어, 보존제가 방향족 알코올(예를 들어, 벤질 알코올)인 경우, 이는 약 0.1 내지 2.0%, 약 0.5 내지 1.5%, 또는 약 1.0 내지 1.2%의 양으로 존재할 수 있다.
- [0111] **III. 본 발명의 제형에 사용하기 위한 항-EGFR 항체 약물 접합체**
- [0112] 본원에 기재된 제형 및 방법은 EGFR에 특이적으로 결합하는 항-EGFR 항체 또는 이의 항원-결합부를 포함하는 항체 약물 접합체(ADC)의 사용을 포함한다. 본 발명의 제형에 사용되는 항-EGFR 항체 약물 접합체는 치료제에 접

합되며, 이에 의해 상기 치료제는 EGFR-발현 세포에 대해 세포독성, 세포정지 또는 면역억제 효과를 발휘한다.

- [0113] 특히, 본 발명은 중앙형성성, 과증식성 또는 비정상적 세포 내에서 발견되는 EGFR 에피토프를 인식하는 항체 또는 이의 항원-결합부를 포함하는 항-EGFR 항체 약물 접합체를 포함하는 제형에 관한 것으로, 상기 에피토프는 정상 또는 야생형 세포에서는 검출되지 않는다. 바람직하게는, 항체 또는 이의 항원-결합부는 과발현의 부재하에, 그리고 정상적인 EGFR 해독 후 변형의 존재하에, 정상 또는 야생형 EGFR 에피토프를 함유하는 정상 또는 야생형 세포에는 결합하지 않거나 상기 세포를 인식하지 않는다.
- [0114] 본 발명의 제형 및 방법에 따라 사용하기에 적합한 항-EGFR 항체는 전형적으로 단일클론성이며, 예를 들어, 키메라 항체(예를 들어, 사람 불변 영역 및 마우스 가변 영역을 가짐), 사람화된 항체 또는 사람 항체; 단일쇄 항체 등을 포함할 수 있다. 면역글로불린 분자는 임의의 타입(예를 들어, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA 및 IgY), 부류(예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 및 IgA2) 또는 하위부류의 면역글로불린 분자일 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 항-EGFR 항체 약물 접합체에 사용되는 항-EGFR 항체는 항-EGFR 항체 1 또는 2 또는 이의 항원-결합부일 수 있다. 항체 1 및 2의 서열 및 특성은 아래에 기재된다(또한 WO 제2011/041319호 및 US 제20110076232호(예를 들어, 도 55의 항체 서열 참조)를 참조하기 바람, 상기 출원문헌들은 이의 전문이 인용에 의해 본원에 포함됨). 항체 1 및 2 각각은 모든 상피세포 기원 암의 50%에 존재하는 상피세포 성장 인자 수용체(EGFR)의 과발현된 형태를 표적으로 한다.
- [0115] 본 발명의 특정 양태에서, 항-EGFR 항체 약물 접합체에 사용되는 항-EGFR 항체는 증폭된 야생형 EGFR 및 de2-7 EGFR을 인식한다. 항-EGFR 항체(또는 항-EGFR ADC)는 de2-7 EGFR 및 증폭된 EGFR을 인식하지만, de2-7 EGFR의 특징인 독특한 연결 펩티드 또는 정상의 야생형 EGFR은 인식하지 않는다는 점에서 유용한 특이성을 나타낸다. 이들 결합 특성을 갖는 항체의 예시는 항체 1, 항체 2 및 항체 3이다. 항체 1 및 항체 2에 대한 서열이 아래에 제공된다.
- [0116] 항체 2는 단일클론 무린 항-EGFR 항체이다. 항체 2 VH 쇠는 아래에 나타낸 바와 같은 핵산 서열(서열 번호 1) 및 신호 펩티드를 갖는 아미노산 서열(서열 번호 2)을 포함한다(신호 펩티드는 서열 번호 2에서 밑줄 그어져 있음).
- [0117] 서열 번호 1
- [0118] ATGAGAGTGTGATTCTTTTGTGGCTGTTCCACAGCCTTCTCTGGTGTCTGTCTGATGTGCAGTTCAGGAGTCGGGACCTAGCCTGGTAAAACCTTCTCAGTCTCTGTCCCTCACCTGCACTGCTACTGGCTACTCAATCACCAGTGATTTGCTGGAACGGATCCGGCAGTTCCAGGAAACAAGCTGGAGTGGATGGGC TACATAAGTTATAGTGGTAACACTAGGTACAACCCATCTCTCAAAGTCAATCTCTATCACTCGAGACACATCCAAGAACCAATCTCTCTGCAGTTGAAT TCTGTGACTATTGAGGACACAGCCACATATTACTGTGTAACGGCGGGACCGGGTTTCTTATTGGGGCCAAGGACTCTGGTCACTGTCTCTGCA
- [0119] 서열 번호 2
- [0120] MRVLILLWLFTFAPGVLSVQVQLQESGSPSLVKPSQSLTCTVTGYSITSDFAWNWIRQFPGNKLEWVWGYISYSGNTRYNPSLKRISITRDTSKNQFFLQLN SVTIEDTATYYCVTAGRGPFPYWGQGLVTVSA
- [0121] 항체 2 VL 쇠는 아래에 나타낸 바와 같은 핵산 서열(서열 번호 3) 및 아미노산 서열(서열 번호 4)을 포함한다 (신호 펩티드는 서열 번호 4에서 밑줄 그어져 있음).
- [0122] 서열 번호 3
- [0123] ATGGTGTCCACAGCTCAGTTCCTTGCATTCTTGTGCTTTGGTTTCCAGGTGCAAGATGTGACATCCTGATGACCAATCTCCATCCTCCATGTCTGTATCT CTGGGAGACACAGTCAGCATCACTTGCCATTCAGTCAGGACATTAACAGTAATATAGGGTGGTTGCAGCAGAGACCAGGAAATCATTAAAGGGCCTGATC TATCATGGAACCAACTTGGACGATGAAGTTCATCAAGTTCAGTGGCAGTGGATCTGGAGCCGATTATTCTCTCACCATCAGCAGCTGGAATCTGAAGAT TTTGCAGACTATTACTGTGTACAGTATGCTCAGTTTCCGTGGACGTTCCGGTGGAGGCACCAAGCTGGAATCAAACGT
- [0124] 서열 번호 4
- [0125] MVSTAQFLAFLLLWFPGARCDILMTQSPSSMSVSLGDTVSI TCHSSQDINSNIGWLQQRPGKSFKGLIYHGTNLDDEVPVSRFSGSGSGADYSLTISSELESD FADYYCVQYAFQFPWFVGGGKLEIKR
- [0126] 신호 펩티드를 갖지 않는 서열 번호 2의 VH 쇠 서열(서열 번호 11)에서 상보성 결정 영역 CDR1, CDR2 및 CDR3 (각각 서열 번호 5, 6 및 7)이 아래에서 밑줄로 표시된다. VH 쇠 서열(서열 번호 11)의 중요 잔기들은 24, 37, 48, 67 및 78이다.

- [0127] 서열 번호 11
- [0128] DVQLQESGSPSLVKPSQSLTCTVTGYSITSDFAWNWIRQFPGNKLEWWMGYISYSGNTR
- [0129] CDR1 CDR2
- [0130] YNPSLKSRSITRDTSKNQFFLQLNSVTIEDTATYYCVTAGRGFPYWGQGLVTVSA
- [0131] CDR3
- [0132] 신호 펩티드를 갖지 않는 서열 번호 4의 VH 쇠 서열(서열 번호 12)에서 상보성 결정 영역 CDR1, CDR2 및 CDR3 (각각 서열 번호 8, 9 및 10)이 아래에서 밑줄로 표시된다. VL 쇠 서열(서열 번호 12)의 중요 잔기들은 36, 46, 57 및 71이다.
- [0133] 서열 번호 12
- [0134] DILMTQSPSSMSVSLGDTVSITCHSSQDINSNIGWLQQRPGKSFKGLIYHGTLNLDDEVP  
SR
- [0135] CDR1 CDR2
- [0136] FSGSGSGADYSLTISSESEDFADYYCVQAQFPWTFGGGKLEIKR
- [0137] CDR3
- [0138] 항체 3은 항체 2의 경쇄 및 중쇄의 가변 도메인 및 사람 불변 영역을 포함하는 키메릭 항체이다.
- [0139] 본 발명의 하나의 양태에서, 본 발명의 제형 및 방법에 사용되는 항-EGFR 항체는 항체 1이다. 상기에 기재된 바와 같이, 항체 1은 항체 2의 CDR을 포함하는 사람화된 항-EGFR 항체이다. 항체 1의 중쇄 가변(VH) 및 불변(CH) 영역을 아래에서 각각 서열 번호 13 및 14로 나타낸다. VH 영역 CDR1, CDR2 및 CDR3(각각 서열 번호 15, 16 및 17)이 밑줄로 표시된다.
- [0140] 서열 번호 13
- [0141] QVQLQESGPGLVKPSQTLTCTVSGYSISSDFAWNWIRQPPGKLEWWMGYISYSGNTR
- [0142] CDR1 CDR2
- [0143] YQPSLKSRTISRDTSKNQFFLKLNSVTAADTATYYCVTAGRGFPYWGQGLVTVSS
- [0144] CDR3
- [0145] 서열 번호 14
- [0146] ASTKGPSVFLPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKS  
CDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC  
KVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV  
SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
- [0147] 항체 1의 경쇄 가변(VL) 및 불변(CL) 영역을 아래에서 각각 서열 번호 18 및 19로 나타낸다. VL 영역 CDR1, CDR2 및 CDR3(각각 서열 번호 20, 21 및 22)은 밑줄로 표시된다.
- [0148] 서열 번호 18
- [0149] DIQMTQSPSSMSVSGDRVTITCHSSQDINSNIGWLQKPKGKSFKGLIYHGTLNLDG  
VPS
- [0150] CDR1 CDR2
- [0151] RFSGSGSGTDYTLTISSLPEDFATYYCVQAQFPWTFGGGKLEIKR
- [0152] CDR3
- [0153] 서열 번호 19
- [0154] TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFPREAKVQWVKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSLSSITLTLTKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN  
RGEK
- [0155] 하나의 양태에서, 본 발명은 항-EGFR 항체 약물 접합체, 수크로스, 폴리소르베이트 80 및 히스티딘을 포함하는

동결건조된 제형을 특징으로 하고, 여기서, 상기 제형은 약 5 내지 7의 pH를 갖고, 상기 항-EGFR 항체 약물 접합체는 모노메틸 오리스타틴 F(MMAF)에 접합된 항-EGFR 항체 또는 이의 항원 결합부를 포함하고, 상기 항체는 서열 번호 15, 16 및 17에 제시된 아미노산 서열들을 포함하는 상보성결정 도메인 영역(CDR)들을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함하고, 서열 번호 20, 21 및 22에 제시된 아미노산 서열들을 포함하는 CDR들을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.

[0156] 하나의 양태에서, 본 발명은, 약 5 내지 7의 pH를 갖고, 서열 번호 13에 제시된 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역, 및 서열 번호 14에 제시된 아미노산 서열을 갖는 중쇄 불변 영역, 및 서열 번호 18에 제시된 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 영역, 및 서열 번호 19에 제시된 아미노산 서열을 갖는 경쇄 불변 영역을 포함하는 항체 또는 이의 항원-결합부를 포함하는 항-EGFR ADC, 히스티딘, 당, 예를 들어, 수크로스, 및 폴리소르베이트, 예를 들어, 폴리소르베이트 80을 포함하는 동결건조된 제형을 제공한다.

[0157] 하나의 양태에서, 본 발명은, 서열 번호 18의 아미노산 서열에 기재된 바와 같은 CDR들을 포함하는 경쇄 가변 영역, 서열 번호 13의 아미노산 서열에 기재된 바와 같은 CDR들을 포함하는 중쇄 가변 영역을 갖는 (오리스타틴, 예를 들어, MMAF에 접합된) 항-EGFR 항체를 포함하는 ADC를 포함하는 제형을 제공한다.

[0158] 항-EGFR 항체 약물 접합체 제조에 사용될 수 있는 항-EGFR 항체는 당해 기술분야에 공지된 임의의 적합한 방법에 의해 생성될 수 있다. 예를 들어, 단일클론 항체는, 예를 들어, 하이브리도마, 재조합 및 파지 디스플레이 기술 또는 이의 조합의 사용을 포함하는 매우 다양한 기술을 사용하여 제조될 수 있다. 하이브리도마 기술은, 예를 들어, 문헌[Harlow et al., *Antibodies: A Laboratory Manual*, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2nd ed., 1988); 및 Hammerling, et al., In *Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas*, pp. 563-681 (Elsevier, N.Y., 1981)]에 일반적으로 논의되어 있다. 항-CD70 항체 제조에 사용될 수 있는 파지 디스플레이 방법의 예에는, 예를 들어, 문헌[Brinkman et al., 1995, *J Immunol Methods* 182:41-50; Ames et al., 1995, *J Immunol Methods* 184:177-186; Kettleborough et al., 1994, *Eur J Immunol* 24:952-958; Persic et al., 1997, *Gene* 187:9-18; Burton et al., 1994, *Advances in Immunology* 57:191-280; PCT 출원 제PCT/GB91/01 134호; PCT 공보 WO 제90/02809호; WO 제91/10737호; WO 제92/01047호; WO 제92/18619호; WO 제93/11236호; WO 제95/15982호; WO 제95/20401호; 및 미국 특허 제5,698,426호; 제5,223,409호; 제5,403,484호; 제5,580,717호; 제5,427,908호; 제5,750,753호; 제5,821,047호; 제5,571,698호; 제5,427,908호; 제5,516,637호; 제5,780,225호; 제5,658,727호; 제5,733,743호 및 제5,969,108호(상기 문헌들의 개시 내용은 본원에 인용에 의해 포함됨)]에 개시된 것들이 포함된다.

[0159] 특이적 에피토프를 인식하는 항체 단편의 생성 기술이 또한 당해 기술분야에 일반적으로 공지되어 있다. 예를 들어, Fab 및 F(ab')<sub>2</sub> 단편은 (Fab 단편을 생성하기 위한) 파파인 또는 (F(ab')<sub>2</sub> 단편을 생성하기 위한) 펩신과 같은 효소를 사용하여 면역글로불린 분자의 단백질 분해성 개열에 의해 생성될 수 있다. F(ab')<sub>2</sub> 단편은 가변 영역, 경쇄 불변 영역 및 중쇄 CH1 도메인을 함유한다. 또한, 예를 들어, PCT 공보 WO 제92/22324호; 문헌[Mullinax et al., 1992, *BioTechniques* 12(6):864-869; 및 Sawai et al., 1995, *AJRI* 34:26-34; 및 Better et al., 1988, *Science* 240:1041-1043(상기 문헌들의 개시 내용은 본원에 인용에 의해 포함됨)]에 개시된 방법을 사용하는 Fab, Fab' 및 F(ab')<sub>2</sub> 단편의 재조합 생성 기술이 사용될 수 있다.

[0160] 단일-쇄 Fv 및 항체를 생성하는 데 사용될 수 있는 기술의 예에는 미국 특허 제4,946,778호 및 제5,258,498호; 문헌[Huston et al., 1991, *Methods in Enzymology* 203:46-88; Shu et al., 1993, *Proc Natl Acad Sci USA* 90:7995-7999; 및 Skerra et al., 1988, *Science* 240:1038-1040]에 기재된 것들이 포함된다.

[0161] 항체는 당업계에 공지된 다수의 기술들 중 어느 것에 의해 생성될 수 있다. 예를 들어, 중쇄 및 경쇄를 암호화하는 발현 벡터(들)를 표준 기술에 의해 숙주 세포 내로 형질감염시키는, 숙주 세포로부터의 발현이 있다. 용어 "형질감염"의 여러 형태들은 외인성 DNA의 원핵 또는 진핵 숙주 세포 내로의 도입에 흔히 사용되는 매우 다양한 기술들, 예를 들어, 전기 천공법, 칼슘-포스페이트 침전, DEAE-덱스트란 형질감염 등을 포괄하도록 의도된다.

[0162] 본 발명의 재조합 항체를 발현시키기 위한 포유동물 숙주 세포는 차이니즈 햄스터 난소 세포(CHO 세포)(예를 들어, 문헌[Kaufman and Sharp (1982) *J. Mol. Biol.* 159:601-621]에 기재된 바와 같은 DHFR 선택 마커와 함께 사용되는, 문헌[Urlaub and Chasin (1980) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:4216-4220]에 기재된 dhfr-CHO 세포를 포함함) 및 DG44 또는 DUXB11 세포(문헌[Urlaub et al. (1986) *Som. Cell Molec. Genet.* 12:555; Haynes et al. (1983) *Nuc. Acid. Res.* 11:687-706; Lau et al. (1984) *Mol. Cell. Biol.* 4:1469-1475]), NS0 골수종 세



포, 원숭이 신장 세포주(예를 들어, CVI 및 COS, 예를 들어, COS 7 세포), SP2 세포, 사람 배아 신장(HEK) 세포, 예를 들어, HEK-293 세포, 차이나이즈 햄스터 섬유아세포(예를 들어, R1610), 사람 경부 암종 세포(예를 들어, HELA), 무린 섬유아세포(예를 들어, BALBc/3T3), 무린 골수종 세포(P3x63-Ag3.653; NS0; SP2/O), 햄스터 신장 세포주(예를 들어, HAK), 무린 L 세포(예를 들어, L-929), 사람 림프구(예를 들어, RAJI), 사람 신장 세포(예를 들어, 293 및 293T)를 포함한다. 숙주 세포주는 전형적으로 (예를 들어, 미국 캔터키주 렉싱턴 소재의 비디 바이오사이언시스(BD Biosciences); 미국 위스콘신주 매디슨 소재의 프로메가(Promega); 미국 메릴랜드주 게이더스버그 소재의 라이프 테크놀로지즈(Life Technologies)로부터) 시판되거나 또는 미국 미생물 보존 센터(ATCC, 미국 버지니아주 머내서스 소재)로부터 구입가능하다.

[0163] 항체를 암호화하는 재조합 발현 벡터를 포유동물 숙주 세포 내로 도입할 때, 숙주 세포 내 항체의 발현 또는 숙주 세포가 성장하는 배양 배지 내로의 항체의 분비가 가능하도록 충분한 시간의 기간 동안 숙주 세포를 배양함으로써 항체를 생성한다. 항체는 표준 단백질 정제 방법을 사용하여 배양 배지로부터 회수될 수 있다.

[0164] 항체 재조합 발현을 위한 예시적 시스템에서, 항체 중쇄 및 항체 경쇄 둘 모두를 암호화하는 재조합 발현 벡터를 인산칼슘-매개성 형질감염에 의해 dhfr-CHO 세포 내로 도입한다. 재조합 발현 벡터 내에서, 항체 중쇄 및 경쇄 cDNA가 CMV 인핸서/AdMLP 프로모터 조절 요소들에 각각 작동적으로 연결되어 높은 수준의 cDNA 전사를 추진한다. 재조합 발현 벡터는 또한 DHFR을 암호화하는 cDNA를 가지며, 이는 메토포렉세이트 선택/증폭을 사용하여, 벡터로 형질감염된 CHO 세포의 선택을 가능하게 한다. 선택된 형질전환체 숙주 세포를 배양하여 항체 중쇄 및 경쇄의 발현을 가능하게 하고, 온전한 항체를 배양 배지로부터 회수한다. 표준 분자 생물학 기술을 사용하여 재조합 발현 벡터를 제조하고, 숙주 세포를 형질감염시키고, 형질전환체를 선택하고, 숙주 세포를 배양하고 항체를 배양 배지로부터 회수한다. 또한 추가로, 본 발명은 본 발명의 숙주 세포를 항체가 합성될 때까지 적합한 배양 배지 내에서 배양함으로써 항체를 합성하는 방법을 제공한다. 상기 방법은 항체를 배양 배지로부터 단리하는 단계를 추가로 포함할 수 있다.

[0165] 본 발명에 사용되는 항-EGFR 항체 약물 접합체는 세포독성제 또는 면역억제제에 접합된 항-EGFR 항체 또는 이의 항원 결합부를 포함하여, 그 결과로 생긴 ADC는 EGFR-발현 암세포에 대해 세포독성 또는 세포정지 효과를 발휘한다. 따라서, 항-EGFR 항체 약물 접합체는 EGFR-발현 암세포에 대해 세포독성 또는 세포정지 효과를 발휘한다. 하나의 양태에서, 항-EGFR ADC는 EGFR-발현 세포 내에 내재화 및 축적되고, 여기서, ADC는 치료 효과(예를 들어, 세포독성, 세포정지 또는 면역억제 효과)를 발휘한다.

[0166] 항체에의 접합에 적합한 모이어티의 예에는 화학요법제, 프로드럭 전환 효소, 방사성 동위원소 또는 화합물, 또는 독소가 포함된다. 예시적인 양태에서, 항-EGFR 항체 또는 이의 항원-결합부는 오리스타틴, 예를 들어, MMAF 또는 MMAE에 접합된다. 암세포 또는 활성화된 면역 세포 상에서 치료 효과를 발휘하는 임의의 약제가 항-EGFR 항체 또는 이의 유도체에의 접합을 위한 치료제로서 사용될 수 있다(예를 들어, WO 제2004/010957호, "Drug Conjugates and Their Use for Treating Cancer, An Autoimmune. Disease or an Infectious Disease"(상기) 및 미국 가출원 제60/400,403호(상기) 참조). 전형적으로, 치료제는 세포독성제이다. 일부 양태에서, 항-EGFR 약물 접합체는 접합체 1개당 하나를 초과하는 치료제, 예를 들어, 접합체 1개당 약 1 내지 약 20개의 치료제를 포함한다.

[0167] 바람직한 양태에서, 항-EGFR 항체 또는 이의 항원-결합부는 (하나 이상의) 오리스타틴에 접합된다. 오리스타틴은 미세관 동력학 특성, GTP 가수분해, 및/또는 핵 및 세포 분열을 방해하고 항암 및/또는 항진균 활성을 갖는 것으로 밝혀졌다.

[0168] 본 발명의 항-EGFR 항체는 적어도 하나의 오리스타틴에 접합될 수 있다. 오리스타틴은, 일반적으로 미세관 동력학 특성 및 GTP 가수분해를 방해하고 이에 의해 세포 분열을 억제함으로써 항암 활성을 갖는 것으로 밝혀진 돌라스타틴 유사체의 그룹을 나타낸다. 예를 들어, (본원에 인용에 의해 포함된 미국 특허 제5,635,483호에 기재된) 오리스타틴 E는 튜블린 상에서 항암 약물 빈크리스틴과 동일 부위에 결합함으로써 튜블린 중합을 억제하는 화합물인 해양 천연 생물물 돌라스타틴 10의 합성 유사체이다(문헌[G. R. Pettit, Prog. Chem. Org. Nat. Prod, 70: 1-79 (1997)]). 돌라스타틴 10, 오리스타틴 PE 및 오리스타틴 E는 4개의 아미노산을 갖는 직쇄 펩티드이며, 상기 아미노산들 중 3개의 아미노산은 돌라스타틴 부류 화합물들에 있어 독특한 것이다. 오리스타틴 하위부류 유사분열 억제제의 예시적 양태에는 모노메틸 오리스타틴 D(MMAD 또는 오리스타틴 D 유도체), 모노메틸 오리스타틴 E(MMAE 또는 오리스타틴 E 유도체), 모노메틸 오리스타틴 F(MMAF 또는 오리스타틴 F 유도체), 오리스타틴 F 페닐렌디아민(AFP), 오리스타틴 EB(AEB), 오리스타틴 EFP(AEFP) 및 5-벤조일발레르산-AE 에스테르(AEVB)가 포함되지만, 이에 제한되는 것은 아니다. 오리스타틴 유도체의 합성 및 구조는 미국 특허 출원 공보

제2003-0083263호, 제2005-0238649호 및 제2005-0009751호; 국제 특허 공보 WO 제04/010957호, 국제 특허 공보 WO 제02/088172호, 및 미국 특허 제6,323,315호; 제6,239,104호; 제6,034,065호; 제5,780,588호; 제5,665,860호; 제5,663,149호; 제5,635,483호; 제5,599,902호; 제5,554,725호; 제5,530,097호; 제5,521,284호; 제5,504,191호; 제5,410,024호; 제5,138,036호; 제5,076,973호; 제4,986,988호; 제4,978,744호; 제4,879,278호; 제4,816,444호; 및 제4,486,414호에 기재되어 있으며, 상기 문헌들 각각은 본원에 인용에 의해 포함된다.

[0169] 하나의 양태에서, 항-EGFR 항체, 예를 들어, 항체 1은, 이에 제한되는 것은 아니지만 말레이미도카프로일과 같은 링커에 의해 적어도 하나의 MMAF(모노메틸 오리스타틴 F)에 접합된다(mc-MMAF). MMAF의 구조가 도 2에 제공된다. 항-EGFR-항체 ADC는 2, 4, 6 또는 8의 약물-대-항체 비(DAR)를 가질 수 있다. 명백하게는, ADC의 DAR은 0 내지 8의 범위일 수 있지만, 이보다 더 높은 부하량, 예를 들어, 10도 가능하다. 모노메틸 오리스타틴 F(MMAF)는 튜블린의 중합을 차단함으로써 세포 분열을 억제한다. 이는 하전된 C-말단 페닐알라닌 잔기를 가지며, 상기 잔기는 이의 하전되지 않은 대응 MMAE와 비교하여 이의 세포독성 활성을 약화시킨다. 이의 독성으로 인해, 이는 약물 자체로서 사용될 수 없지만, 이를 암세포로 직접 유도하는 단일클론 항체(mAb)에 연결될 수 있다. 하나의 양태에서, 항-EGFR 항체에 대한 링커는 세포의 유체 내에서는 안정하지만, 일단 접합체가 종양 세포로 진입하면 카텝신에 의해 개열되고, 이에 따라 항-유사분열 메커니즘을 활성화시킨다.

[0170] 하나의 양태에서, 본 발명의 항-EGFR 항체는 적어도 하나의 MMAE(모노-메틸 오리스타틴 E)에 접합된다. MMAE의 구조가 도 1에 제공되며, 이는 MMAE를 포함하는 예시적인 ADC에서와 같다. 모노메틸 오리스타틴 E(MMAE, 베도틴)는 튜블린의 중합을 차단함으로써 세포 분열을 억제한다. 이의 극도의 독성으로 인해, 이것 또한 약물 자체로서 사용될 수 없다. 최근의 암 치료요법 개발에 있어서, 암세포내 특정 마커 발현을 인식하고 MMAE를 암세포로 유도하는 단일클론 항체(mAb)에 이를 연결시킨다. 하나의 양태에서, MMAE를 항-EGFR 항체에 연결시키는 링커는 세포의 유체(즉, 배지 또는 세포의 외부 환경) 내에서는 안정하지만, 일단 ADC가 특이적 암세포 항원에 결합하고 암세포로 진입하면 카텝신에 의해 개열되고, 이에 따라 독성 MMAE를 방출하고 강력한 항-유사분열 메커니즘을 활성화시킨다.

[0171] 하나의 양태에서, 항-EGFR 항체 또는 이의 항원-결합부는 MMAF인 오리스타틴에 접합된다. 하나의 양태에서, 항-EGFR ADC는 ADC 1-MMAF이다. ADC 1-MMAF는 모노메틸 오리스타틴 F(MMAF)(구조에 대해 도 2 참조)의 하나 이상의 분자에 공유 결합된(상기 및 서열 번호 13 내지 22에 기재된) 항체 1을 포함한다. ADC 1-MMAF를 생성하기 위해, 항체 1의 쇠간 이황화물 결합을 설피하이드릴 그룹으로 환원시킨다. 이어서 MMAF를 이들 설피하이드릴 그룹을 통해 항체에 커플링시킨다. ADC 1-MMAF를 비개열형 링커, 즉 도 2에 나타난 바와 같은 비개열형 말레이미도카프로일(mc) 연결기를 사용하여 생성한다.

[0172] 하나의 특정 양태에서, 본 발명의 제형은 검출가능한 또는 기능성인 표지로 표지되는 항-EGFR ADC를 포함한다. 검출가능한 표지는 방사성표지, 예를 들어, 동위원소 <sup>2</sup>H, <sup>3</sup>H, <sup>11</sup>C, <sup>13</sup>C, <sup>14</sup>C, <sup>32</sup>P, <sup>33</sup>S, <sup>34</sup>S, <sup>35</sup>S, <sup>36</sup>S, <sup>36</sup>Cl, <sup>51</sup>Cr, <sup>57</sup>Co, <sup>58</sup>Co, <sup>59</sup>Fe, <sup>90</sup>Y, <sup>121</sup>I, <sup>124</sup>I, <sup>125</sup>I, <sup>131</sup>I, <sup>211</sup>At, <sup>198</sup>Au, <sup>67</sup>Cu, <sup>225</sup>Ac, <sup>213</sup>Bi, <sup>99</sup>Tc 및 <sup>186</sup>Re를 포함하지만, 이에 제한되는 것은 아니고, 상기 표지는 항체 이미징 기술에 공지된 통상의 화학을 사용하여 본 발명의 항체에 부착될 수 있다. 표지는 또한 형광 표지 및 MRI-CT 이미징 기술에서 통상적으로 사용되는 표지를 포함한다. 이들은 또한 호스래디슈 퍼옥시다제와 같은 효소 표지를 포함한다. 표지는 추가로, 특정한 동계의 검출가능한 모이어티, 예를 들어, 표지된 아비딘에의 결합을 통해 검출될 수 있는, 비오틴과 같은 화학적 모이어티를 포함한다.

[0173] 기능성 표지는 또한 종양 위치를 표적화하여 종양 조직의 파괴를 야기하도록 설계된 물질을 포함할 수 있다. 이러한 기능성 표지는 5-플루오로우라실 또는 리신과 같은 세포독성 약물, 및 종양 위치에서 프로드럭을 활성 약물로 전환시킬 수 있는 세균성 카복시펩티다제 또는 니트로리덕타제와 같은 효소를 포함한다.

[0174] 당해 기술분야의 숙련가에 의해 이해되는 바와 같이, 상기에 기재된 약제 뿐만 아니라 다른 적합한 약제도 임의의 적합한 방식으로 항-EGFR 항체, 예를 들어, 항체 1에 접합되거나 부착되어 본 발명에 유용한 항-EGFR ADC를 생성할 수 있다. 예를 들어, 그리고 비제한적으로, 본 발명의 다수의 양태에서, 항-EGFR 항체 및 약제(들)를 링커, 스페이서 및/또는 스트레처(stretcher) 화합물을 사용하여 공유적으로 부착할 수 있고/있거나 접합할 수 있고, 상기 화합물은 본 발명의 다수의 양태에서 개열형 또는 비개열형이고, 치료제(들)가 표적 세포에 의해 내재화되게 한다.

[0175] 하나의 양태에서, 항체 1은 비개열형 말레이미도카프로일 연결기를 사용하여 MMAF에 접합된다(항체 1-mc-MMAF).

[0176] 치료제를 단백질에, 그리고 특히 항체에 접합시키는 기술은 익히 공지되어 있다(예를 들어, 문헌[Arnon et al., "Monoclonal Antibodies For Immunotargeting Of Drugs In Cancer Therapy," in Monoclonal Antibodies and

Cancer Therapy (Reisfeld et al. eds., Alan R. Liss, Inc., 1985); Hellstrom et al., "Antibodies For Drug Delivery," in Controlled Drug Delivery (Robinson et al. eds., Marcel Dekker, Inc., 2nd ed. 1987); Thorpe, "Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy: A Review," in Monoclonal Antibodies '84: Biological and Clinical Applications (Pinchera et al. eds., 1985); "Analysis, Results, and Future Prospective of the Therapeutic Use of Radiolabeled Antibody In Cancer Therapy," in Monoclonal Antibodies For Cancer Detection and Therapy (Baldwin et al. eds., Academic Press, 1985); 및 Thorpe et al., 1982, Immunol. Rev. 62:119-58] 및 예를 들어 PCT 공보 WO 89/12624호 참조).

[0177] 하나의 양태에서, ADC는 세포독성제와 항체 사이에 링커 영역을 포함한다. 예를 들어, 이러한 링커, 스페이서 및/또는 스트레처 화합물에는 다음의 것들이 포함되지만, 이에 제한되는 것은 아니다: 아미노 벤조산 스페이서 (예를 들어, 그리고 비제한적으로, 미국 특허 제7,091,186호 및 제7,553,816호를 참조하기 바라며, 상기 특허문헌 각각은 이의 전문이 인용에 의해 본원에 포함됨); 말레이미도카프로일; p-아미노벤질카바모일(PAB); 리소좀 효소-개열형 링커(예를 들어, 그리고 비제한적으로, 미국 특허 제6,214,345호를 참조하기 바라며, 상기 특허문헌은 이에 의해 이의 전문이 인용에 의해 포함됨); 말레이미도카프로일-폴리에틸렌 20 글리콜(MC(PEG)6-OH); N-메틸-발린 시트룰린; N-석신이미딜 4-(N-말레이미도메틸) 사이클로헥산-1-카복실레이트(SMCC)(예를 들어, 그리고 비제한적으로, 문헌[Yoshitake et al. (1979) Eur. J. Biochem., 101, 395-399]을 참조하기 바라며, 상기 문헌은 이에 의해 이의 전문이 인용에 의해 포함됨); N-석신이미딜 4-(2-피리딜티오) 부타노에이트(SPDB)(예를 들어, 그리고 비제한적으로, 미국 특허 제4,563,304호를 참조하기 바라며, 상기 특허문헌은 이에 의해 이의 전문이 참조 25로 포함됨); N-석신이미딜 4-(2-피리딜티오)펜타노에이트(SPP); 발린-시트룰린; 및 다른 링커, 스페이서 및/또는 스트레처 화합물(예를 들어, 그리고 비제한적으로, 미국 특허 제7,090,843호, 제7,223,837호 및 제7,659,241호 및 미국 특허 공보 제2004/0018194호, 제2004/0121940호, 제2006/0116422호, 제2007/0258987호, 제2008/0213289호, 제2008/0241128호, 제2008/0311136호, 제2008/0317747호 및 제2009/0010945호를 참조하기 바라며, 상기 특허문헌 각각은 이에 의해 이의 전문이 인용에 의해 포함됨). 일반적으로 말하면, 상기에 기술된 약제 뿐만 아니라 다른 약제들을 본 발명의 특정 결합 구성원, 특히 이의 항체 및 단편에 부착하고/하거나 접합하는 기술은 당해 기술분야에 공지되어 있다. 예를 들어, 그리고 비제한적으로, 문헌[Amon et al., "Monoclonal Antibodies For Immunotargeting Of Drugs In Cancer Therapy", in Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Reisfeld et al. (eds.), pp. 243-56 (Alan R. Liss, Inc. 1985); Hellstrom et al., "Antibodies For Drug Delivery", in Controlled Drug Delivery (2nd Ed.), Robinson et al. (eds.), pp. 623-53 (Marcel Dekker, Inc. 1987); Thorpe, "Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy: A Review", In Monoclonal Antibodies '84: Biological and Clinical Applications, Pinchera et al. (eds.), pp. 475-506 (1985); "Analysis, Results, and Future Prospective Of The Therapeutic Use Of Radiolabeled Antibody In Cancer Therapy", in Monoclonal Antibodies For Cancer Detection and Therapy, Baldwin et al. (eds.), pp. 303-16 (Academic Press 1985), 및 Thorpe et al., "The Preparation and Cytotoxic Properties Of Antibody-Toxin Conjugates", Immunol. Rev., 62:119-58 (1982)]을 참조하기 바라며, 상기 문헌들 각각은 이에 의해 이의 전문이 인용에 의해 포함된다.

[0178] 많은 상이한 반응들이 약물의 항체에의 공유결합 부착에 사용될 수 있다. 이는 종종 리신의 아민 그룹, 글루탐산 및 아스파르트산의 유리 카복실산 그룹, 시스테인의 설프하이드릴 그룹 및 방향족 아미노산의 각종 모이어티를 포함하여 항체 분자의 아미노산 잔기의 반응에 의해 달성된다. 가장 흔히 사용되는 비특정의 공유결합 부착 방법 중 하나는 화합물의 카복시(또는 아미노) 그룹을 항체의 아미노(또는 카복시) 그룹에 연결하기 위한 카보디이미드 반응이다. 추가로, 디알데하이드 또는 이미도에스테르와 같은 2관능성 성분을 사용하여 화합물의 아미노 그룹을 항체 분자의 아미노 그룹에 연결시켰다. 또한 슈프(Schiff) 염기 반응도 약물의 항체 부착에 이용 가능하다. 이 방법은 글리콜 또는 하이드록시 그룹을 함유하는 약물의 페리오데이트 산화를 수반하며, 이에 따라 알데하이드가 형성되고, 상기 알데하이드가 이어서 항체 분자와 반응한다. 부착은 항체 분자의 아미노 그룹에 의한 슈프 염기의 형성을 통해 일어난다. 이소티오시아네이트가 또한 약물의 항체에의 공유결합 부착을 위한 커플링제로서 사용될 수 있다. 다른 기술들이 당해 기술분야의 숙련가에게 공지되어 있으며 본 발명의 범위 내에서 있다. 이러한 기술들의 비제한적인 예는, 예를 들어, 미국 특허 제5,665,358호; 제5,643,573호; 및 제5,556,623호에 기재되어 있고, 상기 특허문헌들은 이의 전문이 본원에 인용에 의해 포함된다.

[0179] 특정 양태에서, 링커의 전구체인 중간체가 적합한 조건하에서 약물과 반응한다. 특정 양태에서, 반응성 그룹들이 약물 및/또는 중간체 상에서 사용된다. 약물과 중간체 사이의 반응 생성물 또는 유도체화된 약물이 후속적으로 적합한 조건하에서 항-EGFR 항체와 반응한다.



- [0180] 접합 방법의 다른 예가 미국 특허 제7,837,980호(시애틀 제네틱스(Seattle Genetics)), 문헌[Carter and Senter (2008) Cancer J, 14(3):154], 뿐만 아니라 미국 출원 공보 제2004-0157782 A1호 및 제2005-0238649호 및 국제 특허 출원 제PCT/US04/038392호에 기재되어 있다.
- [0181] 특정 양태에서, 항-EGFR ADC를 정제하여 원하는 약물 대 항체 비(DAR)를 갖는 ADC를 수득할 수 있다. 본 발명의 하나의 양태에서, 제형은 원하는 평균 약물 대 항체 비(DAR), 예를 들어, 약 3의 평균 DAR을 갖는 항-EGFR ADC들을 포함하는 항-EGFR ADC 혼합물을 함유한다. 본 발명의 하나의 양태에서, 제형은 원하는 DAR 범위, 예를 들어, 약 2 내지 4의 DAR을 갖는 항-EGFR ADC들을 포함하는 ADC 혼합물을 포함한다.
- [0182] 하나의 양태에서, 제형은, 존재하는 ADC들 중 70%가 4 이하의 약물 부하된 종을 갖고, ADC가 항-EGFR 항체 및 오리스타틴을 포함하는, ADC 혼합물을 함유한다. 대안적으로, 존재하는 ADC들의 75%가 4 이하의 약물 부하된 종을 갖거나; 존재하는 ADC들의 80%가 4 이하의 약물 부하된 종을 갖거나; 존재하는 ADC들의 85%가 4 이하의 약물 부하된 종을 갖거나; 존재하는 ADC들의 90%가 4 이하의 약물 부하된 종을 갖거나; 또는 존재하는 ADC들의 95%가 4 이하의 약물 부하된 종을 갖는다.
- [0183] 본 발명의 하나의 양태에서, 제형은 모노메틸 오리스타틴 F(MMAF)에 접합된 항-EGFR 항체 또는 이의 항원-결합부를 포함하는 항-EGFR ADC(여기서, 상기 ADC 1-MMAF는 서열 번호 15, 16 및 17에 제시된 아미노산 서열들을 포함하는 상보성결정 도메인 영역(CDR)들을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함하고, 서열 번호 20, 21 및 22에 제시된 아미노산 서열들을 포함하는 CDR들을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함함), 수크로스, 히스티딘 및 폴리소르베이트 80을 포함하고, 상기 제형은 약 3의 평균 DAR을 갖는 ADC 혼합물 또는 약 2 내지 4의 DAR을 갖는 ADC 혼합물을 포함한다. 본 발명의 추가의 양태에서, 제형은 동결건조된다. 다른 추가의 양태에서, 항-EGFR 항체는 말레이미도카프로일 링커를 통해 MMAF에 연결된다. 또 다른 추가의 양태에서, 항-EGFR 항체 또는 이의 항원-결합부는 서열 번호 13에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및 서열 번호 18에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.
- [0184] 하나의 양태에서, 제형은 모노메틸 오리스타틴 E(MMAE)에 접합된 항-EGFR 항체 또는 이의 항원-결합부를 포함하는 항-EGFR ADC(여기서, 상기 ADC 1-MMAE는 서열 번호 15, 16 및 17에 제시된 아미노산 서열들을 포함하는 상보성결정 도메인 영역(CDR)들을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함하고, 서열 번호 20, 21 및 22에 제시된 아미노산 서열들을 포함하는 CDR들을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함함), 수크로스, 히스티딘 및 폴리소르베이트 80을 포함하고, 상기 제형은 약 3의 평균 DAR을 갖는 ADC 혼합물 또는 약 2 내지 4의 DAR을 갖는 ADC 혼합물을 포함한다. 본 발명의 추가의 양태에서, 제형은 동결건조된다. 또 다른 추가의 양태에서, 항-EGFR 항체 또는 이의 항원-결합부는 서열 번호 13에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및 서열 번호 18에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.
- [0185] ADC의 정제는 특정 DAR을 갖는 ADC가 수집되도록 하는 방식으로 성취될 수 있다. 예를 들어, HIC 수지를 사용하여, 최적 약물 대 항체 비(DAR), 예를 들어, 4 이하의 DAR을 갖는 ADC로부터 고 약물 부하 ADC를 분리할 수 있다. 하나의 양태에서, 소수성 수지를 ADC 혼합물에 첨가하여, 원치 않는 ADC, 즉 약물 부하량이 더 높은 ADC를 수지에 결합시키고 혼합물로부터 선택적으로 제거할 수 있다. 특정 양태에서, ADC의 분리는 ADC 혼합물(예를 들어, 4개 이하의 ADC의 약물 부하된 종 및 6 이상의 ADC의 약물 부하된 종을 포함하는 혼합물)을 소수성 수지와 접촉시킴으로써 성취될 수 있고, 상기 수지의 양은 ADC 혼합물로부터 제거될 약물 부하된 종의 결합을 가능하게 하기에 충분하다. 수지 및 ADC 혼합물을 함께 혼합하여, 제거될 ADC 종(예를 들어, 6 이상의 약물 부하된 종)을 수지에 결합시키고 ADC 혼합물 중의 다른 ADC 종으로부터 분리할 수 있다. 당해 방법에서 사용되는 수지의 양은 제거될 종과 수지 사이의 중량비를 기준으로 하며, 사용되는 수지의 양은 원하는 약물 부하된 종의 유의한 결합을 허용하지 않는다. 따라서, 당해 방법을 사용하여 평균 DAR을 5.5 내지 4 미만으로 감소시킬 수 있다. 또한, 정제 방법을 사용하여 임의의 원하는 범위의 약물 부하된 종들, 예를 들어, 4 이하의 약물 부하된 종들, 3 이하의 약물 부하된 종들, 2 이하의 약물 부하된 종들, 1 이하의 약물 부하된 종들을 갖는 ADC를 분리할 수 있다.
- [0186] 특정 종들의 분자(들)가 당해 종들과 소수성 수지 사이의 소수성 상호작용에 기초하여 표면에 결합한다. 하나의 양태에서, 본 발명의 방법은 소수성 수지와 ADC 혼합물의 상호혼합에 의존하는 정제 공정에 관한 것으로, 상기 혼합물에 첨가되는 수지의 양은 결합될 종들(예를 들어, 6 이상의 DAR을 갖는 ADC)을 결정한다. 발현 시스템(예를 들어, 포유동물 발현 시스템)으로부터의 항체의 제조 및 정제 후, 항체를 환원시키고 접합 반응을 통해 약물에 결합시킨다. 수득되는 ADC 혼합물은 종종 소정 범위의 DAR, 예를 들어, 1 내지 8의 DAR을 갖는 ADC를 함유한다. 하나의 양태에서, ADC 혼합물은 4 이하의 약물 부하된 종들 및 6 이상의 약물 부하된 종들을 포함한



다. 본 발명의 방법에 따르면, 이에 제한되는 것은 아니지만 बै치식(batch) 공정과 같은 공정을 사용하여 4 이하의 약물 부하된 종들을 갖는 ADC를 선별하고 이를 더 높은 약물 부하를 갖는 ADC(예를 들어, 6 이상의 약물 부하된 종들을 갖는 ADC)로부터 분리하여 ADC 혼합물을 정제할 수 있다. 명백하게는, 본원에 기재된 정제 방법을 사용하여 임의의 원하는 범위의 DAR, 예를 들어, 4 이하의 DAR, 3 이하의 DAR, 2 이하의 DAR을 갖는 ADC를 분리할 수 있다.

[0187] 따라서, 하나의 양태에서, 4 이하의 약물 부하된 종들 및 6 이상의 약물 부하된 종들을 포함하는 ADC 혼합물을 소수성 수지와 접촉시켜 수지 혼합물을 형성하고(여기서, ADC 혼합물과 접촉되는 소수성 수지의 양은 6 이상의 약물 부하된 종들의 수지에의 결합을 허용하기에 충분하지만 4 이하의 약물 부하된 종들의 유의한 결합은 허용하지 않음); 상기 소수성 수지를 상기 ADC 혼합물로부터 제거하여, ADC를 포함하는 조성물을 획득할 수 있고, 여기서, 상기 조성물은 6 이상의 약물 부하된 종들을 15% 미만으로 포함하고, 상기 ADC는 오리스타틴에 접합된 항체를 포함한다. 별개 양태에서, 당해 방법은 4 이하의 약물 부하된 종들 및 6 이상의 약물 부하된 종들을 포함하는 ADC 혼합물을 소수성 수지와 접촉시켜 수지 혼합물을 형성하고(여기서, ADC 혼합물과 접촉되는 소수성 수지의 양은 6 이상의 약물 부하된 종들의 수지에의 결합을 허용하기에 충분하지만 4 이하의 약물 부하된 종들의 유의한 결합은 허용하지 않음); 상기 소수성 수지를 상기 ADC 혼합물로부터 제거하여, ADC를 포함하는 조성물을 획득하는 단계를 포함할 수 있고, 여기서, 상기 조성물은 6 이상의 약물 부하된 종들을 15% 미만으로 포함하고, 상기 ADC는 오리스타틴에 접합된 항체를 포함하며, 상기 소수성 수지 중량은 ADC 혼합물 중의 6 이상의 약물 부하된 종들의 중량의 3 내지 12배이다.

[0188] ADC 분리 방법은 बै치식 정제 방법을 사용하여 수행될 수 있다. बै치식 정제 공정은 일반적으로, 용기 내에서 ADC 혼합물을 소수성 수지에 첨가하고, 혼합하고, 후속적으로 상청액으로부터 수지를 분리하는 단계를 포함한다. 예를 들어, बै치식 정제의 맥락에서, 소수성 수지를 원하는 평형 완충액 중에서 제조하거나 상기 완충액에 평형화시킬 수 있다. 이렇게 하여 소수성 수지의 슬러리를 획득할 수 있다. 이어서 ADC 혼합물을 상기 슬러리와 접촉시켜, 소수성 수지에 의해 분리될 ADC(들)의 특정 종들을 흡착시킬 수 있다. 이어서 소수성 수지 물질에 결합하지 않은 원하는 ADC를 포함하는 용액을, 예를 들어, 여과에 의해 또는 슬러리의 침적 및 상청액 제거에 의해 슬러리로부터 분리할 수 있다. 획득된 슬러리를 하나 이상의 세척 단계에 적용할 수 있다. 결합된 ADC를 용리시키기 위해, 염 농도를 감소시킬 수 있다. 하나의 양태에서, 본 발명에 사용되는 공정은 50g 이하의 소수성 수지를 포함한다.

[0189] 따라서, बै치식 방법을 사용하여 4 이하의 약물 부하된 종들 및 6 이상의 약물 부하된 종들을 포함하는 ADC 혼합물을 소수성 수지와 접촉시켜 수지 혼합물을 형성하고(여기서, ADC 혼합물과 접촉되는 소수성 수지의 양은 6 이상의 약물 부하된 종들의 수지에의 결합을 허용하기에 충분하지만 4 이하의 약물 부하된 종들의 유의한 결합은 허용하지 않음); 상기 소수성 수지를 상기 ADC 혼합물로부터 제거하여, ADC를 포함하는 조성물을 획득하고, 여기서, 상기 조성물은 6 이상의 약물 부하된 종들을 15% 미만으로 포함하고, 상기 ADC는 오리스타틴에 접합된 항체를 포함한다. 별개 양태에서, बै치식 방법을 사용하여 4 이하의 약물 부하된 종들 및 6 이상의 약물 부하된 종들을 포함하는 ADC 혼합물을 소수성 수지와 접촉시켜 수지 혼합물을 형성하고(여기서, ADC 혼합물과 접촉되는 소수성 수지의 양은 6 이상의 약물 부하된 종들의 수지에의 결합을 허용하기에 충분하지만 4 이하의 약물 부하된 종들의 유의한 결합은 허용하지 않음); 상기 소수성 수지를 상기 ADC 혼합물로부터 제거하여, ADC를 포함하는 조성물을 획득하고, 여기서, 상기 조성물은 6 이상의 약물 부하된 종들을 15% 미만으로 포함하고, 상기 ADC는 오리스타틴에 접합된 항체를 포함하며, 상기 소수성 수지 중량은 ADC 혼합물 중의 6 이상의 약물 부하된 종들의 중량의 3 내지 12배이다.

[0190] 대안적으로, 정제 방법은 순환식 공정을 사용하여 수행될 수 있는데, 상기 공정에 의하면, 수지를 용기에 패킹시키고, 분리될 ADC(들)의 특정 종들이 제거될 때까지 ADC 혼합물을 소수성 수지 층 위에 통과시킨다. 이어서 (원하는 ADC 종들을 함유하는) 상청액을 용기로부터 펌핑하고, 수지 층을 세척 단계에 적용할 수 있다.

[0191] 순환식 공정을 사용하여 또한 4 이하의 약물 부하된 종들 및 6 이상의 약물 부하된 종들을 포함하는 ADC 혼합물을 소수성 수지와 접촉시켜 수지 혼합물을 형성하고(여기서, ADC 혼합물과 접촉되는 소수성 수지의 양은 6 이상의 약물 부하된 종들의 수지에의 결합을 허용하기에 충분하지만 4 이하의 약물 부하된 종들의 유의한 결합은 허용하지 않음); 상기 소수성 수지를 상기 ADC 혼합물로부터 제거하여, ADC를 포함하는 조성물을 획득하고, 여기서, 상기 조성물은 6 이상의 약물 부하된 종들을 15% 미만으로 포함하고, 상기 ADC는 오리스타틴에 접합된 항체를 포함한다. 별개 양태에서, 순환식 공정을 사용하여 4 이하의 약물 부하된 종들 및 6 이상의 약물 부하된 종들을 포함하는 ADC 혼합물을 소수성 수지와 접촉시켜 수지 혼합물을 형성하고(여기서, ADC 혼합물과 접촉되는 소수성 수지의 양은 6 이상의 약물 부하된 종들의 수지에의 결합을 허용하기에 충분하지만 4 이하의 약물 부하

된 종들의 유의한 결합은 허용하지 않음); 상기 소수성 수지를 상기 ADC 혼합물로부터 제거하여, ADC를 포함하는 조성물을 수득하고, 여기서, 상기 조성물은 6 이상의 약물 부하된 종들을 15% 미만으로 포함하고, 상기 ADC는 오리스타틴에 접합된 항체를 포함하며, 상기 소수성 수지 중량은 ADC 혼합물 중의 6 이상의 약물 부하된 종들의 중량의 3 내지 12배이다.

[0192] 대안적으로, 정제는 유동 관통식 공정을 사용하여 수행될 수 있는데, 상기 공정에 의하면, 수지를 용기, 예를 들어, 컬럼에 패키징시키고, 상기 패키징된 수지 위에 ADC 혼합물을 통과시켜, 원하는 ADC 종들은 수지에 실질적으로 결합하지 않고 수지를 관통하여 유동하고, 원치 않는 ADC 종들은 수지에 결합되도록 한다. 유동 관통식 공정은 단일 통과 방식으로(관심 ADC 종들이 용기내 수지의 단일 통과 결과로 수득됨) 또는 다중-통과 방식으로(관심 ADC 종들이 용기내 수지의 다중 통과 결과로 수득됨) 수행될 수 있다. 유동 관통식 공정은, 선택된 수지 중량은 원치 않는 ADC 군집에 결합하고, 원하는 ADC(예를 들어, DAR 2 내지 4)는 수지 상에서 유동하여 1회 또는 복수회 통과 후 유동 관통물 내에서 수집되도록 수행된다.

[0193] 본 발명의 하나의 양태에서, 유동 관통식 공정을 사용하여 4 이하의 약물 부하된 종들 및 6 이상의 약물 부하된 종들을 포함하는 ADC 혼합물을 소수성 수지와 접촉시킬 수 있고(여기서, ADC 혼합물과 접촉되는 소수성 수지의 양은 6 이상의 약물 부하된 종들의 수지에의 결합을 허용하기에 충분하지만 4 이하의 약물 부하된 종들의 유의한 결합은 허용하지 않음), 상기 4 이하의 약물 부하된 종들은 수지를 통과하고 1회 또는 복수회 통과 후 후속적으로 수집되어, 원하는 ADC(예를 들어, DAR 2 내지 4)를 포함하는 조성물을 수득할 수 있고, 여기서, 상기 조성물은 6 이상의 약물 부하된 종들을 15% 미만으로 포함하고, 상기 ADC는 오리스타틴에 접합된 항체를 포함한다. 별개 양태에서, 유동 관통식 공정을 사용하여 4 이하의 약물 부하된 종들 및 6 이상의 약물 부하된 종들을 포함하는 ADC 혼합물을 소수성 수지에 통과시킴으로써 ADC 혼합물을 수지와 접촉시키고(여기서, ADC 혼합물과 접촉되는 소수성 수지의 양은 6 이상의 약물 부하된 종들의 수지에의 결합을 허용하기에 충분하지만 4 이하의 약물 부하된 종들의 유의한 결합은 허용하지 않음), 상기 4 이하의 약물 부하된 종들은 수지를 통과하고 후속적으로 수집되어, ADC를 포함하는 조성물을 수득하고, 여기서, 상기 조성물은 6 이상의 약물 부하된 종들을 15% 미만으로 포함하고, 상기 ADC는 오리스타틴에 접합된 항체를 포함하며, 상기 소수성 수지 중량은 ADC 혼합물 중의 6 이상의 약물 부하된 종들의 중량의 3 내지 12배이다.

[0194] 정제 방법은 소수성 수지를 사용하여 ADC의 높은 약물 부하된 종들과 낮은 약물 부하된 종들을 분리하는 것에 기초할 수 있다. 소수성 수지는 ADC의 소수성 성질과 상호작용하는 소수성 그룹들을 포함한다. ADC 상의 소수성 그룹들이 소수성 수지 내의 소수성 그룹들과 상호작용한다. 단백질의 소수성이 클수록 상기 단백질은 소수성 수지와 더 강하게 상호작용할 것이다.

[0195] 소수성 수지는 보통 기본 매트릭스(예를 들어, 가교결합된 아가로스 또는 합성 공중합체 물질)를 포함하고, 상기 매트릭스에 소수성 리간드(예를 들어, 알킬 또는 아릴 그룹)가 결합한다. 다수의 소수성 수지가 시판된다. 이의 예에는 저치환 또는 고치환 Pheny Sepharose™ 6 Fast Flow(스웨덴 소재 Pharmacia LKB Biotechnology, AB); Pheny Sepharose™ High Performance(스웨덴 소재 Pharmacia LKB Biotechnology, AB); Octyl Sepharose™ High Performance(스웨덴 소재 Pharmacia LKB Biotechnology, AB); Fractogel™ EMD Propyl 또는 Fractogel™ EMD Phenyl 컬럼(독일 소재 이. 머크(E. Merck)); Macro-Prep™ Methyl 또는 Macro-Prep™. t-Butyl Supports(미국 캘리포니아주 소재 바이오-레드(Bio-Rad)); WP HI-Propyl (C<sub>3</sub>)™(미국 뉴저지주 소재 제이. 티. 베이커(J. T. Baker)); 및 Toyopearl™ 에테르, 핵실, 페닐 또는 부틸(미국 펜실베이니아주 소재 토소하스(TosoHaas))이 포함되지만, 이에 제한되는 것은 아니다. 하나의 양태에서, 소수성 수지는 부틸 소수성 수지이다. 또 다른 양태에서, 소수성 수지는 페닐 소수성 수지이다. 또 다른 양태에서, 소수성 수지는 핵실 소수성 수지, 옥틸 소수성 수지, 또는 데실 소수성 수지이다. 하나의 양태에서, 소수성 수지는 n-부틸 리간드를 갖는 메타크릴 중합체(예를 들어, TOYOPEARL® Butyl-600M)이다.

[0196] 개별적인 저 및 고 DAR ADC의 추가의 정제 방법이 2014년 3월 14일자로 출원된 미국 출원 제14/210,602호 및 미국 가출원 제61/792,834호에 개시되어 있으며, 상기 출원문헌의 기재내용은 인용에 의해 본원에 포함된다.

[0197] **IV. 제형 용도**

[0198] 본 발명의 방법에 따르면, 항-EGFR ADC를 포함하는 제형은 항-EGFR 항체 또는 항-EGFR-ADC를 사용하는 치료를 필요로 하는 장애를 갖는(또는 상기 장애를 가질 위험이 있는) 대상체에게 투여된다. 항-EGFR ADC를 포함하는 제형은 항-EGFR 항체를 사용하는 치료를 필요로 하는 장애의 예방 또는 치료에서 단독으로 또는 다른 조성물과 조합되어 투여될 수 있다.

- [0199] 본원에서 사용되는 용어 "EGFR 활성이 유해 효과를 미치는 장애"는 장애를 앓고 있는 대상체에서 EGFR의 존재가 해당 장애의 병태생리의 원인 또는 해당 장애의 악화에 기여하는 요인인 것으로 밝혀졌거나 의심되는 질환 및 다른 장애를 포함하는 것으로 의도된다. 따라서, EGFR 활성이 유해 효과를 미치는 장애는 EGFR 활성의 억제가 장애의 증상 및/또는 진행을 완화시킬 것으로 기대되는 장애이다. 이러한 장애는, 예를 들어, 장애를 앓고 있는 대상체로부터의 생물학적 시료 내에 존재하는 EGFR의 활성의 증가 또는 EGFR의 양의 증가(예를 들어, 조직 시료 내의, 대상체의 혈청, 혈장, 관절 낭액 등 내의 EGFR의 농도 증가)에 의해 입증될 수 있으며, 이는, 예를 들어, 항-EGFR 항체를 사용하여 검출될 수 있다.
- [0200] 본 발명의 제형은 암을 치료하는 데 사용될 수 있다. 치료될 수 있는 암의 예에는 교아종, 비-소세포 폐암, 폐암, 결장암, 두경부암, 유방암, 편평상피 세포 종양, 항문암, 피부암 및 외음부암이 포함되지만, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0201] 하나의 양태에서, ADC1-MMAF를 포함하는 제형은 결장직장암, 두경부암(하인두암, 구인두암, 식도암, 후두암 및 구강암을 포함하지만, 이에 제한되는 것은 아님), 췌장암 및 위암의 치료를 위해 대상체에게 투여될 수 있다. 본 발명의 하나의 양상에서, ADC1-MMAF를 포함하는 제형은 상피세포 성장 인자 수용체(EGFR) 과발현 가능성이 있는 고형 종양, 편평상피 비-소세포 폐암(NSCLC) 또는 다형 교아종의 치료를 위해 대상체에게 투여된다. 본 발명의 조성물로 치료될 수 있는 이러한 암의 추가의 예에는 편평상피 종양(폐, 두경부, 자궁 등의 편평상피 종양을 포함함), 교아종, 신경교종, 비-소세포 폐암, 폐암, 결장암, 두경부암, 유방암, 편평상피 세포 종양, 항문암, 피부암 및 외음부암이 포함된다.
- [0202] 항-EGFR ADC의 독특한 특이성은 종래 기술에 공지된 EGFR 항체에서 볼 수 있는 정상 조직 흡수와 관련된 문제점을 갖지 않으면서, 많은 종양형성성 세포 타입 및 종양 타입, 예를 들어, 이에 제한되는 것은 아니지만, 교아종, 비-소세포 폐암, 폐암, 결장암, 두경부암, 유방암, 편평상피 세포 종양, 항문암, 피부암 및 외음부암을 식별하거나, 확인하거나, 표적화하고 치료하거나, 감소시키거나 제거하기 위한 진단 및 치료 용도를 제공한다. 따라서, EGFR을 (예를 들어, 돌연변이 또는 변이 EGFR의 증폭 또는 발현에 의해) 과발현하는 세포, 및 특정 양태에서, 해독 후 변형 이상을 나타내는 세포를 항-EGFR ADC를 사용하여 인식하거나, 단리하거나, 확인하거나, 표적화하고 치료하거나 또는 제거할 수 있다.
- [0203] 본 발명의 하나의 양상에서는, 본원에 기재된 제형들 중 어느 것의 항-EGFR ADC의 치료적 유효량을 투여함을 포함하는 대상체의 치료 방법이 제공되며, 상기 대상체는 당해 제형 중의 항-EGFR 항체를 사용하는 치료를 필요로 하는 장애(예를 들어, 종양, 암성 상태, 전암성 상태, 및 과증식성 세포 성장과 관련이 있거나 이로부터 기인하는 임의의 병태), 예를 들어, 이에 제한되는 것은 아니지만, 상피세포 성장 인자 수용체(EGFR) 과발현 가능성이 있는 고형 종양 또는 다형 교아종을 갖는다.
- [0204] 종양내 EGFR 발현의 검출 방법이 당해 기술분야에 공지되어 있으며, 예를 들어, EGFR pharmDx™ Kit(다코(Dako))를 들 수 있다. 반면, "EGFR 음성 종양"은 면역조직 화학 기술에 의해 측정 시 종양 시료 내에서 배경 위에 EGFR 멤브레인 염색의 부재를 갖는 종양으로서 정의된다.
- [0205] 따라서, 항-EGFR ADC를 포함하는 제형은 EGFR 종양 또는 종양형성성 세포의 성질을 구체적으로 카테고리화하는 데 사용될 수 있으며, 이는 EGFR 과발현, 특히 증폭 및/또는 EGFR 돌연변이, 특히 de2-7 EGFR이 존재하는 종양 또는 세포를 염색하거나 다른 방법으로 인식함에 의한 것이다. 또한, 항-EGFR ADC는 증식된 EGFR을 함유하는 종양에 대해 그리고 de2-7 EGFR 양성 이종이식물에 대해 상당한 생체내 항-종양 활성을 나타내는 것으로 입증되었다.
- [0206] 따라서, 본 발명의 추가의 양상에서는, 본원에 기재된 제형 중의 항-EGFR ADC의 투여를 포함하는, 종양, 암성 상태, 전암성 상태, 및 과증식성 세포 성장과 관련이 있거나 이로부터 기인하는 임의의 병태의 치료 방법이 제공된다.
- [0207] 다양한 전달 시스템이 공지되어 있으며, 항-EGFR ADC를 포함하는 제형의 투여에 사용될 수 있다. 도입 방법에는 피내, 근육내, 복강내, 정맥내, 피하, 비내, 경막외 및 경구 경로가 포함되지만, 이에 제한되는 것은 아니다. ADC는, 예를 들어, 주입 또는 볼루스 주사에 의해, 상피 또는 점막피부 내막(예를 들어, 구강 점막, 직장 및 장 점막 등)을 통한 흡수에 의해 투여될 수 있고, 화학치료제와 같은 다른 생물학적 활성제와 함께 투여될 수 있다. 투여는 전신적 또는 국소적일 수 있다. 하나의 양태에서, 본 발명의 제형은 정맥내로 대상체에게 전달된다. 또 다른 양태에서, 본 발명의 제형은 피하로 대상체에게 전달된다. 하나의 양태에서, 대상체는 혼자서 제형을 투여(자가-투여)한다.



- [0208] 제형 중의 항-EGFR ADC를 사용하는 치료를 필요로 하는 장애, 예를 들어, 암의 치료 또는 예방에 효과적인 ADC의 양은 표준 임상 기술에 의해 결정될 수 있다. 또한, 임의로 시험관내 검정을 사용하여 최적 투여량 범위의 식별에 도움을 줄 수 있다. 정확한 용량은 또한 투여 경로 및 면역학적 장애 또는 EGFR-발현 암의 병기에 의존할 것이며, 주치의의 판단 및 각각의 환자의 환경에 따라 정해질 수 있다. 하나의 양태에서, 제형 중의 항-EGFR ADC의 치료적 유효량이 이를 필요로 하는 대상체에게 투여된다. 본원에서 사용된 용어 항-EGFR ADC의 "치료적 유효량" 또는 "유효량"은 ADC가 치료에 유효한 장애의 증상을 예방하거나 치료하거나 완화시키는 데 효과적인 양을 나타낸다. 제형 중의 항-EGFR ADC의 치료적 유효량의 일례는 유해한 EGFR 활성을 억제하기에 또는 EGFR 활성이 유해 효과를 미치는 장애를 치료하기에 충분한 양이다.
- [0209] 소정 용량의 항-EGFR ADC가, 예를 들어, 매일, 주 1회(매주), 주 2회, 주 3회, 주 4회, 주 5회, 격주로, 3주에 한 번, 매월 또는 4주에 한 번, 또는 그렇지 않으면 필요에 따라 투여될 수 있다.
- [0210] 특정 양태에서, 항-EGFR ADC는 암 치료를 위한 하나 이상의 추가의 치료제와 함께 대상체에게 공동-투여될 수 있다. 용어 "공동-투여되는"은 2가지 이상의 상이한 약제학적 성분 또는 치료제(예를 들어, 방사선 치료제)를 동일한 약제학적 조성물 또는 개별 약제학적 조성물들 중에서 조합하여 대상체에게 투여하는 것을 의미한다. 따라서, 공동-투여는 2가지 이상의 약제학적 성분을 포함하는 단일 약제학적 조성물을 동시에 투여하거나 또는 2가지 이상의 상이한 조성물들을 동일하거나 상이한 시간에 동일 대상체에게 투여하는 것을 포함한다.
- [0211] 항-EGFR ADC(또는 항-EGFR ADC를 포함하는 제형)는 암 치료를 위한 하나 이상의 약제의 치료적 유효량과 함께 공동-투여될 수 있으며, 상기 약제의 예에는 방사선제, 알킬화제, 혈관형성 억제제, 항체, 항대사제, 항유사분열제, 항증식제, 항바이러스제, 오로라 키나제 억제제, 아포토시스 촉진제(예를 들어, Bcl-xL, Bcl-w 및 Bfl-1) 억제제, 사멸 수용체 통로 활성화제, Bcr-Abl 키나제 억제제, BiTE(이중-특이적 T 세포 연관체) 항체, 항체 약물 접합체, 생물학적 반응 개질제, 사이클린-의존성 키나제 억제제, 세포 주기 억제제, 사이클로옥시게나제-2 억제제, DVD(이중 가변 도메인 항체), 백혈병 바이러스 종양유전자 동족체(ErbB2) 수용체 억제제, 성장 인자 억제제, 열 충격 단백질(HSP)-90 억제제, 히스톤 데아세틸라제(HDAC) 억제제, 호르몬 치료요법제, 면역제, 아포토시스 단백질 억제제(IAP)의 억제제, 삽입성(intercalating) 항생제, 키나제 억제제, 키네신 억제제, Jak2 억제제, 라파마이신 억제제의 포유동물 표적, 마이크로 RNA, 미토겐-활성화 세포의 신호-조절 키나제 억제제, 다가 결합 단백질, 비-스테로이드 항-염증 약물(NSAID), 폴리 ADP(아데노신 디포스페이트)-리보스 폴리머라제(PARP) 억제제, 백금 화학치료제, 폴로-유사 키나제(P1k) 억제제, 포스포이노시타이드-3 키나제(브로모도메인) 억제제, 프로테아솜 억제제, 퓨린 유사체, 피리미딘 유사체, 수용체 티로신 키나제 억제제, 에티노이드/텔로이드 식물 알칼로이드, 소형 억제성 리보핵산(siRNA), 토포아이소머라제 억제제, 유비퀴틴 리가제 억제제 등, 및 이들 약제들 중 하나 이상의 조합물이 포함된다.
- [0212] 항-EGFR ADC(또는 항-EGFR ADC를 포함하는 제형)는 암 치료를 위한 하나 이상의 약제의 치료적 유효량과 함께 공동-투여될 수 있으며, 상기 약제는 T-세포와 암세포를 동시에 결합함으로써 T-세포가 암세포를 공격하도록 유도하는 이중-특이적 항체인 BiTE 항체를 포함한다. T-세포는 이어서 표적 암세포를 공격한다. BiTE 항체의 예에는 아데카투무맙(Micromet MT201), 블리나투모맙(Micromet MT103) 등이 포함된다. 이론에 결부시키지 않고, T-세포가 표적 암세포의 아포토시스를 도출하는 메커니즘 중 하나는 퍼포린 및 그랜자임 B를 포함하는 세포용해성 과립 성분들의 세포와 유출(exocytosis)에 의한 것이다. 이와 관련하여, Bcl-2는 퍼포린 및 그랜자임 B 둘 모두에 의한 아포토시스의 도입을 약화시키는 것으로 밝혀졌다. 이들 데이터는, Bcl-2의 억제가 암세포 표적화 시 T-세포에 의해 도출되는 세포독성 효과를 향상시킬 수 있다는 것을 시사한다(문헌[V.R. Sutton, D.L. Vaux and J.A. Trapani, J. of Immunology 1997, 158 (12), 5783]).
- [0213] 항-EGFR ADC(또는 항-EGFR ADC를 포함하는 제형)는 암 치료를 위한 하나 이상의 약제의 치료적 유효량과 함께 공동-투여될 수 있으며, 상기 약제는 siRNA를 포함한다. siRNA는 내생성 RNA 염기 또는 화학적으로 개질된 뉴클레오티드를 갖는 분자이다. 개질은 세포 활성을 무효화시키지 않고, 오히려 증가된 안정성 및/또는 증가된 세포 효력을 부여한다. 화학 개질체의 예에는 포스포포티오에이트 그룹, 2'-데옥시뉴클레오티드, 2'-OCH<sub>3</sub>-함유 리보뉴클레오티드, 2'-F-리보뉴클레오티드, 2'-메톡시에틸 리보뉴클레오티드, 이들의 조합 등이 포함된다. siRNA는 다양한 길이(예를 들어, 10 내지 200bps) 및 구조(예를 들어, 헤어핀, 단일/이중 가닥, 벌지(bulge), 닉(nick)/갭(gap), 미스매치)을 가질 수 있고, 세포 내에서 활성 유전자 사이렌싱을 제공하도록 처리된다. 이중-가닥 siRNA(dsRNA)는 각각의 가닥 상에 동일 개수의 뉴클레오티드를 가질 수 있거나(평할 말단) 또는 비대칭 말단(돌출부)을 가질 수 있다. 1 내지 2개의 뉴클레오티드의 돌출부는 주어진 가닥의 5'- 및/또는 3'-말단 상에 존재할 수 있을 뿐만 아니라, 센스 및/또는 안티센스 가닥 상에 존재할 수도 있다.

- [0214] 항-EGFR ADC(또는 항-EGFR ADC를 포함하는 제형)는 암 치료를 위한 하나 이상의 약제의 치료적 유효량과 함께 공동-투여될 수 있으며, 상기 약제는 DVD 및 다른 다가 결합 단백질을 포함한다. 다가 결합 단백질은 2개 이상의 항원 결합 자리를 포함하는 결합 단백질이다. 다가 결합 단백질은 3개 이상의 항원 결합 자리를 갖도록 조작되며, 일반적으로는 천연 항체가 아니다. 용어 "다중특이적 결합 단백질"은 2개 이상의 관련되거나 관련되지 않은 표적들을 결합할 수 있는 결합 단백질을 의미한다. 이중 가변 도메인(DVD) 결합 단백질은 2개 이상의 항원 결합 자리를 포함하는 4가 또는 다가 결합 단백질이다. 이러한 DVD는 단일특이적(즉, 하나의 항원에 결합할 수 있음) 또는 다중특이적(즉, 2개 이상의 항원에 결합할 수 있음)일 수 있다. 2개의 중쇄 DVD 폴리펩티드 및 2개의 경쇄 DVD 폴리펩티드를 포함하는 DVD 결합 단백질을 DVD Ig라 지칭한다. DVD Ig의 각각의 절반은 중쇄 DVD 폴리펩티드, 경쇄 DVD 폴리펩티드 및 2개의 항원 결합 자리를 포함한다. 각각의 결합 자리는 중쇄 가변 도메인 및 경쇄 가변 도메인을 포함하고, 항원 결합 자리 하나당 총 6개의 CDR이 항원 결합에 수반된다. 다중특이적 DVD는 DLL4 및 VEGF, 또는 C-met 및 EGFR 또는 ErbB3 및 EGFR을 결합하는 DVD 결합 단백질을 포함한다.
- [0215] 항-EGFR ADC(또는 항-EGFR ADC를 포함하는 제형)는 암 치료를 위한 하나 이상의 약제의 치료적 유효량과 함께 공동-투여될 수 있으며, 상기 약제는 알킬화제를 포함한다. 알킬화제에는 알트레타민, AMD-473, AP-5280, 아파지퀴온, 벤다무스틴, 브로스타리신, 부셀판, 카보퀴온, 카무스틴(BCNU), 클로람부실, CLORETAZINE<sup>®</sup>(라로무스틴, VNP 40101M), 사이클로포스파미드, 데카바진, 에스트라무스틴, 포테무스틴, 글루포스파미드, 이포스파미드, KW-2170, 로무스틴(CCNU), 마포스파미드, 멜팔란, 미토브로니톨, 미톨락톨, 니무스틴, 질소 머스터드 N-옥사이드, 라니무스틴, 테모졸로미드, 티오테파, TREANDA<sup>®</sup>(벤다무스틴), 트레오셀판, 로포스파미드 등이 포함된다.
- [0216] 항-EGFR ADC(또는 항-EGFR ADC를 포함하는 제형)는 암 치료를 위한 하나 이상의 약제의 치료적 유효량과 함께 공동-투여될 수 있으며, 상기 약제는 혈관형성 억제제를 포함한다. 혈관형성 억제제에는 내피-특이적 수용체 티로신 키나제(Tie-2) 억제제, 상피세포 성장 인자 수용체(EGFR) 억제제, 인슐린 성장 인자-2 수용체(IGF-2) 억제제, 매트릭스 메탈로프로테이나제-2(MMP-2) 억제제, 매트릭스 메탈로프로테이나제-9(MMP-9) 억제제, 혈소판-유래 성장 인자 수용체(PDGFR) 억제제, 트롬보스폰딘 유사체, 혈관 내피 성장 인자 수용체 티로신 키나제(VEGFR) 억제제 등이 포함된다.
- [0217] 항-EGFR ADC(또는 항-EGFR ADC를 포함하는 제형)는 암 치료를 위한 하나 이상의 약제의 치료적 유효량과 함께 공동-투여될 수 있으며, 상기 약제는 항대사제를 포함한다. 항대사제에는 ALIMTA<sup>®</sup>(페메트렉시드 이나트륨, LY231514, MTA), 5-아자시타딘, XELODA<sup>®</sup>(카페시타빈), 카르모푸르, LEUSTAT<sup>®</sup>(클라드리빈), 클로파라빈, 사이타라빈, 사이타라빈 옥포스페이트, 사이토신 아라비노시드, 데시타빈, 데페록사민, 독시플루리딘, 에플로르니틴, EICAR(5-에티닐-1-β-D-리보푸라노실이미다졸-4-카복사미드), 에노시타빈, 에티닐사이티딘, 플루다라빈, 5-플루오로우라실 단독 또는 류코보린과의 조합물, GEMZAR<sup>®</sup>(겔시타빈), 하이드록시우레아, ALKERAN<sup>®</sup>(멜팔란), 머캅토피린, 6-머캅토피린 리보시드, 메토트렉세이트, 마이코페놀산, 넬라라빈, 놀라트렉세드, 옥포스페이트, 펠리트렉솔, 펜토스타틴, 칼티트렉세드, 리바비린, 트리아핀, 트리메트렉세이트, S-1, 티아조푸린, 테가푸르, TS-1, 비다라빈, UFT 등이 포함된다.
- [0218] 항-EGFR ADC(또는 항-EGFR ADC를 포함하는 제형)는 암 치료를 위한 하나 이상의 약제의 치료적 유효량과 함께 공동-투여될 수 있으며, 상기 약제는 항바이러스제를 포함한다. 항바이러스제에는 리토나비르, 하이드록시클로로퀸 등이 포함된다.
- [0219] 항-EGFR ADC(또는 항-EGFR ADC를 포함하는 제형)는 암 치료를 위한 하나 이상의 약제의 치료적 유효량과 함께 공동-투여될 수 있으며, 상기 약제는 오로라 키나제 억제제를 포함한다. 오로라 키나제 억제제에는 ABT-348, AZD-1152, MLN-8054, VX-680, 오로라 A-특이적 키나제 억제제, 오로라 B-특이적 키나제 억제제 및 pan-오로라 키나제 억제제 등이 포함된다.
- [0220] 항-EGFR ADC(또는 항-EGFR ADC를 포함하는 제형)는 암 치료를 위한 하나 이상의 약제의 치료적 유효량과 함께 공동-투여될 수 있으며, 상기 약제는 Bcl-2 단백질 억제제를 포함한다. Bcl-2 단백질 억제제에는 AT-101((-)고시폴), GENASENSE<sup>®</sup>(G3139 또는 오블리메르센(Bcl-2-표적화 안티센스 올리고뉴클레오티드)), IPI-194, IPI-565, N-(4-(4-((4'-클로로(1,1'-바이페닐)-2-일)메틸)피페라진-1-일)벤조일)-4-(((1R)-3-(디메틸아미노)-1-(페닐설파닐)메틸)프로필)아미노)-3-니트로벤젠설포아미드)(ABT-737), N-(4-(4-((2-(4-클로로페닐)-5,5-디메틸-1-사이클로헥스-1-엔-1-일)메틸)피페라진-1-일)벤조일)-4-(((1R)-3-(모르폴린-4-일)-1-(페닐설파닐)메틸)프로필)아미노)-3-((트리플루오로메틸)설포닐)벤젠설포아미드(ABT-263), GX-070(오바토클락스), ABT-199 등이 포함

된다.

- [0221] 항-EGFR ADC(또는 항-EGFR ADC를 포함하는 제형)는 암 치료를 위한 하나 이상의 약제의 치료적 유효량과 함께 공동-투여될 수 있으며, 상기 약제는 Bcr-Ab1 키나제 억제제, 예를 들어, DASATINIB<sup>®</sup> (BMS-354825), GLEEVEC<sup>®</sup> (이마티닙) 등을 포함한다.
- [0222] 항-EGFR ADC(또는 항-EGFR ADC를 포함하는 제형)는 암 치료를 위한 하나 이상의 약제의 치료적 유효량과 함께 공동-투여될 수 있으며, 상기 약제는 CDK 억제제를 포함한다. CDK 억제제에는 AZD-5438, BMI-1040, BMS-032, BMS-387, CVT-2584, 플라보피리돌, GPC-286199, MCS-5A, PD0332991, PHA-690509, 셀리시클립(CYC-202, R-로스 코비틴), ZK-304709 등이 포함된다.
- [0223] 항-EGFR ADC(또는 항-EGFR ADC를 포함하는 제형)는 암 치료를 위한 하나 이상의 약제의 치료적 유효량과 함께 공동-투여될 수 있으며, 상기 약제는 COX-2 억제제를 포함한다. COX-2 억제제에는 ABT-963, ARCOXIA<sup>®</sup> (에토리콕시브), BEXTRA<sup>®</sup> (발테콕시브), BMS347070, CELEBREX<sup>®</sup> (셀레콕시브), COX-189(루미라콕시브), CT-3, DERAMAXX<sup>®</sup> (테라콕시브), JTE-522, 4-메틸-2-(3,4-디메틸페닐)-1-(4-설과모일페닐-1H-피롤), MK-663(에토리콕시브), NS-398, 파레콕시브, RS-57067, SC-58125, SD-8381, SVT-2016, S-2474, T-614, VIOXX<sup>®</sup> (로페콕시브) 등이 포함된다.
- [0224] 항-EGFR ADC(또는 항-EGFR ADC를 포함하는 제형)는 암 치료를 위한 하나 이상의 약제의 치료적 유효량과 함께 공동-투여될 수 있으며, 상기 약제는 다른 EGFR 억제제를 포함한다. EGFR 억제제에는 EGFR 항체, ABX-EGF, 항-EGFR 면역리포솜, EGF-백신, EMD-7200, ERBITUX<sup>®</sup> (세툽시맵), HR3, IgA 항체, IRESSA<sup>®</sup> (게피티닙), TARCEVA<sup>®</sup> (에를로티닙 또는 OSI-774), TP-38, EGFR 융합 단백질, TYKERB<sup>®</sup> (라파티닙) 등이 포함된다.
- [0225] 항-EGFR ADC(또는 항-EGFR ADC를 포함하는 제형)는 암 치료를 위한 하나 이상의 약제의 치료적 유효량과 함께 공동-투여될 수 있으며, 상기 약제는 HER2 억제제를 포함한다. ErbB2 수용체 억제제에는 CP-724-714, CI-1033(카네르티닙), HERCEPTIN<sup>®</sup> (트라스투주맵), TYKERB<sup>®</sup> (라파티닙), OMNITARG<sup>®</sup> (2C4, 페투주맵), TAK-165, GW-572016(이오나파르닙), GW-282974, EKB-569, PI-166, dHER2(HER2 백신), APC-8024(HER-2 백신), 항-HER/2neu 이중 특이적 항체, B7.her2IgG3, AS HER2 3관능성 이중 특이적 항체, mAB AR-209, mAB 2B-1 등이 포함된다.
- [0226] 항-EGFR ADC(또는 항-EGFR ADC를 포함하는 제형)는 암 치료를 위한 하나 이상의 약제의 치료적 유효량과 함께 공동-투여될 수 있으며, 상기 약제는 히스톤 데아세틸라제 억제제, 예를 들어, 템시캡티드, LAQ-824, MS-275, 트라폭신, 수베로일아닐리드 하이드록삼산(SAHA), TSA, 발프로산 등을 포함한다.
- [0227] HSP-90 억제제에는 17-AAG-nab, 17-AAG, CNF-101, CNF-1010, CNF-2024, 17-DMAG, 겔다나마이신, IPI-504, KOS-953, MYCOGRAB<sup>®</sup> (HSP-90에 대한 사람 제조항체), NCS-683664, PU24FC1, PU-3, 라디시콜, SNX-2112, STA-9090 VER49009 등이 포함된다.
- [0228] 항-EGFR ADC(또는 항-EGFR ADC를 포함하는 제형)는 암 치료를 위한 하나 이상의 약제의 치료적 유효량과 함께 공동-투여될 수 있으며, 상기 약제는 아포토시스 단백질 억제제의 억제제, 예를 들어, HGS1029, GDC-0145, GDC-0152, LCL-161, LBW-242 등을 포함한다.
- [0229] 항-EGFR ADC(또는 항-EGFR ADC를 포함하는 제형)는 암 치료를 위한 하나 이상의 약제의 치료적 유효량과 함께 공동-투여될 수 있으며, 상기 약제는 다른 ADC, 예를 들어, 항-CD22-MC-MMAF, 항-CD22-MC-MMAE, 항-CD22-MCC-DM1, CR-011-vcMMAE, PSMA-ADC, MEDI-547, SGN-19Am SGN-35, SGN-75 ADC 등을 포함한다.
- [0230] 항-EGFR ADC(또는 항-EGFR ADC를 포함하는 제형)는 암 치료를 위한 하나 이상의 약제의 치료적 유효량과 함께 공동-투여될 수 있으며, 상기 약제는 TRAIL과 같은 사멸 수용체 통로의 활성화제, TRAIL 또는 사멸 수용체(예를 들어, DR4 및 DR5)를 표적화하는 항체 또는 다른 약제, 예를 들어, 아포맵, 코나투무맵, ETR2-ST01, GDC0145, (렉사투무맵), HGS-1029, LBY-135, PRO-1762 및 트라스투주맵을 포함한다.
- [0231] 항-EGFR ADC(또는 항-EGFR ADC를 포함하는 제형)는 암 치료를 위한 하나 이상의 약제의 치료적 유효량과 함께 공동-투여될 수 있으며, 상기 약제는 키네신 억제제, 예를 들어, AZD4877, ARRY-520과 같은 Eg5 억제제; GSK923295A와 같은 CENPE 억제제 등을 포함한다.
- [0232] 항-EGFR ADC(또는 항-EGFR ADC를 포함하는 제형)는 암 치료를 위한 하나 이상의 약제의 치료적 유효량과 함께

공동-투여될 수 있으며, 상기 약제는 JAK-2 억제제, 예를 들어, CEP-701(레사우르티닙), XL019 및 INCB018424 등을 포함한다.

- [0233] 항-EGFR ADC(또는 항-EGFR ADC를 포함하는 제형)는 암 치료를 위한 하나 이상의 약제의 치료적 유효량과 함께 공동-투여될 수 있으며, 상기 약제는 MEK 억제제, 예를 들어, ARRY-142886, ARRY-438162 PD-325901, PD-98059 등을 포함한다.
- [0234] 항-EGFR ADC(또는 항-EGFR ADC를 포함하는 제형)는 암 치료를 위한 하나 이상의 약제의 치료적 유효량과 함께 공동-투여될 수 있으며, 상기 약제는 mTOR 억제제, 예를 들어, AP-23573, CCI-779, 에베롤리무스, RAD-001, 라파마이신, 템시롤리무스, ATP-경쟁적 TORC1/TORC2 억제제를 포함하고, 이는 PI-103, PP242, PP30, Torin 1 등을 포함한다.
- [0235] 항-EGFR ADC(또는 항-EGFR ADC를 포함하는 제형)는 암 치료를 위한 하나 이상의 약제의 치료적 유효량과 함께 공동-투여될 수 있으며, 상기 약제는 비-스테로이드 항-염증 약물(NSAID), 예를 들어, AMIGESIC<sup>®</sup>(살살레이트), DOLOBID<sup>®</sup>(디플루니살), MOTRIN<sup>®</sup>(이부프로펜), ORUDIS<sup>®</sup>(케토프로펜), RELAFEN<sup>®</sup>(나부메톤), FELDENE<sup>®</sup>(피록시캄), 이부프로펜 크림, ALEVE<sup>®</sup>(나프록센) 및 NAPROSYN<sup>®</sup>(나프록센), VOLTAREN<sup>®</sup>(디클로페낙), INDOCIN<sup>®</sup>(인도메타신), CLINORIL<sup>®</sup>(설린닥), TOLECTIN<sup>®</sup>(톨메틴), LODINE<sup>®</sup>(에토돌락), TORADOL<sup>®</sup>(케토폴락), DAYPRO<sup>®</sup>(옥사프로진) 등을 포함한다.
- [0236] 항-EGFR ADC(또는 항-EGFR ADC를 포함하는 제형)는 암 치료를 위한 하나 이상의 약제의 치료적 유효량과 함께 공동-투여될 수 있으며, 상기 약제는 PDGFR 억제제, 예를 들어, C-451, CP-673, CP-868596 등을 포함한다.
- [0237] 항-EGFR ADC(또는 항-EGFR ADC를 포함하는 제형)는 암 치료를 위한 하나 이상의 약제의 치료적 유효량과 함께 공동-투여될 수 있으며, 상기 약제는 백금 화학치료제, 예를 들어, 시스플라틴, ELOXATIN<sup>®</sup>(옥살리플라틴) 엡타플라틴, 로바플라틴, 네다플라틴, PARAPLATIN<sup>®</sup>(카보플라틴), 사트라플라틴, 피코플라틴 등을 포함한다.
- [0238] 항-EGFR ADC(또는 항-EGFR ADC를 포함하는 제형)는 암 치료를 위한 하나 이상의 약제의 치료적 유효량과 함께 공동-투여될 수 있으며, 상기 약제는 폴로-유사 키나제 억제제, 예를 들어, BI-2536 등을 포함한다.
- [0239] 항-EGFR ADC(또는 항-EGFR ADC를 포함하는 제형)는 암 치료를 위한 하나 이상의 약제의 치료적 유효량과 함께 공동-투여될 수 있으며, 상기 약제는 포스포이노시타이드-3 키나제(PI3K) 억제제, 예를 들어, 보르트만인, LY294002, XL-147, CAL-120, ONC-21, AEZS-127, ETP-45658, PX-866, GDC-0941, BGT226, BEZ235, XL765 등을 포함한다.
- [0240] 항-EGFR ADC(또는 항-EGFR ADC를 포함하는 제형)는 암 치료를 위한 하나 이상의 약제의 치료적 유효량과 함께 공동-투여될 수 있으며, 상기 약제는 트롬보스폰딘 유사체, 예를 들어, ABT-510(트롬보스폰딘 모사물), ABT-567, ABT-898(트롬보스폰딘-1 모사 펩티드), TSP-1 등을 포함한다.
- [0241] 항-EGFR ADC(또는 항-EGFR ADC를 포함하는 제형)는 암 치료를 위한 하나 이상의 약제의 치료적 유효량과 함께 공동-투여될 수 있으며, 상기 약제는 VEGFR 억제제, 예를 들어, AVASTIN<sup>®</sup>(베바시주맙), ABT-869, AEE-788, ANGIOZYME<sup>™</sup>(혈관형성을 억제하는 리보자임(리보자임 파마슈티칼스(Ribozyme Pharmaceuticals)(미국 콜로라도주 볼더 소재) 및 키론(Chiron)(미국 캘리포니아주 에머리빌 소재)), 악시티닙(AG-13736), AZD-2171, CP-547,632, IM-862, MACUGEN(페갑타밍), NEXAVAR<sup>®</sup>(소라페닙, BAY43-9006), 파조파닙(GW-786034), 바탈라닙(PTK-787, ZK-222584), SUTENT<sup>®</sup>(수니티닙, SU-11248), VEGF trap, ZACTIMA<sup>™</sup>(반데타닙, ZD-6474), GA101, 오파투무맙, ABT-806(mAb-806), ErbB3 특이적 항체, BSG2 특이적 항체, DLL4 특이적 항체 및 C-met 특이적 항체 등을 포함한다. 항-EGFR ADC(또는 항-EGFR ADC를 포함하는 제형)는 암 치료를 위한 하나 이상의 약제의 치료적 유효량과 함께 공동-투여될 수 있으며, 상기 약제는 항생제, 예를 들어, 삼입성 항생제 아클라루비신, 악티노마이신 D, 암루비신, 안나마이신, 아드리아마이신, BLENOXANE<sup>®</sup>(블레오마이신), 다우노루비신, CAELYX<sup>®</sup> 또는 MYOCET<sup>®</sup>(리포솜 독소루비신), 엘사미트루신, 에피르부신, 글라르부신, ZAVEDOS<sup>®</sup>(이다루비신), 미토마이신 C, 네모루비신, 네오카르지노스타틴, 페플로마이신, 피라루비신, 레베카마이신, 스티말라머, 스트렙토조신, VALSTAR<sup>®</sup>(발루비신), 지노스타틴 등을 포함한다.



- [0242] 항-EGFR ADC(또는 항-EGFR ADC를 포함하는 제형)는 암 치료를 위한 하나 이상의 약제의 치료적 유효량과 함께 공동-투여될 수 있으며, 상기 약제는 토포아이스머라제 억제제, 예를 들어, 아클라루비신, 9-아미노캄프토테신, 아모나피드, 암사르린, 베카테카린, 벨로테칸, BN-80915, CAMPTOSAR<sup>®</sup>(이리노테칸 하이드로클로라이드), 캄프토테신, CARDIOXANE<sup>®</sup>(텍스라죽신), 디플로모테칸, 에도테카린, ELLENCE<sup>®</sup> 또는 PHARMORUBICIN<sup>®</sup>(에피루비신), 에토포시드, 엑사테칸, 10-하이드록시캄프토테신, 지마테칸, 루르토테칸, 미톡산트론, 오라테신, 피라르부신, 픽산트론, 루비테칸, 소부죽산, SN-38, 타플루포시드, 토포테칸 등을 포함한다.
- [0243] 항-EGFR ADC(또는 항-EGFR ADC를 포함하는 제형)는 암 치료를 위한 하나 이상의 약제의 치료적 유효량과 함께 공동-투여될 수 있으며, 상기 약제는 치료 항체, 예를 들어, AVASTIN<sup>®</sup>(베바시주맵), CD40-특이적 항체, chTNT-1/B, 데노수맵, ERBITUX<sup>®</sup>(세툽시맵), HUMAX-CD4<sup>®</sup>(자놀리무맵), IGF1R-특이적 항체, 린투주맵, PANOREX<sup>®</sup>(에드레콜로맵), RENCAREX<sup>®</sup>(WX G250), RITUXAN<sup>®</sup>(리툽시맵), 티실리무맵, 트라스투지맵, CD20 항체 타입 I 및 II 등을 포함한다.
- [0244] 항-EGFR ADC(또는 항-EGFR ADC를 포함하는 제형)는 암 치료를 위한 하나 이상의 약제의 치료적 유효량과 함께 공동-투여될 수 있으며, 상기 약제는 호르몬 치료요법제, 예를 들어, ARIMIDEX<sup>®</sup>(아나스트로졸), AROMASIN<sup>®</sup>(엑세메스탄), 아르족시펜, CASODEX<sup>®</sup>(비칼루타미드), CETROTIDE<sup>®</sup>(세트로렐릭스), 데가렐릭스, 데슬로렐린, DESOPAN<sup>®</sup>(트릴로스탄), 텍사메타손, DROGENIL<sup>®</sup>(플루타미드), EVISTA<sup>®</sup>(랄록시펜), AFEMA<sup>™</sup>(파드로졸), FARESTON<sup>®</sup>(토레미펜), FASLODEX<sup>®</sup>(폴베스트란트), FEMARA<sup>®</sup>(레트로졸), 포르메스탄, 글루코코르티코이드, HECTOROL<sup>®</sup>(독세르갈시페롤), RENAGEL<sup>®</sup>(세벨라머 카보네이트), 라소폭시펜, 류프롤리드 아세테이트, MEGACE<sup>®</sup>(메게스테롤), MIFEPREX<sup>®</sup>(미페프리스톤), NILANDRON<sup>™</sup>(닐루타미드), NOLVADEX<sup>®</sup>(타목시펜 시트레이트), PLENAXIS<sup>™</sup>(아바렐릭스), 프레드니손, PROPECIA<sup>®</sup>(피나스테리드), 릴로스탄, SUPREFACT<sup>®</sup>(부세렐린), TRELSTAR<sup>®</sup>(항체화 호르몬 방출 호르몬(LHRH)), VANTAS<sup>®</sup>(히스트렐린 이식제), VETORYL<sup>®</sup>(트릴로스탄 또는 모드라스탄), ZOLADEX<sup>®</sup>(포스렐린, 고세렐린) 등을 포함한다.
- [0245] 항-EGFR ADC(또는 항-EGFR ADC를 포함하는 제형)는 암 치료를 위한 하나 이상의 약제의 치료적 유효량과 함께 공동-투여될 수 있으며, 상기 약제는 텔로이드 및 레티노이드, 예를 들어, 세오칼시톨(EB1089, CB1093), 렉사칼시트롤(KH1060), 펜레티나이드, PANRETIN<sup>®</sup>(알리레티노인), ATRAGEN<sup>®</sup>(리포솜 트레티노인), TARGRETIN<sup>®</sup>(백사로텐), LGD-1550 등을 포함한다.
- [0246] 항-EGFR ADC(또는 항-EGFR ADC를 포함하는 제형)는 암 치료를 위한 하나 이상의 약제의 치료적 유효량과 함께 공동-투여될 수 있으며, 상기 약제는 PARP 억제제, 예를 들어, 벨리파립, 올라파립, KU-59436, AZD-2281, AG-014699, BSI-201, BGP-15, INO-1001, ONO-2231 등을 포함한다.
- [0247] 항-EGFR ADC(또는 항-EGFR ADC를 포함하는 제형)는 암 치료를 위한 하나 이상의 약제의 치료적 유효량과 함께 공동-투여될 수 있으며, 상기 약제는 식물 알칼로이드, 예를 들어, 빈크리스틴, 빈블라스틴, 빈테신, 비노렐빈 등을 포함하지만, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0248] 항-EGFR ADC(또는 항-EGFR ADC를 포함하는 제형)는 암 치료를 위한 하나 이상의 약제의 치료적 유효량과 함께 공동-투여될 수 있으며, 상기 약제는 프로테아솜 억제제, 예를 들어, VELCADE<sup>®</sup>(보르테조밐), MG132, NPI-0052, PR-171 등을 포함한다.
- [0249] 항-EGFR ADC(또는 항-EGFR ADC를 포함하는 제형)는 암 치료를 위한 하나 이상의 약제의 치료적 유효량과 함께 공동-투여될 수 있으며, 상기 약제는 면역제를 포함한다. 면역제의 예에는 인터페론 및 다른 면역-증진제가 포함된다. 인터페론에는 인터페론 알파, 인터페론 알파-2a, 인터페론 알파-2b, 인터페론 베타, 인터페론 감마-1a, ACTIMMUNE<sup>®</sup>(인터페론 감마-1b) 또는 인터페론 감마-n1, 이들의 조합물 등이 포함된다. 다른 약제에는 ALFAFERONE<sup>®</sup>(IFN- $\alpha$ ), BAM-002(산화된 글루타티온), BEROMUN<sup>®</sup>(타소네르민), BEXXAR<sup>®</sup>(토시투모맵), CAMPATH<sup>®</sup>(알렘투주맵), CTLA4(세포독성 림프구 항원 4), 데카르바진, 데닐류킨, 에프라투주맵, GRANOCYTE<sup>®</sup>(레노그라스티밐), 렌티난, 백혈구 알파 인터페론, 이미퀴모드, MDX-010(항-CTLA-4), 흑색종 백신, 미



투모맵, 몰그라모스팀, MYLOTARG™(젬투주맵 오조가미신), NEUPOGEN®(필그라스팀), OncoVAC-CL, OVAREX®(오레고보맵), 램투모맵(Y-muHMF1), PROVENGE®(시푸류셀-T), 사그라모스팀, 시조필란, 테셀류킨, THERACYS®(바실루스 칼메트-게링(Bacillus Calmette-Guerin)), 우베니맥스, VIRULIZIN®(면역치료제, 로루스 파마슈티칼스(Lorus Pharmaceuticals)), Z-100(마루야마 특이적 물질(SSM: Specific Substance of Maruyama)), WF-10(테트라칼로로 데카옥사이드(TCDO)), PROLEUKIN®(알데스류킨), ZADAXIN®(티말파신), ZENAPAX®(다클리주맵), ZEVALIN®(90Y-이브리투모맵 티옥세탄) 등이 포함된다.

[0250] 항-EGFR ADC(또는 항-EGFR ADC를 포함하는 제형)는 암 치료를 위한 하나 이상의 약제의 치료적 유효량과 함께 공동-투여될 수 있으며, 상기 약제는 생물학적 반응 개질제, 예를 들어, 조직 세포의 생존, 성장 또는 분화와 같은 생물학적 반응 또는 살아있는 유기체의 방어 기전을 개질시켜 이들이 항-종양 활성을 갖도록 하는 약제를 포함하며, 이에 는 크레스틴, 렌티난, 시조피란, 피시바닐 PF-3512676(CpG-8954), 우베니맥스 등이 포함된다.

[0251] 항-EGFR ADC(또는 항-EGFR ADC를 포함하는 제형)는 암 치료를 위한 하나 이상의 약제의 치료적 유효량과 함께 공동-투여될 수 있으며, 상기 약제는 피리미딘 유사체, 예를 들어, 사이타라빈(ara C 또는 아라비노시드 C), 사이토신 아라비노시드, 독시플루리딘, FLUDARA®(플루다라빈), 5-FU(5-플루오로우라실), 플록수리딘, GEMZAR®(젬시타빈), TOMUDEX®(라티트렉세드), TROXATYL™(트리아세틸우리딘 트록사시타빈) 등을 포함한다.

[0252] 항-EGFR ADC(또는 항-EGFR ADC를 포함하는 제형)는 암 치료를 위한 하나 이상의 약제의 치료적 유효량과 함께 공동-투여될 수 있으며, 상기 약제는 퓨린 유사체, 예를 들어, LANVIS®(티오구아닌) 및 PURI-NETHOL®(머캅토피린)을 포함한다.

[0253] 항-EGFR ADC(또는 항-EGFR ADC를 포함하는 제형)는 암 치료를 위한 하나 이상의 약제의 치료적 유효량과 함께 공동-투여될 수 있으며, 상기 약제는 항유사분열제, 예를 들어, 바타블린, 에포틸론 D(KOS-862), N-(2-((4-하이 드록시페닐)아미노)피리딘-3-일)-4-메톡시벤젠설폰아미드, 익사베필론(BMS 247550), 과클리탁셀, TAXOTERE®(도 세탁셀), PNU100940(109881), 과투필론, XRP-9881(라로탁셀), 빈플루닌, ZK-EPO(합성 에포틸론) 등을 포함한다.

[0254] 항-EGFR ADC(또는 항-EGFR ADC를 포함하는 제형)는 암 치료를 위한 하나 이상의 약제의 치료적 유효량과 함께 공동-투여될 수 있으며, 상기 약제는 유비퀴틴 리가제 억제제, 예를 들어, 뉴트린과 같은 MDM2 억제제, MLN4924 와 같은 NEDD8 억제제 등을 포함한다.

[0255] 본 발명의 화합물은 또한 방사선 치료요법의 효능을 향상시키는 방사선증감제로서 사용될 수 있다. 방사선 치료요법의 예에는 외부 빔 방사선 치료요법, 원격 치료요법, 근접 치료요법, 및 밀봉, 비밀봉 선원 방사선 치료요법 등이 포함된다.

[0256] 항-EGFR ADC(또는 항-EGFR ADC를 포함하는 제형)는 암 치료를 위한 하나 이상의 약제의 치료적 유효량과 함께 공동-투여될 수 있으며, 상기 약제는 화학치료제, 예를 들어, ABRAXANE™(ABI-007), ABT-100(파르네실 트랜스퍼 라제 억제제), ADVEXIN®(Ad5CMV-p53 백신), ALTOCOR® 또는 MEVACOR®(로바스타틴), AMPLIGEN®(폴리 I:폴리 C12U, 합성 RNA), APTOSYN®(엑시술린드), AREDIA®(파미드론산), 아르글라빈, L-아스파르기나제, 아타메스탄(1- 메틸-3,17-디온-안드로스타-1,4-디엔), AVAGE®(타자로텐), AVE-8062(콤브레아스타틴 유도체) BEC2(미투모맵), 카렉틴 또는 카렉신(종양 괴사 인자), 칸박신(백신), CEAVAC®(암 백신), CELEUK®(셀모류킨), CEPLENE®(히스타 민 디하이드로클로라이드), CERVARIX®(사람 유두종 바이러스 백신), CHOP®(C: CYTOXAN®(사이클로포스파미드); H: ADRIAMYCIN®(하이드록시독소루비신); O: 빈크리스틴(ONCOVIN®); P: 프레드니손), CYPAT™(사이프로테론 아 세테이트), 콤브레스타틴 A4P, DAB(389)EGF(His-Ala 링커를 통해 사람 상피세포 성장 인자에 융합된 디프테리아 독소의 촉매 및 전좌 도메인) 또는 TransMID-107R™(디프테리아 독소), 다카르바진, 닥티노마이신, 5,6-디메틸 크산테논-4-아세트산(DMXAA), 에닐우라실, EVIZON™(스쿠알라민 락테이트), DIMERICINE®(T4N5 리포솜 로션), 디스코더몰리드, DX-8951f(엑사테칸 메실레이트), 엔자스타우린, EPO906(에포틸론 B), GARDASIL®(4가 사람 유 두종 바이러스(타입 6, 11, 16, 18) 제조함 백신), GASTRIMMUNE®, GENASENSE®, GMK(강글리오시드 접합체 백

신), GVAX<sup>®</sup>(전립선암 백신), 할로푸기논, 히스테렐린, 하이드록시카바미드, 이반드론산, IGN-101, IL-13-PE38, IL-13-PE38QQR(신트레데킨 벡수도독소), IL-13-슈도모나스 균체의 독소, 인터페론- $\alpha$ , 인터페론- $\gamma$ , JUNOVAN<sup>™</sup> 또는 MEPACT<sup>™</sup>(미파무르티드), 로나파르닙, 5,10-메틸렌테트라하이드로폴레이트, 밀테포신(핵사테실포스포콜린), NEOVASTAT<sup>®</sup>(AE-941), NEUTREXIN<sup>®</sup>(트리메트렉세이트 글루코코네이트), NIPENT<sup>®</sup>(펜토스타틴), ONCONASE<sup>®</sup>(리보뉴클레아제 효소), ONCOPHAGE<sup>®</sup>(흑색종 백신 치료제), ONCOVAX<sup>®</sup>(IL-2 백신), ORATHECIN<sup>™</sup>(루비테칸), OSIDEM<sup>®</sup>(항체-기반 세포 약물), OVAREX<sup>®</sup> MAb(뮤린 단일클론 항체), 파클리탁셀, PANDIMEX<sup>™</sup>(20(S)프로토포파낙사 디올(aPPD) 및 20(S)프로토포파낙사트리올(aPPT)을 포함하는 인삼으로부터의 아글리콘 사포닌), 파니투무맙, PANVAC<sup>®</sup>-VF(연구 중인 암 백신), 페가스파가제, PEG 인터페론 A, 페녹소디올, 프로카바진, 레비마스타트, REMOVEAB<sup>®</sup>(카무탁소맙), REVLIMID<sup>®</sup>(레날리도미드), RSR13(에파프록시탈), SOMATULINE<sup>®</sup> LA(란레오티드), SORIATANE<sup>®</sup>(아시트레틴), 스타우로스포린(스트렙토마이세스 스타우로스포레스(*Streptomyces staurospores*), 탈라보스타트(PT100), TARGRETIN<sup>®</sup>(백사로렌), TAXOPREXIN<sup>®</sup>(DHA-파클리탁셀), TELCYTA<sup>®</sup>(칸포스파미드, TLK286), 테밀리펜, TEMODAR<sup>®</sup>(테모졸로미드), 테스밀리펜, 탈리도미드, THERATOPE<sup>®</sup>(STn-KLH), 티미타크(2-아미노-3,4-디하이드로-6-메틸-4-옥소-5-(4-피리디티오)퀴나졸린 디하이드로클로라이드), TNFERADE<sup>™</sup>(아테노벡터: 종양 괴사 인자- $\alpha$ 를 위한 유전자를 함유하는 DNA 운반체), TRACLEER<sup>®</sup> 또는 ZAVESCA<sup>®</sup>(보센탄), 트레티노인(레틴-A), 테트라드린, TRISENOX<sup>®</sup>(삼산화비스), VIRULIZIN<sup>®</sup>, 우크라인(애기똥풀(*greater celandine*) 식물 유래 알칼로이드의 유도체), 비탁신(항-알파v베타3 항체), XCYTRIN<sup>®</sup>(모텍사핀 가돌리늄), XINLAY<sup>™</sup>(아트라센탄), XYOTAX<sup>™</sup>(파클리탁셀 폴리글루백스), YONDELIS<sup>®</sup>(트라벡테딘), ZD-6126, ZINECARD<sup>®</sup>(텍스라족산), ZOMETA<sup>®</sup>(졸렌드론산), 조루비신 등을 포함한다.

[0257] 하나의 양태에서, 항-EGFR-ADC를 포함하는 제형은 교아종을 갖는 대상체에게 방사선 및/또는 TEMODAR<sup>®</sup>(테모졸로미드)와 조합되어 정맥내 투여된다.

[0258] 또한, 하나의 양태에서, 제형은 (a) 동결건조된 형태인 항-EGFR ADC를 함유하는 용기 및 (b) 주사용의 약제학적으로 허용되는 희석액(예를 들어, 멸균수)을 함유하는 제2의 용기를 포함하는 약제학적 키트로서 제공될 수 있다. 약제학적으로 허용되는 희석액은 동결건조된 ADC의 재구성 또는 희석에 사용될 수 있다. 약제학적 또는 생물학적 제품의 제조, 사용 또는 판매를 규제하는 정부 기관에 의해 규정된 형태의 공고문이 임의로 이러한 용기(들)와 관련될 수 있으며, 상기 공고문은 사람 투여를 위한 제조, 사용 또는 판매의 정부 기관에 의한 승인을 반영한다.

[0259] 본 발명을 하기 실시예에서 추가로 설명하며, 하기 실시예는 본 발명의 범위를 제한하고자 하는 의도가 아니다.

[0260] **실시예**

[0261] **실시예 1: 항체 약물 접합체(ADC)의 안정성 시험**

[0262] 하기 실시예는 (액체 형태인) 특정 ADC의 안정성을 비접합 항체와 비교하여 분석하기 위해 사용되는 시험을 설명한다. MMAF에 접합된 항체(도 2 참조)(이하, "ADC 1-MMAF"라 지칭하며, 이는 사람화된 항-EGFR 항체 1-MMAF 접합체임) 또는 MMAE에 접합된 항체(도 1 참조)(이하, "ADC 1-MMAE"이라 지칭하며, 이는 사람화된 항-EGFR 항체 1-MMAE 접합체임)를 시험하고, 사람화된 항-EGFR 항체 1 단독과 비교하였다. 시험된 성질에는, 동적 주사 형광 및 DSC를 사용하는 언폴딩 개시 온도, 각각 FTIR 및 근 UV-CD에 의한 2차 및 3차 구조 분석, 저농도 및 고농도에서의 가속 안정성, 혈청 안정성, 저농도 및 고농도에서의 동결/융해 안정성 및 용해성이 있었다. 당해 실시예에 기재된 제형은 액체 제형이었다.

[0263] 동적 주사 형광(DSF) 및 시차 주사 열량계(DSC)를 사용하는 언폴딩 개시 분석

[0264] 2가지 상이한 기술인 동적 주사 형광(DSF) 및 시차 주사 열량계(DSC)를 사용하여 열 변성 동안 항체 1, ADC 1-MMAF 및 ADC 1-MMAE의 언폴딩 개시 및 입체구조 안정성을 측정하였다. 도 3a에 나타난 바와 같이, 형광 강도 변화는 단백질 언폴딩 수준 및 온도와 관련이 있었다. 열안정성 측정 결과를 DSC를 사용하여 획득한 데이터(도 3b)와 비교하였다. 55°C 초과 온도에서의 단백질 언폴딩을 안정성 척도로서 사용하였다. 도 3a 및 3b에 나타난 바와 같이, 언폴딩 개시는 ADC 1-MMAF(55°C)에 비해 ADC 1-MMAE(46°C)의 경우 더 낮은 온도에서 발생하였고,

항체 1(61°C)의 경우 가장 높았으며, 이는 항체 1이 3개의 분자들 중 가장 안정하다는 것을 시사한다. 따라서, 항체 1 단독에 비해 ADC 1-MMAF 및 ADC-1 MMAE의 더 낮은 언폴딩 온도에서 반영되는 바와 같이, ADC는 열역학적 안정성 감소를 나타냈다.

[0265] 항체 1, ADC 1-MMAF 및 ADC 1-MMAE의 2차 및 3차 구조 분석

[0266] 항체 1, ADC 1-MMAF 및 ADC 1-MMAE의 안정성을 푸리에 변환 적외선 분광학(FTIR) 및 근 UV-원편광 이색성 분광법(CD) 둘 모두를 사용하여 측정하였다. 260nm 내지 대략 180nm의 CD 스펙트럼은 상이한 2차 구조 타입: 알파 나선, 평행 및 역평행 베타 시트, 회전 등에 대해 분석될 수 있는 것으로 밝혀졌다. pH 5/6/7에서 시트르산염/인산염 완충액 단독 중의 항체 1, ADC 1-MMAF 및 ADC 1-MMAE의 2차 구조 변화를 FTIR(도 4a) 및 CD(도 4b)에 의해 모니터링하였다. 도 4a 및 4b에 나타난 바와 같이, ADC 1-MMAE 및 ADC 1-MMAF의 물리적 특성이 항체 1과 비교하여 비구조화 요소들에서 약간 변화하였다. 또한 도 4a에서 FTIR 데이터에 의해 증명된 바와 같이, 항체 1 단독과 비교하여 ADC 1-MMAE 및 ADC 1-MMAF에서 약간 변화된 비구조화 요소들이 존재하였다. 그러나, 일반적으로, 이들 3개의 분자들 각각은 1638cm<sup>-1</sup>에서 >40% β 시트 밴드의 존재를 나타냈다. CD 결과는 ADC 1-MMAE 및 항체 1과 비교하여 ADC 1-MMAE에 대해 상이한 프로파일을 나타냈다(도 4b). 그러나, 일반적으로, 각각의 분자들은 280nm에서 음값의 타원율을 갖는 S자 모양의 프로파일을 가졌다.

[0267] 항체 1, ADC 1-MMAF 및 ADC 1-MMAE의 가속 안정성 연구

[0268] 가속 안정성 연구는 다른 경우라면 전형적으로 더 장기간에 걸쳐 발생하는 조건에의 단기간 노출 효과에 관한 정보를 제공하는데 도움이 될 수 있다. 항체 1, ADC 1-MMAF 및 ADC 1-MMAE를 10mM 시트르산염/인산염 완충액, pH 6 중에서 낮은 농도(1mg/ml)로 그리고 15mM 히스티딘, pH 5.75 중에서 이보다 더 높은 농도(60mg/ml)로 제형화하였다. 안정성은 가장 안정한 pH에서 40°C에서 7일 후 5% 미만의 단량체 손실로서 정의되었다.

[0269] 이들 연구 결과를 도 5 및 도 6에 나타낸다. 도 5는 최초 시점(T0)에서의, 그리고 40°C에서 7일 동안 저장된 후의 (SEC 분석에 의해 측정된 응집물 %로서의) 응집을 나타낸다. 도 5는, 1mg/ml의 농도에서, ADC 1-MMAF 및 항체 1에 비해 저농도 ADC 1-MMAE의 응집 경향이 증가하였다는 것을 나타낸다. 도 6은 최초 시점(T0)에서의, 그리고 40°C에서 7일 동안 저장된 후의 (응집물 %로서의) 응집을 나타낸다. 도 6은, 60mg/ml의 농도에서, ADC 1-MMAF 및 항체 1에 비해 고농도 ADC 1-MMAE의 응집 경향이 상당히 증가한다는 것을 나타낸다. 또한, 하이드록시 프로필 베타 사이클로덱스트린(도 6에서 "HPBCD"로 표시됨)과 같은 공지된 안정제가 응집에 미치는 영향은 존재하지 않았다.

[0270] 항체 1, ADC 1-MMAF 및 ADC 1-MMAE의 혈장 안정성

[0271] 혈장 안정성은 약물의 발견과 개발에 있어서 중요한 역할을 하는데, 그 이유는, 불안정한 화합물은 급속한 청소율 및 짧은 반감기를 갖는 경향이 있어 불량한 생체내 성능을 초래하기 때문이다. 항체 1, ADC 1-MMAF 및 ADC 1-MMAE의 시험관내 혈청 안정성을 혈청 안정성 검정에서 평가하였다. 간략하게, 항체들을 Aexa Flur®(라이프 테크놀로지스(Life Technologies))로 표시하였다. 이어서, 표시된 항체 1 및 ADC-1-MMAF 및 ADC-1-MMAE를 여과된 혈청 내에서 항온배양하였다. 0일, 1일, 3일, 5일, 7일에 시료를 수집하고, 크기-배제 크로마토그래피(SEC)에 의해 분석하였다. 고분자량(HMW) 응집물 퍼센트의 기울기를 0일 내지 7일 사이에서 산출하였다. 안정성은 1일 1% 미만의 HMW 종으로서 정의되었다. 따라서, 기울기가 낮을수록 더 적은 응집물이 존재하였다. 더욱 구체적으로, 도 7의 그래프는 ADC 1-MMAF의 기울기(0.5%)가 항체 1(1.10%) 및 ADC 1-MMAE(2.30)보다 더 낮다는 것을 나타내며, 따라서 더 적은 응집 및 더 우수한 혈장 안정성을 시사한다. 도 7은 또한 비교 목적을 위해 일련의 다른 분자들, 예를 들어, 항체 및 DVD-Ig에 대한 HMW 응집물 퍼센트의 기울기를 나타낸다.

[0272] 고농도 및 저농도 항체 1, ADC 1-MMAF 및 ADC 1-MMAE의 동결/융해 안정성

[0273] 항체의 응집은 동결-융해 및 승온, 개발, 제조 및 저장 동안의 전형적인 스트레스 요인에 의해 유발될 수 있다. 항체 1, ADC 1-MMAF 및 ADC 1-MMAE를 0, 1 또는 2회의 동결-융해 사이클에 적용시키고, 분광 기술(SEC)에 의해 특성확인하였다. 고농도 항체 1(210mg/ml), ADC 1-MMAF(135mg/ml) 및 ADC 1-MMAE(145mg/ml)를 pH 5.75의 15mM 히스티딘 완충액 중에서 제형화하였다. (SEC에 의해 측정된) % 단량체를 나타내는 결과가 도 8a에 기재되며, 이는 3개의 분자들 사이에서 (2회의 F/T 사이클 후 <2%의 HMW 종 증가로서 정의된) 응집 변화가 존재하지 않음을 시사한다. 도 8b에 나타난 실험에서, 동일 농도의 항체 1, ADC 1-MMAF 및 ADC 1-MMAE를 pH 7.0의 10mM 시트르산염 및 10mM 인산염 완충액 중에서 1mg/ml 농도로 제형화하였다. 도 8a 및 8b에서 나타난 바와 같이, 고농도 또는 저농도의 항체 1, ADC 1-MMAF 및 ADC 1-MMAE 사이에서 1회 또는 2회의 동결/융해 사이클 후 동결/

용해 안정성에서의 유의한 변화가 존재하지 않았다.

[0274] 동결/용해(0, 1 또는 2회의 동결 용해 사이클) 동안 pH 6의 시트르산염/인산염 완충액 중 1mg/ml 농도 단독의 3 개의 분자들에 대해 입자 형성을 또한 시험하였다. 육안으로 보이지 않는 입자들(각각  $\geq 10\mu\text{m}$  및  $\geq 25\mu\text{m}$ )을 약 전 한계치(pharmacoepial limit)(각각  $\geq 10\mu\text{m}$  및 600/Ml 이하( $\geq 25\mu\text{m}$ )) 미만으로 결정하였다(도 9a). 또한 미세유동 이미징(MFI)을 사용하여, 육안으로 보이지 않는 입자들(10마이크론 미만)을 검출하고 정량화하였다(도 9b). 도 9a 및 9b는 시간이 경과함에 따라 항체 1, ADC 1-MMAF 및 ADC 1-MMAE에 대해 육안으로 보이지 않는 입자들이 전반적으로 증가한 것을 나타낸다.

[0275] 항체 1 대 ADC 1과 MMAF 또는 ADC 1과 MMAE의 용해성

[0276] pH 6의 10mM 시트르산염 및 10mM 인산염 완충액 시스템을 함유하는 제형 중의 항체 1, ADC 1-MMAF 및 ADC 1-MMAE의 용해성을 5°C에서 조사하였다. 용해성은 적어도 50mg/ml 농도로 제형화될 때 침전물을 갖지 않는 용액 으로서 정의되었다. 항체 1, ADC 1-MMAF 및 ADC 1-MMAE 각각의 용해성이 다음과 같이 결정되었다: 항체 1 >210 mg/ml; ADC 1-MMAF: >135mg/ml(공급원 1); ADC 1-MMAF: >92mg/ml A(공급원 2); ADC 1-MMAE: >145mg/ml(공급원 1); 및 ADC 1-MMAE: >116mg/ml(공급원 2). 제한된 물질이 추가의 농축을 방해하기 때문에, 용해성은 상기 언급 된 농도를 초과할 수 있다는 것을 주지해야 한다.

[0277] 결론

[0278] 전체적으로, ADC 1-MMAF 및 ADC1-MMAE는 비접합 항체 1보다 더 낮은 안정성을 나타냈으며, 이는, 예를 들어, 본원에 기재된 가속 연구 및 언폴딩 검정에서 기재된 바와 같다.

[0279] 실시예 2: ADC 1-MMAF 안정성 동결건조 제형

[0280] ADC 1-MMAF는 MMAF에 공유적으로 연결된 항체 1을 포함하는 항-EGFR 항체 약물 접합체이다. ADC 1-MMAF를 재구성시 주사를 위한 동결건조된 분말로서 제형화하고 유리 바이알에 패키징하였다. 상기 동결건조된 분말을 5ml의 주사용 멸균수(SWFI)로 재구성하고, 주사를 위한 20mg/ml ADC 1-MMAF 용액을 제공하였다. 상기 약물 생성물 제형은 단일 사용을 위한 것이며, 보존제를 함유하지 않았다. 바이알(동결건조된 분말) 1개당 그리고 (재구성된 용액) 1ml당 ADC 1-MMAF의 조성이 하기 표 1에 기재된다. 재구성된 약물 생성물은 주입에 의한 용량 투여를 위해 0.9% 염수 용액(염화나트륨 주사액, USP)으로 희석되었다.

**표 1**

20 mg/ml 주사 용액을 위한 ADC 1-MMAF 분말의 조성

성분명	기능	바이알 1개당 양 (mg)	재구성된 양 (mg/mL)
ADC 1-MMAF	약물 물질	105	20
히스티딘	완충제	12	2.3
수크로스	별킹제	368	70
폴리소르베이트 80	계면활성제	0.53	0.10
염산 <sup>a</sup>	pH 조절	충분량	충분량
주사용수	비히클	해당사항 없음 <sup>b</sup>	1032 mg의 총 중량까지

a. 10% 용액으로서 사용됨

b. 동결 건조 후 존재하지 않음

[0281]

[0282] 표 1에 기재된 제형은 접합체가 MMAF와 같은 오리스타틴 유도체인 항-EGFR ADC에 대한 동결건조된 제형을 대표한다. 당해 제형은 완충액, 당, 계면활성제 및 항-EGFR 항체 약물 접합체를 포함한다.

[0283] 실시예 3 내지 5는 실시예 2에 기재된 동결건조 ADC 1-MMAF 제형을 시험하는 안정성 연구를 설명한다. 실시예 6 내지 8은 실시예 2에 기재된 정제된 동결건조 ADC 1-MMAF 제형을 시험하는 안정성 연구를 설명한다. 안정성 연구를 위해, ADC 1-MMAF(또는 ADC1-MMAFp)를 회색 고무 마개 및 회색 플라스틱 캡으로 밀봉된 20ml들이 무색 유리 바이알에서 동결건조물로서 저장하였다. ADC 1-MMAF(또는 ADC1-MMAFp)는 안정성 시험을 위해 다음의 3가지 개별 조건하에 저장되었다: 5°C; 25°C(60% 상대 습도); 40°C(75% 상대 습도).

[0284] 실시예 3: 5°C에서 동결건조 제형 중 ADC 1-MMAF의 안정성



- [0285] 동결건조물을 최초 시점에 SWFI로 재구성한 후, 그리고 5°C에서 8개월까지 저장한 다음 재구성한 후 다음의 실험들을 수행하였다.
- [0286] 동결건조물 및 재구성된 용액의 외관은 5°C에서의 장기간 저장에 의해 영향 받지 않음
- [0287] 동결건조물의 외관 및 재구성된 용액의 외관을 육안으로 평가하여, 동결건조물이 육안으로 보이는 외래 미립자 물질을 사실상 함유하지 않고 패키징 재료 내에 수분을 함유하지 않는다는 것을 확인하였다. 최초 시점에, 그리고 5°C에서 12개월까지 저장한 다음 재구성한 후, 동결건조물의 외관은 전술된 기준에 부합하였다. 5°C에서 12개월까지 저장한 다음 재구성한 후, 재구성된 용액은 무색 내지 담황색의 용액이었고, 육안으로 보이는 미립자 물질을 사실상 함유하지 않았다.
- [0288] 용액의 색은 5°C에서의 장기간 저장에 의해 영향 받지 않음
- [0289] 재구성된 용액의 색(시각적 특징)을 청색/황색 스케일(BY-스케일)을 사용하여 평가하였으며, 여기서 시료를 참조 용액에 대해 시험하고 수치를 보고하였다. 최초 시점에, 그리고 5°C에서 12개월까지 저장한 다음 재구성한 후, 모든 재구성된 용액들은 7 이하의 BY-스케일 척도를 가졌다. 따라서, 저장은 용액의 색에 영향을 미치지 않았다.
- [0290] 용액의 투명성 및 유백광은 5°C에서의 장기간 저장에 의해 영향 받지 않음
- [0291] 재구성된 용액의 투명성 및 유백광을 광 산란 원리를 이용하는 표준 탁도계에 의해 그리고 각각의 Ph. Eur. 또는 USP 방법에 따라 측정하였다(실시에 4 내지 8에 대해 수행된 바와도 같음). 최초 시점에, 그리고 5°C에서 12개월까지 저장한 다음 재구성한 후, 재구성된 용액의 외관은 (유럽 약전 ph. Eur에 대해) 참조 현탁액 IV보다 유백광이 더 많지 않았다(< = RSII).
- [0292] 용액의 단백질 함량은 5°C에서의 장기간 저장에 의해 영향 받지 않음
- [0293] 재구성된 용액의 단백질 함량을 측정하였다. ADC의 단백질 농도를 280nm의 파장 및 ADC1-MMAF 소광 계수(1.43)를 사용하여 분광광도법으로 측정하였다(실시에 4 내지 8에 대해 수행된 바와도 같음). 최초 시점에, 재구성된 용액의 단백질 함량은 18.8mg/ml였다. 5°C에서 3개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 상기 재구성된 용액의 단백질 함량은 20.2mg/ml였다.
- [0294] 용액의 생물학적 활성은 5°C에서의 장기간 저장에 의해 영향 받지 않음
- [0295] 사람 표피양 암종 세포주를 사용하는 세포독성 검정을 사용하여, 재구성된 용액의 생물학적 활성(%)을 세포독성 활성을 갖는 것으로 사전 확인된 ADC1-MMAF 대조물에 비교하여 시험하였다(상기 대조물은 100% 활성을 가짐). 최초 시점에, 상대적인 생물학적 활성은 109%였다. 5°C에서 1개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 상대적인 생물학적 활성은 105%였다. 5°C에서 3개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 상대적인 생물학적 활성은 97%였다. 5°C에서 6개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 상대적인 생물학적 활성은 108%였다. 5°C에서 9개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 상대적인 생물학적 활성은 105%였다. 5°C에서 12개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 상대적인 생물학적 활성은 99%였다. 5°C에서 18개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 상대적인 생물학적 활성은 112%였다.
- [0296] 분자 및/또는 분자 복합체의 크기는 5°C에서의 장기간 저장에 의해 영향 받지 않음
- [0297] 재구성된 용액의 크기 배제 크로마토그래피를 크기 배제-고성능 액체 크로마토그래피(SE-HPLC)를 사용하여 수행하였다. SE-HPLC는 크기-배제 HPLC를 사용하여 ADC1-MMAF의 순도를 결정하였다. 거대분자가 겔 여과 HPLC 동안 감소된 분자 크기에 따라 등용매적으로 분리된다. ADC1-MMAF 주요 피크의 면적을 완충액-관련 피크들을 제외한 시료 크로마토그램의 총 면적에 비교함으로써 순도를 결정하였다. 당해 방법은 ADC1-MMAF 주요 피크로부터 고분자량 응집물 및 절단형 항체 종을 분할할 수 있다. 이 방법은 실시에 4 내지 8에서도 사용되었다.
- [0298] 고분자량 종(%) 및 저분자량 종(%) 이외에 주요 피크(%)를 측정하였다. 최초 시점에, 주요 피크는 98.9%였다. 고분자량 종은 0.9%였고, 저분자량 종은 0.2%였다.
- [0299] 5°C에서 1개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 주요 피크는 98.8%였다. 고분자량 종은 0.9%였고, 저분자량 종은 0.2%였다.
- [0300] 5°C에서 3개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 주요 피크는 98.8%였다. 고분자량 종은 1.0%였고, 저분자량 종은 0.2%였다.

- [0301] 5℃에서 6개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 주요 피크는 99.0%였다. 고분자량 종은 0.9%였고, 저분자량 종은 0.2%였다. 5℃에서 9개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 주요 피크는 98.9%였다. 고분자량 종은 0.9%였고, 저분자량 종은 0.3%였다.
- [0302] 5℃에서 12개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 주요 피크는 98.8%였다. 고분자량 종은 0.8%였고, 저분자량 종은 0.4%였다.
- [0303] 5℃에서 18개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 주요 피크는 98.8%였다. 고분자량 종은 0.9%였고, 저분자량 종은 0.3%였다.
- [0304] 따라서, 최초, 1개월, 3개월, 6개월, 9개월, 12개월 및 18개월 시점의 측정치들에서 모든 시점이 주요 피크(%) 및 고분자량 및 저분자량 종에서의 변화를 거의 내지는 전혀 나타내지 않았다.
- [0305] 용액의 크로마토그래피 피크는 5℃에서의 장기간 저장에 의해 변화되지 않음
- [0306] 재구성된 용액에 대해 양이온 교환 크로마토그래피(CEX)를 고성능 액체 크로마토그래피를 사용하여 수행하였다(CEX-HPLC). 양이온 교환 크로마토그래피에서는 양으로 하전된 분자가 음으로 하전된 고체 지지체에 부착된다. 양이온 교환(CEX-HPLC) 크로마토그래피 검정은 시험 시료 중의 ADC1-MMAF의 안정성을 참조 표준(선행 기술에서 특성화된 ADC1-MMAF)과의 비교를 통해 모니터링하는 데 사용되는 전하 기반 분리 방법이다. 당해 방법은 산성 중 및 염기성 중으로부터 주요 피크를 분할할 수 있다.
- [0307] 최초 시점에, 그리고 5℃에서 18개월까지 저장한 다음 재구성한 후, 재구성된 용액의 외관은 사전 특성화된 ADC1-MMAF 대조물의 것에 합치하는 시료의 주요한 크로마토그래피 피크 패턴을 특징으로 하였다. 따라서, 크로마토그래피 피크는 5℃에서 18개월의 과정에 걸쳐 상대적으로 변하지 않은 채 유지되었다.
- [0308] 용액의 순도는 5℃에서의 장기간 저장에 의해 영향 받지 않음
- [0309] 재구성된 용액에 대해, 최초 시점에, 그리고 5℃에서 18개월까지 저장한 다음 재구성한 후, 모세관 겔 전기영동(CE-SDS-R)을 수행하여 용액의 순도를 측정하였다. 최초 시점에, 순도 퍼센트는 97.4%였다. 5℃에서 1개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 순도 퍼센트는 97.6%였다. 5℃에서 3개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 순도 퍼센트는 96.9%였다. 5℃에서 6개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 순도 퍼센트는 97.1%였다. 5℃에서 9개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 순도 퍼센트는 96.7%였다. 5℃에서 12개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 순도 퍼센트는 97.2%였다. 5℃에서 18개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 순도 퍼센트는 97.3%였다. 따라서, 재구성된 용액의 순도는 최초 시점과 18개월까지 후 재구성한 시점 사이에서 유의하게 변화되지 않았다.
- [0310] 용액의 약물 대 항체 비는 5℃에서의 장기간 저장에 의해 변화되지 않음
- [0311] 재구성된 용액에 대해 소수성 상호작용 크로마토그래피(HIC)를 수행하여 18개월의 기간에 걸쳐 약물 대 항체 비(DAR)를 측정하였다. HIC는 상대적 소수도를 기준으로 단백질을 분리하는 데 사용된다. HIC 방법은 ADC1-MMAF의 소수도의 척도이다. 이동 상의 염 농도의 감소 구배를 사용함으로써, 결합된 성분들이 소수도 증가 순으로 리간드로부터 용리 제거된다. ADC1-MMAF의 경우, 컬럼으로부터 용리되는 최초의 피크는 비접합 항체였다. 나머지 피크들은 항체 하나당 약물-링커 분자의 개수 증가를 나타냈다. 따라서, 항체 하나당 약물-링커의 개수는 피크 체류 시간 및 상대적 피크 면적에 의해 결정되었다. 이 방법은 실시예 4 내지 8에서도 사용되었다. 최초 시점에, 그리고 5℃에서 18개월까지 저장한 다음 재구성한 후, 약물 대 항체 비(DAR)는 모든 재구성된 용액에 대해 4.1 내지 4.2로 측정되었다.
- [0312] 용액 중 비접합 항체 퍼센트는 5℃에서의 장기간 저장에 의해 변화되지 않음
- [0313] 재구성된 용액을 또한, DAR 측정에 대해 상기에 기재된(그리고 또한 실시예 4 내지 8에서 사용된) HIC 방법을 사용하여 ADC1-MMAF에 대한 비접합 항체 퍼센트를 측정하기 위해 분석하였다. 최초 시점에, 상기 퍼센트는 4.1 이하였다. 5℃에서 1개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 상기 퍼센트는 4.1 이하였다. 5℃에서 3개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 상기 퍼센트는 4.1 이하였다. 5℃에서 6개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 상기 퍼센트는 3.9 이하였다. 5℃에서 9개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 상기 퍼센트는 4.0 이하였다. 5℃에서 12개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 상기 퍼센트는 4.0 이하였다. 5℃에서 18개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 상기 퍼센트는 4.0 이하였다. 따라서, 상기 퍼센트는 모든 시점에서 유사하였다.
- [0314] 용액 중의 켄칭된 약물 링커 퍼센트는 5℃에서의 장기간 저장에 의해 변화되지 않음
- [0315] 재구성된 용액에 대해 역상 크로마토그래피(RP-HPLC)를 수행하여, 켄칭된 약물 링커 퍼센트를 측정하였다. RP-

HPLC는 분자들을 이들과 소수성 매트릭스와의 상호작용에 기초하여 분리하는 것으로, 주로 분자들의 극성에 기초한다. 당해 방법은 용액 중의 켄칭된 약물-링커 및 총 불순물의 양을 측정한다. ADC1-MMAF는 메탄올을 사용한 침전에 이어 원심분리에 의해 시료로부터 제거되었다. 켄칭된 약물-링커 및 총 불순물에 대한 상정액 분석을 C-18 컬럼 및 214nm에서의 UV 검출을 사용하여 RP-HPLC에 의해 수행하였다. 당해 방법이 실시예 4 내지 8에서도 사용되었다.

[0316] 최초 시점에, 상기 퍼센트는 0.007 이하였다. 5°C에서 1개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 상기 퍼센트는 0.005 이하였다. 5°C에서 3개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 상기 퍼센트는 0.006 이하였다. 5°C에서 6개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 상기 퍼센트는 0.005 이하였다. 5°C에서 9개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 상기 퍼센트는 0.005 이하였다. 5°C에서 12개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 상기 퍼센트는 0.007 이하였다. 5°C에서 18개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 상기 퍼센트는 0.005 이하였다. 따라서, 켄칭된 약물 링커 퍼센트에 대해 상기 퍼센트는 모든 시점에서 유사하였다.

[0317] 용액 중의 총 불순물은 5°C에서의 장기간 저장에 의해 변화되지 않음

[0318] 재구성된 용액을 또한, 켄칭된 링커 퍼센트와 관련하여 상기에 기재된(그리고 또한 실시예 4 내지 8에서 사용된) 방법을 사용하여, RP-HPLC를 사용하여 총 불순물의 퍼센트를 측정하기 위해 분석하였다. 최초 시점에, 상기 퍼센트는 0.007 이하였다. 5°C에서 1개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 상기 퍼센트는 0.005 이하였다. 5°C에서 3개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 상기 퍼센트는 0.006 이하였다. 5°C에서 6개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 상기 퍼센트는 0.005 이하였다. 5°C에서 9개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 상기 퍼센트는 0.005 이하였다. 5°C에서 12개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 상기 퍼센트는 0.007 이하였다. 5°C에서 18개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 상기 퍼센트는 0.005 이하였다. 따라서, 총 불순물에 대해 상기 퍼센트는 모든 시점에서 유사하였다.

[0319] 용액의 미립자 오염은 5°C에서의 장기간 저장에 의해 영향 받지 않음

[0320] 미립자 오염을 육안으로 보이지 않는 입자들을 측정함으로써 평가하였다. 용기 하나당 10 $\mu$ m를 초과하는 입자의 개수를 측정하여 6000개 이하(USP(미국 약전) 및 유럽 약전 표준)이면 허용 기준을 만족시켰다. 최초 시점에, 용기 하나당 10 $\mu$ m를 초과하는 입자의 개수는 33개였다. 5°C에서 1개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 용기 하나당 10 $\mu$ m를 초과하는 입자의 개수는 22개였다. 5°C에서 3개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 용기 하나당 10 $\mu$ m를 초과하는 입자의 개수는 25개였다. 5°C에서 6개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 용기 하나당 10 $\mu$ m를 초과하는 입자의 개수는 73개였다. 5°C에서 12개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 용기 하나당 10 $\mu$ m를 초과하는 입자의 개수는 20개였다. 따라서, 모든 시점이 용기 하나당 10 $\mu$ m를 초과하는 입자의 개수에 대한 허용 기준을 만족시켰다.

[0321] 또한 용기 하나당 25 $\mu$ m를 초과하는 입자의 개수를 측정하여 600개 이하(USP(미국 약전) 및 유럽 약전 표준)이면 허용 기준을 만족시켰다. 최초 시점에, 용기 하나당 25 $\mu$ m를 초과하는 입자의 개수는 0개였다. 5°C에서 1개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 용기 하나당 25 $\mu$ m를 초과하는 입자의 개수는 2개였다. 5°C에서 3개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 용기 하나당 25 $\mu$ m를 초과하는 입자의 개수는 2개였다. 5°C에서 6개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 용기 하나당 25 $\mu$ m를 초과하는 입자의 개수는 10개였다. 5°C에서 12개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 용기 하나당 25 $\mu$ m를 초과하는 입자의 개수는 3개였다. 따라서, 모든 시점이 용기 하나당 25 $\mu$ m를 초과하는 입자의 개수에 대한 허용 기준을 만족시켰다.

[0322] 용액의 함수량은 5°C에서의 장기간 저장에 의해 영향 받지 않음

[0323] 함수량을 칼-피셔-적정(Karl-Fischer-Titration)에 의해 평가하였다. 칼 피셔 적정은 전기량 또는 부피 적정을 이용하여 시료 중 미량의 물을 측정하여 퍼센트로서 보고한다. 최초 시점에, 재구성된 용액 중 물 퍼센트는 2.0%였다. 5°C에서 3개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 재구성된 용액 중 물 퍼센트는 0.7%였다. 5°C에서 6개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 재구성된 용액 중 물 퍼센트는 0.7%였다. 5°C에서 12개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 재구성된 용액 중 물 퍼센트는 0.8%였다. 따라서, 최초 시점에, 그리고 5°C에서 1개월, 3개월, 6개월 및 12개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 재구성된 용액 중의 함수량은 무시해도 될 정도였다.

[0324] 용액의 pH는 5°C에서의 장기간 저장에 의해 영향 받지 않음

[0325] 재구성된 용액의 pH를 최초 시점에, 그리고 5°C에서 1개월, 3개월, 6개월 및 12개월 동안 저장한 다음 재구성한 후 측정하였다. 최초 시점에, 재구성된 용액의 pH 값은 6.0이었다. 5°C에서 3개월 동안 저장한 후, 재구성된 용액의 pH 값은 5.9였다. 5°C에서 6개월 동안 저장한 후, 재구성된 용액의 pH 값은 5.9였다. 5°C에서 12개월

동안 저장한 후, 재구성된 용액의 pH 값은 5.9였다.

- [0326] 용액의 삼투질 농도는 5℃에서의 장기간 저장에 의해 영향 받지 않음
- [0327] 재구성된 용액의 삼투질 농도를 최초 시점에, 그리고 5℃에서 1개월 동안 저장한 다음 재구성한 후 측정하였으며, 이는 용매 1kg당 용질 밀리오스몰(mOsmol/kg)의 평균 값을 측정함에 의한 것이었다. 최초 시점에, 삼투질 농도는 235mOsmol/kg이었다. 1개월째에, 삼투질 농도는 251mOsmol/kg이었다.
- [0328] **실시예 4: 25℃에서 동결건조 제형 중 ADC 1-MMAF의 안정성**
- [0329] 동결건조물을 최초 시점에 SWFI로 재구성한 후, 그리고 25℃(60% 상대 습도)에서 1, 3 및 6개월 동안 저장한 다음 재구성한 후 다음의 시험들을 수행하였다:
- [0330] 동결건조물 및 재구성된 용액의 외관은 25℃에서의 장기간 저장에 의해 영향 받지 않음
- [0331] 동결건조물의 외관 및 재구성된 용액의 외관을 육안으로 평가하여, 동결건조물이 육안으로 보이는 외래 미립자 물질을 사실상 함유하지 않고 패키징 재료 내에 수분을 함유하지 않는다는 것을 확인하였다. 최초 시점에, 그리고 25℃(60% 상대 습도)에서 1, 3 및 6개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 동결건조물의 외관은 전술된 기준에 부합하였다. 재구성 후, 상기 재구성된 용액은 무색 내지 담황색의 용액이었고, 육안으로 보이는 미립자 물질을 사실상 함유하지 않았다. 따라서, 최초 시점에, 그리고 25℃(60% 상대 습도)에서 1, 3 및 6개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 상기 재구성된 용액의 외관은, 용액이 무색 내지 담황색의 용액이고, 육안으로 보이는 미립자 물질을 사실상 함유하지 않은 것이었다.
- [0332] 용액의 색은 25℃에서의 장기간 저장에 의해 영향 받지 않음
- [0333] 용액의 색(시각적 특징)을 청색/황색(BY)-스케일을 사용하여 평가하였으며, 여기서 시료를 참조 용액에 대해 시험하고 수치를 보고하였다. 최초 시점에, 그리고 25℃(60% 상대 습도)에서 1, 3 및 6개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 모든 재구성된 용액들은 7 이하의 BY-스케일 척도를 가졌다. 따라서, 저장은 용액의 색에 영향을 미치지 않았다.
- [0334] 용액의 투명성 및 유백광은 25℃에서의 장기간 저장에 의해 영향 받지 않음
- [0335] 재구성된 용액의 투명성 및 유백광을 평가하였다. 재구성된 용액이 (유럽 약전 ph. Eur에 대해) 참조 현탁액 IV보다 유백광이 더 많지 않은 경우, 재구성된 용액의 허용 기준을 만족하였다. 최초 시점에, 그리고 25℃(60% 상대 습도)에서 1, 3 및 6개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 재구성된 용액의 외관은 (유럽 약전 ph. Eur에 대해) 참조 현탁액 IV보다 유백광이 더 많지 않았다(< = RSII).
- [0336] 용액의 생물학적 활성은 25℃에서의 장기간 저장에 의해 영향 받지 않음
- [0337] 사람 표피양 암종 세포주를 사용하는 세포독성 검정을 사용하여, 재구성된 용액의 생물학적 활성(%)을 세포독성 활성을 갖는 것으로 사전 확인된 ADC1-MMAF 대조물에 비교하여 시험하였다(상기 대조물은 100% 활성을 가짐). 최초 시점에, 상대적인 생물학적 활성은 109%였다. 25℃(60% 상대 습도)에서 1개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 상대적인 생물학적 활성은 113%였다. 25℃/60% 상대 습도에서 3개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 상대적인 생물학적 활성은 103%였다. 25℃/60% 상대 습도에서 6개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 상대적인 생물학적 활성은 109%였다.
- [0338] 분자 및/또는 분자 복합체의 크기는 25℃에서의 장기간 저장에 의해 영향 받지 않음
- [0339] 크기 배제 크로마토그래피를 크기 배제-고성능 액체 크로마토그래피(SE-HPLC)에 의해 수행하였다. 고분자량 중(%) 및 저분자량 중(%) 이외에 주요 피크(%)를 측정하였다. 최초 시점에, 주요 피크는 98.9%였다. 고분자량 중은 0.9%였고, 저분자량 중은 0.2%였다. 25℃(60% 상대 습도)에서 1개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 주요 피크는 98.8%였다. 고분자량 중은 1.0%였고, 저분자량 중은 0.2%였다. 25℃(60% 상대 습도)에서 3개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 주요 피크는 98.8%였다. 고분자량 중은 1.0%였고, 저분자량 중은 0.2%였다. 25℃(60% 상대 습도)에서 6개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 주요 피크는 98.9%였다. 고분자량 중은 0.9%였고, 저분자량 중은 0.2%였다. 따라서, 최초, 1개월, 3개월 및 6개월 측정치들에서 주요 피크(%) 및 고분자량 및 저분자량 중에서의 변화가 거의 내지는 전혀 나타나지 않았다.
- [0340] 용액의 크로마토그래피 피크는 25℃에서의 장기간 저장에 의해 변화되지 않음
- [0341] 양이온 교환 크로마토그래피(CEX)를 고성능 액체 크로마토그래피에 의해 수행하였다(CEX-HPLC). 최초 시점에,



그리고 25℃/60% 상대 습도에서 1, 3 및 6개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 재구성된 용액의 외관은 참조 표준의 것에 합치하는 시료의 주요한 크로마토그래피 피크 패턴을 특징으로 하였다.

- [0342] 용액의 순도는 25℃에서의 장기간 저장에 의해 영향 받지 않음
- [0343] 재구성된 용액에 대해, 최초 시점에, 그리고 25℃(60% 상대 습도)에서 1, 3 및 6개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 모세관 겔 전기영동(CE-SDS-R)을 수행하였다. 최초 시점에, 순도 퍼센트는 97.4%였다. 1개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 순도 퍼센트는 97.4%였다. 3개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 순도 퍼센트는 96.9%였다. 6개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 순도 퍼센트는 97.1%였다. 따라서, 재구성된 용액의 순도는 최초 시점과, 25℃(60% 상대 습도)에서 1, 3 및 6개월 동안 저장한 다음 재구성한 후의 시점 사이에서 유의하게 변화되지 않았다.
- [0344] 용액의 약물 대 항체 비는 25℃에서의 장기간 저장에 의해 변화되지 않음
- [0345] 재구성된 용액에 대해 소수성 상호작용 크로마토그래피(HIC)를 수행하였다. 최초 시점에, 그리고 25℃(60% 상대 습도)에서 1, 3 및 6개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, DAR은 모든 재구성된 용액에 대해 4.2로 측정되었다.
- [0346] 용액 중 비접합 항체 퍼센트는 장기간 저장에 의해 변화되지 않음
- [0347] 재구성된 용액을 분석하여 비접합 항체 퍼센트를 측정하였다. 최초 시점에, 상기 퍼센트는 4.1 이하였다. 25℃(60% 상대 습도)에서 1개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 상기 퍼센트는 4.1 이하였다. 25℃(60% 상대 습도)에서 3개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 상기 퍼센트는 4.1 이하였다. 25℃(60% 상대 습도)에서 6개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 상기 퍼센트는 3.9 이하였다.
- [0348] 용액 중의 켄칭된 약물 링커 퍼센트는 25℃에서의 장기간 저장에 의해 변화되지 않음
- [0349] 재구성된 용액에 대해 역상 크로마토그래피(RP-HPLC)를 수행하여, 켄칭된 링커 퍼센트를 측정하였다. 최초 시점에, 상기 퍼센트는 0.007 이하였다. 25℃(60% 상대 습도)에서 1개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 상기 퍼센트는 0.005 이하였다. 25℃(60% 상대 습도)에서 3개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 상기 퍼센트는 0.006 이하였다. 25℃(60% 상대 습도)에서 6개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 상기 퍼센트는 0.005 이하였다. 따라서, 켄칭된 약물 링커 퍼센트에 대해 상기 퍼센트는 모든 시점에서 유사하였다.
- [0350] 용액 중의 총 불순물은 25℃에서의 장기간 저장에 의해 변화되지 않음
- [0351] 재구성된 용액을 분석하여 총 불순물의 퍼센트를 측정하였다. 최초 시점에, 상기 퍼센트는 0.007 이하였다. 25℃(60% 상대 습도)에서 1개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 상기 퍼센트는 0.005 이하였다. 25℃(60% 상대 습도)에서 3개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 상기 퍼센트는 0.006 이하였다. 25℃(60% 상대 습도)에서 6개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 상기 퍼센트는 0.005 이하였다. 따라서, 총 불순물에 대해 상기 퍼센트는 모든 시점에서 유사하였다.
- [0352] 용액의 미립자 오염은 25℃에서의 장기간 저장에 의해 영향 받지 않음
- [0353] 미립자 오염을 육안으로 보이지 않는 입자들을 측정함으로써 평가하였다. 용기 하나당 10 $\mu$ m를 초과하는 입자의 개수를 측정하여 6000개 이하(USP(미국 약전) 및 유럽 약전 표준)이면 허용 기준을 만족시켰다. 최초 시점에, 용기 하나당 10 $\mu$ m를 초과하는 입자의 개수는 33개였다. 25℃(60% 상대 습도)에서 1개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 용기 하나당 10 $\mu$ m를 초과하는 입자의 개수는 18개였다. 25℃(60% 상대 습도)에서 3개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 용기 하나당 10 $\mu$ m를 초과하는 입자의 개수는 25개였다. 25℃(60% 상대 습도)에서 6개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 용기 하나당 10 $\mu$ m를 초과하는 입자의 개수는 50개였다. 따라서, 모든 시점이 용기 하나당 10 $\mu$ m를 초과하는 입자의 개수에 대한 허용 기준을 만족시켰다. 또한 용기 하나당 25 $\mu$ m를 초과하는 입자의 개수를 측정하여 600개 이하이면 허용 기준을 만족시켰다. 최초 시점에, 용기 하나당 25 $\mu$ m를 초과하는 입자의 개수는 0개였다. 25℃(60% 상대 습도)에서 1개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 용기 하나당 25 $\mu$ m를 초과하는 입자의 개수는 2개였다. 25℃(60% 상대 습도)에서 3개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 용기 하나당 25 $\mu$ m를 초과하는 입자의 개수는 2개였다. 25℃(60% 상대 습도)에서 6개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 용기 하나당 25 $\mu$ m를 초과하는 입자의 개수는 2개였다. 따라서, 모든 시점이 용기 하나당 25 $\mu$ m를 초과하는 입자의 개수에 대한 허용 기준을 만족시켰다.
- [0354] 용액의 함수량은 25℃에서의 장기간 저장에 의해 영향 받지 않음

- [0355] 함수량을 칼-피셔-적정에 의해 평가하였다. 최초 시점에, 재구성된 용액 중 물 퍼센트는 2.0%였다. 25℃(60% 상대 습도)에서 1개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 재구성된 용액 중 물 퍼센트는 검출되지 않았다. 25℃(60% 상대 습도)에서 3개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 재구성된 용액 중 물 퍼센트는 0.8%였다. 25℃(60% 상대 습도)에서 6개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 재구성된 용액 중 물 퍼센트는 0.9%였다. 따라서, 최초 시점에, 그리고 1, 3 및 6개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 재구성된 용액의 함수량은 무시해도 될 정도였다.
- [0356] 용액의 pH는 25℃에서의 장기간 저장에 의해 영향 받지 않음
- [0357] 재구성된 용액의 pH를 최초 시점에, 그리고 25℃(60% 상대 습도)에서 3개월 및 6개월 동안 저장한 다음 재구성한 후 측정하였다. 최초 시점에, 재구성된 용액의 pH 값은 6.0이었다. 25℃(60% 상대 습도)에서 3개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 재구성된 용액의 pH 값은 5.9였다. 25℃(60% 상대 습도)에서 6개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 재구성된 용액의 pH 값은 5.9였다.
- [0358] 실시예 5: 40℃에서 ADC 1-MMAF 동결건조 제형의 안정성
- [0359] 실시예 2에 기재된 동결건조된 ADC1-MMAF 제형을 최초 시점에 SWFI로 재구성한 후, 그리고 동결건조물을 40℃/(75% 상대 습도)에서 1, 3 및 6개월 동안 저장한 다음 재구성한 후 다음의 시험들을 수행하였다.
- [0360] 동결건조물 및 재구성된 용액의 외관은 40℃에서의 장기간 저장에 의해 영향 받지 않음
- [0361] 동결건조물의 외관 및 재구성된 용액의 외관을 육안으로 평가하여, 동결건조물이 육안으로 보이는 외래 미립자 물질을 사실상 함유하지 않고 패키징 재료 내에 수분을 함유하지 않는다는 것을 확인하였다. 최초 시점에, 그리고 40℃(75% 상대 습도)에서 1, 3 및 6개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 동결건조물의 외관은 전술된 기준에 부합하였다. 재구성 후, 상기 재구성된 용액은 무색 내지 담황색의 용액이었고, 육안으로 보이는 미립자 물질을 사실상 함유하지 않았다. 최초 시점에, 그리고 40℃(75% 상대 습도)에서 1, 3 및 6개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 상기 재구성된 용액의 외관은 무색 내지 담황색의 용액이었고, 육안으로 보이는 미립자 물질을 사실상 함유하지 않았다.
- [0362] 용액의 색은 40℃에서의 장기간 저장에 의해 영향 받지 않음
- [0363] 용액의 색(시각적 특징)을 BY-스케일을 사용하여 평가하였으며, 여기서 시료를 참조 용액에 대해 시험하고 수치를 보고하였다. 최초 시점에, 그리고 40℃(75% 상대 습도)에서 1, 3 및 6개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 모든 재구성된 용액들은 7 이하의 BY-스케일 척도를 가졌다. 따라서, 저장은 용액의 색에 영향을 미치지 않았다.
- [0364] 용액의 투명성 및 유백광은 40℃에서의 장기간 저장에 의해 영향 받지 않음
- [0365] 재구성된 용액의 투명성 및 유백광을 평가하였다. 재구성된 용액이 (유럽 약전 ph. Eur에 대해) 참조 현탁액 IV보다 유백광이 더 많지 않은 경우, 재구성된 용액의 허용 기준을 만족하였다. 최초 시점에, 그리고 40℃(75% 상대 습도)에서 1, 3 및 6개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 재구성된 용액의 외관은 (유럽 약전 ph. Eur에 대해) 참조 현탁액 IV보다 유백광이 더 많지 않았다(< = RSII).
- [0366] 용액의 생물학적 활성은 40℃에서의 장기간 저장에 의해 영향 받지 않음
- [0367] 사람 표피양 암종 세포주를 사용하는 세포독성 검정을 사용하여, 재구성된 용액의 생물학적 활성(%)을 세포독성 활성을 갖는 것으로 사전 확인된 ADC1-MMAF 대조물에 비교하여 시험하였다(상기 대조물은 100% 활성을 가짐). 최초 시점에, 상대적인 생물학적 활성은 109%였다. 40℃(75% 상대 습도)에서 1개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 상대적인 생물학적 활성은 117%였다. 40℃(75% 상대 습도)에서 3개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 상대적인 생물학적 활성은 113%였다. 40℃(75% 상대 습도)에서 6개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 상대적인 생물학적 활성은 110%였다. 따라서, 생물학적 활성 퍼센트는 모든 시점에서 100%를 초과하는 생물학적 활성을 가졌다.
- [0368] 분자 및/또는 분자 복합체의 크기는 40℃에서의 장기간 저장에 의해 영향 받지 않음
- [0369] 크기 배제 크로마토그래피를 크기 배제-고성능 액체 크로마토그래피(SE-HPLC)에 의해 수행하였다. 고분자량 중(%) 및 저분자량 중(%) 이외에 주요 피크(%)를 측정하였다. 최초 시점에, 주요 피크는 98.9%였다. 고분자량 중은 0.9%였고, 저분자량 중은 0.2%였다. 40℃(75% 상대 습도)에서 1개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 주요 피크는 98.8%였다. 고분자량 중은 1.0%였고, 저분자량 중은 0.2%였다. 40℃(75% 상대 습도)에서 3개월 동안

저장한 다음 재구성한 후, 주요 피크는 98.7%였다. 고분자량 종은 1.1%였고, 저분자량 종은 0.2%였다. 40℃ (75% 상대 습도)에서 6개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 주요 피크는 98.8%였다. 고분자량 종은 1.0%였고, 저분자량 종은 0.2%였다. 따라서, 최초, 1개월, 3개월 및 6개월 측정치들에서 주요 피크(%) 및 고분자량 및 저분자량 종에서의 변화가 거의 내지는 전혀 나타나지 않았다.

- [0370] 용액의 크로마토그래피 피크는 40℃에서의 장기간 저장에 의해 변화되지 않음
- [0371] 양이온 교환 크로마토그래피(CEX)를 고성능 액체 크로마토그래피에 의해 수행하였다(CEX-HPLC). 최초 시점에, 그리고 40℃(75% 상대 습도)에서 1, 3 및 6개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 재구성된 용액의 외관은 참조 표준의 것에 합치하는 시료의 주요한 크로마토그래피 피크 패턴을 특징으로 하였다.
- [0372] 용액의 순도는 장기간 저장에 의해 영향 받지 않음
- [0373] 재구성된 용액에 대해, 최초 시점에, 그리고 40℃(75% 상대 습도)에서 1, 3 및 6개월 동안 동안 저장한 다음 재구성한 후, 모세관 겔 전기영동(CE-SDS-R)을 수행하고, 이것을 사용하여 용액의 순도 퍼센트를 측정하였다. 최초 시점에, 순도 퍼센트는 97.4%였다. 1개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 순도 퍼센트는 97.5%였다. 3개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 순도 퍼센트는 96.9%였다. 6개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 순도 퍼센트는 97.2%였다. 따라서, 재구성된 용액의 순도는 최초 시점과, 40℃(75% 상대 습도)에서 1, 3 및 6개월 동안 저장한 다음 재구성한 후의 시점 사이에서 유의하게 변화되지 않았다.
- [0374] 용액의 약물 대 항체 비는 40℃에서의 장기간 저장에 의해 변화되지 않음
- [0375] 재구성된 용액에 대해 소수성 상호작용 크로마토그래피(HIC)를 수행하였다. 최초 시점에, 그리고 40℃(75% 상대 습도)에서 1, 3 및 6개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, DAR은 모든 재구성된 용액에 대해 4.2로 측정되었다.
- [0376] 용액 중 비접합 항체 퍼센트는 40℃에서의 장기간 저장에 의해 변화되지 않음
- [0377] 최초 시점에, 상기 퍼센트는 4.1 이하였다. 40℃(75% 상대 습도)에서 1개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 상기 퍼센트는 4.1 이하였다. 40℃(75% 상대 습도)에서 3개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 상기 퍼센트는 4.1 이하였다. 40℃(75% 상대 습도)에서 6개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 상기 퍼센트는 3.9 이하였다. 따라서, 상기 퍼센트는 모든 시점에서 유사하였다.
- [0378] 용액 중의 켄칭된 약물 링커 퍼센트는 40℃에서의 장기간 저장에 의해 변화되지 않음
- [0379] 재구성된 용액에 대해 역상 크로마토그래피(RP-HPLC)를 수행하여, 켄칭된 약물 링커 퍼센트를 측정하였다. 최초 시점에, 상기 퍼센트는 0.007 이하였다. 40℃(75% 상대 습도)에서 1개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 상기 퍼센트는 0.005 이하였다. 40℃(75% 상대 습도)에서 3개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 상기 퍼센트는 0.006 이하였다. 40℃(75% 상대 습도)에서 6개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 상기 퍼센트는 0.005 이하였다. 따라서, 켄칭된 약물 링커 퍼센트에 대해 상기 퍼센트는 모든 시점에서 유사하였다.
- [0380] 용액 중의 총 불순물은 40℃에서의 장기간 저장에 의해 변화되지 않음
- [0381] 재구성된 용액을 RP-HPLC를 사용하여 분석하여 총 불순물의 퍼센트를 측정하였다. 최초 시점에, 상기 퍼센트는 0.007 이하였다. 40℃(75% 상대 습도)에서 1개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 상기 퍼센트는 0.005 이하였다. 40℃(75% 상대 습도)에서 3개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 상기 퍼센트는 0.006 이하였다. 40℃(75% 상대 습도)에서 6개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 상기 퍼센트는 0.005 이하였다. 따라서, 총 불순물에 대해 상기 퍼센트는 모든 시점에서 유사하였다.
- [0382] 용액의 미립자 오염은 40℃에서의 장기간 저장에 의해 영향 받지 않음
- [0383] 미립자 오염을 육안으로 보이지 않는 입자들을 측정함으로써 평가하였다. 용기 하나당 10 $\mu$ m를 초과하는 입자의 개수를 측정하여 6000개 이하(USP(미국 약전) 및 유럽 약전 표준)이면 허용 기준을 만족시켰다. 최초 시점에, 용기 하나당 10 $\mu$ m를 초과하는 입자의 개수는 33개였다. 40℃(75% 상대 습도)에서 1개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 용기 하나당 10 $\mu$ m를 초과하는 입자의 개수는 5개였다. 40℃(75% 상대 습도)에서 3개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 용기 하나당 10 $\mu$ m를 초과하는 입자의 개수는 12개였다. 40℃(75% 상대 습도)에서 6개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 용기 하나당 10 $\mu$ m를 초과하는 입자의 개수는 32개였다. 따라서, 모든 시점이 용기 하나당 10 $\mu$ m를 초과하는 입자의 개수에 대한 허용 기준을 만족시켰다. 또한 용기 하나당 25 $\mu$ m를 초과하는 입자의 개수를 측정하여 600개 이하이면 허용 기준을 만족시켰다. 최초 시점에, 용기 하나당 25 $\mu$ m를 초과하는

입자의 개수는 0개였다. 40℃(75% 상대 습도)에서 1개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 용기 하나당 25 $\mu$ m를 초과하는 입자의 개수는 0개였다. 40℃(75% 상대 습도)에서 3개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 용기 하나당 25 $\mu$ m를 초과하는 입자의 개수는 0개였다. 40℃(75% 상대 습도)에서 6개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 용기 하나당 25 $\mu$ m를 초과하는 입자의 개수는 2개였다. 따라서, 모든 시점이 용기 하나당 25 $\mu$ m를 초과하는 입자의 개수에 대한 허용 기준을 만족시켰다.

[0384] 용액의 함수량은 40℃에서의 장기간 저장에 의해 영향 받지 않음

[0385] 함수량을 칼-피셔-적정에 의해 평가하였다. 칼 피셔 적정은 전기량 또는 부피 적정을 이용하여 시료 중 미량의 물을 측정하여 퍼센트로서 보고한다. 최초 시점에, 재구성된 용액 중 물 퍼센트는 2.0%였다. 40℃(75% 상대 습도)에서 1개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 재구성된 용액 중 물 퍼센트는 검출되지 않았다. 40℃(75% 상대 습도)에서 3개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 재구성된 용액 중 물 퍼센트는 0.9%였다. 40℃(75% 상대 습도)에서 6개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 재구성된 용액 중 물 퍼센트는 1.0%였다. 따라서, 최초 시점에, 그리고 1, 3 및 6개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 재구성된 용액의 함수량은 무시해도 될 정도였다.

[0386] 용액의 pH는 40℃에서의 장기간 저장에 의해 영향 받지 않음

[0387] 재구성된 용액의 pH를 최초 시점에, 그리고 40℃(75% 상대 습도)에서 3개월 및 6개월 동안 저장한 다음 재구성한 후 측정하였다. 최초 시점에, 재구성된 용액의 pH 값은 6.0이었다. 40℃(75% 상대 습도)에서 3개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 재구성된 용액의 pH 값은 5.9였다. 40℃(75% 상대 습도)에서 6개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 재구성된 용액의 pH 값은 5.9였다.

[0388] ADC 1-MMAF의 정제를, 2014년 3월 14일자로 출원된 미국 가출원 제61/792834호 및 미국 출원 제14/210,602호 (상기 출원문헌들은 인용에 의해 본원에 포함됨)에 개시되고 본원에 기재된 배치식 정제 방법에 따라 수행하였다. 실시예 6 내지 8에 기재된 ADC1-MMAFp를 포함하는 ADC 혼합물의 평균 DAR은 약 3.0이었다.

[0389] 실시예 6 내지 8에 기재된 안정성 실험들은 ADC1-MMAFp를 포함하는 동결건조물을 최초 시점에 SWFI로 재구성한 후, 그리고 5℃에서 3개월 동안, 그리고 25℃(60% 상대 습도) 및 40℃/(75% 상대 습도) 둘 모두에서 1 및 3개월 동안 저장한 다음 재구성한 후 수행하였다.

[0390] 실시예 6: 5℃에서 동결건조 제형 중 정제된 ADC 1-MMAF(ADC1-MMAFp)의 안정성

[0391] 실시예 2에 기재된 동결건조된 ADC1-MMAFp 제형을 최초 시점에 SWFI로 재구성한 후, 그리고 동결건조물을 5℃에서 3개월까지 저장한 다음 재구성한 후 다음의 시험들을 수행하였다.

[0392] 동결건조물 및 재구성된 용액의 외관은 5℃에서의 장기간 저장에 의해 영향 받지 않음

[0393] 동결건조물의 외관 및 재구성된 용액의 외관을 육안으로 평가하여, 동결건조물이 육안으로 보이는 외래 미립자 물질을 사실상 함유하지 않고 패키징 재료 내에 수분을 함유하지 않는다는 것을 확인하였다. 최초 시점에, 그리고 5℃에서 3개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 동결건조물의 외관은 전술된 기준에 부합하였다. 재구성 후, 상기 재구성된 용액은 무색 내지 담황색의 용액이었고, 육안으로 보이는 미립자 물질을 사실상 함유하지 않았다.

[0394] 용액의 색은 5℃에서의 장기간 저장에 의해 영향 받지 않음

[0395] 재구성된 용액의 색(시각적 특징)을 청색/황색 스케일(BY-스케일)을 사용하여 평가하였으며, 여기서 시료를 참조 용액에 대해 시험하고 수치를 보고하였다. 최초 시점에, 그리고 5℃에서 3개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 모든 재구성된 용액들은 7 이하의 BY-스케일 척도를 가졌다. 따라서, ADC1-MMAFp 제형의 저장은 용액의 색에 영향을 미치지 않았다.

[0396] 용액의 투명성 및 유백광은 5℃에서의 장기간 저장에 의해 영향 받지 않음

[0397] 재구성된 용액의 투명성 및 유백광을 평가하였다. 최초 시점에, 그리고 5℃에서 3개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 재구성된 용액의 외관은 (유럽 약전 ph. Eur에 대해) 참조 현탁액 IV보다 유백광이 더 많지 않았다(< = RSII).

[0398] 용액의 생물학적 활성은 5℃에서의 장기간 저장에 의해 영향 받지 않음

[0399] 사람 표피양 암종 세포주를 사용하는 세포독성 검정을 사용하여, 재구성된 용액의 생물학적 활성(%)을 세포독성 활성을 갖는 것으로 사전 확인된 ADC1-MMAF 대조물에 비교하여 시험하였다(상기 대조물은 100% 활성을 가짐).



최초 시점에, 상대적인 생물학적 활성은 102%였다. 동결건조된 형태로 5°C에서 3개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 상대적인 생물학적 활성은 98%였다.

- [0400] 분자 및/또는 분자 복합체의 크기는 5°C에서의 장기간 저장에 의해 영향 받지 않음
- [0401] 재구성된 용액의 크기 배제 크로마토그래피를 크기 배제-고성능 액체 크로마토그래피(SE-HPLC)를 사용하여 수행하였다. 고분자량 중(%) 및 저분자량 중(%) 이외에 주요 피크(%)를 측정하였다. 최초 시점에, 주요 피크는 99.5%였다. 고분자량 중은 0.2%였고, 저분자량 중은 0.2%였다. 동결건조된 형태로 5°C에서 3개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 주요 피크는 99.6%였다. 최초 시점에 그리고 동결건조된 형태로 3개월 동안 저장한 다음 재구성할 때 둘 모두에서 고분자량 중은 0.2%였고, 저분자량 중은 0.2%였다.
- [0402] 따라서, 최초 및 3개월 시점의 측정치들에서 주요 피크(%) 및 고분자량 및 저분자량 중에서의 변화가 거의 내지는 전혀 나타나지 않았다.
- [0403] 용액의 크로마토그래피 피크는 5°C에서의 장기간 저장에 의해 변화되지 않음
- [0404] 재구성된 용액에 대해 양이온 교환 크로마토그래피(CEX)를 고성능 액체 크로마토그래피를 사용하여 수행하였다(CEX-HPLC). 양이온 교환 크로마토그래피에서는 양으로 하전된 분자가 음으로 하전된 고체 지지체에 부착된다. 최초 시점에, 그리고 동결건조된 형태로 5°C에서 3개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 재구성된 용액의 외관은 사전 특성화된 ADC1-MMAF 대조물의 것에 합치하는 시료의 주요한 크로마토그래피 피크 패턴을 특징으로 하였다. 따라서, 크로마토그래피 피크는 5°C에서 3개월의 과정에 걸쳐 상대적으로 변하지 않은 채 유지되었다.
- [0405] 용액의 순도는 5°C에서의 장기간 저장에 의해 영향 받지 않음
- [0406] 재구성된 용액에 대해, 최초 시점에, 그리고 5°C에서 3개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 모세관 겔 전기영동(CE-SDS-R)을 수행하여 용액의 순도를 측정하였다. 최초 시점에, 순도 퍼센트는 97.4%였다. 동결건조된 형태로 5°C에서 3개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 순도 퍼센트는 97.6%였다. 따라서, 재구성된 용액의 순도는 최초 시점과 3개월 저장 시점 사이에서 유의하게 변화되지 않았다.
- [0407] ADC1-MMAF의 약물 대 항체 비(DAR)는 5°C에서 저장 후 변하지 않고 유지됨
- [0408] 재구성된 용액에 대해 소수성 상호작용 크로마토그래피(HIC)를 수행하여 3개월의 저장 기간에 걸친 약물 대 항체 비(DAR)를 측정하였다. HIC는 상대적 소수도를 기준으로 단백질을 분리하는 데 사용된다. 최초 시점에, 그리고 동결건조된 형태로 5°C에서 3개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, ADC1-MMAF에 대한 평균 약물 대 항체 비(DAR)는 각각 3.0 및 2.9로 측정되었다.
- [0409] 용액 중 비접합 항체 1의 퍼센트는 5°C에서 저장 후 변화되지 않음
- [0410] 재구성된 용액을 또한 ADC1-MMAF에 대한 비접합 항체 퍼센트를 측정하기 위해 분석하였다. 최초 시점에, 상기 퍼센트는 7.6 이하였다. 동결건조된 형태로 5°C에서 3개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 상기 퍼센트는 7.6 이하였다. 따라서, 비접합 항체 1의 퍼센트는 3개월의 기간에 걸쳐 동일하게 유지되었다.
- [0411] 용액 중의 켄칭된 약물 링커 퍼센트는 5°C에서의 저장에 의해 변화되지 않음
- [0412] 재구성된 용액에 대해 역상 크로마토그래피(RP-HPLC)를 수행하여, 켄칭된 약물 링커 퍼센트를 측정하였다. 켄칭된 약물 링커의 퍼센트는 최초 시점에 그리고 동결건조된 형태로 5°C에서 3개월 동안 저장한 다음 재구성한 후 둘 모두에서 검출되지 않았다(실제 검출 한계는 0.001%였다).
- [0413] 용액 중의 총 불순물은 5°C에서 저장 후 변화되지 않음
- [0414] 재구성된 용액을 또한 RP-HPLC를 사용하여 분석하여 총 불순물의 퍼센트를 측정하였다. 총 불순물의 퍼센트는 최초 시점에 그리고 동결건조된 형태로 5°C에서 3개월 동안 저장한 다음 재구성한 후 둘 모두에서 검출되지 않았다(실제 검출 한계는 0.001%였고; 실제 정량 한계는 0.003%였다).
- [0415] 용액의 미립자 오염은 5°C에서의 저장에 의해 영향 받지 않음
- [0416] 미립자 오염을 2가지 상이한 허용 기준을 사용하여, 육안으로 보이지 않는 입자들을 측정함으로써 평가하였다.
- [0417] 용기 하나당 10 $\mu$ m를 초과하는 입자의 개수를 측정하여 6000개 이하(USP(미국 약전) 및 유럽 약전 표준)이면 허용 기준을 만족시켰다. 최초 시점에, 용기 하나당 10 $\mu$ m를 초과하는 입자의 개수는 13개였다. 동결건조된 형태로 5°C에서 3개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 용기 하나당 10 $\mu$ m를 초과하는 입자의 개수는 20개였다. 따라

서, 둘 모두의 시점이 용기 하나당 10 $\mu$ m를 초과하는 입자의 개수에 대한 허용 기준을 만족시켰다.

- [0418] 또한 용기 하나당 25 $\mu$ m를 초과하는 입자의 개수를 측정하여 600개 이하(USP(미국 약전) 및 유럽 약전 표준)이던 허용 기준을 만족시켰다. 최초 시점에, 용기 하나당 25 $\mu$ m를 초과하는 입자의 개수는 0개였다. 5 $^{\circ}$ C에서 3개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 용기 하나당 25 $\mu$ m를 초과하는 입자의 개수는 0개였다. 따라서, 둘 모두의 시점이 용기 하나당 25 $\mu$ m를 초과하는 입자의 개수에 대한 허용 기준을 만족시켰다.
- [0419] 용액의 함수량은 5 $^{\circ}$ C에서의 저장에 의해 영향 받지 않음
- [0420] 함수량을 칼-피셔-적정에 의해 평가하였다. 칼 피셔 적정은 전기량 또는 부피 적정을 이용하여 시료 중 미량의 물을 측정하여 퍼센트로서 보고한다. 최초 시점에, 재구성된 용액 중 물 퍼센트는 0.8%였다. 동결건조된 형태로 5 $^{\circ}$ C에서 3개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 재구성된 용액 중 물 퍼센트는 0.8%였다. 따라서, 최초 시점에 그리고 5 $^{\circ}$ C에서 3개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 재구성된 용액의 함수량은 무시해도 될 정도였다.
- [0421] 용액의 pH는 5 $^{\circ}$ C에서의 저장에 의해 영향 받지 않음
- [0422] 재구성된 용액의 pH를 최초 시점에, 그리고 5 $^{\circ}$ C에서 3개월 동안 저장한 다음 재구성한 후 측정하였다. 최초 시점에, 재구성된 용액의 pH 값은 5.9였다. 5 $^{\circ}$ C에서 3개월 동안 저장한 후, 재구성된 용액의 pH 값은 5.9였다. 따라서, 5 $^{\circ}$ C에서 3개월 동안의 ADC1-MMAFp의 저장은 pH에 영향을 미치지 않았다.
- [0423] 실시예 7: 25 $^{\circ}$ C에서 동결건조 제형 중 ADC1-MMAFp의 안정성
- [0424] 동결건조된 ADC1-MMAFp 제형(실시예 2 참조)을 최초 시점에 SWFI로 재구성한 후, 그리고 동결건조물을 25 $^{\circ}$ C(60% 상대 습도)에서 1 및 3개월 동안 저장한 다음 재구성한 후 다음의 실험들을 수행하였다.
- [0425] 동결건조물 및 재구성된 용액의 외관은 25 $^{\circ}$ C에서의 저장에 의해 영향 받지 않음
- [0426] 동결건조물의 외관 및 재구성된 용액의 외관을 육안으로 평가하여, 동결건조물이 육안으로 보이는 외래 미립자 물질을 사실상 함유하지 않고 패키징 재료 내에 수분을 함유하지 않는다는 것을 확인하였다. 최초 시점에, 그리고 25 $^{\circ}$ C에서 1 및 3개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 동결건조물의 외관은 전술된 기준에 부합하였다. 재구성 후, 상기 재구성된 용액은 무색 내지 담황색의 용액이었고, 육안으로 보이는 미립자 물질을 사실상 함유하지 않았다. 따라서, 최초 시점에, 그리고 25 $^{\circ}$ C에서 1 및 3개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 상기 재구성된 용액의 외관은, 용액이 무색 내지 담황색의 용액이고, 육안으로 보이는 미립자 물질을 사실상 함유하지 않은 것이었다.
- [0427] 용액의 색은 25 $^{\circ}$ C에서의 저장에 의해 영향 받지 않음
- [0428] 용액의 색(시각적 특징)을 청색/황색(BY)-스케일을 사용하여 평가하였으며, 여기서 시료를 참조 용액에 대해 시험하고 수치를 보고하였다. 최초 시점에, 그리고 25 $^{\circ}$ C에서 1 및 3개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 모든 재구성된 용액들은 7 이하의 BY-스케일 척도를 가졌다. 따라서, 저장은 용액의 색에 영향을 미치지 않았다.
- [0429] 용액의 투명성 및 유백광은 25 $^{\circ}$ C에서의 저장에 의해 영향 받지 않음
- [0430] 재구성된 용액의 투명성 및 유백광을 평가하였다. 재구성된 용액이 (유럽 약전 ph. Eur에 대해) 참조 현탁액 IV보다 유백광이 더 많지 않은 경우, 재구성된 용액의 허용 기준을 만족하였다. 최초 시점에, 그리고 25 $^{\circ}$ C에서 1 및 3개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 재구성된 용액의 외관은 (유럽 약전 ph. Eur에 대해) 참조 현탁액 IV보다 유백광이 더 많지 않았다(< = RSII).
- [0431] 용액의 생물학적 활성은 25 $^{\circ}$ C에서의 저장에 의해 영향 받지 않음
- [0432] 사람 표피양 암종 세포주를 사용하는 세포독성 검정을 사용하여, 재구성된 용액의 생물학적 활성(%)을 세포독성 활성을 갖는 것으로 사전 확인된 ADC1-MMAF 대조물에 비교하여 시험하였다(상기 대조물은 100% 활성을 가짐). 최초 시점에, 상대적인 생물학적 활성은 102%였다. 25 $^{\circ}$ C에서 1개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 상대적인 생물학적 활성은 101%였다. 25 $^{\circ}$ C에서 3개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 상대적인 생물학적 활성은 97%였다.
- [0433] 분자 및/또는 분자 복합체의 크기는 25 $^{\circ}$ C에서의 저장에 의해 영향 받지 않음
- [0434] 크기 배제 크로마토그래피를 크기 배제-고성능 액체 크로마토그래피(SE-HPLC)에 의해 수행하였다. 고분자량 중(%) 및 저분자량 중(%) 이외에 주요 피크(%)를 측정하였다. 최초 시점에, 주요 피크는 99.5%였다. 고분자량 중은 0.2%였고, 저분자량 중은 0.2%였다. 25 $^{\circ}$ C에서 1개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 주요 피크는 99.5%였

다. 고분자량 종은 0.3%였고, 저분자량 종은 0.2%였다. 25℃에서 3개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 주요 피크는 99.6%였다. 고분자량 종은 0.3%였고, 저분자량 종은 0.2%였다. 따라서, 최초, 1개월 및 3개월 시점의 측정치들에서 주요 피크(%) 및 고분자량 및 저분자량 종에서의 변화가 거의 내지는 전혀 나타나지 않았다.

- [0435] 용액의 크로마토그래피 피크는 25℃에서의 저장에 의해 변화되지 않음
- [0436] 양이온 교환 크로마토그래피(CEX)를 고성능 액체 크로마토그래피에 의해 수행하였다(CEX-HPLC). 최초 시점에, 그리고 25℃에서 1개월 및 3개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 재구성된 용액의 외관은 참조 표준의 것에 합치하는 시료의 주요한 크로마토그래피 피크 패턴을 특징으로 하였다.
- [0437] 용액의 순도는 25℃에서의 저장에 의해 영향 받지 않음
- [0438] 재구성된 용액에 대해, 최초 시점에, 그리고 25℃에서 1 및 3개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 모세관 겔 전기영동(CE-SDS-R)을 수행하였다. 최초 시점에, 순도 퍼센트는 97.4%였다. 1개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 순도 퍼센트는 97.5%였다. 3개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 순도 퍼센트는 97.6%였다. 따라서, 재구성된 용액의 순도는 최초 시점과, 25℃에서 1 및 3개월 동안 저장한 다음 재구성한 후의 시점 사이에서 유의하게 변화되지 않았다.
- [0439] ADC1-MMAFp의 약물 대 항체 비(DAR)는 25℃에서 저장 후 변하지 않고 유지됨
- [0440] 재구성된 용액에 대해 소수성 상호작용 크로마토그래피(HIC)를 수행하였다. 최초 시점에, DAR은 3.0으로 측정되었다. 25℃에서 1개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, DAR은 3.0으로 측정되었다. 25℃에서 3개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, DAR은 2.9로 측정되었다. 따라서, ADC1-MMAFp의 DAR은 최초 시점과, 25℃에서 1 및 3개월 동안 저장한 다음 재구성한 후의 시점 사이에서 유의하게 변화되지 않았다.
- [0441] 용액 중 비접합 항체 1의 퍼센트는 25℃에서 저장 후 변화되지 않음
- [0442] 재구성된 용액을 분석하여 비접합 항체 1의 퍼센트를 측정하였다. 최초 시점에, 상기 퍼센트는 7.6 이하였다. 25℃에서 1개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 상기 퍼센트는 7.6 이하였다. 25℃에서 3개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 상기 퍼센트는 7.6 이하였다.
- [0443] 용액 중의 켄칭된 약물 링커 퍼센트는 25℃에서의 저장에 의해 변화되지 않음
- [0444] 재구성된 용액에 대해 역상 크로마토그래피(RP-HPLC)를 수행하여, 켄칭된 링커 퍼센트를 측정하였다. 최초 시점, 1개월 시점 및 3개월 시점에, 켄칭된 링커의 퍼센트는 검출되지 않았다(실제 검출 한계는 0.001%였고; 실제 정량 한계는 0.003%였다).
- [0445] 용액 중의 총 불순물은 25℃에서 저장 후 변화되지 않음
- [0446] 재구성된 용액을 분석하여 총 불순물의 퍼센트를 측정하였다. 최초 시점에, 상기 퍼센트는 검출되지 않았다. 25℃에서 1개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 불순물의 퍼센트는 0.003 미만이었다. 25℃에서 3개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 상기 퍼센트는 검출되지 않았다(실제 검출 한계는 0.001%였고; 실제 정량 한계는 0.003%였다). 따라서, 총 불순물에 대해 상기 퍼센트는 모든 시점에서 유사하였다.
- [0447] 용액의 미립자 오염은 25℃에서의 저장에 의해 영향 받지 않음
- [0448] 미립자 오염을 2가지 허용 기준에 따라, 육안으로 보이지 않는 입자들을 측정함으로써 평가하였다.
- [0449] 용기 하나당 10 $\mu$ m를 초과하는 입자의 개수를 측정하여 6000개 이하(USP(미국 약전) 및 유럽 약전 표준)이면 허용 기준을 만족시켰다. 최초 시점에, 용기 하나당 10 $\mu$ m를 초과하는 입자의 개수는 13개였다. 25℃에서 1개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 용기 하나당 10 $\mu$ m를 초과하는 입자의 개수는 12개였다. 25℃에서 3개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 용기 하나당 10 $\mu$ m를 초과하는 입자의 개수는 17개였다. 따라서, 모든 시점이 용기 하나당 10 $\mu$ m를 초과하는 입자의 개수에 대한 허용 기준을 만족시켰다. 또한 용기 하나당 25 $\mu$ m를 초과하는 입자의 개수를 측정하여 600개 이하이면 허용 기준을 만족시켰다. 최초 시점에, 용기 하나당 25 $\mu$ m를 초과하는 입자의 개수는 0개였다. 25℃에서 1개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 용기 하나당 25 $\mu$ m를 초과하는 입자의 개수는 0개였다. 25℃에서 3개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 용기 하나당 25 $\mu$ m를 초과하는 입자의 개수는 7개였다. 따라서, 모든 시점이 용기 하나당 25 $\mu$ m를 초과하는 입자의 개수에 대한 허용 기준을 만족시켰다.
- [0450] 용액의 함수량은 25℃에서의 저장에 의해 영향 받지 않음
- [0451] 함수량을 칼-피셔-적정에 의해 평가하였다. 최초 시점에, 재구성된 용액 중 물 퍼센트는 0.8%였다. 25℃에서

1개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 재구성된 용액 중 물 퍼센트는 0.8%였다. 25℃에서 3개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 재구성된 용액 중 물 퍼센트는 0.8%였다. 따라서, 최초 시점에, 그리고 25℃에서 1 및 3개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 재구성된 용액의 함수량은 무시해도 될 정도였다.

- [0452] 용액의 pH는 25℃에서의 저장에 의해 영향 받지 않음
- [0453] 재구성된 용액의 pH를 최초 시점에, 그리고 25℃에서 1 및 3개월 동안 저장한 다음 재구성한 후 측정하였다. 최초 시점에, 재구성된 용액의 pH 값은 5.9였다. 25℃에서 3개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 재구성된 용액의 pH 값은 5.9였다. 25℃에서 6개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 재구성된 용액의 pH 값은 5.9였다.
- [0454] 실시예 8: 40℃에서 ADC1-MMAFp 동결건조 제형의 안정성
- [0455] 실시예 2에 기재된 동결건조된 ADC1-MMAFp 제형을 최초 시점에 SWFI로 재구성한 후, 그리고 동결건조물을 40℃/(75% 상대 습도)에서 1 및 3개월 동안 저장한 다음 재구성한 후 다음의 시험들을 수행하였다.
- [0456] 동결건조물 및 재구성된 용액의 외관은 40℃에서의 저장에 의해 영향 받지 않음
- [0457] 동결건조물의 외관 및 재구성된 용액의 외관을 육안으로 평가하여, 동결건조물이 육안으로 보이는 외래 미립자 물질을 사실상 함유하지 않고 패키징 재료 내에 수분을 함유하지 않는다는 것을 확인하였다. 최초 시점에, 그리고 40℃에서 1 및 3개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 동결건조물의 외관은 전술된 기준에 부합하였다. 재구성 후, 상기 재구성된 용액은 무색 내지 담황색의 용액이었고, 육안으로 보이는 미립자 물질을 사실상 함유하지 않았다. 최초 시점에, 그리고 40℃에서 1 및 3개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 상기 재구성된 용액의 외관은, 용액이 무색 내지 담황색의 용액이고, 육안으로 보이는 미립자 물질을 사실상 함유하지 않은 것이었다.
- [0458] 용액의 색은 40℃에서의 저장에 의해 영향 받지 않음
- [0459] 용액의 색(시각적 특징)을 BY-스케일을 사용하여 평가하였으며, 여기서 시료를 참조 용액에 대해 시험하고 수치를 보고하였다. 최초 시점에, 그리고 40℃에서 1 및 3개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 모든 재구성된 용액들은 7 이하의 BY-스케일 척도를 가졌다. 따라서, 저장은 용액의 색에 영향을 미치지 않았다.
- [0460] 용액의 투명성 및 유백광은 40℃에서의 저장에 의해 영향 받지 않음
- [0461] 재구성된 용액의 투명성 및 유백광을 평가하였다. 재구성된 용액이 (유럽 약전 ph. Eur에 대해) 참조 현탁액 IV보다 유백광이 더 많지 않은 경우, 재구성된 용액의 허용 기준을 만족하였다. 최초 시점에, 그리고 40℃에서 1 및 3개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 재구성된 용액의 외관은 (유럽 약전 ph. Eur에 대해) 참조 현탁액 IV보다 유백광이 더 많지 않았다(< = RSII).
- [0462] 용액의 생물학적 활성은 40℃에서의 저장에 의해 영향 받지 않음
- [0463] 사람 표피양 암종 세포주를 사용하는 세포독성 검정을 사용하여, 재구성된 용액의 생물학적 활성(%)을 세포독성 활성을 갖는 것으로 사전 확인된 ADC1-MMAF 대조물에 비교하여 시험하였다(상기 대조물은 100% 활성을 가짐). 최초 시점에, 상대적인 생물학적 활성은 102%였다. 40℃에서 1개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 상대적인 생물학적 활성은 101%였다. 40℃에서 3개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 상대적인 생물학적 활성은 105%였다. 따라서, 실시예 2의 제형에서 생물학적 활성 퍼센트는 모든 시점에서 100%를 초과하는 생물학적 활성을 가졌다.
- [0464] 분자 및/또는 분자 복합체의 크기는 40℃에서의 저장에 의해 영향 받지 않음
- [0465] 크기 배제 크로마토그래피를 크기 배제-고성능 액체 크로마토그래피(SE-HPLC)에 의해 수행하였다. 고분자량 종(%) 및 저분자량 종(%) 이외에 주요 피크(%)를 측정하였다. 최초 시점에, 주요 피크는 99.5%였다. 고분자량 종은 0.2%였고, 저분자량 종은 0.2%였다. 40℃에서 1개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 주요 피크는 99.5%였다. 고분자량 종은 0.3%였고, 저분자량 종은 0.2%였다. 40℃에서 3개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 주요 피크는 99.5%였다. 고분자량 종은 0.3%였고, 저분자량 종은 0.2%였다. 따라서, 최초, 1개월 및 3개월 시점의 측정치들에서 주요 피크(%) 및 고분자량 및 저분자량 종에서의 변화가 거의 내지는 전혀 나타나지 않았다.
- [0466] 용액의 크로마토그래피 피크는 40℃에서의 저장에 의해 변화되지 않음
- [0467] 양이온 교환 크로마토그래피(CEX)를 고성능 액체 크로마토그래피에 의해 수행하였다(CEX-HPLC). 최초 시점에, 그리고 40℃에서 1 및 3개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 재구성된 용액의 외관은 참조 표준의 것에 합치하는 시료의 주요한 크로마토그래피 피크 패턴을 특징으로 하였다.



- [0468] 용액의 순도는 40℃에서의 저장에 의해 영향 받지 않음
- [0469] 재구성된 용액에 대해, 최초 시점에, 그리고 40℃에서 1, 3 및 6개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 모세관 겔 전기영동(CE-SDS-R)을 수행하여 용액의 순도 퍼센트를 측정하였다. 최초 시점에, 순도 퍼센트는 97.4%였다. 1개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 순도 퍼센트는 97.5%였다. 3개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 순도 퍼센트는 97.6%였다. 따라서, 재구성된 용액의 순도는 최초 시점과, 40℃에서 1 및 3개월 동안 저장한 다음 재구성 한 후의 시점 사이에서 유의하게 변화되지 않았다.
- [0470] ADC1-MMAFp의 약물 대 항체 비(DAR)는 40℃에서 저장 후 변화되지 않음
- [0471] 재구성된 용액에 대해 소수성 상호작용 크로마토그래피(HIC)를 수행하였다. 최초 시점에, DAR은 3.0으로 측정되었다. 40℃에서 1개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, DAR은 3.0으로 측정되었다. 40℃에서 3개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, DAR은 2.9로 측정되었다. 따라서, DAR은 최초 시점과, 40℃에서 1 및 3개월 동안 저장한 다음 재구성 한 후의 시점 사이에서 유의하게 변화되지 않았다.
- [0472] 용액 중 비접합 항체 1의 퍼센트는 40℃에서 저장 후 변화되지 않음
- [0473] 최초 시점에, 비접합 항체 1의 퍼센트는 7.6 이하였다. 40℃에서 1개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 비접합 항체 1의 퍼센트는 7.6 이하였다. 40℃에서 3개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 비접합 항체 1의 퍼센트는 7.6 이하였다. 따라서, 상기 퍼센트는 모든 시점에서 유사하였다.
- [0474] 용액 중의 켄칭된 약물 링커 퍼센트는 40℃에서의 저장에 의해 변화되지 않음
- [0475] 재구성된 용액에 대해 역상 크로마토그래피(RP-HPLC)를 수행하여, 켄칭된 약물 링커 퍼센트를 측정하였다. 최초 시점에, 상기 퍼센트는 검출되지 않았다. 40℃에서 1개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 상기 퍼센트는 검출되지 않았다. 40℃에서 1개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 상기 퍼센트는 검출되지 않았다. 따라서, 켄칭된 약물 링커 퍼센트는 모든 시점에서 검출되지 않았다.
- [0476] 용액 중의 총 불순물은 40℃에서 저장 후 변화되지 않음
- [0477] 재구성된 용액을 RP-HPLC를 사용하여 분석하여 총 불순물의 퍼센트를 측정하였다. 최초 시점에, 상기 퍼센트는 검출되지 않았다. 40℃에서 1개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 상기 퍼센트는 0.003 미만이었다. 40℃에서 3개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 상기 퍼센트는 검출되지 않았다. 따라서, 총 불순물에 대해 상기 퍼센트는 모든 시점에서 유사하였다.
- [0478] 용액의 미립자 오염은 40℃에서의 저장에 의해 영향 받지 않음
- [0479] 미립자 오염을 2가지 허용 기준을 사용하여, 육안으로 보이지 않는 입자들을 측정함으로써 평가하였다.
- [0480] 용기 하나당 10 $\mu$ m를 초과하는 입자의 개수를 측정하여 6000개 이하(USP(미국 약전) 및 유럽 약전 표준)이면 허용 기준을 만족시켰다. 최초 시점에, 용기 하나당 10 $\mu$ m를 초과하는 입자의 개수는 13개였다. 40℃에서 1개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 용기 하나당 10 $\mu$ m를 초과하는 입자의 개수는 5개였다. 40℃에서 3개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 용기 하나당 10 $\mu$ m를 초과하는 입자의 개수는 8개였다. 따라서, 모든 시점이 용기 하나당 10 $\mu$ m를 초과하는 입자의 개수에 대한 허용 기준을 만족시켰다.
- [0481] 또한 용기 하나당 25 $\mu$ m를 초과하는 입자의 개수를 측정하여 600개 이하이면 허용 기준을 만족시켰다. 최초 시점에, 용기 하나당 25 $\mu$ m를 초과하는 입자의 개수는 0개였다. 40℃에서 1개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 용기 하나당 25 $\mu$ m를 초과하는 입자의 개수는 0개였다. 40℃에서 3개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 용기 하나당 25 $\mu$ m를 초과하는 입자의 개수는 2개였다. 따라서, 모든 시점이 용기 하나당 25 $\mu$ m를 초과하는 입자의 개수에 대한 허용 기준을 만족시켰다.
- [0482] 용액의 함수량은 40℃에서의 저장에 의해 영향 받지 않음
- [0483] 함수량을 칼-피셔-적정에 의해 평가하였다. 칼 피셔 적정은 전기량 또는 부피 적정을 이용하여 시료 중 미량의 물을 측정하여 퍼센트로서 보고한다. 최초 시점에, 재구성된 용액 중 물 퍼센트는 0.8%였다. 40℃에서 1개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 재구성된 용액 중 물 퍼센트는 0.8%였다. 40℃에서 3개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 재구성된 용액 중 물 퍼센트는 0.8%였다. 따라서, 최초 시점에, 그리고 1 및 3개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 재구성된 용액의 함수량은 무시해도 될 정도였다.
- [0484] 용액의 pH는 40℃에서의 저장에 의해 영향 받지 않음

[0485] 재구성된 용액의 pH를 최초 시점에, 그리고 40℃에서 1 및 3개월 동안 저장한 다음 재구성한 후 측정하였다. 최초 시점에, 재구성된 용액의 pH 값은 5.9였다. 40℃에서 3개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 재구성된 용액의 pH 값은 5.9였다. 40℃에서 6개월 동안 저장한 다음 재구성한 후, 재구성된 용액의 pH 값은 5.9였다.

[0486] **실시예 9: 동결건조된 ADC 1-MMAF 제형의 대규모 제조**

[0487] 벌크 용액의 제조를 위해, 히스티딘을 주사용수에 용해시키고, 10%(w/w) 염산으로 pH를 조절하고, 최종 중량까지 주사용수를 첨가하였다. 제형화 완충액 부형제(수크로스 및 폴리소르베이트 80)를 칭량하고 15mM 히스티딘 용액에 용해시켰다. 이어서 상기 수득된 용액을 외관에 대해 조사하였다.

[0488] ADC 1-MMAF를 수조 내에서 30℃에서 용해시키고, 외관에 대해 조사하고, 풀링하고 칭량하였다. 15mM 히스티딘 완충액, 폴리소르베이트 80 및 수크로스를 ADC 1-MMAF에 첨가하였다. 상기 용액의 외관을 조사하고, 이의 pH 및 밀도를 측정 후, 멸균 여과하였다. 이어서 상기 용액을 제어된 조건하에 동결건조시켰다.

[0489] 20mg/ml 주사 용액을 위한 ADC 1-MMAF 분말의 제조 동안 수행된 중요한 공정 중 시험들이 하기 표 2에 열거된다.

**표 2**

공정 관리 시험 및 허용 범위

작업	시험	허용 범위
1차 여과	필터 완전성	전방향 유동 시험, 확산 속도 또는 기포 점이 필터 사양에 부합하여야 함
여과에 의한 멸균	2차 여과 전의 생물부하 필터 완전성	< 10 CFU/100 mL  전방향 유동 시험, 확산 속도 또는 기포 점이 필터 사양에 부합하여야 함

[0490]

[0491] 동결건조를 위한 전형적인 ADC 1-MMAF 용액 배치에 사용되는 ADC 1-MMAF 및 완충 용액의 양을 하기 표 3에 나타낸다. 제형화 완충액의 제조에 사용되는 성분 및 양의 목록을 표 4 및 표 5에 기재한다.

**표 3**

ADC 1-MMAF 벌크 약물 생성물 용액을 위한 배치 조성

용량 함량	20 mg/mL
배치 크기	27 L <sup>a</sup>
성분	배치 하나당 양(kg)
ADC 1-MMAF 약물 물질	15.57 <sup>b,c,d</sup>
제형화 완충액 <sup>e</sup>	12.29 <sup>d</sup>

a. 벌크 용액의 밀도: 1.032 g/mL

b. 약물 물질 농축물 1L 당 35g의 단백질에서 0.540kg의 단백질과 동등함; 약물 물질 농축물의 밀도: 1.0089 g/mL

c. 약물 물질 농축물은 15 mM 히스티딘을 함유함

d. 양은 약물 물질 농축물의 실제 단백질 농도에 따라 가변적임

e. 당해 재료에 대한 배치 조성이 표 4에 기재됨

[0492]

**표 4**

제형화 완충 용액을 위한 배치 조성

성분 <sup>b</sup>	배치 크기	11.58 L <sup>a</sup>
		배치 하나당 양(g)
수크로스		1890 <sup>b</sup>
폴리소르베이트 80		2.7 <sup>c</sup>
15 mM 히스티딘 용액 <sup>d</sup>		12290g의 총 중량까지

- 약어 : ad = 총 중량이 ~에 이르도록  
 a. 용액의 밀도: 1.0616 g/mL  
 b. 양은 70 g/L의 벌크 생성물 용액 중 최종 농도에 상응함  
 c. 양은 0.10 g/L의 벌크 생성물 용액 중 최종 농도에 상응함  
 d. 당해 재료의 배치 조성이 표 6에 기재됨

[0493]

**표 5**

15mM 히스티딘 용액을 위한 배치 조성

성분	배치 크기	15 L <sup>a</sup>
		배치 하나당 양(g)
히스티딘		34.95
염산 10% (w/w) <sup>b</sup>		충분량
주사용수		14999g의 총 중량까지

- 약어 : ad = 총 중량이 ~에 이르도록  
 a. 용액의 밀도: 0.9993 g/mL  
 b. pH 조절에 사용됨

[0494]

[0495]

본원에 기재된 실시예 및 양태는 단지 예시를 목적으로 하며, 이를 감안하여 다양한 변형 또는 변화가 당해 기술분야의 숙련자에게 시사될 것이며, 상기 변형 또는 변화는 첨부된 특허청구범위의 취지 및 범위 내에 포함된다는 것을 이해해야 한다. 본원에서 언급된 모든 공보, 특허 및 특허 출원은 모든 목적을 위해 이에 의해 이의 전문이 인용에 의해 포함된다.

서열의 요약

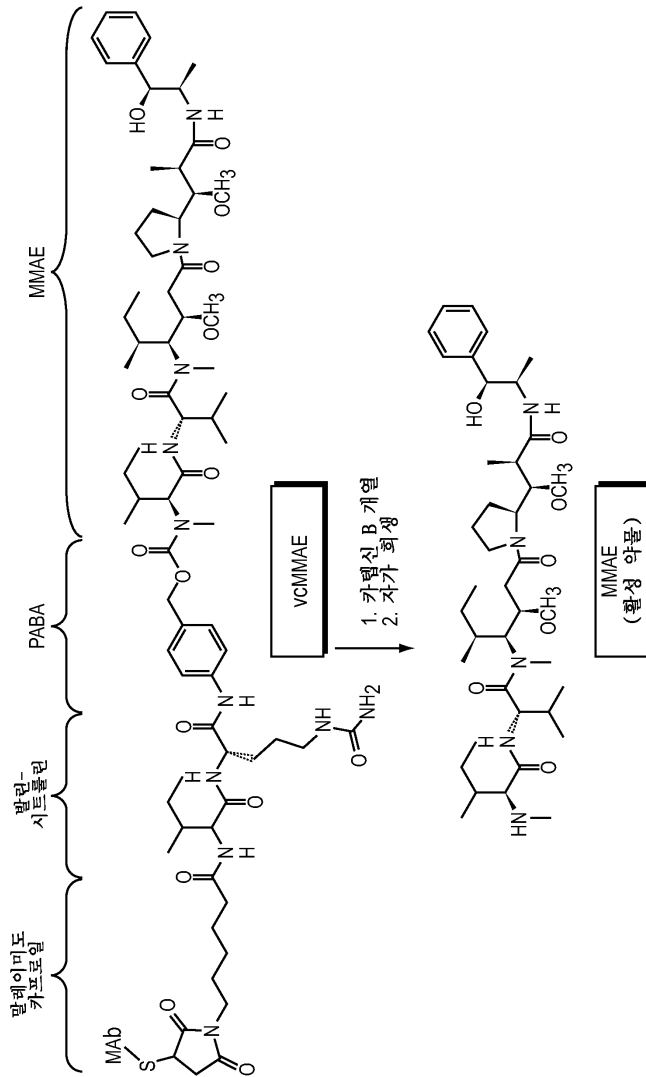
서열 번호 1	핵산	항체 2(뮤린 항-EGFR Ab)의 가변 중쇄 서열
서열 번호 2	단백질	항체 2(뮤린 항-EGFR Ab)의 가변 중쇄 서열
서열 번호 3	핵산	항체 2(뮤린 항-EGFR Ab)의 가변 경쇄 서열
서열 번호 4	단백질	항체 2(뮤린 항-EGFR Ab)의 가변 경쇄 서열.
서열 번호 5	단백질	가변 중쇄 서열(서열 번호 2)의 CDR1
서열 번호 6	단백질	가변 중쇄 서열(서열 번호 2)의 CDR2
서열 번호 7	단백질	가변 중쇄 서열(서열 번호 2)의 CDR3
서열 번호 8	단백질	가변 경쇄 서열(서열 번호 2)의 CDR1
서열 번호 9	단백질	가변 경쇄 서열(서열 번호 2)의 CDR2
서열 번호 10	단백질	가변 경쇄 서열(서열 번호 2)의 CDR3
서열 번호 11	단백질	신호 펩티드를 갖지 않는 항체 2(뮤린 항-EGFR Ab)의 가변 중쇄 서열
서열 번호 12	단백질	신호 펩티드를 갖지 않는 항체 2(뮤린 항-EGFR Ab)의 가변 경쇄 서열
서열 번호 13	단백질	항체 1(사람화된 항-EGFR Ab)의 가변 중쇄 서열
서열 번호 14	단백질	항체 1(사람화된 항-EGFR Ab)의 불변 중쇄 서열
서열 번호 15	단백질	가변 중쇄 서열(서열 번호 13)의 CDR1
서열 번호 16	단백질	가변 중쇄 서열(서열 번호 13)의 CDR2
서열 번호 17	단백질	가변 중쇄 서열(서열 번호 13)의 CDR3
서열 번호 18	단백질	항체 1(사람화된 항-EGFR Ab)의 가변 경쇄 서열
서열 번호 19	단백질	항체 1(사람화된 항-EGFR Ab)의 불변 경쇄 서열
서열 번호 20	단백질	가변 경쇄 서열(서열 번호 18)의 CDR1
서열 번호 21	단백질	가변 경쇄 서열(서열 번호 18)의 CDR2
서열 번호 22	단백질	가변 경쇄 서열(서열 번호 18)의 CDR3

[0496]

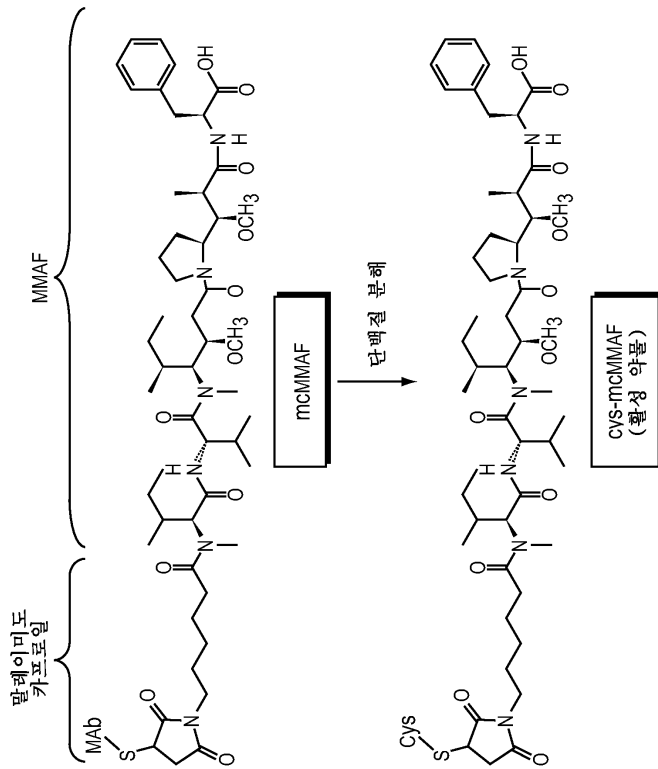


도면

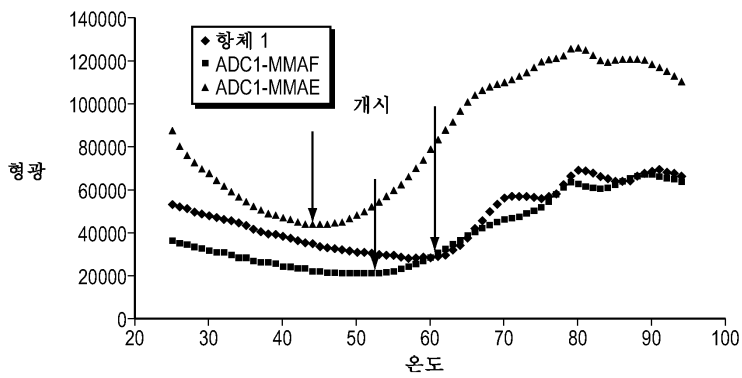
도면1



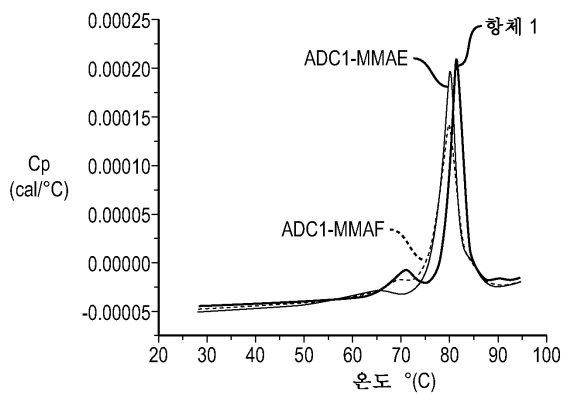
도면2



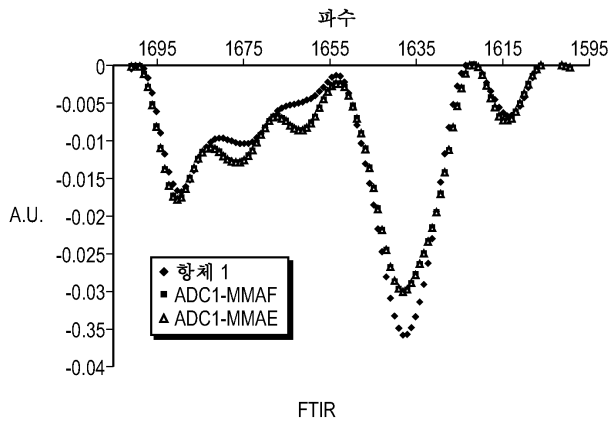
도면3a



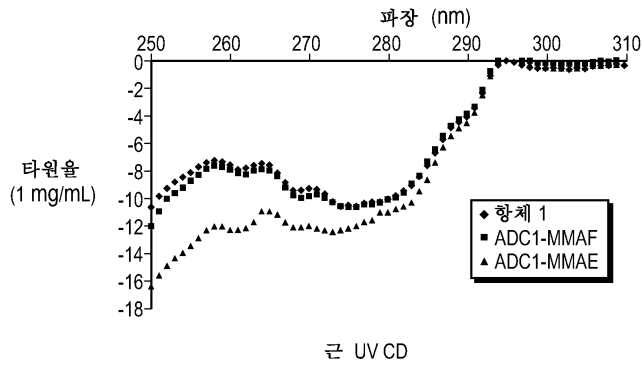
도면3b



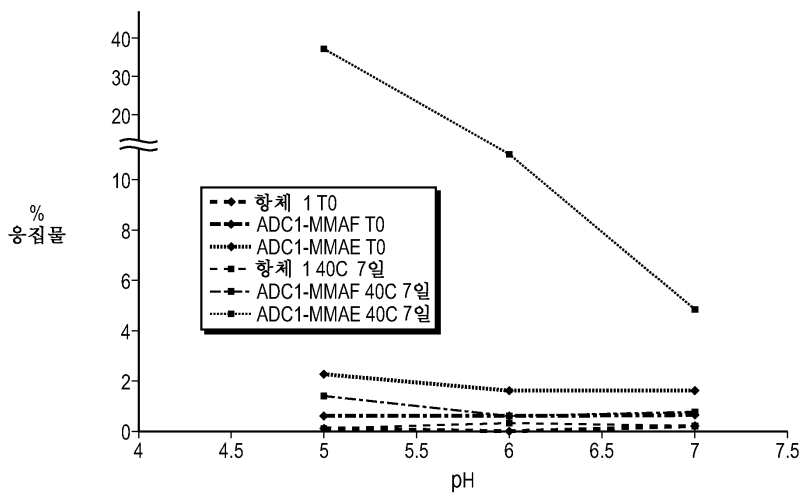
도면4a



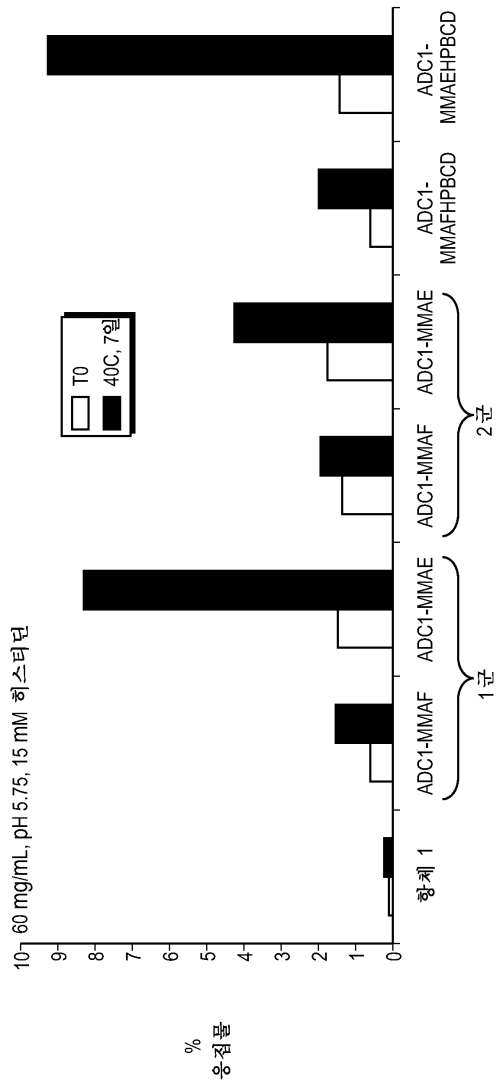
도면4b



도면5

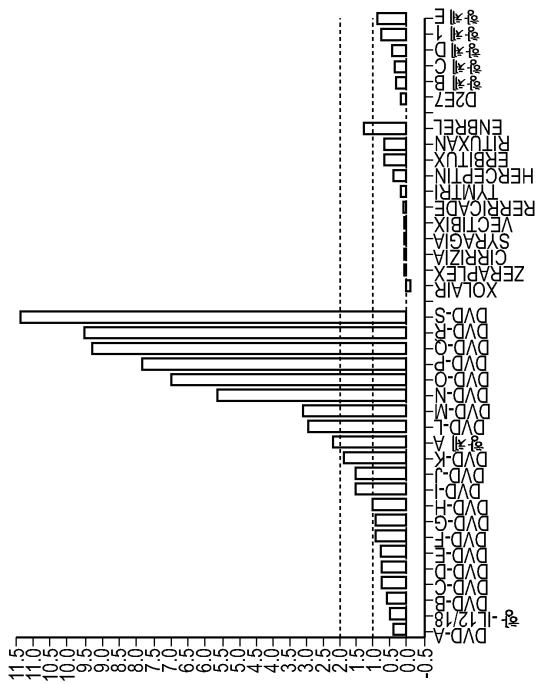


도면6





도면7

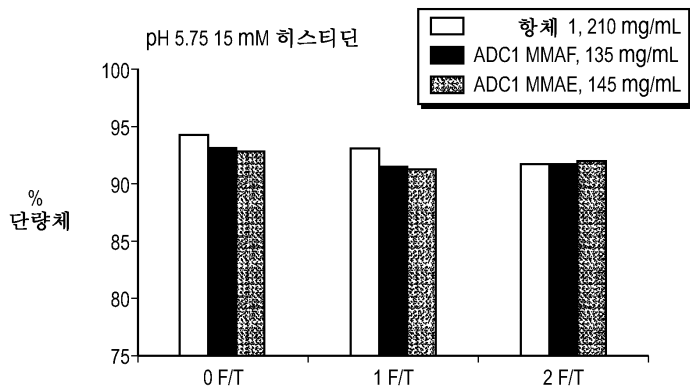


고분자량  
(기울기)

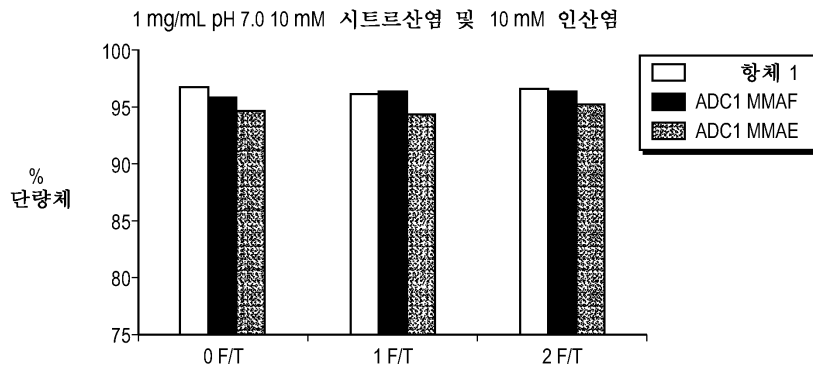
↓

시료	기울기
항체 1	1.10
ADC1-MMAF	0.50
ADC1-MMAE	2.30
항체 A	2.17

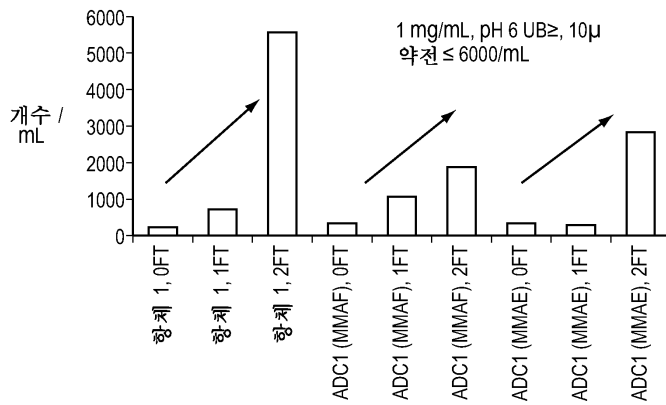
도면8a



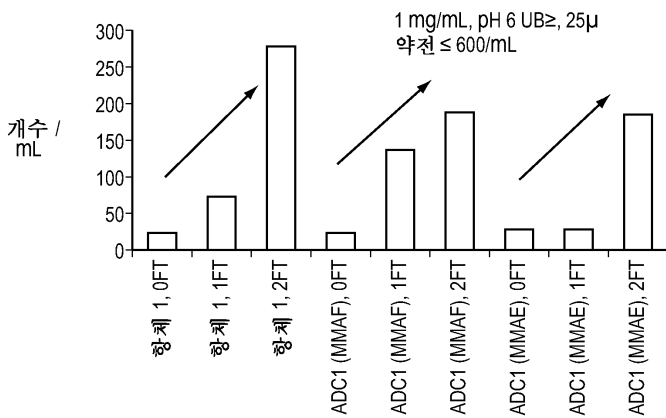
도면8b



도면9a



도면9b



서열목록

<110> ABBVIE DEUTSCHLAND GMBH & CO. KG and ABBVIE INC.

<120> ANTI-EGFR ANTIBODY DRUG CONJUGATE FORMULATIONS

<130> 117813-06020

<150> US 61/790,490

<151> 2013-03-15

<160> 22

<170> KopatentIn 2.0

<210> 1

<211> 402

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 1

```

atgagagtgc tgattctttt gtggctgttc acagcctttc ctggtgtcct gctgatgtg      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 gactctgggtc actgtctctg ca                        402
    
```

<210> 2

<211> 134

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<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
    
```





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> Artificial Sequence  
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 5  
 Ser Asp Phe Ala Trp Asn  
 1                    5  
 <210> 6  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<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> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic  
peptide

<400> 7

Val Thr Ala Gly Arg Gly Phe Pro Tyr

1                    5

<210> 8

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic  
peptide

<400> 8

His Ser Ser Gln Asp Ile Asn Ser Asn Ile Gly

1                    5                    10

<210> 9

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic  
peptide

<400> 9

His Gly Thr Asn Leu Asp Asp

1                    5

<210> 10

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic



<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> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic  
 polypeptide

<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





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> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 15

Ser Asp Phe Ala Trp Asn

1 5

<210> 16

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<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> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 17

Val Thr Ala Gly Arg Gly Phe Pro Tyr

1 5

<210> 18

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<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> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic  
 polypeptide

<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> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic  
peptide

<400> 20

His Ser Ser Gln Asp Ile Asn Ser Asn Ile Gly

1                    5                    10

<210> 21

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic  
  
peptide

<400> 21

His Gly Thr Asn Leu Asp Asp

1                    5

<210> 22

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic  
  
peptide

<400> 22

Val Gln Tyr Ala Gln Phe Pro Trp Thr

1                    5