

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2021-119199

(P2021-119199A)

(43) 公開日 令和3年8月12日(2021.8.12)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 47/68 (2017.01)	A 6 1 K 47/68	4 C 0 7 6
A 6 1 K 9/19 (2006.01)	A 6 1 K 9/19	4 C 0 8 4
A 6 1 K 47/18 (2006.01)	A 6 1 K 47/18	4 C 0 8 5
A 6 1 K 47/26 (2006.01)	A 6 1 K 47/26	
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	

審査請求 有 請求項の数 19 O L (全 68 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2021-81392 (P2021-81392)  
 (22) 出願日 令和3年5月13日 (2021.5.13)  
 (62) 分割の表示 特願2019-104081 (P2019-104081) の分割  
 原出願日 平成26年11月21日 (2014.11.21)  
 (31) 優先権主張番号 61/907,001  
 (32) 優先日 平成25年11月21日 (2013.11.21)  
 (33) 優先権主張国・地域又は機関 米国 (US)

(71) 出願人 507316398  
 ゲンマブ エー/エス  
 デンマーク ディーケー-1560 コペンハーゲン ブイ カルヴェボー ブリッゲ 43  
 (74) 代理人 100102978  
 弁理士 清水 初志  
 (74) 代理人 100102118  
 弁理士 春名 雅夫  
 (74) 代理人 100160923  
 弁理士 山口 裕孝  
 (74) 代理人 100119507  
 弁理士 刑部 俊  
 (74) 代理人 100142929  
 弁理士 井上 隆一

最終頁に続く

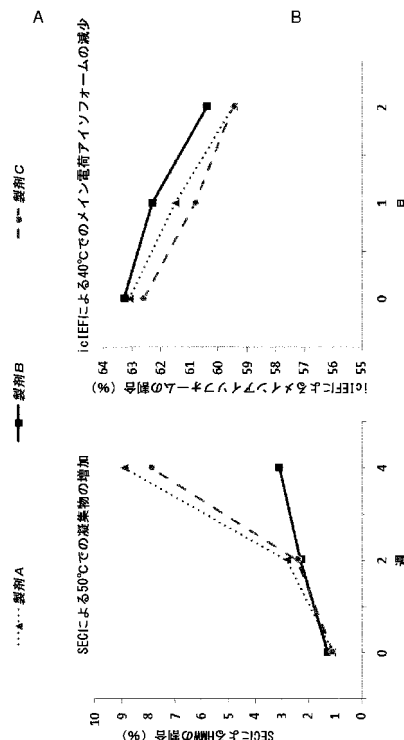
(54) 【発明の名称】 抗体-薬物コンジュゲート凍結乾燥製剤

(57) 【要約】

【課題】再構成したときに安定な状態を維持し、凝集物または粒子を形成しない抗体-薬物コンジュゲート(ADC)の凍結乾燥製剤の提供。

【解決手段】界面活性剤を含まない水性製剤を凍結乾燥することによって得られるADC、例えば抗組織因子(TF)ADCの凍結乾燥製剤。賦形剤が、凍結乾燥工程の間のpH変動を約5~約7で維持されるように制限するバッファー、固体状態で抗TF ADCと非晶質相を形成する少なくとも1つの非還元糖、および少なくとも1つのバルク剤を含む。典型的な賦形剤は、ヒスチジン、スクロース、トレハロース、マンニトール、およびグリシンを含むかまたはこれらからなる。この製剤は特に、アウリスタチン誘導体または他の類似の疎水性薬物に基づく抗TF ADCに適している。

【選択図】図7



## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

抗組織因子 (TF) 抗体 - 薬物コンジュゲート (ADC) の凍結乾燥製剤であって、該抗TF ADCおよび薬学的に許容される賦形剤を含む水性製剤を凍結乾燥することによって入手可能または入手されたものであり、界面活性剤を含まない、前記凍結乾燥製剤。

## 【請求項 2】

前記薬学的に許容される賦形剤が、

(a) 凍結乾燥工程の間のpHの変動を、pHが約5~約7で維持されるように制限する、バッファー、

(b) 固体状態で抗TF ADCと非晶質相を形成する少なくとも1つの非還元糖、および

(c) 少なくとも1つのバルク剤

10

を含む、請求項1に記載の凍結乾燥製剤。

## 【請求項 3】

前記水性製剤が、ヒスチジン、クエン酸、リン酸、炭酸、コハク酸、グリコール酸、およびそれらの任意の組み合わせからなる群より選択されるバッファーを含む、請求項1または2に記載の凍結乾燥製剤。

## 【請求項 4】

前記バッファーがヒスチジンバッファーである、請求項2または3のいずれか一項に記載の凍結乾燥製剤。

## 【請求項 5】

20

前記水性製剤が、約20~約50 mMの濃度のバッファー、例えば約25 mM~約40 mMのバッファー、例えば約28 mM~約34 mM、例えば約29 mM~約31 mM、例えば約30 mMのバッファーを含む、請求項2~4のいずれか一項に記載の凍結乾燥製剤。

## 【請求項 6】

前記非還元糖が、スクロース、トレハロース、およびそれらの組み合わせから選択される、請求項2~5のいずれか一項に記載の凍結乾燥製剤。

## 【請求項 7】

前記非還元糖がスクロースである、請求項6に記載の凍結乾燥製剤。

## 【請求項 8】

前記水性製剤が、約10~約250 mMの濃度の非還元糖、例えば約50~約225 mMの濃度の非還元糖、例えば84~約165 mMの濃度の非還元糖、例えば約84~約146 mMのスクロース、例えば約84~約92 mMのスクロース、例えば約88 mMを含む、請求項2~7のいずれか一項に記載の凍結乾燥製剤。

30

## 【請求項 9】

前記バルク剤が、マンニトールおよびグリシンから選択される、請求項2~8のいずれか一項に記載の凍結乾燥製剤。

## 【請求項 10】

前記バルク剤がマンニトールである、請求項9に記載の凍結乾燥製剤。

## 【請求項 11】

前記水性製剤が、約50 mM~約300 mM、例えば約100 mM~約274 mM、例えば約158~約172 mM、例えば約165 mMの濃度のバルク剤を含む、請求項2~10のいずれか一項に記載の凍結乾燥製剤。

40

## 【請求項 12】

前記水性製剤が、約5 g/L~約30 g/Lの抗TF ADC、例えば約7~約20 g/Lの抗TF ADC、例えば約8~約15 g/Lの抗TF ADCを含む、前記請求項のいずれか一項に記載の凍結乾燥製剤。

## 【請求項 13】

前記水性製剤が、約9~約11 g/Lの抗TF ADC、例えば約10 g/Lの抗TF ADCを含む、前記請求項のいずれか一項に記載の凍結乾燥製剤。

## 【請求項 14】

50

前記水性製剤のpHが、約5.5～6.5の範囲内、例えば約6である、前記請求項のいずれか一項に記載の凍結乾燥製剤。

【請求項15】

前記製剤がマンニトールおよびスクロースを含み、マンニトールとスクロースの重量比が少なくとも約1:1である、前記請求項のいずれか一項に記載の凍結乾燥製剤。

【請求項16】

前記製剤がマンニトールおよびスクロースを含み、マンニトールとスクロースの重量比が約1:1～約30:1、例えば1:1～約10:1、例えば約1:1～約2:1である、前記請求項のいずれか一項に記載の凍結乾燥製剤。

【請求項17】

前記製剤がマンニトールおよびスクロースを含み、マンニトールとスクロースの重量比が約1:1である、前記請求項のいずれか一項に記載の凍結乾燥製剤。

【請求項18】

前記製剤がマンニトールを含み、マンニトールと抗TF ADCの重量比が少なくとも約3:1である、前記請求項のいずれか一項に記載の凍結乾燥製剤。

【請求項19】

前記製剤がマンニトールおよびスクロースを含み、マンニトールと抗TF ADCの重量比が約3:1であり、マンニトールとスクロースの重量比が約1:1である、前記請求項のいずれか一項に記載の凍結乾燥製剤。

【請求項20】

約5 g/L～約30 g/Lの抗TF ADC、ならびに

a. 約5～約7のpHを有する約20～約50 mMのヒスチジンバッファーまたはクエン酸バッファー

b. 約10～約250 mMのスクロースまたはトレハロース、および

c. 約50 mM～約300 mMのマンニトールまたはグリシン

を含む薬学的に許容される賦形剤を含む水性製剤を凍結乾燥することによって入手可能または入手されたものである、前記請求項のいずれか一項に記載の凍結乾燥製剤。

【請求項21】

前記水性製剤が、約9～約11 g/Lの抗TF ADC、例えば約10 mg/mLの抗TF ADC、約30 mMのヒスチジン、約88 mMのスクロース、および約165 mMのマンニトールを含む、前記請求項のいずれか一項に記載の凍結乾燥製剤。

【請求項22】

前記抗TF抗体が、

a. SEQ ID NO: 5のアミノ酸配列を含むVH領域およびSEQ ID NO: 45のアミノ酸配列を含むVL領域、

b. SEQ ID NO: 33のアミノ酸配列を含むVH領域およびSEQ ID NO: 73のアミノ酸配列を含むVL領域、

c. SEQ ID NO: 37のアミノ酸配列を含むVH領域およびSEQ ID NO: 77のアミノ酸配列を含むVL領域、または

d. SEQ ID NO: 1のアミノ酸配列を含むVH領域およびSEQ ID NO: 41のアミノ酸配列を含むVL領域

からなる群より選択されるVHおよびVL領域を含む1つまたは複数の参照抗TF抗体と、ヒトTFに対する結合に関して競合する、前記請求項のいずれか一項に記載の凍結乾燥製剤。

【請求項23】

前記抗TF抗体が以下を含む、前記請求項のいずれか一項に記載の凍結乾燥製剤：

a. SEQ ID NO: 6に示されるアミノ酸配列を有するCDR1領域、SEQ ID NO: 7に示されるアミノ酸配列を有するCDR2領域、およびSEQ ID NO: 8に示されるアミノ酸配列を有するCDR3領域を含む重鎖可変(VH)領域、ならびにSEQ ID NO: 46に示されるアミノ酸配列を有するCDR1領域、SEQ ID NO: 47に示されるアミノ酸配列を有するCDR2領域、およびSEQ ID NO: 48に示されるアミノ酸配列を有するCDR3領域を含む軽鎖可変(VL)領域、または

10

20

30

40

50

b. SEQ ID NO: 34に示されるアミノ酸配列を有するCDR1領域、SEQ ID NO: 35に示されるアミノ酸配列を有するCDR2領域、およびSEQ ID NO: 36に示されるアミノ酸配列を有するCDR3領域を含むVH領域、ならびにSEQ ID NO: 74に示されるアミノ酸配列を有するCDR1領域、SEQ ID NO: 75に示されるアミノ酸配列を有するCDR2領域、およびSEQ ID NO: 76に示されるアミノ酸配列を有するCDR3領域を含むVL領域、または

c. SEQ ID NO: 38に示されるアミノ酸配列を有するCDR1領域、SEQ ID NO: 39に示されるアミノ酸配列を有するCDR2領域、およびSEQ ID NO: 40に示されるアミノ酸配列を有するCDR3領域を含むVH領域、ならびにSEQ ID NO: 78に示されるアミノ酸配列を有するCDR1領域、SEQ ID NO: 79に示されるアミノ酸配列を有するCDR2領域、およびSEQ ID NO: 80に示されるアミノ酸配列を有するCDR3領域を含むVL領域、または

d. SEQ ID NO: 2に示されるアミノ酸配列を有するCDR1領域、SEQ ID NO: 3に示されるアミノ酸配列を有するCDR2領域、およびSEQ ID NO: 4に示されるアミノ酸配列を有するCDR3領域を含むVH領域、ならびにSEQ ID NO: 42に示されるアミノ酸配列を有するCDR1領域、SEQ ID NO: 43に示されるアミノ酸配列を有するCDR2領域、およびSEQ ID NO: 44に示されるアミノ酸配列を有するCDR3領域を含むVL領域、または

e. 上記(a)～(d)で定義される抗体のいずれかの変種であって、好ましくは、上記(a)～(d)で定義されるアミノ酸配列中に最大で1、2もしくは3つのアミノ酸改変、より好ましくはアミノ酸置換、例えば保存的アミノ酸置換を有する、変種。

【請求項24】

前記抗体が以下を含む、前記請求項のいずれか一項に記載の凍結乾燥製剤：

a. SEQ ID NO: 5のアミノ酸配列を含むVH領域およびSEQ ID NO: 45のアミノ酸配列を含むVL領域、

b. SEQ ID NO: 33のアミノ酸配列を含むVH領域およびSEQ ID NO: 73のアミノ酸配列を含むVL領域、

c. SEQ ID NO: 37のアミノ酸配列を含むVH領域およびSEQ ID NO: 77のアミノ酸配列を含むVL領域、または

d. SEQ ID NO: 1のアミノ酸配列を含むVH領域およびSEQ ID NO: 41のアミノ酸配列を含むVL領域。

【請求項25】

抗体分子あたりの薬物部分の平均絶対数が、1、2、3、4、5、6、7、または8、例えば3、4、または5、好ましくは4である、前記請求項のいずれか一項に記載の凍結乾燥製剤。

【請求項26】

前記抗TF抗体が、疎水性の薬物にコンジュゲートされている、前記請求項のいずれか一項に記載の凍結乾燥製剤。

【請求項27】

前記薬物が、アウリスタチンまたはその機能性ペプチドアナログもしくは誘導体である、前記請求項のいずれか一項に記載の凍結乾燥製剤。

【請求項28】

前記薬物が、前記抗TF抗体のスルフヒドリル基に付加されたリンカーを介して該抗TF抗体に連結されており、該スルフヒドリル基が該抗TF抗体の部分還元によって得られたものである、前記請求項のいずれか一項に記載の凍結乾燥製剤。

【請求項29】

前記薬物がMMAEまたはMMAFである、前記請求項のいずれか一項に記載の凍結乾燥製剤。

【請求項30】

前記薬物がリンカー - 薬物を介して前記抗TF抗体に連結されており、該リンカー - 薬物が、mcMMAE、vcMMAE、vcMMAF、またはmcMMAFから選択され、最も好ましくはvcMMAEである、前記請求項のいずれか一項に記載の凍結乾燥製剤。

【請求項31】

前記抗TF抗体が全長抗体である、前記請求項のいずれか一項に記載の凍結乾燥製剤。

【請求項32】

10

20

30

40

50

前記抗TF抗体が、全長完全ヒトモノクローナルIgG1抗体であり、任意でヒトIgG1である、前記請求項のいずれか一項に記載の凍結乾燥製剤。

【請求項33】

約9 g/L～約11 g/Lの抗TF ADCならびに約5～約7のpHを有する約30 mMのヒスチジンバッファー、約88 mMのスクロース、および約165 mMのマニトールを含む薬学的に許容される賦形剤を含む水性製剤を凍結乾燥することによって入手可能または入手されたものである、前記請求項のいずれか一項に記載の凍結乾燥製剤であって、抗体が、SEQ ID NO: 5のアミノ酸配列を含むVH領域およびSEQ ID NO: 45のアミノ酸配列を含むVL領域；SEQ ID NO: 33のアミノ酸配列を含むVH領域およびSEQ ID NO: 73のアミノ酸配列を含むVL領域；SEQ ID NO: 37のアミノ酸配列を含むVH領域およびSEQ ID NO: 77のアミノ酸配列を含むVL領域；またはSEQ ID NO: 1のアミノ酸配列を含むVH領域およびSEQ ID NO: 41のアミノ酸配列を含むVL領域を含み、リンカー-薬物がvcMMAE、vcMMAF、またはmcMMAFである、前記凍結乾燥製剤。

10

【請求項34】

前記抗体が、SEQ ID NO: 5のアミノ酸配列を含むVH領域およびSEQ ID NO: 45のアミノ酸配列を含むVL領域を含む、請求項33に記載の凍結乾燥製剤。

【請求項35】

前記抗TF ADCが、少なくとも6ヶ月間、例えば少なくとも9ヶ月間、例えば少なくとも15ヶ月間、または好ましくは18ヶ月間、またはより好ましくは少なくとも24ヶ月間、または最も好ましくは少なくとも36ヶ月間の薬学的使用において、2～8、例えば5で安定である、前記請求項のいずれか一項に記載の凍結乾燥製剤。

20

【請求項36】

少なくとも6ヶ月間、例えば少なくとも9ヶ月間、例えば少なくとも15ヶ月間、または好ましくは18ヶ月間、またはより好ましくは少なくとも24ヶ月間、または最も好ましくは少なくとも36ヶ月間、5で保存されたときに、3.0%未満の凝集物、例えば2.0%未満の凝集物を有する場合に安定である、請求項35に記載の凍結乾燥製剤。

【請求項37】

安定性が、実施例10にしたがってSEC分析によって決定される、請求項35または36に記載の凍結乾燥製剤。

【請求項38】

3.0 wt.%未満の水分、例えば2.0 wt.%未満の水分、例えば1 wt.%未満の水分、または0.5 wt.%未満の水分を含む、前記請求項のいずれか一項に記載の凍結乾燥製剤。

30

【請求項39】

無機塩を含まない、前記請求項のいずれか一項に記載の凍結乾燥製剤。

【請求項40】

以下を含む、抗TF ADCの凍結乾燥製剤を調製するのに適した水溶液：

a. 約7～約20 g/Lの抗TF-ADCであって、任意で抗体部分が請求項22～24のいずれか一項記載のVH配列およびVL配列を含む、抗TF-ADC；ならびに

以下のb、cもしくはdのいずれか2つの組み合わせ、またはb、cもしくはdのすべて：

- b. 約28～34 mMのヒスチジン；
- c. 約84～約146 mMのスクロース；
- d. 約158～約274のマニトール。

40

【請求項41】

滅菌水性希釈剤中で請求項1～39のいずれか一項に記載の凍結乾燥製剤を再構成することによって得られる、薬学的に許容される液体製剤。

【請求項42】

約5 g/L～約30 g/Lの抗TF ADC、約5～約7のpHを有する約20～約50 mMのヒスチジン、約10～約250 mMのスクロースまたはトレハロース、および約50 mM～約300 mMのマニトールまたはグリシンを含む、請求項41に記載の液体製剤。

【請求項43】

50

約9～約11 mg/mLの抗TF ADC、約28～約34 mMのヒスチジン、約84～約92 mMのスクロース、および約158～約274 mMのマンニトールを含む、請求項42に記載の液体製剤。

【請求項44】

以下の工程を含む、請求項1～39のいずれか一項に記載の凍結乾燥製剤を調製する方法

- a. 水溶液を0.5 /分～1 /分の速度で-40 以下の温度まで冷却する工程、
- b. 少なくとも120分間等温維持する工程、
- c. 0.5 /分～3 /分の速度で-20 ～-15 まで加温する工程、
- d. 少なくとも180分間等温維持する工程、
- e. -30 ～-10 の温度で50 mTorr～200 mTorrの圧力を用いて減圧をかける工程、
- f. 0.5 /分～1 /分の速度で温度を35 ～50 まで上昇させる工程、および
- g. 少なくとも10時間等温維持する工程。

10

【請求項45】

滅菌水性希釈剤中で請求項1～39のいずれか一項に記載の凍結乾燥製剤を再構成する工程を含む、抗TF ADCの注射溶液を調製する方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

発明の分野

本発明は、特に抗体薬物コンジュゲート（ADC）に適した凍結乾燥製剤、その再構成製剤、ならびに、そのような凍結乾燥製剤および再構成製剤を調製する方法および例えば癌治療において使用する方法に関する。

20

【背景技術】

【0002】

発明の背景

ADCは、癌および他の状態の治療において非常に強力かつ特異的な薬剤であり、（任意でインターナライゼーション後に）薬物はその細胞傷害効果または他の治療効果を標的細胞に対して発揮できるように、抗体部分が標的細胞上のその抗原に特異的に結合する。様々なADC、特に抗組織因子（抗TF）抗体に基づくADCが報告されている（例えば、その全体が参照により本明細書に組み入れられるWO 2011157741 A2を参照のこと）。

30

【0003】

しかし、他のタンパク質薬と同様、抗体は、分解、例えば酸化、脱アミドおよび断片化、ならびに粒子および凝集物の形成を起こし易い。したがって、輸送中および保管中に安定なADC薬を提供するため、その薬学的製剤中の担体、賦形剤、および/または安定化剤を慎重に選択しなければならない。抗体またはADCの長期的安定性はまた、この目的に最適化された賦形剤を用いて凍結乾燥（lyophilized）または凍結乾燥（freeze-dried）された製剤を調製することによって改善され得る。抗体またはADC調製物についての多くのそのような製剤が、特許文献に記載されている、例えばWO9704801、WO9856418、WO02011753、WO02096457、WO03009817、WO03039485、US8372396、WO2004004639、WO2004016286、WO2004055164、WO2004071439、WO2006014965、WO2006044908およびWO2007019232を参照のこと。

40

【0004】

ADCに関しては、その中での薬物のコンジュゲーションが安定性を低下させ、抗体の物理化学特性を変化させ得るといふさらなる困難が存在する。例えば、抗HER2抗体トラスツズマブへの薬物部分DM1のコンジュゲーションが抗体のCH2ドメインを不安定化させることが報告されている（Wakankar et al. 2010）。さらに、細胞傷害性薬物は多くの場合疎水性であるため、ADCコンジュゲートは全体として非コンジュゲート抗体よりも低溶解性となり得、したがって、より凝集、粒子形成、および表面吸着を起こし易くなる。典型的に、抗体およびADC製剤は両方とも、凝集および吸着を減少させるために、界面活性剤、多くの場合ポリソルベート20または80を含む（例えば、前記特許文献を参照のこと）。例え

50

ば、ブレンツキシマブドチン（商品名ADCETRIS（登録商標））は、水で再構成したときにpHおよそ6.6で5 mg/mLのADC、70 mg/mLのトレハロース二水和物、5.6 mg/mLのクエン酸ナトリウム二水和物、0.21 mg/mLのクエン酸一水和物、および0.20 mg/mLのポリソルベート80を含む凍結乾燥粉末として提供される、アウリスタチン誘導体MMAEに連結された抗CD30抗体に基づくADCである。

#### 【0005】

このように、界面活性剤は、薬学的調製物において広く使用され、一般に許容される薬学的成分として理解されている。上記のように、界面活性剤は、抗体の製造時および処方時の凝集物形成を減少させるために広く使用されている（例えば、Vasquez-Rey and Lang, 2011, Biotech, Bioeng. 108:7 p 1494を参照のこと）。しかし、非活性化合物の使用を可能な限り減らすことは、薬学的製剤の共通の関心事である。この関心事は、得られる薬物の費用を減らすことだけでなく、賦形剤の潜在的な望ましくない影響を減らすことでもある。例えば、多くの界面活性剤は、両親媒性の性質および生体膜と反応する能力ゆえに、多かれ少なかれ毒性である。10 mg/Lという低い水生生物における界面活性剤のLC50が観察されることは珍しいことではない。さらに、ポリソルベートの自動酸化または光への暴露は、過酸化水素を生じ得、これはその後抗体分子を酸化させ得、それによって不安定な生産物をもたらす（Kerwin, 2008; Singh et al., 2012）。これは、ADCの効果を減少させるだけでなく、その潜在的に有害な分解産物を生じ得る。

#### 【0006】

実際には、例えば凍結乾燥に適した、WO2004004639に最初に記載された50 mMのコハク酸（塩）、pH 6.0および5.0%のスクロースを含むhuC242-DM1 ADCの界面活性剤非含有製剤は、その後、WO2007019232A2において、粒子および凝集物の形成に十分に対処しないことが報告された。

#### 【0007】

したがって、輸送中および保管中に安定であり、粒子、凝集物、および分解産物を実質的に生じないADCの界面活性剤非含有薬学的製剤に対する要望がなおも存在している。

#### 【発明の概要】

#### 【0008】

本発明者らは、再構成したときに抗TF ADCが安定な状態を維持し凝集物または粒子を形成しない抗TF ADCの凍結乾燥製剤を発見した。極めて驚くべきことに、これらは、界面活性剤、例えばポリソルベート20もしくは80を含めることなく、かつ/または無機塩なしで調製され得る。したがって本発明は、凍結乾燥工程の間のpHの変動を制限するバッファー成分、少なくとも1つの安定化剤、典型的には固体状態で抗TF ADCと非晶質相を形成する非還元糖、および少なくとも1つのバルク剤を含む薬学的に許容される賦形剤を含み、任意で本質的にいかなる塩も含まないものであり得る、抗TF ADCの安定な界面活性剤非含有凍結乾燥製剤を提供する。例示的な賦形剤は、

- 典型的には凍結乾燥前および/または再構成後の水性製剤において約5～約7のpHを提供するバッファー成分、例えばヒスチジン、クエン酸（塩）、コハク酸（塩）、グリコール酸（塩）、炭酸、および/またはリン酸（塩）、
  - 1つまたは複数の非還元糖、例えばスクロースおよび/またはトレハロース、
  - 1つまたは複数のバルク剤、例えばマンニトールおよび/またはグリシン
- を含むがこれらに限定されない。

#### 【0009】

#### [本発明1001]

抗組織因子（TF）抗体 - 薬物コンジュゲート（ADC）の凍結乾燥製剤であって、該抗TF ADCおよび薬学的に許容される賦形剤を含む水性製剤を凍結乾燥することによって入手可能または入手されたものであり、界面活性剤を含まない、前記凍結乾燥製剤。

#### [本発明1002]

前記薬学的に許容される賦形剤が、

- (a) 凍結乾燥工程の間のpHの変動を、pHが約5～約7で維持されるように制限する、バ

10

20

30

40

50

ッファー、

(b) 固体状態で抗TF ADCと非晶質相を形成する少なくとも1つの非還元糖、および

(c) 少なくとも1つのバルク剤

を含む、本発明1001の凍結乾燥製剤。

[本発明1003]

前記水性製剤が、ヒスチジン、クエン酸、リン酸、炭酸、コハク酸、グリコール酸、およびそれらの任意の組み合わせからなる群より選択されるバッファーを含む、本発明1001または1002の凍結乾燥製剤。

[本発明1004]

前記バッファーがヒスチジンバッファーである、本発明1002または1003のいずれかの凍結乾燥製剤。 10

[本発明1005]

前記水性製剤が、約20～約50 mMの濃度のバッファー、例えば約25 mM～約40 mMのバッファー、例えば約28 mM～約34 mM、例えば約29 mM～約31 mM、例えば約30 mMのバッファーを含む、本発明1002～1004のいずれかの凍結乾燥製剤。

[本発明1006]

前記非還元糖が、スクロース、トレハロース、およびそれらの組み合わせから選択される、本発明1002～1005のいずれかの凍結乾燥製剤。

[本発明1007]

前記非還元糖がスクロースである、本発明1006の凍結乾燥製剤。 20

[本発明1008]

前記水性製剤が、約10～約250 mMの濃度の非還元糖、例えば約50～約225 mMの濃度の非還元糖、例えば約84～約165 mMの濃度の非還元糖、例えば約84～約146 mMのスクロース、例えば約84～約92 mMのスクロース、例えば約88 mMを含む、本発明1002～1007のいずれかの凍結乾燥製剤。

[本発明1009]

前記バルク剤が、マンニトールおよびグリシンから選択される、本発明1002～1008のいずれかの凍結乾燥製剤。

[本発明1010]

前記バルク剤がマンニトールである、本発明1009の凍結乾燥製剤。 30

[本発明1011]

前記水性製剤が、約50 mM～約300 mM、例えば約100 mM～約274 mM、例えば約158～約172 mM、例えば約165 mMの濃度のバルク剤を含む、本発明1002～1010のいずれかの凍結乾燥製剤。

[本発明1012]

前記水性製剤が、約5 g/L～約30 g/Lの抗TF ADC、例えば約7～約20 g/Lの抗TF ADC、例えば約8～約15 g/Lの抗TF ADCを含む、前記本発明のいずれかの凍結乾燥製剤。

[本発明1013]

前記水性製剤が、約9～約11 g/Lの抗TF ADC、例えば約10 g/Lの抗TF ADCを含む、前記本発明のいずれかの凍結乾燥製剤。 40

[本発明1014]

前記水性製剤のpHが、約5.5～6.5の範囲内、例えば約6である、前記本発明のいずれかの凍結乾燥製剤。

[本発明1015]

前記製剤がマンニトールおよびスクロースを含み、マンニトールとスクロースの重量比が少なくとも約1:1である、前記本発明のいずれかの凍結乾燥製剤。

[本発明1016]

前記製剤がマンニトールおよびスクロースを含み、マンニトールとスクロースの重量比が約1:1～約30:1、例えば1:1～約10:1、例えば約1:1～約2:1である、前記本発明のいずれかの凍結乾燥製剤。 50



## [本発明1017]

前記製剤がマンニトールおよびスクロースを含み、マンニトールとスクロースの重量比が約1:1である、前記本発明のいずれかの凍結乾燥製剤。

## [本発明1018]

前記製剤がマンニトールを含み、マンニトールと抗TF ADCの重量比が少なくとも約3:1である、前記本発明のいずれかの凍結乾燥製剤。

## [本発明1019]

前記製剤がマンニトールおよびスクロースを含み、マンニトールと抗TF ADCの重量比が約3:1であり、マンニトールとスクロースの重量比が約1:1である、前記本発明のいずれかの凍結乾燥製剤。

10

## [本発明1020]

約5 g/L ~ 約30 g/Lの抗TF ADC、ならびに

- a. 約5 ~ 約7のpHを有する約20 ~ 約50 mMのヒスチジンバッファーまたはクエン酸バッファー
- b. 約10 ~ 約250 mMのスクロースまたはトレハロース、および
- c. 約50 mM ~ 約300 mMのマンニトールまたはグリシン

を含む薬学的に許容される賦形剤を含む水性製剤を凍結乾燥することによって入手可能または入手されたものである、前記本発明のいずれかの凍結乾燥製剤。

## [本発明1021]

前記水性製剤が、約9 ~ 約11 g/Lの抗TF ADC、例えば約10 mg/mLの抗TF ADC、約30 mMのヒスチジン、約88 mMのスクロース、および約165 mMのマンニトールを含む、前記本発明のいずれかの凍結乾燥製剤。

20

## [本発明1022]

前記抗TF抗体が、

- a. SEQ ID NO: 5のアミノ酸配列を含むVH領域およびSEQ ID NO: 45のアミノ酸配列を含むVL領域、
- b. SEQ ID NO: 33のアミノ酸配列を含むVH領域およびSEQ ID NO: 73のアミノ酸配列を含むVL領域、
- c. SEQ ID NO: 37のアミノ酸配列を含むVH領域およびSEQ ID NO: 77のアミノ酸配列を含むVL領域、または
- d. SEQ ID NO: 1のアミノ酸配列を含むVH領域およびSEQ ID NO: 41のアミノ酸配列を含むVL領域

30

からなる群より選択されるVHおよびVL領域を含む1つまたは複数の参照抗TF抗体と、ヒトTFに対する結合に関して競合する、前記本発明のいずれかの凍結乾燥製剤。

## [本発明1023]

前記抗TF抗体が以下を含む、前記本発明のいずれかの凍結乾燥製剤：

- a. SEQ ID NO: 6に示されるアミノ酸配列を有するCDR1領域、SEQ ID NO: 7に示されるアミノ酸配列を有するCDR2領域、およびSEQ ID NO: 8に示されるアミノ酸配列を有するCDR3領域を含む重鎖可変（VH）領域、ならびにSEQ ID NO: 46に示されるアミノ酸配列を有するCDR1領域、SEQ ID NO: 47に示されるアミノ酸配列を有するCDR2領域、およびSEQ ID NO: 48に示されるアミノ酸配列を有するCDR3領域を含む軽鎖可変（VL）領域、または
- b. SEQ ID NO: 34に示されるアミノ酸配列を有するCDR1領域、SEQ ID NO: 35に示されるアミノ酸配列を有するCDR2領域、およびSEQ ID NO: 36に示されるアミノ酸配列を有するCDR3領域を含むVH領域、ならびにSEQ ID NO: 74に示されるアミノ酸配列を有するCDR1領域、SEQ ID NO: 75に示されるアミノ酸配列を有するCDR2領域、およびSEQ ID NO: 76に示されるアミノ酸配列を有するCDR3領域を含むVL領域、または
- c. SEQ ID NO: 38に示されるアミノ酸配列を有するCDR1領域、SEQ ID NO: 39に示されるアミノ酸配列を有するCDR2領域、およびSEQ ID NO: 40に示されるアミノ酸配列を有するCDR3領域を含むVH領域、ならびにSEQ ID NO: 78に示されるアミノ酸配列を有するCDR1領域、SEQ ID NO: 79に示されるアミノ酸配列を有するCDR2領域、およびSEQ ID NO: 80に

40

50

示されるアミノ酸配列を有するCDR3領域を含むVL領域、または

d. SEQ ID NO: 2に示されるアミノ酸配列を有するCDR1領域、SEQ ID NO: 3に示されるアミノ酸配列を有するCDR2領域、およびSEQ ID NO: 4に示されるアミノ酸配列を有するCDR3領域を含むVH領域、ならびにSEQ ID NO: 42に示されるアミノ酸配列を有するCDR1領域、SEQ ID NO: 43に示されるアミノ酸配列を有するCDR2領域、およびSEQ ID NO: 44に示されるアミノ酸配列を有するCDR3領域を含むVL領域、または

e. 上記(a)~(d)で定義される抗体のいずれかの変種であって、好ましくは、上記(a)~(d)で定義されるアミノ酸配列中に最大で1、2もしくは3つのアミノ酸改変、より好ましくはアミノ酸置換、例えば保存的アミノ酸置換を有する、変種。

[本発明1024]

前記抗体が以下を含む、前記本発明のいずれかの凍結乾燥製剤：

a. SEQ ID NO: 5のアミノ酸配列を含むVH領域およびSEQ ID NO: 45のアミノ酸配列を含むVL領域、

b. SEQ ID NO: 33のアミノ酸配列を含むVH領域およびSEQ ID NO: 73のアミノ酸配列を含むVL領域、

c. SEQ ID NO: 37のアミノ酸配列を含むVH領域およびSEQ ID NO: 77のアミノ酸配列を含むVL領域、または

d. SEQ ID NO: 1のアミノ酸配列を含むVH領域およびSEQ ID NO: 41のアミノ酸配列を含むVL領域。

[本発明1025]

抗体分子あたりの薬物部分の平均絶対数が、1、2、3、4、5、6、7、または8、例えば3、4、または5、好ましくは4である、前記本発明のいずれかの凍結乾燥製剤。

[本発明1026]

前記抗TF抗体が、疎水性の薬物にコンジュゲートされている、前記本発明のいずれかの凍結乾燥製剤。

[本発明1027]

前記薬物が、アウリスタチンまたはその機能性ペプチドアナログもしくは誘導体である、前記本発明のいずれかの凍結乾燥製剤。

[本発明1028]

前記薬物が、前記抗TF抗体のスルフヒドリル基に付加されたリンカーを介して該抗TF抗体に連結されており、該スルフヒドリル基が該抗TF抗体の部分還元によって得られたものである、前記本発明のいずれかの凍結乾燥製剤。

[本発明1029]

前記薬物がMMAEまたはMMAFである、前記本発明のいずれかの凍結乾燥製剤。

[本発明1030]

前記薬物がリンカー - 薬物を介して前記抗TF抗体に連結されており、該リンカー - 薬物が、mcMMAE、vcMMAE、vcMMAF、またはmcMMAFから選択され、最も好ましくはvcMMAEである、前記本発明のいずれかの凍結乾燥製剤。

[本発明1031]

前記抗TF抗体が全長抗体である、前記本発明のいずれかの凍結乾燥製剤。

[本発明1032]

前記抗TF抗体が、全長完全ヒトモノクローナルIgG1抗体であり、任意でヒトIgG1である、前記本発明のいずれかの凍結乾燥製剤。

[本発明1033]

約9 g/L ~ 約11 g/Lの抗TF ADCならびに約5 ~ 約7のpHを有する約30 mMのヒスチジンバッファー、約88 mMのスクロース、および約165 mMのマンニトールを含む薬学的に許容される賦形剤を含む水性製剤を凍結乾燥することによって入手可能または入手されたものである、前記本発明のいずれかの凍結乾燥製剤であって、抗体が、SEQ ID NO: 5のアミノ酸配列を含むVH領域およびSEQ ID NO: 45のアミノ酸配列を含むVL領域；SEQ ID NO: 33のアミノ酸配列を含むVH領域およびSEQ ID NO: 73のアミノ酸配列を含むVL領域；SEQ ID NO: 37

10

20

30

40

50

のアミノ酸配列を含むVH領域およびSEQ ID NO: 77のアミノ酸配列を含むVL領域；またはSEQ ID NO: 1のアミノ酸配列を含むVH領域およびSEQ ID NO: 41のアミノ酸配列を含むVL領域を含み、リンカー - 薬物がvcMMAE、vcMMAF、またはmcMMAFである、前記凍結乾燥製剤。

[本発明1034]

前記抗体が、SEQ ID NO: 5のアミノ酸配列を含むVH領域およびSEQ ID NO: 45のアミノ酸配列を含むVL領域を含む、本発明1033の凍結乾燥製剤。

[本発明1035]

前記抗TF ADCが、少なくとも6ヶ月間、例えば少なくとも9ヶ月間、例えば少なくとも15ヶ月間、または好ましくは18ヶ月間、またはより好ましくは少なくとも24ヶ月間、または最も好ましくは少なくとも36ヶ月間の薬学的使用において、2~8、例えば5で安定である、前記本発明のいずれかの凍結乾燥製剤。

10

[本発明1036]

少なくとも6ヶ月間、例えば少なくとも9ヶ月間、例えば少なくとも15ヶ月間、または好ましくは18ヶ月間、またはより好ましくは少なくとも24ヶ月間、または最も好ましくは少なくとも36ヶ月間、5で保存されたときに、3.0%未満の凝集物、例えば2.0%未満の凝集物を有する場合に安定である、本発明1035の凍結乾燥製剤。

[本発明1037]

安定性が、実施例10にしたがってSEC分析によって決定される、本発明1035または1036の凍結乾燥製剤。

[本発明1038]

3.0 wt.%未満の水分、例えば2.0 wt.%未満の水分、例えば1 wt.%未満の水分、または0.5 wt.%未満の水分を含む、前記本発明のいずれかの凍結乾燥製剤。

20

[本発明1039]

無機塩を含まない、前記本発明のいずれかの凍結乾燥製剤。

[本発明1040]

以下を含む、抗TF ADCの凍結乾燥製剤を調製するのに適した水溶液：

a. 約7~約20 g/Lの抗TF-ADCであって、任意で抗体部分が本発明1022~1024のいずれかのVH配列およびVL配列を含む、抗TF-ADC；ならびに

以下のb、cもしくはdのいずれか2つの組み合わせ、またはb、cもしくはdのすべて：

- b. 約28~34 mMのヒスチジン；
- c. 約84~約146 mMのスクロース；
- d. 約158~約274のマンニトール。

30

[本発明1041]

滅菌水性希釈剤中で本発明1001~1039のいずれかの凍結乾燥製剤を再構成することによって得られる、薬学的に許容される液体製剤。

[本発明1042]

約5 g/L~約30 g/Lの抗TF ADC、約5~約7のpHを有する約20~約50 mMのヒスチジン、約10~約250 mMのスクロースまたはトレハロース、および約50 mM~約300 mMのマンニトールまたはグリシンを含む、本発明1041の液体製剤。

[本発明1043]

約9~約11 mg/mLの抗TF ADC、約28~約34 mMのヒスチジン、約84~約92 mMのスクロース、および約158~約274 mMのマンニトールを含む、本発明1042の液体製剤。

40

[本発明1044]

以下の工程を含む、本発明1001~1039のいずれかの凍結乾燥製剤を調製する方法：

- a. 水溶液を0.5 /分~1 /分の速度で-40 以下の温度まで冷却する工程、
- b. 少なくとも120分間等温維持する工程、
- c. 0.5 /分~3 /分の速度で-20 ~ -15 まで加温する工程、
- d. 少なくとも180分間等温維持する工程、
- e. -30 ~ -10 の温度で50 mTorr~200 mTorrの圧力を用いて減圧をかける工程、
- f. 0.5 /分~1 /分の速度で温度を35 ~ 50 まで上昇させる工程、および

50

g. 少なくとも10時間等温維持する工程。

[本発明1045]

滅菌水性希釈剤中で本発明1001～1039のいずれかの凍結乾燥製剤を再構成する工程を含む、抗TF ADCの注射溶液を調製する方法。

これらおよび他の局面および態様は、以下の節でより詳細に説明されている。

【図面の簡単な説明】

【0010】

【図1A】4週間保存されたHuMax-TF DOEサンプルにおいてSEC分析を用いて得られたHMW種の比率を示している。この棒グラフにおいて、製剤は、各バッファーおよび賦形剤サブグループごとに左から右にむかってpHが増加する順で配置されている。各々のバーの対において、左のバーは2～8を表し、右のバーは45を表す。詳細については実施例2を参照のこと。

10

【図1B】4週間保存されたHuMax-TF DOEサンプルにおいてSEC分析を用いて得られたメイン種の比率を示している。この棒グラフにおいて、製剤は、各バッファーおよび賦形剤サブグループごとに左から右にむかってpHが増加する順で配置されている。各々のバーの対において、左のバーは2～8を表し、右のバーは45を表す。詳細については実施例2を参照のこと。

【図1C】4週間保存されたHuMax-TF DOEサンプルにおいてSEC分析を用いて得られたLMW種の比率を示している。この棒グラフにおいて、製剤は、各バッファーおよび賦形剤サブグループごとに左から右にむかってpHが増加する順で配置されている。各々のバーの対において、左のバーは2～8を表し、右のバーは45を表す。詳細については実施例2を参照のこと。

20

【図2A】1週間保存されたHuMax-TF DOEサンプルにおいてcIEFを用いて観察された酸性種のピーク面積の割合(%)に対する様々な製剤の効果を示している。この棒グラフにおいて、製剤は、各バッファーおよび賦形剤サブグループごとに左から右にむかってpHが増加する順で配置されている。各々のバーの対において、左のバーは2～8を表し、右のバーは45を表す。詳細については実施例4を参照のこと。

【図2B】1週間保存されたHuMax-TF DOEサンプルにおいてcIEFを用いて観察されたメイン種のピーク面積の割合(%)に対する様々な製剤の効果を示している。この棒グラフにおいて、製剤は、各バッファーおよび賦形剤サブグループごとに左から右にむかってpHが増加する順で配置されている。各々のバーの対において、左のバーは2～8を表し、右のバーは45を表す。詳細については実施例4を参照のこと。

30

【図2C】1週間保存されたHuMax-TF DOEサンプルにおいてcIEFを用いて観察された塩基性種のピーク面積の割合(%)に対する様々な製剤の効果を示している。この棒グラフにおいて、製剤は、各バッファーおよび賦形剤サブグループごとに左から右にむかってpHが増加する順で配置されている。各々のバーの対において、左のバーは2～8を表し、右のバーは45を表す。詳細については実施例4を参照のこと。

【図3】SECによって決定された、40で2週間保存された場合のHuMax TF ADCについてのHMWの割合(%)に対するpHの効果を示している。詳細については実施例5を参照のこと。

【図4】iCEによって決定された、40で2週間保存されたHuMax TF ADC溶液についての酸性種の割合(%)に対するpHの効果を示している。詳細については実施例5を参照のこと。

40

【図5A】pH 6.0で調製されて40で2週間保存されたHuMax TF ADC溶液の(iCEによる)電荷メインピークの割合(%)に対するソルビトールおよびPS80(ポリソルベート80)の効果を示している。詳細については実施例5を参照のこと。

【図5B】pH 6.0で調製されて40で2週間保存されたHuMax TF ADC溶液の(SECによる)メインピークに対するソルビトールおよびPS80(ポリソルベート80)の効果を示している。詳細については実施例5を参照のこと。

【図6】40で2週間保存されたHuMax-TF-ADCのメイン電荷アイソフォームの比率に関する液体と凍結乾燥製剤との間の比較を示している。詳細については実施例6を参照のこと

50

。

【図7】HuMax-TF-ADCの異なる凍結乾燥製剤の加速安定性データからの例示的な結果を示している。(A)SECによると、凝集物は50 で増加する。(B)icIEFによると、メイン電荷アイソフォームは40 で減少する。詳細については実施例8を参照のこと。

【図8】40 で2ヶ月間の保存後の凍結乾燥製剤A、BおよびCにおけるDLS粒子サイズ分布を示している。詳細については実施例8を参照のこと。

【図9】50 で2週間の保存後の製剤A、BおよびCにおける第2誘導体FTIRスペクトルを示している。数分布は、異なるサイズピンにおける粒子の数を示している。詳細については実施例8を参照のこと。

【図10】製剤BのDSC熱流サーモグラムを示している。詳細については実施例11を参照のこと。

10

【図11】本発明のADC製剤において使用される例示的な抗TF抗体のVHおよびVL配列を示している。KabatにしたがうCDR1、CDR2およびCDR3配列が強調表示されており、イタリック体の配列はCDR1領域を表し、下線が付された配列はCDR2領域を表し、太字の配列はCDR3領域を表す。

【図12】40 で最大2ヶ月間の保存後の5 mg/mLおよび30 mg/mL製剤についてのSECにおけるメインピークの平均割合(%)を示している。実施例12を参照のこと。

【図13】40 で最大2ヶ月間の保存後の5 mg/mLおよび30 mg/mL製剤についてのSECにおける高分子量種の平均割合(%)を示している。実施例12を参照のこと。

【図14】40 で2ヶ月間の保存後の5 mg/mLおよび30 mg/mLのHuMax-TF-ADC製剤についてのiCEにおけるメインピークの割合(%)を示している。実施例12を参照のこと。

20

【図15】40 で2ヶ月間の保存後の5 mg/mLおよび30 mg/mLのHuMax-TF-ADC製剤についてのiCEにおける酸性種の割合(%)を示している。実施例12を参照のこと。

【図16】40 で2ヶ月間の保存後の5 mg/mlおよび30 mg/mlのHuMax-TF-ADC製剤についてのiCEにおける塩基性種の割合(%)を示している。実施例12を参照のこと。

【図17】25 で最大48時間保存された溶液サンプルについてのHuMax-TF-ADCのSECによるメインピークの平均割合(%)を示している。

【図18】25 で最大48時間保存された溶液サンプルについてのSECにおける高分子量種の平均割合(%)を示している。

【図19】25 で最大48時間保存された溶液サンプルについてのiCEにおけるメインピークの平均割合(%)を示している。

30

【図20】25 で最大48時間保存された溶液サンプルについてのiCEにおける酸性種の平均割合(%)を示している。

【図21】25 で最大48時間保存された溶液サンプルについてのiCEにおける塩基性種の平均割合(%)を示している。

【図22】40 で最大2ヶ月間保存された凍結乾燥グリシン・クエン酸製剤についてのSECにおけるメインピークの平均割合(%)を示している。

【図23】40 で最大2ヶ月間保存された凍結乾燥グリシン・クエン酸製剤についてのSECにおける高分子量種の平均割合(%)を示している。

【図24】40 で2ヶ月間の保存後のグリシンまたはクエン酸(塩)を用いて調製されたHuMax-TF-ADC製剤についてのiCEにおけるメインピークの割合(%)を示している。

40

【図25】40 で2ヶ月間の保存後のグリシンまたはクエン酸(塩)を用いて調製されたHuMax-TF-ADC製剤についてのiCEにおける酸性種の割合(%)を示している。

【図26】40 で2ヶ月間の保存後のグリシンまたはクエン酸(塩)を用いて調製されたHuMax-TF-ADC製剤についてのiCEにおける塩基性種の割合(%)を示している。

【図27】pH 5または6または7で20 mmまたは50 mmのヒスチジンを用いて調製され、40 で2ヶ月間保存された10 mg/mL HuMax-TF-ADC凍結乾燥製剤についてのiCEにおけるメインピークの割合(%)を示している。

【図28】pH 5または6または7で20 mMまたは50 mMのヒスチジンを用いて調製され、40 で2ヶ月間保存された10 mg/mL HuMax-TF-ADC製剤についてのiCEにおける酸性種の割合(

50

%)を示している。

【図29】pH 5または6または7で20 mMまたは50 mMのヒスチジンを用いて調製され、40で2ヶ月間保存された10 mg/mL HuMax-TF-ADC製剤についてのiCEにおける塩基性種の割合(%)を示している。

【図30】pH 5または6または7で20 mMまたは50 mMのヒスチジンを用いて調製され、40で2ヶ月間保存された10 mg/mL HuMax-TF-ADC製剤についてのSECにおけるメインピーク割合(%)を示している。

【図31】pH 5または6または7で20 mMまたは50 mMのヒスチジンを用いて調製され、40で2ヶ月間保存された10 mg/mL HuMax-TF-ADC製剤についての、SECにおける高分子量種の平均割合(%)を示している。

【発明を実施するための形態】

【0011】

発明の詳細な開示

定義

「凍結乾燥された(lyophilized)」および「凍結乾燥された(freeze-dried)」という用語は、本明細書で互換的に使用され、最初に凍結を行い、次に周囲圧を下げて物質中の凍結した水分を昇華させることによって脱水した物質を表す。

【0012】

本明細書で使用される「バッファー」という用語は、薬学的に許容されるバッファーを意味する。「バッファー」という用語は、溶液のpH値を例えば許容される範囲内で維持する剤を包含し、本明細書に記載されるようにヒスチジン、TRIS(登録商標)(トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタン)、クエン酸、コハク酸、グリコール酸等を含むがこれらに限定されない。概ね、本明細書で使用される「バッファー」は、約5~約7のpH範囲、好ましくは約5.5~6.5、例えばpH約6またはpH約6.0に適したpKaおよび緩衝能を有する。

【0013】

「バルク剤」という用語は、(例えば、薬学的に許容されるケーキを提供するために)凍結乾燥産物に追加の構造を提供することができる剤を含む。広く使用されるバルク剤は、マンニトール、グリシン、スクロース等を含む。薬学的に許容されるケーキの提供に加えて、バルク剤はまた、典型的に、凍結乾燥組成物に有用な性質、例えば崩壊温度の変化、凍結・解凍保護の提供、長期保管時のタンパク質安定性のさらなる強化等、を付与する。

【0014】

本明細書で使用される「安定化剤」という用語は、例えば凍結中の凍結保護剤および/または(凍結)乾燥もしくは「脱水」プロセス中の溶解保護剤として機能する、タンパク質に安定性を提供する剤を含む。適当な安定化剤は、非還元糖またはサッカリドおよび糖アルコール、例えばスクロース、トレハロース、マンニトール、キシリトール等、ならびにアミノ酸、例えばグリシン、アラニンおよびリジンを含む。安定化剤はまた、バルク剤、張度調整および/または増粘剤としても機能し得る。「cIEF」、「icIEF」および「iCE」という略語は、本明細書で互換的に使用され、すべて「キャピラリー等電点電気泳動」と意味する。

【0015】

本明細書で使用される「界面活性剤」は、典型的に表面への薬物の吸着およびまたは凝集を防ぐために薬学的製剤において使用される化合物である。さらに、界面活性剤は、2つの液体間または液体・固体間の表面張力(または界面張力)を低下させる。例えば、例示的な界面活性剤は、非常に低い濃度(例えば、5% w/w以下、例えば3% w/w以下、例えば1% w/w以下)で存在するときに表面張力を有意に低下させ得る。界面活性剤は両親媒性であり、これはそれらが通常親水性基および疎水性または親油性基の両方から構成され、したがって水溶液中でミセルまたは類似の自己集合構造を形成することができることを意味する。薬学的利用のための公知の界面活性剤は、モノオレイン酸グリセロール、塩化ベンゼトニウム、ドキュセートナトリウム、リン脂質、ポリエチレンアルキルエーテル、

10

20

30

40

50

ラウリル硫酸ナトリウムおよびトリカプリリン（アニオン性界面活性剤）；塩化ベンザルコニウム、シトリミド（citrimide）、塩化セチルピリジニウムおよびリン脂質（カチオン性界面活性剤）；ならびにアルファトコフェロール、モノオレイン酸グリセロール、ミリスチルアルコール、リン脂質、ポロキサマー、ポリオキシエチレンアルキルエーテル、ポリオキシエチレンヒマシ油誘導体、ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル、ステアリン酸ポリオキシエチレン、ヒドロキシステアリン酸ポリオキシル15、ポリオキシルグリセリド、ポリソルベート、ジラウリン酸プロピレングリコール、モノラウリン酸プロピレングリコール、パルミチン酸ソルビタンエステルスクロース、ステアリン酸スクロース、トリカプリリンおよびTPGS（非イオン性および両性イオン性界面活性剤）を含む。

【0016】

本明細書における関心対象の「希釈剤」は、薬学的に許容され（ヒトへの投与に関して安全かつ非毒性であり）かつ再構成製剤の調製に有用であるものである。例示的な希釈剤は、滅菌水、注射用静菌水（BWF1）、pH緩衝溶液（例えば、リン酸緩衝生理食塩水）、滅菌生理食塩水溶液、リンガー溶液またはデキストロース溶液を含む。

【0017】

本明細書で使用される場合、「治療部分」は、対象に投与された場合に、特に本明細書に記載されるようにADCとして送達された場合に、治療効果または予防効果を発揮する化合物を意味する。「細胞傷害性」または「細胞増殖抑制性」部分は、細胞に対して有害な（例えば、死滅させる）化合物である。ADCにおいて使用されるいくつかの細胞傷害性または細胞増殖抑制性部分は疎水性であり、これはそれらが水に対して非溶解性または限定的な溶解性、例えば1 g/L以下（ごくわずかな溶解）、例えば0.8 g/L以下、例えば0.6 g/L以下、例えば0.4 g/L以下、例えば0.3 g/L以下、例えば0.2 g/L以下、例えば0.1 g/L以下（実質的に不溶性）、しか有さないことを意味する。例示的な疎水性細胞傷害性または細胞増殖抑制性部分は、特定の微小管阻害剤、例えばアウリスタチンおよびその誘導体、例えばMMAFおよびMMAEを含むがこれらに限定されない。

【0018】

「免疫グロブリン」という用語は、1対の軽（L）鎖および1対の重（H）鎖の2対のポリペプチド鎖からなり、4つすべてがジスルフィド結合により相互接続されている構造的に関連する糖タンパク質のクラスを表す。免疫グロブリンの構造は十分に特徴づけられている。例えば、Fundamental Immunology Ch.7 (Paul, W., ed., 2nd ed. Raven Press, N.Y. (1989))を参照のこと。簡単に説明すると、各重鎖は典型的に、重鎖可変領域（本明細書でV<sub>H</sub>またはV<sub>H</sub>と省略される）および重鎖定常領域（CHまたはC<sub>H</sub>）から構成される。重鎖定常領域は典型的に、CH1、CH2およびCH3の3つのドメインから構成される。各軽鎖は典型的に、軽鎖可変領域（本明細書でV<sub>L</sub>またはV<sub>L</sub>と省略される）および軽鎖定常領域（CLまたはC<sub>L</sub>）から構成される。軽鎖定常領域は典型的に、CLという1つのドメインから構成される。V<sub>H</sub>およびV<sub>L</sub>領域はさらに、フレームワーク領域（FR）と呼ばれるより保存された領域によって分断された、相補性決定領域（CDR）とも呼ばれる、超可変性の領域（または配列および/もしくは構造的に定義されたループの形成に関して超可変であり得る、超可変領域）に細分類され得る。各V<sub>H</sub>およびV<sub>L</sub>は典型的に、アミノ末端からカルボキシ末端に向かって以下の順で配置された3つのCDRおよび4つのFRから構成される：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4 (Chothia and Lesk J. Mol. Biol. 196, 901 917(1987)も参照のこと)。典型的に、この領域におけるアミノ酸残基の番号付けは、Kabat et al., Sequence s of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991)に記載される方法によって行われる（本明細書でKabatにおけるまたはKabatにしたがう可変ドメイン残基の番号付け等のフレーズは、重鎖可変ドメインまたは軽鎖可変ドメインに関するこの番号付け体系を表す。）。この番号付け体系を用いた場合、ペプチドの実際の線状アミノ酸配列は、可変ドメインのFRまたはCDRの短縮または挿入に対応する数個または追加のアミノ酸を含み得る。例えば、重鎖可変ドメインは、V<sub>H</sub> CDR2の残基52の後に1つのアミノ酸挿入（Kabatにしたがう残基52a）および重鎖FR残基82の後に挿入された残基（例えば、Kabatにしたがう残基82a、82b

10

20

30

40

50

および82c等)を含み得る。特定の抗体における残基のKabat番号付けは、「標準的な」Kabat番号が付された配列を有する抗体の配列の相同性の領域とのアラインメントによって決定され得る。

#### 【0019】

本発明との関係で、「抗体」(Ab)という用語は、典型的な生理学的条件下で抗原に特異的に結合する能力を有し、有意な期間、例えば少なくとも約30分間、少なくとも約45分間、少なくとも約1時間、少なくとも約2時間、少なくとも約4時間、少なくとも約8時間、少なくとも約12時間、約24時間もしくはそれ以上、約48時間もしくはそれ以上、約3、4、5、6、7もしくはそれ以上の日数等または任意のその他の関連する機能的に定義された期間(例えば、抗原への抗体の結合に関連する生理学的応答を誘導、促進、増強および/もしくは調整するのに十分な時間ならびに/または抗体がエフェクター活性を誘導するのに十分な時間)の半減期を有する免疫グロブリン分子、免疫グロブリン分子のフラグメントまたはそのいずれかの誘導体を表す。免疫グロブリン分子の重および軽鎖の可変領域は、抗原と相互作用する結合ドメインを含む。抗体(Ab)の定常領域は、免疫系の様々な細胞(例えば、エフェクター細胞)および補体系の要素、例えば補体活性化の古典的経路の第1の要素であるC1qを含む、宿主の組織または因子への免疫グロブリンの結合を媒介し得る。上記のように、本明細書における抗体という用語は、そうでないことに言及されていない限りまたは文脈と明らかに相反しない限り、抗原に特異的に結合する能力を保持している抗体のフラグメントを含む。抗体の抗原結合機能は全長抗体のフラグメントによって発揮され得ることが示されている。「抗体」という用語に包含される結合フラグメントの例は、(i) VL、VH、CLおよびCH1ドメインからなる1個フラグメントであるFab'もしくはFabフラグメント、またはWO2007059782(Genmab A/S)に記載される1個抗体、(ii) ヒンジ領域でジスルフィド架橋によって連結された2つのFabフラグメントを含む2個フラグメントであるF(ab')<sub>2</sub>フラグメント、(iii) VHおよびCH1ドメインから本質的になるFdフラグメント; (iv) 抗体の1本のアームのVLおよびVHドメインから本質的になるFvフラグメント、(v) VHドメインから本質的になり、ドメイン抗体とも呼ばれる(Holt et al.; Trends Biotechnol. 2003 Nov;21(11):484-90)、dAbフラグメント(Ward et al., Nature 341, 544 546 (1989))、(vi) カメリド(camelid)またはナノ抗体(Reverts et al.; Expert Opin Biol Ther. 2005 Jan;5(1):111-24)ならびに(vii) 単離された相補性決定領域(CDR)を含む。さらに、Fvフラグメントの2つのドメインであるVLおよびVHは別個の遺伝子によってコードされるが、それらは、組み換え法を用いて、それらをVLおよびVH領域が対形成し1個分子を形成する単一のタンパク質鎖(単鎖抗体または単鎖Fv(scFv))として公知、例えばBird et al., Science 242, 423 426 (1998)およびHuston et al., PNAS USA 85, 5879 5883 (1998)を参照のこと)とすることができる合成リンカーによって接続され得る。そのような単鎖抗体は、それ以外のこと言及されていない限りまたは文脈によって明確に示されていない限り、抗体という用語に包含される。そのようなフラグメントは通常抗体の意味に含まれるが、異なる生物学的特性および有用性を示すそれらは集成的におよび各々独立して本発明の固有の特徴となる。本発明との関係で、これらおよびその他の有用な抗体フラグメントが、本明細書でさらに議論されている。抗体という用語はまた、そうでないことが示されていない限り、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体(mAb)、2特異性抗体、抗体様ポリペプチド、例えばキメラ抗体およびヒト化抗体、ならびに任意の公知の技術、例えば酵素的切断、ペプチド合成および組み換え技術によって提供される抗原に特異的に結合する能力を保持する抗体フラグメント(抗原結合フラグメント)を含むことも理解されるべきである。生成される抗体は、任意のアイソタイプを有し得る。

#### 【0020】

本発明との関係で、「ADC」という用語は、本発明との関係で本願に記載される別の部分に連結された抗TF抗体を表す抗体薬物コンジュゲートを表す。それは、例えば、リンカーによって、例えばシステインに、または他のコンジュゲート法によって他のアミノ酸に連結され得る。その部分は、例えば、薬物または毒素等であり得る。

10

20

30

40

50



## 【0021】

「抗TF抗体」は、抗原組織因子または組織因子抗原に特異的に結合する上記のような抗体である。「組織因子」「TF」「CD142」「組織因子抗原」「TF抗原」および「CD142抗原」という用語は、本明細書で互換的に使用され、そうでないことが示されていない限り、自然界で細胞によって発現されるまたは組織因子遺伝子でトランスフェクトされた細胞において発現されるヒト組織因子の任意の変種、アイソフォームおよび種ホモログを含む。1つの態様において、組織因子のアミノ酸配列は、GenbankアクセッションNP\_001984.1配列の成熟型を含む。抗TF抗体、特にヒト抗TF抗体は、WO2011/157741に記載される方法にしたがい生成され特徴づけられ得る。

## 【0022】

本明細書で使用される「ヒト抗体」という用語は、ヒト生殖系列免疫グロブリン配列由来の可変および定常領域を有する抗体を含むことが意図される。本発明のヒト抗体は、ヒト生殖系列免疫グロブリン配列によってコードされないアミノ酸残基（例えば、インビボでの無作為もしくは部位特異的変異誘発によってまたはインビボでの体細胞変異によって導入される変異）を含み得る。

## 【0023】

好ましい態様において、本発明のADCの抗体またはADCは、単離されたものである。本明細書で使用される「単離された抗体」または「単離されたADC」は、異なる抗原特異性を有する他の抗体を実質的に含まない抗体またはADCを表すことが意図される（例えば、TFに特異的に結合する単離された抗体は、TF以外の抗原に特異的に結合する抗体を実質的に含まない）。本明細書で使用される単離された抗体薬物コンジュゲートは、「遊離毒素」も実質的に含まない抗体薬物コンジュゲートを表すことが意図され、「遊離毒素」は抗体にコンジュゲートされていない毒素を意味することが意図される。毒素との関係で使用される「実質的に含まない」という用語は、特に、WO2011157741の実施例16に記載されるようにして決定された場合に5%未満、例えば4%未満、または3%未満、または2%未満、または1.5%未満、または1%未満、または0.5%未満の非コンジュゲート薬物が存在することを意味し得る。ヒトTFのエピトープ、アイソフォームまたは変種に特異的に結合する単離された抗体または単離された抗体薬物コンジュゲートは、しかし、例えば他の種由来の、他の関連する抗原（例えば、組織因子の種ホモログ）に対する交差反応性を有し得る。さらに、単離された抗体またはADCは、他の細胞物質および/または化学物質を実質的に含まないものであり得る。本発明の1つの態様において、異なる抗原結合特異性を有する2つ以上の「単離された」モノクローナル抗体またはADCは、十分に定義された組成物において組み合わせられる。1つの態様において、2つ以上の単離されたモノクローナル抗体またはADCは、2つ以上の異なるエピトープを介してTFに結合する。別の態様において、それは、TFに対する結合特異性を有するmAbまたはADCとTFではない第2の結合特異性を有する1つまたは複数のmAbまたはADCの混合物であり得る。

## 【0024】

本明細書で2つ以上の抗体との関係において使用される場合、「競合する」または「交差競合する」という用語は、抗体が抗原への結合に関して別の抗体、例えば「参照」抗体と競合することを示す。例えば、TFへの結合に関して競合する2つ以上の抗体は、サンドイッチELISAを用いて抗体交差競合研究を行うWO10066803の実施例12に記載されるアッセイを用いて分析され得る。簡単に説明すると、プレートウェルを、試験したい抗TF抗体により（例えば、摂氏+4度で、PBSバッファー中0.5または2マイクログラム/mlの抗体をウェルあたり100マイクロリットル用いて試験される抗TF抗体により）一晩コーティングする。ELISAウェルを、PBSで洗浄し、PBS中2%（v/v）の血清（例えば、ニワトリ血清）を用いて室温で1時間ブロックし、そして再度PBSで洗浄する。その後、50マイクロリットルの抗TF参照抗体（10マイクログラム/mL）、その後50マイクロリットルのHisタグ付加細胞外ドメインTF（TFECDHis）（0.5または1マイクログラム/ml）を添加し、（振盪しながら）室温で1時間インキュベートする。プレートをPBST（PBS + 0.05% tween）で3回洗浄し、そして1:2000希釈された抗hisビオチニル化抗体（例えば、抗hisビオチンBAM050）と共

10

20

30

40

50

に（振盪しながら）室温で1時間インキュベートする。プレートを洗浄し、そして直接的または間接的に検出可能な化合物にコンジュゲートされたストレプトアビジン（例えば、ストレプトアビジン-ポリ-HRP（Sanquin, Amsterdam, The Netherlands））と共に室温で20分間インキュベートし、そして再度洗浄する。次に、結合したストレプトアビジンの量を検出および/または定量する。例えば、間接的に検出可能な化合物がHRPである場合、その反応をさらに室温の暗所でABTS（Roche Diagnostics）を用いて現像し、2%（w/v）シュウ酸を添加することによって15分後に停止させ、そして405 nmでの吸光度を測定する。このアッセイはまた、プレートウェルを参照抗体でコーティングし、次いでそれに試験抗体をTFと共に添加することができる点で、裏返しにすることができる。いくつかの抗体の対では、WO10066803の実施例12のアッセイにおけるような競合は、一方の抗体がプレートにコーティングされ、他方が競合に使用される場合にのみ観察され、その逆では観察されない。本明細書で使用される場合、「競合する」という用語はまた、そのような抗体の組み合わせも網羅することが意図される。

10

#### 【0025】

本明細書で使用される「モノクローナル抗体」または「モノクローナル抗体組成物」という用語は、単一分子組成の抗体分子の調製物を表す。モノクローナル抗体またはその組成物は、本発明にしたがい薬物にコンジュゲートされた抗体であり得る。モノクローナル抗体組成物は、特定のエピトープに対する単一の結合特異性および親和性を示す。したがって、「ヒトモノクローナル抗体」という用語は、ヒト生殖系列免疫グロブリン配列由来の可変および定常領域を有する単一の結合特異性を示す抗体を表す。ヒトモノクローナル抗体は、不死化細胞に融合された、ヒト重鎖導入遺伝子および軽鎖導入遺伝子を含むゲノムを有するトランスジェニックまたはトランス染色体非ヒト動物、例えばトランスジェニックマウスから得られるB細胞を含むハイブリドーマによって生成され得る。次いで、当技術分野で周知の分子生物学を用いて、任意で別のアイソタイプを有する抗体を組み換え産生できるよう、ヒトモノクローナル抗体のcDNAおよび/またはアミノ酸配列が決定され得る。

20

#### 【0026】

本明細書で使用される場合、既定抗原への抗体の結合との関係での「結合」または「特異的に結合」という用語は、典型的に、例えばBIAcore 3000機器において抗原をリガンドとしておよび抗体を検体として用いる表面プラズモン共鳴（SPR）技術によって決定される場合、約 $10^{-7}$ M以下、例えば約 $10^{-8}$ M以下、例えば約 $10^{-9}$ M以下、約 $10^{-10}$ M以下、または約 $10^{-11}$ M以下でさえある特定の抗体・抗原相互作用の解離平衡定数KDに対応する親和性での結合であり、既定抗原または関係の近い抗原以外の非特異的抗原（例えば、BSA、カゼイン）に対する結合の親和性よりも少なくとも10倍低い、例えば少なくとも100倍低い、例えば少なくとも1,000倍低い、例えば少なくとも10,000倍低い、例えば少なくとも100,000倍低いKDに対応する親和性で既定抗原に結合する。親和性がどのくらい低いかの量は、抗体のKDに依存し、抗体のKDが非常に低い（すなわち、抗体が高度に特異的である）場合、抗原に対する親和性が非特異的抗原に対する親和性よりもどのくらい低いかの量は、少なくとも10,000倍であり得る。

30

#### 【0027】

本発明はまた、1つの態様において、本明細書に記載される抗体のVL領域、VH領域または1つもしくは複数のCDRの機能的変種を含む抗体の製剤を提供する。抗TF抗体との関係において使用されるVL、VHまたはCDRの機能的変種は、その抗体が、親抗体の親和性/結合力および/または特異性/選択性の少なくとも実質的な割合（少なくとも約50%、60%、70%、80%、90%、95%またはそれ以上）を保持することをなおも許容し、いくつかの例ではそのような抗TF抗体は親抗体よりも大きな親和性、選択性および/または特異性を有し得る。

40

#### 【0028】

そのような機能的変種は、典型的に、親抗体に対する有意な配列同一性を有する。2つの配列間の同一率は、2つの配列の最適なアラインメントのために導入される必要のある

50

ギャップの数および各ギャップの長さが考慮される、それらの配列によって共有される同一位置の数の関数である(すなわち、同一率(%) = 同一位置の数 / 位置の総数 × 100)。2つの配列間の配列の比較および同一率の決定は、以下に記載されるような数学的アルゴリズムを用いて達成され得る。

**【0029】**

本発明の目的上、2つのアミノ酸配列間の配列同一性は、EMBOSSパッケージのNeedleプログラム(EMBOSS: The European Molecular Biology Open Software Suite, Rice et al., 2000, Trends Genet. 16: 276-277)、好ましくはバージョン5.0.0またはそれ以降、に実装されているNeedleman-Wunschアルゴリズム(Needleman and Wunsch, 1970, J. Mol. Biol. 48: 443-453)を用いて決定される。使用されるパラメータは、ギャップオープンペナルティーが10、ギャップエクステンションペナルティーが0.5およびEBLOSUM62(BLOSUM62のEMBOSSバージョン)置換マトリックスである。(-nobriefオプションを用いて得られる)「最大同一性(longest identity)」と呼ばれるNeedleの出力値が同一率(%)として使用され、これは以下のようにして計算される:(同一の残基 × 100) / (アラインメントの長さ - アラインメント中のギャップの総数)。

10

**【0030】**

本発明の目的上、2つのデオキシリボヌクレオチド配列間の配列同一性は、EMBOSSパッケージのNeedleプログラム(EMBOSS: The European Molecular Biology Open Software Suite, Rice et al., 2000, 前記)、好ましくはバージョン5.0.0またはそれ以降、に実装されているNeedleman-Wunschアルゴリズム(Needleman and Wunsch, 1970, 前記)を用いて決定される。使用されるパラメータは、ギャップオープンペナルティーが10、ギャップエクステンションペナルティーが0.5およびEDNAFULL(NCBI NUC4.4のEMBOSSバージョン)置換マトリックスである。(-nobriefオプションを用いて得られる)「最大同一性」と呼ばれるNeedleの出力値が同一率(%)として使用され、これは以下のようにして計算される:(同一のデオキシリボヌクレオチド × 100) / (アラインメントの長さ - アラインメント中のギャップの総数)。

20

**【0031】**

CDR変種の配列は、ほぼ保存的な置換を通じて親抗体配列のCDRの配列と異なり得、例えば変種における置換の少なくとも約35%、約50%またはそれ以上、約60%またはそれ以上、約70%またはそれ以上、約75%またはそれ以上、約80%またはそれ以上、約85%またはそれ以上、約90%またはそれ以上、約95%またはそれ以上、例えば約96%、97%または98%または99%が保存的アミノ酸残基置換である。

30

**【0032】**

CDR変種の配列は、ほぼ保存的な置換を通じて親抗体配列のCDRの配列と異なり得、例えば変種における置換の少なくとも10個、例えば少なくとも9、8、7、6、5、4、3、2または1個が保存的アミノ酸残基置換である。

**【0033】**

本発明との関係で、保存的置換は、以下の3つの表の1つまたは複数に表されるアミノ酸のクラスの中での置換によって定義され得る。

保存的置換のアミノ酸残基クラス

40

酸性残基	Asp (D) および Glu (E)
塩基性残基	Lys (K), Arg (R), および His (H)
親水性非荷電残基	Ser (S), Thr (T), Asn (N), および Gln (Q)
脂肪族非荷電残基	Gly (G), Ala (A), Val (V), Leu (L), および Ile (I)
非極性非荷電残基	Cys (C), Met (M), および Pro (P)
芳香族残基	Phe (F), Tyr (Y), および Trp (W)

10

## 別の保存的アミノ酸残基置換クラス

1	A	S	T
2	D	E	
3	N	Q	
4	R	K	
5	I	L	M
6	F	Y	W

20

## アミノ酸残基の別の物理的および機能的分類

アルコール基含有残基	S および T
脂肪族残基	I, L, V, および M
シクロアルケニル関連残基	F, H, W, および Y
疎水性残基	A, C, F, G, H, I, L, M, R, T, V, W, および Y
負荷電残基	D および E
極性残基	C, D, E, H, K, N, Q, R, S, および T
正荷電残基	H, K, および R
小残基	A, C, D, G, N, P, S, T, および V
極小残基	A, G, および S
ターン形成関連残基	A, C, D, E, G, H, K, N, Q, R, S, P, および T
フレキシブル残基	Q, T, K, S, G, P, D, E, および R

30

40

## 【 0 0 3 4 】

さらなる保存的置換のグループ分けは、バリン・ロイシン・イソロイシン、フェニルアラニン・チロシン、リジン・アルギニン、アラニン・バリンおよびアスパラギン・グルタミンを含む。さらなるアミノ酸グループもまた、例えば、Creighton (1984) Proteins: Structure and Molecular Properties (2nd Ed. 1993), W.H. Freeman and Companyに記載される原理を用いて設計され得る。

## 【 0 0 3 5 】

本発明の1つの態様において、ヒドロパシー / 親水性の特性および残基の重量 / サイズ

50

の点での保存もまた、実施例の抗体のCDRとの比較で変種CDRにおいて実質的に保持される（例えば、それらの配列の重量クラス、ヒドロパシースコアまたはその両方が少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%またはそれ以上（例えば、約99%）保持される）。例えば、保存的残基置換はまた、またはあるいは、当技術分野で公知の強弱ベースの重量ベースの保存グループの置換に基づき得る。

【0036】

類似残基の保持はまた、またはあるいは、BLASTプログラム（例えば、標準設定であるB LOSUM62、オープンギャップ=11およびエクステンデッドギャップ=1を用いるNCBIを通じて入手可能なBLAST 2.2.8）の使用によって決定される類似性スコアによって測定され得る。10  
適当な変種は、典型的に、親ペプチドに対して少なくとも約45%、例えば少なくとも約55%、少なくとも約65%、少なくとも約75%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%またはそれ以上（例えば、約99%）の類似性を示す。

【0037】

本明細書で使用される場合、「アイソタイプ」は、重鎖定常領域遺伝子によってコードされる免疫グロブリンクラス（例えば、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgD、IgA、IgEまたはIgM）を表す。

【0038】

「エピトープ」という用語は、抗体への特異的結合を可能にするタンパク質決定基を意味する。エピトープは通常、表面分子群、例えばアミノ酸または糖側鎖からなり、そして20  
通常、特定の三次元構造的特徴および特定の電荷的特徴を有する。立体構造的および非立体構造的エピトープは、変性溶媒の存在下で前者への結合が失われるが後者への結合は失われない点で区別される。エピトープは、結合に直接関与するアミノ酸残基（エピトープの免疫優勢要素とも呼ばれる）および結合に直接関与しない他のアミノ酸残基、例えば特異的抗原結合ペプチドによって効果的にブロックされるアミノ酸残基を含み得る（換言すると、そのアミノ酸残基は特異的抗原結合ペプチドのフットプリントの中にある）。

【0039】

「治療」は、症状または疾患状態を緩和、改善、停止、または根絶（治癒）する目的での有効量の本発明の治療活性化化合物の投与を表す。

【0040】

「有効量」または「治療有効量」は、投薬の際におよび必要な期間、所望の治療結果を達成するために効果的な量を表す。抗TF抗体薬物コンジュゲートの治療有効量は、個体の疾患状態、年齢、性別および体重ならびに個体において所望の応答を誘発する抗TF抗体薬物コンジュゲートの能力等の要因にしたがい変化し得る。治療有効量はまた、抗体または抗体部分の任意の毒性または有害効果を治療的に有益な効果が上回る量である。30

【0041】

本発明の具体的態様

本発明は、少なくとも部分的に、抗TF ADCの特定の水性組成物が、凍結乾燥された場合に、抗TF ADCの薬学的目的および治療適用に適した安定な凍結乾燥製剤を提供するという発見に基いている。本明細書に開示される製剤はまた、界面活性剤、例えばポリソルベート20および80、無機塩、例えばNaClを排除するという選択肢を提供する。40

【0042】

薬学的組成物の保存可能期間の間の効能および安全性の確保のために、組成物は安全性試験に供される。典型的に、安全性試験は、組成物の同一性、純度および効能に関する試験を含むがこれらに限定されない。安定性は、意図されている保存温度および高い温度または温度群の両方で試験される。純度試験は、SDS-PAGE、CE-SDS、等電点電気泳動、免疫電気泳動、ウェスタンブロット、逆相クロマトグラフィー、サイズ排除クロマトグラフィー（SEC）、イオン交換および親和性クロマトグラフィーを含み得るがこれらに限定されない。他の試験は、外観、例えば色および透明性、粒子性、pH、含水量および再構成時間を含み得るがこれらに限定されない。50

## 【0043】

安定性タイムコース中の、特に純度および効能に関する分解プロフィールが、医薬品の組成および/または処方に緊密に関係する。特に、処方 of 適切な選択は、分解プロフィールを大きく変化させ得る。界面活性剤、例えばポリソルベート20は、多くの場合、保存可能期間を制限する分解産物の形成を減らすために薬学的組成物に添加される。モノクローナル抗体およびモノクローナル抗体から得られるコンジュゲート薬物製品の典型的な分解プロフィールは、共有結合性および非共有結合性高分子量凝集物、フラグメント、脱アミドおよび酸化産物の形成を含む。特に、脱アミドおよび酸化産物ならびに他の酸性種が、通常、安定性試験のタイムコースの中で生じる。いくつかの例において、酸性種が、薬学的組成物の許容される保存可能期間を制限する。例えば脱アミドに起因する酸性種の形成は、例えば画像化キャピラリー等電点電気泳動 (icIEF) によって試験され得る。他の例において、高分子量凝集物の形成が、薬学的組成物の許容される保存可能期間を制限する。凝集物の形成は、例えばSEC (サイズ排除クロマトグラフィー)、DLS、MFI、SDS-PAGE またはCE-SDSによって試験され得る。

10

## 【0044】

例えば、薬学的に許容される安定性の本発明の抗TF ADC製剤は、約 $5 \pm 3$  または $25 \pm 2$  の温度で少なくとも約3ヶ月、好ましくは約6ヶ月および最も好ましくは約12ヶ月またはそれ以上、例えば18ヶ月またはそれ以上、例えば少なくとも24もしくは36ヶ月という期間保存したとき、凝集物の比率が、例えば実施例10にしたがうSEC分析を用いて決定した場合に約10%未満、好ましくは約5%未満、より好ましくは約2%未満であるものであり得る。さらにまたはあるいは、本発明の安定な抗TF ADC製剤は、約 $5 \pm 3$  または $25 \pm 2$  の温度で少なくとも約3ヶ月、好ましくは約6ヶ月および最も好ましくは約12ヶ月またはそれ以上の期間保存したとき、主たるアイソフォームの変化が、例えば実施例10にしたがうicIEF分析を用いて決定した場合に15%未満、好ましくは10%未満、より好ましくは8%未満、最も好ましくは5%未満であるものであり得る。

20

## 【0045】

したがって本発明は、各々が特定の態様を表す、以下の例示的かつ非限定的な抗TF ADCの凍結乾燥製剤を提供する：

抗組織因子 (TF) 抗体 - 薬物コンジュゲート (ADC) の凍結乾燥製剤であって、該凍結乾燥製剤は抗TF ADCおよび薬学的に許容される賦形剤を含む水性製剤を凍結乾燥することによって入手可能または入手されたものであり、該製剤は界面活性剤を含まない、凍結乾燥製剤。

30

## 【0046】

1つの態様において、薬学的に許容される賦形剤は、

- (a) 凍結乾燥工程の間のpHの変動を、pHが5~7で維持されるように制限するバッファ
  - ー、
  - (b) 固体状態で抗TF ADCと非晶質相を形成する少なくとも1つの非還元糖、および
  - (c) 少なくとも1つのバルク剤
- を含む。

40

## 【0047】

別の態様において、本発明は、約5 g/L ~ 約30 g/Lの抗TF ADCならびに約5 ~ 約7、任意で約5.5 ~ 約6.5のpHを有する約20 ~ 約50 mMのヒスチジンバッファ、約10 ~ 約250 mMのスクロースまたはトレハロースおよび約50 mM ~ 約300 mMのマニトールまたはグリシンを含む薬学的に許容される賦形剤を含む水性製剤を凍結乾燥することによって調製される凍結乾燥製剤に関する。

## 【0048】

別の態様において、本発明は、約7 g/L ~ 約20 g/Lの抗TF ADCならびに約5 ~ 約7、任意で約5.5 ~ 約6.5のpHを有する約20 ~ 約50 mMのヒスチジンバッファ、約10 ~ 約250 mMのスクロースまたはトレハロースおよび約50 mM ~ 約300 mMのマニトールまたはグリシンを含む薬学的に許容される賦形剤を含む水性製剤を凍結乾燥することによって調製される

50

凍結乾燥製剤に関する。

【0049】

別の態様において、本発明は、約5 g/L～約30 g/Lの抗TF ADCならびに約5～約7、任意で約5.5～約6.5のpHを有する約25～約40 mM、例えば約29～約31 mMのヒスチジンバッファー、約10～約250 mMのスクロースまたはトレハロースおよび約50 mM～約300 mMのマンニトールまたはグリシンを含む薬学的に許容される賦形剤を含む水性製剤を凍結乾燥することによって調製される凍結乾燥製剤に関する。

【0050】

別の態様において、本発明は、約5 g/L～約30 g/Lの抗TF ADCならびに約5～約7、任意で約5.5～約6.5のpHを有する約20～約50 mMのヒスチジンバッファー、約50～約225 mMのスクロースまたはトレハロース、例えば約84～約165 mMのスクロースまたはトレハロースおよび約50 mM～約300 mMのマンニトールまたはグリシンを含む薬学的に許容される賦形剤を含む水性製剤を凍結乾燥することによって調製される凍結乾燥製剤に関する。

10

【0051】

別の態様において、本発明は、約5 g/L～約30 g/Lの抗TF ADCならびに約5～約7、任意で約5.5～約6.5のpHを有する約20～約50 mMのヒスチジンバッファー、約10～約250 mMのスクロースまたはトレハロースおよび約100 mM～約274 mM、例えば約158～約274、例えば約158～約172 mMのマンニトールまたはグリシンを含む薬学的に許容される賦形剤を含む水性製剤を凍結乾燥することによって調製される凍結乾燥製剤に関する。

【0052】

別の態様において、本発明は、約5 g/L～約30 g/Lの抗TF ADCならびに約5.5～約6.5のpHを有する約20～約50 mMのヒスチジンバッファー、約50～約225 mMのスクロースまたはトレハロースおよび約100 mM～約274 mMのマンニトールまたはグリシンを含む薬学的に許容される賦形剤を含む水性製剤を凍結乾燥することによって調製される凍結乾燥製剤に関する。

20

【0053】

別の態様において、本発明は、約5 g/L～約30 g/Lの抗TF ADCならびに約5～約7、任意で約5.5～約6.5のpHを有する約20～約50 mMのヒスチジンバッファー、約84～約165 mMのスクロースまたはトレハロースおよび約100～約274 mMのマンニトールまたはグリシンを含む薬学的に許容される賦形剤を含む水性製剤を凍結乾燥することによって調製される凍結乾燥製剤に関する。

30

【0054】

別の態様において、本発明は、約5 g/L～約30 g/Lの抗TF ADCならびに約5.5～約6.5のpHを有する約20～約50 mMのヒスチジンバッファー、約84～約146 mMのスクロースおよび約158 mM～約274 mMのマンニトールを含む薬学的に許容される賦形剤を含む水性製剤を凍結乾燥することによって調製される凍結乾燥製剤に関する。

【0055】

別の態様において、本発明は、約5 g/L～約30 g/Lの抗TF ADCならびに約5.5～約6.5のpHを有する約25～約40 mMのヒスチジンバッファー、約84～約92 mMのスクロースおよび約158 mM～約274 mMのマンニトールを含む薬学的に許容される賦形剤を含む水性製剤を凍結乾燥することによって調製される凍結乾燥製剤に関する。

40

【0056】

別の態様において、本発明は、約7 g/L～約20 g/Lの抗TF ADCならびに約5.5～約6.5のpHを有する約25～約40 mMのヒスチジンバッファー、約84～約92 mMのスクロースおよび約100 mM～約274 mMのマンニトールまたはグリシンを含む薬学的に許容される賦形剤を含む水性製剤を凍結乾燥することによって調製される凍結乾燥製剤に関する。

【0057】

別の態様において、本発明は、約7 g/L～約20 g/L、例えば約9～約11 g/Lの抗TF ADCならびに約5.5～約6.5のpHを有する約25～約40 mMのヒスチジンバッファー、約84～約92 mMのスクロースまたはトレハロースおよび約158～約172 mMのマンニトールまたはグリシン

50

を含む薬学的に許容される賦形剤を含む水性製剤を凍結乾燥することによって調製される凍結乾燥製剤に関する。

【0058】

別の態様において、本発明は、約9～約11 g/Lの抗TF ADCならびに約5.5～約6.5のpHを有する約29～約31 mMのヒスチジンバッファー、約84～約92 mMのスクロースおよび約158～約172 mMのマンニトールまたはグリシンを含む薬学的に許容される賦形剤を含む水性製剤を凍結乾燥することによって調製される凍結乾燥製剤に関する。

【0059】

別の態様において、本発明は、約9～約11 g/L、例えば約10 mg/mLの抗TF ADCならびに約6のpHを有する約30 mMのヒスチジンバッファー、約88 mMのスクロースおよび約165 mMのマンニトールまたはグリシンを含む薬学的に許容される賦形剤を含む水性製剤を凍結乾燥することによって調製される凍結乾燥製剤に関する。

10

【0060】

別の態様において、本発明は、約10 mg/mLの抗TF ADCならびに約6のpHを有する約25～約40 mMのヒスチジンバッファー、例えば30～35 mM、例えば約30 mMのヒスチジンバッファー、約88 mMのスクロースおよび約165 mMのマンニトールを含む薬学的に許容される賦形剤を含む水性製剤を凍結乾燥することによって調製される凍結乾燥製剤に関する。

【0061】

別の態様において、本発明は、約9～約11 g/Lの抗TF ADC、例えば約10 mg/mLの抗TF ADC、ここで抗TF ADCはプロテアーゼにより切断可能なパリンシトルリンリンカーを介して薬物モノメチルアウリスタチンEにコンジュゲートされた(vcMMAEにコンジュゲートされた)TFに対するヒトモノクローナルIgG1、抗体011から構成されるADCであるHuMax TF ADC(IgG1、vcMMAE)である、ならびに約6のpHを有する約30 mMのヒスチジンバッファー、約88 mMのスクロースおよび約165 mMのマンニトールまたはグリシンを含む薬学的に許容される賦形剤を含む水性製剤を凍結乾燥することによって調製される凍結乾燥製剤に関する。

20

【0062】

個別の具体的な態様において、製剤は、界面活性剤を本質的に含まない。

【0063】

本発明のさらに別の局面において、製剤は、界面活性剤を含まない。

30

【0064】

別の態様において、本発明は、抗TF ADCの凍結乾燥製剤であって、凍結乾燥製剤は、凍結乾燥工程の間のpHの変動を制限するバッファー、固体状態で抗TF ADCと非晶質相を形成する少なくとも1つの非還元糖、および少なくとも1つのバルク剤を含む薬学的に許容される賦形剤を含む薬学的に許容される賦形剤を含む水性製剤を凍結乾燥することによって調製され、抗TF ADCはmcMMAF、mcMMAE、vcMMAF、およびvcMMAEから選択される薬物-リンカーを含み、抗TF抗体は、SEQ ID NO: 5のアミノ酸配列を含むVH領域およびSEQ ID NO: 45のアミノ酸配列を含むVL領域、SEQ ID NO: 33のアミノ酸配列を含むVH領域およびSEQ ID NO: 73のアミノ酸配列を含むVL領域、SEQ ID NO: 37のアミノ酸配列を含むVH領域およびSEQ ID NO: 77のアミノ酸配列を含むVL領域、またはSEQ ID NO: 1のアミノ酸配列を含むVH領域およびSEQ ID NO: 41のアミノ酸配列を含むVL領域、からなる群より選択されるVHおよびVL領域を含み、任意で凍結乾燥製剤はいかなる界面活性剤も本質的に含まない、凍結乾燥製剤に関する。

40

【0065】

個別の具体的な態様において、上記態様のいずれか一つのADCの抗体部分は、VHおよびVL CDR、任意でヒト抗TF抗体011のVH (SEQ ID NO: 5) およびVL (SEQ ID NO: 45) 配列、ならびにmcMMAE、vcMMAE、vcMMAF、またはmcMMAFである薬物-リンカーを含む。

【0066】

個別の具体的な態様において、上記態様のいずれか一つのADCの抗体部分は、VHおよびVL CDR、任意でヒト抗TF抗体098のVH (SEQ ID NO: 33) およびVL (SEQ ID NO: 73) 配列、

50



ならびにmcMMAE、vcMMAE、vcMMAF、またはmcMMAFである薬物 - リンカーを含む。

【0067】

個別の具体的な態様において、上記態様のいずれか一つのADCの抗体部分は、VHおよびVL CDR、任意でヒト抗TF抗体111のVH (SEQ ID NO: 37) およびVL (SEQ ID NO: 77) 配列、ならびにmcMMAE、vcMMAE、vcMMAF、またはmcMMAFである薬物 - リンカーを含む。

【0068】

他の個別の具体的な態様において、本発明は、いかなるポリソルベートも本質的に含まない、任意でいかなる界面活性剤も本質的に含まない、上記態様のいずれか一つの凍結乾燥剤を提供する。

【0069】

本発明はまた、抗TF抗体薬物コンジュゲート、ヒスチジン、クエン酸およびトリスから選択される緩衝剤、スクロース、トレハロース、およびそれらの組み合わせから選択される非還元糖、ならびにマンニトールおよびグリシンから選択されるバルク剤から本質的になる凍結乾燥剤を提供する。1つの態様において、抗TF抗体は、SEQ ID NO: 5のアミノ酸配列を含むVH領域およびSEQ ID NO: 45のアミノ酸配列を含むVL領域、SEQ ID NO: 33のアミノ酸配列を含むVH領域およびSEQ ID NO: 73のアミノ酸配列を含むVL領域、SEQ ID NO: 37のアミノ酸配列を含むVH領域およびSEQ ID NO: 77のアミノ酸配列を含むVL領域、またはSEQ ID NO: 1のアミノ酸配列を含むVH領域およびSEQ ID NO: 41のアミノ酸配列を含むVL領域からなる群より選択されるVHおよびVL配列の、VHおよびVL CDR領域、任意でVHおよびVL配列を含む。1つの態様において、抗TF ADCは、SEQ ID NO: 5および45の、それぞれ、VHおよびVL CDRを含む。1つの態様において、抗TF ADCは、SEQ ID NO: 33および73の、それぞれ、VHおよびVL CDRを含む。1つの態様において、抗TF ADCは、SEQ ID NO: 37および77の、それぞれ、VHおよびVL CDRを含む。

【0070】

上記態様のいずれか一つの一つの具体的な態様において、上記態様のいずれか一つの凍結乾燥剤は、マンニトールおよびスクロースを含み、スクロースに対するマンニトールの重量比は少なくとも約1、例えば約1~約30、例えば1~約10、例えば約1~約2、例えば約1である。

【0071】

上記態様のいずれか一つの一つの具体的な態様において、上記態様のいずれか一つの凍結乾燥剤は、マンニトールおよびトレハロースを含み、トレハロースに対するマンニトールの重量比は少なくとも約1、例えば約1~約30、例えば1~約10、例えば約1~約2、例えば約1である。

【0072】

上記態様のいずれか一つの一つの具体的な態様において、上記態様のいずれか一つの凍結乾燥剤は、マンニトールおよびスクロースを含み、スクロースに対するマンニトールの重量比は約1~約10であり、ADCに対するマンニトールの重量比は少なくとも約3、例えば3~30である。

【0073】

本発明はまた、約9~約11 g/Lの抗TF ADCならびに約30 mMのヒスチジン、約88 mMのスクロースおよび約165 mMのマンニトールを含む、任意でそれらからなる、水性製剤を凍結乾燥することによって入手可能な凍結乾燥剤を提供する。

【0074】

本発明はまた、

- a. 任意で抗TF抗体011のVHおよびVL CDRまたはVHおよびVL配列を含む、約7~約20 g/Lの抗TF ADC、
- b. 約28~34 mMのヒスチジン、
- c. 約84~約146 mMのスクロース、
- d. 約158~約274 mMのマンニトール、または
- e. (a)と(b)~(d)のいずれか2つ、3つもしくはすべての組み合わせ

10

20

30

40

50

を含む、抗TF ADCの凍結乾燥製剤を調製するのに適した水溶液を提供する。

【0075】

本発明はまた、界面活性剤を含まず、

- a. 任意で抗TF抗体011のVHおよびVL CDRまたはVHおよびVL配列を含む、約7～約20 g/Lの抗TF ADC、
- b. 約28～34 mMのヒスチジン、
- c. 約84～約146 mMのスクロース、
- d. 約158～約274 mMのマニトール、または
- e. (a)と(b)～(d)のいずれか2つ、3つもしくはすべての組み合わせ

を含む、抗TF ADCの凍結乾燥製剤を調製するのに適した水溶液を提供する。

10

【0076】

本発明はまた、

- a. 任意で抗TF抗体011のVHおよびVL CDRまたはVHおよびVL配列を含む、約7～約20 g/Lの抗TF ADC、
- b. 約28～34 mMのヒスチジン、
- c. 約84～約146 mMのスクロース、
- d. 約158～約274 mMのマニトール、または
- e. (a)と(b)～(d)のいずれか2つ、3つもしくはすべての組み合わせ

からなる、抗TF ADCの凍結乾燥製剤を調製するのに適した水溶液を提供する。

20

【0077】

本発明はまた、上記の局面または態様のいずれか一つの凍結乾燥製剤を滅菌水性希釈剤中で再構成することによって得られる薬学的に許容される液体製剤を提供する。例えば、そのような液体製剤は、約5 g/L～約30 g/Lの抗TF ADC、約5～約7のpHを有する約20～約30 mMのヒスチジン、約10～約250 mMのスクロースまたはトレハロースおよび約50 mM～約300 mMのマニトールまたはグリシンを含み得るまたはそれらから本質的になり得る。一つの態様において、液体製剤は、約9～約11 mg/mLの抗TF ADC、約28～約34 mMのヒスチジン、約84～約92 mMのスクロースおよび約158～約274 mMのマニトールを含むまたはそれらから本質的になる。

【0078】

抗TF ADCの凍結乾燥製剤は、抗体がSEQ ID NO: 5のアミノ酸配列を含むVH領域およびSEQ ID NO: 45のアミノ酸配列を含むVL領域、SEQ ID NO: 33のアミノ酸配列を含むVH領域およびSEQ ID NO: 73のアミノ酸配列を含むVL領域、SEQ ID NO: 37のアミノ酸配列を含むVH領域およびSEQ ID NO: 77のアミノ酸配列を含むVL領域、またはSEQ ID NO: 1のアミノ酸配列を含むVH領域およびSEQ ID NO: 41のアミノ酸配列を含むVL領域を含み、薬物がMMAFまたはMMAE、例えばvcMMAEであるリンカー-薬物である、約9 g/L～約11 g/Lの抗TF ADCならびに約5.5～約6.5のpHを有する約30 mMのヒスチジンバッファー、約88 mMのスクロースおよび約165 mMのマニトールを含む薬学的に許容される賦形剤を含む水性製剤を凍結乾燥することによって調製され得る。

30

【0079】

別の態様において、本発明の凍結乾燥製剤は、3.0 wt.%未満の水分を含む。別の態様において、本発明の凍結乾燥製剤は、2.0 wt.%未満の水分を含む。別の態様において、本発明の凍結乾燥製剤は、1.0 wt.%未満の水分を含む。別の態様において、本発明の凍結乾燥製剤は、0.5 wt.%未満の水分を含む。

40

【0080】

別の好ましい局面において、上記の好ましい製剤のいずれか一つは、厳密な量のそれに含まれる一つもしくは複数の成分および/または厳密なpH値を有する。換言すると、「約」という用語の一つまたは複数が、本発明のこの他の好ましい局面において取り除かれる。

【0081】

抗体薬物コンジュゲート

50

本明細書に記載されるように、本発明の製剤は、例えば、抗TF-ADCに適している。

【0082】

1つの態様において、本発明の凍結乾燥製剤は、タキソール；サイトカラシンB；グラミシジンD；臭化エチジウム；エメチン；マイトマイシン；エトポシド；テノポシド；ピンクリスチン；ピンラスチン；コルヒチン；ドキシソルピシン；ダウノルピシン；ジヒドロキアントラシンジオン；チューブリン阻害剤、例えばメイタンシンまたはそのアナログもしくは誘導体；ミトキサントロン；ミトラマイシン；アクチノマイシンD；1-デヒドロテストステロン；グルココルチコイド；プロカイン；テトラカイン；リドカイン；プロプラノロール；ピューロマイシン；カリケアマイシンまたはそのアナログもしくは誘導体、代謝拮抗物質、例えばメトトレキサート、6メルカプトプリン、6チオグアニン、シタラビン、フルダラビン、5フルオロウラシル、デカルバジン、ヒドロキシ尿素、アスパラギナーゼ、ゲムシタピンまたはクラドリピン；アルキル化剤、例えばメクロレタミン、チオテパ(thioepa)、クロラムブシル、メルファラン、カルムスチン(BSNU)、ロムスチン(CNU)、シクロホスファミド、プスルファン、ジプロモマンニトール、ストレプトゾトシン、デカルバジン(DTIC)、プロカルバジン、マイトマイシンC、シスプラチン、カルボプラチン、デュオカルマイシンA、デュオカルマイシンSA、ラケルマイシン(rachelmycin)(CC-1065)またはそのアナログもしくは誘導体；ピロロ[2,1-c][1,4]ベンゾジアゼピン(PDB)またはそのアナログ；抗生物質、例えばダクチノマイシン、プレオマイシン、ダウノルピシン、ドキシソルピシン、イダルピシン、ミトラマイシン、マイトマイシン、ミトキサントロン、プリカマイシン、アントラマイシン(AMC)；ジフテリア毒素および関連分子、例えばジフテリアA鎖ならびにその活性フラグメントおよびハイブリッド分子、リシン毒素、例えばリシンAまたは脱グリコシル化リシンA鎖毒素、コレラ毒素、志賀様毒素、例えばSLT I、SLT II、SLT IIV、LT毒素、C3毒素、志賀毒素、百日咳毒素、破傷風毒素、大豆ボウマン・パークプロテアーゼ阻害物質、緑膿菌外毒素、アロリン、サボリン、モデシン、ゲラニン、アプリンA鎖、モデシンA鎖、アルファ・サルシン、シナアブラギリ(Aleurites fordii)タンパク質、ジアンチンタンパク質、アメリカヤマゴボウ(Phytolacca americana)タンパク質、例えばPAPI、PAPIIおよびPAP S、ニガウリ(momordica charantia)阻害物質、クルシン、クロチン、サボンソウ(sapaonaria officinalis)阻害物質、ゲロニン、ミトゲリン(mitogellin)、レストリクトシン、フェノマイシンおよびエノマイシン毒素；リボヌクレアーゼ(RNase)；DNase I、ブドウ球菌エンテロトキシンA；ヨウシュヤマゴボウ抗ウイルスタンパク質；ジフテリン(diphtherin)毒素；ならびに緑膿菌内毒素からなる群より選択される治療剤部分にコンジュゲートされた抗TF ADCを含む。

【0083】

1つの態様において、抗体は、ドラスタチン、メイタンシン、カリケアマイシン、デュオカルマイシン、ラケルマイシン(CC-1065)またはそれらのいずれかのアナログ、誘導体もしくはプロドラッグからなる群より選択される薬物である細胞傷害剤または細胞増殖抑制剤部分にコンジュゲートされる。

【0084】

1つの態様において、抗体は、チューブリン阻害剤、DNA相互作用化合物および/またはキナーゼ阻害剤である治療剤、細胞増殖抑制剤および/または細胞傷害剤部分にコンジュゲートされる。1つの態様において、抗体は、疎水性化合物、例えば疎水性チューブリン阻害剤、好ましくはアウリスタチン、より好ましくはMMAEまたはMMAF、最も好ましくはMMAEにコンジュゲートされる。

【0085】

薬物充填量(または抗体分子あたりの細胞増殖抑制性または細胞傷害性薬物の平均数)は典型的に1~約8である、例えばpは3~6、例えば4~6もしくは3~5であり得、またはpは1、2、3、4、5、6、7もしくは8、例えば3、4もしくは5、例えば4であり得る。

【0086】

本発明の製剤において使用されるADCは典型的に、細胞増殖抑制性または細胞傷害性薬

物単位と抗体単位の間にはリンカー単位を含む。

【0087】

いくつかの態様において、リンカーは、細胞内環境でリンカーの切断により薬物単位が抗体から放出されるよう、細胞内条件下で切断可能なものである。さらに別の態様において、リンカー単位は切断可能でなく、薬物は例えば抗体の分解によって放出される。いくつかの態様において、リンカーは、細胞内環境（例えば、リソソームまたはエンドソームまたはカベオラ内）に存在する切断作用物質によって切断可能である。リンカーは、例えば、リソソームまたはエンドソームプロテアーゼを含むがこれらに限定されない細胞内ペプチダーゼまたはプロテアーゼ酵素によって切断されるペプチジルリンカーであり得る。いくつかの態様において、ペプチジルリンカーは、少なくとも2アミノ酸長または少なくとも3アミノ酸長である。切断作用物質は、カテプシンBおよびDならびにプラスミンを含み得、これらはすべて、ジペプチド薬物誘導体を加水分解し標的細胞内で活性薬物を放出させることが公知である（例えば、Dubowchik and Walker, 1999, Pharm. Therapeutics 83:67-123を参照のこと）。特定の態様において、細胞内プロテアーゼによって切断可能なペプチジルリンカーは、Val-Cit（バリン-シトルリン）リンカーまたはPhe-Lys（フェニルアラニン-リジン）リンカーである（例えば、Val-Citリンカーを用いたドキシソルピシンの合成およびPhe-Lysリンカーの異なる例を記載するUS6214345を参照のこと）。Val-CitおよびPhe-Lysリンカーの構造の例は、以下に記載されるMC-vc-PAB、MC-vc-GABA、MC-Phe-Lys-PABまたはMC-Phe-Lys-GABAを含むがこれらに限定されず、ここで、MCはマレイミドカプロイルの略記であり、vcはVal-Citの略記であり、PABはp-アミノベンジルカルバメートの略記であり、GABAはγ-アミノ酪酸の略記である。治療剤の細胞内タンパク質分解放出を使用する利点は、薬剤がコンジュゲートされている間典型的に弱毒化されていることおよびコンジュゲートの血清安定性が典型的に高いことである。

10

20

【0088】

いくつかの態様において、リンカー単位は切断可能でなく、薬物は抗体の分解によって放出される（US 2005/0238649を参照のこと）。典型的に、そのようなリンカーは、細胞外環境に対して実質的に感受性でない。

【0089】

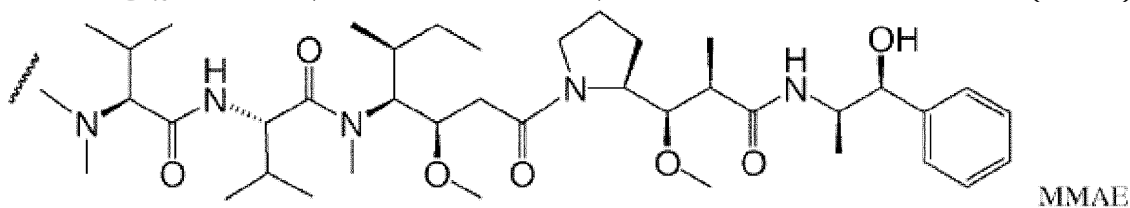
好ましい態様において、抗体は、ドラスタチン誘導体、例えばアウリスタチンにコンジュゲートされる。アウリスタチンまたはアウリスタチンペプチドアナログおよび誘導体は、例えばそれらの全体が参照により本明細書に組み入れられるUS5635483; US5780588; US5663149に記載されるように、微小管のダイナミクス、GTPの加水分解ならびに核および細胞の分裂と干渉し、抗癌および抗真菌活性を有することが示されている。アウリスタチン薬物部分は典型的に、ペプチド薬物部分のN（アミノ）末端またはC（末端）を介して、リンカーを介して抗体に付加される。例示的なアウリスタチンの態様は、Senter et al., Proceedings of the American Association for Cancer Research, Volume 45, abstract number 623, presented March 28, 2004に開示されるおよびUS 2005/0238649に記載されるN末端連結モノメチルアウリスタチン薬物部分DEおよびDFを含む。

30

【0090】

1つの態様において、アウリスタチンは、モノメチルアウリスタチンE（MMAE）：

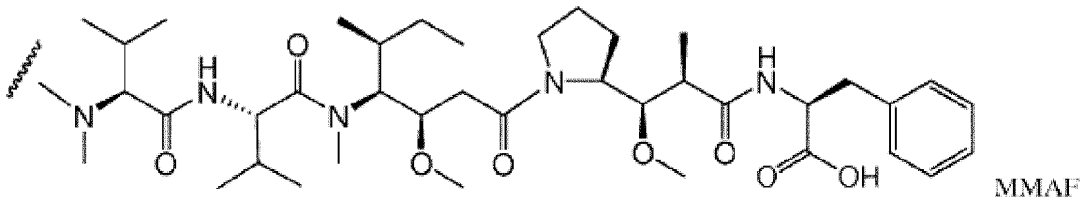
40



であり、式中、波線はリンカーの付加部位を示している。

【0091】

1つの態様において、アウリスタチンは、モノメチルアウリスタチンF（MMAF）：



であり、式中、波線はリンカーの付加部位を示している。

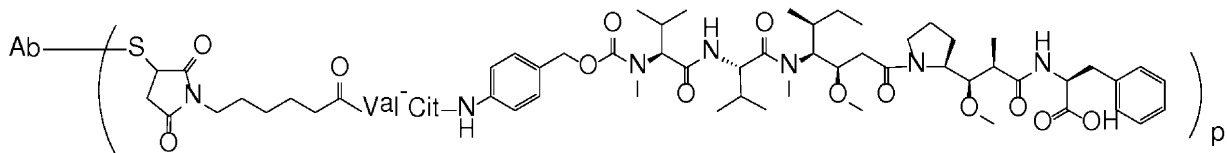
【0092】

1つの態様において、リンカーは、抗体の（部分）還元によって得られる、抗体、例えば抗TF抗体のスルフヒドリル基に付加される。

10

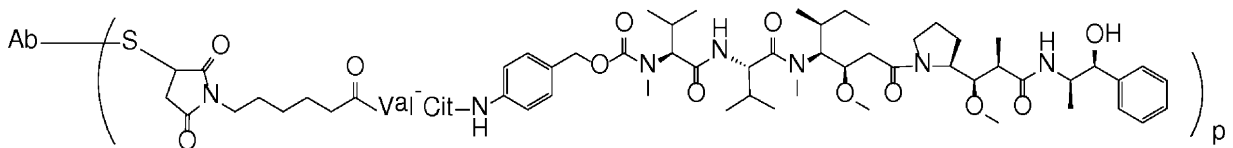
【0093】

1つの態様において、リンカー - アウリスタチンは、MC-vc-PAB-MMAF（vcMMAFとも称される）またはMC-vc-PAB-MMAE（vcMMAEとも称される）：



Ab-MC-vc-PAB-MMAF (Ab-vcMMAF)

20



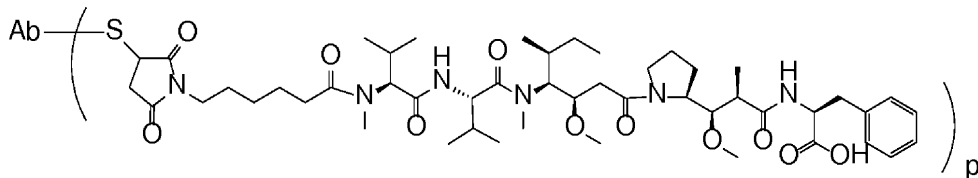
Ab-MC-vc-PAB-MMAE (Ab-vcMMAE)

30

であり、式中、pは1～8の数値を示し、例えばpは3～5であり得、Sは抗体のスルフヒドリル基を表し、Abは抗体を示す。1つの態様において、リンカー - アウリスタチンは、vcMMAEである。

【0094】

1つの態様において、リンカー - コンジュゲートは、mcMMAF（mc/MCはマレイミドカプロイルの略記である）：



40

Ab-MC-MMAF (Ab-mcMMAF)

であり、式中、pは1～8の数値を示し、例えばpは3～5であり得、Sは抗TF抗体のスルフヒドリル基を表し、Abは抗体を示す。

【0095】

概ね任意の抗TF抗体に対して適用可能であるが、本発明のADC製剤に得に適した抗体は、そのVHおよびVL配列が本明細書に提供される（表1および図11を参照のこと）抗TF抗体の任意の1つまたは複数、例えば抗体011、098、114、017-D12、042、092-A09、101、025、109または111、例えば抗体011、098または111、例えば011、と1つまたは複数の物理化

50

学のおよび/または抗原結合特性を共有しているものである。したがって、1つの態様において、関心対象の薬物とコンジュゲートされた場合、得られるADCは、約5~約12、例えば約7~約10、例えば約8.5~約9.5、例えば約8.5~約9.0の範囲内のpIを有し得る。

【0096】

1つの態様において、ADCは、ヒト抗体011と同じエピトープに結合し得、かつ/またはヒト抗体011の1つもしくは複数のCDR配列を含み得、任意でIgG1、形式である。

【0097】

1つの態様において、ADCは、ヒト抗体098と同じエピトープに結合し得、かつ/またはヒト抗体098の1つもしくは複数のCDR配列を含み得、任意でIgG1、形式である。

【0098】

1つの態様において、ADCは、ヒト抗体114と同じエピトープに結合し得、かつ/またはヒト抗体114の1つもしくは複数のCDR配列を含み得、任意でIgG1、形式である。

【0099】

1つの態様において、ADCは、ヒト抗体017-D12と同じエピトープに結合し得、かつ/またはヒト抗体017-D12の1つもしくは複数のCDR配列を含み得、任意でIgG1、形式である。

【0100】

1つの態様において、ADCは、ヒト抗体042と同じエピトープに結合し得、かつ/またはヒト抗体042の1つもしくは複数のCDR配列を含み得、任意でIgG1、形式である。

【0101】

1つの態様において、ADCは、ヒト抗体092-A09と同じエピトープに結合し得、かつ/またはヒト抗体092-A09の1つもしくは複数のCDR配列を含み得、任意でIgG1、形式である。

【0102】

1つの態様において、ADCは、ヒト抗体101と同じエピトープに結合し得、かつ/またはヒト抗体101の1つもしくは複数のCDR配列を含み得、任意でIgG1、形式である。

【0103】

1つの態様において、ADCは、ヒト抗体025と同じエピトープに結合し得、かつ/またはヒト抗体025の1つもしくは複数のCDR配列を含み得、任意でIgG1、形式である。

【0104】

1つの態様において、ADCは、ヒト抗体109と同じエピトープに結合し得、かつ/またはヒト抗体109の1つもしくは複数のCDR配列を含み得、任意でIgG1、形式である。

【0105】

1つの態様において、ADCは、ヒト抗体111と同じエピトープに結合し得、かつ/またはヒト抗体111の1つもしくは複数のCDR配列を含み得、任意でIgG1、形式である。

【0106】

1つの態様において、抗体は、SEQ ID NO: 33の配列を含むVH領域およびSEQ ID NO: 73の配列を含むVL領域を含む参照抗体、またはSEQ ID NO: 1の配列を含むVH領域およびSEQ ID NO: 41の配列を含むVL領域を含む抗体、またはSEQ ID NO: 5の配列を含むVH領域およびSEQ ID NO: 45の配列を含むVL領域を含む抗体、またはSEQ ID NO: 9の配列を含むVH領域およびSEQ ID NO: 49の配列を含むVL領域を含む抗体、またはSEQ ID NO: 13の配列を含むVH領域およびSEQ ID NO: 53の配列を含むVL領域を含む抗体、またはSEQ ID NO: 17の配列を含むVH領域およびSEQ ID NO: 57の配列を含むVL領域を含む抗体、またはSEQ ID NO: 21の配列を含むVH領域およびSEQ ID NO: 61の配列を含むVL領域を含む抗体、またはSEQ ID NO: 25の配列を含むVH領域およびSEQ ID NO: 65の配列を含むVL領域を含む抗体、またはSEQ ID NO: 29の配列を含むVH領域およびSEQ ID NO: 69の配列を含むVL領域を含む抗体、またはSEQ ID NO: 37の配列を含むVH領域およびSEQ ID NO: 77の配列を含むVL領域を含む抗体と組織因子結合に関して競合する抗TF抗体である。1つの態様において、抗体は、SEQ ID NO: 5の配列を含むVH領域およびSEQ ID NO: 45の配列を含むVL領域を含む参照抗体と組織因子結合に関して競合する抗TF抗体である。

【0107】

1つの態様において、抗TF抗体は、SEQ ID NO: 34、35および36のCDR1、2および3配列を

10

20

30

40

50

含むVH領域ならびにSEQ ID NO: 74、75および76のCDR1、2および3配列を含むVL領域；もしくはSEQ ID NO: 2、3および4のCDR1、2および3配列を含むVH領域ならびにSEQ ID NO: 42、43および44のCDR1、2および3配列を含むVL領域；もしくはSEQ ID NO: 6、7および8のCDR1、2および3配列を含むVH領域ならびにSEQ ID NO: 46、47および48のCDR1、2および3配列を含むVL領域；もしくはSEQ ID NO: 10、11および12のCDR1、2および3配列を含むVH領域ならびにSEQ ID NO: 50、51および52のCDR1、2および3配列を含むVL領域；もしくはSEQ ID NO: 14、15および16のCDR1、2および3配列を含むVH領域ならびにSEQ ID NO: 54、55および56のCDR1、2および3配列を含むVL領域；もしくはSEQ ID NO: 18、19および20のCDR1、2および3配列を含むVH領域ならびにSEQ ID NO: 58、59および60のCDR1、2および3配列を含むVL領域；もしくはSEQ ID NO: 22、23および24のCDR1、2および3配列を含むVH領域ならびにSEQ ID NO: 62、63および64のCDR1、2および3配列を含むVL領域；もしくはSEQ ID NO: 26、27および28のCDR1、2および3配列を含むVH領域ならびにSEQ ID NO: 66、67および68のCDR1、2および3配列を含むVL領域；もしくはSEQ ID NO: 30、31および32のCDR1、2および3配列を含むVH領域ならびにSEQ ID NO: 70、71および72のCDR1、2および3配列を含むVL領域；もしくはSEQ ID NO: 38、39および40のCDR1、2および3配列を含むVH領域ならびにSEQ ID NO: 78、79および80のCDR1、2および3配列を含むVL領域；または好ましくは上記配列中に最大1、2または3つのアミノ酸改変、より好ましくはアミノ酸置換、例えば保存的アミノ酸置換を有する上記抗体のいずれかの変種を含む。1つの態様において、抗TF抗体は、SEQ ID NO: 6、7および8のCDR1、2および3配列を含むVH領域ならびにSEQ ID NO: 46、47および48のCDR1、2および3配列を含むVL領域、または上記配列中に最大1、2または3つのアミノ酸改変、より好ましくはアミノ酸置換、例えば保存的アミノ酸置換を有する変種を含む。

10

20

【0108】

1つの態様において、抗TF抗体は、SEQ ID NO: 33、1、5、9、13、17、21、25、37および29からなる群より選択されるVH領域配列に対して少なくとも80%の同一性、例えば少なくとも90%、少なくとも95%もしくは少なくとも98%または100%の同一性；またはSEQ ID NO: 1、5、9、13、17、21、25、33、37および29からなる群より選択されるVH領域配列との比較で最大20個、例えば15個または10個または5、4、3、2もしくは1個のアミノ酸改変、より好ましくはアミノ酸置換、例えば保存的アミノ酸置換を有するVHを含む。

【0109】

1つの態様において、抗TF抗体は、SEQ ID NO: 41、45、49、53、57、61、65、73、77および69からなる群より選択されるVL領域配列に対して少なくとも80%の同一性、例えば少なくとも90%、少なくとも95%もしくは少なくとも98%または100%の同一性；またはSEQ ID NO: 41、45、49、53、57、61、65、73、77および69からなる群より選択されるVH領域配列との比較で最大20個、例えば15個または10個または5、4、3、2もしくは1個のアミノ酸改変、より好ましくはアミノ酸置換、例えば保存的アミノ酸置換を有するVLを含む。

30

【0110】

個別の具体的な態様において、抗TF抗体は、全長完全ヒトモノクローナルIgG1、抗体である抗TF HuMab 092-A09、抗TF HuMab 101、抗TF HuMab 025、抗TF HuMab 109、抗TF HuMab 017-D12、抗TF HuMab 114、抗TF HuMab 042、抗TF HuMab 011、抗TF HuMab 098、もしくは抗TF HuMab 111、またはそれらのいずれかのVHおよびVL CDRを含む抗体、またはそれらのVHおよびVL配列を含む抗体である。1つの特定の態様において、抗TF抗体は、抗TF HuMab 011、またはそのVH CDR1、2、3およびVL CDR1、2、3配列を含む抗体、またはそのVHおよびVL配列を含む抗体である。1つの特定の態様において、抗TF抗体は、抗TF HuMab 098、またはそのVH CDR1、2、3およびVL CDR1、2、3配列を含む抗体、またはそのVHおよびVL配列を含む抗体である。1つの特定の態様において、抗TF抗体は、抗TF HuMab 111、またはそのVH CDR1、2、3およびVL CDR1、2、3配列を含む抗体、またはそのVHおよびVL配列を含む抗体である。

40

【0111】

表1は、これらの抗体のVH (1A) およびVL (1B) 配列に関する個々の配列識別子 (SEQ I

50

D No) を示している。

【 0 1 1 2 】

【 表 1 A 】

VH 領域	
SEQ ID No: 1	VH 114



SEQ ID No: 2	VH 114, CDR1
SEQ ID No: 3	VH 114, CDR2
SEQ ID No: 4	VH 114, CDR3
SEQ ID No: 5	VH 011
SEQ ID No: 6	VH 011, CDR1
SEQ ID No: 7	VH 011, CDR2
SEQ ID No: 8	VH 011, CDR3
SEQ ID No: 9	VH 017-D12
SEQ ID No: 10	VH 017-D12, CDR1
SEQ ID No: 11	VH 017-D12, CDR2
SEQ ID No: 12	VH 017-D12, CDR3
SEQ ID No: 13	VH 042
SEQ ID No: 14	VH 042, CDR1
SEQ ID No: 15	VH 042, CDR2
SEQ ID No: 16	VH 042, CDR3
SEQ ID No: 17	VH 092-A09
SEQ ID No: 18	VH 092-A09, CDR1
SEQ ID No: 19	VH 092-A09, CDR2
SEQ ID No: 20	VH 092-A09, CDR3
SEQ ID No: 21	VH 101
SEQ ID No: 22	VH 101, CDR1
SEQ ID No: 23	VH 101, CDR2
SEQ ID No: 24	VH 101, CDR3
SEQ ID No: 25	VH 025
SEQ ID No: 26	VH 025, CDR1
SEQ ID No: 27	VH 025, CDR2
SEQ ID No: 28	VH 025, CDR3

10

20

30

40

SEQ ID No: 29	VH 109
SEQ ID No: 30	VH 109, CDR1
SEQ ID No: 31	VH 109, CDR2
SEQ ID No: 32	VH 109, CDR3
SEQ ID No: 33	VH 098
SEQ ID No: 34	VH 098, CDR1
SEQ ID No: 35	VH 098, CDR2
SEQ ID No: 36	VH 098, CDR3
SEQ ID No: 37	VH 111
SEQ ID No: 38	VH 111, CDR1
SEQ ID No: 39	VH 111, CDR2
SEQ ID No: 40	VH 111, CDR3

10

20

【 0 1 1 3 】

【 表 1 B 】

<b>VL領域</b>	
SEQ ID No: 41	VL 114
SEQ ID No: 42	VL 114, CDR1
SEQ ID No: 43	VL 114, CDR2
SEQ ID No: 44	VL 114, CDR3
SEQ ID No: 45	VL 011
SEQ ID No: 46	VL 011, CDR1
SEQ ID No: 47	VL 011, CDR2
SEQ ID No: 48	VL 011, CDR3
SEQ ID No: 49	VL 017-D12
SEQ ID No: 50	VL 017-D12, CDR1
SEQ ID No: 51	VL 017-D12, CDR2

30

40

SEQ ID No: 52	VL 017-D12, CDR3
SEQ ID No: 53	VL 042
SEQ ID No: 54	VL 042, CDR1
SEQ ID No: 55	VL 042, CDR2
SEQ ID No: 56	VL 042, CDR3
SEQ ID No: 57	VL 092-A09
SEQ ID No: 58	VL 092-A09, CDR1
SEQ ID No: 59	VL 092-A09, CDR2
SEQ ID No: 60	VL 092-A09, CDR3
SEQ ID No: 61	VL 101
SEQ ID No: 62	VL 101, CDR1
SEQ ID No: 63	VL 101, CDR2
SEQ ID No: 64	VL 101, CDR3
SEQ ID No: 65	VL 025
SEQ ID No: 66	VL 025, CDR1
SEQ ID No: 67	VL 025, CDR2
SEQ ID No: 68	VL 025, CDR3
SEQ ID No: 69	VL 109
SEQ ID No: 70	VL 109, CDR1
SEQ ID No: 71	VL 109, CDR2
SEQ ID No: 72	VL 109, CDR3
SEQ ID No: 73	VL 098
SEQ ID No: 74	VL 098, CDR1
SEQ ID No: 75	VL 098, CDR2
SEQ ID No: 76	VL 098, CDR3
SEQ ID No: 77	VL 111
SEQ ID No: 78	VL 111, CDR1
SEQ ID No: 79	VL 111, CDR2
SEQ ID No: 80	VL 111, CDR3

10

20

30

40

50

特定の好ましい態様において、ADCは、プロセアーゼにより切断可能なバリンシトルリンリンカーを介して薬物モノメチルアウリスタチンEにコンジュゲートされた（vcMMAEにコンジュゲートされた）TFに対するヒトモノクローナルIgG1、抗体011から構成されるADCであるHuMax TF ADC（IgG1,vcMMAE）である。この抗体の同定および産生は、WO2011157741に記載されている。各モノクローナル抗体（mAb）分子は、平均4個の薬物分子を有している。抗体部分は、およそ147 kDaの分子量を有する。平均で、vcMMAE（分子量1.3 kDa）の4個の分子が各mAb分子に付加され、HuMax TF ADCの全体平均分子量が152 kDaとなる。HuMax TF ADCの等電点は、およそ8.7である。

#### 【0115】

##### 製剤

本発明にしたがい使用される抗体の治療製剤は、所望の純度を有するADCを任意の薬学的に許容される担体、賦形剤または安定化剤（Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)）と混合することによって凍結乾燥製剤または水溶液の形態で保存用に調製される。許容される担体、賦形剤または安定化剤は、使用される用量および濃度でレシピエントに対して非毒性である。

#### 【0116】

概ね、本発明にしたがい凍結乾燥および再構成された製剤は、抗TF ADC、緩衝剤、安定化剤（典型的には非還元糖または糖アルコールまたはアミノ酸）およびバルク剤を含む。好ましい安定化剤は、スクロース、トレハロース、およびそれらの組み合わせである。好ましいバルク剤は、マンニトール、グリシンおよびそれらの組み合わせである。

#### 【0117】

本明細書で使用される「バッファー」という用語は、薬学的に許容されるバッファーを意味する。通常、バッファーは、約5～約7のpH範囲、好ましくは約5.5～6.5、例えばpH約6またはpH約6.0に適したpKaおよび緩衝能を有する。凍結乾燥製剤の場合、バッファー成分は、使用される濃度で、大気温度以下で結晶化しないものであるべきである。より速くより確実な凍結乾燥サイクルが可能となるという理由で、高い崩壊温度を有するバッファーが好ましい。適当な薬学的に許容されるバッファーは、ヒスチジンバッファー、クエン酸バッファー、コハク酸バッファー、炭酸バッファー、リン酸バッファー、グリコール酸バッファー、TRIS（登録商標）（トリス（ヒドロキシメチル）アミノメタン）バッファーおよびそれらの混合物を含むがこれらに限定されない。好ましいバッファーは、L-ヒスチジン、クエン酸（塩）、リン酸（塩）、炭酸、コハク酸（塩）、および/またはグリコール酸（塩）、例えばヒスチジンおよび/またはクエン酸（塩）に基づくものであり、例えばL-ヒスチジンとL-ヒスチジン塩酸塩またはTRIS（登録商標）（トリス（ヒドロキシメチル）アミノメタン）との、混合物も含む。潜在的に、当技術分野で公知の酸または塩基によるpH調整が必要とされ得る。上記のL-ヒスチジン、クエン酸、リン酸、炭酸、コハク酸、および/またはグリコール酸バッファーは、通常、約1 mM～約100 mM、例えば約5～約80 mM、好ましくは約20 mM～約50 mM、より好ましくは約10～約30 mM、さらにより好ましくは約30 mMの量で使用される。リン酸バッファーの濃度は、好ましくは、約1～約30 mMの範囲内である。使用されるバッファーに非依存的に、pHは、当技術分野で公知の酸もしくは塩基を用いる調整によりもしくはバッファー成分の十分な混合物を使用することによりまたは両方により、約5～約7、好ましくは約5.5～約6.5、最も好ましくは約6.0を含む値に調整され得る。好ましくは、バッファーは、約10～約30 mMの濃度のヒスチジンおよび/またはクエン酸バッファー、例えば約30 mMの濃度のヒスチジンバッファーを含む。

#### 【0118】

本発明の製剤はさらに、本明細書中上記で定義される1つまたは複数の薬学的に許容される安定化剤および当技術分野で「溶解保護剤」としても公知の成分、例えば当技術分野で公知の糖、糖アルコール、アミノ糖、アミノ酸およびデキストランを含み得る。典型的に、薬学的に許容される安定化剤は、約1 mM～約500 mMの量で使用され得る。適当な糖は、単糖および二糖を含むがこれらに限定されない。本発明にしたがい使用される糖および糖アルコールの非限定的な例は、トレハロース、スクロース、マンニトール、ソルビトール

10

20

30

40

50

ル、マンノース、マルトース、ガラクトース、フルクトース、ソルボース、ラフィノース、グルコサミン、N-メチルグルコサミン（「メグルミン」とも称される）、ガラクトサミンおよびノイラミン酸ならびにそれらの組み合わせを含む。好ましいのは、約10～約250 mM、例えば約50～225 mM、例えば約84～146、例えば約84～92 mMの濃度の非還元糖および糖アルコール、例えばスクロースまたはトレハロースである。最もこのましいのはスクロースである。

【0119】

1つの態様において、製剤は、84～92 mMのスクロース、例えば85、86、87、88、89、90、91または92 mMのスクロースを含む。最も好ましい製剤は、88 mMのスクロースを含む。

【0120】

特に、糖アルコール、例えばマンニトールはまた、許容される時間内、より具体的には0～600秒内に再構成され得る均質かつ安定な凍結乾燥ケーキを生成するためのバルク剤として使用され得る。通常、「バルク剤」は、APIの総量が少なすぎケーキへの十分な構造を提供できないときに使用される。バルク剤は、薬学的に優れたケーキをもたらす不活性なマトリクスを提供するであろう。バルク剤はまた、製剤の熱的特性を変化させ得る。活性薬物の濃度は、多くの場合、その系の凍結乾燥特性が専らバルク剤に由来するほど低い。一般的なバルク剤は、結晶性バルク剤としてマンニトール、グリシン；非晶質性バルク剤としてスクロース、トレハロース、ゼラチン、デキストランを含む。好ましいバルク剤は、マンニトールおよびグリシンである。

【0121】

1つの態様において、製剤は、約158～約274 mMのマンニトール、例えば160 mMまたは162 mMまたは165 mMまたは170 mMまたは180 mMまたは200 mMのマンニトールを含む。最も好ましくは、約165 mMのマンニトールまたは165 mMのマンニトールを含む。

【0122】

本発明にしたがう特定の凍結乾燥製剤は、界面活性剤を排除することが可能なように設計される。しかし、当業者が理解できることであるが、いくつかの目的では、それにもかかわらず界面活性剤を含むことが望ましい場合がある。適当な薬学的に許容される界面活性剤は、ポリエチレン・ソルビタン・脂肪酸エステル、ポリエチレン・ポリプロピレングリコール、ステアリン酸ポリオキシエチレンおよびドデシル硫酸ナトリウムを含むがこれらに限定されない。ポリエチレン・ソルビタン・脂肪酸エステルは、ポリエチレン（20）・ソルビタンエステル（Tween 20（商標）という商標の下で販売されているポリソルベート20と同義語）およびモノオレイン酸ポリオキシエチレン（20）ソルビタン（Tween 80（商標）という商標の下で販売されているポリソルベート80と同義語）を含む。ポリエチレン・ポリプロピレングリコールは、プルロニック（登録商標）F68またはポロキサマー188（商標）の名の下で販売されているものである。ステアリン酸ポリオキシエチレンは、Myrij（商標）という商標の下で販売されている。ポリオキシエチレンモノラウリルエーテルは、Brij（商標）という商標の下で販売されている。望ましい場合、ポリエチレン・ソルビタン・ポリエチレン（20）・ソルビタンエステル（Tween 20（商標））およびモノオレイン酸ポリオキシエチレン（20）ソルビタン（Tween 80（商標））は、例えば、約0.01%～約0.06%、例えば約0.02%～約0.04%の量で使用され得る。

【0123】

本発明にしたがう特定の凍結乾燥製剤は、凍結乾燥前液および凍結乾燥された製剤から無機塩、例えば、等張化剤としてしばしば使用される塩化ナトリウム（NaCl）を排除することができるよう設計される。塩の他の例は、ナトリウム、カリウム、カルシウムまたはマグネシウムのカチオンと、塩素、リン酸、クエン酸、コハク酸、硫酸またはそれらの混合物のアニオンとの任意の組み合わせの塩を含む。しかし、当業者が理解できることであるが、いくつかの目的では、それにもかかわらず、例えば凍結乾燥製剤の再構成のために、すなわち以下に記載されるような希釈剤として、無機塩を含むことが望ましい場合がある。

【0124】

10

20

30

40

50

本発明の製剤はさらに、以下の成分の1つまたは複数を含み得る：抗酸化物質、アスコルビン酸、グルタチオン、保存剤（例えば、オクタデシルジメチルベンジルアンモニウムクロリド；塩化ヘキサメトニウム；塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム；フェノール、ブチルまたはベンジルアルコール；アルキルパラベン、例えばメチルまたはプロピルパラベン；カテコール；レゾルシノール；シクロヘキサノール；3-ペンタノール；およびm-クレゾール）；シクロデキストリン、例えばヒドロキシプロピル-シクロデキストリン、スルホブチルエチル-シクロデキストリン、[ベータ]-シクロデキストリン、ポリエチレングリコール、例えばPEG 3000、3350、4000または6000；低分子量（約10残基未満）ポリペプチド；タンパク質、例えば血清アルブミン、ゼラチンまたは免疫グロブリン；キレート剤、例えばEDTA；塩形成対イオン、例えばナトリウム；ならびに金属錯体（例えば、Zn-タンパク質錯体）。

10

## 【0125】

## プロセス

凍結乾燥は、通常、凍結、一次乾燥および二次乾燥の3つの主工程を含む。第1段階は、生産物を、生産物の共晶またはガラス繊維温度よりも低い温度で凍結させる。凍結速度は、水の結晶のサイズおよびその後の乾燥速度に影響する。第2段階は、溶媒（水）を除去する一次乾燥である。生産物の温度がその崩壊温度より下で維持されかつすべての氷/水を昇華させることが重要である。第3段階は、「結合」した水分または溶質由来の水分を除去する二次乾燥であり、この間に脱着プロセスを促進するために棚温度をしばしば40超に上昇させる。抗体および他のタンパク質またはタンパク質コンジュゲート製剤に適した凍結乾燥法は、当業者に周知であり、例えばHenry R. CostantinoおよびMichael J. Pikalによる「Lyophilization of Biopharmaceuticals」；Louis ReyおよびJoan C. Mayによる「Freeze Drying/Lyophilization of Pharmaceuticals and Biological Products」に記載されている。

20

## 【0126】

本発明の1つの局面において、水溶液の凍結乾燥は、以下の工程を含む：

- 水溶液を0.3 /分～3 /分で-40 ～ -60 まで冷却する工程、
- 少なくとも120分間等温維持する工程、
- 0.3 /分～6 /分の速度で-20 ～ -15 まで加温する工程、
- 少なくとも180分間等温維持する工程、
- 40 ～ -10 の温度で30 mTorr～300 mTorrの圧力を用いて減圧をかける工程、
- 0.3 /分～3 /分の速度で温度を35 ～ 50 まで上昇させる工程、および
- 少なくとも10時間または残留水分が2%以下になるまで等温維持する工程。

30

## 【0127】

別の態様において、水溶液の凍結乾燥は、以下の工程を含む：

- 水溶液を0.5 /分～1 /分の速度で-40 以下まで冷却する工程、
- 少なくとも120分間等温維持する工程、
- 0.5 /分～3 /分の速度で-20 ～ -15 まで加温する工程、
- 少なくとも180分間等温維持する工程、
- 30 ～ -10 の温度で50 mTorr～200 mTorrの圧力を用いて減圧をかける工程、
- 0.5 /分～1 /分で温度を35 ～ 50 まで上昇させる工程、および
- 少なくとも10時間等温維持する工程。

40

## 【0128】

1つの態様において、冷却工程a)は、水溶液を-40 の温度まで少なくとも0.3 /分、例えば0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1.0、1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、2.0、2.1、2.2、2.3、2.4、2.5、2.6、2.7、2.8、2.9または3.0 /分で冷却することによって行われる。

## 【0129】

別の態様において、冷却工程a)は、水溶液を-50 の温度まで少なくとも0.3 /分、例えば0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1.0、1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1

50

.9、2.0、2.1、2.2、2.3、2.4、2.5、2.6、2.7、2.8、2.9または3.0 /分で冷却することによって行われる。

【0130】

別の態様において、冷却工程a)は、水溶液を-60 の温度まで少なくとも0.3 /分、例えば0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1.0、1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、2.0、2.1、2.2、2.3、2.4、2.5、2.6、2.7、2.8、2.9または3.0 /分で冷却することによって行われる。

【0131】

別の態様において、加温工程c)は、物質を-15 の温度まで少なくとも0.3 /分、例えば0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1.0、1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、2.0、2.1、2.2、2.3、2.4、2.5、2.6、2.7、2.8、2.9、3.0、3.5、3.8、3.9、4.0、4.5、5.0または6.0 /分で加温することによって行われる。

10

【0132】

別の態様において、加温工程c)は、物質を-20 の温度まで少なくとも0.3 /分、例えば0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1.0、1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、2.0、2.1、2.2、2.3、2.4、2.5、2.6、2.7、2.8、2.9、3.0、3.5、3.8、3.9、4.0、4.5、5.0または6.0 /分で加温することによって行われる。

【0133】

別の態様において、工程f)の温度上昇は、35 の温度まで少なくとも0.3 /分、例えば0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1.0、1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、2.0、2.1、2.2、2.3、2.4、2.5、2.6、2.7、2.8、2.9または3.0 /分で行われる。

20

【0134】

別の態様において、工程f)の温度上昇は、40 の温度まで少なくとも0.3 /分、例えば0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1.0、1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、2.0、2.1、2.2、2.3、2.4、2.5、2.6、2.7、2.8、2.9または3.0 /分で行われる。

【0135】

別の態様において、工程f)の温度上昇は、50 の温度まで少なくとも0.3 /分、例えば0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1.0、1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、2.0、2.1、2.2、2.3、2.4、2.5、2.6、2.7、2.8、2.9または3.0 /分で行われる。

【0136】

使用

別の局面において、本発明は、癌の治療において使用するための本明細書の任意の局面または態様で定義されるADC製剤を提供する。例示的な癌は、中枢神経系の腫瘍によって引き起こされるもの、頭頸部癌、肺癌、例えばNSCLC、乳癌、特にトリプルネガティブ乳癌、食道癌、胃(gastric)または胃(stomach)癌、肺および胆道癌、膵臓癌、結腸直腸癌、膀胱癌、腎臓癌、前立腺癌、子宮内膜癌、卵巣癌、悪性黒色腫、肉腫、原発不明の腫瘍、骨髄癌、急性リンパ芽球性白血病、慢性リンパ芽球性白血病および非ホジキンリンパ腫、皮膚癌、神経膠腫、脳の癌、子宮、急性骨髄性白血病ならびに直腸を含むがこれらに限定されない。1つの態様において、ADCの抗体部分は抗TF抗体であり、本発明の製剤は膵臓癌、結腸直腸癌、乳癌、膀胱癌、前立腺癌または卵巣癌に罹患した対象に投与される。

30

40

【0137】

対象への投与前に、治療有効量のADCを含む本発明の凍結乾燥製剤は、薬学的に許容される希釈剤に溶解される、すなわち再構成される。例示的、非限定的な希釈剤は、滅菌医薬等級水(注射用水、WFI)または生理食塩水、注射用静菌水(BWFI)、pH緩衝溶液(例えば、リン酸緩衝生理食塩水)、リンガー溶液およびデキストロース溶液を含む。例えば、本発明の凍結乾燥製剤は、水、pH緩衝溶液(例えば、リン酸緩衝生理食塩水)、リンガー溶液およびデキストロース溶液中で再構成され得る。例えば、本発明の凍結乾燥製剤は、注射用滅菌水(WFI)中で約5~約30 mg/mL ADC、例えば約7~約20 mg/mL ADC、例えば約8~15 mg/mL ADC、例えば約9~約11 mg/mL ADC、例えば約10 mg/mL ADCの濃度になるよう再構成され得る。濃縮物は、任意で、例えば注入のために、約0.05 mg/mL~30 mg/mL A

50

DC、例えば0.12 mg/mL ~ 2.40 mg/mL ADCの濃度になるようpH緩衝溶液（例えば、リン酸緩衝生理食塩水、リンガー溶液および/またはデキストロス溶液）にさらに希釈され得る。

【0138】

典型的に、本発明の再構成製剤は、非経口投与に適している。本明細書で使用される「非経口投与」および「非経口的に投与」というフレーズは、通常注射または注入による、腸内および局所投与以外の投与様式を意味し、表皮、静脈内、筋内、動脈内、鞘内、嚢内、眼窩内、心臓内、皮内、腹腔内、腱内、経気管、皮下、表皮下、関節内、嚢下、くも膜下、髄腔内、頭蓋内、胸腔内、硬膜外および胸骨内注射および注入を含む。1つの態様において、薬学的組成物は、例えば対象への投与前に凍結乾燥製剤を滅菌水または生理食塩水中で再構成し、IVバッグまたは注射器に入れることによって、静脈内または皮下注射または注入によって投与される。

10

【0139】

本発明はまた、典型的に活性剤の量を示す密封された容器、例えばバイアル、アンプルまたはサッシェ内の本発明にしたがう抗TF ADCの凍結乾燥製剤を含むキットを提供する。医薬が注射により投与される場合、注射用滅菌水または生理食塩水のアンプルが、例えば、任意でキットの一部として、その成分を投与前に混合できるように提供され得る。当業者に直ちに明らかになるように、そのようなキットはさらに、所望の場合、1つまたは複数の様々な従来の医薬キット構成要素、例えば1つまたは複数の薬学的に許容される担体を含む容器、追加容器等を含み得る。投与される成分の量、投与の手引きおよび/または成分の混合の手引きを示すインサートとしてまたはラベルとしてのいずれかの印刷された説明書も、キットに含まれ得る。

20

【0140】

本発明の態様：

1. 抗組織因子（TF）抗体 - 薬物コンジュゲート（ADC）の凍結乾燥製剤であって、該凍結乾燥製剤が、約5 g/L ~ 約30 g/Lの抗TF ADCならびに

a. 約5 ~ 約7のpHを有する約20 ~ 約50 mMのヒスチジンバッファーまたはクエン酸バッファー、

b. 約10 ~ 約250 mMのスクロースまたはトレハロース、ならびに

c. 約50 mM ~ 約300 mMのマニトールまたはグリシン、

を含む薬学的に許容される賦形剤を含む水性製剤を凍結乾燥することによって入手可能または入手されたものである、凍結乾燥製剤。

30

2. 抗TF ADCの凍結乾燥製剤であって、

a. MMAEおよびMMAFから選択される治療剤部分ならびにSEQ ID NO: 5のアミノ酸配列を含むVH領域およびSEQ ID NO: 45のアミノ酸配列を含むVL領域；SEQ ID NO: 33のアミノ酸配列を含むVH領域およびSEQ ID NO: 73のアミノ酸配列を含むVL領域；SEQ ID NO: 37のアミノ酸配列を含むVH領域およびSEQ ID NO: 77のアミノ酸配列を含むVL領域；またはSEQ ID NO: 1のアミノ酸配列を含むVH領域およびSEQ ID NO: 41のアミノ酸配列を含むVL領域からなる群より選択されるVHおよびVL領域を含む抗TF抗体を含む抗TF ADC、ならびに

b. 凍結乾燥工程の間のpHの変動を制限するバッファー、固体状態で抗TF-ADCと非晶質相を形成する少なくとも1つの非還元糖、および少なくとも1つのバルク剤を含む、薬学的に許容される賦形剤

40

を含む水性製剤を凍結乾燥することによって入手可能または入手されたものであり、いかなる界面活性剤も本質的に含まない、凍結乾燥製剤。

3. 水性製剤が、ヒスチジン、クエン酸、リン酸、炭酸、コハク酸、グリコール酸およびそれらの任意の組み合わせからなる群より選択されるバッファーを含む、態様2の凍結乾燥製剤。

4. バッファーがヒスチジンバッファーである、態様1または3のいずれかの凍結乾燥製剤。

5. 水性製剤が、約7 ~ 約20 g/Lの抗TF ADC、例えば約8 ~ 約15 g/Lの抗TF ADCを含む、前

50



記態様のいずれか1つの凍結乾燥製剤。

6. 水性製剤が、約9～約11 g/Lの抗TF ADCを含む、前記態様のいずれか1つの凍結乾燥製剤。
7. 水性製剤のpHが、約5.5～6.5の範囲内、例えば約6である、前記態様のいずれか1つの凍結乾燥製剤。
8. 水性製剤が、約25～約40 mMのヒスチジン、例えば約28～約34 mMのヒスチジンを含む、前記態様のいずれか1つの凍結乾燥製剤。
9. 水性製剤が、約29～約31 mMのヒスチジンを含む、前記態様のいずれか1つの凍結乾燥製剤。
10. 水性製剤が、約50～約225 mMのスクロースまたはトレハロース、例えば84～約165 mMのスクロースまたはトレハロースを含む、前記態様のいずれか1つの凍結乾燥製剤。 10
11. 水性製剤が、約84～約146 mMのスクロース、例えば84～92 mMのスクロースを含む、前記態様のいずれか1つの凍結乾燥製剤。
12. 水性製剤が、約100～約274 mMのマニトールまたはグリシンを含む、前記態様のいずれか1つの凍結乾燥製剤。
13. 水性製剤が、約158～約172 mMのマニトールを含む、前記態様のいずれか1つの凍結乾燥製剤。
14. 水性製剤が、約9～約11 g/Lの抗TF ADC、例えば約10 mg/mLの抗TF ADCおよび約30 mMのヒスチジン、約88 mMのスクロースおよび約165 mMのマニトールを含む、前記態様のいずれか1つの凍結乾燥製剤。 20
15. 以下を含む凍結乾燥製剤：
  - a. 抗TF抗体薬物コンジュゲート、
  - b. ヒスチジン、クエン酸、コハク酸、グリコール酸、炭酸、およびリン酸から選択されるバッファー剤、
  - c. スクロース、トレハロース、およびそれらの組み合わせから選択される非還元糖、ならびに
  - d. マニトールおよびグリシンから選択されるバルク剤。
16. いかなるポリソルベートも本質的に含まない、前記態様のいずれか1つの凍結乾燥製剤。
17. いかなる界面活性剤も本質的に含まない、前記態様のいずれか1つの凍結乾燥製剤。 30
18. いかなる界面活性剤も含まない、前記態様のいずれか1つの凍結乾燥製剤。
19. 以下から本質的になる凍結乾燥製剤：
  - a. 抗TF抗体薬物コンジュゲート、
  - b. ヒスチジンおよびクエン酸から選択されるバッファー剤、
  - c. スクロース、トレハロース、およびそれらの組み合わせから選択される非還元糖、ならびに
  - d. マニトールおよびグリシンから選択されるバルク剤。
20. 前記製剤がマニトールおよびスクロースを含み、スクロースに対するマニトールの重量比が少なくとも約1である、前記態様のいずれか1つの凍結乾燥製剤。
21. 前記製剤がマニトールおよびスクロースを含み、スクロースに対するマニトールの重量比が約1～約30、例えば1～約10、例えば約1～約2である、前記態様のいずれか1つの凍結乾燥製剤。 40
22. 前記製剤がマニトールおよびスクロースを含み、スクロースに対するマニトールの重量比が約1である、前記態様のいずれか1つの凍結乾燥製剤。
23. 前記製剤がマニトールを含み、抗TF ADCに対するマニトールの重量比が少なくとも約3である、前記態様のいずれか1つの凍結乾燥製剤。
24. 前記製剤がマニトールおよびスクロースを含み、抗TF ADCに対するマニトールの重量比が約3であり、スクロースに対するマニトールの重量比が約1である、前記態様のいずれか1つの凍結乾燥製剤。
25. 約250 mM未満のスクロースおよび約300 mM未満のマニトールを含む水性製剤を凍 50

結乾燥することによって入手可能または入手されたものである、前記態様のいずれか1つの凍結乾燥製剤。

26. 約160 mM未満のスクロースおよび約274 mM未満のマニトールを含む水性製剤を凍結乾燥することによって入手可能または入手されたものである、前記態様のいずれか1つの凍結乾燥製剤。

27. 約7～約20 g/Lの抗TF ADCおよび

- a. 約28～34 mMのヒスチジン、
- b. 約84～約146 mMのスクロース、
- c. 約158～約274のマニトール、または
- d. (a)～(c)の任意の2つもしくはすべての組み合わせ、

を含む水性製剤を凍結乾燥することによって入手可能または入手されたものである、前記態様のいずれか1つの凍結乾燥製剤。

28. 約9～約11 g/Lの抗TF ADC、例えば約10 mg/mLの抗TF ADCおよび

- a. 約30 mMのヒスチジン、
- b. 約88 mMのスクロース、
- c. 約165 mMのマニトール、または
- d. (a)～(c)の任意の2つもしくはすべての組み合わせ、

を含む水性製剤を凍結乾燥することによって入手可能または入手されたものである、前記態様のいずれか1つの凍結乾燥製剤。

29. 抗体分子あたりの薬物部分の平均絶対数が、1、2、3、4、5、6、7または8、例えば3、4または5である、前記態様のいずれか1つの凍結乾燥製剤。

30. 抗体が疎水性の薬物にコンジュゲートされている、前記態様のいずれか1つの凍結乾燥製剤。

31. 薬物が、アウリスタチンまたはその機能性ペプチドアナログもしくは誘導体である、前記態様のいずれか1つの凍結乾燥製剤。

32. 薬物が、抗TF抗体のスルフヒドリル基に付加されたリンカーを介して抗TF抗体に連結されており、該スルフヒドリル基が抗TF抗体の部分還元または還元によって得られたものである、前記態様のいずれか1つの凍結乾燥製剤。

33. 薬物がMMAEまたはMMAFである、前記態様のいずれかの凍結乾燥製剤。

34. 薬物が、vcMMAE、vcMMAF、またはmcMMAFから選択されるリンカー - 薬物を介して抗TF抗体に連結されている、前記態様のいずれかの凍結乾燥製剤。

35. 抗体が全長抗体である、前記態様のいずれか1つの凍結乾燥製剤。

36. 抗体が、ヒトIgG1 抗体である、前記態様のいずれか1つの凍結乾燥製剤。

37. 抗体が、

- a. SEQ ID NO: 5のアミノ酸配列を含むVH領域およびSEQ ID NO: 45のアミノ酸配列を含むVL領域、
- b. SEQ ID NO: 33のアミノ酸配列を含むVH領域およびSEQ ID NO: 73のアミノ酸配列を含むVL領域、
- c. SEQ ID NO: 37のアミノ酸配列を含むVH領域およびSEQ ID NO: 77のアミノ酸配列を含むVL領域、または
- d. SEQ ID NO: 1のアミノ酸配列を含むVH領域およびSEQ ID NO: 41のアミノ酸配列を含むVL領域、

からなる群より選択されるVHおよびVL領域を含む1つまたは複数の参照抗体とヒトTFへの結合に関して競合する、前記態様のいずれか1つの凍結乾燥製剤。

38. 抗TF抗体が

- a. SEQ ID NO: 6に示されるアミノ酸配列を有するCDR1領域、SEQ ID NO: 7に示されるアミノ酸配列を有するCDR2領域、およびSEQ ID NO: 8に示されるアミノ酸配列を有するCDR3領域を含む重鎖可変(VH)領域、ならびにSEQ ID NO: 46に示されるアミノ酸配列を有するCDR1領域、SEQ ID NO: 47に示されるアミノ酸配列を有するCDR2領域、およびSEQ ID NO: 48に示されるアミノ酸配列を有するCDR3領域を含む軽鎖可変(VL)領域、

10

20

30

40

50

b. SEQ ID NO: 34に示されるアミノ酸配列を有するCDR1領域、SEQ ID NO: 35に示されるアミノ酸配列を有するCDR2領域、およびSEQ ID NO: 36に示されるアミノ酸配列を有するCDR3領域を含むVH領域、ならびにSEQ ID NO: 74に示されるアミノ酸配列を有するCDR1領域、SEQ ID NO: 75に示されるアミノ酸配列を有するCDR2領域、およびSEQ ID NO: 76に示されるアミノ酸配列を有するCDR3領域を含むVL領域、または

c. SEQ ID NO: 38に示されるアミノ酸配列を有するCDR1領域、SEQ ID NO: 39に示されるアミノ酸配列を有するCDR2領域、およびSEQ ID NO: 40に示されるアミノ酸配列を有するCDR3領域を含むVH領域、ならびにSEQ ID NO: 78に示されるアミノ酸配列を有するCDR1領域、SEQ ID NO: 79に示されるアミノ酸配列を有するCDR2領域、およびSEQ ID NO: 80に示されるアミノ酸配列を有するCDR3領域を含むVL領域、または

d. SEQ ID NO: 2に示されるアミノ酸配列を有するCDR1領域、SEQ ID NO: 3に示されるアミノ酸配列を有するCDR2領域、およびSEQ ID NO: 4に示されるアミノ酸配列を有するCDR3領域を含むVH領域、ならびにSEQ ID NO: 42に示されるアミノ酸配列を有するCDR1領域、SEQ ID NO: 43に示されるアミノ酸配列を有するCDR2領域、およびSEQ ID NO: 44に示されるアミノ酸配列を有するCDR3領域を含むVL領域、または

e. 上記抗体のいずれかの変種であって、好ましくは、上記配列中に最大で1、2もしくは3つのアミノ酸改変、より好ましくはアミノ酸置換、例えば保存的アミノ酸置換を有する、変種

を含む、前記態様のいずれか1つの凍結乾燥製剤。

39. 抗体が、

a. SEQ ID NO: 5のアミノ酸配列を含むVH領域およびSEQ ID NO: 45のアミノ酸配列を含むVL領域、

b. SEQ ID NO: 33のアミノ酸配列を含むVH領域およびSEQ ID NO: 73のアミノ酸配列を含むVL領域、

c. SEQ ID NO: 37のアミノ酸配列を含むVH領域およびSEQ ID NO: 77のアミノ酸配列を含むVL領域、または

d. SEQ ID NO: 1のアミノ酸配列を含むVH領域およびSEQ ID NO: 41のアミノ酸配列を含むVL領域

を含む、前記態様のいずれか1つの凍結乾燥製剤。

40. 抗体が、全長完全ヒトモノクローナルIgG1抗体、任意でIgG1 である、前記態様のいずれか1つの凍結乾燥製剤。

41. 抗TF ADCの凍結乾燥製剤を調製するのに適した水溶液であって、

a. 任意で抗体部分が態様37~39のいずれか1つのVHおよびVL配列を含む、約7~約20 g/Lの抗TF ADC、

b. 約28~34 mMのヒスチジン、

c. 約84~約146 mMのスクロース、

d. 約158~約274のマンニトール、または

e. (b)~(d)の任意の2つもしくはすべての組み合わせ

を含む、水溶液。

42. 滅菌水性希釈剤中で態様1~40のいずれか1つの凍結乾燥製剤を再構成することによって得られる、薬学的に許容される液体製剤。

43. 約5 g/L~約30 g/Lの抗TF ADC、約5~約7のpHを有する約20~約50 mMのヒスチジン、約10~約250 mMのスクロースまたはトレハロース、および約50 mM~約300 mMのマンニトールまたはグリシンを含む、態様42の液体製剤。

44. 約9~約11 mg/mLの抗TF ADC、約28~約34 mMのヒスチジン、約84~約92 mMのスクロース、および約158~約274 mMのマンニトールを含む、態様43の液体製剤。

45. 滅菌水性希釈剤中で態様1~40のいずれか1つの凍結乾燥製剤を再構成する工程を含む、抗TF ADCの注射可能溶液を調製する方法。

46. 抗TF ADCの凍結乾燥製剤であって、該凍結乾燥製剤が、約9 g/L~約11 g/Lの抗TF ADCならびに約5~約7のpHを有する約30 mMのヒスチジンバッファー、約88 mMのスクロース

10

20

30

40

50

および約165 mMのマンニトールを含む薬学的に許容される賦形剤を含む水性製剤を凍結乾燥することによって調製され、抗体が、SEQ ID NO: 5のアミノ酸配列を含むVH領域およびSEQ ID NO: 45のアミノ酸配列を含むVL領域；SEQ ID NO: 33のアミノ酸配列を含むVH領域およびSEQ ID NO: 73のアミノ酸配列を含むVL領域；SEQ ID NO: 37のアミノ酸配列を含むVH領域およびSEQ ID NO: 77のアミノ酸配列を含むVL領域；またはSEQ ID NO: 1のアミノ酸配列を含むVH領域およびSEQ ID NO: 41のアミノ酸配列を含むVL領域を含み、リンカー-薬物がvcMMAE、vcMMAF、またはmcMMAFである、凍結乾燥製剤。

【実施例】

【0141】

実施例1

この実施例は、本明細書でHuMax-TFと称される抗TF HuMab 098 (WO2011157741 A2を参照のこと)の熱安定性に対する特定のバッファーおよびpH値の効果を示している。選択された賦形剤、バッファー、およびpH条件に関する加速安定性研究を、pH4.5~6.5のヒスチジンバッファー系および酢酸バッファー系を用いて設計した。

【0142】

使用したDOE(実験計画)は、1つの数値(pH)および2つのカテゴリー要素(バッファーおよび賦形剤のタイプ)の応答曲面、線形設計であった。DOEは、様々な生物物理学および分析法に関連する実験的ばらつきを評価するために各処方組成物について2つの複製サンプルを含むものとした。中心点製剤における50 mg/mLならびにソルビトールおよび塩化ナトリウム賦形剤の組み合わせを用いる20 mg/mLの追加のオフDOEサンプルをこの研究に含めた。表2は、HuMax-TFについてのプレフォーミュレーション実験計画(DOE)サンプルを示している。

【0143】

10

20

【表 2】

	pH	バッファー	賦形剤	タンパク質濃度 (mg/ml)
A	4.5	30mM 酢酸	140mM NaCl	20
B	4.5	30mM 酢酸	140mM NaCl	20
C	5.0	30mM 酢酸	140mM NaCl	20
D	6.0	30mM ヒスチジン	140mM NaCl	20
E	6.5	30mM ヒスチジン	140mM NaCl	20
F	5.5	30mM ヒスチジン	140mM NaCl	20
G	5.5	30mM 酢酸	140mM NaCl	20
H	4.5	30mM 酢酸	225mM ソルビトール	20
I	5.5	30mM ヒスチジン	225mM ソルビトール	20
J	5.5	30mM 酢酸	140mM NaCl	20
K	6.0	30mM ヒスチジン	225mM ソルビトール	20
L	6.5	30mM ヒスチジン	140mM NaCl	20
M	6.0	30mM ヒスチジン	140mM NaCl	20
N	6.5	30mM ヒスチジン	225mM ソルビトール	20
O	5.0	30mM 酢酸	225mM ソルビトール	20
P	5.5	30mM 酢酸	225mM ソルビトール	20
Q	5.5	30mM ヒスチジン	225mM ソルビトール	20
R	5.0	30mM 酢酸	140mM NaCl	20
S	5.5	30mM 酢酸	225mM ソルビトール	20
T	6.5	30mM ヒスチジン	225mM ソルビトール	20
U	5.0	30mM 酢酸	225mM ソルビトール	20

10

20

30

V	4.5	30mM 酢酸	225mM ソルビトール	20
W	5.5	30mM ヒスチジン	140mM NaCl	20
X	6.0	30mM ヒスチジン	225mM ソルビトール	20
より高いタンパク質濃度に関するオフDOE組成物				
Y	5.0	30mM 酢酸	225mM ソルビトール	50
Z	5.0	30mM 酢酸	140mM NaCl	50
AA	6.0	30mM ヒスチジン	225mM ソルビトール	50
BB	6.0	30mM ヒスチジン	140mM NaCl	50
賦形剤混合物に関するオフDOE組成物				
CC	5.0	30mM 酢酸	110mM ソルビトール + 70mM NaCl	20
DD	6.0	30mM ヒスチジン	110mM ソルビトール + 70mM NaCl	20

10

20

30

40

50

## 【0144】

加速安定性サンプルを、様々な分析法によって試験した。選択された結果が、実施例2、3および4で議論されている。

## 【0145】

## 実施例2

凝集および分解の程度に対する様々な処方の効果を決するため、5および45（それぞれ、非ストレス下およびストレス下）で4週間インキュベートしたHuMax-TFサンプルを、SEC（サイズ排除クロマトグラフィー）を用いて分析した。非ストレス下のHuMax-TFサンプルのSECクロマトグラムは、単量体抗体に対応し、総ピーク面積の98%超と見積もられる1つの大ピークを示した。この1つの大きなSECピークは、各製剤における抗体のサイズ均質性を反映するものであった。様々な製剤間でのSECデータの比較のために、メインピークより前に溶出した種のピーク面積値を合算し、HMW割合（%）として報告した。同様に、メインピークより後に溶出した種のピーク面積値を合算し、分解率（%）として報告した。図1に示される棒グラフは、非ストレス条件下のあらゆる製剤のあらゆる種に関して有意な傾向を示さなかった。しかし、ストレス条件下では、凝集および分解に起因して増加したHMW割合（%）およびLMW割合（%）ならびに減少したメイン割合（%）が観察された。ヒスチジン製剤よりも酢酸製剤でより高いHMW割合（%）およびLMW割合（%）が観察された。両方のバッファータイプにおいて、特に酢酸製剤について、HMW種の割合（%）およびLMW種の割合（%）は、pHの増加と共におよび塩化ナトリウムよりもソルビトールで減少した。

## 【0146】

## 実施例3

選択された4週間DOEサンプルに関して、還元および非還元の両方の条件下でSDS-PAGE分析を行った。還元条件下では、重鎖バンドがおよそ54 kDaで見られ、軽鎖バンドがおよそ26 kDaで見られた。非還元条件下では、メインHuMax TFバンドがおよそ145 kDaに移動した。サンプルを、還元および非還元SDS-PAGEを用いて分析した。非ストレス下のサンプルと比較して、熱ストレスを与えられた製剤は、非還元ゲルにおけるインタクトなIgGよりも低いLMWバンドの強度の増加を示した。同様に、非ストレス下のサンプルとの比較でストレス下のサンプルにおいて、重および軽鎖バンドの間で新しいバンドの強度の増加が観察された。還元および非還元の両サンプルにおいて、酢酸製剤は、ヒスチジン製剤よりも、これらの分解種の強度のより大きな増加を示した。

## 【0147】

## 実施例4

観察されたピーク面積に対する様々な製剤成分の効果を評価するため、1週間ストレス下および非ストレス下のHuMax-TF DOEサンプルを、cIEF（画像化キャピラリー等電点電気泳動）を用いて分析した。その結果が図2に示されている。メインピークのそれよりも低いpI値を有する種のピーク面積の割合（%）を合算して酸性割合（%）として報告し、メインピークのそれよりも高いpI値を有する種のピーク面積の割合（%）を合算して塩基性割合（%）として報告した。

【0148】

図2に示されている非ストレス下のHuMax-TF DOEサンプルのcIEF分析は、非ストレス下のサンプルにおけるpH、バッファータイプ、または賦形剤タイプに対するcIEFの依存性に関していかなる明白な傾向も示さなかった。ストレス下のDOEサンプルのcIEF分析は、メインピーク面積割合（%）の5~13%の減少を示した。メインピーク面積の減少は、ほとんどの製剤において、酸性種のピーク面積の増加を伴って起こり、塩基性ピーク面積割合（%）の増加も同様であった。棒グラフに示されている酸性種の割合（%）の変化は、明確なpH依存性を示さなかったが、酢酸製剤は、概ね、ヒスチジン製剤よりもわずかに低い酸性ピーク面積割合（%）を示した。しかし、塩基性種の割合（%）は、塩基性ピーク面積割合（%）がpHの増加と共に減少する、強いpH依存性を示した。加えて、ヒスチジン製剤は、酢酸製剤よりも低い塩基性種割合（%）を示した。

10

【0149】

#### 実施例5

溶液中のHuMax-TF-ADCの安定性に対するpH、ポリソルベートの存在、およびソルビトールの存在の効果を試験するため、スクリーニング研究を設計した。HuMax-TF-ADCは、プロテアーゼ切断可能パリンシトルリン（vc）リンカーを介して微小管破壊剤モノメチルアウリスタチンE（MMAE）に化学的にコンジュゲートされたヒトモノクローナルIgG1抗体HuMax-TF 011から構成される抗体-薬物コンジュゲートである。

20

【0150】

12の異なる製剤を、3つの異なるpH値を用いて調製した。溶液製剤研究デザインが表3に示されている。すべての製剤は、30 mMのヒスチジンと共に10 mg/mLのHuMax-TF-ADCを含んでいた。Tween = ポリソルベート80（PS80）

【0151】

【表3】

製剤	pH	Tween濃度 (%)	ソルビトール (mM)
1	5.5	0	0
2	5.5	0	225
3	5.5	0.02	0
4	5.5	0.02	225
5	6.0	0	0
6	6.0	0	225
7	6.0	0.02	0
8	6.0	0.02	225
9	6.5	0	0
10	6.5	0	225
11	6.5	0.02	0
12	6.5	0.02	225

10

20

## 【0152】

スクリーニング研究用に調製した12の製剤を、UV/Vis（紫外・可視分光法）、icIEF、SECおよびDAR-HIC（疎水性相互作用クロマトグラフィーを用いる薬物対抗体モル比）を用いて分析した。製剤スクリーニング研究は、HuMax-TF-ADCの主たる安定性指標パラメータがSECによって測定される凝集物およびicIEFによって測定される（脱アミドに起因すると考えられる）酸性アイソフォームであることを示した。

30

## 【0153】

40 で2週間保存された溶液サンプルにおけるHMW形成の比率に対するpHの効果を、SECによって測定した（図3は、表3の製剤1、5および9におけるSECによるHMWの割合（%）を示している）。6.0のpHは、ヒスチジンバッファー中でのHuMax-TF-ADCの凝集の抑制に最も効果的であることが示された。

## 【0154】

40 で2週間保存された溶液サンプルにおけるHuMax-TF-ADCの脱アミドに対するpHの効果を、icIEFにおける酸性種の増加によって測定した（図4は、表3の製剤1、5および9の結果を示している）。5.5のpHが、脱アミドの抑制に最も効果的であり、その次がpH 6.0およびpH 6.5であることが見出された。

40

## 【0155】

ソルビトールまたはPS80の使用は、40 で2週間保存されたHuMax-TF-ADC製剤において、icIEFによるメイン電荷ピーク割合（%）およびSECによるメインピークに対していかなる顕著な効果も有さなかった（図5Aおよび5B）。これは、この製剤が界面活性剤を含めなくてよい可能性を示している。

## 【0156】

## 実施例6

処方スクリーニングは、主たる安定性指標パラメータが、SECによって測定される凝集物およびicIEFによって測定される酸性アイソフォーム（脱アミドと考えられる）であることを示した。加速条件下で測定されたすべての試験された液体製剤における脱アミド速度は速く、したがって試験されたHuMax-TF-ADCの液体製剤は明らかに不安定であった。い

50



くつかの液体製剤と予備的に凍結乾燥された製剤の間の比較が図6に示されている。

【0157】

#### 実施例7

凍結乾燥ケーキに対する充填容積およびバイアル容積/形状の潜在的影響を調査するため、pH 6.0の30 mMヒスチジンバッファー中に異なる濃度のスクロース（150 mMおよび250 mM）、10 mg/mLのHuMax-TF-ADCを含む2つの製剤を用いてパイロット凍結乾燥研究を行った。HuMax-TF-ADCのヒスチジン、スクロース製剤において、凍結乾燥ケーキの見た目は、異なる充填容積およびバイアルサイズで相違した。

A：第1の製剤サンプルグループは、2 mLガラスバイアルあたり0.25 mL充填し、凍結乾燥させた。サンプルは、薬学的に美しい見た目であり、明確な崩壊の兆候はなかった。

B：同じ製剤の第2サンプルグループを、同じ凍結乾燥サイクルを用いて、10 mLバイアル中4 mL充填容積を用いて同時に凍結乾燥させた。サンプルは重度の縮小を伴う見た目であった。

【0158】

したがって、この製剤は、2 mLガラスバイアル中0.25 mLの低充填容積においては薬学的に美しいケーキを支持するが、10 mLバイアル中4 mLというより高い充填容積は適当でない。

【0159】

#### 実施例8

この実施例の目的は、HuMax-TF-ADCの凍結乾燥製剤の安定性に対するスクロースおよびマンニトール濃度の効果を試験することであった。

【0160】

初期試験は、製剤の主要な特性を維持しつつスクロースがトレハロースにより容易に置き換えられ得ることを示した。試験を、スクロースのみを用いて継続した。

【0161】

異なる濃度のスクロースおよびマンニトールを用いて、pH 6.0で10 mg/mLのHuMax-TF-ADC、30 mMのヒスチジンを含む3つの異なる凍結乾燥製剤を調製した。その詳細が表4に示されている。

【0162】

【表4】

製剤	HuMax-TF-ADC	ヒスチジン	スクロース	マンニトール
A	10 mg/mL	30 mM	225 mM (7.7% w/v)	274 mM (5% w/v)
B	10 mg/mL	30 mM	88 mM (3% w/v)	165 mM (3% w/v)
C	10 mg/mL	30 mM	160 mM (5.5% w/v)	274 mM (5% w/v)

【0163】

異なる濃度のスクロースおよびマンニトールを含む凍結乾燥製剤を、25、40、および50 °Cでの加速安定性試験に供した。ストレス下のサンプルを、SEC（サイズ排除クロマトグラフィー）、icIEF（画像化キャピラリー等電点電気泳動）、FTIR（フーリエ変換赤外線分光法）、DLS（動的光散乱）等の方法によって分析した。3つの製剤の加速安定性データは、特に50 °Cおよび40 °Cでその安定性データを比較した場合に、製剤Bが凝集物およびメイン電荷アイソフォームに関して他の製剤を上回る利点を有することを示した。例示的な結果が図7に示されている。

【0164】

さらに、製剤Bは、製剤AおよびCと比較した場合、40 °Cで2ヶ月間保存された後に粒子増

加に関して最小の成長を示した（図8）。

【0165】

50 で2週間保存された後に、製剤A、B、およびCの二次微分FTIRスペクトルのアミドI領域において見かけ上の変化は観察されなかった（図9）。データは、ストレス温度条件下で保存された場合に、各製剤で分子の二次構造が同様に維持されることを示唆した。

【0166】

実施例11

この実施例では、HuMax-TF-ADC製剤における結晶化バルク剤としてのマンニトールの適性、特に、HuMax-TF-ADCの凍結乾燥製剤におけるマンニトールの結晶化のアニーリング温度および時間を検証した。示差走査熱量計（DSC）は、エネルギーを直接的に測定しサンプルの熱容量の正確な測定を実現する熱分析技術である。DSCによって、サンプルが物理的転移、例えば相転移を起こすときの、サンプルと参照の間の熱流量の差を検出することができる。

10

【0167】

本実施例においては、DSCを使用して製剤中でのマンニトールの結晶化の開始に必要とされる時間を決定した。2つの異なるアニーリング温度（-15 および-20 ）を試験した。溶液を1 /分で-40 まで冷却した後、温度を1 /分で-15 または-20 のいずれかまで上昇させ、そして120分間等温維持した。図10に示されるように、製剤Bにおけるマンニトールの結晶化の開始時間は、-15 または-20 でアニールした場合、およそ10分であった。データは、マンニトールがアニール中に容易に結晶化し、したがって製剤中の結晶化バルク剤として十分機能することを実証した。

20

【0168】

実施例10

凍結乾燥されたHuMax-TF-ADC製剤サンプルを、長期間・加速安定性プログラムにおいて評価した。再構成後のHuMax-TF-ADC製剤の組成は、30 mMのヒスチジン（4.65 mg/mLに対応）、88 mMのスクロース（およそ30 mg/mLに対応）、165 mMのマンニトール（およそ30 mg/mLに対応）、pH 6.0中に配合された10 mg/mLである。長期間安定性サンプルを、ゼロ時、1ヶ月、2ヶ月、3ヶ月、6ヶ月、9ヶ月、12ヶ月および18ヶ月等で分析した。凍結乾燥製剤は、異なる時点で、注射用水（WFI）を用いて再構成し、SEC、HIC、CE-SDSおよびicIEFを含む分析方法によって試験した。

30

【0169】

5±3 および25±2 で少なくとも6ヶ月間の保存の後に、全てのサンプルが、すべての試験法で安定性を維持していた。5±3 および25±2 で保存されたサンプルは、研究開始時と比較して、少なくとも6ヶ月の時点において、あらゆる試験法で有意な変化を示さなかった。予想された、25 での加速安定性試験中の純度プロフィールの小さな変化が、icIEF、還元型CE-SDSおよびSEC試験によって観察された。

【0170】

特に、凝集に関して、SEC分析は、凝集物の比率が、5±3 および25±2 の両方のサンプルにおいて、少なくとも6ヶ月間およそ2.2%で維持されたことを示した。HuMax-TF-ADCの電荷プロフィールに対する変化を決定するために、icIEFを使用した。5±3 で保存されたサンプルにおいて、ゼロ時との比較で、少なくとも6ヶ月間のメイン電荷アイソフォームの変化は0.4%以内であり、25 で保存されたサンプルにおいては、その変化は1.7%のみである。

40

【0171】

さらに、平均DAR（モルアウリスタチン / モルmAb）、薬物充填量および遊離薬物は、5 および25 の両方で、少なくとも6ヶ月間ほぼ一定で維持される。CE-SDS（非還元）およびCE-SDS（還元）ならびにSECによるLMWにより示されるように、5 および25 の両方で少なくとも6ヶ月間、分解の兆候はみられない。最後になったが同じように重要なこととして、細胞傷害性によるバイオアッセイは、HuMax-TF-ADCの生物学的機能が5 および25 の両方で少なくとも6ヶ月間保存され得ることを証明した。したがって、そのような製

50

剤中のHuMax-TF-ADCは、薬学的用途において許容される程度に安定である。

【 0 1 7 2 】

(表 5 A) 5 ± 3 におけるHuMax-TF-ADC薬品の安定性プログラムからのデータ例

アッセイ	時点 (月)				
	0	1	2	3	6
SEC % メイン	97.6	97.7	97.8	97.7	97.6
SEC % HMW	2.3	2.2	2.1	2.2	2.2
SEC % LMW	0.1	0.1	0.1	0.1	0.2
HICによる平均DAR (アウリスタチンのモル数/ mAbのモル数)	4.1	4.1	4.1	4.1	4.1
HICによる薬物充填量 または非コンジュゲート 抗体(面積%)	1.9	1.8	1.9	1.8	1.8
CE-SDS (非還元)	CR	CR	CR	CR	CR
CE-SDS (還元)	CR	CR	CR	CR	CR
CE-SDS (還元) % LC0 + LC1	31.8	31.9	32.8	32.0	30.5
CE-SDS (還元) % HC	66.2	65.9	65.3	65.9	67.2
CE-SDS (還元) LC0 + LC1 + HC	98.0	97.8	98.1	97.9	97.7
遊離薬物 (w/w%遊離薬物/mAb)	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01
icIEF % メイン	70.3	70.7	NA	69.6	69.9
icIEF % 酸性	25.2	24.2	NA	24.7	25.2
icIEF % 塩基性	4.5	5.2	NA	5.7	4.9
(参照標準に基づく) 細胞傷害性	106	102	111	122	100
視認可能な粒子	視認可能な粒子が 実質的に存在しない	視認可能な粒子が 実質的に存在しない	視認可能な粒子が 実質的に存在しない	視認可能な粒子が 実質的に存在しない	視認可能な粒子が 実質的に存在しない

CR = 参照標準に匹敵 ; HC = 重鎖 ; LC = 軽鎖 ; TQI = 総定量可能不純物 ; NT = 試験されず ; NA = 分析されず

【 0 1 7 3 】

(表 5 B) 25 ± 3 におけるHuMax-TF-ADC薬品の安定性プログラムからのデータ例

10

20

30

アッセイ	時点 (月)				
	0	1	2	3	6
SEC % メイン	97.6	97.6	97.7	97.7	97.6
SEC % HMW	2.3	2.3	2.2	2.2	2.2
SEC % LMW	0.1	0.1	0.1	0.1	0.2
HICによる平均DAR (アウリスタチンのモル数/ mAbのモル数)	4.1	4.1	4.1	4.1	4.1
HICによる薬物充填量 (面積%)	1.9	1.8	1.9	1.8	1.8
CE-SDS (非還元)	CR	CR	CR	CR	CR
CE-SDS (還元)	CR	CR	CR	CR	CR
CE-SDS (還元)% LC0 + LC1	31.8	32.0	32.8	32.0	30.8
CE-SDS (還元)% HC	66.2	66.1	65.3	65.8	66.8
CE-SDS (還元) LC0 + LC1 + HC	98.0	98.1	98.1	97.8	97.6
遊離薬物 (w/w%遊離薬物/mAb)	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
icIEF % メイン	70.3	69.8	NA	68.6	68.6
icIEF % 酸性	25.2	24.7	NA	25.1	25.6
icIEF % 塩基性	4.5	5.4	NA	6.3	5.9
(参照標準に基づく) 細胞傷害性	106	109	104	111	98
視認可能な粒子	視認可能な粒子 が実質的に 存在しない	視認可能な粒子 が実質的に 存在しない	視認可能な粒子 が実質的に 存在しない	視認可能な粒子 が実質的に 存在しない	視認可能な粒子 が実質的に 存在しない

10

20

CR = 参照標準に匹敵 ; HC = 重鎖 ; LC = 軽鎖 ; TQI = 総定量可能不純物 ; NT = 試験されず ; NA = 分析されず

30

【0174】

## 実施例11

この研究では、賦形剤濃度の許容される範囲を検証するために、HuMax-TF-ADCの安定性に対する高または低賦形剤濃度の効果を試験した。HuMax-TF-ADCの3つの製剤を表6にしたがい調製した。溶液を10mLガラスバイアルに充填してバイアルあたり4mLとし、これを凍結乾燥した。各製剤のサンプルを、50 で4週間の加速安定性に供し、2、3および4週間後にサンプル採取した。HuMax-TF-ADCの安定性に対する賦形剤の高または低濃度の影響を評価するためのデータを得るために、サンプルを、濃度、pH、再構成時間、見た目、iCE、CE-SDS、SEC、DAR-HIC、遊離薬物DLSおよびMFIについて試験した。データは、製剤がストレス下の安定性試験の場合と同様の挙動を示すことを示した。

40

【0175】

【表6】

摘要	賦形剤の濃度		
	ヒスチジン	スクロース	マンニトール
低賦形剤濃度	29.5 mM / 4.58 g/L	84 mM / 28.75 g/L	158mM / 28.78 g/L
対象製剤	30 mM / 4.65 g/L	88 mM / 30.12 g/L	165 mM/ 30.06 g/L
高賦形剤濃度	30.5 mM / 4.73 g/L	92 mM/ 31.49 g/L	172 mM/ 31.33 g/L

50

## 【0176】

## 実施例12

製剤中のHuMax-TF-ADC濃度の許容可能な範囲を検証するため、凍結乾燥されたHuMax-TF-ADC製剤の安定性に対するHuMax-TF-ADC濃度の効果を試験した。

## 【0177】

30 mMのヒスチジン、88 mMのスクロース、165 mMのマンニトールおよび5 mg/mLまたは30 mg/mLのHuMax-TF-ADCによって調製された製剤を凍結乾燥し、40℃で2ヶ月間または50℃で2週間保存した。40℃で2ヶ月間の保存後のSECによるメインピークは、97%超が維持され(図12)、40℃での保存後の両方の濃度で高分子量種の平均割合(%)のわずかな増加のみが観察された(図13)。ICEデータによって示される、ストレス条件下での電荷プロフィールの変化の傾向は、両方の濃度で同様である(図14、15および16)。

10

## 【0178】

このことは、HuMax-TF-ADCが少なくとも5 mg/mL~30 mg/mLの濃度で処方され得ることを示している。

## 【0179】

## 実施例13

HuMax-TF-ADCの使用時安定性を、室温で少なくとも48時間、異なる濃度(最大48 mg/mL)ならびに異なる希釈剤、すなわち、注射用水(WFI)、0.9% NaCl(生理食塩水)およびデキストロス5%(D5W)溶液で研究した。

## 【0180】

SECデータは、25℃で48時間保存されたサンプルにおいて平均メインピーク割合(%)が97%超維持されたことを示した(図17)。48 mg/mLのサンプルは、他のサンプルよりもおよそ0.5%多く高分子量種を含んでいた(図18)。異なる希釈剤は、凝集性に影響しなかった。

20

## 【0181】

25℃で保存された使用時溶液サンプルもまた、iCEを用いて試験した。5%のデキストロスで再構成されたサンプルは、他のサンプルと比較して、48時間後に最低のメインピーク割合(%) (図19)および最高の酸性種割合(%) (図20)を示した。このことは、WFIおよび生理食塩水がHuMax-TF-ADCの電荷プロフィールを保存する上で潜在的に良い希釈剤であることを示している。

30

## 【0182】

## 実施例14

この実施例では、HuMax-TF-ADC製剤の安定性に対するバッファのタイプおよび結晶化賦形剤のタイプの効果を実証されている。

## 【0183】

凍結乾燥製剤中のバッファとしてヒスチジンをクエン酸で置き換えた場合、または結晶化賦形剤としてマンニトールをグリシンで置き換えた場合の、それらの安定性を、40℃で2ヶ月保存した後にSECおよびiCEによって分析した。

## 【0184】

図22~図26において、「グリシン」という表記は、10 mg/mLのHumax-TF-ADC、30 mMのヒスチジン、88 mMのスクロース、165 mMのグリシン、pH 6.0を含む製剤を表し、「クエン酸」という表記は、10 mg/mLのHuMax-TF-ADC、30 mMのクエン酸(塩)、88 mMのスクロース、165 mMのマンニトール、pH 6.0を含む製剤を表す。

40

## 【0185】

40℃で2ヶ月間の保存後に、クエン酸製剤またはグリシン製剤においてSEC平均メインピーク割合(%) (図22)または高分子量ピーク(図23)の顕著な変化は観察されなかった。いずれのサンプルにおいても、低分子量ピークは観察されなかった。

## 【0186】

グリシンおよびクエン酸(塩)を含む製剤における、40℃で2ヶ月のiCEメインピーク割合(%)の減少率(図24)は、30 mMのヒスチジン、88 mM(3%)のスクロースおよび165

50

mM (3%) のマンニトールを含む製剤 (図7) に匹敵するものであった。熱ストレス条件下で、クエン酸製剤は、ヒスチジンを含有製剤と比較してより多くの酸性種を伴い (図25)、グリシン製剤は、マンニトールを含む製剤と比較してより多くの塩基性種を伴う (図26) ことが観察される。

【0187】

#### 実施例15

この実施例では、HuMax-TF-ADCの安定性に対するpHおよびバッファー濃度の効果を実証された。HuMax-TF-ADCは、3%マンニトールおよび3%スクロースと20 mMまたは50 mMのいずれかのヒスチジンをを用いて10 mg/mL濃度で調製し、サンプルのpHを5、6または7に調整した。凍結乾燥サンプルを、40 °Cで最大2ヶ月間保存した。20 mMヒスチジンまたは50 mMヒスチジンをを用いてpH 5、6または7で調製された製剤は、50 mMヒスチジンを含有pH 5の製剤が凝集物のわずかな増加を示したことを除いて、バッファー濃度およびpHに関係なく40 °Cで同様のSEC結果を示した (図30および31)。

10

【0188】

図27~29においてiCEにより示されるように、pHは、ストレス試験下での電荷プロファイルの変化に関してバッファー濃度よりも重要な役割を果たすことが観察される。pH 6で調製された製剤は、40 °Cで2ヶ月間の保存の間に最も小さいメインピークの減少を示した。分析法のばらつきよりも潜在的に大きな、メインピークの見かけ上の減少が観察される。pH 5で調製された製剤は、最も大きなメインピーク割合 (%) の減少を示した (図27)。pH 7で調製された製剤は、最も高い酸性種の比率を示し (図28)、pH 5で調製された製剤は、最も高い塩基性種の比率を示した (図29)。

20

【0189】

#### 実施例16

本発明のHuMax-TF-ADCの凍結乾燥製剤の凍結乾燥サイクルは、以下に記載されるようにして実施され得る。

【0190】

最初に、バイアルが、0.5 °C/分~1 °C/分で-40 °C以下まで冷却され得、そして少なくとも120分間等温維持され得る (冷却工程)。その後、バイアルは、0.5 °C/分~3 °C/分で、-20 °C~-15 °Cまで加温され、そして少なくとも180分間等温維持される (アニーリング工程)。その後、50 mTorr~200 mTorrの圧力および-30 °C~-10 °Cの温度を用いて減圧が開始される (一次乾燥)。最後に、温度を、0.5 °C/分~1 °C/分で35 °C~50 °Cまで上げ、そして少なくとも10時間等温維持される (二次乾燥)。残留水分は、重量で2%を超えるべきでない。

30

【0191】

#### 参考文献一覧

WO2011157741, WO9704801, WO9856418, WO2011753, WO2096457, WO03009817, WO03039485, US8372396, WO2004004639, WO2004016286, WO2004055164, WO2004071439, WO2006014965, WO2006044908 and WO2007019232.

Physicochemical Stability of the Antibody–Drug Conjugate Trastuzumab-DM1: Changes due to Modification and Conjugation Processes. Aditya A. Wakankar, et al., *Bioconjugate Chemistry* 2010: 21 (9), 1588-1595

Challenges in developing bioanalytical assays for characterization of antibody-drug conjugates. Stephan JP, etc, *Bioanalysis*. 2011 Mar;3(6):677-700

10

Analytical methods for physicochemical characterization of antibody drug conjugates. Wakankar A, et al., *MAbs*. 2011 Mar-Apr;3(2):161-72.

Analytical and bioanalytical technologies for characterizing antibody–drug conjugates, Stephen C Alley, Kevin E Anderson, *Current Opinion in Chemical Biology*, June 2013, 17 (3), 406-411

20

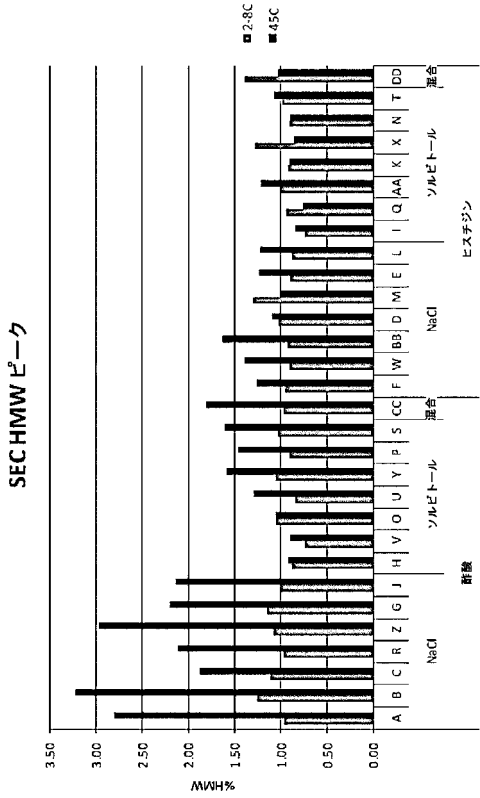
Effect of Polysorbate 80 Quality on Photostability of a Monoclonal Antibody, Singh et al., *AAPS PharmSciTech*, Vol. 13, No. 2, 2012.

Polysorbates 20 and 80 Used in the Formulation of Protein Biotherapeutics: Structure and Degradation Pathways. BRUCE A. KERWIN, *JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCES*, VOL. 97, NO. 8, AUGUST 2008, 2924-2935.

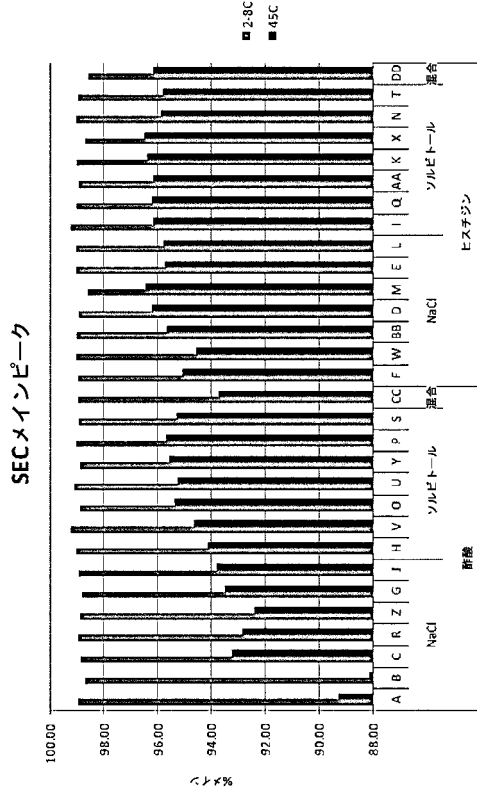
30

Aggregates in monoclonal antibody manufacturing processes, Vázquez-Rey and Lang, 2011, *Biotech, Bioeng.* 108(7) p. 1494-1508.

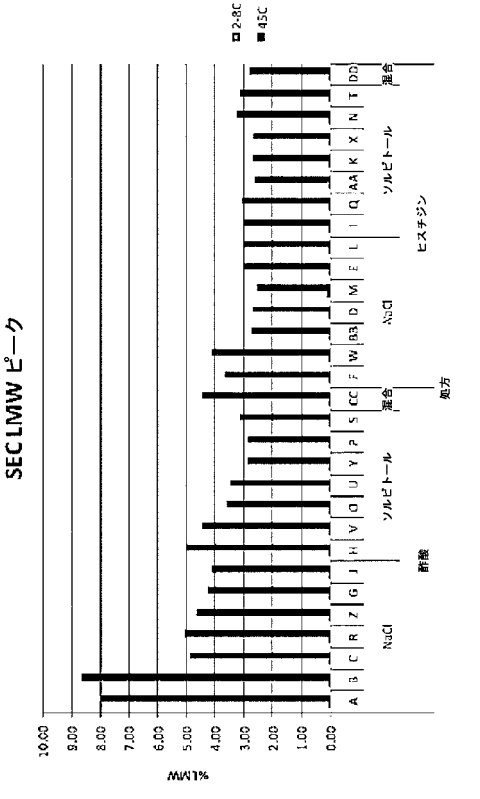
【 図 1 A 】



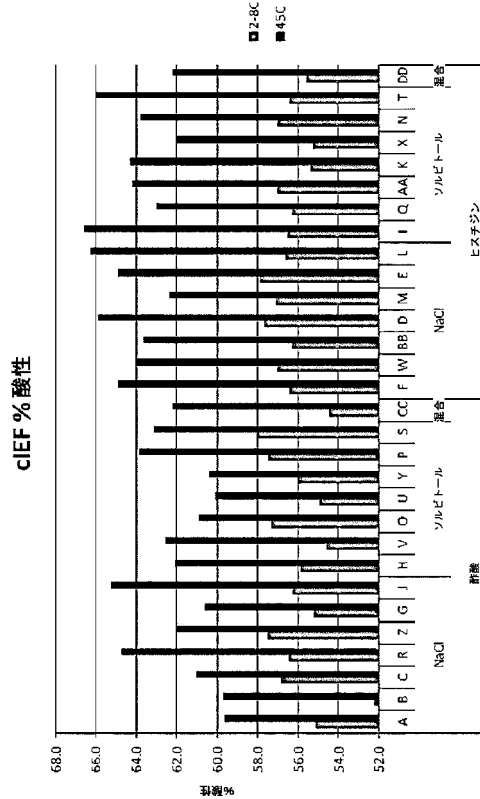
【 図 1 B 】



【 図 1 C 】

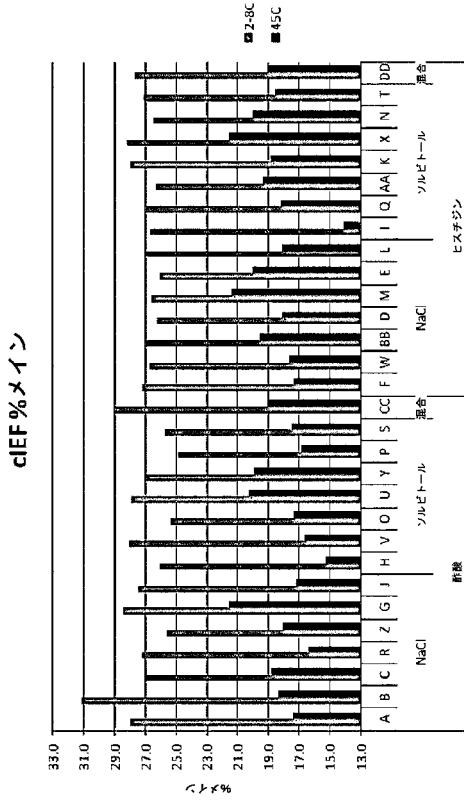


【 図 2 A 】

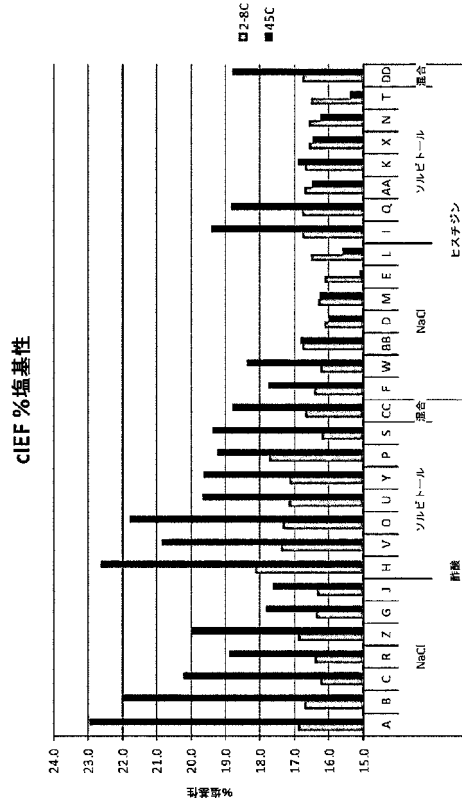




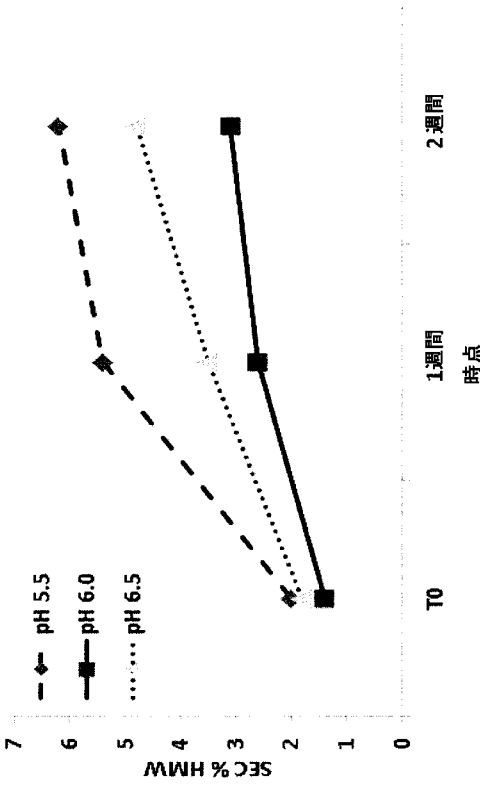
【 図 2 B 】



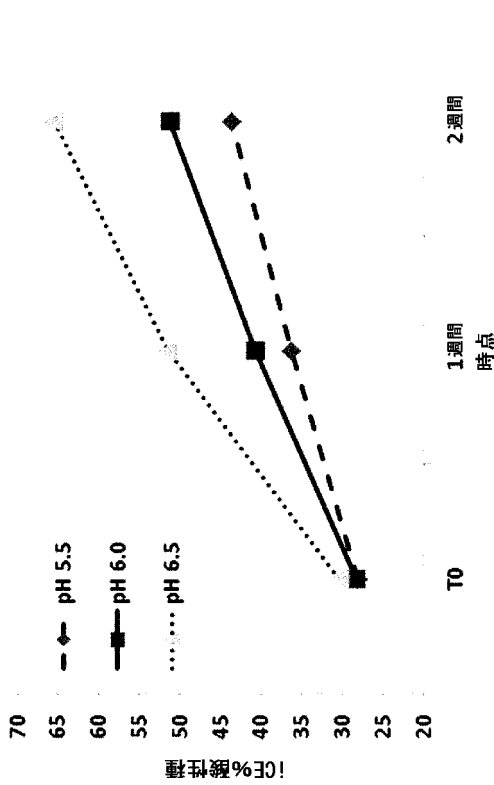
【 図 2 C 】



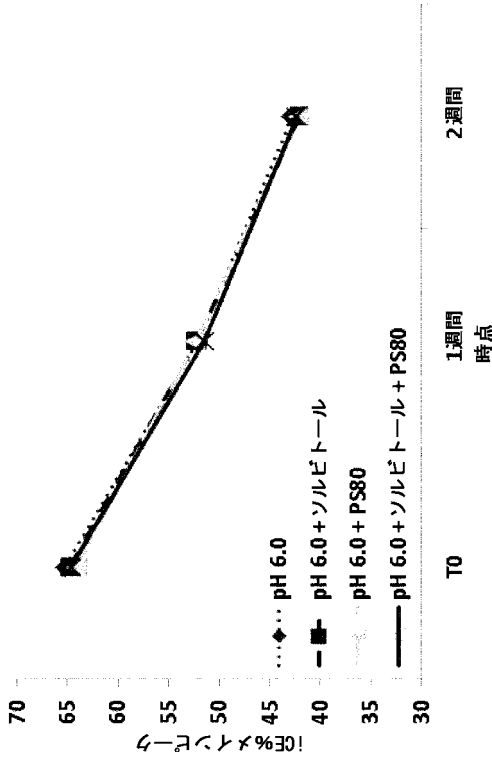
【 図 3 】



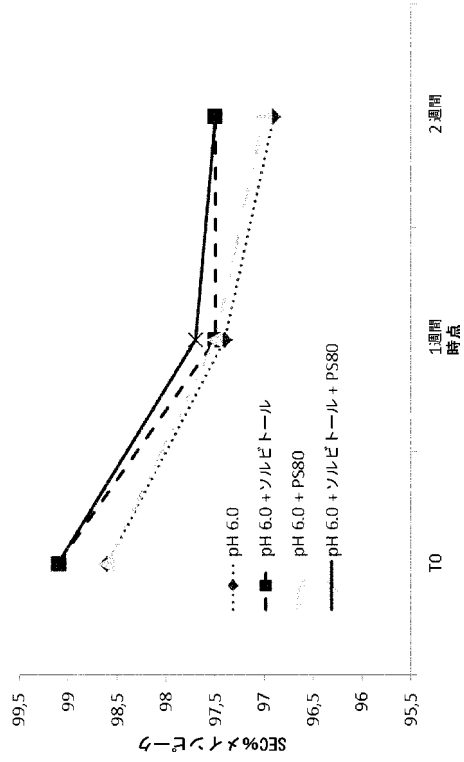
【 図 4 】



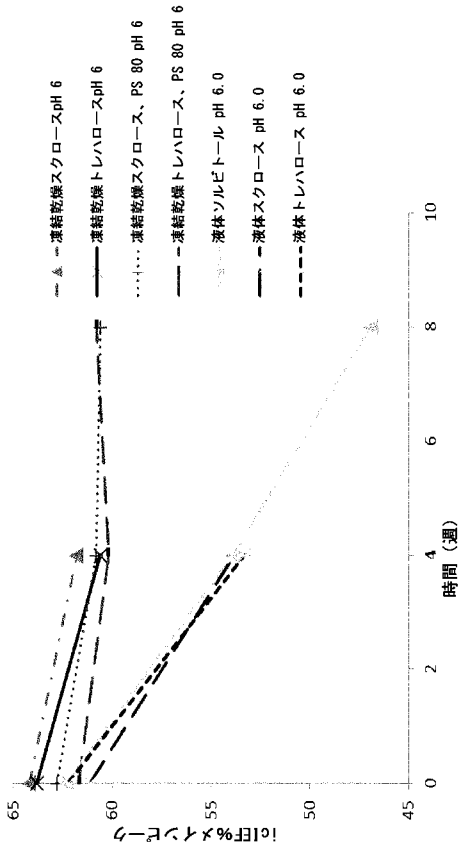
【図 5 A】



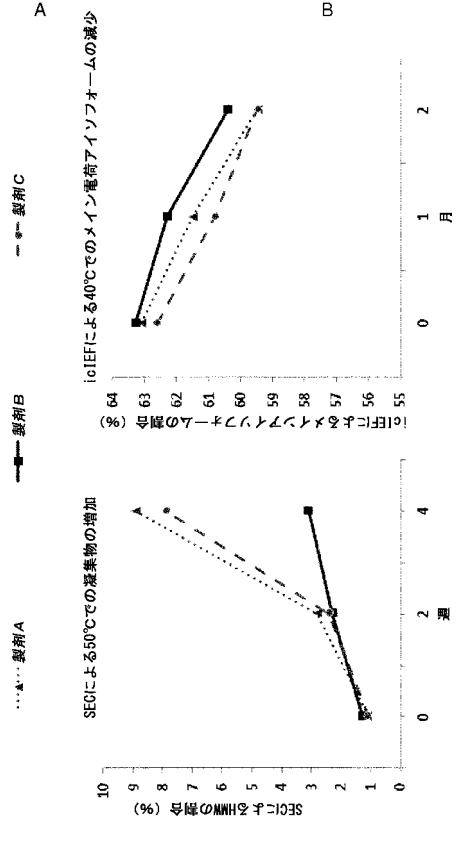
【図 5 B】



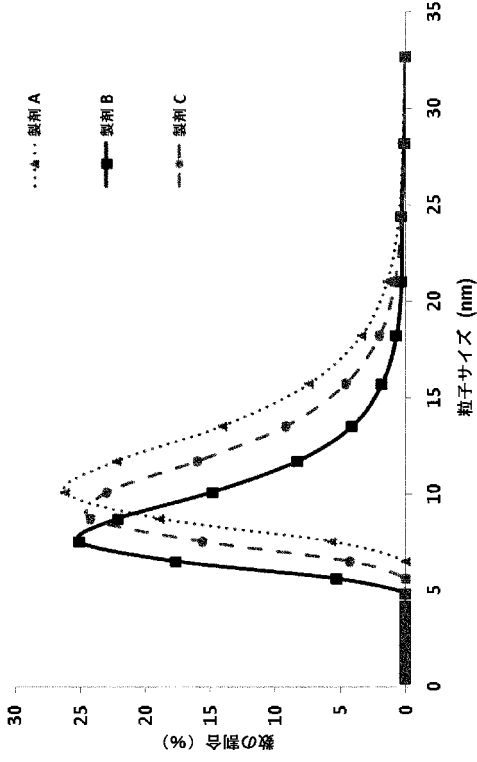
【図 6】



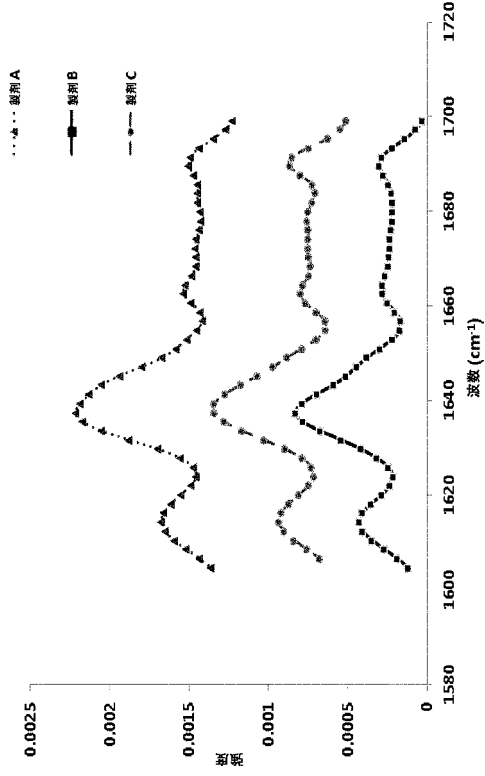
【図 7】



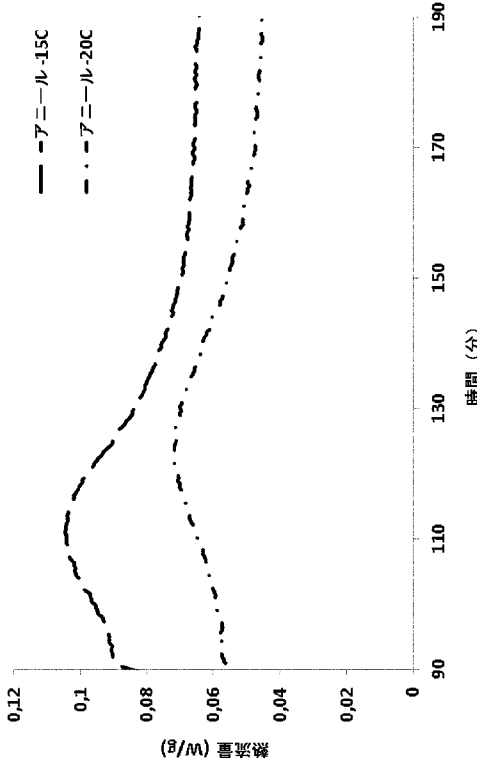
【 図 8 】



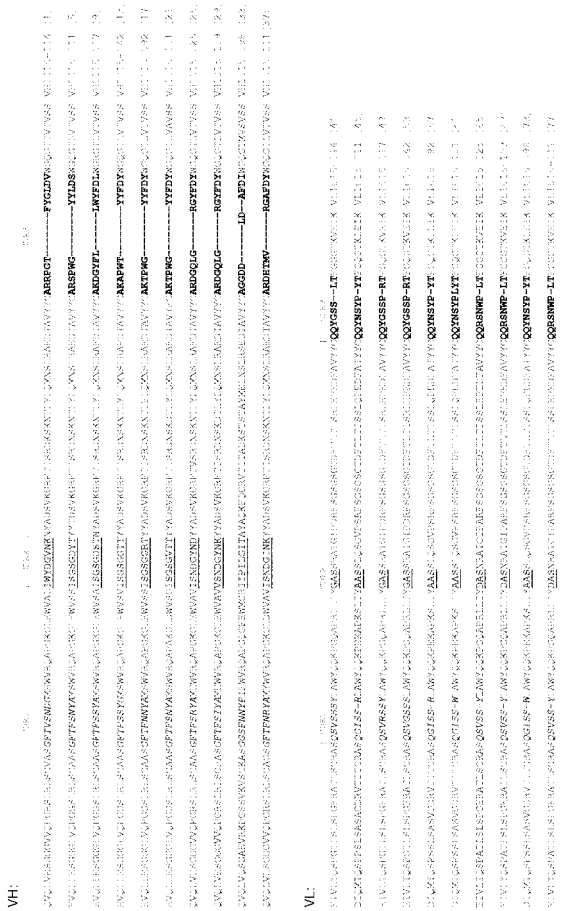
【 図 9 】



【 図 10 】



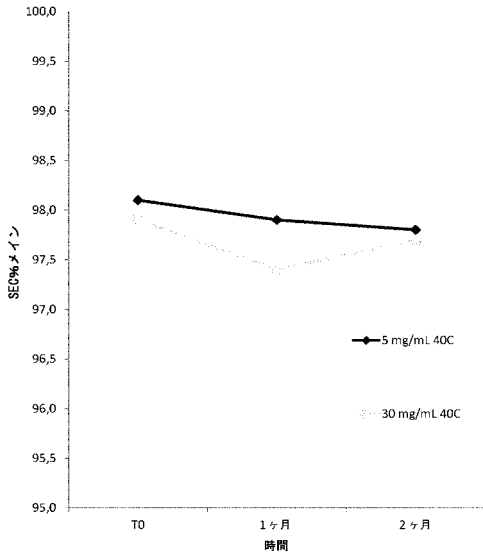
【 図 11 】



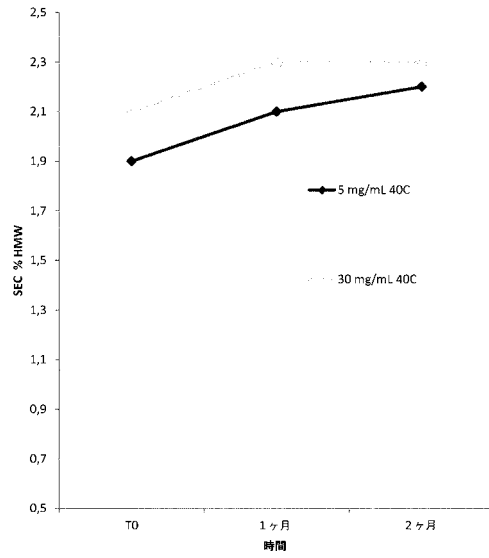
VH:

VL:

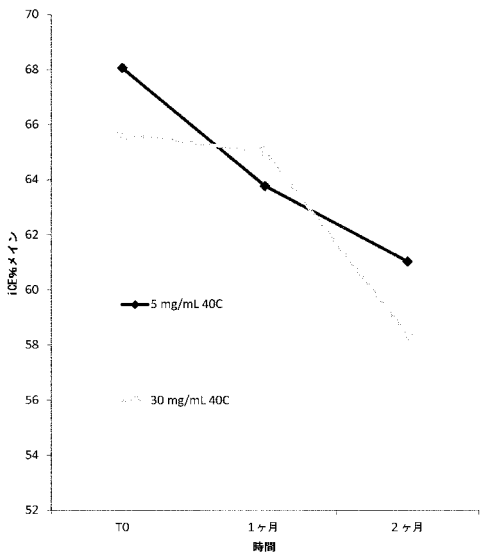
【 図 1 2 】



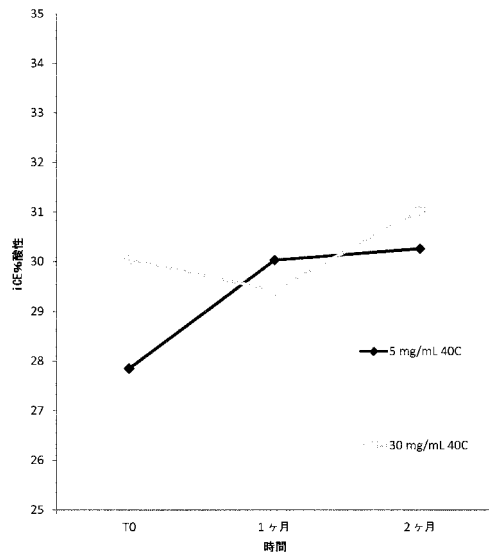
【 図 1 3 】



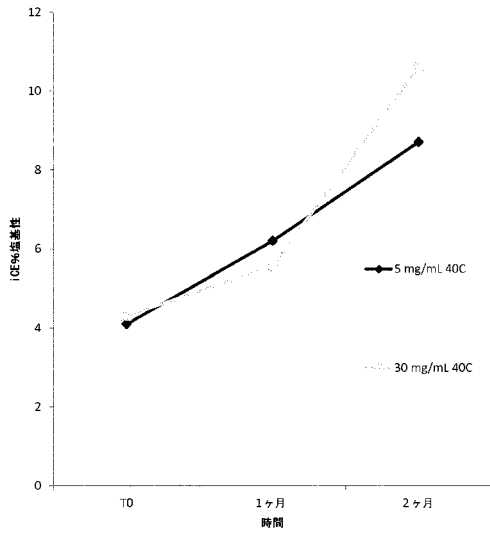
【 図 1 4 】



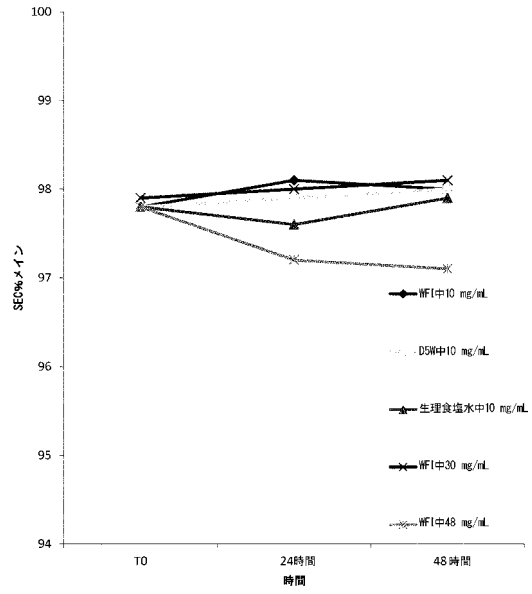
【 図 1 5 】



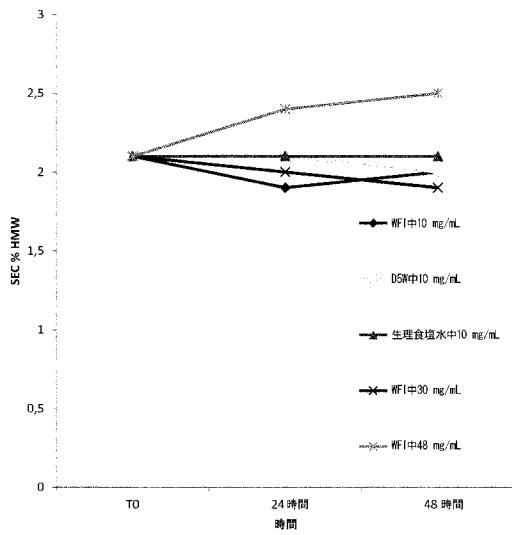
【 図 1 6 】



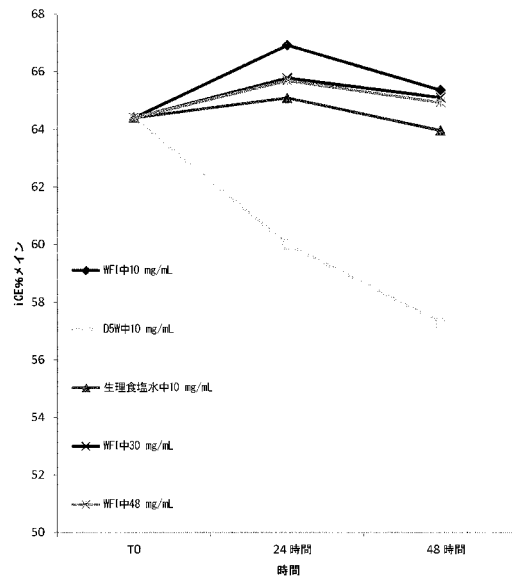
【 図 1 7 】



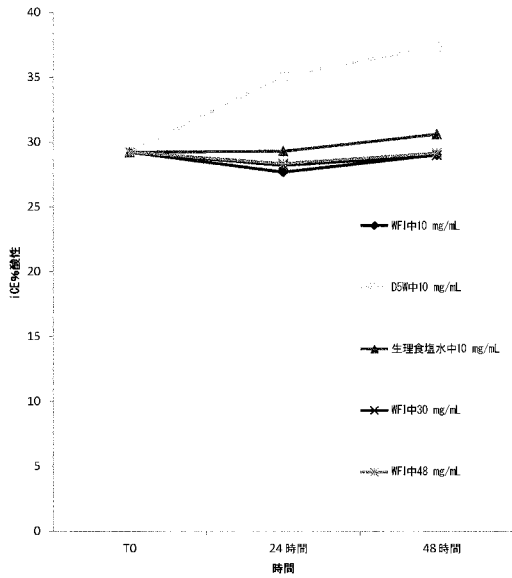
【 図 1 8 】



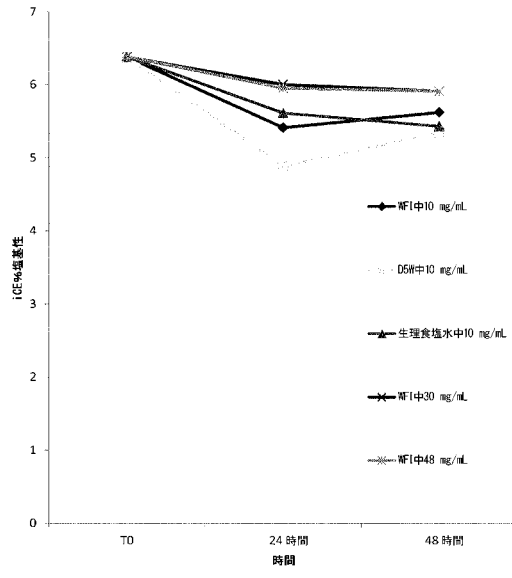
【 図 1 9 】



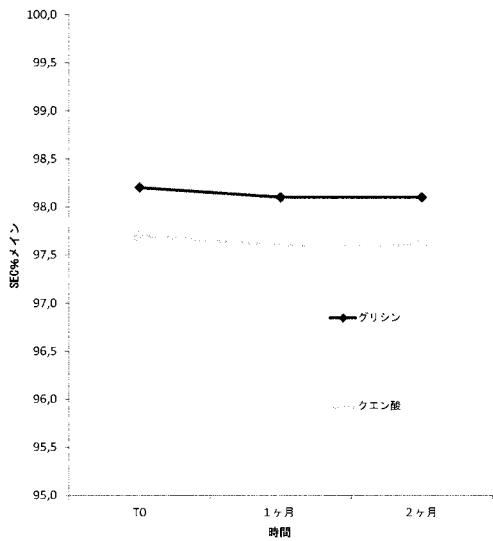
【 図 2 0 】



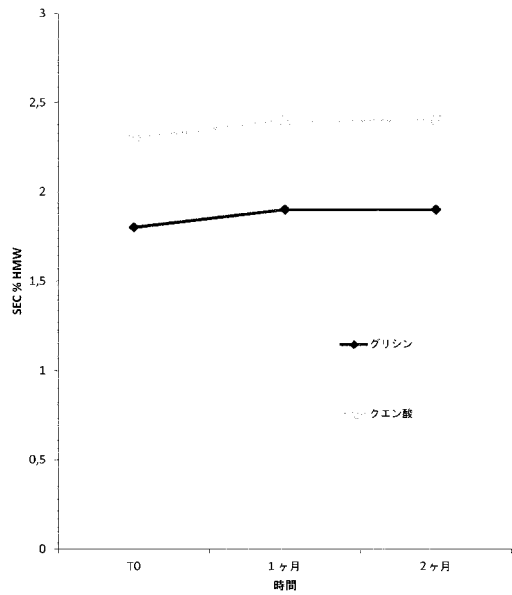
【 図 2 1 】



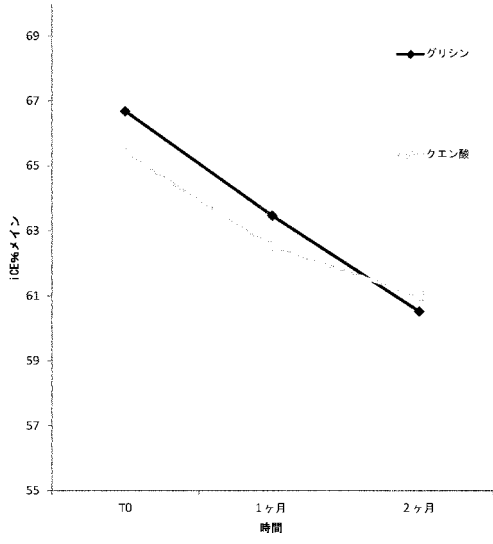
【 図 2 2 】



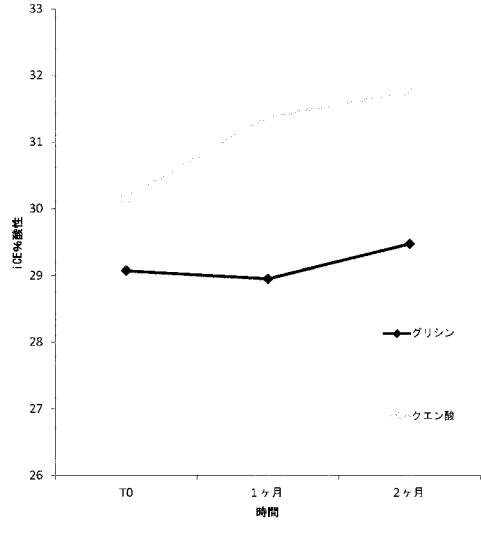
【 図 2 3 】



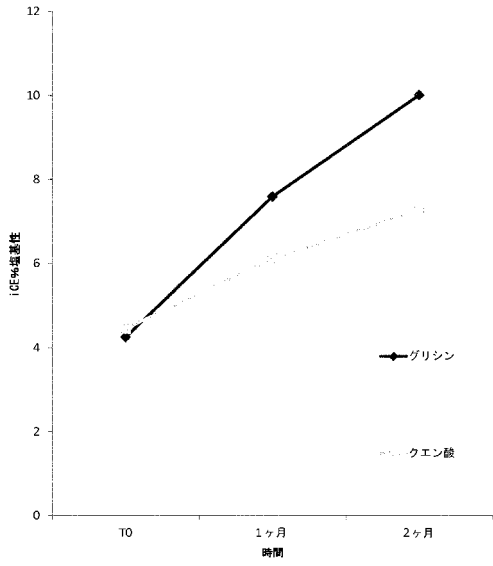
【 図 2 4 】



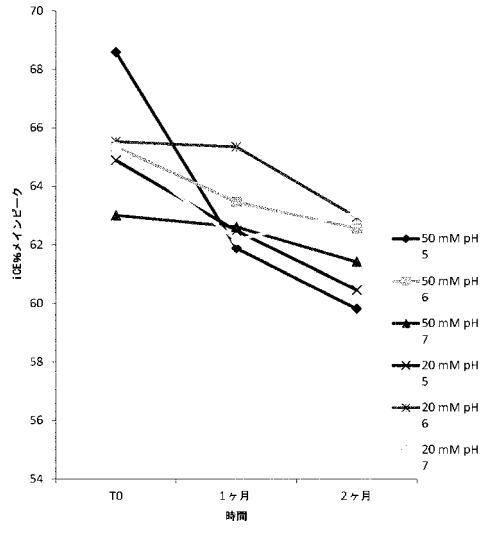
【 図 2 5 】



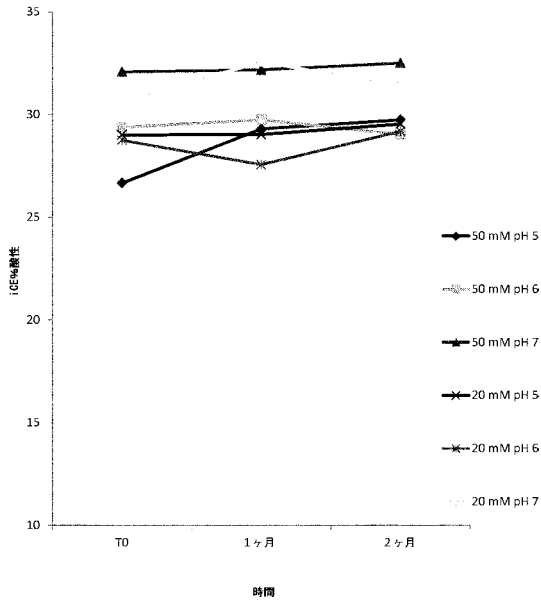
【 図 2 6 】



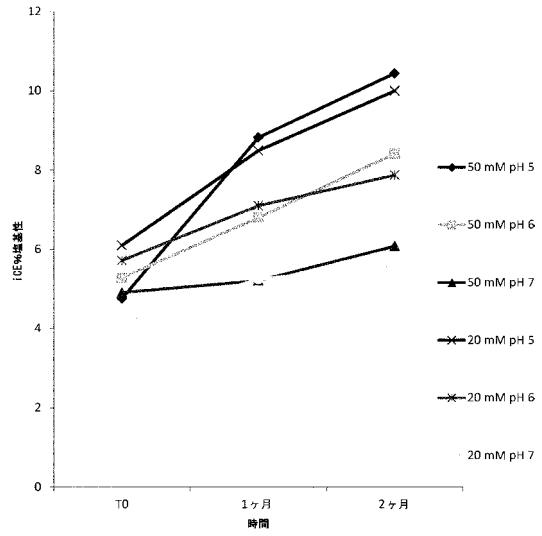
【 図 2 7 】



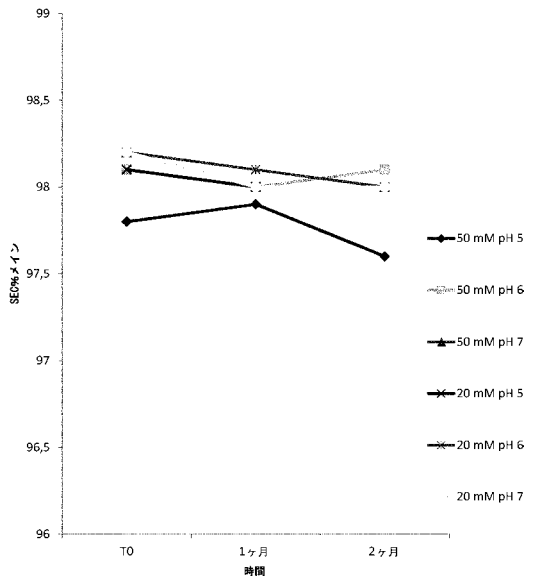
【 図 2 8 】



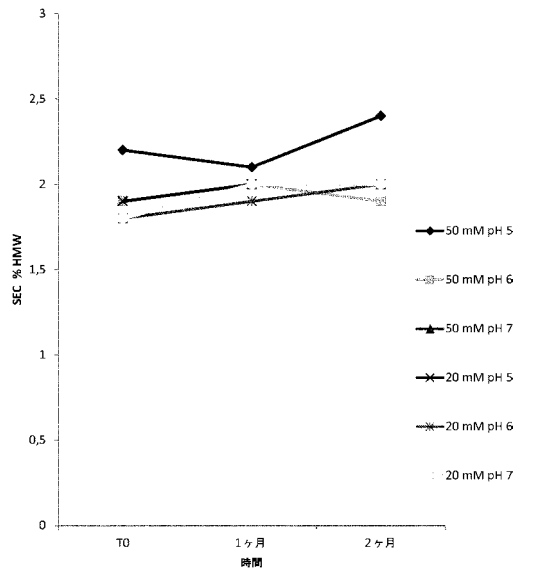
【 図 2 9 】



【 図 3 0 】



【 図 3 1 】





## 【配列表】

2021119199000001.app

## 【手続補正書】

【提出日】令和3年6月10日(2021.6.10)

## 【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

## 【請求項1】

以下を含む、抗TF-ADCの凍結乾燥製剤を調製するのに適した水溶液：

- a. 7 ~ 20 g/Lの抗TF-ADC、および
- b. 28 ~ 34 mMのヒスチジン；
- c. 84 ~ 146 mMのスクロース；
- d. 158 ~ 274 mMのマンニトール。

## 【請求項2】

前記抗TF-ADCの抗体部分が以下を含む、請求項1に記載の水溶液：

- a. SEQ ID NO: 6に示されるアミノ酸配列を含むCDR1領域、SEQ ID NO: 7に示されるアミノ酸配列を含むCDR2領域、およびSEQ ID NO: 8に示されるアミノ酸配列を含むCDR3領域を含む重鎖可変(VH)領域、ならびにSEQ ID NO: 46に示されるアミノ酸配列を含むCDR1領域、SEQ ID NO: 47に示されるアミノ酸配列を含むCDR2領域、およびSEQ ID NO: 48に示されるアミノ酸配列を含むCDR3領域を含む軽鎖可変(VL)領域、または
- b. SEQ ID NO: 34に示されるアミノ酸配列を含むCDR1領域、SEQ ID NO: 35に示されるアミノ酸配列を含むCDR2領域、およびSEQ ID NO: 36に示されるアミノ酸配列を含むCDR3領域を含むVH領域、ならびにSEQ ID NO: 74に示されるアミノ酸配列を含むCDR1領域、SEQ ID NO: 75に示されるアミノ酸配列を含むCDR2領域、およびSEQ ID NO: 76に示されるアミノ酸配列を含むCDR3領域を含むVL領域、または
- c. SEQ ID NO: 38に示されるアミノ酸配列を含むCDR1領域、SEQ ID NO: 39に示されるアミノ酸配列を含むCDR2領域、およびSEQ ID NO: 40に示されるアミノ酸配列を含むCDR3領域を含むVH領域、ならびにSEQ ID NO: 78に示されるアミノ酸配列を含むCDR1領域、SEQ ID NO: 79に示されるアミノ酸配列を含むCDR2領域、およびSEQ ID NO: 80に示されるアミノ酸配列を含むCDR3領域を含むVL領域、または
- d. SEQ ID NO: 2に示されるアミノ酸配列を含むCDR1領域、SEQ ID NO: 3に示されるアミノ酸配列を含むCDR2領域、およびSEQ ID NO: 4に示されるアミノ酸配列を含むCDR3領域を含むVH領域、ならびにSEQ ID NO: 42に示されるアミノ酸配列を含むCDR1領域、SEQ ID NO: 43に示されるアミノ酸配列を含むCDR2領域、およびSEQ ID NO: 44に示されるアミノ酸配列を含むCDR3領域を含むVL領域、または
- e. 上記(a) ~ (d)で定義される抗体のいずれかの変種であって、好ましくは、上記(a) ~ (d)で定義されるアミノ酸配列中に最大で1、2もしくは3つのアミノ酸改変、より好ましくはアミノ酸置換、例えば保存的アミノ酸置換を有する、変種。

## 【請求項3】

前記抗TF-ADCの抗体部分が以下を含む、請求項1または2に記載の水溶液：

- a. SEQ ID NO: 5のアミノ酸配列を含むVH領域およびSEQ ID NO: 45のアミノ酸配列を含むVL領域、
- b. SEQ ID NO: 33のアミノ酸配列を含むVH領域およびSEQ ID NO: 73のアミノ酸配列を含むVL領域、
- c. SEQ ID NO: 37のアミノ酸配列を含むVH領域およびSEQ ID NO: 77のアミノ酸配列を含むVL領域、または
- d. SEQ ID NO: 1のアミノ酸配列を含むVH領域およびSEQ ID NO: 41のアミノ酸配列を

含むVL領域。

【請求項 4】

抗体分子あたりの薬物部分の平均絶対数が、1、2、3、4、5、6、7、または8、例えば3、4、または5、好ましくは4である、請求項1～3のいずれか一項に記載の水溶液。

【請求項 5】

前記抗TF抗体が、疎水性の薬物にコンジュゲートされている、請求項1～4のいずれか一項に記載の水溶液。

【請求項 6】

前記薬物が、アウリスタチンまたはその機能性ペプチドアナログもしくは誘導体である、請求項1～5のいずれか一項に記載の水溶液。

【請求項 7】

前記薬物が、前記抗TF抗体のスルフヒドリル基に付加されたリンカーを介して該抗TF抗体に連結されている、請求項1～6のいずれか一項に記載の水溶液。

【請求項 8】

前記薬物がMMAEまたはMMAFである、請求項1～7のいずれか一項に記載の水溶液。

【請求項 9】

前記薬物がリンカー - 薬物を介して前記抗TF抗体に連結されており、該リンカー - 薬物が、mcMMAE、vcMMAE、vcMMAF、またはmcMMAFから選択され、最も好ましくはvcMMAEである、請求項1～8のいずれか一項に記載の水溶液。

【請求項 10】

前記抗TF抗体が全長抗体である、請求項1～9のいずれか一項に記載の水溶液。

【請求項 11】

前記抗TF抗体が、全長完全ヒトモノクローナルIgG1抗体であり、任意でヒトIgG1 である、請求項1～10のいずれか一項に記載の水溶液。

【請求項 12】

84～92 mMのスクロース、例えば88 mMのスクロースを含む、請求項1～11のいずれか一項に記載の水溶液。

【請求項 13】

158～172 mMのマンニトール、例えば165 mMのマンニトールを含む、請求項1～12のいずれか一項に記載の水溶液。

【請求項 14】

29 mM～31 mMのヒスチジン、例えば30 mMのヒスチジンを含む、請求項1～13のいずれか一項に記載の水溶液。

【請求項 15】

8～15 g/Lの抗TF ADC、例えば9～11 g/Lの抗TF ADC、例えば10 g/Lの抗TF ADCを含む、請求項1～14のいずれか一項に記載の水溶液。

【請求項 16】

前記水溶液のpHが、5.5～6.5の範囲内、例えば6である、請求項1～15のいずれか一項に記載の水溶液。

【請求項 17】

前記水溶液が9～11 g/Lの抗TF ADC、例えば10 mg/mLの抗TF ADC、30 mMのヒスチジン、88 mMのスクロース、および165 mMのマンニトールを含む、請求項1～16のいずれか一項に記載の水溶液。

【請求項 18】

前記抗TF-ADCの抗体部分が、SEQ ID NO: 6に示されるアミノ酸配列を含むCDR1領域、SEQ ID NO: 7に示されるアミノ酸配列を含むCDR2領域、およびSEQ ID NO: 8に示されるアミノ酸配列を含むCDR3領域を含む重鎖可変(VH)領域、ならびにSEQ ID NO: 46に示されるアミノ酸配列を含むCDR1領域、SEQ ID NO: 47に示されるアミノ酸配列を含むCDR2領域、およびSEQ ID NO: 48に示されるアミノ酸配列を含むCDR3領域を含む軽鎖可変(VL)領域を含み、薬物 - リンカーがvcMMAEである、請求項1～17のいずれか一項に記載の水溶液。

**【請求項 19】**

前記VH領域が、SEQ ID NO: 5のアミノ酸配列を含み、かつ、前記VL領域が、SEQ ID NO: 45のアミノ酸配列を含む、請求項18に記載の水溶液。

## フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I		テーマコード(参考)	
A 6 1 K	47/22	(2006.01)	A 6 1 K	47/22	
A 6 1 K	45/00	(2006.01)	A 6 1 K	45/00	
A 6 1 K	38/05	(2006.01)	A 6 1 K	38/05	
A 6 1 K	9/08	(2006.01)	A 6 1 K	9/08	
A 6 1 K	39/395	(2006.01)	A 6 1 K	39/395	C
			A 6 1 K	39/395	L

(74)代理人 100148699

弁理士 佐藤 利光

(74)代理人 100128048

弁理士 新見 浩一

(74)代理人 100129506

弁理士 小林 智彦

(74)代理人 100205707

弁理士 小寺 秀紀

(74)代理人 100114340

弁理士 大関 雅人

(74)代理人 100121072

弁理士 川本 和弥

(72)発明者 ヴァルビョルン ジェスパー

デンマーク ヴェスコ ブロンドステッド 3 3 5

(72)発明者 チン シャオナ

デンマーク セーボー キルデバッケガルズ アレ 1 6 2 ビー

(72)発明者 ロビー ケリー アン

アメリカ合衆国 インディアナ州 ブルーミントン ウェスト マクハッフィー ウッズ ドライブ 4 3 5 6

(72)発明者 ポール ティモシー ウォーレン

アメリカ合衆国 インディアナ州 ブルーミントン ウェスト ポーテージ トレイル 4 1 0 2

(72)発明者 サッシャ グレゴリー アラン

アメリカ合衆国 インディアナ州 バーガーズビル ホワイトテイル ウッズ ドライブ 4 2 7 1

(72)発明者 ピース ネイサン アラン

アメリカ合衆国 インディアナ州 ブルーミントン サウス グリーンリーフ コート 7 0 1  
アパートメント ディー

(72)発明者 ヴィルムセン ボディル

スイス連邦 バーゼル エアレンマットヴェーク 9 ヴォーヌング 5 . 4

F ターム(参考) 4C076 AA12 AA30 AA95 BB11 CC27 DD22Z DD25Z DD26Z DD38 DD42Z

DD43Z DD51 DD51Z DD60Z DD67 FF02 FF04 FF36 FF61 FF65

GG07 GG47

4C084 AA01 AA17 BA14 BA23 BA32 DA27 MA17 MA44 NA03 NA13

ZB261 ZB262

4C085 AA25 AA26 BB11 BB36 CC21 DD14 DD15 EE01 GG01